

Original Article

Evaluation of *Akkermansia muciniphila* bacteria in obese and overweight type 2 diabetic patients treated with insulin or oral hypoglycemic agents comparing with healthy subjects

Zhila Gadery^{1*}, Majid Mobassery², Ali Reza Ostadrahimy³

¹Department of Internal Medicine, Imam Reza Hospital, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

²Endocrine Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

³Health & Nutrition Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

*Corresponding author; E-mail: zh.gadery773@yahoo.com

Received: 15 August 2018 Accepted: 25 October 2018 First Published online: 18 July 2020

Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 August - September; 42(3):303-309

Abstract

Background: There is a significant relationship between human intestinal bacteria and overweight, obesity and diabetes. The aim of this study was to evaluate the abundance of *Akkermansia muciniphila*, a bacterium residing in the mucosal layer in obese and overweight type 2 diabetic patients undergoing insulin therapy or oral hypoglycemic agents comparing with healthy individuals.

Methods: Forty insulin-dependent diabetic patients, 40 diabetic patients who were treated with oral hypoglycemic agents and 40 healthy people were recruited based on inclusion/exclusion criteria and they were evaluated for lipid profile, fasting blood sugar (FBS), and *Akkermansia muciniphila* bacterium.

Results: The majority of all study subjects were women, non-smokers with more than four hours activity a day. They were not different in terms of demographic characteristics. FBS level was significantly higher in subjects with type 2 diabetes than in healthy subjects ($P < 0.001$) with no significant difference in cholesterol and triglyceride levels. Cycle threshold (CT) level in both group of diabetic patients was significantly higher than that of healthy subjects ($P < .001$) and there was a significant difference between two groups of diabetic patients and health subjects in terms of colony-forming unit (CFU), $P = 0.001$.

Conclusion: *Akkermansia muciniphila* abundance was higher in the healthy subjects comparing with diabetic patients and it was significantly greater in the patients treated with insulin than those who taken oral medications with beneficial metabolic effects, such as lowering FBS levels. There was no significant difference between all three study groups in terms of triglyceride, cholesterol, and BMI.

Keyword: Diabetes Mellitus Type 2, Cycle Threshold, Glucose Intolerance, Obesity, *Akkermansia Muciniphila*

How to cite this article: Gadery Zh, Mobassery M, Ostadrahimy A R. [Evaluation of *Akkermansia muciniphila* bacteria in obese and overweight type 2 diabetic patients treated with insulin or oral hypoglycemic agents comparing with healthy subjects]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2020 August-September; 42(3):303-309. Persian.

مقاله پژوهشی

بررسی و مقایسه ی میزان باکتری *Akkermansia muciniphila* در افراد دیابتیک نوع ۲، چاق و دارای اضافه وزن تحت درمان با داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون و انسولین درمانی و افراد سالم

ژیلا قادری^{۱*}، مجید مبصری^۲، علیرضا استاد رحیمی^۳

^۱رزیدنت داخلی، بیمارستان امام رضا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲مرکز تحقیقات غدد درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۳مرکز تحقیقات بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
 *نویسنده مسؤل؛ ایمیل: zh.gadery773@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۷/۵/۲۴ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۳ انتشار برخط: ۱۳۹۹/۴/۲۸
 مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز، مرداد و شهریور ۱۳۹۹؛ ۴۲(۳): ۳۰۹-۳۰۳

چکیده

زمینه: مطالعات انجام شده در سالهای اخیر حاکی از ارتباط معنی داری بین باکتریهای روده انسان با اضافه وزن؛ چاقی و دیابت است. در این میان یک باکتری ساکن در لایه موکوسی بنام *Akkermansia muciniphila* که به تجزیه موسین می پردازد مورد توجه محققین قرار گرفته این باکتری می تواند انتقال مواد از غشای سلولی میزبان را تحت تاثیر قرار دهد. مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه میزان باکتری *Akkermansia muciniphila* در افراد دیابتیک نوع ۲ چاق و اضافه وزن تحت درمان با داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون و انسولین درمانی و افراد سالم اجرا گردید. **روش کار:** در این مطالعه ۴۰ نفر فرد مبتلا به دیابت نوع ۲ تحت درمان با انسولین و ۴۰ نفر افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ تحت درمان با داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون و ۴۰ نفر فرد سالم مورد مطالعه قرار گرفتند. اکثر افراد در هر سه گروه را زنان تشکیل داده و اکثر افراد غیر سیگاری و فعالیت بیشتر از چهار ساعت در روز را داشتند.

