

Kefir Tüketiminin İnsan Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkileri: Bir Sitokin Çalışması

The Effect of Kefir Consumption on Human Immune System: A Cytokine Study

Ali Kudret ADILOĞLU¹, Nurettin GÖNÜLATEŞ², Mehmet İŞLER³, Altuğ ŞENOL³

¹ Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Ankara.

¹ Ankara Education and Research Hospital, Department of Medical Microbiology, Ankara, Turkey.

² Gümüşhane Devlet Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Gümüşhane.

² Gumushane State Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Gumushane, Turkey.

³ Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Isparta.

³ Suleyman Demirel University Faculty of Medicine, Department of Gastroenterology, Isparta, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 22.09.2012 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 07.01.2013

ÖZET

Sütün, kefirde bulunan mikroorganizmalar tarafından fermente edilmesi sonucu ortaya çıkan biyoaktif peptidlerin sistemik etkileri son yıllarda ilgi duyulan araştırma konularından biri olmuştur. Biyoaktif peptidlerin makrofaj aktivasyonunu uyarak doğal bağışık yanıtı aktive ettiği; NO üretimi, fagositoz ve sitokin üretimini artırdığı; lümen içi IgG düzeylerini ve bağırsak dokusundaki IgA⁺ B-hücrelerini artırdığı saptanmıştır. Bu çalışmada, sağlıklı gönüllülerde kefir tüketimi sonrası serum sitokin profillerinin araştırılarak, yardımcı T (TH) hücre polarizasyonunun belirlenmesi ve kefirin doğal bağışıklığa ve allerjik yanıtı olan etkilerinin saptanması amaçlanmıştır. Prospektif, öz-kontrollü (self-controlled) olarak planlanan bu çalışmaya, bir üniversite hastanesinde görev yapan 18 sağlıklı gönüllü (yaş aralığı: 20-40 yıl, yaş ortalaması: 35.5 ± 7.38 yıl), etik kurul onayı ve bilgilendirilmiş onam formu alınarak dahil edilmiştir. Beden kitle indeksleri normal sınırlarda (20.10-25.70 kg/m²) olan katılımcılara, tüm fermente ürünlerden yoksun iki haftalık diyet ile beslenmeyi takiben, altı hafta boyunca günde 200 ml kefir verilmiştir. Taze kefir, yağsız sütün *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerini içeren kefir mayası (Danisco Biolacta Sp - 05223B 10001, Polonya) ile 26°C'de bir gece inkübasyonu sonucunda elde edilmiş ve hazırlandığı gün tüketilmiştir. Katılımcıların açlık kan örnekleri, kefir kullanımından hemen önce (0. hafta), kefir tüketiminin 3. ve 6. haftaları sonrası (3. hafta ve 6. hafta) ve kefir tüketimi sonlandırıldıktan 3 hafta sonra (9. hafta) toplanmıştır. Serum örneklerinde TNF-α, IL-1, IL-5, IL-8 ve TGF-β düzeyleri, ticari ELISA kitleri (BioSource, Belçika ve Invitrogen, ABD) kullanılarak araştırılmış; ayrıca takip amacıyla tüm örneklerde hemoglobin, serum kreatinin, ALT düzeyleri belirlenmiştir.

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Ali Kudret Adiloğlu, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Ulucanlar Caddesi, Bebeci, Ankara, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 312 595 3568, **E-posta (E-mail):** aliadiloglu@gmail.com

Tüm katılımcılar çalışmayı sorunsuz tamamlamış ve herhangi bir şikayet bildirmemişlerdir. Olguların hemogloblin, serum kreatinin ve ALT düzeylerinin kefir tüketimiyle değişmediği saptanmıştır. Serum IL-8 düzeyleri, 0. hafta ile karşılaştırıldığında 3. ve 6. haftalarda azalırken ($p < 0.001$), kefirsiz 3. haftada düşük düzeyini korumuştur (0.-9. hafta farkı; $p = 0.005$). IL-5 düzeyleri 3. haftada artarken (0.-3. haftalar; $p = 0.01$), 9. haftada "rebound etki" ile azalmıştır (6.-9. haftalar; $p = 0.003$). TNF- α düzeyleri ise kefir kullanımıyla artarken ($p = 0.046$) ikili karşılaştırmalarda sadece 6. haftada istatistiksel olarak sınırdan artış gözlemiştir ($p = 0.013$). IL-5 ve TNF- α düzeylerinin, kefir tüketiminin kesilmesiyle orijinal düzeylerine (0. hafta) geri geldiği izlenmiştir. Ölçülen diğer sitokin (IL-1 ve TGF- β) düzeylerinde kefir tüketimi sonrası bir değişiklik saptanmamıştır. Bu bulgular, kefir kullanımının TH₁ tipi immün yanıtı polarizasyonu artırdığını, TH₂ tipi yanıt ve buna bağlı olarak allerjik yanıtı baskıladığını düşündürmüştür. Kefir kullanımının IL-8 düzeyinde düşüşe neden olması, nötrofil kemotaksisi ve aktivasyonunu baskılayarak inflamasyonun kontrol altına alınmasını; IL-5 düzeyinde artışa neden olması ise, salgısal IgA düzeylerini artırarak gastrointestinal sistem lümenindeki immün yanıtın daha etkili çalışmasını sağlayabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Anahtar sözcükler: Kefir; probiyotik; sitokin; interlekin; bağışıklık sistemi.

