



氧化三甲胺联合短链脂肪酸在 动脉粥样硬化风险预测中的前景*

石志超¹⁾ 田栩萍²⁾ 陈思易³⁾ 刘世国^{2)**}

(¹⁾ 湖北中医药大学检验学院, 武汉 430065; (²⁾ 湖北省第三人民医院检验科, 武汉 433000;

(³⁾ 荆门市人民医院生殖医学中心, 荆门 448000)

摘要 动脉粥样硬化 (AS) 是心血管疾病的主要病理基础, 其发病率逐年攀升, 并呈现年轻化趋势。当前诊断手段主要依赖于影像学检查, 但这些方法仅能识别晚期病变, 且对斑块易损性评估准确性不足; 同时, 现有的治疗方法也存在局限性, 因此亟需开发更优的早期诊断方法与更有效的治疗策略。近年来研究表明, 肠道微生物群及其代谢产物在 AS 的发生发展中起着关键作用, 其中, 氧化三甲胺 (TMAO) 和短链脂肪酸 (SCFAs) 作为重要的肠道微生物代谢产物, 联合检测可从抗炎-促炎、促栓-抗栓、脂质代谢紊乱-脂质稳态维持等多维度精准反映 AS 风险, 为临床早期干预提供更准确的依据。本综述旨在探讨 TMAO 与 SCFAs 的生成机制、生物学作用及其在 AS 预测中的协同潜力, 为构建准确、全面的 AS 风险评估体系提供理论支持, 并为未来临床应用提供指导。

关键词 动脉粥样硬化, 氧化三甲胺, 短链脂肪酸, 肠道微生物代谢标志物, 联合检测

中图分类号 R543.3

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0399

CSTR: 32369.14.pibb.20250399

心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 是当今社会中死亡率极高的疾病之一。在疾病的病理变化中, 动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 通常是心血管疾病的病理基础^[1]。近年来, 受现代饮食结构及运动习惯变化的影响, 该病发病率不断增高, 且据《中国心血管健康与疾病报告 2023》显示, CVD 相较于 10 年前正逐渐年轻化^[2]。AS 的发病机制复杂, 通常被认为是由于多种因素及分子机制导致的, 常见的危险因素包括高脂血症、高血压、吸烟、糖尿病及局部和全身性的炎症等^[3]。现代医学认为, 单一的 AS 并不致命, 在破裂或侵蚀的 AS 斑块上叠加血栓形成才会引发危及生命的临床事件^[4-5]。目前, 诊断 AS 主要依赖于超声 (ultrasonic sound, US)、磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 和计算机断层扫描术 (computer tomography, CT) 等影像学检查, 但这些手段成本高昂、辐射风险存在, 且只能识别晚期病变, 对斑块易损性的评估不够精准^[6]。现有的 AS 治疗以药物和手术为主, 但长期用药会导致肝

损伤、胃肠道出血、肌肉不适和心律失常; 手术对患者生命体征要求较高, 且可能导致再狭窄或术后出血并发症^[6]。因此, 开发一种非侵入性、低成本且能早期识别高危人群的诊断工具至关重要。

近年来, 肠道微生物群及其代谢产物被发现与 AS 的发生发展密切相关^[7-10]。有趣的是, 部分肠道微生物代谢物 (如氧化三甲胺 (trimethylamine N-oxide, TMAO)) 表现出促 AS 的作用, 而另一些 (如短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs)) 则具有显著的保护作用。来自肠道微生物代谢的短链脂肪酸可能在降低血液胆固醇、调节葡萄糖代谢及抑制炎症方面发挥出至关重要的作用^[11]; 而三甲胺 (trimethylamine, TMA) 转化为氧化三甲胺后, 会对血小板聚集和血栓的形成产生影响^[11-12]。这些证据表明, 通过肠道微生物群及

* 湖北省卫健委指导性项目 (WJ2019F171) 资助。

** 通讯联系人。

Tel: 027-83743001, E-mail: 605922820@qq.com

收稿日期: 2025-09-08, 接受日期: 2025-12-10

其代谢物诊断与治疗AS具有潜在价值。但目前仅存在单一使用其中一种生物标志物的情况,如单独使用TMAO对AS进行风险预测,其仍具有一定的局限性,例如TMAO个体化差异较大(受饮食、年龄与性别影响较大^[13-14]),且其还受多种非心血管因素影响(如肾脏功能与神经系统疾病的影响^[13]),可能无法特异性反映血管机制。本综述旨在探讨TMAO与SCFAs的生成机制、生物学作用及其在AS预测中的协同潜力,为构建准确、全面的AS风险评估体系提供理论依据,并为未来的临床应用提供指导。要阐明TMAO与SCFAs在AS中的协同预测价值,首先需明确二者的源头与功能,即它们如何被肠道微生物群代谢生成,以及各自在心血管系统中的生物学效应,这是解析其与AS关联的基础。

1 TMAO与SCFAs的代谢来源与生物功能

1.1 TMAO的代谢来源与生物功能

TMAO的前体物质TMA主要由肠道内厚壁菌属、变形菌属等菌群,代谢饮食中的胆碱、肉碱生成,生成的大部分TMA经门静脉入肝^[15],在黄素单加氧酶3(flavin-containing monooxygenase 3, FMO3)催化下转化为TMAO^[16]。尿排泄是TMAO从体循环中消除的主要途径。一项关于TMAO在人体中代谢方式的研究表明,40名健康男性在摄入d9-TMAO(氘标记TMAO)15 min后,即可在血浆中被检测到TMAO,且在摄入后前6 h内消除率最大甚至可达67%,24 h后约96%的TMAO可通过尿液排出^[17]。需注意的是,人类还可通过鱼类、贻贝类海洋生物直接摄入TMAO。研究显示,摄入鱼类后的餐后TMAO浓度比摄入其他富含胆碱或肉碱的食物高约50倍^[18]。且FMO3活性受遗传(如原发性三甲胺尿症)、年龄、十字花科吲哚类物质影响,均可能导致TMAO水平波动^[19-20]。这意味着饮食因素在个体TMAO水平波动中占有重要地位,可能在临床研究解释个体差异时需重点考虑。

近年来的研究发现除心血管系统外,TMAO还可能通过“微生物-肠-脑”轴的双向通信途径参与神经系统疾病^[21]。目前,已在人脑脊液中检测到TMAO,其来源可能为肝脏合成后穿越血脑屏障^[22],或来自大脑中合成(目前已在成人脑中检测到FMO3的存在^[23])。Geng等^[24]的研究发现,TMAO在体内和体外促进AS,且CD36/

MAPK/JNK通路可能在TMAO诱导的泡沫细胞形成中起关键作用。研究显示,血清TMAO水平升高与人类早期AS呈正相关^[25],TMAO可用于预测稳定型冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)和急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)患者近期和长期的死亡风险;荟萃分析和剂量反应分析研究表明,血浆TMAO浓度与冠心病(coronary heart disease, CHD)患者主要不良心血管事件(major adverse cardiovascular events, MACE)发生率呈正相关^[26];脑卒中患者中TMAO水平的升高与促炎性CD14⁺和CD16⁺单核细胞百分比升高显著相关,TMAO首次被证实作为卒中患者MACE的独立预测因素(风险比为1.690;95%置信区间为1.030至2.771)^[27]。已有研究提出通过抑制TMA的水平来降低循环中的TMAO水平,作为潜在的CVD治疗策略^[28]。TMAO的促AS效应为其作为风险标志物提供了理论依据,支持其在CVD风险评估中的应用。

1.2 SCFAs的代谢来源与生物功能

SCFAs通常指链长为1~6个碳原子的饱和脂肪酸^[29-30],是不同肠道细菌在盲肠和结肠中通过发酵膳食纤维产生的羧酸,主要包括乙酸盐(acetate)、丙酸盐(propionate)和丁酸盐(butyrate)^[31]。乙酸和丙酸主要由嗜黏蛋白阿克曼菌等产生,丁酸则主要由普拉梭菌生成。有研究显示,将生成乙酸和丙酸的细菌(如嗜黏蛋白阿克曼菌)与生成丁酸的细菌(如普拉梭菌)进行交叉培养,能够有效提升短链脂肪酸的丰度,并且对炎症和肿瘤具有良好的预防和治疗效果^[32]。

SCFAs可作用于多种细胞类型,通过调节宿主代谢、肠道功能和免疫功能等重要生物过程^[33],延缓疾病进程。在最近的研究中发现,乙酸盐可维持能量平衡、代谢稳定、抗氧化及线粒体应激,并影响动物和人类的脂质代谢^[34-35];丙酸盐作为G蛋白偶联受体41(G-protein coupled receptor 41, GPR41)/GPR43激活剂,可靶向肠道神经系统,对6-羟基多巴胺诱导的帕金森病发挥神经保护作用^[36],同时还能保护血管内壁、抑制肠道胆固醇吸收、调节血脂异常,并减少主动脉粥样硬化的面积^[37-38];而在肠道疾病中,丁酸盐通过与G蛋白偶联受体相互作用和抑制组蛋白脱乙酰酶(histone deacetylase, HDAC),增强小鼠的肠道屏障功能并抑制肠道炎症反应^[39]。此外,SCFAs与胆汁酸代谢可能存在交叉调节机制,可能间接影响FMO3的

表达和TMAO水平, 这提示两类代谢物可能通过代谢网络而非单一路径发生关联。结合上述证据, SCFAs在抗AS方面具有重要潜力, 但其具体机制仍需进一步研究明确。

