Archive of SID

فصلنامه علمی پژوهشی میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی دوره ۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۵، صفحات ۶۳ تا ۷۱

بررسی اثر پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بر تعداد سلول‌های CD_4^+ ورزشکاران به دو روش APAAP و فلوسایتومتری

سید میلاد موسوی جزائری[۱]، علی حسین خانی[۲]، الهه ابراهیمی[۳]

۱- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات گیلان، رشت، ایران

۲- گروه زیست شناسی، باشگاه پژوهشگران و نخبگان، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران

۳- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران *

تاریخ دریافت:۱۳۹٤/۱۲/۱٦
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۲۸

چکیده

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده و مشخصی هستند که در صورت مصرف سبب ارتقای سطح سلامت میزبان می‌شوند (۲). در مقالات متعددی نقش محافظت‌کننده پروبیوتیک‌ها از میکروفلور نشان داده‌شده و همچنین در بسیاری از مطالعات انجام‌شده اثر محافظت‌کننده میکروفلور در برابر بیماری‌ها بیان‌شده است (۳). مصرف دائم پروبیوتیک‌ها در کاهش میزان بروز بیماری‌های مختلف مؤثر است و یکی از عوامل ایمنی که موجب این مقاومت می‌شود، تعداد سلول‌های CD_4^+ است. همچنین پروبیوتیک‌ها موجب کاهش خستگی و بهبود شرایط روحی ورزشکاران می‌گردد. در این مطالعه اثر مصرف پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بر تعداد CD_4^+ روی ۴۰ ورزشکار داوطلب که به دو گروه تقسیم‌شده بودند صورت گرفت. در یک گروه آبمیوه پروبیوتیک حاوی 2×10^9 cfu/ml مکمل پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم* و در گروهی دیگر به‌عنوان گروه کنترل ماده پروبیوتیک (دارونما) استفاده شد. این آزمون به مدت ۸ هفته انجام شد و هر ۱۵ روز یک‌بار قبل و پس از ۲۴ h از انجام دو ۱۰۰متر خون‌گیری صورت گرفته و تعداد سلول‌های CD_4^+ اندازه‌گیری شود تا میزان این سلول در ورزشکارانی که از پروبیوتیک استفاده نمودند و ورزشکارانی که استفاده نکردند مشخص گردد. نتایج مطالعات ما نشان داد ورزشکارانی که مکمل پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* مصرف کرده بودند تعداد سلول‌های CD_4^+ بیشتری در مقایسه با گروه کنترل دارد و آب‌میوه حاوی مکمل پروبیوتیک در سیستم ایمنی آن‌ها تأثیرگذار است.

واژگان کلیدی: *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، پروبیوتیک، سیستم ایمنی، ورزشکاران، CD_4^+

* elahe.ebrahimi2012@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

لمفوسیت ها گروهی از گلبول‌های سفید خون می‌باشند که نقش مهمی را در اجرای پاسخ‌های ایمنی اختصاصی بدن بر ضد عوامل بیگانه به عهده دارند. این سلول‌ها به دو گروه تقسیم می‌شوند که شامل لمفوسیت‌های B و لمفوسیت‌های T می‌باشند. لمفوسیت‌های T نیز بر اساس مارکر سطحی‌شان به دو گروه عمده لمفوسیت های T با مارکر CD_4 و لمفوسیت های T با مارکر CD_8 تقسیم می‌شوند (۴). CD_4^+ وظیفه رهبری حمله به میکروب‌ها را دارد و از سلول‌های مؤثر در سیستم ایمنی بدن می‌باشند که

نقش مهمی در تولید آنتی‌بادی‌های اتوراکتیو و تعویض کلاس آنتی‌بادی دارند (۵, ۶). این سلول‌ها در فعال‌سازی ماکروفاژ با ترشح اینترفرون گاما، القای تولید آنتی‌بادی و واکنش‌های آلرژیک نقش دارند (۷, ۸).

سلول‌های CD_4^+ عمدتاً با فعال کردن لمفوسیت های B و یا ماکروفاژها سبب از بین بردن عوامل عفونی‌شده و سلول‌های CD_8 مستقیماً سلول‌های سرطانی یا سلول‌های آلوده به عوامل عفونی و داخل سلولی را از بین می‌برد و باعث مرگ این سلول‌ها می‌شود. سلول‌های CD_4^+ مهم‌ترین گروه سلولی تحت تأثیر توسط ویروس ایدز می‌باشد. این ویروس بااتصال به مارکرهای سطح سلول وارد این گروه از لمفوسیت ها شده و در این سلول‌ها شروع به همانندسازی می‌نماید و درنتیجه باعث از بین رفتن این سلول‌ها و کاهش تعداد آن‌ها می‌شوند (۹).

