

Kardiyovasküler Hastalıklarda Bağırsak Mikrobiyota Metaboliti Trimetilamin N-oksit (TMAO) : Önlenme ve Tedavi İçin Yeni Bir Molekül mü?

Gut Microbiota Metabolite Trimethylamine N-oxide (TMAO) in Cardiovascular Diseases: A New Molecule for Prevention and Treatment?

Reyhan NERGİZ ÜNAL, Buket GÖNEN

Hacettepe Üniversitesi, Beslenme ve Diyetetik, Ankara, Türkiye

Yazışma Adresi
Correspondence Address

Reyhan NERGİZ ÜNAL

Hacettepe Üniversitesi,
Beslenme ve Diyetetik,
Ankara, Türkiye

nergiz@hacettepe.edu.tr

Geliş tarihi / Received : Nis 10, 2020
Kabul tarihi / Accepted : Tem 26, 2020
Elektronik yayın tarihi : Eyl 01, 2021
Online published

Bu makalede yapılacak atıf:

Cite this article as:

Gönen B, Ünal R.N.

Kardiyovasküler Hastalıklarda
Bağırsak Mikrobiyota Metaboliti
Trimetilamin N-oksit (TMAO) :
Önlenme ve Tedavi İçin Yeni Bir
Molekül mü?

Akd Tıp D / 2021; 7(3):436-447

Reyhan Nergiz ÜNAL

ORCID ID: 0000-0002-3143-7710

Buket GÖNEN

ORCID ID: 0000-0002-9836-3517

ÖZ

Dünya çapında ölümlerin en önde gelen nedeni olan kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi ve prognozunun kontrolünde bağırsak mikrobiyota türevli moleküllerin katkısının bulunması ile bağırsak ve kardiyovasküler sistem arasındaki bağlantıya olan ilgi önemli ölçüde artmıştır. Güncel çalışmalar bağırsak mikrobiyomu ve metabolitlerinin ateroskleroz, hipertansiyon, kalp yetmezliği, atrial fibrilasyon ve miyokard fibrozu gibi kardiyovasküler hastalıkların başlangıcında ve ilerlemesinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Diyetin içeriği bağırsak mikrobiyotasını değiştiren önemli bir faktördür. Hayvansal kaynaklarda bulunan kolin ve L-karnitin bağırsak mikroorganizmaları tarafından metabolize edilmesiyle trimetilamin (TMA) oluşmaktadır. Üretilen TMA'nın çoğunluğu pasif olarak portal dolaşıma geçmekte ve hepatik flavine bağımlı monooksijenazlar (FMO'lar) tarafından trimetilamin-N-oksit (TMAO)'e okside edilmektedir. Kırmızı et, süt ürünleri, yumurta, balık ve kümes hayvanlarında bol miktarda bulunan fosfotilkolin, L-karnitin ve betain TMA kaynağı olan bileşiklerdir. Trimetilamin veya öncüllerini içeren besinler kan ve idrar TMAO düzeylerini artırmaktadır. Son zamanlarda birçok çalışmada TMAO düzeylerinin yüksek olması kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilendirilmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar ve TMAO arasındaki bağlantının anlaşılması; TMAO'nun bir biyomarker olup olmadığının belirlenmesi ve TMAO'yu etkileyen diyet bileşenlerinin varlığının tespit edilmesi yeni tedavi yaklaşımlarına odaklanılması açısından önemlidir. Böylece, bu derleme kırmızı et ve diğer hayvansal ürünlerde bulunan kolin ve L-karnitin bir metaboliti olan TMAO'nun kardiyovasküler hastalıklar üzerine etkisini içeren mekanizmalar ile ilgili literatürün derlenmesi amacıyla yazılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Diyet, Beslenme, Mikrobiyota, TMAO

ABSTRACT

There has been an increasing interest in the relationship between the gut and the cardiovascular system, since the contribution of intestinal microbiota-derived molecules in the prevention and control of the prognosis of cardiovascular diseases, the leading cause of mortality worldwide, was determined. Current studies have demonstrated that intestinal microbiome and its metabolites play a significant role in the development and progression of cardiovascular diseases such as atherosclerosis, hypertension, heart failure, atrial fibrillation and myocardial fibrosis. The content of the diet is an important factor that changes the gut microbiota. Trimethylamine (TMA) is produced by the intestinal microorganisms which metabolize choline and L-carnitine found in animal sources. The majority of the TMA produced passively passes into the portal circulation and is oxidized to trimethylamine-N-oxide (TMAO) by the hepatic flavin-dependent monooxygenases (FMOs). Phosphatidylcholine, L-carnitine and betaine which are abundant in red meat, dairy products,

DOI: 10.53394/akd.982129

eggs, fish and poultry are the sources of TMAO. Foods containing trimethylamine or its precursors increase TMAO levels in blood and urine. In many studies conducted recently, high levels of TMAO have been associated with the risk of cardiovascular diseases. Understanding the relationship between cardiovascular diseases and TMAO, determining whether TMAO is a biomarker and determining the presence of dietary components affecting TMAO are of importance in focusing on new treatment approaches. Thus, this review was performed to compile the literature on the mechanisms involving the effect of TMAO, a metabolite of choline and L-carnitine found in red meat and other animal products, on cardiovascular diseases.

Keywords: Diet, Nutrition, Microbiota, TMAO, Atherosclerosis

GİRİŞ

Kardiyovasküler hastalıklar (KVH) gerek dünya genelinde gerekse Türkiye’de tüm ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır (1–4). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Avrupa Kardiyoloji Derneği (ESC) ve Amerikan Kalp Birliği (AHA) gibi uluslararası kuruluşlar her yıl ortalama 17,5 milyon kişinin KVH sebebiyle hayatını kaybettiğini rapor etmiştir (5,6). Türkiye’de ise KVH nedenli ölümler tüm ölümler arasında %48’lik bir paya sahiptir (7). Ulusal Hastalık Yüğü ve Maliyet Etkililik Çalışması (UHY-ME) (2000) sonuç raporuna göre kardiyovasküler hastalıklara bağlı ölüm oranının 2030 yılında kadınlarda 1,8 kat, erkeklerde 2,3 kat artacağı öngörülmektedir (7). Bu nedenle Kardiyovasküler hastalıklardan korunma ve bu hastalıkları tedavi etme küresel bir odak noktası haline gelmiştir. Kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde medikal tedaviye ek olarak beslenmenin de içerisinde yer aldığı yaşam tarzı değişikliği büyük önem arz etmektedir (8).

Kardiyovasküler hastalıkların oluşumu ve ilerlemesinde hipertansiyon, dislipidemi, diyabet ve obezite önemli risk faktörleridir. Bağırsak florasında üretilen metabolitler bu risk faktörlerinde önemli rol oynamaktadır (9). Son zamanlarda bağırsak mikrobiyota türevli moleküllerin kardiyovasküler hastalıkların gelişimine ve risk faktörlerine katkısının bulunması ile bağırsak ve kardiyovasküler sistem arasındaki mikrobiyota bağlantısına olan ilgi önemli ölçüde artmıştır (10–14). Diyet içeriği bağırsak mikrobiyotasını değiştiren önemli bir dış faktördür (15). Kırmızı ette ve diğer hayvansal kaynaklarda bulunan kolin ve L-karnitin bağırsak mikroorganizmaları tarafından metabolize edilmesiyle trimetilamin (TMA) oluşmaktadır (16). Kolin ve karnitin trimetilamine katabolizmasında birçok kolonik bakterinin etkisi bulunmakla birlikte temel olarak Firmicutes grubundaki bakteriler rol oynamaktadır (17). Daha sonra TMA karaciğerde trimetilamin-N-oksit (TMAO)’e okside edilmektedir (18). Yapılan çalışmalarda L-karnitin ve kolin takviyesi ile artan TMAO düzeylerinin antibiyotik tedavisi ile azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, karnitin ve kolin TMAO üretimi için bağırsak mikrobiyotasının gerekli olduğunu göstermektedir (19,20). Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada yüksek plazma TMAO düzey-

inin kardiyovasküler hastalık için yeni bir risk faktörü olabileceği gösterilmektedir (21–23).

Bağırsak mikrobiyotasının bir metaboliti olan TMAO’nun kardiyovasküler ve metabolik hastalıklarla bağlantılı olduğu, ancak bununla ilgili mekanizmaların tam olarak aydınlatılmadığı bilinmektedir. Son bulgulara dayanarak kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde TMAO’nun rolünün anlaşılması, terapötik yaklaşımların belirlenmesi açısından önemlidir. Böylece, bu derleme kırmızı et ve diğer hayvansal ürünlerde bulunan kolin ve L-karnitin bir metaboliti olan TMAO’nun kardiyovasküler hastalıklar üzerine etkisini içeren mekanizmalar ile ilgili literatürün derlenmesi amacıyla yazılmıştır.

MİKROBIYOTA VE KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLAR

Gastrointestinal yol bakteriler, virüsler, mantarlar ve protozoalar ile birlikte trilyonlarca mikrobiyal topluluğa ev sahipliği yapan ve metabolitler üreten büyük bir ekosistem olarak düşünülmektedir (24,25). Bağırsak mikrobiyotasının; vücutta bağışıklık sisteminin uyarılması, patojenlere karşı doğuştan gelen bağışıklığın desteklenmesi, sindirilmeyen besinlerin sindirimi, mukozal bariyerlerin düzenlenmesi, vitamin ve hormon üretimi gibi birçok görevi bulunmaktadır (18,26). İnsan bağırsağındaki temel bakteri gruplarını Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia ve Fusobacteria türleri oluşturmaktadır (18).

İnsanda homeostatik denge ve bağırsak mikrobiyotası arasında mutualist bir ilişki bulunmaktadır. Bu ilişki patolojik koşullarda bozulabilmekte ve disbiyozis olarak tanımlanan bu süreç konakçı için zararlı olabilmektedir. Bağırsak mikrobiyotası dolaşım sisteminin ve enerji dengesinin düzenlenmesine katkıda bulunabilen biyolojik olarak aktif birçok molekül üretmektedir (27).

Bağırsak mikrobiyotası konakçı içindeki sinyal molekülleri etkileyebilen en büyük endokrin organdır. Bu nedenle bağırsak florasındaki anormal bir değişiklik obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklarla bağlantılı olabilmektedir (10). Kardiyovasküler hastalık ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişkiyi destekleyen birçok epidemiyolojik çalışma bulunmakla birlikte altta yatan patogenetik nedenler belirsizdir. Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde endotoksemi ve lipopolisakarit yükü ile oluşan inflamasyon, bozulan kolesterol metabolizması, makrofajlardan köpük hücre oluşumu ve ateroskleroz lipod/plak oluşumu gibi bazı mekanizmalar ileri sürülmektedir. Bağırsak mikrobiyotası metabolitlerinden olan TMAO bu mekanizmayı açıklayan en muhtemel aday olarak gösterilmektedir (11,16,23,28).