ABSTRACT

The systemic effects of bioactive peptides which are produced by the fermentation of milk via the microorganisms found in kefir have been the subject of interest in recent years. Bioactive peptides activate innate immunity by stimulating macrophages, increasing phagocytosis, augmenting NO and cytokine production and boosting the lumen levels of IgG and IgA⁺ B-lymphocytes. The aim of the present study was to determine the serum cytokine profiles of healthy volunteers after kefir consumption to evaluate helper T (TH) cell polarization and to bring out the effects on native and allergic immune responses. The study was designed as a prospective and self-controlled study. A total of 18 healthy volunteers (age range: 20-40 yrs, mean age: 35.5 ± 7.38 yrs) from a university hospital staff were recruited to the study, with the approval of ethical board and informed consent. The body mass indices of all participants were between normal range ($20.10-25.70 \text{ kg/m}^2$). After two weeks of a diet free from fermented products, the participants consumed 200 mL kefir daily, for six weeks. Kefir product was prepared by using kefir starter culture (Danisco Biolacta Sp - 05223B 10001, Poland) which contains *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* and *Streptococcus thermophilus*, an overnight incubation at 26°C, and consumed freshly. Fasting blood samples of subjects were collected just before kefir use (0th week), at the end of the 3rd and 6th weeks of kefir consumption, and three weeks after cessation of kefir usage (9th week). Serum TNF- α , IL-1, IL-5, IL-8 and TGF- β levels were measured by using commercial ELISA kits (BioSource, Belgium and Invitrogen, USA). Hemoglobin, serum creatinine and ALT levels of all subjects were also determined for follow-up. All volunteers completed the study period without any problem and declared no complaint. Hemoglobin, creatinine and ALT levels did not change with kefir consumption. Serum IL-8 levels were decreased at 3rd and 6th weeks ($p < 0.001$) and were at low levels at 9th week ($p = 0.005$) when compared with baseline levels (0th week). Serum IL-5 levels were increased at 3rd week (0th-3rd weeks; $p = 0.01$) and decreased by a rebound effect at 9th week (6th-9th week $p = 0.003$). TNF- α levels were increased with kefir consumption ($p = 0.046$) but the increase was insignificant in paired comparisons and the level was borderline between 0th and 6th weeks ($p = 0.013$). IL-5 and TNF- α levels returned to their original levels (0th week) at 9th week. Levels of the other cytokines (IL-1 and TGF- β) did not change significantly with kefir usage. These results indicated that kefir use increased polarization of the immune response towards TH₁ type and decreased TH₂ type response and accordingly allergic response. The decrease in IL-8 level due to kefir use, might control the inflammatory response by suppressing neutrophil chemotaxis and activation. On the other hand it was also concluded that increased IL-5 might stimulate secretory IgA at gastrointestinal mucosa leading to a more efficient immune response in the intestinal lumen.

Key words: Kefir; probiotic; cytokine; interleukin; immune system.

GİRİŞ

Fermente süt proteinleri, laktik asit bakterileri gibi proteolitik mikroorganizmaların hidroliziyle ortaya çıkan biyoaktif peptidlerin en önemli kaynağı olarak kabul edilmektedir^{1,2}. Bu peptidlerin immünomodülatör etkileri son yıllarda aktif olarak çalışılan konulardan birisidir. Biyoaktif peptidlerin makrofaj aktivasyonunu uyarak doğal bağışık yanıtı aktive ettiği (bu süreçte TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler salınır), NO üretimi, fagositoz ve sitokin üretimini artırdığı gösterilmiştir^{2,3}. Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda da, yoğurt tüketiminin antiinflamatuvar sitokinleri ve apoptozu artırarak tümör büyümesini engellediği saptanmıştır⁴.

