

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.10.021

高原训练中运动员腹泻发生状况及肠道菌群的变化*

韩天雨 胡 扬[△] 张玮佳 李燕春 于加倍

(北京体育大学 北京 100084)

摘要 目的:通过实地调研考察高原训练中运动员腹泻发生率,并采集运动员粪便样品,研究高原训练过程中运动员肠道菌群变化。**方法:**赴多巴国家高原训练基地调研在训运动员胃肠道反应,统计腹泻发生率及发生的时间特点。分别在运动员进驻高原前和高原训练过程中采集粪便样品,进行粪便常规检测、提取全基因组 DNA,质检合格样品采用高通量测序的手段进行微生物多样性分析。**结果:**1)高原训练期间运动员腹泻发生率为 46.7%,所有腹泻案例持续时间均<10 天,其中 74.1%持续时间<5 天。2)腹泻案例发生主要集中在两个时间段,分别是进入高原后的第 1-3 天(占总腹泻案例数的 35.7%)及进入高原后的第 7-10 天(占总腹泻案例数的 46.4%),至进入高原后的第 12 天不再有新增腹泻案例出现。3)运动员进驻高原前后微生物多样性无显著差异。4)相较于平时,运动员肠道菌群拟杆菌门先上升后恢复,厚壁菌门先下降后恢复。**结论:**1)高原训练中运动员多发腹泻,腹泻案例呈现出两个爆发高峰。2)运动员进驻高原后肠道菌群结构发生改变,表现为拟杆菌门占比上升、厚壁菌门占比下降。随着微生物多样性分析技术的普及,针对性补充有益菌保障运动员平稳度过高原习服期,有助于降低高原训练期间腹泻发生率。

关键词:高原训练;腹泻;肠道菌群;微生物多样性分析

中图分类号:G804.7;R594.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)10-1909-07

Athletes' Diarrhea Occurrence and Changes of Intestinal Microbial Flora in High Altitude Training*

HAN Tian-yu, HU Yang[△], ZHANG Wei-jia, LI Yan-chun, YU Jia-bei

(Beijing Sport University, Beijing, 100084, China)

ABSTRACT Objective: The purpose of this study was to investigate the incidence of diarrhea and the change in intestinal microbial flora during altitude training. **Methods:** To observe the gastrointestinal reaction and to statistically analyze the incidence rate and the timing characteristics of diarrhea in 64 long distance runners during Doba national altitude training camp. Meanwhile, feces samples of 15 middle/long distance runners from Liaoning Province team were taken before they arrived at altitude training camp and at the 5 time-point (immediately, 3rd, 6th, 9th and 12th day) after their arrival. Every sample was routinely examined within 1 hour after sampling and whole genome DNA were extracted, and microbiological diversity in available DNA samples was analyzed by high throughput sequencing. **Results:** 1) In athletes during altitude training, the incidence rate of diarrhea rate was 46.7% and its duration time was less than 10 days, most of them (74.1%) less than 5 days. 2) A high incidence of diarrhea cases are mainly concentrated in two periods, respectively in 1-3 days (35.7% of total diarrhea cases) and in 7-10 days (46.4% to total diarrhea cases) after arrived at altitude, there was no diarrhea case after 12 days. 3) There is no significant difference in microbial diversity of before and after arrived at altitude. 4) Bacteroidetes' proportion of the intestinal microflora first increased and then recovered, and its Firmicutes' proportion first decreased and then recovered during altitude training. **Conclusions:** 1) Diarrhea cases often occurred in athletes during altitude training camp, showing two peak periods. 2) After arrived at altitude, there was no significant change in intestinal microbial flora diversity. In phylum level, however, Bacteroidetes' proportion showed a trend from increase to regain its original level and Firmicutes' proportion showed a trend from decrease to recovery.

Key words: Altitude training; Diarrhea; Intestinal Flora; Microbial Diversity Analysis

Chinese Library Classification(CLC): G804.7; R594.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)10-1909-07

前言

久居或世居平原的人急性进入海拔大于 3000 m 小于

5000 m 的高原地区后,多发各种消化系统症状,其中腹泻发生率为 56.6%,而腹泻症状往往经过 7 至 10 天的高原习服后逐渐减轻或消失^[1]。高原训练中运动员腹泻的原因较普通人更复

* 基金项目:中央高校基本科研业务费专项资助课题(2015ZD006);北京体育大学自主重大课题资助

作者简介:韩天雨(1989-),博士研究生,主要研究方向:运动生物化学,E-mail:htydw@163.com,电话:13699287431

[△] 通讯作者:胡扬(1958-),博士生导师,教授,主要研究方向:运动生物化学,E-mail:hyr1@163.com

(收稿日期:2017-12-20 接受日期:2018-01-21)

杂,一方面高原环境造成的低氧应激导致运动员血液中氧浓度降低,另一方面运动训练造成的运动应激导致运动员内脏血液灌注不足;小肠对缺氧及血液灌注不足非常敏感,小肠黏膜屏障在强应激下极易受损,黏膜受损后细菌等大分子物质穿过屏障发生细菌异位,肠道菌群平衡被破坏,然而处于平衡状态的肠道菌群对人类来说至关重要^[2]。