综上所述, TMAO与SCFAs虽同属肠道微生物代谢产物, 却展现出截然不同的生物学特性。TMAO倾向于通过脂质代谢、加剧炎症反应等方面造成血管损伤; SCFAs各亚型则通过免疫调节、改善脂质代谢等多方面发挥抗AS作用。二者功能上的对立性提示, 在AS发病过程中二者可能存在动态平衡关系, 其协同效应或拮抗效应可能是解析AS病理机制的关键。

2 TMAO与SCFAs在AS发病过程中的协同与对立

2.1 TMAO促进AS的机制

AS是以动脉内斑块堆积和动脉壁增厚为特征的疾病, 其形成机制复杂, 涉及炎症反应、血栓形成、脂质代谢紊乱等多个方面(图1)。近年来研究表明, TMAO作为AS的预测因子及促进因子, 可通过多种机制加剧AS进展^[15]。

2.1.1 TMAO干扰胆固醇代谢, 促进泡沫细胞生成

实验证据显示, AS斑块中TMAO介导的泡沫细胞形成可能通过多种途径实现^[40]。在早期研究中, TMAO可通过上调CD36及清道夫受体A, 增强巨噬细胞对胆固醇的摄取^[41]。另有研究表明, TMAO可通过MAPK/JNK通路来介导CD36的表达增强和促进泡沫细胞的形成^[24]; 部分人体研究报告显示, 血浆TMAO水平升高的CVD患者, 常伴高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)水平下降^[42]。而HDL介导的胆固醇外流是反向转运的关键步骤, 也被认为是HDL发挥抗AS作用的主要机制。这提示, HDL功能障碍可能与TMAO的促AS作用机制相关, 即TMAO可干扰胆固醇的反向运输。

2.1.2 TMAO促进炎症和内皮功能障碍

血管内皮细胞功能障碍被认为是AS早期的关键环节, 其特征为活性氧类(reactive oxygen specie, ROS)和促炎因子生成增加, 同时伴随血管张力调节关键物质——NO的生物利用度下降^[43]。研究表明, TMAO会升高内皮细胞中白介素-6(interleukin-6, IL-6)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)及ROS的水平, 同时降低NO生成^[44], 并通过激活核因子 κ B(nuclear

factor- κ B, NF- κ B)信号通路, 诱导内皮细胞表达细胞因子和黏附分子, 从而促进单核细胞黏附^[45]。

另有充分的证据表明, TMAO可通过多种途径直接激活炎症反应^[46-47], 除上述提到的升高内皮细胞中的IL-6、CRP和ROS等水平外, TMAO还可促进炎症信号通路激活, 尤其是NLRP3炎症小体通路。该通路同时参与加剧氧化应激、诱导血管细胞内皮凋亡和增加血管通透性, 紧密连接蛋白对于维持血管内皮的完整性是必不可少的, TMAO会抑制内皮细胞中紧密连接蛋白1的表达, 而抑制NLRP3可阻止这一现象^[17]。体外实验还发现, TMAO可通过上调琥珀酸脱氢酶B(succinate dehydrogenase B, SDHB)表达, 破坏静脉内皮细胞线粒体结构与功能, 进而增加ROS生成^[48]。这为TMAO促AS作用提供了新的分子机制依据。

2.1.3 TMAO增强血小板聚集, 促进血栓形成

首个已知的TMAO促进血栓形成的机制是TMAO直接增强血小板对多种激动剂的敏感性, 具体表现为体内血栓形成增加和血小板过度激活状态(如细胞内 Ca^{2+} 释放增强)。TMAO的饮食前体物质(如胆碱)也可提高血小板敏感性, 增加体内血栓形成风险^[49]。

目前已有研究证明, 3, 3-二甲基-1-丁醇(neohexanol, DMB)具有降低血栓形成可能性的治疗策略, 其作用机制是抑制微生物胆碱TMA裂解酶活性和多菌种培养物中TMA的产生^[15], 这种治疗策略可以显著降低富含血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)中的TMAO水平和减少ADP依赖性血小板聚集, 而外源性补充TMAO可逆转这种抑制效应^[50]。这些证据支持了微生物群-TMAO-血栓形成之间的关联性。

近期研究提出, TMAO可诱导血管内皮细胞组织因子(tissular factor, TF)的表达和活性, 从而促进AS血栓形成^[17]。将TMAO与人冠状动脉内皮细胞共同培养, 可上调TF表达并增强TF活性及凝血酶生成^[51]。总体而言, TF是TMAO相关动脉血栓形成潜能的介质, 且可通过非致死性的针对抑制肠道微生物TMA裂解酶实现特异性阻断^[52]。上述研究表明, TMAO可通过多种机制协同促进血栓形成, 进而加剧AS的形成。

2.2 SCFAs对AS的保护作用机制

AS是一种慢性炎症性疾病, 可导致卒中甚至死亡等不良事件, 其病理过程涉及炎症因子(包括各种细胞因子及黏附因子)的表达及脂质代谢紊乱

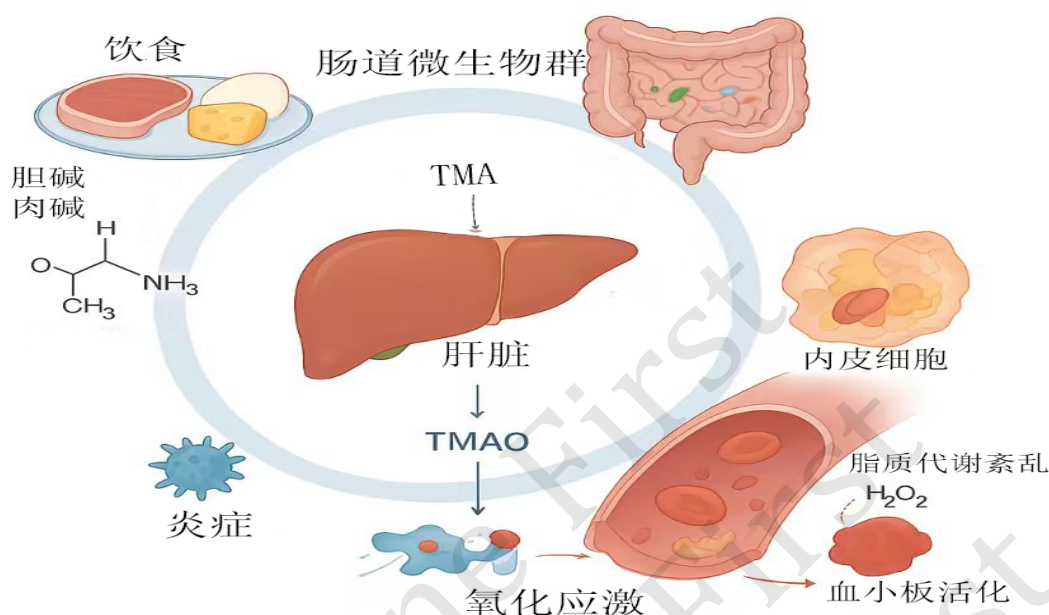


Fig. 1 Mechanism of gut microbiota-derived TMAO in atherosclerotic pathogenesis via inflammation, oxidative stress, and platelet activation

图1 肠道微生物群衍生的氧化三甲胺通过炎症、氧化应激和血小板活化在动脉粥样硬化发病机制中的作用机制

TMA: 三甲胺 (trimethylamine); TMAO: 氧化三甲胺 (trimethylamine N-oxide)。

等。与TMAO的“破坏作用”相反，SCFAs多通过各种途径改善AS进展（图2）。而近年来的研究也证实，SCFAs在心血管疾病中发挥出关键作用^[53]。

2.2.1 SCFAs促进Treg细胞分化，改善内皮功能，增强免疫耐受

AS斑块中存在大量促炎细胞因子，包括干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、白介素-12 (interleukin-12, IL-12)、转化生长因子 β (Transforming growth factor- β , TGF- β)和TNF- α 。既往研究显示，乙酸盐、丙酸盐和丁酸盐可通过调节调节性T细胞 (Regulatory T cells, Treg cells) 生成或抑制HDAC活性，从而在AS抗炎作用中发挥重要作用^[54]。在AS的起始阶段，以血管内皮功能障碍与结构完整性破坏为特征，继而触发内皮细胞活化与表型转化，促使脂质、巨噬细胞及其他白细胞向动脉壁募集与浸润^[55]。SCFAs作为肠道代谢产物，可与巨噬细胞及树突状细胞表面的G蛋白偶联受体 (GPR109a) 结合，抑制促炎因子IL-6生成并上调抗炎因子IL-10的表达^[56]。该机制会促使Treg细胞分化，同时抑制促炎性Th17细胞增殖。

另有研究表明，丁酸盐可通过调节转录因子叉头蛋白P3 (forkhead box protein P3, Foxp3) 的分化影响Treg细胞功能，而Foxp3对抑制多种炎症反应至关重要^[57-58]。

Li等^[59]的研究发现，SCFAs通过激活GPR41/43和抑制HDACs，介导了SCFAs对IL-6、IL-8的生成作用及血管细胞黏附分子1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1) 的表达和外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 与单层细胞的黏附作用。此外，Haghikia等^[37]的研究发现，丙酸盐可抑制主要肠道胆固醇转运蛋白NPC1L1，增加肠道中IL-10和Treg细胞的水平。上述结果表明，多种SCFAs可通过相关通路改善内皮功能及机体炎症状态，从而预防AS形成。

