

بررسی تاثیر شیرسویای تخمیر شده با بیفیدوباکتریوم لاکتیس و حاوی امگا ۳ بر روی پارامترهای هماتولوژی، استرس اکسیداتیو، آنتی اکسیدانی و التهابی در موش‌های صحرایی دیابتی شده نوع دو

سید محمد مظلومی^۱، محسن محمدی سرتنگ^{۲*}، نادر تنیده^۳، عباس رضائیان زاده^۴

چکیده

مقدمه: دیابت از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیک می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر شیرسویای تخمیر شده با بیفیدوباکتریوم لاکتیس و حاوی امگا ۳ بر روی پارامترهای هماتولوژی، استرس اکسیداتیو، آنتی اکسیدانی و التهابی در موش‌های صحرایی دیابتی شده نوع دو انجام گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی مداخله‌ای، ۶۵ موش صحرایی به ۵ گروه تقسیم شدند. دیابت نوع دو از طریق تزریق تک دوز استرپتوزوتوسین و نیکوتین آمید القاء گردید. به گروه کنترل سالم و کنترل دیابتی روزانه ۱ میلی‌لیتر آب مقطر، و به ۳ گروه دیابتی، روزانه ۱ میلی‌لیتر از هر یک از محصولات شیرسویا، شیرسویای پروبیوتیک و شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ از طریق گاواژ به مدت ۲۸ روز داده شد. پارامترهای هماتولوژی، استرس اکسیداتیو، آنتی اکسیدانی و التهابی در انتهای مطالعه اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: در پایان مطالعه، میانگین پارامترهای هموگلوبین، گلبول قرمز، هماتوکریت و سوپراکسید دیسموتاز در هر ۳ گروه تحت درمان در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر و میانگین پارامتر مالون دی‌آلدئید به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0/05$). کاهش مالون‌دی‌آلدئید و افزایش هموگلوبین، گلبول قرمز، هماتوکریت و سوپراکسید دیسموتاز در گروه دیابتی مصرف کننده شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ نسبت به ۲ گروه دیگر بیشتر بود. از طرفی میزان hs-CRP در گروه دیابتی مصرف کننده شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ نسبت به گروه کنترل دیابتی و گروه دیابتی مصرف کننده شیرسویای پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی ترکیب شیر سویا، پروبیوتیک‌ها و امگا-۳، احتمالاً در کاهش استرس اکسیداتیو در دیابت موثر می‌باشد.

واژگان کلیدی: شیر سویا، بیفیدوباکتر لاکتیس، امگا ۳، موش‌های صحرایی دیابتی

- ۱- گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، مرکز تحقیقات تغذیه و علوم غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
- ۲- گروه علوم تغذیه، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
- ۳- گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات تکنولوژی ترانس ژنیک و سلول‌های بنیادی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
- ۴- گروه اپیدمیولوژی، مرکز تحقیقات علوم بهداشتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

***نشان:** شیراز، بلوار رازی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، گروه تغذیه، تلفن: ۰۷۱۱۷۲۵۱۰۰۱، پست الکترونیک: mohsen.nut85@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۶/۲۷

تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۴/۰۶/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۵/۱۰

مقدمه

دیابت از مهم‌ترین بیماری‌های متابولیک و از مشکلات بهداشتی روزافزون در دنیای امروز می‌باشد. این بیماری یک اختلال چند عاملی است که با افزایش مزمن قند خون مشخص می‌شود. این عارضه می‌تواند ناشی از اختلال در ترشح یا عمل انسولین و یا هر دوی آن‌ها باشد. افزایش مزمن قند خون در این بیماری موجب تخریب، اختلال عمل و نارسایی عضوهای مختلف به خصوص چشم‌ها، کلیه‌ها، اعصاب و قلب و عروق می‌گردد [۱]. شیوع دیابت در ایران در کل جمعیت ۳-۲ درصد و در افراد بالای ۳۰ سال ۷/۳ درصد برآورد شده است و این بیماری شانزدهمین علت مرگ در مردان و نهمین علت مرگ در زنان ایرانی بوده است [۲].

از دیگر پیامدهای دیابت، استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید می‌باشد که این امر به علت افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن بوده و به نظر می‌رسد که این رادیکال‌های آزاد اهمیت ویژه‌ای در ایجاد بسیاری از بیماری‌ها از جمله دیابت و تشدید عوارض ناشی از آن داشته باشند. در سال‌های اخیر ارتباط عوارض مهلک دیابت با کاهش دفاع آنتی اکسیداتیو بدن و در نتیجه افزایش میزان واکنش‌های اکسیداتیو در بدن مورد بررسی قرار گرفته است که کلیه این عوارض می‌تواند در شرایط مزمن منجر به آسیب‌های بافتی شوند. تغییر در سازوکارهای دفاعی بدن طی دیابت باعث ناکارآمدی مهار گونه‌های فعال اکسیژن و بالطبع تشدید آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود [۳].

هیپرگلیسمی می‌تواند تولید گونه‌های فعال اکسیژن را از مسیرهای بیوشیمیایی متعدد افزایش دهد که تغییرات گوناگونی از جمله تغییر در عملکرد اندوتلیال را موجب می‌شوند. پراکسیداسیون لیپیدی در طی دیابت افزایش می‌یابد. مالون دی آلدئید که با استفاده تیوباربیتوریک اسید اندازه گیری می‌شود، شاخص پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد. آسیب اکسیداتیو ناشی از دیابت در گلبول‌های قرمز شدت بیشتری دارد. زیرا این گلبول‌ها حاوی غلظت بالای آهن و اسیدهای چرب غیر اشباع هستند. بنابراین، بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو در گلبول‌های قرمز اهمیت بسیار دارد. از بین آنزیم‌های بررسی شده در گلبول‌های قرمز، آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در دیابت اهمیت ویژه‌ای دارد زیرا مطالعات حاکی از تغییر فعالیت این آنزیم در دیابت می‌باشد [۴]. از طرفی دیابت یک وضعیت التهابی است که در آن

پروتئین‌های فاز حاد مثل پروتئین واکنشی C (CRP)، افزایش می‌یابد. افزایش غلظت این مارکر التهابی به‌طور مثبتی با افزایش قند خون در ارتباط می‌باشد [۵]. شواهد تجربی نشان می‌دهد که در بیماران دیابتی میزان هموگلوبین و دیگر پارامترهای هماتولوژیک کاهش می‌یابد و علائم آنمی ظاهر می‌شود [۶].

