



بررسی اثر مصرف رژیم غذایی پر چرب و لاکتوباسیلوس روتری بر وزن بدن، فلور روده و شاخص های

### متابولیکی موش C57BL/6

احسان شاد<sup>۱</sup>، شهرام شکر فروش<sup>۲</sup>، سعید نظیفی<sup>۳</sup>، محمد هادی اسکندری<sup>\*۱</sup>

۱-بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۲- بخش بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

۳-بخش مطالعات بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

#### اطلاعات مقاله

#### چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۲/۳۱

#### کلمات کلیدی:

فلور میکروبی،

چاقی،

پروبیوتیک،

تغییر وزن.

در این مطالعه اثر رژیم غذایی و پروبیوتیک بر روی خصوصیات بدن موش های C57BL/6 بررسی گردید. چهار گروه رژیم غذایی مختلف تهیه شد و سپس تأثیر رژیم غذایی پرچرب (HFD) و پروبیوتیک لاکتوباسیلوس روتری DMC20016 بر فلور میکروبی روده، وزن بدن، فاکتورهای خونی، هورمون لپتین و لیپوپلی ساکارید پس از هشت هفته نگهداری بررسی گردید. نتایج نشان داد رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش وزن توده بدن، چربی شکمی و کبد شده است. گروه HFD بیشترین افزایش وزن بدن ( $1.02 \pm 0.36$ ) نسبت به سایر گروه ها داشت و مصرف لاکتوباسیلوس روتری باعث کاهش وزن بصورت معنی دار نگردید. همچنین رژیم غذایی پرچرب به طور قابل توجهی لیپوپلی ساکارید و لپتین را افزایش داد، اما لاکتوباسیلوس روتری باعث کاهش این شاخص ها در مقایسه با گروه HFD شد. فراوانی و تنوع فلور میکروبی روده به رژیم غذایی و پروبیوتیک مصرفی بستگی داشت. با مصرف رژیم غذایی پرچرب میزان فرمیکوت (۷۰٪) افزایش و باکتریوئیدیت ها (<۱٪) کاهش یافت. اما با مصرف لاکتوباسیلوس روتری میزان اکتینوباکتری ها (۴٪) و فرمیکوت ها (۱۶٪) نسبت به نمونه کنترل کاهش و میزان پروتئوباکتری ها (۷۸٪) افزایش یافت. با توجه به نتایج می توان بیان کرد در طراحی مکمل های پروبیوتیک برای خصوصیات ضد چاقی، باید به این نکته توجه شود که با توجه به نتایج این مطالعه و تحقیقات مشابه، همه پروبیوتیک ها بر شاخص های چاقی موثر نیستند و باید براساس هدف مصرف، مکمل پروبیوتیک طراحی گردد.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.269

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.28.9

\* مسئول مکاتبات:

Eskandar@shirazu.ac.ir

## ۱- مقدمه

چاق نسبت به موش‌های لاغر افزایش یافته است. آن‌ها استدلال کردند که افزایش ظرفیت فرمیکوت‌ها برای هضم سوبستراها و سپس تولید مونوساکاریدها و اسید چرب با زنجیره کوتاه<sup>۶</sup> (SCFA) باعث افزایش جذب توسط میزبان و سپس به دست آوردن انرژی می‌شود [۱۰]. در این راستا، محققین ترکیب الگوی میکروبی متغیری را در افراد چاق با تصویر کوچک‌تر از باکتریوئیدیت‌ها<sup>۷</sup> و تصویر قابل‌توجه‌تر از اکتینوباکتریای<sup>۸</sup> بدون تغییرات مشخص در فرمیکوت‌ها در مقایسه با افراد با وزن طبیعی پیشنهاد کردند [۱۱ و ۱۲]. با این حال، بعضی از مطالعات، ارتباط بین فرمیکوت‌های روده و باکتریوئیدیت‌ها را در طول چاقی تایید نمی‌کند [۱۳]. چندین مطالعه، ترکیبات کاربردی مانند آنزیم‌ها، عصاره‌های گیاهی، پری‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها را برای کاهش عوارض چاقی توصیه کردند [۱۴ و ۱۵].

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های کاربردی هستند که برای بهبود سلامت دستگاه گوارش استفاده می‌شوند و به عنوان غذا و مکمل مصرف می‌شوند. مطالعات مختلف اثر پروبیوتیک‌ها را بر تغییرات وزن بدن و مسیرهای متابولیک گزارش کرده‌اند. پروبیوتیک‌ها همچنین بر تنوع و فراوانی باکتری‌ها در فلور میکروبی روده تأثیر می‌گذارند [۱۶ و ۱۷]. با این حال، نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌ها اثرات یکسانی ندارند و میزان تأثیر آن بسته به جنس و گونه پروبیوتیک‌ها می‌تواند متفاوت باشد [۱۸]. برخی از باکتری‌های پروبیوتیک باعث افزایش یا کاهش وزن در حیوانات و انسان می‌شوند. اگرچه بیشتر مطالعات مختلف نشان می‌دهد که باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند پس از یک دوره مصرف (۱ تا ۳ ماه) باعث کاهش وزن شوند. برخی از مطالعات نشان دادند که تفاوت در بیان ژن آنزیم‌ها و تأثیر آن‌ها بر فلور میکروبی روده باعث می‌شود پروبیوتیک‌ها اثرات متفاوتی بر وزن داشته باشند. پروبیوتیک‌ها موثر بر کاهش وزن، باعث ارتقای مکانیسم دفاعی برای افزایش گلیکولیز و دفاع در برابر استرس اکسیداتیو<sup>۹</sup> می‌شوند، اما در مقابل، پروبیوتیک‌های موثر بر افزایش وزن، دارای توانایی کم در مصرف فروکتوز یا گلوکز و کاهش اثر ترمز روده‌ای می‌شوند [۱۸].

اختلالات تغذیه‌ای در دهه گذشته به دلیل تغییر در سبک زندگی انسان‌ها افزایش پیدا کرده است [۱]. می‌توان صنعتی شدن جوامع، تغییر شرایط کاری، مصرف غذاهای آماده به ویژه غذاهای چرب و پرکربوهیدرات را از مهمترین دلایل ایجاد اختلالات تغذیه‌ای بیان نمود [۲]. عدم تعادل بین مصرف غذا و مصرف انرژی باعث تجمع چربی در بدن می‌گردد یکی از پیامدهای این قبیل اختلالات تغییر وزن بدن می‌باشد که اضافه وزن و چاقی از نتایج بارز آن است [۳ و ۴]. شاخص وزن بدن<sup>۱</sup> (BMI) یک شاخص یا وسیله ارزیابی مناسب برای توصیف اضافه وزن و چاقی در بزرگسالان می‌باشد. سازمان بهداشت جهانی<sup>۲</sup> اضافه وزن و چاقی را بدین گونه گزارش کرده است: اضافه وزن، برابر یا بیشتر از BMI ۲۵ می‌باشد و چاقی نیز مساوی یا بیشتر از BMI ۳۰ می‌باشد [۵]. بر طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی بیش از ۱/۴ میلیارد نفر بالای ۲۰ سال در جهان تا سال ۲۰۱۸ مبتلا به چاقی در کل جهان می‌باشند. همچنین بیش از ۲۰۰ میلیون مرد و حدود ۳۰۰ میلیون زن در محدوده چاقی بر اساس BMI دسته بندی شده‌اند [۵]. علاوه بر این، چاقی باعث ایجاد بیماری‌هایی مانند دیابت نوع ۲، سرطان آندومتر، سرطان روده بزرگ و بیماری‌های قلبی عروقی در طول زمان در بدن می‌شود [۶]. مطالعات مختلف گزارش کرده‌اند که یک از علت اصلی چاقی و بیماری‌های متابولیک، تغییر فلور میکروبی<sup>۳</sup> روده تحت رژیم غذایی نامناسب است [۶ و ۷]. تغییرات تغذیه‌ای اثرات مهمی بر فلور میکروبی روده دارد. این تغییرات در ترکیب فلور روده در پاسخ به دریافت مواد مغذی با این واقعیت مرتبط خواهد بود که گونه‌های باکتریایی متمایز از نظر ژنتیکی، آمادگی بیشتری برای مصرف سوبستراهای مختلف دارند. بسیاری از مطالعات تحقیقاتی ثابت کرده‌اند که مصرف طولانی‌مدت چربی منجر به افزایش نرخ باکتری‌های گرم منفی تا گرم مثبت در فلور میکروبی روده می‌شود. وابستگی بین نوع رژیم غذایی و گروه‌های میکروبی مشخص، همچنان نامشخص است [۸ و ۹]. مطالعه دیگر گزارش کردند که راسته<sup>۴</sup> فرمیکوت‌ها<sup>۵</sup> در موش‌های

