

## 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

Roya Sohrabi<sup>1</sup>, Seyedeh Neda Mousavi<sup>2\*</sup>, Reza Shapouri<sup>1</sup>, Siamak Heidarzadeh<sup>3</sup>, Rasool Shokri<sup>1</sup>

1. Department of Microbiology, Islamic Azad University, Zanjan Branch, Zanjan, Iran

2. Department of Nutrition, School of Public Health, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

3. Department of Microbiology and Virology, School of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

### 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 ( $P= 0.001$ ) were significantly lower in the pregnant women with GDM than the normoglycemic. Adjusting to 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, respectively as the beneficial gut bacteria.

**Keywords:** Actinobacteria, Bifidobacterium, Gestational Diabetes, Diet

### Please cite this article as:

Sohrabi R, Mousavi SN, Shapouri R, Heidarzadeh S, Shokri R. 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. *ijdl*. 2025; 25(1):35-43.

\*Corresponding Author Seyedeh Neda Mousavi Email: neda.mousavi@zums.ac.ir

School of Public Health, Shahide Avval Ave, Janbazan St, Honarestan Blv, Zanjan, Iran, Tel: +98 24 33772020



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

رؤیا سهرابی<sup>۱</sup>، سیده ندا موسوی<sup>۲\*</sup>، رضا شاپوری<sup>۱</sup>، سیامک حیدرزاده<sup>۳</sup>، رسول شکر<sup>۱</sup>

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

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

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

### چکیده

**مقدمه:** میزان اکتینوباکتیریا و بیفیدوباکتریوم، 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 مغذی‌های دریافتی در رژیم غذایی با این باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. **روش‌ها:** پنجاه مادر باردار مبتلا به GDM که در هفته‌های ۲۴-۲۸ بارداری، براساس آزمایش تحمل گلوکز شناسایی شدند و ۵۰ مادر باردار سالم با نتایج قند طبیعی انتخاب شدند. نمونه مدفوع جمع‌آوری شد. DNA 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 بسامد خوراک جمع‌آوری شد. **یافته‌ها:** به‌طور کلی جمعیت اکتینوباکتیریا ( $P=0/02$ ) و بیفیدوباکتریوم ( $P=0/001$ ) در زنان باردار مبتلا به GDM کمتر از زنان نرموگلاسمیک بود. با تعدیل اثر همه فاکتورهای مورد بررسی و گروه‌های مورد مطالعه، سن ( $P=0/02$ ) و سطح تحصیلات ( $P=0/04$ ) اثر معنی‌دار بر جمعیت اکتینوباکتیریا نشان داد. دریافت کالری بالاتر جمعیت اکتینوباکتریای روده را ۱۱/۱ برابر کاهش داد ( $P=0/01$ ). میزان کربوهیدرات و چربی مصرفی در رژیم غذایی اثر مثبت بر جمعیت اکتینوباکتریای روده نشان داد ( $P=0/02$  و  $P=0/003$ ). میزان کلسترول دریافتی در رژیم غذایی اثر منفی بر جمعیت بیفیدوباکتریوم نشان داد ( $P=0/02$ ). **نتیجه‌گیری:** افزایش میزان کربوهیدرات و چربی دریافتی در رژیم غذایی با تأکید بر اسیدهای چرب تک و چند غیراشباع و کاهش میزان کالری و کلسترول دریافتی روزانه به ترتیب منجر به افزایش اکتینوباکتیریا و بیفیدوباکتریوم که از گونه‌های مفید روده هستند، شد. **واژگان کلیدی:** اکتینوباکتیریا، بیفیدوباکتریوم، دیابت بارداری، رژیم غذایی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۵

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Sohrabi R, Mousavi SN, Shapouri R, Heidarzadeh S, Shokri R. 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. *ijdd*. 2025; 25(1):35-43.

