

· 论著 ·

## 肠道菌群易位与老年糖尿病患者发生主要不良心血管事件的关系研究



扫描二维码  
查看更多

陆水英<sup>1</sup>, 汤之明<sup>1</sup>, 陈力行<sup>2</sup>, 刘琳<sup>1</sup>

**【摘要】** **目的** 探讨肠道菌群易位与老年糖尿病患者发生主要不良心血管事件 (MACE) 的关系。**方法** 选取2019年1月至2021年1月在肇庆市第一人民医院治疗的100例老年糖尿病患者作为研究对象, 根据随访期间患者是否发生MACE将其分为MACE (+) 组23例和MACE (-) 组77例。另选取同期在肇庆市第一人民医院接受健康体检的非糖尿病患者50例作为对照组。比较对照组、MACE (-) 组及MACE (+) 组操作分类单元 (OTU) 总数、香农指数及血浆肠道菌群百分比。比较MACE (-) 组和MACE (+) 组临床资料、实验室检查指标及左心室射血分数 (LVEF)。老年糖尿病患者发生MACE的影响因素分析采用多因素Cox比例风险回归分析, 绘制ROC曲线以评估  $\Delta$  三甲胺N-氧化物 (TMAO)、 $\Delta$  D-乳酸、Z评分 (基于  $\Delta$  TMAO和  $\Delta$  D-乳酸构建的新变量) 及Z评分+超敏C反应蛋白 (hs-CRP) +CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数对老年糖尿病患者发生MACE的预测价值。 $\Delta$  TMAO和  $\Delta$  D-乳酸与CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数的相关性分析采用Spearman秩相关分析。**结果** MACE (+) 组OTU总数、香农指数及血浆肠道菌群百分比均高于对照组和MACE (-) 组 ( $P < 0.05$ )。主坐标分析结果显示, MACE (+) 组血液细菌特征与对照组或MACE (-) 组的血液细菌特征明显分开 ( $P$ 值均  $< 0.001$ )。MACE (+) 组hs-CRP、CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数、TMAO、D-乳酸、 $\Delta$  CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数、 $\Delta$  TMAO、 $\Delta$  D-乳酸及Z评分高于MACE (-) 组, LVEF低于MACE (-) 组 ( $P < 0.05$ )。多因素Cox比例风险回归分析结果显示, hs-CRP、CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数、Z评分是老年糖尿病患者发生MACE的独立影响因素 ( $P < 0.05$ )。ROC曲线分析结果显示,  $\Delta$  TMAO、 $\Delta$  D-乳酸、Z评分、Z评分+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数预测老年糖尿病患者发生MACE的AUC分别为0.647 [95%CI (0.533, 0.761)]、0.630 [95%CI (0.527, 0.725)]、0.681 [95%CI (0.567, 0.794)]、0.822 [95%CI (0.738, 0.906)]。Spearman秩相关分析结果显示,  $\Delta$  TMAO与老年糖尿病患者  $\Delta$  CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数呈正相关 ( $r_s=0.200, P=0.047$ ),  $\Delta$  TMAO和  $\Delta$  D-乳酸与MACE (+) 组患者  $\Delta$  CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数呈正相关 ( $r_s$ 值分别为0.322、0.290,  $P$ 值分别为0.028、0.048)。**结论** 发生MACE的老年糖尿病患者全身微生物组多样性增加, 血浆肠道菌群百分比升高, 肠道菌群易位是老年糖尿病患者发生MACE的影响因素; 与  $\Delta$  TMAO、 $\Delta$  D-乳酸、Z评分单独预测相比, Z评分+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数预测老年糖尿病患者发生MACE的价值较高。

**【关键词】** 糖尿病; 老年人; 胃肠道微生物组; 肠道菌群; 主要不良心血管事件

**【中图分类号】** R 587.1 **【文献标识码】** A **DOI:** 10.12114/j.issn.1008-5971.2023.00.187

### Relationship between Intestinal Flora Translocation and Major Adverse Cardiovascular Events in Elderly Patients with Diabetes Mellitus