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که با تعدیل فلور میکروبی روده، اثرات مفیدی بر روی میزبان خود می‌گذارند (۱۰). افزایش ایمنی بدن و مقاومت در برابر عفونت‌ها، تولید اسیدهای آلی، ویتامین و مواد مغذی، کاهش واکنش‌های آلرژیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ازجمله اثرات پروبیوتیک‌ها است. مکانیسم اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها بر سلامتی دستگاه گوارش به‌طور کامل شناخته‌نشده است ولی به‌طورکلی، پروبیوتیک‌ها بااتصال و ساکن شدن در دستگاه گوارش باعث مهار باکتری‌های مضر و بیماری‌زا ، بهبود تعادل میکروبی روده و ارتقا عملکرد سد مخاطی و دستگاه گوارش می‌شوند (۱۱, ۱۲). پروبیوتیک‌ها باعث تحریک سیستم ایمنی سیستماتیک و مخاطی میزبان می‌شود و همچنین توانایی حذف مواد سرطان‌زا را نیز دارند (۱۳, ۱۴). پتانسیل تعدیل سیستم ایمنی توسط پروبیوتیک‌ها، استراتژی درمانی جدیدی را برای مقابله با شرایط التهابی و عفونی مطرح کرده است و امید است که بتوان در درمان و پیشگیری بیماری‌های عفونی و بیماری‌های مزمن مانند بیماری‌های التهابی روده و سایر بیماری‌ها از پروبیوتیک‌ها استفاده کرد (۱۵). همچنین پروبیوتیک‌ها موجب افزایش پاسخ ایمنی در برابر ویروس‌هایی که عامل عفونت‌های ویروسی شایع دستگاه تنفسی‌اند می‌شوند (۱۶, ۱۷). مطالعات ارتباط بین نقص عملکرد سیستم ایمنی و بروز عفونت‌های تنفسی و کاهش بازدهی افراد را نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌ها با بهبود عملکرد سیستم ایمنی و کاهش موارد ابتلا به عفونت‌های تنفسی و درنهایت افزایش سطح سلامت و کارآیی ورزشکاران می‌شود (۱۸). ماری مارگارت[1] و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که مصرف پروبیوتیک موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی و کاهش ابتلا به عفونت‌های تنفسی در افزایش سطح سلامت و کار آیی ورزشکاران مؤثر است (۱۹). ژو[2] و همکاران (۲۰۱۰) اثر *بیفیدوباکتریوم*[3] را بر سندروم خستگی و روده موردبررسی قراردادند که در آن مشخص گردید با مصرف پروبیوتیک کاهش چشمگیری در میزان ابتلا به این سندروم‌ها و دوره نقاهت افراد مبتلا مشاهده شد و فعالیت فیزیکی این افراد بهبود یافت (۲۰).

همچنین افزایش توان جسمی افراد با افزایش فعالیت قلب و عروق و اکسیژن‌رسانی مناسب ارتباط دارد و احتمال

[1] Kober
[2] Zhou
[3] *Bifidobacterium*

www.SID.ir

Archive of SID

ابتلا به عفونت‌های تنفسی را کاهش می‌دهد پس فعالیت قلب و عروق و اکسیژن‌رسانی را افزایش دهد. درنتیجه هیپوکسی در بافت‌ها و آسیب‌های ناشی از آن را کاهش می‌دهند (۲۱).

مواد و روش

گروه‌بندی و پروبیوتیک

در این مطالعه آب‌میوه پروبیوتیک حاوی ۲×۱۰^{۹} cfu/ml از سویه *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* که از شرکت تک‌ژن زیست[1] تهیه شده بود، بر عملکرد سیستم ایمنی ورزشکاران مورد ارزیابی قرار گرفت. ۴۰ ورزشکار دو مرد با محدوده سنی ۱۸ تا ۲۴ سال و میانگین وزنی ۷۸ kg به ۲ گروه مساوی تقسیم‌شده که به یک گروه یک cc ۲۰۰ آب‌میوه پروبیوتیک حاوی ۲×۱۰^{۹} cfu/ml مکمل پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*[2] و گروه دیگر cc ۲۰۰ آب‌میوه ساده (دارونما) داده شد. معیار ورود به مطالعه سلامت کامل بدنی بود. در مدت ۸ هفته گروه مورد آزمون روزانه یک لیوان آب‌میوه پروبیوتیک و گروه کنترل آب‌میوه ساده دریافت کرد. هرماه یک‌بار در زمان قبل و بعد از انجام دو ۱۰۰ متر، از هر دو گروه ml ۵ خون گرفته شد.