Trimetilamin-N-oksit (TMAO) Yapısı, Sentezi ve Diyetle Alım

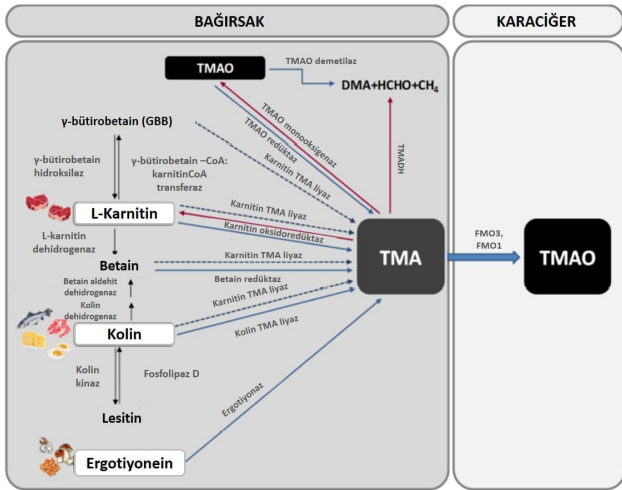
Amin oksit sınıfına ait olan TMAO renksiz organik bir bileşiktir (11). TMAO’nun tanımlanmış iki biyolojik görevi bulunmaktadır. Öncelikle bu okside olmuş amin, anaerobik solunum sırasında bir elektron alıcısı olarak hareket ederek bakteriyel büyümeyi desteklemektedir. İkinci olarak ise deniz hayvanlarında TMAO, proteinin yapısını ve fonksiyonunu

korumak için protein katlanmalarında görev alarak hidrostatik basınç, tuzluluk ve üre konsantrasyonları gibi denatüre edici etkileri engellemektedir (29).

Trimetilamin-N-oksit (TMAO), diyetle alınan kolin, L-karnitin, γ -bütirobetain ve betain gibi bileşiklerden üretilmektedir (16,30). Bağırsak mikrobiyotası, bu besinleri, C-N bağına parçalayabilen TMA liyazlarının etkisiyle TMA'yı serbest bırakarak bir karbonu yakıt kaynağı olarak kullanabilmektedir (24). Bu işlemi karnitin TMA'ya dönüşümünde Rieske-tipi oksijenaz/redüktaz, kolinin TMA'ya dönüşümünde ise glisil radikal enzimi homolog kolin trimetilamin-liyaz katalize etmektedir (24).

Endüstriyel üretim aşamalarında ve gıda atıklarının anaerobik fermentasyonu ile az da olsa sentezlenebilen TMA (31) insanlarda diyetle alınan kolin, kolin içeren bileşikler (fosfatidilkolin, fosfokolin sfingomyelin vb.), L-karnitin ve betain ile gastrointestinal sistem lümeni içerisinde bulunan anaerobik bakteriler tarafından yüksek miktarda TMA'ya dönüştürülmektedir (19). Kolin, serbest kolin veya birçok bileşiğin parçası olarak besinlerde bulunabilmektedir. Kolin içeren bileşiklerden biri, fosfolipaz D enzimi tarafından koline çevrilebilen lesitin olarak da bilinen fosfatidilkolindir. Kolin ve lesitin dönüşümü çift yönlüdür ve kolin, kolin kinaz tarafından lesitine dönüştürülmektedir. Kolin, kolin TMA liyaz enzimi vasıtasıyla TMA'ya dönüştürülürken, çoğunlukla bitkilerde bulunan betain, indirgeme-oksidasyon reaksiyonunda betain redüktaz tarafından TMA'ya indirgenir. Ayrıca; kolin, kolin dehidrojenaz ve betain aldehit dehidrojenaz enzimlerinin sıralı etkisiyle betaine dönüştürülebilmektedir (16).

Şekil 1.



Şekil 1. Diyet ve Trimetilamin N-oksit (TMAO) sentez yolu. Diyetle alınan karnitin, kolin, ve kolin içeren bileşikler bağırsak mikrobiyotası tarafından metabolize edildiğinde bağırsak lümeninde trimetilamin (TMA) oluşur. TMA bağırsaktan emildikten sonra karaciğerde hepatik flavine bağımlı monooksijenazlar (FMO1 ve 3 izoformları) tarafından TMAO'ya dönüştürülür. Ayrıca ergotiyonein ergotiyonaz vasıtasıyla TMA'ya dönüştürülebilir. Bağırsakta oluşan TMAO ise TMAO redüktaz ile TMA'ya dönüştürülebilir. TMADH: Trimetilamin dehidrojenaz (16,31,32).

Kolin dışında TMA'nın bir başka öncüsü L-karnitindir. L-karnitin; γ -bütirobetain-CoA vasıtasıyla γ -bütirobetaine, karnitin CoA transferazın etkisiyle betaine dönüştürülebilmektedir.

Karnitin TMA liyaz enzimi; kolin, betain ve L-karnitinden direkt olarak TMA üretimini katalizlemektedir. Ergotiyonein ise biyolojik bir amin olup, histidinin bir türevidir. Ergotiyonein üretimi mantarlar ve Actinobacteria, Cyanobacteria, Bacteroidetes ve Proteobacteria gibi bazı bakterilerde yaygındır. Memeliler ergotiyonein sentezleme yeteneğine sahip değildir, ancak insanlar bu bileşiği mantar, bazı et ürünleri (böbrek, karaciğer), bazı bitkisel ürünler (siyah fasulye, kırmızı fasulye, yulaf kepeği) gibi diyet kaynaklarından sağlamaktadır. Ergotiyonein ergotiyonaz enzimi vasıtasıyla TMA'ya dönüştürülmektedir (32). Tanımlanan mekanizmalar Şekil 1'de özetlenmiştir.

Bağırsakta üretilen TMA daha sonra dolaşıma katılır (30). Dolaşıma katılan TMA karaciğerde hepatik enzim flavin monooksijenaz 3 (FMO3) tarafından TMAO'ya oksitlenir (11,17,33). Oluşan TMAO daha sonra bir osmolit olarak dokularda birikmekte veya çoğunlukla böbrek tarafından temizlenmektedir (33). Alınan TMAO'nun yaklaşık yarısı emildikten sonra idrar, ter ve nefes yoluyla değişmeden atılmaktadır. Kalan diğer yarısı ise TMAO redüktazın etkisiyle bağırsakta TMA'ya dönüştürülmektedir. Daha sonra TMA, bazı bağırsak mikroorganizmalarında bulunan TMA monooksijenazının etkisiyle tekrar TMAO'ya oksitlenebilmektedir (16,34).

Vücutta eksprese edilen TMAO'nun sentezinde görev alan FMO ailesinin beş üyesi bulunmaktadır (FMO1-5); ana izoform ise karaciğerdeki FMO3'dür. (11,17,33). En aktif olanları FMO1, FMO2 ve FMO3'tür. FMO3, FMO1'e göre yaklaşık 10 kat daha fazla aktivite göstermektedir (24). FMO3 genlerinde (özellikle P153L ve E305X) nadiren görülen zararlı mutasyonlar 'balık kokusu sendromu' olarak bilinen, trimetilaminüri olarak adlandırılan otozomal resesif geçişli bir hastalığa neden olmaktadır. Bu hastalığın görüldüğü kişiler idrar, ter ve nefeslerinde çürümüş balık kokusuna sahiptir (17,33). FMO3 karaciğer dışında akciğer, adrenaller ve aorttan eksprese edilmektedir. Kadınlarda FMO3 ekspresyonu erkeklerden daha yüksektir. Bu durum testosteronun erkeklerde düşük FMO3 ekspresyonuna sebep olması ve kadınlarda östrojenin FMO3 ekspresyonunu uyarması ile açıklanabilmektedir (35).

Bireyler arasında TMAO düzeylerinin farklı olmasının bir diğer nedeni ise diyetdir. TMAO veya öncüllerini içeren besinler kan ve idrar TMAO düzeylerini artırmaktadır (35). Kırmızı et, süt ürünleri, yumurta, balık ve kümes hayvanlarında bol miktarda bulunan fosfatidilkolin, L-karnitin ve betain trimetilamin içeren bileşiklerdir (36). Kolin birçok besinde serbest kolin olarak veya fosfatidilkolin, fosfokolin, sfingomyelin gibi bileşiklerin bir parçası olarak bulunabilmektedir (16). Kolin; sığır ciğeri, karnabahar ve yer fıstığı gibi çeşitli besinlerde yüksek miktarlarda bulunmaktadır (32). İnsan diyeti ortalama olarak yaklaşık 500 mg serbest kolin içermektedir (37). Kolinin günlük yeterli alım düzeyi ise erkekler için 550

mg/gün ve kadınlar için 425 mg/gün'dür. Üst alım sınırı ise yetişkinlerde 3500 mg/gün ve çocuklarda 1000 mg/gün'dür (38).

Et, balık, kümes hayvanları ve süt gibi hayvansal ürünler karnitin bakımından yüksek iken, bitkilerde az miktarda karnitin bulunmaktadır. Örneğin; 100 g yumurta <1 mg karnitin içerirken 100 g sığır eti 39 mg karnitin içermektedir. Karnitin ayrıca böbrek, karaciğer ve beyinde iki temel amino asitten (lizin ve metiyonin) endojen olarak sentezlenebilmektedir (38). Tuzlu su balıkları TMAO'nun en zengin kaynağıdır (yaklaşık 3 mg/g) (32). Deniz balıkları (örneğin; morina balığı, mezigit balığı, halibut, ringa balığı) tatlı su balıklarından (örneğin; alabalık) daha yüksek TMAO konsantrasyonlarına sahiptir. Örneğin <1 mg TMAO içeren 100 g sığır eti veya yumurtaya kıyasla, 100 g morina balığı 300 mg TMAO içermektedir (38). Balıklarda bulunan TMAO'nun metabolik bir ürün olmaktan ziyade doğal besin kaynağının ve dokuda birikimin sonucu olduğu düşünülmektedir (17). Fosfotidilkolin içeren deniz ürünleri yüksek düzeyde çoklu doymamış yağ asiti (PUFA) içermesinden dolayı kardiyovasküler hastalık üzerine olumlu etkiler sağlamaktadır. Ancak fosfotidilkolin, kardiyovasküler sağlık üzerine olumsuz etkisi olduğu düşünülen TMAO'nun prekürsörüdür. Balık tüketimi ile PUFA alımının; balığın fosfotidilkolin içeriğinden kaynaklanabilecek olumsuz etkiye kıyasla sağlık üzerine olumlu etkisinin daha kuvvetli olabileceği belirtilmiştir (39).