LU Shuiying<sup>1</sup>, TANG Zhiming<sup>1</sup>, CHEN Lixing<sup>2</sup>, LIU Lin<sup>1</sup>

1.Zhaoqing Medical College, Zhaoqing 526000, China

2.CCU, the First People's Hospital of Zhaoqing, Zhaoqing 526000, China

Corresponding author: TANG Zhiming, E-mail: lsy092207@163.com

**【Abstract】** **Objective** To explore the relationship between intestinal flora translocation and major adverse cardiovascular events (MACE) in elderly patients with diabetic mellitus. **Methods** A total of 100 elderly patients with diabetic mellitus treated in the First People's Hospital of Zhaoqing from January 2019 to January 2021 were selected as the research objects, and they were divided into MACE (+) group (23 cases) and MACE (-) group (77 cases) according to whether the patients developed MACE during the follow-up period. In addition, 50 non-diabetic subjects who received health examination in the First People's Hospital of Zhaoqing during the same period were selected as the control group. The total number of operational taxonomic units (OTU), Shannon index and percentage of intestinal flora in plasma were compared among control group, MACE (-) group and MACE (+) group. The clinical data, laboratory examination indexes and left ventricular ejection fraction (LVEF)

基金项目: 广东省高职教育医药卫生类专业教指委教改课题 (2019LX012); 广东省医学科学技术研究基金项目 (B2019253)

作者单位: 1.526000广东省肇庆市, 肇庆医学高等专科学校 2.526000广东省肇庆市第一人民医院CCU

通信作者: 汤之明, E-mail: lsy092207@163.com

were compared between MACE (-) group and MACE (+) group. Multivariate Cox proportional hazard regression analysis was used to analyze the influencing factors of MACE in elderly patients with diabetic mellitus, and ROC curve was drawn to evaluate the predictive value of  $\Delta$  trimethylamine N-oxide (TMAO),  $\Delta$  D-lactic acid, Z score (new variable based on  $\Delta$  TMAO and  $\Delta$  D-lactic acid) and Z score+high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) +CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte count in predicting MACE in elderly patients with diabetic mellitus. Spearman rank correlation analysis was used to analyze the correlation between  $\Delta$  TMAO and  $\Delta$  D-lactic acid and  $\Delta$  CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte count. **Results** The total number of OTU, Shannon index and percentage of intestinal flora in plasma in MACE (+) group were higher than those in control group and MACE (-) group ( $P < 0.05$ ). The results of principal coordinate analysis showed that the blood bacterial characteristics of MACE (+) group were obviously different from those of control group or MACE (-) group (both  $P$  values were  $< 0.001$ ). hs-CRP, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte count, TMAO, D-lactic acid,  $\Delta$  CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte count,  $\Delta$  TMAO,  $\Delta$  D-lactic acid and Z score in MACE (+) group were higher than those in MACE (-) group, and LVEF was lower than that in MACE (-) group ( $P < 0.05$ ). Multivariate Cox proportional hazard regression analysis results showed that hs-CRP, CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte count and Z score were independent influencing factors of MACE in elderly patients with diabetic mellitus ( $P < 0.05$ ). The ROC curve analysis results showed that the AUC of  $\Delta$  TMAO,  $\Delta$  D-lactic acid, Z score, Z score+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte count in predicting the MACE in elderly patients with diabetic mellitus were 0.647 [95%CI (0.533, 0.761)], 0.630 [95%CI (0.527, 0.725)], 0.681 [95%CI (0.567, 0.794)], 0.822 [95%CI (0.738, 0.906)], respectively. Spearman rank correlation analysis results showed that  $\Delta$  TMAO was positively correlated with  $\Delta$  CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte count in elderly patients with diabetic mellitus ( $r_s=0.200, P=0.047$ ), and  $\Delta$  TMAO and  $\Delta$  D-lactic acid were positively correlated with  $\Delta$  CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte count in patients in MACE (+) group ( $r_s$  values were 0.322, 0.290,  $P$  values were 0.028, 0.048, respectively). **Conclusion** In elderly diabetic mellitus patients with MACE, the systemic microbial diversity and the percentage of intestinal flora in plasma increase, and the translocation of intestinal flora is the influencing factor of MACE in elderly patients with diabetic mellitus. Compared with  $\Delta$  TMAO,  $\Delta$  D-lactic acid and Z score alone, Z score+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte count are more valuable in predicting the MACE in elderly patients with diabetic mellitus.