肠道菌群是由多微生物构成的复合环境,微生物定植于人类肠道中形成了一个复杂的生态系统,每克微生物菌体中大约有 1014 个细菌,种水平上分类达到千种之多^[3]。传统方法在实验室环境中选择性单独培养某一种或几种细菌并不能模拟其与其他微生物共同生长时的环境,多微生物群落是通过协同合作的方式共同应对环境变化的,要了解整个菌群结构的变化需要监控它们在复合环境中的变化。随着 16SrRNA 在细菌分类鉴定中应用的发展,已有许多研究表明^[3,4],低氧和运动作为两种不同的应激均可使肠道微生物组成发生改变,但尚无研究阐明低氧和运动复合应激下肠道菌群结构的改变,且以往研究实验对象多为大鼠等实验动物,低氧干预多为常压低氧,而高原训练中的运动员处于低压低氧的特殊环境中,同时经受着连续不断的运动应激,该条件下的肠道微生物组成变化尚无相关研究。

本研究赴青海多巴国家高原训练基地,实地调研了在训运动员高原训练期间腹泻发生情况,对辽宁省中长跑队运动员进驻高原前至高原训练开始两周内共计 6 次采集粪便样品,在粪便常规检测后提取样品全基因组 DNA,根据细菌保守区涉及引物,进行 PCR 扩增并对产物进行纯化,质控合格后通过 Illumina Hiseq 高通量测序平台测序,并进行微生物多样性分析,初步阐明高原训练中运动员肠道微生物结构变化。在此之后,针对性补充高原训练中比例减少的有益菌,保障运动员平稳度过高原习服期,切实降低高原训练期间腹泻发生率指日可待。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 调研及采样对象 调研对象为 64 名中长距离径赛类运动员,分别来自辽宁省田径队、山东省田径队、江苏省田径队。其中男运动员 54 名,女运动员 10 名;国际健将级运动员 3 名,国家健将级运动员 16 名,国家一级运动员 33 名,国家二级运动员 9 名,无运动等级运动员 3 名;最小年龄 15 岁,最大年龄 27 岁,平均年龄 20.40 ± 3.06 岁;最小训练年限 1 年,最大训练年限 15 年,平均训练年限 6.30 ± 3.54 年。近一年内均未参加高原训练。

采样对象为辽宁省中长跑队运动员 15 名,其中男运动员 10 名,女运动员 5 名;国家健将级运动员 3 名,国家一级运动

员 6 名,国家二级运动员 5 名,无运动等级运动员 1 名;最小年龄 15 岁,最大年龄 29 岁,平均年龄 19.80 ± 3.78 岁;最小训练年限 1 年,最大训练年限 10 年,平均训练年限 4.40 ± 3.25 年。近一年内均未参加高原训练。

1.1.2 采样地点及周期 分别于运动员进驻高原(沈阳奥体中心,海拔 41.6 m)和运动员抵达多巴国家高原训练基地(海拔 2388 m)的首日及第 3、6、9、12 天清晨,采集运动员粪便样品。平原采样后次日运动员乘硬卧火车从沈阳出发经 48 小时抵达西宁并进驻多巴国家高原训练基地。

1.2 研究方法

1.2.1 调查问卷 将调查问卷分法至每名运动员手中,介绍调研内容并对问卷中涉及的事项和相关知识进行解释和填写指导。腹泻判定标准为,粪便性状稀薄或呈水样便,含水量 $\geq 80\%$,可带有黏液或未消化的食物残渣,日排便量 ≥ 200 g,主要判别依据为粪便样品质地稀薄。

1.2.2 粪便样品采集 用带勺无菌采样杯取 100 mg 新鲜粪便样品分装两份,一半用于粪便常规检测(取样后 30 min 内送检,排除感染性腹泻),一半用于粪便全基因组 DNA 提取(取样后 2 h 内完成提取)。

1.2.3 全基因组 DNA 提取 选用 MO BIO 公司的 Power Soil DNA Isolation Kit 试剂盒(12888-100),按照操作说明每个样品提取一个重复样,完成后即刻用 NanoDrop2000 检测 DNA 浓度,并通过 260/280 nm 及 260/230 nm 吸光度比值评估 DNA 纯度,合格样品 -20°C 保存。

1.2.4 微生物多样性分析 提取样品总 DNA 后,根据细菌保守区设计得到引物,合并引物接头,进行 PCR 扩增并对其产物进行纯化、定量和均一化形成测序文库,建好的文库先进行文库质检,质检合格的文库用 Illumina HiSeq 2500 进行测序。上机测序部分由北京百迈客生物科技有限公司完成。

1.3 统计学分析

实验数据以平均值 $\pm$ 标准差表示,数据符合正态分布、方差齐性时,用 SPSS19.0 统计软件进行单因素方差分析。 $P < 0.05$ 时认为差异具有统计学意义。

2 研究结果

2.1 腹泻发生率及发生时间

问卷调研了在多巴国家高原训练基地备战全国田径锦标赛的 64 名运动员高原训练周期中前 15 天的腹泻及其他消化系统不适发生情况,筛查后发现有 4 名运动员在近 1 年内参加过高原训练,排除出本次研究统计范围,有效调研运动员案例数为 60,具体情况如表 1 所示。

