مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۹، شماره ۱۰، دی ۱۴۰۱ http://rjms.iums.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی خواص پری بیوتیکی و ضد چاقی جلبک‌های قهوه‌ای خلیج فارس در رت‌های نر چاق

وحیده زرین: دکتری زیست شناسی دریا، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران

محمدرضا طاهری زاده: دانشیار، گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندعباس، ایران (* نویسنده مسئول) taheri.reza65@gmail.com

نادر تنیده: استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

مرتضی یوسف زادی: استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران

چکیده

زمینه و هدف: چاقی، یک سندرم متابولیک مهم است که ریسک فاکتور انواع مهم بیماریها است. بر اساس مطالعات اخیر م شخص شده ا ست که باکتری های موجود در روده نقش کلیدی در عملکرد کلی بدن میزبان دارند و یکی از دلایل ا صلی چاقی می باشند. بعلاوه، مصرف جلبکهای دریایی قهوه‌ای که دارای محتوای فیبر غذایی بالایی می باشند، می‌تواند رشد باکتری‌های بیماری‌زا را در روده مهار و ر شد باکتری‌های مفید را ترویج دهند. هدف از این مطالعه، ارزیابی اثر ع صاره های اتانولی و آبی *Padina pavonica* و *Cystoseira myrica*، دو گونه مهم جلبک‌های خلیج فارس، برفلور میکروبی روده در موش‌های چاق بود.

روش کار: رتها به مدت ۸ هفته با ع صاره‌های آبی و اتانولی جلبک‌های دریایی تغذیه شدند. وزن حیوانات و میزان دریافت مواد غذایی به صورت روزانه و هفتگی اندازه گیری گردید، سپس میکروارگانیسم های روده از طریق *16SrRNA* آنالیز شدند.

یافته‌ها: باکتری‌های *Bacteroides* و *Firmicutes* فراوانی بالایی در روده حیوانات نشان دادند. همچنین در گروه‌های تیماریافته، گونه‌های مرتبط با چاقی کاهش و باکتری‌های ایجاد کننده لاغری افزایش یافتند. *Clostridium* باکتری بیماری‌زا در همه گروه‌ها و *Lactobacillus* جنس غالب باکتری‌های لاکتیک اسید بود. بعلاوه، عصاره‌های جلبکی توانستند وزن و میزان مصرف مواد غذایی، سطح کلسترول خون، *TNF-α*، و *IL1* و آنزیم‌های کبدی *ALP* و *AST* را کاهش دهند.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها ن شان داد که جلبک *Cystoseira myrica* می‌تواند به عنوان مکمل غذایی منا سب جهت تغییر فلور روده استفاده گردد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

کلیدواژه‌ها

Cystoseira myrica،

Padina pavonica،

میکروبیوتای روده،

چاقی،

16SrRNA

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۸/۱۴

تاریخ چاپ: ۱۴۰۱/۱۰/۱۲

شیوه استناد به این مقاله:

Zarrin V, Taherizadeh M, Tanideh N, Yousefzadi M. Evaluation of Prebiotic and Anti-Obesity Properties of Persian Gulf Brown Seaweeds on Induced Obese Male Rats. Razi J Med Sci. 2023;29(10):368-382.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

Razi Journal of Medical Sciences. 2023;29(10):368-382. http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Evaluation of Prebiotic and Anti-Obesity Properties of Persian Gulf Brown Seaweeds on Induced Obese Male Rats

Vahideh Zarrin: PhD, Department of Marine Biology, Faculty of Atmospheric and Oceanographic Science, University of Hormozgan, Bandarabbas, Iran
Mohammadreza Taherizadeh: Associate Professor, Department of Marine Biology, Faculty of Atmospheric and Oceanographic Science, University of Hormozgan, Bandarabbas, Iran (* Corresponding author) taheri.reza65@gmail.com
Nader Tanideh: Professor, Pharmachology Department, Medicine Faculty, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
Morteza Yousefzadi: Professor, Biology Department, Science Faculty, Qom University, Qom.Iran

Abstract

Background & Aims: Obesity, as a serious metabolic syndrome, has many health and social effects disorder that is characterized by excessive accumulation of body fat. It's also associated with a body mass index (BMI) of more than 30 kg/m^2. Overeating, lack of physical activity, and genetic factors are the main reasons for obesity. Based on BMI analysis of the population of 200 countries, obesity will has exceeded 6% in men and 9% in women by 2025(1). Obese individuals are at risk of developing diseases such as type 2 diabetes, cardiovascular disease, non-alcoholic fatty liver disease, hypertension, hypercholesterolemia, immune dysfunction, rapid onset of infection, delayed wound healing, and certain types of cancers(2). The pathogenesis of these disorders has been linked to the health of the gut microbiota(3). The gut microbiota is considered an endocrine organ that has influenced on immunity, metabolism, neuroendocrine responses of the host, and synthesizes vitamins, amino acids, and enzymes(4). They can also produce important short-chain fatty acids (SCFA) and absorb dietary minerals(5). The microbiota composition is very different amongst people and is affected by several factors, such as antibiotic use, diet, lifestyle, genetic traits, and body mass index(6). It was demonstrated that a decrease in beneficial bacterial species in the gut microbiota is linked to obesity and metabolic disorders(7), so microbiota has been known as one of the principal causes of obesity(8, 9). In addition, recent findings have shown that *Firmicutes* and *Bacteroidetes* are two dominant phyla in human gut microbiota, and an increased *Firmicutes*/*Bacteroidetes* ratio is correlated with obesity(10). Some studies suggest that the consumption of probiotic substances and dietary fibers can beneficially alter the gut microbiome composition in a short time(11, 12). Recently, a lot of attention has been paid to the use of natural products such as marine organisms with anti-obesity activities. Marine organisms, especially brown algae, are good dietary complements with prebiotics and anti-obesity potentials for those who want to lose weight. They are widely used in the treatment of various diseases because of their several pharmacological activities(13). Consumption of marine seaweeds has risen considerably over the past decades because of their high nutritional compositions such as minerals, polyunsaturated fatty acids, and high dietary fibers(14). Brown algae have the potential anti-obesity agents such as fucoxanthin, phlorotannins, fucoidan, and alginates(13, 15). Alteration in lipid metabolism, suppression of inflammation, suppression of adipocyte differentiation and delay in gastric emptying are the ways that anti-obesity compounds from algae may involve(16). Besides, the potential benefits of brown seaweeds on the human body are related to dietary fibers that have prebiotic activities over the gastrointestinal tract (GIT) microbiota. Such fibers are non-digestible components that can selectively enhance beneficial microorganisms of the gut microbiota (17, 18). On the other hand, consumption

Keywords
Cystoseira myrica,
Padina pavonica,
Intestinal microbiota,
Obesity,
16SrRNA

Received: 05/11/2022
Published: 02/01/2023

of brown seaweeds can promote beneficial bacteria while reduce harmful species in the gut microbiota of rats(10). Brown seaweeds have a variety bioactive molecules such as, polysaccharides, polyunsaturated fatty acids, and polyphenolic compounds that play have the potential health benefits in regulating gut microbiota and therefore improving obesity(3). In fact, consumption of brown seaweed may exert an effective impact on gut health by acting as prebiotics, and promoting the growth of lactic acid bacteria that aid in the production of SCFA such as butyrate, propionate, and acetate(19). Kim et al (2018) showed that *Laminaria japonica* brown seaweed had a probiotic and anti-obesity effect on reducing of pathogenic bacteria level and increasing lactic acid bacteria level in gut-obese rats(20). Regarding to these considerations, the objective of this study was to find the effects of hot water and ethanolic extracts of Persian Gulf brown algae, *Padina pavonica* and *Cystoseira myrica* on changing gut microbiota, some serum indices, food intake and weight loss in rats that fed with high-fat diet.

Methods: In this study, 100 male Wister rats in the weight range of 220±20 gr were selected and divided into 10 groups (8 treatment groups, one normal control group, and one obese control group). All animals except for normal group were fed with 60% cholesterol for 1 month. Each group was further treated with hot water (HW) and ethanolic (E) extracts of seaweeds for 8 weeks. Then during the experiment, food intake and weight loss were measured weekly and daily, respectively, and at the end of period, we collected the stool samples (3 samples of each group), and analyzed the intestinal microorganisms through 16SrRNA sequencing in all groups.

