

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOĞAL KEFİR DANESİNDEN VE STARTER KEFİR
KÜLTÜRÜNDEN ÜRETİLEN KEFİRLERİN *in vivo*
BAZI İMMÜNOLOJİK ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Funda DAVRAS

**Danışman
Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2018**



© 2018 [Funda DAVRAS]

TEZ ONAYI

Funda DAVRAS tarafından hazırlanan " **Doğal Kefir Danesinden ve Starter Kefir Kültüründen Üretilen Kefirlerin *in vivo* Bazı İmmünolojik Etkilerinin Karşılaştırılması** " adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Zeynep Banu SEYDİM
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Seval KIRDAR
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



Enstitü Müdürü

Prof.Dr.Yasin TUNCER

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Funda DAVRAS



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1. Kefir.....	3
2.2. Kefir Üretimi	5
2.3. Kefir Danesi.....	6
2.4. Kefir Danesi İçinde Bulunan Probiyotik Mikroorganizmalar.....	10
2.5. İmmün Sistem ve İşlevleri	14
2.6. Probiyotik Mikroorganizmaların İmmün Sistem Üzerine Etkileri	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM	44
3.1. Kefir Üretimleri.....	44
3.2. Deney Hayvanları Deneme Deseni	44
3.3. Kefir Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizlerinin Yapılması	45
3.4. İmmünolojik Analizler	47
3.4.1. Doku örneklerinin hazırlanması.....	47
3.4.2. İmmunoglobulin A analizi	48
3.4.3. İmmunoglobulin G analizi	49
3.4.4. İnterlökin-4 analizi	50
3.4.5. İnterlökin-10 ve İnterlökin-12 analizleri	50
3.4.6. Toll Like Reseptör-4 analizi.....	51
3.5. İstatiksel Analizler.....	52
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	53
4.1. Kefir Örneklerinin Mikroflora İçeriği Sonuçları.....	53
4.2. İmmünolojik Analizlerin Sonuçları	54
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
KAYNAKLAR	63
EKLER.....	81
ÖZGEÇMİŞ.....	84

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DOĞAL KEFİR DANESİNDEN VE STARTER KEFİR KÜLTÜRÜNDEN ÜRETİLEN KEFİRLERİN *in vivo* BAZI İMMÜNOLOJİK ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Funda DAVRAS

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ

Doğal kefir danesi, kendine özgü olağanüstü bir mikrobiyotaya sahiptir. Bu yapı polisakkarit bir matriks içinde laktik asit bakterilerini (LAB), asetik asit bakterilerini ve mayaları belli oranlarda bulundurmaktadır. Gerçek kefir, kefir daneleri kullanılarak geleneksel yöntemlerle üretilmekte endüstride ise çoğunlukla kefir daneleri yerine starter kültürler kullanılmaktadır. Kullanılan bu starter kültürler kefir danesi mikrobiotasından çok farklı olup sadece bazı probiyotik mikroorganizmaları içeren fermente bir içecektir.

Projenin amacı; doğal kefir danesinden ve starter kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirlerin immün sistemi üzerine etkilerinin *in vivo* çalışmayla belirlenmesidir. Projede farklı üretilen kefirler Balb/c farelerine (6-8 haftalık, 20-25 gram, erkek) iki hafta gavaj yoluyla 300 µl/gün uygulanmıştır. Sakrifikasyon işleminden sonra doğal kefir danesi kullanılarak üretilen kefir ile beslenen farelerin (KGI grubu), starter kültür kullanılarak üretilen kefir ile beslenen farelerin (STI grubu) ve fosfat tamponlu salin (PBS) ile beslenen kontrol grubu farelerinin (CNI) bağırsak dokuları alınmıştır. Daha sonra intestinal sıvı örneklerinde İmmünoglobulin (Ig) A, İmmüoglobulin G, İnterlökin(IL)-4, İnterlökin-10, İnterlökin-12, Toll Like Reseptör (TLR) -4 analizleri yapılarak immünolojik değerlendirilmiştir.

Sakrifikasyon sonrası fare bağırsak doku örnekleri homojenize edilerek -80 °C'de depolanmıştır. CNI, KGI ve STI grubunun IgA değerleri sırasıyla 60,87; 72,78 ve 55,31 ng/mL; IgG değerleri 26,59; 38,90 ve 29,44 ng/mL; IL-4 değerleri sırasıyla 84; 40,28 ve 53,28 pg/mL; IL-10 değerleri sırasıyla 110,98; 175,91 ve 134,77 pg/mL; IL-12 değerleri 53,90; 22,93 ve 24,75 pg/mL; TLR-4 değerleri 0,53; 0,43 ve 1,37 ng/mL olarak tespit edilmiştir.

Probiyotik özelliği yüksek olan dane kefirinin birçok immünolojik mekanizmayı modüle etme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: immün sistem, *in vivo*, kefir danesi, probiyotik, starter kefir kültürü

2018, 84 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

***in vivo* COMPARISON OF SOME IMMUNOLOGICAL EFFECTS OF KEFIR PRODUCED BY NATURAL KEFIR GRAIN AND STARTER KEFIR CULTURE**

Funda DAVRAS

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Tuğba KÖK TAŞ

Natural kefir grain has an unique microbiota. This structure contains lactic acid bacteria (LAB), acetic acid bacteria and yeast in certain ratios in a polysaccharide matrix. Original kefir is produced using traditional method by using kefir grains, whereas starter cultures are used instead of kefir grains in the industry. These starter cultures used are very different from kefir grain microbiota which is fermented drink containing some probiotic microorganisms.

The aim of this project; determination and comparison of the effects on the immune system of kefir produced by using natural kefir grain and starter kefir culture. In the project, kefir produced with different cultures were applied to Balb/c mice (6-8 weeks, 20-25 grams, male) by gavage for two weeks at 300 µl /day.

Intestinal tissues of mice fed with phosphate buffered saline (PBS) control group (CNI), mice fed with kefir produced using starter culture (STI group) and mice fed with kefir produced using kefir grains (KGI group) were taken after sacrifice treatment. Immunoglobulin (Ig) A, Immunoglobulin G, Interleukin (IL)-4, Interleukin-10, Interleukin-12, Toll Like Receptor (TLR)-4 were analyzed immunologically in intestinal fluid samples.

After sacrifice, mice intestinal tissue samples were homogenized and stored at -80°C. The IgA values of the CNI, KGI and STI groups were respectively 60,87; 72,78 and 55,31 ng/mL; IgG values 26,59; 38,90 and 29,44 ng/mL; IL-4 values of 84; 40,28 and 53,28 pg/mL; IL-10 values 110,98; 175,91 and 134,77 pg/mL; IL-12 values 53,90; 22,93 ve 24,75 pg/mL; TLR-4 values 0,53; 0,43 and 1,37 ng/mL were determined.

We concluded that the high content of probiotic grain kefir has the ability to modulate many immunological mechanisms.

Keywords: immune system, *in vivo*, kefir grain, probiotic, starter kefir culture
2018, 84 pages

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi ve desteğini esirgemeyen, her konuda yardımcı olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Tuğba KÖK TAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımı devam ettirebilmem için desteklerini esirgemeyen sayın hocalarım Prof. Dr. Zeynep Banu SEYDİM, Prof. Dr. Atıf Can SEYDİM, Doç. Dr. Havva Nilgün BUDAK'a çok teşekkür ederim.

Araştırma süresince beni yalnız bırakmayan, birlikte çalıştığımız sevgili arkadaşlarım Seda ÖZARSLAN, Fatih Selim ERDOĞAN ve Sevgi ATILGAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın sonuçlarının yorumlanması ve değerlendirmesinde yardımcı olan İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim dalı hocalarından olan sayın Dr. Bahar ERYAŞAR'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın sürekliliğini sağlamam hususunda destek olan sevgili annem Yaşar DAVRAS ve ablam Fatma YILDIZ'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Çalışmalarımı tamamlama süresince yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen müstakbel eşim Selman ÖKTEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmanın yürütülmesinde maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen Danem ve Fermante şirketlerine ve tüm şirket personeline teşekkürlerimi sunarım.

4679-YL2-16 No'lu proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Funda DAVRAS
ISPARTA, 2018

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Kefir danesi	7
Şekil 3.1. İnce bağırsak doku örneklerinin alınması ve yıkanması	48
Şekil 3.2. İnce bağırsak doku örneklerinin parçalanması	48
Şekil 4.1. Doğal kefir danesi ve starter kültür kefir mikroflorası	53
Şekil 4.2. CNI, KGI ve STI gruplarının IgA değerleri	54
Şekil 4.3. CNI, KGI ve STI gruplarının IgG değerleri	55
Şekil 4.4. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-4 değerleri	57
Şekil 4.5. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-10 değerleri	58
Şekil 4.6. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-12 değerleri	59
Şekil 4.7. CNI, KGI ve STI gruplarının TLR-4 değerleri	61
Şekil A.1. Hayvan deneyleri yerel etik kurul kararı	82
Şekil B.1. Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı Çalışma İzni	83

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Geleneksel ve endüstriyel olarak kefir üretim yöntemleri.....	6
Çizelge 2.2. Farklı kefir danelerinden izole edilen mikroorganizmalar	8
Çizelge 2.3. Probiyotik özellikli mikroorganizmaların etkileri.....	11
Çizelge 2.4. Kefirin sağlık üzerine etkileri.....	12
Çizelge 2.5. İmmün sistemin başlıca hücreleri ve görevleri.....	17
Çizelge 2.6. Bazı sitokin çeşitleri ve başlıca etkileri	22
Çizelge 2.7. Kefir danesinde bulunan probiyotik mikroorganizmaların bağışıklık sistemi üzerine etkisi	41
Çizelge 3.1. Gavaj dozu ve veriliş sıklığı.....	45
Çizelge 3.2. Örnek kodları.....	47
Çizelge 4.1. CNI, KGI ve STI gruplarının IgA değerleri.....	54
Çizelge 4.2. CNI, KGI ve STI gruplarının IgG değerleri.....	56
Çizelge 4.3. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-4 değerleri.....	57
Çizelge 4.4. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-10 değerleri.....	58
Çizelge 4.5. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-12 değerleri.....	59
Çizelge 4.6. CNI, KGI ve STI gruplarının TLR-4 değerleri.....	61

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<i>B</i>	<i>Bifidobacterium</i>
<i>C</i>	<i>Candida</i>
CNI	Placebo verilen fare grubu
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
EPS	Ekzopolisakkarit
HDL	High Density Lipoprotein
IFN	İnterferon
IG	İmmünoglobulin
IL	İnterlökin
IM	Irsogladine Maleat
<i>K</i>	<i>Kluyveromyces</i>
KGI	Kefir danesi kullanılarak üretilen kefir ile beslenen fare grubu
KOB	Koloni Oluşturma Birimi
<i>L</i>	<i>Lactobacillus</i>
LAB	Laktik asit bakterileri
<i>Lc</i>	<i>Lactococcus</i>
LDL	Low Density Lipoprotein
MAC	MacConkey Agar
MR	Mannoz Reseptör
MRS	De Man, Rogosa and Sharpe
NK	Natural Killer
PBS	Fosfat tamponlu salin
PCA	Plate Count Agar
PDA	Potato Dextrose Agar
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RCA	Reinforced Clostridial Agar
<i>S</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>Str</i>	<i>Streptococcus</i>
STI	Starter kültür kullanılarak üretilen kefir ile beslenen fare grubu
Th	T helper
TGF	Transforming Growth Factor
TLR	Toll Like Reseptör
TNF	Tumor Nekroz Factor

1. GİRİŞ

Kefir danesi mikrobiotasında bulunan laktik asit, asetik asit ve mayalar ile oluşan kefir; hafif asidik karakterde, ferahlık veren üstün duyuşal özelliklere sahip fermente bir süt ürünüdür. Kefir mikroflorasında bulunan laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve mayalar simbiyotik bir ilişki içerisinde etkileşimde bulunurlar (Jianzhong vd., 2009; Güzel-Seydim vd., 2010).

Kefir, antikanserojenik etkisi, antidiyabetik etkisi, kolesterolü düşürücü etkisi, sindirim sistemine etkisi, bağışıklık sistemine etkisi, laktoz intoleransa etkisi, antialerjik özelliğı, probiyotik ve prebiyotik özelliğı, antimikrobiyal özelliğı uluslararası ve ulusal düzeyde yapılan birçok araştırma makalelerinde belirtilen fonksiyonel üründür. Kefirin sağlığa etkileri içerdiği probiyotik ve prebiyotik özelliğı, protein, vitamin, mineral, antioksidan ve bazı biyojenik bileşenlerle ilişkilidir.

Geleneksel kefir üretimi pastörize edilmiş ve oda sıcaklığına getirilen sütün içerisinde kefir danelerinin ilave edilmesi ile üretilmektedir. 25 °C'de 24 saat fermentasyon uygulanır. Fermentasyon pH 4,6'da sonlandırılarak, kefir daneleri aseptik koşullarda steril süzgeç ile ayrılır. Kefir +4 °C'de depolanır ve soğuk olarak tüketilir. Kefir daneleri bir başka üretim için uygun koşullarda muhafaza edilir ya da tekrar süte ilave edilir (Güzel-Seydim, 2001). Pastörize edilmiş ve fermentasyon sıcaklığına getirilmiş süt içerisinde %2-3 oranında kefir starter kültürü ilave edilerek de üretilmektedir ve pH 4,6' da sonlandırılmaktadır (Leite vd., 2013).

Probiyotikler, konakçıya yeterli miktarda verildiğinde sağlığı ya da fizyolojisi üzerinde olumlu etki yapan canlı ve patojen olmayan mikroorganizmalardır (Parvez vd., 2006). Probiyotik özellikli kefir danesinin özgün yapısına ve içerisinde doğal olarak yerleşik mikroflorasıyla ilgili bilimsel çalışmalar uluslararası düzeyde artış göstermiştir.

Dünyanın her bir bölgesinde sağlığa yararlı gıda ürünlerini tüketme eğilimi artış göstermektedir. Sağlık üzerine etkileri sebebiyle fonksiyonel gıda olarak tanımlanan kefirin tüketimi de bununla birlikte artmaktadır (Farnworth ve Mainville, 2003; Nalbantoğlu vd., 2014).

Enfeksiyona karşı savunmayı sağlayan hücre, doku ve moleküllerin tamamına immün sistem adı verilir. Probiyotiklerin immün sisteme etkileri; antikor üretimini ve NK hücrelerinin aktivitelerini ve İmmünoglobulin (Ig) A düzeyini artırmaktadır. Genellikle probiyotikler İnterlökin(IL)-10 ve Transforme edici büyüme faktörü (TGF)-beta gibi intestinal antinflamatuar sitokin üretimini artırırken, IL-8 gibi proinflamatuar sitokin üretimini düşürürler (Maassen vd., 2000; Yeşilova vd., 2010).

Bu çalışmanın amacı; doğal kefir danesi kullanılarak üretilen kefir ile starter kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirin mikrobiota ve immün modülatör özelliklerinin karşılaştırılarak immün sistemi üzerine etkilerinin *in vivo* çalışma ile belirlenmesidir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Kefir

Kefir, inek, koyun, keçi gibi hayvanların sütlerine kefir danesi ilave edilerek üretilir. Kefir danesi mikrobiotasında bulunan laktik asit, asetik asit ve mayalar ile oluşan kefir; hafif asidik karakterde, ferahlık veren üstün duyuşsal özelliklere sahip fermente bir süt ürünüdür.

Kefirin kimyasal bileşimi; % 89-90 su, % 0,2 lipidler, % 3-3,4 protein, % 6 şeker ve % 0,7 külden oluşmaktadır. (Garrote vd.,2015; Plessas vd., 2016).

Kefir danesinin polisakkarit yapısı kefiran olarak bilinmektedir. Mikroorganizmaları içinde bulunduran bu polisakkarit yapı kefirin reolojisi ve tekstür yapısına katkıda bulunmaktadır (Farnworth, 2005; Ahmed vd.,2013; Garofalo vd., 2015). Kefiran, yüksek konsantrasyonlarda glikoz ve galaktoz içeren bir ekzopolisakkarittir (EPS) ve çok iyi reolojik özellikler sergileyen ve jel özelliklerini arttıran bir suda çözünür glukogalakattan olarak sınıflandırılmıştır (Rimada ve Abraham, 2001; 2006; Wang vd., 2008; Plessas vd., 2016).

Kefirin mikrobiyolojik içeriği kefir danesine göre farklılık göstermektedir. Kefirin organoleptik duyuşsal özelliği ise kullanılan kefir danesi mikroflorası ve kullanılan süt çeşidi ile alakalıdır. Oluşan bu fermente ürün pek çok organik asitleri içerir ve tat ve aroma oluşumunu etkiler. Bu organik asitler ve aroma bileşenleri; laktik asit, formik, süksinik, asetik ve propiyonik asit, asetaldehit, etanol, aseton ve diasetildir. Ayrıca kefir fermantasyon süresince yararlı bakteri ve mayalar ile vitamin, mineral ve esansiyel aminoasitleri farklı oranlarda içermektedir (Zourari ve Anifantakis, 1988; Witthuhn vd., 2005; Farnworth, 2005; Güzel-Seydim vd., 2010; Karatepe ve Yalçın, 2014).

Sinir sistemi üzerinde etkili olan esansiyel aminoasitlerden biri olan triptofan ile kalsiyum ve magnezyumu bol miktarda içerir. Ayrıca fosfor yönünden de güçlü bir kaynaktır. Kefirin mide ve pankreas gibi bazı organların salgılarını artırdığı

gibi sinirsel rahatsızlıklara, iştahsızlığa ve uykusuzluğa karşı iyi geldiği de bilinmektedir (Hosono vd., 1990; Zacconi vd., 1995; Kurtulmuş ve Kök-Taş, 2015).

Süt içindeki protein, yağ, karbonhidrat gibi tüm besin maddelerini içermesinin yanı sıra, kefir danelerinin yapısında bulunan mikroorganizmaların etkisi ile tüm fermentasyon ürünleri, metabolitler sonucunda besleyici değerinin artması ve sağlıklı bir vücut tarafından daha iyi absorbe edilebilmesi kefirin önemini ortaya çıkarmaktadır (Rea vd., 1996; Farnworth ve Mainville, 2008).

Kefir içeceğinin başlangıç noktası Kafkas Dağları olup, Doğu Avrupa, Rusya ve Güneybatı Asya'da tüketilen geleneksel bir fermente üründür (Fontan vd., 2006; Serafini vd., 2014; Prado vd., 2015; Plessas vd., 2016).

Kafkas dağlarında yaşayan ve kefir tüketen insanların ömürlerinin uzun olduğu bilinmektedir. Bu durum kefirin yüksek derecede protein, mineral ve vitamin içermesi kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Kefir kolaylıkla sindirilebilen besleyici bir gıda özelliği ile çocuklar, hamile-emzirme döneminde bayanlar, iyileşme dönemindeki hastalar, yaşlılar, kabızlık ve diğer sindirim problemleri olanlar için ideal bir içecektir (Karatepe ve Yalçın, 2014; Prado vd., 2015).

Tibet'te rahipler elde ettikleri kefiri sürekli mayalayarak tapınaklarında gelen ziyaretçilere şifa olarak dağıtarak hastaları kefirle iyileştirdikleri bilinmektedir. Hastalıklara şifa olması nedeniyle kefir peygamber danesi, peygamber tohumu gibi isimler almıştır (Karatepe ve Yalçın, 2014). Kefir isminin Kafkas dilinde en iyi yapılan, Orta Asya Türkçesinde ve Arapça'da ise keyif veren, çoşturan anlamında keyf veya köpük anlamında kef sözcüklerinden türediği öne sürülmektedir (Güzel-Seydim, 2001; Tamime, 2006; Plessas vd., 2016).

Ayrıca belirtilen bir anektoda göre, 1900'lü yılların başlarında Rus sağlıkçıları derneği Blandov kardeşlerle irtibata geçerek kefir daneleri ele geçirmeleri için yardım istemişlerdir. Kardeşler bu iş için yanlarında çalışan güzel bir işçi kız olan Irina Sakharova'yı kullanmaya karar vermişlerdir. Irina Kafkas prensini

etkileyerek probiyotik kefir danelerini istemiştir, ancak prens inançları dolayısıyla bu isteğini reddetmiştir. Irina geri döner iken prens vazgeçmek istememiştir ve prensin adamları tarafından kaçırılmıştır. Geleneklere göre kaçırdığı için evlenmek zorunda olan prens bunu gerçekleştirecek iken Blandov kardeşler Irinayı prensin elinden kaçırmıştır. Durumu Rus çarının mahkemesine götüren Irina'ya prens altın ve elmas teklif etmiştir. Irina ise bunların yerine kefir danesi istemiştir. Böylece 1908 yılında Moskova'ya ilk kefir getirilmiştir (Yılmaz vd., 2013).

Günümüzde kefir, ülkemizde ve dünyada yaygınlaşmaktadır. Avrupa, Asya ve Güney Amerika'da yüksek besin değeri olan sağlıklı bir gıda ürünü olarak fonksiyonel gıda pazarında yerini almıştır (Plessas vd., 2016).

2.2. Kefir Üretimi

Kefir danesi ile üretim yapmak ve standardizasyonu sağlamak endüstriyel üretimde çok zordur. Tüm dünyada kefir üretiminde firmalar kefir danesi yerine starter kültür kullanmaktadır. Pastörize edilmiş ve soğutulmuş süt içerisine %2-3 oranında kefir starter kültürü ilave edilerek üretilmektedir ve pH 4,6' da sonlandırılmaktadır (Leite vd., 2013).

Geleneksel ve endüstriyel olarak kefir üretim yöntemleri detaylı bir şekilde Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Standart ürün elde etmek için süt ürünleri üreten firmalar genellikle starter kültürlerden birini seçerek, tüketiciler için aynı tat, aroma ve tekstürde ürünler üretmektedir. Ancak endüstriyel kefirlerde kefir aromasından daha yoğun bir şekilde asidik tat hissedilmektedir. Kullanılan kefir starter kültüründe kefire özgü hiçbir bakteri bulunmamaktadır. Aslında üretilen ürün probiyotik özellikli fermente bir süt ürünüdür (Assadi vd., 2000).

Çizelge 2.1. Geleneksel ve endüstriyel olarak kefir üretim yöntemleri
(Erdoğan, 2016; Güzel-Seydim, 2016)

Çiğ Süt		
Yağ Standardizasyonu (tam yağlı, yarım ve az yağlı)		
Homojenizasyon		
Pastörizasyon (90 °C; 2 Dak)		
İnkübasyon Sıcaklığına Soğutma (25 °C)		İnkübasyon Sıcaklığına Soğutma (30°C)
Kefir Daneleri İlavesi (%2)		Starter Kültür İlavesi (%2)
İnkübasyon (24 saat; 25 °C)		İnkübasyon (8-10 saat; 30 °C)
Kefir Danelerinin Aseptik Olarak Uzaklaştırılması		Soğutma (4-6 °C)
Soğutma (4-6 °C)	Kefir Daneleri	Olgunlaştırma
Ambalajlama	Kefir Danelerinin Steril Su İle Yıkınması	Ambalajlama
Soğukta Depolama (+4 °C)	Kefir Danelerinin Tekrar İnokule Edilmesi	Soğukta Depolama (+4 °C)

2.3. Kefir Danesi

Kefir danesi büyüklüğü 0,3-3,5 cm arasında değişebilen, küçük mısır patlağı görünümünde, kremi beyaz renkli, elastik bir yapıya sahiptir (Farnworth, 2005; Güzel-Seydim vd., 2011; Prado vd., 2015). Şekil 2.1 de kefir danesinin yapısı gösterilmiştir.

Kefir danesi, kendine özgü bir doğada mikrofloraya sahiptir. Polisakkarit bir matriks içinde laktik asit bakterilerini (LAB), asetik asit bakterilerini ve mayaları belli oranlarda bulundurmaktadır (Romanin vd., 2010). Danelerin süt içinde fermentasyonu ile farklı metabolik yollar ile farklı metabolitler, organik asitler, aroma bileşenleri ve parçalanmış aminoasitler, yağ asitleri ve efervesan maddeler oluşmaktadır (Güzel-Seydim vd., 2000; Garrote vd., 2001; Tamime, 2002; Marsh vd., 2013; Tamang vd., 2016; Mei vd., 2016).

Kefir danelerinden izole edilen mikroorganizmalar Çizelge 2.2’de gösterilmiştir. En yaygın bakteri cinslerini *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Leuconostoc* türlerini ve *Kluyveromyces*, *Candida*, *Saccharomyces* ve *Pichia* mayalarını oluşturmaktadır (Beshkova vd., 2002; Witthuhn vd., 2004; Chen vd., 2008; Chen ve Chen, 2013).

Kefir danesinde bulunan mikrobiyota oranları genel olarak 10^9 laktokok, 10^7 - 10^8 *Leuconostoc* türleri, 10^7 - 10^8 termofil laktobasiller, 10^4 - 10^5 mayalar ve 10^4 - 10^5 asetik asit bakterilerini içerir (Erdoğan, 2016).