یافته‌ها: با توجه به عدم توزیع نرمال داده ها در مورد *Akkermansia muciniphila* داده ها بصورت میانه (کمترین، بیشترین) ارائه شد. نتایج آزمون آماري Mann-Whitney U نشان داد که سطح (Cycle Threshold, CT) باکتری تقریباً بطور معنی داری در افراد مبتلا به دیابت نوع دو تحت درمان با انسولین و افراد تحت درمان با داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون بیشتر از افراد سالم بود ($P > 0.001$). همچنین تفاوت معنی داری بین CFU یا همان مقادیر کمی باکتری (فراوانی) بین دو گروه افراد دیابتی تحت درمان با انسولین با افراد تحت درمان با داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون وجود داشت ($P = 0.001$) بطوریکه در افراد تحت درمان با انسولین فراوانی باکتری بیشتر بود.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه ی حاضر نشان داد که تفاوت معنی داری مابین دو گروه بیماران دیابتی نوع ۲ تحت درمان با انسولین با داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون در مورد فراوانی باکتری *Akkermansia muciniphila* وجود داشت. میزان باکتری در افراد بیمار دیابتی تحت درمان با انسولین بیشتر از افراد دیابتی تحت درمان با داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون بود.

کلید واژه‌ها: بیماری های متابولیک، دیابت نوع دو، عدم تحمل گلوکز، CT (Cycle Threshold)، اضافه وزن، چاقی، *Muciniphila*

نحوه استناد به این مقاله: قادری ژ، مبصری م، استاد رحیمی ع ر. بررسی و مقایسه ی میزان باکتری در افراد دیابتیک نوع ۲ چاق و اضافه وزن تحت درمان با داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون و انسولین درمانی و افراد سالم. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۹؛ ۴۲(۳): ۳۰۹-۳۰۳

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کربیتو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

۸ تا ۴۰٪ نیز مشاهده شده است که می‌تواند ناشی از تنوع در رژیم غذایی افراد باشد (۶، ۸). یک دهه قبل باکتری *Akkermansia muciniphila* به عنوان یک میکروب داخل روده ای انسان شناسایی شده است که با توجه به نقش احتمالی اش در ایجاد دیابت نوع دو و چاقی مورد توجه قرار گرفته است (۲۳). در مطالعاتی به نقش این باکتری به عنوان یک میکروب کاهنده موسین، در کاهش توده چربی بدنی و عدم تحمل گلوکوز در موش اشاره شده است ولی شواهد کاملی در این خصوص در موارد انسانی وجود ندارند البته در طی یک تحقیق صورت گرفته گزارش شده که این باکتری با شرایط سالمتر متابولیک و پیامدهای بهتر بالینی پس از محدودیت کالری در افراد چاق و دارای اضافه وزن مرتبط بوده است. این ارتباط، حلقه مفقوده موجود در مکانیسم عمل فنول‌های تغذیه‌ای با قابلیت جذب کمتر را تکمیل تر می‌کند. (۲۴، ۲۵). در این خصوص اطلاعات زمینه‌ای کمتری وجود دارد و مطالعات انسانی تکمیلی در این خصوص را می‌طلبد. لذا در پژوهش حاضر به بررسی شیوع باکتری *Akkermansia muciniphila* در افراد مبتلا به دیابت نوع دو و چاقی و یا اضافه وزن همزمان که تحت درمان با داروی خوراکی و یا انسولین قرار می‌گیرند و مقایسه‌ی آن با افراد سالم خواهیم پرداخت.