**【 Key words 】** Diabetes mellitus; Aged; Gastrointestinal microbiome; Intestinal flora; Major adverse cardiac events

糖尿病是心血管疾病的主要危险因素,而心血管疾病是老年糖尿病患者最常见的死亡原因<sup>[1]</sup>。因此,阐明老年糖尿病患者发生心血管事件的病理生理学机制及寻找新的生物标志物或靶点十分必要。研究表明,肠道微生物群可参与慢性病(如炎症性肠病、肝硬化、关节炎和2型糖尿病)的发生发展<sup>[2]</sup>,如紊乱的肠道微生物群与大鼠心肌梗死易感性有关<sup>[3]</sup>。此外,从肠腔逸出的微生物代谢产物三甲胺N-氧化物(trimethylamine N-oxide, TMAO)进入体循环后可通过触发单核细胞募集而激活免疫炎症反应<sup>[4]</sup>。但少有研究探讨肠道菌群及其代谢产物在糖尿病心血管事件中的作用。本研究假设糖尿病导致机体肠道屏障功能衰竭和肠道黏膜通透性增加,促使肠道细菌及其代谢产物易位进入全身循环,从而过度激活免疫炎症反应并增加患者心血管事件发生风险。为此,本研究招募了50例健康对照者和100例老年糖尿病患者,通过宏基因组测序分析其全身微生物组,进而分析肠道菌群易位与老年糖尿病患者发生主要不良心血管事件(major adverse cardiac events, MACE)的关系,现报道如下。

## 1 对象与方法

1.1 研究对象 选取2019年1月至2021年1月在肇庆市第一人民医院治疗的100例老年糖尿病患者作为研究对象,其均接受至少6个月的降血糖治疗。根据随访期

间患者是否发生MACE将其分为MACE(+)组23例和MACE(-)组77例。另选取同期在肇庆市第一人民医院接受健康体检的非糖尿病患者50例作为对照组。本研究经肇庆市第一人民医院伦理委员会审查通过(伦审2018-055-03),所有受试者签署知情同意书。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1)年龄 $\geq 65$ 岁;(2)临床资料完整。排除标准:合并肿瘤等严重疾病或严重外伤者。

1.3 观察指标 (1)全身微生物组多样性指标。使用十六烷基三甲基溴化铵法从三组受试者血液样本中提取基因组DNA,然后将基因组DNA稀释至1 ng/ $\mu$ l作为模板,以16S V4区域作为靶标进行扩增。引物序列:515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和806R(5'-GGACTCHVGGGTWTCTAAT-3')。使用Phusion High-Fidelity PCR Master Mix进行PCR,通过Thermo Scientific试剂盒(美国Thermo Fisher Scientific公司)将PCR产物进行纯化。使用Thermo Fisher Scientific公司生产的Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns建库试剂盒构建DNA文库,并进行Qubit定量和文库测试,然后使用Ion S5TM或Ion S5TMXL测序平台进行测序。使用Cutadapt V1.9.1软件获得原始数据,然后再进行质控过滤以获得有效数据。使用UPARSE软件对所有有效碱基进行操作分类单元(operational taxonomic units,