علی‌رغم پیشرفت‌های صورت گرفته در زمینه تولید داروهای آنتی دیابتیک و هیپوگلیسمیک مختلف، دیابت و عوارض آن، همچنان به‌عنوان یک مشکل بهداشتی عمده باقی مانده است. ضعف درمان فارماکولوژیک از یک سو و استفاده از مواد طبیعی مفید از سوی دیگر، منجر به توجه به سویا گردیده است [۷]. ترکیبات فلاونوئیدی از جمله ایزوفلاون‌ها به‌عنوان جاروب کننده رادیکال‌های آزاد و تقویت کننده دفاع آنتی اکسیداتیو بدن شناخته شده‌اند. از طرفی لویبای سویا به‌عنوان غنی‌ترین منبع غذایی ایزوفلاون‌ها شناخته شده است [۸]. توجه به سویا و ایزوفلاون‌های موجود در آن از آن‌جا قوت گرفت که تعدادی از مطالعات انجام شده روی مدل‌های حیوانی و جمعیت انسانی، رابطه مصرف سویا را با کاهش خطر بروز بعضی بیماری‌های مزمن از جمله دیابت نشان دادند [۹، ۸]. هرچند تحقیقات اخیر نیز اثرات ضد استرس اکسیداتیو و ضد التهابی ترکیبات سویا به‌خصوص ایزوفلاون‌ها را نشان داده‌اند اما نتایج برخی مطالعات نیز متناقض می‌باشد [۱۰، ۱۱]. دسته‌ای از غذاهای فراویژه، محصولات غذایی حاوی پروبیوتیک‌ها می‌باشد. پروبیوتیک‌ها، به‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده‌ای شناخته شده‌اند که اگر به مقدار کافی تجویز شوند، اثرات سودمندی بر سلامتی میزبان خود دارند. از جمله اثرات مفید پروبیوتیک‌ها بر بدن می‌توان به تحریک سیستم ایمنی بدن، پاکسازی روده از باکتری‌های پاتوژن، تولید مواد بیواکتیو، فعالیت آنتی-کارسینوزنی، دکانژوگه کردن نمک‌های صفاوی، بهبود عدم تحمل لاکتوز، جلوگیری از عفونت روده‌ای، کاهش کلسترول سرم و اثرات آنتی اکسیداتیو اشاره کرد [۱۲]. تخمیر محصولات سویا با پروبیوتیک‌ها به‌خصوص بیفیدوباکتر لاکتیس، با ایجاد تغییرات ساختاری و عملکردی در ایزوفلاون‌ها، پروتئین‌ها و پپتیدهای سویا اثرات آنتی اکسیداتیو را چندین برابر می‌کند [۸].

سطح اسیدهای چرب ضروری در بافت‌های مختلف در دیابت پایین می‌آید که علت احتمالی آن را کاهش تبدیل اسید لینولنیک به اسیدهای چرب امگا ۳ می‌دانند. مکمل یاری با اسیدهای

مقدار ۰/۱ گرم در لیتر بیفیدوباکتریوم لاکتیس اضافه شد. سپس گرمخانه گذاری دو نمونه‌ای که باکتری به آن‌ها تلقیح شده بود تا رسیدن pH نمونه‌ها به ۴/۷ در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از آن نمونه‌ها از گرمخانه خارج و در یخچال نگهداری شدند. نمونه‌های شیرسویای تخمیر شده هر ۱ هفته یکبار، تحت شرایط کاملاً بهداشتی تولید شدند.

حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه از ۶۵ سر موش صحرایی نر نژاد Dawley Sprague آماده شده توسط خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز با میانگین وزنی ۲۰۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده شد. موش‌های صحرایی در طول مطالعه و دوره تطابق (۲ هفته) در قفسه‌های ضد زنگ و مجهز به جایگاه ویژه آب و غذا موجود در خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز نگهداری شدند. قفسه‌ها در اتاقی با تهویه مطبوع با دمای $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ، رطوبت 55 ± 5 درصد و چرخه ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی قرار داشتند. در طول مطالعه دسترسی حیوانات به آب و غذا آزاد بود. رژیم غذایی پایه از شرکت دام پارس تهران تهیه گردید.

دیابتی کردن موش‌های صحرایی

دیابت نوع دو از طریق تزریق درون صفاقی ۶۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن استرپتوزوتوسین (Sigma, USA)، ۱۵ دقیقه بعد از تزریق ۱۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم نیکوتین آمید (Merck, Germany) القاء گردید. نمونه‌های خون ۳، ۵ و ۷ روز بعد از تزریق با استفاده از دستگاه گلوکومتر (Accu-chek Active Roche, Germany) از انتهای دم موش‌های صحرایی به دست آمد. ۷ روز بعد از تزریق، گلوکز خون پایدار بالاتر از ۱۵۰ میلی‌گرم در دسی لیتر به‌عنوان معیار دیابت در نظر گرفته شد [۱۸].

طراحی آزمایش

موش‌های صحرایی به ۵ گروه ۱۳ تایی تقسیم شدند. کنترل سالم: دریافت کننده روزانه ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به همراه رژیم غذایی پایه، کنترل دیابتی: دریافت کننده روزانه ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به همراه رژیم غذایی پایه، گروه دیابتی: دریافت کننده روزانه ۱ میلی‌لیتر شیرسویا به همراه رژیم غذایی پایه، گروه دیابتی: دریافت

چرب امگا ۳ در بیماران دیابتی توجه زیادی را به خود جلب کرده است و ممکن است در کاهش برخی عوارض مرتبط با دیابت موثر باشد. از طرفی این اسیدهای چرب به‌علت داشتن پیوندهای دوگانه خود در معرض اکسید شدن قرار دارند و بنابراین ممکن است باعث افزایش استرس اکسیداتیو شوند [۱۳]. مطالعات انسانی و حیوانی، نتایج متناقضی در مورد اثر مکمل یاری با روغن ماهی و اسیدهای چرب امگا ۳ بر وضعیت اکسیدان-آنتی اکسیدان نشان داده‌اند [۱۶-۱۴].

با توجه به افزایش روزافزون تعداد مبتلایان به دیابت در جهان و اهمیت توجه به عوارض ناشی از این بیماری و نیز یافتن روش‌های درمانی یا پیشگیرانه بدون عوارض جانبی از جمله محصولات سویا، و نیز در راستای شناخت و بررسی بیشتر فواید غذاهای فراویژه در کنار ماده‌ای موثر در کاهش عوارض دیابت از جمله امگا ۳، و نیز توجه به مسئله کاهش سطح اسیدهای چرب امگا ۳ در دیابت، هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثرات ترکیبی شیرسویا، پروبیوتیک‌ها و امگا ۳ بر سطوح پارامترهای هماتولوژی، استرس اکسیداتیو و التهابی در موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو بود.

روش‌ها

روش تهیه شیرسویا

در ابتدا شیرسویا به‌مدت یک شب در آب مقطر خیسانده شد و سپس آب آن دور ریخته شد. سپس سویای خیسانده شده با ۱۰ برابر وزن خود با آب مقطر ترکیب و به‌مدت ۳ دقیقه با استفاده از مخلوط کن مخلوط شد. برای تهیه شیر سویا، مخلوط حاصل از یک پارچه دو لایه‌ای کاملاً تمیز عبور داده شد و در ظرف جداگانه‌ای نگهداری شد [۱۷].