5. Firmicutes  
6. Short Chain Fatty Acid  
7. Bacteroidetes  
8. Actinobacteria  
9. Oxidative stress

1. Body Mass Index  
2. World Health Organization  
3. Gut Microbiota  
4. Phylum

روز با دسترسی کامل به آب و غذا استاندارد نگهداری شدند. در این مطالعه باکتری‌های لاکتوباسیلوس روتری (DCM 20016) مورد استفاده قرار گرفت. برای رشد باکتری، از محیط کشت MRS براث در شرایط دمای ۳۷ درجه سلسیوس و زمان ۲۴ ساعت استفاده گردید. همچنین روش استاندارد مک فارلند برای استاندارد سازی میزان باکتری‌های پروبیوتیک استاندارد (CFU/mL  $2 \times 10^9$ ) مورد استفاده قرار گرفت. در این مطالعه، رژیم غذایی پرچرب بر اساس فرمول AIN-76 با میزانی اصلاحات آماده گردید. در این فرمول میزان چربی، کربوهیدرات و پروتئین به ترتیب ۲۳/۷۱٪، ۴۱/۹۵ و ۲۰٪ می باشد و برای نمونه کنترل، از غذای استاندارد با میزان چربی ۵/۵۰ درصد، کربوهیدرات ۶۰/۱۶ درصد و پروتئین ۲۰ درصد استفاده گردید. ترکیبات هر دو فرمول در جدول ۱ گزارش شده است. از ساکاروز نیز برای ایجاد تعادل بین دو رژیم غذایی استفاده گردید. برای انتقال پروبیوتیک‌ها به موش‌ها، پروبیوتیک‌ها با رژیم غذایی پرچرب و استاندارد مخلوط گردید و میزان باکتری در هر گرم از رژیم غذایی حدود  $2 \times 10^9$  CFU/g بود و در مدت زمان ۸ هفته، هر روز صبح، آب و غذای مصرفی تازه جایگزین می‌شد. در جدول ۲ تیمارهای مختلف و گروه کنترل نشان داده شده اند. در پایان هشت هفته، موش‌ها برای اندازه‌گیری شاخص‌های متابولیکی خونگیری و برای جداسازی کبد و بافت چربی شکمی جراحی شدند.

از این رو، مطالعه حاضر اثر پروبیوتیک لاکتوباسیلوس روتری DMC20016 و رژیم غذایی پرچرب را بر وزن بدن، LPS و آنالیز لپتین ارزیابی کرد. علاوه بر این، فراوانی بالاترین شاخه‌ها و خانواده‌های موجود در فلور میکروبی روده موش C57BL/6 مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- اخلاق حیوانی

کلیه پروتکل‌ها مطابق با دستورالعمل‌ها و آیین‌نامه‌های اجرایی توسط کمیته‌های اخلاقی دانشگاه شیراز انجام و به تأیید هیئت حاکمه به کد اخلاق 1394/9430302 رسیده است.

### ۲-۲- طراحی آزمایش، موش‌ها و سویه‌های

#### باکتریایی

موش‌های C57BL/6 (میانگین وزن ۲۰ گرم، سن ۸ هفته و جنس نر) از آزمایشگاه معتبر خریداری شد (انیستیتو پاستور، تهران، ایران) سپس تحت شرایط استاندارد آزمایشگاه حیوانات (۱۲/۱۲) ساعت دوره روشن/خاموش، رطوبت نسبی ۶۰ درصد، دمای ۲۰-۲۲ درجه سلسیوس) در قفس‌های استاندارد با آب و غذا در دسترس، نگهداری شدند. برای سازگاری با محیط آزمایشگاهی جدید و کاهش تنش‌های محیطی، به مدت هفت

**Table 1** The standard and high-fat diets composition.

Composition (%)	Standard Diet	High-fat Diet
Protein (Casein)	20	20
Starch corn	10	10
Sucrose	38.51	20.3
Maltodextrine	11.65	11.65
Amino Acids	0.34	0.34
Fiber	7.83	7.83
Fat (Tallow)	-	19.8
Soybean Oil	5.5	3.91
Mineral	5.83	5.83
Vitamins	0.34	0.34

**Table 2** Description of control and treatment groups

No	Treatment Name	Composition
1	Control	Standard Diet
2	C.LR	Standard diet + <i>Lactobacillus reuteri</i>
3	HFD	High-fat Diet
4	H.LR	High-fat diet + <i>Lactobacillus reuteri</i>

**۲-۳- نمونه برداری**

میزان مصرف غذا هر روز ثبت گردید، وزن بدن موش‌ها به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد. در پایان هفته هشتم درمان، برای تجزیه و تحلیل فلورمیکروبی روده، مدفوع گروه‌های مختلف جمع‌آوری و در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس موش‌ها به مدت ۱۲ ساعت ناشتا بودند. سپس با گاز CO<sub>2</sub> بیهوش شدند و از قلب آن‌ها نمونه خون گرفته شد. پس از آن، موش‌ها معدوم شدند و کبد و چربی احشایی آن‌ها برداشته شد. یک قطره از خون هر موش برای اندازه‌گیری گلوکز خون (روش، ایندیاناپولیس، IN، ایالات متحده آمریکا) و بقیه برای تهیه سرم استفاده شد. سرم خون با سانتریفیوژ نمونه‌های خون بدون ضد انعقاد در دور ۳۵۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد و تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

**۲-۴- اندازه‌گیری تغییرات وزن**

افزایش وزن موش‌ها پس از هشت هفته اندازه‌گیری شد و موش‌ها برای اندازه‌گیری وزن چربی و کبد تحت عمل جراحی قرار گرفتند. همچنین میانگین غذا و انرژی دریافتی هر موش در روز اندازه‌گیری شد.

**۲-۵- اندازه‌گیری پروفایل بیوشیمیایی سرم خون**

میزان تری گلیسیرید (TG)، کلسترول کل (TC)، لیپوپروتئین دانسیته کم (LDL)، لیپوپروتئین دانسیته بالا (HDL)، آلانین ترانس آمیلاز (ALT)، آسپاراتات ترانس آمیلاز (AST) در سرم با استفاده از سیستم SYNCHRON اندازه‌گیری شد. همچنین میزان لیپوپولی ساکارید<sup>۱۰</sup> (LPS) موجود در سرم خون و نیز هورمون لپتین به روش کیت الایزا (Crystal day, China) مورد بررسی قرار گرفت.

**۲-۶- استخراج DNA و تجزیه و تحلیل****میکروفلور روده**

استخراج DNA مطابق با روش چنگ و همکاران (۲۰۱۷) با برخی تغییرات انجام شد [۲۰]. DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت DNA مدفوع (D4015, Omega, Inc., USA) استخراج شد. DNA کل در ۵۰ میکرولیتر از بافر شستشو شسته

شد و در دمای ۸۰- درجه سلسیوس تا زمان اندازه‌گیری در PCR توسط تکنولوژی LC-Bio (Hang Zhou, China) ذخیره شد. توالی ژن باکتری V3-V4 16S rRNA به دنبال پروتکل آماده سازی کتابخانه توالی یابی متاژنومی Illumina 16S تقویت شد و سپس، آمپلیکون‌ها<sup>۱۱</sup> بر روی Illumina MiSeq با استفاده از شیمی جفتی 2x300 جفت باز تعیین توالی شدند.