2.2.2 SCFAs改善脂质代谢

高血脂是AS的常见危险因素。Campbell等^[60]的研究报告指出，SCFAs在胆固醇生成中发挥作用。Haghikia等^[37]在动物实验：将Apoe^{-/-}小鼠用高脂饮食喂养建立AS模型后，给予丙酸盐治疗，可显著降低小鼠总胆固醇、低密度脂蛋白 (low-

density lipoprotein, LDL) 和极低密度脂蛋白 (very-low-density lipoprotein, VLDL) 的水平。在 AS 炎症状态下, 载脂蛋白 A-I (ApoA-I) 浓度降低可能通过抑制具有抗炎作用的 HDL 和丁酸盐 (C4) 促进 AS, 而后者可挽救 ApoA-I 生成。在与 HepG2 细胞共培养的 Caco-2 细胞模型中发现, 肝细胞 ApoA-I 的表达上调, 提示肠道 SCFAs 可通过影响肝脏功能调控脂质代谢^[61]。Bultman 等^[62] 的研究显示, 罗斯氏菌-膳食纤维-丁酸盐轴可减小 AS 斑块体积, 但对胆固醇和甘油三酯水平无影响, 其机制可能是通过与膳食植物多糖相互作用减轻全

身炎症, 从而改善 AS。同样的, 在 Kasahara 等^[63] 的研究中, 肠道内直接给予丁酸盐也可能产生动脉保护效应。

显然, 不同的 SCFAs 在 AS 的各发展阶段会产生各种迥异的效应。例如丙酸在早期更倾向于改善血脂, 而丁酸在晚期更有助于抑制炎症和稳定斑块结构。如若将丙酸盐与丁酸盐联合使用, 在脂质代谢方面, 可能成为 AS 治疗的新策略, 而其他 SCFAs 的作用机制及潜在并发症还有待进一步研究发现。

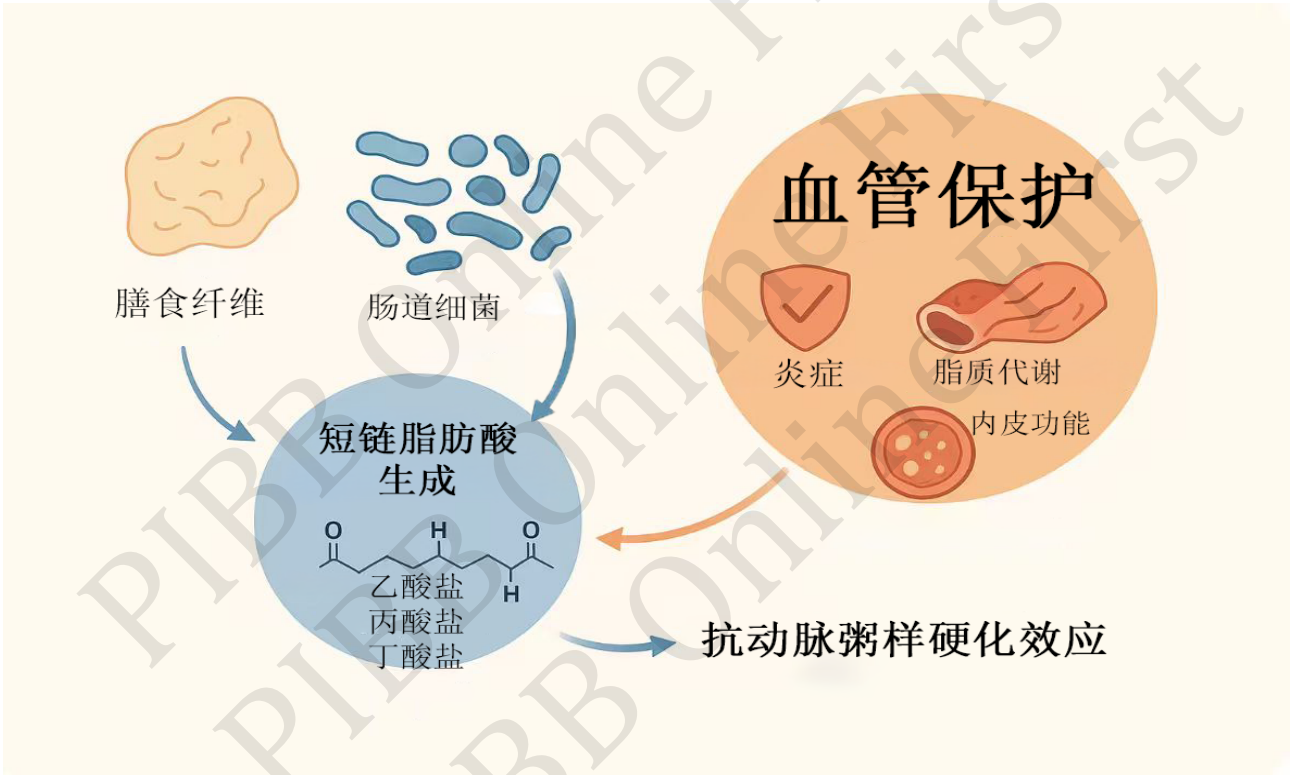


Fig. 2 SCFA-mediated vascular protection and anti-atherosclerotic effects via dietary fiber and intestinal bacteria
图2 膳食纤维和肠道菌群生成的短链脂肪酸对血管的保护作用及抗动脉粥样硬化效应

2.3 TMAO与SCFAs间的相互关系与代谢平衡

TMAO 与 SCFAs 二者虽然同源于肠道微生物代谢, 但在心血管代谢疾病中发挥截然相反的作用, 二者的动态平衡也对人体健康至关重要 (图3)。

SCFAs 由肠道微生物通过厌氧发酵产生, 除了能延缓 CVD 的进展, 还能调节 2 型糖尿病^[64]、肥胖症^[65]、慢性肾脏病、高血压^[66] 等疾病, 改善肠道菌群的组成。有研究显示, 无论长期或是短期的

高脂饮食都可影响肠道微生物的水平, 降低可生成 SCFAs 的罗斯氏菌的水平^[67], 进而可能影响到 SCFAs 的生成; 另有研究显示, 嗜黏蛋白阿克曼菌 (即可生成乙酸和丙酸的菌群) 后生元制剂给药可显著降低小鼠胆碱饮食诱导的血浆 TMAO 水平^[68]。基于此, 推测高纤维的饮食会提高产 SCFAs 菌群的丰度, 从而可能影响到 TMA 的生成, 进而影响 TMAO 的生成, 但这可能还需要相关实验的进一步验证, 而这可能为影响 TMAO 的浓度

水平提供了另一种思路。此外, SCFAs的抗炎作用(如通过与GPR109a结合抑制IL-6生成并提升IL-10的表达)可能与TMAO促进内皮细胞生成IL-6、CRP等促炎因子作用互相拮抗;二者在脂质代谢方面也呈现出功能上的差异, TMAO具有干扰胆固醇反向运输的作用, 破坏胆固醇的正常清除途径, 而SCFAs则通过各种途径调节脂质代谢(如胆固醇合成/脂质代谢等), 参与维持脂质稳态。二者分

别从“干扰”与“调节”的角度, 影响脂质代谢的平衡状态, 进而可能影响AS的病理进展。

结合二者在炎症、脂质代谢、血栓形成等AS核心病理环节中的拮抗效应, 使其单独作为生物标志物难以全面反映疾病风险, 如TMAO升高可能被SCFAs的部分保护机制抵制。因此, 基于二者动态平衡的检测, 可能成为突破单一标志物局限性的关键策略。

