

Original Article

The effects of spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation on serum fasting blood glucose, lipid parameters, and oxidative stress markers in male rats with type 2 diabetes

Ahmad Zare Javid^{1,2}, Hamidreza Razmi³, Seyed Ali Mard^{4,5}, Somayeh Tankarami Bagheri Nejad^{4*}¹Nutrition and Metabolic Diseases Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran²Department of Nutrition, School of Allied Medical Sciences, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran³Student Research Committee, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran⁴Diabetes Research Center, Health Research Institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran⁵Alimentary Tract Research Center and Physiology Research Center, School of Medicine, Ahvaz, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran**ARTICLE INFO****Article History:**

Received: 1 Oct 2023

Accepted: 25 Nov 2023

ePublished: 24 Aug 2024

Keywords:

- Spirulina platensis
- Diabetes mellitus
- Blood glucose
- Lipid parameters
- Oxidative stress markers

Abstract

Background. Some studies have shown that Spirulina has biological properties exerting beneficial effects on human health. This study aimed to evaluate the effects of Spirulina supplementation on serum glucose, lipid parameters, and oxidative stress markers in male rats with streptozotocin/nicotinamide-induced T2DM.

Methods. In this experimental study, rats with diabetes were divided into six groups: healthy control, diabetic control, diabetic-metformin, diabetic-Spirulina 100 mg/dL, diabetic-Spirulina 200 mg/dL, and healthy control-Spirulina 200 mg/d. At the end of the study (28 days), the blood samples were collected, and the fasting blood glucose (FBG), triglycerides (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), malondialdehyde (MDA), and total antioxidant capacity (TAC) were determined.

Results. Significant reductions ($P<0.001$) were found in serum level of FBG in Metformin and Spirulina 100 mg/kg compared with diabetic control group. The groups were different regarding the serum levels of HDL-C post-intervention. ANOVA analysis also showed significant differences between the Spirulina 100 mg/kg or Metformin group and diabetic control group regarding the serum level of MDA ($P<0.05$).

Conclusion. Spirulina at a dose of 100 mg/kg may have contributed to controlling the fasting blood glucose and oxidative stress.

Practical Implications. Our study results suggested that Spirulina, as a promising agent, at lower doses may have been considered as a functional food for the management of diabetes mellitus.

How to cite this article: Zare Javid A, Razmi HR, Mard SA, Tankarami Bagheri Nejad S. The effects of spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation on serum sasting blood glucose, lipid parameters, and oxidative stress markers in male rats with type 2 diabetes. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2024; 46(4): 371-381. doi: 10.34172/mj.2024.040. Persian.

*Corresponding author; Email: somayeh.baghery@gmail.com

© 2024 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Background

Diabetes mellitus is characterized by either insulin deficiency or impaired insulin function leading to hyperglycemia and glucose intolerance. Around 415 million people suffer from type 2 diabetes mellitus (T2DM) worldwide, and it is estimated to rise to 700 million by 2045.

Diabetes mellitus causes altered lipid metabolism, non-enzymatic glycation of proteins, and changes in the basement membrane composition, thereby playing an important role in the secondary complications. Therefore, normalizing the serum levels of blood glucose can delay or even retard the progression of diabetes. Although many factors are involved in the development and progression of diabetes, today the role of oxidative stress and free radicals in the pathogenesis of this disease has received closer attention.

Therefore, dietary antioxidants have taken on an added importance. Spirulina (*arthrospira platensis*) is a microscopic and filamentous cyanobacterium (blue-green algae) rich in protein (60-70%), vitamins (vitamin B12, in particular), provitamin A (β -carotene), C-phycoerythrin minerals, essential fatty acids including γ -linolenic acid, phenolic acids, and tocopherol which have biological properties and may be beneficial for human health. Given the above discussion, this study aimed to investigate the effects of Spirulina on glycemic, lipid parameters, and oxidative stress markers in rats with nicotinamide/Streptozotocin-induced T2DM.

Methods

A total of 71 male Wistar rats weighing 200–250 g were housed in micro-filter-top cages. All experimental protocols were performed in accordance with the Animal Care and Use Committee for Animal Investigations, and the experimental model was conducted in accordance with the relevant ethical guidelines for animal research. After the rats were fasted for a minimum of 12 hours, diabetes mellitus was induced by intraperitoneal injection of a single dose of streptozotocin (STZ) (Sigma-Aldrich-S0130) at 50

mg/kg followed by an injection of nicotinamide (NA) (Sigma-Aldrich-PHR1033) at 100 mg/kg after 15 minutes. Blood samples were collected adopting tail blood sampling, and serum levels of glucose were measured using glucometer (Elegance). Animals with a blood glucose value of >300 mg/dL were considered to be diabetic and included in the study.

The animals were randomly divided into six groups (n=14) as follows:

- Healthy control group: the non-diabetic control group received distilled water in the form of a gavage, and normal saline in the form of an intraperitoneal injection;
- DC group: diabetic control group (DC) which was treated with distilled water;
- DC-Metformin: diabetic-metformin (DC-Metformin) which was treated with metformin (Sigma-Aldrich, D150959) at 10 mg/kg body weight (BW);
- DC-Spirulina100: diabetic spirulina 100 (DC-spirulina100) which was treated with Spirulina at 100 mg/kg BW;
- DC-Spirulina200: diabetic spirulina 200 (DC-spirulina200) which was treated with Spirulina at 200 mg/kg BW (GSE, PZN:04888643, Germany);
- C-Spirulina200: control spirulina which was treated with Spirulina at 200 mg/kg.

The animals received oral gavage treatment for 28 days, starting 72 h after the injection of STZ-NA. All rat groups continued to eat their usual diet while receiving treatment. The rat diet consisted of corn, oats, wheat, soy, Calcium Carbonate, as well as required vitamins and minerals.

At the end of the 28th day of the study, blood samples were taken from the rats after anesthesia, and the serum was stored at -80°C . Analyses were carried out at the laboratory of the Diabetes Research Center, Health Research Institute, AJUMS. Serum levels of triglyceride (TG), total cholesterol (TC), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were determined using the enzymatic method (Pars Azmun Co, Iran) through an auto-analyzer (BT 3000).

Malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (TAC) were measured using commercially available kits (Zellbio GmbH, Deutschland) based on colorimetric methods. The data were analyzed using version 22 of the Statistical Package for Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL).

Results

The serum levels of FBG were significantly higher in groups 2, 4, and 5 (817 ± 54.72 , 395.5 ± 48.87 , and 618 ± 71.72 mg/dL, respectively) compared with those in rats from healthy control group (105 ± 21.51 mg/dL). The serum levels of glucose in STZ-NA-induced rats with diabetes were significantly decreased after a daily administration of Spirulina for 28 days at 100 mg/kg BW compared with the dose of 200 mg/kg BW ($P<0.001$). The effect was similar to that observed in metformin group (10 mg/kg BW). Unexpectedly, the rats in the DC-Spirulina200 group exhibited higher FBG levels compared to those in the DC-Spirulina100 group and the DC-Metformin group, with values of 141 ± 618.72 and 188 ± 5.87 , respectively. A significant reduction was observed in the TC level in groups treated with Metformin or Spirulina compared with the diabetic control group. According to our study results, moreover, HDL was significantly increased in the C-Spirulina 200 group compared with other diabetic groups. No significant difference was detected in the serum level of TG after a treatment

with Spirulina at both the doses of 100 and 200 mg/kg BW. The level of MDA was significantly reduced in rats with diabetes after the administration of high-dose of Spirulina (200 mg/dl) or metformin compared with that in diabetic control group ($P<0.05$). Furthermore, the level of TAC was increased in the diabetic control group compared with healthy control group (1.41 ± 0.50 , 0.89 ± 0.51 , $P=0.021$), while no significant difference was found between the rats treated with Spirulina and the rats from diabetic control group ($P>0.05$).

Conclusion

It was concluded that Spirulina at the dose of 100 mg/kg BW may have exerted beneficial effects on the serum glucose levels in a rat model NA-STZ-induced T2DM. TC and HDL levels were improved in diabetic and healthy rats, respectively, after four weeks of Spirulina administration. Furthermore, Spirulina at a dose of 100 mg/kg BW demonstrated its antidiabetic effect by reducing the lipid peroxidation product (MDA). However, no significant differences were observed between the control group and the groups supplemented with Spirulina in terms of the serum levels of TAC. It was also revealed that Spirulina, as a functional food, at lower doses may have been considered as a promising agent for the management of diabetes mellitus.

اثر مکمل اسپیرولینا (*Arthrospira platensis*) بر گلوکز خون ناشتا، پارامترهای لیپیدی و نشانگرهای استرس اکسیداتیو در رت‌های نر مبتلا به دیابت نوع ۲

احمد زارع جاوید^{۱*}، حمیدرضا رزمی^۲، سیدعلی مرد^۳، سمیه تنکرمی باقری نژاد^{۴*}

^۱مرکز تحقیقات تغذیه و بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
^۲گروه علوم تغذیه، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
^۳کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
^۴مرکز تحقیقات دیابت، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
^۵مرکز تحقیقات دستگاه گوارش و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران

چکیده

زمینه. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که اسپیرولینا دارای خواص بیولوژیکی بوده و برای سلامت انسان مفید است. از همین رو مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات اسپیرولینا بر میزان قند سرمی، پارامترهای لیپیدی و برخی از فاکتورهای استرس اکسیداتیو در رت‌های آزمایشگاهی مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شد.
روش کار. در مطالعه تجربی حاضر رت‌های مبتلا به دیابت به شش گروه کنترل سالم، کنترل دیابتی، دیابتی-متفورمین، دیابتی-اسپیرولینا ۱۰۰ mg/kg، دیابتی-اسپیرولینا ۲۰۰ mg/kg و شاهد-اسپیرولینا ۲۰۰ mg/kg تقسیم شدند. دوره مداخله به مدت ۲۸ روز ادامه یافت. در پایان مطالعه نمونه خون از قلب رت‌ها جمع‌آوری و سطوح قند خون ناشتا (FBG)، تری‌گلیسرید (TG)، کلسترول تام (TC)، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL-C)، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) اندازه‌گیری شد.
یافته‌ها. کاهش معنی‌داری در سطح سرمی FBG در گروه‌های دیابتی-متفورمین و دیابتی-اسپیرولینا ۱۰۰ در مقایسه با گروه کنترل دیابتی مشاهده شد ($P < 0.001$). همچنین سطح سرمی HDL-C نیز در گروه کنترل-اسپیرولینا ۲۰۰ mg/kg به طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها به غیر از گروه کنترل سالم بود. آنالیز ANOVA تفاوت معنی‌داری را بین گروه دیابتی-اسپیرولینا ۱۰۰ و دیابتی-متفورمین با گروه کنترل دیابتی در سطح سرمی MDA نشان داد ($P < 0.05$).
نتیجه‌گیری. اسپیرولینا با دوز ۱۰۰ mg/kg می‌تواند در کنترل قند خون ناشتا و استرس اکسیداتیو نقش داشته باشد.
پیامدهای عملی. نتایج ما نشان می‌دهد که دوزهای پایین اسپیرولینا یک عامل امیدوارکننده به عنوان یک ماده غذایی کاربردی برای مدیریت دیابت است.

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۲/۷/۹
پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۴
انتشار برخط: ۱۴۰۳/۶/۳

کلیدواژه‌ها:

- اسپیرولینا پلاتنسیس
- دیابت شیرین
- گلوکز خون
- پارامترهای لیپیدی
- استرس اکسیداتیو

مقدمه

سکته مغزی، یا میکروواسکولار (نوروپاتی، رتینوپاتی و نفروپاتی) و یا هر دوی این عوارض با هم (پای دیابتی) باشد.^۳ دیابت شیرین باعث تغییر متابولیسم چربی‌ها، گلیکاسیون غیر آنزیمی پروتئین‌ها و تغییر در ترکیب غشای پایه می‌شود که نقش مهمی در عوارض ثانویه دارد.^۴ از همین رو، کنترل سطح سرمی گلوکز خون می‌تواند پیشرفت دیابت و عوارض آن را به تأخیر بیندازد.^۵ درمان جامع دیابت شامل آموزش به بیمار، تغذیه سالم، کنترل وزن، فعالیت فیزیکی، کنترل قندخون توسط خود بیمار و در صورت لزوم استفاده از داروهای ضدهیپرگلیسمی می‌باشد.^{۶،۷} از طرفی با توجه

