

网络出版时间:2022-1-25 7:23 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20220124.0940.012.html

基于基因组学与代谢组学分析 肠道菌群及其代谢物改变与心力衰竭发生的相关性

李 丽^{1,2}, 张 昕¹, 邹 琳^{1,2}

摘要 目的 探讨肠道菌群及其代谢物改变是否参与大鼠心衰的发生、发展。方法 采用皮下注射异丙肾上腺素的方法诱导大鼠心衰模型,饲养6周后用超声心动图评估模型是否成功,并分为2组:心衰组和对照组。高效液相色谱串联质谱法测定两组大鼠血清中氧化三甲胺(TMAO)水平;收集两组粪便样本进行细菌DNA提取,并行16SrDNA高通量测序,使用NovoMagic云平台进行肠道菌群多样性、相对丰度、差异物种及菌群功能差异分析。结果 与对照组比较,心衰组血清中TMAO水平明显升高($P < 0.05$),两组粪便标本的测序结果显示:在门水平上,占前3位菌种的包括厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门;在属水平上占前3位的菌种为乳杆菌属、*Allobaculum*属、杜氏杆菌属;两组菌群的多样性分析显示,心衰组与对照组大鼠肠道菌群结构相似; t 检验组间物种差异分析图显示心衰组明显降低的菌群前5位为:*Acidobacteriota*门、维鲁士菌门、硝化螺旋菌门、*Methylobacteriota*门、泉古菌门($P < 0.05$)。其他菌群的比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。LEfSe分析显示心衰组与对照组间具有显著差异(LDA绝对值 >4)的菌种为鼠乳杆菌、*Acidobacteriota*、*Bacteria*。结论 肠道菌群变化及其代谢物TMAO水平改变参与心衰的发生、发展。

关键词 心衰;肠道细菌微环境;氧化三甲胺;高通量测序
中图分类号 R 541.6

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)03-0407-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.03.013

2021-09-26 接收

基金项目:内蒙古自治区研究生科研创新项目(编号:S20191202Z)

作者单位:¹内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院心功能科,包头 014010

²包头医学院研究生学院,包头 014040

作者简介:李 丽,女,硕士研究生;

张 昕,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:zhangxinwdq@sina.com

心力衰竭(简称心衰)患者多数预后不佳,有临床症状患者的5年存活率与恶性肿瘤相仿,且心衰的发病率持续增长,正在成为21世纪最重要的心血管病症之一。近年来,胃肠道系统与心衰发生的相关性日益受到关注。研究^[1]证实,由右心衰导致的血流动力学问题,与心衰和预后不良有关,可能的病理机制为肠道有害菌群生长,有益菌群减少,菌群代谢物氧化三甲胺(trimethylamine oxide, TMAO)增多^[2]。该研究通过制作异丙肾上腺素(isoproterenol, ISO)诱导的心衰大鼠模型,对比心衰组与对照组肠道菌群和血清中TMAO水平的差异,探讨肠道菌群参与心衰的发生发展的途径,为指导临床心衰治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 一般资料 60只清洁级3月龄的Wistar雄性大鼠,体质量230~250 g,由内蒙古大学实验动物中心提供。ISO购自大连美仑生物有限公司;超纯水Mill-Q(美国Millipore公司)、彩色多普勒超声诊断仪(IE-33)购自飞利浦电器科技集团(中国)有限公司;高效液相色谱仪(AB Sciex Exion LC™ AD)、质谱仪(AB Sciex QTRAP® 6500+)、粪便DNA提取试剂盒(天根)、紫外分光光度计购自上海精密科学仪器有限公司;引物由上海生工生物有限公司合成;Bio-rad T100梯度PCR仪、PCR产物纯化试剂盒(GeneJET胶回收试剂盒)购自美国Thermo Scientific公司;文库试剂盒购自美国Illumina公司、高通量测序仪(NovaSeq 6000)、Novomagic云平台等。

1.2 方法

1.2.1 Wistar大鼠心衰模型的建立 60只雄性

were reduced ($P < 0.05$), while mitochondrial $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ and $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ activities were increased ($P < 0.05$), NF- κB -p65 protein expression was reduced ($P < 0.05$). **Conclusion** Caffeic acid can protect against oxidative stress, reduce mitochondrial membrane potential, increase the level of reactive oxygen species in H9c2 cells, and participate in the protection of adriamycin-induced myocardial injury by regulating the NF- κB signaling pathway.