Plazma TMAO düzeyleri geniş bir aralıkta olup bireyler arasında farklılık göstermektedir. Dolaşımdaki TMAO düzeyleri; diyet, bağırsak mikrobiyotası, karaciğer FMO enzimleri ve böbrek fonksiyonları gibi çeşitli faktörler tarafından belirlenmektedir (33). Tipik batı diyeti ile beslenen bireyler yaklaşık 50 mg/gün TMAO üretmekte ve üretilen TMAO'nun %95'i idrar ile atılmaktadır (32). Sağlıklı bireylerde TMAO'nun plazma konsantrasyonu 0.5-5 µM arasında değişmektedir (34). İnsanların yumurta içeren bir öğün tüketiminden sonra, 6-8 saatte plazma TMAO konsantrasyonları en yüksek düzeyde olmakta ve yemekten 24 saat sonra bazal seviyeye dönmektedir (38). Kandan başka dokularda TMAO konsantrasyonu hakkında yeterli veri bulunmamaktadır (37).

TRIMETILAMİN-N-OKSİT (TMAO) VE KARDİYOVASKÜLER HASTALIKLAR

Dünya çapında ölümlerin önde gelen nedenlerinden olan kardiyovasküler hastalıklar ve olumsuz kardiyovasküler olayların, kanda TMA ve TMAO düzeyleri ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar literatürde gün geçtikçe artmaktadır (40,41). TMAO'nun pro-aterojenik özelliği bu bileşiğin kolesterol ve sterol metabolizmasını olumsuz yönde etkileyebileceğini, ters kolesterol taşınmasını baskıladığını, makrofajlarda kolesterol birikimini artırdığını ve trombosit aktivasyonunu tetiklediğini göstermektedir (11).

Kardiyovasküler hastalıklar ve TMAO ile ilgili yapılan bir meta-analiz çalışmasında (n=19256) TMAO konsantrasyonu artışı ciddi istenmeyen kardiyovasküler olayların (MACE/OKVO) artması (1,62 kat) ile ilişkilendirilmiştir (42). Yapılan bir diğer meta-analiz çalışmasında 100 mg/gün

kolin alımı artışı herhangi bir kardiyovasküler hastalık insidansı ile ilişkili bulunmamıştır (43). Kesitsel çalışmaların derlendiği bir meta-analiz çalışmasında ise artan TMAO düzeyleri, kardiyovasküler olayların %23 oranında artmış riski ile ilişkilendirilmiştir (21). Kardiyovasküler hastalıkların altında yatan mekanizmaların TMAO ile ilişkilendirildiği ve diyetin bu sürece etkisinin araştırıldığı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Ateroskleroz ve Trimetilamin-N-oksit (TMAO)

Ateroskleroz oluşumunda görülen temel patolojik değişiklik arter duvarında lipitten zengin makrofajların (köpük hücre) oluşumudur (26). Köpük hücre oluşumu, oksidatif stres ve inflamasyon aterosklerotik plak lezyonlarının gelişimine neden olmaktadır (44). Makrofajların ox-LDL alımını artıran ve köpük hücre oluşumuna neden olan çöpçü reseptör CD36 ve çöpçü reseptör sınıf B tip 1 (SR-AI) ekspresyonu TMAO ile artabilmektedir. Ayrıca TMAO, inflamatuvar gen ekspresyonu ve lökositlerin endotel hücre adezyonuna neden olan vasküler düz kas hücrelerini, endotel hücre mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz (MAPK) ve nükleer faktör-κB (NF-κB) sinyallerini aktive etmektedir. Ek olarak TMAO nod benzeri reseptör proteini 3 (NLRP3) inflamazomunu aktive edebilmektedir (26,30). Ayrıca, interlökin-6 (IL-6), siklooksijenaz-2 (COX-2), E-selektin ve intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) gibi birçok inflamatuvar proteini indükleyebilmektedir (25,30). Bu sonuçlara karşın TMAO'nun ateroskleroz oluşumunda etkisinin olmadığını gösteren güncel makaleler de literatürde yer almaktadır (44-46).

Ateroskleroz ve TMAO arasındaki ilişkiye dair insanlarda yapılan çalışmalardan birinde (n=220) artmış serum TMAO düzeylerinin aterosklerozun erken bir belirteci olan karotis intima media kalınlığı artışı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Çalışmada yaşam tarzı müdahalesi ile ortalama TMAO konsantrasyonu değişmemiş ve sadece TMAO düzeylerinin en fazla azalma gösterdiği kuartilde (<%20) karotis media kalınlığının önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur (47). Çift kör, randomize kontrollü olarak planlanan bir çalışmada gönüllü bireylere (n=6) tek doz 0, 1, 2, 4 ve 6 adet yumurta sarısı içeren diyet (standart diyete ek olarak; 0, 119, 238, 476 ve 714 mg ek kolin alımı) sırasıyla uygulanmıştır. Çalışma sonucunda plazma TMAO düzeyleri yumurta dozundan 6-8 saat sonra en yüksek plazma düzeyine ulaşmıştır. Ancak, yumurta tüketiminden sonra ox-LDL konsantrasyonlarında farklılık bulunmamıştır (48).

Ateroskleroz ve TMAO arasındaki ilişkiye dair yapılan hayvan çalışmalarından birinde ApoE-/- fareler TMAO içeren su (1 mmol/L) ve içermeyen su verilmek üzere iki gruba ayrılmıştır. TMAO içeren su verilen grupta ICAM1, TNF-α and IL-6 ekspresyonunun arttığı, ayrıca TMAO'nun CD36 ekspresyonunu artırdığı bulunmuştur (23). Erkek Apo E-/- fareler ile yapılan bir çalışmada ise l-karnitin (oral) verilen grupta eksternal karotid arterler, innominat arterler ve subklavyen arterlerin darlık oranı diğer gruplara göre (yüksek

yağlı diyet ve l-karnitin- deri altı) 2 kat daha yüksek bulunmuştur (49). C57BL/6J Apo E^{-/-} fareler üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise 5 g/kg kolin, 10 g/kg kolin ve 1,2 g/kg TMAO takviye edilmiş normal bir diyet alan grupta kontrol grubuna göre aort kökü aterosklerotik lezyon oluşumunun arttığı görülmüştür (50). Aynı fare modeli ile yapılan bir diğer çalışmada benzer etkiler 3 g/kg TMAO takviyesi ile görülmüştür (51).

Buna karşın erkek ApoE^{-/-} fareler ile yapılan bir çalışmada (insanlarda 2000 mg/gün'e karşılık geliyor) farelere 352 mg/kg l-karnitin verildiğinde ateroskleroza karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (44). Ayrıca bir başka yapılan çalışmada C57BL/6 farelerin diyetlerine yüksek yağlı diyet ek olarak 3 g/kg, 6 g/kg ve 12 g/kg sfingomiyelin ilave edilmiştir. Diyetine 12 g/kg sfingomiyelin eklenen farelerin serum TMAO konsantrasyonunun arttığı gösterilmiş, ancak aort lezyonlarında gruplar arasında farklılık bulunmamıştır (52). Fazla miktarda TMAO ve öncüllerini uygulayan hayvan çalışmaları normal durumdan farklıdır ve bu sebeple TMAO ile hastalık oluşumu arasındaki nedensel ilişkiyi tam olarak açıklayamamaktadır. Buna ters olarak, daha düşük dozlarda TMAO ve öncüllerini uygulayan hayvan çalışmalarında koruyucu veya nötr etkiler görülmüştür. Ayrıca TMAO öncüllerinin çeşiti de çalışma sonuçlarını etkileyebilmektedir.

Kolin, L-karnitin ve TMAO içeren diyetin tüketimi; safra asit havuzu büyüklüğü ve bileşimini, karaciğer, arter duvarı ve bağırsaklarda sterol metabolik yolunu değiştirmektedir (30). Ayrıca, TMAO karaciğerde çoklu safra asit taşıyıcıları (OATP1, OATP4, MRP2 ve NTCP) ve safra asit biyosentezi için gerekli olan iki anahtar enzimin (CYP7A1 ve CYP27A1) ekspresyonunu azaltabilmektedir (26). Yapılan bir çalışmada 3 g/kg TMAO içeren diyetin hepatik CYP7A1 aktivitesini azaltarak düzenlediği (downregülasyon) ve böylece ApoE^{-/-} farelerde ters kolesterol taşınmasını azalttığı tespit edilmiştir (51). Ayrıca diyetle TMAO eklenmesinin, kolesterolü enterositlerin içine ve dışına taşıyan bağırsak kolesterol taşıyıcı Niemann-Pick C1-like1 (Npc1L1), ATP bağlayıcı kaset G5 (Abcg5) ve ATP bağlayıcı kaset G8 (Abcg8) ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur (33). Tablo I yapılan bu çalışmaların özetini içermektedir. Kardiyometabolik düzensizliğin oraya çıkmasına katkıda bulunan bir faktör olan TMAO'nun biyokimyasal mekanizmasının daha iyi anlaşılması ve aterogenezi önleyebilecek yeni terapötik yöntemlerin geliştirilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Tablo I. TMAO Alımı ve Ateroskleroz ile İlişkili Çalışmalar

