

## Gut Microbiota Composition in Obese and Normal Weight Adults in Iran

Hanieh-Sadat Ejtahed<sup>1,2</sup>,  
Zahra Hoseini Tavassol<sup>3,4</sup>,  
Shirin Hasani-Ranjbar<sup>5</sup>,  
Ahmad-Reza Soroush<sup>5</sup>,  
Seyed Davar Siadat<sup>6,2</sup>,  
Bagher Larijani<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Assistant Professor, Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup> PhD candidate in Medical Biotechnology, Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>4</sup> Department of Mycobacteriology and Pulmonary Research, Microbiology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

<sup>5</sup> Professor, Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>6</sup> Professor, Department of Mycobacteriology and Pulmonary Research, Microbiology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

<sup>7</sup> Professor, Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received November 16, 2020 ; Accepted November 21, 2020)

### Abstract

**Background and purpose:** Increasing prevalence of obesity over the past few decades constitutes a global health challenge. Recent evidence suggests that gut microbiota may contribute to weight control. So, the present study aimed at comparing the frequency of different bacteria in gut microbiota between obese and normal weight people in Iran.

**Materials and methods:** Thirty normal weight (BMI of 18.5- 25 kg/m<sup>2</sup>) and 27 obese adults (BMI of 30 kg/m<sup>2</sup> or higher) were included in this case-control study. Dietary intake was assessed using food frequency questionnaire (FFQ). Anthropometric measurements and collection of blood and faecal samples were also done. Then, gut microbiota composition was assessed using quantitative real-time PCR.

**Results:** The mean age of participants and concentrations of fasting blood glucose and insulin, insulin resistance index, triglyceride concentration and hsCRP were higher in obese group than the normal group (P<0.05). The frequency of *Akkermansia* was significantly higher in individuals with normal weight than obese individuals (P=0.003). On the other hand, the frequencies of *Prevotella* and *Lactobacillus* genera were higher in obese individuals (P>0.05).

**Conclusion:** In this study, the frequencies of some bacterial genera of intestinal microbiota were significantly different between obese and normal weight individuals. Therefore, population-based studies are needed to confirm current findings. Moreover, in order to achieve personalized medicine goals, information on gut microbiota composition could be helpful.

**Keywords:** gut microbiota, microbiome, obesity, normal weight

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 30 (193): 12-20 (Persian).

\* Corresponding Author: Bagher Larijani - Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (E-mail: Larijanib@tums.ac.ir)

# ترکیب میکروبیوتای روده در بزرگسالان ایرانی چاق و با وزن نرمال

هانیه السادات اجتهد<sup>۱،۲</sup>

زهرا حسینی توسل<sup>۳،۴</sup>

شیرین حسینی رنجبر<sup>۵</sup>

احمد رضا سروش<sup>۵</sup>

سید داور سیادت<sup>۲،۶</sup>

باقر لاریجانی<sup>۷</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** شیوع فزاینده چاقی طی دهه‌های اخیر، آن را به چالش بزرگ سلامت عمومی جهان تبدیل کرده است. شواهد اخیر نشان داده است که میکروبیوتای روده می‌تواند در کنترل وزن موثر باشد. در این مطالعه مورد شاهدهی فراوانی باکتری‌های مختلف دستگاه گوارش افراد ایرانی چاق و با وزن نرمال مورد مقایسه قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** ۳۰ بزرگسال با وزن نرمال (نمایه توده بدنی در محدوده ۱۸/۵kg/m<sup>2</sup> تا ۲۵kg/m<sup>2</sup>) و ۲۷ بزرگسال چاق (نمایه توده بدنی مساوی و بالاتر از ۳۰kg/m<sup>2</sup>) وارد این مطالعه مورد-شاهدهی شدند. بررسی دریافت غذایی (پرسشنامه FFQ)، اندازه‌گیری‌های تن‌سنجی و جمع‌آوری نمونه‌های خون و مدفوع برای آن‌ها انجام گرفت. سپس ترکیب میکروبیوتای روده به روش quantitative real time PCR مورد سنجش قرار گرفت.

**یافته‌ها:** میانگین سنی شرکت‌کنندگان و غلظت قندخون، انسولین ناشتا، شاخص مقاومت انسولینی، غلظت تری‌گلیسرید و hsCRP در گروه چاق بالاتر از گروه نرمال بود ( $P < ۰/۰۵$ ). فراوانی *Akkermansia* در افراد با وزن نرمال به‌طور معنی‌داری بالاتر از افراد چاق بود ( $P = ۰/۰۰۳$ ). در مقابل، فراوانی جنس‌های *Lactobacillus* و *Prevotella* در افراد چاق بالاتر بود، ولی این تفاوت‌ها از لحاظ آماری به سطح معنی‌داری نرسید ( $P > ۰/۰۵$ ).