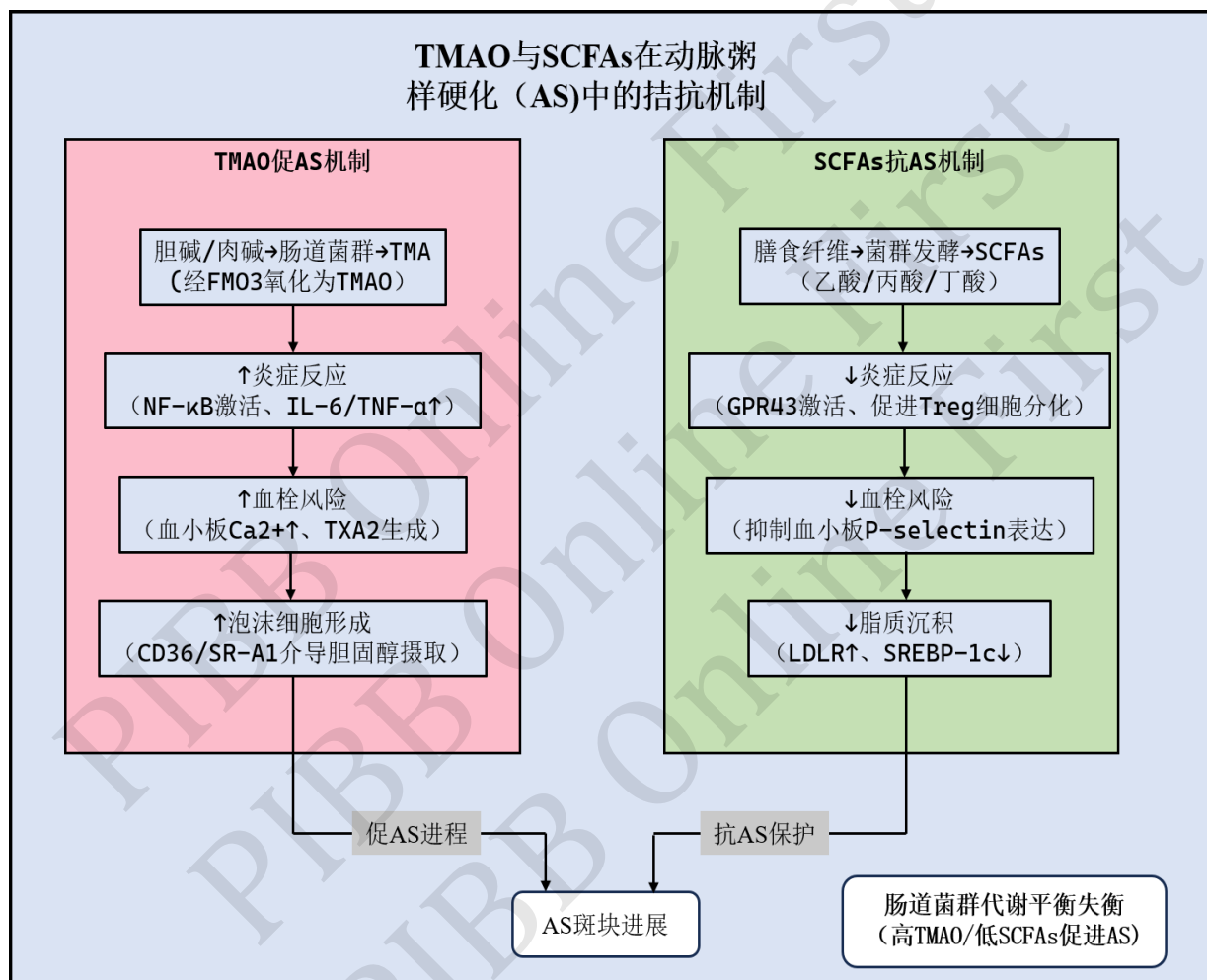


Fig. 3 Antagonistic mechanisms of TMAO and SCFAs in atherosclerosis pathogenesis

图3 氧化三甲胺和短链脂肪酸在动脉粥样硬化发病中的拮抗机制

TMAO: 氧化三甲胺 (trimethylamine N-oxide); SCFAs: 短链脂肪酸 (short-chain fatty acids); AS: 动脉粥样硬化 (atherosclerosis); TMA: 三甲胺 (trimethylamine); FMO3: 黄素单加氧酶3 (flavin-containing monooxygenase 3); NF-κB: 核因子κB (nuclear factor kappa-B); IL-6: 白介素-6 (interleukin-6); TNF-α: 肿瘤坏死因子α (tumor necrosis factor-α); Ca²⁺: 钙离子; TXA2: 血栓素A2 (thromboxane A2); CD36: 分化簇36 (cluster of differentiation 36); SR-A1: 清道夫受体A1 (scavenger receptor class A member 1); GPR43: G蛋白偶联受体43 (G-protein coupled receptor 43); Treg: 调节性T细胞 (regulatory T cells); P-selectin: 血小板选择素 (platelet selectin); LDLR: 低密度脂蛋白受体 (low-density lipoprotein receptor); SREBP-1c: 固醇调节元件结合蛋白1c (sterol regulatory element binding protein 1c)。

3 TMAO与SCFAs联合检测在AS风险预测中的优势

3.1 单一标志物的局限性

目前, 多项证据表明, CVD 风险人群的血浆 TMAO 水平升高, 且这些患者通常也表现出较高浓度的 TMAO 前体, 并有研究显示抑制 TMAO 的产生能降低 AS 性缺血性脑卒中发生的风险^[69], 基于此, TMAO 被认为可以作为预测人类 CVD 患病率和 MACE 发生率的一项较早期生物标志物^[70]。大多数研究中, TMAO 检测样本为尿液和血浆, 有时也在血清样本中检测。常用的检测方法包括液相色谱质谱法 (liquid chromatography-mass spectroscopy, LC-MS), 稳定同位素稀释高效液相色谱-电喷雾电离串联质谱法 (DIS-HPLC-SM/SM)、质子核磁共振光谱法 (1H-NMR)、顶空气相色谱法 (headspace gas chromatography, HS-GC) 和基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱法 (MALDI-TOF-MS) 等^[71]。然而, 血浆 TMAO 水平在个体内具有较大的差异, 且受多种因素影响。在衰老大鼠相关研究中显示, 血浆 TMAO 水平表现出与年龄相关的趋势, 即血浆 TMAO 水平随年龄的增长而增加^[72]。另有研究中, 发现胆汁酸可以激活核受体 FXR, 诱导 FMO3 表达, 从而增加 TMAO 水平^[73], 且 FMO3 受性别差异的影响较大, 因此性别也较大程度地影响到个体间 TMAO 的差异。此外, 饮食在 TMAO 的形成中起着关键作用, 例如素食主义者从左旋肉碱中生成 TMA 的能力较弱; 高脂饮食会升高血浆 TMAO 水平; 慢性肾脏病患者采用低蛋白饮食后, 血浆 TMAO 水平有所

下降^[74-77]。因此, 单一的以 TMAO 作为 AS 的生化标志物存在特异性不足的问题, 需要结合其他的生物标志物联合检测, 辅助诊断 AS 的进展。

脂肪酸是细胞膜的主要成分, 但作为细胞内信号分子和基因表达调节剂的作用常被忽视。SCFAs 在人类健康领域, 尤其是 CVD、癌症、2 型糖尿病和炎症性疾病具有重要意义。例如, ω -6 等多不饱和脂肪酸降低 LDL, ω -3 系多不饱和脂肪酸, 如二十碳五烯酸 (eicosapentaenoic acid, EPA) 和二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA) 降低甘油三酯水平, 偶数碳饱和脂肪酸 (如棕榈酸) 会升高总胆固醇和 LDL 水平^[78]。通过观测 SCFAs 水平, 有助于评估 CVD 的患病率, 疾病进程以及预后。

但 SCFAs 的浓度水平受肠道菌群多样性、膳食纤维摄入量及宿主代谢状态等多种因素影响, 有研究发现, SCFAs 个体内差异较大且在肠道不同位置浓度不同, 如盲肠和近端结肠的浓度最高, 而向远端结肠浓度则有所下降^[79-80]。此外, 膳食纤维摄入不足会导致血清丁酸盐水平下降, 短期高纤维饮食可使丙酸盐浓度出现较大的波动^[81-82]。因此, 单独将 SCFAs 作为动脉粥样硬化进展的观测指标也具有一定的局限性, 单独地将其作为生物标志物观测动脉粥样硬化的进展可能出现假阴性或假阳性。也正因为 TMAO 与 SCFAs 单独检测存在上述各种缺陷, 二者的联合应用才显现出不可替代的临床价值。

3.2 传统AS风险预测方法的局限性

当前临床常用的 AS 预测方法存在“覆盖不全、特异性低、滞后性强”三大缺陷 (表1)。

Table 1 Limitations of traditional AS prediction methods

表1 传统AS风险预测方法的局限性

预测方法	核心原理	局限性
临床指标 (血压、血脂)	反映宏观代谢异常	仅能识别已发生的代谢紊乱, 无法预警早期风险; 受短期因素影响大 (如运动后 LDL-C 暂时下降) ^[83]
影像学检查 (CT、超声)	观察动脉斑块形态/管腔狭窄	仅能检测管腔狭窄 > 50% 的晚期病变, 无法识别早期内皮功能障碍; CT 存在辐射风险, MRI 成本较高 ^[84]
单一生物标志物 (CRP、LDL-C)	反映单一病理环节	CRP 缺乏特异性 (感染、自身免疫病均可升高); LDL-C 正常者仍存在动脉粥样硬化的风险 (“残余风险”) ^[83]
风险评分 (ASCVD 评分)	整合传统危险因素	未纳入肠道代谢等新型危险因素, 对年轻人群 (<45 岁) 预测准确性低; 无法动态反映斑块稳定性 ^[85]

AS: 动脉粥样硬化 (atherosclerosis); LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol); CT: 计算机断层扫描术 (computed tomography); MRI: 磁共振成像 (magnetic resonance imaging); CRP: C 反应蛋白 (C-reactive protein); CVD: 心血管疾病 (cardiovascular diseases)。

3.3 TMAO与SCFAs协同风险预测的优势

3.3.1 早期AS: 基于乙酸盐/TMAO比值的风险预警

AS早期以内皮功能障碍为特征,此时动脉壁无明显斑块形成,但内皮细胞已出现氧化应激损伤、NO生物利用度下降等隐性改变,传统影像学检查难以识别^[84]。在这一阶段,SCFAs与TMAO的协同作用主要聚焦于“内皮保护-损伤”的平衡调控。在前文中我们发现乙酸盐与TMAO在ROS代谢、NO生成等关键环节形成拮抗作用,因此乙酸盐与TMAO的比值可以作为核心预警指标。高比值即乙酸盐 $\uparrow$ /TMAO $\downarrow$,抗氧化应激效应为主导,提示低风险,反应内皮保护机制完整、促AS压力较小;反之,比值降低即乙酸盐 $\downarrow$ /TMAO正常或升高时,意味着内皮保护机制减弱,即使未出现明显代谢异常,也预警着早期内皮损伤和疾病易感性增加,此时是预防AS的关键窗口期。

3.3.2 进展期AS: 基于丙酸盐/TMAO的风险评估

进展期AS以脂质代谢为核心特征,动脉壁出现脂质沉积、泡沫细胞形成,斑块开始雏形,但尚未出现明显管腔狭窄^[86]。此阶段,丙酸盐与TMAO的比值更具有参考价值,二者聚焦于“脂质稳态调控”,其水平变化及比值可精准评估病变进展速度,为靶向干预提供依据。

丙酸盐与TMAO在胆固醇吸收、合成、清除等关键环节形成拮抗平衡,因此我们关注丙酸盐与TMAO的比值来反映脂质代谢的紊乱程度:丙酸盐/TMAO比值降低时,脂质沉积速度较缓,斑块进展平缓;比值失衡即丙酸盐 $\downarrow$ /TMAO显著上升时提示高风险,胆固醇沉积与清除机制严重失衡,斑块进展加速,可为靶向调控脂质干预和监测提供指导。

