Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:07 IRDT on Wednesday July 27th 2016

مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال یازدهم، شماره 1، بهار 1395، صفحات 10-1

اثرات مصرف گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن بر روی کنترل گلیسمیک و چربی‌های خون بیماران دیابتی نوع 2

فریبا سیدی[1]، ذات اله عاصمی[2]، محمد گلی[3]، فرشته بهمنی[4]، صبیحه السادات علیزاده[5]، احمد اسماعیل‌زاده[6]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، ایران
2- نویسنده مسئول: استادیار مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، ایران، پست الکترونیکی: asemi_r@yahoo.com
3- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، ایران
4- استادیار مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، ایران
5- کارشناس ارشد مرکز تحقیق و توسعه شرکت گز سکه، اصفهان، ایران
6- استاد مرکز تحقیقات امنیت غذایی، گروه تغذیه جامعه، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: 94/5/16 تاریخ پذیرش: 94/9/12

چکیده

سابقه و هدف: مدارک اخیر حاکی از آن است که دریافت آنتی‌اکسیدان‌ها و سین بیوتیک‌ها به خاطر اثر بر سایتوکین‌های التهابی و استرس اکسیداتیو ممکن است بر وضعیت گلایسمیک و چربی‌های خون بیماران دیابتی مؤثر باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر مصرف گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن بر فراسنج بیوشیمیایی در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه کارآزمایی بالینی دو سوکور متقاطع بر روی 51 بیمار مبتلا به دیابت نوع 2 در محدوده سنی 70-35 سال انجام شد. پس از دوره 2 هفته‌ای آمادگی که از بیماران خواسته شد هیچ مکمل تغذیه‌ای حاوی آنتی‌اکسیدان و غذاهای حاوی سین بیوتیک دریافت نکنند، بیماران به‌طور تصادفی برای مصرف گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن (n=51) یا گز کنترل (n=51) به مدت 6 هفته تقسیم شدند. پس از سه هفته استراحت، به‌طور متقاطع مصرف 6 هفته بعدی افراد شروع شد. گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن حاوی 10^7 CFU باکتری *لاکتوباسیلوس اسپوروژنز* سویه با دوام و مقاوم به حرارت از باکتری پروبیوتیک، 0/15 گرم اینولین به‌عنوان پری‌بیوتیک و 0/04 گرم بتاکاروتن به ازای هر گرم گز بود. گز کنترل (مشابه گز سین بیوتیک بدون باکتری، اینولین و بتاکاروتن) در بسته‌های 7 گرمی بسته‌بندی شد. به بیماران توصیه شد که روزانه 3 عدد گز سین بیوتیک یا گز کنترل را مصرف کنند. نمونه خون ناشتا از بیماران در ابتدا و 6 هفته بعد از مداخله برای اندازه‌گیری فراسنج بیوشیمیایی گرفته شد.

یافته‌ها: بعد از 6 هفته مداخله، مصرف گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن در مقایسه با گز کنترل، منجر به کاهش معنی‌دار در انسولین سرمی (تغییرات از ابتدا: 1/00±7/90- در مقابل µIU/mL 3/68±6/91، P<0/002)، مقاومت به انسولین HOMA-IR (0/73± 3/96- در مقابل 1/82±4/09، P<0/002)، HOMA-B (19/75 ±0/52- در مقابل 8/71±17/15، P<0/01)، تری‌گلیسرید (2/86±49/53- در مقابل mg/dL 20/14±50/10، P<0/02)، کلسترول VLDL (9/90±0/57- در مقابل mg/dL 10/02± 4/03، P<0/02) و نسبت کلسترول کل به HDL (0/01±1/08- در مقابل 0/64±0/81، P<0/001) شده است.

نتیجه‌گیری: در مجموع، مصرف گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن به مدت 6 هفته در بیماران دیابتی نوع 2 در مقایسه با گز کنترل، اثرات مفیدی بر روی غلظت انسولین سرمی، مقاومت به انسولین، تری‌گلیسرید، VLDL کلسترول و نسبت کلسترول کل به HDL داشته است، ولی روی سایر فراسنج‌های بیوشیمیایی تأثیری نداشت.

واژگان کلیدی: سین‌بیوتیک، مقاومت به انسولین، کنترل گلیسمیک، چربی خون، دیابت نوع 2

• مقدمه

دیابت نوع 2 یک اختلال متابولیکی است که با سطوح بالای قند خون، مقاومت به انسولین و کمبود نسبی انسولین در بدن تعریف می‌شود (1). شیوع دیابت در جهان 6/4% (285 میلیون) در سال 2010 بوده که به نظر می‌رسد تا سال 2030

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:07 IRDT on Wednesday July 27th 2016

به 7/7% (439 میلیون) برسد (2). چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که افزایش فراسنج‌های لیپیدی، اختلال در متابولیسم انسولین، افزایش فاکتورهای التهابی (4، 2) و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو (5) می‌تواند منجر به پیشرفت دیابت نوع 2 شود. افزایش التهاب و استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی می‌تواند نقش مهمی در پاتوژنز عروق کوچک و بزرگ داشته باشد (7، 6).

با توجه به اثرات مفید پروبیوتیک و سین بیوتیک‌ها بر فاکتورهای متابولیک در مدل‌های حیوانی و بیماران غیر دیابتی، امروزه تمایل زیادی به استفاده از باکتری‌های اسپورزای پروبیوتیک در محصولات غیر لبنی مانند محصولات قنادی و از جمله گز در مقایسه با محصولات لبنی ایجاد شده است. مهم‌ترین دلایل عبارتند از این که باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات لبنی دارای عمر نگهداری محدودند و استفاده از آنها مستلزم نگهداری در یخچال است و در پایان زمان انقضای این محصولات، تعداد سلول‌های زنده به‌طور چشم‌گیری کاهش می‌یابد (8) از طرفی، محصول (گز) حاوی این میکروارگانیسم‌ها می‌تواند در دمای اتاق قرار گیرد و بدون هیچ اثر منفی روی زنده ماندن اسپورها نگهداری شود، و این که اسپورها قادرند که از pH پایین و موانع گوارشی به درستی عبور نمایند که این در مورد باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات لبنی صادق نیست (9).