دیابت بیماری است که با افزایش قند خون (هیپرگلیسمی) و عدم تحمل گلوکز به علت کمبود انسولین و یا نقص عملکرد انسولین و یا هر دو مورد مشخص می‌شود.^۱ حدود ۴۱۵ میلیون نفر در سراسر جهان از دیابت نوع ۲ (T2DM) رنج می‌برند و تخمین زده می‌شود که تا سال ۲۰۴۵ این عدد به ۷۰۰ میلیون نفر برسد.^۲ دیابت یک بیماری مزمن است که می‌تواند به عوارض جدی و طولانی‌مدت منجر شود. عوارض دیابت ممکن است ماکروواسکولار (بیماری عروق کرونر قلب، بیماری عروق محیطی و

* نویسنده مسئول: ایمیل: somayeh.bagheri@gmail.com

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کپی‌رایت کامنز 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

بررسی اثر احتمالی اسپیرولینا (*S. Platensis*) بر پارامترهای بیوشیمیایی مانند سطح قند خون ناشتا (FBG)، تری گلیسرید (TG)، کلسترول تام (TC)، لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL-C)، مالوندی آلدئید (MDA) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC) در سرم رت‌های بزرگ آزمایشگاهی مبتلا به T2DM القاء شده به وسیله استرپتوزوتوسین- نیکوتین امید طراحی شده است.

روش کار

در مجموع ۸۴ رت صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم از خانه حیوانات مرکزی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز تهیه و تمام پروتکل‌های آزمایشی و مدل تجربی بر اساس راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز انجام شد (کد اخلاق IR.AJUMS.REC.1396.291). پس از حداقل ۱۲ ساعت ناشتا بودن، دیابت با تزریق داخل صفاقی ۵۰ mg/kg استرپتوزوتوسین (STZ) (Sigma-Aldrich-S0130) و تزریق ۱۰۰ mg/kg نیکوتین امید (NA) القاء شد.^{۱۸} نمونه خون از دم رت‌ها گرفته و سطح گلوکز خون به وسیله گلوکومتر (Elegance) اندازه‌گیری شد. حیوانات با مقدار FBG بیش از ۳۰۰ mg/dl به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. علائم پریشوری و پرادراری در حیوانات به صورت بارز مشاهده شد و به همین دلیل سعی شد بیش از ۵ عدد رت در قفس‌های سایز بزرگ نگهداری نشوند. حجم نمونه بر اساس مطالعه موگا و همکاران^{۱۹} و احتمال مرگ و میر و کاهش پراکندگی داده‌ها در هرگروه ۱۴ در نظر گرفته شد اما به دلیل القاء دیابت در برخی از گروه‌ها تعدادی از رت‌ها در طول مطالعه مردند و از مطالعه خارج شده و تعداد پایانی رت‌ها به شرح زیر بود:

گروه کنترل سالم: گروه کنترل غیردیابتی که آب مقطر بصورت گاوژ و نرمال سالین بصورت صفاقی دریافت کردند (۱۴ سر).
گروه دیابتی: گروه کنترل دیابتی که با آب مقطر تیمار شدند (۱۰ سر).

گروه دیابتی-متفورمین: متفورمین دیابتی که با ۱۰ mg/kg متفورمین (Sigma-Aldrich, D150959) درمان شدند (۱۲ سر).
گروه دیابتی-اسپیرولینا ۱۰۰: رت‌های مبتلا به دیابت که با ۱۰۰ mg/kg اسپیرولینا (GSE, PZN:04888643، آلمان) تیمار شدند (۱۱ سر).

گروه دیابتی-اسپیرولینا ۲۰۰: رت‌های مبتلا به دیابت که با ۲۰۰ mg/kg اسپیرولینا تحت درمان قرار گرفتند (۱۰ سر).
گروه شاهد-اسپیرولینا ۲۰۰: رت‌های سالمی که با ۲۰۰ mg/kg اسپیرولینا تحت درمان قرار گرفتند (۱۴ سر).

به اینکه امروزه نقش استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز این بیماری بیشتر مورد توجه قرار گرفته است،^۸ آنتی‌اکسیدان‌های غذایی نیز می‌توانند از اهمیت ویژه‌ای در روند کنترل و درمان این بیماری برخوردار باشند.^۹ اسپیرولینا (*Arthrospira Platensis*) یک سیانوباکتری میکروسکوپی و رشته‌ای (جلبک سبز آبی) غنی از پروتئین ۶۰-۷۰ درصد و ویتامین‌ها به ویژه ویتامین B12، پروویتامین A (β -کاروتن)، اسیدهای چرب ضروری از جمله اسید γ -لینولنیک، اسیدهای فنولیک و توکوفرول می‌باشد که دارای خواص بیولوژیکی هستند.^{۱۰} شواهد فزاینده نقش مکمل اسپیرولینا را در بهبود پاسخ گلیسمی پس از غذا، دیس لیپیدی و نشانگرهای آترواسکلروزی در بیماران مبتلا به دیابت نشان می‌دهد.^{۱۱، ۱۲} در یکی از مطالعات انجام شده بر روی رت‌های مبتلا به دیابت، دیده شد که مصرف اسپیرولینا می‌تواند منجر به بهبود سطوح برخی از مواد معدنی کمیاب مانند کروم، منیزیم، وانادیم، روی، منگنز، مولیبدن و سلنیوم شود.^{۱۳} این عناصر کمیاب در فعالیت‌های مختلف بدنی ضروری هستند و می‌توانند در پاتوژنز دیابت نیز تأثیرگذار باشند. گفته شده که عناصری همچون کروم، منیزیم، وانادیم، روی، منگنز، مولیبدن و سلنیوم می‌توانند با پروتئینه کردن انسولین در بهبود سطح قندخون موثر باشند. از طرفی عنصر روی می‌تواند در سنتز و ذخیره‌سازی انسولین نقش داشته و از یکپارچگی ساختاری آن محافظت کند.^{۱۳}