3.3.3 晚期AS: 基于丁酸盐/TMAO的风险分层

晚期的AS核心特征是动脉斑块形成并可能伴随管腔狭窄(狭窄率 $\geq 50\%$),斑块稳定性下降,易发生破裂、侵蚀,进而诱发血栓形成,导致急性冠脉综合征,脑梗死等严重心血管事件^[86]。此阶段丁酸盐与TMAO的协同作用聚焦于“炎症调控与斑块稳定性”,二者的比值可精准分层斑块破裂风险,为临床管理策略制定提供关键依据。

丁酸盐与TMAO在炎症反应、斑块重塑等关键环节形成拮抗,丁酸盐与TMAO的比值直接反映斑块稳定性:比值降低即丁酸盐 $\downarrow$ /TMAO $\uparrow$,

斑块炎症反应增强,纤维帽厚度变薄,属于“不稳定斑块高风险”:比值严重失衡时,丁酸盐显著 $\downarrow$ /TMAO持续 $\uparrow$ 则提示炎症因子水平显著升高,血栓形成风险剧增,属于“高危斑块”,短期内发生急性心血管事件的概率增加。

单一将TMAO或SCFAs用于AS的风险预测以及病理进展的观察,均存在机制覆盖不全面、诊断能效有限、病因指向模糊等局限性,将二者联合检测其核心在于两者在病理机制、生理学功能中的对立互补性、“肠道-血管”轴的协同反应以及对疾病进程的多维度诊断、风险评估及机制解析。联合检测TMAO和SCFAs,能更全面地评估AS在不同阶段的情况,从而动态掌握疾病的发展过程。这两种物质的动态变化,能分别反映出“促使病变发展”和“抵抗病变”这两种力量的失衡情况。相比仅检测其中一种生物标志物,联合检测能更准确地判断疾病处于哪个阶段,为选择干预时机提供参考。

3.3.4 临床检测技术的优化与标准化

目前,TMAO与SCFAs的检测方法虽已较为成熟,但在临床推广中仍面临着标准化不足等问题。LC-MS因其高灵敏度和高特异性,被认为是检测TMAO和SCFAs的准确方法^[87-89]。然而,不同实验室间的检测流程差异(如样本前处理方式、仪器参数设置)可能导致结果可比性降低,因此,目前亟需采用统一的样本处理方案(如使用1%甲酸甲醇溶液提取)来降低TMAO检测的变异系数。此外,干式血斑检测技术的发展为基层医疗提供了极大的便利,有研究显示,利用滤纸干血斑检测CRP、脂质等方面可以很好地分析预测CVD风险^[90-92]。从样本稳定性、代谢物特性、便捷性等多方面出发,干式血斑是一种潜力重大的替代样本类型。在此,可以提出一种猜想,未来可将TMAO与SCFAs联合检测纳入CVD体检项目,通过血浆代谢组学快速检测,实现非侵入性、低成本、可重复的风险评估(图4),但仍需注意的是,检测这两种指标前,需要进行饮食干预,如禁食12h,避免高胆碱、高纤维饮食,以减少个体内差异。

尽管TMAO与SCFAs的联合检测在理论上具备多维度优势,但将其转化为临床应用仍面临标准化检测体系缺失、大规模人群验证不足等挑战。这些问题既是当前研究的局限性,也是未来需重点突破的方向。

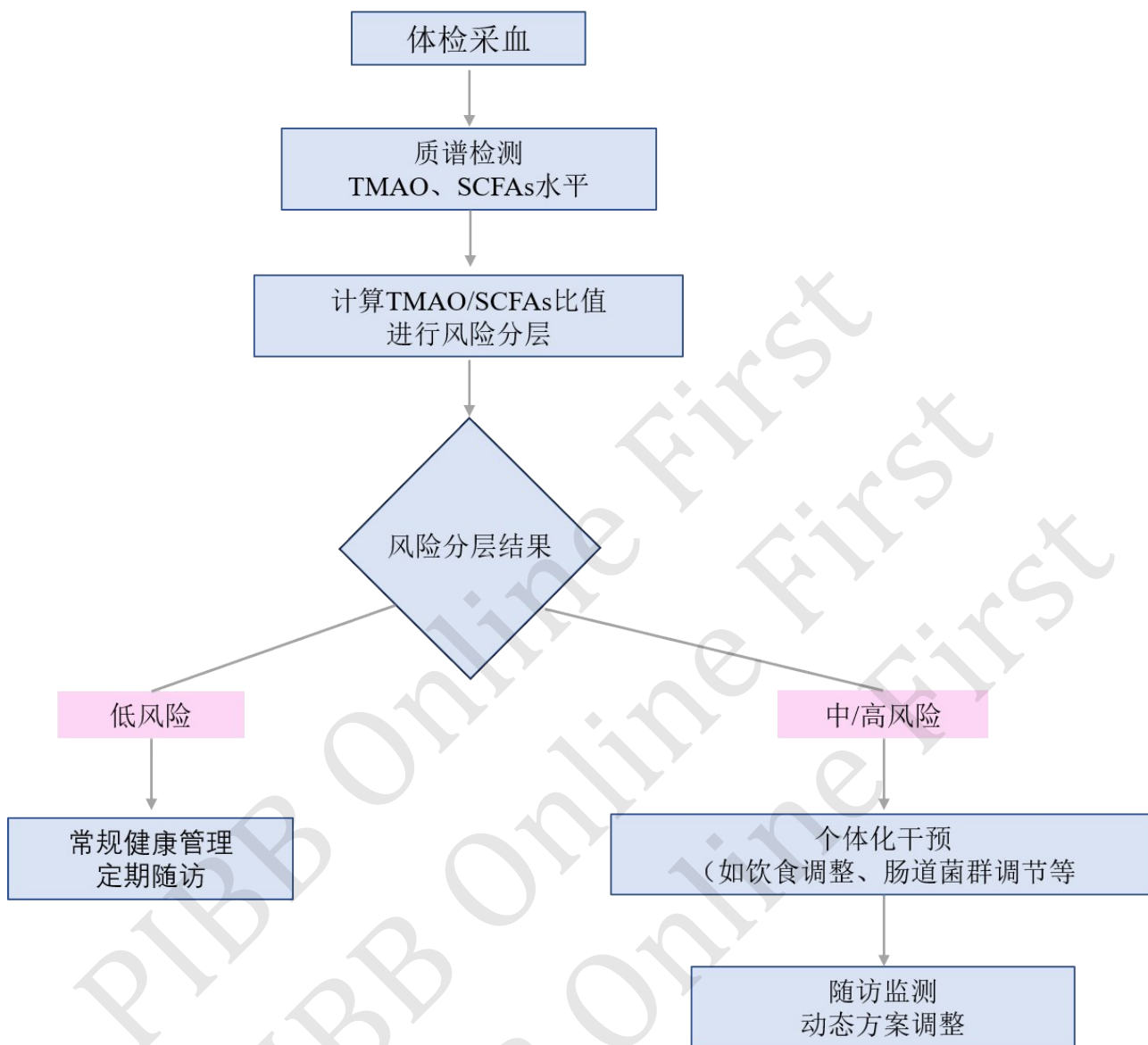


Fig. 4 Clinical workflow for combined TMAO and SCFAs detection in AS risk stratification

图4 TMAO和SCFAs联合检测在AS风险分层中的临床工作流程

TMAO: 氧化三甲胺 (Trimethylamine N-oxide); SCFAs: 短链脂肪酸 (Short-Chain Fatty Acids)

4 总结与展望

AS是一种多因素、多机制参与的慢性疾病,早期发现和干预对降低CVD负担至关重要。其发生发展与肠道微生物代谢失衡密切相关,肠道微生物代谢产物TMAO与SCFAs在AS病理进程中扮演着截然相反的角色:TMAO通过干扰胆固醇代谢、促进炎症反应及血栓形成驱动AS进展;而SCFAs则通过调节免疫耐受、改善脂质代谢及保护血管内皮发挥抗AS作用。二者联合检测可从抗炎-促炎、

促栓-抗栓、脂质代谢紊乱-脂质稳态维持等多维度精确反映AS风险,为构建多元化生物标志物体系提供理论依据,有望成为早期风险预测的重要工具。

本研究团队长期致力于AS的早期诊断与发病机制研究,尤其是在肠道菌群与AS相关方向积累了扎实的工作基础。这与本综述提出的“TMAO与SCFAs联合检测AS”策略高度契合。尽管TMAO和SCFAs在AS风险预测中的价值已得到广泛认可,但其临床应用仍存在诸多限制。首先,个体肠道菌群组成的差异性、遗传背景、生活习惯等

因素均会影响代谢物水平,例如,FMO3的基因多态性可使不同个体的TMAO生成能力相差较大,进而影响CVD的风险预测的准确性^[93]。其次,当前研究多局限于动物模型(其病理特征与人类AS存在差异)或基于横断面观察研究,缺乏大规模前瞻性队列研究验证联合检测的长期预测价值;此外,TMAO和SCFAs与其他疾病(如高血压、糖尿病等)的分子信号通路上的交互作用机制尚未完全阐明,可能影响风险评估的准确性。我们在研究中也深刻体会到这些困难及其复杂性,未来的研究也必须充分考虑这些混杂因素。在设计联合检测方案时,不仅要报告TMAO和SCFAs的绝对值,更应探索TMAO/SCFAs比值、或通过机器学习算法对多个协变量进行校正,以提高模型的稳定性和普适性。

未来研究可从以下方面展开联合检测相关探索:a.建立标准化的检测体系,结合机器学习算法优化风险检测模型,纳入年龄、性别、基础疾病等协变量以提高准确性;b.开展随机对照实验验证干预措施的有效性,例如比较不同饮食及益生菌补充对AS患者心血管事件发生率的影响;c.深入探索TMAO与SCFAs两者间在炎症、内皮功能、脂质代谢等方面的作用机制,并与其他生物标志物联合应用,构建多维度风险评估体系;d.通过宏基因组学、代谢组学及单细胞测序技术构建“肠道菌群-代谢物-血管”动态调控网络,开发无创检测技术,实现TMAO与SCFAs的便捷检测及对AS的干预,为靶向治疗诊断提供理论依据。