Key words caffeic acid; myocardial toxicity; oxidation stress; mitochondria; NF- κB

Wistar 大鼠随机分为心衰组和对照组,每组各 30 只,并编号。心衰组予以腹腔皮下注射 ISO,对照组注射生理盐水。用 0.9% 生理盐水溶解粉剂 ISO,浓度为 20 g/L,按 9 ml/(kg·d) 注射,隔天 1 次,共注射 2 次,为预防皮肤坏死,第 2 次注射另一侧,所有大鼠用药后正常进食和活动,饲养 6 周^[3]。注射 ISO 后,心衰组 3 只大鼠死亡,均于注射药物后 24 h 内死亡。对照组未注射 ISO,无动物死亡。模型成功的标准:大鼠左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF) 比对照组均值降低 20% 以上^[3]。造模结果:心衰组共有 27 只大鼠存活,有 6 只不符合心衰标准,舍弃,余 21 只造模成功。

1.2.2 超声心动图检查 造模 6 周后,用 10% 的水合氯醛腹腔注射麻醉。麻醉成功后,将大鼠四肢及头部固定在木板上,取仰卧位,用备皮刀将大鼠胸部体毛剃除干净。由同一位有经验的彩超医生用飞利浦彩色超声诊断仪的 S4-2 高频探头,在二维超声引导下,选取大鼠左室乳头肌短轴切面,测量左室舒张末期内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、左室收缩末期内径(left ventricular end contractile diameter, LVESD)、LVEF、短轴缩短率(fractional shortening, FS)。每只大鼠测 8 个心动周期,取其平均值。

1.2.3 高效液相色谱串联质谱法测定血清中 TMAO 水平 留取标本前,将大鼠禁食一夜,次日将大鼠用水合氯醛麻醉后,开腹,找到腹主动脉,采集空腹血样,静置 30 min 后, -4 °C, 3 000 r/min 离心 15 min,分离出上层血清,冻存于 -80 °C 冰箱中待测。使用 TMAO 标准品制备浓度为 1 mg/ml 混标线性母液,使用乙腈稀释线性母液得到系列浓度分别为 100 000、50 000、10 000、5 000、1 000、500、100、50、10、5 ng/ml 的工作液。配制一定浓度的 Creatinine-d3 和 L-Carnitine-d9 溶液,混匀得到内标溶液。将样本稀释后,涡旋混匀,离心,取上清,加入混合内标的乙腈溶液,涡旋混匀,离心,取上清液向高效液相色谱串联质谱仪中进样进行分析^[4]。

1.2.4 肠道微生物检测与生物学分析 腹主动脉取血后,迅速留取盲肠粪便,速置于液氮中冷冻,保存于 -80 °C 冰箱中,用粪便 DNA 提取试剂盒提取粪便中的 DNA,紫外分光光度法检测 DNA 的浓度和纯度,使用波碎仪将检测合格的 DNA 样品随机打断成约 350 bp 的片段,然后通过末端修复、加测序接头、纯化、加 A 尾、PCR 扩增等步骤完成文库构建。库检合格后,按照有效浓度及目标数据量的需

