

急性心肌梗死患者肠道菌群的变化*

张 月¹, 杨得振^{2△}

1. 陕西省核工业二一五医院心血管内科, 陕西咸阳 712000; 2. 陕西中医药大学附属医院肿瘤外科, 陕西咸阳 712000

摘要:目的 探究急性心肌梗死患者肠道菌群的变化。方法 选择陕西省核工业二一五医院 2017 年 1 月至 2018 年 9 月收治的 100 例急性心肌梗死患者纳入研究组, 同期于陕西省核工业二一五医院行冠状动脉造影检测排除冠心病的 100 例住院患者纳入对照组; 采集患者大便及血清标本, 采用实时荧光定量聚合酶链反应 (qPCR) 检测两组患者肠道优势菌群的差异, 同时测定研究组患者的血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平, 并与不同肠道菌群进行相关分析。结果 与对照组患者相比, 研究组患者的优势菌群明显改变, 肠杆菌及肠球菌占优势, 且研究组患者这些细菌水平与血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平呈正相关, 而双歧杆菌属、乳酸杆菌属水平与血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平呈负相关。结论 急性心肌梗死患者的肠道优势菌群发生改变, 优势菌群分布与心肌梗死患者的血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平存在相关性。

关键词:急性心肌梗死; 肠道菌群; 多样性; 实时荧光定量聚合酶链反应

中图分类号: R542.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)14-1978-04

Changes of intestinal flora in patients with acute myocardial infarction*

ZHANG Yue¹, YANG Dezhen^{2△}

1. Department of Cardiology, No. 215 Hospital of Shaanxi Nuclear Industry, Xianyang, Shaanxi 712000, China; 2. Department of Cancer Surgery, the Affiliated Hospital of Shaanxi TCM University, Xianyang, Shaanxi 712000, China

Abstract: Objective To explore the changes in intestinal flora diversity in patients with acute myocardial infarction. **Methods** A total 100 patients with acute myocardial infarction admitted to No. 215 Hospital of Shaanxi Nuclear Industry from January 2017 to September 2018 were selected into study group, other 100 hospitalized patients who underwent coronary angiography to exclude coronary heart disease were selected into control group. The patients' stool and serum samples were collected. The difference of intestinal dominant flora between the two groups was detected by real-time quantitative polymerase chain reaction. The serum brain natriuretic peptide and troponin levels of the study group were determined and compared, correlation analysis was performed on intestinal flora. **Results** Compared with the control group, the dominant flora of the study group changed significantly, and Enterobacter and Enterococcus were dominant which levels were significant higher. The number of these bacteria positively related with serum pro-brain natriuretic peptide and troponin levels. The Bifidobacteria and Lactobacillus levels negatively correlated with serum brain natriuretic peptide precursor and troponin levels. **Conclusion** In patients with acute myocardial infarction, the dominant flora changed. The distribution of dominant flora related to serum pro-brain natriuretic peptide and troponin levels of myocardial infarction patients.

Key words: acute myocardial infarction; intestinal flora; diversity; real-time quantitative polymerase chain reaction

随着人们生活水平的提高, 心血管疾病的发生率也日趋上升, 心血管疾病已经成为威胁人类健康的第一大杀手。急性心肌梗死 (AMI) 是较为常见的一种心血管疾病, 发病急、预后差^[1]。目前, 对于 AMI 的

主要治疗方法为溶栓治疗和介入治疗。近年来, 肠道屏障通透性改变与疾病的关系研究越来越多, 有研究发现, AMI 患者肠道屏障功能的完整性存在一定的损伤, 当肠道屏障功能受损时, 肠腔内的细菌、毒素较易

* 基金项目: 陕西省科技厅社会发展领域重点研发项目 (2018ZDXM-SF-001); 陕西省卫生健康委员会科研基金项目 (2018E018); 陕西省咸阳市科技成果推广计划项目 (2018KT-43)。

作者简介: 张月, 女, 主治医师, 主要从事心血管相关疾病研究。 △ 通信作者, E-mail: yangdezhen1985@163.com。

穿过屏障,从而进入血液循环,这些细菌、毒素可能造成心肌损伤,诱发心肌梗死^[2]。另一方面,肠道内细菌众多,各种菌群与肠道屏障功能的完整性存在密切的联系。在健康人肠道中,细菌种类及数量分布趋于平衡,当这种平衡被打破时即可引起肠道屏障功能完整性的破坏^[3]。本研究分析了 AMI 患者肠道中菌群多样性的变化,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将陕西省核工业二一五医院 2017 年 1 月至 2018 年 9 月收治的 100 例 AMI 患者纳入研究组,均符合中华医学会心血管病分会制定的 AMI 诊断和治疗指南中的相关诊断标准^[4],且均为原发性心肌梗死患者;同期于陕西省核工业二一五医院行冠状动脉造影检测的 100 例非冠心病住院患者纳入对照组,均经冠状动脉造影排除 AMI 的诊断,同时患者的血清学指标也提示无 AMI。本次研究所选取患者满足以下几项中任意一项则需排除^[5]:(1)既往有陈旧心肌梗死病史;(2)继发心脏破裂、腱索断裂、急性心力衰竭、严重瓣膜病;(3)严重肝肾功能不全;(4)近期(1 个月以内)患有炎症性肠病等;(5)近期(1 个月