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک با استفاده از نرم افزار CLC Microbial انجام شد. ماژول CLC Microbial Genomics طبقه‌بندی علمی را از نمونه‌های مختلف با خوشه‌بندی آن‌ها با آرایش‌های عامل شبه گونه‌هایی به نام OTU<sup>۱۲</sup> و محاسبه فراوانی هر OTU مطالعه می‌کند. معاینات کمکی با ارزیابی تنوع آلفا و بتا در مجموعه فراداده‌های آزمایشی به تصویر کردن جوامع میکروبی کمک می‌کند. OTU هایی که به سطح شباهت نوکلئوتیدی ۹۷ درصد رسیدند برای تنوع آلفا (تعداد کل) استفاده شدند و یک نقشه حرارتی بر اساس فراوانی نسبی OTU ایجاد شد. تنوع بتا تجزیه و تحلیل متریک فاصله 0.5 UniFrac را اندازه‌گیری می‌کند، و تجزیه و تحلیل مختصات اصلی (PCoA) با استفاده از OTU برای هر نمونه انجام شد.

**۲-۷- آنالیز آماری**

تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) از تفاوت‌های معنی‌دار بین گروه‌های تجربی و به دنبال آن آزمون‌های مقایسه چندگانه دانکن انجام شد. مقدار  $p < 0.05$  از نظر معنی‌داری مورد بررسی قرار گرفت.

**۳- نتایج و بحث****۳-۱- میزان مصرف غذا و انرژی**

نتایج میزان مصرف غذا و انرژی به ازای هر موش در روز، در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد میزان مصرف

11. Amplicons  
12. Operational Taxonomic Units

10. LipoPolysaccharide

به گروه کنترل ( $0.08 \pm 1/94$  g) افزایش پیدا کرده است. گروه C.LR دارای اختلاف معنی دار در وزن چربی با گروه کنترل نبود اما اختلاف معنی دار با گروه H.LR داشت. کبد دیگر ارگان بدن می باشد که نوع رژیم غذایی در اندازه و وزن آن تاثیر گذار است. نتایج میزان وزن کبد موش های C57BL/6 در شکل ۱-c مشاهده می گردد. نتایج نشان داد بعد از مدت هشت هفته نگهداری، در گروه های رژیم غذایی پر چرب وزن کبد به طور معنی دار نسبت به گروه های غذایی استاندارد افزایش پیدا کرده است. در گروه رژیم غذایی پرچرب لاکتوباسیلوس روتری باعث کاهش معنی دار وزن کبد نسبت به گروه HFD گردیده است. تحقیقات متعدد تأثیرات قابل توجه پروبیوتیک های لاکتوباسیل را بر تغییر وزن بدن نشان داده اند. گونه های لاکتوباسیل ها در تخریب لیپیدها و قندهای ساده در داخل دوازدهه و ژژنوم نقش دارند. علاوه بر این، گونه های لاکتوباسیل ها در سراسر دستگاه گوارش زنده می ماند، زیرا می توانند در نزدیکی صفرا و pH پایین زنده بمانند و یک اپراتور ضد میکروبی ارائه کنند و به آنها اجازه می دهد تا جریان میکروارگانیسم ها را در داخل دستگاه گوارش کاهش دهند. به همین دلیل، گونه های لاکتوباسیلوس تأثیر فوق العاده ای بر فلور میکروبی و در نتیجه تغییر وزن دارند [۱۹ و ۲۱ و ۲۲]. در مطالعه ای اثر خواص ضد چاقی دو لاکتوباسیلوس روتری L3 و L10 مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد لاکتوباسیلوس روتری L3 باعث کاهش معنی دار وزن در مقایسه با گروه پر چرب گردید اما لاکتوباسیلوس روتری L10 دارای تاثیر معنی دار نبود. محققین بیان کردند گونه باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس روتری در نوع اثرگذاری حائز اهمیت می باشد [۲۳]. توانایی پروبیوتیک ها در مقابل چاقی هنوز مشخص نیست. چندین مطالعه مکانیسم های پروبیوتیکی را برای فعالیت ضد چاقی مانند تولید CLA (ترانس-۱۰، اسید لینولئیک کونژوگه سیس-۱۲)، افزایش ترموژنز بافت قهوه ای، کاهش سطح لپتین در خون و کاهش جذب چربی، افزایش FIAF<sup>13</sup> پیشنهاد کردند [۲۴ و ۲۵].

13. fasting-induced adipose factor

غذا (gr/mouse/day) بین نمونه کنترل و گروه های تیمار پس از هشت هفته نگهداری دارای اختلاف معنی دار نمی باشد. میزان غذای مصرفی موش های نمونه کنترل به ازای روز  $0.23 \pm 2/32$  (gr/mouse/day) می باشد، که این میزان در گروه های C.LR، HFD و H.LR به ترتیب  $0.46 \pm 2/89$ ،  $0.52 \pm 2/57$  و  $0.34 \pm 2/67$  (gr/mouse/day) می باشد. همچنین نتایج نشان داد مصرف غذای پر چرب به همراه پروبیوتیک تاثیر معنی دار در میزان مصرف غذای روزانه نداشته است. نتایج میزان مصرف انرژی نشان می دهد گروه کنترل ( $0.52 \pm 6/58$ ) بصورت معنی دار میزان مصرف انرژی کمتری نسبت به گروه HFD ( $1/02 \pm 13/67$ ) داشته است. مصرف غذای پر چرب باعث افزایش میزان مصرف انرژی نسبت به غذای استاندارد گردیده است. بررسی مطالعات دیگر محققین نشان داد استفاده از باکتری های پروبیوتیک مختلف و همچنین نوع رژیم غذایی، تاثیر معنی دار در میزان مصرف غذا در موش های C57BL/6 ندارد [۱۸ و ۲۱].

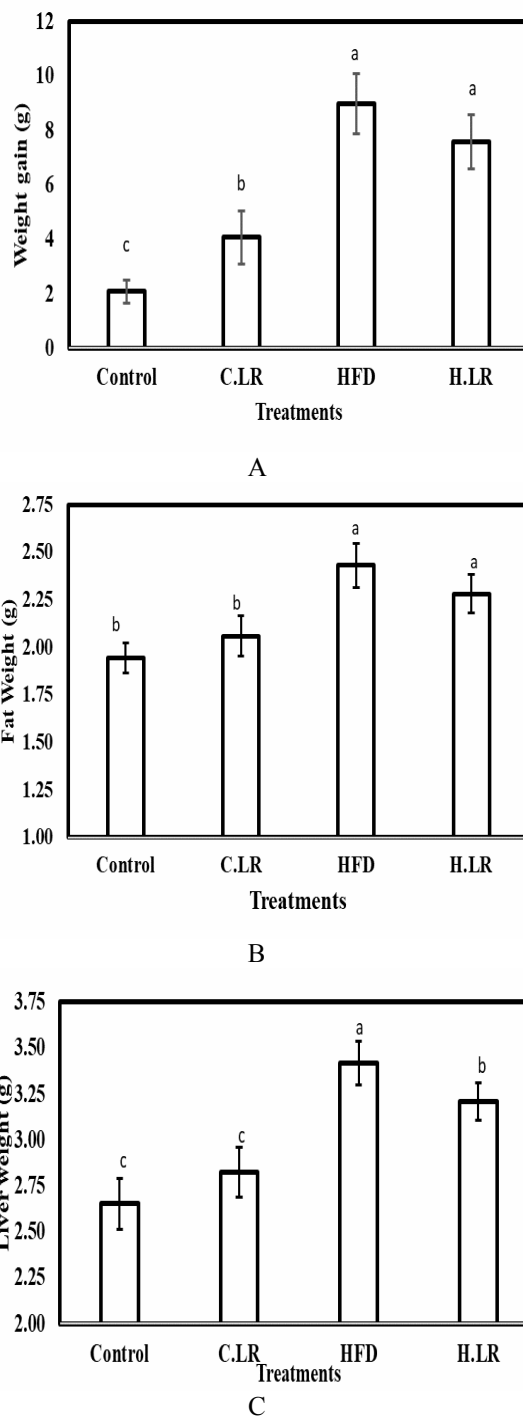
### ۲-۳- تأثیر تیمار پروبیوتیک بر وزن بدن، توده چربی و وزن کبد

