

# 肠道菌群及其代谢产物短链脂肪酸与中老年高血压人群心血管风险水平的相关性研究

覃雪<sup>1,2</sup>, 白学松<sup>1</sup>

1. 达州市中心医院消化内科, 四川 达州 635000; 2. 达州职业技术学院临床医学院, 四川 达州 635001

**摘要:** **目的** 研究不同心血管风险水平的中老年高血压患者肠道菌群的差异, 为了解肠道菌群在高血压人群心血管疾病中的作用提供参考。 **方法** 选取 2021 年 1—12 月在四川省达州市人民医院消化内科就诊的中老年高血压患者, 在低、中、高心血管风险的高血压患者中分别抽取 100 例作为研究对象, 同时选取 100 例健康查体人群为对照组。采集各组患者粪便并分离细菌 DNA, 经 16s rDNA 高通量测序比较心血管风险程度与肠道菌群的结构、丰度及多样性之间的关联, 同时分析各组短链脂肪酸水平差异。 **结果** ①从研究对象中, 获得 542 个分类操作单元 (operational taxonomic units, OTU), 不同组间特有 OUT ( $\chi^2 = 0.287, P = 0.963$ ) 比较差异无统计学意义; 但是不同组间 ACE ( $F = 8.305, P < 0.001$ )、Shannon 指数 ( $F = 52.796, P < 0.001$ )、Simpson 指数 ( $F = 75.628, P < 0.001$ )、Chao 指数 ( $F = 5.250, P = 0.002$ ) 比较差异有统计学意义。②在门的水平上, 各组在拟杆菌门 ( $F = 5.639, P < 0.001$ )、厚壁菌门 ( $F = 12.740, P < 0.001$ )、变形菌门 ( $F = 12.209, P < 0.001$ ) 和酸杆菌门 ( $F = 6.572, P < 0.001$ ) 等的相对丰度差异有统计学意义; 在属的水平上, 各组在罗氏菌属 ( $F = 28.936, P < 0.001$ )、双歧杆菌属 ( $F = 15.668, P < 0.001$ ) 和粪杆菌属 ( $F = 10.724, P < 0.001$ ) 等菌属上差异有统计学意义。③Spearman 相关性回归分析结果显示, 乙酸水平与 ACE ( $R^2 = 0.410, P < 0.01$ )、Shannon 指数 ( $R^2 = 0.340, P < 0.05$ )、Simpson 指数 ( $R^2 = 0.574, P < 0.01$ ) 和 Chao 指数 ( $R^2 = 0.544, P < 0.01$ ) 呈正相关; 丁酸水平与 ACE ( $R^2 = 0.681, P < 0.01$ )、Shannon 指数 ( $R^2 = 0.673, P < 0.01$ )、Simpson 指数 ( $R^2 = 0.695, P < 0.01$ ) 呈正相关; 戊酸平与 ACE ( $R^2 = 0.526, P < 0.01$ )、Shannon 指数 ( $R^2 = 0.419, P < 0.05$ )、Simpson 指数 ( $R^2 = 0.507, P < 0.05$ ) 呈正相关。④相较于对照组, 不同心血管风险组高血压患者肠道乙酸、丁酸、戊酸水平均有降低, 且 4 组研究对象肠道乙酸 ( $F = 6.012, P < 0.001$ )、丁酸 ( $F = 70.950, P < 0.001$ )、戊酸 ( $F = 10.926, P < 0.001$ ) 水平比较差异有统计学意义。 **结论** 本研究发现肠道菌群的多样性指数、均一性指数与高血压患者的心血管风险密切相关, 肠道菌群可能通过代谢产物短链脂肪酸影响高血压患者的心血管风险, 菌群疗法可能作为潜在的干预手段以对抗高血压患者的心血管风险。

**关键词:** 肠道菌群; 高血压人群; 心血管风险; 短链脂肪酸; 相关性

**中图分类号:** R544.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2023)01-0043-06 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2023.01.011