OTU) 聚类分析。采用QIIME 1.9.1软件计算血液样本的OUT总数和香农指数,使用R软件进行主坐标分析以挖掘三组受试者血液细菌特征的差异。(2) 血浆肠道菌群百分比。记录三组受试者血浆肠道菌群百分比。

(3) 收集MACE (+) 组和MACE (-) 组患者临床资料、实验室检查指标及左心室射血分数(left ventricle ejection fraction, LVEF),其中临床资料包括性别、年龄、BMI、吸烟情况、高血压发生情况及用药情况,实验室检查指标包括空腹血糖、总胆固醇、三酰甘油、白细胞计数、单核细胞计数、估算肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, eGFR)、超敏C反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)、CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数及血浆TMAO、D-乳酸。并计算ΔCD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数、ΔTMAO、ΔD-乳酸,以反映CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数、TMAO、D-乳酸变化情况,ΔCD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数=CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数<sub>发病第2天</sub>-CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数<sub>发病第1天</sub>,ΔTMAO=TMAO<sub>发病第2天</sub>-TMAO<sub>发病第1天</sub>,ΔD-乳酸=D-乳酸<sub>发病第2天</sub>-D-乳酸<sub>发病第1天</sub>。然后基于ΔTMAO和ΔD-乳酸构建一个新的变量——Z评分,首先计算ΔTMAO和ΔD-乳酸的Z分数,计算公式:Z分数=(x-μ)/σ,其中x为需要标准化的原始分数,μ为平均值,σ为标准偏差,然后将ΔTMAO和ΔD-乳酸Z分数的平均值作为Z评分。

1.4 随访 所有患者进行电话随访和门诊随访,主要终点事件为MACE(包括急性非致死性心肌梗死、急性缺血性卒中、心源性死亡及血运重建),随访截止时间为2022年3月。

1.5 统计学方法 应用SPSS 22.0软件进行数据处理。符合正态分布的计量资料以(x̄±s)表示,两组间比较采用成组t检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Tukey检验;不符合正态分布的计量资料以M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)表示,组间比较采用Mann-Whitney U检验;计数资料比较采用χ<sup>2</sup>检验;ΔTMAO、ΔD-乳酸与ΔCD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数的相关性分析采用Spearman秩相关分析;老年糖尿病患者发生MACE的影响因素分析采用多因素Cox比例风险回归分析,绘制ROC曲线以评估ΔTMAO、ΔD-乳酸、Z评分及Z评分+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数对老年糖尿病患者发生MACE的预测价值。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组、MACE (-) 组及MACE (+) 组全身微生物组多样性指标和血浆肠道菌群百分比 对照组、MACE (-) 组及MACE (+) 组OTU总数、香农指数及血浆肠道菌群百分比比较,差异有统计学意义(P<0.05); MACE (+) 组OTU总数、香农指数及血

浆肠道菌群百分比均高于对照组和MACE (-) 组,差异有统计学意义(P<0.05),见表1。主坐标分析结果显示, MACE (+) 组血液细菌特征与对照组或MACE (-) 组明显分开(P值均<0.001),见图1。

