

ارتباط میزان اکتینوباکتريا و بیفیدوباکتریوم روده با میزان درشت مغذی های دریافتی در رژیم غذایی مادران مبتلا به دیابت بارداری در مقایسه با مادران سالم: یک مطالعه مورد-شاهدی

Relationship between the gut *Actinobacteria* and *Bifidobacterium* population with macronutrient's intake in diet of mothers with gestational diabetes compared to the healthy mothers: a case-control study

رؤیا سهرابی^۱، سیده ندا موسوی*^۲، رضا شاپوری^۱، سیامک حیدرزاده^۳، رسول شکری^۱

^۱گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، زنجان، ایران

^۲گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

^۳گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران

*نویسنده مسئول:

E-mail: neda.mousavi@zums.ac.ir سیده ندا موسوی

عنوان مکرر: دریافت درشت مغذی ها و باکتری های مفید روده

تعداد جداول: ۴

چکیده

مقدمه: میزان اکتینوباکتیریا و بیفیدوباکتیريوم، که از باکتریهای مفید روده هستند بین زنان باردار مبتلا به دیابت بارداری (GDM) با زنان باردار سالم مورد مقایسه قرار گرفته و ارتباط آنها با میزان درشت مغذی های دریافتی در رژیم غذایی با این باکتری ها مورد بررسی قرار گرفته است.

روش ها: پنجاه مادر باردار مبتلا به GDM که در هفته های ۲۴-۲۸ بارداری، بر اساس آزمایش تحمل گلوکز شناسایی شدند و ۵۰ مادر باردار سالم با نتایج قند طبیعی انتخاب شدند. نمونه مدفوع جمع آوری شد. DNA ی باکتریایی استخراج شده و تکثیر ژن 16S rRNA به روش qPCR و با استفاده از پرایمرهای universal باکتریایی انجام شد. اطلاعات غذایی با استفاده از پرسشنامه بسامدخوراک جمع آوری شد.

یافته ها: به طور کلی جمعیت اکتینوباکتیریا ($p=0/02$) و بیفیدوباکتیريوم ($p=0/001$) در زنان باردار مبتلا به GDM کمتر از زنان نرموگلاسمیک بود. با تعدیل اثر همه فاکتورهای مورد بررسی و گروه های مورد مطالعه، سن ($p=0/02$) و سطح تحصیلات ($p=0/04$) اثر معنی دار بر جمعیت اکتینوباکتیریا نشان داد. دریافت کالری بالاتر جمعیت اکتینوباکتیریا روده را ۱۱/۱ برابر کاهش داد ($p=0/01$). میزان کربوهیدرات و چربی مصرفی در رژیم غذایی اثر مثبت بر جمعیت اکتینوباکتیریا روده نشان داد ($p=0/02$) و ($p=0/003$). میزان کلسترول دریافتی در رژیم غذایی اثر منفی بر جمعیت بیفیدوباکتیريوم نشان داد ($p=0/02$)

نتیجه گیری: افزایش میزان کربوهیدرات و چربی دریافتی در رژیم غذایی با تأکید بر اسیدهای چرب تک و چندغیراشباع و کاهش میزان کالری و کلسترول دریافتی روزانه منجر به افزایش اکتینوباکتیریا و بیفیدوباکتیريوم که از گونه های مفید روده هستند، شد.

واژگان کلیدی: اکتینوباکتیریا، بیفیدوباکتیريوم، دیابت بارداری، رژیم غذایی

Abstract

Background: The *Actinobacteria* and *Bifidobacterium* population, which are the beneficial intestinal bacteria, was compared between pregnant women with gestational diabetes (GDM) and healthy-one, and their relationship with the amount of dietary macronutrients was investigated.

Methods: Fifty pregnant women with GDM, who were identified in the 24-28 weeks of pregnancy, based on the oral glucose tolerance test, and 50 healthy pregnant women with normal results were selected. Stool samples were collected. Bacterial DNA was extracted and 16S rRNA gene amplification was done by qPCR method, using universal bacterial primers. Food information was collected using a food frequency questionnaire.

Results: In total, *Actinobacteria* phyla ($p=0.02$) and *Bifidobacterium* ($p=0.001$) significantly lower in the pregnant women with GDM than the normoglycemic. Adjusting to the all factors and grouping, age ($p=0.02$), and education ($p=0.04$) showed a significant effect on the gut *Actinobacteria* population. Higher daily calorie intake decreased the intestinal *Actinobacteria* population by 11.1 times ($p=0.01$). Dietary carbohydrate and fat showed a positive effect on the gut *Actinobacteria* ($p=0.02$ and $p=0.003$, respectively). Dietary cholesterol showed a negative effect on the *Bifidobacterium* population (OR= -0.54, $p=0.02$).

Conclusion: Increase in dietary carbohydrates and fat with an emphasis on mono- and poly-unsaturated fatty acids, decrease in daily calorie intake and cholesterol lead to increase in the *Actinobacteria* and *Bifidobacterium*, as the beneficial gut bacteria.