Results: Our results indicated that the consumption of *Padina pavonica* and *Cystoseira myrica* brown seaweeds can change obese rats' intestinal microbiota into normal individuals. The distribution ratio of intestinal microorganisms showed that *Bacteroides* and *Firmicutes* are as dominant phyla in the microbiota of all groups. Our result also revealed that hot water and ethanolic extracts of *Padina pavonica* and *Cystoseira myrica* were effective in changing intestinal microorganisms in obese rats. However, we found that all the extracts prepared from *Cystoseira myrica* were more efficient in diminishing the relative abundance of obesity-associated genera and increasing the leanness-associated genera in the treatment group compared with the control obese group. *Clostridium* and *Lactobacillus* were the dominant genera in all groups with pathogenic and lactic acid potentials. However, the anti-pathogenic effects of all *Cystoseira myrica* extracts were more effective than all *Padina pavonica* extracts. Moreover, we also indicated that the extracts, especially those from hot water extracts of *Padina pavonica* and *Cystoseira myrica* were more effective in decreasing cholesterol, IL1 and TNF-α as well as liver enzymes such as ALP and AST in all treated groups.

Conclusion: Our findings supported that *Cystoseira myrica* could be a good choice for weight loss. The present study demonstrated that all the extracts could promote the growth of specific beneficial microbial populations, and reduce the abundance of both pathogenic bacteria and obesity-associated microbes. Furthermore, we showed that weight loss happened due to a decrease in food intake. Although, all the extracts from *Padina pavonica* and *Cystoseira myrica* resulted in lower level of cholesterol, inflammatory factors as well as liver enzymes, *Cystoseira myrica* was more effective than *Padina pavonica*. The best extract that could normalize all criteria was *Cystoseira myrica*. It seems that in vivo animal studies can be extended to humans as well, and therefore, we suggest that *Cystoseira myrica* may be used as a prebiotic material, with anti-obesity effects on human health.; however, it needs more investigation.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Zarrin V, Taherizadeh M, Tanideh N, Yousefzadi M. Evaluation of Prebiotic and Anti-Obesity Properties of Persian Gulf Brown Seaweeds on Induced Obese Male Rats. Razi J Med Sci. 2023;29(10):368-382.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

مقدمه

چاقی نوعی سندرم متابولیکی است که با رسوب زیاد از حد چربی همراه است به علاوه، چاقی از عوامل مهم در بروز پرفشاری خون، هیپرکلسترولمی، انواع تومور، بیماری قلبی - عروقی، اختلال در عملکرد ایمنی بدن، سرعت بالای عفونت و تأخیر در ترمیم زخم نیز می‌باشد. (۲،۱). پاتوژنز این بیماری با سلامت میکروبیو تای روده در افراد ارتباط مستقیم دارد(۳). شواهد نشان می دهد ترکیب میکروارگانیسم های روده و عملکرد آنها در حفظ هموستاز روده و سلامت متابولیسم فرد، حیاتی می باشد. میکروبیوتای روده به عنوان یک اندام غدد درون ریز در نظر گرفته می شود که عملکرد آن بر سیستم ایمنی، متابولیسم، پاسخ های عصبی میزبان تأثیر می گذارد(۴). آنها همچنین می توانند اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه(SCFA) تولید کرده و مواد معدنی غذایی را جذب کنند(۵). پیش از این گزارش شده بود که میکروبیوتای روده بیماران مبتلا به چاقی(۶)، بیماری قلبی(۷)، سرطان کولورکتال(۸) ، بیماری التهابی روده و دیابت (۹) با افراد سالم تفاوت دارد. ترکیب میکروبیوتا در بین افراد بسیار متفاوت است و تحت تأثیر عوامل متعددی مانند مصرف آنتی بیوتیک، رژیم غذایی، سبک زندگی، صفات ژنتیکی و شاخص توده بدنی قرار می‌گیرد (۱۱،۱۰). همچنین مطالعات نشان میدهندکه کاهش گونه های باکتریایی مفید در میکروبیوتای روده با چاقی و اختلالات متابولیک همراه است. آنالیز متاژنومیک و بیوشیمیایی میکروفلور روده در افراد چاق و لاغر نشان داده شده است که باکتری‌های روده در افراد چاق ظرفیت بیشتری جهت برداشت انرژی از رژیم غذایی دارند، بنابراین یکی از عوامل موثر در بروز چاقی، حضور گونه‌های خاص باکتری در فلور روده افراد می باشد. برخی از مطالعات نشان می دهد که مصرف مواد پری بیوتیک و فیبرهای غذایی می تواند به طور مفیدی ترکیب میکروبیوم روده را در مدت زمان کوتاهی تغییر دهد(۱۱, ۱۲). اخیرا، توجه زیادی به استفاده از محصولات طبیعی به ویژه گیاهان دارویی با فعالیت های ضد چاقی شده است که می توانند سلامت انسان را ارتقا دهند. گزارش‌های زیادی در مورد اثرات بالقوه ضد چاقی ارگانیسم های دریایی به ویژه جلبک های دریایی وجود دارد (۱۴،۱۳). مصرف جلبک های دریایی در دهه‌های گذشته به دلیل ترکیبات مغذی بالای آن‌ها مانند مواد معدنی، اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه و فیبرهای غذایی بالا به طور قابل‌توجهی افزایش یافته است (۱۶،۱۵). تحقیقات نشان داده است مصرف جلبک های قهوه‌ای به دلیل محتوای فیبر غذایی بالا، می‌تواند رشد باکتری‌های بیماری‌زا را در روده مهار و رشد باکتری‌های مفید را ترویج دهند، سبب بهبود فعالیت‌های روده، تخلیه فلزات سنگین در غذا و کاهش غلظت چربی خون در حیوانات آزمایشگاهی می‌گردد (۱۷). بعلاوه، محصول اصلی تخمیر پلی ساکاریدهای جلبکهای قهوه ای در روده، اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه از جمله اسید استات، اسید پروپیونات و اسید بوتیرات میباشد (۱۸)، که به سرعت در بدن میزبان جذب و متابولیزه می‌شوند (۱۹). مطالعات نشان داده اندکه اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه نقش مهمی در بهبود سندرم متابولیک از جمله چاقی و دیابت دارند. همچنین اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه ناشی از متابولیسم پلی ساکاریدها می‌توانند رشد باکتری‌های مفید را تحریک کرده و رشد باکتری‌های مضر را سرکوب کنند. (۲۱،۲۰). بنابراین جلبکها به عنوان اهداف درمانی بیماری‌هایی نظیرچاقی و دیابت نوع II در نظر گرفته می شوند. جلبک‌های دریایی تحت تاثیر مکانیسم‌های مختلفی از جمله تغییرات متابولیسم لیپید، کاهش التهاب، سرکوب تمایز سلول های چربی و تاخیر در تخلیه معده فعالیت ضد چاقی را نشان می دهند. مصرف خوراکی جلبکها، سبب کاهش سطح سرمی تری اسیل گلیسرول ها، گلوکز و لپتین در موش های چاق دریافت کننده رژیم غذایی پرچرب گردیده است. از آنجاکه می توان نتایج آزمایشات in vivo را به انسان تعمیم داد، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تأثیر عصاره های آبی و اتانولی دو گونه مهم جلبک های قهوه‌ای خلیج‌فارس، *Padina pavonic* و *Cystoseira myrica* بر تغییرات فلور میکروبی روده، تغییرات وزن، میزان مصرف مواد غذایی و اندازه گیری برخی از شاخص‌های سرمی در رتهای چاق شده با رژیم غذایی پرچرب انجام گردید.

روش کار

نمونه برداری و شناسایی گونه: نمونه‌های *Padina pavonic* و *Cystoseira myrica* جلبک‌های قهوه‌ای از سوا حل جزیره قشم، جمع آوری گرد ید. بعد از نمونه‌برداری، جلبک‌های جمع‌آوری شده با آب دریا شسته شده و از شن و ماسه و جانداران اپی‌فیت کاملا پاکسازی شدند. سپس به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه جلبک‌ها مجددا، با آب شسته شده و سپس خشک شدند. تعدادی از نمونه های جمع آوری شده جهت شناسایی گونه، در فرمالین ۳ درصد فیکس شده و نگهداری شدند.