روش تهیه شیرسویای پروبیوتیک و شیرسویای پروبیوتیک

غنی شده با امگا ۳

شیرسویای تهیه شده به سه بخش مساوی تقسیم شد. سپس همه نمونه‌ها در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه استریل و تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد سرد گردید و به یک نمونه از شیرسویا، ۱ گرم در لیتر امگا ۳ (SERVA, Feinbiochemica Heidelberg Newyork USA) افزوده شد. در ادامه به یک نمونه از شیرسویای بدون امگا ۳ و همین‌طور به یک نمونه شیرسویای حاوی امگا-۳

آنالیز آماری

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS مورد ارزیابی قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها بین گروه‌ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با استفاده از post-hoc Duncan's multiple range tests انجام شد. اختلاف آماری با $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در پایان دوره آزمایش، پارامترهای هموگلوبین، میانگین هموگلوبین گلبولی و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش معنی داری نشان دادند ($P < 0.05$) (جدول ۱). میانگین پارامترهای هموگلوبین، گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در هر ۳ گروه تحت درمان نسبت به گروه دیابتی به‌طور معنی داری ($P < 0.05$) بیشتر بود (جدول ۱). این افزایش در گروه دیابتی مصرف کننده شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ نسبت به گروه‌های دیگر بیشتر بود (جدول ۱). میانگین فاکتورهای میانگین حجم گلبولی و میانگین هموگلوبین گلبولی در گروه دیابتی مصرف کننده شیرسویا و گروه دیابتی مصرف کننده شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا-۳ نسبت به کنترل دیابتی و پارامتر گلبول سفید در گروه دیابتی مصرف کننده شیرسویا و گروه دیابتی مصرف کننده شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ نسبت به گروه کنترل دیابتی بیشتر بود ($P < 0.05$) (جدول ۱).

کننده روزانه ۱ میلی‌لیتر شیرسویای پروبیوتیک به همراه رژیم غذایی پایه، گروه دیابتی: دریافت کننده روزانه ۱ میلی‌لیتر شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ به همراه رژیم غذایی پایه. محصولات به مدت ۴ هفته و از طریق گاواژ به حیوانات داده شد.

خونگیری و اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی

در انتهای مطالعه، موش‌های صحرایی ۱۲ ساعت ناشتا نگه‌داری شده و پس از بیهوشی کامل از طریق تزریق کتامین (۶۰-۴۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن)، و دیازپام (۲/۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن)، خونگیری از قلب آن‌ها به روش Cardiac puncture انجام شد. برای تهیه سرم، نمونه‌های خون با سرعت ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم‌های جدا شده تا زمان انجام آزمایش‌ها در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. اندازه‌گیری پارامترهای هماتولوژی با استفاده از دستگاه (Cell Counter Nihon codon, USA)، اندازه‌گیری مالون دی آلدهید با روش TBARS، اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز در گلبول‌های قرمز با استفاده از کیت مربوط به شرکت رنداکس (Ransod, Randox. CAT. NO. SD125) و برای اندازه‌گیری hsCRP از روش الایزا (Cusabio Biotech Co Ltd, Wuhan,) (ELISA kit.China)، استفاده شد.

جدول ۱- مقایسه میانگین پارامترهای هماتولوژی (میانگین \pm انحراف معیار) در گروه‌های مورد بررسی ۴ هفته پس از مصرف

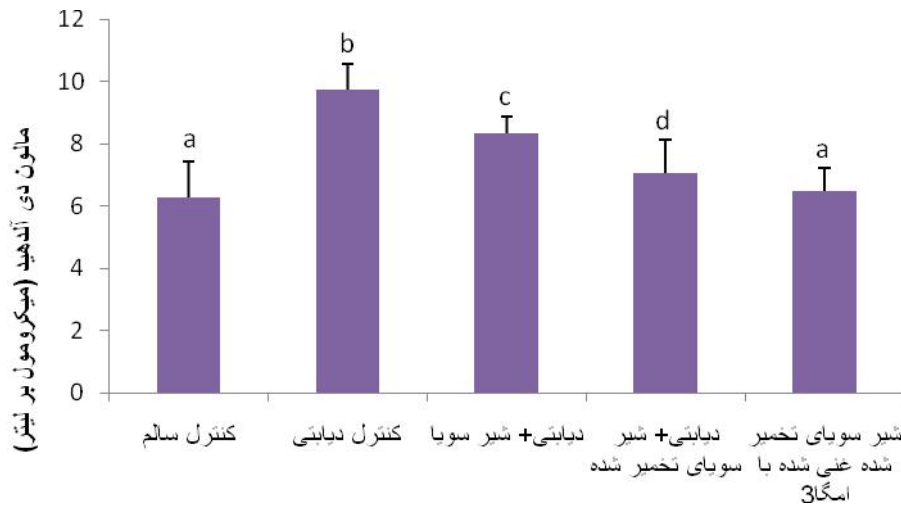
رژیم‌های مختلف

متغیر گروه	گلبول سفید $\times 10^9$ بر لیتر	گلبول قرمز $\times 10^{12}$ بر لیتر	هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر)	هماتوکریت (گرم بر دسی لیتر)	میانگین حجم گلبولی (فیمتولیترا)	میانگین هموگلوبین گلبولی (پیکوگرم)	غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز (گرم بر دسی لیتر)
۱	۶/۷۸ \pm ۱/۶۷ ^{ab}	۷/۹۶ \pm ۰/۷۰ ^{ab}	۱۲/۱۱ \pm ۱/۳۴ ^a	۴۱/۶۲ \pm ۲/۸۰ ^{ab}	۵۲/۶۰ \pm ۱/۲۲ ^{ab}	۱۵/۹۱ \pm ۰/۴۸ ^a	۳۰/۰۴ \pm ۰/۹۹ ^a
۲	۵/۶۰ \pm ۱/۷۹ ^a	۷/۲۵ \pm ۰/۹۷ ^a	۸/۸۴ \pm ۴/۲۶ ^b	۳۹/۷۸ \pm ۶/۱۷ ^a	۵۱/۸۰ \pm ۱/۹۴ ^a	۱۴/۷۴ \pm ۰/۶۲ ^b	۲۸/۱۸ \pm ۰/۷۴ ^b
۳	۷/۸۸ \pm ۲/۳۶ ^{abc}	۸/۴۳ \pm ۰/۵۲ ^b	۱۳/۳۰ \pm ۰/۹۰ ^a	۴۶/۱۱ \pm ۲/۹۴ ^b	۵۴/۷۰ \pm ۱/۹۹ ^b	۱۵/۷۷ \pm ۰/۶۳ ^{ab}	۲۸/۹۵ \pm ۰/۸۵ ^{ab}
۴	۹/۱۳ \pm ۱/۹۱ ^{bc}	۸/۲۰ \pm ۰/۷۰ ^b	۱۲/۸۱ \pm ۱/۷۵ ^a	۴۴/۷۲ \pm ۴/۰۴ ^b	۵۳/۰۶ \pm ۲/۷۹ ^b	۱۵/۳۱ \pm ۱/۰۰ ^{ab}	۲۸/۸۷ \pm ۱/۲۳ ^{ab}
۵	۹/۵۲ \pm ۲/۷۵ ^c	۸/۹۰ \pm ۰/۴۸ ^b	۱۳/۹۰ \pm ۰/۷۳ ^a	۴۶/۲۴ \pm ۲/۵۳ ^b	۵۳/۶۸ \pm ۲/۱۹ ^b	۱۵/۸۰ \pm ۰/۹۸ ^a	۲۸/۸۲ \pm ۱/۰۷ ^b