روش کار

در این مطالعه موردی - شاهدی جمعیت هدف بیماران دیابتی نوع ۲ بستری در بخش غدد بیمارستان امام رضای دانشگاه علوم پزشکی تبریز می‌باشد. که معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از: بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲، افراد دارای BMI: < 35 BMI < ۲۵، افراد بالغ بالای ۱۸ سال، مصرف انسولین، مصرف داروهای پایین آورنده قند خون، و معیارهای خروج از مطالعه عبارت بودند از: مصرف مکمل پروبیوتیک در یک ماه گذشته، مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در یک ماه گذشته، ابتلا به بیماری سرطان، ابتلا به نارسایی کلیه برای انجام این مطالعه ۴۰ نفر از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان امام رضا با تشخیص دیابت نوع ۲ که تحت درمان با انسولین و ۴۰ نفر تحت درمان با oral agent بودند و BMI بالای ۲۵ دارند و ۴۰ نفر از افراد سالم به صورت چند مرحله ای (خوشه‌ای سیستماتیک) انتخاب و از لحاظ متغیرهای سن، جنس، میزان فعالیت روزانه، مصرف سیگار، بیماری‌های همراه، مدت درمان BMI, W/H Ratio, TG, HDL, LDL, FBS, A1C مورد بررسی قرار گرفت. تمامی متغیرهای فوق به صورت یک به یک در دو گروه مورد همسان‌سازی قرار گرفت. همچنین میزان کلونی *Akkermansia Muciniphila* در این گروه‌ها به روش Real time PCR مورد بررسی قرار گرفت. پس از نمونه گیری مدفوع بیماران و انتقال به آزمایشگاه، استخراج DNA با استفاده از کیت شرکت کایژن طبق دستور العمل ان شرکت از مدفوع آنها انجام گرفت. پس

بر اساس برآوردهای جهانی برای سالهای ۲۰۱۰ تا ۲۰۳۰ شیوع دیابت در میان بزرگسالان از ۶/۴ درصد در سال ۲۰۱۰ به ۷/۷ درصد در سال ۲۰۳۰ افزایش خواهد یافت (۱). عوامل خطر دیابت نوع ۲ ژنتیکی و محیطی بوده و عبارت است از سابقه خانوادگی ابتلا به دیابت، سالمندی، چاقی، کم تحرکی، سابقه دیابت دوران حاملگی، وزن کم هنگام تولد و نژاد می باشد (۲). دستگاه گوارش انسان مملو از هزاران میلیون میکروب است که ژنوم آنها عددی نزدیک ده میلیون ژن را در خود جای داده است و اندازه ای حدود ۴۰۰ برابر ژنوم انسانی دارد که شامل ۲۳۰۰۰ ژن است (۳، ۴). این میکروبیوم گسترده روده ای عملکرد حیاتی برای میزبان انسانی خود داشته است و نقشی اساسی در سیستم تغذیه ای انسان و به طور کلی سلامت آدمی دارد (۵). مطالعات متاژنومی انجام شده گزارش می‌کنند که افراد با پروفایل متابولیک پر خطر از اغنای میکروبیوم روده ای کمتری برخوردارند (۶، ۷) و رابطه منفی بین مقدار ژنی باکتریال و نشانگرهای خطر متابولیک در افراد چاق را نشان داده اند (۸). همچنین مطالعات اضافی تر گزارش نموده اند که نشانگرهای ژنی میکروبیال بیشتر از عوامل خطر آتروتوپومتریک با دیابت نوع دوم ارتباط دارند (۹، ۱۰). بنابراین میکروبیوم روده ای به عنوان یک عامل در راستای شناسایی زودرس افراد در معرض خطر بیماری‌های متابولیک مرتبط با چاقی پیشنهاد شده است (۷). عوامل موثره در ساخت میکروبیوم روده آدمی از عادات تغذیه‌ای طولانی مدت وی (۱۴-۱۱) همچون تغییر دریافت تغذیه‌های حیوانی به سمت رژیم گیاهی و تغییر در ترکیبات تغذیه ای تاثیر می‌پذیرند (۱۶-۱۵). علاوه بر موارد مذکور، وفور گونه‌های باکتریال و تنوع میکروبی روده در موقعیت‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک مختلف میزبان تغییر و تحول می‌یابند به گونه ای که در حاملگی، (۱۷) بیماری‌های التهابی روده، (۱۸) چاقی، (۱۹) دیابت نوع دوم، (۱۰) آترواسکلروز، (۲۰) بیماری کبد چرب غیر الکلی (۲۱) و سیروز کبدی این تنوع باکتریال را تحت تاثیر می‌دهند (۲۲). علی‌رغم تمامی موارد مندرجه در فوق که بر اساس مطالعات گوناگون استنباط گردیده اند، تاثیر فیزیولوژی و عادات تغذیه ای بر ارتباط بین میکروبیوم روده‌ای و نشانگرهای متابولیک قطعی نیست. یک مطالعه دیگر که در این خصوص صورت پذیرفته است رابطه معکوسی بین مقدار ژن میکروبی روده و خطر بیماری‌های متابولیک گزارش نموده است به طوری که بر اساس این تحقیق، افرادی که اغنای کمتر باکتریال روده ای دارند (کمتر از ۴۸۰۰۰۰ ژن باکتری)، مصرف کمتری از میوه‌ها، سبزیجات و شیلات را نسبت به افراد با اغنای میکروبی بیشتر داشته‌اند (۶). بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته، تفاوت عظیمی بین اغنای میکروبی در افراد چاق با خطر بالای بیماری‌های متابولیک مشاهده گردیده به گونه ای که این تفاوت از

داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون و ۴۰ نفر فرد سالم مورد مطالعه قرار گرفتند. ویژگیهای جمعیتی، فعالیت بدنی بر حسب day/HMET و مصرف سیگار افراد مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به جدول اکثر افراد در هر سه گروه را زنان تشکیل داده و اکثر افراد غیر سیگاری و فعالیت بیشتر از چهار ساعت در روز را داشتند. مقایسه ۳ گروه از نظر ویژگیهای جمعیتی مورد مطالعه حاکی از عدم وجود تفاوت معنی دار بود. در جدول ۲، سن، سابقه ابتلا به دیابت در افراد بیمار و نمایه توده بدنی برحسب (Kg/m²) در سه گروه افراد مورد مطالعه ارائه شده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد، نمایه توده بدنی افراد تفاوت معنی داری نداشته است ولی میانگین سن افراد بین گروه بیمار و افراد سالم تفاوت معنی داری داشت. میانگین و انحراف معیار مربوط به قند خون ناشتا (FBS)، (C\HbA)، کلسترول خون، تری گلیسیرید خون در جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین سطح گلوکز ناشتای خون تقریباً بطور معنی داری در افراد مبتلا به دیابت نوع دو بیشتر از افراد سالم بود (P>۰/۰۰۱). و تفاوت معنی داری در سطح کلسترول و تری گلیسیرید افراد بیمار با سالم وجود نداشت.

از کنترل کمی و کیفیت DNA ی استخراجی با استفاده از دستگاه نانودراپ، یکسان سازی مقدار DNA استخراج شده از همه نمونه‌ها انجام شد. پرایمرهای اختصاصی توسط نرم افزار OLIGO7 بر روی ژن S rDNA۱۶ باکتری *Akkermansia muciniphila* انجام شد. سپس با استفاده از روش syber green واکنش Real Time PCR انجام شد. نمونه DNA ی استاندارد از باکتری مذکور که از موسسه پاستور فرانسه تهیه شده بعنوان کنترل داخلی استفاده شد. پس از آنالیز تغییرات CT نمونه‌های مختلف میزان تغییرات این باکتری نسبت به افراد سالم بررسی و نتیجه گیری شد که این باکتری در بیماری دیابت نوع ۲ کاملاً موثر می‌باشد یا خیر. از ژن انسانی GAPDH به عنوان کنترل خارجی برای نرمالایز داده‌ها استفاده شد. برای آنالیز داده‌های مولکولی از فرمول Ct استفاده شد. داده‌های بدست آمده در پرسشنامه های طراحی شده ثبت و سپس در نرم افزار SPSS وارد و تحت آنالیز قرار گرفت. برای آنالیز داده‌های آماری توصیفی از فراوانی، درصد فراوانی، فراوانی تجمعی، میانگین، میانه، مد و انحراف معیار استفاده گردید. برای آنالیز داده های استنباطی از آزمون های t - کای دو و رگرسیون لجستیک استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۴۰ نفر فرد مبتلا به دیابت نوع ۲ تحت درمان با انسولین و ۴۰ نفر افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ تحت درمان با

جدول ۱: ویژگی جمعیتی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ و افراد سالم

متغیر*	افراد بیمار		افراد سالم N=40	p
	درمان با داروهای خوراکی N=40	درمان با انسولین N=40		
جنس	۱۴ (۳۵٪)	۱۵ (۳۷/۵٪)	۱۳ (۳۲/۵٪)	۰/۵۰
مرد	۲۶ (۶۵٪)	۲۵ (۶۲/۵٪)	۲۷ (۶۷/۵٪)	۰/۴۰
زن	۰	۱ (۲/۵٪)	۰	۰/۵۰
فعالیت	۴۰ (۱۰۰٪)	۳۹ (۹۷/۵٪)	۴۰ (۱۰۰٪)	۰/۵۰
< ۴ ساعت	۰	۱ (۲/۵٪)	۰	۰/۵۰
> ۴ ساعت	۴۰ (۱۰۰٪)	۳۹ (۹۷/۵٪)	۴۰ (۱۰۰٪)	۰/۵۰
سیگار می‌کشد	۰	۲ (۵٪)	۳ (۷/۵٪)	۰/۱۲
سیگار نمی‌کشد	۴۰ (۱۰۰٪)	۳۸ (۹۵٪)	۳۷ (۹۲/۵٪)	۰/۲۴