Key words: *Actinobacteria*, *Bifidobacterium*, gestational diabetes, diet

شیوع بیماریهای متابولیک دوران بارداری در دنیا رو به افزایش است (۱). دیابت بارداری (GDM) از اختلالات متابولیک روبه رشد در دنیاست که با اختلال کنترل قندخون در هفته ۲۴-۲۸ بارداری مشخص می شود (۱, ۲). براساس آخرین مرور نظام مند، شیوع این اختلال در ایران حدود ۸-۱۰٪ گزارش شده است (۲). اگرچه این اختلال وضعیتی گذرا بوده و قندخون و متابولیسم گلوکز اغلب پس از زایمان به وضعیت عادی و نرمال برمیگردد، زنان مبتلا به GDM در مقایسه با زنان غیرمبتلا ۴۰٪ خطر بیشتری برای بروز دیابت نوع ۲ طی ۱۵ سال آینده دارند (۳). در سالهای اخیر ارتباط بین دیابت و تغییرات باکتریایی روده مورد توجه قرار گرفته است (۴). اخیراً مطالعات نشان داده اند باکتری های روده می توانند بر متابولیسم گلوکز، چربی، مسیرهای التهابی و سیستم ایمنی اثرگذار باشد (۵ و ۶). مجموعه ای از باکتری ها متعلق به فیلوم فرمی کوتس، باکتریوئیدتس، پروتوباکتیریا، اکتینوباکتیریا و فوزباکتیریا در روده انسان ساکن هستند. اخیراً مطالعات بر روی فیلوم اکتینوباکتیریا به دلیل در برداشتن جنس های باکتریایی پروبیوتیک که بر وضعیت سلامت و بیماری اثر بسیار مهمی دارند رو به گسترش است (۷). بیفیدوباکتریوم، یکی از اعضای خانواده اکتینوباکتیریا بوده که به عنوان پروبیوتیک به محصولاتی مانند ماست و پنیر اضافه می شود و فواید زیادی برای سلامتی دارد (۸). جمعیت باکتریایی روده تحت تاثیر بسیاری از عوامل محرک درونی (ژنتیک) و بیرونی (رژیم غذایی، عوامل محیطی و استرس) قرار می گیرد (۹). میزان افزایش وزن دوره بارداری نیز نقش بسیار مهمی در تغییر این جمعیت باکتریایی دارد به گونه ای که در مطالعات گذشته، جمعیت باکتریوئیدها، استافیلوکوکوس، اشیریشیاکلائی و انتروباکتریاسه در روده زنانی که وزن زیادی گرفته اند افزایش در حالیکه جمعیت بیفیدوباکتریوم کاهش یافت (۱۰ و ۱۱). مطالعه ای در چین کاهش جمعیت بیفیدوباکتریوم، یوباکتریوم و آلبیتیس را در زنان مبتلا به GDM و افزایش جمعیت کلبسیلا و پاراباکتریوئیدس را در این بیماران گزارش کرده است (۱۲). در مطالعه دیگری که در سه ماهه سوم بارداری انجام شده، افزایش جمعیت گونه های مرتبط با فکالی باکتریوم و کاهش گونه های مرتبط با کلاستریدیوم در زنان مبتلا به GDM در مقایسه با زنان نرموگلاسمیک گزارش شده است (۱۳). این فرضیه مطرح شده است که ترکیب و نوع مواد غذایی مصرفی در دوران بارداری بر جمعیت باکتریایی روده مؤثر است (۱۰, ۱۴). افراد بر اساس الگوی ژنتیکی، تغییرات اپی ژنتیک و نوع میکروبیوم روده پاسخ های متابولیکی متفاوتی به انواع مختلف ترکیبات غذایی می دهند که می تواند بر وضعیت سلامت و بیماری اثرات متفاوتی نشان دهد (۱۵). پاسخ متابولیک به مواد غذایی

بر اساس ترکیب باکتریایی روده، یکی از جذاب ترین، مؤثرترین و جدیدترین حیطه های مطالعاتی در علم تغذیه می باشد. مطالعات اخیر نشان داده اند که باکتری های مختلف، پاسخ های متفاوتی به مواد غذایی مختلف می دهند. نکته جالب دیگر این است که این تغییرات در دوران بارداری به نسل بعد منتقل شده و منجر به بروز تغییرات متابولیک در فرزندان در سنین بزرگسالی خواهد شد. بنابراین تغییرات اولیه در رژیم غذایی مادر در دوران بارداری نه تنها از بروز GDM پیشگیری کرده بلکه بر تغییرات متابولیک نسل آینده نیز اثرگذار خواهد بود. با توجه به شرایط اقلیمی متفاوت و باتوجه به نوع مواد غذایی مصرفی متفاوت در شهرهای مختلف، در این مطالعه می خواهیم بدانیم آیا تفاوتی بین درشت مغذی ها در زنانی که در هفته ۲۴-۲۸ بارداری به GDM مبتلا می شوند با زنان غیرمبتلا وجود دارد یا خیر. همچنین ارتباط این درشت مغذی ها با جمعیت اکتینوباکتربا و بیفیدوباکتریوم در روده مادران باردار چگونه است.