\* نویسنده مسئول: سیده ندا موسوی، آدرس: زنجان، بلوار هنرستان، خیابان جانبازان، کوچه شهیداول، دانشکده بهداشت، تلفن: ۳۳۷۷۲۰۲۰

۰۰۲۴، پست الکترونیک: neda.mousavi@zums.ac.ir

## مقدمه

شیوع بیماری‌های متابولیک دوران بارداری در دنیا رو به افزایش است [۱]. دیابت بارداری (GDM) از اختلالات متابولیک رو به رشد در دنیاست که با اختلال کنترل قندخون در هفته ۲۴-۲۸ بارداری مشخص می‌شود [۲، ۱۰]. براساس آخرین مرور نظام‌مند، شیوع این اختلال در ایران حدود ۱۰-۸٪ 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 دو 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 داده‌اند باکتری‌های روده می‌توانند بر متابولیسم گلوکز، چربی، مسیرهای التهابی و سیستم ایمنی اثرگذار باشد [۵، ۶]. مجموعه‌ای از باکتری‌ها متعلق به فیلوم فرمی‌کوتس، باکتریوئیدتس، پروتئوباکتريا، اکتینوباکتريا و فوزباکتريا در روده انسان ساکن هستند. اخیراً مطالعات بر روی فیلوم اکتینوباکتريا به دلیل در برداشتن جنس‌های باکتریایی پروبیوتیک که بر وضعیت سلامت و بیماری اثر بسیار مهمی دارند رو به گسترش است [۷]. بیفیدوباکتریوم، یکی از اعضای خانواده اکتینوباکتريا بوده که به‌عنوان پروبیوتیک به محصولاتمانند ماست و پنیر اضافه می‌شود و فواید زیادی برای سلامتی دارد [۸]. جمعیت باکتریایی روده تحت تأثیر بسیاری از عوامل محرک درونی (ژنتیک) و بیرونی (رژیم غذایی، عوامل محیطی و استرس) قرار می‌گیرد [۹]. میزان افزایش وزن دوره بارداری نیز نقش بسیار مهمی در تغییر این جمعیت باکتریایی دارد به گونه‌ای که در مطالعات گذشته، جمعیت باکتریوئیدها، استافیلوکوکوس، اشریشیاکلاهی و انتروباکتریاسه در روده زنانی که وزن زیادی گرفته‌اند افزایش یافته است، درحالی‌که جمعیت بیفیدوباکتریوم کاهش یافت [۱۰، ۱۱]. مطالعه‌ای در چین کاهش جمعیت بیفیدوباکتریوم، یوباکتریوم و آل‌تیس 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 گونه‌های مرتبط با فکالی باکتریوم و کاهش گونه‌های 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 [۱۴، ۱۰]. افراد براساس الگوی ژنتیکی، تغییرات اپی ژنتیک

و نوع میکروبیوم روده پاسخ‌های متابولیکی متفاوتی به انواع مختلف ترکیبات غذایی می‌دهند که می‌تواند بر وضعیت سلامت و بیماری اثرات متفاوتی نشان دهد [۱۵]. پاسخ متابولیک به مواد غذایی براساس ترکیب باکتریایی روده، یکی از جذاب‌ترین، مؤثرترین و جدیدترین حیطه‌های مطالعاتی در علم تغذیه است. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که باکتری‌های مختلف، پاسخ‌های متفاوتی به مواد غذایی مختلف می‌دهند. 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 می‌خواهیم بدانیم آیا تفاوتی بین درشت مغذی‌ها در زنانی که در هفته ۲۴-۲۸ بارداری به GDM مبتلا می‌شوند با زنان غیرمبتلا وجود دارد یا خیر. همچنین ارتباط این درشت مغذی‌ها با جمعیت اکتینوباکتريا و بیفیدوباکتریوم در روده مادران باردار چگونه است.

## روش‌ها

## طراحی مطالعه

این مطالعه از نوع مورد-شاهدی بود و نمونه‌های شرکت‌کننده، مادران باردار که در هفته‌های ۲۴-۲۸ بارداری به‌منظور غربالگری GDM آزمایش تحمل گلوکز خوراکی انجام می‌دادند بوده است. نمونه‌گیری از دی ماه سال ۱۴۰۱ تا مرداد ماه سال ۱۴۰۲ به‌طول 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 هم‌تا 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 بین‌المللی مطالعات انسانی بوده است. مراحل مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد زنجان تأیید شد (IR.IAU.Z.REC.1401.067). برای نمونه‌گیری از روش خوشه‌ای 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 دسته‌بندی شدند و به این ترتیب خوشه‌ها انتخاب شد. تعداد و حجم مناسب از شرکت‌کنندگان در هر خوشه تعیین شد. اعضای درون یک خوشه اغلب از نظر فیزیکی به یکدیگر نزدیک بوده و در نتیجه تقریباً