**基金项目:** 四川省教育厅 2018 年科研项目 (18ZA0218)

**作者简介:** 覃雪 (1968-), 女, 四川宣汉人, 本科, 副教授, 主要从事肠道菌群相关研究工作。

## 参考文献

- [1] Lord C, Elsabbagh M, Baird G, et al. Autism spectrum disorder[J]. Lancet, 2018, 392(10146): 508-520.
- [2] Constantino JN, Todd RD. Intergenerational transmission of subthreshold autistic traits in the general population[J]. Biol Psychiatry, 2005, 57(6): 655-660.
- [3] 汪燕妮, 薛红丽, 陈倩. 家庭亲密度和适应性对学龄前儿童行为问题的影响[J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18(5): 421-425.
- [4] 钱晟, 徐勇, 颜博秋, 等. 家庭养育环境与儿童孤独症特质的关系[J]. 中国儿童保健杂志, 2020, 28(1): 82-85.
- [5] 潘燕燕. 婴儿家庭养育环境与智能发育的相关性研究[J]. 全科医学临床与教育, 2019, 17(6): 559-561.
- [6] 汪向东, 王希林, 马宏. 心理卫生评定量表手册 (增订版) [M]. 北京: 中国心理卫生杂志社, 1999: 1-10.
- [7] Lund E. Social Communication Questionnaire [M]. John Wiley & Sons, Inc, 2013: 1-10.
- [8] Wang F, Lu L, Wang SB, et al. The prevalence of autism spectrum disorders in China: a comprehensive meta-analysis[J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(7): 717-725.
- [9] 曹春红, 何玉莹, 郭凤宜, 等. 西安市城区托幼机构孤独症谱系障碍儿童现患率调查[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2021, 36(1): 50-53.
- [10] 丁宁, 徐慧, 沈械华, 等. 芜湖市学龄前儿童孤独症谱系障碍患病现状及影响因素研究[J]. 华南预防医学, 2021, 47(11): 1384-1387.
- [11] 王素珍, 史佳欣, 史文彦. 濮阳市农村学龄前留守儿童行为问题及其影响因素分析[J]. 实用预防医学, 2022, 29(4): 483-486.
- [12] 胡敏, 静进, 金宇, 等. 广州市黄埔区学龄前儿童行为问题及影响因素的横断面调查[J]. 中国循证儿科杂志, 2012, 7(1): 11-18.
- [13] Drake KL, Ginsburg GS. Family factors in the development, treatment, and prevention of childhood anxiety disorders[J]. Clin Child Fam Psychol Rev, 2012, 15(2): 144-162.

收稿日期: 2022-03-07

# Correlation of intestinal flora and its metabolite short-chain fatty acids with cardiovascular risk levels in middle-aged and elderly hypertensive population

QIN Xue<sup>1,2</sup>, BAI Xue-song<sup>1</sup>

1. Department of Gastroenterology, Dazhou Central Hospital, Dazhou, Sichuan 635000, China;

2. School of Clinical Medicine, Dazhou Vocational and Technical College, Dazhou, Sichuan 635001, China

**Abstract:** **Objective** To explore the differences in intestinal flora in middle-aged and elderly hypertensive patients with different levels of cardiovascular risk so as to provide references for understanding the role of intestinal flora in cardiovascular disease in hypertensive population. **Methods** We selected middle-aged and elderly hypertensive patients admitted to Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Dazhou City from January to December 2021. 300 study subjects were then selected from hypertensive patients at low, medium and high cardiovascular risk (each  $n = 100$ ), while 100 health check-up persons were simultaneously chosen as the control group. Feces were collected from patients in each group and bacterial DNA was isolated. The associations between the degree of cardiovascular risk and the structure, abundance and diversity of intestinal flora were compared by 16s rDNA high-throughput sequencing, and the differences in short-chain fatty acids levels among the groups were also analyzed.

**Results** A total of 542 taxonomic operational units (OTUs) were obtained in the study subjects, and the comparison of the unique OUT ( $\chi^2 = 0.287$ ,  $P = 0.963$ ) between different groups was not statistically significant. However, the comparisons of ACE ( $F = 8.305$ ,  $P < 0.001$ ), Shannon index ( $F = 52.796$ ,  $P < 0.001$ ), Simpson index ( $F = 75.628$ ,  $P < 0.001$ ) and Chao index ( $F = 5.250$ ,  $P = 0.002$ ) were statistically significant when compared between groups. The groups showed statistically significant differences in the relative abundance of the *Bacteroidetes* ( $F = 5.639$ ,  $P < 0.001$ ), *Bacillota* ( $F = 12.740$ ,  $P < 0.001$ ), *Pseudomonadota* ( $F = 12.209$ ,  $P < 0.001$ ) and *Acidobacteria* ( $F = 6.572$ ,  $P < 0.001$ ). Moreover, the results showed statistically significant differences in the *Rothia* ( $F = 28.936$ ,  $P < 0.001$ ), *Bifidobacterium* ( $F = 15.668$ ,  $P < 0.001$ ) and *Eubacterium faecalis* ( $F = 10.724$ ,  $P < 0.001$ ). Spearman's correlation regression analysis showed that acetic acid levels were positively correlated with ACE ( $R^2 = 0.410$ ,  $P < 0.01$ ), Shannon index ( $R^2 = 0.340$ ,  $P < 0.05$ ), Simpson index ( $R^2 = 0.574$ ,  $P < 0.01$ ) and Chao index ( $R^2 = 0.544$ ,  $P < 0.01$ ). Butyric acid levels were positively correlated with ACE ( $R^2 = 0.681$ ,  $P < 0.01$ ), Shannon index ( $R^2 = 0.673$ ,  $P < 0.01$ ) and Simpson index ( $R^2 = 0.695$ ,  $P < 0.01$ ). Valeric acid levels were positively correlated with ACE ( $R^2 = 0.526$ ,  $P < 0.01$ ), Shannon index ( $R^2 = 0.419$ ,  $P < 0.05$ ) and Simpson index ( $R^2 = 0.507$ ,  $P < 0.05$ ). Compared with the control group, intestinal acetic acid, butyric acid and valeric acid levels decreased in hypertensive patients in the different cardiovascular risk groups, and the differences in intestinal acetic acid ( $F = 6.012$ ,  $P < 0.001$ ), butyric acid ( $F = 70.950$ ,  $P < 0.001$ ) and valeric acid ( $F = 10.926$ ,  $P < 0.001$ ) levels were statistically significant. **Conclusion** In this study, we found that the diversity index and homogeneity index of intestinal flora were closely associated with cardiovascular risk in the hypertensive patients, and intestinal flora may influence cardiovascular risk in the hypertensive patients through the metabolite short-chain fatty acids. The flora therapy may be a potential intervention to counteract cardiovascular risk in the hypertensive patients.