表 1 腹泻发生案例数及发生率

Table 1 The number of diarrhea and the incidence of diarrhea

Symptom	Cases	Incidence rate
Diarrhea	28	46.7%
Stomachache, abdominal distension, emesis	27	45%
Diarrhea with stomachache, abdominal distension and emesis	16	26.7%

如图 1 所示,28 名腹泻运动员中,有 25 名腹泻持续时间小于一周,半数以上在腹泻持续时间都在 4 天以内,只有 4 名

运动员腹泻持续时间超过 1 周,且没有出现超过 10 天的长期腹泻案例出现。

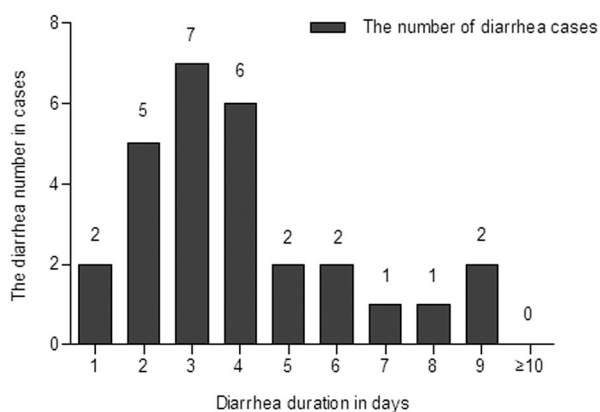


图1 腹泻持续时间

Fig.1 The duration of diarrhea

如表2所示,腹泻新增案例出现集中在两个时间段,其一是第1至3天,其二是第7至10天。推测第一波新增案例高发的原因是运动员初到高原受到低氧应激所导致的;第二波新增案例高发的原因各队教练员的训练安排大多是第一周进行低强度小运动量的高原适应性训练,第二周开始加强度上量,导致胃肠道突然受到应激。

表2 腹泻案例发生的时间特征

Table 2 Time characteristics of diarrhea cases

Days	Total diarrhea cases	New diarrhea cases	Recovery cases
1	4	4	0
2	6	2	0
3	9	4	1
4	8	1	2
5	7	1	2
6	6	1	2
7	6	3	3
8	9	4	1
9	10	2	1
10	7	4	7
11	5	1	3
12	4	1	2
13	2	0	2
14	1	0	1
15	0	0	1

表3 Alpha多样性指数统计

Table 3 The statistics of alpha diversity index statistics

Time point	OTU Number	ACE	Chao1	Simpson	Shannon index	Coverage(%)
Plain	223.8± 36.2	242.3± 47.1	252.6± 53.8	0.13± 0.04	3.11± 0.25	>99.9
Day1	204.2± 24.1	220.8± 28.1	227.7± 31.2	0.18± 0.08	2.87± 0.43	>99.9
Day3	209.3± 33.1	222.8± 38.6	231.7± 39.8	0.14± 0.04	3.09± 0.27	>99.9
Day6	207.7± 27.8	218.1± 28.9	222.0± 28.9	0.16± 0.08	2.97± 0.32	>99.9
Day9	206.5± 29.5	220.4± 27.1	224.1± 25.9	0.16± 0.05	2.83± 0.23	>99.9
Day12	200.5± 26.9	214.1± 24.5	219.1± 28.2	0.16± 0.08	2.84± 0.58	>99.9

2.2 运动员肠道菌群变化

2.2.1 测序概况及肠道微生物多样性 根据序列间不同的相似度水平,将相似度高于97%的定义为一个OTU,即每个OTU对应一种代表系列,在划分OTU完成物种注释后进行Alpha多样性分析。Alpha多样性反映的是单个样品内部的物种多样性,而不考虑群落中每个物种的丰度情况。Shannon和Simpson指数用于衡量群落多样性,受样品群落中物种丰度和物种均匀度的影响,Chao1和Ace指数用于衡量群落丰度。相同物种丰度的情况下,群落中各物种具有越大的均匀度,则认为群落具有越大的多样性;Chao1、Ace、Shannon指数值越大,Simpson指数值越小,说明样品的物种多样性越高^[9]。样本文库的覆盖率Coverage数值越高,则样本中序列被测出的概率越高,而没有被测出的概率越低。该指数反映本次测序结果是否代表了样本中微生物的真实情况,样品Alpha多样性指数进行评估结果如表3所示。结果显示,运动员进驻高原后微生物多样性及群落丰度有所减少,但相较于进驻高原前并未出现显著性差异,各组样品均具有较高的群落丰度,及较高的样品文库覆盖率,测序真实反应了样品的微生物状况。

稀释性曲线^[9]是从样本中随机抽取一定数量的个体,统计这些个体所代表的物种数目,并以个体数与物种数来构建曲线,用于验证测序数据量是否足以反映样品中的物种多样性,并间接反映样品中物种的丰富程度。当曲线趋向平坦时,说明

测序数量渐进合理,反之则不合理,还需要增加测序数据。如图2所示,随着检测条目数量的增加,各样品所检测出的 OTU 数量已不再呈显著上升趋势,表明本次测序质控较好,足以反映样品物种多样性。