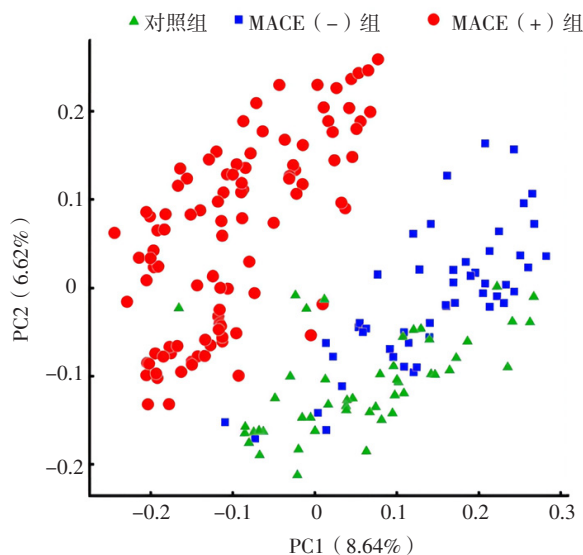
2.2 MACE (-) 组和MACE (+) 组临床资料、实验室检查指标及LVEF比较 MACE (-) 组和MACE (+) 组女性占比、年龄、BMI、吸烟率、高血压发生率、空腹血糖、总胆固醇、三酰甘油、白细胞计数、单核细胞计数、eGFR及胰岛素、口服降糖药、阿司匹林、他汀类药物、钙通道阻滞剂、ACEI/ARB使用率比较,差异无统计学意义(P>0.05); MACE (+) 组hs-CRP、CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数、TMAO、D-乳酸、ΔCD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数、ΔTMAO、ΔD-乳酸及Z评分高于MACE (-) 组, LVEF低于MACE (-) 组,差异有统计学意义(P<0.05),见表2。

表1 对照组、MACE (-) 组及MACE (+) 组OTU总数、香农指数及血浆肠道菌群百分比比较(x̄±s)

Table 1 Comparison of total number of OTU, Shannon index and percentage of plasma intestinal flora in control group, MACE (-) group and MACE (+) group

组别	例数	OTU总数	香农指数	血浆肠道菌群百分比(%)
对照组	50	1 488 ± 104	2.62 ± 0.26	8.26 ± 0.54
MACE (-) 组	77	1 105 ± 132	2.41 ± 0.22	8.42 ± 0.35
MACE (+) 组	23	1 587 ± 140 <sup>ab</sup>	3.26 ± 0.28 <sup>ab</sup>	10.77 ± 0.61 <sup>ab</sup>
F值		3.146	3.315	4.035
P值		0.029	0.020	0.005

注: MACE=主要不良心血管事件, OTU=操作分类单元; <sup>a</sup>表示与对照组比较, P<0.05; <sup>b</sup>表示与MACE (-) 组比较, P<0.05



注: MACE=主要不良心血管事件

图1 三组血液细菌特征的主坐标分析结果

Figure 1 Results of principal coordinate analysis of three groups of blood bacterial characteristics



表2 MACE (-)组和MACE (+)组临床资料、实验室检查指标及LVEF比较

Table 2 Comparison of clinical data, laboratory examination indexes and LVEF between MACE (-) group and MACE (+) group