۰/۵ سانتی‌متر در حالت ایستاده که پاشنه، باسن، کتف و سر به دیوار چسبیده باشد توسط فرد مهارت دیده اندازه‌گیری شد. وزن قبل از بارداری از پرونده بارداری شرکت‌کنندگان ثبت شد و میزان افزایش وزن دوره بارداری محاسبه شد. پرسشنامه بسامد خوراک ۱۶۹ آیتمی برای همه شرکت‌کنندگان تکمیل شد و اطلاعات این پرسشنامه با ثبت خوراک ۳ روزه (۲ روز معمول و یک روز تعطیل) معتبر شد. اطلاعات غذایی جمع‌آوری شده وارد نرم افزار N4 (nutritionist 4) شده و به گرم در روز تبدیل شد.

#### استخراج DNA و وکنش زنجیره‌ای پلیمرز

دویست میلی‌گرم از نمونه‌های 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 باکتریایی با استفاده از کیت مطابق با دستورالعمل‌های 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 استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. تکثیر ژن 16S rRNA به روش (quantitative polymerase chain reaction) qPCR و با استفاده از پرایمرهای universal باکتریایی انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱، نشان داده شده است. تمامی اجزای واکنش از شرکت فرمتاز خریداری شد. مخلوط هر واکنش 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.

خصوصیات مشابهی داشته و از نظر نوع مواد غذایی مصرفی تقریباً شبیه به هم بودند. مادران شرکت‌کننده 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. شرکت‌کنندگان سیگاری نبوده، هیچ نوع مخدري مصرف نمی‌کرده و الکل یا هر نوع دارویی نیز مصرف نمی‌کردند. شرکت‌کنندگان براساس 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 بزرگتر-مساوی ۹۲، ۱۸۰، ۱۵۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، به ترتیب) بود [۱۶]. مقادیر کمتر به عنوان سالم در نظر گرفته شد. افرادی که مکمل/محصول پروبیوتیک، پره بیوتیک، سین بیوتیک یا داروی آنتی‌بیوتیک، حداقل در طی ۲ ماه اخیر مصرف کرده بودند از مطالعه خارج شدند. افراد مبتلا به هرگونه بیماری مزمن شامل دیابت نوع یک و دو، 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 سلیاک 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. نمونه‌های مدفوع در ظروف استریل در شرایط ناشتایی از بیماران جمع‌آوری شد و همه نمونه‌ها در فریزر ۷۵- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نهایی نگهداری شدند.

#### اطلاعات دموگرافیک، غذایی و آنتروپومتریک شرکت‌کنندگان

اطلاعات دموگرافیک شرکت‌کنندگان 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 دست‌ها به صورت مستقیم در پهلو قرار گرفته باشد و قد آنها با متر غیرقابل ارتجاع با دقت

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی اکتینوباکتريا و بیفیدوباکتريوم در مدفوع

نام فیلوم	سکانس پرایمر (۵' به ۳')
اکتینوباکتريا	F: TACGCCCGCAAGGCTA R: TARTCCCCACCTTCTCCG
بیفیدوباکتريوم	F: TCGCGTCYGGTGTGAAAG R: CCACATCCAGCRTCCAC

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.

### یافته‌ها

متغیرهای زمینه‌ای شرکت‌کنندگان در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود بین دو گروه مقادیر قند ناشتا، یک ساعته و دوساعته تفاوت آماری معنی‌دار نشان داد (۰/۰۰۱ < P در همه موارد). شرکت‌کنندگان از نظر سن تفاوت معنی‌دار آماری داشتند (P= ۰/۰۰۴). سایر متغیرهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری نشان نداد.

به منظور ارزیابی بیان ژن از دستگاه ABI (Applied Biosystems, California, USA) استفاده شد. چرخه تکثیر با دوبار تکرار شامل ۴۰ سیکل سه مرحله‌ای: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۸-۶۰ 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:

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

### 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

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

متغیر	گروه‌ها	
	GDM (تعداد=۵۰)	سالم (تعداد=۵۰)
	خطای معیار ± میانگین	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	۶۰ ± ۱/۹	۵۰ ± 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٪)

ویژگی‌های دموگرافیک و میزان قندخون در دو گروه مبتلا به دیابت بارداری در مقایسه با مادران سالم. † آنالیز شده توسط آزمون تی-مستقل، \* تفاوت بین دو گروه معنی‌دار است.