روش ها

طراحی مطالعه

این مطالعه از نوع مورد-شاهدی بود و نمونه های شرکت کننده، مادران باردار که در هفته های ۲۴-۲۸ بارداری به منظور غربالگری GDM آزمایش تحمل گلوکز خوراکی انجام می دادند بوده است. نمونه گیری از دی ماه سال ۱۴۰۱ تا مرداد ماه سال ۱۴۰۲ به طول انجامید. یکصد زن باردار در دامنه سنی ۱۸-۳۵ سال از نظر وزن قبل از بارداری، وزن فعلی و میزان افزایش وزن دوره بارداری با هم مقایسه شده و در این مطالعه شرکت داده شدند که نیمی از آنها مبتلا به GDM و نیمی دیگر سالم بودند. تمامی مراحل این مطالعه مطابق با راهنماهای بین المللی مطالعات انسانی بوده است. مراحل مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد زنجان تأیید شد (IR.IAU.Z.REC.1401.067). برای نمونه گیری از روش خوشه ای استفاده شد تا تمامی مناطق شهر در این مطالعه شرکت داده شوند. در این روش، مناطق شهری زنجان از نظر وضعیت اقتصادی به سه زیرمجموعه بالا، متوسط و پایین دسته بندی شدند و به این ترتیب خوشه ها انتخاب شد. تعداد و حجم مناسب از شرکت کنندگان در هر خوشه تعیین شد. اعضای درون یک خوشه اغلب از نظر فیزیکی به یکدیگر نزدیک بوده و در نتیجه تقریباً خصوصیات مشابهی داشته و از نظر نوع مواد غذایی مصرفی تقریباً شبیه به هم بودند. مادران شرکت کننده پس از کسب رضایت آگاهانه به صورت شفاهی و کتبی وارد مطالعه

شدند. مادران با نژاد ایرانی که اهل و ساکن شهر زنجان بودند در مطالعه شرکت داده شدند. شرکت کنندگان سیگاری نبوده، هیچ نوع مخدري مصرف نمی کرده و الکل یا هر نوع دارویی نیز مصرف نمی کردند. شرکت کنندگان بر اساس نتایج آزمایش تحمل گلوکز خوراکی به دو گروه مبتلا به GDM یا سالم تقسیم شدند. مقادیر در نظر گرفته شده برای GDM (قند ناشتا، یک ساعته و دو ساعته ی بزرگتر-مساوی ۹۲، ۱۸۰، ۱۵۳ میلیگرم در دسی لیتر، به ترتیب) بود (۱۶). مقادیر کمتر به عنوان سالم در نظر گرفته شد. افرادی که مکمل/محصول پروبیوتیک، پره بیوتیک، سین بیوتیک یا داروی آنتی بیوتیک، حداقل در طی ۲ ماه اخیر مصرف کرده بودند از مطالعه خارج شدند. افراد مبتلا به هرگونه بیماری مزمن شامل دیابت نوع ۱ و ۲، قلبی، کلیوی، کبدی، اختلالات سیستم ایمنی، تیروئیدی و روانی از مطالعه خارج شدند. هرگونه اختلال گوارشی شامل تهوع، استفراغ، اسهال، یبوست، بیماریهای سوء جذب و التهابی مانند سلپاک و بیماریهای التهابی روده و یا مصرف هرگونه داروی گوارشی از معیارهای خروج در مطالعه حاضر بود. همچنین مادرانی که در دوره بارداری به فشارخون یا GDM در سه ماه اول مبتلا شدند وارد مطالعه نشدند. نمونه های مدفوع در ظروف استریل در شرایط ناشتایی از بیماران جمع آوری شد و همه نمونه ها در فریزر -۷۵ درجه سانتیگراد تا زمان آنالیز نهایی نگهداری شدند.

اطلاعات دموگرافیک، غذایی و آنتروپومتریک شرکت کنندگان

اطلاعات دموگرافیک شرکت کنندگان شامل سن مادر، سطح تحصیلات و تعداد زایمان ثبت شد. وزن فعلی مادران با استفاده از یک ترازوی کالیبر شده سکا با دقت ۱۰۰ گرم با کمترین میزان لباس، بدون کفش در حالت ایستاده که دست ها به صورت مستقیم در پهلو قرارگرفته باشد و قد آنها با متر غیرقابل ارتجاع با دقت ۰/۵ سانتیمتر در حالت ایستاده که پاشنه، باسن، کتف و سر به دیوار چسبیده باشد توسط فرد مهارت دیده اندازه گیری شد. وزن قبل از بارداری از پرونده بارداری شرکت کنندگان ثبت شد و میزان افزایش وزن دوره بارداری محاسبه شد. پرسشنامه بسامدخوراک ۱۶۹ آیتمی برای همه شرکت کنندگان تکمیل شد و اطلاعات این پرسشنامه با ثبت خوراک ۳ روزه (۲ روز معمول و یک روز تعطیل) معتبر شد. اطلاعات غذایی جمع آوری شده وارد نرم افزار N4 (nutritionist 4) شده و به گرم در روز تبدیل شد.

استخراج DNA و وکنش زنجیره ای پلیمرز

دویست میلی گرم از نمونه های مدفوع فریز شده برداشته و در مجاورت بافر لیزکننده ASL قرار داده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه در مجاورت با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد، به منظور لیز باکتریایی، قرار داده شد. سپس DNA ی باکتریایی با استفاده از کیت مطابق با دستورالعمل های ارائه شده در راهنمای آن استخراج شد (شرکت کیاژن، آلمان). کیفیت DNA از طریق تهیه تصویر بر روی ژل آگارز ۱٪ و کمیت آن از طریق دستگاه نانودراپ ارزیابی شد. DNA ی استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. تکثیر ژن 16S rRNA به روش qPCR (quantitative polymerase chain reaction) و با استفاده از پرایمرهای universal باکتریایی انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۱، نشان داده شده است. تمامی اجزای واکنش از شرکت فرمنتاز خریداری شد. مخلوط هرواکتس شامل ۱۰ میکرولیتر بافر سایبرگرین مسترمیکس (آمپلیکون، دانمارک)، ۴ میکرولیتر از نمونه DNA، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر فوروارد و ریورس، ۵ میکرولیتر آب عاری از RNAase و DNAase تهیه شده و از 16S rRNA به عنوان کنترل مثبت در هر واکنش استفاده شد.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی اکتینوباکتیریا و بیفیدوباکتیریا در مدفوع

