مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

تأثیر فلوروتانین موجود در جلبک‌های قهوه‌ای بر عملکرد سلول‌های بنیادی مزانشیمال و نوتروفیل‌های موش نژاد NMRI

لیلا محمودزاده [۱]، سیدمیثم ابطحی فروشانی*[۱]، مریم محمودزاده[۲] و اصغر علیاری[۱]

[۱] ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه میکروب‌شناسی

[۲] ایران، تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۳/۰٤/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱٤۰٤/۰۲/۳۰

چکیده

فلوروتانین‌ها، دسته‌ای از ترکیبات پلی‌فنلی موجود در جلبک های دریایی قهوه‌ای بوده و دارای خواص فراوانی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانتی، ضدمیکروبی، ضد حساسیت، ضد دیابت، ضدالتهاب، ضدسرطان و محافظت عصبی می باشند. فعالیت‌های زیستی فراوان این ترکیبات باعث افزایش هر چه بیشتر تقاضا در جهان شده است. در این مطالعه جلبک‌های قهوه‌ای از دریای خلیج‌فارس تهیه شده و فلوروتانین آن‌ها استخراج شد. سپس سلول‌های بنیادی مزانشیمال و نوتروفیل‌های موش نژاد NMRI استحصال شده و در محیط‌های کشت مربوطه کشت داده شدند و در معرض غلظت‌های مختلف فلوروتانین شامل (کنترل)۰، ۲۰، ٦۰ و ۱۰۰ mg/ml قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد افزایش غلظت این ترکیبات تأثیری بر روی رشد و زنده‌مانی این سلول‌ها ندارد؛ بلکه بالعکس در مورد سلول‌های بنیادی مزانشیمال زنده‌مانی و تکثیر این سلول‌ها افزایش می‌یابد. فعالیت آنزیم التهابی نیتریک اکساید (NO) و ترشح سایتوکاین پیش التهابیIL-1β با افزایش غلظت کاهش می‌یابد. در مقابل انفجار تنفسی نوتروفیل‌ها و ترشح سایتوکاین‌های تعدیل‌کننده ایمنی شامل IL-10 و TGF-β با افزایش غلظت افزایش می‌یابد. این نتایج نشان‌دهنده اثرات ضدالتهابی قوی این ترکیبات می‌باشد و ازآنجایی‌که اثرات سیتوتوکسیک ندارند؛ بنابراین در استفاده ایمن بوده و می‌توانند جایگزین خوبی برای مواد شیمیایی و داروها باشند.

واژه‌های کلیدی: جلبک‌های قهوه‌ای، سلول‌های بنیادی مزانشیمال، بیان ژن، فلوروتانین.

*نویسنده مسئول: پست الکترونیکی: sm.abtahi@urmia.c.ir

مقدمه

موجودات دریایی به‌عنوان منابع غنی از ترکیبات زیست فعال بوده و از نظر ساختاری متنوع هستند. این ارگانیسم ها با فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف و از نظر ساختاری متنوع بوده و اهمیت آنها به‌عنوان منبع مواد فعال زیستی جدید روز به روز در حال افزایش است. گفتنی است گونه‌های دریایی تقریباً نیمی از کل تنوع زیستی جهانی را تشکیل می‌دهند. در میان موجودات دریایی، جلبک‌های دریایی منابع غنی از ترکیبات زیست فعال با فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف بوده و در سال های

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

اخیر ارزش آنها به‌عنوان منبع مواد فعال زیستی جدید بیش از پیش حد رشد کرده است (۲۵، ۲۴، ۱۳). اگرچه جلبک‌های دریایی در معرض شرایط محیطی نامطلوب مانند نور و غلظت بالای اکسیژن که منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد و سایر عوامل اکسید کننده قوی می‌شود قرار دارند، اما به نظر می‌رسد دچار آسیب جدی فتودینامیک نمی شوند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که جلبک‌های دریایی می توانند ترکیبات زیست فعالی تولید کنند تا از خودشان در برابر عوامل خارجی مانند اشعه ماوراء بنفش، استرس و گیاهخواران محافظت کنند (۱۵).

جلبک‌های ماکرو دریایی خوراکی یا جلبک‌های دریایی بر اساس ترکیب رنگ‌دانه‌ها به سه دسته *Choropyta* (جلبک سبز)، *Phaeophyta* (جلبک قهوه‌ای) و *Rhodophyta* (جلبک قرمز) طبقه‌بندی می‌شوند. به‌عنوان‌مثال، وجود رنگ‌دانه زانتوفیل، فوکوگزانتین، مسئول رنگ جلبک‌های دریایی قهوه‌ای است. جلبک‌های دریایی خوراکی برای قرن‌ها بخش مهمی از رژیم غذایی بسیاری از کشورهای خاور دور را تشکیل می‌دادند و تقاضا برای مواد تشکیل‌دهنده مانند "Kombu" از گونه *Laminaria* و "Nori" مورداستفاده در سوشی از گونه *Porphyra* تا حد زیادی با کشت جلبک‌های دریایی تأمین شده است (۱۸).

جدا از مصارف غذایی، از جلبک‌ها در مصارف صنعتی به‌عنوان تغلیظ کننده و روان‌کننده، در صنایع مختلف مانند آرایشی و بهداشتی، داروسازی، خوراک دام و صنایع کود استفاده می‌شود. علاوه بر این، بسیاری از متابولیت‌هایی که از جلبک‌های دریایی جدا شده‌اند، دارای اثرات زیست فعال مهمی هستند (۱۱).

جلبک‌های قهوه‌ای دریایی گونه *Phaeophyta* انواع پلی‌فنول‌های مبتنی بر فلوروگلوسینول مانند فلوروتانین‌ها را انباشته می‌کنند. این فلوروتانین‌ها از واحدهای فلوروگلوسینول تشکیل شده‌اند که به طرق مختلف به یکدیگر متصل شده‌اند و در بین جلبک‌های قهوه‌ای به‌وفور یافت می‌شوند.۱۲ فلوروتانین‌ها از پلیمریزاسیون واحدهای مونومر فلوروگلوسینول (۱،۳،۵-تری هیدروکسی بنزن) تشکیل می‌شوند و از طریق مسیر استات-مالونات که به‌عنوان مسیر پلی کتید نیز شناخته می‌شود، بیوسنتز می‌شوند. فلوروتانن‌ها به محافظت از جلبک‌ها در برابر شرایط استرس‌زا و گیاهخواران کمک می‌کنند. باتوجه‌به مزایای سلامتی و فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف فلوروتانین‌ها، جلبک‌های قهوه‌ای دریایی به‌عنوان منبع مهمی از غذای سالم محسوب می‌شوند. (۲۱).

بسیاری از محققان نشان داده‌اند که فلوروتانین های مشتق شده از جلبک‌های قهوه‌ای دریایی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی در برابر آسیب اکسیداسیون ناشی از رادیکال‌های آزاد هستند(۵، ۳). علاوه بر این، این ترکیبات دارای خواص مهارکننده آنزیم های استیل کولین استراز (AChE) و بوتیل کولین استراز (BChE)، مهار کننده آنژیوتانسن ۱، مهارکننده ماترکس متالوپروتئیناز، خواص ضد ویروسی و ضدباکتریایی، خواص ضد سرطانی و ضد آسم و آلرژی هستند. همچنین اثبات شده است توانایی مقابله با تشعشات فرابنفش و سایر اشعه های مضر را دارا هستند (۱۵). با این توضیحات بر آن شدیم تا این ترکیبات را به طو موثر از جلبک‌های قهوه‌ای استخراج کرده و اثرات آن ها را بر روی رشد و تکثیر، انفجار تنفسی و تولید نیتریک اکساید در سلول‌های بنیادی مزانشیمال و نوتروفیل‌های موش نژاد NMRI بررسی کنیم.