تحلیل

جدول ۳، نتایج حاصل از پرسشنامه بسامد خوراک جمع‌آوری شده از شرکت‌کنندگان را در دو گروه نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود هیچ تفاوت آماری معنی‌داری از نظر میزان انرژی و درشت مغذی‌های 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

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

میزان انرژی و درشت مغذی‌های دریافتی روزانه در دو گروه مادران مبتلا به دیابت بارداری در مقایسه با مادران سالم † آنالیز شده توسط آزمون تی-مستقل. هیچیک از موارد مورد بررسی تفاوت معنی‌داری بین دو گروه نشان نداد.

میزان فیلوم اکتینوباکتريا و جنس بیفیدوباکتریوم در نمونه‌های مدفوع زنان باردار سالم به‌طور معنی‌داری بالاتر از مادران مبتلا به GDM بود ( $P = 0/02$  و  $P = 0/001$ ، به ترتیب)

جدول ۴- جمعیت اکتینوباکتريا و بیفیدوباکتریوم در نمونه‌های مدفوع مادران مبتلا به GDM در مقایسه با سالم

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

فراوانی نسبی اکتینوباکتريا و بیفیدوباکتریوم در نمونه‌های مدفوع در دو گروه مبتلا به دیابت بارداری در مقایسه با مادران سالم † ارزیابی شده توسط آزمون من ویتنی، \* تفاوت معنی‌دار است.

GDM نشان داد ( $P = 0/04$ ،  $r = 0/44$  و  $P = 0/02$ ،  $r = 0/5$ ، به ترتیب). از میان نوع چربی مصرفی، اسیدهای چرب تک و چند غیر اشباع دریافتی در رژیم غذایی مادران با جمعیت بیفیدوباکتریوم در روده ارتباط دوطرفه معنی‌دار نشان داد ( $P = 0/04$ ،  $r = 0/45$  و  $P = 0/01$ ،  $r = 0/53$ ، به ترتیب).

نتایج آزمون همبستگی دوطرفه نشان داد که در مادران مبتلا به GDM ارتباط دوطرفه معنی‌دار بین میزان کل انرژی دریافتی روزانه با میزان بیفیدوباکتریوم روده وجود دارد ( $P = 0/03$ ،  $r = 0/47$ ). همچنین میزان کل پروتئین و چربی دریافتی روزانه ارتباط معنی‌داری با میزان بیفیدوباکتریوم روده در مبتلایان به

با تعدیل اثر همه فاکتورهای مورد بررسی، سن ( $P=0/02$ )،  $0/23$ ،  $0/01$ ،  $95\%=0/41$  (OR) و سطح تحصیلات ( $P=0/04$ )،  $1/5$ ،  $95\%=0/09$ ،  $0/32$  (OR) اثر معنی دار بر جمعیت اکتینوباکتری نشان داد. افزایش میزان انرژی دریافتی روزانه جمعیت اکتینوباکتریای روده را  $11/1$  برابر کاهش داد ( $P=0/01$ )،  $-0/04$ ،  $-0/03$ ،  $95\%$  فاصله اطمینان). میزان کربوهیدرات مصرفی جمعیت اکتینوباکتریای روده را  $6/5$  برابر افزایش داد ( $P=0/02$ )،  $0/13$ ،  $0/01$  (OR) فاصله اطمینان). همچنین افزایش میزان چربی کل دریافتی در رژیم غذایی جمعیت این فیلوم باکتریایی را در روده به میزان  $5/3$  برابر افزایش داد ( $P=0/03$ )،  $0/38$ ،  $0/08$  (OR) 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 ( $P=0/02$ )،  $-0/03$ ،  $-0/04$ ،  $95\%$  فاصله اطمینان،  $(OR=-0/54)$ .