اخیراً تعدادی از مطالعات نشان داده‌اند که مصرف غذاهای سین‌بیوتیک (ترکیب پرو و پری‌بیوتیک) ممکن است اثرات مفیدی بر فراسنج بیوشیمیایی، فاکتورهای التهابی (10) و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو (11) داشته باشد. اگرچه، چنین اثراتی عمدتاً در مدل‌های حیوانی یا بیماران غیردیابتی ارزیابی شده است. در مطالعات قبلی دیده شد که مصرف نان سین‌بیوتیک در مقایسه با پروبیوتیک و کنترل، اثر معناداری بر کاهش تری‌گلیسرید، VLDL کلسترول و افزایش سطح HDL کلسترول در بیماران دیابتی نوع 2 پس از 8 هفته داشت، اما بر سایر فاکتورهای لیپیدی تأثیری نداشت (12). همچنین افزایش سطوح سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون و کاهش سطوح نیتریک اکسید در طی مصرف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و اینولین در مدل موش آزمایشگاهی مشاهده شد (9). مصرف غذای سین‌بیوتیک در زنان باردار برای 9 هفته منتج به افزایش معناداری در سطح گلوتاتیون کل پلاسما (GSH) شده، اما تأثیری بر ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی پلاسما (TAC) نداشته است (13). اثرات مفید غذاهای سین-بیوتیک ممکن است به کاهش بیان آنزیم دخیل در سنتز اسید چرب نسبت داده شود (14) و یا از طریق تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA)، دی سولفید کربن و استات متیل (15) و افزایش فعالیت لیپولیتیکی (16) ایجاد شوند. Liong و همکاران (8) نشان دادند که مصرف سین‌بیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*Lactobacillus acidophilus*)، فروکتوالیگوساکارید، اینولین و مانیتول منجر به کاهش تری-گلیسرید پلاسما، LDL (Lowdensity lipoprotein) و افزایش غلظت HDL (high density lipoprotein) در خوکچه‌های هایپرلیپیدمیک بعد از 8 هفته می‌شود. به خاطر اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی، بتاکاروتن ممکن است اثرات گز سین بیوتیک بر فراسنج بیوشیمیایی در بیماران مبتلا به دیابت را تقویت نماید (17).

گز جزء فرآورده‌های قنادی بر پایه شکر است که در تولید آن از حرارت بالا استفاده شده و پس از طی فرآیند حرارتی مواد دیگری مانند انواع مغزهای خوراکی و غیره به آن اضافه می‌شود. با توجه به تمایل بالای مصرف شیرینی در دیابتی‌ها، در مطالعه حاضر ما بر آن شدیم گز رژیمی طراحی نماییم تا علاوه بر مؤثر بودن آن بر فراسنج بیوشیمیایی، مقداری از اثر روانی میل به مصرف شیرینی را در این بیماران کاهش دهیم. تاکنون هیچ مطالعه‌ای در مورد اثرات مصرف غذاهای سین-بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن بر فراسنج بیوشیمیایی در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 یافت نشده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات مصرف گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن بر کنترل گلیسمیک و چربی‌های خون بیماران دیابتی نوع 2 بود.

• مواد و روش‌ها

این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور متقاطع از بهمن سال 92 تا تیر ماه 93 در کاشان انجام شد. زنان و مردان، دارای بیماری دیابت نوع 2 مراجعه‌کننده به کلینیک درمانی دیابت گلابچی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی کاشان، برای شرکت در مطالعه انتخاب شدند. در این مطالعه، بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 (قند خون ناشتا بیشتر از 126mg/dl، قند خون 2 ساعت بعد از دریافت غذا بیشتر 200mg/dl و میزان HbA1C بیشتر از 6/5 درصد) و محدوده سنی 70-35 سال وارد مداخله شدند (16). زنان باردار، بیماران مزمن کلیوی، کبدی، عروق کرونر، التهاب حاد و مزمن ریوی، سندروم روده کوتاه، آلرژی و مصرف انسولین و مکمل‌های ویتامینه در حین مداخله، از مطالعه خارج شدند. برای تعیین تعداد نمونه مورد نیاز جهت انجام مطالعه سطح انسولین

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:07 IRDT on Wednesday July 27th 2016

سرمی در مطالعات قبلی در بیماران دیابتی نوع 2 را به‌عنوان متغیر کلیدی در نظر گرفتیم (13). در مطالعه مذکور، تغییرات واریانس مقاومت به انسولین در گروه مداخله (دریافت کننده محصول پروبیوتیک) 0/09 و در گروه کنترل 0/04 بود. بنابراین، تعداد نمونه با در نظر گرفتن فاصله اطمینان 90 درصد، خطای نوع اول (α=0/05)، خطای نوع دوم 20 درصد (β=0/2) و توان آزمون 80 درصد برای هر گروه 42 نفر تعیین گردید. ضمناً، با در نظر گرفتن احتمال 20 درصد خروج نمونه، در نهایت تعداد 51 نفر بیمار در هر گروه در نظر گرفته شد. بنابراین تعداد 102 نفر بیمار برای مطالعه: 51 نفر برای دریافت گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن و 51 نفر جهت دریافت گز کنترل در نظر گرفته شد. مطالعه فوق براساس قوانین Helsinki انجام شده و توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان تصویب و از بیماران رضایت‌نامه کتبی گرفته شد.

طراحی مطالعه: برای به دست آوردن جزئیات اطلاعات دریافت غذایی شرکت‌کنندگان در مطالعه، بیماران وارد دوره 2 هفته‌ای Run-in-period می‌شدند. در طول این دوره بیماران از دریافت هر نوع غذای سین‌بیوتیک و پروبیوتیک منع شده و همچنین از افراد خواسته می‌شد که در طی این دوره، دریافت غذایی خود را برای 3 روز متوالی ثبت نمایند.