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

مواد و روش‌ها

مواد مورد نیاز

جلبک‌های قهوه‌ای از دریای خلیج‌فارس و منطقه ساحلی چابهار جمع آوری شدند. جهت فرآیند استخراج ترکیبات فلوروتانین از کلروفرم و استیل استات (مرک، آلمان)، محیط کشت DMEM کم گلوکز و سرم جنین گاوی (ویواسل، ارومیه) استفاده گردید. کیت سنجش نیتریک اکساید (NO) (نوند سلامت، ارومیه، ایران)، کیت استخراج RNA (دنا زیست آسیا، مشهد، ایران)، کیت سنتز cDNA (تاکارا، ژاپن) و کیت سایبرگرین (تاکارا، ژاپن) و نیز پرایمرها (تکاپوزیست، تهران، ایران) خریداری شدند. fmlp، DMSO، دی متیل فورماید، کیت سنجش MTT و NBT و سایر مواد از شرکت سیگما (سیگما، آلمان) تهیه شدند.

تهیه‌ی فلوروتانین

جلبک دریایی قهوه‌ای خوراکی (Brown algae) با نام علمی *Sargassum tenerimum* در طول اردیبهشت‌ماه سال ۱٤۰۳ از دریای خلیج فارس و منطقه ساحلی چابهار صید شده و توسط کارشناس هرباریوم دانشکده علوم دریایی چابهار تأیید شد. جلبک تازه سه بار با آب شسته شد تا نمک های موجود در آن خارج شود سپس اجازه داده شد تا در محیط آزمایشگاه خشک شود. پس از طی فرآیند خشک شدن جلبک قهوه‌ای به خوبی با دستگاه آسیاب شده و پودر شد. جلبک دریایی قهوه‌ای از گونه *Sargassum tenerimum* با آب لوله کشی تمیز شده و اپی فیت ها خارج شده و دردستگاه آون با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ٤ ساعت خشک شده و سپس به پودر تبدیل شده و به‌صورت پودر ریز در آسیاب شد. حدود ۵ گرم از پودر جلبک جدا شده و ۲۰ میلی‌لیتر متانول به آن اضافه شد و با یک همزن خانگی به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق به‌خوبی هم زده شد. مخلوط حاصل توسط پمپ خلاء فیلتر شد. سپس ٤۰ میلی لیتر کلروفرم به عصاره اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه تکان داده شد که باعث شد مخلوط به لایه های بالایی و پایینی تقسیم شود. لایه بالایی جدا شد و ۲ میلی لیتر اتیل استات به آن اضافه شد. اتیل استات با استفاده از یک اواپراتور چرخشی تنظیم شده در دمای ٤۰ درجه سانتیگراد و فشار خلاء ۷۵ جیوه میلی‌متر تبخیر شده و عصاره آبی باقیمانده در دستگاه فریزدرای خشک شد. پودر خشک نهایی برای تعیین ماده خشک استخراج شده وزن شده و برای تجزیه و تحلیل بیشتر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره گردید (۲۰).

روش انجام آزمایش و گروه بندی حیوانات

۲۰ سر موش نر نژاد NMRI در محدوده سنی ٦ تا ۸ هفته از حیوانخانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، خریداری شدند. موش ها در شرایط بدون پاتوژن و در دمای اتاق نگهداری شده و به مدت یک هفته قبل از انجام آزمایشات، به آنها دسترسی نامحدود به غذا و آب داده شد. موش ها به شیوه انسانی توسط گاز اتر و در دستگاه دسیکاتور بیهوش شده و نوتروفیل‌های خون و سلول‌های بنیادی مزانشیمال استخوان‌های فمور و تیبیا به روشی که در ادامه می آید استحصال گردید. سلول‌های

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

بدست آمده شمارش شده و به ٤ گروه تقسیم شدند و در صفحات ۹٦ چاهی با تراکم ۱×۱۰۵ سلول در چاه رشد کردند. پس از ۲٤ ساعت، سلول‌ها با محیط تازه شسته و با غلظت‌های مختلف ترکیبات فلوروتانین شامل ۰، ۲۰، ٦۰ و ۱۰۰ mg/ml تیمار شدند (۱٦).

استحصال سلول‌های بنیادی مزانشیمال از مغز استخوان و نوتروفیل‌ها از خون

استخوان‌های فمور و تیبیا چهار سر موش نژاد NMRI تحت شرایط بیهوشی جدا شده و مغز استخوان‌ها در یک لوله ۱۵ میلی لیتری شستشو داده شد. سلول‌های جدا شده در محیط کشت کم گلوکز Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) (ویواسل، ارومیه) تعلیق شدند و در rpm ۱۲۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس سلول‌ها در فلاسک های T25 در محیط کشت DMEM کم گلوکز حاوی ۱۵ درصد سرم جنین گاوی (ویواسل، ارومیه) (Fetal Bovine Serum) (FBS) کشت داده شده و در انکوباتور ۵٪ CO2 در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سلول‌های غیر چسبنده فلاسک ها سه روز بعد دور ریخته شدند. هنگامی که سلول‌های چسبنده به ۹۰ درصد سطح فلاسک را پر کردند، با تریپسین/EDTA (ویواسل، ارومیه) جدا شده، و شمارش شدند. عمل جداسازی با تریپسن دوبار با فاصله چند روز تکرار شد. سلول‌های پاساژ سوم جهت انجام تست ها با اسکراپر جداسازی شده و وارد پلیت ۹٦ خانه شدند. سپس تحت تیمار با غلظت‌های مختلف فلوروتانین قرار گرفتند (۱٦،۱۷).

نوتروفیل‌ها از خون قلب در حال پمپاژ چهار سر موش نژاد NMRI که در بیهوشی عمیق بود توسط سرنگ هپارینه جداسازی شدند. به طور خلاصه، نمونه‌های خون جدا شده سانتریفیوژ شدند و بافی کوت نمونه‌ها تحت رسوب دکستران (1% w/v)قرار گرفتند تا گلبول‌های قرمز حذف شود. پس از آن، سلول‌ها بر روی یک گرادیان چگالی-Ficoll Hypaqueسانتریفیوژ شدند بدین ترتیب لایه سلول تک‌هسته‌ای و پلاسما حذف شد. گلبول‌های قرمز باقی‌مانده از طریق بافر ACK-RBC لیز و حذف شدند. نوتروفیل‌های جدا شده دو بار شسته و در DMEM حاوی ۱۰٪ FBS غیرفعال شده با حرارت معلق شدند. زنده‌ماندن نوتروفیل‌های جدا شده با رنگ تریپان بلو ارزیابی شدند که بالای ۹۵ درصد بودند. در نهایت، نوتروفیل‌ها با ۱ میلی‌مولار f-MLP به مدت ۲ ساعت انکوبه شدند و سپس تست‌های مدنظر بر روی آنها انجام شد (۱٦).