سنجش سلول‌های $CD_{۴}^{+}$ به روش فلوسایتومتری[3]

تعداد سلول‌های $CD_{۴}^{+}$ به روش فلوسایتومتری شمارش گردید. بدین ترتیب نمونه‌های خون در لوله‌های هپارینه جمع‌آوری و سپس سانتریفیوژ شد. لایه سلولی با پیپت پاستور جداسازی گردید و بر روی لام تثبیت و با بافر فسفات (PBS) با pH=۷ شستشو داده‌شد. تعداد آنتی‌بادی‌های مورداستفاده نمونه شاهد سلول‌ها به‌طور مساوی در لوله‌ها تقسیم گردید. سپس µl ۱۰ از آنتی‌بادی مونوکلونال ضد $CD_{۴}^{+}$ اضافه شد و نمونه‌ها در تاریکی به مدت min ۲۰ گرم‌خانه گذاری شدند. برای حذف آنتی‌بادی‌های واکنش نداده دو بار شستشو با PBS با pH=۷ صورت گرفت. از فلوروکروم ایزوتیوسیانان فلورسین (FITC) متصل به شناساگر استفاده شد که این ماده به دلیل فلورسنت بودن، طول‌موج‌های نوری جذب می‌کرد. درنهایت لوله‌های حاوی سلول‌های رنگ‌آمیزی شده و آنتی‌بادی مونوکلونال در دستگاه فلوسایتومتری FACS Calibur قرار گرفت و نتایج بر اساس درصد کل سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی(PBMC[4]) در کل سوسپانسیون گزارش شد (نمودار شماره ۲).

روش APAAP

در ابتدا از روش APAAP (آل کالین فسفاتاز ضد آل کالین فسفاتاز) استفاده شد که به این منظور اسلایدهایی به ارتفاع µl ۳ تا ۵ تهیه‌شد. سلول‌های خون بر روی اسلایدهایی پوشیده از سیلان از شرکت سیگما[5] قرار داده شد و عمل پارافین زدایی به مدت min ۵ با استفاده از زایلول صورت گرفت. پس‌ازآن شستشو در اتانول ۹۹٪ به مدت min ۵ انجام شد. سپس اسلایدها به مدت min ۵ با محلول هیدروژن پراکسید[6] ۰/۵٪ شستشو داده شد و پس‌ازآن به مدت min ۳ با متانول شستشو داده شد و سپس به مدت min ۳، اتانول ۱۰۰٪ روی آن ریخته و درنهایت به‌منظور رهیدراته شدن با آب مقطر شستشو داده شد. پس‌ازآن اسلایدها را با بافر تریس شستشو داده و عمل بازیافت[7] توسط ماکروویو و بافر سیترات انجام شد. پس از شستشوی مجدد اسلایدها با بافر تریس، آنتی‌بادی لایه اول که آنتی‌سیتوکراتین شرکت سیگما بوده روی اسلاید اضافه گردید و به مدت min ۳۰ در دمای $۳۷\ ^{o}C$ گرم‌خانه‌گذاری گردید. پس از شستشو با سرم ۵٪ انسانی به

[1] TakGene Zist
[2] *Bifidobacterium bifidum*
[3] Flow cytometry
[4] Peripheral blood mononuclear cell
[5] Sigma
[6] Hydrogen peroxide
[7] Retrieval

www.SID.ir

Archive of SID

مدت ۱۰ min و خشک شدن آن، ۱۲ µl از آنتی‌بادی مونوکلونال ضد CD_4^+ از شرکت مرک[1] اضافه گردید و به مدت ۳۰ min در دمای ۳۷°C گرم‌خانه‌گذاری شد. سپس اسلایدها با بافر PBS[2] با pH=۷ به مدت ۴ min شستشو داده‌شده و به آن ایمنوکمپلکس آل کالین فسفاتاز ضد آل‌کالین فسفاتاز[3] اضافه گردید و به مدت ۳۰ min در دمای ۳۷°C گرم‌خانه‌گذاری گردید. ۰/۱ ml تریس بافر به ۱۰ ml لوامیزول[4] اضافه گردید و درنهایت ۹/۸ ml از آن به ۲ mg نفتول AS-MX و ۰/۲ ml دی متیل فرمامید[5] اضافه شد و جهت ایجاد سوبسترا با عامل رنگی ۱۰ mg نمک تی آر قرمز[6] فیلتر شده اضافه گردید. سپس به مدت ۵ min با بافر تریس[7] شستشو داده شد. درنهایت با استفاده از میکروسکوپ نوری Nikon شمارش سلول‌های CD_4^+ صورت گرفت (شکل شماره ۱).

تحلیل آماری

پس از دریافت نتیجه حاصل از شمارش سلول‌های CD_4^+، نمودار حاصله در برنامه Graph Pad Prism ۶ برای گروه‌های کنترل و آزمون در دو روش فلوسایتومتری و APAAP برحسب Cell/µl رسم گردید.