**Keywords:** intestinal flora; hypertensive population; cardiovascular risk; short-chain fatty acids; correlation

肠道为人体最大的微生态系统,肠道内栖息着总数约 1 014 个、2 000 余种、总重量 1~2 kg 的微生物种群,与人体的稳态调节密切相关<sup>[1-2]</sup>。现有数据表明,肠道微生物可以与遗传信息<sup>[3-4]</sup>、机体免疫系统<sup>[5]</sup>和外部环境因素<sup>[6]</sup>等发生相互作用,通过不同方式影响机体健康。近年来,随着高通量测序和宏基因组学等手段的更新和普及,肠道菌群在血压<sup>[7]</sup>、血脂<sup>[8]</sup>和血糖<sup>[9]</sup>调节中的作用引起了重视。有学者认为肠道微生态平衡的监测对高血压早期诊断具有一定的价值<sup>[10]</sup>。但是仍有部分研究<sup>[11-12]</sup>认为肠道菌群紊乱与高血压等多种慢性代谢性疾病的发生缺乏稳定的内在关联。同时目前的研究大多关注整个高血压患者群体肠道菌群的变化,未对高血压患者中不同心血管风险

群体做进一步分层研究。因此,本研究构建不同心血管风险等级的高血压患者粪便菌群的 16s rRNA 基因文库,分析比较心血管风险程度与肠道菌群的结构、丰度及多样性之间的关联,同时分析各组肠道代谢物短链脂肪酸与肠道菌群多样性的关系,为了解肠道菌群在高血压患者心血管疾病发生中的作用提供参考。

## 1 对象与方法

1.1 研究对象 采用便利抽样的方法,选取 2021 年 1—12 月在四川省达州市人民医院消化内科就诊的中老年高血压患者作为研究对象,并根据 2020 年国际高血压学会(International Society of Hypertension, ISH)发布的《ISH 2020 国际高血压实践指南》<sup>[13]</sup>评估研究对象的心血管风险等级,在低、中、高心血管风险程度的

高血压患者中分别选择 100 例研究对象,同时选取 100 例健康查体人群为对照组。分析比较各组年龄、性别、民族、BMI、收缩压(systolic blood pressure,SBP)、舒张压(diastolic blood pressure,DBP)等基本资料。观察组研究对象为经高血压国际通行标准确诊为高血压患者<sup>[14]</sup>;SBP≥130 mmHg,DBP≥80 mmHg,患者血压间断测定至少 3 次,高血压病程>3 个月;对照组纳入 2021 年 1—12 月在四川省达州市人民医院健康体检、血压正常(90 mmHg<SBP<130 mmHg,60 mmHg<DBP<80 mmHg)者。所有研究对象均为 45~80 岁年龄范围,性别、民族不限。排除标准合并肠道疾病、思维不清、痴呆或有精神疾病导致沟通障碍、处于妊娠或哺乳期、合并自身免疫性疾病、正在服用或 1 个月内有服用抗生素史、中途退出研究的研究对象。本研究经四川省达州市人民医院道德伦理委员会批准,患者及家属知情且自愿签署知情同意书。

1.2 心血管风险评估方法 《ISH 2020 国际高血压实践指南》在高血压患者的心血管风险水平也取消了早期版本中的“极高风险”级别,新指南仅将高血压患者的心血管风险分为“低风险”“中风险”和“高风险”3 个级别。心血管风险的评定主要依据患者:①血压水平,包括 SBP 和 DBP;②患者合并疾病情况,包括是否合并高血压介导的器官损害(hypertension-mediated organ damage,HMOD)、慢性肾脏病 III 期(stage 3 chronic kidney disease,stage 3 CKD)、糖尿病(diabetes mellitus,DM)、心血管疾病(cardiovascular disease,CVD)等;③其他风险因素,包括年龄>65 岁、男性、心率>80 次/min、肥胖、高脂血症、CVD 家族史、高血压家族史、吸烟习惯、早发性更年期等,见表 1。

表 1 高血压患者心血管风险等级划分简表

风险因素/疾病	血压水平		
	SBP 130-139 mmHg DBP 85-89 mmHg	SBP 140-159 mmHg DBP 90-99 mmHg	SBP ≥ 160 mmHg DBP ≥ 100 mmHg
无其他风险因素 <sup>a</sup>	低风险	低风险	中/高风险
1~2 个风险因素	低风险	中风险	高风险
≥3 个风险因素	低/中风险	高风险	高风险
合并疾病 <sup>b</sup>	高风险	高风险	高风险

注:a 风险因素包括年龄>65 岁、男性、心率>80 次/min、肥胖、高脂血症、CVD 家族史、高血压家族史、吸烟习惯、早发性更年期等;b 合并疾病包括 HMOD、Stage 3 CKD、DM 或 CVD 等。