تست سیتوتوکسیک و رشد و تکثیر ترکیبات فلروتانن با روش MTT

اثر ترکیبات فلوروتانین بر رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمال و نوتروفیل‌های موش نژاد NMRI با استفاده از روش MTT(۳-(٤،۵-دی متیل-۲-ایل)-۲،۵ دی فنیل تترازولیوم بروماید) اندازه‌گیری شد. سلول‌ها در صفحات ۹٦ چاهی با تراکم ۱×۱۰۵ سلول در چاه رشد کردند. پس از ۲٤ ساعت، سلول‌ها با محیط تازه شسته و با غلظت‌های مختلف ترکیبات فلوروتانین تیمار شدند. پس از ٤۸ ساعت انکوباسیون، سلول‌ها مجدداً شسته شدند و ٤۰ میلی‌لیتر MTT (۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به آن

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

اضافه شد و به مدت ٤ ساعت انکوبه شد. در نهایت، DMSO(۲۵۰ میلی‌لیتر) برای حل‌شدن فورمازان اضافه شد. نمک تشکیل شده و مقدار نمک فورمازان با اندازه‌گیری با استفاده از میکروپلیت خوان و در طول‌موج ۵٤۰nm و با میکروپلیت خوان (تیکان، اتریش) قرائت شد (۱٦).

تست انفجار تنفسی به روش نیتروبلوتترازولیوم (NBT)

این تست بر روی نوتروفیل‌ها انجام شد. قبل از انجام تست، محلول NBT در محیط کشت DMEM به میزان1 mg/ml حل شده و به‌خوبی همگن شد. هم حجم سلول‌ها از محلول NBT (mg/ml 1) و همچنین سوسپانسیون باکتری اپسونیزه (cell/ml 108) تهیه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. ۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید و سپس مایع رویی دور ریخته شد. به حجم سلول اولیه از ماده NN – دی متیل فورماید اضافه گردید و به پلیت ۹٦ خانه ریخته شد(در هر خانه µl200). دانسیته نوری 200(OD) میکرولیتر از محلول با دستگاه الایزا ریدر (زیمنس، آلمان) و طول‌موج492 nm تعیین شد (۱٦).

تست سنجش نیتریک اکساید (NO)

برای انجام این تست از کیت ساخت شرکت نوند سلامت استفاده گردید. مطابق بروشور کیت سنجش نیتریک اکسید، نمونه‌های استاندارد تهیه گردید. نمونه‌ها با نسبت ۲:۱ با بافر کیت رقیق گشت و سپس µL ۱۰۰ از سرم رت‌های مورد مطالعه به‌صورت سه تکرار به داخل چاهک‌های پلیت ۹٦ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. نمونه بلانک و استاندارد نیز که در کیت مربوطه وجود داشت به تعداد سه تکرار در چاهک‌های پلیت ۹٦ خانه‌ای ریخته شد. در نهایت جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر (زیمنس، آلمان) خوانده شد(۱۷).

بیان ژن سایتوکاین‌ها به روش Real-time PCR

اولین مرحله استخراج RNA از سلول‌های بنیادی مزانشیمال بود که توسط کیت شرکت دنازیست آسیا (مشهد) و طبق پروتکل شرکت سازنده انجام شد. سپس OD محصولات به‌دست‌آمده توسط دستگاه نانودراپ قرائت گردید. مرحله بعدی سنتز cDNA می‌باشد. برای تهیه‌ی اولین رشته از cDNA از روی RNA کل استخراج شده در مرحله قبل، از کیت با نام تجاری تاکارا (TAKARA) (کره جنوبی) استفاده گردید. این کیت بر اساس آنزیم ترانس کریپتاز معکوس تهیه شده است. سنتز پرایمرها توسط شرکت تکاپوزیست انجام گردید. مرحله‌ی آخر انجام واکنش Real time PCR به‌وسیله سایبرگرین و کیت شرکت تاکارا می‌باشد. ژن GAPDH به‌عنوان ژن خانه‌داری انتخاب گردید (۱۷).

آنالیزهای آماری

توزیع نرمال داده‌ها با آزمون Shapiro-Wilk اندازه‌گیری شد. یافته ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و Tukey's post hoc مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت و به‌صورت means±SD بیان شد. سطح معنی‌داری تمام داده‌ها

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

به‌صورت ($*P \leq 0.05, **P \leq 0.01, ***P \leq 0.001$) نمایش‌داده‌شده است. داده‌ها با نرم‌افزار GraphpadPrism نسخه ۹,۵ آنالیز شدند و نمودارهای مربوطه ترسیم گردید.

جدول: پرایمرهای مورد استفاده در روش Real Time PCR

ژن	Forward primer	Reverse primer	منابع
Il-10	5′-CTATGCTGCCTGCTCTTACTGAC-3′	5′-CGGAGAGAGGTACAAACGAGG-3′	(۲۲)
TGFβ	5′-TGGCGTTACCTTGGTAACC-3′	5′-GGTGTTGAGCCCTTTCCAG-3′	(۲۳)
Il-1β	5′-CAAACTGATGAAGCTCGTCA-3′	5′-TCTCCTTGAGCGCTCACGAA-3′	(٤)
GAPDH	5′-CAAAGCCAGAGTCCTTCAGA-3	5′-GATGGTCTTGGTCCTTAGCC -3	(۱۹)