***مقایسه افراد دریافت کننده انسولین و داروهای خوراکی
***مقایسه افراد دریافت کننده داروهای خوراکی و افراد سالم
Chi-square

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار ویژگی های دموگرافیک، آنترپومتریک در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ و افراد سالم

متغیر*	افراد بیمار		افراد سالم N=40	P
	درمان با انسولین N=40	درمان با داروهای خوراکی N=40		
سن به سال	۵۵/۹۳±۱۱/۸۶	۵۸/۳۰±۹/۷۹	۴۳/۱۴±۱۰/۰۱	۰/۵۷
سابقه به سال	۱۰/۴۵±۷/۵۲	۶/۶۷±۴/۶۸	-	۰/۰۰۹
نمایه توده بدنی	۳۱/۰۴±۳/۷	۳۰/۸۴±۳/۷۸	۳۰/۰۱±۳/۰۲	۰/۹۲

***میانگین (انحراف معیار)
***مقایسه افراد دریافت کننده انسولین و داروهای خوراکی
***مقایسه افراد دریافت کننده داروهای خوراکی و افراد سالم

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار فاکتورهای بیوشیمیایی خون در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ و سالم

متغیر*	افراد بیمار		افراد سالم N=40	P**	P***	P****
	درمان با انسولین N=40	درمان با داروهای خوراکی N=40				
(mmol/l) FBS	۱۸۴/۶۷±۹۸/۳۵	۱۹۷/۴۴±۹۷/۲۷	۹۵/۸۰±۹/۹۷	۰/۷۷۶	>۰/۰۰۱	>۰/۰۰۱
HbA1C	۹/۰۵±۲/۲۲	۸/۶۵±۲/۳۸	-	/۶	-	-
(Cholesterol (mg/dl	۱۷۵/۳۸±۸۴/۹۹	۱۶۹/۹۲±۴۹/۴۳	۱۸۶±۳۵/۳۵	۰/۹۰	۰/۴۸	۰/۷۶
(Triglycerides (mg/dl	۱۵۱/۵۸±۸۰/۶۴	۱۵۶/۸±۶۵/۹۶	۱۵۲/۲۳±۶۶/۷۹	۰/۹۵	۰/۹۶	۰/۹۹

***مقایسه افراد دریافت کننده انسولین و افراد سالم
****مقایسه افراد دریافت کننده داروهای خوراکی و افراد سالم
Independent T-Test:

جدول ۴. میانگین و انحراف معیار یافته‌های مدفوع (qPCR) در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ و سالم

متغیر*	افراد بیمار		افراد سالم N=40	P**	P***	P****
	درمان با انسولین N=40	درمان با داروهای خوراکی N=40				
<i>Akkermansia muciniphila</i> Ct value(Cycle threshold (in stool samples))	۲۱/۶۷±۶/۵۲	۲۷/۰۵±۶/۲۲	۱۹/۱±۴/۸۲	>۰/۰۰۱	۰/۱۶	>۰/۰۰۱
<i>Akkermansia muciniphila</i> CFU/100 mg stool(Colony Forming Unit was measured in 100 milligrams of stool)	۴۱/۲۵۶۶۹۹۲۷ ± ۳/۵۰۸۷۹۹۳۲	۵۸۶۶۰۵۳/۶۵ ±۳۹/۲۶۰۶۳۹۱	۱۰۴۴۵۲۳۱۲/۵±۵۹/۳۸۵۹۳۶۴۵	>۰/۰۰۱	۰/۰۲	۰/۰۰۶

***مقایسه افراد دریافت کننده انسولین و افراد سالم
****مقایسه افراد دریافت کننده داروهای خوراکی و افراد سالم
Mann-Whitney U