以内)有超过 3 d 使用抗菌药物史。两组患者的一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。所有研究对象均自愿参与本研究,并签署知情同意书,且本研究经过陕西省核工业二一五医院伦理委员会审批通过后进行。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 采集研究组患者静脉血标本 2 mL、大便标本 200 mg,采集对照组患者大便标本 200 mg。血液标本送检验科进行血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平检测。大便标本置于无菌管中,保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待用。

表 1 两组患者一般资料比较

组别	n	年龄(岁)		性别(n)	
		年龄范围	平均年龄($\bar{x}\pm s$)	男	女
研究组	100	41~76	59.0±2.4	58	42
对照组	100	40~75	59.8±1.5	55	45
t	—	—	0.946	1.032	
P	—	—	0.073	0.084	

注:—表示无数据

表 2 主要肠道菌群 qPCR 引物^[6-8]

菌种	引物	引物序列	退火温度($^{\circ}\text{C}$)	扩增片段大小(bp)
真菌	Uni331F	TCC TAC GGG AGG CAG CAG T	58	466
	Uni797R	GGA CTA CCA GGG TAT CTA TCC TGT T	58	466
类杆菌属	Bac303F	GAA GGT CCC CCA CAT TG	56	418
	Bac708R	CAA TCG GAG TTC TTC G	56	418
双歧杆菌属	Bifid-F	CTC CTG GAA ACG GGT GG	55	550
	Bifid-R	GGT GTT CTT CCC GAT ATC TAC A	55	550
普拉梭菌	Fpra-F	GAT GGC CTC GCG TCC GAT TAG	58	199
	Fpra-R	CCG AAG ACC TTC TTC CTC C	58	199
乳酸杆菌属	Lac-F	AGC AGT AGG GAA TCT TCC A	58	341
	Lac-R	CAC CGC TAC ACA TGG AG	58	341
梭菌属 I	CG1-F	TAC CHR AGG AGG AAG CCA C	63	770
	CG1-R	GTT CTT CCT AAT CTC TAC GCA T	63	770
丛生梭菌	CG2-F	ACG CTA CTT GAG GAG GA	58	141
	CG2-R	GAG CCG TAG CCT TTC ACT	58	141
梭状芽孢杆菌	CG3-F	GAW GAA GTA TYT CGG TAT GT	52	152
	CG3-R	CTA CGC WCC CTT TAC AC	52	152
肠杆菌	Eco-F	CAT TGA CGT TAC CCG CGA GAA GAA GC	63	195
	Eco-R	CTC TAC GAG CTC AAG CTT GC	63	195
肠球菌	ENco-F	CCC TTA TTG TTA GTT GCC ATC ATT	61	144
	ENco-R	ACT CGT TGT ACT TCC CAT TGT	61	14

1.2.2 肠道菌群实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)分析 将保存的大便标本于室温条件下融化后,加入 200 mL 无菌水稀释,稀释完成后,取 5 mL

混悬液置于离心机以 5 000 r/min 离心 10 min。然后,采用 QIAGEN(德国)DNA 提取试剂盒对离心后的上清液中的细菌 DNA 进行提取,提取操作步骤严

格按照试剂盒说明书进行。提取完成后采用 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒(TaKaRa 公司,中国)对细菌进行 qPCR 分析,各细菌引物见表 2。其后将产物进行分析,同时用 10 倍稀释的标准质粒 DNA 在同一检测平台上进行检测,用于确定目标细菌 DNA 量。数据分析采用 $\Delta\Delta C_T$ 软件进行,所有反应均一式 3 份,重复进行,在每一次分析进行模板控制,细菌水平按照相应公式计算。

1.3 观察指标 分析两组患者肠道优势菌群、菌群种类及水平。同时测定研究组患者的血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平,并与不同肠道菌群进行相关

分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计分析,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;相关性分析采用 Spearman 相关。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者肠道优势菌群分布 与对照组患者相比,研究组患者的肠道优势菌群明显改变,肠杆菌及肠球菌水平明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者肠道菌群分布及优势菌群 qPCR 分析(copy/g)