**استنتاج:** در این مطالعه فراوانی برخی از جنس‌های باکتریایی میکروبیوتای روده میان دو گروه افراد چاق و با وزن نرمال تفاوت معنی‌داری داشت. این مساله لزوم بررسی‌های جمعیتی را برای تایید مشاهدات این مطالعه نشان می‌دهد. به علاوه، در راستای رسیدن به اهداف پزشکی فردمحور، اطلاعات در مورد ترکیب میکروبیوتای روده می‌تواند کمک‌کننده باشد.

**واژه‌های کلیدی:** میکروبیوتای روده، میکروبیوم، چاقی، وزن نرمال

## مقدمه

چاقی چالشی مهم برای سلامت عمومی محسوب می‌شود که عوامل متفاوت محیطی و ژنتیکی بر آن موثر می‌باشند. مطابق با تخمین‌های جهانی با ادامه روند افزایش نمایه توده بدنی شیوع جهانی چاقی تا سال ۲۰۲۵،

**مؤلف مسئول:** باقر لاریجانی - تهران: دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم

۱. استادیار، مرکز تحقیقات چاقی و عادات غذایی، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲. مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات چاقی و عادات غذایی، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴. گروه سل و تحقیقات ریوی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۵. استاد، مرکز تحقیقات چاقی و عادات غذایی، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۶. استاد، گروه سل و تحقیقات ریوی، مرکز تحقیقات میکروبیولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۷. استاد، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۲۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۹/۸/۲۶ تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۹/۱

به ۱۸ درصد در مردان و ۲۱ درصد در زنان خواهد رسید (۱). شیوع چاقی در زنان منطقه خاورمیانه نیز از ۳۰ درصد بالاتر رفته است و در سال ۲۰۱۴، ایران دهمین کشور با شیوع بالای چاقی در زنان محسوب شده است (۱). این در حالی است که واریانت‌های ژنتیکی مرتبط با چاقی تنها کم‌تر از ۵ درصد از عوامل خطر چاقی را تشکیل می‌دهند (۲). رژیم غذایی پرکالری و پرچرب و سبک زندگی بی‌تحرک نیز از علل مهم چاقی محسوب می‌شوند، اما نمی‌توانند به تنهایی توجیه‌کننده روند فزاینده شیوع چاقی باشند. در مطالعات اخیر، میکروبیوتای روده به عنوان ارتباط دهنده ژن‌ها، محیط و سیستم ایمنی، جزو عوامل موثر بر بروز چاقی عنوان شده است (۳). میکروبیوتای روده ترکیبات زیادی همانند سایر ارگان‌های اندوکراین بدن ترشح می‌کند و از این طریق در کنترل متابولیسم بدن موثر می‌باشد (۴). میکروبیوتای روده می‌تواند از طریق تحریک هورمون‌های سیری، کنترل متابولیسم چربی در بافت چربی، تاثیر بر حساسیت انسولینی و بهبود عملکرد سدی روده در کنترل وزن موثر باشد (۵،۴). شواهد اخیر از این فرضیه که التهاب مزمن خفیف ناشی از دیس بیوزیس میکروبیوتای روده می‌تواند آغازکننده بیماری‌های متابولیک مانند چاقی و دیابت باشد، حمایت می‌کنند (۵). تداخل میان باکتری‌های مفید روده شامل باکتری‌های تولیدکننده اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و پاتوژن‌های فرصت طلب شامل باکتری‌های تولیدکننده اندوتوکسین و باکتری‌های احیاکننده سولفات نقش مهمی در برقراری هومئوستاز روده دارد (۵،۳). تا کنون مطالعاتی بر روی ترکیب میکروبیوتای روده در افراد چاق کشورهای مختلف انجام گرفته است (۶-۹). با توجه به تاثیرپذیری میکروبیوتا از جغرافیا و نژاد، بررسی تغییرات میکروبیوتای روده افراد با وزن نرمال و افراد چاق می‌تواند در ارزیابی سلامتی در مراقبت‌های سلامتی پیشگیرانه یا پزشکی بالینی در کشورهای مختلف با اقلیم و سبک زندگی متفاوت در آینده استفاده شود. همچنین در راستای رسیدن به اهداف پزشکی شخصی، میکروبیوتا

می‌تواند به عنوان بیومارکری برای سنجش سلامتی و یا تجویز پروتکل درمانی مخصوص هر فرد به کار گرفته شود (۱۱،۱۰). مطالعه مورد شاهدی حاضر با هدف بررسی و مقایسه فراوانی باکتری‌های مختلف دستگاه گوارش افراد ایرانی چاق و با وزن نرمال انجام گرفته است.