نتایج

نتایج به‌دست‌آمده از شمارش سلول‌های CD_4^+ در افراد گروه آزمون در مقایسه با گروه کنترل نشان داد مصرف آب‌میوه پروبیوتیک در افزایش عملکرد سیستم ایمنی و همچنین تسریع سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن و افزایش توان دفاعی بدن مؤثر هستند. نتایج بررسی اثر مصرف مکمل پروبیوتیک نیز نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌ها بر تعداد سلول‌های CD_4^+ مؤثر هستند (نمودار ۱). با توجه به اعداد به‌دست آمده می‌توان دید که در افراد گروه کنترل تفاوت معناداری وجود ندارد. گروه کنترل در ماه صفر نسبت به ماه اول که از دارونما استفاده نمودند به میزان۰/۰۸٪ کاهش، در ماه اول نسبت به ماه دوم به میزان ۱/۱۳٪ افزایش دیده شد که این عدم ثبات در تعداد سلول‌های CD_4^+ می‌تواند در معرض فشارهای حاصل از تمرین باشد. اما در گروه آزمون که از آب‌میوه حاوی مکمل پروبیوتیک استفاده گردیده بود، میزان سلول‌های CD_4^+ در ماه صفر نسبت به ماه اول به میزان ۴/۳۵٪ و در ماه دوم نسبت به ماه اول به میزان ۴/۰۱٪ افزایش دیده شد.

در نهایت تعداد سلول‌های CD_4^+ ماه صفر نسبت به ماه دوم در گروه مورد آزمون به میزان ۸/۳۴٪ پیشرفت دیده شد. در نهایت پس از گذشت دو ماه، تعداد سلول‌های CD_4^+ در گروه آزمون نسبت به گروه کنترل به میزان ۹/۲٪ رشد داشته و این نشان‌دهنده آن است که پروبیوتیک در افزایش تعداد سلول‌های CD_4^+ موثر بوده و سیستم ایمنی را تقویت می نماید ($P < ۰/۰۵$).

همچنین در این آزمون از روش APAAP استفاده شد تا میزان خطای آن نسبت به روش فلوسایتومتری سنجیده شود و جایگزین شدن این روش به فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گیرد. برخلاف هزینه بالای روش فلوسایتومتری و دقت بالای آن، روش APAAP از هزینه کمتری برخوردار بوده و می‌تواند جایگزین مناسبی برای این روش باشد. با توجه به اعداد به‌دست آمده در هر دو روش، اختلاف میان این اعداد اندازه گیری گردید (جدول شماره ۱)؛ در گروه کنترل ماه صفر به میزان ۸/۴۱٪، در گروه آزمون ماه صفر به میزان ۷/۵۶٪، در گروه کنترل ماه اول ۸/۸۴٪، در گروه آزمون ماه اول ۶/۷۵٪، در گروه کنترل ماه دوم به میزان ۷/۸۶٪ و در گروه آزمون ماه دوم به میزان ۵/۴۵٪ نسبت به روش فلوسایتومتری اختلاف دیده شد ($P < ۰/۰۵$).

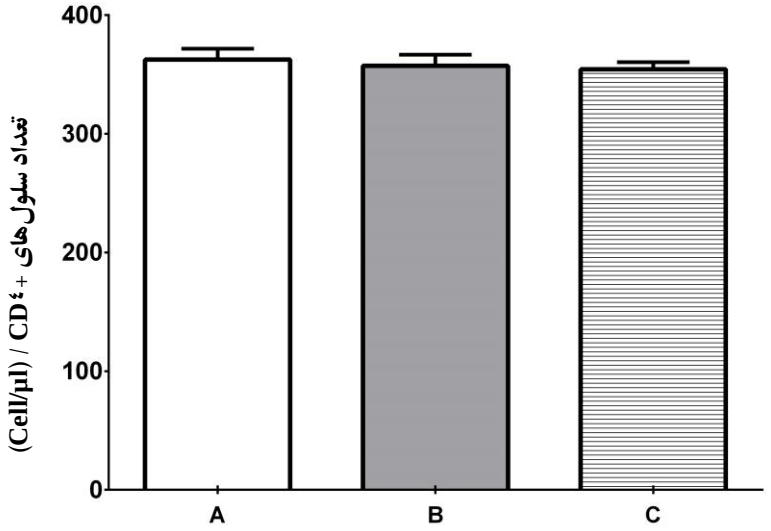
[1] Merck
[2] Phosphate-buffered saline (PBS)
[3] Alkaline phosphatase anti alkaline anti phosphatase
[4] Levamisole
[5] Dimethylformamide
[6] Red TR salt
[7] Tris Buffer