نام فیلوم	سکانس پرایمر (۵' به ۳')
اکتینوباکتیریا	F: TACGGCCGCAAGGCTA
	R: TARTCCCCACCTTCCTCCG
بیفیدوباکتیریا	F: TCGCGTCYGGTGTGAAAG
	R: CCACATCCAGCRTCCAC

به منظور ارزیابی بیان ژن از دستگاه ABI (Applied Biosystems, California, USA) استفاده شد. چرخه تکثیر با دوبار تکرار شامل ۴۰ سیکل سه مرحله ای: ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۰-۵۸ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه بود. نتایج با استفاده از فرمول زیر و $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد.

$$\Delta\Delta Ct = (CT_{\text{phylum}} - CT_{16\text{srRNA}})_{\text{Time X}} - (CT_{\text{phylum}} - CT_{16\text{srRNA}})_{\text{Time 0}}$$

تحلیل آماری

برای محاسبه حجم نمونه از مطالعه اخیر Chen و همکاران استفاده شد که به مقایسه فیلوم روده در زنان باردار مبتلا به GDM در مقایسه با زنان سالم پرداخته بود (۱۷). با در نظر گرفتن توان ۸۰٪ و فاصله اطمینان ۹۵٪ و با استفاده از فرمول برآورد دو نسبت ۵۰ نفر در هر گروه محاسبه شد. به منظور تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۰ استفاده شد. متغیرهای کمی به صورت میانگین (انحراف معیار) و متغیرهای کیفی به صورت فراوانی (درصد) توصیف شد. در صورت نرمال بودن متغیر پاسخ جهت مقایسه بین دو گروه از آزمون تی-مستقل و در صورتی که نرمال بودن رد شود از آزمون من-ویتنی استفاده شد. برای بررسی ارتباط بین متغیر پاسخ و متغیرهای کمی دیگر از آزمون همبستگی و رگرسیون خطی استفاده شد. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

متغیرهای زمینه ای شرکت کنندگان در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود بین دو گروه مقادیر قند ناشتا، یک ساعته و دوساعته تفاوت آماری معنی دار نشان داد ($p < 0/001$ در همه موارد). شرکت کنندگان از نظر سن تفاوت معنی دار آماری داشتند ($p = 0/004$). سایر متغیرهای مورد بررسی تفاوت معنی داری نشان نداد.

جدول ۲- متغیرهای زمینه ای مورد بررسی در دو گروه مادران مبتلا به GDM در مقایسه با مادران سالم

متغیر	گروه	GDM (تعداد=۵۰) خطای معیار± میانگین	سالم (تعداد=۵۰) خطای معیار± میانگین
سن*، سال		۳۴/۰±۲/۹	۲۹/۰±۹/۹
وزن فعلی، کیلوگرم		۷۶/۱±۴/۳	۷۳/۱±۴/۲
وزن پیش از بارداری، کیلوگرم		۷۰/۱±۳/۶	۶۷/۱±۸/۲
افزایش وزن بارداری، کیلوگرم		۶/۰±۱/۹	۵/۰±۶/۵
قند ناشتا*، mg/dl		۹۹/۲±۲/۷	۸۲/۰±۱/۹
قند ۱ ساعته*، mg/dl		۱۹۱/۵±۱/۴	۱۳۱/۳±۴/۷
قند ۲ ساعته*، mg/dl		۱۵۶/۷±۶/۳	۱۱/۳±۲/۲

تحصیلات		
زیردیپلم	۲ (۱۰٪)	۶ (۱۵٪)
دیپلم	۴ (۲۰٪)	۷ (۱۷٪/۵)
دانشگاهی	۱۴ (۷۰٪)	۲۷ (۶۷٪/۵)
تعداد زایمان		
صفر	۶ (۳۰٪)	۲۴ (۶۰٪)
یک	۱۲ (۶۰٪)	۱۰ (۲۵٪)
دو	۲ (۱۰٪)	۶ (۱۵٪)

† آنالیز شده توسط آزمون تی-مستقل. * تفاوت بین دو گروه معنی دار است.

جدول شماره ۳، نتایج حاصل از پرسشنامه بسامد خوراک جمع آوری شده از شرکت کنندگان را در دو گروه نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود هیچ تفاوت آماری معنی داری از نظر میزان انرژی و درشت مغذی های دریافتی در دو گروه مشاهده نشد ($p > 0.05$)

جدول ۳- آنالیز دریافت غذایی روزانه در دو گروه مادران مبتلا به GDM در مقایسه با مادران سالم