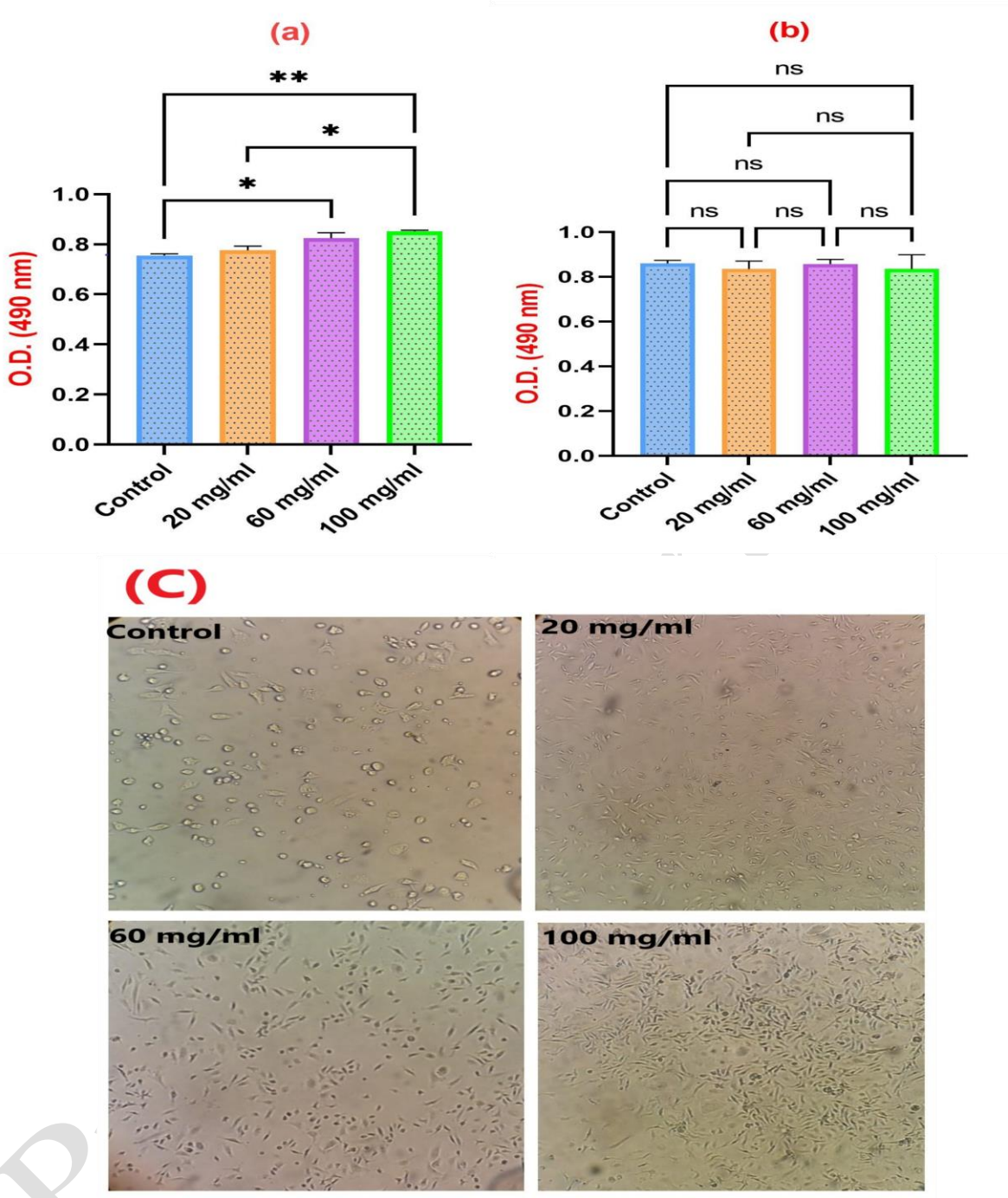
نتایج

تست سنجش میزان رشد و زنده مانی به روش MTT

آزمون MTT میزان رشد و زنده‌مانی سلول‌ها و اثرات سیتوتوکسیک مواد را نشان می‌دهد. همان‌طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود رشد و زنده‌مانی سلول‌ها در مورد سلول‌های بنیادی مزانشیمال با افزایش غلظت فلوروتانین افزایش می‌یابد (نمودار ۱a). در نمودار ۱c تصویر رشد سلول‌های بنیادی مزانشیمال در کف فلاسک که مربوط به پاساژ سوم این سلول هاست تحت غلظت‌های مختلف فلوروتانین دیده می‌شود. در مورد نوتروفیل‌ها افزایش غلظت فلوروتانین هیچ تاثیر معنی داری در هیچ کدان از سطوح معنی داری بر روی این سلول‌ها نداشته است. در واقع رشد و زنده‌مانی این سلول‌ها تحت تاثیر غلظت این ماده قرار نگرفته است (نمودار ۱b). ($*P \leq 0.05, **P \leq 0.01, ***P \leq 0.001$).

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹
DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

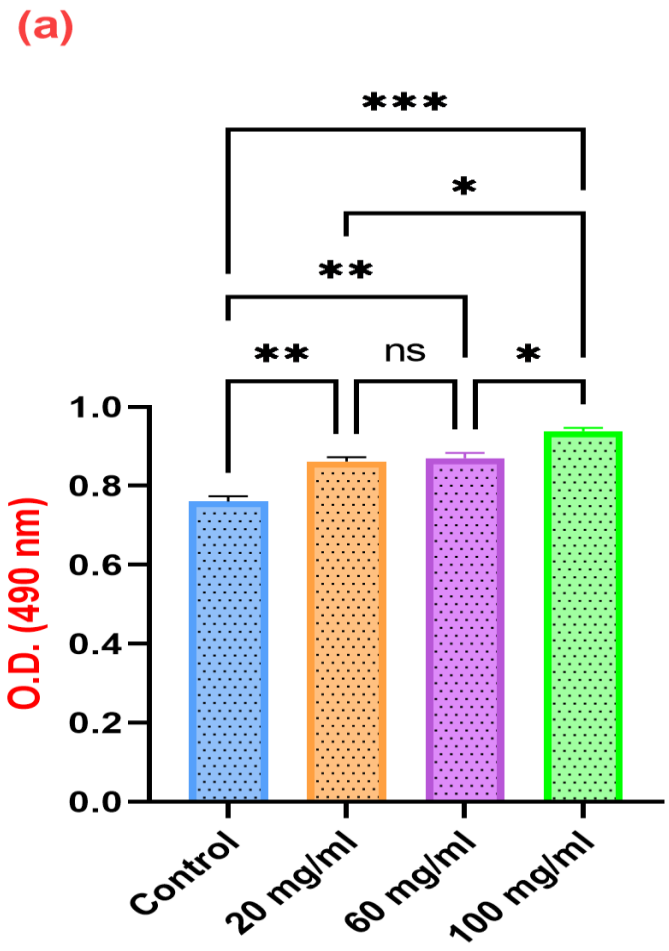


نمودار شماره ۱: نتایج تست زنده‌مانی و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمال (a) و نوتروفیل‌ها (b) با روش تست MTT مشاهده می‌شود. تصویر c سلول‌های بنیادی مزانشیمال را در کف فلاسک نشان می‌دهد. بیشترین رشد این سلول‌ها در غلظت ۱۰۰ mg/ml مشاهده می‌شود. همان‌گونه که مشاهده می‌شود غلظت‌های مختلف فلوروتانین تاثیری بر تکثیر و زنده‌مانی نوتروفیل‌ها ندارد ولی بر روی افزایش غلظت تاثیر مثبتی بر روی رشد و زنده‌مانی سلول‌های بنیادی مزانشیمال دارد ($*P \leq 0.05$, $**P \leq 0.01$, $***P \leq 0.001$).

آزمون احیای NBT

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

با استفاده از آزمون احیای NBT توانایی و ظرفیت نوتروفیل‌ها در تولید رادیکال‌های آزاد به‌ویژه آنیون‌های سوپر اکسید دیسموتاز سنجش شد. آنیون‌های سوپر اکسید تولید شده ماده رنگی NBT را احیا نموده و به فورامازون آبی نامحلول و رسوب در داخل فاگوسیت تبدیل می‌کنند. با سنجش میزان فورمازان تولیدی با روش فوتومتری عملکرد انفجار تنفسی نوتروفیل‌ها ارزیابی گردید (Haq et al., 1999). همان‌گونه که نمودار ۲a مشاهده می‌شود افزایش غلظت فلوروتانین تاثیر مثبتی بر روی علمکرد نوتروفیل‌ها داشته و انفجار تنفسی در این سلول‌ها را که برای دفاع در برابر عوامل خارجی ضروری است بهبود می بخشد اگرچه بین گروه ۲۰mg/ml و ۶۰mg/ml تفاوت معنی داری مشاهده نشد اما میزان ۱۰۰ mg/ml با سایر غلظت ها و با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار دارد($*P \leq 0.05$, $**P \leq 0.01$, $***P \leq 0.001$).