## مواد و روش‌ها

### جمعیت مورد مطالعه و روش نمونه‌گیری

به منظور نمونه‌گیری جمعیت مورد مطالعه از میان افراد مراجعه‌کننده به کلینیک چاقی درمانگاه داستانی بیمارستان شریعتی و پس از چک کردن معیارهای ورود شامل محدوده سنی ۲۰ تا ۴۵ سال، نمایه توده بدنی در محدوده  $18.5 \text{ kg/m}^2$  تا  $25 \text{ kg/m}^2$  برای گروه نرمال و نمایه توده بدنی مساوی و بالاتر از  $30 \text{ kg/m}^2$  برای گروه چاق، افراد مورد مطالعه انتخاب شدند. معیارهای خروج از این مطالعه شامل بارداری و شیردهی، مصرف سیگار، ابتلا به بیماری‌های مزمن قلبی - عروقی، کلیوی، کبدی، بیماری‌های التهابی روده مثل کولیت، دیابت، سرطان و سابقه جراحی دستگاه گوارش، سابقه ابتلا به اسهال حاد و مزمن طی ماه گذشته، مصرف آنتی‌بیوتیک طی دو ماه قبل از شروع مطالعه، مصرف متداول محصولات پروبیوتیک و پره‌بیوتیک طی یک ماه قبل از شروع مطالعه، مصرف متداول داروهای ضد التهاب طی یک ماه قبل از شروع مطالعه، مصرف داروهای کاهش وزن و سابقه پیروی از رژیم غذایی خاص کاهش وزن طی ۳ ماه اخیر بوده است.

با در نظر گرفتن حجم نمونه مطالعات سایر کشورها، ۳۰ نفر با وزن نرمال و ۲۷ فرد چاق وارد مطالعه مورد شاهدی حاضر شدند. پس از اخذ رضایت‌نامه آگاهانه، پرسشنامه‌های عمومی، فعالیت بدنی و بسامد خوراک نیمه کمی برای شرکت‌کنندگان تکمیل گردید. از پرسشنامه فعالیت بدنی MAQ برای سنجش میزان فعالیت جسمانی استفاده شد. پایایی بالا و روایی متوسطی برای این پرسشنامه در جمعیت بزرگسالان تهرانی گزارش شده

است (۱۲). اطلاعات رژیم غذایی افراد با استفاده از یک پرسشنامه معتبر نیمه کمی تکرر مصرف مواد غذایی (FFQ) حاوی ۱۴۷ ماده غذایی، جمع آوری شده است. تکرر دریافت هر یک از مواد غذایی طی سال گذشته به صورت روزانه، هفتگی و یا ماهانه از افراد مورد مطالعه، توسط رژیم شناسان آموزش دیده پرسیده شد. روایی و پایایی FFQ بکار رفته برای دریافت گروه‌های غذایی مورد ارزیابی قرار گرفته و قابل قبول می‌باشد (۱۳). پس از توضیح کامل در مورد مطالعه، از همه شرکت کنندگان رضایت‌نامه آگاهانه گرفته شد و پروتکل مطالعه در کمیته اخلاق (IR.TUMS.EMRI.REC.1395.0090) پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران تصویب شده است.

#### اندازه‌گیری‌های تن‌سنجی

وزن افراد با استفاده از ترازوی دیجیتال Seca (Seca, Hamburg, Germany)، با دقت ۱۰۰ گرم و با حداقل لباس و بدون کفش و قد افراد با استفاده از قدسنج Seca، با دقت ۰/۵ سانتی‌متر و بدون کفش اندازه‌گیری شد. سپس نمایه توده بدنی افراد با استفاده از فرمول وزن به کیلوگرم تقسیم بر مجذور قد به متر محاسبه شد. دور کمر افراد با استفاده از متر نواری و در گودترین ناحیه بین آخرین دنده و استخوان لگن خاصره با دقت ۰/۵ سانتی‌متر اندازه‌گیری شده است. دور باسن نیز در پهن‌ترین ناحیه باسن با دقت ۰/۵ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. بررسی ترکیب بدن به روش (DEXA) Dual-Energy X-ray Absorptiometry و با استفاده از دستگاه Lunar DPX-MD (Lunar Corporation, USA) انجام گرفت.

#### اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی سرم

نمونه خون وریدی بیماران به میزان ۱۰ سی‌سی به صورت نشسته، در حالت ۱۰-۱۲ ساعت ناشتایی، بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح گرفته شد. سپس برای جداسازی

سرم، نمونه‌ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Beckman Avanti J-25, USA) شدند. به منظور اندازه‌گیری غلظت قندخون، کلسترول تام، تری‌گلیسرید، کلسترول HDL و کلسترول LDL، آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و hsCRP از کیت‌های شرکت Roche آلمان و دستگاه اتوانالایزر (Hitachi, Cobas C 311, Roche Diagnostics GmbH) طبق پروتکل کیت‌ها استفاده شد. غلظت انسولین سرم به روش آنزیم ایمونواسی و با استفاده از کیت شرکت Monobind آمریکا اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری غلظت لیپوپروتئین لیپاز (LPL) و پپتید شبه گلوکاگونی ۱ (GLP1) از کیت‌های الایزا شرکت ZellBio آلمان و برای اندازه‌گیری غلظت Fasting-induced adipose factor (FIAF) از کیت الایزا شرکت BioVendor آلمان استفاده شده است.