نتایج تغییرات وزن توده بدن در شکل ۱-a نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد مصرف رژیم غذایی پر چرب به مدت هشت هفته باعث افزایش وزن بصورت معنی دار در موش ها نسبت به رژیم غذایی استاندارد گردیده است. میزان افزایش وزن بدن در گروه HFD در پایان دوره نگهداری  $1/02 \pm 8/36$  گرم می باشد که در مقایسه با گروه کنترل ( $0.43 \pm 2/34$ ) به میزان  $0.59 \pm 6/02$  گرم افزایش وزن معنی دار داشته است. مصرف پروبیوتیک لاکتوباسیلوس روتری، باعث افزایش وزن بطور معنی دار در گروه C.LR نسبت به گروه کنترل گردید، اما مصرف این پروبیوتیک به همراه غذای پرچرب تاثیر معنی دار در کاهش وزن در گروه H.LR نسبت به گروه HFD نداشت. نتایج میزان چربی شکمی در شکل ۱-b نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد بصورت معنی دار میزان چربی در گروه HFD ( $0.12 \pm 2/45$ ) نسبت

## ۳-۳- تأثیر تیمار پروبیوتیک بر سطح پارامترهای

## سرمی

نتایج آنالیز سرم خون بعد از هشت هفته نگهداری در گروه‌های مختلف، در جدول ۳ گزارش شده است. نتایج اندازه‌گیری گلوکز نشان می‌دهد با مصرف رژیم غذایی پرچرب، میزان سطح گلوکز (mg/dl) در گروه‌های رژیم غذایی پرچرب بصورت معنی‌دار نسبت به نمونه کنترل ( $53/83 \pm 4/39$  mg/dl) افزایش داشته است. لاکتوباسیلوس روتری تأثیر معنی‌دار در میزان گلوکز خون در گروه H.LR در مقایسه با گروه HFD نداشته است اما باعث افزایش میزان گلوکز خون بصورت معنی‌دار در گروه C.LR ( $91/25 \pm 6/60$  mg/dl) نسبت به گروه کنترل (  $53/83 \pm 4/83$  ) گردیده است. تأثیر لاکتوباسیلوس روتری بروی سطح گلوکز خون به گونه مصرفی آن بستگی دارد. نتایج مطالعه‌ای نشان داد مصرف لاکتوباسیلوس روتری *L3* به همراه غذای پرچرب باعث کاهش معنی‌دار میزان گلوکز نسبت به گروه غذای پرچرب شده است اما مصرف لاکتوباسیلوس روتری *L10* تأثیر معنی‌دار نداشت. همچنین با مصرف این پروبیوتیک‌ها با غذای استاندارد تغییر معنی‌دار در سطح گلوکز با نمونه کنترل مشاهده نگردید [۲۳]. نتایج میزان تری گلیسیرید (TG) در سرم خون نشان می‌دهد مصرف رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش معنی‌دار TG در سرم خون موش‌های C57BL/6 شده است. گروه H.LR بیشترین میزان TG ( $138/25 \pm 8/84$  mg/dl) را بصورت معنی‌دار نسبت به دیگر گروه‌ها داشته است. نتایج میزان TG در گروه‌های رژیم غذایی استاندارد نشان می‌دهد که با مصرف لاکتوباسیلوس روتری اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های C.LR و کنترل نداشته است. کلسترول خون یکی از شاخص‌های مناسب برای بررسی چاقی و اضافه وزن در بدن می‌باشد. با مصرف غذای پرچرب، میزان کلسترول خون در گروه‌های مصرف کننده رژیم غذایی پرچرب نسبت به گروه کنترل بصورت معنی‌دار افزایش یافت. گروه HFD ( $152/25 \pm 5/97$  ) بیشترین میزان کلسترول خون را بصورت معنی‌دار نسبت به دیگر گروه‌ها برخوردار بود. لاکتوباسیلوس روتری اثر معنی‌دار در کاهش میزان کلسترول در گروه H.LR نسبت به گروه HFD نداشته است اما باعث افزایش میزان



**Fig. 1.** Effect of probiotics and diets on body gain (a), fat mass (b), and liver weight (c) after eight weeks treatment. Data represent the means  $\pm$  SD. Control: Standard Diet, C.LR: Standard diet + *Lactobacillus reuteri*, HFD: High-fat Diet, H.LR: High-fat diet + *Lactobacillus reuteri*

تحت تاثیر رژیم غذایی قرار نگرفته است بطوریکه گروه کنترل و گروه HFD دارای اختلاف معنی دار نمی باشند و به ترتیب میزان AST در این گروه ها  $4/91 \pm 151/33$  و  $7/42 \pm 153/50$  (U/L) اندازه گیری شد. کمترین میزان AST در گروه H.LR مشاهده گردید. میزان ALT بصورت معنی دار در گروه HFD نسبت به گروه کنترل افزایش داشت اما مصرف لاکتوباسیلوس روتری باعث کاهش معنی دار میزان ALT در گروه H.LR نسبت به گروه HFD گردید. فاکتورهای سرم خون از دیگر شاخص های ارزیابی تاثیر پروبیوتیک ها و رژیم های غذایی بر خواص بدن هستند. نتایج نشان داد که رژیم غذایی پرچرب سطوح فاکتورهای سرم خون را نسبت به رژیم غذایی استاندارد افزایش می دهد و لاکتوباسیلوس روتری در رژیم های غذایی مختلف تاثیر متفاوتی را نشان می دهند. نتایج ما نشان داد لاکتوباسیلوس روتری سطح کلسترول را در مقایسه با گروه HFD در گروه های پرچرب کاهش داد. لاکتیک اسید باکتری ها و پری بیوتیک ها اثرات خود را در متابولیسم کلسترول در بدن نشان داده اند [۲۶].

کلسترول بصورت معنی دار در گروه C.LR نسبت به گروه کنترل گردید. میزان HDL و LDL در سرم خون نیز از شاخص های تغییرات متابولیک در بدن می باشد. همچنین بطور کلی در افراد دارای چاقی یا اضافه وزن میزان شاخصی چون LDL افزایش می یابد. در بررسی میزان HDL نتایج نشان داد با مصرف رژیم غذایی پر چرب میزان HDL نسبت به دیگر گروه ها افزایش معنی دار داشته است اما نتایج گروه H.LR اختلاف معنی دار با گروه کنترل را نشان نداد. بیشترین میزان LDL در گروه H.LR ( $24/75 \pm 2/47$  mg/dl) و کمترین میزان آن در گروه کنترل ( $13/33 \pm 2/16$  mg/dl) نسبت به دیگر گروه ها بصورت معنی دار اندازه گیری شد. نتایج نشان داد مصرف رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش میزان LDL در سرم خون بعد از مدت هشت هفته نگهداری شده است. یکی از دلایل اصلی ایجاد چاقی و تجمع چربی در بدن عدم تعادل در میزان انرژی دریافتی و انرژی مصرفی می شود شاخص های متعددی عدم کارایی مناسب در کبد دو آنزیم ALT و AST به عنوان شاخص های متابولیتی در پژوهش ها مورد ارزیابی قرار می گیرند. میزان AST (U/L)

**Table 3** Effects of probiotic treatment on blood glucose, Triacylglycerol (TG), Total cholesterol (TC), High-density lipoprotein (HDL), Low-density lipoprotein (LDL), Aspartate transaminase (AST), and Alanine transaminase (ALT)