Şekil 2.1. Kefir danesi

(Fotoğraf: Danem Ltd. Şti.’ de Funda Davras tarafından görüntülenmiştir)

Çizelge 2.2. Farklı kefir danelerinden izole edilen mikroorganizmalar
(Mei vd., 2016)

<i>Lactobacillus/Lactococcus</i> Türleri	Ülke/Bölge	Kaynaklar
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Arjantin, İspanya, Türkiye	Chen vd., 2008; Chen vd.,2012; Kök-Taş vd., 2012
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	Brezilya, Danimarka	Fujisawa vd.,1988; Leite vd.,2012
<i>Lactobacillus brevis</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Lactobacillus buchneri</i>	-	Kim vd.,2016
<i>Lactobacillus casei</i>	İspanya, Tibet	Wang vd., 2008; Zhou vd., 2009; Gulitz vd., 2011; Dick vd., 2015
<i>Lactobacillus crispatus</i>	Arjantin, Güney Afrika, Türkiye	Garbers vd., 2004; Zhou vd., 2009; Kök-Taş vd., 2012
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Güney Afrika	Koroleva vd., 1991; Santos vd., 2003; Witthuhn vd., 2004; Dick vd., 2015
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Güney Afrika, İspanya	Witthuhn vd., 2004; Wang vd., 2008
<i>Lactobacillus gasseri</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Lactobacillus gallinarum</i>	Güney Afrika	Garbers vd., 2004
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Arjantin, Tibet, Türkiye	Zhou vd., 2009; Kök-Taş vd., 2012
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	Almanya	Gulitz vd., 2011; Hsieh vd., 2012
<i>Lactobacillus hordei</i>	Almanya	Gulitz vd., 2011; Hsieh vd., 2012
<i>Lactobacillus jensenii</i>	-	Kim vd., 2016
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	-	Kim vd., 2016
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	Brezilya, Belçika, İtalya, Tibet, Türkiye	Fujisawa vd.,1988; Pintado vd., 1996; Chen vd., 2008; Magalhaes vd., 2010; Kök-Taş vd., 2012; Hamet vd., 2013; Garofalo vd., 2015
<i>Lactobacillus kefirgranum</i>	Belçika, İtalya	Chen vd., 2008; Magalhaes vd., 2010; Garofalo vd., 2015
<i>Lactobacillus kefiri</i>	Arjantin, Brezilya, Yunanistan, Tibet	Pintado vd., 1996; Güzel-Seydim vd., 2005; Chen vd., 2008; Güzel-Seydim vd., 2011; Hamet vd., 2013; Garofalo vd., 2015
<i>Lactobacillus otakiensis</i>	Arjantin, İtalya	Zhou vd., 2009; Garofalo vd., 2015
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	-	Kim vd., 2016
<i>Lactobacillus paracasei</i>	Arjantin	Hamet vd., 2013

Çizelge 2.2. Farklı kefir danelerinden izole edilen mikroorganizmalar

(Mei vd., 2016) (Devam)

<i>Lactobacillus parakefiri</i>	Arjantin	Hamet vd., 2013; Vardjan vd., 2013
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Tibet	Hsieh vd., 2012
<i>Lactobacillus reuteri</i>	Türkiye	Kök-Taş vd., 2012
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	İspanya	Koroleva ve Robinson, 1991; Wang vd., 2008
<i>Lactobacillus viridescens</i>	İsnyanya	Wang vd., 2008
<i>Lactococcus cremoris</i>	-	Kim vd., 2016
<i>Lactococcus lactis</i>	Arjantin, Brezilya, Tibet	Pintado vd., 1996; Chen vd., 2008; Zou vd., 2009; Leite vd., 2012
<i>Leuconostoc lactis</i>	Güney Afrika	Witthuhn vd., 2004
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Güney Afrika, Tibet	Witthuhn vd., 2004; Chen vd., 2008
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Türkiye	Kök-Taş vd., 2012
Asetik asit Bakterileri		
<i>Acetobacter lovaniensis</i>	Belçika	Magalhaes vd., 2010
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	Arjantin	Garrote vd., 2001
<i>Acetobacter syzygii</i>	Brezilya	Miguel vd., 2010
Mayalar		
<i>Candida albicans</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Candida friedricchi</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Candida holmii</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Candida kefir</i>	İspanya	Wang vd., 2008
<i>Candida lambica</i>	Güney Afrika	Garbers vd., 2004
<i>Kazachstania aerobia</i>	İtalya	Garofalo vd., 2015
<i>Kazachstania servazzii</i>	İtalya	Garofalo vd., 2015
<i>Kazachstania solicola</i>	İtalya	Garofalo vd., 2015
<i>Kazachstania unispora</i>	Brezilya, İtalya	Leite vd., 2012; Garofalo vd., 2015
<i>Kluyveromyces dobzhanskii</i>	Türkiye	Kök-Taş vd., 2012
<i>Kluyveromyces lactis</i>	-	Kim vd., 2016
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Brezilya, Tibet	Zhou vd., 2009; Magalhaes vd., 2010; Vardjan vd., 2013
<i>Pichia fermentas</i>	Tayvan	Wang vd., 2008
<i>Saccaromyces unisporus</i>	Portekiz, Tayvan	Pintado vd., 1996; Wang vd., 2008
<i>Saccaromyces cerevisiae</i>	Brezilya, Güney Afrika, İtalya, Tibet	Garbers vd., 2004; Witthuhn vd., 2004; Zhou vd., 2009; Garofalo vd., 2015;
<i>Saccaromyces turicensis</i>	Tayvan	Wang vd., 2008
<i>Torulospira delbrueckii</i>	İspanya	Wang vd., 2008

Kök-Taş vd. (2012) tarafından kefir danesi kullanılarak kefir üretimi ile *L. acidophilus* içeriğini 5,78 log kob/ml, *Bifidobacterium* spp. içeriğini 6,14 log kob/ml olarak tespit edilmiş ve ayrıca PZR yöntemi ile kefir danelerinde homoloji %97-100 olan *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. kefiranofaciens*, *S. thermophilus* ve *B. bifidum* türleri tespit edilmiştir.

Kefire özgü laktik asit bakterileri *Lactobacillus* grubunda en yaygın tür *L. kefiranofaciens* spp. *kefiranofaciens*, *L. kefiranofaciens* spp. *kefirgranum*, *L. kefir* ve *L. parakefiri* dir (Dobson vd., 2011; Leite vd., 2012; Hamet vd., 2013; 2016; Vardjan vd., 2013; Nalbantoglu vd., 2014; Garofalo vd., 2015; Korsak vd., 2015).

2.4. Kefir Danesi İçerisinde Bulunan Probiyotik Özellikli Mikroorganizmalar

Probiyotik kelimesi ilk olarak 1965 yılında Lily ve Stillwell tarafından tanımlanan Latince “pro” ve “bios” kelimelerinden türetilmiştir ve yaşam için anlamına gelmektedir. Probiyotikler, konakçıya yeterli miktarda verildiğinde sağlığı ya da fizyolojisi üzerinde olumlu etki yapan canlı ve patojen olmayan mikroorganizmalardır (Parvez vd., 2006).

Ross vd. (2002)’ne göre 1903 yılında Nobel ödülü alan Rus biolog Elie Metchnikoff yaşlanmaya bağırsaktaki bakterilerin neden olduğunu ileri sürmüştür. Metchnikoff, günlük beslenmelerinin düzenli bir parçası olarak *Lactobacillus* içeren yoğurt tüketen halkın dikkat çekici bir şekilde uzun ömürlü olduklarını gözlemlemiş, bununla ilgili olarak laktik asit bakterileri ile ilgili araştırmalar başlamıştır.

Gıdalarla alınan probiyotiklerin bağırsak sistemine canlı olarak ulaşması ve gıdanın en az 10⁶ kob/g sayıda canlı probiyotik bakteri içermesi gerekmekte ve raf ömrü süresince canlı kalabilmeleri gerekmektedir. Probiyotikler, patojen mikroorganizmalar üzerine direkt antagonistik etki yaparak, patojen bakterilerin gelişimini engelleyen inhibitör antimikrobiyal peptid (bakteriyosin)

üretmektedirler (Thoreux ve Schmucker, 2001; Farnworth, 2005; Rodrigues vd., 2005; Güzel-Seydim vd., 2006; Güzel-Seydim vd., 2011; Ahmed vd., 2013).

Probiyotik bakteriler mide asitliğine diğer bakterilere göre daha dayanıklıdır. Safra tuzuna ve lizozim enzimine daha dirençlidir. Probiyotik bakteriler laktik asit, asetik asit ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddeler üreterek bağırsakta istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmalarına etki edebilirler (İnanç vd., 2005; Kuloğlu vd., 2009). Probiyotik özellikli mikroorganizmaların etki mekanizmaları Çizelge 2.3’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Probiyotik özellikli mikroorganizmaların etkileri

Etki Yolu	Kaynaklar
Laktoz metabolizmasını artırması	Thoreux ve Schmucker, 2001; Güzel-Seydim vd., 2006; Ceyhan ve Alıç, 2012
Patojen mikroorganizmaların inhibisyonunu sağlanması	Hennequin ve Kaufmann-Lacroix, 2002; Sezen, 2013; Güzel-Seydim vd., 2016; Erdoğan, 2016
Bağırsak florası üzerine olumlu etkisi	Chen vd., 2012; Plessas vd., 2016
Sindirim sistemi enfeksiyonlarının önlenmesi ve sindirimin düzenlenmesi	Shah, 2007; Franco vd., 2013
Midede bulunarak ülsera sebep olabilen ve patojen bir bakteri olan <i>Helicobacter pylori</i> ’nin gelişiminin engellenmesi	Yeşilova vd., 2010
Bağışıklık sisteminin geliştirilmesi	Vinderola vd., 2005; Vinderola vd., 2006; Shah, 2007; Ahmed vd., 2013; Franco vd., 2013
Antikanserojen ve antialerjik maddelerin üretilmesi	Liu, 2006; Güzel-Seydim vd., 2006; Hong vd., 2010; Plessas vd., 2016
Kan kolesterol seviyesini düşürmesi	Xiao vd., 2003; Yanping vd., 2009; Plessas vd., 2016
Sinir sistemini rahatlatması	Kuloğlu vd., 2009; Ahmed vd., 2013
Vitamin üretimi (B grubu ve K vitamini), minerallerin ve iz elementlerin emilimi, β -galaktosidaz gibi önemli sindirim enzimlerinin üretimi	Mathiue vd., 2008; Sezen, 2013
Salgısal IgA yapımını artırması, IL-10, TGF- β ekspresyon ve salınımı artırması, IgG ve IgM miktarını artırması	Vinderola vd., 2006; Zoral, 2013
Prebiyotiklerin kullanımı ile sindirimi desteklemesi	Yeşilova vd., 2010; Zoral, 2013

Prebiyotikler, kolon bakterilerinin aktivitelerini ve probiyotiklerin etkisini artıran sindirilmeyen karbonhidratlar olup, probiyotik mikroorganizmalar tarafından kullanımı araştırmalarda belirtilmektedir (İlkgül, 2005; Kuloğlu vd., 2009; Sezen, 2013).

Kefir fermente içeceğinin antikanserojenik etkisi, antidiyabetik etkisi, kolesterolü düşürücü etkisi, sindirim sistemine etkisi, bağışıklık sistemine etkisi, laktoz intoleransa etkisi, antialerjik özelliği, probiyotik ve prebiyotik özelliği, antimikrobiyal özelliği etkileri Çizelge 2.4'de detaylı bir şekilde belirtilmiştir (Shiomi vd., 1982; Furukawa vd., 1992; Furukawa vd., 1996; Thoreux ve Schmucker, 2001; Farnworth, 2005; Rodrigues vd., 2005; Güzel-Seydim vd., 2006; Güzel-Seydim vd., 2016; Ahmed vd., 2013).

Çizelge 2.4. Kefirin sağlık üzerine etkileri

Sağlık Üzerine Etkisi	Etki Mekanizması	Kaynak
Antikarsinojenik ve antimutajenik etkileri	HTLV-1 negatif malign T lenfositler üzerinde artışını önleme	Maalouf vd., 2011
	Sarkom 180 hücrelerinde azalma	Liu vd., 2002
	Mutajen sodyum azid ve aflatoksin B1 karşı antimutajenik etkisi	Güzel-Seydim vd., 2006
	İndol, imidazol gibi mutajenik maddeleri bağlama	Hosono vd., 1990
	Tümör boyutunda azalma	Çevikbaş vd., 1994
Bağışıklık sistemi üzerine etkileri	IL-8 düzeyinde azalma, IL-5 ve TNF- α düzeylerinde artma	Adiloğlu vd., 2013
	Bağırsak mukozal bağışıklık yanıtını artırma ile IgA düzeyinde artma	Thoreux ve Schmucker, 2001
	IgE ve IgG seviyelerinde artış	Liu vd., 2006
	Beyaz kan hücrelerinde artış	Furukawa vd., 1992

Çizelge 2.4. Kefirin sağlık üzerine etkileri (Devam)

Antialerjik etkileri	Kanda ve dokuda Eozinofil artışı	Yalçın, 2005, Hong vd., 2010
	Mast hücre degranülasyonunu baskılama	Furuno ve Nakanishi, 2012.
Kolesterol düşürücü etkisi	HMG-CoA redüktazın aktivitesini düşürme	De Angelis Pereira vd., 2013
	Toplam serum kolesterol ve fosfolipit seviyelerinde azalma	Tamai vd., 1996
	Trigliserit ve HDL seviyesinde azalış	Vujicic vd., 1992; Liu vd., 2006
Kan şekeri düzenleyici etkisi	İskelet kası hücrelerinde glikoz alımını arttırma	Teruya vd., 2002
Antimikrobiyel ve antifungal etkileri	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Escherichia coli</i> gelişimlerini engellediği	Gülmez ve Güven, 2003
	<i>Listeria innocua</i> gelişimini engellediği	Morgan vd., 2000
	<i>Salmonella enteritidis</i> gelişimini engellediği	Czamanski vd., 2004; Golowczyc vd., 2007
	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> gelişimlerini engellediği	Ulusoy vd., 2007
	<i>Candida albicans</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>S. aureus</i> ve <i>E. coli</i> gelişimlerini engellediği	Silva vd., 2009
	<i>Fusobacterium nucleatum</i> gelişimini engellediği	Güzel-Seydim vd., 2016
Laktoz intoleransını azaltıcı etkisi	B-galaktosidaz (laktaz) aktivitesini arttırma	De Vrese vd., 1992
Kan basıncı üzerine etkileri	Anjiyotensin dönüştürücü enzim baskılayıcı etkisi	Quiros vd., 2005
Sindirim sistemi üzerine etkileri	Antagonistik etkisiyle bağırsakta patojen bakteri kolonizasyonunu engelleme	Zacconi vd., 2003
	Midenin pH'sında korunarak, bakterilerin önemli kısmının ince ve kalın bağırsaklara geçişi	Farnworth vd., 2003; Santos vd., 2003; Quiros vd., 2005; Millette vd., 2006; Zhou vd., 2009

Kefirin bağışıklık sistemi uyarılması da dahil olmak üzere, fizyolojik ve terapötik etkileri vardır (Bensmira vd., 2010; Yanglar, 2015). LeBlanc vd. (2005) *in vivo* çalışmalarında süt fermentasyonu sırasında açığa çıkan peptitlerin, intestinal mukozal bağışıklık sistemi üzerinde bağırsağı düzenleyici kapasitesi olduğunu belirtmişlerdir. Ağız yoluyla alınan sütün ve soya sütü kefirlerinin (Liu vd., 2006) ya da kefiranın (Murofushi vd., 1983) 180 tümör hücreleri sarkomu aşılantmış farelerde tümör büyümesini inhibe ettiğini bulmuşlardır. Vinderola vd. (2005) *in vivo* çalışmalarında kefirin farklı bileşenlerinin oral biyoterapötik maddeler olarak T helper2 hücreler (Th) immün fenotipi düzenleyen aynı zamanda tümörlere ve hücre içi patojen enfeksiyonlarına karşı hücre kaynaklı bağışıklık tepkilerini teşvik eden doğuştan gelen bağışıklık sistemini ve bağışıklık hücrelerini uyaran bir rolü olduğunu bulmuşlardır (Vinderola vd., 2006).

Bozkurt vd. (2010) yaptığı *in vitro* çalışmalarında ise piyasada yer alan kefir ürünlerinin mikrobiyal içeriğinin starter kültür kullanılarak üretilmeleri nedeniyle, doğal kefir danesi kullanılarak geleneksel olarak üretilen kefir içeceğinden önemli düzeyde düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Probiyotik *Lactobacillus rhamnosus* GG'nin (LGG) gebelik sonrasındaki annelere verilmesinin, alerji riski yüksek olan üç aylık bebeklerde *Bifidobacterium longum* grubunun hakimiyetini arttırdığı gösterilmiştir (Khailova vd., 2014).

2.5. İmmün Sistem ve İşlevleri

İmmünite (bağışıklık) hastalıklara karşı direnç olarak tanımlanır. Enfeksiyona karşı savunmayı sağlayan hücre, doku ve moleküllerin tamamına immün sistem adı verilir. Bu hücre ve moleküllerin enfeksiyona yol açan mikroorganizmalara karşı verdikleri tepkiler immün yanıt olarak adlandırılır. İmmünoloji ise immün sistemin patojenlere ve zedelenmiş dokulara karşı verdiği immün yanıtlarının araştırıldığı bir daldır (Abbas vd., 2015; Bubnov vd., 2015).

Bağışıklık sisteminin görevi, organizmayı hastalık oluşturan etkenlere karşı koruyan, tümör gibi hücreleri tanıyan ve onları ortadan kaldırmaya çalışan işlemlerin toplamı olan enfeksiyonları önlemek ya da sınırlamaktır (Bubnov vd., 2015).

Bağışıklık sistemi; doğal (doğuştan gelen) bağışıklık ve edinsel (kazanılan) bağışıklık olarak iki grup altında incelenmektedir. Bu iki sistem birbirleriyle etkileşim içerisinde olup vücudu zararlı etkenlere karşı korumaktadır (Xu vd., 2016).

Doğal bağışıklık; enfeksiyona yol açan mikroorganizmaları, vücuda ilk girişte karşılayıp tanıyan ve daha sonra ortadan kaldırmak için çalışan, doğal olarak organizmada hazır bulunan bağışıklık sistemidir. Bu sistem enfeksiyona yol açan mikroorganizma ile karşılaşıldığı anda hemen harekete geçmektedir. Mikropların konak dokularına girişini engellemeye ve konak dokularına girmeyi başaran mikroplar hızla yok etmeye hazırdır. Deri, solunum ve sindirim sistemleri, fagositik hücreler ve protein yapıdaki sıvılar olarak tanımlanan sitokinlerden oluşur ve oluşturulan immün yanıt spesifik değildir (Abbas vd., 2015). Doğal immünitinin hücreleri olan doğal öldürücü hücreler (NK) hücreler, virüsle enfekte hücrelere veya kanser hücrelerine herhangi bir spesifik tanıma olmadan doğrudan saldırabilen hücrelerdir (Bubnov vd., 2015).

Doğal bağışıklık sisteminin içinde yer alan kompleman sisteminin önemli görevleri vardır. Kompleman sistem, aralarında makrofaj ve bağırsak epitel hücrelerinin de bulunduğu çeşitli hücreler tarafından üretilen proteinlerden oluşmaktadır. Virüslere ve özellikle bakterilere karşı oluşturulacak savunmada rol oynarlar. Mikroorganizmalar tarafından bir uyarı oluşturulduğunda aktive olan bu sistem uyarıyı ortadan kaldıracak şekilde hızlı bir yangısal yanıt meydana getirir. Enfeksiyonlara karşı olan bu rollerinin dışında kompleman sistemi, fizyolojik olarak hücre yenilenmesi ve hastalık oluşturan doku hasarı, otoimmün hastalıklar ve kronik inflamasyon süreçlerine de etki eder (Abbas vd., 2015).

Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, ateroskleroz, akut koroner sendromlar, inme, viral miyokardit, sepsis, iskemi /reperfüzyon yaralanması ve kalp yetmezliği patogeneğinde rol alır (Bubnov vd., 2015).

Edinsel bağışıklık; kazanılmış veya adaptif immünite olarak da bilinir. Vücuda zarar veren bir mikropla karşılaşmayı takiben, günlerle belirtilen bir hazırlık süresi sonucunda harekete geçer ve spesifiktir. Yapıtaşlarını T ve B lenfositler ve antikorlar oluşturur. Lenfositler, her bir antijene özgül reseptör üreten hücre grubudur ve edinsel immünitenin anahtar araçlarıdır (Abbas vd., 2015; Bubnov vd., 2015).

Edinsel immün sistemin hücreleri, kan ve dokularda bulunan lenfosit, mononükleer fagositlerin ve diğer yardımcı hücrelerin antijenlerle karşılaştıkları doku ve organlar lenfoid sistem olarak tanımlanır (Bubnov vd., 2015).

Edinsel bağışıklık aktif veya pasif olarak gelişebilir. Aşı yapılması ve enfeksiyon geçirilmesi gibi yollarla sağlanan bağışıklık yanıtı aktif bir bağışıklık cevabı iken, edinsel olarak bağışıklığı olan bir kişiden alınan serum ya da hücrelerin bağışıklığı olmayan birine hazır halde verilmesi ile bir pasif bağışıklık sağlanmış olur (Abbas vd., 2015).

Edinsel immünite, hümmoral ve hücressel immüniteden oluşur. Hümmoral hücre dışı, hücressel ise hücre içi mikroplara karşı savunmayı sağlar (Abbas vd., 2015).

Hümmoral immünite, B lenfositlerin ürettiği antikor ismi verilen proteinler aracılık etmektedir. Antikorlar dolaşıma girerek ve mukoza sıvılarına salgılanarak kanda, gastrointestinal ve solunum yolları gibi mukozal organların lümenlerinde hücre dışında bulunarak mikropları yok etmekle görevlidir. Organizmaya girdiğinde immün cevabı oluşturabilecek ve sonucunda ortaya çıkan antikor ve hücre yüzey molekülleri ile birleşme özelliği gösteren, organizma yapısına yabancı olan maddeler antijen olarak adlandırılır (Abbas

vd., 2015). İmmün sistemin başlıca hücreleri ve görevleri Çizelge 2.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.5. İmmün sistemin başlıca hücreleri ve görevleri (Abbas vd., 2015)

Hücre Tipi	Başlıca Görevleri
Lenfositler	Antijenlerin özgül olarak tanınması
B lenfositleri	Hümmoral immünitenin aracıları
T lenfositleri	Hümmresel immünitenin aracıları
Doğal öldürücü hücreler (NK)	Doğal immünitenin aracıları
Antijen Sunan Hücreler	Lenfositlere sunum için antijenlerin yakalanması
Dendritik hücreler	T hücre yanıtının başlaması
Makrofajlar	Hümmresel immünitenin devreye geçmesi
Foliküler dendritik hücreler	B hümmrelerine antijen sunumu
Etkin hümmreler	Antijenlerin yok edilmesi
T lenfositleri	Yardımcı T hümmreleri ile sitotoksik T hümmreleri
Makrofajlar	Mononükleer fagosit sistem hümmreleri
Granülositler	Nötrofiller ve eozinofiller

İmmün sistem tarafından antijenlere veya immünojenlere karşı oluşturulan ve özgül olarak reaksiyona giren antikorlar immünoglobülin olarak adlandırılır (Lock ve Unsworth, 2003). İmmünoglobülinler (Ig) B-hümmre kökenli plazma hümmreleri tarafından sentezlenirler. İmmünoglobülin A (IgA), İmmünoglobülin M (IgM), İmmünoglobülin G (IgG), İmmünoglobülin E (IgE) ve İmmünoglobülin D (IgD) olmak üzere 5 farklı çeşidi bulunmaktadır (Abbas vd., 2015; Bubnov vd., 2015).

İmmünoglobülin A, mukozal bağışıklığın önemli bir bileşenidir ve bağırsakta hümmre dışı gerçekleşen olaylar karşısında hümmrenin kendi metabolizmasını koruma eğilimi olarak tanımlanan homeostazi durumundan ve savunma mekanizmasından sorumludur. Sindirim sistemi, ağız, burun, kulak, göz, vajina ve nefes yolları gibi yerlerde bulunan ve dışarıdan gelen yabancı maddelerden koruyan antikorlardır. Yeni doğum yapmış annenin ilk sütü olan kolostruma kadar pek çok hassas bölgede vücudu enfeksiyonlardan koruyacak

şekilde yer alır. Annenin ilk sütü olan kolostrum ile bol miktarda hazır IgA antikorlarını alan bebek, akciğerinden midesine, ağız içerisinden idrar yollarına, pek çok hassas noktada enfeksiyonlara karşı korunmuş olur (Arciniega-Martinez vd., 2015). Bağışıklık sisteminin IgA türü antikor üretebilen bireylerde sık enfeksiyon gözlenmez. Kan serumu proteinlerinin %10-15' ini oluşturur (Lock ve Unsworth, 2003; Baskın vd., 2010). Çocuklarda görülen selektif IgA eksikliği en sık rastlanan immün yetersizliktir tipidir ve serum IgA düzeyinin 5 mg/dl altında olması ile karakterize bir hastalıktır (Kamber vd., 2009).

İmmünoglobülin M, B hücre tarafından oluşturulan ilk antikordur. Lenf sıvısı ve kanda bulunan, yabancı maddelere ilk tepkiyi veren antikordur. Kan serumu proteinlerinin % 5-10'unu oluşturur. IgM antikorları bağışıklık sisteminde bulunan yabancı maddeleri yok eder (Lock ve Unsworth, 2003; Baskın vd., 2010).