#### آماده‌سازی نمونه‌های مدفوع و اندازه‌گیری لود باکتریایی مدفوع به روش qPCR

نمونه‌های مدفوع زمان صبح شرکت کنندگان با استفاده از کیت جمع‌آوری نمونه، جمع‌آوری و در کول‌باکس حاوی یخ، در کم‌تر از چهار ساعت به آزمایشگاه منتقل شدند. استخراج کل DNA باکتریایی از ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه مدفوع، به وسیله کیت (QIAGEN, Germany) QIAamp DNA stool Mini kit مطابق با پروتکل کیت انجام گرفت. سنجش کیفیت و خلوص DNA استخراج شده از طریق خوانش نسبت میزان جذب نوری (OD) در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ nm با استفاده از دستگاه نانودرآپ Thermo scientific بوده است. به منظور تعیین فراوانی ۷ جنس باکتریایی شامل *Akkermansia*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Escherichia* و *Prevotella* به روش quantitative PCR، پرایمرهای اختصاصی برای قسمت 16S rRNA باکتری‌ها انتخاب شدند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: پرایمرهای اختصاصی ۷ جنس باکتریایی

| منبع                     | سایز آمپلیکون (bp) | سکانس پرایمر                                           | جنس باکتریایی           |
|--------------------------|--------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------|
| Kanno (2009) (۱۴)        | ۳۴۱                | F: AGCAGTAGGGAATCTTCCA<br>R: CACCGCTACACATGGAG         | <i>Lactobacillus</i>    |
| Rintila (2004) (۱۵)      | ۲۴۳                | F: TCGCGTCYGGTGTGAAG<br>R: CCACATCCAGCRTCCAC           | <i>Bifidobacterium</i>  |
| Schneeberger (2015) (۱۶) | ۳۲۹                | F: CAGCACGTGAAGGTGGGAC<br>R: CCTTGGCGTTGGCTCAGAT       | <i>Akkermansia</i>      |
| Gregory (2015) (۱۷)      | ۱۴۰                | F: GGTGTCGGCTTAAGTGCCAT<br>R: CGGAYGTAAGGGCCGTGC       | <i>Bacteroides</i>      |
| Fitzgerald (2018) (۱۸)   | ۲۴۸                | F: GGAGGAAGAAGGCTTTCGG<br>R: AATTCCGCCTACCTCTGCACT     | <i>Faecalibacterium</i> |
| Bartosch (2004) (۱۹)     | ۱۹۰                | F: CATTGACGTTACCGCAGAGAAGC<br>R: CTCTACGAGACTCAAGCTTGC | <i>Escherichia</i>      |
| Larsen (2010) (۲۰)       | ۲۸۳                | F: CACCAAGCGCAGCATCA<br>R: GGATAACGCCYGGACCT           | <i>Prevotella</i>       |

( $P=0/27$ ). میانگین سنی شرکت کنندگان در گروه چاق ( $42 \pm 8$ ) بیش تر از افراد نرمال ( $34 \pm 9$ ) بود ( $P=0/001$ ). میزان فعالیت بدنی بین دو گروه تفاوتی نداشت و دریافت غذایی بلند مدت شرکت کنندگان نیز که با استفاده از پرسشنامه تناوب غذایی برآورد شد، تنها از لحاظ دریافت پتاسیم و کلسیم بین دو گروه تفاوت داشت ( $P<0/05$ ). غلظت قند خون و انسولین ناشتا و شاخص مقاومت انسولینی HOMA-IR در گروه چاق بالاتر از گروه نرمال بود ( $P<0/05$ ). غلظت تری گلیسرید در بزرگسالان چاق و غلظت کلسترول HDL در بزرگسالان نرمال بالاتر بود ( $P<0/001$ ). غلظت hsCRP نیز در گروه چاق نسبت به گروه با وزن نرمال بیش تر بود ( $P<0/001$ ). غلظت سایر متغیرهای بیوشیمیایی بین دو گروه تفاوت معنی داری نداشت. غلظت متغیرهای بیوشیمیایی سرم دو گروه در جدول شماره ۲ گزارش شده است.