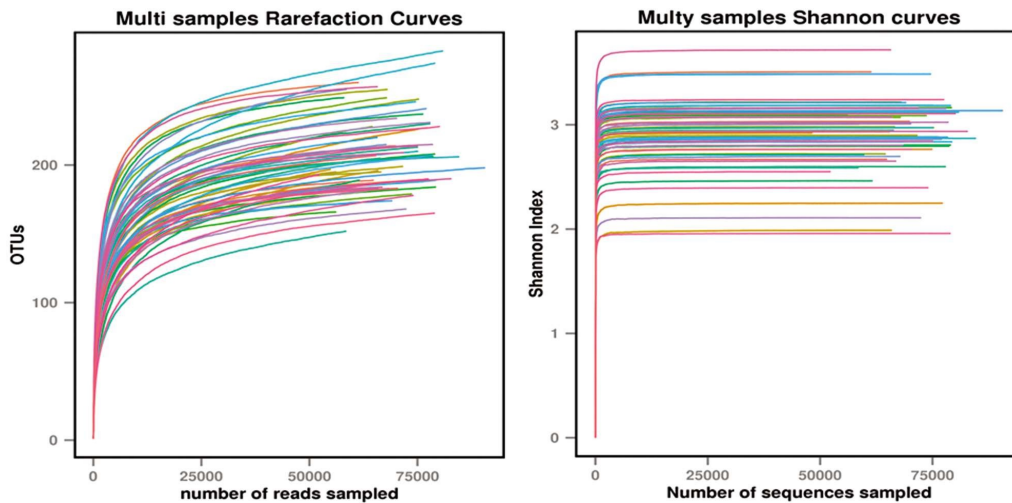


图2 样品稀释、香农指数曲线

Fig.2 Multi samples rarefaction and shannon curves

利用 Mothur 软件和 R 语言工具依据各样品的测序量在不同测序深度时的 Shannon 指数(反映样品中微生物多样性的指数)绘制 Shannon 多样性指数稀释曲线^[10],以此反映各样本在不同测序数量时的微生物多样性。当曲线趋向平坦时,说明测序数据量足够大,可以反映样品中绝大多数的微生物物种信息;如果曲线没有趋于平坦,则表明不饱和,增加数据量可以发现更多 OTU。如图2所示,所检测序列数量已饱和足以反映样品中绝大多数微生物物种信息。

2.2.2 运动员进驻高原前后肠道菌群结构组成分析 将 OTU 的代表序列与微生物参考数据库进行比对可得到每个 OTU 对应的物种分类信息,进而在门(Phylum)、纲(Class)、目(Order)、科(Family)、属(Genus)、种(Species)水平统计各样品群落组

成,图3为门水平物种分布柱状图。结果表明,本研究中运动员肠道优势菌群(含量 $\geq 1\%$)分别为拟杆菌门、厚壁菌门及变形菌门,其中变形菌门占比最低,且在整个高原训练期间未出现明显波动;拟杆菌门占比最高,且在进驻高原后即出现占比显著上升,在之后的高原习服过程中占比缓慢下降至平原水平,此外在进驻高原后第9天出现一次反弹;厚壁菌门是占比第二高的优势菌群,且在进驻高原后即出现占比显著下降,在之后的高原习服过程中占比缓慢上升,但直至进驻高原后第12天仍未回升至平原水平,此外在进驻高原后第9天出现下调波动。值得注意的是拟杆菌门与厚壁菌门变化趋势相互对应,即拟杆菌门占比增高的同时厚壁菌门占比下降。