همچنین مطالعات حیوانی متعددی نیز گزارش کرده‌اند که گونه‌های اسپیرولینا می‌توانند با تنظیم چربی خون، اثرات آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد نقش قابل توجهی در کاهش عوارض ناشی از داروها و مواد شیمیایی داشته باشند.^{۱۳} با این حال در مطالعاتی که اثر اسپیرولینا بر دیابت را بررسی کرده‌اند، کمتر به اثر آنتی‌اکسیدانی آن بر استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت پرداخته‌اند. از طرفی با توجه به اینکه اسپیرولینا تغییرات بافتی بسیاری را در بافت کبد، کلیه، بیضه و همچنین تغییرات بیوشیمیایی به روشی وابسته به دوز ایجاد می‌کند،^{۱۴} تعیین دوز مؤثر اسپیرولینا اهمیت زیادی می‌تواند داشته باشد در صورتی که بسیاری از مطالعات گذشته تأثیر همزمان دوزهای مختلف اسپیرولینا بر روی رت‌های مبتلا به دیابت و سالم و مقایسه آن با متفورمین را ارزیابی نکرده‌اند.^{۱۵-۱۷}

از همین رو با توجه به محدود بودن مقالات در این زمینه و عدم شناخت مناسب فعالیت‌های بیولوژیک اسپیرولینا در زمینه دیابت و از طرفی نظر به اهمیت بهره‌بردن از منابع طبیعی با کمترین عوارض جانبی در مدیریت بیماری‌ها و شیوع بالای دیابت و مرگ و میر ناشی از عوارض این بیماری، این مطالعه با هدف

داشتند (به ترتیب: $618 \pm 141/72$ در برابر $395/5 \pm 188/87$) (جدول ۲).

همچنین در نتایج این مطالعه دیده شد که سطح TC در گروه‌های تحت درمان با اسپیرولینا به طور معنی‌داری کمتر از گروه دیابتی می‌باشد ($60/6 \pm 80/10$ mg/dl و $57/8 \pm 08/30$ mg/dl برابر $71/8 \pm 28/07$ mg/dl) (جدول ۲). از طرفی سطح سرمی HDL در گروه شاهد-اسپیرولینا ۲۰۰ نسبت به سایر گروه‌های دیابتی افزایش معنی‌داری داشت ($P > 0/05$) (جدول ۲). با این وجود تفاوت معنی‌داری در سطح سرمی TG پس از درمان با اسپیرولینا در هر دو دوز 100 و 200 mg/kg نشد (شکل ۳).

همچنین سطح MDA در رت‌های گروه دیابتی-اسپیرولینا 100 و یا دیابتی-متفورمین و رت‌های گروه شاهد-اسپیرولینا 200 به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیابتی کمتر بود ($P > 0/05$) (شکل ۱).

علاوه بر این، سطح TAC در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل دیابتی به طور معنی‌داری بالاتر بود ($1/41 \pm 0/50$ L/mmol)، در حالی که تفاوت معنی‌داری در سطوح سرمی TAC بین رت‌های صحرایی تیمار شده با اسپیرولینا با سایر گروه‌ها وجود نداشت ($P < 0/05$) (شکل ۲).

جدول ۱. ترکیبات موثر اسپیرولینای گاوژ شده در هر 100 گرم

۳۷۳	انرژی (کیلوکالری)
۶/۹۰	چربی (گرم)
۲/۹۱	اسیدچرب اشباع (گرم)
۳/۷۰	کربوهیدرات (گرم)
۰/۳۲	قند (گرم)
۸/۱۲	فیبر (گرم)
۷۰	پروتئین (گرم)
۱/۴۰	نمک (گرم)
۶۶/۶۶	آهن (میلی‌گرم)
۸۳/۳۳	ویتامین B12 (میکروگرم)
۴۱۰	کارتنوتئوئیدها (میلی‌گرم)
۱۲۰۳	کلروفیل a (میلی‌گرم)
۱۲۲۰۰	فیکوسیانین (میلی‌گرم)

حیوانات از طریق گاوژ خوراکی به مدت ۲۸ روز از ۷۲ ساعت پس از تزریق STZ-NA تحت درمان قرار گرفتند. رت‌ها در تمام گروه‌ها به مصرف رژیم غذایی معمول خود در حین درمان ادامه دادند. رژیم غذایی رت‌ها شامل ذرت، جو، گندم، سویا، کربنات کلسیم، ویتامین‌ها و مواد معدنی مورد نیاز بود. همچنین ترکیبات موثر اسپیرولینای تزریقی توسط گاوژ در جدول ۱ گزارش شده است. در پایان روز بیست و هشتم مطالعه، پس از بیهوشی، از قلب رت‌ها نمونه خون گرفته شده و پس از جداسازی سرم در دمای 80^- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.^{۲۰} سطوح سرمی TG، TC و HDL-C با استفاده از روش آنزیمی (شرکت پارس آزمون، ایران) از طریق اتوآنالایزر (BT 3000) تعیین شد. همچنین سطوح سرمی MDA و TAC از طریق کیت‌های تجاری موجود (Zellbio Deutschland, GmbH) بر اساس روش‌های رنگ سنجی اندازه‌گیری شدند. داده‌ها با نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ آنالیز گردیده؛ بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون Kolmogrove Smirnov انجام شد. پس از تعیین وضعیت نرمال بودن توزیع داده‌ها، آزمون‌های مناسب انتخاب و تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام شد. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شده‌اند. از آنجایی که توزیع داده‌ها نرمال بودند، از آزمون پارامتری One way ANOVA جهت مقایسه بین گروهی میانگین‌ها استفاده گردید و در صورت مشاهده معناداری، برای مقایسه، از آزمون‌های تعقیبی Post Hoc Pairwise LSD و Scheffe استفاده شد و سطح معناداری $P > 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

سطوح سرمی FBG در گروه دیابتی، دیابتی-اسپیرولینا 100 و دیابتی-اسپیرولینا 200 (به ترتیب $817 \pm 54/72$ mg/dl، $395/5 \pm 48/87$ و کنترل سالم ($105 \pm 21/51$ mg/dl) بود (جدول ۲).