www.SID.ir

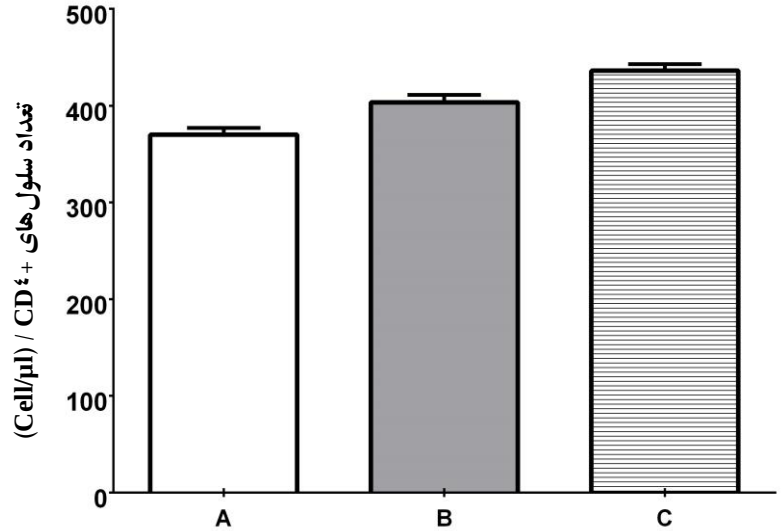
Archive of SID

جدول شماره (۱): نشان دهنده میانگین تعداد سلول های CD_4^+ در گروه های مورد آزمون و کنترل بر اساس روش فلوسایتومتری تمامی واحد ها بر اساس Cell/µl

ماه / گروه	صفر (Cell/µl)	اول (Cell/µl)	دوم (Cell/µl)
کنترل	۳۵۶/۲۳۴±۴۲/۳۶	۳۵۰/۵۶۸±۳۶/۷۸	۳۵۸/۶۵۳±۴۲/۶۳
آزمون	۳۶۴/۹۵۴±۲۵/۹۸	۳۹۸/۰۶۵±۴۰/۲۴	۴۳۱/۳۶۵±۳۷/۹۶



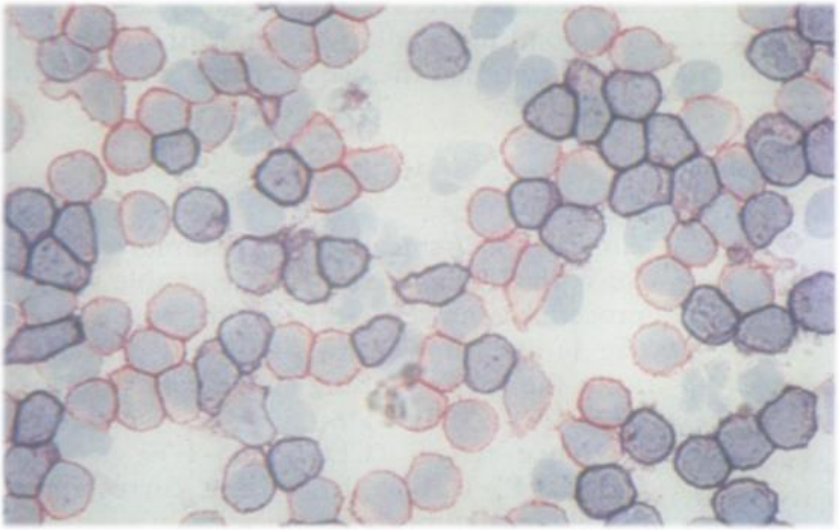
نمودار(۱): نشان دهنده میزان تغییرات سلول‌های CD_4^+ در افراد ورزشکار دو گروه کنترل دریافت کننده آب‌میوه
(A =گروه کنترل در ماه صفر، B = گروه کنترل در ماه اول، C =گروه کنترل در ماه دوم)



نمودار(۲): نشان دهنده میزان تغییرات سلول‌های CD_4^+ در افراد ورزشکار دو گروه مورد آزمون دریافت کننده آب‌میوه حاوی مکمل پروبیوتیک *بیفیدو باکتریوم بیفیدوم*
(A =گروه آزمون در ماه صفر، B = گروه آزمون در ماه اول، C=گروه آزمون در ماه دوم)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل(۱): عکس گرفته شده از سلول‌های CD_4^+ در روش APAAP توسط میکروسکوپ نوری (سلول‌های با حاشیه طوسی کمرنگ) که پس از گذشت ۲ ماه از ورزشکاران دو سرعتی که آب‌میوه حاوی مکمل پروبیوتیک مصرف کرده بودند.