İmmünoglobülin G, serumda en fazla bulunan antikordur. Plasentaya geçen tek antikor olmakla birlikte, anneden bebeğe geçmesiyle doğumdan sonra bile bebeği bir süre daha korumaktadır. Sekonder immün yanıtın temel antikordur. Mikroorganizmaların mukoza hücrelerine bağlanmasını önler. Kan serumu proteinlerinin %75-80'ini oluşturur. Vücutta en çok bulunan bu antikorlar bakteri, virüs ve enfeksiyonlara karşı koruma sağlar (Lock ve Unsworth, 2003; Baskın vd., 2010).

İmmünoglobülin E, polen, toz ve hayvan tüyü gibi alerjik olan dış maddelere karşı üretilen antikordur. IgE antikorları akciğerlerde, deride ve mukoza zarında bulunur. IgE antikor değerleri genelde alerjisi olan kişilerde yüksektir (Lock ve Unsworth, 2003; Baskın vd., 2010).

İmmünoglobülin D, serumda çok az miktarda bulunur. B hücrelerinin olgunlaşması ve farklılaşmasında görevlidir. Göbek ve göğüs dokularında bulunur (Lock ve Unsworth, 2003; Baskın vd., 2010).

Hücresel immünite, T lenfositler olarak anılan hücreler aracılık eder ve hücre içi mikroplara karşı savunma görevindedir. Bazı T lenfositler fagositleri harekete geçirmekle sorumlulardır (Vatansever ve Kahraman, 2012).

Bağışıklık sistemini oluşturan hücrelerin ana kaynağı kemik iliğindeki öncü hücrelerden oluşmaktadır ve vücudun çeşitli bölgelerinde bulunan bazı özel bölgelerde olgun hücreler haline gelmektedirler. Kemik iliği, nötrofiller, eozinofiller, bazofiller, mast hücreleri, monositler, dendritik hücreler ve makrofajlar gibi enfeksiyona karşı önemli yanıtı veren bağışıklık ve savunma hücrelerinin öncülerinin yapıldığı bir merkez konumundadır (Kutlu vd., 2016).

Vücutta bağışıklık sistemini oluşturan yapılar, adenoidler, tonsiller, timus, lenf düğüm ve damarları, dalak, apandis ve kemik iliğidir. Lenf düğümleri B ve T lenfositlerin çoğaldığı yerdir. Dalak, kırmızı kan hücreleri ve bağışıklık sisteminin beyaz kan hücreleri için depo olarak görev yapar aynı zamanda kandaki yabancı maddelerin büyük bir kısmını süzer (Laurin vd., 2015). Timus, kemik iliğindeki kök hücrelerden farklılaşan lenfosit hücrelerinin olgunlaştığı göğüs ön üst boşluğunda ve göğüs kemiği arkasında yer alan bir organdır. Doğumdan itibaren gelişimine devam eder ergenlik döneminde en büyük boyutuna ulaşır ancak ilerleyen yaşla birlikte küçülen bir bağışıklık sistemi organıdır (Candan vd., 2000).

Edinsel bağışıklık sistemini oluşturan bu lenfoid sistem, makrofaj, nötrofil, lenfosit, monosit gibi diğer yardımcı hücrelerden oluşmaktadır. Makrofajlar doku içine giren patojen mikroorganizmalara karşı hemen cevap veren ve onları fagosite ederek ortadan kaldıran, dokuların savunmasında sürekli olarak yer alan savunma hücrelerdir (Paul, 2015).

İnflamasyon bağışıklık sisteminde enfeksiyona karşı gösterilen ilk yanıtlardan biridir. Nötrofiller kan dolaşımında bulunan beyaz kan hücrelerinin büyük çoğunluğudur ve yangısal olayı oluştururlar. Mononükleer fagosit denilen, tek çekirdeğe sahip, fagosit özelliği olan hücrelerin doğal ve edinsel bağışıklıkta

önemli fonksiyonları vardır. Fagositik hücreler mikropları kendi içine alarak fagosome ederler ve ortadan kaldırırlar (Candan vd., 2000).

Kandan doku içine göç eden monositler makrofajlara dönüşürler ve bulundukları dokulara göre adlandırılmaktadır. Makrofajlar, akciğer içinde alveoler makrofaj, kemik dokuda osteoklast ve sinir sisteminde mikroglia ismini almaktadırlar. Makrofajlar mikropların ortadan kaldırılması işleminde reaktif oksijen ve protein yıkımını sağlayan bir takım proteolitik enzimleri kullanırlar (Candan vd., 2000).

Sitokinler inflamatuvar aktiviteyi arttıranlar proinflamatuvar sitokinler ve inflamatuvar aktiviteyi azaltan veya artan inflamatuvar aktiviteyi dengeleyenler anti-inflamatuvar sitokinler olarak sınıflandırılabilir. Proinflamatuvar sitokinler interleukin(IL)-1, IL-2, IL-6, TNF- α , INF-gama; anti-inflamatuvar sitokinler (sitokin sentez inhibitörleri) IL-4, IL-10, IL-12, IL-13'tür. IL-8 gibi bazı sitokinler ise hem proinflamatuvar hem anti inflamatuvar özellik gösterebilmektedir (Sacu ve Bildik, 2009; Hemarajata ve Versalovic, 2013).

İnterlökinler (IL), beyaz kan hücreleri lenfositlerince ekspresse edilen gizli sinyalleme molekülleri olan sitokinlerin bir grubudur. İsmi lenfositlerden lökin ve haberleşme anlamına gelen interden almıştır (Sharma vd., 2016).

Bağışıklık sisteminin geniş bir kısmı interleukinlere bağlıdır. Bazıları eklem inflamasyonunu tetiklemede önemli rol oynarlar. İnterlökin ailesi makrofajlar ve T lenfositlerden salınır. B lenfositlerini olgunlaşmak ve farklılaşmak için uyarır. İmmünoglobülin metabolizmasını B-lenfosit üzerinden hızlandırır (Vinderola vd., 2004; 2006; Carasi vd., 2015).

Makrofajların patojenleri tanıması, patojen ilişkili moleküler motifler, Toll like reseptörler(TLR) ve Mannoze reseptörleri (MR) gibi bazı yüzey molekülleri ile olur (Paul, 2015).

Proinflamatuvar sitokinler (IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF) inflamasyonda, IL-1 ve IL-6 gibi sitokinler aracılığıyla T ve B hücrelerin antijene bağlı aktivasyonunda rol alırlar (Hassan vd., 2016). IL-12 ile hücrel immün yanıtta rol oynarlar. İnterferon (IFN)- α salınımı ile antiviral etki sağlarlar (Endrighi vd., 2016; Sharma vd., 2016).

İnterlökin-1, aktive makrofajlar tarafından üretilen diğer bir inflamatuvar sitokindir. Etkileri, tümör nekroz alfa (TNF- α)'ya benzer ve aynı zamanda T hücrelerinin aktive edilmesine yardımcı olur (Paul, 2015).

İnterlökin-2, Th hücreleri tarafından daha düşük düzeyde üretilir. T hücreleri için ana büyüme faktörüdür. B hücrelerinin büyümesini teşvik edebilir. NK hücreleri aktive edebilmektedir (Candan vd., 2000; Hemarajata ve Versalovic, 2013).

İnterlökin-4, makrofajlar ve Th2 hücreleri tarafından üretilir. Th2 hücre büyümesini teşvik eder. Ayrıca IgE anahtar çevrimini stimüle eder (Candan vd., 2000).

İnterlökin-5, Th2 hücreleri tarafından üretilir ve B hücrelerinin eozinofillerin büyümesinde ve farklılaşmasında rol oynar (Candan vd., 2000; Hemarajata ve Versalovic, 2013).

İnterlökin-10, aktive edilmiş makrofajlar ve Th2 hücreleri tarafından üretilir. Bu ağırlıklı olarak inhibitör bir sitokindir. IFN- γ 'nın Th1 hücreleri tarafından üretimini inhibe eder, böylece bağışık yanıt Th2 tipe kaydırır. Aynı zamanda, aktive edilmiş makrofaj üzerindeki ko-stimülatör molekülleri inhibe eder (Paul, 2015).

İnterlökin-12, aktive edilmiş makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından üretilir. IFN- γ üretimini ve Th hücrelerinin Th1 hücrelere farklılaşmasını uyarmaktadır. Dendritik hücreler özellikle henüz farklılaşmamış T lenfositleri uyarak birincil immün cevabın oluşmasını sağlamaktadırlar. Bu işlevlerini

gerçekleştirebilmek için antijeni kapma, işleme tabi tutma ve uygun kostimulan moleküllerle hücre yüzeyinde sunma becerisine sahiptirler. DH'ler B hücre fonksiyonlarının oluşumunda etkili olduklarından humoral immünite gelişiminde önemli role sahiptir. Edinsel ve doğuştan gelen bağışıklık sistemi arasında bir haberci olarak davranırlar. (Candan vd., 2000).

TNF- α , Tümör nekroz alfa mikroplara özellikle gram negatif bakterilerin lipopolisakkaridlerine karşı yanıtta aktifleşmiş makrofajlar tarafından üretilir (Sharma vd., 2016). Sitokin çeşitleri, etki hücreleri ve başlıca etkileri ayrıntılı bir şekilde Çizelge 2.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 2.6. Bazı sitokin çeşitleri ve başlıca etkileri (Paul, 2015)

Sitokin	Kaynaklandığı Hücre	Hedef Hücre	Başlıca Etkileri
IL-1	Monositler, Makrofajlar, Fibroblastlar, Epitelial hücreler, Endotelial hücreler	T- B hücreler, Hipotalamus, Karaciğer	Kostimulatör molekül, Aktivasyon (inflamasyon), Ateş, Akut faz reaktanları
IL-2	T hücreleri, NK hücreleri	T- B hücreler, Monositler	Büyüme, Aktivasyon
IL-3	T hücreleri	Kemikiliği öncülleri	Büyüme ve farklılaşma
IL-4	T hücreleri	T- B hücreler	Th2 hücrelere dönüşüm, Büyüme, Aktivasyon, IgE'ye izotip çevrimi
IL-5	T hücreleri	B hücreler, Eozinofiller	Büyüme ve aktivasyon
IL-6	T hücreleri, Makrofajlar, Fibroblastlar	T- B hücreler, Karaciğer	Kostimulatör molekül, Büyüme(insanda), Akut faz reaktanları
IL-10	T hücreleri (Th2)	Makrofajlar, hücreler	T Antijen sunan hücre aktivitesinin inhibisyonu, Sitokin üretiminin inhibisyonu
IL-12	Makrofajlar, hücreleri	NK T hücreler	Th1 hücreye dönüşüm
IFN- γ	T hücreleri, hücreleri	NK Monositler, Endotelial hücreler	Aktivasyon
TGF- β	T hücreleri, Makrofajlar	T hücreler, Makrofajlar	İnhibisyon aktivasyonu ve büyüme
TNF- α	Makrofajlar, hücreleri	T T- B hücreler, Hipotalamus, Karaciğer	Kostimulatör molekül, Aktivasyon (inflamasyon), Ateş, Akut faz reaktanları

Tip I interferonlar (IFN- α ve IFN- β), birçok hücre türü tarafından üretilir ve hücrelerde viral replikasyonu inhibe etmede görev yaparlar. Tip I interferonlar ayrıca NK hücreleri aktive etmektedir (Hemarajata ve Versalovic, 2013).

İnterferon alfa gibi inflamatuvar sitokinler depresyona yol açmakta ve antidepresan ilaçlarla engellenebilmektedir. Antidepresanların monoaminler üzerine etkisinin yanında güçlü immunoregulator sitokin IL-10 üzerinden inflamasyonu baskılayarak da antidepresan etki oluşturduğu düşünülmektedir (Evrensel ve Ceylan, 2015).

İnterferon gama (IFN- γ), daha düşük ölçüde T ve NK hücreleri tarafından da üretilebilse de, asıl olarak Th1 hücreler tarafından üretilen önemli bir sitokindir. Hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık sistemde çok sayıda fonksiyona sahiptir. Th1 kökenli IFN γ , IgG'i; Th2 kökenli IL-4, IgE üretimini etkilemektedir (Candan vd., 2000).

Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β), T hücreleri ve diğer hücre türü tarafından üretilen inhibitör bir sitokindir. T hücrelerinin çoğalmasını ve makrofaj aktivasyonunu inhibe eder. Aynı zamanda, pro-inflamatuvar sitokinlerin etkilerini ortadan kaldırabilir (Candan vd., 2000).

T ve B lenfositler yüzey membranlarındaki reseptörler ile tanınırlar. T helper hücreler Th-1 ve Th-2 olarak iki grup altında incelenirler. Th1 hücreler IL-2 ve IFN-gama salgılayarak sitotoksik T hücresi ve gecikmiş aşırı duyarlılık yanıtı gibi fonksiyonları güçlendirici işlevler görürken, Th2 hücreleri ise IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 sentezleyerek B hücre yanıtlarını düzenlemektedir (Tuncer ve Kılıç, 2006; Sönmez vd., 2014).

Proinflamatuvar sitokinler bir patojenle karşılaşmada yanıt olarak salgılanabilmekte, immün sistem ve beyin arasındaki iletişime aracılık etmektedir. Hem insan hem de fare üzerine yapılan çalışmalarda, interferon- γ , interlökin-12 ve interlökin-18'in önemli bileşenler olarak kabul edildiği, bir dizi anti mikrobiyal immün yanıtta merkezi rolünü ortaya koymuştur. IL-12, büyük

ölçüde IFN- γ uyarılması yoluyla Th1 hücrelerinin immün yanıtların gelişiminde kritik bir faktördür (Hope vd., 2002).

Toll benzeri reseptörler (TLR), doğal immün sistem patojenlerin yapısını tanır ve inflamatuvar yanıtı başlatır. Ayrıca doğal immün sistem ile kazanılmış immün sistem arasında da köprü görevi görmektedirler. TLR'lerden özellikle TLR2 ve TLR4'ün sepsis patogeneğinde önemli görevleri bilinmektedir (Kundakcı ve Pirat, 2012).

İnsan kalın bağırsağı mikrobiyal bir ekosistemidir. Mikrobiyal kolonizasyonun asıl yeri gastrointestinal sisteminde yer alan kolonda 1,5 kg mikroorganizma ağırlığıyla 10^{14} mikroorganizma yükü bulunmaktadır (Moore ve Holdeman, 1974; Whitman vd., 1998; Dominguez-Bello vd., 2010). Gastrointestinal sistemde mikrobiyal yük ve çeşitlilik yaş, probiyotik veya prebiyotik alımı, antimikrobiyal bileşenler gibi faktörler ile değişmektedir (İlgül, 2005; Walsh vd., 2014).

İnsan sütü yüksek miktarda *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar bulunan bir mikrobiyota sahiptir. Yeni doğan bebekler anne sütü sayesinde potansiyel prebiyotiklere ve probiyotiklere maruz kalırlar (Yeşilova vd., 2010).

Bifidobakterlerin veya laktobasillerin tek başına veya fermente edilebilir karbonhidratla (prebiyotikler) birlikte verilmesinin kolonik mikroflora popülasyonlarını değiştirebileceği ve tümörlerin gelişimini azaltabileceği bildirilmiştir (Bubnov vd., 2015).

Yapılan çalışmalarda prebiyotik ilavesi ile hazırlanmış bebek formülleriyle beslenen bebeklerde, tek başına bebek formülüyle beslenen bebeklere kıyasla fekal pH'nın daha düşük; *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. gruplarında ise önemli derecede bir artış bulunmuştur (Haarman ve Knol, 2005; Wang vd., 2016).

Gastrointestinal bağışıklık sisteminin karakteristik özelliği zararsız diyet antijenlerine ve çocukluk çağında elde edilmiş normal intestinal floraya karşı tolerans (yanıtsızlık ya da azalmış yanıt) sergilemesidir. Buna karşı potansiyel olarak patojen olan mikroorganizmalara karşı ise ciddi direnç gösterir. Bu farklı davranışların gösterilebilmesi, gastrointestinal bağışıklık sistemin luminal antijenleri değerlendirmesi, farklılıkların saptanması, zararlı olanların zararsız olanlardan ayırt edilmesi ile mümkündür. Gastrointestinal bağışıklık sistemin verilecek yanıtı çok iyi düzenlemesi gerekmektedir. Mukozal bağışıklık sistemin regülasyonundaki bir bozukluk ya da yetersizlik alerji, inflamasyon, otoimmün hastalıklar gibi birçok bozukluğun ortaya çıkmasına yol açar. Gastrointestinal kanal bu fonksiyonları yerine getirebilmek için vücudumuzdaki en geniş bağışıklık sistemine sahiptir. Toplam bağışıklık sisteminin %70'den fazlası gastro-intestinal kanalda bulunmaktadır (Özden, 2005; Beşer vd., 2015).

Bebek bağırsak mikrobiyolojisinin gelişimi, prenatal olarak başlayan ve yaşamın ilk iki veya üç yılı boyunca devam eden dinamik bir süreçtir. Bakteriler bağışıklık sisteminin erken gelişimi, hayat boyu süren işlevinde anahtar rol oynarlar (Koca, 2015). Bağırsak florası yakınında yer alan lenf dokularını stimüle ederek patojenlere karşı antikor üretimini sağlamaktadır. Bir bebek doğar doğmaz sindirim sistemine bakteriler yerleşir ve ömür boyu orada kalır; bu nedenle normal vajinal yolla doğan bebekler annelerinden aldıkları flora sebebiyle sezeryanla doğan bebeklere göre daha güçlü bir bağışıklık sistemine sahip olurlar. Bebekte ilk gelişen flora doğum sırasında annenin vajinasından yuttuğu ilk floradır (Doğan, 2012; Hemarajata ve Versalovic, 2013). Bağırsak mikrobiotasının düzenlenmesi normal ve dengeli beslenme, yaşam biçimi düzenlenmesi, kolon hidroterapi, probiyotik, prebiyotik, sinbiyotiklerin kullanımı, florayı bozan antibiyotik gibi etkenlerden kaçınmayla sağlanabilmektedir (Baysal, 2012).

Probiyotiklerin immün sisteme etkileri; antikor üretimini ve NK hücrelerinin aktivitelerini artırmaktır. Genellikle probiyotikler interlökin-10 (IL-10) ve TGF-beta gibi intestinal antiinflamatuvar sitokin üretimini artırırken, IL-8 gibi

proinflatuvar sitokin üretimini düşürürler (Maassen vd., 2000; Yeşilova vd., 2010).

Thoreux ve Schmucker (2001) ağız yoluyla alınan kefirin farelerde kolera toksinine (CT) karşı bağışıklık tepkisini incelemek adına gerçekleştirdikleri çalışmada, kefir ile beslenen genç farelerde (6 aylık) anti-CT IgA konsantrasyonunun arttığını, yaşlı farelerde (26 aylık) ve kontrol grubunda ise herhangi bir değişiklik görülmediğini bulmuşlardır (Thoreux ve Schmucker, 2001).

Obez bireylerde orta ve yoğun düzeyde egzersizin immün sisteme etkisinin incelendiği bir çalışmada, orta düzeyde egzersiz yapan hastalarda ortalama vücut kitle indeksinde ve leptin seviyesinde sırasıyla %3,7 ve %9,2 azalma saptanırken ortalama immünoglobülin G (IgG) düzeylerinde %4,8 oranında bir artış tespit edildi. Yoğun egzersiz yapan hastalarda ise ortalama vücut kitle indeksinde ve leptin seviyesinde sırasıyla %3,4 ve %3,7 azalma saptanırken ortalama immünoglobülin G (IgG) düzeylerinde %2,3 oranında bir artış tespit edildi. Her iki grup hastalarda da ortalama ve leptin düzeyleri azalırken, IgG düzeyleri önemli oranda artış göstermiştir (El-Kader, 2011).

Balb/c farelerine (6 haftalık) oral yolla kefirin uygulaması ile 7. günün sonunda lamina propriadaki IgA hücrelerinin sayısında artış görülmüştür. Ayrıca makrofaj hücrelerde de artış görülmüştür. Bu çalışma ile kefirin bağışıklık mukozasındaki dengeli sağlama ve değiştirme gibi özelliklerinin olduğu tespit edilmiştir (Medrano vd., 2011).

Mikrobiyotanın immün yanıtta etkinliğinde ürettiği aktif moleküllerden IL-1, IL-18, interferonlar, TNF, IL-10, serum amiloid A en etkin olanlarıdır (Salman vd., 2015).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda D vitaminin immün sistemde düzenleyici rolü incelenmiştir. Aktif olan formu T helper (Th)1 hücrelerinin çoğalmasını baskılamakta ve bu hücrelerden sitokin interferon (IFN)- γ interleukin (IL)-2

üretimini azaltmaktadır (Türken vd., 2015). Th2 hücrelerinden ise IL-4 ve inflamatuvar T hücre aktivitesini baskılayan transforming growth factor (TGF) üretimini arttırır. D vitamini uyarısı olmadığında T hücrelerinde Th1 fenotipi baskındır. IL-12 sentezi baskılanır, IL-10 sentezini ise arttırmaktır (Tamer ve Mesçi, 2013).

IL-12 monosit ve B hücreleri tarafından üretilir ve NK ve T hücrelerinden IFN- γ üretimine neden olmaktadır. IL-12'nin biyolojik aktivitelerinin çoğuna endojen olarak sentezlenmiş IFN- γ aracılık etmektedir, bu da IFN- γ üretimiyle konakçıları enfeksiyöz ajanlara karşı korumak için bir ön şarttır. Zhang vd., *Aspergillus fumigatus* enfeksiyonuna karşı yaptıkları bir çalışmada; IL-12'nin tedavi etkisinin, akciğer dokusunda arttırılmış inflamatuvar hücre alımıyla ve proinflamatuvar sitokinlerin artmış doku konsantrasyonları vasıtasıyla sağlandığını, inflamatuvar mononükleer lökositlerin enfeksiyon yerlerinde birikimi, IFN- γ 'nin lokal üretimi ve salınımı ile düzenlendiğini düşünmektedirler. Sonuç olarak, IL-12 ve IL-2'nin infüzyon ajanlarından IFN- γ üretiminden *A. fumigatus* enfeksiyonuna kadar korunması için bir ön koşul olarak güçlü bağışıklık düzenleyici sitokinler olduğu gösterilmiştir. Patojene spesifik tedavinin yapıldığı sırada IL-12 ve IL-2 kombinasyonunun sinerjik etkileri olduğu bulunmuştur. IL-12 ve IL-2'nin kombinasyonu, pulmoner dokudaki IFN- γ ekspresyonunu arttırmada yardımcı olabilir, ancak pulmoner dokudaki koloni yükünü azaltmaz veya farenin hayatta kalma oranını arttırmaz (Zhang vd., 2013).

Bağırsak beyin eksenini kavramı üzerine çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Yetişkinlerde inflamatuvar bağırsak hastalığının, obezitenin ve nörogelişimsel bozukluklar bağırsakta bakteriyel bozulmalardan kaynaklanmaktadır (Kuloğlu vd., 2009; Bubnov vd., 2015).

Bağırsak mikrobiyal bileşimindeki değişiklikler, ruh hali, ağrılar ve kavrama ile ilişkili davranışlarda belirgin değişikliklerle ilişkilidir. Hastalıkta ve sağlıkta mikrobiyota ve beyin arasındaki iletişimin iki yönlü yolağının kritik önemini ortaya çıkarmaktadır (Kau vd., 2012). Mikrobiyom-beyin-bağırsak ekseninin

işlev bozukluğu, depresyon, endişe ve hassas bağırsak sendromu ve otizm gibi nörogelişimsel bozukluklar gibi stresle ilişkili bozukluklardır (İlkgül vd., 2005; Borre vd., 2014; Sharma vd., 2016).

Psikonöroimmünoloji hem duygu-durum bozukluklarının patofizyolojisinde hem de antidepresanların farmakolojik etkilerinde yeni ufuklar açmaktadır. Fakat, antidepresanların gösterdiği immün etkilerin bir yan etki mi yoksa biyofizyolojik etkilerinin anlamlı bir parçası mı olduğu halen belirsiz bir durumdadır (Kuloğlu vd., 2009).

Antipeptik ülser ilacı olan irsogladine maleat (IM) gastrointestinal mukoza üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabilir. Yapılan bir çalışmada IL-10 eksikliği olan farelerde spontan kolit üzerinde IM'nin etkisi incelenmiştir. 5 haftalık farelere 10 hafta süre ile kontrol diyeti ve 100 ppm IM içeren bir diyet uygulanmış; kolon dokuları morfolojik ve histolojik olarak değerlendirilmiştir. Fare makrofaj hücreleri, lipopolisakkarit uyarımı sonrasında IM ile inkübe edilmiştir. Kolon uzunluğu, ağırlık ve histolojik değerler, spontan kolitin, kontrol diyetiyle beslenenlere kıyasla IM içeren bir diyetle beslenen farelerde önlendiğini açıkça ortaya koymuştur. Sonuç olarak; TNF-a, IL-1, IFN- γ , IL-17, IL-12 ve IL-23 mRNA ekspresyon seviyeleri, IM ile tedavi edilen hayvanların kolonik dokularında belirgin olarak düşüş gösterdiği bulunmuştur (Nakagawa vd., 2015).

Neisseria meningitidis A (MenA) kapsüler polisakkaritin (CPS) ilgili fosfata köprülenmiş oligomerlerinin stabilize edilmiş bazı yeni fosfonoester bağlantılı oligomerleri, bir protein taşıyıcı model olarak insan serum albumine (HSA) konjuge edilmiş ve immünolojik aktiviteler için incelenmiştir. In vitro olarak, T hücre proliferasyonunu ve IL-2 salınımı indüklemeye aktivitesini; in vivo olarak spesifik IgG antikor üretimini uyartabilme yetenekleri incelenmiştir. Tüm HSA-konjüge bileşikler T hücre çoğalmasını teşvik ederken, sadece fosfonodisakkarit, birleştirilmemiş formlar arasında etkili olmuştur. IL-2 salınımı da bu sonuçları teyit etmiştir (Fallarini vd., 2015).