شده اند. میکروبیهای روده ای در تعادل و حفظ واکنشهای حیاتی و حفظ سلامتی انسان نقش دارند. روده انسان مملو از باکتریها است که این مجموعه از باکتریها سلامت انسان را تحت تاثیر قرار می دهند. *Akkermansia muciniphila* یک باکتری غالب و مفید است که در سیستم روده‌ای همه انسانها از نوزاد تا افراد مسن وجود دارد و نقش حفاظتی در برابر عوامل مزاحم خارجی دارد و دارای تاثیرات مطلوبی بر اختلال ایجاد شده بر اثر چاقی در متابولیسم می باشد. در مطالعه حاضر با توجه به جدول ۳ مشخص شد که اختلاف معنی داری ما بین گلوکز ناشتا و کلسترول و تری گلیسیرید و هموگلوبین HbA1C مابین دو گروه دیابتی نوع ۲ تحت درمان با انسولین و داروهای خوراکی وجود نداشت. در مطالعه حاضر با توجه به جدول ۴-۳ مشخص شد که اختلاف معنی داری ما بین کلسترول و تری گلیسیرید مابین دو گروه دیابتی نوع ۲ تحت درمان با انسولین و افراد سالم وجود نداشت ولی اختلاف معنی داری بین میانگین گلوکز ناشتا بین دو گروه افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ تحت درمان با انسولین و افراد سالم وجود داشت. در مطالعه حاضر با توجه به جدول ۳ مشخص شد که اختلاف معنی داری ما بین کلسترول و تری گلیسیرید مابین دو گروه دیابتی نوع ۲ تحت درمان با انسولین و افراد سالم وجود نداشت ولی اختلاف معنی داری بین میانگین گلوکز ناشتا بین دو گروه افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ تحت درمان با انسولین و افراد سالم وجود نداشت. در مطالعه حاضر با توجه به جدول ۴ مشخص

(Ct, Cycle threshold) نمونه‌های مدفوع و تعداد باکتری *Akkermansia muciniphila* (CFU) در ۱۰۰mg مدفوع دو گروه بیمار و سالم در جدول ۴ ارائه شده است. با توجه به عدم توزیع نرمال داده‌ها در مورد *Akkermansia muciniphila* داده‌ها بصورت میانه (کمترین، بیشترین) ارائه شد. نتایج آزمون آماری Mann-Whitney U نشان داد که سطح CT تقریباً بطور معنی داری در افراد مبتلا به دیابت نوع دو تحت درمان با انسولین و افراد تحت درمان با داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون بیشتر از افراد سالم بود ($P > 0.001$). همچنین تفاوت معنی داری بین CFU یا همان مقادیر کمی باکتری (فراوانی) بین دو گروه افراد دیابتی تحت درمان با انسولین با افراد تحت درمان با داروهای خوراکی پایین آورنده قند خون وجود داشت ($P = 0.001$) بطوریکه در افراد تحت درمان با انسولین فراوانی باکتری بیشتر بود

بحث

در چند دهه گذشته اختلالات چاقی بسیاری از کشورهای توسعه یافته را تحت تاثیر قرار داده است. چاقی، خصوصاً انواع احشایی یا مرکزی آن در دیابت نوع ۲ بسیار موثر است. مقاومت به انسولین همراه با چاقی، دیابت نوع دو را القا می نماید. بر اساس برآوردهای جهانی برای سالهای ۲۰۱۰ تا ۲۰۳۰ شیوع دیابت در میان بزرگسالان از ۶/۴ درصد در سال ۲۰۱۰ به ۷/۷ درصد در سال ۲۰۳۰ افزایش خواهد یافت. میکروبیهای روده انسان برای مشخص شدن عملکرد و تاثیرشان در متابولیسم و فیزیولوژی انسان ارزیابی

