

## اثر دریافت مکمل پروبیوتیک بر سطوح گلوکز، مقاومت انسولینی و شاخص‌های التهابی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو: کارآزمایی بالینی شاهددار تصادفی شده

فاطمه احمدیان<sup>۱</sup>، هانیه سادات اجتهد<sup>۲</sup>، دکتر مریم جوادی<sup>۳</sup>، الهام رزم‌پوش<sup>۴</sup>، دکتر پروین میرمیران<sup>۵</sup>، دکتر فریدون عزیزی<sup>۶</sup>

۱) گروه تغذیه بالینی و رژیم درمانی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، ۲) مرکز تحقیقات چاقی و عادات غذایی، پژوهشکده علوم سلولی- مولکولی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، ۳) مرکز تحقیقات رشد کودکان، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران، ۴) گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران، ۵) مرکز تحقیقات تغذیه در بیماری‌های غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، ۶) مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، ولنجک، خیابان یمن، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دکتر پروین میرمیران؛  
e-mail: mirmiran@endocrine.ac.ir , parvin.mirmiran@sbm.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** التهاب سیستمیک در بروز عوارض ناشی از دیابت نقش عمده‌ای را برعهده دارد. پروبیوتیک‌ها به دلیل دارا بودن اثرات ضد التهابی می‌توانند در درمان عوارض ناشی از دیابت مورد استفاده قرار گیرند. مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تاثیر مصرف مکمل پروبیوتیک بر روی سطوح گلوکز خون، مقاومت انسولینی و شاخص‌های التهابی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شد. مواد و روش‌ها: این کارآزمایی بالینی شاهددار تصادفی شده دوسوکور بر روی ۵۹ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو ۲۵ تا ۶۵ سال مراجعه‌کننده به بیمارستان طالقانی تهران صورت گرفت. افراد به طور تصادفی به دو گروه دریافت‌کننده پروبیوتیک و دارونما تقسیم شدند و روزانه ۲ کپسول به مدت ۶ هفته دریافت کردند. نمونه‌های خونی ناشتا در شروع و پایان مداخله برای ارزیابی سطوح گلوکز، مقاومت انسولینی و شاخص‌های التهابی بیماران جمع‌آوری شد. یافته‌ها: در این مطالعه، میانگین سطوح گلوکز در گروه دریافت‌کننده مکمل پروبیوتیک در طول مداخله، از لحاظ آماری کاهش معنی‌داری داشت ( $P=0/001$ ) و این کاهش به میزان ۹ درصد بود ( $132/7 \pm 34$  در مقابل  $146/5 \pm 44$ ). براساس یافته‌های تحلیل کوواریانس، سطوح گلوکز خون ناشتا و مقاومت انسولین میان دو گروه از لحاظ آماری کاهش معنی‌داری را نشان داد، ولی تغییرات سطوح سرمی شاخص‌های التهابی  $IL-6$  و  $TNF\alpha$  پس از مداخله بین دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت. نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد مصرف مکمل پروبیوتیک، از طریق کاهش سطوح گلوکز خون و مقاومت انسولینی، می‌تواند به کنترل دیابت کمک کند.

**واژگان کلیدی:** پروبیوتیک، دیابت نوع دو، مقاومت انسولینی، گلوکز خون ناشتا، التهاب

دریافت مقاله: ۹۵/۷/۷ - دریافت اصلاحیه: ۹۶/۳/۳۱ - پذیرش مقاله: ۹۶/۴/۴

### مقدمه

می‌شود تا سال ۲۰۳۵، تعداد آن‌ها به ۵۹۲ میلیون نفر خواهد رسید.<sup>۱</sup> بررسی‌های انجام شده در ایران نشان می‌دهد حدود ۷/۷ درصد از بزرگسالان ۲۵ تا ۶۴ سال، به بیماری دیابت مبتلا هستند.<sup>۲</sup> با افزایش سطوح گلوکز خون، اکسیداسیون خودبه خودی قندها رخ می‌دهد و این امر موجب تولید

دیابت نوع دو، اختلال متابولیکی است که با افزایش سطوح گلوکز خون، مقاومت انسولین و یا کمبود نسبی انسولین همراه است.<sup>۱</sup> بر اساس آخرین آمارها، ۳۸۲ میلیون نفر در سراسر جهان به دیابت مبتلا هستند و پیش بینی

پروبیوتیک‌ها در افراد مختلف، انجام مطالعات انسانی ویژه‌ی هر منطقه جغرافیایی و بومی ضروری به نظر می‌رسد. لازم به ذکر است مطالعات قبلی، بر روی گونه‌ها و سویه‌های مختلف باکتری‌های پروبیوتیک انجام گرفته‌اند که با توجه به تفاوت در اثرات این سویه‌ها، و تفاوت‌های دیگر شامل طول مدت مطالعه، شرایط بیماران، مشخصات پایه‌ی بیماران و نوع حامل پروبیوتیک و عدم نتیجه‌گیری قطعی از سوی آن‌ها، این پژوهش با هدف بررسی تاثیر پروبیوتیک‌ها بر سطوح گلوکز، مقاومت انسولین و شاخص‌های التهابی بیماران مبتلا به دیابت نوع دو انجام گرفت تا بتوان با استفاده از آن به بهبود وضعیت بیماران دیابتی نوع دو کمک کرد.

### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به روش کارآزمایی بالینی شاهددار تصادفی شده دوسوکور انجام گرفت و به تصویب کمیته‌ی اخلاق پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه شهید بهشتی با کد C/۱۲۹۵/۲۵۰ قرار گرفت. کد کارآزمایی بالینی این طرح IRCT2013100714925N1 است. جامعه‌ی آماری این پژوهش بیماران دیابتی نوع دو بودند که به مرکز پزشکی، آموزشی و درمانی آیت‌الله طالقانی شهر تهران مراجعه کردند. نمونه‌گیری به روش آسان و غیرتصادفی از بین این مراجعه‌کنندگان انجام گرفت. معیارهای ورود به پژوهش شامل ابتلا به دیابت نوع دو به مدت یک تا پانزده سال، دامنه‌ی سنی ۲۵ تا ۶۵ سال، عدم استفاده از انسولین و مکمل‌های ویتامینی، عدم بارداری و شیردهی، و عدم ابتلا به بیماری‌های مزمن کلیوی، کبدی، ریوی و بیماری‌های مزمن یا حاد التهابی، بیماری درجه‌ی قلب، سندرم روده‌ی کوتاه، آلرژی و نقص سیستم ایمنی (بیماری‌های اتوایمیون) بود. معیارهای خروج از مطالعه عبارت از حساسیت به کپسول‌های پروبیوتیک یا دارونما، تغییر میزان مصرف داروهای دیابت، مصرف داروهای ضدالتهابی استروئیدی نظیر پردنیزولون، و مصرف کمتر از ۹۰ درصد کپسول‌های پروبیوتیک یا دارونما بودند.

در ابتدا هدف و روش اجرای پژوهش به بیماران توضیح داده شد و رضایت‌نامه‌ی کتبی از آن‌ها دریافت شد. ۶۰ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو وارد مطالعه شدند که از این تعداد اطلاعات مربوط به ۵۹ نفر مورد تحلیل آماری شد. یک نفر به دلیل ابتلا به بیماری حاد التهابی، از بررسی کنار گذاشته شد. بر اساس نتایج پژوهش محمدشاهی و همکارانش<sup>۲۱</sup> با در

گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون پیشرفته (AGEs<sup>۱</sup>) می‌شود که بدن را در شرایط استرس اکسیداتیو و التهاب قرار می‌دهند و مقاومت به انسولین را موجب می‌شوند که به نوبه‌ی خود نقش مهمی در بروز دیابت نوع دو و بیماری‌های قلبی عروقی ناشی از آن دارد.<sup>۴-۶</sup> از طرفی نامتعادل بودن الگوی متابولیسمی و افزایش سطوح شاخص‌های التهابی در بیماران دیابتی نشان داده شده است و سطوح بالای التهاب نقش مهمی را در پاتوژنز عوارض ماکروواسکولار و میکروواسکولار در افراد دیابتی ایفا می‌کند.<sup>۷</sup>