求,把不同文库 pooling 后进行高通量测序^[5]。对测序得到的下机数据进行拼接和质控,得到高质量测序数据,再进行嵌合体过滤,得到可用于后续分析的有效数据,对所有样本的有效数据以 97% 的一致性进行 OTUs(Operational Taxonomic Units) 聚类,然后对 OTUs 的序列通过与数据库 Silva132 比对,进行物种注释。使用 R 软件(Version 2.15.3) 绘制稀释曲线,使用 Qiime 软件(Version 1.9.1) 计算 α 多样性指数,绘制 α 多样性盒图;为了寻找各分类水平(界、门、科、目、纲、属、种)下,组间的差异物种,使用 R 软件做组间的 t 检验,找出差异显著($P < 0.05$)的物种。默认展示门水平的结果,若门水平无显著差异物种则展示下一个层级,以此类推。使用 R 软件进行两组间差异显著性的 Anosim 分析,检验组间差异是否大于组内差异,来验证分组的合理性。使用 LFFSe 软件进行线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA) 默认预设值为 4,即认为组间具有显著差异。使用 R 软件(Version 3.1.0) 绘制 FAPROTAX 聚类热图,分析两组大鼠粪便菌群功能差异。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 21.0 软件分析。符合正态分析的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验。不符合正态分布采用非参数检验;计数资料组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠心脏结构及功能比较 与对照组比较,心衰组 LVEDD、LVESD 增大,LVEF 和 FS 降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1,图 1。

表 1 两组大鼠心脏结构及功能($\bar{x} \pm s$)

指标	对照组($n=30$)	心衰组($n=21$)	t 值	P 值
LVEDD(mm)	5.19 ± 0.30	6.30 ± 0.61 **	8.61	<0.001
LVESD(mm)	3.18 ± 0.18	3.80 ± 1.05 **	3.18	0.003
LVEF(%)	81.56 ± 1.86	60.80 ± 2.05 **	37.61	<0.001
FS(%)	46.33 ± 16.33	30.00 ± 16.73 **	3.48	0.001

2.2 血清 TMAO 含量检测结果 与对照组比较,心衰组血清中 TMAO 含量升高[(373.38 ± 107.96) ng/ml vs (957.74 ± 71.35) ng/ml, $P < 0.05$]。

2.3 两组大鼠肠道粪便高通量测序结果

2.3.1 微生物注释结果与分类特征 每组送检 10 份样本,共获得 268 182 个序列,通过与数据库 Silva132 比对,进行物种注释,并对不同分类层级统计