	Control	C.LR	HFD	H.LR
Glucose(mg/dl)	53.83±4.93 <sup>c</sup>	91.25±6.60 <sup>b</sup>	149.25±8.66 <sup>a</sup>	150.00±2.83 <sup>a</sup>
TG(mg/dl)	103.50±6.50 <sup>c</sup>	90.50±7.60 <sup>c</sup>	118.50±6.86 <sup>b</sup>	138.25±8.84 <sup>a</sup>
TC (mg/dl)	86.17±2.56 <sup>d</sup>	99.25±6.21 <sup>c</sup>	152.25±5.97 <sup>a</sup>	126.25±2.47 <sup>b</sup>
HDL(mg/dl)	58.17±5.01 <sup>b</sup>	63.38±2.36 <sup>b</sup>	75.13±6.09 <sup>a</sup>	63.75±3.18 <sup>b</sup>
LDL(mg/dl)	13.33±2.16 <sup>b</sup>	12.35±1.05 <sup>b</sup>	20.15±3.39 <sup>a</sup>	24.75±2.47 <sup>a</sup>
AST(U/L)	151.33±4.91 <sup>a</sup>	154.75±6.24 <sup>a</sup>	153.50±7.42 <sup>a</sup>	136.25±5.30 <sup>b</sup>
ALT(U/L)	11.60±0.57 <sup>c</sup>	14.83±1.72 <sup>b</sup>	21.59±2.89 <sup>a</sup>	14.19±0.54 <sup>b</sup>
Food Intake	2.23± 0.32 <sup>a</sup>	2.57± 0.52 <sup>a</sup>	2.89± 0.46 <sup>a</sup>	2.67± 0.34 <sup>a</sup>
Energy Intake	6.58±0.52 <sup>b</sup>	7.58± 0.74 <sup>b</sup>	13.67± 1.02 <sup>a</sup>	12.63± 0.88 <sup>a</sup>

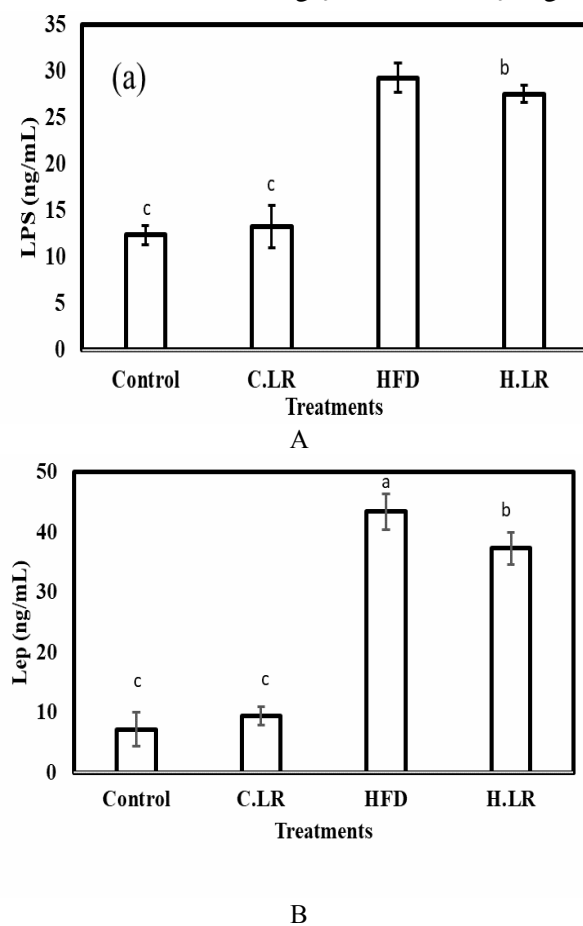
Data represent the means ± SD. TG: Triacylglycerol HDL: High-density Lipoprotein, LDL: Low-density Lipoprotein, TC: Total Cholesterol, ALT: Alanine Transaminase, AST: Aspartate Transaminase. Control: Standard Diet, C.LR: Standard diet + *Lactobacillus reuteri*, HFD: High-fat Diet, H.LR: High-fat diet + *Lactobacillus reuteri*

می شود و درخواست کلسترول توسط کبد را برای سنتز اسیدهای صفراوی جدید ارائه می دهد [۲۷]. غلظت تری گلیسیرید سرم ناشی از تعادل بین ترشح لیپوپروتئین غنی از تری گلیسیرید از طریق روده و کبد است [۲۸]. در حالی که تحقیقات متعدد نشان دهنده اثرات پروبیوتیک ها بر روی سطح لیپیدهای سرم است

پروبیوتیک ها ممکن است با تولید SCFA ترکیب کلسترول کبدی را مهار کنند و شامل ظرفیت دکونژوگاسیون<sup>۱۴</sup> نمک های صفراوی می شوند که منجر به افزایش دفع اسیدهای صفراوی

14. Deconjugation

لپتین از هورمون‌های شاخص در ارتباط با افزایش وزن بدن و انباشتگی چربی در بدن می‌باشد. نتایج نشان داد (شکل ۲-ب) مصرف غذای پرچرب بطور معنی‌دار در هر دو گروه، باعث افزایش معنی‌دار میزان لپتین نسبت به گروه کنترل شده است. لاکتوباسیلوس روتری تاثیر معنی‌دار در گروه رژیم غذایی استاندارد نداشته است؛ اما باعث کاهش معنی‌دار میزان لپتین در گروه H.LR در مقایسه با گروه HFD شده است. لپتین به گیرنده‌های لپتین در نورون‌های تخصصی در نواحی مختلف مغز متصل می‌شود و اقدامات ترجیحی، از جمله کاهش مصرف غذا و افزایش مصرف انرژی از طریق مکانیسم‌های خاص را انجام می‌دهد. مطالعات نشان داده اند که افزایش لپتین سرم ارتباط مثبتی با توده بدن در مدل حیوانی دارد [۳۴].



**Fig 2** Effects of probiotic supplementation and diets on the leptin (a) and Lipopolysaccharide (LPS) (b) content after eight weeks. Data represent the means  $\pm$  SD. Control: Standard Diet, C.LR: Standard diet + *Lactobacillus reuteri*, HFD: High-fat Diet, H.LR: High-fat diet + *Lactobacillus reuteri*

[۲۹ و ۳۰]، برخی از مطالعات هیچ اثری در محتوای لیپید سرم نشان نداده‌اند. همچنین مکانیسمی که زیربنای تعدیل پروفایل های لیپیدی سرم از طریق پروبیوتیک‌ها است، نامشخص است [۳۱].

### ۳-۳- تأثیر تیمار پروبیوتیک بر هورمون لپتین و LPS

نتایج میزان لیپوپلی‌ساکارید (LPS) سرم خون در موش‌های C57BL/6 در شکل ۲-ا مشاهده می‌گردد. نتایج نشان می‌دهد مصرف رژیم غذایی پرچرب بعد از هشت هفته باعث افزایش معنی‌دار میزان LPS در گروه‌های دارای رژیم غذایی پرچرب نسبت به گروه کنترل شده است. میزان LPS در گروه HFD  $29/30 \pm 1/56$  ng/mL می‌باشد که در مقایسه با گروه کنترل  $12/42 \pm 1/03$  ng/mL افزایش معنی‌دار داشته است. لاکتوباسیلوس روتری باعث کاهش معنی‌دار میزان LPS در گروه H.LR در مقایسه با گروه HFD شده است. LPS یک شاخص التهابی برای چاقی است که ارتباط مثبتی با LPS باکتریایی و چاقی که در سرم خون شناسایی می‌شود، دارد [۳۲]. تحقیقات ما نشان داد که رژیم غذایی پرچرب به طور مزمین سطح LPS را در مقایسه با رژیم غذایی استاندارد در خون موش افزایش می‌دهد. به طور خاص، گروه HFD بیشترین سطح LPS را در بین گروه‌های درمان داشت. مطالعه‌ای نشان داد لاکتوباسیلوس روتری L3 اثر برجسته‌ای در کاهش غلظت LPS تحت رژیم غذایی پرچرب پس از هشت هفته دارد. در مقابل، لاکتوباسیلوس روتری L10 اثر قابل توجهی بر غلظت LPS در مقایسه با گروه رژیم غذایی پرچرب HFD نشان نداد. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که تغییر در LPS پس از مصرف رژیم غذایی پرچرب به صراحت با گونه‌های باکتریایی مرتبط است [۲۳].