1.3 肠道菌群测定

1.3.1 样品采集与预处理 收集各组研究对象新鲜中段粪便约 10.0 g,收集后置入厌氧盒,-20 ℃冰箱冻存送至实验室进一步处理。参考王广平等<sup>[15]</sup>样品处

理方法:取 0.5 g 粪便样品于 50 ml 无菌离心管中,加入 10.0 ml 磷酸盐缓冲液稀释混匀,于 1 500 rpm( $r=12.0$  cm)条件下离心 5 min,收集上清液漩涡震荡 1 min,静置 1min 后再次于 2 000 rpm( $r=5.0$  cm)条件下离心 5 min。取 5.0 ml 上清液于 5 000 rpm( $r=12.0$  cm)条件下离心 10 min,弃去上清,沉淀使用 1.0 ml 无水乙醇溶解,旋涡后于 4 ℃条件下 14 000 rpm( $r=12.0$  cm)离心 5 min,弃去上清重复“无水乙醇溶解-旋涡-离心”操作 3 次,最后一次的沉淀中加入 100 μl 溶菌酶(10%,美国 ThermoFisher,货号#89833),37 ℃水浴 1 h,加入 100 μl 蛋白酶 K(20 mg/ml,美国 ThermoFisher,货号#AM2542)于 56 ℃水浴 30 min,最后加入 100 μl RNase A(1%,美国 ThermoFisher,货号#R1253)后静置 10 min。

1.3.2 菌群 DNA 的提取 使用酚-氯仿法<sup>[16]</sup>提取菌群总 DNA,DNA 的提取试剂盒购买自德国 Sigma-Aldrich(货号#77617),提取方法如下:在 1.3.1 中静置后的菌液中加入 500 μl 苯酚(pH=8.0),采用迷你机械振荡器(型号:Mini-Bead Beater-1,美国 Biospec Products)最大速率击打 3 次以完全破碎菌体,静置 10 min。加入 500 μl 酚/氯仿/异戊醇(25:24:1,v/v/v,pH≥7.8)混合液以抽提 DNA,充分混匀后,14 000 rpm( $r=12.0$  cm)离心 15 min,收集上清液于新管;加入 1.0 ml 氯仿/异戊醇混合液(24:1,v/v),充分混匀后,14 000 rpm( $r=12.0$  cm)离心 10 min,收集上清液于新管;最后加入 2.0 ml 无水乙醇沉淀,沉淀置于 37 ℃金属浴上充分干燥。

1.3.3 16s rDNA 片段的扩增、纯化和测定 获取样本 DNA 后,采用 50 μl 反应体系<sup>[17]</sup>对 16s rDNA V3 可变区进行扩增,引物序列为 V3F:5′-GAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG-3′,V3R:5′-CGG CTT ACC TTG TTA CGA CTT-3′,本研究所用引物为江苏科晶生物科技有限公司提供。扩增程序如下:94 ℃~96 ℃变性 1.0 min,50 ℃~60 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 1.0 min,重复循环 35 次。扩增后使用 AMPure XP beads(美国 Beckman Coulter,货号#A63880)进行纯化。

1.3.4 16s 文库的构建 使用 Qubit 荧光定量计(美国 ThermoFisher)和 Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer(美国 Agilent)分别对纯化后的 DNA 进行浓度与片段的检测,参照 Illumina 文库构建指南<sup>[18]</sup>进行 16 s 文库的构建。

1.3.5 菌群多样性分析 将构建好的 DNA 文库稀释至 5.0 nM,各文库取 10 μl 等体积混合,使用杂交缓冲液(货号 37549,北京诺为生物)稀释至 2.0 nM,加入



等体积的 0.2M NaOH 进行变性,在 MiSeq (美国 Illumina)平台进行测序。对文库中有效序列进行过滤、合并、去杂、修剪等操作后,使用 UPARSE 工具对优质序列按相似度  $\geq 97\%$  进行操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 的聚类,用 QIIME 软件分别计算基于丰度的覆盖估计值 (abundance-based coverage estimator, ACE)、群落均匀度的 Shannon 指数和 Simpson 指数、水平丰富性 Chao 指数。

1.3.6 差异菌群分析 进一步将测序结果导入 Trimmomatic 软件,根据 RDP classifier 贝叶斯算法<sup>[19]</sup> 计算各组①门水平:厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门、酸杆菌门的相对丰富度;②科水平:毛螺菌科、拟杆菌科、双歧杆菌科、普雷沃氏菌科、肠杆菌科的相对丰富度;③属水平:双歧杆菌属、罗氏菌属、粪杆菌属、柔嫩梭菌属、丁酸弧菌属的相对丰富度。

1.4 短链脂肪酸检测 另取 1.0 g 粪便于 15 ml 无菌离心管中,加入 10 ml 双蒸水稀释后于 14 000 rpm ( $r=12.0$  cm)离心 15 min,收集上清液 5.0 ml 于新管。向上清液中加入 0.5 g 无水硫酸钠和 10.0  $\mu$ l 50% 硫酸涡旋混匀,静置 1 min 后再加入 10.0  $\mu$ l 二乙基乙酸和 2.0 ml 乙醚,混合溶液于 4 000 rpm ( $r=5.0$  cm)离心 15 min,取 1.0 ml 上清液,经 GC 6890 气相色谱系统 (美国 Agilent) 检测锻炼脂肪酸含量。