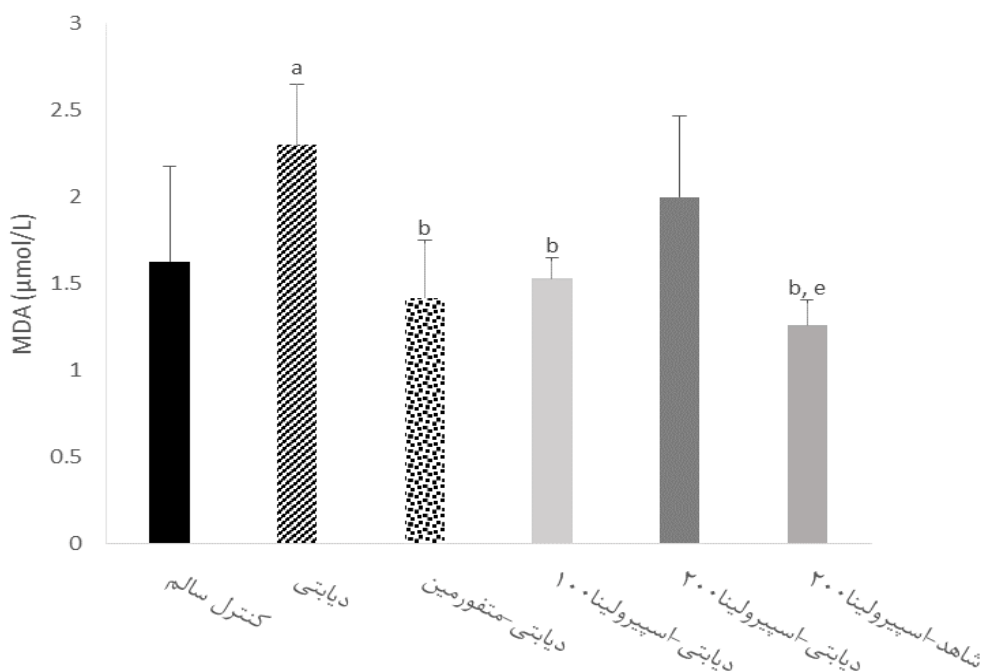
همچنین مشاهده شد که سطح سرمی FBG در رت‌های گروه دیابتی-اسپیرولینا 100 ، به طور معنی‌داری کمتر از گروه دیابتی-اسپیرولینا 200 بود (به ترتیب، $395/48 \pm 5/87$ mg/dl در برابر $618 \pm 71/72$ mg/dl) ($P > 0/001$). همچنین اثر مشابهی نیز در گروه متفورمین (10 mg/kg) مشاهده شد. با این حال، برخلاف تصور رت‌های گروه دیابتی-اسپیرولینا 200 ، FBG بالاتری نسبت به رت‌های گروه دیابتی-اسپیرولینا 100 و یا گروه دیابتی-متفورمین

جدول ۲. مقادیر سطوح سرمی داده‌های آزمایشگاهی پس از مداخله در گروه‌ها

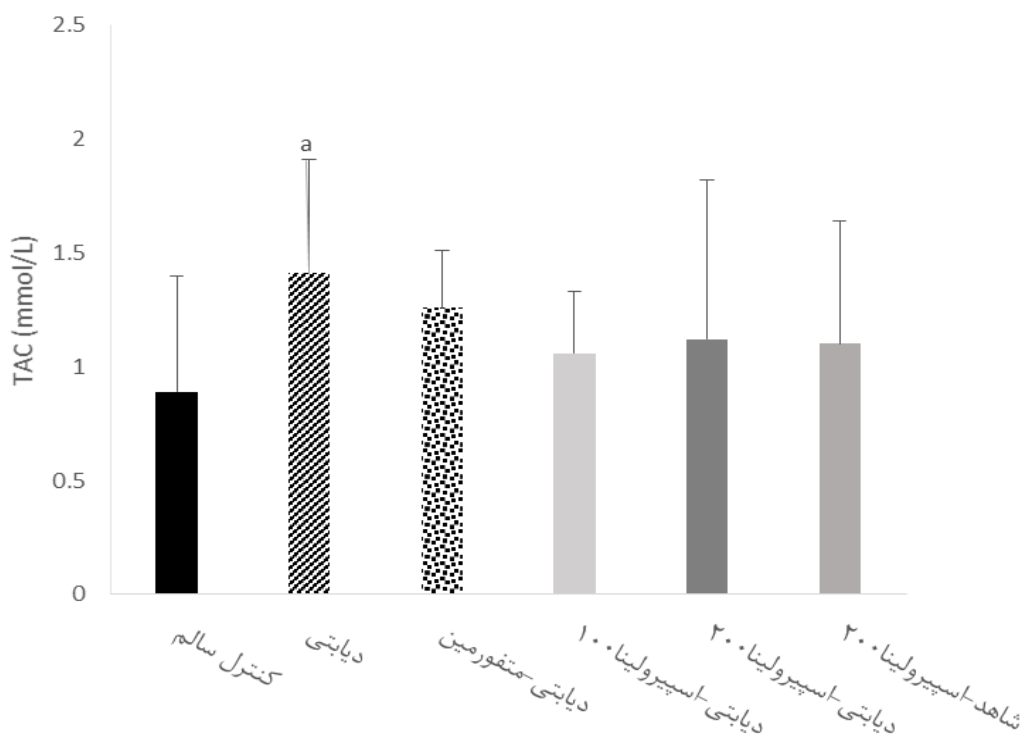
P	گروه شاهد- اسپیرولینا ۲۰۰	گروه دیابتی- اسپیرولینا ۲۰۰	گروه دیابتی- اسپیرولینا ۱۰۰	گروه دیابتی- متفورمین	گروه دیابتی	گروه کنترل سالم	متغیرها
	(انحراف معیار+ میانگین)	(انحراف معیار+ میانگین)	(انحراف معیار+ میانگین)	(انحراف معیار+ میانگین)	(انحراف معیار+ میانگین)	(انحراف معیار+ میانگین)	
*.۰/۰۰۱>	cde ۱۱۶/۳۲±۲۹/۶۶	acd ۱۴۱±۶۱۸/۷۲	b ۳۹۵/۱۸۸±۵/۸۷	b ۳۰۶/۱۴۵±۳۳/۶۸	a ۲۳۴±۸۱۷/۷۲	۲۱±۱۰۵/۵۱	FBG (mg/dL)
*.۰/۰۰۳	۶۳/۹±۰۱/۹۳	b ۵۷/۸±۰۸/۳۰	b ۶۰/۶±۸۰/۱۰	b ۵۷/۵±۷۷/۵۸	۷۱/۸±۲۸/۰۷	۶۳/۱۰±۶/۸۳	TC (mg/dL)
۰/۵۳۱	۵۳/۱۹±۷۱/۸۲	۷۱/۲۷±۶۶/۰۸	۵۴/۲۱±۲۰/۱۵	۵۹/۲۳±۷۷/۸۰	۵۴/۲۲±۱۴/۴۴	۵۲/۱۴±۶/۰۹	TG (mg/dL)
*.۰/۰۰۶	bcde ۴۸/۱۲±۵۷/۵۰	۳۳/۶±۴۱/۱۰	۳۴/۱۰±۲۰/۴۳	۳۴/۳±۸۸/۴۰	۳۴/۹±۸۵/۳۳	۴۰/۸±۲۰/۷۷	HDL-C (mg/dL)