پروبیوتیک‌ها میکروارگانسیم‌های زنده‌ای هستند که در صورتی که به میزان کافی تجویز شوند، اثرات سودمندی را برای میزبان به همراه دارند.<sup>۸</sup> کاهش التهاب،<sup>۹</sup> پیشگیری و یا کنترل اسهال، بیوست، عدم تحمل لاکتوز، سندرم روده‌ی تحریک‌پذیر و دیابت قندی<sup>۱۰</sup> از فواید پروبیوتیک‌ها به شمار می‌آیند. تاکنون در چندین پژوهش حیوانی اثر پروبیوتیک‌ها در کاهش گلوکز خون و به تاخیر انداختن مشکلات و عوارض دیابت در موش‌های دیابتی گزارش شده است.<sup>۱۱-۱۵</sup> چندین مطالعه‌ی انسانی هم به اثرات کاهش‌دهنده‌ی گلوکز خون توسط پروبیوتیک‌ها اشاره کرده‌اند،<sup>۱۶-۱۹</sup> اما مطالعات اندکی عوامل التهابی را مورد بررسی قرار داده‌اند.<sup>۱۶،۲۰،۲۱</sup> تاثیرات سودمند پروبیوتیک‌ها روی سطوح گلوکز پلاسما ممکن است در نتیجه‌ی تغییر میکروبی دستگاه گوارش،<sup>۲۲</sup> اصلاح عدم تعادل میکروفلور روده‌ای از طریق افزایش باکتری‌های گرم مثبت،<sup>۲۳</sup> بهبود عملکرد سد دفاعی روده<sup>۲۴</sup> و اثرات تنظیم‌کننده ایمنی آن‌ها<sup>۲۵</sup> باشد. همچنین پروبیوتیک‌ها از راه ممانعت از تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و افزایش زیست‌دسترسی به داروهای دیابتی می‌توانند در کنترل گلوکز خون موثر باشند.<sup>۱۲</sup> گونه‌های خاصی از پروبیوتیک‌ها می‌توانند سطوح اندوتوکسین‌های داخل روده‌ای را کاهش دهند و باعث بهبود عملکرد سد مخاطی روده شوند و از این طریق غلظت لیپوپلی‌ساکاریدها و سیتوکین‌های پیش‌التهابی را در گردش خون کاهش دهند و با کاهش التهاب، مقاومت به انسولین را کاهش دهند.<sup>۲۶،۲۷</sup>

با توجه به شیوع روزافزون دیابت نوع دو و بالا بودن عوامل التهابی در این بیماران و هم‌چنین تفاوت در فلور طبیعی افراد بومی در مناطق مختلف و تفاوت اثرگذاری

جهت اطمینان از مصرف کپسول‌ها، هفته‌ای یک بار با بیماران تماس تلفنی گرفته شد و در مدت ملاقات‌های هفتگی، بیماران مورد پی‌گیری قرار گرفتند. لازم به ذکر است کپسول‌ها با عنوان Familact از شرکت زیست تخمیر تهیه شدند.

اطلاعات مربوط به دریافت‌های غذایی بیماران توسط سه روز پرسش‌نامه‌ی یادآمد ۲۴ ساعته‌ی خوراک در ابتدا و انتهای پژوهش، ثبت شد و توسط نرم‌افزار Nutritionist نسخه‌ی ۴ مورد تحلیل قرار گرفت و میزان دریافت انرژی، درشت‌مغذی‌ها، فیبر، کلسترول، ویتامین E و C بیماران به دست آمد.

نمونه‌های خونی وریدی بیماران در ابتدا و انتهای پژوهش، هر بار به میزان ۵ میلی‌لیتر در حالت ۱۰ ساعت ناشتایی گرفته شد، در میکروتیوپ‌های یک میلی‌لیتری ریخته شد و تا زمان انجام آزمایش‌ها در فریزر -۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد ذخیره شد. سطوح گلوکز خون با استفاده از روش کالریمتریک بر اساس روش آنزیمی (کیت گلوکز، شرکت پارس آزمون، ایران) و دستگاه اتوآنالیزر (Alcyon 300، آمریکا-فرانسه) اندازه‌گیری شد. غلظت انسولین به روش الایزا (Intraassay CV=%۴/۷) و با دقت Sensitivity=%۰/۲ میکرو واحد بر میلی‌لیتر سنجیده شد. برای ارزیابی مقاومت انسولینی نیز از شاخص HOMA-IR<sup>iii</sup> استفاده شد.

مقاومت انسولینی = [غلظت گلوکز ناشتا (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) \* غلظت انسولین ناشتا (میکروواحد در میلی‌لیتر)] / ۴۰۵

سطح سرمی TNF- $\alpha$ <sup>iv</sup> با روش الایزا و با استفاده کیت‌های شرکت Diaclone فرانسه، (Intraassay CV=%۶/۳) و با دقت Sensitivity= ۸ پیکوگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. سطح سرمی IL-6<sup>v</sup> نیز با روش الایزا با استفاده از کیت‌های شرکت Diaclone فرانسه، (Intraassay CV=%۶/۸) و با دقت Sensitivity= ۲ پیکوگرم بر میلی‌لیتر سنجیده شد.

#### تحلیل آماری

داده‌ها به صورت میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) و فراوانی (درصد) به ترتیب برای متغیرهای کمی و کیفی نشان داده شده‌اند. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون

نظر گرفتن توان ۸۰ درصد و سطح اطمینان ۹۵ درصد و براساس رابطه  $m = (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 (S_{12} + S_{22}) / (m_1 - m_2)^2$  حجم نمونه برابر با ۲۶ نفر (۲۵/۹) در هر گروه به دست آمد که با در نظر گرفتن ریزش احتمالی نمونه‌ها در مدت پی‌گیری، حجم نمونه به ۳۰ نفر در هر گروه افزایش یافت.

ورود افراد به دو گروه بر اساس تصادفی سازی بلوکی بود که افراد براساس جنسشان به یکی از دو گروه مداخله یا دارونما تقسیم شدند. بیماران در ابتدای پژوهش مصاحبه شدند و لیستی در مورد مشخصات عمومی آن‌ها تکمیل شد. وزن افراد با استفاده از ترازوی سکا، با دقت ۱۰۰ گرم، بدون کفش، و قد افراد با استفاده از قدسنج سکا با دقت ۰/۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. سپس نمایه‌ی توده‌ی بدن (BMI<sup>i</sup>) افراد با استفاده از فرمول وزن به کیلوگرم تقسیم بر بر مجذور قد به متر محاسبه شد. از بیماران خواسته شد فعالیت فیزیکی و رژیم غذایی خود را در مدت پژوهش تغییر ندهند و از مکمل‌های ویتامینی استفاده نکنند. سطوح فعالیت بدنی با استفاده از پرسش‌نامه‌ی فعالیت بدنی (MAQ) که اعتبار و پایایی این پرسش‌نامه برای بزرگسالان تهرانی تایید شده است، مشخص شد.<sup>۸</sup> در طی پژوهش، تا حد امکان در دوز و نوع داروهای مصرفی بیماران تغییری ایجاد نشد. در طول ۶ هفته‌ی مطالعه، افراد گروه مداخله روزانه ۲ عدد کپسول پروبیوتیک (دارای ۷ گونه از باکتری‌ها: لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلیوس، لاکتوباسیلوس بولگاریگوس، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، بیفیدوباکتریوم بروه، بیفیدوباکتریوم لانگوم و استرپتوکوکوس ترموفیلوس و پره بیوتیک فروکتوالیگوساکارید، به علاوه مالتودکسترین، لاکتوز، آئروزول، منیزیم استتارات و تالک) و افراد گروه دارونما روزانه ۲ عدد کپسول دارونما (دارای مواد مشابه، بدون باکتری‌های پروبیوتیک و فروکتوالیگوساکارید) مصرف کردند. به طور میانگین دوز کلی ۷ سویه،  $10^9$  cfu/g<sup>ii</sup> در هر هر دو کپسول پروبیوتیک بود. کپسول‌های پروبیوتیک به جز این که دارای باکتری‌های پروبیوتیک بودند، هیچ تفاوتی با کپسول‌های دارونما نداشتند و بیماران از این موضوع که در چه گروهی قرار داشتند، آگاه نبودند. کپسول‌ها در سه نوبت، در اختیار بیماران قرار گرفت، شامل ابتدای مطالعه و هفته‌های ۲ و ۴، و محقق نیز از نوع کپسول‌ها آگاه نبود.

iii -Homeostatic Model Assessment of Insulin

iv -Tumor Necrosis Factor-alpha

v -Interleukin 6

i -Body Mass Index

ii -Colony Forming Unit per gram

مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ انجام شد.