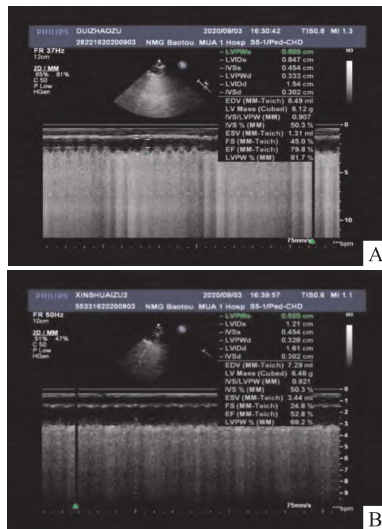


图1 两组大鼠心功能检查情况

A:对照组;B:心衰组

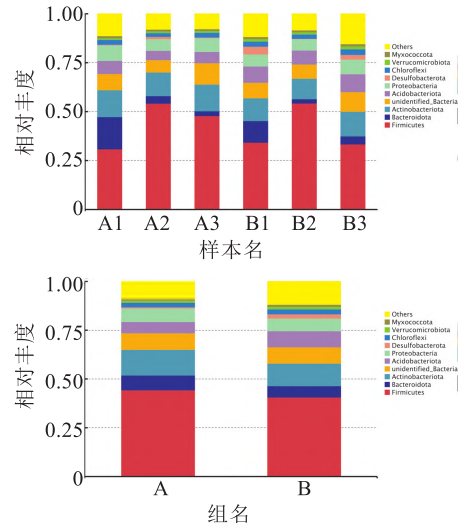


图2 门水平上的物种相对丰度柱形图

对照组及心衰组各 10 个标本,每组选取 3 个样本作图,A 为心衰组,B 为对照组,下同

发现:4 699 个 OTUs 中,能够注释到数据库的 OTUs 数目为 4 699 (100.00%),注释到界水平的比例为 100.00%,门水平的比例为 83.78%,纲水平的比例为 81.68%,目水平的比例为 71.85%,科水平的比例为 58.08%,属水平的比例为 30.01%,种水平的比例为 3.30%。物种丰度聚类热图分析两组大鼠粪便主导菌群:根据物种注释结果,选取每个样本或分组在门水平上最大丰度排名前十的物种,生成物种相对丰度柱形累加图,以便直观查看各样本在同一分类水平上,相对丰度较高的物种及其比例。门水平物种相对丰度柱形图(见图 2),图中可以见到两组排名前 6 位的物种一致,含量不同。肠道菌群分类特征为:在门水平上,占据主导地位的主要包括厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门;在属水平上的优势物种为乳杆菌属、*Allobaculum* 属、杜氏杆菌属。得到 OTUs 后,绘制稀疏曲线(见图 3)可直接反映测序数据量的合理性,并间接反映样本中物种的丰富程度,当曲线趋向平坦时,说明测序数据量渐进合理,本研究结果中各曲线渐近平坦,测速数据量达到预期。

2.3.2 两组粪便样本菌群多样性与差异物种分析
经 α 多样性分析,两组 ACE 指数 ($P = 0.68$)、Goods Coverage 指数 ($P = 0.47$)、Chao 指数 ($P = 0.49$)、Observed Species 指数 ($P = 0.82$)、Shannon 指数 ($P = 0.71$)、Simpson 指数 ($P = 0.65$),差异均无统计学意义,表明两组间在物种多样性上无显著差异。见图 4。

PCoA 结果显示,两组基于 Weighted Unifrac 的

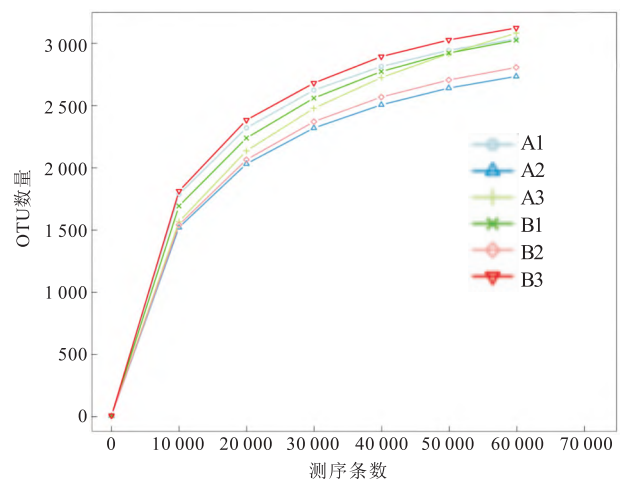


图3 稀释曲线图

横坐标为从某个样品中随机抽取的测序条数,纵坐标为基于该测序条数得到的 OTU 数量

β 多样性差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 5。

2.3.3 两组间菌群差异物种分析 Anosim 分析结果 $R = 0.1111$, $P > 0.05$,表明两组间有差异,但差异未达到统计学意义。 t 检验组间物种差异分析图显示两组间有差异的菌群前 5 位为 *Acidobacteriota* 门、维鲁士菌门、硝化螺旋菌门、*Methylomirabilota* 门、泉古菌门 ($P < 0.05$)。其他菌群的比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 6。LEfSe 分析显示心衰组与对照组间具有显著差异 (LDA 绝对值 > 4) 的菌种为鼠乳杆菌 (*Lactobacillus murinus*)、*Acidobacteriota*、*Bacteria*,见图 7。