Kefir, ekzopolisakkarid ve proteinlerden oluşan kompleks bir matriks (kefir daneleri) içerisinde bulunan laktik asit bakterilerinin, mayanın ve asetik asit bakterilerinin sütü fermente etmesi sonucu oluşan bir içecektir⁵. Kefir veya laktik asit bakterilerinin tüketilmesiyle, prostaglandin sentezinin düzenlendiği, lümen içi IgG düzeyi ve bağırsak dokusundaki IgA⁺ B-hücrelerinde sayısal artış olduğu ifade edilmektedir⁶. Ayrıca çeşitli çalışmalarda, vajinal laktobasillerin grup B streptokokları in vitro şartlarda inhibe ettiği⁷; kefir ile beslenen farelerde regülatör T (CD4⁺ CD25⁺) hücrelerinin artıp CD19⁺ B-hücrelerinin azaldığı⁸; kefirin, pulmoner ve peritoneal kaynaklı makrofajların fagositik aktivitelerini artırdığı ve uzak bölgelerdeki mukozal yanıtı etki edebildiği⁹ gösterilmiştir.

Bu çalışma, kefirin immünomodülatör kapasitesini, insanların kefir kullanımı sonrası serum TNF- α , IL-1, IL-5, IL-8 ve TGF- β düzeyleri üzerindeki in vivo etkilerini saptayarak, bağışıklık sisteminin aktive olup olmadığını ve hangi yöne polarize olduğunu belirlemek amacıyla planlanmıştır. Kefir tüketimiyle yapılan insan çalışmalarının daha az sayıda bulunması ve bildiğimiz kadarıyla daha önce aynı kefir kompozisyonuyla yapılan insan çalışmasının bulunmaması araştırmamızı özgün kılmaktadır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma Grubu

Prospektif, öz-kontrollü (self-controlled) klinik araştırma olarak planlanan bu çalışmaya, bir üniversite hastanesinde görev yapan, 20-40 yaş arası gönüllü kişiler dahil edildi. Çalışma, yerel etik kurul onayı ile gerçekleştirildi ve tüm gönüllü katılımcılardan yazılı onam formu alındı.

Dışlanma kriterleri olarak; sigara ve alkol kullanımı, süte allerji veya intolerans, diyabet, karaciğer ve böbrek hastalığı, hamilelik, çalışmanın başlamasından önceki bir ay içinde veya çalışma sırasında inflamasyon varlığı ve antibiyotik kullanma öyküsü, çalışmanın başlamasından üç ay öncesine kadar girişimsel bir işlem geçirmiş olma öyküsü gibi özellikler dikkate alındı. Bu değerlendirmeler sonucunda 20 gönüllüden 18'i çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan gönüllülerin beden kitle indeksleri normal sınırlarda (20.10-25.70 kg/m²) idi. Olguların diğer özellikleri Tablo 1'de belirtildi.

Gönüllülere iki hafta fermente ürünlerden yoksun diyet almaları sonrasında toplam altı hafta, hafta içi günlerde 200 ml kefir verildi. Kefir verilmeden hemen önce (0. hafta),

Tablo 1. Gönüllü Katılımcıların Çalışma Öncesi Verileri (n= 18)

Yaş (yıl)	35.58 ± 7.38
Kilo (kg)	64.3 ± 7.42
Boy (cm)	162.67 ± 4.85
Beden kitle indeksi (kg/m ²)	23.75 ± 2.53
Hemoglobin (g/dl)	13.76 ± 1.6
Kreatinin (mg/dl)	0.69 ± 0.12
ALT (U/L)	19.89 ± 6.76
ALT: Alanin aminotransferaz.	

kefir başlandıktan sonra 3. ve 6. haftalar ve kefir verilmesi kesildikten üç hafta sonra (9. hafta) kan örnekleri alındı.

Kefir

Lactobacillus spp., *Leuconostoc* spp., *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus* ve kefir mayası içeren ticari kefir kültürü (Danisco Biolacta Sp - 05223B 10001; Polonya), steril yağsız süt (%0.1 yağ) ile karıştırıldı (%3, w/v) ve 26°C'de 16 saat (gece boyu) etüvde bekletilerek kefir elde edildi. Kefir hazır olduğu gün tüketildi.