### یافته‌ها

این پژوهش روی ۵۹ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو (۳۰ نفر دریافت‌کننده‌ی مکمل پروبیوتیک و ۲۹ نفر دریافت‌کننده‌ی دارونما) انجام شد. جدول ۱، مشخصات عمومی بیماران دیابتی را به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. بین گروه‌های پژوهش از نظر توزیع متغیرهای مخدوش‌گر جنس، مدت زمان ابتلا به دیابت، فعالیت بدنی و مصرف دارو در شروع مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت. همچنین از نظر میانگین وزن و نمایه‌ی توده‌ی بدنی، بین دو گروه اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد، ولی از نظر متغیر سن، بین دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت (P=۰/۰۱۸).

کلوروف-اسمیرنوف ارزیابی شد و در مورد داده‌هایی که توزیع غیر نرمال داشتند، تبدیل لگاریتمی انجام شد تا توزیع داده‌ها نرمال شود. برای متغیرهای با توزیع غیرنرمال نظیر سن و دریافت کربوهیدرات از میانه و دامنه‌ی میان چارکی استفاده شد و برای متغیرهای بیوشیمیایی گلوکز خون و اینترلوکین ۶ که توزیع غیرنرمال داشتند، مقادیر میانگین ژئومتریک و دامنه‌ی اطمینان ۹۵ درصد گزارش شد. جهت مقایسه‌ی متغیرهای کیفی مخدوش‌کننده‌ی بین دو گروه از آزمون کای دو استفاده شد. به منظور مقایسه‌ی میانگین متغیرهای بیوشیمیایی پس از انجام مداخله، بین دو گروه مداخله و شاهد با تعدیل عوامل مداخله‌گر و اندازه‌گیری پایه‌ی متغیرها، تحلیل کوواریانس به کار رفت. سن، تغییرات دریافت اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه و ویتامین E به عنوان عوامل مخدوش‌گر در نظر گرفته شدند. برای مقایسه‌ی میانگین متغیرهای بیوشیمیایی پیش و پس از انجام مداخله در داخل هر گروه از آزمون تی زوجی و برای مقایسه‌ی میانگین آن‌ها بین دو گروه از آزمون تی مستقل استفاده شد.

جدول ۱ - مشخصات عمومی شرکت‌کنندگان در دو گروه مورد مطالعه در زمان شروع مداخله\*

مشخصات عمومی بیماران دیابتی نوع ۲	گروه پروبیوتیک (۳۰=تعداد)	گروه دارونما (۲۹=تعداد)	مقدار P
سن (سال) <sup>†</sup>	۵۸/۵ (۵۲-۶۴)	۶۲/۰ (۵۷-۶۵)	۰/۰۱۸
جنس			۰/۳۶
مرد	۱۳ (٪۴۳/۳)	۱۶ (٪۵۵/۲)	
وزن (کیلوگرم)	۷۵/۲۴±۱۶	۷۴/۳۴±۹	۰/۷۹
نمایه‌ی توده‌ی بدن (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۷/۶۷±۴	۲۷/۱۶±۴	۰/۶۳
فعالیت بدنی			۰/۵۲
کم	۱۱ (٪۳۶/۷)	۱۳ (٪۴۴/۸)	
متوسط	۱۹ (٪۶۳/۳)	۱۶ (٪۵۵/۲)	
مصرف دارو			۰/۹
دارد (متفورمین، گلی‌بنگلامید یا هر دو)	۱۴ (٪۴۶/۷)	۱۴ (٪۴۸/۳)	
ندارد	۱۶ (٪۵۳/۳)	۱۵ (٪۵۱/۷)	
مدت زمان ابتلا به دیابت (سال)	۶/۱۶±۳	۵/۸۹±۳	۰/۷۳

\*برای مقایسه‌ی متغیرهای کمی از آزمون t و متغیرهای کیفی از کای دو استفاده شد. اعداد، برای متغیرهای کمی میانگین±انحراف معیار و برای متغیرهای کیفی تعداد (درصد) هستند. † برای متغیر غیرنرمال سن، از میانه و دامنه‌ی میان چارکی استفاده شد.

غیراشباع با یک باند دوگانه، کلسترول، فیبر و ویتامین سی در ابتدای مطالعه بین دو گروه مصرف‌کننده‌ی پروبیوتیک و دارونما تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت و فقط میانگین ویتامین E و اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند

جدول ۲، دریافت‌های غذایی را پیش و پس از مداخله، در دو گروه نشان می‌دهد. مقایسه‌ی رژیم غذایی بیماران در ابتدای پژوهش مشخص کرد از لحاظ دریافت انرژی، کربوهیدرات، پروتئین، اسید چرب اشباع، اسید چرب

دوگانه در دو گروه تفاوت آماری معنی‌دار داشت (در همه موارد  $P < 0/05$ ). مقایسه‌ی رژیم غذایی بیماران پیش و پس از مداخله نشان داد که میانگین مصرف انرژی، اسیدهای چرب اشباع، اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه و فیبر در دو گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل و شاهد در مدت پژوهش افزایش معنی‌داری داشت (در همه موارد  $P < 0/05$ ).

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار دریافت‌های غذایی در گروه مداخله و دارونما

متغیرها	پروبیوتیک (۳۰-تعداد)	دارونما (۲۹-تعداد)	P-Value
انرژی (کیلوکالری)			
قبل از مداخله	۱۹۶۶±۴۵۴	۲۰۰۹±۴۱۵	۰/۷
بعد از مداخله	۱۸۵۱±۳۰۹	۲۰۴۴±۳۷۸	۰/۰۳
$P^*$	۰/۱۲	۰/۵۴	
کربوهیدرات (گرم) †			
قبل از مداخله	۲۴۲ (۱۹۲-۲۹۵)	۲۴۶ (۱۷۶-۲۷۷)	۰/۹
بعد از مداخله	۲۲۳ (۱۸۹-۲۵۳)	۲۴۰ (۱۹۴-۲۹۰)	۰/۳
$P^*$	۰/۲۸	۰/۹۵	
پروتئین (گرم)			
قبل از مداخله	۸۰±۳۷	۷۳±۲۵	۰/۴
بعد از مداخله	۷۴±۲۶	۸۳±۳۶	۰/۲
$P^*$	۰/۴۷	۰/۱۹	
چربی (گرم)			
قبل از مداخله	۷۲±۳۶	۹۳±۳۰	۰/۰۱
بعد از مداخله	۷۱±۳۰	۸۲±۲۲	۰/۱
$P^*$	۰/۸۵	۰/۱۲	
اسید چرب اشباع (گرم)			
قبل از مداخله	۲۰±۸	۲۱±۷	۰/۶
بعد از مداخله	۱۸±۵	۲۵±۱۶	۰/۰۲
$P^*$	۰/۱۳	۰/۱۸	
اسید چرب غیر اشباع با یک باند دوگانه (گرم)			
قبل از مداخله	۱۷/۳۲±۸/۹۵	۲۰±۸	۰/۱
بعد از مداخله	۱۵/۸۶±۶/۳۵	۲۰±۷	۰/۰۱
$P^*$	۰/۳۵	۰/۸۱	
اسید چرب غیر اشباع با چند باند دوگانه (گرم)			
قبل از مداخله	۲۴±۲۴	۴۳±۲۳	۰/۰۰۳
بعد از مداخله	۳۰±۲۰	۳۳±۱۴	۰/۵
$P^*$	۰/۲۱	۰/۰۴	
کلسترول (گرم)			
قبل از مداخله	۲۰۸±۱۴۵	۱۹۵±۱۰۸	۰/۷
بعد از مداخله	۲۰۹±۱۴۱	۲۰۸±۱۳۹	۰/۹
$P^*$	۰/۹۵	۰/۷۲	
فیبر (گرم)			
قبل از مداخله	۱۱±۷	۹±۵	۰/۲
بعد از مداخله	۱۱±۶	۷±۴	۰/۰۰۶
$P^*$	۰/۹۴	۰/۰۰۴	
ویتامین E (میلی گرم)			
قبل از مداخله	۱۲±۱۲	۱۹±۱۳	۰/۰۳
بعد از مداخله	۱۶±۱۰	۱۵±۷	۰/۹
$P^*$	۰/۱۲	۰/۱۶	
ویتامین C (میلی گرم)			
قبل از مداخله	۵۹±۵۰	۵۶±۵۰	۰/۸
بعد از مداخله	۸۲±۹۷	۸۳±۹۳	۰/۹
$P^*$	۰/۱۸	۰/۱۲	

Independent Samples t test †. Paired Samples t test ‡. برای متغیرها با توزیع غیرنرمال، از میانه و دامنه‌ی بین چارکی استفاده شد.