参考文献

- [1] GBD 2017 Diet Collaborators. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*, 2019, **393**(10184): 1958-1972
- [2] 国家心血管病中心,中国心血管健康与疾病报告编写组.中国心血管健康与疾病报告2023概要.中国循环杂志,2024,**39**(7):625-660
National Center for Cardiovascular Diseases, The Writing Committee of the Report on Cardiovascular Health, China D I. *Chin Circ J*, 2024, **39**(7): 625-660
- [3] Wang A, Cai D, Zhang H, *et al.* Using herbal medicine to target the "microbiota-metabolism-immunity" axis as possible therapy for cardiovascular disease. *Pharmacol Res*, 2019, **142**: 205-222
- [4] Erol Ç. Atherosclerosis reviewed. *Anatol J Cardiol*, 2024: 374
- [5] Młynarska E, Czarnik W, Fularski P, *et al.* From atherosclerotic plaque to myocardial infarction—the leading cause of coronary artery occlusion. *Int J Mol Sci*, 2024, **25**(13): 7295
- [6] Cheng J, Huang H, Chen Y, *et al.* Nanomedicine for diagnosis and treatment of atherosclerosis. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, **10**(36): e2304294
- [7] Wilson Tang W H, Li D Y, Hazen S L. Dietary metabolism, the gut microbiome, and heart failure. *Nat Rev Cardiol*, 2019, **16**(3): 137-154
- [8] Ma S R, Tong Q, Lin Y, *et al.* Berberine treats atherosclerosis via a vitamin-like effect down-regulating Choline-TMA-TMAO production pathway in gut microbiota. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, **7**(1): 207
- [9] Verhaar B J H, Prodan A, Nieuwdorp M, *et al.* Gut microbiota in hypertension and atherosclerosis: a review. *Nutrients*, 2020, **12**(10): 2982
- [10] Vourakis M, Mayer G, Rousseau G. The role of gut microbiota on cholesterol metabolism in atherosclerosis. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(15): 8074
- [11] Wang Y, Shou J W, Li X Y, *et al.* Berberine-induced bioactive metabolites of the gut microbiota improve energy metabolism. *Metabolism*, 2017, **70**: 72-84
- [12] Buldak Ł. Cardiovascular diseases—a focus on atherosclerosis, its prophylaxis, complications and recent advancements in therapies. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(9): 4695
- [13] Gatarek P, Kaluzna-Czaplińska J. Trimethylamine N-oxide (TMAO) in human health. *EXCLI J*, 2021, **20**: 301-319
- [14] Barrea L, Annunziata G, Muscogiuri G, *et al.* Trimethylamine N-oxide, Mediterranean diet, and nutrition in healthy, normal-weight adults: also a matter of sex?. *Nutrition*, 2019, **62**: 7-17
- [15] 张萌,李悦,张蕾,等.氧化三甲胺与动脉粥样硬化关系的研究进展.生物化学与生物物理进展,2022,**49**(2):284-291
Zhang M, Li Y, Zhang L, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2022, **49**(2): 284-291
- [16] Cai Y Y, Huang F Q, Lao X, *et al.* Integrated metagenomics identifies a crucial role for trimethylamine-producing *Lachnospirillum* in promoting atherosclerosis. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2022, **8**(1): 11
- [17] Canyelles M, Borràs C, Rotllan N, *et al.* Gut microbiota-derived TMAO: a causal factor promoting atherosclerotic cardiovascular disease *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(3): 1940
- [18] Cho C E, Caudill M A. Trimethylamine-N-oxide: friend, foe, or simply caught in the cross-fire *Trends Endocrinol Metab*, 2017, **28**(2): 121-130
- [19] Awosika AO, Anastasopoulou C. Trimethylaminuria[M/OL]. Treasure Island (FL): StatPearls, 2025[2025-09-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK594255>
- [20] Phillips I R, Shephard E A. Flavin-containing monooxygenase 3 (FMO3): genetic variants and their consequences for drug metabolism and disease. *Xenobiotica*, 2020, **50**(1): 19-33
- [21] Mörk S, Butler M I, Holl A, *et al.* Probiotics and the microbiota-gut-brain axis: focus on psychiatry. *Curr Nutr Rep*, 2020, **9**(3): 171-182
- [22] Verneti L, Gough A, Baetz N, *et al.* Functional coupling of human

- microphysiology systems: intestine, liver, kidney proximal tubule, blood-brain barrier and skeletal muscle. *Sci Rep*, 2017, **7**: 42296
- [23] Del Rio D, Zimetti F, Caffarra P, *et al.* The gut microbial metabolite trimethylamine-N-oxide is present in human cerebrospinal fluid. *Nutrients*, 2017, **9**(10): 1053
- [24] Geng J, Yang C, Wang B, *et al.* Trimethylamine N-oxide promotes atherosclerosis via CD36-dependent MAPK/JNK pathway. *Biomed Pharmacother*, 2018, **97**: 941-947
- [25] Wang X, Cui J, Gu Z, *et al.* Aged garlic oligosaccharides modulate host metabolism and gut microbiota to alleviate high-fat and high-cholesterol diet-induced atherosclerosis in ApoE (-/-) mice. *Food Chem*, 2025, **463**(Pt 3): 141409
- [26] Wilson Tang W H, Nemet I, Li X S, *et al.* Prognostic value of gut microbe-generated metabolite phenylacetylglutamine in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail*, 2024, **26**(2): 233-241
- [27] Nam H S, Ha J, Ji D, *et al.* Elevation of the gut microbiota metabolite trimethylamine N-oxide predicts stroke outcome. *J Stroke*, 2019, **21**(3): 350-352
- [28] Canyelles M, Tondo M, Cedó L, *et al.* Trimethylamine N-oxide: a link among diet, gut microbiota, gene regulation of liver and intestine cholesterol homeostasis and HDL function. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(10): 3228
- [29] van der Hee B, Wells J M. Microbial regulation of host physiology by short-chain fatty acids. *Trends Microbiol*, 2021, **29**(8): 700-712
- [30] Dalile B, Van Oudenhove L, Vervliet B, *et al.* The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, **16**(8): 461-478
- [31] Ratajczak W, Rył A, Mizerski A, *et al.* Immunomodulatory potential of gut microbiome-derived short-chain fatty acids (SCFAs). *Acta Biochim Pol*, 2019, **66**(1): 1-12
- [32] Belzer C, Chia L W, Aalvink S, *et al.* Microbial metabolic networks at the mucus layer lead to diet-independent butyrate and vitamin B (12) production by intestinal symbionts. *mBio*, 2017, **8**(5): e00770-17
- [33] Hu J, Lin S, Zheng B, *et al.* Short-chain fatty acids in control of energy metabolism. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2018, **58**(8): 1243-1249
- [34] Zhao S, Jang C, Liu J, *et al.* Dietary fructose feeds hepatic lipogenesis via microbiota-derived acetate. *Nature*, 2020, **579** (7800): 586-591
- [35] Xiao S, Jiang S, Qian D, *et al.* Modulation of microbially derived short-chain fatty acids on intestinal homeostasis, metabolism, and neuropsychiatric disorder. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, **104** (2): 589-601
- [36] Hou Y F, Shan C, Zhuang S Y, *et al.* Gut microbiota-derived propionate mediates the neuroprotective effect of osteocalcin in a mouse model of Parkinson's disease. *Microbiome*, 2021, **9**(1): 34
- [37] Haghighia A, Zimmermann F, Schumann P, *et al.* Propionate attenuates atherosclerosis by immune-dependent regulation of intestinal cholesterol metabolism. *Eur Heart J*, 2022, **43**(6): 518-533
- [38] Bartolomaeus H, Balogh A, Yakoub M, *et al.* Short-chain fatty acid propionate protects from hypertensive cardiovascular damage. *Circulation*, 2019, **139**(11): 1407-1421
- [39] Zhang L, Liu C, Jiang Q, *et al.* Butyrate in energy metabolism: there is still more to learn. *Trends Endocrinol Metab*, 2021, **32**(3): 159-169
- [40] Yamagata K, Hashiguchi K, Yamamoto H, *et al.* Dietary apigenin reduces induction of LOX-1 and NLRP3 expression, leukocyte adhesion, and acetylated low-density lipoprotein uptake in human endothelial cells exposed to trimethylamine-N-oxide. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, **74**(6): 558-565
- [41] Mehta V, Nagu P, Inbaraj B S, *et al.* Epigenetics and gut microbiota crosstalk: a potential factor in pathogenesis of cardiovascular disorders. *Bioengineering (Basel)*, 2022, **9**(12): 798
- [42] Senthong V, Wang Z, Li X S, *et al.* Intestinal microbiota-generated metabolite trimethylamine-N-Oxide and 5-year mortality risk in stable coronary artery disease: the contributory role of intestinal microbiota in a COURAGE-like patient cohort. *J Am Heart Assoc*, 2016, **5**(6): e002816
- [43] Boulanger C M. Endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, **36**(4): e26-e31
- [44] Chou R H, Chen C Y, Chen I C, *et al.* Trimethylamine N-oxide, circulating endothelial progenitor cells, and endothelial function in patients with stable angina. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 4249
- [45] Ma G, Pan B, Chen Y, *et al.* Trimethylamine N-oxide in atherogenesis: impairing endothelial self-repair capacity and enhancing monocyte adhesion. *Biosci Rep*, 2017, **37**(2): BSR20160244
- [46] Seldin M M, Meng Y, Qi H, *et al.* Trimethylamine N-oxide promotes vascular inflammation through signaling of mitogen-activated protein kinase and nuclear factor- κ B. *J Am Heart Assoc*, 2016, **5**(2): e002767
- [47] Boini K M, Hussain T, Li P L, *et al.* Trimethylamine-N-oxide instigates NLRP3 inflammasome activation and endothelial dysfunction. *Cell Physiol Biochem*, 2018, **44**(1): 152-162
- [48] Wu P, Chen J, Chen J, *et al.* Trimethylamine N-oxide promotes apoE (-/-) mice atherosclerosis by inducing vascular endothelial cell pyroptosis via the SDHB/ROS pathway. *J Cell Physiol*, 2020, **235**(10): 6582-6591
- [49] Zhu W, Gregory J C, Org E, *et al.* Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk. *Cell*, 2016, **165**(1): 111-124
- [50] Roberts A B, Gu X, Buffa J A, *et al.* Development of a gut microbe-targeted nonlethal therapeutic to inhibit thrombosis potential. *Nat Med*, 2018, **24**(9): 1407-1417
- [51] Cheng X, Qiu X, Liu Y, *et al.* Trimethylamine N-oxide promotes tissue factor expression and activity in vascular endothelial cells: a new link between trimethylamine N-oxide and atherosclerotic thrombosis. *Thromb Res*, 2019, **177**: 110-116
- [52] Witkowski M, Witkowski M, Friebe J, *et al.* Vascular endothelial tissue factor contributes to trimethylamine N-oxide-enhanced arterial thrombosis. *Cardiovasc Res*, 2022, **118**(10): 2367-2384
- [53] Hu T, Wu Q, Yao Q, *et al.* Short-chain fatty acid metabolism and