حروف متفاوت معنی دار بودن نتایج ($P < 0.05$) را بین گروه‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس نشان می‌دهد. ۱: گروه کنترل سالم، ۲: گروه کنترل دیابتی، ۳: گروه دیابتی دریافت کننده شیرسویا، ۴: گروه دیابتی دریافت کننده شیرسویای پروبیوتیک، ۵: گروه دیابتی دریافت کننده شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳

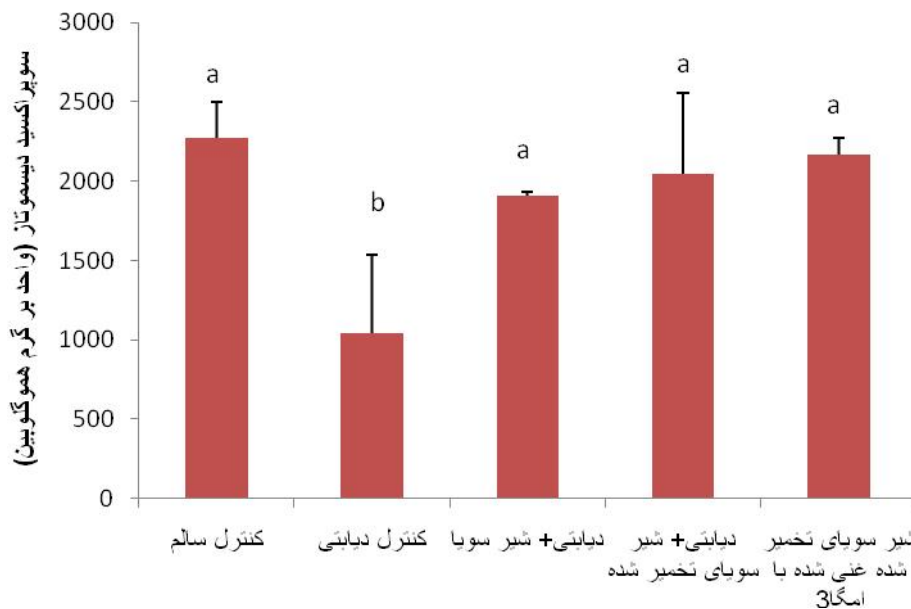
بیشتر بود ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار ۳). در مقایسه با گروه کنترل دیابتی، میانگین پارامترهای مالون دی آلدهید و سوپراکسید دیسموتاز در هر ۳ گروه تحت درمان، به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) را نشان داد (نمودار ۱ و ۲).

در پایان دوره آزمایش، پارامترهای مالون دی آلدهید و سوپراکسید دیسموتاز در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل سالم به ترتیب افزایش و کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) را نشان دادند (نمودار ۱ و ۲). پارامتر التهابی hs-CRP هرچند در گروه دیابتی در مقایسه با کنترل سالم



نمودار ۱- میانگین مالون دی آلدهید خون گروه‌های مورد بررسی در انتهای دوره آزمایش

مقادیر بیانگر میانگین \pm انحراف معیار می‌باشد. حروف متفاوت معنی‌دار بودن نتایج ($P < 0/05$) را بین گروه‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان می‌دهد. (کنترل سالم، $n=12$)، (کنترل دیابتی، $n=11$)، (دیابتی + شیر سویا، $n=11$)، (دیابتی + شیر سویای تخمیر شده، $n=11$)، (دیابتی + شیر سویای تخمیر شده غنی شده با امگا-3).



نمودار ۲- میانگین سوپراکسید دیسموتاز گروه‌های مورد بررسی در انتهای دوره آزمایش.

مقادیر بیانگر میانگین \pm انحراف معیار می‌باشد. حروف متفاوت معنی‌دار بودن نتایج ($P < 0/05$) را بین گروه‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه را نشان می‌دهد. (کنترل سالم، $n=12$)، (کنترل دیابتی، $n=11$)، (دیابتی + شیر سویا، $n=11$)، (دیابتی + شیر سویای تخمیر شده، $n=11$)، (دیابتی + شیر سویای تخمیر شده غنی شده با امگا-3).

پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ نسبت به گروه دیابتی مصرف کننده شیر سویا و گروه دیابتی مصرف کننده شیر سویای پروبیوتیک به طور معنی داری ($P < 0/05$) کمتر بود (نمودار ۱). این میزان کاهش نسبت به گروه دریافت کننده شیر سویا، ۱۹/۱ درصد و نسبت به گروه دریافت کننده شیر سویای پروبیوتیک، ۶ درصد بود. از طرفی میزان hs-CRP در گروه دیابتی مصرف کننده شیر سویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ نسبت به گروه کنترل دیابتی و گروه دیابتی مصرف کننده شیر سویای پروبیوتیک به طور معنی داری ($P < 0/05$) کمتر بود (نمودار ۳).

در مقایسه با گروه کنترل دیابتی، بیشترین کاهش سطح مالون دی آلدیید، در گروه های دریافت کننده شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳، شیرسویای پروبیوتیک و شیرسویا به ترتیب ۳۳/۴، ۲۷/۴ و ۱۴/۳ درصد بود (نمودار ۱). همچنین بیشترین افزایش سطح سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب در گروه های دریافت کننده شیر سویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳، شیر سویای پروبیوتیک و شیر سویا به ترتیب به میزان ۱۰۷/۳، ۹۵/۹ و ۸۲/۵ بود (نمودار ۲). در مقایسه بین ۳ گروه تحت درمان، میانگین مالون دی آلدیید در گروه دیابتی مصرف کننده شیر سویای



نمودار ۳- میانگین hs-CRP گروه های مورد بررسی در انتهای دوره آزمایش.

مقادیر بیانگر میانگین \pm انحراف معیار می باشد. حروف متفاوت معنی دار بودن نتایج را بین گروه ها استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه نشان می دهد. (کنترل سالم، $n=12$)، (کنترل دیابتی، $n=11$)، (دیابتی + شیر سویا، $n=11$)، (دیابتی + شیر سویای تخمیر شده، $n=11$)، (شیر سویای تخمیر شده غنی شده با امگا-۳).

قرمز که در طی دیابت رخ می دهد باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدی شده که این امر به نوبه خود باعث همولیز گلبول قرمز و بروز آنمی می شود [۲۰]، که علت کاهش پارامترهای فوق الذکر می باشد. از طرفی استرپتوزوتوسین یک ماده شیمیایی می باشد که باعث متوقف شدن سیستم ایمنی و آسیب به گلبول سفید می شود [۲۱].