| Örneklem | Tüketim Düzeyi-Süre | Belirteç ve Etkisi | Kaynak |
|--|--|---|--------|
| Tübingen programına katılan bireyler (n=220) | - | Serum TMAO artışı karotis intima media kalınlığı artışı ile ilişkili | (47) |
| Sağlıklı bireyler (n=6) | Tek doz 0,1,2,4 ve 6 adet/gün yumurta sarısı içeren diyet | 6 yumurta/gün tüketimi ile idrar ve plazmada TMAO artışı | (48) |
| 8 haftalık CD1 fare (her grupta n=10) | Batı diyeti ve/veya %1,0 TMA inhibitörü (DMB) 8 hafta | Batı diyeti ile beslenen grupta TMAO artışı DMB tedavisi ile plazma TMAO azalışı | (62) |
| 8 haftalık C57BL/6J fareler (her grupta n=10) | Standart diyet ek %1 kolin ve/veya %0,4 resveratrol 16 hafta | Resveratrol verilen grupta düşük serum TMAO/TMAO ve daha düşük aterosklerotik lezyon gelişimi | (70) |
| ApoE ^{-/-} fare (n=20) | TMAO (1 mmol/L) içeren su ve içermeyen su 8 hafta | TMAO içeren su verilen grupta artmış ox-LDL tarafından indüklenen CD-36 ekspresyonu | (23) |
| ApoE ^{-/-} fare (her grupta n=12) | 200 g/kg balık proteini, kazein veya soya proteini 16 hafta | Balık proteini ile beslenenlerde 6 kat yüksek plazma TMAO ile daha fazla IL-6, CD36 ve CD68'in mRNA ekspresyonu | (73) |
| Fisher-344 rat (her grupta n=18) | TMA inhibitörü (DMB) 8 hafta | Yaş arttıkça daha yüksek plazma TMAO düzeyleri ve aorta proinflatuar sitokinlerin ekspresyon artışı | (74) |
| Kardiyovasküler risk faktörlerine sahip bireyler (Her grupta n=30) | Laktofermente edilmiş ve/veya fermente edilmiş elma püresi (125 g/gün) 16 hafta | Laktofermente edilmiş elma püresi ile beslenenlerde HDL kolesterolde %61,8 artış ve TMAO % 63,1 azalış | (75) |
| C57BL/6J fare (n=20) | Polien fosfatidilkolin eklenmiş diyet (205,2 mg/g) 8 hafta | Fosfatidilkolin grubunda karaciğer CPT1A, CD36, L-FABP mRNA ekspresyonu azalışı | (76) |
| Sağlıklı normolipidemik bireyler (n=26) | Atkins diyeti, South Beach diyeti veyaOrnish diyeti 4 hafta | Atkins diyeti artmış TMAO düzeyleri (3,3 mM) ile ilişkili | (77) |
| ApoE ^{-/-} fare (her grupta n=8) | %0,3 TMAO içeren diyet 8 hafta | TMAO grubunda aort plak alanında 2 kat artış; %38,4 daha düşük Cyp7a1 mRNA ekspresyonu | (51) |
| Sağlıklı bireyler (n=276) | Akdeniz diyet skoru | Karotis plak yükü ve TMAO düzeyleri akdeniz diyet skoru ile ilişkili değil | (78) |
| 7 haftalık apoE ^{-/-} fare (her grupta n=8) | Yüksek yağlı diyet ve/veya berberin (50 mg/kg) 12 hafta | Berberin verilen grupta yüksek MMP-2, IL-6 ve ICAM-1 ekspresyonu ve daha düşük TMAO düzeyleri | (79) |
| ApoE ^{-/-} fare (her grupta n=15) | Yüksek yağlı grup ve/veya L-karnitin (oral) veya L-karnitin (deri altı) 12 hafta | L-karnitin (oral) ile eksternal karotid arterler ve subklavyen arterlerin darlık oranı 2 kat daha yüksek | (49) |
| Ldlr ^{-/-} fare (n=12) | TMAO (250ml/100mmol) ve LPS (50mg) (enjeksiyon başına) 3hafta | Aort Spp1, CD36 ve Il1b gen ekspresyonu artışı, Aortik lezyon gelişiminde artış | (80) |
| Sağlıklı yaşlı kadımlar (n=20) | 1500mg/gün L-karnitin-L-tartrat (n=11), plasebo (n=9) 24 hafta | L-karnitin eklenmesi ile plazma TMAO düzeyinde 10 kat artış | (81) |
| Sağlıklı bireyler (n=271) | 24 saatlik besin tüketim kaydı | Yüksek süt tüketimi ile (>143,4 g/gün) yüksek plazma TMAO düzeyleri ve en yüksek TMAO kuartilinde yüksek TNF-α | (82) |
| Sağlıklı bireyler (n=18) | Kolin bitartrat, SuperbaBoost™ krill yağı (8g) tek doz veya balık yağı (6g) Tek doz | SuperbaBoost™ krill yağı grubunda daha düşük plazma TMAO düzeyi | (83) |
| Pemt ^{+/+} Ldlr ^{-/-} ve Pemt ^{-/-} Ldlr ^{-/-} fare (n=8-12) | Normal diyet (1,3 g/kg kolin) veya kolin eklenmiş diyet (10 g/kg kolin) 12 hafta | Kolin grubunda 2,5 kat daha yüksek TMAO düzeyi, Kolin eklenmesi plak oluşumu artışı ile ilişkili değil | (84) |
| Ldlr ^{-/-} (her grupta n=5-12) ve ApoE ^{-/-} fareler (her grupta n=7-8) | Farklı düzeylerde kolin, betain veya TMAO eklenmiş diyetler | Plazma TMAO; kolin takviyesi ile 1,6 kat, TMAO takviyesi ile 4 kat artış, Diyet ile aterosklerotik lezyon gelişimi değişmemiş | (46) |

DMB: 3,3-Dimetil-1- bütanol, MMP-2: Matris metalloproteinaz-2, IL-6: İnterlökin-6, ICAM-1: İnterleülin adezyon molekülü-1, CPT1A: Karnitin palmitoiltransferaz 1, L-FABP: Karaciğer tipi yağ bağlanma proteini LPS: Lipopolisakarit, Spp1: Salgılanmış fosfoprotein-1, Il1b: İnterlökin-1 beta, TNF-α: Tümör nekrozis faktör-α, TMA: Trimetilamin, TMAO: Trimetilamin-N-Oksit

Trombozis ve Trimetilamin-N-oksit (TMAO)

Normal trombosit fonksiyonu dolaşım sisteminde kan homeostazını sağlamak için kritik öneme sahiptir. Trombosit aktivasyonunun artması kardiyovasküler hastalık riskinin artması ve trombotik olayların artması ile ilişkilidir. TMAO, trombosit hücrelerinde kalsiyum salınımını artırarak trombosit agregasyonu ve tromboza yol açabilmektedir (26,30). Yapılan bir çalışmada TMAO'ya maruz kalan trombositlerin interveing peptit-2 (IP2) üretimini ve Ca²⁺ salınımını tetikleyerek trombosit aktivasyonunu doza bağımlı olarak artırdığı görülmüştür. Ayrıca, çalışmada (n=>4000) plazma TMAO düzeyleri trombotik olayların (inme ve miyokard enfarktüsü) insidansı ile ilişkili bulunmuştur (53).

Aterosklerotik tromboz ve TMAO arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada koroner arter endotel hücrelerin TMAO (10-200 µM) ile uyarılması sonucu zamana bağlı olarak doku faktörü (TF) ekspresyonu ve aktivasyonunda artış görülmüştür. Ayrıca çalışmada TMAO'nun NF-κB sinyal yolunu aktive ederek TF ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir (54). Yapılan bir diğer çalışmada bireylere 2 ay boyunca oral olarak kolin takviyesi (yaklaşık 450 mg/gün kolin) verildiğinde hem vegan/vejetaryen hem de hepçil katılımcılarda trombosit agregasyonu artışı ile birlikte plazma TMAO düzeylerinin 10 kattan fazla arttığı görülmüştür (55). Tablo II yapılan bu çalışmaların özetini içermektedir. Trombozis ve TMAO arasındaki bağlantıların anlaşılması trombozun önlenmesi ve tedavisinde yeni yaklaşımlara sebep olması açısından önemlidir. Bu konu ile ilgili daha fazla çalışmanın planlanması TMAO aracılı trombozun anlaşılması için gereklidir.

Tablo II. TMAO Alımı ve Trombozis İle İlişkili Çalışmalar

| Örneklem | Tüketim Düzeyi-Süre | Belirteç ve Etkisi | Kaynak |
|---|--|---|--------|
| Kardiyak kateterizasyon uygulanan yetişkin bireyler (n=4007) | Plazma TMAO düzeyleri 36 ay takip | TMAO düzeylerine göre trombotik olay riskinde 1,64 kat artış | (53) |
| Akut Miyokard Enfarktüsü bulunan yetişkin bireyler (n=44) ve kontrol grubu (n=11) | Plazma TMAO düzeyleri 2 ay | Plazma TMAO; doku faktörü aktivitesiyle pozitif ilişkili ve hasta bireylerde artmış mortalite | (54) |
| Vegan/Vejetaryen (n=8), hepçil bireyler (n=10) | 500 mg kolin bisülfat (~450 mg kolin) 2 ay | Her iki grupta; trombosit agregasyonu artışı, plazma TMAO 10 kattan daha fazla artışı | (55) |
| C57BL/6J fare (n=52) | %0,5'lik kolin diyeti, %1'lik kolin diyeti ve/veya %1,3 DMB 1hafta< | Kolin eklenmesi ile daha yüksek plazma TMAO, DMB takviyesi ile azalmış pıhtı oluşum oranı | (85) |
| Atrial fibrilasyonu olan romatizmal kalp hastalığı bulunan bireyler (n=117) | Trombozu olan (n=25) ve trombozu olmayan hastaların (n=92) plazma TMAO düzeyleri | Trombozu olan bireylerde daha yüksek TMAO düzeyleri | (86) |
| Akut venöz tromboembolizimi bulunan yaşlı bireyler (n=859) | Plazma TMAO düzeyleri 28 ay takip | Yüksek plazma TMAO düzeylerinde yüksek akut venöz tromboembolizm riski | (87) |
| İnsan aort endotel hücreleri | Hücrelerin çeşitli TMAO konsantrasyonları ile uyarılması (0,3, 1,5 ve 3 mg/ml) 6 saat | Doku faktörünü aktivitesinin doza bağımlı olarak artışı | (88) |

DMB: 3,3-Dimetil-1- bütanol, TMA: Trimetilamin, TMAO: Trimetilamin-N-Oksit

Kalp yetmezliği ve Trimetilamin-N-oksit (TMAO)

Kalp yetmezliği kalp performansının azalması sonucu, kalbin doku ve organlara yeterli kanı iletememesi sonucu ortaya çıkan klinik bir tablo olup başta hipertansiyon olmak üzere çeşitli kardiyak sorunlardan kaynaklanmakta ve kardiyovasküler hastalıkların ortak bir sendromu olarak görülmektedir (56).

Kronik kalp yetmezliğinde TMAO, betain ve kolin seviyelerinin yüksek düzeylerde olduğu görülmüştür (25,57). Kalp yetmezliği ve TMAO arasındaki muhtemel mekanizma TMAO'nun anjiyotensinin hipertansif etkisini uzatmasıdır (18). Yapılan bir çalışmada sağlıklı bireylere kıyasla kronik kalp yetmezliği olan hastalarda daha yüksek TMAO düzeyleri tespit edilmiştir (22). Akut ve kronik kalp yetmezliğine sahip bireylerde yapılan çalışmalarda bireylerin en yüksek plazma TMAO kuartili, artmış ölüm riski (2,1-2,7 kat) ile ilişkili bulunmuştur (58-60). Tablo III yapılan bu çalışmaların özetini içermektedir. Kalp yetmezliği bulunan hastalarda TMAO düzeyleri önemli olabilmektedir. Ancak kalp yetmezliğinin TMAO düzeyine etkisinin olup olmadığı veya TMAO'nun kalp yetmezliği patofizyolojisine katkısının olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca kalp yetmezliği ve TMAO arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda bireylerin diyetleri ile ilgili sınırlı veri bulunmakta veya hiç veri bulunmamaktadır. Hasta bireylerde TMAO düzeyi düşürülmesinin hastalığın daha iyi prognozuna sebep olacağını gösteren kesin bir kanıt yoktur.

