

DOI:10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-04-017

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

## 氧化三甲胺与心力衰竭患者肠道菌群及预后的相关性研究

王罡<sup>1</sup>, 张亚琦<sup>2</sup>

(1.内乡县人民医院心血管内科, 南阳 474300; 2.平顶山市第二人民医院心内科, 平顶山 467000)

**摘要** **目的** 分析氧化三甲胺(TMAO)与心力衰竭患者肠道菌群及预后情况的相关性。**方法** 选取 122 例心力衰竭患者的临床资料, 将 TMAO $\geq$ 2.58  $\mu\text{mol/L}$  的 42 例患者列为高水平组, TMAO $<$ 2.58  $\mu\text{mol/L}$  的 80 例患者列为低水平组。比较两组肠道菌群检测结果, 分析 TMAO 水平与肠道菌群相关参数的关联性, 统计入组患者不良预后发生情况, 比较两组 TMAO 及肠道菌群参数间的差异, 分析 TMAO 对心力衰竭患者不良预后的预测效能。**结果** 高水平组的肠道菌落丰富度(Chao 指数), 肠道菌群多样性(Shannon 指数), 肠道菌群的操作分类单元聚类值(OTUs), 沙门菌、志贺菌、念珠菌的浓度均低于低水平组, 柯林斯菌浓度、布劳特菌的浓度均高于低水平组, 差异均具有统计学意义( $P<0.05$ )。TMAO 与 Chao 指数, Shannon 指数, OTUs、沙门菌、志贺菌、念珠菌的浓度呈负相关, 与柯林斯菌浓度、布劳特菌的浓度呈正相关( $P<0.05$ ); TMAO 水平对心力衰竭的不良预后具有较高预测效能( $\text{ACU}>0.85$ )。**结论** TMAO 水平与心力衰竭患者肠道菌群及预后具有一定相关性, 且 TMAO 水平越高, 患者不良预后发生率越高。

**关键词**: 心力衰竭; 氧化三甲胺; 肠道菌群; 相关性分析; 预测效能

中图分类号: R541.6

文献标志码: A

文章编号: 1008-2409(2024)04-0114-06

## Study on the correlation between trimethylamine oxide and gut microbiota and prognosis in patients with heart failure

WANG Gang<sup>1</sup>, ZHANG Yaqi<sup>2</sup>

(1. Department of Cardiology, Neixiang County People's Hospital, Nanyang 474300, China;

2. Department of Cardiology, Pingdingshan Second People's Hospital, Pingdingshan 467000, China)

**Abstract** **Objective** To analyze the correlation between trimethylamine oxide (TMAO) and gut microbiota and prognosis in patients with heart failure. **Methods** Selecting clinical data from 122 patients with heart failure, 42 patients with TMAO $\geq$ 2.58  $\mu\text{mol/L}$  were classified as the high-level group, 80 patients with TMAO  $<$ 2.58  $\mu\text{mol/L}$  were classified as the low-level group. The results of gut microbiota detection between the two groups were compared, and the correlation between TMAO levels and gut microbiota related parameters was analyzed,

基金项目: 河南省医学科技攻关项目(LHGJ2020021837)。

第一作者: 王罡, 本科, 主治医师, 研究方向为心力衰竭, wwaangan@126.com。

statistically analyze the occurrence of adverse prognosis in enrolled patients, compare the differences in TMAO and gut microbiota parameters between the two groups, and verify the predictive efficacy of TMAO for adverse prognosis in heart failure patients. **Results** The richness of gut microbiota (Chao index), diversity of gut microbiota (Shannon index), clustering values of operational taxonomic units (OTUs) of gut microbiota, and concentrations of *Klebsiella* and *Brucella* in the high-level group were all lower than those in the low-level group. The concentrations of *Salmonella*, *Shigella*, and *Candida* were all higher than those in the low-level group, showing a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). TMAO is positively correlated with the concentrations of *Salmonella*, *Shigella*, and *Candida*, but negatively correlated with the concentrations of Chao index, Shannon index, OTUs, *Corinthia*, and *Brucella* ( $P < 0.05$ ). TMAO levels have a high predictive power for poor prognosis of heart failure (ACU  $> 0.85$ ). **Conclusion** There is a certain correlation between TMAO levels and gut microbiota and prognosis in patients with heart failure, and the higher the TMAO level, the higher the incidence of adverse prognosis in patients.