组别	n	真菌	类杆菌属	双歧杆菌属	普拉梭菌	乳酸杆菌属
研究组	100	11.43±1.43	10.27±1.19	9.13±2.12	9.67±2.01	6.12±1.13
对照组	100	11.84±1.71	10.01±1.03	9.85±1.86	9.64±1.73	8.93±1.87
t		1.031	1.284	0.983	1.083	4.855
P		0.173	0.087	0.091	0.082	0.027

组别	n	梭菌属 I	丛生梭菌	梭状芽孢杆菌	肠杆菌	肠球菌
研究组	100	7.92±1.93	6.74±0.83	8.57±1.23	8.87±1.83	5.82±0.96
对照组	100	7.68±1.92	6.83±1.23	8.93±1.32	5.18±1.12	7.68±1.83
t		0.983	0.931	0.638	4.982	4.024
P		0.091	0.063	0.072	0.018	0.042

2.2 AMI 患者肠道菌群分布与血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平的相关性 对研究组患者的肠道菌群与患者血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平进行相关分析后发现,肠球菌、肠杆菌水平与脑钠肽前体、肌钙蛋白水平呈正相关($P < 0.05$),而双歧杆菌属、乳酸杆菌属等细菌水平与血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平呈负相关($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 肠道菌群数量与血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平的相关性

肠道菌群	脑钠肽前体		肌钙蛋白	
	r	P	r	P
真菌	0.016	0.723	-0.123	0.183
普雷沃菌属	0.035	0.652	0.034	0.034
双歧杆菌属	-0.613	0.000	-0.413	0.000
普拉梭菌	0.078	0.392	0.883	0.283
乳酸杆菌属	-0.354	0.000	-0.348	0.000
梭菌属 I	0.183	0.231	0.247	0.135
丛生梭菌	-0.063	0.472	-0.006	0.845
梭状芽孢杆菌	-0.194	0.046	-0.127	0.132
肠杆菌	0.571	0.001	0.582	0.000
肠球菌	0.523	0.000	0.423	0.000

3 讨 论

据统计,健康人体的肠道内大约含有 10 万亿至

100 万亿个细菌,种类繁多,其中厚壁菌、拟杆菌及放线菌等占肠道总菌群的 95% 以上。目前已知,健康人肠道菌群主要包括需氧菌、兼性厌氧菌、厌氧菌几类细菌。内源性肠道菌群会与肠黏膜共同形成一个有机的屏障,该屏障的主要作用是防御肠道内细菌的入侵,使人体与菌群处于动态平衡^[9]。此外,肠道菌群还在肠道内形成一个复杂的生态系统,其主要作用包括以下几个方面:参与维生素的合成,降解胆汁酸,消化部分营养物质。

当机体处于病理状态下,肠道菌群的种类及优势菌群会发生相应变化,且不同疾病患者的肠道菌群改变情况是有差异的。对于 AMI 患者,发生心肌梗死后患者心脏功能受到影响,主要表现为心脏的泵出变化,同时加上部分患者在发生心肌梗死后存在长期卧床等因素,可能共同影响患者肠道屏障功能,而导致其功能受损,肠道内的优势菌群在肠道微环境的改变下,也会发生改变^[10]。另一方面,肠道菌群发生改变以后,有害细菌产生的内毒素进入血液中可能会导致内毒素血症,严重情况下某些细菌进入体内还能导致全身炎症等,由此加重心肌的损伤^[11]。王玲等^[12]通过 qPCR 对冠心病患者肠道菌群进行检测发现,患者肠道菌群失衡,在患者的大便标本中所检测到的细菌总量较健康人明显增加,又以大肠埃希菌、幽门螺杆菌、链球菌等有害细菌增加为主,而传统意义上对机

体有益的双歧杆菌属、乳酸杆菌属则减少,这提示肠道菌群失衡可能是促进冠心病发生及病情加重的原因之一。BRUGERE 等^[13]研究发现,患有炎症性肠病等肠道基础疾病的患者其患冠心病的风险也更高,这与肠黏膜屏障功能受损相关。肠屏障功能损伤使肠黏膜通透性增加,引起肠道细菌及其产物进入循环系统,导致动脉粥样硬化的发生与发展^[14]。但目前多数研究都集中于研究冠心病与肠道菌群的关系,较少研究涉及 AMI 与肠道菌群的关系。本研究旨在探究 AMI 患者的肠道菌群是否发生改变,以期为临床治疗 AMI 时是否需要恢复肠道菌群,以及如何恢复肠道菌群的平衡提供一定的理论依据。