Tablo III. TMAO Alımı ve Kalp Yetmezliği İle İlişkili Çalışmalar

| Örneklem | Tüketim Düzeyi-Süre | Belirteç ve Etkisi | Kaynak |
|--|--|--|--------|
| Akut koroner olay sonrası hastaneye başvuran bireyler (n=475) | Akut koroner girişim sonrası bireylerin plazma örnekleri 4 ay | Yüksek plazma TMAO kalp yetmezliği için 2,7 kat artmış mortalite riski | (60) |
| Akut kalp yetmezliği olan bireyler (n=972) | Bireylerin plazma örnekleri 12 ay | En yüksek plazma TMAO kuartilinde 2,12 kat artmış mortalite riski | (59) |
| Dekompans kalp yetersizliği olan bireyler (n=22) | Bireylerin plazma örnekleri | Kalp yetmezliği olan bireylerde daha yüksek TMAO, BNP düzeyleri TMAO ile ilişkili değil | (89) |
| Kronik kalp yetmezliği olan bireyler (n= 1208) | Bireylerin plazma örnekleri 5,5 ay | En yüksek plazma TMAO kuartilinde 2,15 kat artmış mortalite riski | (58) |
| Kronik kalp yetmezliği (n=155), ve koroner arter hastalığı (n=100) olan bireyler, sağlıklı bireyler (n=33) | Bireylerin plazma örnekleri 15,5 ay | Kronik kalp yetmezliği olan bireylerde artmış plazma TMAO, kolin ve betain | (57) |
| Kalp hastalığı bulunan bireyler (n=720) | Bireylerin plazma örnekleri 60 ay | Kalp yetmezliği bulunan bireylerde daha yüksek plazma TMAO, yüksek plazma TMAO ile daha yüksek BNP düzeyleri | (22) |
| C57BL/6J erkek fare (her grupta n=10-12) | %1,2 kolin içeren diyet veya %0,12 TMAO içeren diyet 15 hafta | TMAO ve kolin takviyesi ile dolaylıda artmış BNP, daha kötü sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu | (61) |
| C57BL/6J erkek fare (her grupta n=9) | %1 DMB içeren ve/veya içermeyen su 1,5 ay | DMB tedavisi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda iyileşme, interstisyel fibrozis alanında azalma | (90) |

BNP: B tipi natriüretik peptit, DMB: 3,3-Dimetil-1-bütanol, TMAO: Trimetilamin-N-Oksit

Miyokardial Fibrozis ve Trimetilamin-N-oksit (TMAO)

Miyokardial fibrozis çeşitli kalp hastalıklarının son aşamasında görülmektedir. Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde miyokardial fibrozis ve TMAO arasında güçlü bir ilişki bulunduğu görülmektedir. (14,61–63).TMAO, kalp kompliyansı ve fonksiyonuna zarar veren kalp dokuları arası fibrozisi ve perivasküler fibrozisi şiddetlendirebilmektedir. Bununla birlikte TMAO'nun miyokard fibrozisini şiddetlendirdiği mekanizma tam olarak anlaşılmamıştır. Ancak potansiyel olarak, TMAO'nun, TNF-a ve IL-10'u artırarak miyokard inflamasyonunu indüklediği düşünülmektedir (24). Yapılan bir çalışmada C57BL6/J farelerin diyetlerine 12 g/kg kolin ve 1,2 g/kg TMAO eklenmiştir. Çalışma sonunda kontrol grubuna göre kolin ve TMAO grubunda miyokard fibrozis anlamlı olarak daha büyük bulunmuştur (61). Yapılan bir başka çalışmada ise TMAO'nun NLRP3 inflamazomunu aktivasyonu yoluyla kardiyak fibrozisi indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca çalışmada NLRP3 inhibisyonunun TMAO aracılı kardiyak fibrozisi tersine çevirebildiği bulunmuştur. Bu durum TMAO'nun kardiyak fibrozis tedavisi için potansiyel bir hedef olabileceğini göstermektedir (13). Tablo IV yapılan bu çalışmaların özetini içermektedir. Son bulgular incelendiğinde TMAO içeren veya yüksek kolin diyetinin inflamasyonu indükleyerek miyokardial fibrozis artışına neden olabileceği görülmektedir. Miyokardial fibrozis ve TMAO arasındaki bağlantının anlaşılması için daha fazla çalışma gerekmektedir.

Tablo IV. TMAO Alımı ve Miyokardial fibrozis ile İlişkili Çalışmalar

| Örneklem | Tüketim Düzeyi-Süre | Belirteç ve Etkisi | Kaynak |
|---|---|---|--------|
| C57BL6/J fare (her grupta n=6-7) | %1,2 kolin içeren diyet veya %0,12 TMAO içeren diyet 15 hafta | Kolin ve TMAO takviyesi ile daha büyük miyokardial fibrozis alanı | (61) |
| C57BL/6 fare (her grupta n=7) | %1,2 kolin içeren diyet, kolin + DMB içeren diyet veya %0,12 TMAO içeren diyet 4 hafta | TMAO ve kolin takviyesi ile daha büyük miyokardial fibrozis alanı | (14) |
| Erkek CD1 fare (her grupta n=10) | TMAO (120 mg/kg) içeren su ve içermeyen su ve/veya egzersiz eğitimi 8 hafta | Batı diyeti sedanter farelerde kalpte interstisyel fibrozis ve vimentin proteini artışı, Plazma TMAO ile kalpte vimentin protein pozitif ilişkili | (91) |
| Yetişkin erkek Sprague-Dawley rat (her grupta n=10) | %0,9 salin solüsyonu, 15mg/kg TMAO eklenmiş grup 1 veya 2 hafta süre | TMAO eklenmiş ratlarda perivasküler fibrozis artışı | (63) |
| Sekiz haftalık erkek CD1 fare (her grupta n=10) | Batı diyeti ve/veya %1 DMB 8 hafta | Batı diyeti ile beslenenlerde interstisyel fibrozis alanı artışı, DMB tedavisi ile daha düşük interstisyel fibrozis | (62) |
| C57BL-6J fare (her grupta n=10) | TMAO grubu (120 mg/kg), doksorubisin (DOX) grubu veya DOX+TMAO grubu 8 hafta | DOX+TMAO grubunda en yüksek NLRP3 protein ekspresyonu | (13) |

DMB: 3,3-Dimetil-1-bütanol, DOX: Doksorubisin, NLRP3: Nod benzeri reseptör proteini 3, TMAO: Trimetilamin-N-Oksit

Kardiyovasküler Hastalıklara Bağlı Mortalite ve Trimetilamin-N-oksit (TMAO)

Son yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda TMAO düzeylerinin mortalite riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (21,22). Büyük ölçekli bir kohort çalışmasında (n=4007), daha yüksek açlık plazma TMAO seviyelerinin (6,18 µM'den yüksek), risk faktörleri için ayarlama yapıldıktan sonra ciddi istenmeyen kardiyovasküler olaylar (MACE/OKVO) ile ilişkili olduğu bulunmuştur (19). Yapılan tek merkezli olarak yürütülen prospektif kohort çalışmalarında ise 5 yıllık takip süresi sonunda artmış plazma TMAO düzeyleri mortalite riskinin (2,7-3,9 kat) artışı ile ilişkili bulunmuştur (22,41,64). Daha önce yapılan kadın (n=80978) ve erkek (n=39434) bireylerin takip edildiği iki kohort çalışmasında daha yüksek fosfotidilkolin alımı, (kohort çalışmalarında sırasıyla; 235,5 mg/gün ve 261,3 mg/gün) kardiyovasküler hastalığa bağlı mortalitenin %26 artmış riski ile ilişkili bulunmuştur. (65). Tablo V yapılan bu çalışmaların özetini içermektedir. Yapılan çalışmalar çoğunlukla kesitsel çalışma türünde olduğu için TMAO'nun standart bir değer aralığı belirlenememiştir. Bu sebeple çok merkezli genel populasyon çalışmalara ihtiyaç olup henüz net sistematik bir ilişki kurulamamaktadır.

Tablo V. TMAO Alımı ve Kardiyovasküler Hastalıklara Bağlı Mortalite ile İlişkili Çalışmalar

| Örneklem | Takip Süresi | Belirteç ve Etkisi | Kaynak |
|--|--|--|--------|
| Elektif koroner anjiyografi uygulanan bireyler (n=4007) | 3 yıl takip | Yüksek plazma TMAO düzeyleri artmış ciddi istenmeyen kardiyovasküler olaylar (MACE/OKVO) ile ilişkili | (19) |
| Periferik arter hastalığı olan bireyler (n=935) | 5 yıl takip | Plazma TMAO en yüksek kuartilde 2,7 kat artmış mortalite riski | (41) |
| Hemşire Sağlık Çalışması kohortu (n=80978) bireyleri | Hemşirelerin sağlık çalışması-32 yıllık takip | 100 mg/gün daha fazla fosfotidilkolin alımı %8 artmış mortalite | (65) |
| Sağlık Profesyonelleri Takip Çalışması kohortu (n=39434) bireyleri | Sağlık Profesyonelleri Takip Çalışması-26 yıllık takip | | |
| Göğüs ağrısı şikayeti ile acil servise başvuran hastalar (n=530) | Cleveland kohortu-1 ay ve 6 ay takip | 1 ay takip- en yüksek kuartilde 2,29 kat artmış risk 6 aylık takip- 2,48 kat artmış risk | (92) |
| Koroner anjiyografi geçiren hastalar (n=1683) | Swiss kohortu 1 ay ve 1 yıl takip | 1 yıl takip- en yüksek TMAO kuartilinde 1,57 kat artmış ciddi istenmeyen kardiyovasküler olaylar riski | |
| Kalp hastalığı bulunan bireyler (n=720) | 5 yıl takip | Plazma TMAO en yüksek kuartilde 3,4 kat artmış mortalite riski | (22) |
| 11 prospektif çalışmanın meta-analizi (n=7716) | 1-6 yıl takip | Daha yüksek TMAO bireylerde %55 artmış mortalite riski | (21) |
| Koroner arter hastası bireyler (n=2235) | Bireylerin plazma örnekleri 5 yıl takip | Plazma TMAO en yüksek kuartilde 3,9 kat artmış mortalite riski | (64) |
| 17 klinik çalışma meta-analizi (n=26167) | 1-7 yıl takip | Doz yanıt meta-analizi sonucu her 10 µmol/L plazma TMAO artışı %7,6 artmış mortalite riski | (93) |

TMAO: Trimetilamin-N-Oksit

Trimetilamin-N-oksit (TMAO) için Terapötik Yaklaşım

Bağırsak mikrobiyotası tarafından oluşturulan ve diyetle alınan besin öğelerinin bir metaboliti olan TMAO'nun kardiyovasküler hastalıkların risk faktörlerine olan katkısı bilinmemektedir. Bu hastalıkların tedavisinde tamamlayıcı unsur olarak

bağırsak mikrobiyotası ve metabolitlerini hedefleyen yaklaşımlar ortaya çıkmıştır. Bu terapötik yaklaşımlar TMAO metabolizmasındaki enzimlerin inhibisyonu, TMA emiliminin azaltılması veya idrarla atımının artırılması, diyetle prekürsörlerin alımının azaltılması gibi müdahale yöntemlerini içermektedir (16,18,66).