项目	MACE (-)组 (n=77)	MACE (+)组 (n=23)	检验统计量值	P值
女性 [n (%)]	16 (20.8)	6 (26.1)	0.291 <sup>a</sup>	0.590
年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	74.3 ± 7.6	75.4 ± 8.2	0.892 <sup>b</sup>	0.374
BMI ( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	25.0 ± 4.0	24.5 ± 3.1	0.407 <sup>b</sup>	0.705
吸烟 [n (%)]	26 (33.8)	6 (26.1)	0.480 <sup>a</sup>	0.488
高血压 [n (%)]	35 (45.5)	12 (52.2)	0.321 <sup>a</sup>	0.571
用药情况 [n (%)]				
胰岛素	10 (13.0)	4 (17.4)	0.285 <sup>a</sup>	0.593
口服降糖药	35 (45.5)	10 (43.5)	0.028 <sup>a</sup>	0.867
阿司匹林	62 (80.5)	18 (78.3)	0.056 <sup>a</sup>	0.812
他汀类药物	40 (51.9)	13 (56.5)	0.149 <sup>a</sup>	0.700
钙通道阻滞剂	38 (49.4)	11 (47.8)	0.016 <sup>a</sup>	0.898
ACEI/ARB	30 (39.0)	11 (47.8)	0.575 <sup>a</sup>	0.448
空腹血糖 [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), mmol/L]	8.5 (8.0, 10.2)	8.9 (8.0, 10.5)	1.375 <sup>c</sup>	0.136
总胆固醇 [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), mmol/L]	4.7 (4.1, 5.2)	4.6 (4.1, 4.9)	0.926 <sup>c</sup>	0.363
三酰甘油 [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), mmol/L]	1.6 (1.1, 2.1)	1.5 (1.0, 2.0)	0.975 <sup>c</sup>	0.332
白细胞计数 [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), ×10 <sup>9</sup> /L]	10.5 (8.4, 12.8)	10.1 (8.1, 13.6)	0.171 <sup>c</sup>	0.889
单核细胞计数 [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), ×10 <sup>9</sup> /L]	0.50 (0.39, 0.60)	0.50 (0.40, 0.70)	0.826 <sup>c</sup>	0.491
eGFR ( $\bar{x} \pm s$ , ml · min <sup>-1</sup> · (1.73 m <sup>2</sup> ) <sup>-1</sup> )	107 ± 30	106 ± 36	0.012 <sup>b</sup>	0.936
hs-CRP [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), mg/L]	2.43 (1.38, 3.77)	4.53 (2.71, 4.96)	8.762 <sup>c</sup>	<0.001
CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> 单核细胞计数 [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), 细胞/μl]	22.6 (18.7, 27.6)	32.4 (26.2, 39.1)	8.195 <sup>c</sup>	<0.001
TMAO [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), mg/L]	1.02 (0.81, 1.37)	1.65 (1.06, 2.30)	3.082 <sup>c</sup>	0.034
D-乳酸 [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), mg/L]	28.2 (19.4, 33.2)	33.6 (27.3, 45.9)	4.113 <sup>c</sup>	0.018
ΔCD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> 单核细胞计数 [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), 细胞/μl]	2.79 (1.64, 3.61)	3.83 (2.05, 4.26)	3.295 <sup>c</sup>	0.029
ΔTMAO [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), mg/L]	0.31 (0.22, 0.39)	0.47 (0.75, 1.26)	3.576 <sup>c</sup>	0.023
ΔD-乳酸 [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), mg/L]	3.93 (2.47, 4.92)	5.15 (4.46, 6.27)	4.459 <sup>c</sup>	0.014
Z评分 [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> )]	0.71 (0.44, 0.89)	0.93 (0.75, 1.26)	6.104 <sup>c</sup>	0.002
LVEF [M (P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), %]	55 (49, 61)	47 (41, 52)	3.649 <sup>c</sup>	0.021

注: eGFR=估算肾小球滤过率, hs-CRP=超敏C反应蛋白, TMAO=三甲胺N-氧化物, LVEF=左心室射血分数; <sup>a</sup>表示χ<sup>2</sup>值, <sup>b</sup>表示t值, <sup>c</sup>表示Z值

2.3 老年糖尿病患者发生MACE影响因素的多因素Cox比例风险回归分析 将老年糖尿病患者是否发生MACE (赋值: 否=0, 是=1) 作为因变量, 排除存在多重共线性的指标后, 将hs-CRP (赋值: >2.64 mg/L=1, ≤2.64 mg/L=0)、CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数 (赋值: >25.8细胞/μl=1, ≤25.8细胞/μl=0)、Z评分 (赋值: >0.71=1, ≤0.71=0)、LVEF (赋值: >50%=0, ≤50%=1) 作为自变量, 采用向前逐步选择法, 进行多因素Cox比例风险回归分析, 结果显示, hs-CRP、CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数、Z评分是老年糖尿病患者发生MACE的独立影响因素 (P<0.05), 见表3。

2.4 ROC曲线 ROC曲线分析结果显示, ΔTMAO、ΔD-乳酸、Z评分、Z评分+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数预测老年糖尿病患者发生MACE的AUC分别为0.647 [95%CI (0.533, 0.761)]、0.630 [95%CI

表3 老年糖尿病患者发生MACE影响因素的多因素Cox比例风险回归分析

Table 3 Multivariate Cox proportional hazard regression analysis of influencing factors of MACE in elderly patients with diabetic mellitus