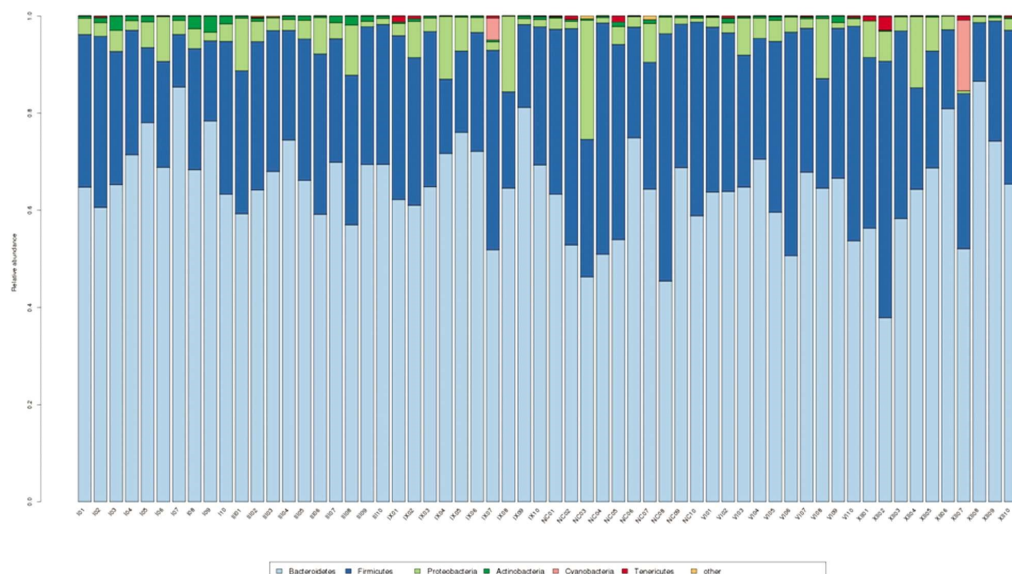


图3 门水平物种分布柱状图

Fig.3 Species distribution histogram in phylum level

主成分分析^[11](Principal Component Analysis, PCA), 通过将方差进行分解, 将多组数据的差异反映在二维坐标图上。两个样品距离越近, 则表示这两个样品的组成越相似。如图 4 所示, 各点分别表示各样品, 横坐标表示第一主成分, 百分比则表示第一主成分(拟杆菌门)对样品差异的贡献值(56.62%), 纵坐标表示第二主成分, 百分比表示第二主成分(厚壁菌门)对样品差异的贡献值(18.67%)。图中主要分为三个集群, 左下、右下、上方三个区域分别为 6 名、3 名、1 名运动员高原训练期间样品; 结果表明, 采样运动员中 6 名在高原训练期间肠道菌群相对稳定, 仅其中 1 名在进驻高原后的第 3 天及第 12 天肠道菌群组成变化较大; 另外 4 名运动员高原训练期间肠道菌群结构波动幅度较大, 其中 1 名波动主要体现在厚壁菌门, 另外 3 名波动主要体现在拟杆菌门。

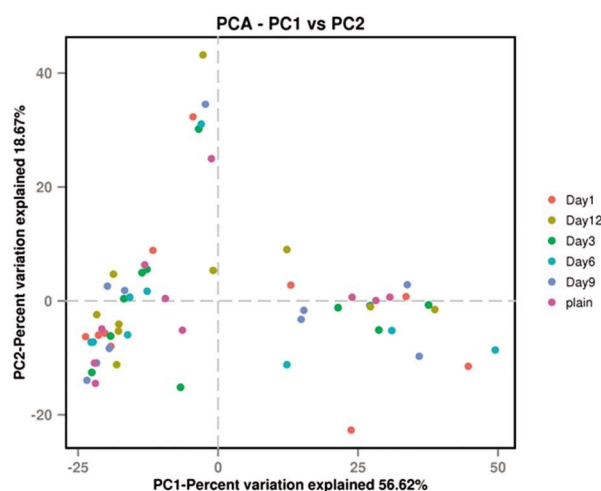


图 4 主成分分析

Fig.4 Principal component analysis

为了研究两组样品间微生物群落丰度的差异, 利用 Metastats 软件对组间的物种丰度数据进行 T 检验; 得到 p 值, 通过对 p 值的校正, 得到 q 值; 最后根据 p 值或 q 值筛选出导致两组样品组成差异的物种, 分别在门、纲、目、科、属、种分类学水平进行组间显著性分析, 表 5 所示为门水平下的组间差异显著性分析统计结果。由表 5 可知, 运动员由平原进入高原后拟杆菌门、放线菌门显著上升, 厚壁菌门显著下降。由表 6 可知, 相较于初到高原, 经过 12 天的高原训练后, 运动员放线菌门、疣微菌门显著下降, 无壁菌门显著上升。由表 7 可知, 相较于平原状态, 经过 12 天的高原训练后, 运动员放线菌门、疣微菌门显著下降。结合图 3 分析可得出运动员肠道细菌优势门的变化规律, 由平原入驻高原训练的适应周期中, 拟杆菌门呈先升高后逐渐恢复至正常水平的过程, 而厚壁菌门则呈先下降后恢复至正常水平的过程, 变形菌门始终无显著波动。在非优势门中, 疣微菌门在运动员入驻高原即显著低于平原状态, 且持续保持在较低水平; 放线菌门呈先上升后下降趋势; 无壁菌门呈先下降后上升趋势。

3 讨论

3.1 高原训练中径赛运动员腹泻发生的时间特点

高原地区具有低气压低氧浓度的环境特点, 急性高原暴露往往伴随胃肠道不适症状发生^[30], 运动员出现最大摄氧量下降, 疲劳恢复周期变长^[12], 为保证运动强度, 往往将高度选择在中度高原(1500 m~2400 m 海拔)。本研究发现久居平原的径赛类运动员在进入多巴国家高原训练基地(2388 m 海拔)后腹泻发生率为 46.7%, 所有运动员腹泻症状均在 10 天内消失, 半数以上运动员腹泻症状在 4 天内消失, 这与一般人进入 3000 m~5000 m 高原后发生腹泻的特点相符。值得注意的是, 高原训

表 4 进驻高原期间门水平微生物群落丰度差异

Table 4 The differences in phylum level of microbial community abundance during altitude training