Serum Sitokin Analizi

Katılımcılardan alınan kan örnekleri santrifüj edilip serumları ayrıldı ve -80°C'de saklandı. Serum örneklerinde TNF-α (BioSource Europe SA, Belçika), IL-1 ve IL-8 (BioSource Immunoassays, Belçika), IL-5 ve TGF-β (Invitrogen Corporation, ABD) düzeyleri, ticari ELISA kitleri kullanılarak üretici firmaların önerilerine göre çalışıldı. Sonuçların kantitatif değerlendirilmesinde, kit içeriğinde bulunan kalibratörler kullanıldı. Tüm testler manuel olarak çalışıldıktan sonra otomatize ELISA cihazı (Alisei QS, Radim SpA, İtalya) ile optik dansiteleri belirlendi ve kalibrasyon sonrası kantitasyonları yapıldı. Takip amacıyla tüm örneklerde hemoglobin, serum kreatinin ve ALT düzeyleri otomatize sistem (Aeroset Analyzer, Abbott, ABD) saptandı.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada, 0. ve 3. hafta fark "kısa dönem etki", 0.-6. hafta arası fark "uzun dönem etki", 0.-9. haftalar arası fark "kalıcı etki", 3.-6. haftalar arası fark "kısa dönem-uzun dönem etki farkı" ve 6.-9. haftalar arası fark "rebound etki" olarak kabul edildi. Fark analizi, nonparametrik Friedman testiyle yapıldı ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. Friedman testiyle anlamlı bulunan değerler ikili olarak karşılaştırıldı. Bu amaçla Wilcoxon Signed-Rank testi kullanıldı ve Benferoni düzeltmesi yapılarak $p < 0.0125$ anlamlı kabul edildi. Tüm istatistiksel analizler SPSS v. 20.0 programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

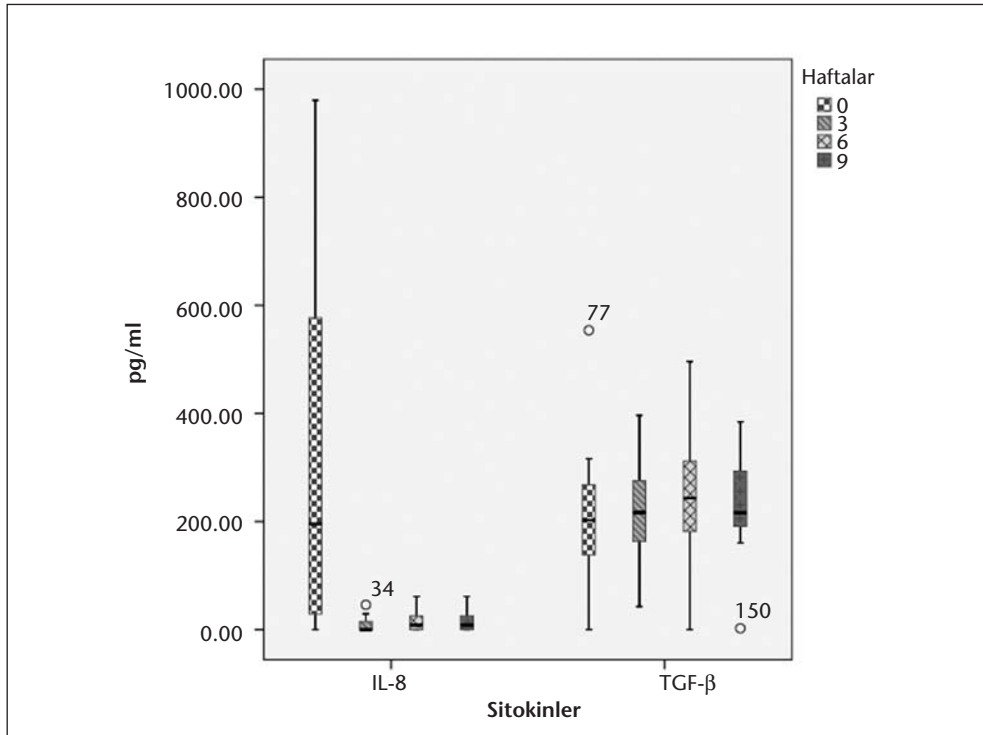
Çalışmaya dahil edilen 18 kişi, kefir kullanımına tam uyum göstermiş ve herhangi bir şikayetleri olmadığını beyan etmişlerdir. Katılımcıların hemoglobin, serum kreatinin ve

ALT testlerinde çalışma boyunca anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (kreatinin değerleri: 0.5-1.0 mg/dl arası $p = 0.845$; ALT değerleri: 8.0-35.0 U/L arası $p = 0.719$).

Serum IL-8 düzeyleri kefir kullanımıyla birlikte 3. ve 6. haftalarda düşmüş ($p < 0.001$) ve kefirsiz 3. haftada düşük düzeyini 0. haftaya göre korumuştur (0.-9. hafta farkı; $p = 0.005$) (Şekil 1). Serum IL-5 düzeyleri kefir kullanımıyla birlikte 3. haftada yükselmiş ($p = 0.01$) ve kefirsiz 3. haftada tekrar düşmüştür (6.-9. hafta farkı; $p = 0.003$) (Tablo II) (Şekil 2). TNF- α düzeyleri kefir kullanımıyla artarken ($p = 0.046$), ikili karşılaştırmalarda sadece 6. haftada istatistiksel olarak sınırdan artış göstermiştir ($p = 0.013$). IL-8'in kefir tüketimi kesildikten üç hafta sonra bile düşük düzeyini koruduğu için etkisinin daha uzun süreli devam ettiği, IL-5 ve TNF- α etkilerinin ise kefir tüketiminin kesilmesiyle orijinal (0. hafta) düzeylerine geri geldiği saptanmıştır. Çalışılan diğer parametrelerde (IL-1 ve TGF- β) anlamlı bir fark saptanmamıştır (Tablo II).