جدول شماره ۲: غلظت متغیرهای بیوشیمیایی سرم بزرگسالان چاق و با وزن نرمال

| متغیرها                                      | بزرگسالان با وزن نرمال<br>(n=30) | بزرگسالان چاق<br>(n=27) | سطح معنی داری |
|----------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------|---------------|
| قند خون ناشتا (mg/dl) *                      | 77/5±9/5                         | 83/0±12/0               | 0/02          |
| انسولین (mU/L) *                             | 8/32±1/82                        | 15/49±1/69              | <0/001        |
| شاخص مقاومت انسولینی HOMA *                  | 1/62±1/95                        | 3/47±2/04               | <0/001        |
| کلسترول تام (mg/dl) *                        | 189/3±37/9                       | 195/5±39/6              | 0/55          |
| تری گلیسرید (mg/dl) *                        | 99/9±40/6                        | 147/5±50/7              | <0/001        |
| کلسترول HDL (mg/dl) *                        | 48/8±10/6                        | 41/5±6/5                | 0/004         |
| کلسترول LDL (mg/dl) *                        | 97/1±23/8                        | 100/1±22/7              | 0/65          |
| آتریم کبدی آلانین آمینو ترانسفراز (U/L) *    | 8/13±1/55                        | 9/12±1/48               | 0/32          |
| آتریم کبدی آسپارات آمینو ترانسفراز (U/L) *   | 19/6±5/2                         | 19/8±5/3                | 0/88          |
| پپتید شبه گلوکاگونی ۱ (pg/ml) *              | 141/2±21/29                      | 128/8±19/5              | 0/61          |
| Fasting-induced adipose factor (ng/ml) *     | 71/0±36/75                       | 87/43±44/75             | 0/16          |
| لیپوپروتئین لیاز (pg/ml) †                   | 642±4128                         | 771±1343                | 0/43          |
| High-sensitivity C-reactive protein (mg/L) * | 1/33±3/33                        | 4/38±7/12               | <0/001        |

داده ها به صورت Mean±SD یا Median±IQR † گزارش شده است.

به منظور انجام quantitative real time PCR دستگاه light cyclor 96 Roche (Switzerland) استفاده شد. آزمایشات برای تمامی نمونه ها بصورت triplicate انجام گرفت و مقدار میانگین خوانش ها استفاده شد. برنامه amplification دستگاه real time بدین ترتیب می باشد: یک سیکل  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۶۰ ثانیه، چهل سیکل  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ ثانیه،  $55^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه و  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه. آنالیز Melting curve نیز پس از هر ران real time بصورت یک سیکل  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ ثانیه،  $60^{\circ}\text{C}$  به مدت ۶۰ ثانیه و  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت یک ثانیه انجام گرفته است.

تجزیه و تحلیل داده ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت.  $P<0/05$  به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد. نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov ارزیابی شده است. به منظور مقایسه صفات پایه، متغیرهای بیوشیمیایی، دریافت های غذایی و فراوانی باکتری ها میان افراد چاق و با وزن نرمال از آزمون Independent-samples t test یا Mann-Whitney U test به ترتیب در صورت نرمال بودن یا غیرنرمال بودن توزیع داده ها استفاده شد. متغیرهای کیفی با استفاده از آزمون chi-square میان دو گروه مقایسه شدند.

## یافته ها

۳۰ فرد با وزن نرمال (۲۲ زن و ۸ مرد) و ۲۷ فرد چاق (۲۳ زن و ۴ مرد) وارد مطالعه شدند. از لحاظ توزیع جنسی میان دو گروه تفاوتی وجود نداشت

فراوانی ۷ جنس باکتریایی در مدفوع دو گروه چاق و با وزن نرمال در جدول شماره ۳ گزارش شده است. *Akkermansia* در مدفوع افراد با وزن نرمال نسبت به افراد چاق به طور معنی داری بیش تر بوده است ( $P=0/003$ ). میزان *Bifidobacterium* در افراد با وزن نرمال و میزان *Prevotella* و *Lactobacillus* در افراد چاق بالاتر بوده است؛ هر چند که این تفاوت ها از لحاظ آماری به سطح معنی داری نرسیده اند ( $P>0/05$ ).

جدول شماره ۳: فراوانی جنس های باکتریایی مختلف در مدفوع بزرگسالان چاق و با وزن نرمال

| جنس های باکتریایی      | بزرگسالان با وزن نرمال<br>(n=30) | بزرگسالان چاق<br>(n=37) | سطح معنی داری |
|------------------------|----------------------------------|-------------------------|---------------|
| <i>Bacteroides</i>     | ۸/۱۸ (۷/۹۲-۸/۳۷)                 | ۸/۱۸ (۷/۷۷-۸/۵۰)        | ۰/۹           |
| <i>Prevotella</i>      | ۶/۵۲ (۴/۲۸-۸/۲۹)                 | ۷/۱۶ (۴/۲۸-۸/۶۲)        | ۰/۶           |
| <i>Bifidobacterium</i> | ۶/۴۲ (۵/۴۹-۶/۸۲)                 | ۵/۷۷ (۴/۹۹-۶/۴۵)        | ۰/۰۷          |
| <i>Lactobacillus</i>   | ۴/۲۱ (۳/۶۲-۵/۱۵)                 | ۴/۴۵ (۳/۶۹-۵/۱۳)        | ۰/۵           |
| <i>Escherichia</i>     | ۵/۳۳ (۴/۱۳-۵/۹۰)                 | ۵/۰۶ (۴/۰۶-۵/۸۴)        | ۰/۸           |
| <i>Fecalibacterium</i> | ۷/۱۸ (۶/۹۲-۷/۶۷)                 | ۷/۱۹ (۶/۸۹-۷/۷۰)        | ۰/۸           |
| <i>Akkermansia</i>     | ۶/۰۴ (۴/۸۳-۶/۷۹)                 | ۴/۱۶ (۲/۸۲-۵/۹۶)        | ۰/۰۰۳         |

داده ها به صورت Median(Quartile25-75) گزارش شده است.