در پایان دوره Run-in-period بیماران به‌صورت تصادفی برای دریافت گز سین‌بیوتیک و کنترل تقسیم و وارد مداخله (6 هفته اول) شدند. تصادفی سازی با استفاده از اعداد تصادفی ایجاد شده از طریق کامپیوتر انجام شده است، تصادفی سازی و تقسیم‌بندی گروه‌ها از محققین و بیماران تا زمان انجام آزمون‌ها مخفی ماند. در مداخله از هر بیمار خواسته شد تا روزانه 3 عدد گز 7 گرمی (محتوی 75 کیلوکالری انرژی) در 3 وعده صبحانه، ناهار و شام مصرف کند. بعد از اتمام این دوره، بیماران با یک دوره سه‌هفته‌ای Wash-out پیگیری شدند. سپس، بیماران برای دریافت گز سین‌بیوتیک و کنترل (6 هفته دوم) جابجا شدند. در مطالعه حاضر، طول مدت مداخله و دوره Wash-out به ترتیب 6 و 3 هفته بر اساس یک مطالعه مشابه انجام شده در بیماران دیابتی انتخاب شده است (18).

از شرکت‌کنندگان خواسته شد تا در تمام مراحل مطالعه، فعالیت‌های فیزیکی عادی و رژیم غذایی معمول خود را تغییر ندهند و هیچ نوع محصول دیگر پروبیوتیک و سین‌بیوتیک به‌جز نمونه تهیه شده توسط محققین مطالعه را مصرف نکنند. محصول سین‌بیوتیک، پروبیوتیک و کنترل به‌صورت هفتگی برای بیماران تأمین شد. پیروی بیماران از مصرف غذای سین-بیوتیک و کنترل، هفته‌ای یک بار از طریق تماس تلفنی کنترل گردید. همچنین این پیروی از مصرف غذای سین-بیوتیک و کنترل با استفاده از ثبت غذای سه روزه (دو روز عادی و یک روز آخر هفته) در طی مطالعه، مجدداً کنترل شد. برای به دست آوردن دریافت مواد مغذی شرکت‌کنندگان، بر پایه گزارش غذایی سه روزه در هفته‌های 1، 3 و 5، از نرم‌افزار N4 اصلاح‌شده برای غذای ایرانیان استفاده شد. اطلاعات مقدار دریافت غذا ابتدا از تعداد واحد به گرم تبدیل نموده و سپس تمام غذای روزانه فرد برحسب گرم به نرم‌افزار داده شد. در نهایت نرم‌افزار، مقدار درشت و ریزمغذی‌ها را محاسبه کرد.

گز سین‌بیوتیک و کنترل: گز سین‌بیوتیک شامل باکتری پروبیوتیک زنده لاکتوباسیلوس اسپوروژنز مقاوم به حرارت (10^7 CFU)، 0/15 گرم اینولین HPX، 0/05 گرم بتاکاروتن با 0/38 گرم ایزومالت، 0/36 گرم سوربیتول و 0/05 گرم استویا به ازای هر گرم گز بود. گز کنترل، فاقد باکتری پروبیوتیک، اینولین پری‌بیوتیک و بتاکاروتن و از نظر بقیه مواد کاملاً مشابه گز سین بیوتیک در بسته‌های 7 گرمی کدگذاری شده توسط تولیدکننده بسته‌بندی و آماده شد. از بیماران خواسته شد که گز سین‌بیوتیک و کنترل را سه بار در روز مصرف کنند. کنترل مصرف گز توسط بیماران از طریق تماس تلفنی انجام شد. بعلاوه، این پیروی از مصرف در هفته‌هایی که بیماران برای ویزیت‌های دوره‌ای مراجعه می‌نمودند یادآوری می‌شد. گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن و گز کنترل توسط شرکت گز سکه تولید گردید. در مطالعه حاضر، دُز باکتری و اینولین مورد استفاده بر اساس مطالعات مشابه انجام شده در بیماران دیابتی انتخاب شده است (19، 18). بعلاوه، دُز بتاکاروتن در مطالعه حاضر، بر اساس اثربخشی آن بر روی فراسنج‌های بیوشیمیایی از یکی از مطالعات مشابه استفاده شده است (20). باید در نظر داشت که ایزومالت به‌عنوان یک ترکیب شیرین کننده و اینولین به‌عنوان یک ترکیب پری بیوتیک به دلیل فقدان اثر منفی در بیماران دیابتی به‌طور گسترده استفاده می‌شود (21).

ارزیابی متغیرها: شاخص‌های آنتروپومتریک در ابتدا و 6 هفته بعد از مداخله اندازه‌گیری شد. وزن در حالت ناشتایی، بدون کفش، با حداقل لباس و با استفاده از ترازوی دیجیتالی Seca با دقت 0/1 کیلوگرم و قد با کمک متر نواری و با دقت 0/1 سانتیمتر اندازه‌گیری شد. BMI از تقسیم وزن برحسب کیلوگرم به توان 2 قد برحسب متر محاسبه شد. جهت کاهش

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:07 IRDT on Wednesday July 27th 2016

خطا همه اندازه‌گیری‌ها توسط یک کارشناس تغذیه انجام گردید. هر بیمار در ابتدا و 6 هفته بعد از مداخله در آزمایشگاه رفرانس کاشان، تحت آزمایشات بیوشیمیایی قرار گرفت، بدین ترتیب که پس از 12 ساعت ناشتایی خون بیمار گرفته شد و برای انجام آزمون‌های مورد نیاز، نمونه‌های سرم در دمای 70°C- در آزمایشگاه مرکزی کاشان نگهداری شد. ضمناً آزمون قند خون ناشتا و چربی‌های خون در روز نمونه‌گیری انجام شده است. غلظت کلسترول تام، HDL-C، VLDL-C و تری‌گلیسرید سرم به روش آنزیمی با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر سلکترا 2 (Selectra II) ساخت شرکت VITALAB و غلظت قند خون با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر BT3000 در آزمایشگاه رفرانس اندازه‌گیری شد. فاکتورهای مقاومت به انسولین HOMA-IR، HOMA-B و QUICKI براساس فرمول پیشنهادی محاسبه شدند (24-22). در تمامی موارد از کیت‌های شرکت پارس آزمون، تهران، ایران استفاده گردید. تعیین قند خون ناشتا با استفاده از روش گلوکز اکسیداز/پراکسیداز و با استفاده از کیت‌های تجاری (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) انجام شد. سطوح انسولین سرم با روش ایمنواسی و به روش الایزا و کیت‌های تجاری (DiaMetra، میلان، ایتالیا) انجام شد.