1.5 统计学分析 将数据导入 SPSS 20.0 统计软件进行分析,符合正态分布的计量资料以 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示,两组间比较采用  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA);计数资料以 ( $n, \%$ ) 表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。为进一步探讨肠道菌群影响高血压患者心血管风险的具体机制,使用 Spearman 相关性分析肠道短链脂肪酸水平与肠道菌群多样性的相关性,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本信息 研究对象年龄 ( $F=0.888, P=0.447$ )、性别 ( $\chi^2=1.225, P=0.747$ )、民族 ( $\chi^2=3.006, P=0.391$ )、BMI 指数 ( $F=2.214, P=0.086$ ) 等资料的组间比较无统计学意义;SBP ( $F=409.785, P<0.001$ ) 和 DBP ( $F=322.514, P<0.001$ ) 的组间比较差异有统计学意义,各组基本资料比较见表 2。

表 2 各组年龄、性别、民族、BMI 指数、血压等基本资料比较

基本资料	对照组	低风险组	中风险组	高风险组	$F/\chi^2$ 值	$P$ 值
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$ )	54.35 $\pm$ 7.81	53.98 $\pm$ 6.15	54.56 $\pm$ 5.90	55.39 $\pm$ 5.18	0.888	0.447
性别( $n, \%$ )					1.225	0.747
男	58(58.00)	60(60.00)	63(63.00)	65(65.00)		

续表 2

基本资料	对照组	低风险组	中风险组	高风险组	$F/\chi^2$ 值	$P$ 值
女	42(42.00)	40(40.00)	37(37.00)	35(35.00)		
民族( $n, \%$ )					3.006	0.391
汉族	93(93.00)	90(90.00)	95(95.00)	89(89.00)		
其他	7(7.00)	10(10.00)	5(5.00)	11(11.00)		
BMI( $\bar{x}\pm s$ )	21.97 $\pm$ 2.02	21.64 $\pm$ 1.57	21.58 $\pm$ 2.26	22.17 $\pm$ 1.55	2.214	0.086
SBP(mmHg, $\bar{x}\pm s$ )	124.56 $\pm$ 5.42	136.06 $\pm$ 6.28	146.39 $\pm$ 5.96	154.70 $\pm$ 7.85	409.785	<0.001
DBP(mmHg, $\bar{x}\pm s$ )	81.57 $\pm$ 4.31	89.04 $\pm$ 3.98	95.03 $\pm$ 4.71	101.39 $\pm$ 5.67	322.514	<0.001

2.2 菌群多样性分析 QIIME 软件分析结果显示,对照组共测得 542 个 OTU,低风险组测得 529 个 OTU,中风险组测得 526 个 OTU,高风险组测得 517 个 OTU,四组共有 170 个 OTU,各组特有 OTU 比较差异无统计学意义 ( $\chi^2=0.287, P=0.963$ )。One-way ANOVA 分析结果显示,各组 ACE ( $F=8.305, P<0.001$ )、Shannon 指数 ( $F=52.796, P<0.001$ )、Simpson 指数 ( $F=75.628, P<0.001$ ) 和 Chao 指数 ( $F=5.250, P=0.002$ ) 差异均有统计学意义,见表 3。

表 3 各组菌群结构分析

菌群特征	对照组	低风险组	中风险组	高风险组	$F/\chi^2$ 值	$P$ 值
OTU 数( $n$ )	542	529	526	517	-	-
特有 OTU( $n$ )	372	359	356	347	0.287	0.963
ACE( $\bar{x}\pm s$ )	363.28 $\pm$ 54.28	344.53 $\pm$ 35.05	343.22 $\pm$ 62.02	322.09 $\pm$ 75.06	8.305	<0.001
Shannon 指数( $\bar{x}\pm s$ )	2.68 $\pm$ 0.69	2.47 $\pm$ 0.58	1.98 $\pm$ 0.53	1.66 $\pm$ 0.75	52.796	<0.001
Simpson 指数( $\bar{x}\pm s$ )	0.89 $\pm$ 0.29	0.84 $\pm$ 0.25	0.69 $\pm$ 0.19	0.46 $\pm$ 0.12	75.628	<0.001
Chao 指数( $\bar{x}\pm s$ )	376.15 $\pm$ 83.46	359.63 $\pm$ 60.50	347.36 $\pm$ 78.95	332.60 $\pm$ 95.70	5.250	0.002