## بحث

مطالعه حاضر اولین مطالعه‌ای است که در ایران به ارزیابی مقایسه‌ای میزان بیان ژن فیلوم اکتینوباکتری با همراه مهم‌ترین جنس این خانواده، بیفیدوباکتریوم، و ارتباط این باکتری‌ها با دریافت غذایی در مادران مبتلا به GDM در مقایسه با مادران سالم پرداخته است. نتایج مطالعه نشان داد که جمعیت اکتینوباکتری و بیفیدوباکتریوم در روده زنان باردار مبتلا به GDM به‌طور معنی‌داری کمتر از زنان سالم بود. همچنین میزان انرژی دریافتی روزانه، میزان کربوهیدرات، پروتئین، چربی و حتی نوع چربی مصرفی می‌تواند بر جمعیت این باکتری‌ها اثرگذار بود. در مادران مبتلا به GDM ارتباط معنی‌دار 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 معنی‌دار نشان داد. تعدیل شده برای همه فاکتورهای مورد بررسی، سن و سطح تحصیلات اثر معنی‌دار بر جمعیت اکتینوباکتری نشان داد. افزایش میزان انرژی دریافتی روزانه جمعیت اکتینوباکتریای روده را  $11/1$  برابر کاهش داد درحالی‌که میزان کربوهیدرات و چربی مصرفی در رژیم غذایی جمعیت اکتینوباکتریای روده را  $6/5$  و  $5/3$  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 مطالعه‌ای مورد-شاهدی که بر روی جمعیت چین انجام شده بود از نظر تغییر کاهشی اکتینوباکتری در روده زنان مبتلا به GDM در مقایسه با زنان سالم هم‌خوانی دارد [17]. یک مطالعه nested case-control که از مطالعه کوهورت استخراج شده میکروبیوم مدفوع زنان بارداری که در هفته‌های 15-10 بارداری به دیابت مبتلا شدند را با زنان سالم مورد مقایسه قرار داد. جمعیت آیزن برجیلا، تیزرلا و لاکنواسپیراسه در نمونه‌های مدفوع زنان مبتلا به GDM افزایش یافت درحالی‌که جمعیت پاراباکتریوئید و یوباکتریوم الیجنز در گروه کنترل بالاتر بود. نتایج آزمون ارتباط سنجی نشان داد که بین جمعیت آیزن برجیلا و تیزرلا ارتباط معنی‌دار مثبت با سطح قندخون ناشتا وجود دارد. درحالی‌که پاراباکتریوئید و یوباکتریوم الیجنز ارتباط منفی با سطح قندخون ناشتا نشان دادند [18]. مطالعه مذکور از نظر طراحی، هفته بارداری انتخاب شده و همچنین جنس‌های باکتریایی مورد بررسی با مطالعه حاضر تفاوت دارد. اما می‌توان این شباهت را بیان نمود که جمعیت باکتریایی روده در مبتلایان به GDM دچار دیس بیوز می‌شود. در مطالعه دیگری به روش whole-metagenome shotgun به ارزیابی میکروبیوم مدفوع در زنان باردار دیابتی که در هفته‌های 21-29 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، آلیستیس در روده زنان سالم بالاتر بود [19]. 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 گونه‌ای که جمعیت باکتریوئیدها، استافیلوکوکوس، اشیشیاکلای و انتروباکتریاسه در روده زنانی که افزایش وزن زیادی دارند افزایش درحالی‌که جمعیت بیفیدوباکتریوم و آکرمانسیا کاهش می‌یابد [11، 10]. درحالی‌که در مطالعه حاضر میزان افزایش وزن دوره بارداری اثر معنی‌داری بر تغییرات جمعیت باکتری‌های مورد بررسی نشان نداد. یکی از دلایل آن می‌تواند عدم تفاوت معنی‌دار افزایش وزن بین دو گروه مورد بررسی در مطالعه ما باشد. پاتوژن GDM مرتبط با افزایش ترشح هورمون‌های ضدانسولینی شامل لاکتوزن جفتی، استروژن، پروژسترون و فاکتور نکروز کننده توموری از جفت است

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 می‌تواند بر نتایج اثرگذار باشد. به‌علاوه توصیه می‌شود که در مطالعات آینده، نمونه مدفوع نوزادان نیز جمع‌آوری شود تا ارتباط بین فیلوم و جنس باکتریایی روده مادر با فیلوم و جنس‌های روده نوزادان به‌طور دقیق‌تری تعیین شود. طراحی مطالعات کارآزمایی بالینی با استفاده از رژیم‌های غذایی یا مکمل‌ها به‌منظور تغییر در فیلوم روده برای مطالعات آینده توصیه می‌شود. از آنجا 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 شاخص‌های آنروپومتریک توصیه می‌شود.