کانی و همکاران (۲۰۰۷) ثابت کردند که LPS یک عامل محرک برای بیماری‌های متابولیک مانند چاقی و دیابت است. این مطالعه نشان داد که یک رژیم غذایی پرچرب باعث افزایش نسبت LPS حاوی فلور میکروبی در روده می‌شود. مطالعات مختلف نشان داد که پروبیوتیک‌ها می‌توانند LPS سرم خون را در مدل حیوانی تحت رژیم غذایی پرچرب کاهش دهند [۳۳].



روتتری مشاهده گردید که اثر رژیم غذایی بر فلور میکروبی را نشان می‌دهد.

در نقشه حرارتی موجود در شکل ۳-۳، پراکندگی میزان جنس‌های مختلف باکتری‌ها در گروه‌ها گزارش گردیده است. نتایج نشان داد بیشترین میزان فراوانی در گروه کنترل متعلق به جنس‌های *پولمونیس*، *کارنوباکتریوم* و *کرینه باکتریوم* بود اما با مصرف رژیم غذایی چرب در گروه HFD، میزان *آئروکوکوس*، *اپیمیدیس* و *استرپتوکوکوس* نسبت به نمونه کنترل افزایش یافت. با مصرف *لاکتوباسیلوس روتتری* میزان فراوانی جنس‌های شاخص در دیگر گروه‌ها، در گروه H.LR تغییر یافت.

فلور میکروبی روده مرکز اصلی مسیرهای متابولیک در بدن است. ترکیب فلور میکروبی روده و فعالیت آن می‌تواند بسته به نوع غذای مصرفی متفاوت باشد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که ترکیب فلور میکروبی روده مصرف انرژی را تغییر می‌دهد که باعث تغییرات وزن بدن و چاقی می‌شود. به عبارت دیگر، میکروارگانیسم‌هایی در روده غالب هستند که در تولید انرژی فعال‌تر هستند [۳۶ و ۳۷]. فلور روده از راسته‌های مختلفی تشکیل شده است که فرمیکوت‌ها و باکتریوئیدیت‌ها بیشترین شاخه‌ها هستند و ۸۰ تا ۹۰ درصد از باکتری‌های ساکن را تشکیل می‌دهند. نتایج نشان داد در گروه HFD، مصرف رژیم غذایی پرچرب، تعداد فرمیکوت‌ها به میزان قابل توجهی افزایش یافت که با نتایج سایر محققان مطابقت دارد. اصلاحات غذایی اثرات اساسی بر فلور میکروبی روده دارد. این تغییرات در ترکیب فلور میکروبی در واکنش به مصرف رژیم غذایی ممکن است با گونه‌های باکتریایی خاص همراه باشد که از نظر ژنتیکی بهتر برای استفاده از بسترهای مختلف آماده می‌شوند. بسیاری از تحقیقات ثابت کرده‌اند که افزایش مصرف چربی منجر به افزایش نرخ باکتری‌های گرم منفی تا گرم مثبت در فلور میکروبی روده می‌شود. وابستگی بین رژیم غذایی و گروه‌های میکروبی خاص همچنان نامشخص است [۳۸ و ۳۹] نتایج مطالعه اثر *لاکتوباسیلوس روتتری* بروی فلور میکروبی روده نشان داد این باکتری باعث کاهش میزان *Enterobacteriaceae* و *Staphylococcaceae* نسبت به نمونه کنترل شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت [۴۰].

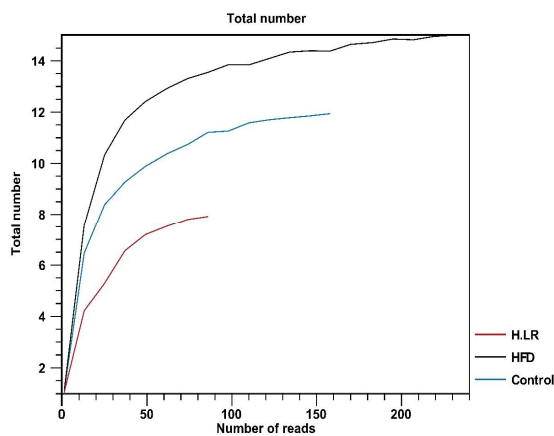
در این مطالعه، غلظت لپتین سرم با مصرف *لاکتوباسیلوس روتتری* در مقایسه با گروه HFD تحت رژیم غذایی پرچرب به طور قابل توجهی کاهش یافت. این نتایج با سایر مطالعات بر روی موش‌های C57BL/6J که با رژیم غذایی پرچرب و *لاکتوباسیلوس روتتری* تغذیه شدند تطابق داشت [۳۵].

### ۳-۴- تأثیر تیمار پروبیوتیک بر ترکیب میکروفلور روده

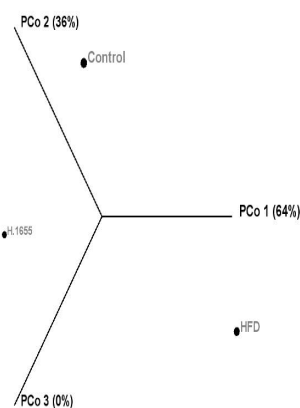
نتایج درصد فراوانی راسته‌های غالب میکروارگانیسم‌ها در شکل ۳-۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد با مصرف رژیم غذایی پرچرب، درصد میزان راسته‌های غالب نسبت به گروه کنترل تغییر کرده است. فرمیکوت‌ها بیشترین درصد ترکیب راسته‌های گروه کنترل (۴۹٪) را تشکیل دادند که با مصرف رژیم غذایی پرچرب، میزان این راسته در گروه HFD (۷۰٪) افزایش یافته است. همچنین میزان باکتریوئیدیت‌ها در گروه HFD (۱٪) نسبت به گروه کنترل (۶٪) کاهش محسوس داشته است. با مصرف *لاکتوباسیلوس روتتری*، میزان فرمیکوت‌ها و اکتینوباکتری‌ها نسبت به دیگر گروه‌ها کاهش و میزان پروتئوباکتری‌ها افزایش یافت.

تنوع خانواده میکروارگانیسم‌ها در شکل ۳-۳ گزارش شده است نتایج نشان می‌دهد که ۱۲ خانواده فلور میکروبی گروه‌های مختلف را تشکیل داده‌اند که با توجه به نوع رژیم غذایی و تیمار پروبیوتیک، میزان این خانواده‌ها در هر گروه متفاوت می‌باشد. خانواده *Alcaligenaceae* ۱۲٪ میزان فلور میکروبی گروه کنترل را تشکیل داده است که با مصرف رژیم غذایی چرب در گروه HFD، میزان این خانواده به کمتر از ۱٪ کاهش پیدا کرده است. با مصرف *لاکتوباسیلوس روتتری* میزان خانواده *Alcaligenaceae* (۸۰٪) به صورت معنی‌دار افزایش پیدا کرده است. خانواده *Lactobacillaceae* دیگر خانواده مهم فلور میکروبی می‌باشد که ۱۶٪ ترکیب خانواده‌های گروه کنترل را تشکیل داده است این خانواده با مصرف رژیم غذایی چرب کاهش محسوس داشته است بطوریکه میزان آن در گروه HFD به ۴٪ رسیده است. با مصرف *لاکتوباسیلوس روتتری* میزان این گروه به کمتر از ۱٪ کاهش داشته است. در دیگر خانواده‌ها نیز تغییرات محسوس با مصرف رژیم غذایی چرب و *لاکتوباسیلوس*