Obal vd. (2016) ilerleyici bir sinir hastalığı olan amiyotrofik lateral skleroz (ALS) , hasta hayvan modellerine uygulanan immünoglobülin G(IgG), farelerin serumlarında humoral ve hücresele immün reaksiyonları incelemişlerdir. ALS hastalarının omuriliğinde, IgG birikimi, hücre içi yüksek kalsiyum aktivasyonu kaydedilmiştir. ALS hastalarından veya immün aracılı bir keçi modelinden alınan IgG ile intraperitoneal olarak aşılanan fare serumlarında ve dokularında TNF- α , IL-10 ve IL-6 ve sitokin miktarları ELISA yöntemiyle incelenmiştir. IgG enjeksiyonlardan 24 saat sonra ciddi bir solunum fonksiyon bozukluğu gözlemlenmiştir. Bağışıklık kazandırılmış keçilerden alınan IgG, farelerde serum ve omurilikte bulunan üç sitokinin hepsinde önemli artışlar meydana getirmiştir.

2.6. Probiyotik Mikroorganizmaların İmmün Sistem Üzerine Etkileri

Probiyotikler, konakçıya yeterli miktarda verildiğinde sağlığı ya da fizyolojisi üzerinde olumlu etki yapan canlı ve patojen olmayan mikroorganizmalardır (Parvez vd., 2006). Gıda maddesiyle alınan probiyotiklerin bağırsak sistemine canlı olarak ulaşması ve gıdanın en az 10^6 kob/g sayıda canlı probiyotik bakteri içermesi gerekmekte ve raf ömrü süresince canlı kalabilmeleri gerekmektedir. Probiyotik özellikli mikroorganizmaların büyük çoğunluğu laktik asit bakterileridir. Probiyotikler, patojen mikroorganizmalar üzerine direkt antagonistik etki yaparak, patojen bakterilerin üremesini engelleyen inhibitör antimikrobiyal peptid (bakteriyosin) üretmektedirler (Vinderola vd., 2005; Güzel-Seydim vd., 2006; Doğan, 2012; Ahmed vd., 2013).

Hipokrat'ın söylediği üzere “Bütün hastalıklar bağırsaktan başlar” ve “Bağırsak hasta ise vücudun geri kısmı da hastadır” ifadeleri ile bağırsak sisteminin önemi vurgulanmaktadır. ABD’li bilim adamı Michael Gershon 2015 yılında “Bağırsak insan vücudunun ikinci beynidir” ifadesi ile bağırsak sağlığının önemini tekrarlamıştır. Tüketilen gıdaların %90’ı ince bağırsaklarda emilmekte (Özden, 2005); ayrıca probiyotik bakterilerin canlılıkları kalın barsağa ulaşınca kadar devam etmekte ve burada kolonize olarak olumlu etkilerini

gösterebilmektedirler. Kefir gibi probiyotik özellikli ürünler bağırsak florasını da etkileyerek IgA ve IL-10 düzeylerini artırmaktadır (Ahmed vd., 2013).

İmmün sistemi stres, sağlıksız beslenme, aşırı beslenme, obezite ve yaş ilerledikçe azaldığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Chandra, 1997; Glaser ve Kiecolt-Glaser, 2005; Aw, 2007). Günümüzde immün sisteminin zayıflaması ve kolon hastalıkları sebebiyle bilinçli gıda tüketimleri söz konusu olmakta ve doğal üretimlerinden dolayı geleneksel gıdalara yönelmeler artmaktadır (Hemarajata ve Versalovic, 2013).

İmmün sistemde probiyotikler, inflamasyon, Tip 2 diyabet hastalığı, metabolik sendrom, atopi, astım, iskelet kas sistemi bozukluğu, karaciğer fibrozu, kalp damar hastalıkları, nörolojik dejenerasyon hastalığı, damar tıkanıklığı ve kanser gibi metabolik ve inflamatuvar bozuklukların tedavisinde etkili bir şekilde görev almaktadır (Golubnitschaja vd., 2012; Mokrozub vd., 2015; Bubnov vd., 2015; Salman vd., 2015).

Yağ dokusu ile karaciğer yağlanması arasındaki ilişki ve bunun fibroza dönüşümü, alkolik olmayan karaciğer yağlanması hastalığının multifaktöriyel patogenezi ve katkıda bulunan çeşitli risk faktörleri için tedaviler klinik ve araştırma deneyimleriyle desteklenmektedir. Bazı probiyotikler, gelişmiş bağırsak bariyeri fonksiyonu, hepatik safra asidi sentezi ve azalmış karaciğer inflamasyonu gibi ortak yararlı özellikler göstermektedir. Yapılan deneyler sonucu, mekanizmanın, hepatik safra asidi sentezini ve metabolizmasını, FXR ekseninin bir tarifi dahil olmak üzere probiyotiklerin bir karışımı ile modüle ettiğini göstermiştir (Bubnov vd., 2015).

Laktik asit bakterileri, bağırsak yolunda patojenik bakterilerin kolonizasyonunu rekabetçi olarak inhibe etmeleri ve bağırsak bağışıklık sistemi ve bağırsak-beyin eksenini üzerindeki yararlı etkileri nedeniyle, probiyotikler olarak en çok kullanılan mikroorganizma grubuna dahildir (Güzel-Seydim vd., 2006; 2010; Ahmed vd., 2013; Bubnov vd., 2015; Güzel-Seydim, 2016)

Mikrobiyota mukozal bariyer direncini artırarak mukozal dokuları antijen ve patojenlerden korumaktadır. Probiyotikler bu noktada yardımcı rol oynamaktadır (Guarner ve Malagelada, 2003; Salman vd., 2015).

Mikrobiyotanın konakçı immün sistemine önemli desteğine rağmen bu ekosistemdeki anormal değişiklikler sonucunda gelişen disbiyozis durumunda ise alerji, inflamatuvar hastalıklar, obezite, diyabet mellitus ve kanser gelişimi hızlanır (Tsuji vd., 2008; Tuohy vd., 2006; Salman vd., 2015).

Bağıışıklık sistemindeki bozuklukların ve yetmezliklerin en sık bulgusu sık tekrarlayan enfeksiyonlardır. Bağıışıklık sistemi yetmezliği olan çocuklarda büyüme gelişme geriliği, kronik ishal, iyileşmeyen yaralar, göbek kordonunun geç düşmesi, lenf bezlerinde, karaciğer ve dalakta büyüme, ilerleyici denge bozuklukları gibi hastalıklar görülebilmektedir (Bubnov vd., 2015).

Ashraf ve Shah, (2014) detaylı derlemesinde; *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Bifidobacterium lactis* gibi probiyotik mikroorganizmaların alınması ile bağırsağın efektör bölgesinde IgA+ hücreleri ve sitokin üreten hücrelerin sayısını artırarak bağırsak mukozal bağıışıklık sistemini iyileştirmektedir. Çizelge 2.7' de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

Sitokinler immün hücreler tarafından üretilen, homeostazisi sağlamak üzere immün sistemin modülatörleri olarak diğer biyolojik sistemlerle ilişkiyi sağlayan moleküllerdir (Doksat, 2003; Kuloğlu vd., 2009). IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinler proinflamatuvar; IL-4, IL-10 ve IL-13 gibi sitokinler anti inflamatuvar sitokinlerdir. IL-10'un temel biyolojik etkinliği T hücrelerinden sitokin yapımını baskılamaktır (Candan vd., 2000; Emre vd., 2011).

Kolesterol, tüm canlıların hücre duvarında bulunan ve insan metabolizmasında önemli görevleri olan organik bir maddedir. Vücutta sentezlenen ve gıdalarla alınan kolesterol daha sonra safra asitlerine dönüşmektedir. *L. acidophilus* gibi laktik asit bakterileri ve bazı bifidobakterler bu safra asitlerini dekonjuge edebilme yeteneğine sahiptir. Dekonjuge olan safra asitleri, lipitlere göre

vücutta daha kolay emilmektedir. Fareler üzerinde yapılan çalışma ile laktik asit bakterileri ile kolesterol düzeyinde azalmaya neden olduğu görülmüştür (Karatepe ve Yalçın, 2014; Bubnov vd., 2015).

Probiyotiklerin immün sistemine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada *Bifidobacterium breve* ile yapılan hayvan deneyinde peyer plaklarında antikor arttığı saptanmıştır. *L.casei* shirota suşu verildiğinde T helper hücrelerinin sayısında artma, IgE düzeyinde ise azalma gösterdiği tespit edilmiştir (Kognoff, 1993; Sezen, 2013).

Bir başka deney fareleri çalışmasında oral yoldan kommensal bakteri verince IL- 10 sentezi ve düzeyinde artış görülmüştür (Macpherson ve Uhr, 2002).

Yapılan bir çalışmada 50 sirozlu hastaya *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis* ve *Enterococcus faecium*'u içeren iki tip probiyotiğin kapsül şeklinde iki hafta süreyle verilmesinin, kandaki amonyak seviyesi, fekal pH, fekal amonyak ve plazma endotoksin seviyelerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, kolondaki bifidobakterilerin sayısında artış, kan ve fekal amonyak seviyeleri ile plazma endotoksin miktarında düşüş olduğu gözlenmiştir (Zhao vd., 2004; Sezen, 2013).

Atopik rahatsızlıklar (astım gibi), genetik yatkınlık, deri ve gastrointestinal mukozada anormallikler ve çevresel antijenlere immün yanıtta bozukluklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Prematüre ve sezeryanla doğan bebeklerin kalın bağırsak florası geç olduğu için mukozal immün sistemin gelişmesi de gecikmektedir. Bu nedenle de atopik egzama bu çocuklarda daha sık görülmektedir. Atopik egzamalı çocukların kolon florasında Laktobasil ve Bifidobakter seviyesi düşüktür. Probiyotik bakterilerin verilmesi ile deri lezyonlarının gerilediği görülmektedir. Hamile bayanlar hamilelikleri süresince ve emzirme dönemlerinde probiyotik alımıyla birlikte bebeklerinde atopik egzama görülme riski %50 oranında azalmaktadır. Bu nedende hamile bayanlara diyetlerine probiyotik ürünleri almaları önerilmektedir (Özden, 2013; Bubnov vd., 2015).

Bayanlarda yaygın olarak görülen meme kanseri ve süt bezleriyle ilişkili immün hücreler üzerine yapılan bir çalışmada; *Lactobacillus helveticus* R389 suşunun fermente ettiği süt ürünü ile beslenen dişi Balb/c fareler; tümör hücreleri enjekte edilen, edilmeyen ve kontrol grubu olarak gruplandırılmıştır. Enjekte edilmiş *L. helveticus* R389 ile beslenen farelerde diğer gruplara kıyasla IL-10 artışı ve IL-6 azalışı gözlemlenmiştir. Kontrol grubu farelerde bağışıklık hücresi ve sitokin sayılarında herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Oral olarak uygulanan fermente ürünler, uzak mukozal bölgelerdeki bağışıklık hücresi aktivasyonunu değiştirmek ve bu hücrelerin uyanık kalmasını sağlamak için kullanılabilir, bağışıklık endokrin ilişkisini modüle edebilir şeklinde yorumlanmıştır (LeBlanc vd., 2005).

Vinderola vd. (2006) kefir mikroflorasının immün sistemleri üzerinde etkilerini *in vivo* olarak inceledikleri bir çalışmada 6-8 haftalık dişi Balb/c fareler kullanmışlardır. Deney farelerinin günlük diyetlerine ilave olarak 200 ul/gün kefir gavaj yoluyla verilmiştir (2, 5 ve 7.gün). Kontrol grubu farelerine ise aynı dengeli beslenme ve su verilmiştir. 7.gün sonunda sakrifiye edilen farelerin sitokin profilleri ince ve kalın bağırsak örneklerinden elde edilen intestinal sıvılar ile Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) kitleriyle belirlenmiştir. IgA ve IgG hücreleri ince ve kalın bağırsakların histolojik dilimleri üzerinde belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda kefir mikroflorası B hücreleri için gerekli olan IL-6 salgılanmasını arttırmıştır. Kalın bağırsak üzerine etkisi ince bağırsakta belirlenen etkisinden daha az belirlenmiştir. IgA hücrelerinin sayısı, kontrol farelerine kıyasla, kefir uygulamasından 7 gün sonra belirgin bir şekilde artarken, IgG hücreleri 5. ve 7.günde artmıştır. Sitokin hücreleri için, IL-4 ve IL-10 hücreleri, tüm periyotlarda belirgin bir şekilde artarken, IL-6 ve IFN hücreleri sırasıyla 2. ve 5.günlerde artış göstermiştir (Vinderola vd., 2005; Vinderola vd., 2006).

Lactobacillus casei ile probiyotik ilavesinin antifosfolipid sendromuna etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; beta-2-glikoprotein (B2GPI) ile bağışıklandırılan Balb/c farelerine iki hafta süreyle 10^8 ml *L.casei*'den oluşan bir ticari ürün gavaj yoluyla verilmiştir. Bir deney grubuna yoğurt ve kontrol grubu farelerine de

solüsyon sıvıları verilmiştir. İki hafta süre sonunda lenf nodullarından çıkarılan lenfositlerin süpernatantları alınarak incelenmiştir. Her iki süt ürünü ile beslenen farelerde IFN- γ salınımı 657 ± 47.09 pg / mL'den 896 ± 78.1 'e ve 933 ± 76.7 'ye yükseltmiştir. B2GPI'ye karşı otoantikor seviyesi, *L. casei* ve yoğurt ile beslenen farelerde belirgin bir şekilde bastırılmıştır. Ayrıca *L. casei* sadece IFN- γ sekresyonunu arttırmakla kalmayıp, aynı zamanda IL-10 üretimini de inhibe ettiği tespit edilmiştir. Probiyotik fermente süt ürünlerinin birçok immünolojik mekanizmayı modüle etme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir (Amital vd., 2007).

Salmonella enteritidis enfeksiyonu, son yıllarda dünya çapında yaygınlığı nedeniyle dikkatleri üzerine çeken bir bakteridir. Yapılan bir çalışmada erkek Swiss albino fareler üzerinde *Salmonella enteritidis* enfeksiyonuna karşı probiyotik özellikleri bulunan *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei*'nin koruyucu etkisi incelenmiştir. 7 günlük besleme sonucu probiyotik ile beslenen farelerde belirgin bir şekilde IgA antikoru salgısı artarken, *S. enteritidis* infekte edilen farelerde lenfosit çoğalması gözlemlenmiştir. Yapılan analizler sonucu IL-2, IL-6 ve IFN- γ üretimi probiyotik ile beslenen farelerde önemli derecede artarken, IL-4 seviyelerinde önemli ölçüde bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Ayrıca *S. enteritidis* enfeksiyonu ile β -galaktosidaz, β -glukuronidaz aktiviteleri ile bağırsak, karaciğer ve dalaktaki aktiviteleri azalırken, probiyotik ile beslenen farelerde dışkılarındaki toplam laktobasiller artış göstermiştir. Sonuç olarak probiyotiklerin *S. enteritidis* enfeksiyonuna karşı immün sistemi stimüle ederek iyileştirdiğini göstermiştir (Jain vd., 2008).

Livingston vd. (2010) tarafından *Lactobacillus reuteri*'nin immün hücreleri tarafından sitokin üretimini düzenleyebildikleri belirtilmiştir. Yapılan çalışmada dişi Balb/c farelere *L. reuteri* gavaj yoluyla üç hafta süreyle verilmiştir. Dendritik hücreler tarafından anti inflamatuvar sitokin interlökin (IL)-10 üretimini başlatmıştır. Bu hücreler, *L. reuteri* ile muamele edildiğinde ve ovalbümün T hücreleriyle inkübe edildiğinde, IL-2 üretimi azalmış ve transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) üretimi ise muamele edilmeyen hücrelere kıyasla artmıştır.

Hong vd. (2011) 6 haftalık dişi Balb/c farelere 32 gün süresince oral yoldan gavaj yöntemiyle verilen *Lactobacillus kefiranofaciens* ve *Lactobacillus kefir*'in toplam IgE, IL-12, IL-6, IL-1, TNF-alfa ve IFN- γ miktarlarına etkisini ELISA yöntemiyle belirlemişlerdir. Deney farelerine uygulanan gavaj miktarı 200 μ L'dir. Gruplar; 32 gün boyunca beslenen(A), 14 gün süre ile beslenen (B), son 3 gün süre ile beslenen (C) ve kontrol grubu fareleri olmak üzere ayrılmıştır. 32 günlük (A) besleme yapılan farelerde; IL-4, IL-13, IL-6 ve TNF- α üretiminde kontrol grubu farelerine kıyasla önemli bir inhibisyon görülmüştür. Diğer iki besleme prosedürleriyle (B ve C) muamele edilen fareler arasında, proinflatuar sitokinlerin salgılanması (IL-6 ve TNF- α) belirgin şekilde azalmış, ancak seviyelerde anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

Laktik asit bakterilerinin bir ovalbümin (OVA) ile indüklenmiş alerjik Balb/c farelerinde yapılan bir çalışmada, 39 erkek Balb/c faresi, normal kontrol, alerji kontrolü, Kefir 1 (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *Bifidobacterium longum*, *L. fermentum*, *L. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *L. cremoris*), Kefir 2 (Kefir 1'e ek olarak *L. paracasei*, *L. rhamnosus* GG), GM080 (*L. paracasei* 33, *L. fermentum*, *L. acidophilus*, bebek sütü, glikoz, maltodekstrin) ile tedavi edilen fareler olarak 5 gruba ayrılmıştır. Bu farelerden çıkarılan sol ventriküldeki miyokard yapısı ve apoptotik moleküller araştırılmış ve tedavi sonrası etkiler değerlendirilmiştir. TLR4, fosfat-Jun-N-terminal kinaz (p-JNK), JNK1/2 ve TNF- α ve mitokondriye bağımlı apoptozis fosfolat-p38, Bcl-2 (Bad) ile ilişkili ve aktive edilmiş kaspaz 3'ün alerji farelerinin kalplerinde önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. Kefir 1 veya 2 tedavi edilen alerji grubunda fosfolat-nükleer faktör- κ B (p-NF κ B), TNF- α , p-p38 ve Bad protein ürünlerinin ekspresyonu azalmıştır. Bu sonuçlar LAB'nin iltihaplanmayı azaltabileceğini ve OVA'nın neden olduğu alerji farelerinin kalbinde kardiyomiyositlerin apoptozunu önleyebileceğini göstermektedir (Wang vd., 2012).

Lactococcus lactis H61, yaşlı (14 aylık) farelerin hücresel immün yanıtlarını artırabilir. H61 ve 13 nolu suşların tüm hücreleri ya da hücre duvarlarının direnci, hücre duvarını düşürücü bir enzim olan lizozim ile farklılık göstermiştir.

2 suşun hücre duvarlarındaki de-O-asetilat muramik aside sodyum hidroksit muamelesi, muamele edilmemiş hücre duvarlarına kıyasla lizozim direncini azaltmıştır, lizozim ilave edildikten 3 saat sonra, muamele edilmemiş ve NaOH ile muamele edilmiş hücre çeperinin lizozim direnci incelenmiştir. İndirgeme, H61 suşunda daha yüksek bulunmuş, bu da H61 suşunun hücre duvarlarının yüksek derecede O-asetillenmiş olduğunu göstermiştir. Trikloroasetik asit tedavisi, teikoik asitler gibi duvara bağlı polimerleri çıkarmak için, her iki suşun hücre duvarlarının lizozim direncini benzer hale getirmiştir. H61 suşunun hücre duvarının modifiye edilmesi, IL-12'yi indüklemeye kabiliyetini düzenlemek için yararlı bir yol olabilir. Yapılan çalışma ile bağışıklığın uyarılmasından sorumlu olan faktörleri karakterize ederek H61 türü tarafından üretilen süt ürünlerinin değerinin arttırılmasına yol açabileceği düşünülmüştür (Kimoto-Nira vd., 2012).

Probiyotikler ile kolit arasındaki ilişkiyi araştırmak için bağışıklığı inhibe edilmiş deney hayvanları kullanılarak bir çalışma yapılmıştır. *Lactobacillus kefiranofaciens* M1, kefir danelerinden izole edilen bir probiyotik suştur. 4 haftalık dişi fareler, intragastrik olarak *L. kefiranofaciens* M1 ile günde bir kez veya 2 günlük aralıklarla 14 gün boyunca içme sularına ilave edilerek verilmiştir. Yapılan çalışma ile *L. kefiranofaciens* M1'in immün düzenleyici, anti-allerjik, anti-astım ve anti-kolit yetenekleri tespit edilmiştir. *Lactobacillus kefiranofaciens* M1, kemokin CCL-20'yi arttırarak, antiinflamatuvar sitokin IL-10 üretimini arttırmış ve TLR2 yoluyla proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını baskılayıp, bağırsakta geçirgenliği azaltarak DSS(dekstran sodyum sülfat)'ye bağlı hasara karşı bağırsak geçirgenliğini azaltmıştır. Ayrıca IL-10 sitokin düzeyini artırması sonucu ile bağırsak rahatsızlıkları için fermente süt ürünlerinde alternatif bir terapi olarak uygulanma potansiyeline sahiptir (Chen vd., 2012).

Starter kültür ile üretilmiş kefir (6 hafta boyunca günde 200 ml) ile beslenen sağlıklı insanlarda yapılan bir çalışmada serum örneklerinde TNF- α , IL-1, IL-5, IL-8 ve TGF- β düzeyleri ticari ELISA kitleri kullanılarak incelenmiştir. Kefir tüketimin IL-8 düzeyinde düşüşe neden olması, nötrofil kemotaksisi ve aktivasyonunu baskılayarak inflamasyonun kontrol altına alınmasını, IL-5

düzeyinde artışın ise salgısal IgA düzeylerini artırarak gastrointestinal sistem lümenindeki immün yanıtın daha etkili çalışmasını sağlayabileceği belirtilmiştir (Adiloğlu vd., 2013).

Laktik asit, doğal immün yanıtın modülasyonunda sorumlu mikrobiyal metabolik ürün olarak tanımlanır. Kefir fermente süt ürününde bulunan laktik asit, interlökin-1 β , tümör nekroz faktör- α veya flagellin ile tetiklenen bağırsak epitel hücrelerinin aktivasyonunu inhibe etmektedir. Ayrıca laktik asit muamelesi hücrelerde, NF- κ B sinyalinin ortadan kaldırır ve bu hücrenin görevi olan iltihaplanma reaksiyonlarında sorumlu olabilmektedir (Iraporda vd., 2014).

Probiyotikler, bağırsak epiteline bağlı proteinlerinin ekspresyonunu arttırmanın yanı sıra inflamatuvar yanıtı ve oksidatif stresi de azaltmaktadır. Bu etkisiyle, insülin duyarlılığını arttırır ve otoimmün yanıtı azaltmaktadır (Bubnov vd., 2015).

Carasi vd. (2015) çalışmasında, sağlıklı, 4 haftalık, erkek Swiss farelerine, kefir danesinden izole etmiş oldukları *Lactobacillus kefir* CIDCA 8348 türünü gavaj yoluyla vermiş ve sonrasında etkisini incelemişlerdir. Probiyotik özelliği bulunan bu mikroorganizma ile muamele edilen farelerin dışkılarında IgA düzeyinde bir artış gözlenirken, lenf nodüllerinde proinflamatuvar medyatörlerin ekspresyonundaki azalış ile IL-23, IFN- γ , ve IL-6 miktarlarında azalma, IL-10 seviyesinde ise önemli bir artış gözlenmiştir. Elde edilen bilgiler doğrultusunda sonuç olarak *L.kefir*'nin bağırsak iltihaplı hastalıklarda kullanılmak üzere iyi bir ajan olduğu bulunmuştur (Çizelge 2.7).

Gıda katkı maddeleri, probiyotik ve prebiyotik alımı, insülin direncini önleme ve tedavi için katkıda bulunan maddeler olarak önerilmektedir. Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) insülin faaliyetleri için hedeflenen dokularda bulunur. Probiyotik tüketimi bağırsaktaki bifidobakterlerin sayısını arttırır ve adezyon proteinlerinin artmış ekspresyonu bağırsak geçirgenliğini azaltarak, bakteriyel lipopolisakkarit ile TLR-4'ün aktivasyonunu zayıflatmaktadır. Sonuç olarak

NFkB aktivasyon yolları engellenir, TH17 hücrelerinin indüksiyonu da inhibe edilmektedir ve CD8 + T hücrelerinin pankreas infiltrasyonunu önlemektedir (Gomes vd., 2014; Bubnov vd., 2015).

Bifidobacterium infantis yenidoğan bebek bağırsağında ve probiyotik ilaçlarda bulunmaktadır. Antidepresan etki göstermesi sebebiyle bu bakteri psikobiyotik olarak tanımlanmıştır (Dinan ve Quigley, 2011; Evrensel ve Ceylan, 2015).

Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda tartışılan kolon kanseri risklerinde probiyotiklerin koruyucu rolünü aydınlatan çeşitli mekanizmalar, *Bifidobacterium spp.*, *L. helveticus*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* gibi probiyotiklerin kullanımının kolon kanseri riskini önleyebileceğini göstermektedir (Bubnov vd., 2015).