میانگین و انحراف معیار شاخص‌های متابولیسم گلوکز و مقاومت انسولینی در دو گروه مورد بررسی، پیش و پس از مداخله در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار شاخص‌های متابولیسم گلوکز و شاخص‌های التهابی سرم در ۲ گروه مداخله و دارونما

مقدار p	دارونما (تعداد=۲۹)	پروبیوتیک (تعداد=۳۰)	متغیرها
			قند خون ناشتا <sup>†</sup> (میلی گرم بر دسی‌لیتر)
†. /۸۷	§۱۴۳ (۱۳۳-۱۶۰)	§۱۴۱ (۱۳۰-۱۶۳)	قبل از مداخله
‡. /۰.۵	§۱۴۳ (۱۳۴-۱۶۲)	§۱۲۹ (۱۲۰-۱۴۵)	بعد از مداخله
	۰/۰۸۱	۰/۰۰۱	P*
			انسولین ناشتای سرم (میکروواحد بر میلی‌لیتر)
†. /۹۴	۱۰/۵±۶	۱۰/۳±۶	قبل از مداخله
‡. /۶	۱۰/۵±۵	۱۰/۵±۵	بعد از مداخله
	۰/۹۸	۰/۷۳	P*
			شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)
†. /۸۱	۳/۶۵±۲	۳/۷۹±۳	قبل از مداخله
‡. /۰.۵	۳/۷۸±۲	۳/۳۹±۲	بعد از مداخله
	۰/۶۷	۰/۱۵	P*
			TNF-α سرم (پیکوگرم بر دسی‌لیتر)
†. /۸۸	۱۴/۷۶±۵/۱۳	۱۴/۶۴±۵/۶۶	قبل از مداخله
‡. /۲۸	۱۴/۳۹±۴/۳	۱۶/۱۱±۸/۴۲	بعد از مداخله
	۰/۵۸	۰/۳۷	P*
			IL-6 <sup>†</sup> سرم (پیکوگرم بر دسی‌لیتر)
†. /۴۹	§۶/۹۳ (۶-۹)	§۷/۵ (۶-۱۱)	قبل از مداخله
‡. /۵۵	§۷/۸۳ (۶-۱۲)	§۷/۶۴ (۶-۱۰)	بعد از مداخله
	۰/۲۲	۰/۷۶	P*

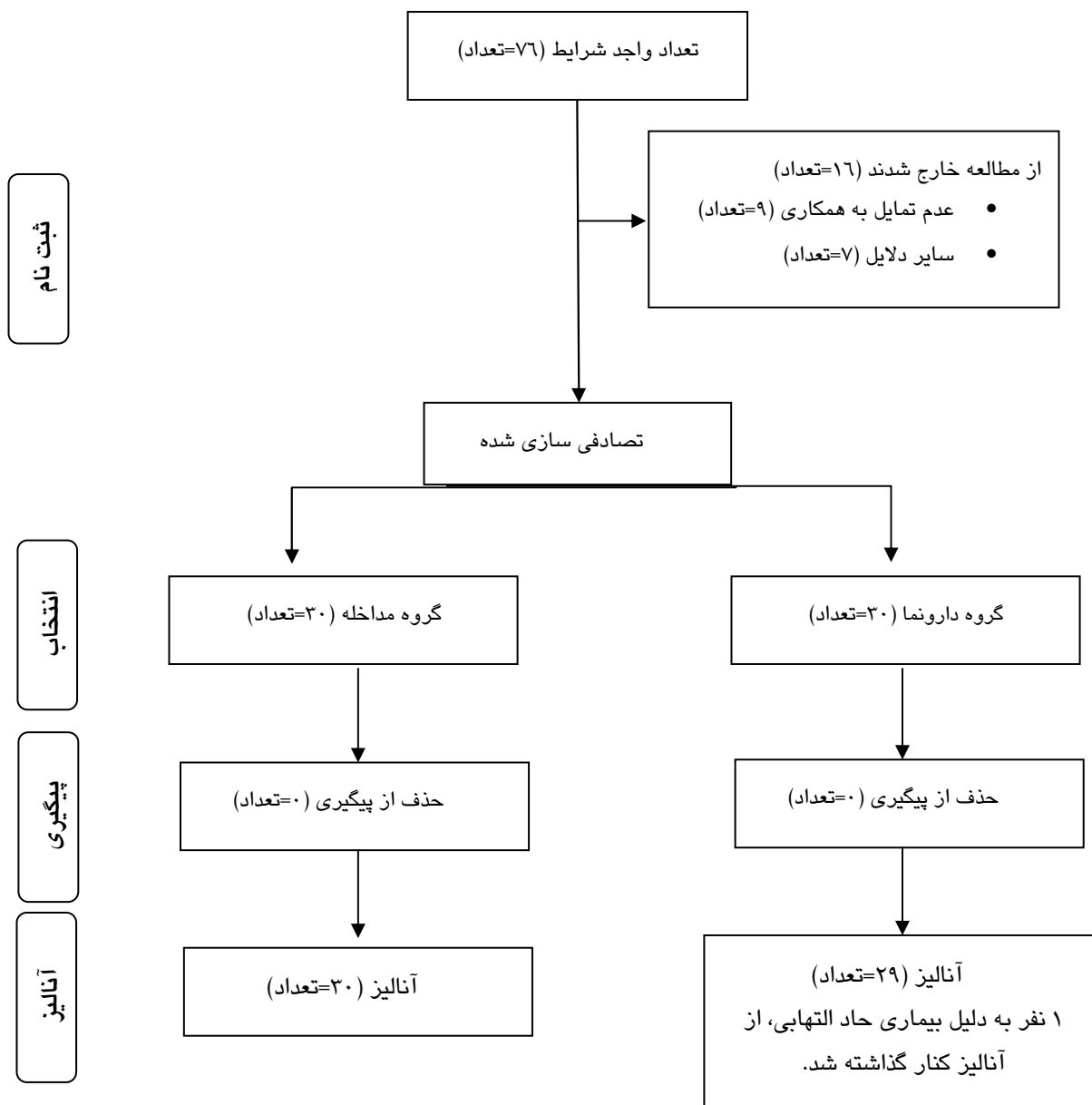
اعداد جدول میانگین±انحراف معیار را نشان می‌دهد.\* Paired Samples t test, † Independent Samples t test, ‡ ANCOVA تعدیل شده به مقادیر پایه‌ی همان متغیر، § برای متغیرهای گلوکز خون و اینترلوکین ۶ با توزیع غیرنرمال، تبدیل لگاریتمی انجام گرفت و مقادیر گزارش شده مربوط به میانگین ژئومتریک و دامنه اطمینان ۹۵ درصد است.