Aterosklerozun ilerlemesini azaltmak için TMA liyazın inhibe edilmesi etkili olabilmektedir. Bir kolin analogu olan 3,3-dimetil-1-bütanol (DMB) bileşiğinin kolinden TMA ve TMAO oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (36). Yapılan bir çalışmada fareler normal diyet, normal diyet+ %1,0'lık DMB, batı diyeti, batı diyeti+ %1,0'lık DMB olacak şekilde dört gruba ayrılarak 8 hafta boyunca beslenmiştir. Batı diyetinin TMAO düzeylerini artırdığı, normal ve batı diyeti ile beslenen farelerde DMB tedavisi plazma TMAO düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir (62). Diğer yandan DMB'nin sirke, kırmızı şarap, sızma zeytinyağı ve üzüm çekirdeği yağı gibi bazı yiyeceklerde de bulunduğu bildirilmiştir (16). Ayrıca, plazma TMAO konsantrasyonlarının düşürülmesinde etkili bir diğer bileşik l-karnitin prekürsörü γ -bitürobetainin sentetik yapısal bir aza-analogu olan meldoniumdur. Anti-aterosklerotik ajan olarak da bilinen meldonium insanlarda aminlerin mikrobiyal degradasyonunu artırarak TMAO oluşumunu baskılayıp diğer yandan inert moleküllere dönüştürerek TMAO'nun plazma konsantrasyonlarını düşürebilmektedir (38).

Bağırsak mikrobiyotası içeriğinin değişimi ile de TMAO düzeyleri düzenlenebilmektedir (67). Doğal olarak bağırsak mikrobiyotasında da bulunabilen Archaea türleri TMA'yı bağırsakta inert moleküllere dönüştürebildiği için potansiyel diğer bir terapötik ajan olarak düşünülmektedir (68,69). Ayrıca, probiyotik ve prebiyotiklerin kullanımı bağırsak mikrobiyotası üzerinde olumlu bir etki ortaya çıkarabilmektedir. Bu biyoaktif besin öğeleri diyet prekürsörlerini TMA'ya dönüştüren bakterileri azaltmak ve diyet prekürsörlerinin TMA'ya dönüşümünü azaltan bakterileri artırmak için yararlı olabilmektedir (16). Bağırsak aracılı olarak TMAO metabolizmasını etkileyen bir diğer bileşik resveratroidir. Resveratrol üzüm ve meyvelerde bulunan prebiyotik etkili doğal bir polifenoldür. Yapılan bir çalışmada C57BL/6J farelerde 400 mg/kg kolin verildikten sonra %0,4 resveratrol (wt/wt) alan grupta serum TMA ve TMAO düzeylerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir (70). Dolayısıyla, resveratrolün bağırsak mikrobiyotası yoluyla TMAO metabolizması ve safra asit metabolizmasını düzenleyerek TMAO ile indüklenen aterosklerozda önleyici olabileceği düşünülmektedir.

Bir başka terapötik yaklaşım olarak, bağırsak mikrobiyotasının TMAO kaynağı olduğu düşünüldüğünde, antibiyotik tedavisinin TMAO düzeylerini azaltacağı düşünülmektedir (33). Yapılan bir çalışmada katılımcılara 1 hafta süre ile antibiyotik tedavisi uygulanmış ve fosfotidilkolin takviyesi verilmiştir. Bireylerde serum TMAO düzeyleri antibiyotik tedavisi sonrası önemli bir şekilde azalmış, ancak tedavi kesildikten sonra tekrar artmaya başlamıştır (19). Antibiyotik tedavisi, istenmeyen sonuçlara yol açabileceği ve dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına sebep olabileceğinden ideal bir

tedavi yöntemi olarak kabul edilmemektedir (33).

Diyet prekürsörleri, TMAO düzeylerinin düşürülmesinde diğer bir yaklaşımdır (33). Kronik kalp hastalığı olan ve olmayan bireylerin dahil edildiği bir çalışmada, artmış TMAO düzeyleri tavada kızartılma yönteminin aksine derin yağda kızartma ile hazırlanan et ve balık tüketimi ile ilişkili bulunmuştur (71). Yapılan çalışmalarda idrar ve serum TMAO düzeylerinin bireylerin besin tüketim alışkanlıklarına göre değişebileceği bildirilmiştir (19,71,72). Bu sebeple diyetle L-karnitin ve kolin alımının azaltılması plazma TMAO seviyelerini düşürebilir (19,33). Yüksek miktarda posa içeren bitkisel bazlı diyetler, düşük TMAO düzeylerine sebep olmakta ve yüksek miktarda kısa zincirli yağ asitleri içermektedir. Bu diyetlerin uygulanması kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu bir etkiye sahip olması açısından önerilebilir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Kolin metaboliti olan TMAO kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda ve ilerlemesinde kilit bir molekül olabilir. Diyetle hayvansal kaynaklardan kırmızı et, süt ürünleri, yumurta, balık ve kümes hayvanlarında bulunan kolin ve L-karnitin bağırsak mikroorganizmaları tarafından metabolize edilmesiyle TMA ve karaciğerde okside formu olan TMAO oluşmaktadır. Dolaşımdaki TMAO düzeyleri diyet alışkanlıkları, bağırsak mikrobiyotası ve FMO3 aktivitesi gibi birçok faktör tarafından belirlenmektedir. Kardiyovasküler hastalıkların oluşumunda dolaşımdaki yüksek TMAO düzeylerini azaltmak için TMAO metabolizmasındaki enzimlerin inhibisyonu, TMA emiliminin azaltılması veya idrarla atımının artırılması, diyetle prekürsörlerin alımının azaltılması gibi terapötik yaklaşımlar öne sürülmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar ve TMAO arasındaki bağlantının anlaşılması; TMAO'nun bir biyomarker olup olmadığının belirlenmesi ve TMAO'yu etkileyen diyet bileşenlerinin varlığının tespit edilmesi beslenme ve yeni tedavi yaklaşımlarına odaklanılması açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

1. GBD 2015 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016;388(10053):1459-544.
2. Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Chiuve SE. Heart Disease and Stroke Statistics— 2018 Update. *Circulation* 2018;137:e67-e492.
3. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs). World Health Organization. ([https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)))
4. Türkiye İstatistik Kurumu, Ölüm Nedeni İstatistikleri, 2018, 2019. (<http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=30626>).
5. World Health Organization. Global Status Report on