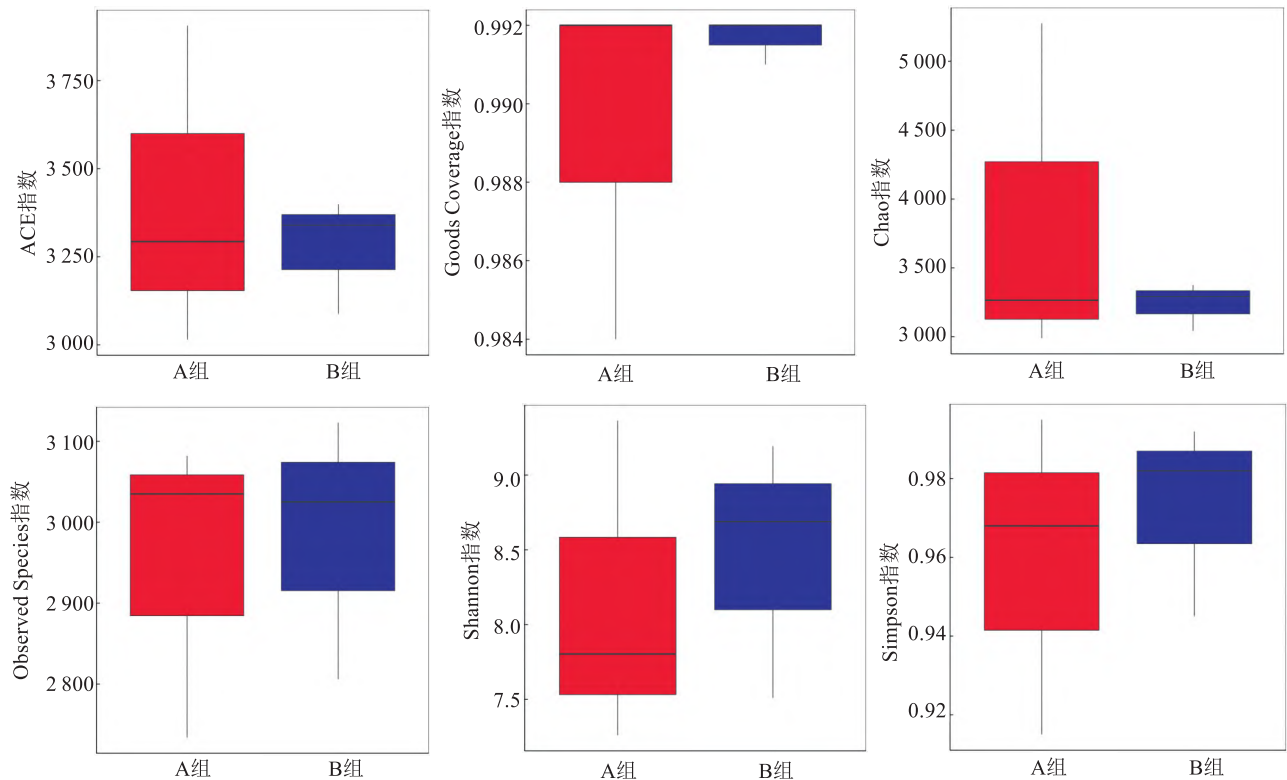
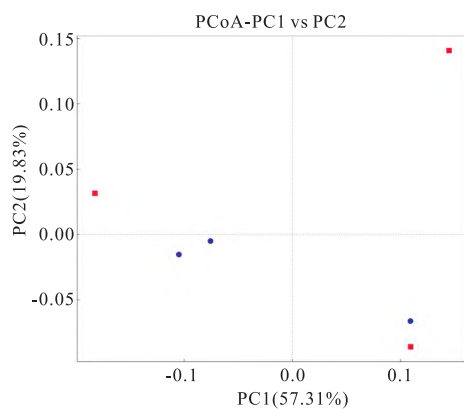
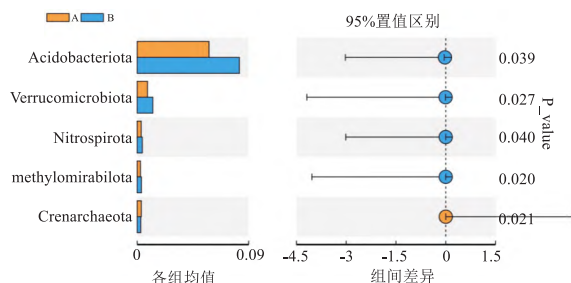