2.3 不同心血管风险组高血压患者肠道菌群构成差异 本研究共检验出 11 个菌门,包括拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、梭杆菌门、河床菌门、热微菌门、疣微菌门及一种未被注释的菌门。不同心血管风险组患者肠道菌群中相对丰度较高的菌门、菌科、菌属构成见表 4。①在门的水平上,各组在拟杆菌门 ( $F=5.639, P<0.001$ )、厚壁菌门 ( $F=12.740, P<0.001$ )、变形菌门 ( $F=12.209, P<0.001$ ) 和酸杆菌门 ( $F=6.572, P<0.001$ ) 等的相对丰度差异有统计学意义;②在科的水平上,各组在双歧杆菌科 ( $F=4.446, P=0.004$ )、毛螺菌科 ( $F=6.602, P<0.001$ )、普雷沃氏菌科 ( $F=4.009, P=0.008$ ) 和肠杆菌科 ( $F=4.043, P=0.008$ ) 等菌科上差异有统计学意义;③在属的水平上,各组在罗氏菌属 ( $F=28.936, P<0.001$ )、双歧杆菌属 ( $F=15.668, P<0.001$ ) 和粪杆菌属 ( $F=10.724, P<0.001$ ) 等菌属上差异有统计学意义。

表 4 不同心血管风险组高血压患者肠道菌群构成 ( $\bar{x}\pm s, \%$ )

菌群构成	对照组	低风险组	中风险组	高风险组	$F$ 值	$P$ 值
门水平						
拟杆菌门	33.69 $\pm$ 6.70	34.60 $\pm$ 5.56	32.57 $\pm$ 7.93	31.09 $\pm$ 4.87	5.639	<0.001

续表 4

菌群构成	对照组	低风险组	中风险组	高风险组	F 值	P 值
厚壁菌门	28.02±8.84	22.09±9.02	23.78±7.96	21.22±7.99	12.740	<0.001
变形菌门	16.19±5.97	17.08±6.53	20.17±8.19	22.05±9.85	12.209	<0.001
放线菌门	8.67±3.42	9.19±3.47	9.50±3.89	9.32±2.90	1.077	0.359
酸杆菌门	2.89±0.62	2.75±0.51	2.78±0.66	2.47±0.93	6.572	<0.001
科水平						
双歧杆菌科	21.84±7.54	21.69±5.28	19.49±6.91	19.14±7.05	4.446	0.004
拟杆菌科	13.25±4.81	13.05±6.07	12.54±3.88	12.90±3.60	0.409	0.747
毛螺菌科	12.56±4.69	13.70±5.09	14.95±6.52	15.68±4.95	6.602	<0.001
普雷沃氏菌科	7.98±2.16	7.70±0.62	7.12±3.25	6.91±3.01	4.009	0.008
肠杆菌科	6.19±1.67	6.52±2.87	7.08±1.94	7.25±3.02	4.043	0.008
属水平						
罗氏菌属	20.15±6.95	18.54±4.36	22.16±5.36	25.36±4.83	28.936	<0.001
双歧杆菌属	15.26±5.03	15.39±6.64	14.22±4.32	11.25±2.57	15.668	<0.001
粪杆菌属	10.03±3.37	8.36±2.38	8.25±3.20	9.62±1.61	10.724	<0.001
柔嫩梭菌属	8.80±2.15	7.99±1.27	8.52±2.06	8.24±3.31	2.286	0.078
丁酸弧菌属	7.52±0.97	8.10±2.89	7.79±3.57	8.50±2.63	2.452	0.063

2.4 肠道短链脂肪酸水平与肠道菌群多样性的相关性分析 Spearman 相关性回归分析结果显示,乙酸水平与 ACE ( $R^2=0.410, P<0.01$ )、Shannon 指数 ( $R^2=0.340, P<0.05$ )、Simpson 指数 ( $R^2=0.574, P<0.01$ ) 和 Chao 指数 ( $R^2=0.544, P<0.01$ ) 呈正相关;丁酸水平与 ACE ( $R^2=0.681, P<0.01$ )、Shannon 指数 ( $R^2=0.673, P<0.01$ )、Simpson 指数 ( $R^2=0.695, P<0.01$ ) 呈正相关;戊酸平与 ACE ( $R^2=0.526, P<0.01$ )、Shannon 指数 ( $R^2=0.419, P<0.05$ )、Simpson 指数 ( $R^2=0.507, P<0.05$ ) 呈正相关,见表 5。

表 5 肠道短链脂肪酸水平与肠道菌群多样性的相关性分析

短链脂肪酸	ACE	Shannon 指数	Simpson 指数	Chao 指数
乙酸	0.410 <sup>b</sup>	0.340 <sup>a</sup>	0.574 <sup>b</sup>	0.544 <sup>b</sup>
丁酸	0.681 <sup>b</sup>	0.673 <sup>b</sup>	0.695 <sup>b</sup>	0.294
戊酸	0.526 <sup>b</sup>	0.419 <sup>a</sup>	0.507 <sup>a</sup>	0.288

注:Spearman 相关性回归分析,a 为  $P<0.05$ ,b 为  $P<0.01$ 。

2.5 不同心血管风险组高血压患者肠道短链脂肪酸水平 各组研究对象肠道丙酸水平比较差异无统计学意义 ( $F=0.264, P=0.852$ )。相较于对照组,不同心血管风险组高血压患者肠道乙酸、丁酸、戊酸水平均有降低,且 4 组研究对象肠道乙酸 ( $F=6.012, P<0.001$ )、丁酸 ( $F=70.950, P<0.001$ )、戊酸 ( $F=10.926, P<0.001$ ) 水平比较差异有统计学意义,见表 6。