عصاره گیری نمونه‌ها: ۲ نوع استخراج با استفاده از حلال آب و اتانول ۷۰٪ و حلال آب مقطر انجام شد. در همه این روش‌ها با استفاده از روش خیساندن، ۳۰ گرم پودر جلبک های قهوه ای به طور جداگانه در ۳۰۰ میلی لیتر محلول آب و اتانول ۷۰٪ و آب مقطر ریخته شد؛ و به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی با همزن مغناطیسی با دور ۲۰۰ rpm عصاره گیری گردید. سپس نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ rpm در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند و محلول رویی جمع آوری شده و تا انجام آزمایشات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آزمایشات حیوانی: تعداد ۱۰۰ رت نر نژاد Wistar در سن ۳ ماهگی و با وزن میانگین و انحراف معیاروزنی ۲۲۰±۲۰ گرم از حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی شیراز خریداری و سپس به آزمایشگاه حیوانات انتقال داده شدند. مطالعه ی حاضر با رعایت دستورالعمل حمایت از حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید. رتها به مدت ۲ هفته در آزمایشگاه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی شیراز برای سازگار شدن با محیط جدید، بدون هیچ‌گونه اعمال مداخله‌ای در قفس‌های ویژه که از قبل ضدعفونی شده بود، نگهداری شدند. حیوانات مورد آزمایش در این مطالعه، در طی دوره دو هفته ای آشنایی با محیط جدید در قالب گروه‌های ۵ سر رت در قفس‌های پلی کربنات شفاف قرار گرفته و در دمای محیطی با ۲۲±۲ درجه سانتیگراد و چرخه روشنایی به تاریکی ۱۲ :۱۲ ساعت و رطوبت هوای ۵۰±۵٪ نگهداری شده و در طول این مدت از غذای استاندارد تغذیه شدند. در این مطالعه رتها به صورت آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. همچنین تهویه مناسب در محل نگهداری قرار داده شد. قفس ها به صورت هر ۴ روز یک بار تمیز گردید. کلیه حیوانات از شروع آزمایش در شرایط تغذیه ای، نوری و دمایی یکسانی قرار گرفتند پس از دوره ی سازگاری، رتها وزن کشی شده و به مدت ۱ ماه به آنها غذای پرچرب حاوی ۶۰٪ کلسترول (Merck، آلمان) داده شد تا چاق شوند. پس از دوره ی چاق شدن، رتها به صورت تصادفی به ۱۰ گروه ۱۰ تایی (هر ۵ سر رت در یک قفس) جهت انجام ۲ ماه آزمایش تقسیم شدند. در مدت زمان انجام آزمایش، روزانه به همه حیوانات به جز گروههای کنترل دوز مشخصی از عصاره های تهیه شده به روش گاواژ خورانده شد. کلیه آزمایشات مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان (IR.HUMS.REC.1400.280) قرار گرفت.

جهت ارزیابی اثرات عصاره‌های مختلف در طی ۲ ماه، رتها به گروه کنترل و گروههای تیمار تقسیم شدند. گروه‌های مورد مطالعه شامل گروه کنترل سالم و چاق و گروه‌های دریافت کننده عصاره آبی و اتانولی جلبکها. گروهای دریافت کننده عصارههای آبی جلبکی، غلظت ۱۰۰و ۲۰۰ mg/kg و گروههای دریافت کننده عصاره های اتانولی غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ mg/kg از جلبکها را دریافت کردند. تمامی حیوانات در طول آزمایش، روزانه وزن شده و همچنین میزان مصرف مواد غذایی به صورت هفتگی اندازه گیری شد. در پایان مطالعه، حیوانات به کمک گاز CO_2 کشته شدند. خونگیری از قلب و نمونه برداری از مدفوع حیوانات در هر گروه انجام گردید.

اندازه گیری شاخص های سرم خون: جهت جداسازی سرم نمونه های جمع آوری شده، خون به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰rpm سانتریفیوژ گردید. سپس نمونه ها با کمک سمپلر جمع‌آوری و در میکروتیوب‌های استیل قرار گرفته و تا زمان اندازه گیری لیپیدهای سرم در فریزر های ۲۰- درجه سانتیگراد

نگهداری شدند. برای تعیین میزان سرمی کلسترول و آنزیمهای کبدی از کیت های تجاری شرکت Man فرانسه استفاده شد و همچنین جهت اندازه گیری میزان التهاب، اینترلوکین ۱ و TNF-α سرم خون حیوانات با استفاده از کیت الیزا شرکت abcam اندازه گیری شد.

تعیین جنس باکتری‌ها با روش مولکولی: در این مطالعه، DNA به کمک کیت استخراج شرکت سیناژن بر اساس دستورالعمل کاتالوگ استخراج گردید. جهت اطمینان از خلوص و غلظت DNA استخراجی، از دستگاه نانودراپ استفاده گردید. ناحیه V1–V3 از ژن 16srRNA با استفاده از پرایمرهای V1-9F (5′-CCTAT CCCCTGTGTGCCTTGGCAGTCTCAGACGAGTT TGA TCMTGGCTCAG-3′) و V3-541R (5′-CCATCTCATCCCTGC GTGTCTCCGACTCAG-barcode-ACWTTACCGCGGCTGC TGG-3′) تکثیر گردید. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر ژن 16SrRNA مطابق برنامه زیر انجام شد. دمای واسرشت اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد و به مدت ۵ دقیقه بود. سپس ۳۵ چرخه شامل یک دقیقه دمای ۹۵ درجه سانتی گراد، یک دقیقه دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و یک و نیم دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام شد. در نهایت برای تکمیل سنتز DNA، دمای واکنش به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد نگه داشته شد. درستی انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ژن 16S rDNA، با الکتروفورز ژل آگاروز رنگ آمیزی شده با اتیدیوم برماید تأیید گردید.

جهت تعیین توالی ژن 16S rDNA، محصول PCR به کمک کیت تخلیص GeneJetPCR (Thermo Scientific, Lithuania) خالص‌سازی گردید. سپس توالی ژن، توسط شرکت ماکروژن(Macrogen) کره جنوبی تعیین گردید. نتایج توالی نوکلئوتیدها مجدداً به کمک نرم افزار Chromas Pro BioEdit (۷/۱/۷) با یکدیگر همتراز شدند. جهت شناسایی باکتری ها، میزان تشابه توالیهای تکثیر شده ژن 16SrRNA در باکتریها به کمک BLAST در پایگاه داده های NCBI با توالیهای ثبت شده مورد مقایسه قرار گرفت. علاوه بر این، برای شناسایی تاکسونومی این باکتری‌ها با استفاده از توالی 16S rDNA، تعدادی از توالی‌های نزدیک به هر یک از باکتری‌های مورد نظر نیز از NCBI استخراج گردید و طبقه بندی آنها بر اساس the top five BLASTN hits در پایگاه داده EzTaxon-e اختصاص داده شد (۳۴). توالی هایی که در جستجو های BLASTN در پایگاه داده EzTaxon-e مطابقت نداشتند حذف شدند. شباهت گونه های کاندید با گونه های ثبت شده با استفاده از روش مایرز و میلر محاسبه شد. جهت بدست آوردن توزیع فراوانی نسبی و جهت رسم نمودارها از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۱ برای ویندوز) و GraphPad Prism (نسخه ۸,۳,۴) استفاده شد. حجم مواد لازم جهت انجام PCR در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- حجم مواد مورد نیاز جهت انجام PCR

مواد PCR	مقدار
Primer F	۱ µL
Primer R	۱ µL
PCR Master Mix (2X)	۱۰ µL
DDW	۱۲ µL
DNA template	۲ µL
TOTAL VOLUME	۲۵ µL

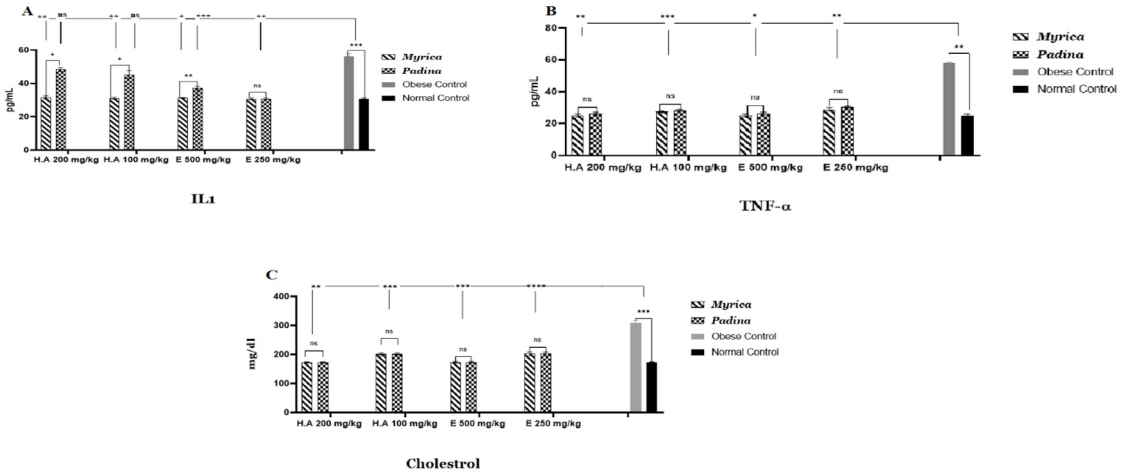
F: Forward, R: Reverse, DDW: Double Distilled Water.