واحد فراوانی جنس های باکتریایی  $\log_{10}$  cell count/g of faeces می باشد.

## بحث

در این مطالعه فراوانی برخی جنس های باکتریایی شاخص در میکروبیوتای روده افراد چاق با افراد با وزن نرمال مورد مقایسه قرار گرفت. در مطالعه حاضر فراوانی *Akkermansia* به طور معنی داری در افراد با وزن نرمال بالاتر بود.

Yassour و همکارانش در سال ۲۰۱۶ نیز رابطه معکوسی میان نمایه توده بدنی و *Akkermansia muciniphila* مشاهده کردند (۲۱). در مطالعه ما همچنین فراوانی بالاتر *Bifidobacterium* در افراد با وزن نرمال مشاهده شده است که به سطح معناداری نرسیده است. در برخی مطالعات پیشین نیز اشاره شده است که فراوانی *Bifidobacterium* و *Akkermansia* در افراد چاق پایین تر است (۲۲، ۲۳). نکته قابل توجه این است که در زمان نتیجه گیری در مورد فراوانی *Akkermansia* میزان فیبر دریافتی و در مورد فراوانی *Bifidobacterium* ژنتیک افراد باید در نظر گرفته شود (۲۳).

در مورد اثرات مساعد متابولیک *Akkermansia* لازم بذکر است که این اثرات بصورت دوگانه است و بستگی به رژیم غذایی افراد دارد، به طوری که فراوانی بالای *Akkermansia* اگر همراه با دریافت فیبر نباشد از طریق تجزیه موسین می تواند به دیواره نفوذناپذیر دستگاه گوارش آسیب بزند و نفوذپذیری دیواره روده را نسبت به باکتری های پاتوژن افزایش دهد (۲۴).

در این مطالعه فراوانی جنس *Lactobacillus* در افراد چاق و فراوانی جنس *Escherichia* در افراد با وزن نرمال هر چند به طور غیر معنی دار بالاتر بوده است. در بزرگسالان، هم راستا با نتایج مطالعه ما در سطح جنس، فراوانی بالای *Escherichia coli* در افراد با وزن نرمال و فراوانی بالاتر *Lactobacillus* در افراد چاق نسبت به افراد با وزن نرمال گزارش شده است (۲۵، ۹، ۸، ۷). نکته قابل توجه این است که *Lactobacillus* به عنوان جنس باکتریایی مفید سال هاست که به صورت پروبیوتیک مصرف می شود. هر چند لازم بذکر است که نتایج یک مطالعه مرور سیستماتیک نشان داده است که اثرات *Lactobacillus* بر وزن بستگی به گونه و سویه مصرفی دارد (۲۶).

آنالیزها بیان کرده اند که فراوانی *Bifidobacterium* و *Lactobacillus* با میزان دریافت فیبر ارتباط مثبت دارد. دریافت بالاتر فیبر با افزایش باکتری های اسیدلاکتیک شامل *Bifidobacterium* و *Lactobacillus* همراه است (۲۷). هر چند که بررسی دریافت های غذایی در این مطالعه، تفاوتی در میزان فیبر دریافتی بین دو گروه نشان نداد.

در این مطالعه تفاوتی از لحاظ لود باکتریایی *Fecalibacterium* در مدفوع دو گروه مشاهده نشد. Feng و همکارانش در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۴ در چین انجام دادند نیز تفاوتی در فراوانی این جنس باکتریایی بین افراد چاق و با وزن نرمال مشاهده نکردند (۲۸). هر چند برخلاف مشاهده ما، در برخی مطالعات اشاره شده است که فراوانی *Faecalibacterium prausnitzii* در افراد چاق پایین تر

است (۲۹). اختلافات در نتایج مطالعات را ناشی از تفاوت‌های روش‌های آزمایشگاهی، پردازش نمونه و تجزیه و تحلیل داده‌ها و یا اثر سبک زندگی شرکت کنندگان می‌توان دانست.

در مطالعه حاضر توزیع جنسی میان دو گروه چاق و با وزن نرمال تفاوتی نداشت و تفاوت سنی دو گروه در آنالیزها تعدیل گردید. مقایسه دریافت غذایی طولانی مدت شرکت کنندگان نشان داد که تنها دریافت پتاسیم و کلسیم میان دو گروه تفاوت معنی‌داری داشته است که تاثیر قابل توجهی بر ترکیب میکروبیوتای روده نمی‌تواند داشته باشد. همان‌طور که انتظار می‌رفت وضعیت کنترل گلیسمیک در گروه چاق نامساعد بود و غلظت تری‌گلیسرید و hsCRP در افراد چاق نسبت به افراد نرمال بالاتر بود.