در گروه شاهد معنی‌دار نشد ( $P>0/05$ ). سطوح گلوکز خون در گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل پروبیوتیک به میزان ۹ درصد کاهش داشت. (پیش از مداخله  $146/5 \pm 44$  و پس از مداخله  $132/7 \pm 34$ ). تغییرات سطوح گلوکز خون ناشتا و مقاومت انسولین HOMA-IR پس از مداخله با تعدیل مقادیر پایه و مخدوش‌گرهای سن و تغییرات دریافت اسید چرب با چند

غلظت سرمی گلوکز خون ناشتا، انسولین ناشتا و شاخص مقاومت به انسولین HOMA-IR بین دو گروه دریافت‌کننده‌ی پروبیوتیک و دارونما در ابتدای مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. میانگین سطوح گلوکز در گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل پروبیوتیک در طول مداخله، به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $P=0/001$ ), در حالی که این تغییرات

میانگین و انحراف معیار شاخص‌های التهابی سرم در دو گروه مداخله و شاهد، در جدول ۴ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، از نظر غلظت سرمی شاخص‌های التهابی IL-6 و TNF $\alpha$  میان دو گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل و دارونما در ابتدا و انتهای مداخله، تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت.

پیوند دوگانه و ویتامین E میان دو گروه مداخله و شاهد از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $P=0/05$ ). مقایسه‌ی میانگین سطوح انسولین ناشتا و شاخص مقاومت به انسولین HOMA-IR در گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل پروبیوتیک و دارونما در طول مداخله، تفاوت آماری معنی‌داری نداشت.



شکل ۱- فرایند اجرای مطالعه

## بحث

(Clostridia) می‌شود و از این رو می‌تواند اثرات مفیدی بر کنترل قند خون دیابتی‌ها داشته باشد.<sup>۲۰</sup>

در مطالعه‌ی حاضر از ۷ سویه‌ی مختلف، شامل ۳ گونه لاکتوباسیلوس (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus Lactobacillus Bulgaricus acidophilus*، *Bifidobacterium rhamnosus*)، ۲ سویه بیفیدوباکتریم (*Bifidobacterium longum*، *Brev*) و ۱ سویه استرپتوکوکوس (*Thermophilus Streptococcus*) و در دوز روزانه  $10^9$  CFU در هر ۲ کپسول استفاده شد.

اولین مطالعه‌ی انسانی در مورد اثرات پروبیوتیک‌ها بر گلوکز خون و متابولیسم گلوکز روی مادران باردار صورت گرفت و مشخص کرد دریافت کپسول پروبیوتیک حاوی  $10^{11}$  cfu از لاکتوباسیلوس رامنوس GG و بیفیدوباکتریوم لاکتیس BB-12 سبب کاهش غلظت قند خون ناشتا، انسولین و میزان مقاومت انسولینی در گروه مداخله می‌شود.<sup>۲۱</sup> در مطالعه‌ی اجتهاد و همکارانش، مصرف ۳۰۰ گرم ماست غنی شده با دو گونه پروبیوتیک *L. acidophilus La* و *B. lactis Bb* و در هر گرم  $10^6 \times 600$  CFU به مدت ۶ هفته در بیماران دیابتی کاهش معنی‌داری را در میزان سطوح گلوکز خون و هموگلوبین گلیکوزیله نشان داد.<sup>۱۷</sup>

نتیجه‌ی مطالعه‌ی حاضر نیز، در راستای این مطالعات، کاهش معنی‌داری را در سطوح گلوکز خون در گروه پروبیوتیک نشان داد، اما تغییرات غلظت انسولین معنی‌دار نبود. از طرفی تنها مطالعه‌ای که از لحاظ سویه‌های باکتریایی مکمل پروبیوتیک، مشابه با سویه‌های به کار رفته در پژوهش حاضر بود، مطالعه‌ی عاصمی با دوز روزانه یک کپسول حاوی  $10^9 \times 14$  CFU و مدت مداخله‌ی ۸ هفته بود که در کاشان انجام گرفت.<sup>۱۶</sup> در مطالعه‌ی عاصمی و همکارانش، سطوح گلوکز ناشتا در گروه دارونما افزایش پیدا کرد، در حالی‌که سطح این شاخص در گروه پروبیوتیک پس از مداخله برابر با مقدارش در پیش از مداخله بود و افزایش بسیار ناچیزی داشت. در واقع آن‌ها گزارشی از اثرات کاهندگی پروبیوتیک روی سطوح گلوکز خون مشاهده نکردند که این تفاوت نتایج را می‌توان ناشی از شرایط بالینی متفاوت افراد و تفاوت در فلور میکروبی مردم دو شهر دانست.

بر اساس نتایج پژوهش محمد شاهی و همکارانش، مصرف ۳۰۰ گرم ماست پروبیوتیک به مدت ۸ هفته سبب کاهش میزان هموگلوبین گلیکوزیله شد، اما سطوح گلوکز

در پژوهش حاضر، اثر دریافت مکمل پروبیوتیک بر سطوح گلوکز، مقاومت انسولینی و شاخص‌های التهابی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو بررسی شد. در این پژوهش، سطوح گلوکز خون و شاخص مقاومت انسولین بعد از ۶ هفته مداخله، تفاوت آماری معنی‌داری را بین دو گروه نشان داد. از لحاظ تغییرات داخل گروهی، در گروه پروبیوتیک، سطوح گلوکز خون کاهش نشان داد، اما سطوح انسولین ناشتا و شاخص مقاومت انسولین تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. همچنین مطالعه‌ی حاضر کاهش معنی‌داری را در سطوح عوامل التهابی نشان نداد.

در طی مطالعه، دریافت انرژی، اسید چرب اشباع و MUFA به طور معنی‌داری در گروه دارونما افزایش و دریافت فیبر کاهش یافت. لازم به ذکر است با وجود این که توصیه‌های لازم مبنی بر عدم تغییر دریافت‌های غذایی به بیماران ارائه شد، با این وجود باز هم به صورت ناخواسته تغییرات دیده شد از این رو این موارد به عنوان مخدوش‌گر در تحلیل‌ها تعدیل شدند.

بررسی مطالعات حیوانی نشان می‌دهد که مداخله‌ی سویه‌ی لاکتوباسیلوس می‌تواند اثرات مثبتی در کاهش گلوکز خون حیوانات مبتلا به دیابت داشته باشد که در هر یک از این مطالعات سویه‌های متفاوتی از لاکتوباسیلوس بررسی شده بود. تغذیه با لاکتوباسیلوس رامنوس GG به مدت ۹ هفته در موش‌های صحرایی با دیابت القا شده توسط استرپتوزوتوسین سبب بهبود تحمل گلوکز و مقاومت انسولین و کاهش هموگلوبین گلیکوزیله<sup>۲۲</sup> و مصرف لاکتوباسیلوس کازئی سبب کاهش گلوکز خون و کاهش بروز دیابت در موش‌های *kk-A<sup>y</sup>* شد.<sup>۱۴</sup> مصرف داهی پروبیوتیک (محصول لبنی تخمیری) حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی در موش‌های دیابتی شده با رژیم غنی از فروکتوز<sup>۱۵</sup> و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین<sup>۲۳</sup> سبب کاهش گلوکز خون و هموگلوبین گلیکوزیله شد.

بر اساس نتایج پژوهش هسیه، مداخله با دوز بالایی از *L. reuteri* ( $2 \times 10^9$  CFU) به مدت ۱۴ هفته باعث افزایش فلورهای مفید روده (*Bifidobacteria* و *Lactobacilli*) و کاهش باکتری‌های مضر دستگاه گوارش



خون تغییری نیافت. علت تغییر نیافتن سطوح گلوکز را می‌توان با سویه‌های متفاوت به کار رفته و هم‌چنین دوز پایین‌تر ( $10^6 * 3/7$  cfu/g)، در مقایسه با دوز مطالعه حاضر ( $10^9$  cfu/g)، توجیه کرد.<sup>۲۱</sup> در کارآزمایی بالینی یک سوکور مظلوم و همکارانش نیز، عدم تاثیر مکمل پروبیوتیک شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریس، لاکتوباسیلوس بیفیدوم و لاکتوباسیلوس کازئی، بر سطوح گلوکز پلاسما و مقاومت انسولین را می‌توان به نوع سویه‌های به کار رفته در مکمل پروبیوتیک که شامل ۴ گونه از لاکتوباسیلوس بود، طول و طراحی مطالعه و حتی پاسخ‌دهی متفاوت افراد بر اساس عادات غذایی بومی آن‌ها نسبت داد.<sup>۲۲</sup>