دریافت در روز گروه	GDM (تعداد=۵۰) خطای معیار± میانگین	سالم (تعداد=۵۰) خطای معیار± میانگین	معنی داری †
انرژی، کیلوکالری	۲۹۶۰/۱۹۴±۸/۶	۳۱۲۷/۱۶۱±۵/۳	۰/۵۳
کربوهیدرات، گرم	۴۳۱/۳۱±۹/۵	۴۴۵/۲۶±۹/۷	۰/۷۵
فیبر کل، گرم	۶۴/۶±۶/۹	۷۰/۵±۶	۰/۴۹
فیبر محلول، گرم	۰/۰±۴۵/۱	۰/۰±۳/۱	۰/۲۹
فیبر نامحلول، گرم	۰±۳/۵	۳/۰±۱/۴	۰/۱
پروتئین، گرم	۱۰۴/۸±۷/۲	۱۰۷/۵±۵/۵	۰/۷۷
چربی، گرم	۹۷/۶±۳/۹	۱۱۰/۶±۲/۹	۰/۲۴
اسید چرب تک غیر اشباع، گرم	۳۲/۱±۴/۹	۳۱/۱±۳/۶	۰/۶۵
اسید چرب چند غیر اشباع، گرم	۲۰/۱±۱/۴	۲۰/۱±۷/۳	۰/۸
اسید چرب اشباع، گرم	۲۹/۲±۳/۲	۱±۳۱/۸	۰/۵۹
کلسترول، میلیگرم	۲۶۴/۲۱±۷/۳	۲۹۰/۱۷±۸/۳	۰/۳۷

† آنالیز شده توسط آزمون تی-مستقل

میزان فیلوم اکتینوباکتیریا و جنس بیفیدوباکتریوم در نمونه های مدفوع زنان باردار سالم به طور معنی داری بالاتر از مادران مبتلا به GDM بود ($p=0/02$ و $p=0/001$ ، به ترتیب)

جدول ۴- جمعیت اکتینوباکتیریا و بیفیدوباکتریوم در نمونه های مدفوع مادران مبتلا به GDM در مقایسه با سالم

سالم (تعداد=۵۰) خطای معیار \pm میانگین	GDM (تعداد=۵۰) خطای معیار \pm میانگین	گروه باکتری
۲/۰ \pm ۱/۳	۱/۰ \pm ۶/۲	اکتینوباکتیریا*
۴/۰ \pm ۱/۷	۱/۰ \pm ۷/۳	بیفیدوباکتریوم*

*آزمایشی شده توسط آزمون من ویتنی، * تفاوت بین دو گروه معنی دار است.

نتایج آزمون همبستگی دوطرفه نشان داد که در مادران مبتلا به GDM ارتباط دوطرفه معنی دار بین میزان کل انرژی دریافتی روزانه با میزان بیفیدوباکتریوم روده وجود دارد ($r=0/47$, $p=0/03$). همچنین میزان کل پروتئین و چربی دریافتی روزانه ارتباط معنی داری با میزان بیفیدوباکتریوم روده در مبتلایان به GDM نشان داد ($r=0/44$, $p=0/04$ و $r=0/5$, $p=0/02$ ، به ترتیب). از میان نوع چربی مصرفی، اسیدهای چرب تک و چندغیراشباع دریافتی در رژیم غذایی مادران با جمعیت بیفیدوباکتریوم در روده ارتباط دوطرفه معنی دار نشان داد ($r=0/45$, $p=0/04$ و $r=0/53$, $p=0/01$ ، به ترتیب).

با تعدیل اثر همه فاکتورهای مورد بررسی، سن ($p=0/02$, $r=0/23$, $p=0/01$ ، $OR=0/41$) و سطح تحصیلات ($p=0/04$, $r=0/5$, $p=0/09$ ، $OR=0/32$) اثر معنی دار بر جمعیت اکتینوباکتیریا نشان داد. افزایش میزان انرژی دریافتی روزانه جمعیت اکتینوباکتریای روده را ۱۱/۱ برابر کاهش داد ($p=0/01$, $r=-0/03$, $r=-0/04$ ، $OR=0/95$ فاصله اطمینان). میزان کربوهیدرات مصرفی جمعیت اکتینوباکتریای روده را ۶/۵ برابر افزایش داد ($p=0/02$, $r=0/13$, $p=0/01$ ، $OR=0/95$ فاصله اطمینان). همچنین افزایش میزان چربی کل دریافتی در رژیم غذایی جمعیت این فیلوم باکتریایی را در روده به میزان ۵/۳ برابر افزایش داد ($p=0/03$, $r=0/38$, $p=0/08$ ، $OR=0/95$ فاصله اطمینان). در بررسی اثر فاکتورها بر جمعیت بیفیدوباکتریوم روده، در مدل رگرسیون خطی تنها میزان کلسترول دریافتی در رژیم غذایی اثر منفی بر جمعیت این جنس باکتریایی نشان داد ($p=0/02$, $r=-0/03$ ، $OR=-0/04$ ، $OR=-0/54$ ، $OR=0/95$ فاصله اطمینان).