در مطالعه حاضر بررسی میکروبیوتای روده با استفاده از روش qPCR انجام گرفته است. بررسی ترکیب میکروبیوتای روده به روش qPCR در کنار هزینه پایین آن، محدود به گروه‌های باکتریایی مورد انتخاب است و به‌طور غیرهدفمند نمی‌توان کلیه گونه‌های باکتریایی موجود در دستگاه گوارش را بین دو گروه مقایسه کرد. ولی در روش Next Generation Sequencing (NGS) می‌توان دید کاملی از ترکیب کلی میکروبیوتای روده و تنوع باکتریایی روده در کنار فراوانی نسبی باکتری‌های مختلف در رده‌های متفاوت داشت.

از نقاط قوت این مطالعه بررسی دریافت غذایی، میزان فعالیت بدنی و سایر صفات پایه شرکت کنندگان است که می‌تواند بر ترکیب میکروبیوتا موثر باشد. از جمله محدودیت‌های مطالعه حاضر حجم نمونه پایین گروه‌ها می‌باشد که در نتیجه امکان مقایسه ترکیب میکروبیوتای روده بین گروه‌های سنی و جنسی وجود

نداشت. یک مطالعه مقطعی بزرگ که به هدف شناسایی تاثیر فاکتورهای متفاوت بر ترکیب میکروبیوتای روده صورت گرفته، نشان داده است که بررسی اثر نمایه توده بدنی بر میکروبیوتای روده نیاز به حجم نمونه‌های بزرگ دارد (۳۰). بنابراین عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار برخی از شاخص‌ها میان دو گروه احتمالاً به دلیل توان آماری پایین مطالعه می‌باشد. انجام مطالعه جمعیتی بر روی قومیت‌های مختلف ایران و با در نظر گرفتن تمامی گروه‌های سنی، جنسی و وزنی شامل کمبود وزن، وزن نرمال، اضافه وزن و چاقی، دید شفاف‌تر و دقیق‌تری نسبت به میکروبیوتای روده ایرانیان به ما خواهد داد. بعلاوه بررسی میکروبیوتا را می‌توان در سطح عملکردی انجام داد و با بررسی متابولومیکس، ارتباطات واسطه‌ای میان میکروبیوتا و فیزیولوژی بدن را به‌دست آورد. لازم بذکر است که شناسایی متابولیت‌های ارتباط‌دهنده میکروبیوتا با کنترل وزن بدن، راهکاری برای کنترل چاقی در آینده و کشف داروهای جدید در این عرصه می‌باشد.

در این مطالعه فراوانی برخی از جنس‌های باکتریایی میکروبیوتای روده میان دو گروه چاق و با وزن نرمال تفاوت معنی‌داری داشت. این مساله لزوم بررسی‌های جمعیتی را برای تایید مشاهدات این مطالعه نشان می‌دهد. شناسایی تفاوت‌های میکروبیوتای روده افراد راه را برای رسیدن به اهداف پزشکی فردمحور هموار خواهد کرد.

## سپاسگزاری

از مؤسسه ملی توسعه تحقیقات علوم پزشکی ایران (نیماد) بابت حمایت مالی از این طرح سپاسگزاری می‌شود (کد طرح: ۹۴۲۰۲۲). بدین وسیله مراتب قدردانی و تشکر خود را از شرکت کنندگان این طرح بابت همکاری در انجام پروژه ابراز می‌داریم.