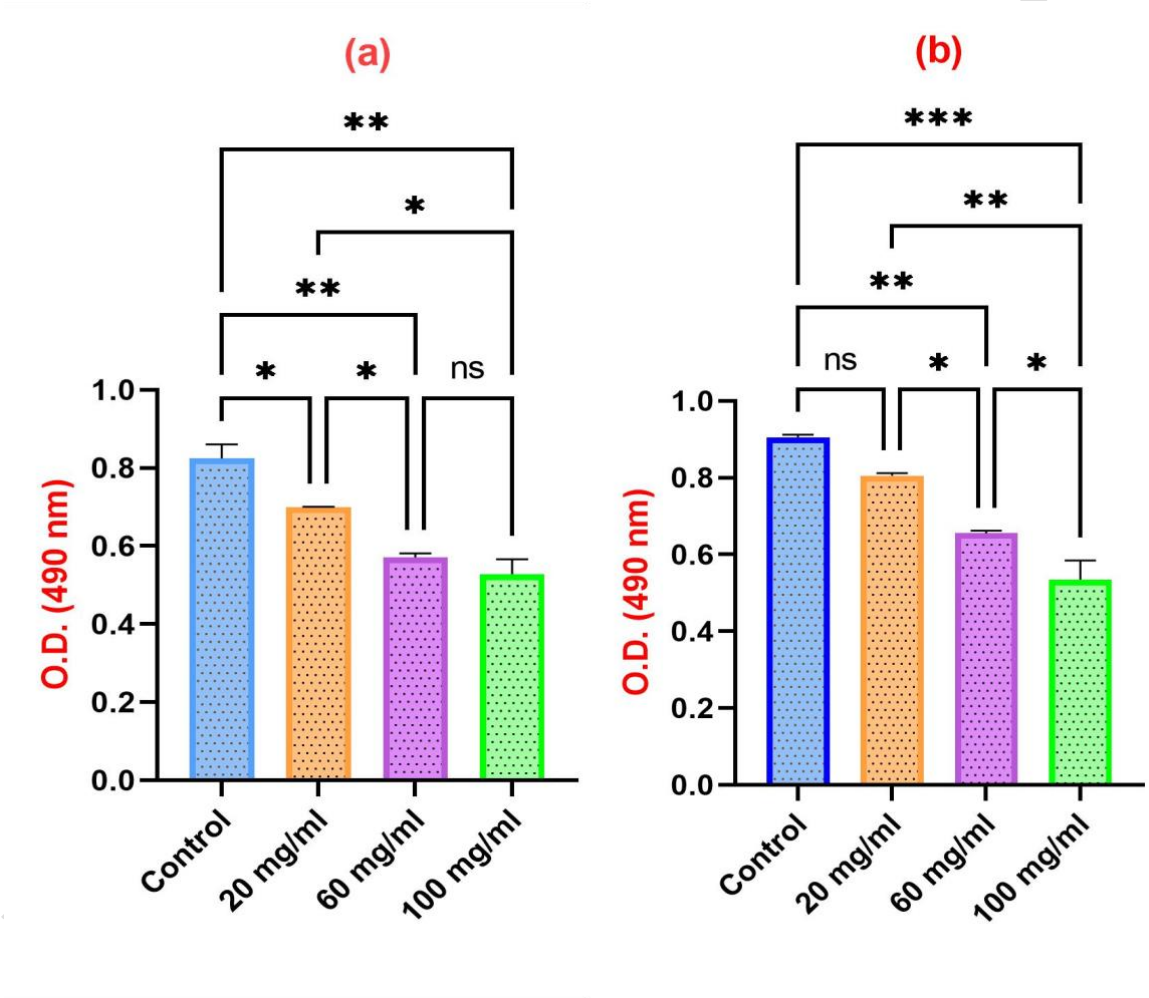


نمودار شماره ۲: انفجار تنفسی در نوتروفیل‌ها به روش NBT در شکل (a) نشان داده شده است. افزایش غلظت فلوروتانین تاثیر مثبتی بر روی فعالیت نوتروفیل‌ها دارد($*P \leq 0.05$, $**P \leq 0.01$, $***P \leq 0.001$).

تست سنجش فعالیت آنزیم NO

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

تست سنجش فعالیت آنزیم NO به‌عنوان یک آنزیم التهابی و نشان‌دهنده وجود التهاب سنجیده می‌شود. همان‌گونه که در نمودار ۳ دیده می‌شود فعالیت این آنزیم با افزایش غلظت فلوروتانین کاهش می‌یابد. در سلول‌های بنیادی مزانشیمال (نمودار ۳a) اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف در سطوح مختلف معنی داری دیده می‌شود به نحویکه گروه کنترل با تمام گروه‌های دیگر دارای اختلاف معنی‌دار است اما بین گروه با غلظت‌های ۶۰mg/mlو ۱۰۰mg/ml اختلاف معنی داری وجود ندارد. همین شرایط برای نوتروفیل‌ها نیز صادق است (نمودار ۳b) با این تفاوت که در این سلول‌ها بین گروه کنترل و گروه با غلظت ۲۰mg/ml اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ولی سایر غلظت ها با همدیگر معنی‌دار هستند($*P \leq 0.05$, $**P \leq 0.01$, $***P \leq 0.001$*).



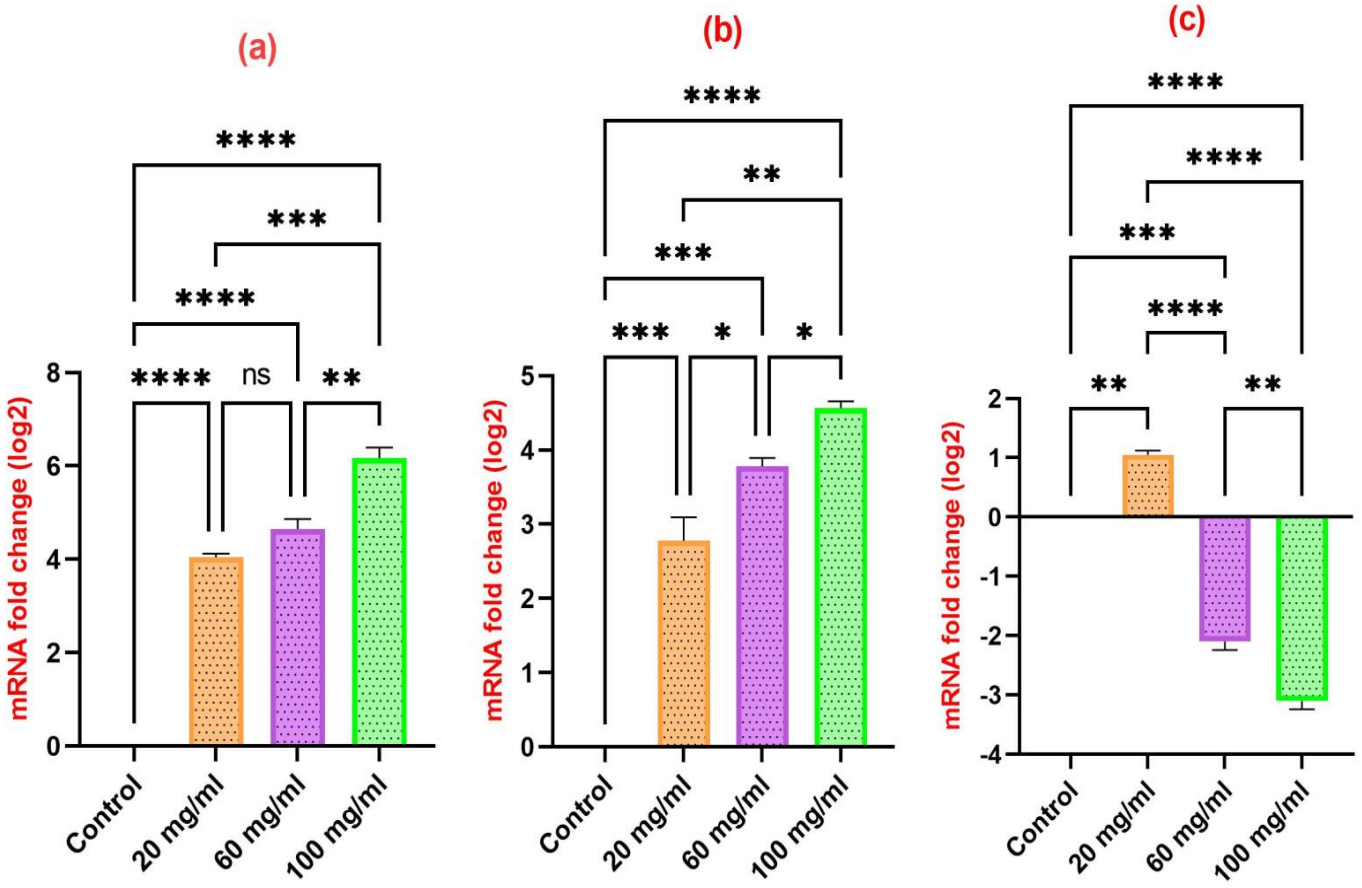
بیان ژن سایتوکاین ها با روش Real time PCR