مطالعه حاضر اولین مطالعه ای است که در ایران به ارزیابی مقایسه ای میزان بیان ژن فیلوم اکتینوباکتريا به همراه مهمترین جنس این خانواده، بیفیدوباکتریوم، و ارتباط این باکتری ها با دریافت غذایی در مادران مبتلا به GDM در مقایسه با مادران سالم پرداخته است. نتایج مطالعه نشان داد که جمعیت اکتینوباکتريا و بیفیدوباکتریوم در روده زنان باردار مبتلا به GDM به طور معنی داری کمتر از زنان سالم بود. همچنین میزان انرژی دریافتی روزانه، میزان کربوهیدرات، پروتئین، چربی و حتی نوع چربی مصرفی می تواند بر جمعیت این باکتری ها اثرگذار بود. در مادران مبتلا به GDM ارتباط معنی دار بین میزان کل انرژی دریافتی، پروتئین و چربی دریافتی روزانه با میزان بیفیدوباکتریوم روده مشاهده شد. از میان نوع چربی مصرفی، اسیدهای چرب تک و چندغیراشباع دریافتی در رژیم غذایی مادران با جمعیت بیفیدوباکتریوم در روده ارتباط دوطرفه معنی دار نشان داد. تعدیل شده برای همه فاکتورهای مورد بررسی، سن و سطح تحصیلات اثر معنی دار بر جمعیت اکتینوباکتريا نشان داد. افزایش میزان انرژی دریافتی روزانه جمعیت اکتینوباکتریای روده را ۱۱/۱ برابر کاهش داد در حالیکه میزان کربوهیدرات و چربی مصرفی در رژیم غذایی جمعیت اکتینوباکتریای روده را ۶/۵ و ۵/۳ برابر افزایش داد. در بررسی اثر فاکتورها بر جمعیت بیفیدوباکتریوم روده، تنها میزان کلسترول دریافتی در رژیم غذایی اثر منفی بر جمعیت این جنس باکتریایی نشان داد. نتایج مطالعه حاضر با مطالعه ای مورد-شاهدی که بر روی جمعیت چین انجام شده بود از نظر تغییر کاهشی اکتینوباکتريا در روده زنان مبتلا به GDM در مقایسه با زنان سالم همخوانی دارد (۱۷). یک مطالعه nested case-control که از مطالعه کوهورت استخراج شده میکروبیوم مدفوع زنان بارداری که در هفته های ۱۰-۱۵ بارداری به دیابت مبتلا شدند را با زنان سالم مورد مقایسه قرار داد. جمعیت آیزن برجیلا، تیزرلا و لاکنواسپیراسه در نمونه های مدفوع زنان مبتلا به GDM افزایش یافت در حالیکه جمعیت پاراباکتریوئید و یوباکتریوم الیجنز در گروه کنترل بالاتر بود. نتایج آزمون ارتباط سنجی نشان داد که بین جمعیت آیزن برجیلا و تیزرلا ارتباط معنی دار مثبت با سطح قندخون ناشتا وجود دارد. در حالیکه پاراباکتریوئید و یوباکتریوم الیجنز ارتباط منفی با سطح قندخون ناشتا نشان دادند (۱۸). مطالعه مذکور از نظر طراحی، هفته بارداری انتخاب شده و همچنین جنس های باکتریایی مورد بررسی با مطالعه حاضر تفاوت دارد. اما می توان این شباهت را بیان نمود که جمعیت باکتریایی روده در مبتلایان به GDM دچار دیس بیوز می شود. در مطالعه دیگری به روش whole-metagenome shotgun به ارزیابی میکروبیوم مدفوع در زنان باردار دیابتی که در هفته های ۲۱-۲۹

بارداری تشخیص داده شدند در مقایسه با زنان سالم پرداخته شده است. در این مطالعه جمعیت پاراباکتریوئید و کلبسیلا در روده زنان مبتلا به GDM افزایش و جمعیت بیفیدوباکتریوم، یوباکتریوم، آلیستیپس در روده زنان سالم بالاتر بود (۱۹). نتایج این مطالعه از نظر تغییرات بیفیدوباکتریوم با مطالعه حاضر همخوانی دارد. از طرف دیگر ارتباط بین میزان افزایش وزن دوره بارداری با تغییرات میکروبیوتای روده مطرح شده است به گونه ای که جمعیت باکتریوئیدها، استافیلوکوکوس، اشیشیاکلای و انتروباکتریاسه در روده زنانی که افزایش وزن زیادی دارند افزایش در حالیکه جمعیت بیفیدوباکتریوم و آکرمانسیا کاهش می یابد (۱۰ و ۱۱). در حالیکه در مطالعه حاضر میزان افزایش وزن دوره بارداری اثر معنی داری بر تغییرات جمعیت باکتریهای مورد بررسی نشان نداد. یکی از دلایل آن می تواند عدم تفاوت معنی دار افزایش وزن بین دو گروه مورد بررسی در مطالعه ما باشد. پاتوژن GDM مرتبط با افزایش ترشح هورمون های ضدانسولینی شامل لاکتوژن جفتی، استروژن، پروژسترون و فاکتور نکروزکننده توموری از جفت می باشد (۲۰). سه ماه اول بارداری دوران آنابولیک است که میزان ترشح انسولین و برداشت گلوکز توسط بافت چربی در بدن مادر به منظور تامین ذخایر کافی برای رشد جنین افزایش می یابد. بنابراین مادر باردار شروع به افزایش وزن میکند. با پیشرفت روند بارداری، میزان هورمون های متابولیک و جفتی، و همچنین سیتوکین های پیش التهابی افزایش می یابد و بدین ترتیب میزان حساسیت سلولها به انسولین در نیمه دوم بارداری کاهش می یابد. در سه ماه آخر عدم حساسیت به انسولین در بدن مادر، محرک گلوکونئوژنز و لیپوژنز بوده که منجر به افزایش سطح گلوکز و اسیدهای چرب آزاد در پلاسما می شود. این فاز، به عنوان مرحله کاتابولیک شناخته می شود که گلوکز و اسیدهای چرب آزاد پلاسما از طریق جفت جهت تامین انرژی به جنین می رسند. بنابراین مادر مبتلا به وضعیت هایپرگلیسمی می شود (۲۱). بر اساس آخرین مطالعه متآنالیز که بر روی ۲۱ مطالعه انجام شده است بیفیدوباکتریوم و آلیستیپس بعنوان فراوانترین باکتریهای موجود در روده زنان باردار سالم بوده اند در حالیکه جمعیت روزبوریا در روده زنان مبتلا به GDM بالاتر بوده است (۲۲). بیفیدوباکتریوم، باکتری گرم مثبت متعلق به فیلوم اکتینوباکتیریا بوده که نقش بسیار مهمی در تنظیم هموستاز گلوکز و التهاب دارد. این باکتری مولد استات و لاکتات می باشد. استات متابولیتی است که از رشد باکتری های دیگر، متابولیسم کلسترول و تنظیم اشتها حمایت می کند (۲۳ و ۲۴). مطالعات پیشنهاد مکمل یاری با این جنس را به شکل پروبیوتیک جهت ارتقای وضعیت سلامتی داده اند (۲۵). نقش های متعددی به بیفیدوباکتریوم نسبت داده می شود که عبارتند از تخمیر کربوهیدرات های غیرقابل هضم، محافظت در برابر پاتوژن ها، تولید