## References

1. Collaboration NRF. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *Lancet* 2016; 387(10026): 1377-1396.

2. Franks PW, McCarthy MI. Exposing the exposures responsible for type 2 diabetes and obesity. *Science* 2016; 354(6308): 69-73.
3. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444(7122): 1027-1031.
4. Clarke G, Stilling RM, Kennedy PJ, Stanton C, Cryan JF, Dinan TG. Minireview: Gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Mol Endocrinol* 2014; 28(8): 1221-1238.
5. Ejtahed HS, Soroush AR, Angoorani P, Larijani B, Hasani-Ranjbar S. Gut Microbiota as a Target in the Pathogenesis of Metabolic Disorders: A New Approach to Novel Therapeutic Agents. *Horm Metab Res* 2016; 48(6): 349-358.
6. Schwartz A, Taras D, Schafer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18(1): 190-195.
7. Armougom F, Henry M, Vialettes B, Raccach D, Raoult D. Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and *Methanogens* in anorexic patients. *PloS one* 2009; 4(9): e7125.
8. Million M, Angelakis E, Maraninchi M, Henry M, Giorgi R, Valero R, et al. Correlation between body mass index and gut concentrations of *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium animalis*, *Methanobrevibacter smithii* and *Escherichia coli*. *Int J Obes (Lond)* 2013; 37(11): 1460-1466.
9. Fernandes J, Su W, Rahat-Rozenbloom S, Wolever TM, Comelli EM. Adiposity, gut microbiota and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans. *Nutr Diabetes* 2014; 4(6): e121.
10. Rad SS, Nikkhah A, Orvatinia M, Ejtahed HS, Sarhangi N, Jamaldini SH, Khodayari N, Meybodi HR, Hasanzad M. Gut microbiota: a perspective of precision medicine in endocrine disorders. *J Diabetes Metab Disord* 2020; 1-8.
11. Ejtahed HS, Hasani-Ranjbar S, Larijani B. Human Microbiome as an approach to personalized medicine. *Altern Ther Health Med* 2017; 23(6): 8-9.
12. Momenan AA, Delshad M, Sarbazi N, Rezaei Ghaleh N, Ghanbarian A, Azizi F. Reliability and validity of the Modifiable Activity Questionnaire (MAQ) in an Iranian urban adult population. *Arch Iran Med* 2012; 15(5): 279-282.
13. Esfahani FH, Asghari G, Mirmiran P, Azizi F. Reproducibility and relative validity of food group intake in a food frequency questionnaire developed for the Tehran Lipid and Glucose Study. *J Epidemiol* 2010; 20(2): 150-158.
14. Kanno T, Matsuki T, Oka M, Utsunomiya H, Inada K, Magari H, et al. Gastric acid reduction leads to an alteration in lower intestinal microflora. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 381(4): 666-670.
15. Rinttila T, Kassinen A, Malinen E, Krogus L, Palva A. Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR. *J Appl Microbiol* 2004; 97(6): 1166-1177.
16. Schneeberger M, Everard A, Gomez-Valades AG, Matamoros S, Ramirez S, Delzenne NM, et al. *Akkermansia muciniphila* inversely correlates with the onset of inflammation, altered adipose tissue metabolism and metabolic disorders during obesity in mice. *Sci Rep* 2015; 5: 16643.

17. Gregory KE, LaPlante RD, Shan G, Kumar DV, Gregas M. Mode of Birth Influences Preterm Infant Intestinal Colonization With *Bacteroides* Over the Early Neonatal Period. *Advances in neonatal care: official Journal of the National Association of Neonatal Nurses* 2015; 15(6): 386-393.
18. Fitzgerald CB, Shkoporov AN, Sutton TDS, Chaplin AV, Velayudhan V, Ross RP, et al. Comparative analysis of *Faecalibacterium prausnitzii* genomes shows a high level of genome plasticity and warrants separation into new species-level taxa. *BMC Genomics* 2018; 19(1): 931.
19. Bartosch S, Fite A, Macfarlane GT, McMurdo ME. Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70(6): 3575-3581.
20. Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, et al. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PloS one* 2010; 5(2):e9085.
21. Yassour M, Lim MY, Yun HS, Tickle TL, Sung J, Song YM, et al. Sub-clinical detection of gut microbial biomarkers of obesity and type 2 diabetes. *Genome Med* 2016; 8(1): 17.
22. Haro C, Garcia-Carpintero S, Alcalá-Díaz JF, Gomez-Delgado F, Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, et al. The gut microbial community in metabolic syndrome patients is modified by diet. *J Nutr Biochem* 2016; 27: 27-31.
23. Moran-Ramos S, Lopez-Contreras BE, Canizales-Quinteros S. Gut Microbiota in Obesity and Metabolic Abnormalities: A Matter of Composition or Functionality? *Arch Med Res* 2017; 48(8): 735-753.
24. Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, Kamada N, Hickey CA, Wolter M, et al. A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell* 2016; 167(5): 1339-1353.
25. Radilla-Vazquez RB, Parra-Rojas I, Martinez-Hernandez NE, Marquez-Sandoval YF, Illades-Aguir B, Castro-Alarcon N. Gut Microbiota and Metabolic Endotoxemia in Young Obese Mexican Subjects. *Obes Facts* 2016; 9(1): 1-11.
26. Ejtahed HS, Angoorani P, Soroush AR, Atlasi R, Hasani-Ranjbar S, Mortazavian AM, et al. Probiotics supplementation for the obesity management; A systematic review of animal studies and clinical trials. *J Funct Foods* 2019; 52: 228-242.
27. Mai V, McCrory QM, Sinha R, Gleib M. Associations between dietary habits and body mass index with gut microbiota composition and fecal water genotoxicity: an observational study in African American and Caucasian American volunteers. *Nutr J* 2009; 8: 49.
28. Feng J, Tang H, Li M, Pang X, Wang L, Zhang M, et al. The abundance of fecal *Faecalibacterium prausnitzii* in relation to obesity and gender in Chinese adults. *Arch Microbiol* 2014; 196(1): 73-77.
29. Liu R, Hong J, Xu X, Feng Q, Zhang D, Gu Y, et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention. *Nat Med* 2017; 23(7): 859-868.
30. Falony G, Joossens M, Vieira-Silva S, Wang J, Darzi Y, Faust K, et al. Population-level analysis of gut microbiome variation. *Science* 2016; 352(6285): 560-564.