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

در این مطالعه بیان ژن سایتوکاین‌ها در سلول‌های بنیادی مزانشیمال نیز سنجیده شد. می‌دانیم که سایتوکاین‌ها مولکول‌های ترشحی هستند که توسط سلول‌ها و اجزای مختلف سیستم ایمنی ترشح شده و واکنش‌های ایمنی را پیش می‌برند. در این مطالعه دو سایتوکاین IL-10 و TGF-β به‌عنوان سایتوکاین‌های ایمونومدولاتوری که نقش تعدیل‌کننده در سیستم ایمنی دارند و سایتوکاین IL-1β به‌عنوان یک سایتوکاین پیش التهابی که نقش التهابی بر عهده دارد سنجیده شد. نمودار ٤a بیان ژن IL10 را نشان می‌دهد. همان گونه که مشاهده می‌شود بیان ژن این سایتوکاین با افزایش غلظت فلوروتانین افزایش می‌یابد؛ اما بین غلظت‌های ۲۰mg/ml و ٦۰mg/ml اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. بیشترین اثرات تعدیل‌کنندگی ایمنی در مقدار ۱۰۰mg/ml مشاهده شد. گروه کنترل با تمام گروه‌های دیگر اختلاف معنی‌دار دارد. نمودار ٤b بیان ژن TGF-β را نشان می‌دهد. همان‌گونه که بیان شد این سایتوکاین نیز به‌عنوان یک سایتوکاین ضدالتهابی و تعدیل‌کننده مطرح است. افزایش غلظت فلوروتانین با افزایش ترشح این سایتوکاین ارتباط مستقیم دارد و تمام گروه‌ها با همدیگر و با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار دارند. در نهایت نمودار ٤c بیان ژن سایتوکاین پیش التهابی IL-1β را نشان می‌دهد. نتایج بیان ژن این سایتوکاین بسیار جالب است در غلظت ۲۰mg/ml بیان ژن این سایتوکاین افزایش داشته است؛ ولی در غلظت‌های ٦۰ و ۱۰۰ کاهش می‌یابد که نشان می‌دهد برای سرکوب بیان ژن این سایتوکاین مقادیر بالاتری از فلوروتانین در حد ٦۰mg/ml و بالاتر مورد نیاز است. چنانچه مشاهده می‌شود بین غلظت‌های ٦۰mg/ml و ۱۰۰mg/ml اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P \leq 0.05$, $**P \leq 0.01$, $***P \leq 0.001$).

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302



نمودار شماره ٤: این تصویر بیان ژن سایتوکاین‌های تعدیل‌کننده ایمنی Il-10 (شکل a) و TGF-β (شکل b) و نیز سایتوکاین التهابی IL1β (شکل c) در سلول‌های بنیادی مزانشیمال را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در تصویر مشاهده می‌شود افزایش غلظت فلوروتانین باعث افزایش ترشح سایتوکاین‌های تعدیل‌کننده ایمنی و کاهش ترشح سایتوکاین پیش التهابی IL1β شده است. بهترین پاسخ از نظر تعدیل‌کنندگی در غلظت ۱۰۰mg/ml مشاهده می‌شود ($*P \leq 0.05$, $**P \leq 0.01$, $***P \leq 0.001$).

بحث و نتیجه‌گیری

در سالیان گذشته جلبک‌های دریایی به دلیل وجود ترکیبات غنی در جیره غذایی دام استفاده می شدند اما با گذر زمان و آشکار شدن خواص بی نظیر این ترکیبات به تدریج وارد جیره غذایی انسان شدند. چنانچه طی یک مطالعه نشان داده شد عصاره هیدروالکی گونه های جلبک *Sargassum ciliforium* خلیج فارس موجب ممانعت از رشد سلول های توموری شده و از آن ها جهت گسترش داروهای ضد سرطان می توان استفاده نمود (۲). همچنین نشان داده شده است جلبک های خلیج فارس از گونه های *Palisada perforata* و *Sargassum angustifolium* دارای خواص ضد دیابت و آنتی اکسیدانتی قابل توجهی می باشند (۱). فلوروتانین ها یک ترکیب مهم از ترکیبات پلی‌فنلی در جلبک‌های قهوه‌ای دریایی

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

هستند که حدود ۵ تا ۱۲ درصد از وزن خشک آنها را تشکیل می دهند. گزارش شده است که این مواد گونه های فعال اکسیژن و تولید مواد واکنش دهنده تیوباربیتوریک اسید را مهار می کند که نشان‌دهنده خواص آنتی‌اکسیدانی آن ها می باشد (۱۴). کانگ و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر اساس یک مطالعه مدل جنین ماهی گورخر، اثر محافظتی فلروتانن ها در برابر استرس اکسیداتیو را گزارش کردند و اظهار داشتند که این ترکیبات در غلظت‌های آزمایش شده توکسیک نبوده و اثر نامطلوبی بر روی رشد سلول‌ها نداشته اند که نشان‌دهنده کارایی و ایمنی آنها است (۹). کیم و همکارانیز در سال۲۰۱۲ اثر محافظتی سه دسته از ترکیبات فلوروتانین مانند فلوروگلوسینول، اکول و دیکول را در برابر پاسخ های پیش التهابی در سلول‌های اندوتلیال ورید ناف انسان و در موش مورد مطالعه قرار دادند. این مطالعه نشان داد که فلوروتانین ها به محافظت از یکپارچگی سد عروقی و تأثیر نامطلوب بر چسبندگی و مهاجرت لکوسیت ها کمک می‌کنند. پتانسیل فلروتانن ها به‌عنوان یک عامل ضدالتهابی در این مطالعه مورد تاکید قرار گرفت (۱۲).

در یک پژوهش مشابه از استخراج مبتنی بر استون برای به‌دست‌آوردن عصاره‌های غنی از فلوروتانن از گونه‌های Fucus استفاده شد. عصاره‌های خالص شده برای پتانسیل ضدالتهابی و ایمنی زیستی غربالگری شدند. عصاره‌ها فعالیت مهار رادیکال بالایی را نشان دادند و اثرات آن‌ها کاملاً وابسته به غلظت بود. علاوه بر این، عصاره‌ها مهار قابل‌توجهی در برابر لیپواکسیژنازها که آنزیم‌هایی هستند که در سنتز واسطه‌ها برای پیشرفت بیماری‌های مرتبط با التهاب نقش دارند، نشان دادند. نشان داده شد عصاره‌ها غیرسمی هستند و تأثیر توکسیک بر روی سلول‌ها ندارند که نشان‌دهنده ایمنی آنها برای استفاده به‌ویژه به‌عنوان عوامل ضدالتهابی است (۳).