- multiple effects on cardiovascular diseases. *Ageing Res Rev*, 2022, **81**: 101706
- [54] Yoo J Y, Sniffen S, McGill Percy K C, *et al.* Gut dysbiosis and immune system in atherosclerotic cardiovascular disease (ACVD). *Microorganisms*, 2022, **10**(1): 108
- [55] Cheng P, Wirka R C, Kim J B, *et al.* Smad3 regulates smooth muscle cell fate and mediates adverse remodeling and calcification of the atherosclerotic plaque. *Nat Cardiovasc Res*, 2022, **1**(4): 322-333
- [56] Zhang A, Wang J, Hu Y, *et al.* Polysaccharides play an anti-fibrotic role by regulating intestinal flora: a review of research progress. *Int J Biol Macromol*, 2024, **271**(Pt 2): 131982
- [57] Li Z, Xiong W, Liang Z, *et al.* Critical role of the gut microbiota in immune responses and cancer immunotherapy. *J Hematol Oncol*, 2024, **17**(1): 33
- [58] Han B, Shi L, Bao M Y, *et al.* Dietary ellagic acid therapy for CNS autoimmunity: targeting on *Alloprevotella rava* and propionate metabolism. *Microbiome*, 2024, **12**(1): 114
- [59] Li M, van Esch B C A M, Henricks P A J, *et al.* The anti-inflammatory effects of short chain fatty acids on lipopolysaccharide- or tumor necrosis factor α -stimulated endothelial cells *via* activation of GPR41/43 and inhibition of HDACs. *Front Pharmacol*, 2018, **9**: 533
- [60] Campbell C, McKenney P T, Konstantinovskiy D, *et al.* Bacterial metabolism of bile acids promotes generation of peripheral regulatory T cells. *Nature*, 2020, **581**(7809): 475-479
- [61] Tayyeb J Z, Popeijus H E, Mensink R P, *et al.* Butyric acid added apically to intestinal caco-2 cells elevates hepatic ApoA-I transcription and rescues lower ApoA-I expression in inflamed HepG2 cells co-cultured in the basolateral compartment. *Biomolecules*, 2021, **11**(1): 71
- [62] Bultman S J. Bacterial butyrate prevents atherosclerosis. *Nat Microbiol*, 2018, **3**(12): 1332-1333
- [63] Kasahara K, Krautkramer K A, Org E, *et al.* Interactions between *Roseburia intestinalis* and diet modulate atherogenesis in a murine model. *Nat Microbiol*, 2018, **3**(12): 1461-1471
- [64] Zhao L, Zhang F, Ding X, *et al.* Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science*, 2018, **359**(6380): 1151-1156
- [65] Tagliamonte S, Laiola M, Ferracane R, *et al.* Mediterranean diet consumption affects the endocannabinoid system in overweight and obese subjects: possible links with gut microbiome, insulin resistance and inflammation. *Eur J Nutr*, 2021, **60**(7): 3703-3716
- [66] Yang T, Richards E M, Pepine C J, *et al.* The gut microbiota and the brain-gut-kidney axis in hypertension and chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*, 2018, **14**(7): 442-456
- [67] Tong Y, Gao H, Qi Q, *et al.* High fat diet, gut microbiome and gastrointestinal cancer. *Theranostics*, 2021, **11**(12): 5889-5910
- [68] Xu H, Bian X, Wang H, *et al.* *Akkermansia muciniphila* postbiotic administration mitigates choline-induced plasma Trimethylamine-N-Oxide production in mice. *Appl Biol Chem*, 2024, **67**(1): 52
- [69] 刘赫, 张梦轩, 蒋本春, 等. 氧化三甲胺在动脉粥样硬化性缺血性脑卒中的研究进展. *中国老年学杂志*, 2021, **41**(14): 3137-3141
- Liu H, Zhang M X, Jiang B C, *et al.* *Chin J Gerontol*, 2021, **41**(14): 3137-3141
- [70] Lakshmi G B V S, Yadav A K, Mehlaawat N, *et al.* Gut microbiota derived trimethylamine N-oxide (TMAO) detection through molecularly imprinted polymer based sensor. *Sci Rep*, 2021, **11**(1): 1338
- [71] Janeiro M H, Ramírez M J, Milagro F I, *et al.* Implication of trimethylamine N-oxide (TMAO) in disease: potential biomarker or new therapeutic target. *Nutrients*, 2018, **10**(10): 1398
- [72] Li T, Chen Y, Gao C, *et al.* Elevated circulating trimethylamine N-oxide levels contribute to endothelial dysfunction in aged rats through vascular inflammation and oxidative stress. *Front Physiol*, 2017, **8**: 350
- [73] Zeisel S H, Warrier M. Trimethylamine N-oxide, the microbiome, and heart and kidney disease. *Annu Rev Nutr*, 2017, **37**: 157-181
- [74] Mafra D, Borges N A, de Franca Cardozo L F M, *et al.* Red meat intake in chronic kidney disease patients: two sides of the coin. *Nutrition*, 2018, **46**: 26-32
- [75] Chen K, Zheng X, Feng M, *et al.* Gut microbiota-dependent metabolite trimethylamine N-oxide contributes to cardiac dysfunction in western diet-induced obese mice. *Front Physiol*, 2017, **8**: 139
- [76] Sun G, Yin Z, Liu N, *et al.* Gut microbial metabolite TMAO contributes to renal dysfunction in a mouse model of diet-induced obesity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, **493**(2): 964-970
- [77] Yoshida Y, Shimizu I, Shimada A, *et al.* Brown adipose tissue dysfunction promotes heart failure *via* a trimethylamine N-oxide-dependent mechanism. *Sci Rep*, 2022, **12**(1): 14883
- [78] Dicks L M T. How important are fatty acids in human health and can they be used in treating diseases. *Gut Microbes*, 2024, **16**(1): 2420765
- [79] Muthyala S D V, Shankar S, Klemashevich C, *et al.* Differential effects of the soluble fiber inulin in reducing adiposity and altering gut microbiome in aging mice. *J Nutr Biochem*, 2022, **105**: 108999
- [80] Yu K B, Hsiao E Y. Roles for the gut microbiota in regulating neuronal feeding circuits. *J Clin Invest*, 2021, **131**(10): 143772
- [81] Nogal A, Valdes A M, Menni C. The role of short-chain fatty acids in the interplay between gut microbiota and diet in cardio-metabolic health. *Gut Microbes*, 2021, **13**(1): 1897212
- [82] Fusco W, Lorenzo M B, Cintoni M, *et al.* Short-chain fatty-acid-producing bacteria: key components of the human gut microbiota. *Nutrients*, 2023, **15**(9): 2211
- [83] Naylor M, Brown K J, Vasan R S. The molecular basis of predicting atherosclerotic cardiovascular disease risk. *Circ Res*, 2021, **128**(2): 287-303
- [84] Meng H, Ruan J, Yan Z, *et al.* New progress in early diagnosis of atherosclerosis. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(16): 8939
- [85] Visseren F L J, Mach F, Smulders Y M, *et al.* 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J*, 2021, **42**(34): 3227-3337