آنالیز آماری: برای تبعیت داده‌ها از توزیع نرمال، از آزمون کولموگروف اسمیرنوف استفاده شد. برای مقایسه اطلاعات دموگرافیک شرکت کنندگان دو گروه و اطلاعات مربوط به رژیم غذایی در بین دو گروه از آزمون تی مستقل و برای تعیین تفاوت‌های داخل گروه‌ها از آزمون تی زوجی استفاده گردید. جهت تعیین اثرات گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن بر روی کنترل گلیسمیک و چربی‌های خون از آنالیز واریانس در تکرار مشاهدات و برای بررسی اثرات مخدوشگر از قبیل میزان چربی دریافتی شرکت کنندگان از آزمون کوواریانس استفاده شد. اگرچه، اثر متقاطع برای محاسبه میانگین مقادیر پروفایل‌های متابولیک بین دو گروه با استفاده از آزمون تی مستقل بررسی شده است، ولی تغییری در نتایج مطالعه ایجاد نکرد. در تمامی موارد، مقدار P<0/05، به‌عنوان مقادیر معنی‌دار در نظر گرفته شد. ضمناً تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه 17 انجام گردید.

• یافته‌ها

از میان 51 بیمار (16 مرد و 35 زن) ثبت نام شده در طرح، 48 بیمار مبتلا به دیابت نوع 2 (16 مرد و 32 زن) مطالعه را به پایان رساندند. از میان افراد حاضر در گروه گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن، یک نفر و از گروه کنترل 2 نفر از طرح خارج شدند. در نهایت، از میان 98 بیمار (گروه گز سین‌بیوتیک (n=50) و گروه گز کنترل (n=48) مطالعه را به پایان رساندند (شکل 1). اگرچه، آنالیز بر اساس پروتکل Intention-to-treat انجام شده است و بنابراین همه 102 نفر وارد آنالیز شدند. به‌طور میانگین سن بیماران مبتلا به دیابت نوع 2، 8/1 ± 52/9 سال بود. هیچ عارضه جانبی پس از مصرف گز سین‌بیوتیک در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 در طول مدت انجام مطالعه گزارش نشد. با مقایسه تن‌سنجی‌ها در ابتدا و بعد از مداخله، تفاوت معنی‌داری بین وزن و BMI دو گروه دیده نشد (جدول 1).

جدول 1. ویژگی‌های کلی شرکت کنندگان مطالعه [1]

	گز کنترل (n=51)	گز سین‌بیوتیک (n=51)	p[2]
وزن در ابتدای مطالعه (kg)	78/28±13/42	77/59±13/56	0/79
وزن در پایان مطالعه (kg)	78/19±13/28	77/43±13/49	0/77
تغییر وزن	-0/08±1/58	-0/15±1/32	0/81
BMI در ابتدای مطالعه (kg/m^2)	30/15±5/07	29/88±4/77	0/78
BMI درپایان مطالعه (kg/m^2)	30/11±5/01	29/84±4/87	0/78
تغییر BMI	-0/03±0/60	-0/03±0/47	0/99

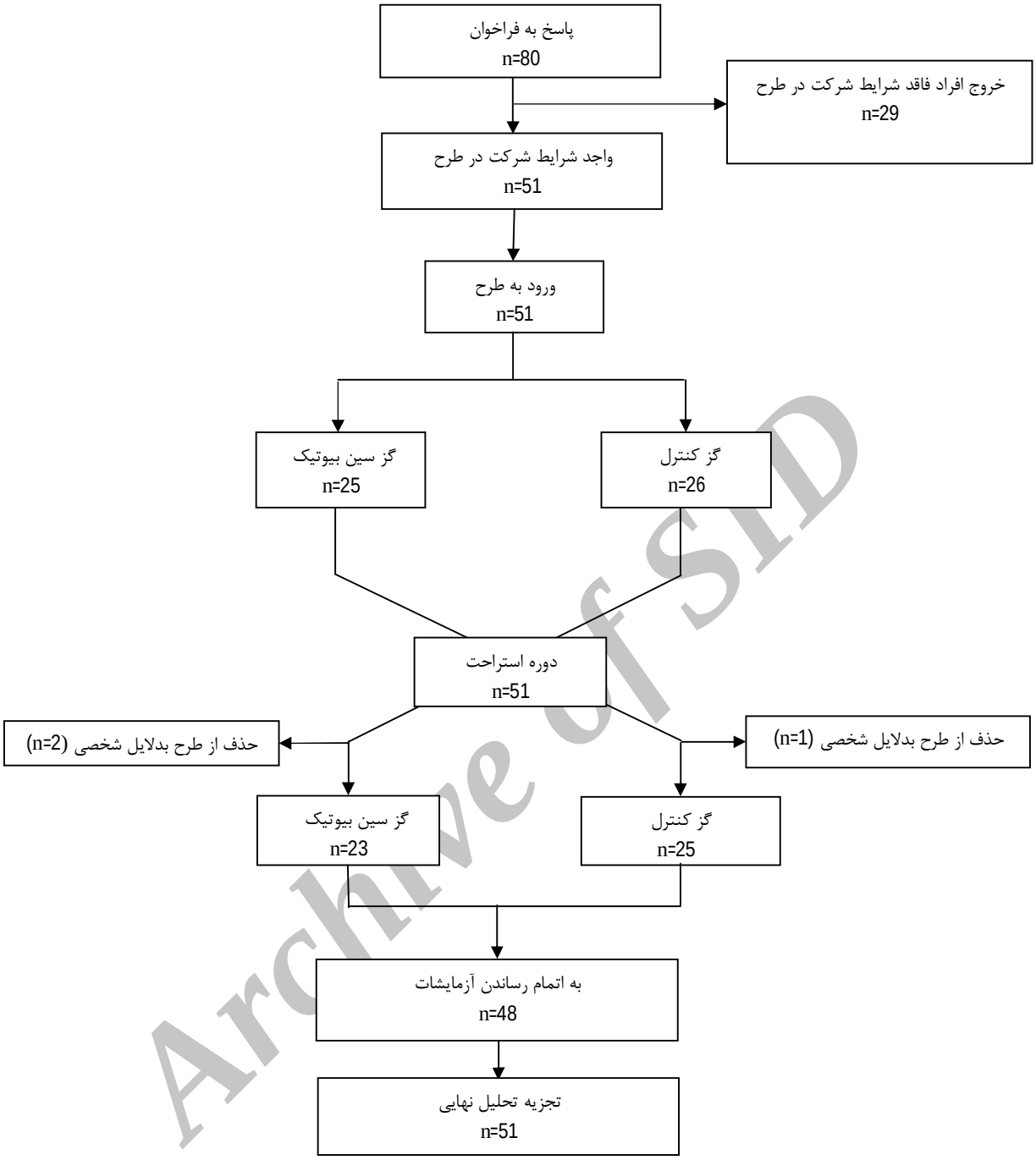
[1] داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌اند.

[2] تغییرات بین گروه‌ها براساس آزمون t مستقل

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:07 IRDT on Wednesday July 27th 2016



شکل1. دیاگرام نحوه بررسی افراد در کارآزمایی بالینی

با اطلاعات به دست آمده از رژیم غذایی سه روزه در طول مطالعه، هیچ تفاوت آماری معنی‌دار بین دو گروه از لحاظ انرژی دریافتی از رژیم غذایی، چربی، اسیدهای چرب اشباع (SFA)، اسیدهای چرب چند غیراشباع (PUFA) و اسیدهای چرب تک غیراشباع (MUFA)، کلسترول، فیبرهای رژیمی، کلسیم، منیزیم و آهن مشاهده نشد (جدول 2).

بعد از 6 هفته مداخله، مصرف گز سین بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن در مقایسه با گز کنترل، منجر به کاهش معنی‌دار در

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:07 IRDT on Wednesday July 27th 2016

انسولین سرمی (تغییرات از ابتدا: 7/90±1/00 µIU/mL- در مقابل 6/91±3/68، P=0/002)، مقاومت به انسولین HOMA-IR (3/96 ±0/73- در مقابل 4/09±1/82، P=0/002) و HOMA-B (19/75 ±0/52- در مقابل 17/15±8/71، P=0/01)، تری‌گلیسرید (49/53± 2/86 -mg/dL در مقابل 50/10±20/14، P=0/02)، کلسترول VLDL (9/90±0/57- mg/dL در مقابل 10/02± 4/03، P=0/02) و نسبت کلسترول کل به HDL (1/08±0/01- در مقابل 0/81±0/64، P=0/001) شده است (جدول 3). مصرف گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن تأثیر معنی‌داری بر قندخون ناشتا، شاخص بررسی کمی حساسیت به انسولین (QUICKI) و سایر فاکتورهای لیپیدی نداشت.

جدول 2. دریافت رژیم غذایی بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 دریافت‌کننده گز کنترل و سین‌بیوتیک در طول زمان مداخله [1]

	گز کنترل (n=51)	گز سین‌بیوتیک (n=51)	P[2]
انرژی (kcal/d)	2194±233	2147±230	0/33
کربوهیدرات (g/d)	299/2±59/2	296/0±49/8	0/77
پروتئین (g/d)	80/4±13/0	80/3±13/8	0/95
چربی (g/d)	78/4±8/3	75/3±15/6	0/06
اسیدچرب اشباع (g/d)	23/8±4/5	23/5±5/9	0/73
اسیدچرب چند غیراشباع(g/d)	24/9±4/6	25/3±4/3	0/67
اسیدچرب تک غیراشباع(g/d)	20/4±3/6	20/8±6/5	0/73
کلسترول (mg/d)	194/4±85/7	184/2±84/0	0/54
فیبر رژیمی (g/d)	18/3±5/1	19/2±4/4	0/35
آهن (mg/d)	13/5±3/5	12/8±3/1	0/30
کلسیم (mg/d)	1071/9±157/1	1088/8±190/4	0/62
بتاکاروتن (µg/d)	1012/4±513/1	695/3±22/91	0/59

[1] داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌اند.
[2] تغییرات بین گروه‌ها براساس آزمون t زوجی

جدول 3. میانگین‌های (±خطای معیار) کنترل گلیسمیک و چربی‌های خون در شروع و انتهای مداخله [1]

	گز کنترل (n=51)			گز سین بیوتیک (n=51)			P[2]
	ابتدای مطالعه	هفته ششم	تغییرات	ابتدای مطالعه	هفته ششم	تغییرات	
قند خون ناشتا (mg/dl)	142/82±45/05	146/49±55/07	3/67±35/14	137/43±46/84	135/82±38/63	-1/61±43/65	0/50
انسولین (µIU/ml)	8/96±6/43	12/64±9/76*	3/68±6/91	11/00±11/73	10/00±8/85	-1/00±7/90	0/002
کلسترول تام (mg/dl)	168/50±36/44	160/41±29/42*	-8/09±23/96	169/08±53/92	161/21±42/69	-7/87±26/90*	0/96
تری گلیسرید (mg/dl)	144/84±60/33	164/98±81/77*	20/14±50/10	153/53±85/67	150/67±81/02	-2/86±49/53	0/02
کلسترول VLDL (mg/dl)	28/96±12/06	32/99±16/35*	4/03±10/02	30/70±17/13	30/13±16/20	-0/57±9/90	<0/02
کلسترول LDL	85/10±31/13	84/57±25/34	-0/53±22/25	88/07±45/57	87/98±34/71	-0/09±27/74	<0/92
کلسترول HDL	54/42±13/17	42/84±8/19*	-11/58±11/18	50/30±12/90	43/10±11/84	-7/20±16/73*	<0/12
HDL/کلسترول تام	3/23±0/93	3/87±1/03*	0/64±0/81	3/60±1/70	3/61±0/90	-0/01±1/08	<0/001
HOMA-IR	3/08±2/23	4/90±5/10*	1/82±4/09	4/20±6/14	3/47±3/64	-0/73±3/96	0/002
HOMA-B	21/21±19/80	29/92±25/69*	8/71±17/15	24/69±25/22	24/44±25/01	-0/52±19/75	0/01
QUICKI	0/33±0/04	0/32±0/04*	-0/01±0/03	0/34±0/05	0/34±0/06	0/001±0/06	0/16