در پژوهش جالب دیگری پتانسیل ضدالتهابی محصول جانبی Ecklonia cava تخمیر شده Candida utilis با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی با استفاده از خط سلولی ماکروفاژ موش فعال شده با لیپوپلی‌ساکارید RAW 264.7 ارزیابی شد. عصاره‌های غنی از فلوروتانین کاهش قابل‌توجهی در تولید اکسید نیتریک نشان دادند و اثرات آن وابسته به غلظت گزارش شد. علاوه بر این، سنجش لاکتات دهیدروژناز نشان داد که عصاره‌ها از نظر ماهیت سیتوتوکسیک نیستند و به‌راحتی قابل‌استفاده هستند. عصاره‌ها اثرات مهاری قابل‌توجهی را در برابر تولید نیتریک اکسید سنتاز، پروستاگلاندین-E2 و سیکلواکسیژناز-۲ نشان داده‌اند که نشان‌دهنده فعالیت ضدالتهابی آنها است. به طور مشابه، یونگ و همکاران. در سال ۲۰۱۳ گزارش دادند که فلوروگلوسینول و فلوروفوکوفواکول A (موجود در عصاره‌های اتانولی E. bicyclis) دارای فعالیت ضدالتهابی بالقوه هستند. هر دو ترکیب اثر بازدارندگی قوی در تولید اکسید نیتریک در سیستم‌های سلولی داشتند(۱۰، ۸). در مطالعه ما نیز به طور مشابه اثرات سیتوتوکسیک از ترکیبات فلوروتانن بر روی رده های سلولی نوتروفیل و سلول‌های بنیادی مزانشیمال مشاهده نشد بلکه با افزایش غلظت رشد و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمال نیز افزایش پیدا کردبنابراین می‌توان نتیجه گرفت این ترکیبات نه تنها در استفاده ایمن هستند بلکه اثرات مثبتی نیز بر روی سلول‌های بنیادی مزانشیمال دارند. نتایج تست No نیز به‌صورت مشابهی نشان داد که با افزایش غلظت این ترکیبات میزان فعالیت این آنزیم که یک آنزیم

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

نشان‌دهنده التهاب نیز می باشد کاهش می‌یابد و همانطور که در مطالعات نیز نشان داده شده است این کاهش فعالیت کاملا وابسته به غلظت می باشد.

مطالعه جالبی بر روی اثرات فلوروتانن‌ها بر روی شوک سپتیک القا شده با LPS انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد فلوروتانین‌ها قادر به مهار تولید سایتوکاین‌ها و واسطه‌های پیش التهابی Il-1β، Il-6، TNFα، HMGB1، NO و PGE2 تولید شده در جریان شوک سپتیک هستند. احتمالاً دلیل این امر مهار مسیر وابسته به NF-κB به‌وسیله مهار TAK1/NIK/IKK/IκBα می‌باشد. مهار NO و PGE2 نیز به‌واسطه مهار مسیر Nrf2/HO1 توسط این ترکیبات انجام می‌شود (۲۶). مطالعه ما نیز همین اثرات را اثبات کرد. چانچه در نتایج نیز مشاهده می‌شود فعالیت آنزیم NO هم در سلول‌های بنیادی مزانشیمال و هم در نوتروفیل‌ها با افزایش غلظت کاهش پیدا کرده است. همچنین افزایش غلظت فلوروتانین ها با عث افزایش ترشح سایتوکاین‌های تعدیل‌کننده سیستم ایمنی و کاهش ترشح سایتوکاین پیش التهابی IL1β گردید که نشان‌دهنده خاصیت قوی ضدالتهابی و ایمونومدولاتوری این ترکیبات می باشد.

باتوجه‌به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد این ترکیبات دارای خواص تعدیل‌کنندگی ایمنی بالایی بوده، خواص سایتوتوکسیک بر روی سلول‌ها ندارند و بنابراین به‌صورت ایمن می‌توان از آن‌ها استفاده کرد. ترکیبات زیست فعال دریایی به‌عنوان کاندیدهای بالقوه در بخش‌های پزشکی و غذایی، به‌عنوان جایگزین ایمن و مؤثر به‌جای سایر مواد شیمیایی و داروها در نظر گرفته می‌شوند. خواص آنتی‌اکسیدانتی و ضدمیکروبی و تعدیل‌کنندگی زیاد فلوروتانین‌ها، اقبال عمومی به استفاده از مواد طبیعی و نیز کشش زیاد بازار به‌ویژه در بخش‌های آرایشی و بهداشتی و مواد غذایی باعث شده است توجه زیادی به این بخش جلب شود. اگرچه چندین مطالعه in vivo و invitro برای تعیین فعالیت‌های زیستی آنها انجام شده است، آزمایش‌های بالینی نیز باید برای تعیین ایمنی، فراهمی زیستی و غیره بر روی این ترکیبات انجام شود. محدودیت بزرگ در این زمینه این است که ساختار شیمیایی و ترکیبات این مواد در جلبک‌های قهوه‌ای مختلف وابسته به محل استخراج، سن جلبک، شرایط فیزیکوشیمیایی آب، تنوع روش استخراج ، فصل استخراج و غیره می‌تواند بسیار متفاوت باشد که باید در مطالعات آینده این موارد مهم مدنظر قرار گیرند.

سپاسگزاری:

بدین‌وسیله از دکتر سلیم شریفیان استاد محترم گروه شیلات دانشگاه علوم دریایی چابهار جهت مساعدت در تهیه جلبک‌های قهوه‌ای و از گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه جهت مساعدت در انجام این مطالعه تقدیر و تشکر می‌گردد.

Preproof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

منابع:

۱. پیریان ک.، معین س.، سهرابی پور ج.، ربیعی ر.، پیری خ. ۱۳۹۷. ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی و مهار آنزیم آلفا آمیلاز دو گونه *Palisada perforata* و *Sargassum angustifolium*. مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی، ۳۱(۲): ۱۵۸-۱۷۱.

۲. زاهدی ۱.، ناجی ط.، احمدی ر. ۱۳۹۸. بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی جلبک *Sargassum ciliforium* بر رده سلولی سرطان کولون HT-29 و ارزیابی بیان ژنهای P53 و APC با روش Real time PCR. مجله پژوهشهای سلولی و مولکولی، ۳۲(۳): ۳۳۰-۳۳۸.