FBG: قند خون ناشتا، TC: کلسترول تام، TG: تری گلیسرید، HDL-C: لیپوپروتئین با چگالی بالا داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار (SD) بیان شده‌اند. تفاوت بین گروه‌ها پس از مداخله براساس One way ANOVA گزارش شده است. ($P < 0.05$) معنادار در نظر گرفته شد.

- a. نتیجه معنی‌دار (Post Hoc Pairwise LSD): گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل سالم
 b. نتیجه معنی‌دار (Post Hoc Pairwise LSD): گروه‌ها در مقایسه با گروه دیابتی
 c. نتیجه معنی‌دار (Post Hoc Pairwise LSD): گروه‌ها در مقایسه با گروه دیابتی-متفورمین
 d. نتیجه معنی‌دار (Post Hoc Pairwise LSD): گروه‌ها در مقایسه با گروه دیابتی-اسپیرولینا ۱۰۰
 e. نتیجه معنی‌دار (Post Hoc Pairwise LSD): گروه‌ها در مقایسه با گروه دیابتی-اسپیرولینا ۲۰۰



شکل ۱. بررسی اثر اسپیریولینا بر سطح MDA با استفاده از آزمون One way ANOVA و آزمون‌های تعقیبی Scheffe و LSD تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل سالم
 b. تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در مقایسه با گروه دیابتی
 e. تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در مقایسه با گروه دیابتی-اسپیرولینا ۲۰۰



شکل ۲. بررسی اثر اسپیرولینا بر سطح TAC با استفاده از آزمون One way ANOVA و آزمون‌های تعقیبی Scheffe و LSD. تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل سالم^a.

بحث

ما دریافتیم که تجویز خوراکی اسپیرولینا به مدت ۲۸ روز، با دوز ۱۰۰ mg/kg به طور قابل توجهی سطوح سرمی FBG را در رت‌های دیابتی ناشی از STZ-NA در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش می‌دهد. باین‌حال، هیچ تغییر قابل توجهی پس از دوز بالاتر (۲۰۰mg/kg) مشاهده نشد، از همین رو به نظر نمی‌رسد که اثر کاهنده اسپیرولینا بر FBG وابسته به دوز باشد. از طرفی با توجه به رابطه U شکل بین دوزهای اسپیرولینا و سطح FBG، احتمال دارد که تأثیر اسپیرولینا بر گلوکز خون دارای حد اشباع باشد. همچنین، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پس از مداخله با اسپیرولینا در رت‌های صحرایی مبتلا به دیابت، اسپیرولینا توانست به عنوان یک ماده غذایی موثر در جلوگیری از افزایش TC نقش مثبتی داشته باشد. بر خلاف TC، سطوح سرمی TG و HDL در محدوده طبیعی بود و در گروه‌های دیابتی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. اثرات ضددیابتی و کاهندگی اسپیرولینا بر روی کلسترول در چندین مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است.^{۱۷،۵۰} در مطالعه‌ای که جوونتینو و همکاران^۱ انجام دادند، نشان داده شد که تجویز خوراکی اسپیرولینا به مدت ۵ و ۱۰ روز، در دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg، به‌طور قابل توجهی FBG، TG و TC را کاهش داد. علاوه بر این، آندریکا و همکاران^۵ گزارش کردند که تجویز

۱۰۰mg/kg اسپیرولینا به مدت ۲۸ روز اثر ضد دیابتی قابل توجهی در رت‌های دیابتی ناشی از آلوکسان دارد. بررسی بافت‌شناسی رت‌های دیابتی تحت درمان با آلوکسان نشان داد که رژیم غذایی غنی‌شده با اسپیرولینا به مدت ۲۱ روز باعث بهبود هیپرگلیسمی و اختلالات چربی خون می‌شود.^{۱۷} همچنین در مطالعات انسانی نیز اثرات مثبتی از اسپیرولینا بر روی اختلالات قندی و چربی دیده شد.^{۲۱-۲۳} یکی از مکانیسم‌های اثرگذاری اسپیرولینا بر قند خون ممکن است ناشی از محتوای فیبر زیاد اسپیرولینا باشد. همچنین پروتئین در اسپیرولینا نیز می‌تواند در ترشح انسولین نقش داشته باشد.^{۲۴،۲۵} اسپیرولینا حاوی اسیدهای گاما لینولنیک، فیبر و C-phycoyanin است که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و مهار رادیکال است.^{۲۵} ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی اسپیرولینا از دیگر مکانیسم‌های احتمالی اثرات هیپوگلیسمی و کاهش چربی خون است.^{۲۱، ۲۲} اثرات مهار اسپیرولینا بر لیپوپروتئین لیپاز و تری-گلیسیرید لیپاز کبدی نیز ممکن است مسئول اثرات کاهش چربی خون باشد.^{۲۵} اثر سینرژیستی آنتی‌اکسیدانی‌ها در پلاسمای انسانی، محافظت بیشتری نسبت به یک آنتی‌اکسیدان به‌تنهایی فراهم می‌کند.^{۲۶} در مطالعه حاضر، فعالیت تام آنتی‌اکسیدانی پلازما به دلیل توانایی ثابت شده آن برای مقاومت در برابر استرس اکسیداتیو، اندازه‌گیری شد.^{۲۷}

مقاومت به انسولین (HOMA-IR)، هموگلوبین A1C (HbA1C) و نشانگرهای التهابی را اندازه‌گیری نکردیم که می‌تواند در مطالعات آینده در نظر گرفته شود. علاوه بر این، هیپرلیپیدمی به عنوان یک عارضه دیابت ملیتوس در طول زمان ایجاد می‌شود، بنابراین توصیه می‌شود که طول مدت مطالعات آینده برای بررسی اثرات اسپیرولینا بر روی پارامترهای لیپیدی طولانی شود.

