

PROBİYOTİKLER

Dr. Volkan İnal

Gata İç Hastalıkları, Etlik, Ankara

Dr. Murat Pınar

Gata Acil AD, Dahiliye Yoğun Bakım Kl, Ankara

Dr. Levent Yamanel

Gata Acil AD, Dahiliye Yoğun Bakım Kl, Ankara

■ Giriş

Mikroorganizmalar intestinal kanal, deri, ürogenital sistem, oral ve nazal kavitelere, kısacası insan vücudunun dış dünyaya açılan her parçasında ve kendilerinin yaşaması için uygun her koşulda büyük miktar ve çeşitlilikte bulunmaktadır. İnsan florasında yaşayan kolonize olmuş yüzlerce türün 1014 hücreye ulaşan konsantrasyonları mevcuttur. Tamamen steril edilmiş ortamlarda oluşturulan ve florasında mikroorganizma bulunmayan hayvanlarla yapılan çalışmalarda, hayvanların yaşamaları için mikrobiyal kolonizasyona ihtiyaç duymadıkları, ancak normalleriyle karşılaştırıldıklarında birçok fizyolojik ve biyokimyasal farklılıklar gösterdikleri ve enfeksiyonlara daha yatkın oldukları görülmüştür. Bu durum kötü hazırlanmış immün sistemin varlığına ve "yanışmalı kolonizasyon"un yokluğuna bağlanabilir. Yanışmalı kolonizasyon terimi istilacı patojenlerin virulansının, kommensal mikroorganizmalarla engellenmesini açıklayan bir terimdir. Konvansiyonel hayvanlarla mikropsuz hayvanlar arasındaki fark, mikrobiyal kolonizasyonun insanlar için önemli sağlık getirileri

olduğu düşüncesine temel oluşturmuştur.

Probiyotikler en azından organizma için yararlı etkileri toksik etkilerinden daha fazla olan bakterileri ve mayaları içeren diyet kaynaklarıdır. Bunlar sindirim sisteminin sağlığını, dengesini ve verimliliğini artıran bir takım yararlı bakteri ve maya sınıfı olarak adlandırılabilir. Bakteri kelimesi genellikle negatif bir çağrışıma sahip olmasına rağmen belirli intestinal mikroflora üyeleri organizma için yararlıdır. Bu yararlı bakteriler sindirim sisteminin normal florasında bulunurlar ve yiyeceklerdeki protein ve yağların yıkılmasından vitamin, mineral ve aminoasitlerin absorpsiyonuna kadar birçok faaliyette önemli rol oynarlar. Ek olarak bu yararlı bakteriler immün sistemi güçlendirirler, Salmonella ve E.coli gibi zararlı bakterilerin vücuda kolonizasyonunu engeller veya sınırlarlar.

İnsan sindirim sisteminde 100 ayrı türde ve 100 trilyonun üzerinde bakteri vardır. Yararlı ve zararlı bakteriler sürekli olarak flora üzerinde hakimiyet kurmaya çalışmaktadırlar. Hayatımıza genellikle relatif olarak sağlıklı bir intestinal sistemle başlamamıza rağmen enfeksiyonlar, anti-

biyotikler, alkol, stres ve fakir diyetin olumsuz etkileri sonucunda çoğunlukla yararlı bakteriler yok olur ve florada yerini bir takım hastalıklara zemin hazırlayan patojen mikroorganizmalar alır.

Bu durumda mikroorganizmalar ile konak arasında, konağın ölümü veya hastalığı ile sonuçlanan bir patojenik ilişki gelişebilir. Kolonize olan istilacı mikroorganizmaların insan sağlığına negatif etkileri akut olmak zorunda değildir. Mikrobiyal metabolitler genotoksik, mutajenik veya karsinojenik aktiviteye sahip olabilirler ve uzun süreli maruziyet sonrası kanser gelişimine katkıda bulunabilirler. Bu seminer insan vücudu ile ilişkili istilacı mikroorganizmaların negatif etkileri ile probiyotik teoriye katkıda bulunan kommensal mikropların cesaret verici pozitif ve hayal kırıklığına uğratici menfi etkilerinin kombinasyonunu tanımaya yöneliktir.

Son yüzyılda probiyotikler oldukça bilimsel ve ticari ilgi odağı olmuşlardır. Bu ilgi özellikle mikroorganizmaların sağlık üzerine olumlu bir katkı göstermesinin ilginçliği ve elde edilebilirliği ile ticari form haline dönüştürülebilmesinin kolaylığı nedeniyle olmuştur. Probiyotikler kapsül, toz, zenginleştirilmiş yoğurt ve yoğurt benzeri ürünler ile süt şeklinde piyasaya sunulmuştur.

■ Tarihçe

Probiyotikler yararlı etkileri nedeniyle laktobasillus, bifidobakterium ve asidofilus kültürlerini içeren formlar halinde yüzyıllardır içerikleri ve fonksiyonları bilinmeden kullanıla gelmişlerdir. Asya ve Ortadoğu'da 2000 yıl öncesinde Türkler tarafından sütün fermantasyonuyla elde edilen yoğurt bir yaşam kaynağı ve sağlık veren besin olarak yaygın kullanılmıştır.