Kefirin içerdiği proteinlerin de tümör karşıtı etkinliği gösterilmiştir. Özellikle sülfür içeren aminoasit grubunun kefir ve benzeri ürünlerin antikarsinojenik etkilerinde önemli rollerinin olduğu tespit edilmiştir (Güzel-Seydim vd., 2003; Köroğlu vd., 2015). Son dönemlerde araştırmacılar insanlarda bulunan tümörlerde kefir çalışmalarına hız vermiştir. Maalouf vd. (2011), kefirin HTLV-1 negatif malign T lenfositler üzerinde çoğalmayı önleyici ve programlanmış hücre ölümünü hızlandırıcı etkiler gösterdiğini kanıtlamışlardır (Maalouf vd., 2011).

Genellikle kefir, kefir fraksiyonları veya kefirden izole edilen organizmalarda yapılan *in vitro* ya da *in vivo* çalışmalar sonucunda, Th1 bağışıklık tepkisinden Th2 tepkisine geçişin düzenlenmesinde rol aldığı tespit edildiği gibi, IgA düzeylerinde de artış gözlenmiştir (Bourrie vd., 2016).

Lactobacillus acidophilus La-5 suşu ile 2 hafta beslenen (5 g/gün) Wistar sıçanlarının antioksidan aktivitesi, lipid profili, genel biyokimyasal ve bağışıklık sistemi yanıtları değerlendirilmiştir. Probiyotik özelliği gösteren bu suş ile beslenen gruplarda önemli oranda serumlarında LDL kolesterolü ve triaçilgliserolü azalttığı, HDL kolesterolü artırdığı tespit edilmiştir. 15 günlük

tedaviden sonra aspartat amino transferaz, alanin aminotransferaz, toplam protein, albümin, ısı şoku proteinleri ve bağışıklık sistemi yanıtları etkilenmemiştir. Genel olarak, probiyotikler kan lipid profilini geliştirmek için uygulanabilir ve antioksidan savunmalarını iyileştirmek için kullanılabilme sonuçlarına ulaşılmıştır (Moura vd., 2016).

Yeni doğan bir bebek anne sütü yoluyla birçok bileşeni de vücuduna almaktadır. Annenin probiyotik alması bu açıdan çok önemlidir. Kolostrum bilinen en güçlü doğal immün güçlendiricidir. Laktasyon süresince yavruyu enfeksiyonlara karşı koruma, idrar yolu enfeksiyonu, neonatal sepsisemi ve nekrotizan enterokolit dahil olmak üzere, akut ve uzamış diyare, solunum yolu enfeksiyonlarına karşı koruma görevindedir. Laktasyonun erken evrelerinde IgA, anti-inflamatuvar faktörler ve immünolojik açıdan aktif hücreler yeni doğanın immün sistemi için destek sağlamaktadır (Palmeira ve Carneiro-Sampaio, 2016).

Maciel vd. (2016) *Lactobacillus* spp., *Lactococcus lactis* spp., *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc* spp. gibi probiyotikleri içeren kefir kültürü ile yapılan kefirin metabolik parametreler ve sitokinler üzerine etkisinin araştırdıkları bir çalışmada, Wistar sıçanları, dört gruba ayrılmışlardır; Kontrol (CTL); Kontrol Kefir (CTLK); Diyabetik (DM); Diyabetik Kefir (DMK). Şeker hastalığının 5. gününde başlanıp 8 haftalık süre boyunca kefir örnekleri farelere 1.8 mL/gün miktarda gavaj yoluyla verilmiştir. DM, CTL'ye kıyasla su alımındaki artışı (133 ± 7 vs. 28 ± 1 mL), besin alımı (40 ± 2 vs. 16 ± 1 g), Glisemi (567 ± 12 vs. 84 ± 3 mg/dL). DMK grubunda tüm bu metabolik parametreler azalmıştır (sırasıyla 96 ± 14 ; 36 ± 1 ; 86 ± 7 ve 407 ± 19). DMK grubu DM grubuna kıyasla, vücut kütle indeksleri (42 ± 5 vs. 16 ± 4), insülin seviyeleri (0.3 ± 0.8 vs. 0.1 ± 0.04 ng/mL), Sitokin analizleri pg/mL olarak IL-10 (926 ± 69 vs. 556 ± 92), TNF-a (178 ± 20 vs. 109 ± 20), IL-17 (33 ± 1 vs. 9 ± 1), IL-1b (102 ± 14 vs. 70 ± 5) bulunmuştur. Diyabetik grupların kontrollere kıyasla lipid profilleri artma eğilimi göstermiştir. Bu sonuçlar, kefirin diyabetik hayvanlarda bağışıklık tepkisini modüle edip periton makrofajlarını aktive etme potansiyeline sahip olduğunu ve bu da şeker hastalığından etkilenen hastaların immün yeterliliğini artırabileceğini göstermektedir. Bu probiyotiğin hipoglisemik etkisi glisemiye

kontrol etmek için bir araç olarak kullanılabilir, bu hastalıkla ilişkili komplikasyonların azaltılmasında kullanılabilmektedir.

Tibet kefir danesinden izole edilen *Lactobacillus kefiranofaciens* XL10, yüksek ekzopolisakkarit (EPS) verimi ile insan sağlığına faydalı potansiyel probiyotik özellikli olduğu düşünülmektedir. Suşun probiyotik fonksiyonu, asit ve safra tuzu toleransları, hücre yüzeyindeki hidrofobiklik ve otoagregasyon, bağırsak mikrobiyotik modülasyonu incelenmiştir. 2 hafta süreyle XL10'un oral yolla verilmesinden sonra deney farelerinde Bifidobacteriace familyasında artış gözlenirken, Proteobakteri suşunda düşüş gözlenmiştir. XL10 pH 3.5'te ve % 79.9 hücre yüzeyi hidrofobisitesi ve % 27.8 otomatik agregasyonda 3 saatlik inkübasyon süresince aktivasyon göstermiştir. Bütirik asit üreten bakteriler olarak bilinen *Butyrivibrio* ve *Pseudobutyrvibrio*, sırasıyla 7. ve 14. günlerde tespit edilmiştir. Ek olarak, XL10'un mukoza dokusuna başarıyla yapıştığını ve floresan görüntüleme, akış sitometrisi ve qPCR'a bağlı olarak fare ince bağırsağını kolonize ettiği tespit edilmiştir. Sonuçlar, XL10'un mükemmel probiyotik özelliklere sahip olduğu ve yeni fonksiyonel gıdaların gelişiminde de faydalanılabilecek bir alternatif olabileceği bildirilmiştir (Xing vd., 2017).

Çizelge 2.7. Kefir danesinde bulunan probiyotik mikroorganizmaların bağışıklık sistemi üzerine etkisi

Probiyotik mikroorganizma	Uygulama şekli	Deney grubu	Bağışıklık Etkisi	Kaynaklar
<i>B. lactis</i> <i>L. acidophilus</i>	21 gün süre ile 1x 10 ¹⁰ cfu/ kapsül olarak	İnsan (Sağlıklı, 18-62 yaş)	<i>B.lactis</i> ve <i>L.acidophilus</i> tüketen kişilerde kontrol grubuna kıyasla serum IgA,IgG ve IgM düzeylerinde artış.	Paineau vd., 2008
<i>L. acidophilus</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. casei</i>	1 mL 10 ⁷ cfu/mL probiyotik ve <i>Candida</i> <i>albicans</i> ile oral yoldan	Fare	İmmün yetmezlikli farelerde IgG, IgA ve IgM düzeylerini artış.	Wagner vd., 1997
<i>L. acidophilus</i> <i>Bacillus subtilis</i>	8 hafta süre ile diyete ek olarak 1x10 ⁷ cfu/g bakteri ilavesi ile	Balık-Nil tilapisi (<i>Oreochromis</i> <i>niloticus</i>)	Hematokrit değerlerinde ve serum bakterisidal aktivitede artış, Probiyotik ile muamele edilen grupların hepsinde nitroblue tetrazolyum (NBT) tahlil, nötrofil yapışma ve lizozim aktivitesinin değerlerinde artış.	Aly vd., 2008
<i>L. acidophilus</i>	2 hafta süre ile 1x10 ⁸ cfu/g <i>Candida</i> <i>albicans</i> ile oral yoldan	Balb/c fare (6-8 haftalık)	IL-4-nitrik oksit parakrin döngüsünün uyarılması, Lenf düğümlerinde hem IL-4 hem de IFN-γ üretiminin artması ve tükürükte IFN-γ ve nitrik oksit salınımı.	Clancy, 2003; Elahi vd., 2003
<i>L. acidophilus</i> <i>B.bifidum</i>	3 hafta süre ile 1x10 ¹⁰ cfu/gün	İnsan (Sağlıklı,23-62 yaş)	Granülositlerin ve monositlerin fagositik kapasitelerinde artış.	Schiffrin vd., 1995
<i>L. acidophilus</i>	28 gün süre ile 1x10 ⁸ cfu/g	İnsan	Beslenen grupta serum IgA düzeyinde hafif artış, ancak mukozal IgA düzeyi etkilenmemiş	Marteau vd., 1997
<i>L. acidophilus</i> <i>B.bifidum</i>	Oral yoldan 1x10 ⁷ -10 ⁸ cfu/g	İnsan (19-59 yaş)	Kontrol grubuna kıyasla anti <i>Salmonella typhi</i> antikor yanıtında artış, Serum IgA düzeyinde artış	Link-Amster vd., 1994

Çizelge 2.7. Kefir danesinde bulunan probiyotik mikroorganizmaların bağışıklık sistemi üzerine etkisi (Devam)

<i>L. casei</i>	Oral yoldan 1,2x10 ⁹ cfu/gün	Swiss albino fare (25–30 g)	Bağırsak salgılarında IgA anti-patojen antikor düzeyleri artış, IgG anti- <i>Salmonella</i> ve <i>Escherichia coli</i> değerleri, tüm gruplardaki değerlerine benzer	Pertigon vd., 1991
<i>L. casei</i>	2 hafta süre ile 0,1 mg	Fare	Makrofaj üretimini aktive ederek fagositozu artışı.	Tomioka vd., 1992
<i>L. casei</i>	Yoğurt veya süt karışımı ile oral yoldan	Fare	L.casei ile beslenen farelerde IgA düzeylerinde, β- glukoronidaz ve fagositoz aktivite de artış	Paubert- Braquet vd.,1995
<i>L. casei</i>	İçme sularına ilave olarak 10 ⁸ cfu/mL	Balb/c fare (25– 30 g, 6 haftalık)	IgA+ve IL-6 üreten hücrelerde artış,	Maldonado Galdeano ve Perdigon, 2006; Shah, 2007
<i>L. rhamnosus</i> <i>L. acidophilus</i> <i>B. lactis</i>	28 gün süre ile 10 ⁹ cfu/gün	Balb/c fare (6-7 haftalık)	LAB gruplarında periferik kan lökositleri ve peritoneal makrofajların fagositik aktivitesinde artış, IFN-γ cevabında artış, Serum antikor cevabında artış.	Gill vd., 2000
<i>L. rhamnosus</i> <i>L. lactis</i>	Oral yoldan 4x10 ¹⁰ cfu/gün, 3x10 ¹⁰ cfu/gün	İnsan (20-50 yaş)	IgA düzeyinde artış,	Fang vd., 2000
<i>L. rhamnosus</i>	7 gün süre ile oral yoldan 3x10 ⁸ cfu/g	Balb/c fare (6-8 haftalık)	Anti-E coli IgA yanıtına ve kan lökosit fagositik aktivitesinde artış.	Shu ve Gill, 2002
<i>B. breve</i> <i>L. rhamnosus</i>	Oral yoldan 10 ⁹ cfu/gün	Balb/c fare (5-8 haftalık)	<i>B. breve</i> ve <i>L. plantarum</i> metakolin yanıtını inhibe ederek, eozinofil sayısında azalış, hem ovalbümine özgü IgE hem de IgG de azalış, IL- 4, IL-5 ve IL-10 düzeylerinde azalış	Hougee vd., 2010
<i>B. lactis</i>	Oral yoldan 10 ⁹ cfu/gün	Balb/c fare (6-8 haftalık)	<i>B. lactis</i> ile beslenen farelerde splenik lenfosit çoğalması tepkisi, kan ve peritonel hücre fagositik aktivitesi ve bağırsak mukozal anti-Salmonella antikor düzeylerinde artış.	Shu vd., 2000
<i>L. rhamnosus</i> <i>L.paracasei</i>	Oral yoldan 10 ¹⁰ cfu/gün	İnsan (Sağlıklı, 20-30 yaş)	Probiyotik tüketen hastalarda polioza spesifik serum IgG ve IgA antikor düzeyinde artış	Gill, 2003; De Vrese vd., 2005
<i>L. kefiranofaciens</i>	2 hafta süre ile içme sularına ilave	Fare (4 haftalık)	IL-10 düzeyinde artış, Hasara karşı bağırsak geçirgenliğinde azalış	Chen vd., 2012

Çizelge 2.7. Kefir danesinde bulunan probiyotik mikroorganizmaların bağışıklık sistemi üzerine etkisi (Devam)

<i>L. kefir</i>	Gavaj yoluyla	Swiss fare (4 haftalık)	Dışkılarında IgA düzeyinde artış, IL-23, IFN- γ , IL-6 seviyelerinde azalış, IL-10 seviyesinde artış	Carasi vd., 2015
<i>L. acidophilus</i>	2 hafta süre ile 5 g/gün	Wistar fare	Serum LDL kolesterol ve triaçilgliserolde azalış, HDL kolesterol artış	Moura vd., 2016
<i>L. kefir</i> <i>L. kefir</i>	32 gün süre ile gavaj yoluyla 200 μ L	Balb/c fare (6 haftalık)	IL-6 ve TNF- α azalış	Hong vd., 2011
Kefir	7 gün süre ile,	Balb/c fare (6 haftalık)	IgA ,IgG ,IL4, IL6, IL10, Hücrelerinde artış	Vinderola vd.,2006
Kefiran	Oral yoldan	Balb/c fare (6 haftalık)	Lamina propriadaki IgA hücrelerinin sayısında artış	Medrano vd.,2011

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kefir Üretimleri

Pastörize süt Süleyman Demirel Üniversitesi Ünsüt Süt İşletmesi (Isparta, Türkiye)'nden temin edilmiştir. Kefir danesi Süleyman Demirel Üniversitesi Göller Bölgesi Teknokent'inde bulunan Danem Süt ve Süt Ürünü. Gıda Amb. Eğt. Dan. Tic. ve San. Ltd. Şti (Isparta, Türkiye)'den, eXact KEFİR 2 (kod: 3185139;710295) starter kefir kültürü (*Debaryomyces hansenii*, *Leuconostoc*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus diacetilactis*, *Lactobacillus cremoris*) CHR Hansen (İstanbul, Türkiye)'dan temin edilmiştir. Kefir üretiminde pastörize süt 25 °C'ye soğutulmuş, %2 oranında kefir danesi ve %2 starter kültür inokülasyonu ile 25 °C'de inkübatörde fermentasyon işlemi uygulanmıştır. Fermentasyon pH 4.6'da sonlandırılmıştır. Kefir daneleri aseptik koşullarda ayrılmıştır. Üretilen kefir örnekleri 4 °C'de depolanmıştır. Gavaj uygulamasında kullanılan kefir örnekleri gün aşırı hazırlanmış ve kefir mikroorganizma içerikleri kaydedilmiştir.

3.2. Deney Hayvanları Deneme Deseni

Projenin deney hayvanları çalışması için Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma birimi tarafından Etik Kurul onayı alınmıştır. Balb/c fareleri Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma biriminden temin edilmiştir. Doğal kefir mayasından ve ticari kefir mayasından üretilen kefir örnekleri deney hayvanlarına verilmiştir. Fare kullanılmasının sebebi metabolizmalarının hızlı olmasından, dolayısıyla kısa süre içerisinde değişimleri gözlemleyebilmektir. Balb/c fareleri immün sistem çalışmalarında sıkça kullanılan fare türüdür (Akira vd., 1998; Verdua vd., 1999; Diosma vd., 2014). Deney hayvanlarının günlük normal yem ve su ihtiyaçları karşılanmıştır. 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık koşullarda gelişimi izlenmiştir (Vinderola vd., 2005). Gavaj veriminden 1 saat önce yemler önlerinden alınmıştır. Deneme deseni 3 grup ve her grupta erkek 6-8 haftalık / 20-25 gr Balb/c fareleri yer almaktadır. 1. Grup; kontrol grubu olarak placebo verilen grup 300 µl/gün

olarak, 2. Grup; doğal kefir danesinden üretilen kefir ile beslenen grup 300 µl/gün olarak, 3. Grup; ticari kefir kültürden üretilen kefir ile beslenen grup 300 µl/gün olarak uygulanmıştır. Gavaj dozu ve verilış sıklığı Çizelge 3.1’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 3.1. Gavaj dozu ve verilış sıklığı

Adı	Dozu	Veriliş Yolu	Veriliş Sıklığı	Etki Süresi
Placebo verilen fare grubu	300 µl/gün	Oral	1 kez/gün	2 Hafta
Doğal kefir danesinden üretilen kefir ile beslenen fare grubu	300 µl/gün	Oral	1 kez/gün	2 Hafta
Starter kefir kültürden üretilen kefir ile beslenen fare grubu	300 µl/gün	Oral	1 kez/gün	2 Hafta

3.3. Kefir Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizlerinin Yapılması

Kefir örneklerinden 1 mL alınarak 9 mL peptonlu su içerisinde dilüsyonları yapılmıştır. 10⁸e kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır. Ön çalışmalar ile belirlenmiş dilüsyonlardan steril petrilere 1 mL örnekler aktarılmıştır.

Lactobacillus spp. içeriği: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL örnek steril petri kutularına pipetlendikten sonra, 45°C’ ye kadar soğutulmuş 15 mL Rogosa Agar (Merck) petri kutusuna ilave edilmiş, inkübasyon 37°C’de 3 gün %6’lık CO₂ inkübatörde (CO-150, New Brunswick Scientific, ABD) inkübe edilmiş, 30-300 koloni bulunduran petrilere sayımlar yapılmıştır.

Kok grubu içeriği: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL örnek petri kutularına pipetlendikten sonra, 45°C’ ye kadar soğutulmuş 15 mL M17 Agar (Merck) petri kutusuna ilave edilmiş, inkübasyon 37°C’de 3 gün %6’lık CO₂ inkübatörde gerçekleştirilmiş 30-300 koloni bulunduran petrilere sayımlar yapılmıştır.

L. acidophilus içeriği: Kefir örneklerinde *L. acidophilus* kolonilerini saymak amacıyla MRS-sorbitol (Sigma) agar kullanılacaktır. %10 'luk hazırlanan sorbitol 0,43 µm olan steril filtreden geçirilerek ve 50°C' ye kadar soğutulurak MRS agar içerisine ilave edilip karıştırılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL örnek steril petri kutularına alınarak üzerine 15 mL MRS-sorbitol agar petri kutusuna ilave edilmiş, inkübasyon 37°C 'de 3 gün %6'lık CO₂ inkübatörde gerçekleştirilmiş, 30-300 koloni bulunduran petrilere sayımlar yapılmıştır.

Bifidobacterium spp. içeriği: Kefir örneklerinde *Bifidobacterium* spp. kolonilerini saymak amacıyla MRS- NNLP, TOS-MUP, TOS-NNLP, RCA agar besiyerleri karşılaştırılmıştır. MRS-NNLP ve RCA agar ile yapılan sayımlar daha net ve doğru olmuştur. NNLP karışımı, Neomisin sülfat (Merck) (100 mg/L), nalidisik asit (Merck) (50 mg/L), lityum klorit (Merck) (3000 mg/L), paronomisin sülfat (Merck) (200 mg/L) tartılarak, üzerine 100 ml saf su ilave edilmiş ve 35°C karıştırıcıda çözündürülecek, steril filtereden 0,43 µm geçirilerek, %20 oranında MRS agar içerisine ilave edilecektir. Hazırlanan örnek dilüsyonlarından 1 mL steril petri kutularına alınarak ve 45°C' ye kadar soğutulurak, 15 mL MRS-NNLP agar inoküle edilmiştir. İnokülasyon 37°C 'de 3 gün %6'lık CO₂ inkübatörde gerçekleştirilerek 30-300 koloni bulunduran petrilere sayımlar yapılmıştır.

Maya içeriği: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 ml örnek petri kutularına alınarak, 45°C' ye kadar soğutulmuş PDA (Potato Dextrose Agar, Merck) %10'luk hazırlanan laktik asit ilave edilerek karıştırılmıştır; 15 ml petri kutusuna ilave edilerek; 25 °C 'de 5 gün inkübe edilerek, 30-300 koloni bulunduran petrilere sayımlar yapılmıştır.

Toplam mezofilik aerob bakteri içeriği: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 ml örnek petri kutularına alınarak, 45°C' ye kadar soğutulmuş PCA (Plate Count Agar, Merck) 'dan 15 ml petri kutusuna ilave edilerek; 35 °C 'de 2 gün inkübe edilerek, 30-300 koloni bulunduran petrilere sayımlar yapılmıştır.

Enterobacteriaceae içeriği: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 ml örnek petri kutularına alınarak, 45°C' ye kadar soğutulmuş MAC (MacConkey Agar, Merck) 'dan 15 ml petri kutusuna ilave edilerek; 37 °C 'de 1 gün inkübe edilerek, 30-300 koloni bulunduran petrilere sayımlar yapılmıştır.

3.4. İmmünolojik Analizler

3.4.1. Doku Örneklerinin Hazırlanması

Sakrifiye edilen Balb/c farelerinden alınan ince bağırsak doku örnekleri fosfat buffer solüsyonu (PBS) ile yıkanmış ve intestinal sıvı elde edilmiştir (Şekil 3.1.). Çalışmaya ait örnek kodları Çizelge 3.2' de tanımlanmıştır. Bağırsak örnekleri doku parçalayıcı (Janke & Kunkel Ultraturrax T-25, Almanya) ile parçalanmıştır (Şekil 3.2). 10000 xg de 4 °C de 10 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen üst sıvı alınarak -80 °C de depolanmıştır.

Çizelge 3.2. Örnek kodları

Örnek Adı	Kod
Placebo grubunun bağırsak dokuları	CNI
Doğal kefir danesinden üretilen kefir ile beslenen grubun bağırsak dokuları	KGI
Starter kefir kültürden üretilen kefir ile beslenen grubun bağırsak dokuları	STI

İmmünolojik analizler, Elabscience Mouse IgA, IgG, IL-4, IL-10, IL12 ve TLR-4 ELISA kitleri (Elabscience Biotechnology Co., Ltd., Vuhan, Çin Halk Cumhuriyeti) prosedürlerine göre BioTek Synergy HT (Winooski, Vermont, USA) ile ölçülmüştür.



Şekil 3.1. İnce bağırsak doku örneklerinin alınması ve yıkanması



Şekil 3.2. İnce bağırsak doku örneklerinin parçalanması

3.4.2. İmmünoglobülin A Analizi

Elabscience kit protokole uygun hazırlanmıştır (Elabscience Biotechnology Co., Ltd.). Yıkama tampon çözeltisi, konsantre yıkama tamponundan 30 ml alınıp, 750 mL distile su ile çözündürerek hazırlanmıştır.

Stok standart çözeltinin hazırlanması için standart üzerine 1 ml referans standart çözelti eklenir ve 10000 Xg de 1 dakika santrifüj edilir. 400 ng/mL stok standarttan farklı konstrasyonlarda 400, 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25 ve 0 ng/mL olarak hazırlanmıştır. 10 dakika çalkalanıp ve pipetleme ile de karıştırılmıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki standart, kör ve örnekler kuyucuklara 100 µL eklenmiştir. Kuyucukların üzerine 100 µL Biotinylated Detection Ab eklenmiştir ve kapatıldıktan sonra hafifçe sallanmıştır. Bir saat 37°C de inkübe edilmiştir. Tüm hücreler havalandırılmıştır ve 350 µL yıkama tamponu ile 3 kez yıkanmıştır. Her yıkama arası 1 dakika beklenmiştir. Yıkamadan sonra her bir hücreye 100 µL HRP ilave edilmiş ve üzeri kapatılmıştır. 30 dakika 37°C de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra yıkama tamponu ile 5 kez yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra her bir hücreye 90 µL substrat solüsyonu ilave edilmiş ve üzeri kapatılmıştır. 15 dakika 37°C inkübe edilmiştir. Hücrelere 50 µL durdurucu solüsyon ilave edilmiştir ve 450 nm’de okuma yapılmıştır. Birimi ng/mL’dir (Elabscience Biotechnology Co., Ltd.).

3.4.3. İmmünoglobülin G Analizi

Elabscience kit protokole uygun hazırlanmıştır (Elabscience Biotechnology Co., Ltd.). Yıkama tampon çözeltisi, konsantre yıkama tamponundan 30 ml alınıp, 750 mL distile su ile çözündürerek hazırlanmıştır.