表 6 不同心血管风险组高血压患者肠道短链脂肪酸水平 ( $\mu\text{mol/g}, \bar{x}\pm s$ )

组别	乙酸	丙酸	丁酸	戊酸
对照组	81.23±17.95	22.61±5.43	21.05±7.19	1.79±0.48
低风险组	79.55±13.26	22.19±4.26	19.54±5.47	1.51±0.62
中风险组	75.23±10.25	21.90±7.25	15.42±6.02	1.50±0.31
高风险组	74.18±12.54	22.43±6.59	10.29±3.61	1.44±0.43
F 值	6.012	0.264	70.950	10.926
P 值	<0.001	0.852	<0.001	<0.001

3 讨论

3.1 不同心血管风险的高血压患者肠道菌群稳态发生改变 肠道菌群稳态与机体的细胞、营养物质共同作用,为维持人体健康发挥着巨大作用。研究表明,肠道稳态失调与妊娠期高血压<sup>[20]</sup>、难治性高血压<sup>[21]</sup>和遗传型高血压<sup>[22]</sup>等多种高血压关联紧密。根据测序结果,本研究所检测的 11 门细菌中,拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门相对丰度较高,三者共计占比超过 70%,与对照组相比,高血压患者的厚壁菌门、变形菌门相对丰度随着心血管风险的增加而升高,而拟杆菌门相对丰度却呈现出相反的趋势。拟杆菌门和厚壁菌门构成了人类肠道细菌的大部分,拟杆菌和厚壁菌的丰度相对稳定,两组丰度的变化不仅会导致高血压的发生,还会使宿主发生肥胖、糖尿病等,进一步增加高血压患者心血管风险<sup>[23-24]</sup>。同时,高血压患者的肠道环境厌氧水平升高,专性厌氧菌群比例增加,整体菌群稳态发生偏移;同时心血管风险与肠道应激状态相关,随着心血管风险的增加,肠道应激会使肠道菌群发生移位,诱发免疫反应和炎症反应,破坏局部厌氧环境,并驱动兼性厌氧类细菌(如变形菌门)大量增殖。本研究发现不同心血管风险的高血压患者肠道菌群的多样性、丰富度、均匀度等指标均出现降低的趋势,与现有报道<sup>[25-27]</sup>结论一致。由于高血压患者的心血管风险与肠道菌群多样性密切关联,肠道菌群的定期监测有望成为高血压患者的心血管风险评定的重要参考。

3.2 肠道菌群通过代谢物短链脂肪酸影响心血管风险 肠道菌群稳态与心血管风险关联性的内在机理仍有待探索,本研究对高血压患者的肠道菌群代谢物—短链脂肪酸进行分析,发现不同心血管风险的高血压患者的乙酸、丁酸和戊酸水平均较正常患者呈下降趋势。肠道短链脂肪酸主要由乙酸、丙酸、丁酸和戊酸组成,短链脂肪酸可以通过细胞因子影响中枢神经系统或通过迷走神经的传入纤维向大脑发出信号,影响中枢神经系统对血压的调控<sup>[28]</sup>;另一方面,交感神经系统反过来也会影响肠道菌群短链脂肪酸的代谢水平<sup>[29]</sup>。本研究中,心血管风险较高的高血压患者肠道丁酸水平较对照组变化较大,与梁菊萍等<sup>[30]</sup>对脑卒中患者肠道菌群的报道一致。丁酸主要由瘤胃球菌科、柔嫩梭菌、毛螺旋菌科等所产生,是心脑血管的一种潜在保护剂。肠道丁酸与氮化物和硝酸盐等物质的合成、代谢密切相关,而后者具有舒张血管、调节血压的作用。上述证据表明,肠道菌群稳态的改变可能会导致乙酸、丁酸和戊酸代谢水平的失衡,影响中枢神经系统和心脑血管系统,最终增加心血管风险。

3.3 局限与展望 本研究限于受试者依从性及目前技术条件,未能做到长期动态监测以明确高血压患者的心血管风险变化情况,同时个体之间肠道菌群的表达波动较大,容易受到短期行为、心理状态等因素的影响,本研究样本量较少,结论的代表性有待提升。下一步研究将聚焦于肠道菌群的多样性和短链脂肪酸代谢水平在高血压患者的心血管事件的定量诊断和预后评估价值,同时与探讨菌群变化在高血压患者的心血管风险管理中的中介作用。

综上,肠道菌群的多样性指数、均一性指数和代谢物短链脂肪酸水平与高血压患者的心血管风险密切相关,肠菌生物多样性指标及短链脂肪酸代谢水平在高血压患者的心血管风险评定中的作用有待进一步检验,同时菌群疗法可能作为潜在的干预手段以对抗高血压患者的心血管风险。