图4 Alpha多样性分析各指数箱式图

图5 β 多样性的PCoA分析图图6 t 检验组间物种差异分析图

左图中每个条形分别表示在分组间丰度差异显著的物种在每个组中的均值。右图为组间差异置信度展示,展示结果的最右端是对应差异物种的组间显著性检验 P 值

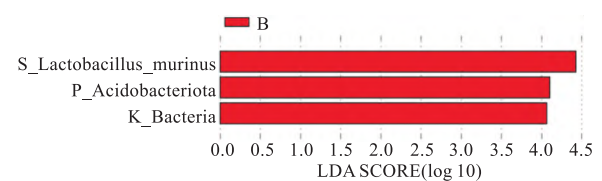


图7 LDA值分布柱状图

3 讨论

肠道菌群在调节肠道炎症及肠道免疫功能方面极其重要,肠道菌群紊乱与肠道炎症的发生直接相关^[6]。实验动物和临床研究^[7]表明,多种炎症机制可导致心脏重塑,功能障碍和慢性衰竭,促炎性生物标志物和细胞因子升高与心力衰竭的发病率和死亡率相关。本研究显示心衰组及对照组差异最显著的8类细菌中,*Acidobacteriota*、*Bacteria*这两种菌群范围太广,不具有分析意义,鼠乳杆菌、*Acidobacteriota*门、维鲁士菌门、硝化螺旋菌门、*Methyloirabilota*门、泉古菌门菌群丰度在心衰组中显著降低($P < 0.05$)。鼠乳杆菌和维鲁士菌门中的代表黏液曲霉菌具有提高肠道免疫功能,改善肠道炎症状态的功能^[8-9]。目前对于 *Acidobacteriota* 门、硝化螺旋菌门、*Methyloirabilota* 门及泉古菌门在临床上的研究

非常少,对于其确切的作用尚不明确。2018 年一项研究^[10]发现,阻塞性睡眠呼吸暂停患者与非阻塞性睡眠呼吸暂停患者的支气管肺泡灌洗液的微生物组谱出现了差异,差异菌群中包括 *Acidobacteriota* 门,但无法确认 *Acidobacteriota* 的作用。2020 年一项关于癌性和非癌性卵巢组织之间细菌分布差异的研究^[11]显示,泉古菌门在癌性卵巢中明显减少,该菌同样在心衰组中明显减少,意味着泉古菌门与卵巢癌及心衰负相关。综上,肠道菌群可能通过降低肠道免疫功能及使肠道处于炎症状态,进而参与心衰的发生发展。

研究^[12]证实,TMAO 可促使小鼠心肌细胞横管网络损伤和 Ca^{2+} 操纵功能障碍,影响心脏收缩和舒张功能,从而促进心力衰竭的发生发展。本研究发现,心衰组大鼠血清 TMAO 水平明显升高 ($P < 0.05$),并且心衰组的拟杆菌亚种 (0.001 163 vs 0.000 390) 和肠杆菌科 (0.004 763 vs 0.000 787) 的平均丰度均高于对照组。相关研究显示虽然内在机制尚不清楚,但脱铁杆菌科、普沃雷氏菌科、肠杆菌科、拟杆菌亚种 (*B. thetaiotaomicron* 和 *B. fragilis*) 以及厚壁菌门中 *Erysipelotrichia* 类参与 TMAO 代谢^[13]。因此,TMAO 可能是肠道菌群参与心衰的发生发展的另一个重要途径。

本研究显示,与对照组比较,不论是 α 多样性还是 β 多样性,心衰组肠道菌群物种组成多样性无明显差异,说明心衰的发生发展可能与肠道菌群多态性以及整体比例的失衡无关,但不能排除样本量不足导致的假阴性。

本研究也存在着一定的局限性,首先,动物模型不一定全面模拟心衰恶病质患者的肠道情况。第二,大鼠被注射 ISO 后心率加快,从而致使心肌损伤,这样的病理生理过程制造的心衰模型不能全面