6. Noncommunicable Diseases. Geneva, WHO, 2014.
7. Cardiology ES of. European Society of Cardiology annual report 2018. European Society of Cardiology, 2018. ([https://www.escardio.org/static_file/Escardio/About the ESC/Annual-Reports/ESC-Annual-Report-2018.pdf](https://www.escardio.org/static_file/Escardio/About%20the%20ESC/Annual-Reports/ESC-Annual-Report-2018.pdf))
8. Ulusal Hastalık Yükü ve Maliyet Etkililik Projesi Hastalık Yükü Final Rapor. Ankara, Başkent Üniversitesi, 2004.
9. McGuire S. Scientific Report of the 2015 Dietary Guidelines Advisory Committee. Washington, DC: US Departments of Agriculture and Health and Human Services, 2015. *Advances in Nutrition* 2016;7(1):202–4.
10. Ou Y, Zhang C, Yao M, Wang L. Gut Flora: Novel Therapeutic Target of Chinese Medicine for the Treatment of Cardiovascular Diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2019;2019.
11. Ahmadmehrabi S, Tang WHW. Gut microbiome and its role in cardiovascular diseases. *Curr Opin Cardiol* 2017;32(6):761–6.
12. Lippi G, Danese E, Mattiuzzi C, Favaloro E. The Intriguing Link between the Intestinal Microbiota and Cardiovascular Disease. *Semin Thromb Hemost* 2017;43(06):609–13.
13. Emoto T, Yamashita T, Sasaki N, Hirota Y, Hayashi T, So A, Kasahara K, Yodoi K, Matsumoto T, Mizoguchi T, Ogawa W, Hirata K. Analysis of Gut Microbiota in Coronary Artery Disease Patients: a Possible Link between Gut Microbiota and Coronary Artery Disease. *J Atheroscler Thromb* 2016;23(8):908–21.
14. Li X, Geng J, Zhao J, Ni Q, Zhao C, Zheng Y, Chen X, Wang L. Trimethylamine N-Oxide Exacerbates Cardiac Fibrosis via Activating the NLRP3 Inflammatory. *Frontiers in Physiology* 2019;10:866.
15. Yang W, Zhang S, Zhu J, Jiang H, Jia D, Ou T, Qi Z, Zou Y, Qian J, Sun A, Ge J. Gut microbe-derived metabolite trimethylamine N-oxide accelerates fibroblast-myofibroblast differentiation and induces cardiac fibrosis. *J Mol Cell Cardiol* 2019;134:119–30.
16. Gentile CL, Weir TL. The gut microbiota at the intersection of diet and human health. *Science* 2018;362(6416):776–80.
17. Janeiro M, Ramírez M, Milagro F, Martínez J, Solas M. Implication of Trimethylamine N-Oxide (TMAO) in Disease: Potential Biomarker or New Therapeutic Target. *Nutrients* 2018;10(10):1398.
18. Wilson A, McLean C, Kim RB. Trimethylamine-N-oxide. *Curr Opin Lipidol* 2016;27(2):148–54.
19. Al-Rubaye H, Perfetti G, Kaski J-C. The Role of Microbiota in Cardiovascular Risk: Focus on Trimethylamine Oxide. *Curr Probl Cardiol* 2019;44(6):182–96.
20. Tang WHW, Wang Z, Levison BS, Koeth RA, Britt EB, Fu X, Wu Y, Hazen S. Intestinal Microbial Metabolism of Phosphatidylcholine and Cardiovascular Risk. *N Engl J Med* 2013;368(17):1575–84.
21. Koeth RA, Wang Z, Levison BS, Buffa JA, Org E, Sheehy BT, Britt E, Fu X, Wu Y, Li L, Smith J, DiDonato J, Chen J, Li H, Wu G, Lewis J, Warrier M, Brown J, Krauss R, Tang W, Bushman F, Lusis A, Hazen S. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med* 2013;19(5):576–85.
22. Qi J, You T, Li J, Pan T, Xiang L, Han Y, Zhu L. Circulating trimethylamine N-oxide and the risk of cardiovascular diseases: a systematic review and meta-analysis of 11 prospective cohort studies. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2018;22(1):185–94.
23. Tang WHW, Wang Z, Fan Y, Levison B, Hazen JE, Donahue LM, Wu Y, Hazen S. Prognostic value of elevated levels of intestinal microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide in patients with heart failure: refining the gut hypothesis. *J Am Coll Cardiol* 2014;64(18):1908–14.
24. Geng J, Yang C, Wang B, Zhang X, Hu T, Gu Y, Li J. Trimethylamine N-oxide promotes atherosclerosis via CD36-dependent MAPK/JNK pathway. *Biomed Pharmacother* 2018;97:941–7.
25. Peng J, Xiao X, Hu M, Zhang X. Interaction between gut microbiome and cardiovascular disease. *Life Sci* 2018;214:153–7.
26. Kanitsoraphan C, Rattanawong P, Charoensri S, Senthong V. Trimethylamine N-Oxide and Risk of Cardiovascular Disease and Mortality. *Current Nutrition Reports* 2018;7(4):207–13.
27. Wang Z, Zhao Y. Gut microbiota derived metabolites in cardiovascular health and disease. *Protein & Cell* 2018;9(5):416–31.
28. Nowiński A, Ufnal M. Trimethylamine N-oxide: A harmful, protective or diagnostic marker in lifestyle diseases? *Nutrition* 2018;46:7–12.
29. Moludi J, Maleki V, Jafari-Vayghyan H, Vaghef-Mehrabany E, Alizadeh M. Metabolic endotoxemia and cardiovascular disease: A systematic review about potential roles of prebiotics and probiotics. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 2020;47(6), 927-939.
30. Tomlinson JAP, Wheeler DC. The role of trimethylamine N-oxide as a mediator of cardiovascular complications in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2017;92(4):809–15.
31. Li DY, Tang WHW. Gut Microbiota and Atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports* 2017;19(10):39.
32. Chhibber-Goel J, Gaur A, Singhal V, Parakh N, Bhargava B, Sharma A. The complex metabolism of trimethylamine in humans: endogenous and exogenous.

- nous sources. *Expert Reviews in Molecular Medicine* 2016;18.
32. Fennema D, Phillips IR, Shephard EA. Trimethylamine and Trimethylamine N-Oxide, a Flavin-Containing Monooxygenase 3 (FMO3)-Mediated Host-Microbiome Metabolic Axis Implicated in Health and Disease. *Drug Metab Dispos* 2016;44(11):1839–50.
 33. Velasquez MT, Ramezani A, Manal A, Raj DS. Trimethylamine N-Oxide: The Good, the Bad and the Unknown. *Toxins (Basel)* 2016;8(11):326.
 34. Subramaniam S, Fletcher C. Trimethylamine N-oxide: breathe new life. *Br J Pharmacol* 2018;175(8):1344–53.
 35. Canyelles M, Tondo M, Cedó L, Farràs M, Escolà-Gil JC, Blanco-Vaca F. Trimethylamine N-Oxide: A Link among Diet, Gut Microbiota, Gene Regulation of Liver and Intestine Cholesterol Homeostasis and HDL Function. *International Journal of Molecular Sciences* 2018;19(10):3228.
 36. Solanki A, Bhatt LK, Johnston TP. Evolving targets for the treatment of atherosclerosis. *Pharmacol Ther* 2018;187:1–12.
 37. Ufnal M, Zadlo A, Ostaszewski R. TMAO: A small molecule of great expectations. *Nutrition* 2015;31(11–12):1317–23.
 38. Zeisel SH, Warriar M. Trimethylamine N -Oxide, the Microbiome, and Heart and Kidney Disease. *Annu Rev Nutr* 2017;37(1):157–81.
 39. Aron-Wisniewsky J, Clément K. The gut microbiome, diet, and links to cardiometabolic and chronic disorders. *Nat Rev Nephrol* 2016;12(3):169–81.
 40. Mente A, Chalcraft K, Ak H, Davis AD, Lonn E, Miller R, Potter M, Yusuf S, Anand S, McQueen M. The Relationship Between Trimethylamine-N-Oxide and Prevalent Cardiovascular Disease in a Multiethnic Population Living in Canada. *Can J Cardiol* 2015;31(9):1189–94.
 41. Senthong V, Wang Z, Fan Y, Wu Y, Hazen SL, Tang WHW. Trimethylamine N -Oxide and Mortality Risk in Patients With Peripheral Artery Disease. *Journal of the American Heart Association* 2016;5(10).
 42. Heianza Y, Ma W, Manson JE, Rexrode KM, Qi L. Gut Microbiota Metabolites and Risk of Major Adverse Cardiovascular Disease Events and Death: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *Journal of the American Heart Association* 2017;6(7).
 43. Meyer K, Shea J. Dietary Choline and Betaine and Risk of CVD: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies. *Nutrients* 2017;9(7):711.
 44. Collins HL, Drazul-Schrader D, Sulpizio AC, Koster PD, Williamson Y, Adelman SJ, Owen K, Sanli T, Bellamine A. L-Carnitine intake and high trimethylamine N-oxide plasma levels correlate with low aortic lesions in ApoE^{-/-} transgenic mice expressing CETP. *Atherosclerosis* 2016;244:29–37.
 45. Jonsson AL, Caesar R, Akrami R, Reinhardt C, Hållénus FF, Borén J, Bäckhed F. Impact of gut microbiota and diet on the development of atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2018;38(10):2318–2326.
 46. Aldana-Hernández P, Leonard K-A, Zhao Y-Y, Curtis JM, Field CJ, Jacobs RL. Dietary Choline or Trimethylamine N-oxide Supplementation Does Not Influence Atherosclerosis Development in Ldlr^{-/-} and ApoE^{-/-} Male Mice. *J Nutr* 2019;150(2):249–55.
 47. Randrianarisoa E, Lehn-Stefan A, Wang X, Hoene M, Peter A, Heinzmann SS, Zhao X, Königsrainer I, Königsrainer A, Balletshofer B, Machann J, Schick F, Fritsche A, Häring H, Xu G, Lehmann R, Stefan N. Relationship of Serum Trimethylamine N-Oxide (TMAO) Levels with early Atherosclerosis in Humans. *Scientific Reports* 2016;6:26745.
 48. Miller CA, Corbin KD, da Costa K-A, Zhang S, Zhao X, Galanko JA, Blevins T, Bennett B, O'Connor A, Zeisel S. Effect of egg ingestion on trimethylamine-N-oxide production in humans: a randomized, controlled, dose-response study. *Am J Clin Nutr* 2014;100(3):778–86.
 49. Zhao Y, Yang N, Gao J, Li H, Cai W, Zhang X, Ma Y, Niu X, Yang G, Zhou X, Li Y. The Effect of Different L-Carnitine Administration Routes on the Development of Atherosclerosis in ApoE Knockout Mice. *Molecular Nutrition & Food Research* 2018;62(5).
 50. Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, Koeth R, Levison BS, DuGar B, Feldstein A, Britt E, Fu X, Chung Y, Wu Y, Schauer P, Smith J, Allayee H, Tang W, DiDonato J, Lusis A, Hazen S. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011;472(7341):57–63.
 51. Ding L, Chang M, Guo Y, Zhang L, Xue C, Yanagita T, Zhang T, Wang Y. Trimethylamine-N-oxide (TMAO)-induced atherosclerosis is associated with bile acid metabolism. *Lipids in Health and Disease* 2018;17(1).
 52. Chung RWS, Wang Z, Bursill CA, Wu BJ, Barter PJ, Rye K-A. Effect of long-term dietary sphingomyelin supplementation on atherosclerosis in mice. *PLoS One* 2017;12(12):e0189523.
 53. Zhu W, Gregory JC, Org E, Buffa JA, Gupta N, Wang Z, Li L, Fu X, Wu Y, Mehrabian M, Sartor R, McIntyre T, Silverstein R, Tang W, DiDonato J, Brown J, Lusis A, Hazen S. Gut Microbial Metabolite TMAO Enhances Platelet Hyperreactivity and Thrombosis Risk. *Cell* 2016;165(1):111–24.
 54. Cheng X, Qiu X, Liu Y, Yuan C, Yang X. 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;177:110–6.
 55. Zhu W, Wang Z, Tang WHW, Hazen SL. Gut Microbe-Generated Trimethylamine N-Oxide From Dietary Choline Is Prothrombotic in Subjects. *Circu*