Phylum	Plain		Day1		Day12		P value		Q value			
	Mean	Std.err	Mean	Std.err	Mean	Std.err	Plain vs Day1	Day1 vs Day12	Plain vs Day12	Plain vs Day1	Day1 vs Day12	Plain vs Day12
Actinobacteria	4.08×10 ⁻³	8.03×10 ⁻⁴	1.53×10 ⁻²	3.46×10 ⁻³	1.46×10 ⁻³	3.64×10 ⁻⁴	0.005	0.001	0.003	0.013	0.008	0.012
Verrucomicrobia	9.75×10 ⁻⁴	7.70×10 ⁻⁴	1.16×10 ⁻⁵	7.36×10 ⁻⁶	0	0	0.543	0.002	0.001	0.621	0.01	0.008
Tenericute	2.23×10 ⁻³	1.03×10 ⁻³	2.83×10 ⁻⁴	2.71×10 ⁻⁴	5.07×10 ⁻³	2.87×10 ⁻³	0.351	0.037	0.456	0.468	0.099	0.546
Cyanobacterium	1.37×10 ⁻⁵	1.37×10 ⁻⁵	1.52×10 ⁻⁶	1.52×10 ⁻⁶	1.46×10 ⁻²	1.46×10 ⁻²	0.027	0.203	0.219	0.054	0.406	0.382
Bacteroides	5.08×10 ⁻¹	3.09×10 ⁻²	7.04×10 ⁻¹	2.49×10 ⁻²	6.45×10 ⁻¹	4.52×10 ⁻²	0.137	0.265	0.239	0.219	0.424	0.382
Firmicutes	3.64×10 ⁻¹	3.05×10 ⁻²	2.41×10 ⁻¹	2.49×10 ⁻²	2.88×10 ⁻¹	3.76×10 ⁻²	0.005	0.32	0.13	0.013	0.426	0.346
Lentisphaerae	4.13×10 ⁻⁴	3.73×10 ⁻⁴	1.16×10 ⁻⁴	1.12×10 ⁻⁴	8.66×10 ⁻⁵	8.66×10 ⁻⁵	0.005	0.44	0.478	0.013	0.502	0.546
Proteobacteria	4.88×10 ⁻²	2.28×10 ⁻²	3.93×10 ⁻²	6.80×10 ⁻³	4.59×10 ⁻²	1.38×10 ⁻²	0.893	0.674	0.925	0.893	0.674	0.925

练中的运动员有两个腹泻爆发高峰,分别是进入高原后的第1~3天及进入高原后的第7~10天,至进入高原后的第12天便不再新增腹泻案例出现。第一波腹泻爆发高峰案例数占总腹泻案例数的35.7%,第二波腹泻爆发高峰案例数占总腹泻案例数的46.4%,这种“双峰”式的爆发特点推测与高原训练课的安排有关。绝大部分教练员都会在入驻高原后的第一周安排高原适应性训练,第一波腹泻爆发高峰正是发生在这个阶段的前几天,该阶段训练强度和训练量均大大低于平原时的训练课,故推测第一波腹泻爆发高峰的主要原因是高原低压低氧环境应激;高原适应性训练一周后便进入提高运动强度和运动量的阶段,第二波腹泻爆发高峰正式发生在这个阶段的前几天,该阶段训练强度和训练量均较适应性训练阶段大幅提高(略低于平原水平),故推测第二波腹泻爆发高峰的主要原因是运动员同时受到环境低压低氧及内脏低血流灌注的双重应激。

此外,除环境缺氧与运动应激外,世居平原人入驻高原后还有其他因素导致各种消化系统不适反应出现。研究表明^[27,28],急性进驻高原后出现急性高山病的登山者中有81.4%出现了恶心呕吐症状,消化不良及肠胃胀气也是也是常见症状,厌食则很大程度上归因于低氧本身导致的激素分泌失调(包括瘦素和缩胆囊素)。早期研究认为,高原腹泻与到所处地区的环境卫生及食物水源洁净程度相关性很高,海拔高度的上升并不是导致腹泻的主要因素,但Dinmore^[29]等人的研究首次指出高原地区登山者肠道通透性增加,并认为高原腹泻的发生与低氧导致黏膜状态改变和肠道菌群改变有关,但尚无其他研究证实该结果。

3.2 维持肠道菌群平衡的重要性

本研究发现,虽然进入高原后运动员肠道中微生物多样性并未发生显著改变,但是从进入高原首日起,在多个门水平上均出现了显著变化,说明进驻高原后,运动员肠道菌群平衡被打破,此外,运动应激也可使肠道微生物分布发生改变^[31-33]。人类自出生以来无时无刻不生活在与数十亿细菌共生的状态,在肠道中这些共生菌(不包括潜在的致病菌)帮助人类合成维生素、消化日常膳食,这一切的基础是稳定的肠道微生物环境,一旦菌群平衡被打破,往往伴随而来的是诸多临床症状与疾病^[13]。在已知的所有细菌类别中,只有两个门类在哺乳动物肠道中占主导地位,分别是拟杆菌门(16.3%)和厚壁菌门(65.7%)^[14,15];人体肠道内已发现的其他门类菌包括(这里只列举大于0.5%的门类)放线菌门(4.7%)、变形菌门(8.8%)、疣微菌门(2.2%)、梭杆菌门(0.7%)等,事实上人体肠道内的细菌只是已发现所有细菌总数的一小部分,说明这些细菌是高度进化并特化地生活在人体的肠道内^[6]。研究表明,菌群在多种动物模型中支配肠道免疫系统的反应,无菌环境下生长果蝇寿命会下降;无菌斑马鱼遭受严重的肠道恶化并且无法存活到成年;无菌小鼠肠道发育受到干扰,并且需要更多的食物来维持健康体重^[17,18]。我们肠道中菌群的分布是可以通过饮食或服用其他可被人体吸收的化合物补剂调节,Staudacher等人^[19]也在研究中指出通过益生菌及短链碳水化合物饮食调节肠道菌群,缓解肠易激综合征,也就是说随着技术的发展,为运动员高原训练提供个性化的微生物群调节指日可待。