بحث و نتیجه گیری

همان‌طور که در نتایج معلوم است تأثیر پروبیوتیک بر روی میزان سلول‌های CD_4^+ در ماه اول تغییر چندانی نداشته است اما پس از ماه دوم به میزان قابل‌توجهی افزایش پیداکرده است، پس می‌توان دریافت که اثر باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم‌بیفیدوم* در ماه دوم اثر بیشتری را از خود نشان داده است. به دلیل وجود استرس‌های زیاد و فشارهایی که بر روی ورزشکاران وجود دارد سیستم ایمنی آن‌ها همواره تحت تأثیر قرار می‌گیرد که این یک عامل منفی برای آن‌ها است و ممکن است به بیماری‌های گوناگون و عفونت‌ها به‌خصوص عفونت‌های تنفسی دچار شوند (۲۲).

باکتری‌های پروبیوتیک مکانیسم‌های دفاعی درونی میزبان را تقویت می‌کنند. شواهدی که اخیرا بدست آمده تحریک سیستم ایمنی اختصاصی و غیراختصاصی از جمله مکانیسم های اثر پروبیوتیک‌ها را بیان می‌کند. پروبیوتیک‌ها در سطوح متعددی بر روی سیستم ایمنی تاثیر می‌گذارند که ازجمله می‌توان به افزایش سطح سایتوکاین‌ها[1] و ایمونوگلوبولین‌ها ، افزایش تکثیر سلول‌های تک هسته‌ای، فعال کردن ماکروفاژها ، افزایش فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی، تعدیل خود ایمنی و تحریک ایمنی در برابر باکتری‌های بیماری زا و پروتوزوا اشاره کرد (۲۳). نشان داده شده است که تمامی سلول‌های باکتریایی ، تکثیر سلول‌های ایمنی را افزایش می دهند و تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند فاکتور نکروز تومورآلفا و اینترلوکین ۶ را القا می‌کنند (۲۴). پروبیوتیک‌ها سرکوب تکثیر لنفوسیت‌ها و تولید سایتوکاین‌ها توسط سلول‌های T را تحت تاثیر قرار می‌دهند. سلول‌های لمفوسیت T کمکی CD_4^+ پاسخ ایمنی را به‌وسیله فعال کردن و تنظیم سایر سلول‌ها مانند ماکروفاژها و بی‌سل‌ها[2] کنترل می‌کنند (۲۵).

اثر باکتری‌های پروبیوتیک متنوعی بر روی سیستم ایمنی مورد مطالعه قرارگرفته و نشان داده که پروبیوتیک‌ها اثرات قابل‌توجهی را بر روی سیستم ایمنی دارند (۲۶). مطالعات نشان داده است پروبیوتیک‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم بر تقویت سیستم ایمنی نقش داشته باشند و مهم‌تر از همه این‌که پروبیوتیک‌ها این اثرات مثبت را بر روی سیستم ایمنی، بدون ایجاد پاسخ التهابی مضر اعمال می‌کنند. بنابراین پروبیوتیک‌ها به‌عنوان یک روش طبیعی و سالم

[1] Cytokines

[2] B Cells

www.SID.ir

Archive of SID

می‌توانند مقاومت میزبان را به هنگام رویارویی با آسیب و استرس افزایش دهند (۲۷).

وست[1] و همکارانش(۲۰۰۹) نشان دادند که ورزشکاران با تمرینات طولانی‌مدت و شدید، دارای اختلال در ایمنی موکوسی هستند که موجب کاهش در عملکرد می‌شود (۲۸).

باوجود تأثیرات ناشی از استرس بر روی ورزشکاران، سیستم ایمنی نیز دچار تزلزل شده و ثبات خود را از دست می‌دهد و این می‌تواند ابتلا به بیماری و عفونت‌های مختلف ازجمله عفونت تنفسی را تسهیل نماید (۲۹).

در مطالعه ککونن[2] و همکاران (۲۰۰۷) تفاوت معنی داری بین گروه کنترل و تجربی گزارش نشد که بر خلاف نتایج آزمایش حاضر بوده و اختلاف آن می‌تواند بدلیل وجود گونه باکتری باشد که در آزمایش مورد استفاده قرار گرفته است (۳۰).

مالدونادو[3] و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که پروبیوتیک و غذاهای فراسودمند حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* DN- ۱۱۴۰۰۱، CRL۴۳۱ و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* CNCMI-۱۵۱۸برسلامتی و سیستم ایمنی تاثیر دارند (۳۱).

فعالیت بدنی شدید و همراه با استرس، قدرت سیستم ایمنی را کاهش می‌دهد و افراد را در برابر بیماری‌های عفونی دستگاه تنفسی آسیب‌پذیر می‌کند که اهمیت ارتقا سلامت و بازدهی ورزشکاران در جهت دستیابی به رژیم غذایی که تأمین‌کننده توان جسمی و روحی آنان باشد الزامی به نظر می‌رسد. پروبیوتیک‌ها فواید زیادی در بهبود عملکرد دستگاه گوارش و سیستم ایمنی دارند (۲۳).