یافته‌ها

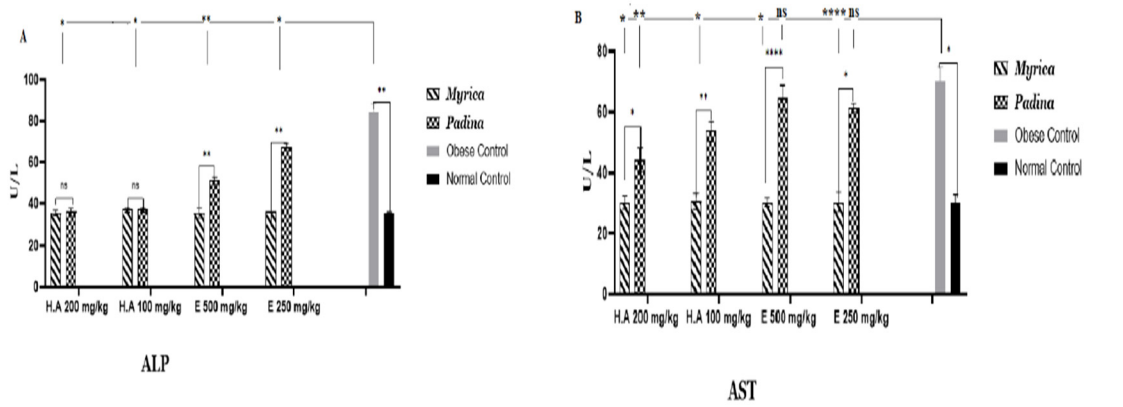
تاثیر عصاره های جلبکی بر شاخص های سرم خونی: در این مطالعه تأثیر عصاره‌های اتانولی و آبی جلبک‌های دریایی خلیج فارس را بر سطوح سرمی کلسترول، فاکتورهای التهابی IL1، TNF-α، آنزیم‌های کبدی ALP و AST بررسی گردید. هر دو دوز عصاره‌های اتانولی و آبی جلبکهای دریایی *C.myrica* و *P.pavonica* به طور معنی داری سبب کاهش سطح سرمی کلسترول در مقایسه با گروه کنترل چاق شدند. عصاره های آبی با غلظت ۲۰۰mg/kg و عصاره های اتانولی با غلظت ۵۰۰ mg/kg در دو جلبک در کاهش سطح کلسترول موثرتر از سایر عصاره ها بودند به طوری که سطح کلسترول در این گروهها به سطح کنترل نرمال رسید (شکل ۲).

مقایسه آنالیز سطح سرمی اینترلوکین ۱ با گروه کنترل چاق نشان داد که همه عصاره های تهیه شده از *C.myrica* توانایی کاهش IL1 که یک فاکتور التهابی در بدن می باشد را دارند. همچنین هر دو دوز عصاره های اتانولی *P.pavonica* نیز توانایی کاهش سطح سرمی IL1 را نشان دادند، حیواناتی که با دوزهای مختلف عصاره های آبی و اتانولی *C.myrica* و *P.pavonica* تیمار شده بودند توانستند سطح سرمی TNF-α را تا حد گروه کنترل نرمال کاهش دهند. نتایج کلی آنالیز فاکتورهای التهابی سرم خون حیوانات نشان داد تمام عصاره های تهیه شده از *C.myrica* نسبت به عصاره‌های تهیه شده از *P.pavonica* برتری قابل ملاحظه‌ای دارند (شکل ۱).

تمام عصاره‌های تهیه شده از *C.myrica* توانستند سطح سرمی آنزیمهای کبدی AST و ALT را در مقایسه با گروه کنترل چاق کاهش دهند. اگر چه گروههایی که عصاره های تهیه شده از جلبک *P.pavonica* را دریافت کردند، توانستند سطح سرمی آنزیم های کبدی را به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل چاق کاهش دهند، اما در مقایسه با جلبک



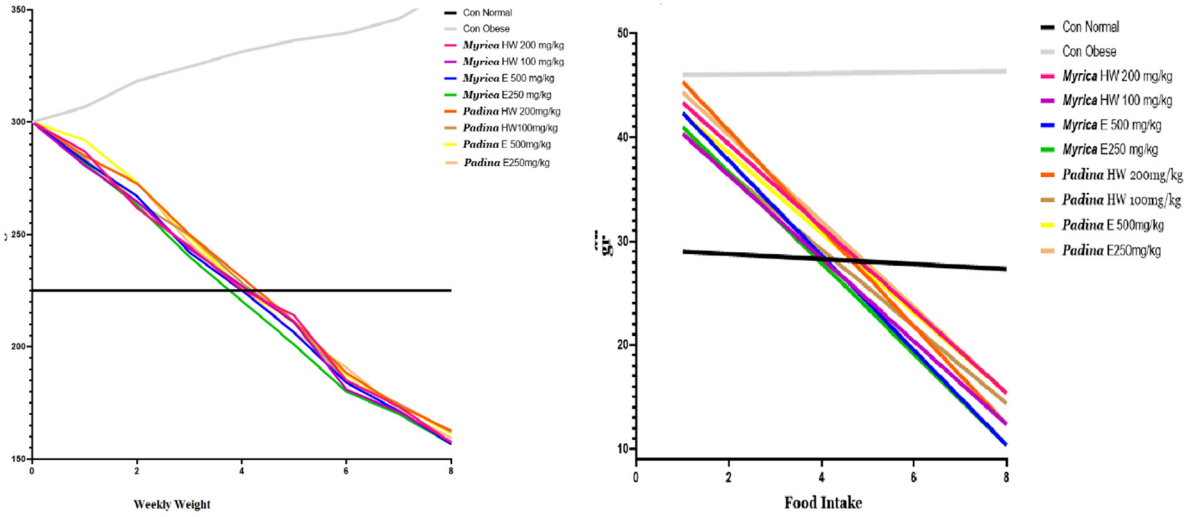
شکل ۱- اثرعصاره های آبی و اتانولی جلبکهای دریایی بر اینترلوکینهای سرم خون در موشهای صحرایی نژاد Wistar .A: اینترلوکین۱(IL1) ، B: TNF-α و C: کلسترول. * تفاوت معنی داری بین گروهها (P<۰,۰۵ *، P<۰,۰۱ **، P<۰,۰۰۱ ***، P<۰,۰۰۰۱ ****). ns نشان دهنده اختلاف معنی داری وجود ندارد.



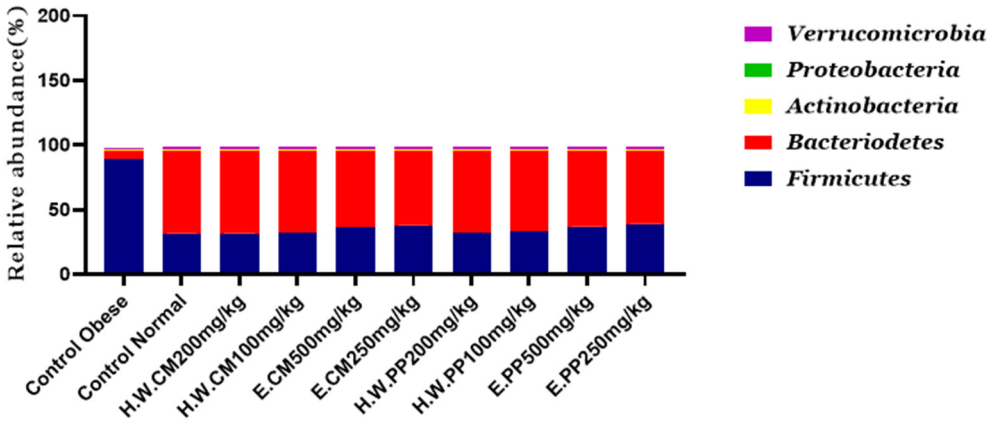
شکل۲- اثرعصاره های آبی و اتانولی جلبکهای دریایی بر آنزیمهای کبدی در موشهای صحرایی نژاد Wistar .A: آسپارتات آمینوترانسفراز(AST) ، B: آلکالین فسفاتاز(ALP) . * تفاوت معنی داری بین گروهها (P<۰,۰۵ *، P<۰,۰۱ **، P<۰,۰۰۱ ***، P<۰,۰۰۰۱ ****). ns نشان دهنده اختلاف معنی داری وجود ندارد.