代替临床上多见的如基因、病毒、酒精、缺血等原因所致的心衰。

参考文献

- [1] Puwanant S, Priester T C, Mookadam F, et al. Right ventricular function in patients with preserved and reduced ejection fraction heart failure[J]. Eur J Echocardiogr, 2009, 10(6): 733-7.
- [2] 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]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(6): e002816.
- [3] 孔文文, 张 昕. 内质网应激和蛋白质羧基化在心力衰竭恶病质中的作用[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(2): 244-8.
- [4] 裴 梁. 益生菌干预氧化三甲胺诱导的动脉粥样硬化作用机制研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
- [5] 吴 亚, 方圆圆, 陈彦辉, 等. 基于 16SrDNA 测序的肥胖儿童肠道菌群变化分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2018, 26(12): 1297-300.
- [6] 王一帆, 王风云, 张佳琪, 等. 中医药调节肠道菌群防治溃疡性结肠炎的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(9): 160-4.
- [7] Diana M D S, Harald L, Tobias G. Inflammatory and molecular pathways in heart failure-ischemia, HFpEF and transthyretin cardiac amyloidosis[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(9): 2322.
- [8] Mubina I, Brandon A B, Patrick T D, et al. Lactobacillus murinus HF12 colonizes neonatal gut and protects rats from necrotizing enterocolitis[J]. PLoS One, 2018, 13(6): e0196710.
- [9] Zhang T, Li Q, Chen L, et al. Akkermansia muciniphila is a promising probiotic[J]. Microb Biotechnol, 2019, 12(6): 1109-25.
- [10] Lu D L, Yao X, Ayinigeer A, et al. Profiling of lung microbiota in the patients with obstructive sleep apnea[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(26): e11175.
- [11] Wang Q, Zhan L, Han L, et al. The differential distribution of bacteria between cancerous and noncancerous ovarian tissues in situ[J]. J Ovarian Res, 2020, 13(1): 8.
- [12] Jin B, Jin F, Zuo A, et al. Destructive role of TMAO in T-tubule and excitation-contraction coupling in the adult cardiomyocytes[J]. Int Heart J, 2020, 61(2): 355-63.
- [13] 闫坤涛. ST 段抬高型心肌梗死和不稳定性心绞痛患者肠道微生态和氧化三甲胺的临床研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2018.

The correlation between intestinal microflora and its metabolites and the occurrence of heart failure was analyzed based on genomics and metabolomics

Li Li^{1,2}, Zhang Xin¹, Zou Lin^{1,2}

(¹Dept of Cardiac Function, The First Affiliated Hospital of Baotou Medical Collage, Baotou 014010;

²Graduate School of Baotou Medical Collage, Baotou 014040)

Abstract Objective To study whether intestinal bacterial microenvironment and its metabolites are involved in the occurrence and development of heart failure in rats. **Methods** The heart failure model of rats was induced by subcutaneous injection of isoproterenol, and the success of the model was evaluated by echocardiography after feeding for one and a half months, and then the rats were divided into two groups: heart failure (HF) group and control

网络出版时间:2022-1-25 8:10 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20220124.0940.014.html

CDH1 受幽门螺杆菌感染调控及其在胃癌组织中表达分析

陈定宇^{1,2}, 何小凤^{1,2}, 程薇^{1,2}, 全欣莹^{1,2}, 张瑜^{1,2}, 赵艳^{1,2}, 王琴容^{1,2}, 周建奖^{1,2}, 谢渊^{1,2}