از طرفی این کاهش پارامترهای هماتولوژیک و بروز کم خونی را در این بررسی می توان این گونه توجیه کرد که در حیوانات مورد بررسی پس از تخریب سلول های پانکراس توسط استرپتوزوتوسین، ورود قند به درون سلول های

بحث و نتیجه گیری

طبق نتایج مطالعه حاضر، هر چند اکثر پارامترهای هماتولوژیک در مقایسه با گروه کنترل سالم مقادیر کمتری داشتند، ولی فقط مقادیر هموگلوبین، میانگین هموگلوبین گلوبولی و غلظت متوسط هموگلوبین در گلبول قرمز از لحاظ آماری معنی دار بودند. این نتایج با نتایج مطالعه Baskar و همکاران [۱۹]، که در آن پارامترهای هماتولوژیک در موش های صحرایی دیابتی به طور معنی داری کاهش یافتند همخوانی دارد. همچنین در مطالعه Shenoy و همکاران افزایش قند خون و در نتیجه افزایش گلیکوزیلاسیون غیر آنزیمی پروتئین های غشای گلبول

آنتی اکسیدانی مربوط به ایزوفلاوون‌ها، پروتئین سویا و ساپونین این نقش را ایفاء می‌کند [۲۴]. از طرفی نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین افزایش در پارامترهای گلبول سفید، گلبول قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در ۳ گروه تحت درمان، مربوط به گروه دریافت کننده شیر سویای پروبیوتیک غنی شده با امگا-۳ بود. افزودن امگا-۳ به شیر سویای پروبیوتیک احتمالاً دلیل این اثر مفید می‌باشد. در واقع اسیدهای چرب امگا-۳ نقش موثری در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی از طریق افزایش سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بر علیه رادیکال‌های آزاد و نیز جایگزین شدن در غشای گلبول‌های قرمز به جای اسیدهای چرب غیر اشباع دارند. [۲۸، ۲۹]. کاهش همولیز گلبول‌های قرمز خرگوش‌هایی که رژیم غذایی آن‌ها با امگا-۳ غنی شده بود [۳۰]، از نتایج مطالعه حاضر حمایت می‌کند.

در مطالعه حاضر به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری در سطوح آنزیم سوپراکسید دیس موتاز و مالون دی آلدئید در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده گردید. شواهد تحقیقاتی متعددی مبنی بر این موضوع یافت می‌شود که هیپرگلیسمی منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه تسریع فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب غشایی می‌شود. با در نظر گرفتن این تغییرات به دنبال القاء دیابت کاهش عملکرد آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و افزایش سطوح مالون دی آلدئید در بسیاری از مطالعات گزارش شده است [۳۱، ۳۲]. تشکیل قندهای احیا کننده و پلی‌اول‌ها در هیپرگلیسمی می‌تواند به راحتی با لیپیدها و پروتئین‌ها وارد واکنش شده و منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن شود. در تایید نتایج مطالعه ما، نتایج مطالعه Griesmacher و همکاران، نشان داد که در تمام افراد دیابتی سطوح سرمی تیوباریتوریک اسید به‌طور قابل توجهی افزایش یافت که این نشان می‌دهد که تشکیل رادیکال‌های آزاد نقش اصلی را در پراکسیداسیون لیپیدی بر عهده دارد [۳۳].

طبق نتایج مطالعه حاضر، در مقایسه با گروه کنترل دیابتی، میانگین پارامترهای مالون دی آلدئید و سوپراکسید دیسموتاز در هر ۳ گروه تحت درمان، به ترتیب کاهش و افزایش معنی‌داری را نشان داد. از طرفی، بیشترین کاهش

بافت چربی و عضلانی مختل شده و به دنبال افزایش قند خون حیوانات مورد بررسی دچار عارضه نوروپاتی سمپاتیکی شده باشند. که این امر منجر به کاهش میزان نوراپی نفرین و اپی نفرین از انتهای این اعصاب بر دستگاه مجاور کلافی کلیه به‌ویژه سلول‌های ترشح کننده اریتروپوئیتین می‌شود و از این طریق تولید گلبول قرمز، هموگلوبین و سایر کمیت‌های مورد مطالعه را تحت تاثیر قرار داده و موجب افت آن‌ها می‌شود [۲۲].

توجه دیگری که برای کاهش پارامترهای هماتولوژیک در این مطالعه می‌توان آورد این است که احتمال دارد در این حیوانات کاهش انسولین و به دنبال آن اختلال در متابولیسم گلوکز منجر به کاهش تولید اریتروپوئیتین از سایر بافت‌ها شده باشد. همچنین براساس نتایج Alba- Loureior و همکاران، بیماران دیابتی به دنبال اختلال در متابولیسم گلوکز و گلوتامین که مورد استفاده نوتروفیل‌ها می‌باشد عمل و متابولیسم گلبول‌های سفید نیز تغییر می‌کند [۲۲].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که هموگلوبین، گلبول‌های قرمز و هماتوکریت در هر ۳ گروه دیابتی تحت درمان و میانگین حجم گلبولی و میانگین هموگلوبین گلبولی در ۲ گروه دریافت کننده شیر سویا و گروه دریافت کننده شیر سویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ نسبت به گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. ایزوفلاوون‌های موجود در سویا به‌طور مثبتی بر روی شمارش مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها اثرگذار می‌باشد [۲۳]. این فرضیه توسط دیگر مطالعات [۲۴، ۲۵]، نیز تایید شده است که ایزوفلاوون‌ها قادر به بهبود و برگرداندن پارامترهای هماتولوژیک به حالت طبیعی می‌باشند. از آنجا که گیرنده‌های فیتواستروژن‌های موجود در سویا بر روی لنفوسیت‌ها و سلول‌های آنتی ژنی دیده شده است این استروژن‌ها می‌توانند از طریق تاثیر بر روی تمایز، پیام‌رسانی و افزایش ایمنی در بهبود این شرایط نقش داشته باشند. از اثرات دیگر سویا بر روی پارامترهای هماتولوژی نقش سویا و اجزاء آن در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشد [۲۶]، چرا که در دیابت پراکسیداسیون لیپیدی در همولیز گلبول قرمز نقش دارد [۲۷]. بنابراین سویا با داشتن خواص

تحقیقاتی متعددی مبنی بر این موضوع یافت می‌شود که اسیدهای چرب امگا-۳ سطوح تیوباریتوریک اسید را در افراد دیابتی کاهش می‌دهد [۴۱، ۴۰]. در تایید نتایج مطالعه حاضر، نتایج Barbosa و همکاران، نشان داد مکمل یاری با امگا ۳ دارای خاصیت جاروب کنندگی رادیکال‌های آزاد می‌باشد [۴۲]. از طرفی مطالعات Hasan و همکاران [۴۳]، Yessoufu و همکاران [۴۴] نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نتیجه مکمل یاری با اسیدهای چرب امگا ۳ افزایش می‌یابد. تجویز اسیدهای چرب امگا ۳ با چندین سازوکار احتمالی نقش ضداسترس اکسیداتیو خود را اعمال می‌کند. نخست این که این اسیدهای چرب باعث افزایش سطوح آنزیم کاتالاز در پراکسی زوم و سیتوپلاسم شده و از این طریق باعث افزایش سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بر علیه رادیکال‌های آزاد می‌شود. دوم این که این اسیدهای چرب در غشای سلولی آریتروسیت‌ها جایگزین اسیدهای چرب غیراشباعی می‌شوند که به وسیله رادیکال‌های سوپراکسید و هیدروکسیل مورد حمله قرار می‌گیرند [۴۵].