变量	β	SE	Waldχ <sup>2</sup> 值	P值	HR值	95%CI
hs-CRP	0.671	0.042	5.024	0.001	4.466	(1.842, 10.829)
CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> 单核细胞计数	0.579	0.008	4.371	0.020	3.492	(1.221, 9.988)
Z评分	0.802	0.036	5.402	<0.001	4.115	(2.057, 8.231)

(0.527, 0.725)、0.681 [95%CI (0.567, 0.794)]、0.822 [95%CI (0.738, 0.906)], 见表4。

2.5 相关性分析 Spearman秩相关分析结果显示, ΔTMAO与老年糖尿病患者ΔCD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数呈正相关 (r<sub>s</sub>=0.200, P=0.047); ΔD-乳酸与老年糖尿病患者ΔCD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数无直线相关关系 (r<sub>s</sub>=0.119, P>0.05)。ΔTMAO和ΔD-乳酸与MACE

**表4**  $\Delta$ TMAO、 $\Delta$ D-乳酸、Z评分及Z评分+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数对老年糖尿病患者发生MACE的预测价值

**Table 4** Predictive value of  $\Delta$ TMAO,  $\Delta$ D-lactic acid, Z score and Z score+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte count for MACE in elderly patients with diabetic mellitus

变量	AUC	95%CI	最佳截断值	灵敏度 (%)	特异度 (%)
$\Delta$ TMAO	0.647	(0.533, 0.761)	0.44 mg/L	75.0	57.0
$\Delta$ D-乳酸	0.630	(0.527, 0.725)	5.18 mg/L	96.9	25.4
Z评分	0.681	(0.567, 0.794)	0.82	44.0	90.0
Z评分+hs-CRP+CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> 单核细胞计数	0.822	(0.738, 0.906)	-	55.0	90.0

注：-表示无此项数据

(+) 组患者  $\Delta$ CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数呈正相关 ( $r_s$  值分别为0.322、0.290,  $P$ 值分别为0.028、0.048)。

### 3 讨论

研究表明, 约有 $10^{12}$ 种细菌定植在人类胃肠道, 其中机会性病原体有 $10^9$ 种<sup>[5]</sup>。本研究结果显示, MACE (+) 组OTU总数、香农指数及血浆肠道菌群百分比均高于对照组和MACE (-) 组; 主坐标分析结果显示, MACE (+) 组血液细菌特征与对照组或MACE (-) 组明显分开, 提示发生MACE的老年糖尿病患者全身微生物组与未发生MACE的老年糖尿病患者和对照者不同, 其主要表现为全身微生物组多样性增加, 而肠道菌群可能是导致全身微生物组多样性增加的主要原因。

TMAO和D-乳酸是肠道菌群的代谢产物, 二者均被认为是肠道菌群易位和肠道黏膜通透性增加的标志物<sup>[6]</sup>。临床研究表明, TMAO与糖尿病患者发生心血管并发症有关<sup>[7]</sup>。在糖尿病患者中, TMAO是其发生心血管事件的重要标志物<sup>[8]</sup>。此外, TMAO水平升高的糖尿病患者心血管疾病风险和主要心脏事件发生率升高<sup>[9]</sup>。血浆TMAO水平升高与舒张功能障碍发生率和死亡率增加有关<sup>[10]</sup>。本研究结果显示, MACE (+) 组TMAO、 $\Delta$ TMAO高于MACE (-) 组。D-乳酸是肠道屏障丧失和肠道黏膜通透性增加的标志物<sup>[11]</sup>。本研究结果显示, MACE (+) 组D-乳酸和 $\Delta$ D-乳酸高于MACE (-) 组; 多因素Cox比例风险回归分析结果显示, hs-CRP、CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数、Z评分是老年糖尿病患者发生MACE的独立影响因素, 提示肠道菌群易位是老年糖尿病患者发生MACE的影响因素。