TARTIŞMA

Günümüzde fermente süt ve süt ürünlerinde bulunan biyoaktif peptidlerin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri iyi bilinmektedir^{2,4,6,8,10}. Bizim çalışmamızda da, bu ürünlerden birisi olan kefirin immünomodülatör özelliğinin değerlendirilmesi amacıyla, gö-

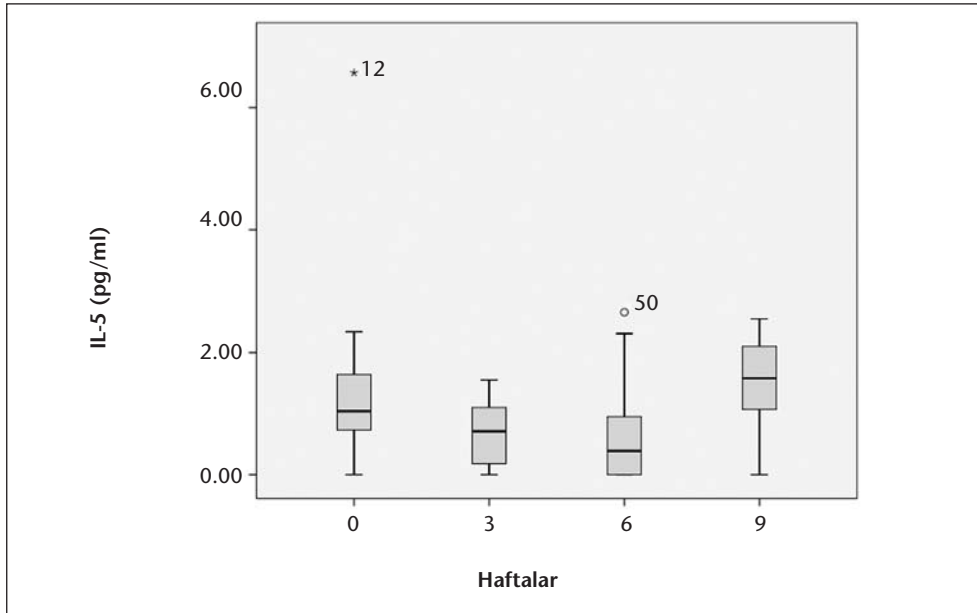


Şekil 1. Serum IL-8 ve TGF- β 'nin kefir kullanımı öncesi (0. hafta), kefir kullanımının 3. ve 6. haftaları ve kefir kesildikten üç hafta sonraki (9. hafta) düzeyleri [IL-8 düzeylerinde anlamlı bir düşüş varken TGF- β düzeylerinde yükselme göze çarpmaktadır].

Tablo II. Kefir Kullanımı Öncesi (0. hafta), Sonrası (3. ve 6. Haftalar) ve Kefir Kesildikten Üç Hafta Sonra (9. Hafta) Serum Sitokin Değerleri

Sitokinler	0. hafta	3. hafta	6. hafta	Kefirsiz 3. hafta (9. hafta)	p değeri	p değeri
TNF- α (pg/ml)	0.78 $\pm$ 1.88	1.22 $\pm$ 2.33	2.5 $\pm$ 3.83	0.41 $\pm$ 0.81	0.046	0.-6. hf= 0.013
IL-1 β (pg/ml)	21.24 $\pm$ 76.93	2.33 $\pm$ 2.47	13.96 $\pm$ 49.00	25.9 $\pm$ 90.26	0.152	
IL-5 (pg/ml)	8.86 $\pm$ 23.25	33.03 $\pm$ 13.07	37.84 $\pm$ 21.8	20.97 $\pm$ 3.86	0.001	0.-3. hf= 0.01 0.-6. hf= 0.022 3.-9. hf= 0.043 6.-9. hf= 0.003
IL-8 (pg/ml)	463.02 $\pm$ 533.89	8.37 $\pm$ 13.02	15.26 $\pm$ 21.19	71.38 $\pm$ 201.74	< 0.001	0.-3. hf < 0.001 0.-6. hf= 0.001 0.-9. hf= 0.005
TGF- β (pg/ml)	208.05 $\pm$ 123.18	220.85 $\pm$ 89.97	239.0 $\pm$ 132.75	235.93 $\pm$ 88.53	0.363	

IL: İnterlökin; IFN- γ : İnterferon-gama; TNF- α : Tümör nekroz faktörü-alfa; TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü-beta; hf: Hafta.