در مطالعه حاضر هرچند غلظت hs-CRP بین دو گروه کنترل دیابتی و کنترل سالم از نظر آماری معنی‌دار نبود اما در گروه دیابتی غلظت آن بیشتر بود، که این نشان از افزایش التهاب در گروه دیابتی دارد. زیرا CRP، یک پروتئین فاز حاد کبدی است که در شرایط التهاب افزایش می‌یابد و شاخص کلیدی اندازه‌گیری التهاب می‌باشد. اندازه‌گیری hs-CRP نسبت به CRP حساس‌تر می‌باشد. هیپرگلیسمی به‌طور مثبتی با غلظت افزایش یافته hs-CRP در ارتباط می‌باشد. هیپرگلیسمی منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد که نتیجه این فرآیند تسریع پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب‌های غشایی می‌باشد. هیپرگلیسمی با آسیب به عروق اندوتلیال از طریق افزایش تولید پلی‌اول‌ها، تولید محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون، افزایش پروتئین کیناز C و هگزوآمین اثرات التهابی خود را اعمال می‌کند [۴۶]. هرچند در گروه دریافت کننده شیر سویا در مقایسه با گروه کنترل دیابتی سطح hs-CRP کمتر بود، ولی این تفاوت معنی‌دار نبود، و تنها در گروه دریافت

سطح مالون دی آلدئید، و بیشترین افزایش سطوح سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب در گروه‌های دریافت کننده شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳، شیرسویای پروبیوتیک و شیرسویا بود. فعالیت آنتی اکسیدانی شیر سویا و شیر سویای پروبیوتیک در مطالعات پیشین نشان داده شده است [۸، ۱۱]. در مطالعه Lee و همکاران (۲۰۰۶)، اثرات معنی‌دار افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از جمله سوپراکسید دیسموتاز در موش‌های صحرايي دیابتی مصرف کننده پروتئین و ایزوفلاوون جنیستین سویا مشاهده شد [۷]. فعالیت آنتی اکسیدانی شیر سویا به ایزوفلاوون‌ها، پروتئین سویا و ساپونین نسبت داده می‌شود [۳۴]. مهم‌ترین و شناخته شده ترین خاصیت فلاونوئیدها از جمله ایزوفلاوون‌ها قابلیت آنتی اکسیدانی آن‌ها می‌باشد. فلاونوئیدها قادرند از صدمات ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد طی دیابت و پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری کنند که این کار از طریق به دام انداختن مستقیم رادیکال‌های آزاد می‌باشد. از طرفی فلاونوئیدها با تحریک برداشت گلوکز توسط بافت‌های محیطی، تنظیم فعالیت و بیان آنزیم‌های محدود کننده در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، تنظیم و تاثیر بر مسیر پیام‌رسانی و ترشح انسولین قادرند بر هموستاز گلوکز اثر مطلوب داشته باشند [۳۵]. تاثیر بیشتر شیر سویای پروبیوتیک در کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش سطح آنزیم آنتی اکسیدانی در این مطالعه احتمالاً به این دلیل است که ایزوفلاوون‌های بیواکتیو آگلیکون در شیر سویای تخمیر شده نسبت به شیر سویای تخمیر نشده زودتر جذب می‌شوند و سطح سرمی بالاتری دارند [۳۶]. به علاوه ۳- هیدروکسی آنترینیلیک اسید، فراورده جانبی تخمیر شیر سویا [۳۷]، فعالیت آنتی اکسیدانی معادل آلفا توکوفرول داشته و در مقابل پراکسیداسیون لیپیدی موثرتر از جنیستین [۳۸، ۳۹] می‌باشد. خاصیت ضد رادیکالی و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی شیر سویا با تخمیر، قویا توسط مطالعات دیگر تایید شده است [۳۶]. به نظر می‌رسد کاهش بیشتر استرس اکسیداتیو در گروه دیابتی دریافت کننده شیرسویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ نسبت به دو گروه دیگر، مربوط به اسیدهای چرب امگا ۳ باشد. به علاوه شواهد

به طور کلی ترکیب شیرسویا، پروبیوتیکها و امگا ۳، احتمالاً در کاهش عوارض مرتبط با دیابت موثر می باشد. از محدودیت های پژوهش حاضر می توان به کوتاه بودن محدوده زمانی انجام طرح و لذا عدم امکان بررسی تاثیر فرآورده های مورد نظر در مدت زمانی طولانی تر، عدم امکان انجام تست های پاتولوژیک و دیگر فاکتورهای مرتبط با وضعیت آنتی اکسیدانی از جمله آنزیم های کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز اشاره کرد. بنابراین طراحی مطالعه ای همسو با این مطالعه با استفاده از دوزهای بیشتر محصولات مورد استفاده و نیز با طول مدت بیشتر مداخله و نیز انجام تست های پاتولوژیک بافت ها می تواند اطلاعات دقیق تری در ارتباط با تاثیرات مثبت این محصولات ارائه دهد. همچنین از آنجا که سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بدن شبکه های پیچیده و متشکل از آنزیم های متعددی است می توان در مطالعات مشابه اثر این محصولات را بر متغیرهای بیشتر از جمله ظرفیت توتال آنتی اکسیدانی بدن سنجید تا بتوان از نتایج آن جهت بهبود وضعیت بیماران دیابتی استفاده بهتری نمود.

سپاسگزاری

این مقاله از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه علوم پزشکی شیراز به شماره ۹۱-۶۰۷۴ استخراج گردیده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز به خاطر تامین اعتبار و همین طور از همکاری صمیمانه خانه حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

کننده شیر سویای پروبیوتیک غنی شده با امگا-۳ سطح hs-CRP به طور معنی داری کمتر بود.

نتایج متناقضی در رابطه با تاثیر اجزای سویا بر روی فاکتورهای التهابی وجود دارد [۴۷، ۴۸]. هرچند سازوکار دقیق سویا بر روی فاکتورهای التهابی معلوم نیست، اما احتمالاً اثر ایزوفلاون های سویا بر روی بیان CRP تا حدی از طریق تعدیل مسیر التهابی وابسته به NF-Kb صورت می گیرد. ایزوفلاون های سویا با منع نسخه برداری فاکتورهای NF-Kb از فعالیت آن جلوگیری می کند [۴۹]. در مطالعات کلینیکال تریال مشابه نتایج مطالعه حاضر، شیر سویا اثر قابل توجهی بر روی پارامترهای التهابی از جمله CRP نداشت [۵۰]. به نظر می رسد کاهش معنی دار سطوح hs-CRP در گروه دریافت کننده شیر سویای پروبیوتیک غنی شده با امگا ۳ نسبت به گروه دریافت کننده شیر سویای پروبیوتیک مربوط به امگا ۳ باشد. چنانچه مطالعات زیادی اثرات مثبت و مفید اسیدهای چرب امگا ۳ را بر روی التهاب نشان داده اند. اسیدهای چرب امگا ۳، نقش مهمی در تعدیل پاسخ های التهابی بر عهده دارند [۵۱]. از طرفی برخی از گونه های خاص پروبیوتیکها از جمله بیفیدوباکتر با تاثیر بر ترکیب فلور میکروبی روده و بهبود عملکرد روده می توانند موجب مهار انتقال اندوتوکسین های باکتریایی به جریان خون و کاهش لیپولی ساکاریدها و سیتوکینهای پیش التهابی در گردش خون شوند و از این راه موجب کاهش التهاب و در نتیجه کاهش مقاومت انسولینی و جلوگیری از تخریب سلول های بتا پانکراس شوند. پروبیوتیکها همچنین از راه ممانعت از تولید گونه های واکنش گر اکسیژن و خاصیت آنتی اکسیدانی در کنترل التهاب موثر می باشند [۵۲].