C.myrica توانایی کمتری نشان دادند (شکل ۲).

اندازه گیری وزن بدن و میزان مصـــرف مواد غذایی همه موش های صحرایی که در این مطالعه قرار گرفتند به ترتیب به صورت روزانه و هفتگی اندازه گیری شد. به طور کلی، مصـــرف همه عصـــاره جلبک های دریایی به مدت ۸ هفته باعث کاهش قابل توجه وزن بدن حیوانات و کاهش مصـــرف مواد غذایی دریافتی در همه گروه‌ها گردید. همه گروهها پس از ۳-۵ هفته مصـــرف عصـــاره های جلبکی به وزن گروه کنترل نر مال رســـ ید ند. همچنین میزان مـصرف مواد غذایی همه رتهای چاق که روزانه یکی از انواع عصـــاره ها را دریافت می کردند پس از مدت زمان ۳-۵ هفته به ســـطح گروه نرمال رســـید. کاهش وزن در حیواناتی که با هر دو دوز عصـــاره اتانولی *C.myrica* تغذیه شـــده بودند ســـریعتر از ســـایر گروه ها اتفاق افتاد، به طوری که وزن این حیوانات در هفته سوم به حد نرمال رســـید. کاهش وزن برای حیوانات تغذیه شـــده با هر دو دوز عصـــاره آبی *P.pavonica* نســـبت به ســـایر حیوانات کندتر بود در این گروه رســـیدن به وزن طبیعی ۵ هفته طول کشـــید. همین روند برای میزان مصـــرف مواد غذایی نیز اتفاق افتاد. پس از این مدت، کاهش وزن و کاهش مصـــرف غذا ادامه یافت، به طوری که وزن بدن حیوانات تیمار شـــده از ۲۹۹-۳۰۰ گرم در



شکل ۳- اثرعصاره های آبی و اتانولی جلبکهای دریایی بر وزن بدن، میزان مصرف مواد غذایی و میزان مصرف انرژی در موشهای صحرایی نژاد Wistar. A: وزن بدن (body weight) ، B: میزان مصرف مواد غذایی.



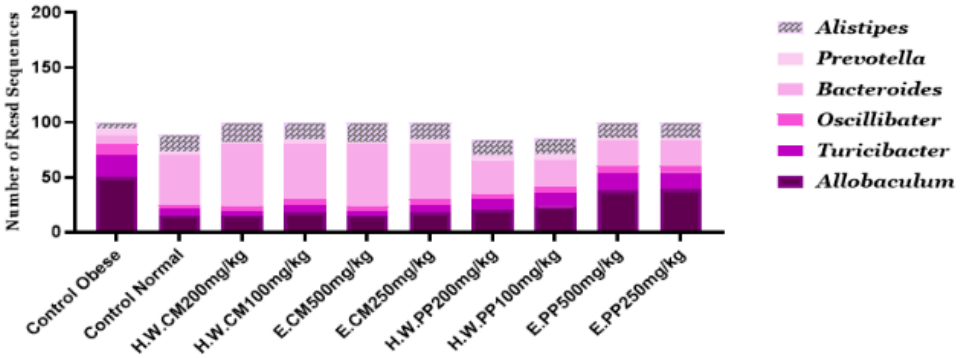
شکل ۴- توزیع میکروبیوتای روده موش های تغذیه شده با جلبک های دریایی مختلف در مقایسه با گروه کنترل. *Firmicutes* در تمام گروه های تیمار نسبت به گروه کنترل کاهش و*Bacteroidetes* افزایش یافت (P<۰,۰۵)

شـــروع آزمایش به ۱۵۶-۱۶۳گرم، میزان مصـــرف مواد غذایی از ۴۵-۵۰ گرم در روز در شـروع آزمایش به ۱۰-۱۷ گرم در پایان ۸ هفته رسید (شکل۳).

آنالیز میکروبیوتای روده حیوانات: جهت آنالیز میکروارگانیســـم های روده حیوانات تیمارشـــده با عصـــاره های مختلف جلبک‌های قهوه‌ای، از تکثیر ژن 16sRNA استفاده گردید. ۳۰ نمونه از مدفوع موش‌های صـحرایی (از هر گروه ۳ رت) مورد بررســی قرار گرفت. نتایج آنالیز نشـــان داد *Firmicutes*، *Bacteroides*، ۲ خانواده اصـــلی باکتریهای موجود در مدفوع موشـــهای صـــحرایی آزمایش شـــده می باشـــند. نســـبت توزیع میکروارگانیسم‌های روده نشان داد که *Bacteroides* و *Firmicutes* به عنوان باکتریهای غالب در مدفوع موش‌های هستند و تقریباً ۹۶ درصد از توالی‌های خوانده شـــده در همه گروه‌ها را تشـــکیل می‌دهند. کاهش *Firmicutes*و افـزایـش*Bacteroidetes* در تـمـام گروههایی که عصاره های جلبکی را دریافت کرده بودند در مقایســـه با گروه کنترل چاق مشـــاهده گردید. ۸۷ درصـد از توالیهای خوانده شـده در مدفوع گروه کنترل چاق، باکتری *Firmicutes* بود در حالی که درصـد این باکتری در مدفوع حیوانات تیمارشـــده با عصـــاره ها در گروههای مختلف به ۳۱ -۳۹٪ کاهش یافت. درمقابل، درصـــد باکتری *Bacteroidetes* در مدفوع گروه کنترل چاق ۷ در صد بود که این مقدار در گروههای تیمار شده به ۶۵-۵۷ درصـــد افزایش یافت. با توجه به نتایج فوق می توان نتیجه گرفت که مصـرف روزانه جلبکهای قهوه ای می تواند سبب تغییر فلور میکروبی روده در حیوانات گردد (P<۰/۰۵) (شکل ۴).

با توجه به ویژگی‌های عملکردی جنس‌های مختلف بـاکتری، داده‌هـای میکروبیوم جهـت تعیین فراوانی جنس‌های مربوط به چاقی، لاغری، جنسهای بیماری زا و باکتریهای اســـیدلاکتیک تجزیه و تحلیل شـــدند. جنس های مرتبط با چاقی شـــامل *Allobaculum*، *Turicibacter* و *Oscillibater* بود که در همه گروهها مشـــاهده گردید. اما فراوانی این باکتریها در گروههای تیمار شـــده با عصـــاره ها نســـبت به گروه کنترل چاق به‌طور معنی‌داری کاهش یافته بود. تمام گروههایی که عصـــاره های آبی و اتانول *C.myrica* با دوزهای مختلف دریافت کردند و همچنین گروههایی که با دو دوز عصاره آبی *P.pavonica* تغذیه شدند بیشترین کاهش فراوانی باکتریهای مرتبط با چاقی را نشـــان دادند. باکتریهای مرتبط با لاغری شـــامل جنســـهای *Bacteroides*، *Prevotella* و*Alistipes* بودند که در مقایســـه با گروه شـــاهد، همه گروه های تیمار افزایش معنی‌داری در فراوانی این جنس‌ها نشان دادند. جنس *Bacteroides* و *Alistipes* جنس‌های غالب باکتری در مدفوع حیوانات تیمارشـــده بودند به طوری که جنس *Bacteroides* به میزان ۱۰ برابر و جنس *Alistipes* به میزان ۴ برابر در مدفوع گروههای تیمار شده نسبت به گروه کنترل چاق افزایش نشان دادند (P<۰/۰۵) (شکل ۵).