Stok standart çözeltinin hazırlanması için standart üzerine 1 ml referans standart çözelti eklenir ve 10000 Xg de 1 dakika santrifüj edilir. 100 ng/mL stok standarttan farklı konstrasyonlarda 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,56 ve 0 ng/mL olarak hazırlanmıştır. 10 dakika çalkalanıp ve pipetleme ile de karıştırılmıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki standart, kör ve örnekler kuyucuklara 100 µL eklenmiştir. Kuyucukların üzerine 100 µL Biotinylated Detection Ab eklenmiştir ve kapatıldıktan sonra hafifçe sallanmıştır. Bir saat 37°C de inkübe edilmiştir. Tüm hücreler havalandırılmıştır ve 350 µL yıkama tamponu ile 3 kez yıkanmıştır. Her yıkama arası 1 dakika beklenmiştir. Yıkamadan sonra her bir hücreye 100 µL HRP ilave edilmiş ve üzeri kapatılmıştır. 30 dakika 37°C de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra yıkama tamponu ile 5 kez yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra her bir hücreye 90 µL substrat solüsyonu ilave edilmiş ve üzeri kapatılmıştır. 15 dakika 37°C inkübe edilmiştir. Hücrelere 50 µL

durdurucu solüsyon ilave edilmiştir ve 450 nm’de okuma yapılmıştır. Birimi ng/mL’dir (Elabscience Biotechnology Co., Ltd.).

3.4.4. İnterlökin-4 Analizi

Elabscience kit protokole uygun hazırlanmıştır (Elabscience Biotechnology Co., Ltd.). Yıkama tampon çözeltisi, konsantre yıkama tamponundan 30 ml alınıp, 750 mL distile su ile çözündürerek hazırlanmıştır.

Stok standart çözeltinin hazırlanması için standart üzerine 1 ml referans standart çözelti eklenir ve 10000 Xg de 1 dakika santrifüj edilir. 2000 pg/mL stok standarttan farklı konstrasyonlarda 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31.25 ve 0 pg/mL olarak hazırlanmıştır. 10 dakika çalkalanıp ve pipetleme ile de karıştırılmıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki standart, kör ve örnekler kuyucuklara 100 µL eklenmiştir. Kuyucukların üzerine 100 µL Biotinylated Detection Ab eklenmiştir ve kapatıldıktan sonra hafifçe sallanmıştır. Bir saat 37°C de inkübe edilmiştir. Tüm hücreler havalandırılmıştır ve 350 µL yıkama tamponu ile 3 kez yıkanmıştır. Her yıkama arası 1 dakika beklenmiştir. Yıkamadan sonra her bir hücreye 100 µL HRP ilave edilmiş ve üzeri kapatılmıştır. 30 dakika 37°C de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra yıkama tamponu ile 5 kez yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra her bir hücreye 90 µL substrat solüsyonu ilave edilmiş ve üzeri kapatılmıştır. 15 dakika 37°C inkübe edilmiştir. Hücrelere 50 µL durdurucu solüsyon ilave edilmiştir ve 450 nm’de okuma yapılmıştır. Birimi ng/mL’dir (Elabscience Biotechnology Co., Ltd.).

3.4.5. İnterlökin-10 ve İnterlökin-12 Analizleri

Elabscience kit protokole uygun hazırlanmıştır (Elabscience Biotechnology Co., Ltd.). Yıkama tampon çözeltisi, konsantre yıkama tamponundan 30 ml alınıp, 750 mL distile su ile çözündürerek hazırlanmıştır.

Stok standart çözeltinin hazırlanması için standart üzerine 1 ml referans standart çözelti eklenir ve 10000 Xg de 1 dakika santrifüj edilir. 1000 pg/mL stok standarttan farklı konstrasyonlarda 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625 ve 0 pg/mL olarak hazırlanmıştır. 10 dakika çalkalanıp ve pipetleme ile de karıştırılmıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki standart, kör ve örnekler kuyucuklara 100 µL eklenmiştir. Kuyucukların üzerine 100 µL Biotinylated Detection Ab eklenmiştir ve kapatıldıktan sonra hafifçe sallanmıştır. Bir saat 37°C de inkübe edilmiştir. Tüm hücreler havalandırılmıştır ve 350 µL yıkama tamponu ile 3 kez yıkanmıştır. Her yıkama arası 1 dakika beklenmiştir. Yıkamadan sonra her bir hücreye 100 µL HRP ilave edilmiş ve üzeri kapatılmıştır. 30 dakika 37°C de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra yıkama tamponu ile 5 kez yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra her bir hücreye 90 µL substrat solüsyonu ilave edilmiş ve üzeri kapatılmıştır. 15 dakika 37°C inkübe edilmiştir. Hücrelere 50 µL durdurucu solüsyon ilave edilmiştir ve 450 nm'de okuma yapılmıştır. Birimi ng/mL'dir (Elabscience Biotechnology Co., Ltd.).

3.4.6. Toll Like Reseptör-4 Analizi

Elabscience kit protokole uygun hazırlanmıştır (Elabscience Biotechnology Co., Ltd.). Yıkama tampon çözeltisi, konsantre yıkama tamponundan 30 ml alınıp, 750 mL distile su ile çözündürerek hazırlanmıştır.

Stok standart çözeltinin hazırlanması için standart üzerine 1 ml referans standart çözelti eklenir ve 10000 Xg de 1 dakika santrifüj edilir. 10 ng/mL stok standarttan farklı konstrasyonlarda 10, 5, 2,5 , 1,25, 0,63, 0,31, 0,16 ve 0 ng/mL olarak hazırlanmıştır. 10 dakika çalkalanıp ve pipetleme ile de karıştırılmıştır.

Farklı konsantrasyonlardaki standart, kör ve örnekler kuyucuklara 100 µL eklenmiştir. Kuyucukların üzerine 100 µL Biotinylated Detection Ab eklenmiştir ve kapatıldıktan sonra hafifçe sallanmıştır. Bir saat 37°C de inkübe edilmiştir. Tüm hücreler havalandırılmıştır ve 350 µL yıkama tamponu ile 3 kez

yıkanmıştır. Her yıkama arası 1 dakika beklenmiştir. Yıkamadan sonra her bir hücreye 100 µL HRP ilave edilmiş ve üzeri kapatılmıştır. 30 dakika 37°C de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra yıkama tamponu ile 5 kez yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra her bir hücreye 90 µL substrat solüsyonu ilave edilmiş ve üzeri kapatılmıştır. 15 dakika 37°C inkübe edilmiştir. Hücrelere 50 µL durdurucu solüsyon ilave edilmiştir ve 450 nm’de okuma yapılmıştır. Birimi ng/mL’dir (Elabscience Biotechnology Co., Ltd.).

3.5. İstatiksel Analizler

Tüm istatiksel analizler IBM SPSS v. 23.0 (Statistical Packages for Social Sciences) bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır. Veriler, fare doku grupları ve araştırılan parametrelere göre gruplandırılmıştır. Gruplar arası fark analizlerinde, parametrik koşullarda One-Way ANOVA testi, nonparametrik koşullarda ise Kruskal Wallis testi uygulanmıştır ve $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Kefir Örneklerinin Mikroflora İçeriği Sonuçları

Doğal kefir danesinden yapılan kefirin ve starter kefir kültüründen yapılan kefirin mikroorganizma içeriği Şekil 4.1 'de gösterilmiştir.

Kullanılan kefirler	<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Lactococcus</i> spp.	Maya	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium</i> spp.
A	10,54	10,62	5,69	9,55	8,65
B	8,40	8,76	2,50	7,83	0,12

Şekil 4.1. Kefir danesi kullanılarak üretilen kefir (A) ve Starter kültür kullanılarak üretilen kefir (B) (Erdoğan, 2016)

Kefir danesi ile yapılan kefirin mikroorganizma içeriği starter kültür ile yapılan kefirin mikroorganizma içeriğinden istatistiksel olarak ($P < 0,05$) önemli düzeyde yüksektir. Doğal kefir danesi kullanılarak üretilen kefirin *Lactobacillus* spp. içeriği 10,54 log kob/mL, starter kültür kullanılarak üretilen kefirin ise 8,40 log kob/mL olarak bulunmuştur. Doğal kefir danesinden üretilen kefirin toplam maya içeriği (5,69 log kob/mL) dikkat çekici şekilde diğer kefirin üstünlük göstermektedir.

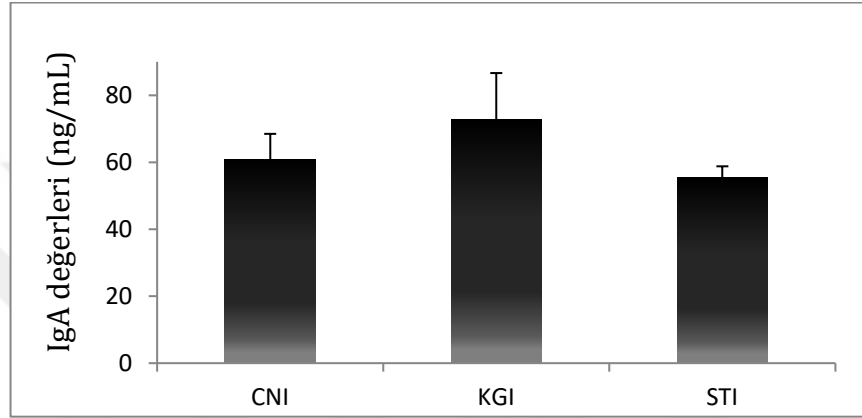
Kefir danesi ve starter kültür kullanılarak üretilen kefirlerin *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. içerikleri sırasıyla 9,55; 7,83 ve 8,65; 0,12 log kob/mL olarak tespit edilmiştir.

Kefir danelerinde çeşitli bakterilere ek olarak, bakteriler ile simbiyotik bir ilişki içerisinde bulunan çeşitli maya popülasyonu bulunmaktadır (Simova vd., 2002; Witthuhn vd., 2004; Marsh vd., 2013). Dane kefirinin daha yüksek mikroorganizma içeriğinin sebebinin bu kompleks floranın simbiyotik bir ilişki içerisinde yaşamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca kefir danesi

fonksiyonel gıdaların gelişiminde probiyotik kaynağı olarak da kullanılmaktadır (Xing vd., 2017).

4.2. İmmünolojik Analizlerin Sonuçları

CNI, KGI ve STI gruplarındaki Balb/c farelerinin İmmunoglobülin A (IgA) değerleri Şekil 4.2 'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. CNI, KGI ve STI gruplarının IgA değerleri

Çizelge 4.1. CNI, KGI ve STI gruplarının IgA değerleri

	Placebo grubu fare bağırsak dokuları (CNI)	Kefir danesi ile beslenen fare bağırsak dokuları (KGI)	Starter kefir kültürü ile beslenen fare bağırsak dokuları (STI)
IgA	60,87 ± 7,62	72,78 ± 13,87	55,31 ± 3,48

Çizelge 4.1'de KGI grubu farelerin doku örneklerinde IgA değerleri CNI ve STI grubu farelerden yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). CNI, KGI ve STI bağırsak doku örneklerinde IgA değerleri sırasıyla 60,87; 72,78 ve 55,31 ng/mL olarak tespit edilmiştir.

L. acidophilus, *L. reuteri* ve *L. casei* üzerinde yapılan çalışmada immün baskılanmış farelerde IgA düzeylerinde artış tespit etmiştir (Wagner vd.,1997).

Benzer bir çalışmada kefir uygulaması ile IgA hücrelerinin sayısı, kontrol farelerine kıyasla, kefir uygulamasından 7 gün sonra belirgin bir şekilde artış tespit edilmiştir (Vinderola vd., 2006).

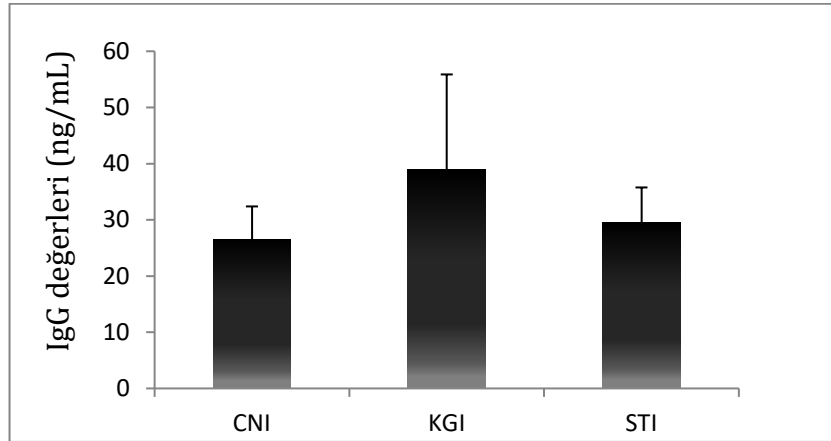
B. lactis, *L. acidophilus* tüketen kişilerde kontrol grubuna kıyasla serum IgA düzeylerinde artış tespit edilmiştir (Paineau vd., 2008).

Balb/c farelerine oral yolla kefiran uygulaması ile 7. günün sonunda lamina propriadaki IgA hücrelerinin sayısında artış görülmüştür (Medrano vd.,2011).

Carasi vd., 2015, probiyotik özelliği bulunan mikroorganizma ile muamale edilen farelerin dışkılarında IgA düzeyinde bir artış tespit etmiştir.

Çalışma sonucu elde edilen bulgular yapılan diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

CNI, KGI ve STI gruplarındaki Balb/c farelerinin İmmunoglobülin G (IgG) değerleri Şekil 4.3’de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. CNI, KGI ve STI gruplarının IgG değerleri

Çizelge 4.2. CNI, KGI ve STI gruplarının IgG değerleri

	Placebo grubu fare bağırsak dokuları (CNI)	Kefir danesi ile beslenen fare bağırsak dokuları (KGI)	Starter kefir kültürü ile beslenen fare bağırsak dokuları (STI)
IgG	26,59 ± 5,79	38,90 ± 16,96	29,44 ± 6,31

Çizelge 4.2’de KGI grubu farelerin doku örneklerinde IgG değerleri CNI ve STI grubu farelerden yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). CNI, KGI ve STI bağırsak doku örneklerinde IgG değerleri sırasıyla 26,59; 38,90 ve 29,44 ng/mL olarak tespit edilmiştir.

Tüm örneklerde IgG sonuçlarına göre önemli düzeyde farklılık olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

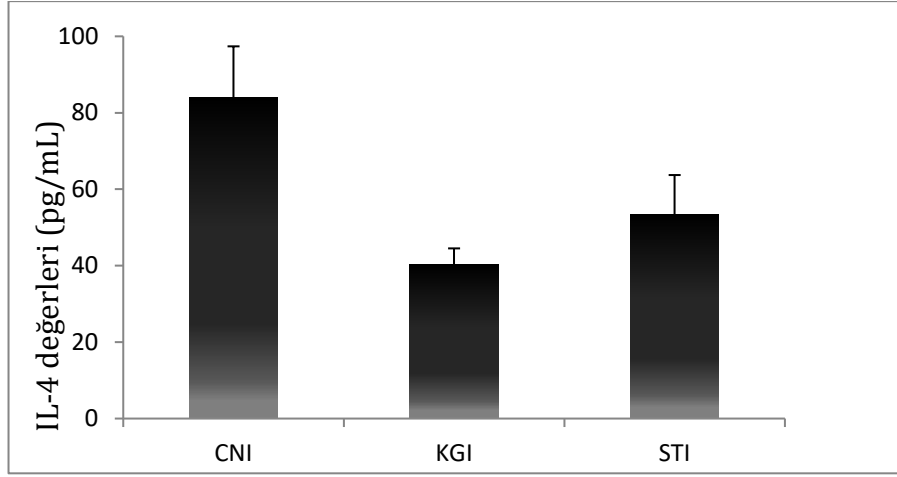
L. acidophilus, *L. reuteri* ve *L. casei* üzerinde yapılan çalışmada immün baskılanmış farelerde IgG düzeylerinde artış tespit etmiştir (Wagner vd.,1997).

Benzer bir çalışmada kefir uygulamasından sonra, uygulanan farelerin kontrol farelerine kıyasla, IgG hücrelerinde 5. ve 7.günde belirgin bir şekilde artış gözlenmiştir (Vinderola vd., 2006).

B. lactis, *L. acidophilus* tüketen kişilerde kontrol grubuna kıyasla serum IgG düzeylerinde artış tespit edilmiştir(Paineau vd., 2008).

Amiyotrofik lateral skleroz (ALS) hastalığına karşı bağışıklık kazandırılmış keçilerden alınan IgG, farelerde serum ve omurilikte bulunan sitokinlerde önemli artışlar meydana getirmiştir (Obal vd., 2016).

CNI, KGI ve STI gruplarındaki Balb/c farelerinin İnterlökin-4 (IL-4) değerleri Şekil 4.4 ’de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-4 değerleri

Çizelge 4.3. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-4 değerleri

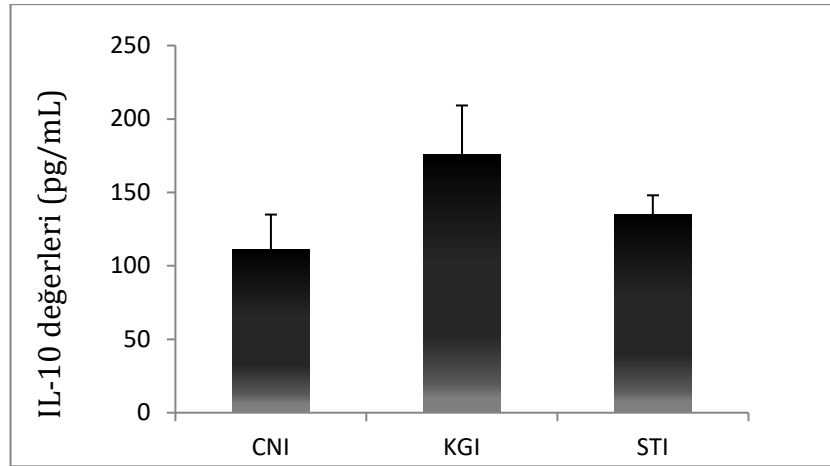
	Placebo grubu fare bağırsak dokuları (CNI)	Kefir danesi ile beslenen fare bağırsak dokuları (KGI)	Starter kefir kültürü ile beslenen fare bağırsak dokuları (STI)
IL4	84,00 ± 13,38	40,28 ± 4,23	53,28 ± 10,42

Çizelge 4.3’de CNI, KGI ve STI bağırsak doku örneklerinde IL-4 değerleri sırasıyla 84; 40,28 ve 53,28 pg/mL olarak tespit edilmiştir. Tüm örneklerde IL-4 sonuçlarına göre önemli düzeyde farklılık olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

Salmonella enteritidis enfeksiyonuna karşı deney farelerine probiyotik uygulaması ile yapılan bir çalışmada probiyotik ile beslenen farelerde belirgin bir şekilde IgA antikor salgısı artarken, IL-2, IL-6 ve IFN- γ üretimi probiyotik ile beslenen farelerde önemli derecede artış, IL-4 seviyelerinde ise önemli ölçüde bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Jain vd., 2008).

B. breve ve *L. rhamnosus* verilen fare çalışması sonucu IL-4 düzeylerinde azalış tespit edilmiştir (Hougee vd., 2010).

CNI, KGI ve STI gruplarındaki Balb/c farelerinin İnterlökin-10 (IL-10) değerleri Şekil 4.5’de gösterilmiştir.



Şekil 4.5. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-10 değerleri

Çizelge 4.4. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-10 değerleri

	Placebo grubu fare bağırsak dokuları (CNI)	Kefir danesi ile beslenen fare bağırsak dokuları (KGI)	Starter kefir kültürü ile beslenen fare bağırsak dokuları (STI)
IL10	110,98 ± 23,93	175,91 ± 33,28	134,77 ± 13,26

Çizelge 4.4’de KGI grubu farelerin doku örneklerinde IL-10 değerleri CNI ve STI grubu farelerden yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). CNI, KGI ve STI bağırsak doku örneklerinde IL-10 değerleri sırasıyla 110,98; 175,91 ve 134,77 pg/mL olarak tespit edilmiştir.

IL-10 proinflatuvar sitokin salgılayan hücrelerin fonksiyonları ile anti-inflatuvar sitokin salgılayan hücrelerin fonksiyonlarının dengede kalmasını sağlamaktadır (Abbas vd., 2015).

Benzer bir çalışmada kefir uygulaması sonrası sitokin hücrelerinden IL-4 ve IL-10 hücreleri, tüm periyotlarda belirgin bir şekilde artarken, IL-6 ve IFN hücreleri sırasıyla 2. ve 5.günlerde artış göstermiştir (Vinderola vd., 2006).

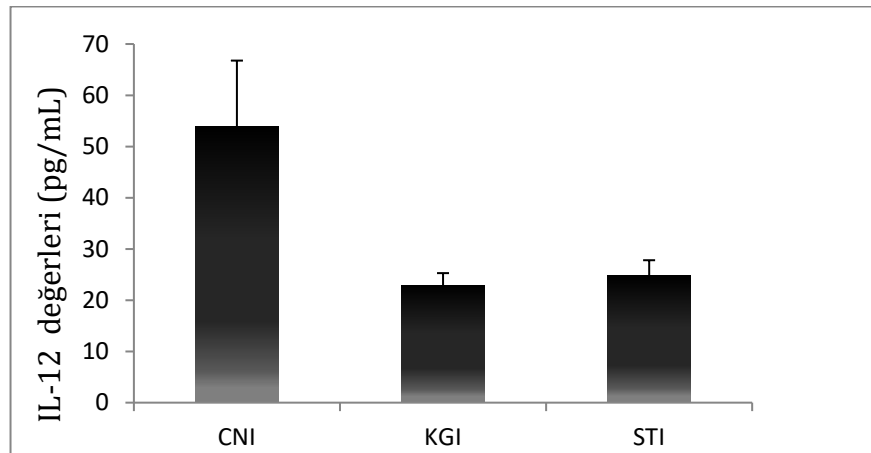
L. kefiranofaciens uygulaması ile fare IL-10 düzeyinde artış tespit edilmiştir (Chen vd.,2012).

Genellikle probiyotikler interlökin-10 (IL-10) ve TGF-beta gibi intestinal antinflamatuar sitokin üretimini artırırken, IL-8 gibi proinflamatuar sitokin üretimini düşürmektedir. (Maassen vd., 2000; Yeşilova vd., 2010).

Probiyotik özelliği bulunan mikroorganizma ile muamale edilen farelerin dışkılarında IgA düzeyinde bir artış gözlenirken, lenf nodüllerinde proinflamatuar medyatörlerin ekspresyonundaki azalış ile IL-23, IFN- γ , ve IL-6 miktarlarında azalma, IL-10 seviyesinde ise önemli bir artış gözlenmiştir (Carasi vd., 2015).

Yine benzer bir çalışmada kefir alımının 7. gününde hayvanların bağırsak mukozasında IL-10 artışı, bağırsak bağışıklığının modüle edilmesi, makrofajların bağırsak homeostazının kontrolünü sağladığı tespit edilmiştir (Maciel vd., 2016).

CNI, KGI ve STI gruplarındaki Balb/c farelerinin İnterlökin-12 (IL-12) değerleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-12 değerleri

Çizelge 4.5. CNI, KGI ve STI gruplarının IL-12 değerleri

	Placebo grubu fare bağırsak dokuları (CNI)	Kefir danesi ile beslenen fare bağırsak dokuları (KGI)	Starter kefir kültürü ile beslenen fare bağırsak dokuları (STI)
IL12	53,90 ± 12,86	22,93 ± 2,35	24,75 ± 3,04

Çizelge 4.5’de CNI, KGI ve STI bağırsak doku örneklerinde IL-12 değerleri sırasıyla 53,90; 22,93 ve 24,75 pg/mL olarak tespit edilmiştir. Tüm örneklerde IL-12 sonuçlarına göre önemli düzeyde farklılık olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

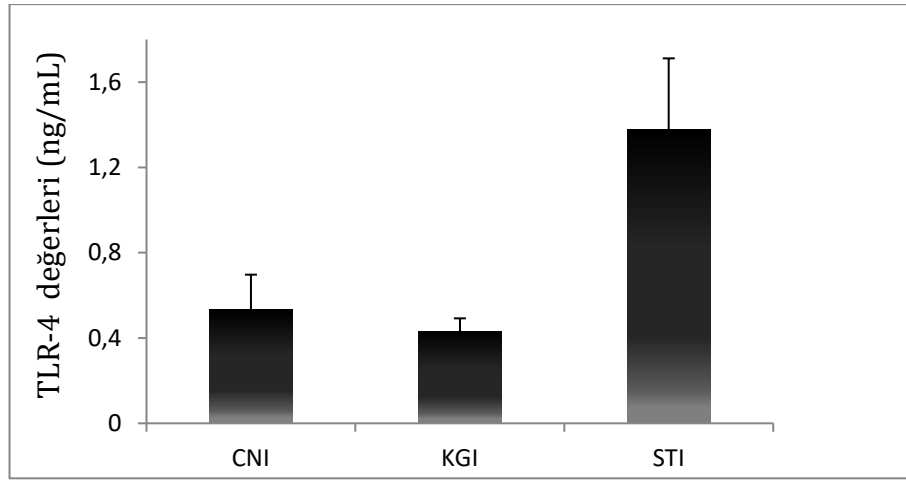
KGI grubunun daha düşük IL-12 düzeyi inflamasyon durumunda kontrol altına alınmasını kolaylaştırarak, IL-10 düzeyinde artışın ise salgısal IgA düzeylerini artırarak immün yanıtın daha etkili çalışmasını sağlayabileceği belirtilmiştir.

IL-12 ve IFN- γ arasındaki etkileşim, mikobakteriler gibi hücre içi bakterileri de içeren çok sayıda patojene karşı etkili bağışıklık tepkileri için gereklidir. Rekombinant sığır IL-12 hücreleri laboratuvar ortamında klonlanmış, ekspres edilmiş ve IFN- γ indükleyici aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Hope vd., 2002).