- lation 2017;135(17):1671–3.
56. Tang WHW, Hazen SL. Microbiome, trimethylamine N-oxide, and cardiometabolic disease. *Translational Research* 2017;179:108–15.
57. Trøseid M, Ueland T, Hov JR, Svardal A, Gregersen I, Dahl CP, Aakhus S, Gude E, Bjørndal B, Halvorsen B, Karlsen TH, Aukrust P, Gullestad L, Berge RK, Yndestad A. Microbiota-dependent metabolite trimethylamine-N-oxide is associated with disease severity and survival of patients with chronic heart failure. *J Intern Med* 2015;277(6):717–26.
58. Zhou X, Jin M, Liu L, Yu Z, Lu X, Zhang H. Trimethylamine N-oxide and cardiovascular outcomes in patients with chronic heart failure after myocardial infarction. *ESC Heart Failure* 2020.
59. Suzuki T, Heaney LM, Bhandari SS, Jones DJL, Ng LL. Trimethylamine N-oxide and prognosis in acute heart failure. *Heart* 2016;102(11):841–8.
60. Lever M, George PM, Slow S, Bellamy D, Young JM, Ho M, McEntyre CJ, Elmslie JL, Atkinson W, Molyneux SL, Troughton RW, Frampton CM, Richards AM, Chambers ST. Betaine and Trimethylamine-N-Oxide as Predictors of Cardiovascular Outcomes Show Different Patterns in Diabetes Mellitus: An Observational Study. *PLoS One* 2014;9(12):e114969.
61. Organ CL, Otsuka H, Bhushan S, Wang Z, Bradley J, Trivedi R, Polhemus D, Tang W, Wu Y, Hazen S, Lefer D. Choline Diet and Its Gut Microbe-Derived Metabolite, Trimethylamine N-Oxide, Exacerbate Pressure Overload-Induced Heart Failure. *Circulation Heart Failure* 2016;9(1):e002314.
62. Chen K, Zheng X, Feng M, Li D, Zhang H. Gut Microbiota-Dependent Metabolite Trimethylamine N-Oxide Contributes to Cardiac Dysfunction in Western Diet-Induced Obese Mice. *Frontiers in Physiology* 2017;8:139.
63. Li Z, Wu Z, Yan J, Liu H, Liu Q, Deng Y, Ou C, Chen M. Gut microbe-derived metabolite trimethylamine N-oxide induces cardiac hypertrophy and fibrosis. *Lab Invest* 2019;99(3):346–57.
64. Senthong V, Wang Z, Li XS, Fan Y, Wu Y, Wilson Tang WH, Hazen S. 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. *Journal of the American Heart Association* 2016;5(6).
65. Zheng Y, Li Y, Rimm EB, Hu FB, Albert CM, Rexrode KM, Manson J, Qi L. Dietary phosphatidyl choline and risk of all-cause and cardiovascular-specific mortality among US women and men. *Am J Clin Nutr* 2016;104(1):173–80.
66. Zhu Y, Li Q, Jiang H. Gut microbiota in atherosclerosis: focus on trimethylamine N-oxide. *Apmis* 2020; 128(5):353-366.
67. Liu T-X, Niu H-T, Zhang S-Y. Intestinal Microbiota Metabolism and Atherosclerosis. *Chin Med J (Engl)* 2015;128(20):2805–11.
68. Borrel G, McCann A, Deane J, Neto MC, Lynch DB, Brugère JF, O'Toole P. Genomics and metagenomics of trimethylamine-utilizing Archaea in the human gut microbiome. *The ISME Journal* 2017;11(9):2059–74.
69. Gaci N, Borrel G, Tottey W, O'Toole PW, Brugère JF. Archaea and the human gut: New beginning of an old story. *World Journal of Gastroenterology* 2014;20(43):16062–78.
70. Chen M, Yi L, Zhang Y, Zhou X, Ran L, Yang J, Zhu J, Zhang Q, Mi M. Resveratrol Attenuates Trimethylamine-N-Oxide (TMAO)-Induced Atherosclerosis by Regulating TMAO Synthesis and Bile Acid Metabolism via Remodeling of the Gut Microbiota. *MBio* 2016;7(2):e02210-15.
71. Yu D, Shu X, Rivera ES, Zhang X, Cai Q, Calcutt MW, Xiang Y, Li H, Gao Y, Wang T, Zheng W. Urinary Levels of Trimethylamine-N-Oxide and Incident Coronary Heart Disease: A Prospective Investigation Among Urban Chinese Adults. *Journal of the American Heart Association* 2019;8(1):e010606.
72. Krüger R, Merz B, Rist MJ, Ferrario PG, Bub A, Kulling SE, Watzl B. Associations of current diet with plasma and urine TMAO in the KarMeN study: direct and indirect contributions. *Molecular Nutrition & Food Research* 2017;61(11):1700363.
73. Yazdekhasti N, Brandsch C, Schmidt N, Schloesser A, Huebbe P, Rimbach G, Stangl G. Fish protein increases circulating levels of trimethylamine- N -oxide and accelerates aortic lesion formation in apoE null mice. *Molecular Nutrition & Food Research* 2016;60(2):358–68.
74. Li T, Chen Y, Gua C, Li X. Elevated circulating trimethylamine N-oxide levels contribute to endothelial dysfunction in aged rats through vascular inflammation and oxidative stress. *Frontiers in Physiology* 2017;8:350.
75. Tenore GC, Caruso D, Buonomo G, D'Avino M, Ciampaglia R, Maisto M, Schisano C, Bocchino B, Novellino E. Lactofermented Annurca Apple Puree as a Functional Food Indicated for the Control of Plasma Lipid and Oxidative Amine Levels: Results from a Randomised Clinical Trial. *Nutrients* 2019;11(1).
76. Yu H, Yu Z, Huang H, Li P, Tang Q, Wang X, Shen S. Gut microbiota signatures and lipids metabolism profiles by exposure to polyene phosphatidylcholine. *Biofactors* 2019;45(3):439–49.
77. Park JE, Miller M, Rhyne J, Wang Z, Hazen SL. Differential effect of short-term popular diets on TMAO and other cardio-metabolic risk markers. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2019;29(5):513–7.

78. Pignanelli M, Just C, Bogiatzi C, Dinculescu V, Gloor GB, Allen-Vercoe E, Reid G, Urquhart BL, Ruetz KN, Velenosi TJ, Spence JD. Mediterranean Diet Score: Associations with Metabolic Products of the Intestinal Microbiome, Carotid Plaque Burden, and Renal Function. *Nutrients* 2018;10(6).
79. Shi Y, Hu J, Geng J, Hu T, Wang B, Yan W, Jiang Y, Li J, Liu S. Berberine treatment reduces atherosclerosis by mediating gut microbiota in apoE^{-/-} mice. *Biomed Pharmacother* 2018;107:1556–63.
80. Fatkhullina AR, Peshkova IO, Dzutsev A, Aghayev T, McCulloch JA, Thovarai V, Badger JH, Vats R, Sundd P, Tang HY, Kossenkov AV, Hazen SL, Trinchieri G, Grivennikov SI, Koltsova EK. An Interleukin-23-Interleukin-22 Axis Regulates Intestinal Microbial Homeostasis to Protect from Diet-Induced Atherosclerosis. *Immunity* 2018;49(5):943–957.e9.
81. Olek RA, Samulak JJ, Sawicka AK, Hartmane D, Grinberga S, Pugovics O, Lysiak-Szydłowska W. Increased Trimethylamine N-Oxide Is Not Associated with Oxidative Stress Markers in Healthy Aged Women. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019;2019.
82. Rohrmann S, Linseisen J, Allenspach M, von Eckardstein A, Müller D. Plasma Concentrations of Trimethylamine-N-oxide Are Directly Associated with Dairy Food Consumption and Low-Grade Inflammation in a German Adult Population. *J Nutr* 2016;146(2):283–9.
83. Mödinger Y, Schön C, Wilhelm M, Hals PA. Plasma Kinetics of Choline and Choline Metabolites After a Single Dose of SuperbaBoost™ Krill Oil or Choline Bitartrate in Healthy Volunteers. *Nutrients* 2019;11(10).
84. Zia Y, Al Rajabi A, Mi S, Ju T, Leonard KA, Nelson R, Thiesen A, Willing BP, Field CJ, Curtis JM, Van Der Veen JN, Jacobs RL. Hepatic Expression of PEMT, but Not Dietary Choline Supplementation, Reverses the Protection against Atherosclerosis in Pemt^{-/-}/Ldlr^{-/-} Mice. *J Nutr* 2018;148(10):1513–20.
85. Roberts AB, Gu X, Buffa JA, Hurd AG, Wang Z, Zhu W, Gupta N, Skye SM, Cody DB, Levison BS, Barrington WT, Russell MW, Reed JM, Duzan A, Lang JM, Fu X, Li L, Myers AJ, Rachakonda S, DiDonato JA, Brown JM, Gogonea V, Lusis AJ, Garcia-Garcia JC, Hazen SL. Development of a gut microbe-targeted nonlethal therapeutic to inhibit thrombosis potential. *Nat Med* 2018;24(9):1407–17.
86. Gong D, Zhang L, Zhang Y, Wang F, Zhao Z, Zhou X. Gut Microbial Metabolite Trimethylamine N-Oxide Is Related to Thrombus Formation in Atrial Fibrillation Patients. *Am J Med Sci* 2019;358(6):422–8.
87. Reiner MF, Müller D, Gobbato S, Stalder O, Limacher A, Bonetti NR, Pasterk L, Méan M, Rodondi N, Aujesky D, Angelillo-Scherrer A, Matter C, Lüscher T, Camici G, von Eckardstein A, Beer J. Gut microbiota-dependent trimethylamine-N-oxide (TMAO) shows a U-shaped association with mortality but not with recurrent venous thromboembolism. *Thromb Res* 2019;174:40–7.
88. Subramaniam S, Boukhlof S, Fletcher C. A bacterial metabolite, trimethylamine N-oxide, disrupts the hemostasis balance in human primary endothelial cells but no coagulopathy in mice. *Blood Coagulation Fibrinolysis* 2019;30(7):324–30.
89. Hayashi T, Yamashita T, Watanabe H, Kami K, Yoshida N, Tabata T, Emoto T, Sasaki N, Mizoguchi T, Irino Y, Toh R, Shinohara M, Okada Y, Ogawa W, Yamada T, Hirata KI. Gut microbiome and plasma microbiome-related metabolites in patients with decompensated and compensated heart failure. *Circulation Journal* 2019;83(1):182–92.
90. Wang G, Kong B, Shuai W, Fu H, Jiang X, Huang H. 3,3-Dimethyl-1-butanol attenuates cardiac remodeling in pressure-overload-induced heart failure mice. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2020;78:108341.
91. Zhang H, Meng J, Yu H. Trimethylamine N-oxide Supplementation Abolishes the Cardioprotective Effects of Voluntary Exercise in Mice Fed a Western Diet. *Frontiers in Physiology* 2017;8:944.
92. Li XS, Obeid S, Klingenberg R, Gencer B, Mach F, Räber L, Windecker S, Rodondi N, Nanchen D, Müller O, Miranda MX, Matter CX, Wu Y, Li L, Wang Z, Alamri HS, Gogonea V, Chung Y, Tang W, Hazen S, Lüscher TF. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide in acute coronary syndromes: a prognostic marker for incident cardiovascular events beyond traditional risk factors. *Eur Heart J* 2017;38(11):ehw582.
93. Schiattarella GG, Sannino A, Toscano E, Giugliano G, Gargiulo G, Franzone A, Trimarco B, Esposito G, Perrino C. Gut microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide as cardiovascular risk biomarker: A systematic review and dose-response meta-analysis. *Eur Heart J* 2017;38(39):2948–56.