**Keywords:** heart failure; trimethylamine oxide; intestinal microbiota; correlation analysis; predictive performance

心力衰竭是指多种原因导致心脏泵血功能受损、心排量无法满足机体组织基本代谢需求的临床综合征,也是多种心脏疾病进展的终末阶段,根据左室射血分数(left ventricular ejection fractions, LVEF)不同,此病主要被分为LVEF降低型、LVEF保留型和LVEF中间型3种类型<sup>[1]</sup>。目前临床认为,心力衰竭发病与离子缺陷、炎症反应、心室重构及心肌肥厚等因素密切相关,此病治疗方法较多,但病死风险较高,对心衰患者的病情发展及预后进行早期预测可一定程度上指导临床治疗<sup>[2]</sup>。近年有研究<sup>[3]</sup>指出,肠道菌群与多种心血管疾病的发生及病情进展有密切关联,肠道菌群的动态平衡是稳定人体生理、生化功能的重要基础,肠道菌群紊乱会导致肠道内多种细菌移位,其产生的内毒素进入血液循环后会激活局部、全身炎症反应。氧化三甲胺(trimethylamine oxide, TMAO)为肠道菌群代谢的主要产物,肠道菌群会促使胆碱、肉毒碱等胆碱化合物转化为偏苯三酸酐(trimellitic anhydride, TMA),TMA在肝脏单加氧酶的氧化作用下可进一步生成TMAO<sup>[4]</sup>。已有的基础研究<sup>[5]</sup>表明,TMAO水平升高会导致多种脏器发生纤维化改变,而心肌纤维化程度加剧为导致心力衰竭发生的重要原因。高水平TMAO可增加心血管疾病的发病风险,还可一定程度上增加患者5年内的病死率<sup>[6]</sup>。本研究回顾性分析不同TMAO水平患者的临床资料,以探讨TMAO与心力衰竭患者肠道菌群的关联性,以及TMAO对

不良预后的预测效能。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取内乡县人民医院2021年1月至2023年10月病例信息管理系统抽取的122例心力衰竭患者为研究对象,依据TMAO检测结果,将患者分为TMAO高水平组42例和低水平组80例。高水平组男22例,女20例;年龄58~72岁,平均(65.4±5.2)岁;心力衰竭病程1~5年,平均(3.3±0.3)年;入院后查N端脑钠肽前体(NT-proBNP)基线值300~450 ng/L,平均(375.2±30.6) ng/L;纽约心脏病协会(NYHA)心功能分级<sup>[7]</sup>:Ⅲ级30例,Ⅳ级12例。并发症:12例合并高血压,10例合并糖尿病,15例合并冠心病,5例合并肾功能不全。低水平组男45例,女35例;年龄60~70岁,平均(66.2±5.3)岁;心力衰竭病程2~4年,平均(3.3±0.3)年;入院后查NT-proBNP基线值320~430 ng/L,平均(376.3±30.5) ng/L;NYHA心功能分级:Ⅲ级50例,Ⅳ级30例。并发症:23例合并高血压,20例合并糖尿病,30例合并冠心病,7例合并肾功能不全。两组患者一般资料无统计学差异( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究已获得内乡县人民医院医学伦理委员会批准(R-7382)

纳入标准:①符合心力衰竭诊断标准<sup>[8]</sup>;②NYHA心功能分级为Ⅲ级、Ⅳ级标准;③有心衰病史,且本次病情急性加重;④入院后NT-proBNP基线