قدرانی

نویسندگان از مرکز تحقیقات تغذیه و اختلالات متابولیک و خانه حیوانات مرکزی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز تشکر می‌کنند.

مشارکت پدیدآورندگان

در مطالعه حاضر احمد زارع‌جاوید ایده‌پردازی و طراحی مطالعه را انجام داده است، حمیدرضا رزمی در تحلیل و تفسیر داده‌ها همکاری کرده است، سمیه تنکرانی باقری‌نژاد در جمع‌آوری داده‌ها نقش داشته است و همچنین سمیه تنکرانی باقری‌نژاد و سیدعلی مرد در نوشتن دست نوشته همکاری داشته‌اند. علاوه بر این تمام نویسندگان در ویرایش دست نوشته همراهی کرده‌اند.

منابع مالی

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز انجام شد (شماره طرح تحقیقاتی مصوب ۹۶۱۵-NRC-).

دسترسی پذیری داده‌ها

داده‌های مطالعه حاضر در صورت درخواست معقول از نویسنده مسؤول مطالعه ارایه می‌گردد.

ملاحظات اخلاقی

تمام پروتکل‌های آزمایشی و مدل تجربی بر اساس راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز انجام شده و از سوی کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی جندی‌شاپور اهواز با کد اخلاق IR.AJUMS.REC.1396.291 تأیید گردید.

تعارض منافع

نویسندگان اظهار می‌کنند که هیچ تعارض منافی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارند.

نتایج مطالعات نشان داد که غلظت بالای از فاکتورهای ناشی از پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع (MDA) در پلاسمای رت‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل وجود دارد که نشان می‌دهد T2DM با تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد و نشانگرهای اکسیداتیو مرتبط است. همچنین TAC پلاسمای حیوانات دیابتی نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. علیرغم TAC بالاتر، افزایش سطح استرس اکسیداتیو در پلاسمای رت‌های مبتلا به دیابت ناشی از NA-STZ در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. در راستای نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه ساوو و همکاران نیز گزارش شد که TAC در بیماران مبتلا به T2DM علی‌رغم سطوح بالای استرس اکسیداتیو (افزایش MDA) نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است.^{۲۷} همچنین، مطالعات زیادی در مورد نقش آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا انجام شده است^{۲۸،۲۹} به طوری که مطالعه کیم و همکاران نشان داد که مصرف اسپیرولینا توسط بزرگسالان سالم به مدت ۸ هفته باعث بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در نتیجه افزایش TAC و کاهش TBARS می‌شود.^{۲۸} گزارش شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسپیرولینا پلاتنسیس تا حد زیادی به فیکوسیانین C، کلروفیل، کاروتنوئید و ترکیبات فنلی آن وابسته است که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت مهار رادیکال هستند.^{۳۰} فنل‌ها مولکول‌هایی هستند که دارای حلقه بنزن هستند و می‌توانند رادیکال‌های پراکسی را برای جلوگیری از تخریب اکسیداتیو مواد آلی به دام بیندازند.^{۳۱} این تفاوت در یافته‌ها ممکن است به دلیل تفاوت در طراحی‌های بین مطالعات باشد.

نتیجه‌گیری

ما نشان دادیم که اسپیرولینا در دوز ۱۰۰ mg/kg اثرات مفیدی بر سطح FBG در رت‌های مبتلا به دیابت ناشی از NA-STZ داشت. همچنین، چهار هفته تجویز اسپیرولینا باعث بهبود سطح TC و HDL به ترتیب در رت‌های دیابتی و سالم شد. علاوه بر این، اسپیرولینا در دوز ۱۰۰mg/kg، اثر ضد دیابتی خود را با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) نشان می‌دهد. با این حال، تفاوت معنی‌داری در سطوح سرمی TAC بین گروه کنترل و گروه‌های تحت درمان با اسپیرولینا مشاهده نشد.

با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت که دوزهای پایین اسپیرولینا به عنوان یک غذای کاربردی می‌تواند یک عامل امیدوارکننده برای مدیریت دیابت در کنار سایر درمان‌ها باشد. به‌عنوان محدودیت مطالعه حاضر، ما دیگر سنجه‌های بیوشیمیایی از جمله انسولین ناشتا، ارزیابی مدل هموستاز