بر اساس نمودار تنوع آلفا (شکل 4-ا)، گروه HFD از تنوع گونه‌های بالاتری برخوردار بود. نتایج نشان داد که تغییر در تنوع گونه‌ها به طور مستقیم با پروبیوتیک و رژیم های غذایی مرتبط است. تنوع بنا معیار دیگری برای بهبود درک عدم تشابه ترکیب گونه‌ها بین گروه‌ها است. تجزیه و تحلیل نمودار مختصات اصلی (PCoA) نشان داد که فاصله بین گروه کنترل با گروه HFD و H.LR نشان از عدم تشابه ترکیب گونه‌ها می‌باشد. نتایج اثر لاکتوباسیلوس روتری بروی کودکان نشان داد مصرف مکمل پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس باعث افزایش میزان تنوع باکتریایی در فلور میکروبی روده می‌گردد که با نتایج این پژوهش تطابق نداشت

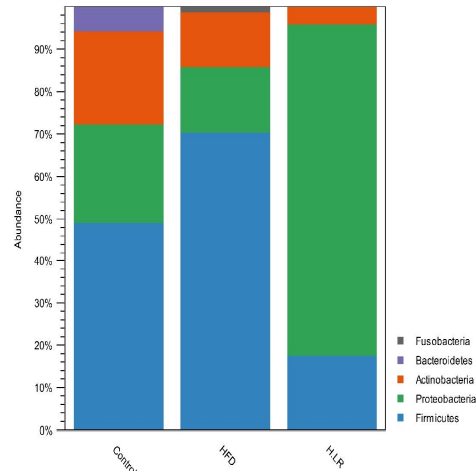


A

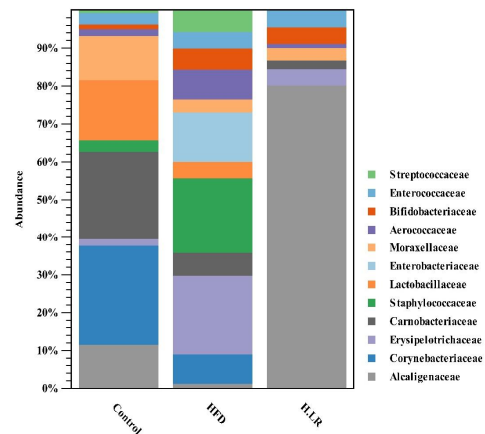


B

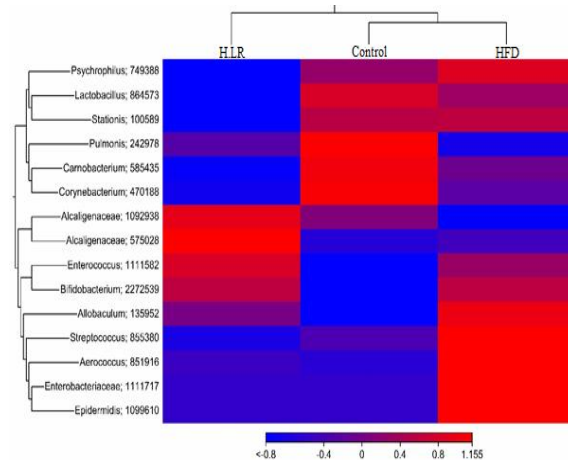
**Fig 4** Alpha (a) and Beta (b) diversity among treatment groups. Control: Standard Diet, HFD: High-fat Diet, H.LR: High-fat diet + *Lactobacillus reuteri*



A



B



C

**Fig. 3.** The abundance of top phylum (a), family (b) and the heat map of genera from treatment groups. Control: Standard Diet, HFD: High-fat Diet, H.LR: High-fat diet + *Lactobacillus reuteri*

linked?. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 14(6), 401-403.

- [7] Crovesy, L., Masterson, D., & Rosado, E. L. (2020). Profile of the gut microbiota of adults with obesity: a systematic review. *European journal of clinical nutrition*, 74(9), 1251-1262.
- [8] De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., ... & Lionetti, P. (2010). 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*, 107(33), 14691-14696
- [9] Flint, H. J. (2012). The impact of nutrition on the human microbiome. *Nutrition reviews*, 70(suppl\_1), S10-S13.
- [10] Turnbaugh, P. J., Ridaura, V. K., Faith, J. J., Rey, F. E., Knight, R., & Gordon, J. I. (2009a). The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. *Science translational medicine*, 1(6), 6ra14-6ra14.
- [11] Furet, J. P., Kong, L. C., Tap, J., Poitou, C., Basdevant, A., Bouillot, J. L., ... & Clément, K. (2010). Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*, 59(12), 3049-3057.
- [12] Monira, S., Nakamura, S., Gotoh, K., Izutsu, K., Watanabe, H., Alam, N. H., ... & Alam, M. (2011). Gut microbiota of healthy and malnourished children in Bangladesh. *Frontiers in microbiology*, 2, 228.
- [13] Roselli, M., Finamore, A., Brasili, E., Rami, R., Nobili, F., Orsi, C., ... & Mengheri, E. (2018). Beneficial effects of a selected probiotic mixture administered to high fat-fed mice before and after the development of obesity. *Journal of Functional Foods*, 45, 321-329.
- [14] Ting, Y., Chang, W. T., Shiau, D. K., Chou, P. H., Wu, M. F., & Hsu, C. L. (2018). Anti-obesity efficacy of quercetin-rich supplement on diet-induced obese rats: effects on body composition, serum lipid profile, and gene expression. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(1), 70-80.
- [15] Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., Suganthi, N., & Chaiyasut, C. (2019). A review on role of microbiome in obesity and anti-obesity

## ۴- نتیجه گیری

ارزیابی فیزیولوژیکی اثرات عملکردی درمان پروبیوتیک مربوط به چاقی و تغییرات فلورمیکروبی روده به یک موضوع تحقیقاتی حیاتی تبدیل شده است. در این مطالعه، لاکتوباسیلوس روتری اثر محسوس در کاهش چاقی نشان نداد اما باعث کاهش شاخص های متابولیک ناشی از رژیم غذایی پرچرب گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که مکمل پروبیوتیک دارای مجموعه‌ای از اثرات بر روی بدن می‌باشد که با توجه به هدف مصرف آن می‌توان موثر بودن یا نبودن آن پروبیوتیک را مشخص نمود. تغییرات در فلورمیکروبی روده و تأثیر آن بر فیزیولوژی بدن قابل توجه است، بنابراین برای درک بهتر رابطه بین پروبیوتیک ها و فلورمیکروبی روده، باید آزمایشات بالینی بیشتری در مراحل مختلف چاقی طراحی شود. همچنین در طراحی مکمل‌های پروبیوتیک برای ضد چاقی باید به این نکته توجه شود که با توجه به نتایج این مطالعه و تحقیقات مشابه، همه پروبیوتیک‌ها بر شاخص‌های چاقی موثر نیستند و باید براساس هدف مصرف، مکمل پروبیوتیک طراحی گردد.