### نتیجه‌گیری

مادران مبتلا به GDM اکتینوباکتريا و بیفیدوباکتریوم کمتری در روده خود در مقایسه با مادران سالم داشتند. سن و سطح تحصیلات اثر معنی‌دار بر جمعیت اکتینوباکتريا نشان داد. میزان انرژی دریافتی روزانه اثر منفی بر جمعیت اکتینوباکتريایی روده نشان داد درحالی‌که 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. به‌طور کلی می‌توان گفت افزایش میزان کربوهیدرات (به‌ویژه 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 می‌تواند اثرات مثبتی بر جمعیت باکتریایی روده در دوران بارداری داشته باشد.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی از نظر مادی و معنوی ندارند.

### سپاسگزاری

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

[۲۰]. سه ماه اول بارداری دوران آنابولیک است که میزان ترشح انسولین و برداشت گلوکز توسط بافت چربی در بدن مادر به منظور تأمین ذخایر کافی برای رشد جنین افزایش می‌یابد. بنابراین مادر باردار شروع به افزایش وزن می‌کند. با پیشرفت روند بارداری، میزان هورمون‌های متابولیک و جفتی، و همچنین سیتوکین‌های پیش‌التهابی افزایش می‌یابد و بدین ترتیب میزان حساسیت سلول‌ها به انسولین در نیمه دوم بارداری کاهش می‌یابد. در سه ماه آخر عدم حساسیت به انسولین در بدن مادر، محرک گلوکونئوز و لیپوزن بوده که منجر به افزایش سطح گلوکز و اسیدهای چرب آزاد در پلاسما می‌شود. این فاز، به‌عنوان مرحله کاتابولیک شناخته می‌شود که گلوکز و اسیدهای چرب آزاد پلاسما از طریق جفت جهت تأمین انرژی به جنین می‌رسند. بنابراین مادر مبتلا به وضعیت هایپرگلاسمی می‌شود [۲۱]. براساس آخرین مطالعه متآنالیز که بر روی ۲۱ مطالعه انجام شده است بیفیدوباکتریوم و آلیستیپس به‌عنوان فراوانترین باکتری‌های موجود در روده زنان باردار سالم بوده‌اند درحالی‌که جمعیت روزبوريا در روده زنان مبتلا به GDM بالاتر بوده است [۲۲]. بیفیدوباکتریوم، باکتری گرم مثبت متعلق به فیلوم اکتینوباکتريا بوده که نقش بسیار مهمی در تنظیم هموستاز گلوکز و التهاب دارد. این باکتری مولد استات و لاکتات است. استات متابولیتی است که از رشد باکتری‌های دیگر، متابولیسم کلسترول و تنظیم اشتها حمایت می‌کند [۲۴، ۲۳]. مطالعات پیشنهاد مکمل یاری با این جنس را به شکل پروبیوتیک جهت ارتقای وضعیت سلامتی داده‌اند [۲۵]. نقش‌های متعددی به بیفیدوباکتریوم نسبت داده می‌شود که عبارتند از تخمیر کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم، محافظت در برابر پاتوژن‌ها، تولید ویتامین‌های گروه B، آنتی‌اکسیدان‌ها و لینولئیک اسید کنژوگه و ارتقای سیستم ایمنی. اما نکته جالب توجه اینست که جمعیت این‌گونه باکتریایی با چاقی، مصرف آنتی‌بیوتیک، ابتلا به بیماری‌های التهابی روده و اوتیسم به شدت کاهش می‌یابد [۲۶]. مطالعات انجام شده در زمینه ارتباط بیفیدوباکتریوم با اختلال قندخون به‌ویژه 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 مشاهده‌ای بر روی جمعیت ایران که در منطقه کوهستانی زندگی می‌کنند بوده است. مشابه با سایر مطالعات، مطالعه حاضر محدودیت‌های دارد. طراحی مطالعه حاضر که از نوع مشاهده‌ای بوده است نمی‌تواند رابطه علی-

## References

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Marhamatzadeh MH, 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Ferrocino I, Ponzio 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Farhat S, Hemmatabadi M, Ejtahed HS, Shirzad N, Larijani B. Microbiome Alterations in Women with Gestational Diabetes Mellitus and Their Offspring: A Systematic Review. *Front. Endocrinol*. 2022; 13:1060488.
- Satti M, Modesto M, Endo A, Kawashima T, Mattarelli P, Arita M. Host-Diet Effect on the Metabolism of Bifidobacterium. *Genes*. 2021; 12:609.
- Mahdizade Ari M, Teymouri S, Fazlalian T, Asadollahi P, Afifrad 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.
- 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.