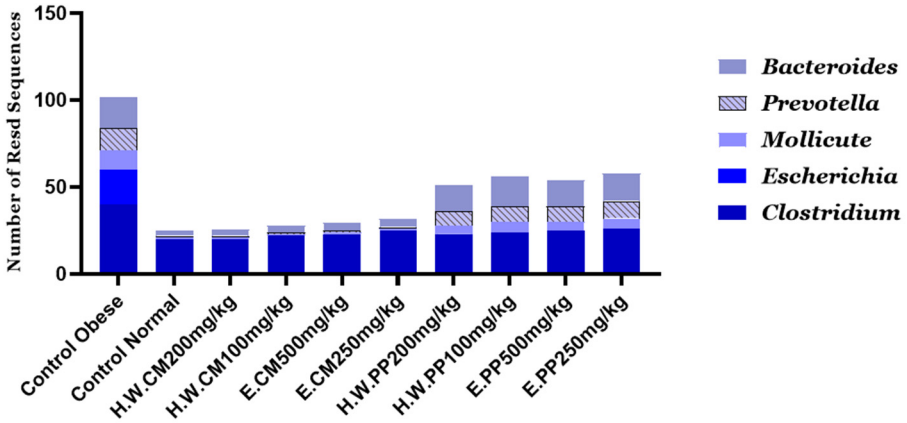
همانطور که در شکل ۶ نشان داده شده است، فراوانی جنس های بیماری زا در تمام گروه های تحت درمان به



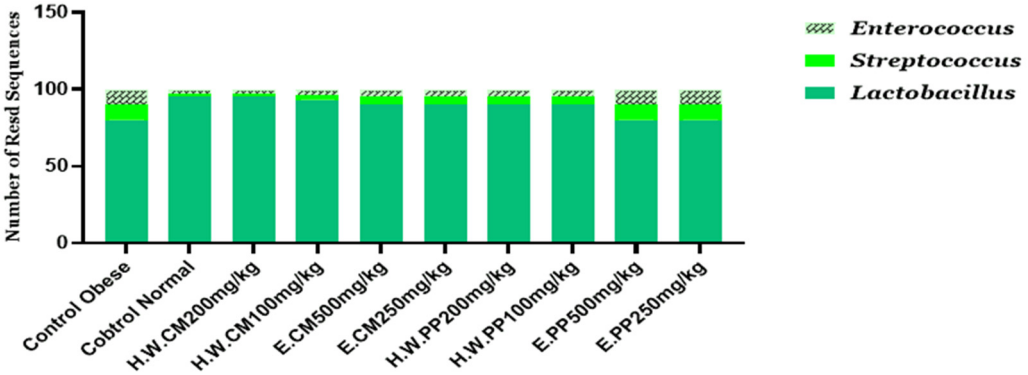
شکل ۵- توزیع باکتریهای مرتبط با چاقی و لاغری در روده موش‌های تغذیه شده با عصاره های آبی و اتانولی *C.myrica* و *P. pavonica* در مقایسه با گروه کنترل P<۰,۰۵.

طور قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل چاق کاهش یافته است. . باکتریهای دارای پتانسیل بیماریزایی شامل *Bacteroides*، *Clostridium*، *Escherichia*، *Mollicute* و *Prevotella* بود ند که در گروه کنترل چاق با فراوانی بالا مشـــاهده گردید. همه گروههایی که عصـــاره های آبی و ا تانولی *C. myrica* را با دوز های مختلف در یا فت کرد ند کاهش معنی داری در فراوانی جن سهای پاتوژن ن شان دادند که م شابه با گروه کنترل نرمال یکسـان بود. فراوانی نسـبی جنس های بیماری زا در تمام گروه های تیمار شده در مقای سه با گروه کنترل چـاق بـه طور قـابـل توجهی کمتر بود. بـا کتری *Escherichia* در گروه های تی مار وجود نداشـــت و *Clostridium* جنس غا لب این گروه بود که در ه مه گروهها مشاهده گردید (P<۰/۰۵) (شکل۶).

مطابق با شکل ۷، نتایج آنالیز میکروارگانیسم ها نشان داد، تمام عصاره ها توانستند به طور قابل توجهی سطح میکروارگانیسم های اسید لاکتیکی را در مقایسه با گروه کنترل چاق کنترل افزایش دهند. باکتریهای اســـید لاکتیکی به دلیل خواص پروبیوتیکی که ســـبب مهار جنس‌های بیماری‌زا می شـــود و همچنین ایمنی بدن را افزایش میدهند، بســـیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. *Lactobacillus*, *Enterococcus* و *Streptococcus* از جنس‌های اســـید لاکتیک بودند که در همه گروه ها مشاهده گردید. نتایج ما نشان داد که *Lactobacillus* گونه غالب در گروه های تیمار شـــده بود که فراوانی آن در گروه کنترل چاق ۸۰ درصد و در گروههای تیمارشده با عصـــاره اتانولی و آبی *C.myrica* با دوزهای مختلف تا ۹۸ درصـــد افزایش یافته بود. در حالی که در گروههایی



شکل۶- توزیع باکتریهای پاتوژن در روده موش های تغذیه شده با ع صاره های آبی و اتانولی *C. myrica* و *P. pavonica* در مقایسه با گروه کنترل P<۰,۰۵



شکل ۷- توزیع باکتریهای ا سید لاکتیکی در روده موش های تغذیه شده با ع صاره های آبی و اتانولی *C. myrica* و *P. pavonica* در مقایسه با گروه کنترل P<۰,۰۵

که عصـــاره ا تانولی *P.pavonica* با دوز های مختلف دریافت کرده بودند تفاوت معنی داری با گروه کنترل چاق نشان نداند (P<۰/۰۵) (شکل ۷).

بحث

چاقی یک اختلال متابولیک شدید است که در نتیجه عدم تعادل بین انرژی دریافتی و مصـرفی در بدن اتفاق می افتد. در حال حاضـر، شـیوع اضـافه وزن و چاقی در کل جهان رو به رشد است به طوری که حداقل حدود ۳ میلیون نفر سالانه در اثر ا ضافه وزن یا چاقی جان خود را از دست می‌دهند. بعلاوه، گزارش شده است که تغییر در فلور میکروبی طبیعی روده در ا نسان می‌تواند سبب ایجاد چاقی و اختلالات متابولیک گردد (۲۱). توزیع میکروارگانیســم های روده به دلیل عوامل مختلفی می توا ند تغییر کند، ا ما می توان آنها را در مدت ز مان کوتاهی با مطلوب کردن رژیم غذایی تغییر داد. به طور کلی، فیبرهای غذایی، توزیع میکروارگانیسم‌های روده را که باعث تشـدید اضـافه وزن و چاقی می‌شـوند، تغییر می‌دهند. بعلاوه این ترکیبات مفید نمی توانند توســط آنزیم‌های گوارشی در معده و روده کوچک هضم شوند و در نتیجه به روده بزرگ می رســند و در آنجا توســط میکروارگانیســم های بی هوازی تخمیر می شــوند و در نتیجه می‌توانند با تغییر فلور میکروبی روده به پیشگیری یا بهبود چاقی و اختلالات متابولیک کمک می‌کنند (۲۴،۲۳،۲۲). از طرفی همراهی یکســری ترکیبات تحریک کننده‌ی افزایش ســوخت و ســاز بدن، ســبب تســریع در کاهش وزن و رهایی از چاقی می شــود. ارگانیســم های دریایی به عنوان منبع بالقوه ترکیبات زیســت فعال با فعالیت های ضــد چاقی در نظر گرفته شده اند. بیشتر این ترکیبات توسط جلبک‌های دریایی به ویژه جلبک‌های دریایی قهوه ای تولید می‌شــوند. جلبک‌های قهوه‌ای به دلیل محتوای بالای فیبرها، مواد معدنی و اســیدهای چرب غیر اشــباع از ارزش غذایی بالایی برخوردار هستند و می توانند فلور میکروبی روده را در مدت زمان کوتاهی تغییر دهد و در نتیجه چاقی و افزایش وزن را بهبود می‌بخشند (۲۷،۲۶،۲۵). همچنین توزیع میکروارگانیســم‌های روده می تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار گیرد. مطالعه ما نیز نشــان داد که تمام عصاره‌های تهیه شده از *C.myrica* و *P.pavonica* توانســتند فلور میکروبی روده در رتهای چاق را در طول دوره آزمایش به میزان قابل توجهی تغییر دهند.

مطالعات نشان داده اند *Firmicutes* و *Bacteroidetes* دو جنس اصلی میکروارگانیسم های روده ای هستند که می توانند بر چاقی تأثیر بگذارند (۲۸). نتایج مطالعه حاضــر نیز نشــان می‌دهد که *Firmicutes* و *Bacteroidetes* دو خانواده اصلی میکروارگانیســم‌های روده در همه گروه‌ها هســتند و درمان موش‌های چاق با عصــاره های آبی و اتانولی جلبک های قهوه ای خلیج فارس منجر به کاهش فراوانی *Firmicutes* و افزایش *Bacteroidetes* در فلور میکروبی روده موش‌ها می‌گردد. داده های ما با گزارش های قبلی که نشــان می‌دهند وعده‌های غذایی جلبک‌های قهوه‌ای ســبب کاهش نسبت *Firmicutes/Bacteroidetes* در روده می گردد مطابقت دارد (۲۸،۴). نشـریه اروپایی متاژنوم فلور میکروبی روده انسانی و کمپانی پروژه میکروبیوم انسانی ایالات متحده گزارش دادند که باکتری های موجود در روده از خانواده های *Proteobacteria*، *Firmicutes*، *Actinobacteria* و *Bacteroidetes* می‌باشند.