ویتامین های گروه B، آنتی اکسیدان ها و لینولئیک اسید کنژوگه و ارتقای سیستم ایمنی. اما نکته جالب توجه اینست که جمعیت این گونه باکتریایی با چاقی، مصرف آنتی بیوتیک، ابتلا به بیماریهای التهابی روده و اوتیسم به شدت کاهش می یابد (۲۶). مطالعات انجام شده در زمینه ارتباط بیفیدوباکتریوم با اختلال قندخون به ویژه در دوران بارداری بسیار محدود هستند و مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران این تغییرات را در دوران بارداری در زنان مبتلا به GDM نشان داد.

مطالعه حاضر یک مطالعه مشاهده ای بر روی جمعیت ایران که در منطقه کوهستانی زندگی می کنند بوده است. مشابه با سایر مطالعات، مطالعه حاضر محدودیت های دارد. طراحی مطالعه حاضر که از نوع مشاهده ای بوده است نمی تواند رابطه علی- معلولی را مشخص کند. نتایج این مطالعه قابل تعمیم به سایر مناطق ایران نیست به این دلیل که نژاد، محیط جغرافیایی و مواد غذایی مصرفی می تواند بر نتایج اثرگذار باشد. بعلاوه توصیه می شود که در مطالعات آینده، نمونه مدفوع نوزادان نیز جمع آوری شود تا ارتباط بین فیلوم و جنس باکتریایی روده مادر با فیلوم و جنس های روده نوزادان به طور دقیقتری تعیین شود. طراحی مطالعات کارآزمایی بالینی با استفاده از رژیم های غذایی یا مکمل ها به منظور تغییر در فیلوم روده برای مطالعات آینده توصیه می شود. از آنجایی که اثرات تغییر در فیلوم روده نوزاد ماندگار است، پیگیری این نوزادان در سنین کودکی و بررسی ارتباط این فیلوم با روند رشد کودکان و شاخص های آنترپومتریک توصیه می شود.

نتیجه گیری

مادران مبتلا به GDM اکتینوباکتیریا و بیفیدوباکتریوم کمتری در روده خود در مقایسه با مادران سالم داشتند. سن و سطح تحصیلات اثر معنی دار بر جمعیت اکتینوباکتیریا نشان داد. میزان انرژی دریافتی روزانه اثر منفی بر جمعیت اکتینوباکتیریا روده نشان داد در حالیکه میزان کربوهیدرات و چربی کل دریافتی در رژیم غذایی اثر مثبتی بر این فیلوم نشان داد. میزان کلسترول دریافتی در رژیم غذایی اثر منفی بر جمعیت بیفیدوباکتریوم روده نشان داد. به طور کلی می توان گفت افزایش میزان کربوهیدرات (به ویژه کربوهیدرات کمپلکس و فیبر و نه ساده) و چربی با تأکید بر اسیدهای چرب تک و چندغیراشباع و کاهش میزان کالری و کلسترول دریافتی روزانه می تواند اثرات مثبتی بر جمعیت باکتریایی روده در دوران بارداری داشته باشد.

نویسندگان از تمامی مادران باردار شرکت کننده و پرسنل محترم آزمایشگاه میلاد زنجان کمال سپاس را دارند.

عدم تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی از نظر مادی و معنوی ندارند.