همچنین از روش‌های آزمایش انجام‌شده می‌توان دریافت که روش فلوسایتومتری روشی بسیار دقیق و مطمئن است اما هزینه‌های بالایی دارد ولی روش APAAP هزینه کمتری دارد اما دقت آن در اندازه‌گیری تعداد سلول‌های CD_4^+ کم است و نیاز به‌دقت زیادی دارد.

با توجه به بررسی‌های انجام‌شده می‌توان دریافت که باکتری‌های پروبیوتیک اثرات سودبخش زیادی دارند و یکی از این اثرات تقویت سیستم ایمنی بدن است که می‌تواند با ازدیاد تعداد سلول‌های CD_4^+ این کار را انجام دهند. بنابراین باوجود استرس‌های زیادی که ورزشکاران با آن روبرو هستند، سیستم ایمنی‌اشان همواره دچار تزلزل قرار می‌گیرد و این زمینه ابتلا به بیماری و عفونت‌ها را هموار می‌سازد که مکمل آب‌میوه پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم‌بیفیدوم* می‌تواند در کاهش، پیشگیری و نیز درمان نقش به‌سزایی را داشته باشد و سیستم ایمنی ورزشکارانی را که مصرف‌کننده پروبیوتیک هستند را نسبت به ورزشکارانی که پروبیوتیک مصرف نکردند بیشتر تقویت نماید.

منابع

1.Stanton C, Gardiner G, Meehan H, Collins K, Fitzgerald G, Lynch PB, Ross RP. Market potential for probiotics. The American journal of clinical nutrition. 2001;73(2):476-482.

2.Salminen S, Bouley C, Boutron M-C, Cummings J, Franck A, Gibson G, Isolauri E, Moreau M-C, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. British journal of nutrition. 1998;80(S1):147-155.

3.Hel Z, McGhee JR, Mestecky J. HIV infection: first battle decides the war. Journal of trends in immunology. 2006;27(6):274-285.

4.Patient U. Med Library. org. Blood transfusion.90:31-45.

5.Rang H, Dale M, Ritter J, Moore P. Pharmacology. Edinburgh: Churchill Livingstone. for Noradrenalin system. 2003:476-485.

6.Coopamah MD, Garvey MB, Freedman J, Semple JW. Cellular immune mechanisms in autoimmune thrombocytopenic purpura: An update. Transfusion medicine reviews. 2003;17(1):69-81.

7.Semple JW. T cell and cytokine abnormalities in patients with autoimmune thrombocytopenic purpura. Journal of transfusion and apheresis science. 2003;28(3):237-242.