值>300 ng/L;⑤知悉本研究目的及具体试验内容,同意获取并公开既往临床资料。

排除标准:①发病后伴心脏骤停;②合并其他严重心肺病或终末期疾病;③有恶性肿瘤;④临床资料缺失。

## 1.2 方法

①研究方法:比较 TMAO 水平不同的两组患者肠道菌群检测结果,经 Spearman 相关性系数检验 TMAO 水平与肠道菌群相关参数的关联情况;统计入组患者不良预后发生情况,将患者分为预后良好组和预后不良组,比较两组 TMAO 及肠道菌群参数间的差异,通过绘制受试者工作特征曲线(ROC)并观察线下面积(AUC)验证 TMAO 对心力衰竭患者不良预后的预测效能。②TMAO 检测方法:取患者入院后 24 h 内的 100  $\mu$ L 外周静脉血作抗凝处理,以 3 000 r/min 的速度离心 5 min 后,分离血浆并储存在冻存管中,于 -80  $^{\circ}$ C 冰箱中保存,样本收集完毕后统一送至第三方,经稳定同位素稀释提取血浆样本后,采用液相色谱-串联质谱法检测血浆样本中的 TMAO 水平。

## 1.3 观察指标

①比较两组肠道菌群检测结果,检测指标包括肠道菌落丰富度(Chao 指数)、肠道菌群多样性(Shannon 指数)、肠道菌群的操作分类单元聚类值(OTUs),以及柯林斯菌、布劳特菌、沙门菌、志贺菌、念珠菌的菌群浓度。检测标准:Chao 指数>339, Shannon 指数>3.0, OTUs>271, 沙门菌浓度>1%, 志贺菌浓度>1%, 念珠菌浓度>1%, 柯林斯菌浓度<10%, 布劳特菌浓度<10%。检测方法如下:在 200 g 粪便样本中加入 1.6 mL buffer saline 缓冲液震荡摇匀,将混匀的粪便样本于 70  $^{\circ}$ C 下温浴 5 min,并以

14 000 r/min 的速度离心 1 min 后,吸取 1.2 mL 弃下层浊液后转入无菌离心管;在清液中分别加入吸附片、蛋白酶、无水乙醇、Buffer AL 裂解液、Buffer AW1、Buffer AW2 裂解液并依次进行漩涡震荡混合、离心后提取粪便 DNA;经 16 s rDNA 高通量测序技术对稀释后的粪便 DNA 进行 PCR 扩增,并将扩增后的 DNA 产物加入至浓度为 2% 的琼脂糖凝胶中进行电泳切割,记录并分析样本中的肠道菌落分布情况。②分析 TMAO 与肠道菌群参数的关联,评估方法:经 Spearman 相关性系数检验,当  $P<0.05$  时表示二者显著相关, $r<0$  表示呈负相关, $0<r<1$  表示呈正相关<sup>[9]</sup>。③分析 TMAO 对不良预后的预测效能,统计肾功能衰竭、肺瘀血、死亡等不良预后发生情况,比较不同预后患者的 TMAO 及肠道菌群参数;经 ROC 曲线验证 TMAO 对上述不良预后的预测效能,当  $AUC>0.85$  时表示二者显著相关<sup>[10]</sup>。

## 1.4 统计学方法

数据采用 SPSS 22.0 软件处理,计数资料以样本量  $n$ 、样本量占比(%)表示,采用  $\chi^2$  检验;计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用  $t$  检验。 $P<0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同 TMAO 水平患者肠道菌群指数及肠道菌群浓度比较

经检测,高水平组的 Chao 指数、Shannon 指数、OTUs 均低于低水平组( $P<0.05$ );高水平组的沙门菌、志贺菌、念珠菌的浓度均低于低水平组,柯林斯菌、布劳特的菌浓度均高于低水平组( $P<0.05$ ),结果如表 1 和表 2 所示。