## ۵- منابع

- [1] Phelan, S., Hart, C. N., Jelalian, E., Muñoz-Christian, K., Alarcon, N., McHugh, A., ... & Wing, R. R. (2021). Effect of prenatal lifestyle intervention on maternal postpartum weight retention and child body mass index z-score at 36 months. *International Journal of Obesity*, 45(5), 1133-1142.
- [2] Laura, B., Diana, K., Lyazzat, A., & Zhanat, B. (2019). Nutritional Behaviour is a Social Problem in the Modern Lifestyle. *Journal of Nutritional Therapeutics*, 8, 6-8.
- [3] Blüher, M. (2020). Metabolically healthy obesity. *Endocrine reviews*, 41(3), 405-420.
- [4] Upadhyay, J., Farr, O., Perakakis, N., Ghaly, W., & Mantzoros, C. (2018). Obesity as a disease. *Medical Clinics*, 102(1), 13-33.
- [5] World Health Organization. (2020). Overweight and obesity.
- [6] Cani, P. D., & Van Hul, M. (2020). Gut microbiota and obesity: causally

- microbiome and anti-obesity potential. *Nutrition*, 29(4), 591-596.
- [25] Ji, Y., Park, S., Park, H., Hwang, E., Shin, H., Pot, B., & Holzapfel, W. H. (2018). Modulation of active gut microbiota by *Lactobacillus rhamnosus* GG in a diet induced obesity murine model. *Frontiers in microbiology*, 9, 710.
- [26] Park, Y. H., Kim, J. G., Shin, Y. W., Kim, S. H., & Whang, K. Y. (2007). Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 on cholesterol metabolism in rats. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(4), 655-662.
- [27] Pessione, E. (2012). Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 86.
- [28] Kersten, S. (2014). Physiological regulation of lipoprotein lipase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1841(7), 919-933.
- [29] Miremadi, F., Ayyash, M., Sherkat, F., & Stojanovska, L. (2014). Cholesterol reduction mechanisms and fatty acid composition of cellular membranes of probiotic *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. *Journal of Functional Foods*, 9, 295-305.
- [30] Andrade, S., & Borges, N. (2009). Effect of fermented milk containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum* on plasma lipids of women with normal or moderately elevated cholesterol. *Journal of dairy research*, 76(4), 469-474.
- [31] Greany, K. A., Bonorden, M. J. L., Hamilton-Reeves, J. M., McMullen, M. H., Wangen, K. E., Phipps, W. R., ... & Kurzer, M. S. (2008). Probiotic capsules do not lower plasma lipids in young women and men. *European journal of clinical nutrition*, 62(2), 232-237.
- [32] Li, Z., Jin, H., Oh, S. Y., & Ji, G. E. (2016). Anti-obese effects of two *Lactobacilli* and two *Bifidobacteria* on ICR mice fed on a high fat diet. *Biochemical and biophysical research communications*, 480(2), 222-227.
- [33] Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., ... & Burcelin, R. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56(7), 1761-1772.
- properties of probiotic supplements. *BioMed research international*, 2019.
- [16] Butel, M. J. (2014). Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine et maladies infectieuses*, 44(1), 1-8.
- [17] Rouxinol-Dias, A. L., Pinto, A. R., Janeiro, C., Rodrigues, D., Moreira, M., Dias, J., & Pereira, P. (2016). Probiotics for the control of obesity—Its effect on weight change. *Porto Biomedical Journal*, 1(1), 12-24.
- [18] Plaza-Diaz, J., Gomez-Llorente, C., Abadia-Molina, F., Saez-Lara, M. J., Campaña-Martin, L., Muñoz-Quezada, S., ... & Fontana, L. (2014). Effects of *Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 and *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036 on hepatic steatosis in Zucker rats. *PloS one*, 9(5), e98401.
- [19] Drissi, F., Raoult, D., & Merhej, V. (2017). Metabolic role of lactobacilli in weight modification in humans and animals. *Microbial pathogenesis*, 106, 182-194.
- [20] Cheng, M., Zhang, X., Miao, Y., Cao, J., Wu, Z., & Weng, P. (2017). The modulatory effect of (-)-epigallocatechin 3-O-(3-O-methyl) gallate (EGCG3 "Me) on intestinal microbiota of high fat diet-induced obesity mice model. *Food Research International*, 92, 9-16.
- [21] Angelakis, E., Bastelica, D., Amara, A. B., El Filali, A., Dutour, A., Mege, J. L., ... & Raoult, D. (2012). An evaluation of the effects of *Lactobacillus ingluviei* on body weight, the intestinal microbiome and metabolism in mice. *Microbial pathogenesis*, 52(1), 61-68.
- [22] Million, M., Maraninchi, M., Henry, M., Armougom, F., Richet, H., Carrieri, P., ... & Raoult, D. (2012). Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*. *International journal of obesity*, 36(6), 817-825.
- [23] Qiao, Y., Sun, J., Xia, S., Li, L., Li, Y., Wang, P., ... & Le, G. (2015). Effects of different *Lactobacillus reuteri* on inflammatory and fat storage in high-fat diet-induced obesity mice model. *Journal of Functional Foods*, 14, 424-434.
- [24] Arora, T., Singh, S., & Sharma, R. K. (2013). Probiotics: interaction with gut

- [38] Harakeh, S. M., Khan, I., Kumosani, T., Barbour, E., Almasaudi, S. B., Bahijri, S. M., ... & Azhar, E. I. (2016). Gut microbiota: a contributing factor to obesity. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6, 95.
- [39] Cornejo-Pareja, I., Munoz-Garach, A., Clemente-Postigo, M., & Tinahones, F. J. (2019). Importance of gut microbiota in obesity. *European journal of clinical nutrition*, 72(1), 26-37.
- [40] Martí, M., Spreckels, J. E., Ranasinghe, P. D., Wejryd, E., Marchini, G., Sverremark-Ekström, E., ... & Abrahamsson, T. (2021). Effects of *Lactobacillus reuteri* supplementation on the gut microbiota in extremely preterm infants in a randomized placebo-controlled trial. *Cell reports medicine*, 2(3), 100206.
- [34] Pan, W. W., & Myers, M. G. (2018). Leptin and the maintenance of elevated body weight. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(2), 95-105.
- [35] Fåk, F., & Bäckhed, F. (2012). *Lactobacillus reuteri* prevents diet-induced obesity, but not atherosclerosis, in a strain dependent fashion in *Apoe*<sup>-/-</sup> mice. e46837.
- [36] Cani, P. D., & Delzenne, N. M. (2009). Interplay between obesity and associated metabolic disorders: new insights into the gut microbiota. *Current opinion in pharmacology*, 9(6), 737-743.
- [37] Xiao, S., & Zhao, L. (2014). Gut microbiota-based translational biomarkers to prevent metabolic syndrome via nutritional modulation. *FEMS microbiology ecology*, 87(2), 303-314.



## The Effects of High-fat Diet and *Lactobacillus reuteri* on Body Weight, Metabolic profiles and Gut Microbiota of C57BL/6 Mice

Shad, E.<sup>1</sup>, Shekarforoush, S. Sh.<sup>2</sup>, Nazifi, S.<sup>3</sup>, Eskandari, M. H.<sup>1\*</sup>

1. Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
2. Department of Food Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.
3. Department of Clinical Studies, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b></p> <p>Received 2022/ 04/ 04 Accepted 2022/ 05/ 21</p> <hr/> <p><b>Keywords:</b></p> <p>Gut Microbiota, <i>Lactobacillus reuteri</i>, Obesity, Probiotic, Weight Change.</p> <hr/> <p><b>DOI:</b> 10.22034/FSCT.19.126.269 <b>DOR:</b> 20.1001.1.20088787.1401.19.126.28.9</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: Eskandar@shirazu.ac.ir</p>	<p>This study investigated the effects of diet and probiotic on the body characteristics of C57BL/6 mice. Mice were divided into four groups: the control group, <i>Lactobacillus reuteri</i> DMC20016 probiotic group, high-fat diet (HFD) group, and probiotic with the high-fat diet group. After eight weeks of storage, a high-fat diet and probiotic effects on gut microbiota, body weight, blood factors, leptin hormone, and lipopolysaccharide were studied. A high-fat diet has increased body weight, fat mass, and liver weight. The HFD group had the highest body weight gain (<math>8.36 \pm 1.02</math> gr) compared to the other groups, and consumption of <i>Lactobacillus reuteri</i> did not show a significant effect on body weight. The high-fat diet also significantly increased lipopolysaccharide and leptin, but <i>Lactobacillus reuteri</i> decreased these parameters compared to the HFD group. The abundance and diversity of gut microbiota depended on diet and probiotics consumed. With the consumption of a high-fat diet, the number of Firmicutes (70%) increased and Bacteroidetes (&lt;1%) decreased. However, the amount of Actinobacteria (4%) and Firmicutes (16%) decreased, and the amount of Proteobacteria (78%) increased in the H.L.R group compared to the control sample. According to this study and similar research, not all probiotics are effective on obesity indicators, and probiotic supplements should be selected based on the purpose of use.</p>