本研究发现,与对照组患者比较,研究组患者的优势菌群明显改变,肠杆菌及肠球菌占优势,而双歧杆菌属、乳酸杆菌属等细菌占比明显减少。前文已提到,大肠埃希菌、幽门螺杆菌、链球菌等细菌能产生内毒素等有害物质,而双歧杆菌属、乳酸杆菌属对于维持正常的消化功能却大有裨益。本研究结果提示,在 AMI 患者肠道内,其多样性不仅发生改变,同时有害类细菌的数量增多,在对 AMI 患者进行治疗时应注意肠道菌群平衡的调控。

同时,本研究还对 AMI 患者肠道优势菌群水平与血清学指标进行了相关分析,发现 AMI 患者的肠球菌、肠杆菌水平与脑钠肽前体、肌钙蛋白水平呈正相关,而双歧杆菌属、乳酸杆菌属等细菌水平与血清脑钠肽前体及肌钙蛋白水平呈负相关。以上研究结果说明,肠道菌群与血清学指标之间可能存在一定的相互作用,但其具体作用如何,尚需进一步研究。

综上所述,AMI 患者肠道菌群的优势菌群发生改变,优势菌群分布与 AMI 患者的部分血清学指标存在相关性。

参考文献

[1] OTTO C M, RAHIMI K. The gut microbiota and heart failure[J]. *Heart*, 2016, 102(11): 811-812.

[2] LAM V, SU J, HSU A, et al. Intestinal microbial metabolites are linked to severity of myocardial infarction in rats [J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0160840.

(上接第 1977 页)

[5] 孙宁玲, 李建平, 卢新政, 等. H 型高血压诊断标准依据解读[J]. *中华高血压杂志*, 2017, 25(6): 508-510.

[6] 李聪娜. 亚甲基四氢叶酸还原酶 C677T 基因多态性及血清同型半胱氨酸浓度与原发性高血压病关系的临床研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.

[7] 李琬. H 型高血压与缺血性脑卒中的临床相关性研究[J]. *中国医药指南*, 2016, 14(7): 85-86.

[8] 赵艳红, 刘涛. HSP27 对 Hcy 诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用及其机制研究[J]. *重庆医学*, 2018, 47(7):

[3] ZHU W, GREGORY J C, ORG E, et al. Gut Microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk[J]. *Cell*, 2016, 165(1): 111-124.

[4] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2010, 38(8): 675-690.

[5] 王丽君, 谢莲娜, 周雪, 等. 急性心肌梗死患者肠道菌群多样性分析[J]. *中国微生物学杂志*, 2017, 29(10): 1164-1167.

[6] DINAKARAN V, RATHINAVEL A, PUSHPANATHAN M, et al. Elevated levels of circulating DNA in cardiovascular disease patients: metagenomic profiling of microbiome in the circulation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105221.

[7] 黄莹, 谭超超. 急性心肌梗死患者肠道优势菌群分析[J]. *中国微生物学杂志*, 2014, 26(9): 1004-1008.

[8] WU Z W, LING Z X, LU H F, et al. Changes of gut bacteria and immune parameters in liver transplant recipients [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2016, 11(1): 40-50.

[9] 金华, 金钊, 张蕾蕾. 肠道菌群可能为高血压发病的环境因素[J]. *中国微生物学杂志*, 2015, 27(1): 121-125.

[10] 解傲, 袁杰利. 肠道菌群与代谢性疾病[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2013, 22(2): 102-104.

[11] EMOTO T, YAMASHITA T, KOBAYASHI T, et al. Characterization of gut microbiota profiles in coronary artery disease patients using data mining analysis of terminal restriction fragment length polymorphism: gut microbiota could be a diagnostic marker of coronary artery disease[J]. *Heart Vessels*, 2017, 32(1): 39-46.

[12] 王玲, 李群. 冠心病患者肠道菌群分布及其与尿酸代谢的关系分析[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2015, 17(6): 327-330.

[13] BRUGERE J F, BORREL G, GACI N, et al. Archaeobiotics: proposed therapeutic use of archaea to prevent trimethylaminuria and cardiovascular disease [J]. *Gut Microbes*, 2014, 5(1): 5-10.

[14] 周丹, 黄雨晴, 余雪菊, 等. 肠道菌群与心血管病关系的研究进展[J]. *中华高血压杂志*, 2018, 26(5): 417-423.

(收稿日期: 2018-11-11 修回日期: 2019-03-08)

892-895.

[9] 涂富莲, 杜海林, 陈涛, 等. 冠心病、高血压及冠心病合并高血压与 Hcy 临床相关性分析[J]. *中国继续医学教育*, 2016, 8(14): 24-26.

[10] 陈映慧, 梁惠碧, 周远青. MTHFR 基因多态性和同型半胱氨酸在冠心病脑梗死和糖尿病中的分析[J]. *检验医学与临床*, 2016, 13(A02): 114-117.

(收稿日期: 2018-10-29 修回日期: 2019-03-12)