#### 参考文献

- [1] 龚萍,朱齐凤,尹洁云,等. 早产儿肠道菌群与早期 BMI 轨迹的研究[J]. 实用预防医学, 2022,29(7):844-848.
- [2] Sebastián DJ,Sánchez SC. From the intestinal flora to the microbiome[J]. Rev Esp Enferm Dig, 2018,110(1):51-56.
- [3] Yan X, Jin J, Su X, et al. Intestinal flora modulates blood pressure by regulating the synthesis of intestinal-derived corticosterone in high salt-induced hypertension[J]. Circ Res, 2020,126(7):839-853.
- [4] 兰菊杰,王春敏,崔国利,等. 赫哲族和汉族健康人群肠道细菌群落分析[J]. 中国微生态学杂志, 2021,33(5):513-518.
- [5] 易一行,喻容,谢锦慧,等. 肠道菌群在结核分枝杆菌感染及其治疗中的相关性研究进展[J]. 实用预防医学, 2021,28(12):1546-1550.
- [6] Heintz-Buschart A, Wilmes P. Human gut microbiome: function matters[J]. Trends Microbiol, 2018,26(7):563-574.
- [7] Tanaka M,Itoh H. Hypertension as a metabolic disorder and the novel role of the gut[J]. Curr Hypertens Rep, 2019,21(8):63.
- [8] 敬怀志,牟英,王敏,等. 慢性心力衰竭患者血脂水平与肠道菌群的相关性[J]. 心脑血管病防治, 2022,22(3):91-94.
- [9] 彭威风,张帆,杨若言,等. 降糖药对肠道菌群组成和多样性的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2022,34(4):485-488.
- [10] 罗云桃,黄维纲,赵冉. 肠道微生态平衡监测对妊娠高血压疾病的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2022,43(11):1389-1394.
- [11] Palmu J, Salosensaari A, Havulinna AS, et al. Association between the gut microbiota and blood pressure in a population cohort of 6,953 individuals[J]. J Am Heart Assoc, 2020,9(15):e16641.
- [12] Nakai M, Ribeiro RV, Stevens BR, et al. Essential hypertension is associated with changes in gut microbial metabolic pathways: a multisite analysis of ambulatory blood pressure[J]. Hypertension, 2021,78(3):804-815.
- [13] Unger T, Borghi C, Charchar F, et al. 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines[J]. J Hypertens, 2020,38(6):982-1004.
- [14] Flack JM, Adekola B. Blood pressure and the new ACC / AHA hypertension guidelines[J]. Trends Cardiovasc Med, 2020,30(3):160-164.
- [15] 王广平,徐宗凯,仇秀琴. 肠道菌群总 DNA 提取方法的研究[J]. 现代预防医学, 2012,39(2):405-407.
- [16] 陈冬梅,吴博,杨文庆. 硒营养状态对大鼠肠道菌群结构及炎症的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2019,31(3):291-296.
- [17] 杨秀清,陈彦梅,吴瑞薇,等. 煤地质环境微生物总基因组 DNA 提取方法的优化[J]. 生物技术通报, 2018,34(9):177-183.
- [18] Deurenberg RH, Bathoorn E, Chlebowicz MA, et al. Application of next generation sequencing in clinical microbiology and infection prevention[J]. J Biotechnol, 2017,243(1):16-24.
- [19] Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, et al. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. Appl Environ Microbiol, 2007,73(16):5261-5267.
- [20] 张锋英,邵秀兰,吴春峰,等. GDM 患者肠道微生物分布特征及与妊娠结局关系[J]. 中国计划生育学杂志, 2020,28(11):1793-1797.
- [21] 黄宏,肖珉,邹冲,等. 基于“心-脑-肠轴”理论概述肠道菌群与难治性高血压的发病[J]. 中华中医药杂志, 2021,36(8):4809-4811.
- [22] Konopelski P, Konop M, Perlejewski K, 等. 遗传性高血压表型影响肠道菌群组成,反之则不然[J]. 中华高血压杂志, 2021,29(11):1155.
- [23] 王振花,李潮生. 饮食作用的肠道菌群-免疫轴与高血压相关性的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2022,42(6):983-987.
- [24] 黄爽,陈琛,黄波. 柠檬苦素对营养性肥胖大鼠脂质代谢和肠道菌群的影响[J]. 吉林大学学报, 2022,48(4):858-865.
- [25] 朱佳源,郑淘,杨勇,等. 肠道菌群及其代谢产物与高血压的相关性研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2022,34(3):347-351.
- [26] 胡芳晓,杨洁,杨传华. 肠道菌群及其代谢产物对高血压影响的研究进展[J]. 医学综述, 2022,28(3):428-433.
- [27] 陈慧青,罗建权,龚金玉,等. 肠道菌群在高血压及其药物治疗中的作用研究进展[J]. 中南药学, 2022,20(1):140-145.
- [28] 刘环环,李瑞青,苏凯奇,等. 短链脂肪酸对脑卒中的保护作用机制及其与脑卒中后认知障碍关系的研究进展[J]. 中国全科医学, 2022,25(3):380-386.
- [29] 谭楚红,张铭思,杨梦佳,等. 肠道菌群和短链脂肪酸代谢紊乱与高血压性脑出血患者转归的相关性[J]. 国际脑血管病杂志, 2021,29(11):837-844.
- [30] 梁菊萍,董继存,杨旸. 不同脑卒中风险中老年人群肠道菌群的差异[J]. 中国微生态学杂志, 2021,33(7):813-817.

收稿日期:2022-08-22