مطالعات قبلی نشــان دادند *Allobaculum* و *Turicibacter* جنس‌هایی هســتند که متعلق به کلاس *Erysipelotrichi* می باشــند که در افراد چاق افزایش می‌یابد (۲۹). همچنین ثابت شــده اســت که افزایش فراوانی باکتری *Oscillibacte* در روده موش‌های تغذیه شده با رژیم‌های غذایی پرچرب سبب ایجاد التهاب‌های خفیف می‌گردد (۳۱،۳۰). Kim و همکاران در ســال ۲۰۱۸ دریافتند که تغذیه موشــهای چاق با جلبک قهوه ای *Laminaria japonica* سبب کاهش فراوانی اینگروه از باکتری ها در مدفوع موش‌ها می‌گردد (۳۲). مطالعه ما نیز نشــان داد که عصــاره‌های جلبکی خلیج فارس می‌توانند، فراوانی نسبی جنس‌های مرتبط با چاقی را در مدفوع موش‌ها در همه گروه‌های تیمار شــده کاهش دهند. جنس‌های *Allobaculum* و *Turicibacter* بیشترین کاهش را نشان دادند. همچنین آنالیز ما نشان داد که عصاره های بدست آمده از *C.myrica* نسبت به

عصـــاره های جلبک در یایی *P.pavonica* در کاهش فراوانی جنس‌های مرتبط با چاقی مؤثرتر می باشند.

نتایج ما نشـــان داد که تیمار حیوانات با جلبک های قهوه‌ای می‌تواند سبب افزایش فراوانی باکتریهای مرتبط بـا لاغـری *Prevotella*، *Bacteroides* و *Alistipese* گردد. اخیرا گزارش شده است هر دو جنس *Prevotella* و *Bacteroides* که توانایی هیدرولیز سـلولز را دارند، با فراوانی بالا در مدفوع کودکان آفریقایی که عمدتاً از رژیم غذایی گیاهی اســتفاده می‌کنند مشـاهده شـده اســت(۳۳). همچنین مطالعات نشـــان می دهد فراوانی بالای باکتری *Prevotella* درروده ســـبب کاهش تجمع چربی در بافت‌های بدن می گردد. بعلاوه، *Alistipese* متعلق به شـاخه *Bacteroidetes* می باشـد که گزارش شـده اســت با افزایش آن در روده، وزن بدن را کاهش می‌دهد (۳۴).

بعلاوه، بافت چربی یک اندام غدد درون ریز اســت که ســیتوکین ها و کموکاین های پیش التهابی متعددی از جملـه IL1، IL6، فـاکتور نکروز تومور α (TNF-α) و پروتئین واکنشی C (CRP) را ترشح می کند. بسیاری از مطالعات نشـــان داده‌اند که میکروارگانیســم های بیماری‌زای روده که با رژیم غذایی پرچرب افزایش می یابند، می توانند مســیرهای ســیگنالینگ متابولیکی را تحت تاثیر قرار داده و در نتیجه ســبب ایجادالتهاب‌های خفیف و چاقی گردند (۳۷،۳۶،۳۵). اندوتوکســین‌های ترشـــح شـــده از باکتری های بیماری زا نیز می توانند باعث ایجاد التهاب و چاقی شـــوند. در مطالعه ما، همه حیوانات تیمارشـــده با عصـــاره های آبی و اتانولی جلبک‌های قهوه ای خلیج فارس کاهش قابل‌توجهی در فاکتورهای التهابی بررســـی شـــده و جنس‌های دارای پتانســـیل بیماری‌زایی نشـــان دادند، اگر چه جلبک *C.myrica* در کاهش فاکتورهای التهابی کارآمدتر بود، با این حال عصاره های آبی هر دو جلبک با غلظت های مختلف اثر بیشتری بر کاهش باکتری های پاتوژن نشان دادند.

نتایج ما نشان داد که درمان‌های موش‌های چاق شده با رژیم غذایی پرچرب، بوسـیله جلبک‌ها سـبب افزایش تکثیر بـاکتری‌هـای اســیـد لاکتیـک روده بـه ویژه *Lactobacillus* می‌گردد. علاوه بر این، نتایج ما نشـــان داد که هم عصـــاره آبی و هم عصـــاره اتانولی جلبک‌های خلیج فارس دارای قدرت پری بیوتیک هستند. مطالعات قبلی گزارش داده اند که باکتری های اسید لاکتیک می توانند با کاهش PH از رشد میکروب های بیماری زا در روده جلوگیری میکنند. مطابق با نتایج ما، Kim و همکاران در ســـال ۲۰۱۸ نشـــان دادند که جلبک *Laminaria japonica* فعالیت پری بیوتیک و ضـــد چاقی خود را با کاهش قابل توجه ســـطح باکتری های بیماری زا و افزایش سطح باکتری اسید لاکتیک درروده موش های صـــحرایی چاق نشـــان می‌دهند (۳۲). باکتریهای اســـید لاکتیکی روده دارای عملکرد های فیزیولوژیکی متنوعی می باشند، که از جمله آنها تعدیل سیستم ایمنی و کاهش کلسترول و چربی خون می‌باشد (۳۹،۳۸).

فیبر های غذایی موجود در جلبک های دریایی به دلیل ویسکوزیته بالا و همچنین نمک صفراوی منجر به کاهش جذب درشـــت مغذی میگردند و بنابراین می توانند ســـطح کلســـترول را در موش های هیپرلیپیدمی کاهش دهند. همچنین اینگونه ترکیبات، اســـیدهای چرب بـا زنجیره کوتـاه (SCFAs) را از طریق تخمیر توســـط میکروارگانیســـم‌های بی‌هوازی در روده بزرگ تولیـد می‌کننـد (۴۱،۴۰). از ســـوی دیگر، چـاقی از مهمترین عوامل ایجاد کننده کبد چرب اســـت. افزایش سـطوح ALP و AST به عنوان حسـاس ترین شـاخص های بیوشیمیایی، نشان دهنده وجود استئاتوز کبدی یا کبد چرب اســت (۴۲). یافته‌های مطالعه حاضـر نشـان میدهد که مصرف جلبک‌های قهوه‌ای سبب کاهش قابل توجهی در ســـطح ســـرمی کلســـترول و آنزیم های کبدی AST و ALP می گردد. نتایج ما مطابق با مطالعاتی اســـت که گزارش داده اند عصـــاره اتانولی *Sargassum binderi* با غلظت ۲۰۰ mg/kg در طول ۱۴ روز منجر به کاهش غلظت آنزیم‌های کبدی از جمله ALT در مقایسه با گروه کنترل می شود (۴۳). نتایج ما نیز نشان داد که هر دو عصاره اتانولی و آبی بدست آمده از *C. myrica* نسـبت به عصـاره‌های جلبک دریایی *P. pavonica* توانایی بیشـتری در کاهش سـطح آنزیم‌های

کبدی در موش‌های چاق دارند. علاوه بر این، ما دریافتیم که عصـــاره های آبی و اتانولی جلبکهای قهوه‌ای خلیج فارس اثرات مفیدی بر کاهش وزن و میزان دریافت غذا در موش های چاق شـــده با رژیم غذایی پرچرب دارند. این نتیجه مشـــا به گزارش های قبلی در مورد اثرات عصـــاره *S.polycystum* ، یا فوکوگزانتین بر کاهش وزن و دریافت غذا در مدل چاق حیوانی بود (۴۵،۴۴).

نتیجه‌گیری

به طور کلی مطالعه حا ضر ن شان داد که تمام ع صاره ها می توانند رشـــد باکتریهای مفید را افزایش داده و همزمان مانع رشـــد باکتریهای بیماری زا گردند. ما همچنین در یافتیم که کاهش وزن حیوا نات به دلیل کاهش مصرف مواد غذایی اتفاق می‌افتد. علاوه بر کاهش وزن، عصـــاره ها توانایی کاهش ســـطح کلســـترول و همچنین سطح آنزیم های کبدی را نشان دادند. بهترین عصـــاره‌ای که توانســـت کلیه معیارهای مورد بررســـی را نرمال کند ع صاره‌های تهیه شده از جلبک *C. myrica* بود. از آنجایی که مطالعه آزمایشـــگاهی ما در مدل های حیوانی انجام شد، به نظر می‌رسد که می‌توان مطالعات in vivo روی حیوانات را به ان سان نیز تعمیم داد. با این حال نیاز به آزمایشات بیشتری می‌باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله، حاصل بخشی از نتایج رساله دکتری زیست شتا سی دریا دان شگاه هرمزگان می با شد که با حمایت دان شگاه هرمزگان و دان شگاه علوم پز شکی شیراز اجرا شده است.