ROC曲线分析结果显示,  $\Delta$ TMAO、 $\Delta$ D-乳酸、Z评分、Z评分+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数预测老年糖尿病患者发生MACE的AUC分别为0.647、0.630、0.681、0.822, 提示与 $\Delta$ TMAO、 $\Delta$ D-乳酸、Z评分单独预测相比, Z评分+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数预测老年糖尿病患者发生MACE的价值较高, 肠道菌群易位进入全身循环可能是诱导老年糖尿病患者发生MACE的主要原因之一。

本研究结果显示,  $\Delta$ TMAO与老年糖尿病患者 $\Delta$ CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数呈正相关,  $\Delta$ TMAO和 $\Delta$ D-乳酸与MACE (+) 组患者 $\Delta$ CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数呈正相关。推测肠道菌群代谢产物在体循环中的积累会触发单核细胞的募集, 从而激活全身炎症反应并最终导致心脏损伤<sup>[12]</sup>。研究表明, 采用TMAO等肠道菌群代谢产物刺激单核细胞亚群可产生促炎细胞因子TNF- $\alpha$ , 进而调节免疫反应<sup>[13]</sup>。这种肠道菌群的驱动作用也得到了既往研究的支持, 即肠道菌群可以通过调节造血功能而直接影响先天免疫细胞的发育<sup>[14]</sup>。有证据表明, 骨髓含有CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞库<sup>[15]</sup>, 表明MACE发生后血液循环中的CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞可能直接从骨髓或脾脏库中调动。

综上所述, 发生MACE的老年糖尿病患者全身微生物组多样性增加, 肠道菌群易位是老年糖尿病患者发生MACE的影响因素; 且与 $\Delta$ TMAO、 $\Delta$ D-乳酸、Z评分单独预测相比, Z评分+hs-CRP+CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>单核细胞计数预测老年糖尿病患者发生MACE的价值较高。但本研究样本量有限, 可能影响结果的可信度。未来仍需通过前瞻性、大样本量研究进一步验证本研究结果。

作者贡献: 陆水英进行文章的构思与设计, 结果分析与解释, 负责撰写、修订论文; 刘琳进行研究的实施与可行性分析; 陈力行进行数据收集、整理、分析; 汤之明负责文章的质量控制及审校, 并对文章整体负责、监督管理。

本文无利益冲突。

### 参考文献

- [1] 李建新, 李莹, 刘芳超, 等.中国 $\geq 40$ 岁糖尿病患者的心血管疾病风险[J].中华心血管病杂志, 2020, 48(11): 968-974. DOI: 10.3760/cma.j.cn112148-20191203-00733.
- [2] 梁仙志, 廖旻晶, 王宏波, 等.肠道微生物群与部分人类疾病的研究进展[J].基因组学与应用生物学, 2020, 39(12): 5874-5880. DOI: 10.13417/j.gab.039.005874.
- [3] SONG T T, GUAN X, WANG X, et al. Dynamic modulation of gut microbiota improves post-myocardial infarct tissue repair in rats via butyric acid-mediated histone deacetylase inhibition [J]. FASEB J, 2021, 35(3): e21385. DOI: 10.1096/fj.201903129RRR.
- [4] YOSHIDA N, YAMASHITA T, HIRATA K I. Gut microbiome and cardiovascular diseases [J]. Diseases, 2018, 6(3): 56. DOI: 10.3390/diseases6030056.
- [5] ZHU Y Q, LI Q Q, JIANG H. Gut microbiota in atherosclerosis: focus on trimethylamine N-oxide [J]. APMS, 2020, 128(5): 353-366. DOI: 10.1111/apm.13038.
- [6] CHEN Y J, PU W G, MASWIKITI E P, et al. Intestinal congestion and reperfusion injury: damage caused to the intestinal tract and distal organs [J]. Biosci Rep, 2021, 41(9): BSR20211560. DOI: 10.1042/BSR20211560.