摘要 目的 探究幽门螺杆菌(*Hp*)对E-钙黏蛋白(CDH1)表达的影响及CDH1在胃癌(GC)组织中的表达情况,为进一步探索CDH1在*Hp*引起胃癌中的作用提供理论基础。**方法** 用*Hp*灌胃蒙古沙鼠,3、12、24个月分别取其胃组织,进行免疫组化染色检测CDH1的表达;*Hp*感染胃上皮细胞AGS,24 h后收集样本,Western blot检测各组CDH1的表达。通过TCGA和Kaplan-Meier Plotter数据库比较胃癌组织和癌旁组织中CDH1的表达差异及CDH1与胃癌的预后分析;通过R语言对CDH1基因进行KEGG富集分析;另收集胃癌组织和癌旁组织标本各10例,免疫组化染色检测CDH1的表达。**结果** *Hp*灌胃蒙古沙鼠胃组织免疫组化染色结果显示,*Hp*感染3、12、24个月胃组织CDH1阳性率分别为13.70%、13.20%、22.90%,对照组阳性率分别为0.04%、4.50%、4.77%,差异有统计学意义($P < 0.05$);与对照组比

较,*Hp*感染AGS细胞组CDH1蛋白表达增高,差异有统计学意义($P < 0.05$);TCGA胃癌数据库中共收集449例具有临床病理参数的病例及其对应的CDH1 mRNA表达量,癌旁组织中CDH1 mRNA表达水平(76.36 ± 0.48)显著低于胃癌组织中CDH1 mRNA的表达水平(147.59 ± 0.11),差异有统计学意义($P < 0.05$);Kaplan-Meier Plotter数据库分析表明胃癌CDH1高表达时,生存率降低($P < 0.05$);KEGG富集显示CDH1表达与胃癌、甲状腺癌、膀胱癌、子宫内膜癌、黑色素瘤等肿瘤相关,功能显著富集到细菌侵袭上皮细胞和黏附连接,通路显著富集到Apelin信号通路、Hippo信号通路和Rap1信号通路等;CDH1阳性率在人胃癌组织为76.27%,高于癌旁组织45.68%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** *Hp*感染引起CDH1表达水平升高,可能是*Hp*引起胃癌的原因之一。

关键词 E-钙黏蛋白;幽门螺杆菌;TCGA;Kaplan-Meier Plotter;KEGG;胃癌

中图分类号 R 34

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)03-0412-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.03.014

胃癌是我国第二大常见肿瘤,其病死率高,要降低胃癌的总体病死率,早期发现并及时治疗非常重要^[1]。胃癌的发生发展涉及多个方面,包括宿主因

2021-08-22 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:31960028,31660031);贵州省科技计划项目(编号:黔科合基础[2020]1Z010);贵阳市科技计划项目(编号:筑科合同[2017]30-4)

作者单位:贵州医科大学¹ 地方病与少数民族性疾病教育部重点实验室、² 分子生物学重点实验室,贵阳 550004

作者简介:陈定宇,男,硕士研究生;

谢渊,女,教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: 37408126@qq.com

group. The serum TMAO level of rats was determined by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. Fecal samples of the control group and HF group were collected for bacterial DNA extraction, and then conducted 16SrDNA high-throughput sequencing. The diversity, relative abundance and different species of intestinal flora were analyzed using the NovoMagic cloud platform. **Results** Compared with the control group, serum TMAO level in HF group significantly increased ($P < 0.05$). Sequencing results of fecal samples in the two groups showed that at the phylum level, the top three bacteria were Firmicutes, Bacteroidetes and Actinobacteria. At the genus level, the top three species were Lactobacillus, *Allobaculum* and *Duchella*. The diversity analysis of the two groups showed that the structure of intestinal flora in HF group was similar to that in control group. The analysis of species differences with the T test showed that the top five bacteria groups with differences between the two groups were *Acidobacteriota*, *Verrucomicrobiota*, *Nitrospirota*, *Methyloirabiolota* and *Crenarchaeota* ($P < 0.05$). There was no significant difference in the comparison of other flora ($P > 0.05$). LEFSE analysis showed that *Lactobacillus murinus*, *Acidobacteriota*, *Bacteria* had significant differences between HF group and control group (LDA absolute value > 4). **Conclusion** The changes of intestinal flora and its metabolites TMAO levels are involved in the occurrence and development of heart failure in rats.

Key words heart failure; microenvironment of intestinal bacteria; trimethylamine oxide; high throughput sequencing