[1] محاسبه شده براساس تغییرات بین انتها با ابتدای مداخله
[2] محاسبه شده با تکرار مقادیر ANOVA
* اختلاف در هفته صفر، P<0/05

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:07 IRDT on Wednesday July 27th 2016

جدول 4. تغییرات تعدیل شده در متغیرهای متابولیک در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 دریافت کننده گز کنترل و سین بیوتیک در طول زمان مداخله [1]

		گروه کنترل (n=51)	گز سین بیوتیک (n=51)	P[2]
قند خون ناشتا (mg/dl)	مدل تعدیل شده [3]	3/54±5/57	-1/49±5/57	0/52
انسولین (µIU/ml)	مدل تعدیل شده [3]	3/63±1/04	-0/95±1/04	0/002
کلسترول تام (mg/dl)	مدل تعدیل شده [3]	-7/92±3/54	-8/02±3/54	0/98
تری‌گلیسرید (mg/dl)	مدل تعدیل شده [3]	20/66±6/92	-3/38±6/92	0/01
کلسترول VLDL (mg/dl)	مدل تعدیل شده [3]	4/13±1/38	-0/67±1/38	0/01
کلسترول LDL (mg/dl)	مدل تعدیل شده [3]	-0/52±3/54	-0/08±3/54	0/93
کلسترول HDL (mg/dl)	مدل تعدیل شده [3]	11/53±2/00	-7/25±2/00	0/13
HDL/کلسترول تام	مدل تعدیل شده [3]	0/63±0/13	-0/03±0/13	0/001
HOMA-IR	مدل تعدیل شده [3]	1/79±0/56	-0/71±0/56	0/002
HOMA-B	مدل تعدیل شده [3]	8/56±2/58	-0/38±2/58	0/01
QUICKI	مدل تعدیل شده [3]	-0/01±0/007	0/001±0/007	0/18

[1] همه مقادیر میانگین‌ها ±خطای معیار

[2] حاصل از ANCOVA

[3] براساس مقادیر چربی دریافتی در سراسر مطالعه

• بحث

مطالعه فوق نشان داد که مصرف گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن به مدت 6 هفته در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 در مقایسه با گز کنترل، اثرات مفیدی بر مقادیر انسولین، سطوح تری‌گلیسرید، VLDL و نسبت HDL به کلسترول تام سرم داشت، ولیکن بر QUICKI، FPG و سایر فاکتورهای متابولیک تأثیری نداشت.

بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 مستعد افزایش عوارض متابولیکی، نقص سیستم لیپیدی و فاکتورهای استرس اکسیداتیو می‌باشند (26، 25). مطالعات قبلی اثر غذاهای سین‌بیوتیک را در شرایط آزمایشگاهی (27)، بیماران غیر دیابتی و بیماران دیابتی نوع 2 (28) بررسی کرده‌اند و این مطالعه اولین بررسی انجام شده اثر یک غذای سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن بر روی بیماران دیابت نوع 2 بود. مطالعه اخیر نشان داد که مصرف گز سین‌بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 برای 6 هفته به‌طور معنی‌داری شاخص مقاومت به انسولین، تری‌گلیسرید سرم، سطوح VLDL کلسترول و نسبت HDL به کلسترول تام را بهبود بخشید، درحالی‌که بر روی سایر فاکتورهای لیپیدی، FPG و شاخص QUICKI تأثیری نداشت. مالاگوارنلا و همکارانش (29) در مطالعه‌ای کاهش معنی‌دار در HOMA-IR در اثر مصرف بیفیدوباکتریوم لانگوم با فروکتوالیگوساکارید در استئاتوهپاتیت غیرالکلی را بعد از 24 هفته نشان دادند، ولیکن در این مطالعه تغییر معناداری در سطح انسولین سرمی مشاهده نشد.

همچنین مکمل‌یاری سین‌بیوتیک در افرادی با سندرم متابولیک برای 28 هفته پارامترهای هموستاز گلوکز و پروفایل‌های لیپیدی را بهبود بخشید (30). در مطالعه‌ای بر روی زنان باردار کاهش تری‌گلیسرید سرم و سطح VLDL کلسترول پس از مصرف غذای سین بیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسپوروژنز (10^7CFU) و0/04 گرم اینولین به‌عنوان پری‌بیوتیک در یک گرم برای 6 هفته نشان داده شد، ولیکن بر دیگر پروفایل‌های لیپیدی تأثیری دیده نشد (13). علاوه بر این، مکمل‌یاری آنتی‌اکسیدانی شامل ویتامینE 800IU، ویتامینC 500mg و بتاکاروتن 10mg برای 8 هفته، کاهش HOMA-IR را در بزرگسالان دارای اضافه‌وزن به همراه داشت (31). مکانیسم احتمالی که مصرف سین‌بیوتیک، مقاومت به انسولین را بهبود می‌دهد ناشی از اثرات آنها بر بیان ژن می‌باشد (32). بعلاوه مهار تولید رادیکال‌های آزاد و بازسازی وضعیت ردوکس سلولی تحت مکمل‌یاری ویتامین E، C و بتاکاروتن ممکن است منجر به حفظ ساختمان و عملکرد گیرنده انسولین و در نتیجه کاهش مقاومت به انسولین شود (28). علاوه بر این، مکانیسم اصلی کاهش سطوح تری-گلیسرید سرم و VLDL کلسترول هنوز مشخص نشده است، ولیکن مکانیسم‌های احتمالی متعددی پیشنهاد شده است. از

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:07 IRDT on Wednesday July 27th 2016

جمله این مکانیسم‌ها تولید SCFA بویژه پروپیونات در روده است که می‌تواند باعث مهار سنتز اسیدهای چرب در کبد شده، در نتیجه سبب کاهش میزان ترشح تری‌گلیسرید و VLDL کلسترول شود (33).