ملاحظات اخلاقی

نویســـندگان این مقاله پژوهشـــی تمامی نکات اخلاقی شامل سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

References

1. Damsgaard CT, Michaelsen KF, Molbo D, Mortensen EL, Sørensen T. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: A pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. Lancet. 2016;387(10026):1377-96.
2. Wan-Loy C, Siew-Moi P. Marine algae as a potential source for anti-obesity agents. Marine Drugs. 2016;14(12):222.
3. Marzullo P, Di Renzo L, Pugliese G, De Siena M, Barrea L, Muscogiuri G, et al. From obesity through gut microbiota to cardiovascular diseases: a dangerous journey. Int J Obes Suppl. 2020;10(1):35-49.
4. Busnelli M, Manzini S, Chiesa G. The gut microbiota affects host pathophysiology as an endocrine organ: a focus on cardiovascular disease. Nutrients. 2019;12(1):79.
5. Markowiak-Kopeć P, Śliżewska K. The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome. Nutrients. 2020;12(4):1107.
6. Flint HJ. Variability and Stability of the Human Gut Microbiome. Why Gut Microbes Matter: Springer; 2020. p. 63-79.
7. Turnbaugh PJ, Backhed F, Fulton L, Gordon JI. Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. Cell Host Microbe. 2008;3(4):213-23.
8. Kim JY, Kwon YM, Kim IS, Kim JA, Yu DY, Adhikari B, et al. Effects of the Brown Seaweed Laminaria japonica Supplementation on Serum Concentrations of IgG, Triglycerides, and Cholesterol, and Intestinal Microbiota Composition in Rats. Front Nutr. 2018;5:23.
9. Kelly JR, Borre Y, O'Brien C, Patterson E, El Aidy S, Deane J, et al. Transferring the blues: depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. J Psychiatr Res. 2016;82:109-18.
10. Jy K, Dy Y. Effects of Undaria pinnatifida and Laminaria japonica on Rat's Intestinal Microbiota and Metabolite. J Nutr Food Sci. 2016;06(03):502.
11. Wen L, Duffy A. Factors Influencing the Gut Microbiota, Inflammation, and Type 2 Diabetes. J Nutr. 2017;147(7):1468S-75S.
12. Hasan N, Yang H. Factors affecting the composition of the gut microbiota, and its modulation. Peer J. 2019;7:e7502.
13. Hu X, Tao N, Wang X, Xiao J, Wang M. Marine-derived bioactive compounds with anti-obesity effect: A review. J Func Foods. 2016;21:372-87.
14. de Borba Gurpilhares D, Cinelli LP, Simas NK, Pessoa Jr A, Sette LD. Marine prebiotics: Polysaccharides and oligosaccharides obtained by using microbial enzymes. Food Chem. 2019;280:175-86.

15. Seca AM, Pinto DC. Overview on the antihypertensive and anti-obesity effects of secondary metabolites from seaweeds. Marine Drugs. 2018;16(7):237.
16. Chater PI, Wilcox MD, Houghton D, Pearson JP. The role of seaweed bioactives in the control of digestion: implications for obesity treatments. Food Func. 2015;6(11):3420-7.
17. Draget KI, Taylor C. Chemical, physical and biological properties of alginates and their biomedical implications. Food Hydrocolloids. 2011;25(2):251-6.
18. Gibson GR, Probert HM, Van Loo J, Rastall RA, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. Nutr Res Rev. 2004;17(2):259-75.
19. Shannon E, Conlon M, Hayes M. Seaweed components as potential modulators of the gut microbiota. Marine Drugs. 2021;19(7):358.
20. Kim J-Y, Kwon YM, Kim I-S, Kim J-A, Yu D-Y, Adhikari B, et al. Effects of the brown seaweed Laminaria japonica supplementation on serum concentrations of IgG, triglycerides, and cholesterol, and intestinal microbiota composition in rats. Front Nutr. 2018;5:23.
21. Hotamisligil GS, Erbay E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. Nature Rev Immunol. 2008;8(12):923-34.
22. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. Science. 2012;336(6086):1262-7.
23. Tang WW, Hazen SL. The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease. J Clin Invest. 2014;124(10):4204-11.
24. Wang T, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, et al. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. ISME J. 2012;6(2):320-9.
25. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. Proceed Natl Acad Sci. 2010;107(33):14691-6.
26. Lange KW, Hauser J, Nakamura Y, Kanaya S. Dietary seaweeds and obesity. Food Sci Hum Well. 2015;4(3):87-96.
27. Phang SM. Potential products from tropical algae and seaweeds, especially with reference to Malaysia. Malaysian Journal of Science. 2010;29(2):160-6.
28. Kim J, Yu D, Kim J, Choi E, Lee C, Hong Y, et al. Effects of Undaria linnatifida and Laminaria japonica on rat's intestinal microbiota and metabolite. J Nutr Food Sci. 2016;6(3):502.
29. Hira K, Tariq RM, Sultana V, Ara J, Ehteshamul-Haque S. Effect of seaweeds occurring at Karachi coast on mosquito larvae and liver function in rats. Pak J Pharm Sci. 2017;30(2):387-91.
30. Corrêa□Oliveira R, Fachi JL, Vieira A, Sato FT, Vinolo MAR. Regulation of immune cell function by short□chain fatty acids. Clinical & translational immunology. 2016;5(4):e73.
31. Kamada N, Seo S-U, Chen GY, Núñez G. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. Nature Reviews Immunology. 2013;13(5):321-35.
32. Kim OS ,Cho YJ, Lee K, Yoon SH, Kim M, Na H, et al. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. Int J Syst Evol Microbiol. 2012;62(Pt 3):716-21.
33. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010;107(33):14691-6.
34. Neyrinck AM, Possemiers S, Druart C, Van de Wiele T, De Backer F, Cani PD, et al. Prebiotic effects of wheat arabinoxylan related to the increase in bifidobacteria, Roseburia and Bacteroides/Prevotella in diet-induced obese mice. PLoS One. 2011;6(6):e20944.
35. Chater PI, Wilcox MD, Houghton D, Pearson JP. The role of seaweed bioactives in the control of digestion: implications for obesity treatments. Food Funct. 2015;6(11):3420-7.
36. Brown EM, Allsopp PJ, Magee PJ, Gill CI, Nitecki S, Strain CR, et al. Seaweed and human health. Nutrition reviews. 2014;72(3):205-16.
37. Lam YY, Ha CW, Campbell CR, Mitchell AJ, Dinudom A, Oscarsson J, et al. Increased gut permeability and microbiota change associate with mesenteric fat inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. PLoS One. 2012;7(3):e34233.
38. Park YH, Kim JG, Shin YW, Kim HS, Kim YJ, Chun T, et al. Effects of Lactobacillus acidophilus 43121 and a mixture of Lactobacillus casei and Bifidobacterium longum on the serum cholesterol level and fecal sterol excretion in hypercholesterolemia-induced pigs. Biosci Biotechnol Biochem. 2008;72(2):595-600.
39. Donohoe DR, Garge N, Zhang X, Sun W, O'Connell TM, Bunger MK, et al. The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon. Cell Metab. 2011;13(5):517-26.
40. Wang W, Onnagawa M, Yoshie Y, Suzuki T. Binding of bile salts to soluble and insoluble dietary fibers of seaweeds. Fisheries Sci. 2001;67(6):1169-73.
41. Yang J, Martínez I, Walter J, Keshavarzian A, Rose DJ. In vitro characterization of the impact of selected dietary fibers on fecal microbiota composition and short chain fatty acid production. Anaerobe. 2013;23:74-81.
42. Stranges S, Dorn JM, Muti P, Freudenheim JL,

Farinaro E, Russell M, et al. Body fat distribution, relative weight, and liver enzyme levels: A population based study. Hepatology. 2004;39(3):754-63.

43. Matanjun P, Mohamed S, Muhammad K, Mustapha NM. Comparison of cardiovascular protective effects of tropical seaweeds, Kappaphycus alvarezii, Caulerpa lentillifera, and Sargassum polycystum, on high-cholesterol/high-fat diet in rats. J Med Food. 2010;13(4):792-800.

44. Seo YJ, Lee K, Song JH, Chei S, Lee BY. Ishige okamurae extract suppresses obesity and hepatic steatosis in high fat diet-induced obese mice. Nutrients. 2018;10(11):1802.

45. Beppu F, Hosokawa M, Yim MJ, Shinoda T, Miyashita K. Down-regulation of hepatic stearoyl-CoA desaturase-1 expression by fucoxanthin via leptin signaling in diabetic/obese KK-A(y) mice. Lipids. 2013;48(5):449-55.