Şekil 2. Serum IL-5'in kefir kullanımı öncesi (0. hafta) kefir kullanımının 3. ve 6. haftaları ve kefir kesildikten 3 hafta sonraki (9. hafta) düzeyleri [Kefir kullanımı ile birlikte anlamlı bir düşme (0.-3. haftalar arası) ve kefir kesildikten sonra anlamlı bir "rebound" yükselme görülmektedir (6.-9. haftalar arası)].

nüllü sağlıklı bireylerde kefir tüketimi öncesi ve sonrası bazı sitokin (TNF- α , IL-1, IL-5, IL-8, TGF- β) düzeylerinin araştırılması planlanmıştır.

Bilindiği gibi bağışık yanıtın ilk basamağı, mikroorganizma antijenlerinin makrofajlar ve dendritik hücreler gibi yüzeylerinde TLR (Toll-like receptor) bulunduran hücreler tarafından tanınması ve proinflatuvar sitokin salınımının indüklenmesidir. Bir nötrofil kemotaktik faktör olan IL-8 de, doğal bağışık yanıtın ilk sentezlenen sitokinlerinden olup, nötrofil ve granülositlerin inflamasyon bölgesine göçünü sağlar. IL-8'in sürekli salınımı ve nötrofillerin sahaya sürekli göçü, epitel hücrelerinin hasarına yol açmaktadır¹¹. Kefir içeriğinde bulunan saprofit bakteriler, bağırsaktaki TLR'leri işgal ederek serbest durumda olan TLR miktarını mekanik olarak düşürmektedir. Bu da, hem patojen olan bakterilerin hücreye tutunmasını ve hücre içine girişini zorlaştırmakta, hem de IL-8 düzeylerinin düşmesiyle birlikte doğal bağışık yanıtın abartılı tepki vermesine engel olmaktadır. Literatürde benzer çalışmalarda IL-8 düzeylerinde düşüş saptanmıştır. Wagar ve arkadaşları⁶, soya sütü ve sütün, *Streptococcus thermophilus* ST5, *Bifidobacterium longum* RO 175 ve *Lactobacillus helveticus* R0052 ile fermente edilmesiyle elde edilen ürünün, insan bağırsak epitel hücre kültürlerinin TNF- α ile uyarımı sonrası IL-8 sentezini azalttığını göstermişlerdir. Bu araştırmacıların⁶ kullandığı probiyotik bakteriler, bizim kullandığımız bakterilerle örtüşmektedir. Bir başka çalışmada, allerjik nezlesi olan 30 yetişkin gönüllüye, dört hafta boyunca *Lactobacillus paracasei* ST11 ile fermente edilmiş süt veya plasebo verilmiş; daha sonra periferik kan örneklerinden hazırlanan mononükleer hücre kültürlerinin IL-8 ve IL-10 sentezlerinin plasebo grubuna göre düşük olduğu saptanmıştır¹². Malago ve arkadaşlarının¹¹ çalışmasında, *Salmonella* ile uyarılmış enterosit benzeri Caco-2 hücre kültürlerinde, *B.infantis* W52, *L.casei* W56 ve *L.lactis* W58 probiyotik bakterileriyle uyarımı sonrası IL-8 düzeylerinin düştüğü; bu süpresyonun geçici olduğu ve iki saat sonunda kaybolduğu gözlenmiştir. Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı gibi inflamatuvar bağırsak hastalıklarında IL-8 sentezinin sürekli arttığı bilinmektedir¹³. IL-8 düzeyinin düşürülmesi ile epitel hasarı azalmakta ve bu durum hastaların kliniğini pozitif yönde etkileyebilmektedir¹⁴. Yapılan çalışmalarda, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* ve *Yersinia enterocolitica* gibi enteropatojenlerle enfekte olmuş HT29 (insan kolon adenokarsinom hücre kültürü) ve bağırsak hücrelerinin *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* ile ek inkübasyonu sonrası, enteropatojenlerle uyarım sonucu yükselen IL-8 düzeylerinde azalma görüldüğü bildirilmiştir^{15,16}. Bu sonuç, verilen probiyotiklerin enterositleri akut inflamatuvar yanıttan koruduğunu göstermektedir.