نتیجه‌گیری

برای اولین بار نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تفاوت معنی‌داری مابین دو گروه بیماری دیابتی نوع ۲ تحت درمان با انسولین و داروهای خوراکی پایین‌آورنده قند خون با افراد سالم در مورد فراوانی باکتری *Akkermansia muciniphila* وجود داشت. میزان باکتری در افراد سالم بیشتر از افراد بیمار دیابتی تحت درمان با انسولین و افراد دیابتی تحت درمان با داروهای خوراکی پایین‌آورنده قند خون بود. همانگونه که اشاره شد تاکنون مطالعه‌ی در زمینه مقایسه *Akkermansia muciniphila* در بیماران دریافت‌کننده انسولین یا داروهای خوراکی انجام نیافته است. محققان دانشگاه گوتنبرگ و موسسه‌ی تحقیقات پزشکی Girona دریافتند که باکتریهای روده‌ی افراد تحت درمان با متفورمین، دچار تغییراتی می‌شود که به بهبود کنترل قند خون کمک می‌کند. دانشمندان معتقدند که تأثیر این دارو در کنترل قندخون، شاید نتیجه طبیعی شدن عدم تعادل فلور روده یا dysbiosis باشد که پیش از این ارتباط آن با دیابت نوع ۲، مشخص شده است (۲۹). پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند که متفورمین نسبت به سایر انواع داروهای دیابت بطور کاملاً متفاوتی عمل می‌کند و موجب ایجاد تغییرات شدیدی در میکروبیوم روده‌ی افراد تحت درمان می‌شود (۲۹). همچنین نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تفاوت معنی‌داری مابین دو گروه بیماران دیابتی نوع ۲ تحت درمان با انسولین با داروهای خوراکی پایین‌آورنده قند خون در مورد فراوانی باکتری *Akkermansia muciniphila* وجود داشت. میزان باکتری در افراد بیمار دیابتی تحت درمان با انسولین بیشتر از افراد دیابتی تحت درمان با داروهای خوراکی پایین‌آورنده قند خون بود.

گردید که اختلاف معنی‌داری مابین تجمع *Akkermansia muciniphila* در روده مابین افراد مبتلا به دیابت نوع دو تحت درمان با انسولین و داروهای خوراکی پایین‌آورنده قندخون و افراد سالم وجود داشت ($P=0/04$). در مطالعات گذشته نیز در این مورد نتایج مشابهی بدست آمده است. در مطالعه‌ی ای که Everard و همکاران بر روی موش‌های چاق و مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام دادند ضمن مطالعه نقش *Akkermansia muciniphila* در روده، سد روده‌ی ای و نقش فیزیولوژیک و هموستاتیک این باکتری، به این نتیجه رسیدند که فراوانی باکتری *Akkermansia muciniphila* در موشهای چاق و دیابتی کاهش می‌یابد (۲۶). Marlen و همکاران، در مطالعه‌ی ای که روی افراد چاق، لاغر و دیابتی نوع دو انجام دادند آنها به این نتیجه رسیدند که با اضافه کردن آگونیست GLP-1 به رژیم غذایی شرکت‌کنندگان در مطالعه مقدار کمی باکتری *Akkermansia muciniphila* در گروه بیماران دیابتی نوع دو افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرد که ممکن است به دلیل انطباق بهتر *Akkermansia muciniphila* با محدودیت کالری در مقایسه با سایر باکتریهای روده باشد (۲۷). همچنین مطالعات نشان دادند که حضور باکتری *Akkermansia muciniphila* در لایه‌های موکوسی یک میکانیسم بسیار مهم در کنترل بازسازی سلولهای موکوسی میزبان است که سبب بهبود عملکرد سد روده‌ی ای می‌گردد (۲۸). مطالعات ثابت کرده‌اند *Akkermansia muciniphila* سبب بهبود تحمل گلوکز و کاهش تولید اندوژن گلوکز کبدی می‌گردد. این یافته‌ها در تایید مطالعات انجام یافته بر روی ژن *Akkermansia muciniphila* و مطالعات متازنومیک مرتبط با دیابت نوع ۲ می‌باشد (۱۰، ۲۷). در نهایت نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده این واقعیت است که تجمع باکتری در روده افراد دیابتی نوع ۲ تحت درمان با انسولین با افراد تحت درمان با داروهای پایین‌آورنده قند خون و افراد سالم متفاوت است.

References

- Show J E, Sicree R A, Zimmet P. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and Clinical Practice* 2010; **87**(1): 4-14. doi:10.1016/j.diabres.2009.10.007
- Fran M J. *Medical Nutrition Therapy for Diabetes Mellitus and Hypoglycemia of Nondiabetic Origin*. In: Mahan LK, Escott-Stumps, eds. *Krause Food & Nutrition Thrapy*. 12th ed. USA, 2012; PP: 764-809.
- Li J, Jia H, Cai X, Zhong H, Feng Q, Sunagawa S, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnology* 2014; **32**: 834-841.
- International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004; **431**: 931-945.
- Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012; **489**: 220-230. doi: 10.1038/nature11550
- Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature* 2013; **500**: 585-588. doi: 10.1038/nature12480
- Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 2013; **500**: 541-546.
- Brahe L, Le Chatelier E, Prifti E, Pons N, Kennedy S, Blædel T, et al. Dietary modulation of the gut microbiota - a randomized controlled trial