[1] West
[2] Kekkonen
[3] Maldonado

www.SID.ir

Archive of SID

8.León A, Perez I, Ruiz-Mateos E, Benito J, Leal M, Lopez-Galindez C, Rallon N, Alcami J, Lopez-Aldeguer J, Viciana P. Rate and predictors of progression in elite and viremic HIV-1 controllers.AIDS (London, England). 2016;12(5)453-462.
9.Saez-Lara MJ, Gomez-Llorente C, Plaza-Diaz J, Gil A. The role of probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria in the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and other related diseases: a systematic review of randomized human clinical trials. BioMed research international. 2015;25(12)312-415.
10.Özdemir Ö. Various effects of different probiotic strains in allergic disorders: an update from laboratory and clinical data. Journal of clinical & experimental immunology. 2010;160(3):295-312.
11.Elahi B, Nikfar S, Derakhshani S, Vafaie M, Abdollahi M. On the benefit of probiotics in the management of pouchitis in patients underwent ileal pouch anal anastomosis: a meta-analysis of controlled clinical trials. Journal of digestive diseases and sciences. 2008;53(5):1278-1284.
12.Harish K, Varghese T. Probiotics in humans–evidence based review. Journal of calicut med. 2006;4(4):412-522.
13.Rolfe RD. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. The Journal of nutrition. 2000;130(2):396-408.
۱۴.دهقان ل ,نقش پروبیوتیک‌ها در پیشگیری و درمان اسهال کودکان. کنگره بین المللی تغذیه، رشد و تکامل در نوزادان وکودکان:مجله پزشکی دانشگاه مشهد; ۲۰۱۲.
۱۵.وجدانی ر, زالی م. پروبیوتیک‌ها و مکانیسم اثر آنها در پیشگیری و درمان بیماریهای انسان. ۲۰۰۳;۴(۲۷):۳۱۹-۳۳۰.
۱۶.هانیه ا, عزیز ه‌ر. (مقاله مروری) اثر پروبیوتیک‌ها در پیش گیری و درمان بیماری های گوارشی. فصلنامه علمی پژوهشی زیست فناوری میکروبی.۱۳۸۹;۲(۴)ص۵۳-۵۹.
17.Lee Y, Salminen S. Handbook of Probiotics and Prebiotics . A John Wiley and Sons. Inc New Jersey, USA. 2009;112(18)653-665.
18.Kober M-M, Bowe WP. The effect of probiotics on immune regulation, acne, and photoaging. International Journal of Women's Dermatology. 2015;1(2):85-94.
19.Zhou X, Wang Y, Gu Q, Li W. Effect of dietary probiotic, *Bacillus coagulans*, on growth performance, chemical composition, and meat quality of Guangxi Yellow chicken. Journal of poultry science. 2010;89(3):588-599.
20.Popova M, Molimard P, Courau S, Crociani J, Dufour C, Vacon F, Carton T. Beneficial effects of probiotics in upper respiratory tract infections and their mechanical actions to antagonize pathogens. Journal of applied microbiology. 2012;113(6):1305-1317.
21.Slattery K, Bentley D, Coutts AJ. The role of oxidative, inflammatory and neuroendocrinological systems during exercise stress in athletes: implications of antioxidant supplementation on physiological adaptation during intensified physical training. Journal of sports medicine. 2015;45(4):453-467.
22.Gourbeyre P, Denery S, Bodinier M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. Journal of leukocyte biology. 2011;89(5):685-695.
23.Ma D, Forsythe P, Bienenstock J. Live *Lactobacillus reuteri* is essential for the inhibitory effect on tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 expression. Journal of infection and immunity. 2004;72(9):5308-5314.
24.Kwon H-K, Lee C-G, So J-S, Chae C-S, Hwang J-S, Sahoo A, Nam JH, Rhee JH, Hwang K-C, Im S-H. Generation of regulatory zdendritic cells and CD4+ Foxp3+ T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. Journal of proceedings of the national academy of sciences. 2010;107(5):2159-2164.
25.Pyne DB, West NP, Cox AJ, Cripps AW. Probiotics supplementation for athletes–Clinical and physiological effects. European journal of sport science. 2015;15(1):63-72.
26.Perdigon G, Alvarez S, Rachid M, Agüero G, Gobbato N. Immune system stimulation by probiotics. Journal of dairy science. 1995;78(7):1597-1606.
27.West N, Pyne D, Peake J, Cripps A. Probiotics, immunity and exercise: a review. Exerc Immunol Review. 2009;15(107):e26.
28.Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. Handbook of human stress and immunity: Academic Press; 2014.
29.Kekkonen RA, Vasankari TJ, Vuorimaa T, Haahtela T, Julkunen I, Korpela R. The effect of probiotics on respiratory infections and gastrointestinal symptoms during training in marathon runners. International journal of sport nutrition and exercise metabolism. 2007;17(4):352-363.
30.Maldonado Galdeano C, Novotny Nunez I, Carmuega E, de Moreno de LeBlanc A, Perdigon G. Role of probiotics and functional foods in health: gut immune stimulation by two probiotic strains and a potential probiotic yoghurt. Journal of endocrine, metabolic & immune disorders-drug targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders). 2015;15(1):37-45.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluating effects of probiotic juice containing *Bifidobacterium bifidum* on IgA, IgM, lymphocyte and monocyte of sprint athletes

Seyed Milad Mousavi Jazayeri[1], Ali Hossein Khani[2], Elahe Ebrahimi[3]

1- Department of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Gilan, Iran.
2- Department of Cellular and Molecular Biology, Young Researchers and Elite Club, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3- Department of Microbiology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*.

Received: 1394/12/16
Accepted: 1395/01/28

Abstract

Probiotics are live and specific microorganisms that use of them will increase the hosts health .The protective effect of probiotic on microflora against disease has been demonstrated in several studies. Continues use of probiotics are effective in reducing the incidence of various disease. The one of resistance immune factors is number of CD4+ cells. Also use of probiotics leading to reduce fatigue and improve mental health of athletes condition .In this study, investigated the effect of probiotic *Bifidobacterium bifidum* on count of CD4+ cells, in 40 volunteer athletes that were divided into 2 groups. First group use the probiotic juice contain 2×10^9 cfu/ml Bifidobacteria probiotic supplement and the other group was given a placebo as a control. This experiment was done for eight weeks and bleed them in every fifteen days after and before 24 hours for their 100 meters running then measured the number of CD4+ cells in 2 groups that mentioned. Results showed in athletes who were used supplements of probiotics *Bifidobacterium bifidum* had more number of CD4+ cells compared to the control groups, and probiotic juice is effective on their immune system.

Keyword: *Bifidobacterium bifidum*, probiotics, immune system, athletes, CD4+

* elahe.ebrahimi2012@yahoo.com

www.SID.ir