Eozinofillerin farklılaşması, gelişmesi ve olgun eozinofillerin aktivasyonundan sorumlu sitokin olan IL-5, aynı zamanda B hücresi büyüme faktörüdür ve salgısal IgA üretimini indüklemektedir. IL-5 salınımının artmasıyla IgA sentezi artmakta, bunun yanı sıra, eozinofil aktivasyonunda da artış görülmektedir. Fare modelinde yapılan bir in vivo çalışmada, soya sütü kefirinin intestinal IgA sentezini artırdığı ve sarkom tümörünün büyümesini yavaşlattığı saptanmıştır¹⁷. Jain ve arkadaşları¹⁸, *Lactobacillus casei* içeren hint yoğurdu verilen farelerin bağırsak salgılarında IgA üretiminin arttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmaların yanı sıra, insanlarda *Lactobacillus* GG tüketimi sonrası elde edilen polimorfonükleer hücre kültüründe IL-5 salınımının azaldığı saptanmıştır¹⁹.

TNF- α , TH₁ tipi immün yanıtın ve doğal bağışıklığın ana mediyatörüdür. Kefirin, TH₁ yanıtını artırmak ve TH₂ yanıtını baskılamak suretiyle antiallerjik etki gösterdiği bilinmektedir⁸. Diaz-Ropero ve arkadaşları²⁰, *Lactobacillus* türlerinin kemik iliği makrofajlarına tek başına verildiğinde TNF- α üretimini ciddi olarak artırdığını, lipopolisakkaridlerle birlikte verildiğinde ise IL-8 indüksiyonunu baskıladığını göstermişlerdir. Tellez ve arkadaşları²¹, *Lactobacillus helveticus* içeren süt ile aktive edilmiş fare makrofajlarının, hidrolize süt ya da lipopolisakkarid ile aktive edilmiş makrofajlarla karşılaştırıldığında, daha fazla TNF- α , IL-6 ve IL-1 β salgıladıklarını saptamışlardır. Jain ve arkadaşları²², *Lactobacillus casei* eklenen yoğurdun (Dahi-Hint yoğurdu) TH₁ tipi sitokinlerin salınımını artırdığını rapor etmişler; Hong ve arkadaşları⁸ ise, kefir ile beslenen farelerin splenosit kültürlerinde TNF- α , IFN- γ , IL-1 β ve IL-12 düzeylerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Konu ile ilgili yapılan birçok çalışmada da, probiyotik içeren süt, yoğurt gibi ürünlerin kullanımı sonrasında gerek proinflatuvar sitokinlerin (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-6) gerekse antiinflatuvar sitokinlerin (TGF- β , IL-4, IL-10) düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir²³⁻²⁷. Bizim çalışmamızda, TNF- α düzeyleri sınırdan artış göstermiş ($p = 0.013$); TGF- β düzeylerinde saptanan artış ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Sonuç olarak, çalışmaya alınan 18 gönüllü katılımcının altı haftalık kefir kullanımı sonrası IL-8 düzeylerinde azalma, IL-5 ve TNF- α düzeylerinde artma saptanmış; IL-8 değerlerinin kefir kesildikten üç hafta sonra bile düşük düzeylerini koruduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, kefir kullanımının TH₁ tipi immün yanıtı polarizasyonu artırdığını, TH₂ tipi yanıt ve buna bağlı olarak allerjik yanıtı baskıladığını düşündürmüştür. Kefir kullanımının IL-8 düzeyinde düşüşe neden olması, nötrofil kemotaksisi ve aktivasyonunu baskılayarak inflamasyonun kontrol altına alınmasını; IL-5 düzeyinde artışa neden olması ise, salgısal IgA düzeylerini artırarak gastrointestinal sistem lümenindeki immün yanıtın daha etkili çalışmasını sağlayabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. De Moreno de LeBlanc A, Matar C, LeBlanc N, Perdigon G. Effects of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389 on a murine breast cancer model. *Breast Cancer Res* 2005; 7(4): R477-86.
2. De Moreno de Le Blanc A, Chaves S, Carmuega E, Weill R, Antoine J, Perdigon G. Effect of long term continuous consumption of fermented milk containing probiotic bacteria on mucosal immunity and the activity of peritoneal macrophages. *Immunobiology* 2008; 213(2): 97-108.
3. Vinderola G, Matar C, Palacios J, Perdigon G. Mucosal immunomodulation by the non-bacterial fraction of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* R389. *Int J Food Microbiol* 2007; 115(2): 180-6.
4. De Moreno de LeBlanc, Perdigon G. The application of probiotic fermented milks in cancer and intestinal inflammation. *Proc Nutr Soc* 2010; 69(3): 421-8.
5. Farnworth ER, Mainville I. Kefir: a fermented milk product, pp: 77-112. In: Farnworth ER (ed), *Handbook of Fermented Functional Foods*. 2003. CRC Press, Florida, USA.
6. Wagar LE, Champagne CP, Buckley ND, Raymond Y, Gren-Johnson JM. Immunomodulatory properties of fermented soy and dairy milks prepared with lactic acid bacteria. *J Food Sci* 2009; 74(8): 423-30.
7. Acikgoz ZC, Gamberzade S, Göçer S, Ceylan P. Inhibitor effect of vaginal lactobacilli on group B streptococci. *Mikrobiyol Bul* 2005; 39(1): 17-23.
8. Hong WS, Chen YP, Chen MJ. The anti-allergic effect of kefir lactobacilli. *J Food Sci* 2010; 75(8): 244-53.