- in obese postmenopausal women. *Br J Nutr* 2015; (in press). doi: 10.1017/s0007114515001786
9. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergstrom G, Behre CJ, Fagerberg B, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 2013; **498**: 99-103. doi: 10.1038/nature12198
 10. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012; **490**: 55-60.
 11. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012; **486**: 222-227. doi: 10.1038/nature11053
 12. Faith JJ, Guruge JL, Charbonneau M, Subramanian S, Seedorf H, Goodman AL, et al. The long-term stability of the human gut microbiota. *Science* 2013; **341**: 1237-1239. doi: 10.1126/science.1237439
 13. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011; **334**: 105-108. doi: 10.1126/science.1208344
 14. Muegge BD, Kuczynski J, Knights D, Clemente JC, González A, Fontana L, et al. Diet drives convergence in gut micro-biome functions across mammalian phylogeny and within humans. *Science* 2011; **332**: 970-974. doi: 10.1126/science.1198719
 15. Duncan SH, Belenguer A, Holtrop G, Johnstone AM, Flint HJ, Lobleby GE. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces. *Appl Environ Microbiol* 2007; **73**: 1073-1078. doi: 10.1128/aem.02340-06
 16. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut micro-biome. *Nature* 2014; **505**: 559-563. doi: 10.1038/nature12820
 17. Koren O, Goodrich J, Cullender T, Spor A, Laitinen K, Kling Bäckhed H, et al. Host remodelling of the gut micro-biome and metabolic changes during pregnancy. *Cell* 2012; **150**: 470-480. doi: 10.1016/j.cell.2012.07.008
 18. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomics sequencing. *Nature* 2010; **464**: 59-65.
 19. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core guts microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; **457**: 480-484. doi: 10.1038/nature07540
 20. Karlsson FH, Fak F, Nookaew I, Tremaroli V, Fagerberg B, Petranovic D, et al. Symptomatic atherosclerosis is associated with an altered gut metagenome. *Nat Commun* 2012; **3**: 1245. doi: 10.1038/ncomms2266
 21. Raman M, Ahmed I, Gillevet PM, Probert CS, Ratcliffe NM, Smith S, et al. Fecal micro-biome and volatile organic compound metabolome in obese humans with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterology Hepatol* 2013; **11**: 868-875. doi: 10.1016/j.cgh.2013.02.015
 22. Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, et al. Alterations of the human gut micro-biome in liver cirrhosis. *Nature* 2014; **513**: 59-64.
 23. Huang K, Wang MM, Kulinich A, Yao HL, Ma HY, Martínez JE. Biochemical characterisation of the neuraminidase pool of the human gut symbiont *Akkermansia muciniphila*. *Carbohydr Res* 2015; **13**(415): 60-65. doi: 10.1016/j.carres.2015.08.001
 24. Dao MC, Everard A, Aron-Wisniewsky J, Sokolovska N, Prifti E, Verger EO. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology. *Gut* 2015; doi: 10.1136/gutjnl-2014-308778
 25. Roopchand DE, Carmody RN, Kuhn P, Moskal K, Rojas-Silva P, Turnbaugh PJ, Raskin I. Dietary Polyphenols Promote Growth of the Gut Bacterium *Akkermansia muciniphila* and Attenuate High-Fat Diet-Induced Metabolic Syndrome. *Diabetes* 2015; **64**(8): 2847-2858. doi: 10.2337/db14-1916
 26. Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, et al. Crosstalk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; **110**(22): 9066-9071. doi: 10.1073/pnas.1219451110
 27. Marlene R, Simone D, Berit H, Jutta Z, Eva A, Helmut B, et al. Abundance and diversity of microbiota in type 2 diabetes and obesity. *Journal of Diabetes & Metabolism* 2013; **5**: 315-327. doi: 10.4172/2155-6156.1000253
 28. Belzer C, De vos WM. Microbes inside – from diversity to function: the case of *Akkermansia*. *The ISME journal* 2012; **6**(8): 1449-1458. doi: 10.1038/ismej.2012.6
 29. Bienvenu Camille. Metformin joins forces with gut microbes to improve blood sugars, new study finds. 2017. www.diabetes.co.uk/news/2017/jun/metformin-joins-forces-with-gut-microbes-to-improve-blood-sugars,-new-study-finds-91872790.html