3.3 高原训练中运动员肠道菌群门水平上优势菌群变化及腹泻的探讨

运动员进驻高原后微生物多样性略有降低,但无显著性差异;相较于平时,拟杆菌门先上升后恢复,厚壁菌门先下降后恢复,变形菌门占比降低,但无显著性差异。肠道菌群改变与腹泻具有高度相关性,发达国家中每年有1亿人外出旅行,在旅途中有40%-60%的旅行者会发生腹泻^[20,21],Bonnie等人^[22]研究发现,在旅行过程中健康旅客发生腹泻的案例中没有检测出病菌,同时这些腹泻案例的都表现为拟杆菌门和厚壁菌门占比显著升高,变形菌门占比也有少量升高,而微生物多样性没有显著变化,推断造成肠道菌群改变和腹泻的主要原因是水土不服。旅行腹泻和高原训练腹泻的相似性在于都存在环境改变的应激,只不过高原环境更为特殊,且运动员在进驻高原后第二周开始受到更为严苛的“双重应激”。与高原训练腹泻更为相似的是登山者腹泻,已有学者指出高原低压低氧环境造成登山者腹泻的主要原因,并指出中度高原(2700 m~4000 m海拔)和极限高原(>4300 m海拔)环境对登山者胃肠道影响程度也不同,在尼泊尔珠峰大本营集结的登山者中有81.4%被腹泻等胃肠道应激反应困扰^[23],高海拔暴露常常伴随着肠胃紊乱及消化系统炎症的发生,并且增加感染风险,同时这被认为是由高原低氧暴露所导致的肠道内微生物菌群平衡改变带来的微生物和免疫反应^[24],遗憾的是并没有对登山者粪便取样进行微生物多样性分析。此外,在腹泻主导的胃肠道应激综合征中,相较于对照组,腹泻组患者粪便样品中厚壁菌门和变形菌门占比显著上升,拟杆菌门和放线菌门占比显著降低^[25]。导致肠道菌群发生改变甚至腹泻的原因很多,综上所述可以看出,不同刺激导致的肠道菌群在门水平上的改变并不一致。

肠道中,拟杆菌门中的拟杆菌纲,可以引起阑尾炎或败血症,是肠道中的主要病原菌;厚壁菌门能够帮助多糖发酵,其中的芽孢杆菌属是维持肠道健康的重要菌类之一;而变形菌门中包含大肠杆菌、沙门氏菌、霍乱弧菌、幽门螺旋杆菌等病原菌,这些细菌均可引起腹泻^[26]。本研究中变形菌门始终未见显著变化,由此可知高原训练中运动员肠道菌群改变以及腹泻症状并不是由变形菌门的病原菌引起的,此外,拟杆菌门先升后降的同时对应着厚壁菌门的先降后升,这意味着运动员在高原习服期出现了有益菌占比被其他细菌挤占而减少;主成分分析的结果可知,拟杆菌门对样品差异贡献值为56.62%,厚壁菌门对样品差异的贡献值为18.67%,也就是说相较于有益菌的减少,非有益菌的大量增殖或定植对肠道菌群平衡的影响更多。值得注意的是,类似于高原训练中运动员腹泻的“双峰”式爆发特点,肠道菌群在门水平上的变化也呈现出两段式,第6天至第9天时(也就是第二波腹泻高发期间),拟杆菌门在持续下降过程中出现上升、厚壁菌门持续上升过程中出现下降,这说明运动员肠道菌群的变化与腹泻发生与否关系密切。

4 结论

1). 高原训练中径赛类运动员多发腹泻,所有腹泻案例均在10天内自愈,半数以上腹泻案例在4天内自愈;腹泻案例呈现出两个爆发高峰,即进入高原后第1~3天和第7~10天,两个爆发高峰的主要诱因分别是高原环境低压低氧应激、高原环境低压低氧及内脏低血流灌注的双重应激。2). 运动员进驻高原后,肠道菌群微生物多样性未出现显著变化,在门水平上改变

呈现出拟杆菌门占比先上升后恢复、厚壁菌门占比先下降后恢复,在其他菌的增殖和定植下,有益菌占比减少,肠道菌群平衡被打破。

参考文献(References)