بر اساس فرضیه‌های جدید، جمعیت میکروبی روده در تنظیم هموستاز انرژی و ایجاد بیماری‌های متابولیک و مقاومت به انسولین نقش دارد.<sup>۲۳</sup> حدود ۹۵ درصد جمعیت میکروبی روده در افراد سالم با وزن طبیعی، شامل گونه‌های متعلق به سه شاخه از باکتری‌ها شامل Bacteroidete ها، Firmicute ها و Actionbacteria است. بیماران مبتلا به دیابت نوع دو، ترکیب میکروبیوم متفاوتی با افراد غیردیابتی دارند. این بیماران سهم پایین‌تری از Firmicute ها و Clostridia ها و سهم بیشتری از Betaproteobacteria و افزایش نسبت Bacteroidete ها به Firmicute ها دارند و همه‌ی این نسبت‌ها در ارتباط با سطوح گلوکز پلاسما هستند.<sup>۲۳</sup> در واقع وقتی تعادل میکروفلور روده از بین برود و نسبت باکتری‌های گرم مثبت به باکتری‌های گرم منفی کاهش یابد، میزان دسترسی به لیپوپلی‌ساکاریدها و سایر مولکول‌های پیش التهابی و انتقال آن‌ها به گردش خون افزایش می‌یابد و همین موضوع باعث افزایش ترشح سیتوکین‌ها و فعالیت ماکروفاژها می‌شود و در نهایت منجر به بروز التهاب خواهد شد.<sup>۲۷،۲۴</sup> تاثیرات سودمند پروبیوتیک‌ها، روی سطوح گلوکز پلاسما ممکن است در نتیجه‌ی تغییر ترکیب میکروبی دستگاه گوارش<sup>۲۲</sup> و اصلاح عدم تعادل میکروفلور روده‌ای از طریق افزایش باکتری‌های گرم مثبت،<sup>۲۳</sup> بهبود عملکرد سد دفاعی روده<sup>۲۴</sup> و اثرات تنظیم‌کننده ایمنی آن‌ها،<sup>۲۵</sup> بهبود یکپارچگی روده‌ای و کاهش القای همزمان پیام‌رسانی TLR-4<sup>۱</sup> باشد.<sup>۲۵</sup>

مکانیسم دقیق درگیر در تاثیرات کاهندگی گلوکز خون توسط پروبیوتیک‌ها به طور واضح مشخص نیست. این تاثیرات ممکن است در نتیجه‌ی مهاجرت باکتری‌های اسید لاکتیک در اپی‌تلیوم روده‌ای، استفاده‌ی گلوکز توسط آن‌ها و در نتیجه کاهش جذب گلوکز از روده‌ها باشد.<sup>۱۵</sup> تاثیرات بازدارندگی باکتری‌های اسید لاکتیک در تولید سیتوکین‌هایی که مسئول تخریب سلول‌های پانکراس هستند نیز ممکن است مکانیسم دیگر پیشنهادی باشد.<sup>۱۲</sup> هم‌چنین پروبیوتیک‌ها زیست - دسترسی و جذب داروی گلیکوزید را که نوعی سولفونیل اوره است افزایش می‌دهند که از این راه در مطالعه‌ی گلوکز خون موش‌هایی را که توسط آلوکسان دیابتی شده بودند را به طور معنی‌داری کاهش دادند.<sup>۴</sup>

سیتوکین‌های التهابی، پیام‌رسانی از طریق گیرنده‌های انسولین را دچار اختلال می‌کنند و باعث ایجاد مقاومت به انسولین می‌شوند؛ هم‌چنین ترشح انسولین را کاهش می‌دهند و باعث القای آپاتوز در سلول‌های بتای پانکراس می‌شوند.<sup>۳۶</sup> به علاوه، غلظت لیپوپلی‌ساکاریدهای پلاسما نیز با غلظت انسولین ناشتا و مقاومت انسولینی در ارتباط است. در واقع، غلظت لیپوپلی‌ساکاریدها در پلاسما با جمعیت بیفیدوباکترها در روده ارتباط معکوسی دارد. بیفیدوباکترها می‌توانند سطح اندوتوکسین‌های داخل روده را کاهش دهند و باعث بهبود عملکرد سد مخاطی روده شوند و از این طریق غلظت لیپوپلی‌ساکاریدهای پلاسما را کاهش داده و التهاب را کنترل کنند. از این‌رو مکمل یاری با پروبیوتیک‌ها به خصوص بیفیدوباکترها با تاثیر بر میکروفلور روده، می‌تواند در کنترل دیابت موثر باشد.<sup>۲۶،۲۷</sup>

در زمینه‌ی تاثیر پروبیوتیک‌ها بر مقاومت انسولینی، فاکتور آدیپوسیت القاء شده توسط ناشتایی (FIAF<sup>ii</sup>) نیز می‌تواند موثر باشد. FIAF هورمونی سرمی است که به طور مستقیم در تعدیل حساسیت انسولینی در کبد نقش دارد و بیان کم این پروتئین با دیابت نوع دو همراه است. FIAF از فعالیت لیپوپروتئین لیپاز ممانعت می‌کند. مهار این هورمون باعث افزایش فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز و در نتیجه افزایش برداشت سلولی اسیدهای چرب و تجمع تری‌گلیسرید در بافت چربی و بروز چاقی و مقاومت انسولینی می‌شود. بنابراین پروبیوتیک‌ها، احتمالاً با تاثیر بر میکروفلور روده می‌توانند باعث بهبود و افزایش بیان ژن FIAF شوند.<sup>۲۷</sup>

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس NCFM به مدت ۴ هفته روی مردان مبتلا به دیابت تأثیری بر پاسخ التهابی سیستمیک (CRP، TNF $\alpha$ ، IL-6) نداشت که این نتیجه را می‌توان به مدت زمان کوتاه مداخله نسبت داد.<sup>۳۹</sup> در کارآزمایی بالینی یک سوکور مظلوم و همکارانش، مصرف مکمل پروبیوتیک تغییرات معنی‌داری را در سطوح فاکتورهای التهابی IL-6، hs-CRP، MDA<sup>ii</sup> ایجاد نکرد. این نتیجه را می‌توان به نوع پروبیوتیک مورد استفاده، طول مطالعه و حتی پاسخ‌دهی متفاوت افراد بر اساس عادات غذایی بومی آن‌ها نسبت داد.<sup>۳۲</sup> تعدادی از مطالعات بیان می‌کنند مصرف پروبیوتیک‌ها قادر به تعدیل پاسخ‌های التهابی، توسط کاهش تراکم باکتری‌های بیماری‌زای گرم منفی در روده است که احتمالاً با ممانعت از تولید سیتوکین‌های پیش التهابی، باعث کاهش و پیشگیری از التهاب می‌شود.<sup>۴۰</sup> و تعدادی از تحقیقات بیان می‌کنند پروبیوتیک‌ها، ترشح GLP1 را افزایش می‌دهند و سبب بهبود التهاب متابولیک و مقاومت انسولین می‌شوند.<sup>۴۱</sup> همچنین تغییراتی در میکروبیوتای دستگاه گوارش موش با تجویز پروبیوتیک‌ها، سبب افزایش ترشح سطوح GLP2 و بهبود خاصیت التهاب سیستمیک و کبدی شد.<sup>۴۱</sup>