IL-12 ve IL-2’nin kombinasyonu, pulmoner dokudaki IFN- γ ekspresyonunu arttırmada yardımcı olabilir, ancak pulmoner dokudaki koloni yükünü azaltmaz veya farenin hayatta kalma oranını arttırmaz (Zhang vd., 2013).

Ayrıca IL-10 hücreleri aktif makrofaj ve dendritik hücrelerden IL-12 salınımını inhibe eder.

CNI, KGI ve STI gruplarındaki Balb/c farelerinin Toll Like Reseptör (TLR-4) değerleri Şekil 4.7’de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. CNI, KGI ve STI gruplarının TLR-4 değerleri

Çizelge 4.6. CNI, KGI ve STI gruplarının TLR-4 değerleri

	Placebo grubu fare bağırsak dokuları (CNI)	Kefir danesi ile beslenen fare bağırsak dokuları (KGI)	Starter kefir kültürü ile beslenen fare bağırsak dokuları (STI)
TLR4	0,5321 ± 0,16	0,4322 ± 0,06	1,3785 ± 0,33

Çizelge 4.6'da CNI, KGI ve STI bağırsak doku örneklerinde TLR-4 değerleri sırasıyla 0,53; 0,43 ve 1,37 ng/mL olarak tespit edilmiştir. Tüm örneklerde TLR-4 sonuçlarına göre önemli düzeyde farklılık olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$). Toll benzeri reseptör 4 (TLR4) insülin faaliyetleri için hedeflenen dokularda bulunur. Probiyotik tüketimi bifidobakterilerin sayısını artırır ve adezyon proteinlerinin artmış ekspresyonu bağırsak geçirgenliğini azaltarak, bakteriyel lipopolisakkarit ile TLR4'ün aktivasyonunu zayıflatmaktadır (Gomes vd., 2014; Bubnov vd., 2015).

Dane kefirinin daha yüksek *Bifidobacterium* spp. mikroorganizma içeriği ile KGI grubu farelerin TLR-4 düzeyinde daha etkin bir aktivasyon düşüşü gözlemlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Beslenme durumunun bağışıklık sistemi üzerinde önemli bir etkisi vardır. Özellikle mikrobiyolojik açıdan bağırsak mikrobiyotası ve sağlığı üzerine etkilerinin anlaşılmasına ilişkin son gelişmeler göz önüne alındığında, beslenme ve bağışıklık sistemi arasındaki karşılıklı etkileşim ve özellikle probiyotik bakterilerinde potansiyel olarak büyük bir etkisi vardır. Fermente süt ürünlerinin probiyotik etkileri sadece mikroorganizmalardan değil, aynı zamanda fermentasyon süresince üretilen metabolitlerden de ortaya çıkmaktadır.

Probiyotik özelliği yüksek olan dane kefirinin birçok immünolojik mekanizmayı modüle etme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Kefir danesi kullanılarak üretilen kefirin mikroorganizmaları probiyotik özelliğe sahip olduğunun kanıtı olduğu düşünülmektedir. Buradaki değişimlerin daha net anlaşılabilmesi için kefir örneklerinin ve besleme sonrası alınan gaita örneklerinde PZR gibi çalışmaların yapılması faydalıdır.

Salgısal IgA ve IgG düzeylerinin dane kefir ile beslenen farelerde, placebo ve starter kefir ile beslenen farelere kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir. Ayrıca hümmoral bağışıklık sistemi dane kefir ile beslenen farelerde daha yüksektir. Böylece kanda, gastrointestinal ve solunum yolları gibi mukozal organların lümenlerinde daha etkin bir savunma mekanizması oluşturmaktadır. KGI grubunun STI ve CNI grubuna kıyasla yüksek IL-10 düzeyi ile B hücre aracılığıyla lokal hümmoral yanıtı artırarak T hücre aracılığıyla daha immün toleran bir ortam sağladığı belirlenmiştir. Bu şekilde dane kefir ile Th2 bağışıklık fenotipini regüle edebilir, tümöre karşı ve hücreiçi patojenik enfeksiyonlara karşı hücre aracılı immün yanıtları geliştirebilir şeklinde yorumlanabilir.

Bu çalışma doğal kefir danesi kefirinin mikrobiota zenginliğini ve immün modülatör özelliklerinin starter kültür kullanılarak üretilen kefire göre üstünlüklerini *in vivo* koşullarda belirlemiştir. Araştırma bulguları literatüre katkı sağlamış öncü bir araştırmadır.

KAYNAKLAR

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S., 2015. Temel İmmünoloji İmmün Sistemin İşlevleri ve Bozuklukları 4. Baskı, Çev. Camcioğlu, Y., Deniz, G., Güneş Tıp Kitabevleri, 320s, Ankara.
- Adiloğlu, A.K., Gönülateş, N., İşler, M., Şenol, A., 2013. Kefir tüketiminin insan bağışıklık sistemi üzerine etkileri: Bir sitokin çalışması. Mikrobiyoloji Bülteni, 47(2),273-281.
- Ahmed, Z., Wang, Y.P., Ahmad, A., Khan, S.T., Nisa, M., Ahmad, H., Afreen, A., 2013. Kefir and Health A Contemporary Perspective. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 53, 422-434.
- Akira, O., Yokshiyuki, M., Tsutomu, O., Sin-ichi, I., Takeo, M., 1998. Inhibition of polyposis in the small intestine of Balb/c mice by intestinal bacteria. Cancer Letters, 131, 153-156.
- Amital, H., B. Gilburd, B., Shoenfeld, Y., 2007. Probiotic supplementation with *Lactobacillus casei* (Actimel) induces a Th1 response in an animal model of antiphospholipid syndrome. New York Academy of Sciences. 1110, 661-669.
- Arciniega-Martinez, I.M., Campos-Rodriguez, R., Drago-Serrano, M.E., Sanchez-Torres, L.E., Cruz-Hernandez, T.R., Rezendiz-Albor, A.A., 2015. Modulatory effects of oral bovine lactoferrin on the IgA response at inductor and effector sites of distal small intestine from Balb/c mice. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis, 64(1),57-63.
- Ashraf, R., Shah, N.P., 2014. Immune system stimulation by probiotic microorganisms. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 54, 7, 938-956.
- Assadi, M.M., Pourahmad, R., Moazami, N., 2000. Use of isolated kefir starter cultures in kefir production. World Journal Microbiology and Biotechnology, 16, 541-543.
- Aw, N., 2007. Probiotics and athletic performance: a systematic review. Current Sports Medicine Reports, 6(4), 269-273.
- Baskın, Y., Yiğitbaşı, T., Afacan, G., Akgün, F., Dere, R., 2010. Sağlıklı bireylerde immunoglobulin (IGA, IGG, IGM) ve IGG alt grupları referans aralıkları. Türk Biyokimya Dergisi, 35 (4), 325-332.
- Baysal, A., 2012. Beslenme. Hatiboğlu Yayınları, 566s, Ankara.

- Bensmira, M., Nsabimana, C., Jiang, B., 2010. Effects of fermentation conditions and homogenization pressure on the rheological properties of kefir. *LWT - Food Science and Technology* 43, 1180-1184.
- Beshkova, D.M., Simova, E.D., Simov, Z.I., Frengova, G.I., Spasov, Z.N., 2002. Pure Cultures For Making Kefir. *Food Microbiology*, 19(5), 537-544.
- Beşer, Ö.F., Kutlu, T., Çullu-Çokuğraş, F., Erkan, T., 2015. İnflamatuvar barsak hastalığı tanılı çocukların uzun süreli izlemi: 53 olgunun değerlendirilmesi. *The Journal of Current Pediatrics*; 13, 81-88.
- Bubnov, R.V., Spivak, M.Y., Lazarenko, L.M., Bomba, A., Boyko, N.V., 2015. Probiotics and immunity: provisional role for personalized diets and disease prevention. *The EPMA Journal*, 6, 14.
- Bourrie, B.C.T., Willing, B.P., Cotter, P.D., 2016. The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir. *Frontiers in Microbiology*, 7, 647.
- Borre, Y.E., Moloney, R.D., Clarke, G., Dinan, T.G., Cryan, J.F., 2014. The impact of microbiota on brain and behavior: mechanisms & therapeutic potential. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 817, 373-403.
- Candan, İ., Duman, M., İçli, F., Göğüş, O., Karatan, O., Koç, H., 2000. Klinik bilimlere giriş 7, İmmün sistem hastalıkları, Böbrek hastalıkları, Ürogenital sistem hastalıkları, Hematopoetik sistem hastalıkları, Onkolojik hastalıklar. Antıp A.Ş. Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınlar, 7.
- Carasi, P., Racedo, S.M., Jacquot, C., Romanin, D.E., Serradell, M.A., Urdaci, M.C., 2015. Impact of Kefir Derived *Lactobacillus kefir* on the Mucosal Immune Response and Gut Microbiota. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Immunology Research*, 12.
- Ceyhan, N., Alıç, H., 2012. Bağırsak mikrobiyotası ve probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 5(1), 107-113.
- Chandra, R.K., 1997. Nutrition and the immune system: an introduction. *The American Journal of Clinical Nutrition*; 66(2), 460-463.
- Chen, H.C., Wang, S.Y., Chen, M.J., 2008. Microbiological study of lactic acid bacteria in kefir grains by culture-dependent and culture-independent methods. *Food Microbiology*, 25, 492-501.
- Chen, Y.P., Hsiao, P.J., Hong, W.S., T. Y. Dai, T.Y., Chen, M.J., 2012. *Lactobacillus kefiranoferiens* M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis in vitro and in vivo. *Journal of Dairy Science*, 95, 63-74.

- Chen, Y.P., Chen, M.J., 2013. Effects of *Lactobacillus kefiranofaciens* M1 isolated from kefir grains on germ-free mice. Plos One 8(11) e78789.
- Chen, G., Yang, Y., Liu, M., Teng, Z., Ye J., Xu, Y., Cai, X., Cheng, X., Yang, J., Hu, C., Wang, M., Cao, P., 2015. Banxia xiexin decoction protects against dextran sulfate sodium-induced chronic ulcerative colitis in mice. Journal of Ethnopharmacology, 166, 149–156.
- Czamanski, R.T., Greco, D.P., Wiest, J.M., 2004. Evaluation of antibiotic activity in filtrates of traditional kefir. Higiene Alimentar, 18(124), 75-77.
- Çevikbaş, A., Yemni, E., Ezzedenn, F. W., Yardımcı, T., Çevikbaş, U., Stohs, S. J., 1994. Antitumoural, antibacterial and antifungal activities of kefir and kefir grain. Phytotherapy Research, 8, 78-82.
- De Angelis-Pereira, M.C., Barcelos, M.F.P., Sousa, M.S.B., Pereira, J.A.R. 2013. Effects of the kefir and banana pulp and skin flours on hypercholesterolemic rats. Acta Cirurgica Brasileira, 28(7), 481-486.
- De Vrese, M., Keller, B., Barth, C.A., 1992. Enhancement of intestinal hydrolysis of lactose by microbial β -galactosidase (EC 3.2.1.23) of kefir. British Journal of Nutrition, 67(1), 67-75.
- Dick, M., Costa, T., Gómea, A., Subirade, M., Rios, A. D., Flores, S.H., 2015. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. Carbohydrate Polymers, 130, 198-205.
- Dinan, T.G., Quigley, E.M., 2011. Probiotics in the treatment of depression: Science or science fiction? Aust N Z J Psychiatry, 45, 1023-1025.
- Diosma, G., Romanin, D. E., Rey-Burusco, M. F., Londero, A., Garrote, G. L., 2014. Yeasts from kefir grains: isolation, identification, and probiotic characterization. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 30, 43–53.
- Dobson, A., O'Sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, P., Hill, C., 2011. High-throughput sequence-based analysis of the bacterial composition of kefir and an associated kefir grain. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters, 320, 56–62.
- Doğan, M., 2012. Probiyotik bakterilerin gastrointestinal sistemdeki etki mekanizması. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 7,1, 20-27.
- Doksat, M.K., 2003. Evrimsel perspektiften depresyon ve sitokinler. Klinik Psikiyatri Bülteni, 13, 97–108.

- El-Kader, S.M.A., 2011. Moderate versus high intensity exercise training on leptin and selected immune system response in obese subjects. *European Journal General Medicine*, 8(4), 268-272.
- Emre, S., Tutkun, İ.T., 2011. Enfeksiyöz olmayan intraoküler inflamasyonların kontrolünde yeni seçenekler: Biyolojik ajanlar. *Türk Oftalmoloji Dergisi*, 41, 243-55.
- Endrighi, R., Hamer, M., Steptoe, A., 2016. Post-menopausal women exhibit greater interleukin-6 responses to mental stress than older men. *Annals Behavioral Medicine*, 50, 564–571.
- Erdoğan, F.S., 2016. Doğal kefir danesi ve starter kefir kültürü kullanılarak üretilen kefirin *in vivo* fekal probiyotik mikroorganizmaların belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 90s, Isparta.
- Evrensel, A., Ceylan M.E., 2015. Bağırsak beyin eksen: Psikiyatrik bozukluklarda bağırsak mikrobiyotasının rolü. *Psikiyatriye Güncel Yaklaşımlar*, 7(4), 461-472.
- Fallarini, S., Buzzi, B., Giovarruscio, S., Polito, L., Brogioni, G., Tontini, M., Berti, F., Adamo, R., Lay, L., Lombardi, G., 2015. A synthetic Ddsaccharide analogue from *Neisseria meningitidis* a capsular polysaccharide stimulates immune cell responses and induces immunoglobulin G (IgG) production in mice when protein-conjugated. *ACS Infectious Diseases*, 1, 487–496.
- Farnworth E.R., Mainville I., 2008. Kefir - A fermented milk product. Farnworth E.R. (Ed.), *Handbook of Fermented Functional Foods*. Boca Raton, CRC pres LLC, 77-111.
- Farnworth, E.R., 2005. Kefir – a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods* 2 (1) 1–17.
- Flach, J., Waal, M.B., Nieuwboer, M., Claassen, E., Larsen, O.F.A., 2017. The underexposed role of food matrices in probiotic products: Reviewing the relationship between carrier matrices and product parameters. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1334624>.
- Fontan, M.C.G., Martinez, S., Franco, I., Carballo, J., 2006. Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. *International Dairy Journal* 16, 762–767.
- Franco, M.C., Golowczyc, M.A., Antoni, G.L.D., Perez, P.F., Humen, M., Serradell, M., 2013. Administration of kefir-fermented milk protects mice against

- Giardia intestinalis infection. Journal of Medical Microbiology, 62, 1815–1822.
- Fujisawa, T., Adachi, S., Toba, T., Arihara, K., Mitsuoka, T., 1988. *Lactobacillus kefiranofaciens* spp. nov. isolated from kefir grains. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 38, 12-14.
- Furukawa N., Liyama, R., Takahashi, T., Yamanka, Y., 1992. The effect of oral administration of water soluble fraction from kefir grain on antibody production in mice. Animal Science and Technology, 63, 428–436.
- Furukawa, N., Takahashi, T., Yamanaka, Y., 1996. Effects of supernatant of Peyer's Patch cell culture with kefir grain components on the mitogenic response of thymocyte and splenocyte in mice. Animal Science Technology, 67, 153-159.
- Furukawa, N., Matsuoka, A., Takahashi, T., Yamanaka, Y., 2000. Antimetastatic effect of Kefir grain components on Lewis lung carcinoma and highly metastatic B16 melanoma in mice. Journal of Agricultural Science, 45(1), 62-70.
- Furuno, T., Nakanishi, M. 2012. Kefiran suppresses antigen-induced mast cell activation. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 35(2), 178-183.
- Garbers, I., Britz, T., Witthuhn, R., 2004. PCR-based denaturing gradient gel Electrophoretic typification and identification of the microbial consortium present in kefir grains. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 20, 687-693.
- Garrote, G.L., Abraham, A.G., Rumbo, M., 2015. Is lactate an under valued functional component of fermented food products? Frontiers in Microbiology, 6, 629.
- Garofalo, C., Osimani, A., Milanovic, V., Aquilanti, L., De Filippis, F., Stellato, G., 2015. Bacteria and yeast microbiota in milk kefir grains from different Italian regions. Food Microbiology, 49, 123–133.
- Glaser, R., Kiecolt-Glaser, J.K., 2005. Stress-induced immune dysfunction: implications for health. Nature Reviews Immunology, 5(3), 243-251.
- Golowczyc, M.A., Mobili, P., Garrote, G.L., Abraham, A.G., De Antoni, G.L., 2007. Protective action of *Lactobacillus kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*. International Journal of Food Microbiology, 118(3), 264-273.
- Golubnitschaja, O., Costigliola, V., 2012. General report & recommendations in predictive, preventive and personalised medicine 2012: white paper of the European Association for Predictive, Preventive and Personalised Medicine. EPMA Journal, 3, 14.

- Gomes, A.C., Bueno, A.A., Souza, R.G.M., Mota, J.F., 2014. Gut microbiota, probiotics and diabetes. *Nutrition Journal*, 13, 60.
- Guarner, F., Malagelada, J.R. 2003. Gut flora in health and disease. *Lancet*, 361, 512-519.
- Gulitz A, Stadie J, Wenning M, Ehrmann MA, Vogel R.F., 2011. The microbial diversity of water kefir. *International Journal of Food Microbiology*, 151, 284-288.
- Gülmez, M., Güven, A., 2003. Behavior of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* 4b and *Yersinia enterocolitica* O3 in pasteurized and non-pasteurized kefir fermented for one or two days. *Food Science and Technology International*, 9, 365-369.
- Güzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C., Greene, A.K., 2000. Organic acids and volatile flavour components evolved during refrigerated storage of kefir. *Journal of Dairy Science*, 83, 275-277.
- Güzel-Seydim, Z., Seydim, A., Greene, A., Bodine, A., 2000. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. *Journal of Food Composition Analysis*, 13, 35-43.
- Güzel-Seydim, Z.B., 2001. Studies on fermentative, microbiological and biochemical properties of kefir and kefir grains. Ph.D. Dissertation, Clemson University, Clemson, SC.
- Güzel-Seydim, Z.B., Seydim, A.C., Greene, A.K., Tas, T., 2006. Determination of antimutagenic properties of some fermented milks including changes in the total fatty acid profiles including CLA. *International Journal of Dairy Technology*, 59 (3), 209-215.
- Güzel-Seydim, Z., Kök-Tas, T., Greene, A.K., 2010. Review: functional properties of kefir. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*; 51, 261-268.
- Güzel-Seydim, Z., Kök-Tas, T., Ertekin-Filiz, B., Seydim, A.C., 2011. Effect of different growth conditions on biomass increase in kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 94(3), 1239-42.
- Güzel-Seydim, Z.B., Dibekci, M., Cagdas, E., Seydim, A.C., 2016. Effect of kefir on *Fusobacterium nucleatum* in potentially preventing intestinal cancer. *Functional Foods in Health and Disease*; 6(7), 469-477.
- Güzel-Seydim, Z.B. (Ed.), 2016. Fonksiyonel beslenme. Sidas Medya Ltd. Şti., 381s, İzmir.

- Gratz, S.W., Mykkanen, H., El-Nezami H.S., 2010. Probiotics and gut health:a special focus on liver diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 16(4), 403–10.
- Haarman, M., Knol, J., 2005. Quantitative Real-Time PCR Assays To Identify and Quantify Fecal *Bifidobacterium* Species in Infants Receiving a Prebiotic Infant Formula. *Applied Environmental Microbiology*, 71, 5, 2318-2324.
- Hamet, M.F., Lontero, A., Medrano, M., Vercammen, E., Van Hoorde, K., Garrote, G.L., 2013. Application of culture-dependent and culture-independent methods for the identification of *Lactobacillus kefiranofaciens* in microbial consortia present in kefir grains. *Food Microbiology*, 36, 327–334.
- Hamet, M.F., Medrano, M., Pérez, P.F., Abraham, A.G., 2016. Oral administration of kefiran exerts a bifidogenic effect on Balb/c mice intestinal microbiota. *Beneficial Microbes*, 7, 237–246.
- Hassan, E.M., Matloub, A.A., Aboutabl, M.E., Ibrahim, N.A., Mohamed, S.M., 2016. Assessment of anti-inflammatory, antinociceptive, immunomodulatory, and antioxidant activities of *Cajanus cajan* L. seeds cultivated in Egypt and its phytochemical composition. *Pharmaceutical Biology*, 54, 8, 1380–1391.
- Hemarajata, P., Versalovic, J., 2013. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 6(1), 39–51.
- Hennequin, C., Kaufmann-Lacroix, C., 2002. Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardi* fungemia. *European Journal of Clinical Microbiology*, 19, 16-20.
- Hong, W.S., Chen, Y.P., Chen, M.J., 2010. The Antiallergic Effect of Kefir *Lactobacilli*. *Journal of Food Science*, 75, 8.
- Hong, W.S., Chen, Y.P., Dai, T.Y., Huang, I.N., Chen, M.J., 2011. Effect of heat-inactivated kefir-isolated *Lactobacillus kefiranofaciens* M1 on preventing an allergic airway response in mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 59(16), 9022–31.
- Hope, J.C., Kwong, L.S., Entrican, G., Wattegedera, S., Vordermeier, H.M., Sopp, P., Howard, C.J., 2002. Development of detection methods for ruminant interleukin (IL)-12. *Journal of Immunological Methods* 266 , 117– 126
- Hosono, A., Tanabe, T., Otani, H., 1990. Binding properties of lactic acid bacteria isolated from kefir milk with mutagenic amino acid pyrolyzates. *Milchwissenschaft*, 45, 647-651.

- Hsieh, H.H., Wang, S.Y., Chen, T.L., Huang, Y.L., Chen, M.J., 2012. Effects of cow's and goat's milk as fermentation media on the microbial ecology of sugary kefir grains. *International Journal of Food Microbiology*, 157, 73-81.
- İlkgül, Ö., 2005. Modern tıpta prebiyotikler ve probiyotikler. *Ulusal Cerrahi Dergisi*, 21,1, 47-50.
- İlkgül, Ö., Erhan Y., Aydede, H., Var, A., Onur, E., 2005. Ratlarda oluşturulan selektif bağırsak dekontaminasyonunun peritoneal fibrinolitik aktivite üzerine etkisi. *Ulusal Cerrahi Dergisi*, 21, 2, 55-57.
- İnanç, N., Şahin, H., Çiçek, B., 2005. Probiyotik ve prebiyotiklerin sağlık üzerine etkileri. *Erciyes Tıp Dergisi*, 27(3), 122-127.
- Iraporda, C., Romanin, D.E., Rumbo, M., Garrote, G.L., Abraham, A.G., 2014. The role of lactate on the immunomodulatory properties of the nonbacterial fraction of kefir. *Food Research International*, 62, 247-253.
- Jain, S., Yadav, H., Sinha, P.R., Naito, Y., Marotta, F., 2008. Dahi containing probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* has a protective effect against *Salmonella enteritidis* infection in mice. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 21, 4.
- Jianzhong, Z., Xiaoli, L., Hanhu, J., Mingsheng, D., 2009. Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Microbiology* 26, 770-775.
- Kamber, K., Karalı, Z., Kılıç, S.Ş., 2009. IgA eksikliği ve yaygın değişken immün yetmezlik. *Güncel Pediatri*, 7, 90-5.
- Karatepe, P., Yalçın, H., Patır, B., Aydın, I., 2012. Kefir ve kefirin mikrobiyolojisi. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR*, 10,1, 1-10.
- Karatepe, P., Yalçın, H., 2014. Kefirli sağlık. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(2), 23-30.
- Kau, A.L., Ahern, P.P., Griffin, N.W., Goodman, A.L., Gordon, J.I., 2012. Human nutrition, the gut microbiome, and immune system: envisioning the future. *National Institutes Health of Public Access*, 474(7351), 327-336.
- Khailova, L., Petrie, B., Baird, C.H., Rieg, J.A.D., Wischmeyer, P.E., 2014. *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium longum* Attenuate Lung Injury and Inflammatory Response in Experimental Sepsis. *Plos One* 9(5): e97861.
- Kimota-Nira, H., Suzuki, C., Aoki, R., Kobayashi, M., Mizumachi, K., 2012. A derivative of *Lactococcus lactis* strain H61 with less interleukin-12 induction has a different cell wall. *Journal of Dairy Science*, 95, 6.

- Kitajima, H., Sumida, Y., Tanaka, R., Yuki, N., Takayama, H., Fujimura, M., 1997. Early administration of *Bifidobacterium breve* to preterm infants: randomised controlled trial. Archives of Disease in Childhood, 76, 101-107.
- Koca, T.T., 2015. Bağırsak mikroflorasının inflamatuvar hastalık patogenezindeki yeri. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 24(1), 78-91.
- Kognoff M.F., 1993. Immunology of the intestinal tract. Gastroenterology, 105, 1275-1280.
- Kopp, M.V., Goldstein, M., Dietschek, A., Sofke, J., Heinzmann, A., Urbanek, R., 2008. *Lactobacillus GG* has in vitro effects on enhanced interleukin-10 and interferon-gamma release of mononuclear cells but no in vivo effects in supplemented mothers and their neonates. Clinical and Experimental Allergy, 38, 602-610.
- Koroleva, N., Robinson, R., 1991. Products prepared with lactic acid bacteria and yeasts. Therapeutic Properties of Fermented Milks, 159-179.
- Korsak, N., Taminiau, B., Leclercq, M., Nezer, C., Crevecœur, S., Ferauche, C., Detry, E., Delcenserie, V., Daube, G., 2015. Short communication: Evaluation of the microbiota of kefir samples using metagenetic analysis targeting the 16S and 26S ribosomal DNA fragments. Journal of Dairy Science, 98, 3684-3689.
- Kök-Taş, T., Ekinci, Y., Guzel-Seydim, Z.B., 2012. Identification of Microbial Flora in Kefir Grains Produced in Turkey Using PCR. International Journal of Dairy Technology, 65, 1,126-131.
- Köroğlu, Ö., Bakır, E., Uludağ, G., Köroğlu, S., Dayısoylu, K.S., 2015. Kefir ve Sağlık, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Doğa Bilimleri Dergisi, 18(1).
- Kuloğlu, M., Önen, S., Aracı, S., 2009. Antidepresanlar, sitokinler ve immün Sistem. New Symposium Journal, 47,2.
- Kundakcı, A., Pirat, A., 2012. Toll benzeri reseptörler. Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi, 10, 63-73.
- Kurtulmuş, S., Kök Taş, T. 2015. Gıdalarda Bulunan L-Triptofan, Serotonin, Melatonin Profilleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(11), 877-885.
- Kutlu, O., Eruzun, H., Tükek, T., 2016. Yaygın değişen immün yetersizlik. İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi, 79, 3.