References

- Joventino IP, Alves HG, Neves LC, Pinheiro-Joventino F, Leal LK, Neves SA, et al. The microalga *Spirulina platensis* presents anti-inflammatory action as well as hypoglycemic and hypolipidemic properties in diabetic rats. *J Complement Integr Med*. 2012 Aug 10;9:Article 17. doi: 10.1515/1553-3840.1534
- Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and clinical practice*. 2019;157:107843. doi: 10.1016/j.diabres.2019.107843
- Amiri P, Javid AZ, Moradi L, Haghighat N, Moradi R, Behbahani HB, et al. Associations between new and old anthropometric indices with type 2 diabetes mellitus and risk of metabolic complications: a cross-sectional analytical study. *Jornal vascular brasileiro*. 2021;20: e20200236. doi: 10.1590/1677-5449.200236
- Eid S, Sas KM, Abcouwer SF, Feldman EL, Gardner TW, Pennathur S, et al. New insights into the mechanisms of diabetic complications: role of lipids and lipid metabolism. *Diabetologia*. 2019;62:1539-49. doi: 10.1007/s00125-019-4959-1
- Andrica FM, Albai O, Vaduva DB, Popescu R, Nica D, Bucuras P, et al. Evaluation of Hypoglycemic Effect of *Spirulina* in Alloxan Induced Diabetic Mice. *Rev Chim (Bucharest)*. 2016;67:984-6.
- Gonzalez D, Boggess KA, Cohen-Wolkowicz M. Lessons learned in pediatric clinical research to evaluate safe and effective use of drugs in pregnancy. *Obstetrics and gynecology*. 2015;125(4):953. doi: 10.1097/aog.0000000000000743
- Tahramuzi M, Seifi-Skishahr F, Afroundeh R, Katebi L, Farzi zadeh R. The effect of long-term strength training on serum levels of betatrophin and irisin in elderly men with type 2 diabetes. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2023;45(4):325-36. doi: 10.34172/mj.2023.036
- Khaki-Khatibi F. Relationship between serum levels of oxidants, antioxidants, inflammatory factor and nitric oxide in diabetic and non-smoker coronary artery disease patients. *Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services*. 2020;42(2):152-9. doi: 10.34172/mj.2020.031
- Sharifi R, Sharifi S, Amini N, Asgharzadeh M. The Octopine Effects on Serum Blood Glucose Level and Oxidative Stress Indices in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services*. 2020;42(1):65-72. doi: 10.34172/mj.2020.021
- Anvar AA, Nowruzi B. Bioactive properties of spirulina: A review. *Microb. Bioact*. 2021;4:134-42.
- Lympaki F, Giannoglou M, Magriplis E, Bothou DL, Andreou V, Dimitriadis GD, et al. Short-Term Effects of *Spirulina* Consumption on Glycemic Responses and Blood Pressure in Healthy Young Adults: Results from Two Randomized Clinical Trials. *Metabolites*. 2022;12(12):1180. doi: 10.3390/metabo12121180
- Hatami E, Ghalishourani SS, Najafgholizadeh A, Pourmasoumi M, Hadi A, Clark CC, et al. The effect of spirulina on type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*. 2021;20:883-92. doi: 10.1007/s40200-021-00760-z
- Nasirian F, Dadkhah M, Moradi-Kor N, Obeidavi Z. Effects of *Spirulina platensis* microalgae on antioxidant and anti-inflammatory factors in diabetic rats. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*. 2018;11:375-80. doi: 10.2147/dms0.s172104
- EL-Tantawi HG, Abozeid FS. Evaluation of the side effects of different doses of spirulina on various organs in rats: Biochemical, histological and histochemical assessment. *Egyptian Journal of Histology*. 2020;43(2):455-64. doi: 10.21608/ejh.2019.16417.1162
- Makhlouf R, Makhlouf I. Evaluation of the effect of *Spirulina* against Gamma irradiation induced oxidative stress and tissue injury in rats. *Int. J. Appl. Sci. Eng. Res*. 2012;1(2):152-64. doi: 10.6088/ijaser.0020101016
- Bashandy SA, El Awdan SA, Ebaid H, Alhazza IM. Antioxidant potential of *Spirulina platensis* mitigates oxidative stress and reprotoxicity induced by sodium arsenite in male rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016;2016: Article ID 7174351,8 pages. doi: 10.1155/2016/7174351
- Gargouri M, Magné C, El Feki A. Hyperglycemia, oxidative stress, liver damage and dysfunction in alloxan-induced diabetic rat are prevented by *Spirulina* supplementation. *Nutrition research*. 2016;36(11):1255-68. doi: 10.1016/j.nutres.2016.09.011
- Furman BL. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols*. 2021;1(4):e78.
- Muga MA, Chao JC. Effects of fish oil and spirulina on oxidative stress and inflammation in hypercholesterolemic hamsters. *BMC complementary and alternative medicine*. 2014;14(1):1-0. doi: 10.1186/1472-6882-14-470
- Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*. 2010;1(2):87. doi: 10.4103/0976-500x.72350

21. Lee EH, Park JE, Choi YJ, Huh KB, Kim WY. A randomized study to establish the effects of spirulina in type 2 diabetes mellitus patients. *Nutrition Research and Practice*. 2008;2(4):295-300. doi: 10.4162/nrp.2008.2.4.295
22. Mani UV, Desai S, Iyer U. Studies on the long-term effect of spirulina supplementation on serum lipid profile and glycated proteins in NIDDM patients. *Journal of nutraceuticals, functional & medical foods*. 2000;2(3):25-32. doi: 10.1300/j133v02n03_03
23. Serban M-C, Sahebkar A, Dragan S, Stoichescu-Hogea G, Ursoniu S, Andrica F, et al. A systematic review and meta-analysis of the impact of Spirulina supplementation on plasma lipid concentrations. *Clinical nutrition*. 2016;35(4):842-51. doi: 10.1016/j.clnu.2015.09.007
24. Parikh P, Mani U, Iyer U. Role of Spirulina in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Medicinal Food*. 2001;4(4):193-9 doi: 10.1089/10966200152744463
25. Karkos P, Leong S, Karkos C, Sivaji N, Assimakopoulos D. Spirulina in clinical practice: evidence-based human applications. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 2011;2011: Article ID 531053. doi: 10.1093/ecam/nen058
26. Bohn B, Herbst A, Pfeifer M, Krakow D, Zimny S, Kopp F, et al. Impact of physical activity on glycemic control and prevalence of cardiovascular risk factors in adults with type 1 diabetes: a cross-sectional multicenter study of 18,028 patients. *Diabetes care*. 2015;38(8):1536-43. doi: 10.2337/dc15-0030
27. Savu O, Ionescu-Tirgoviste C, Atanasiu V, Gaman L, Papacoea R, Stoian I. Increase in total antioxidant capacity of plasma despite high levels of oxidative stress in uncomplicated type 2 diabetes mellitus. *Journal of international medical research*. 2012;40(2):709-16. doi: 10.1177/147323001204000235
28. Young KW, Hyun KM. The change of lipid metabolism and immune function caused by antioxidant material in the hypercholesterolemic elderly women in Korea. *Journal of Nutrition and Health*. 2005;38(1):67-75.
29. Kumari DJ, Babitha B, Jaffar S, Prasad MG, Ibrahim MD, Khan MS. Potential health benefits of Spirulina platensis. *Int. J. Adv. Pharm. Sci*. 2011;2:417-22.
30. Ohkatsu Y, Matsuura T, Yamato M. A phenolic antioxidant trapping both alkyl and peroxy radicals. *Polymer degradation and stability*. 2003;81(1):151-6. doi: 10.1016/S0141-3910(03)00084-3