1. Maheandiran M, Mylvaganam S, Wu C, El-Hayek Y, Sugumar S, Hazrati L, et al. Severe Hypoglycemia in a Juvenile Diabetic Rat Model: Presence and Severity of Seizures Are Associated with Mortality. *PLOS ONE* 2013; 8(12):e83168.
2. Ahuja M. A decade of epidemiology of diabetes. *Intl. J. Diab. Dev. Countries* 1991; 11: 2-4
3. Li Z, Geng YN, Jiang JD, Kong WJ. Antioxidant and Anti-inflammatory Activities of Berberine in the Treatment of Diabetes. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014;2014:289264
4. Ahmed FN, Naqvi FN, Shafiq F. Lipid peroxidation and serum antioxidant enzymes in patients with type 2 diabetes mellitus. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2006;1084(1):481-9.
5. Dalla Vestra M, Mussap M, Gallina P, Bruseghin M, Cernigoi AM, Saller A, et al. Acute-phase markers of inflammation and glomerular structure in patients

- with type 2 diabetes. *Journal of the American Society of Nephrology* 2005; 16(3 suppl 1):S78-S82.
6. Ohaeri O, Adoga G. Anticoagulant modulation of blood cells and platelet reactivity by garlic oil in experimental diabetes mellitus. *Bioscience reports* 2006; 26(1):1-6.
 7. Lee J-S. Effects of soy protein and genistein on blood glucose, antioxidant enzyme activities, and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life sciences* 2006; 79(16):1578-84.
 8. Kwon DY, Daily JW, Kim HJ, Park S. Antidiabetic effects of fermented soybean products on type 2 diabetes. *Nutrition Research* 2010; 30(1):1-13.
 9. Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *New England Journal of Medicine*. 1995; 333(5):276-82.
 10. Djuric Z, Chen G, Doerge DR, Heilbrun LK, Kucuk O. Effect of soy isoflavone supplementation on markers of oxidative stress in men and women. *Cancer letters* 2001; 172(1):1-6.
 11. Lin C, Tsai Z-Y, Cheng I-C, Lin S-H. Effects of fermented soy milk on the liver lipids under oxidative stress. *World Journal of Gastroenterology* 2005; 11(46):7355.
 12. Ardita C, Mercante J, Kwon YM, Jones R, Powell D, Neish A. Pilin SpaC-mediated epithelial adhesion is required for Lactobacillus rhamnosus GG-induced probiotic effects (60.9). *The FASEB Journal* 2014; 28(1 Supplement):60.9.
 13. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *The American journal of clinical nutrition*. 1991; 54(3):438-63.
 14. Higdon JV, Liu J, Du S-H, Morrow JD, Ames BN, Wander RC. Supplementation of postmenopausal women with fish oil rich in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid is not associated with greater in vivo lipid peroxidation compared with oils rich in oleate and linoleate as assessed by plasma malondialdehyde and F2-isoprostanes. *The American journal of clinical nutrition*. 2000; 72(3):714-22.
 15. Song JH, Miyazawa T. Enhanced level of n-3 fatty acid in membrane phospholipids induces lipid peroxidation in rats fed dietary docosahexaenoic acid oil. *Atherosclerosis*. 2001; 155(1):9-18.
 16. Yuan YV, Kitts DD, Godin DV. Variations in dietary fat and cholesterol intakes modify antioxidant status of SHR and WKY rats. *The Journal of nutrition* 1998; 128(10):1620-30.
 17. Hou J-W, Yu R-C, Chou C-C. Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. *Food Research International* 2000; 33(5):393-7.
 18. Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, et al. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes* 1998; 47(2):224-9.
 19. Baskar R, Bhakshu LM, Vijaya Bharathi G, Sreenivasa Reddy S, Karuna R, Kesava Reddy G, et al. Antihyperglycemic Activity of Aqueous Root Extract of *Rubia cordifolia*. in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Pharmaceutical biology* 2006; 44(6):475-9.
 20. Shenoy AG, Goyal RK. Improvement of insulin sensitivity by perindopril in spontaneously hypertensive and streptozotocin-diabetic rats. *Indian journal of pharmacology* 2002; 34(3):64-156
 21. Torel J, Cillard J, Cillard P. Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry* 1986; 25(2): 383-5.
 22. Alba-Loureiro T, Hirabara S, Mendonca J, Curi R, Pithon-Curi T. Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. *Journal of endocrinology* 2006; 188(2):295-303.
 23. Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, Onoe Y, Sato T, Uchiyama Y, et al. Selective effects of genistein, a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. *Endocrinology* 1999; 140(4):1893-900.
 24. Harada T, Masuda S, Arai M, Adachi Y, Nakajima M, Yadomae T, et al. Soy isoflavone aglycone modulates a hematopoietic response in combination with soluble β -glucan: SCG. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 2005; 28(12):2342-5.
 25. Soung DY, Patade A, Khalil DA, Lucas EA, Devareddy L, Greaves KA, et al. Soy protein supplementation does not cause lymphocytopenia in postmenopausal women. *Nutrition journal* 2006; 5(1):12.
 26. Patel RP, Boersma BJ, Crawford JH, Hogg N, Kirk M, Kalyanaraman B, et al. Antioxidant mechanisms of isoflavones in lipid systems: paradoxical effects of peroxyl radical scavenging. *Free Radical Biology and Medicine* 2001; 31(12):1570-81.
 27. Miller JA, Gravallesse E, Bunn HF. Nonenzymatic glycosylation of erythrocyte membrane proteins. Relevance to diabetes. *Journal of Clinical Investigation* 1980; 65(4):896.
 28. Kesavulu M, Kameswararao B, Ch A, Kumar E, Harinarayan C. Effect of omega-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type 2 diabetic patients. *Diabetes & metabolism* 2002; 28(1):20-6.
 29. L'Abbé MR, Trick KD, Beare-Rogers JL. Dietary (n-3) fatty acids affect rat heart, liver and aorta protective enzyme activities and lipid peroxidation. *The Journal of nutrition* 1991; 121(9):1331.
 30. van den Berg JJ, de Fouw NJ, Kuypers FA, Roelofsen B, Houtsmuller UM, den Kamp JA. Increased n-3 polyunsaturated fatty acid content of red blood cells from fish oil-fed rabbits increases in vitro lipid peroxidation, but decreases hemolysis. *Free Radical Biology and Medicine* 1991; 11(4):393-9.
 31. Adetunji O A, Dolapo P O. The profiles of lipid peroxidation and anti-oxidant activities in gestational diabetes mellitus & normal pregnancies in Nigerian population. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology* 2013; 3:472.
 32. Verma S, Sagar N, Vats P, Shukla K, Abbas M, Banerjee Antioxidant enzyme levels as markers for type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Bioassays* 2013; 2(4):685-90.
 33. Griesmacher A, Kindhauser M, Andert SE, Schreiner W, Toma C, Knoebl P, et al. Enhanced