- Laurin, E.L., Mckenna, S.L.B., Sanchez, J., Bach, H., Rodriguez-Lecompte, J.C., Chaffer, M., Keefe, G.P., 2015. Novel cell preservation technique to extend bovine *in vitro* white blood cell viability. *Plos One*. 10(10): e0140046.
- LeBlanc, A.M., Matar, C., Theriault, C., Pertigon, G., 2005. Effects of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389 on immune cells associated to mammary glands in normal and a breast cancer model. *Immunobiology*, 210, 349–358.
- Leite, A. M. O., Mayo, B., Rachid, C. T., Peixoto, R. S., Silva, J. T., Paschoalin, V. M., 2012. Assessment of the microbial diversity of Brazilian kefir grains by PCR-DGGE and pyrosequencing analysis. *Food Microbiology*, 31, 215–221.
- Leite, A.M.O., Miguel, M.A.L., Peixoto, R.S., Rosado A.S., Silva J.T., Paschoalin, V.M.F., 2013. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 2, 341-349.
- Liu, J.R., Wang, S.Y., Chen, M.J., Chen, H.L., Yueh, P.Y., Lin, C.W., 2006. Hypocholesterolaemic effect of milk kefir and soya milk kefir in cholesterol fed hamsters. *British Journal of Nutrition*, 95, 939–946.
- Livingston, M., Loach, D., Wilson, M., Tannock, G., Baird, M., 2009. Gut commensal *Lactobacillus reuteri* 100–23 stimulates an immunoregulatory response. *Immunology and Cell Biology*, 88, 99–102.
- Lock, R.J., Unsworth, D.J., 2003. Immunoglobulins and immunoglobulin subclasses in the elderly. *Annals Clinical Biochemistry*, 40, 143–148.
- Lourens-Hatting, A., Viljoen, B.C., 2001. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. *Food Research International*, 34, 791-796.
- Maalouf, K., Baydoun, E., Rizk, S., 2011. Kefir induces cell-cycle arrest and apoptosis in HTLV-1-negative malignant T-lymphocytes. *Cancer Management and Research*, 3, 39-47.
- Maassen, C.B.M., Holten-Neelen, C., Balk, F., Bak-Glashouwer, M.J.H., Leer, R.J., Laman, J.D., Boersma, W.J.A. Claassen, E., 2000. Strain-dependent induction of cytokine profiles in the gut by orally administered *Lactobacillus* strains. *Vaccine*, 18, 2613-2623.
- Maciel, F.R., Punaro, G.R., Rodriguez, A.M., Bogsan, C.S.B., Rogero, M.M., Oliveira, M.N., Mouro, M.G., Higa, E.M.S., 2016. Immunomodulation and nitric oxide restoration by a probiotic and its activity in gut and peritoneal macrophages in diabetic rats. *Clinical Nutrition*, 35, 1066-1072.
- Macpherson, A.J., Uhr, T., 2002. Gut flora mechanisms of regulation. *The European Journal of Surgery*, 158, 53-57.

- Magalhães, K.T., de M Pereira, G.V., Dias, D.R., Schwan, R.F., 2010. Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26, 1241-1250.
- Marsh, A.J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R.P., Cotter, P.D., 2013. Sequencing-based analysis of the bacterial and fungal composition of kefir grains and milks from multiple sources. *Plos One*, 8(7), 1-11.
- Mathieu, M., François-Marie, L., Marcia Teresa, R., Monique L., 2008. Characterization of probiotic properties of *Lactobacillus* strains. *Dairy Science Technology*, 88, 695-705.
- Medrano, M., Racedo, S.M., Rolny, I.S., Abraham, A.G., Perez, P.F., 2011. Oral administration of kefir induces changes in the balance of immune cells in a murine model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5299-5304.
- Mei, J., Gao, X., Li, Y., 2016. Kefir grains and their fermented dairy products. *JSM Biotechnology and Biomedical Engineering*, 3(1), 1049.
- Miguel, M.G.D.C.P., Cardoso, P.G., de Assis Lago, L., Schwan, R.F., 2010. Diversity of bacteria present in milk kefir grains using culture-dependent and culture-independent methods. *Food Research International*, 43, 1523-1528.
- Morgan, S.M., Hickey, R., Ross, R.P., Hill, C., 2000. Efficient method for the detection of microbially-produced from microbiology. *Journal Applied systems*, 89(1), 56-62.
- Moura, C.S., Lollo, P.C.B., Morato, P.N., Esmerino, E.A., Margalho, L.P., Santos-Junior, V.A., Coimbra, P.T., Cappato, L.P., Silva, M.C., Garcia-Gomes, A.S., Granato, D., Bolini, H.M.A., Santana, A.S., Cruz, A.G., Amaya-Farfan, J., 2016. Assessment of antioxidant activity, lipid profile, general biochemical and immune system responses of Wistar rats fed with dairy dessert containing *Lactobacillus acidophilus* La-5. *Food Research International*, 90, 275-280.
- Murofushi, M., Shiomi, M., Aibara, K., 1983. Effect of orally administered polysaccharide from kefir grain on delayed-type hypersensitivity and tumor growth in mice. *Japanese Journal of Medical Science & Biology*, 36(1), 49-53.
- Nalbantoglu, U., Cakar, A., Dogan, H., Abaci, N., Ustek, D., Sayood, K., 2014. Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. *Food Microbiology*, 41, 42-51.

- Nakagawa, T., Katsuno, T., Noguchi, Y., Mandai, Y., Yoshihama, S., Saito, K., Maruoka, D., Matsumura, T., Arai, M., Yokosuka, O., 2015. Irsogladine maleate prevents colitis in interleukin-10 gene-deficient mice by reducing interleukin-12 and -23 production. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 38, 1681–1688.
- Noori, S., Taghikhani, M., Hassan, Z.M., Allameha, A., Mostafaei, A., 2010. Tehranolide molecule modulates the immune response, reduce regulatory T cell and inhibits tumor growth in vivo. *Molecular Immunology*, 47, 1579–1584.
- Obal, I., Klausz, G., Mandi, Y., Deli, M., Siklos, L., Engelhardt, J.I., 2016. Intraperitoneally administered IgG from patients with amyotrophic lateral sclerosis or from an immune-mediated goat model increase the levels of TNF- α , IL-6, and IL-10 in the spinal cord and serum of mice. *Journal of Neuroinflammation*, 13, 121.
- Özden, A., 2005. Gastro-intestinal Sistem ve Probiyotik-Prebiyotik-Sinbiyotik. *Güncel Gastroenteroloji*, 124-133.
- Özden, A., 2013. Probiyotik; sağlıklı yaşam için dost bakteriler. *Güncel gastroenteroloji*, 17, 1.
- Palmeira, P., Carneiro-Sampaio, M., 2016. Immunology of breast milk. *Revista da Associacao Medica Brasileira*, 62(6), 584-593.
- Parvez, S., Malik, K.A., Kang, S.A., Kim, H.Y., 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 1171–1185.
- Paul, W.E., 2015. History of interleukin-4. *Cytokine* 75, 3–7.
- Plessas, S., Nouska, C., Mantzourani, I., Kourkoutas, Y., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., 2017. Microbiological exploration of different types of kefir grains. *Fermentation*, 3, 1.
- Pintado, M.E., Da Silva, J.A., Fernandes, P.B., Malcata, F.X., Hogg, T.A., 1996. Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. *International Journal of Food Science Technology*, 31, 15-26.
- Prado, M.R., Blandon, L.M., Vandenberghe, L.P.S., Rodrigues, C., Castro, G.R., Thomaz-Soccol, T., Soccol, R., 2015. Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1177.
- Quiros, A., Hernandez-Ledesna, B., Ramos, M., Amigo, L., 2005. Converting enzyme inhibitory activity of peptides I. Derived from caprine kefir. *Journal of Dairy Science*, 88(10), 3480-3487.

- Rea, M.C., Lennartsson, T., Dillon, P., Drinan, F.D., Reville, W.J., Heapes, M. and Cogan, T.M. 1996. Irish kefir-like grains: their structure, microbial composition and fermentation kinetics. *Journal of Applied Bacteriology*, 81, 83-94.
- Rimada, P.S., Abraham, A.G., 2001. Polysaccharide production by kefir grains during whey fermentation. *Journal of Dairy Research*, 68, 653-661.
- Rimada, P.S., Abraham, A.G., 2006. Kefiran improves rheological properties of glucono-d-lactone induced skim milk gels. *International Journal of Dairy*, 16, 33-39.
- Rodrigues, K.L., Caputo, L.R., Carvalho, J.C., Evangelista, J., Schneedorf, J.M., 2005. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25, 404-408.
- Romanin, D., Serradell, M., González Maciel, D., Lausada, N., Garrote, G.L., Rumbo, M., 2010. Down-regulation of intestinal epithelial innate response by probiotic yeasts isolated from kefir. *International Journal of Food Microbiology*, 140, 102-108.
- Ross, R.P., Fitzgerald, G., Collins K., Stanton, C., 2002. Cheese delivering biocultures-probiotic cheese. *Journal of Dairy Technology*, 57-71.
- Sacu, D., Bildik, A., 2009. Deneysel olarak fibrosarkoma oluşturulan ratların serumlarında interlökin 6(IL-6) ve Tümör Nekrosis Faktör- α (TNF- α) düzeylerinin belirlenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15 (5), 681-686.
- Salman, T., Varol, U., Yıldız, İ., Küçükzeybek, Y., Alacacioğlu, A., 2015. Mikrobiyota ve kanser. *Acta Oncologica Turcica (AOT)*, 48(2), 73-78.
- Santos, A., San Mauro, M., Sanchez, A., Torres, J.M., Marquina, D., 2003. The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir. *Systematic and Applied Microbiology*, 26, 434-443.
- Serafini, F., Turrone, F., Ruas-Madiedo, P., Lugli, G.A., Milani, C., Duranti, S., Zamboni, N., Bottacini, F., van Sinderen, D., Margolles, A., 2014. Kefir fermented milk and kefir promote growth of *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 and modulate its gene expression. *International Journal of Food Microbiology*, 178, 50-59.
- Sezen, A.G., 2013. Prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotiklerin insan ve hayvan sağlığı üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8(3), 248-258.
- Shah, N. P., 2007. Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*, 17, 1262-1277.

- Sharma, V., Sharma, A., Sharma, A., Guleria, R., Deshmukh, R., 2016. Depression: An immuno-inflammatory cascade. *Archives Medical Review Journal*, 25(2), 223-240.
- Silva, K.R.,Rodrigues,S.A., Filho, L.X., Lima,A.S., 2009. Antimicrobial activity of broth fermented with kefir grains. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 152(2), 316-325.
- Simova, E., Beskova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G., Spazov, Z., 2002. Lactic acid bacteria and yeast in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnonology*, 28, 1-6.
- Sönmez, N., Büyükbaba-Boral, Ö., Kaşali, K., Tekeli, F., 2014. Atovakuon ve astragalus kombinasyonunun akut toksoplazmozlu fare modeli tedavisi ve IL-2, IL-12, IFN- γ düzeyleri üzerindeki etkileri. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 48(4), 639-651.
- Tamai, Y., Yoshimitsu, N., Watanabe, Y., Kuwabara, Y., Nagai, S., 1996. Effect of milk fermented by culturing with various lactic acid bacteria and a yeast on serum cholesterol level in rats. *Journal of Fermentation Bioengineering*, 81, 181-182.
- Tamang, J.P., Holzapfel, W.H., Watabane, K., 2016. Review: diversity of microorganisms in global fermented food sand beverages. *Frontiers Microbiology*, 7, 377.
- Tamer, G., Mesçi, B., 2013. Role of vitamin D in the immune system. *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği*, 17, 5-7.
- Tamime, A.Y., 2002. Fermented milks: a historical food with modern applications–a review. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56(4), 2-15.
- Tamime, A.Y., 2006. Production of Kefir, Koumiss and Other Related Products. Tamime, A.Y. (Ed.), *Fermented Milk Blackwell Science Ltd*, (174-216). Oxford, UK.
- Teruya,K., Yamashita, M., Tominaga, R., Nagira,T., Shim,S.Y., Katakura, Y., Tokumaru S., Tokumaru, K., Barnes,D., Shirahata, S. 2002. Fermented milk, Kefram-Kefir enhances glucose uptake into insülin-responsive muscle cells. *Cytotechnology*, 40(1-3), 107-116.
- Thoreux, K., Schmucker, D.L., 2001. Kefir milk enhances intestinal immunity in young but not old rats. *Journal of Nutrition*, 131, 807-812.
- Tsuji, M., Suzuki, K., Kinoshita, K., Fagarasan, S., 2008. Dynamic interactions between bacteria and immune cells leading to intestinal IgA synthesis. *Semin. Immunology*, 20, 59–66.

- Tuncer, E., Kılıç, Ş., 2006. Yenidoğanın immün sistemi. Güncel Pediatri, 3, 92-95.
- Tuohy, K.M., Hinton, D.J., Davies, S.J., Crabbe, M.J., Gibson, G.R., Ames, J.M., 2006. Metabolism of maillard reaction products by the human gut microbiota-implications for health. Molecular Nutrition and Food Research, 50, 847-857.
- Türken, M., Yılmaz, S., Çolpan, L., Aydınol, B., Tuzcu, A.K., 2015. Tip 1 diyabetli erişkinlerde D vitamini eksikliğinin serum sIL-2R, IL-6 ve TNF-alfa düzeyleri üzerine etkisi. Dicle Tıp Dergisi; 42 (4), 432-437.
- Ulusoy, B.H., Çolak, H., Hampikyan, H., Erkan, M.E., 2007. An in vitro study on the antibacterial effect of kefir against some food-borne pathogens. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 37, 103-107.
- Ürkek, B., Sengül, M., Erkaya, T., 2014. *Saccharomyces boulardii*'nin fermente süt ürünlerinde kullanımı. Akademik Gıda, 12(2), 108-113.
- Vardjan, T., Lorbeg, P.M., Rogelj, I., Majhenic, A.C., 2013. Characterization and stability of *Lactobacilli* and yeast microbiota in kefir grains. Journal of Dairy Science; 96, 2729-2736.
- Vatansever, A., Kahraman, M.M., 2012. İnate immunité ve konakçı savunması. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi, 31, 1: 39-49.
- Verdua, E.F., Bercik, P., Cukrowska, B., Farre-Castany, M.A., Bouzoyrene, H., Saraga, E., Blum, A.L., Corthea, I., Tlaskalova, H., Michetti, P., 1999. Oral administration of antigens from intestinal flora anaerobic bacteria reduces the severity of experimental acute colitis in Balb/c mice. Clinical Experimental Immunology, 120, 46, 50.
- Vinderola, C.G., Medici M., Perdigon, G., 2004. Relationship between interaction sites in the gut, hydrophobicity, mucosal immunomodulating capacities and cell wall protein profiles in indigenous and exogenous bacteria. Journal of Applied Microbiology, 96, 230-243.
- Vinderola, C. G., Duarte, J., Thangavel, D., Perdigon, G., Farnworth, E., and Matar, C., 2005. Remote-site stimulation and duration of the immune response by kefir. European Journal of Inflammation, 3, 63-73.
- Vinderola, C.G., Farnworth, E., Matar, C., Perdigon, G., Duarte, J., Thangavel, D., 2005. Immunomodulating capacity of kefir. Journal of Dairy Research, 72(2), 195-202.
- Vinderola, G., Perdigon, G., Duarte, J., Farnworth, E., Matar, C., 2006. Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranoferiens* on the gut mucosal immunity. Cytokine, 36, 254-260.

- Vinderola, G., Perdigón, G., Duarte, J., Thangavel, D., Farnworth, E., Matar, C., 2006. Effects of kefir fractions on innate immunity. *Immunobiology*, 211, 149–156.
- Vinderola, G., Perdigón, G., Duarte, J., Farnworth, E., Matar, C., 2006. Effects of the oral administration of the products derived from milk fermentation by kefir microflora on immune stimulation. *Journal of Dairy Research*, 73, 472–479.
- Vujicic, I., Vulic, M., Könyves, T., 1992. As simulation of cholesterol in milk by kefir cultures. *Biotechnology Letters*, 14, 847–850.
- Walsh, C.J., Guinane, C.M., O'Toole, P.W., Cotter, P.D., 2014. Beneficial modulation of the gut microbiota. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 588, 4120–4130.
- Wang, S.Y., Chen, H.C., Liu, J.R., Lin, Y.C., Chen, M.J., 2008. Identification of yeasts and evaluation of their distribution in Taiwanese kefir and viili starters. *Journal of Dairy Science*, 91, 3798–3805.
- Wang, H.F., Tseng, C.Y., Chang, M.H., Lin, J.A., Tsai, F.J., Tsai, C.H., Lu, Y.C., Lai, C.H., Huang, C.Y., Tsai, C.C., 2012. Anti-Inflammatory effects of probiotic *Lactobacillus paracasei* on ventricles of Balb/c mice treated with ovalbumin. *Chinese Journal of Physiology*, 55(1), 37–46.
- Wang, M., Monaco, M.H., Donovan, S.M., 2016. Impact of early gut microbiota on immune and metabolic development and function. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 21, 380–387.
- Witthuhn, R.C., Schoeman, T., Britz, T.J., 2004. Isolation and characterization of the microbial population of different South African kefir grains. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 33–37.
- Witthuhn, R., Schoeman, T., Britz, T., 2005. Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and kefir grain mass cultivation. *International Journal of Dairy Technology*, 15, 383–389.
- Xiao, J., Kondo, S., Takahashi, N., Miyaji, K., Oshida, K., Hiramatsu, A., 2003. Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. *Journal of Dairy Science*, 86, 2452–2461.
- Xing, Z., Tang, W., Geng, W., Zheng, Y., Wang, Y., 2017. In vitro and in vivo evaluation of the probiotic attributes of *Lactobacillus kefirifaciens* XL10 isolated from Tibetan kefir grain. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101, 2467–2477.

- Xu, X.R., Gallant, R.C., Ni, H., 2016. Platelets, immune-mediated thrombocytopenias, and fetal hemorrhage. *Thrombosis Research*, 141S2, 76–79.
- Xu, X.R., Zhang, D., Oswald, B.E., Carrim, N., Wang, X., Hou, Y., Zhang, Q., Lavalley, C., McKeown, T., Marshall, A.H., Ni, H., 2016. Platelets are versatile cells: New discoveries in hemostasis, thrombosis, immune responses, tumor metastasis and beyond. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 53(6), 409–430.
- Yalçın, B., 2005. Probiyotik mikroorganizmaların biyokoruyucu özelliği. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 12(4), 209-214.
- Yangılar, F., 2015. Probiyotik mikroorganizmaların biyokoruyucu özelliği. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 20, 1.
- Yanping, W., Nv, X., Aodeng, X., Zaheer, A., Bin, Z., Xiaojia, B., 2009. Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84, 341–347.
- Yeşilova, Y., Sula, B., Yavuz, E., Uçmak, D., 2010. Probiyotikler. *Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 21(1), 49-56.
- Yılmaz, C., Uysal, H.R., Akpınar, A., 2013. Kefir sağlığıma kefil. *Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Kitapları Sağlık Serisi*, Ege Üniversitesi Basımevi, 32s, İzmir.
- Zacconi, C., Parisi, M.G., Sarra, P.G., Dallavalle, P., Bottazzi, V., 1995. Competitive exclusion of *Salmonella kedougou* in kefir fed chicks. *Microbiologie, Aliments, Nutrition*, 12, 387-390.
- Zhang, C.R., Lin, J.C., Xu, W.M., Li, M., Ye, H.S., Cui, W.L., Lin, Q., 2013. Interleukin-12 and interleukin-2 alone or in combination against the infection in invasive pulmonary aspergillosis mouse model. *Mycoses*, 56, 117–122.
- Zhao, H.Y., Wang, H.J., Lu, Z., Xu, S.Z., 2004. Intestinal microflora in patients with liver cirrhosis. *Chinese Journal of Digestive Disease*, 5, 64-67.
- Zheng, K.C., Ariizumi, M., 2002. Interleukin-4 and interleukin-5 expression in mice exposed to 2, 4-toluene diisocyanate. *Journal of Occupational Health*, 44, 421-426.
- Zhou, J., Liu, X., Jiang, H., Dong, M., 2009. Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Microbiology*, 26(8), 770-775.

Zoral, S., 2013. İnsan kaynaklı *Lactobacillus spp.* suşlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi. Ahi Evran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 67s, Kırşehir.

Zourari, A., Anifantakis, E.M., 1988. Lé Kéfir: Caractères physicochimiques, microbiologiques et nutritionnels, technologie de production (Une Revue). Le Lait, 68, 373-392.



EKLER

EK A. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

EK B. Çalışma İzini



EK A. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
25.12.2014	30	02

Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 25 ARALIK 2014 tarihinde Saat 14:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Gıda Teknolojisi A.D. Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Tuğba KÖKTAS'ın yürütücüsü olduğu Yük. Lis. Öğr. Fatih Selim ERDOĞAN'ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Doğal Kefir Danesi ve Starter Kefir Kültürü Kullanılarak Üretilen Kefirlerin in vivo İncelenmesi" başlıklı çalışma;

Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	BALB - c	Erkek	30	6-8 hafta / 20-25 gr

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

Doç. Dr. Efsan UZ BAŞKAN	Prof. Dr. Münire ÇAKIR BAŞKAN YARDIMCISI	Doç. Dr. İ. Metin ÇIRIŞ ÜYE
		
Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Gülnur ÖZGÜNER ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY ÜYE
KATILMADI		
Öğr. Gör. İbrahim ONARAN ÜYE	Vet. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ec. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE
	KATILMADI	

SDÜ HADYEK Sekreteri: Murat ÖZKAN 0246 211 3770, Faks: 0246 237 1164, E - mail: hadyek@sdu.edu.tr
Adres: SDÜ Tıp Fak. Morfoloji Binası Zemin Kat (Hastane karşısı) 32260 Çünür / İSPARTA

Şekil A.1. Hayvan deneyleri yerel etik kurul kararı

EK B. Çalışma İzini

 **KORUMA VE KONTROL GENEL MÜDÜRLÜĞÜ**

DENEY HAYVANI ÜRETİCİ / KULLANICI / TEDARİKÇİ

KURULUŞLARA MAHSUS

ÇALIŞMA İZİNİ 

Kuruluşun Adı :
SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma
Laboratuvarı(HÜDAL)

Adresi :
SDÜ Doğu Kampüsü Tıp Fakültesi Morfoloji Binası-İSPARTA

Çalışma İzin Tarihi :
20.05.2009

Çalışma İzin Numarası:
024

Veriliş Nedeni
Açılış

Faaliyet Alanı :

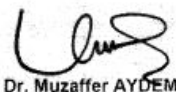
Üretim : Fare, sıçan, kobay, tavşan, ve hamster

Kullanım : Fare, sıçan, kobay, tavşan, ve hamster

Tedarik : Fare, sıçan, kobay, tavşan, ve hamster

20.05.2009

20.05/2009


Doç. Dr. Muzaffer AYDEMİR
Bakan a.
Genel Müdür



Şekil B.1. Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı Çalışma İzni

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Funda DAVRAS

Doğum Yeri ve Yılı : Isparta, 1991

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : fundavras@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise :Şehit Ali İhsan Kalmaz Anadolu Lisesi, 2005-2009

Lisans :Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği, 2009-2014

Mesleki Deneyim

Danem Süt ve Süt Ürünleri Ltd. Şti., Kasım 2015 - Mayıs 2016

Fermante Gıda Amb. Ltd. Şti., Mayıs 2016- halen

Yayınları

Güzel-Seydim, Z.B., Budak, H.N, Ertekin-Filiz, B., Davras, F. Geleneksel yöntemlerle üretilmiş farklı sirkelerin antioksidan ve organik asit düzeylerinin belirlenmesi. 8. Ulusal Analitik Kimya Kongresi, Isparta, 30 Mayıs-3 Haziran, 2016. 137s.

Davras, F., Kök Taş, T. 2017. Farklı kefir kültürleri kullanılarak üretilen in vivo immünolojik karşılaştırılması XXIV. Ulusal İmmünoloji Kongresi, 27-30 Nisan. İstanbul Üniversitesi Kongre ve Kültür Merkezi, İstanbul.

Budak, H.N., Davras, F., Özen, M., Güzel-Seydim, Z.B. 2017. Phenolic componuds of kiwi vinegar. 19 th International Conference on Food Processing& Technology, Paris, France. October, 23-25, 2017. pp: 114s. (Ödül almıştır)