- [86] Björkegren J L M, Lusis A J. Atherosclerosis: recent developments. *Cell*, 2022, **185**(10): 1630-1645
- [87] Gessner A, di Giuseppe R, Koch M, *et al.* Trimethylamine-N-oxide (TMAO) determined by LC-MS/MS: distribution and correlates in the population-based PopGen cohort. *Clin Chem Lab Med*, 2020, **58**(5): 733-740
- [88] Rox K, Rath S, Pieper D H, *et al.* A simplified LC-MS/MS method for the quantification of the cardiovascular disease biomarker trimethylamine-N-oxide and its precursors. *J Pharm Anal*, 2021, **11**(4): 523-528
- [89] Vagaggini C, Brai A, Bonente D, *et al.* Development and validation of derivatization-based LC-MS/MS method for quantification of short-chain fatty acids in human, rat, and mouse plasma. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, **235**: 115599
- [90] Le Faouder P, Soullier J, Tremblay-Franco M, *et al.* Untargeted lipidomic profiling of dry blood spots using SFC-HRMS. *Metabolites*, 2021, **11**(5): 305
- [91] Schakelaar MY, Kemperman H, Schoneveld AH, *et al.* Analysis of C-reactive protein from finger stick dried blood spot to predict high risk of cardiovascular disease. *Sci Rep*, 2023, **13**(1): 2515
- [92] Garakanidze S, Costa E, Bronze-Rocha E, *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism (C677T) as a risk factor for arterial thrombosis in Georgian patients. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2018, **24**(7): 1061-1066
- [93] Wei H, Zhao M, Huang M, *et al.* FMO3-TMAO axis modulates the clinical outcome in chronic heart-failure patients with reduced ejection fraction: evidence from an Asian population. *Front Med*, 2022, **16**(2): 295-305

The Prospect of Trimethylamine N-oxide Combined With Short-chain Fatty Acids in Atherosclerosis Risk Prediction*

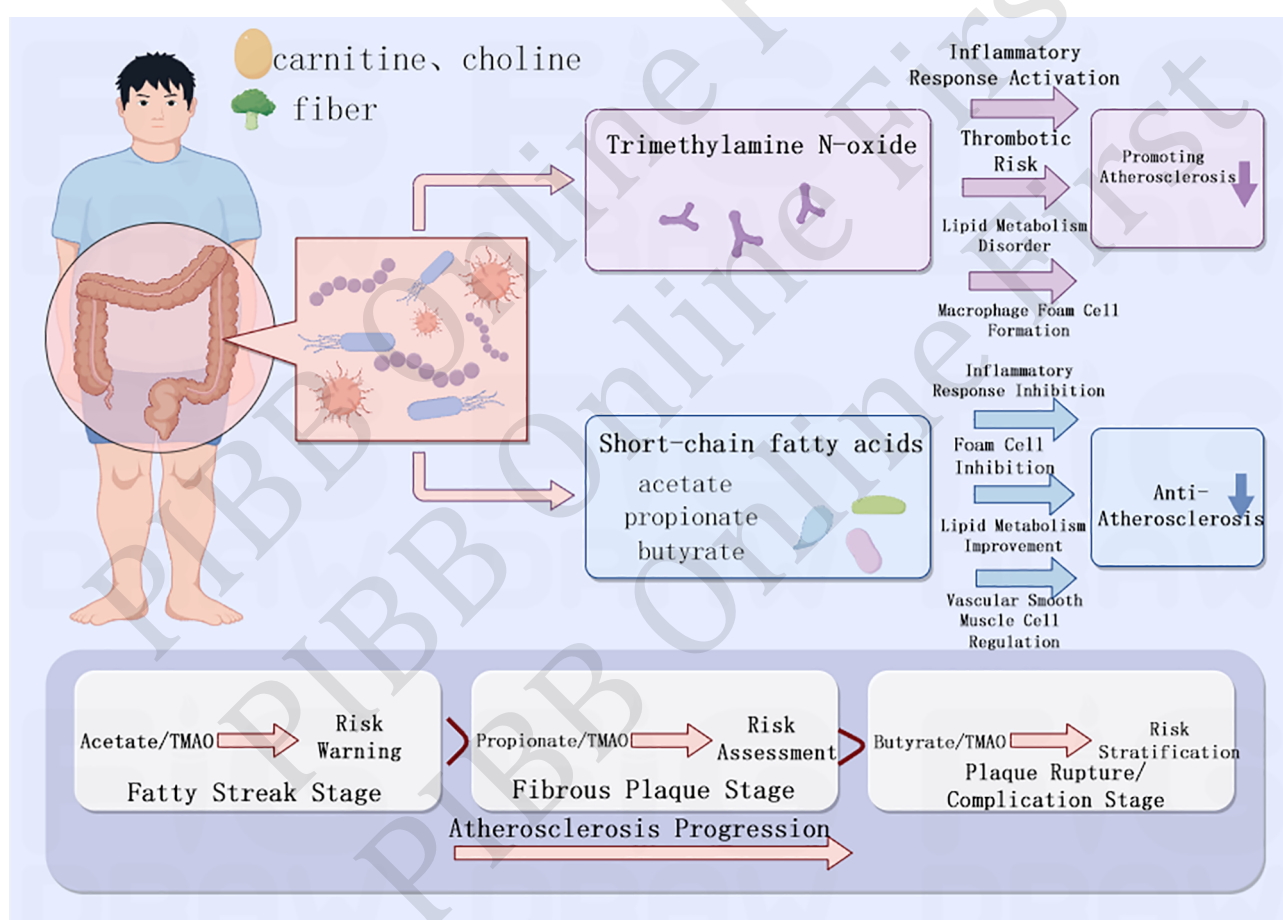
SHI Zhi-Chao¹⁾, TIAN Xu-Ping²⁾, CHEN Si-Yi³⁾, LIU Shi-Guo^{2)**}

¹⁾School of Laboratory Medicine and Medical Technology, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

²⁾Department of Clinical Laboratory, The Third People's Hospital Of Hubei Province, Wuhan 433000, China;

³⁾Reproductive Medicine Center, Jingmen People's Hospital, Jingmen 448000, China)

Graphical abstract



Abstract Atherosclerosis (AS), the primary pathological contributor to cardiovascular diseases (CVDs), has increasingly affected younger populations due to modern dietary habits and sedentary lifestyles. Current diagnostic modalities, including ultrasound, MRI, and CT, primarily identify advanced lesions and inadequately evaluate plaque vulnerability, thereby hindering early detection. Conventional treatments, which involve long-term medications associated with side effects such as hepatic injury and surgical interventions that carry risks of restenosis and hemorrhage, underscore the urgent need for non-invasive, cost-effective early diagnostic methods and targeted therapies. Gut microbiota metabolites are pivotal in AS pathogenesis, with trimethylamine N-oxide (TMAO) and short-chain fatty acids (SCFAs) serving as functionally opposing biomarkers. TMAO is produced

when gut bacteria, specifically Firmicutes and Proteobacteria, metabolize dietary choline and carnitine into trimethylamine (TMA), which the liver subsequently converts to TMAO *via* flavin-containing monooxygenase 3 (FMO3); TMAO is then excreted in urine. Variability in TMAO levels is influenced by marine food consumption and FMO3 modulation, which can be affected by genetics, age, and diet. Mechanistically, TMAO exacerbates AS by disrupting cholesterol metabolism, inducing endothelial dysfunction through the elevation of reactive oxygen species (ROS) and pro-inflammatory cytokines such as IL-6, and reducing nitric oxide levels. Additionally, TMAO activates NF- κ B and NLRP3 pathways while enhancing platelet reactivity. Clinically, elevated TMAO levels correlate with early AS and serve as predictors of mortality in patients with stable coronary artery disease (CAD) and acute coronary syndrome (ACS), as well as major adverse cardiovascular events (MACE) in stroke patients. Conversely, SCFAs—namely acetate, propionate, and butyrate—are produced by gut bacteria such as *Akkermansia muciniphila* and *Faecalibacterium prausnitzii* through the fermentation of dietary fiber. These metabolites exert anti-AS effects: acetate aids in maintaining metabolic homeostasis; propionate protects endothelial function and reduces plaque area; and butyrate fortifies intestinal barriers while suppressing inflammation. Furthermore, SCFAs cross-regulate bile acid metabolism, thereby influencing TMAO levels, and antagonize the pro-inflammatory and lipid-disrupting effects of TMAO. The use of TMAO and SCFAs as standalone biomarkers is constrained by limitations. TMAO lacks specificity, while SCFA levels fluctuate based on gut microbiota and dietary intake. Traditional AS risk assessment tools, which include clinical indicators, imaging techniques, and single biomarkers such as CRP, LDL-C, and ASCVD scores, overlook gut metabolism and demonstrate inadequate performance in younger populations. This review advocates for an "antagonistic-complementary" combined strategy: utilizing acetate and TMAO for early AS, propionate and TMAO for progressive AS, and butyrate and TMAO for advanced AS, addressing endothelial dysfunction, lipid deposition, and plaque stability/thrombosis risk, respectively. For clinical application, standardization of detection methods is crucial; liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) is the gold standard, necessitating a unified sample pretreatment protocol, such as extraction with 1% formic acid in methanol. Additionally, dried blood spots (DBS) facilitate non-invasive testing, provided that dietary controls are implemented prior to detection, including a 12-hour fast and avoidance of high-choline and high-fiber foods. Existing challenges encompass the absence of standardized systems, limited large-scale validation, and ambiguous interactions with conditions such as hypertension. The authors' team has previously established connections between gut metabolites and AS, including the reduction of TMAO as a preventive measure for AS, thereby reinforcing this proposed strategy. Future research should prioritize standardization, the development of machine learning-optimized models, validation of interventions, and the exploration of multi-omics-based "gut microbiota-metabolite-vascular" networks. In conclusion, the combined detection of TMAO and SCFAs offers a novel framework for AS risk assessment, facilitating early diagnosis and targeted interventions while enhancing the integration of gut metabolism into cardiovascular disease management.

Key words atherosclerosis, trimethylamine N-oxide, short-chain fatty acids, biochemical marker, combined detection

DOI: 10.3724/j.pibb.2025.0399

CSTR: 32369.14.pibb.20250399

* This work was supported by a grant from Guided Project of the Health Commission of Hubei Province (WJ2019F171).

** Corresponding author.

Tel: 86-27-83743001, E-mail: 605922820@qq.com

Received: September 8, 2025 Accepted: December 10, 2025