表 1 不同 TMAO 水平患者的肠道菌群指数比较

组别	$n$ /例	Chao 指数	Shannon 指数	OTUs
高水平组	42	322.45 $\pm$ 50.66	2.75 $\pm$ 0.31	253.45 $\pm$ 50.12
低水平组	80	358.75 $\pm$ 50.27	3.11 $\pm$ 0.25	284.45 $\pm$ 50.66
$t$		3.780	6.946	3.223
$P$		<0.05	<0.05	<0.05

表2 不同TMAO水平患者的肠道菌群浓度比较

组别	n/例	沙门菌/%	志贺菌/%	念珠菌/%	柯林斯菌/%	布劳特菌/%
高水平组	42	0.66±0.27	0.58±0.25	1.32±0.31	12.39±3.46	12.77±3.28
低水平组	80	1.25±0.37	1.19±0.24	1.71±0.29	10.36±2.12	10.25±2.27
<i>t</i>		9.129	13.149	6.748	4.013	4.974
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

## 2.2 TMAO与肠道菌群参数的关联性

经Spearman相关性系数检验,TMAO与Chao指数、Shannon指数、OTUs、沙门菌、志贺菌、念珠菌的浓度负相关,与柯林斯菌、布劳特菌浓度呈正相关( $P<0.05$ ),结果如表3所示。

表3 TMAO与肠道菌群参数的关联性

指标	<i>r</i>	<i>P</i>
Chao指数	-0.157	<0.05
Shannon指数	-0.156	<0.05
OTUs	-0.155	<0.05
沙门菌	-0.154	<0.05
志贺菌	-0.155	<0.05
念珠菌	-0.156	<0.05
柯林斯菌	0.253	<0.05
布劳特菌	0.252	<0.05

## 2.3 不同预后患者的TMAO水平及肠道菌群情况比较

经统计,入组患者中不良预后发生率为20.49%(25/122),其中13例发生肾功能衰竭,10例发生肺瘀血,2例死亡。预后不良组患者的TMAO水平以及柯林斯菌浓度、布劳特菌浓度均高于预后良好组,Chao指数、Shannon指数、OTUs、沙门菌、志贺菌、念珠菌的浓度均低于预后良好组,差异均具有统计学意义( $P<0.05$ ),结果如表4和表5所示。

表4 不同预后患者的TMAO水平及肠道菌群指数比较

组别	n/例	TMAO/( $\mu\text{mol/L}$ )	Chao指数	Shannon指数	OTUs
预后不良组	25	2.96±0.27	320.45±50.27	2.65±0.45	243.77±50.48
预后良好组	97	2.32±0.41	360.26±50.38	3.22±0.33	271.36±50.72
<i>t</i>		7.391	3.525	7.114	2.428
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表5 不同预后患者的肠道菌群浓度比较

组别	n/例	沙门菌/%	志贺菌/%	念珠菌/%	柯林斯菌/%	布劳特菌/%
预后不良组	25	0.51±0.19	0.49±0.11	1.25±0.44	12.94±4.33	13.05±4.25
预后良好组	97	1.30±0.28	1.21±0.37	1.79±0.17	9.29±2.47	9.41±2.33
<i>t</i>		13.318	9.594	7.647	5.539	5.754
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

## 2.4 TMAO对心力衰竭不良预后的预测效能

经ROC曲线验证得知,TMAO水平升高会导致心力衰竭患者肠道菌群紊乱并发生不良预后。TMAO截断值为 $2.58\ \mu\text{mol/L}$ ,TMAO对不良预后的预测灵敏度为 $81.35\%$ ( $95\%\text{CI}:75.60\sim 87.50$ )、特异度为 $78.33\%$ ( $95\%\text{CI}:73.30\sim 83.50$ ), $\text{ACU}>0.85$ 。