منابع

- 1- Hanson M, Gluckman P. Developmental origins of health and disease—global public health implications. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2015;29(1):24-31.
- 2- Jafari-Shobeiri M, Ghojzadeh M, Azami-Aghdash S, Naghavi-Behzad M, Reza P, Pourali-Akbar Y, et al. Prevalence and risk factors of gestational diabetes in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Iranian journal of public health*. 2015;44(8):1036.
- 3- Lauenborg J, Hansen T, Jensen DM, Vestergaard H, Mølsted-Pedersen L, Hornnes P, et al. Increasing incidence of diabetes after gestational diabetes: a long-term follow-up in a Danish population. *Diabetes care*. 2004;27(5):1194-9.
- 4- Eyupoglu ND, Caliskan Guzelce E, Acikgoz A, Uyanik E, Bjørndal B, Berge RK, et al. Circulating gut microbiota metabolite trimethylamine N-oxide and oral contraceptive use in polycystic ovary syndrome. *Clinical endocrinology*. 2019;91(6):810-5.
- 5- Zhou L, Xiao X, Zhang Q, Zheng J, Li M, Wang X, et al. Gut microbiota might be a crucial factor in deciphering the metabolic benefits of perinatal genistein consumption in dams and adult female offspring. *Food & Function*. 2019;10(8):4505-21.
- 6- Simpson S, Smith L, Bowe J. Placental peptides regulating islet adaptation to pregnancy: clinical potential in gestational diabetes mellitus. *Current opinion in pharmacology*. 2018;43:59-65.
- 7- Barka EA, Vatsa P, Sanchez L, Gaveau-Vaillant N, Jacquard C, Meier-Kolthoff JP, et al. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2016;80(1):1-43.
- 8- Marhamatzadeh M.H, Karmand M, Farokhi A, Rafatjou R, Rezazadeh S. The effects of malt extract on the increasing growth of probiotic bacterial lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum in probiotic milk and yogurt. *Journal of food technology and nutrition*. 2011; 8(2): 78-84.
- 9- De Siena M, Laterza L, Matteo MV, Mignini I, Schepis T, Rizzatti G, et al. Gut and reproductive tract microbiota adaptation during pregnancy: New insights for pregnancy-related complications and therapy. *Microorganisms*. 2021;9(3):473.
- 10- Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *The American journal of clinical nutrition*. 2008;88(4):894-9.
- 11- Santacruz A, Collado MC, Garcia-Valdes L, Segura M, Martin-Lagos J, Anjos T, et al. Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *British Journal of Nutrition*. 2010;104(1):83-92.
- 12- Kuang Y-S, Lu J-H, Li S-H, Li J-H, Yuan M-Y, He J-R, et al. Connections between the human gut microbiome and gestational diabetes mellitus. *Gigascience*. 2017; 6 (8): 1-12.
- 13- Zheng W, Xu Q, Huang W, Yan Q, Chen Y, Zhang L, et al. Gestational diabetes mellitus is associated with reduced dynamics of gut microbiota during the first half of pregnancy. *MSystems*. 2020;5(2):e00109-20.

- 14- Ferrocino I, Ponzo V, Gambino R, Zarovska A, Leone F, Monzeglio C, et al. Changes in the gut microbiota composition during pregnancy in patients with gestational diabetes mellitus (GDM). *Scientific reports*. 2018;8(1):1-13.
- 15- Bashiardes S, Godneva A, Elinav E, Segal E. Towards utilization of the human genome and microbiome for personalized nutrition. *Current opinion in biotechnology*. 2018;51:57-63.
- 16- Karagiannis T, Bekiari E, Manolopoulos K, Paletas K, Tsapas A. Gestational diabetes mellitus: why screen and how to diagnose. *Hippokratia*. 2010;14(3):151-4.
- 17- Chen T, Zhang Y, Zhang Y, Shan C, Zhang Y, Fang K, et al. Relationships between gut microbiota, plasma glucose and gestational diabetes mellitus. *Journal of diabetes investigation*. 2021;12(4):641-50.
- 18- Ma S, You Y, Huang L, Long S, Zhang J, Guo C, et al. Alterations in gut microbiota of gestational diabetes patients during the first trimester of pregnancy. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2020;10:58.
- 19- Kuang Y-S, Lu J-H, Li S-H, Li J-H, Yuan M-Y, He J-R, et al. Connections between the human gut microbiome and gestational diabetes mellitus. *Gigascience*. 2017;6(8):gix058.
- 20- Kirwan JP, Varastehpour A, Jing M, Presley L, Shao J, Friedman JE, et al. Reversal of insulin resistance postpartum is linked to enhanced skeletal muscle insulin signaling. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004;89(9):4678-84.
- 21- Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences*. 2018;19(11):3342.
- 22- Teixeira RA, Silva C, Ferreira AC, et al. The Association between Gestational Diabetes and the Microbiome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microorganisms*. 2023;11(7):1749.
- 23- Farhat S., Hemmatabadi M., Ejtahed H.-S., Shirzad N., Larijani B. Microbiome Alterations in Women with Gestational Diabetes Mellitus and Their Offspring: A Systematic Review. *Front. Endocrinol*. 2022;13:1060488.
- 24- Satti M., Modesto M., Endo A., Kawashima T., Mattarelli P., Arita M. Host-Diet Effect on the Metabolism of *Bifidobacterium*. *Genes*. 2021;12:609.
- 25- Mahdizade Ari M., Teymouri S., Fazlalian T., Asadollahi P., Afifirad R., Sabaghan M., Valizadeh F., Ghanavati R., Darbandi A. The Effect of Probiotics on Gestational Diabetes and Its Complications in Pregnant Mother and Newborn: A Systematic Review and Meta-analysis during 2010–2020. *J. Clin. Lab. Anal*. 2022;36:e24326.
- 26- Rivière A., Selak M., Lantin D., Leroy F., De Vuyst L. *Bifidobacteria* and *Butyrate-Producing Colon Bacteria*: Importance and Strategies for Their Stimulation in the Human Gut. *Front. Microbiol*. 2016;7:979.