9. Vinderola CG, Duarte J, Thangavel D, Perdigon G, Farnworth E, Matar C. Remote-site stimulation and duration of the immune response by kefir. *Eur J Inflamm* 2005; 3(2): 63-73.
10. Shibby VK, Mishra HN. Fermented milks and milk products as functional foods-a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2013; 53(5): 482-96.
11. Malago JJ, Tooten PC, Koninkx JF. Anti-inflammatory properties of probiotic bacteria on *Salmonella*-induced IL-8 synthesis in enterocyte-like Caco-2 cells. *Benef Microbes* 2010; 1(2): 121-30.
12. Wassenberg J, Nutten S, Audran R, et al. Effect of *Lactobacillus paracasei* ST11 on a nasal provocation test with grass pollen in allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 2011; 41(4): 565-73.
13. Daig R, Andus T, Aschenbrenner E, Falk W, Schmerich J, Gross V. Increased interleukin 8 expression in the colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1996; 38(2): 216-22.
14. Harig JM, Soergel KH, Komorowski RA, Wood CM. Treatment of diversion colitis with short chain fatty acid irrigation. *N Engl J Med* 1989; 320(1): 23-8.
15. Candela M, Perna F, Carnevali P, et al. Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production. *Int J Food Microbiol* 2008; 125(3): 286-92.
16. Frick JS, Schenk K, Quitadamo M, et al. *Lactobacillus fermentum* attenuates the proinflammatory effect of *Yersinia enterocolitica* on human epithelial cells. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13(1): 83-90.
17. Liu JR, Wang SY, Lin YY, Lin CW. Anti-tumor activity of milk kefir and soymilk kefir in tumor bearing mice. *Nutr Cancer* 2002; 44(2): 183-7.
18. Jain S, Yadav H, Sinha PR. Probiotic dahi containing *Lactobacillus casei* protects against *Salmonella enteritidis* infection and modulates immune response in mice. *J Med Food* 2009; 12(3): 576-83.
19. Kawase M, He F, Kubota A, et al. Effect of fermented milk prepared with two probiotic strains on Japanese cheddar pollinosis in a double-blind placebo-controlled clinical study. *Int J Food Biol* 2009; 128(3): 429-34.
20. Diaz-Ropero MP, Martin R, Sierra S, et al. Two *Lactobacillus* strains isolated from breast milk differently modulate the immune response *J Appl Microbiol* 2006; 102(2): 337-43.
21. Tellez A, Corredig M, Brovko LY, Griffiths MS. Characterization of immune active peptides obtained from milk fermented by *Lactobacillus helveticus*. *J Dairy Res* 2010; 77(2): 129-36.
22. Jain S, Yadav H, Sinha PR, et al. Modulation of cytokine gene expression in spleen and Peyer's patches by feeding dahi containing probiotic *Lactobacillus casei* in mice. *J Digest Dis* 2009; 10(1): 49-54.
23. Elmadfa I, Klein P, Meyer AL. Immune-stimulating effects of lactic acid bacteria in vivo and in vitro. *Proc Nutr Soc* 2010; 69(3): 416-20.
24. Meyer AL, Elmadfa I, Herbacek I, Micksche M. Probiotic, as well as conventional yogurt, can enhance the stimulated production of proinflammatory cytokines. *J Hum Nutr Diet* 2007; 20(6): 590-8.
25. Hoppu U, Isolauri E, Laakso P, Matomaki J, Laitinen K. Probiotics and dietary counselling targeting maternal dietary fat intake modifies breast milk fatty acids and cytokines. *Eur J Nutr* 2012; 51(2): 211-9.
26. Koyama T, Kirjavainen PV, Fisher C, et al. Development and pilot evaluation of a novel probiotic mixture for the management of seasonal allergic rhinitis. *Can J Microbiol* 2010; 56(9): 730-8.
27. Kuitunen M, Kukkonen AK, Savilahti E. Impact of maternal allergy and use of probiotics during pregnancy on breast milk cytokines and food antibodies and development of allergy in children until 5 years. *Int Arch Allergy Immunol* 2012; 159(2): 162-70.