- [1] 周波,周其全.高原胃肠应激综合征[J].西北国防医学杂志,2006,27(04):293-295
Zhou Bo, Zhou Qi-quan. Plateau gastrointestinal stress syndrome[J]. Northwest national defense medical journal, 2006, 27(04): 293-295
- [2] Walker AW, Parkhill J. Microbiology. Fighting obesity with bacteria [J]. Science, 2013, 341(6150): 1069-1070
- [3] Albenberg L, Esipova T V, Judge C P, et al. Correlation Between Intraluminal Oxygen Gradient and Radial Partitioning of Intestinal Microbiota[J]. Gastroenterology, 2014, 147(5): 1055
- [4] Queipo-Ortuno M I, Seoane L M, Murri M, et al. Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels [J]. PLoS one, 2013, 8(5): e65465
- [5] Havenaar R. Intestinal health functions of colonic microbial metabolites: a review[J]. Benef Microbes, 2011, 2(2): 103-114
- [6] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nature methods, 2010, 7(5): 335-336
- [7] Wang Y, Sheng HF, He Y, et al. Comparison of the levels of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of illumina tags [J]. Appl Environ microbiol, 2012, 78(23): 8264-8271
- [8] Grice EA, Kong HH, Conlan S, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome [J]. Science, 2009, 324(5931): 1190-1192
- [9] Kõljalg U, Nilsson RH, Abarenkov K, et al. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi [J]. Mol Ecol, 2013, 22(21): 5271-5277
- [10] Lozupone C, Knight R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities[J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(12): 8228-8235
- [11] Looft T, Johnson TA, Allen HK, et al. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome[J]. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012, 109(5): 1691-1696
- [12] 胡扬. 关于高原训练中若干问题的思考 [J]. 北京体育大学学报, 2006, 27(7): 865-868
Hu Yang. Consideration on several problems in the plateau training [J]. Journal of Beijing Sport University, 2006, 27(7): 865-868
- [13] Derer S, Lehnert H, Sina C et al. Modulation of the intestinal microbiota by nutritional interventions[J]. Internist (Berl), 2017
- [14] Eckburg PB, Bik EM, Purdom E, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora[J]. Science, 2005, 308(5728): 1635-1638
- [15] Ley RE, Hamady M, Lozupone C, et al. Evolution of mammals and their gut microbes[J]. Science, 2008, 320(5883): 1647-1651
- [16] Gil SR, Pop M, Deboy RT, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome[J]. Science, 2006, 312(5778): 1355-1359
- [17] Kanther M, Sun X, Mühlbauer M, et al. Microbial colonization induces dynamic temporal and spatial patterns of NF-kappaB activation in the zebrafish digestive tract [J]. Gastroenterology, 2011, 141(1): 197-207
- [18] Smith K, McCoy KD, Macpherson AJ. Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota[J]. Semin Immunol, 2007, 19(2): 59-69
- [19] Staudacher HM, Whelan K. Altered gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome and its modification by diet: probiotics, prebiotics and the low FODMAP diet [J]. Proc Nutr Soc, 2016, 75 (3): 306-318
- [20] De la CabadaBauche J, Dupont HL. New developments in traveler's diarrhea[J]. Gastroenterol Hepatol (NY), 2011, 7(2): 88-95
- [21] Harvey K, Esposito DH, Han P, et al. Surveillance for travel-related disease-GeoSentinel Surveillance System, United States, 1997-2011 [J]. MMWR Surveill Summ, 2013, 19(62): 1-23
- [22] Bonnie P Youmans, Nadim J Ajami, Zhi-Dong Jiang et al. Characterization of the human gut microbiome during travelers' diarrhea[J]. Gut Microbes, 2015, 6(2): 110-119
- [23] Wiseman C, Freer L, Hung E. Physical and medical characteristics of successful and unsuccessful summiteers of Mount Everest in 2003[J]. Wilderness Environ Med, 2006, 17(2): 103-108
- [24] KleessenBrigitta, Schroedl Wieland, Stueck Marcus, et al. Microbial and immunological responses relative to high-altitude exposure in mountaineers[J]. Med Sci Sports Exerc, 2005, 37(8): 1313-1318
- [25] Krogus-Kurikka L, Lyra A, Malinen E, et al. Microbial community analysis reveals high level phylogenetic alterations in the overall gastrointestinal microbiota of diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome sufferers[J]. BMC Gastroenterol, 2009, 9(95)
- [26] 张智,曲巍,马建章,等.高通量测序研究益生菌对小鼠肠道菌群的影响[J].食品科学, 2017, 38(1): 214-219
Zhang Zhi, Qu Wei, Ma Jian-zhang, et al. Effect of Probiotics on Gut Microbiota in Mice Evaluated by High-Throughput Sequencing [J]. Food Science, 2017, 38(1): 214-219
- [27] Murdoch DR. Symptoms of infection and altitude illness among hiker in the Mount Everest region in Nepal [J]. Med Space Environ, 1995, 66(2): 148-151
- [28] Basnyat B, Litch JA. Medical problems of porters and trekkers in the Nepal Himalaya[J]. Med Wilderness Environ, 1997, 8(2): 78-81
- [29] Dinmore AJ, Edwards JSA, Menzies IS, et al. Intestinal carbohydrate absorption and permeability at high altitude (5730m)[J]. Appl Physiol, 1994, 76: 1903-1907
- [30] Xu CL, Sun R, Qiao XJ, et al. Protective effect of glutamine on intestinal injury and bacterial community in rats exposed to hypobaric hypoxia environment [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20 (16): 4662-4674
- [31] QueipoOrtunoMI, SeoaneLM, Murri M, et al. Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels[J]. PLoS One, 2013, 8(5): 1-11
- [32] Allen JM, Berg Miller ME, Pence BD, et al. Voluntary and forced exercise differentially alters the gut microbiome in C57BL/6J mice[J]. Appl Physiol, 2015, 118(8): 1059-1066
- [33] Mika A, Van Treuren W, González A, et al. Exercise is more effective at altering gut microbial composition and producing stable changes in lean mass in juvenile versus adult male F344 rats[J]. PLoS One, 2015, 10(5): 1-20