به علاوه، باکتری‌های پروبیوتیک نظیر بیفیدوباکتریوم لونگوم می‌توانند تولید TNF $\alpha$  را از طریق مهار فعال‌سازی NF- $\kappa$ B<sup>iii</sup> سلول‌های تک هسته‌ای لامینا پروپریا کاهش دهند.<sup>۴۲</sup> گونه‌های لاکتوباسیلوس احتمالاً می‌توانند مولکول‌های محلولی تولید کنند که این مولکول‌ها تولید TNF $\alpha$  را در ماکروفاژهای فعال شده سرکوب می‌کنند.<sup>۴۳</sup> علت تغییر نیافتن سطوح عوامل التهابی در این پژوهش، می‌تواند کافی نبودن مدت زمان لازم برای آشکار شدن اثر پروبیوتیک‌ها، ناکافی بودن تعداد پروبیوتیک‌های زنده در هر گرم و تفاوت در پاسخگویی افراد باشد. بنابراین انجام بررسی‌های وسیع‌تر، با مدت زمان طولانی‌تر، نوع و دوز مختلف باکتری‌های پروبیوتیک توصیه می‌شود. مطالعات مداخله‌ای آینده براساس ارجحیت باید شامل تجزیه و تحلیل مدفوع برای تعیین تغییر در ترکیبات مدفوع (مثل میکروارگانیزم‌ها و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر) باشند. مطالعات هم‌چنین باید شامل بررسی تغییرات میکروفلور روده و اندازه‌گیری لیپوپلی‌ساکاریدهای در گردش باشند تا

برخلاف نتایج مطالعه‌ی حاضر، مصرف مکمل پروبیوتیک در تعدادی از مطالعات سبب بهبود وضعیت التهابی شد. در مطالعات حیوانی که اثر پروبیوتیک‌ها را بر روی عوامل التهابی بررسی کرده‌اند، پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس موجب بهبود وضعیت اکسید نیتریک در موش‌های دیابتی شده‌اند. لازم به ذکر است در بیماری دیابت، تولید بیش از حد گونه‌های واکنش گر اکسیژن، موجب اختلال در سطح اکسید نیتریک می‌شود.<sup>۱۲</sup> تجویز خوراکی گونه‌های بیفیدوباکتریوم سبب بهبود الگوی آدیپونکتین در موش‌های دیابتی،<sup>۱۳</sup> و مصرف لاکتوباسیلوس کازئی سبب کاهش سیتوکین‌های پیش التهابی نظیر اینترلوکین ۲ و اینترفرون گاما بعد از ۱۶ هفته شده است.<sup>۱۴</sup> مطالعات انسانی اندکی نیز در این زمینه صورت گرفته‌اند.<sup>۱۶،۲۰،۲۱</sup> بر اساس پژوهش آلوکیل، دریافت مکمل پروبیوتیک به مدت ۲۶ هفته، سبب تغییرات سودمند در فلور میکروبی دستگاه گوارش شد و التهاب سیستمیک را از طریق تغییر سطوح اندوتوکسین سیستمیک، و کاهش پاسخ التهابی سیستمیک، کاهش داد. البته در این مطالعه، گزارشی از عوامل التهابی به صورت مشخص ارائه نشده است.<sup>۳۸</sup> می‌توان تفاوت نتایج این مطالعه را با مطالعه‌ی حاضر، ناشی از تفاوت در سویه‌های مورد مصرف و طول مدت مداخله دانست. هم‌چنین در مطالعه‌ای مصرف مکمل پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، بیفیدوباکتریوم بروه، بیفیدوباکتریوم لونگوم و استرپتوکوکوس ترموفیلوس به مدت ۸ هفته در بیماران دیابتی باعث کاهش میزان hs-CRP<sup>i</sup> سرم شد<sup>۱۱</sup> این مطالعه از لحاظ سویه‌های به کار برده شده مشابه با مطالعه‌ی حاضر بود، اما مدت زمان مداخله بیشتر بود. پاسخ‌دهی متفاوت افراد بر اساس عادات غذایی بومی آن‌ها می‌تواند دلیل دیگری برای تفاوت نتایج باشد.

از طرفی نتایج مطالعه‌ی حاضر با تعدادی از مطالعات همسو بود. بر اساس نتایج مطالعه‌ای، پس از مصرف ۳۰۰ گرم ماست پروبیوتیک به مدت ۸ هفته، کاهش IL-6 و hs-CRP قابل ملاحظه نبود. دوز به کار برده شده در این مطالعه (۱۰<sup>۱۱</sup> \* ۲/۷ cfu) کمتر از دوز پروبیوتیک در مطالعات اثرگذار بود.<sup>۲۱</sup> از سوی دیگر در مطالعه‌ای، تجویز

ii - Malondialdehyde

iii - Nuclear Factor Kappa B

i- High sensitive C-Reactive Protein

انسولین در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو شد، اما تغییرات شاخص‌های التهابی در این پژوهش معنی‌دار نبود.

سپاسگزاری: پژوهش حاضر با حمایت مالی پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام گرفت. هم‌چنین از بیماران شرکت‌کننده در این پژوهش که نهایت همکاری را داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

امکان توضیح نتایج و فهم ارتباط میان مکانیسم‌های عملکرد فراهم شود.

به طور کلی، در مطالعه‌ی حاضر مصرف مکمل پروبیوتیک موجب بهبود سطوح گلوکز خون و مقاومت به

## References

- Ruggiero L, Castillo A, Quinn L, Hochwert M. Translation of the diabetes prevention program's lifestyle intervention: role of community health workers. *Curr Diab Rep* 2012; 12: 127-37.
- International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas 6th ed.* Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2013. <http://dro.deakin.edu.au/view/DU:30060687>
- Esteghamati A, Gouya MM, Abbasi M, Delavari A, Alikhani S, Alaedini F, et al. Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in the adult population of Iran: National Survey of Risk Factors for Non-Communicable Diseases of Iran. *Diabetes Care* 2008; 31: 96-8. [Farsi]
- Al-Salami H, Butt G, Fawcett JP, Tucker IG, Golocorbin-Kon S, Mikov M. Probiotic treatment reduces blood glucose levels and increases systemic absorption of gliclazide in diabetic rats. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2008; 33: 101-6.
- Tabuchi M, Ozaki M, Tamura A, Yamada N, Ishida T, Hosoda M, et al. Antidiabetic effect of *Lactobacillus GG* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry Jun* 2003; 67: 1421-4.
- Yadav H, Jain S, Sinha PR. Oral administration of dahi containing probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* delayed the progression of streptozotocin-induced diabetes in rats. *J Dairy Res* 2008; 75: 189-95.
- Ferreira L, Teixeira-de-Lemos E, Pinto F, et al. Effects of sitagliptin treatment on dysmetabolism, inflammation, and oxidative stress in an animal model of type 2 diabetes (ZDF rat). *Mediators of Inflamm* 2010; 2010: 592760.
- WHO: Health and nutritional properties of probiotics in Food including Powder milk with Live Lactic Acid Bacteria. Report of Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional properties of probiotics in Food including Powder milk with Live Lactic Acid Bacteria Cordoba, Argentina [http://www.fao.org/es/ESN/food/foodandfoo\\_probio\\_en.stm](http://www.fao.org/es/ESN/food/foodandfoo_probio_en.stm).
- Bansal T, Alaniz RC, Wood TK, Jayaraman A. The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 228-33.
- Kaur IP, Kuhad A, Garg A, Chopra K. Probiotics: delineation of prophylactic and therapeutic benefits. *J Med Food* 2009; 12: 219-35.
- Al-Salami H, Butt G, Tucker I, Skrbic R, Golocorbin-Kon S, Mikov M. Probiotic Pre-treatment Reduces Gli-clazide Permeation (ex vivo) in Healthy Rats but Increases It in Diabetic Rats to the Level Seen in Untreated Healthy Rats. *Arch Drug Inf* 2008; 1: 35-41.
- Harisa G, Taha E, Khalil A, Salem M. Oral administration of *Lactobacillus acidophilus* restores nitric oxide level in diabetic rats. *Aust J Basic Appl Sci* 2009; 3: 2963-9.
- Le TK, Hosaka T, Nguyen TT, Kassu A, Dang TO, Tran HB, et al. *Bifidobacterium* species lower serum glucose, increase expressions of insulin signaling proteins, and improve adipokine profile in diabetic mice. *Biomed Res* 2015; 36: 63-70.
- Matsuzaki T, Yamazaki R, Hashimoto S, Yokokura T. Antidiabetic effects of an oral administration of *Lactobacillus casei* in a non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) model using KK-Ay mice. *Endocr J* 1997; 44: 357-65.
- Yadav H, Jain S, Sinha PR. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. *Nutrition* 2007; 23: 62-8.
- Asemi Z, Zare Z, Shakeri H, Sabihi SS, Esmailzadeh A. Effect of multispecies probiotic supplements on metabolic profiles, hs-CRP, and oxidative stress in patients with type 2 diabetes. *Ann Nutr Metab* 2013; 63: 1-9. [Farsi]
- Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition* 2012; 28: 539-43. [Farsi]
- Moroti C, Souza Magri LF, de Rezende Costa M, Cavallini DC, Sivieri K. Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. *Lipids Health Dis* 2012; 11-29.
- Badehnoosh B, Karamali M, Zarrati M, Jamilian M, Bahmani F, Tajabadi-Ebrahimi M, et al. The effects of probiotic supplementation on biomarkers of inflammation, oxidative stress and pregnancy outcomes in gestational diabetes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2017; 10: 1-9. [Farsi]
- Asemi Z, Khorrani-Rad A, Alizadeh SA, Shakeri H, Esmailzadeh A. Effects of synbiotic food consumption on metabolic status of diabetic patients: a double-blind randomized cross-over controlled clinical trial. *Clin Nutr* 2014; 33: 198-203. [Farsi]
- Mohamadshahi M, Veissi M, Haidari F, Shahbazian H, Kaydani GA, Mohammadi F. Effects of probiotic yogurt consumption on inflammatory biomarkers in patients with type 2 diabetes. *Bioimpacts* 2014; 4: 83-8.
- Membrez M, Blancher F, Jaquet M, Bibiloni R, Cani PD, Burcelin RG, et al. Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *FASEB J* 2008; 22: 2416-26.
- 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: e9085.
- Madsen K, Cornish A, Soper P, McKaigney C, Jijon H, Yachimec C, et al. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology Sep* 2001; 121: 580-91.
- Konstantinov SR, Smidt H, de Vos WM, Bruijns SC, Singh SK, Valence F, et al. S layer protein A of