## 3 讨论

心力衰竭是多种心血管疾病发展的终末阶段,其发病风险会随年龄增长而不断升高,此病具有较高病死风险,可给患者生命安全造成严重威胁,及时纠正血流动力学紊乱并防止心室重塑为治疗心力衰竭的主要原则,目前关于心衰患者的治疗已取得较大进展,但多数患者治疗后的预后情况并不理想<sup>[11]</sup>。相关研究<sup>[12]</sup>表明,免疫紊乱及炎症反应为心力衰竭发生及病情进展的重要因素,其中Toll样受体作为一种天然免疫受体,可一定程度上介导免疫炎症反应并损伤心肌细胞,增加心血管发病风险。近年临床逐步发现,肠道菌群紊乱可导致多种病原菌增殖移位,并产生大量内毒素,随着肠道通透性增加,内毒素进入人体血液循环后,会进一步诱发局部乃至全身炎症,并增加心力衰竭等心血管疾病发病风险,基于此,有学者提出了心力衰竭的肠道假说<sup>[13-14]</sup>。TMAO为肠道菌群主要代谢产物,是多种胆碱化合物转化为TMA后,经肝脏氧化反应下生成,当肠道菌群动态平衡被打破,导致大量病原菌增生、繁殖时,患者体内TMAO水平会逐步上升,高水平TMAO会加剧心肌纤维化并影响心衰患者预后<sup>[15]</sup>。

本研究结果显示,不同TMAO水平患者的Chao指数、Shannon指数、OTUs等肠道菌群指数均有一定差异,且分析两组肠道菌群分布情况的结果显示,高水平组的柯林斯菌、布劳特菌的浓度均高于低水平组,沙门菌、志贺菌、念珠菌的浓度均低于低水平组,这与陈俊华等<sup>[16]</sup>研究结果近似。本研究经Spearman相关性系数检验后得知,心衰患者的TMAO水平与Chao指数、Shannon指数、OTUs、沙门菌、志贺菌、念珠菌的浓度呈负相关,与柯林斯菌浓度、布劳特菌浓度呈正相关,提示通过检测TMAO水

平可一定程度上评估心衰患者的肠道菌群分布特征。另有研究<sup>[17]</sup>表明,TMAO还可实现对心衰患者不良预后的早期预测,高表达TMAO可上调巨噬细胞的清道夫受体,促使巨噬细胞吞噬胆固醇,通过影响胆固醇转运及代谢而导致心肌损伤,并诱发多种心血管终末事件。WANG等<sup>[18]</sup>研究表明,高水平TMAO可释放大量炎性介质并激活核转录因子- $\kappa\text{B}$ 介导的炎症信号通路,可通过活化白细胞迁移至内皮细胞,进而加剧机体炎症反应程度。李佳玲等<sup>[19]</sup>研究表明,TMAO还可通过激活Nod样受体蛋白3诱发血管炎症反应,可导致水钠潴留,最终导致心衰病情进展。本研究中,预后不良患者的TMAO水平以及柯林斯菌浓度、布劳特菌浓度均低于预后良好组,沙门菌、志贺菌浓度、念珠菌浓度均高于预后良好组,Chao指数、Shannon指数、OTUs均低于预后良好组。薛世姍等<sup>[20]</sup>研究表明,TMAO能通过参与细胞内T-小管重塑而增加心肌收缩,以间接加重心衰患者病情,该学者认为TMAO可作为心衰患者病情恶化及预后的早期预警标志物。本研究结果显示,TMAO水平升高会导致心力衰竭患者肠道菌群紊乱,对心力衰竭的不良预后具有较高预测效能,且当 $\text{TMAO}\geq 2.58\ \mu\text{mol/L}$ 时,患者更易发生不良预后。

## 4 结论

TMAO与心力衰竭患者的肠道柯林斯菌浓度、布劳特菌浓度呈正相关,与Chao指数、Shannon指数、OTUs、沙门菌、志贺菌、念珠菌的浓度呈负相关,TMAO水平越高,患者不良预后发生率越高。