3. BARBOSA M, VALENTÃO P, FERRERES F, GIL-IZQUIERDO Á, ANDRADE P. B (2020). In vitro multifunctionality of phlorotannin extracts from edible Fucus species on targets underpinning neurodegeneration. Food Chemistry. Doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127456.
4. GABELLEC M-M, GRIFFAIS R, FILLION G, HAOUR F (1995). Expression of interleukin lα, interleukin 1/3 and interleukin 1 receptor antagonist mRNA in mouse brain: regulation by bacterial lipopolysaccharide (LPS) treatment. Brain Res Mol Brain Res, 122-130. Doi: 10.1016/0169-328X(95)00042-Q.
5. GISBERT M, FRANCO D, SINEIRO J, MOREIRA R (2023). Antioxidant and Antidiabetic Properties of Phlorotannins from Ascophyllum nodosum Seaweed Extracts. Molecules, 28. doi: 10.3390/molecules28134937.
6. HAQ A, LOBO P. I, AL-TUFAIL M, RAMA N.R, AL-SEDAIRY S.T (1999). Immunomodulatory effect of Nigella sativa proteins fractionated by ion exchange chromatography. International Immunopharmacology, 21**:** 283-95. Doi: 10.1016/s0192-0561(99)00010-7 .
7. HEO S.J, PARK E-J, LEE K-W, JEON Y.-J (2005). Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. Bioresource Technology, 96**:** 13-23. Doi: 10.1016/j.biortech.2004.07.013 .
8. JUNG H.A, JIN S.E, AHN B.R, LEE C.M, CHOI J.S (2013). Anti-inflammatory activity of edible brown alga Eisenia bicyclis and its constituents fucosterol and phlorotannins in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. Food and Chemical Toxicology**,** 199-206. Doi: 10.1016/j.fct.2013.05.061 .
9. KANG M.-C, CHA S. H, WIJESINGHE W.A.J.P, KANG S-M, LEE S-H, KIM E-A, SONG C. B, JEON Y.-J (2013). Protective effect of marine algae phlorotannins against AAPH-induced oxidative stress in zebrafish embryo. Food Chem 138: 950-955.
10. KIM S, CHOI S-I, KIM G-H, IMM J.Y (2019). Anti-Inflammatory Effect of Ecklonia cava Extract on Porphyromonas gingivalis Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophages and a Periodontitis Rat Model. *Nutrients*. 11. Doi: 10.3390/nu11051143.

Proof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

11. KIM S, WOO S, YUN H, YUM S, CHOI E, DO J-R, JO J-H, KIM D, LEE S, LEE T. K (2005). Total Phenolic Contents and Biological Activities of Korean Seaweed Extracts. Food Sci Biotechnol, 14: 798-802.

12. KIM T H, KU S K, LEE T, BAE J S (2012). Vascular barrier protective effects of phlorotannins on HMGB1-mediated proinflammatory responses in vitro and in vivo. Food and Chemical Toxicology, 50**:** 2188-95. Doi: 10.1016/j.fct.2012.03.082 .

13. KIMA S K, WIJESEKARA I (2010). Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: A review. ScienceDirect**,** 1-9. Doi: 10.1016/j.jff.2010.01.003.

14. KUMAR L, PAUL P T, ANAS K K, TEJPAL C S, CHATTERJEE N S, ANUPAMA T. K, MATHEW S, RAVISHANKAR C N (2022). Phlorotannins–bioactivity and extraction perspectives. Journal of Applied Phycology, 34**:** 2173–2185. Doi: 10.1007/s10811-022-02749-4 .

15. LI Y X, WIJESEKAR I, LI Y, KIM SK (2011). Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. Process Biochemistry, 46**:** 2219-2224. Doi: 10.1016/j.procbio.2011.09.015.

16. MAHMOUDZADEH L, FROUSHANI S M, HOBBENAGHI R, MAHMOUDIAN A, MOHAMMADI V (2021). Altered Immune Responses in Mice After Receiving Nicotine-pulsed Mesenchymal Stem Cell-conditioned Medium. Archives of Advances in Biosciences, 12**:** 1-11. Doi: 10.22037/aab.v12i4.35358.

17. MAHMOUDZADEH L, FROUSHANI S M, HOBBENAGHI R, MAHMOUDIAN A, MOHAMMADI V (2024). Benefits of conditioned medium of nicotine-pulsed mesenchymal stem cells in experimental autoimmune hepatitis. Tissue and Cell. Doi: 10.1016/j.tice.2024.102359.

18. NWOSU F, MORRIS J, LUND V.A, STEWART D, ROSS H. A, MCDOUGALL G.J (2011). Anti-proliferative and potential anti-diabetic effects of phenolic-rich extracts from edible marine algae. Food chemistry. 126**:** 1006–12. Doi: 10.1016/j.foodchem.2010.11.111.

19. ROGAN D.F, COUSINS D.J, SANTANGELO S, IOANNOU P.A, ANTONIOU M, LEE T.H, STAYNOV D.Z (2004). Analysis of intergenic transcription in the human IL-4/IL-13 gene cluster. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 101**:** 2446–2451. Doi: 10.1073/pnas.0308327100.

20. SHARIFIAN S, SHABANPOUR B, TAHERI A, KORDJAZI M (2019). Effect of phlorotannins on melanosis and quality changes of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) during iced storage. Food Chemistry. Doi: 10.1016/j.foodchem.2019.124980.

21. SINGH I.P, BHARATE S.B (2006). Phloroglucinol compounds of natural origin. Natural Product Reports. 23**:** 558-91. Doi: 10.1039/b600518g.

22. WANG Z.Y, SATO H, KUSAM S, SEHRA S, TONEY L.M, DENT A.L (2005). Regulation of IL-10 Gene Expression in Th2 Cells by Jun Proteins. The Journal of Immunology. 174**:** 2098–2105. Doi: 10.4049/jimmunol.174.4.2098.

23. WICKERT L, STEINKRUGER S, ABIAKA M, BOLKENIUS U, PURPS O, SCHNABEL C, GRESSNER A.M (2002). Quantitative monitoring of the mRNA

Proof Article

مقاله پژوهشی، صفحات: ۲۱۵-۱۹۹ DOI: 10.22034/cmr.2025.8480.3302

expression pattern of the TGF-b-isoforms (b1, b2, b3) during transdifferentiation of hepatic stellate cells using a newly developed real-time SYBR Green PCR. Biochemical and Biophysical Research Communications. 295**:** 330-335.

24. WIJESEKARA I, KIM S-K (2010). Angiotensin-I-Converting Enzyme (ACE) Inhibitors from Marine Resources: Prospects in the Pharmaceutical Industry. Marine drugs. 8. Doi: 10.3390/md8041080.

25. WIJESEKARA I, PANGESTUTI R, KIM S.-K (2011). Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. Environmental Science, Medicine. 84**:** 14-21. Doi: 10.1016/j.carbpol.2010.10.062

26. YANG Y.-I, WOO J.-H, SEO Y-J, LEE K-T, LIM Y, CHOI J-H (2016). Protective Effect of Brown Alga Phlorotannins against Hyper- inflammatory Responses in Lipopolysaccharide-Induced Sepsis Models. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Doi: 10.1021/acs.jafc.5b04482.

Preproof Article

Abstract

Phlorotannins, a group of polyphenol compounds found in brown seaweed, possess various beneficial properties such as antioxidant, antimicrobial, anti-allergic, anti-diabetic, anti-inflammatory, anti-cancer, and neuroprotective effects. These biological activities have led to an increased demand worldwide. In this research, brown algae sourced from the Persian Gulf were utilized to extract phlorotannins. Subsequently, mesenchymal stem cells and neutrophils from NMRI mice were isolated, cultured in specific media, and exposed to varying concentrations of phlorotannin (0, 20, 60, and 100 mg/ml). The findings revealed that the survival of these cells remains unaffected with increasing compound concentrations. However, there was an enhancement in the survival and proliferation of mesenchymal stem cells. Moreover, the concentration-dependent decrease in the activity of the inflammatory enzyme nitric oxide (NO) and the secretion of the proinflammatory cytokine IL-1β were observed. Conversely, an increase in the respiratory burst of neutrophils and the secretion of immunomodulatory cytokines such as IL-10 and TGF-β was noted with higher phlorotannin concentrations. These results underscore the potent anti-inflammatory effects of these compounds, deemed safe for use due to their lack of cytotoxicity, offering a promising alternative to conventional chemicals and drugs.

Keywords: brown algae, mesenchymal stem cells, gene expression, phlorotannin