- serum levels of thiobarbituric-acid-reactive substances in diabetes mellitus. *The American journal of medicine* 1995; 98(5):469-75.
34. Marazza JA, LeBlanc JG, de Giori GS, Garro MS. Soymilk fermented with *Lactobacillus rhamnosus* CRL981 ameliorates hyperglycemia, lipid profiles and increases antioxidant enzyme activities in diabetic mice. *Journal of Functional Foods* 2013; 5(4):1848-53.
 35. Cazarolli LH, Zanatta L, Alberton EH, Reis Bonorino Figueiredo MS, Folador P, Damazio RG, et al. Flavonoids: cellular and molecular mechanism of action in glucose homeostasis. *Mini reviews in medicinal chemistry* 2008; 8(10):1032-8.
 36. Wang Y-C, Yu R-C, Chou C-C. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food microbiology* 2006; 23(2):128-35.
 37. Matsuo M. In vivo antioxidant activity of okara koji, a fermented okara, by *Aspergillus oryzae*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 1997; 61(12):1968-72.
 38. Esaki H, Onozaki H, Kawakishi S, Osawa T. New antioxidant isolated from tempeh. *Journal of agricultural and food chemistry* 1996; 44(3):696-700.
 39. Thomas SR, Witting PK, Stocker R. 3-Hydroxyanthranilic acid is an efficient, cell-derived co-antioxidant for alpha-tocopherol, inhibiting human low density lipoprotein and plasma lipid peroxidation. *The Journal of biological chemistry* 1996; 271(51):2714-21.
 40. Mori TA, Dunstan DW, Burke V, Croft KD, Rivera JH, Beilin LJ, et al. Effect of dietary fish and exercise training on urinary F2-isoprostane excretion in non-insulin-dependent diabetic patients. *Metabolism: clinical and experimental* 1999; (11):1402-8. PubMed PMID: 10582548. Epub 1999/12/03. eng.
 41. Vericel E, Calzada C, Chapuy P, Lagarde M. The influence of low intake of n-3 fatty acids on platelets in elderly people. *Atherosclerosis* 1999; 147(1):187-92.
 42. Barbosa DS, Cecchini R, El Kadri MZ, Rodriguez MA, Burini RC, Dichi I. Decreased oxidative stress in patients with ulcerative colitis supplemented with fish oil omega-3 fatty acids. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)* 2003; 19(10):837-42.
 43. Erdogan H, Fadillioglu E, Ozgocmen S, Sogut S, Ozyurt B, Akyol O, et al. Effect of fish oil supplementation on plasma oxidant/antioxidant status in rats. *Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids* 2004; 71(3):149-52.
 44. Yessoufou A, Soulimann N, Merzouk S, Moutairou K, Ahissou H, Prost J, et al. N-3 fatty acids modulate antioxidant status in diabetic rats and their macrosomic offspring. *International journal of obesity* 2006; 30(5): 739-50.
 45. Masters C. Omega-3 fatty acids and the peroxisome. *Molecular and cellular biochemistry* 1996; 165(2):83-93.
 46. Haffner SM. The metabolic syndrome: inflammation, diabetes mellitus, and cardiovascular disease. *The American journal of cardiology* 2006; 97(2):3-11.
 47. Azadbakht L, Kimiagar M, Mehrabi Y, Esmailzadeh A, Hu FB, Willett WC. Soy Consumption, Markers of Inflammation, and Endothelial Function A cross-over study in postmenopausal women with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 2007; 30(4):967-73.
 48. Jenkins DJ, Kendall CW, Connelly PW, Jackson C-JC, Parker T, Faulkner D, et al. Effects of high-and low-isoflavone (phytoestrogen) soy foods on inflammatory biomarkers and proinflammatory cytokines in middle-aged men and women. *Metabolism: clinical and experimental* 2002; 51(7):919-24.
 49. Davis JN, Kucuk O, Sarkar FH. Genistein inhibits NF-kappa B activation in prostate cancer cells. *Nutrition and cancer* 1999; 35(2): 167-74.
 50. Beavers KM, Serra MC, Beavers DP, Cooke MB, Willoughby DS. Soymilk supplementation does not alter plasma markers of inflammation and oxidative stress in postmenopausal women. *Nutrition research (New York, NY)* 2009; 29(9):616-22.
 51. Kim JW, Jin YC, Kim YM, Rhie S, Kim HJ, Seo HG, et al. Daidzein administration in vivo reduces myocardial injury in a rat ischemia/reperfusion model by inhibiting NF-kappaB activation. *Life sciences* 2009; 84(7-8):227-34. PubMed PMID: 19109981.
 52. Mengheri E. Health, probiotics, and inflammation. *Journal of clinical gastroenterology* 2008; 42:S177-S8.

THE EFFECTS SOYMILK FERMENTED WITH *BIFIDOBACTERIUM LACTIS* AND CONTAINING OMEGA-3 ON HAEMATOLOGICAL, OXIDATIVE STRESS, ANTI-OXIDANT AND INFLAMMATORY PARAMETERS IN TYPE 2 DIABETIC RATS

Seyed Mohammad Mazloomi¹, Mohsen Mohammadi Sartang*², Nader Tanideh³, Abbas Rezeian zadeh⁴

1. Department of Food Hygiene and Quality Control, School and Research Center of Nutrition and Food Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

2. Department of Nutrition, Nutrition Sciences, School of Nutrition and Food Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

3. Department of Pharmacology, Stem Cell and Transgenic Technology Research Center, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

4. Department of Epidemiology and Research Center for Health Sciences, School of Health, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

ABSTRACT

Background: Type 2 diabetes is a major metabolic disorder. This study was aimed to evaluate the effect of probiotic soymilk fermented with *Bifidobacterium lactis* and containing omega-3 on hematologic, oxidative stress, anti-oxidant and inflammatory parameters in type 2 diabetic rats.

Methods: In this experimental manipulation study 65 rats were divided into five groups. Type 2 diabetes was induced by a single injection of streptozotocin and nicotinamide. Normal control (NC) and diabetic control (DC) rats received 1 mL/day of distilled water, and three groups of diabetic rats were administered 1 mL/day of soymilk (SM), fermented soymilk (FSM) and fermented soymilk fortified with omega-3 (FSM+omega-3) products by oral gavage for 28 days. Hematologic, oxidative stress, anti-oxidant and inflammatory parameters were measured at the end of experiment.

Results: At the end of experiment, in all treated diabetic rats compared with the DC group, red blood cell (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit and superoxide dismutase (SOD) concentrations increased significantly ($p < 0.05$), and malondialdehyde (MDA) concentrations reduced significantly ($p < 0.05$). The reduction of MDA and increasing in Hb, RBC, hematocrit and SOD concentrations in the FSM+omega-3 group was more than two other groups. In the FSM+omega-3 group, high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) concentrations compared with the DC and FSM groups were significantly lower ($p < 0.05$).

Conclusion: The experiments suggest that combining soymilk, probiotics and omega-3 may be beneficial for the reducing oxidative-stress in type 2 diabetes.

Keywords: Soymilk, *Bifidobacterium lactis*, Omega-3, Diabetic rats

* Shiraz, Razi Boulevard, School of Nutrition and Food Sciences. Tel: +98.07117251001, Email: mohsen.nut85@sums.ac.ir