## 参考文献

- [1] 王勇,杨静,李从圣,等.沙库巴曲缬沙坦治疗不同射血分数慢性心力衰竭的临床研究[J].淮海医药,2022,40(1):74-77.
- [2] ROGER V L. Epidemiology of heart failure:a contemporary perspective[J]. Circ Res,2021,128(10):1421-1434.
- [3] 吴金春,刘彦民,苏晓灵.肠道菌群/肠道微生态与心血管疾病发生的关系研究进展[J].解放军医学杂志,2023,48(7):851-855.
- [4] 王泽坤,徐欣,周学东,等.肠道菌群代谢产物在心血管疾病中的作用及机制研究[J].中国比较医学杂志,2023,

- 33(6):102-107.
- [5] YANG W L, ZHANG S N, ZHU J B, et al. Gut microbe-derived metabolite trimethylamine N-oxide accelerates fibroblast-myofibroblast differentiation and induces cardiac fibrosis[J]. *J Mol Cell Cardiol*,2019,134:119-130.
- [6] ANDERSON K M, FERRANTI E P, ALAGHA E C, et al. The heart and gut relationship: a systematic review of the evaluation of the microbiome and trimethylamine-N-oxide (TMAO) in heart failure[J]. *Heart Fail Rev*,2022,27(6):2223-2249.
- [7] CARABALLO C, DESAI N R, MULDER H, et al. Clinical implications of the New York heart association classification[J]. *J Am Heart Assoc*,2019,8(23):e014240.
- [8] 韩丽珠,尹琪楠,边原,等.2022 AHA/ACC/HFSA 心力衰竭管理指南解读[J].*医药导报*,2023,42(9):1280-1287.
- [9] ROVETTA A. Raiders of the lost correlation: a guide on using Pearson and spearman coefficients to detect hidden correlations in medical sciences[J]. *Cureus*,2020,12(11):e11794.
- [10] WU Y G. Nonparametric inference of the area under ROC curve under two-phase cluster sampling[J]. *J Biopharm Stat*,2022,32(2):346-355.
- [11] 张一帆,杨清泉,冯文化,等.通心络胶囊联合芪苈强心胶囊治疗慢性心力衰竭患者的效果观察[J].*华夏医学*,2022,35(3):10-14.
- [12] 薛玉强,李旺,孙丽红.洋地黄类药物调节外周血 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路对慢性心衰伴房颤患者的影响[J].*国际医药卫生导报*,2023,29(15):2117-2120.
- [13] 郭攀,冯津萍,冯超,等.肠道菌群及其代谢产物氧化三甲胺与心力衰竭关系的研究进展[J].*天津医药*,2019,47(4):440-444.
- [14] SALZANO A, CASSAMBAI S, YAZAKI Y, et al. The gut axis involvement in heart failure: focus on trimethylamine N-oxide[J]. *Cardiol Clin*,2022,40(2):161-169.
- [15] 谢舜昀,刘师辰,李微,等.氧化三甲胺在心脏与肾脏纤维化中的作用及机制[J].*中国实验诊断学*,2020,24(10):1728-1732.
- [16] 陈俊华,张淳,张存新.心力衰竭患者不同时期肠道菌群多样性分析[J].*广东医学*,2020,41(19):2005-2010.
- [17] WU K P, YUAN Y, YU H H, et al. The gut microbial metabolite trimethylamine N-oxide aggravates GVHD by inducing M1 macrophage polarization in mice[J]. *Blood*,2020,136(4):501-515.
- [18] WANG N, HAO Y Q, FU L J. Trimethylamine-N-oxide promotes osteoclast differentiation and bone loss via activating ROS-dependent NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Nutrients*,2022,14(19):3955.
- [19] 李佳玲,闫宏伟,陈淑华,等.氧化三甲胺通过 ALDH2/ROS/NLRP3/GSDMD 通路诱导血管内皮细胞焦亡[J].*中南大学学报(医学版)*,2022,47(9):1171-1181.
- [20] 薛世姗,禹文茜,龙殿飞,等.TMAO 在心力衰竭中的作用[J].*生命的化学*,2021,41(5):870-876.

[收稿日期:2024-02-26]

[责任编辑:郭海婷 英文编辑:李佳睿]