- Lactobacillus acidophilus NCFM regulates immature dendritic cell and T cell functions. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2008; 105: 19474-9.
26. Cani PD, Delzenne NM, Amar J, Burcelin R. Role of gut microflora in the development of obesity and insulin resistance following high-fat diet feeding. *Pathologie Biologie* 2008; 56: 305-9.
  27. Cani PD, Neyrinck AM, Fava F, Knauf C, Burcelin RG, Tuohy KM, et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia* 2007; 50: 2374-83.
  28. Momenan AA, Delshad M, Sarbazi N, Rezaei Ghaleh N, Ghanbarian A, Azizi F, et al. Reliability and validity of the Modifiable Activity Questionnaire (MAQ) in an Iranian urban adult population. *Arch Iran Med* 2012; 15: 279-82. [Farsi]
  29. Lu YC, Yin LT, Chang WT, Huang JS. Effect of Lactobacillus reuteri GMNL-263 treatment on renal fibrosis in diabetic rats. *J Biosci Bioeng* 2010; 110: 709-15.
  30. Hsieh FC, Lee CL, Chai CY, Chen WT, Lu YC, Wu CS. Oral administration of Lactobacillus reuteri GMNL-263 improves insulin resistance and ameliorates hepatic steatosis in high fructose-fed rats. *Nutr Metab (Lond)* 2013; 10: 35.
  31. Laitinen K, Poussa T, Isolauri E. Nutrition, Allergy, Mucosal Immunology and Intestinal Microbiota Group. Probiotics and dietary counselling contribute to glucose regulation during and after pregnancy: a randomised controlled trial. *Br J Nutr* 2009; 101: 1679-87.
  32. Mazloom Z, Yousefinejad A, Dabbaghmanesh MH. Effect of probiotics on lipid profile, glycemic control, insulin action, oxidative stress, and inflammatory markers in patients with type 2 diabetes: a clinical trial. *Iran J Med Sci* 2013; 38: 38-43. [Farsi]
  33. Moreno-Indias I, Cardona F, Tinahones FJ, Queipo-Ortuño MI. Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Front Microbiol* 2015; 5: 1-10.
  34. Lye HS, Kuan CY, Ewe JA, Fung WY, Liong MT. The improvement of hypertension by probiotics: effects on cholesterol, diabetes, renin, and phytoestrogens. *Int J Mol Sci* 2009; 10: 3755-75.
  35. Ouwehand AC, Tiihonen K, Saarinen M, Putaala H, Rautonen N. Influence of a combination of Lactobacillus acidophilus NCFM and lactitol on healthy elderly: intestinal and immune parameters. *Br J Nutrition* 2009; 101: 367-75.
  36. Strowski MZ, Wiedenmann B. Probiotic carbohydrates reduce intestinal permeability and inflammation in metabolic diseases. *Gut* 2009; 58: 1044-5.
  37. Backhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2004; 101: 15718-23.
  38. Alokail MS, Sabico S, Al-Saleh Y, Al-Daghri NM, Alkharfy KM, Vanhoutte PM, et al. Effects of probiotics in patients with diabetes mellitus type 2: study protocol for a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Trials* 2013; 14: 195.
  39. Andreasen AS, Larsen N, Pedersen-Skovsgaard T, Berg RM, Møller K, Svendsen KD, et al. Effects of Lactobacillus acidophilus NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects. *The British journal of nutrition* 2010; 104: 1831-8.
  40. Delzenne NM, Cani PD, Neyrinck AM. Modulation of glucagon-like peptide 1 and energy metabolism by inulin and oligofructose: experimental data. *J Nutr* 2007; 137: 2547S-51S.
  41. Cani PD, Possemiers S, Van de Wiele T, Guiot Y, Everard A, Rottier O, et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut* 2009; 58: 1091-103.
  42. Shi XZ, Lindholm PF, Sarna SK. NF-kappa B activation by oxidative stress and inflammation suppresses contractility in colonic circular smooth muscle cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 1369-80.
  43. Pena JA, Versalovic J. Lactobacillus rhamnosus GG decreases TNF-alpha production in lipopolysaccharide-activated murine macrophages by a contact-independent mechanism. *Cell Microbiol* 2003; 5: 277-85.

Original Article

# The Effects of Probiotic Supplementation on Glycemic Control, Insulin Resistance and Inflammatory Biomarkers of Type 2 Diabetic Patients

Ahmadian F<sup>1</sup>, Ejtahed HS<sup>2</sup>, Javadi M<sup>3</sup>, Razmpoosh E<sup>4</sup>, Mirmiran P<sup>5</sup>, Azizi F<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Nutrition and Dietetics, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, <sup>2</sup>Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Molecular -Cellular Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, <sup>3</sup>Children Growth Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, <sup>4</sup>Department of Nutrition, Faculty of Health, Shahid Sadoughi University of Medical Science, <sup>5</sup>Nutrition and Endocrine Research Center, & <sup>6</sup>Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran

e-mail: mirmiran@endocrine.ac.ir, parvin.mirmiran@sbm.ac.ir

Received: 28/09/2016 Accepted: 25/06/2017

## Abstract

**Introduction:** Systemic inflammation plays a main role in the incidence of diabetes complications. Probiotics can be used in the treatment of diabetes complications for its anti-inflammatory properties. This study aimed to investigate the effects of probiotic supplement on glycemia, insulin resistance and inflammatory markers in patients with type 2 diabetes. **Materials and Methods:** This randomized double blind clinical trial was carried out on 59 diabetic patients, aged 25-65 years, referred to the Taleghani Hospital in Tehran. They were randomly divided in 2 groups, the probiotic and the placebo. Patients in each group received 2 capsules per day for 6 weeks. Fasting blood samples were taken at baseline and after intervention to evaluate glycemic control, insulin resistance and inflammatory biomarkers. **Results:** Mean fasting blood glucose was significantly decreased by 9% ( $132.7 \pm 34$  vs.  $146.5 \pm 44$ ) in the probiotic group during the intervention ( $P=0.001$ ). Results of the analysis of covariance showed that there were statistically significant differences between the two groups in fasting blood glucose and insulin resistance, whereas there were none observed in IL-6 and TNF $\alpha$  between the two groups after intervention. **Conclusions:** The results of the present study indicate that probiotic consumption may help in diabetes control through reducing glycemia and insulin resistance.

**Keywords:** Probiotics, Type 2 Diabetes, Fasting Plasma Glucose, Insulin Resistance, Inflammation