محدودیت‌های مطالعه: در تفسیر بعضی از نتایج این مطالعه محدودیت‌هایی وجود داشت که، به برخی از آن‌ها اشاره می‌کنیم. به دلیل محدودیت بودجه، در مطالعه حاضر، ما نتوانستیم اثرات گز سین‌بیوتیک را بر SCFA مدفوع، مارکرهای التهابی و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو بررسی نماییم. همچنین ما نتوانستیم میزان HDL سرم را با روش‌های دقیق‌تر مانند HPLC و GC تعیین کنیم. از سوی دیگر طول مدت مداخله کوتاه بود. اثرات گز حاوی سین‌بیوتیک بر فراسنج لیپیدی در زمان طولانی‌تر ممکن بود منجر به بروز نتایج بهتری شود. بعلاوه، در مطالعه حاضر نتوانستیم اثرات مثبت ایجاد شده به دنبال مصرف سین بیوتیک غنی‌شده با بتاکاروتن را بین سین بیوتیک و یا بتاکاروتن افتراق دهیم. بنابراین مطالعات بیشتر با استفاده از گروه‌های مستقل سین بیوتیک و بتاکاروتن در این بیماران نیاز می‌باشد.

در مجموع، شواهد این مطالعه تصادفی دو سویه کور متقاطع کنترل شده به مدت 6 هفته بر بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 نشان داد که مصرف گز حاوی مکمل سین‌بیوتیک اثرات مفیدی بر سوخت و ساز انسولین، تری‌گلیسرید و VLDL-کلسترول، HDL/کلسترول تام سرم داشت. با این حال تأثیری بر QUICKI، FPG و سایر فاکتورهای لیپیدی دیده نشد.

References

1. Prasad H, Ryan D, Celzo M, Stapleton D. Metabolic syndrome: definition and therapeutic implications. Postgrad Med. 2012; 124: 21-30.
2. Chan G, Tang SC. Current practices in the management of diabetic nephropathy. J R Coll Physicians Edinb. 2013;43: 330-2.
3. Eugen-Olsen J, Andersen O, Linneberg A, Ladelund S, Hansen TW, Langkilde A, et al. Circulating soluble urokinase plasminogen activator receptor predicts cancer, cardiovascular disease, diabetes and mortality in the general population. J Intern Med. 2010; 268: 296-308.
4. Park HJ, Seo SM, Shin WS, Kim HY, Choi YS, Koh YS, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products is associated with in-stent restenosis in patients with type 2 diabetes with drug-eluting coronary stents. Coron Artery Dis. 2011; 22: 12-7.
5. Victor VM, Rocha M, Herance R, Hernandez-Mijares A. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes. Curr Pharm Des. 2011; 17: 3947-58.
6. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. Circ Res. 2010; 107: 1058.
7. Pacher P, Szabo C. Role of peroxynitrite in the pathogenesis of cardiovascular complications of diabetes. Curr Opin Pharmacol. 2006; 6: 136-41.
8. Liong M-T, Dunshea FR, Shah NP. Effects of a ymbiotic containing Lactobacillus acidophilus ATCC 4962 on plasma lipid profiles and morphology of erythrocytes in hypercholesterolaemic pigs on high-and low-fat diets. Br J Nutr. 2007; 98: 736-44.
9. Rishi P, Mavi SK, Bharrhan S, Shukla G, Tewari R. Protective efficacy of probiotic alone or in conjunction with a prebiotic in Salmonella-induced liver damage. FEMS Microbiol Ecol. 2009; 69: 222-30.
10. Bengmark S, Gil A. Bioecological and nutritional control of disease: prebiotics, probiotics and synbiotics. Nutr Hosp. 2006; 2: 72-84.
11. Tajadadi-Ebrahimi M, Bahmani F, Shakeri H, et al. Effects of Daily Consumption of Synbiotic Bread on Insulin Metabolism and Serum High-Sensitivity C-Reactive Protein among Diabetic Patients: A Double-Blind, Randomized, Controlled Clinical Trial. Ann Nutr Metab. 2014;65: 34-41.
12. Shakeri H, Hadaegh H, Abedi F, Tajabadi-Ebrahimi M, Mazroii N, Ghandi Y, et al. Consumption of synbiotic bread decreases triacylglycerol and VLDL levels while increasing HDL levels in serum from patients with type-2 diabetes. Lipids. 2014; 49: 695-701.
13. Taghizadeh M, Hashemi T, Shakeri H, Abedi F, Sabihi SS, Alizadeh SA, et al. Synbiotic food consumption reduces levels of triacylglycerols and VLDL, but not cholesterol, LDL, or HDL in plasma from pregnant women. Lipids. 2014; 49: 155-61.
14. Williams CM. Effects of inulin on lipid parameters in humans. J Nutr. 1999; 129: 1471S-3S.
15. Lutgendorff F, Trulsson LM, van Minnen LP, Rijkers GT, Timmerman HM, Franzén LE, et al. Probiotics enhance pancreatic glutathione biosynthesis and reduce oxidative stress in experimental acute pancreatitis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008; 295: 2.
16. Miraghajani MS, Najafabadi MM, Surkan PJ, Esmaillzadeh A, Mirlohi M, Azadbakht L. Soy milk consumption and blood pressure among type 2 diabetic patients with nephropathy. J Ren Nutr. 2013; 23: 277-82.
17. Ciccone MM, Cortese F, Gesualdo M, Carbonara S, Zito A, Ricci G, et al. Dietary intake of carotenoids and their antioxidant and anti-inflammatory effects in cardiovascular care. Mediators Inflamm. 2013;2013:782137.
18. Asemi Z, Khorrami-Rad A, Alizadeh SA, Shakeri H, Esmaillzadeh 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.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:07 IRDT on Wednesday July 27th 2016

19. Tajadadi-Ebrahimi M, Bahmani F, Shakeri H, Hadaegh H, Hijijafari M, Abedi F, Asemi Z. Effects of Daily Consumption of Synbiotic Bread on Insulin Metabolism and Serum High-Sensitivity C-Reactive Protein among Diabetic Patients: A Double-Blind, Randomized, Controlled Clinical Trial. Ann Nutr Metab. 2014; ;65: 34–41.

20. Levy Y, Zaltzberg H, Ben-Amotz A, Kanter Y, Aviram M. β-Carotene affects antioxidant status in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Pathophysiology. 1999; Volume 6, Issue 3, December, Pages 157–161.

21. TMS Wolever, A Piekarz, M Hollands, K Younker. Study of effect of isomalt in waffles in diabetic patients. Can J Diabetes. 2002; 6(4): 356-362.

22. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2008; 294(1): E15-26 23.

23. Borai A, Livingstone C, Kaddam I, Ferns G.Selection of the appropriate method for the assessment of insulin resistance. BMC Med Res Methodol. 2011; 23(11): 158-159. Review

24. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. Diabetes Care.2004; 27: 1487–1495.

25. Zelmanovitz T, Gerchman F, Balthazar AP, Thomazelli FC, Matos JD, Canani LH. Diabetic nephropathy. Diabetol Metab Syndr. 2009; 1: 1758-5996.

26. Kamiyama M, Urushihara M, Morikawa T, et al. Oxidative stress/angiotensinogen/renin-angiotensin system axis in patients with diabetic nephropathy. Int J Mol Sci. 14: 23045-62.

27. Vitali B, Ndagijimana M, Maccaferri S, Biagi E, Guerzoni ME, Brigidi P. An in vitro evaluation of the effect of probiotics and prebiotics on the metabolic profile of human microbiota. Anaerobe. 2012; 18: 386-91.

28. Ouwehand AC, Tiihonen K, Saarinen M, Putaala H, Rautonen N. 2009. Influence of a combination of Lactobacillus acidophilus NCFM and lactitol on healthy elderly: intestinal and immune parameters. British Journal of Nutrition. 101:367-75.

29. Malaguarnera M, Vacante M, Antic T, Giordano M, Chisari G, Acquaviva R, et al. Bifidobacterium longum with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. Dig Dis Sci. 2012; 57: 545-53.

30. Eslamparast T, Zamani F, Hekmatdoost A, Sharafkhah M, Eghtesad S, Malekzadeh R, et al. Effects of synbiotic supplementation on insulin resistance in subjects with the metabolic syndrome: a randomised, double-blind, placebo-controlled pilot study. Br J Nutr. 2014; 1-8.

31. Vincent HK, Bourguignon CM, Weltman AL, Vincent KR, Barrett E, Innes KE, et al. Effects of antioxidant supplementation on insulin sensitivity, endothelial adhesion molecules, and oxidative stress in normal-weight and overweight young adults. Metabolism. 2009; 58: 254-62.

32. Esteve E, Ricart W, Fernandez-Real JM. Gut microbiota interactions with obesity, insulin resistance and type 2 diabetes: did gut microbiote co-evolve with insulin resistance? Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2011; 14: 483-90.

33. Trautwein EA, Rieckhoff D, Erbersdobler HF. Dietary inulin lowers plasma cholesterol and triacylglycerol and alters biliary bile acid profile in hamsters. J Nutr. 1998; 128: 1937-43.

Archive of SID

www.SID.ir

The Effect of Synbiotic Gaz Fortified with Beta-carotene Consumption on Glycemic Control and Blood Lipids of Patients with Type 2 Diabetes

Sayyedi F[1], Asemi Z [2], Goli M[3], Bahmani F[4], Alizadeh S[5], Esmaillzadeh A[6]*

l- MS.c Student of Food Science and Technology, Dept. of Food Science and Technology, Islamtic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch, Isfahan, Iran

*2- *Corresponding author: Assistant Prof, Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran, Email: asemi_r@yahoo.com*

3- Assistant Prof, Dept. of Food Science and Teclmology, Islamtic Azad University, Isfahan (Khorasgan) Branch, Isfahan, Iran

4- Assistant Prof, Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

5- MS.c, Dept. of Research and Development of Sekkeh Gaz Company, Isfahan, Iran

6- Prof, Food Security Research Center, Dept. of Community Nutrition, Faculty of Nutrition and Food Science, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Received 7 Aug, 2015 **Accepted 3 Dec, 2015**

Background & Objectives: Recent evidence suggests that antioxidants and synbiotics intake due to the effect on inflammatory cytokines and oxidative stress may affect the glycemic control and blood lipids of diabetic patients. The aim of study was to investigate the effect of synbiotic Gaz fortified with beta-carotene consumption on metabolic profile among patients with type 2 diabetes (T2D).

Materials and Methods: This randomized double-blinded cross-over controlled clinical trial was conducted among 51 patients with T2D aged 35-70 y. After a 2-wk run-in period, the individuals were randomly assigned to consume either a synbiotic Gaz fortified with beta-carotene (n=51) or control food (n=51) for 6 weeks. A 3-week washout period was applied; then the subjects were crossed over to the alternate treatment arm for an additional 6 weeks. The synbiotic Gaz fortified with beta-carotene contained a probiotic viable and heat-resistance strain *Lactobacillus sporogenes* (1×10^7 CFU), 0.15 g inulin as prebiotic and 0.04 g beta-carotene. The control food (the same substance without probiotic bacteria, prebiotic inulin and beta-carotene) was packed in identical 7-gram packages. The patients were asked to consume the synbiotic or control Gaz three times a day. Fasting blood samples were taken at baseline and after 6-wk phase of intervention to measure the metabolic profile.

Results: After 6 weeks of intervention, synbiotic Gaz fortified with beta-carotene consumption compared with the control Gaz has resulted in a significant decrease in serum insulin (changes from baseline: -1.00±7.90 vs. +3.68±6.91 µIU/mL, P=0.002), HOMA-IR (-0.73±3.96 vs. +1.82±4.09, P=0.002), HOMA-B (-0.52±19.75 vs. +8.71±17.15, P=0.01), triglycerides (-2.86±49.53 vs. +20.14±50.10 mg/dL, P=0.02), VLDL-cholesterol (-0.57±9.90 vs. +4.03±10.02 mg/dL, P=0.02) and total-/HDL-cholesterol ratio (-0.01±1.08 vs. +0.64±0.81, P=0.001).

Conclusion: In conclusion, consumption of the synbiotic Gaz fortified with beta-carotene for 6 weeks among the T2D patients compared with the control Gaz had beneficial effects on the serum insulin concentrations, insulin resistance, triglycerides, VLDL-cholesterol, and total-/HDL-cholesterol, but not on other biochemical profiles.

Keywords: Synbiotic, Insulin resistance, Glycemic control, Blood lipid, Type 2 diabetes

Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir at 15:07 IRDT on Wednesday July 27th 2016

Archive of SID

www.SID.ir