Laktobasiller ilk olarak Fransa'da modern mikrobiyolojinin kurucusu olan Pastör tarafından tanımlanmış ve probiyotik özelliklerine dikkat çekilmiştir. Probiyotiklerin tam olarak anlaşıl-

ması, Bulgar köylülerinin uzun yaşamalarının fermante süt ürünleri tüketimlerinden kaynaklandığını savunan Nobel ödüllü Rus Fizyolojist Metchnikoff (1845-1916)'un intoksikasyon teorisıyla gerçekleşmiştir. Metchnikoff o yıllarda yaşlanmanın ana sebebi olarak intestinal pütrifikasyon ve fermantasyon ile oluşan toksik ajanları görmekteydi ve bunun için de laktik asit üreten bakterileri içeren yiyeceklerin alınmasının yaşlanmayı önleyebileceğini düşünmekteydi. Metchnikoff'tan sonra probiyotikler üzerine sayısız araştırma yapılmış ve onun "eternal youth theory"si bilimsel ya da pratik olarak hiçbir zaman çözülememiş bir konu olarak kalmıştır. Probiyotiklerle ilgili araştırmalar, gönüllü insan ve hayvanlarda, düzinelerce farklı bakteri soyları ile in vitro olarak farklı dozlarda ve soylarla yapılan kombinasyonlardan oluşmaktadır. Ne yazık ki probiyotikler ve probiyotik içeren besinlerin alımı ile hastalık insidansları arasında yapılmış çok az epidemiyolojik çalışma mevcuttur.

Hızla artan dünya nüfusunda, koruyucu hekimlik, tedavi edici hekimliğe göre hem ekonomik hem de iş gücü kaybı bakımından büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle probiyotikler gibi insan sağlığı üzerinde sekonder koruyucu etkileri olan bu tip tedavi ve beslenme alanları üzerinde yoğun çalışmalar ve faaliyetler sürdürülmektedir. Her geçen gün bu alanda faaliyet gösteren birçok firma insanların tercihlerine göre kapsül, toz, süt, yoğurt, ayran, diyet yoğurdu, kefir, peynir gibi değişik ürünlerle piyasada kendilerine yer tutmaya çalışmaktadırlar. Aynı zamanda birçok probiyotik madde ahır ve kümes hayvanlarında tedavi edici veya destekleyici olarak yaygın kullanılmaktadır. Kişilerin artan sağlıklı yaşam talepleri için bilimsel olarak desteklenmiş ve hastalık riskini azaltan, probiyotik mikroorganizmalar içeren fonksiyonel yiyecekler, gelişen marketlerde uzun zamandır yerini almıştır.

■ Probiyotik Mikroorganizmaların Sınıflandırılması ve Başlıca Özellikleri

Probiyotik olarak kullanılan bakterilerin ortak özellikleri, bunların florada sürekli olarak veya herhangi bir zamanda bulunmalarıdır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan probiyotik bakteriler, fenotipik özelliklerine, morfolojilerine, glukoz fermantasyon özelliklerine, farklı ıslarda yaşayabilme özelliklerine ve laktik asit konfigürasyonlarına göre laktobasil, bifidobakterium ve nonlaktik asit bakterileri olmak üzere 3 grupta sınıflandırılmaktadır. Laktik asit bakterileri gram-pozitif, sporsuz ve katalaz negatif mikroorganizmalar olup, sitokinlerden ve nonaerobik solunumdan yoksundurlar. Bunlar genellikle aerotolerant, asit toleran (asido-rezistans) ve güçlü fermantatif mikroorganizmalar olup şekerin fermantasyonu sonucu yoğun laktik asit üretimine sebep olurlar. Ancak bazı türler katalaz pozitif olabilecekleri gibi hematin içerebilirler. Streptokoklar, Betakoklar, Betabakteriumlar, Termobakteriumlar, Streptobakteriumlar, Tetra-koklar ve Mikobakteriumlar laktikasit bakterileri arasında sınıflandırılırlar. Laktobasiller probiyotik türleri içinde oldukça önemli bir yer işgal etmektedirler. Tablo-1'de günümüzde yaygın olarak kullanılan probiyotikler gösterilmiştir.

L.acidophilus bu mikroorganizmalar arasında probiyotik amaçlı en sık kullanılan bakteridir. Probiyotik olarak kullanılabilen mikroorganizmanın insan flora sistemi içinde bulunuyor olması gerekmektedir. Mide asidine ve safra tuzlarına direnç, lokal immün mekanizmalar, kişinin beslenme tarzı ve o bölgede bulunan diğer mikroorganizmaların varlığı, probiyotik bakterilerin etkinliğini belirleyen temel faktörlerdir. Probiyotik etki bakterinin canlı kalabilme kabiliyetine bağlıdır. Pek çok tüketici için önerilen probiyotik formu, mayalanmış yiyecekler ve içecekler içinde olanıdır.

Yurtdışında, yıllardır piyasada diyare, vajinit, ağır stres ve travma hallerinde alımı önerilen,

alüminyum folyo halinde hazırlanmış tablet ve kapsül formunda probiyotikler bulunmaktadır. Türkiye'de de son yıllarda probiyotik mikroorganizma içeren preparatlar piyasaya sunulmuştur. Genelde vücuda alımdan sonra probiyotik ajanların kendi aralarındaki yarıştan dolayı her bir preparatta tek bir mikroorganizma türü saf-laştırılmış olarak bulunmaktadır. Probiyotik preparatlar "GRAS" kategorisinde FDA onayı almıştır. Tablo-2'de probiyotik bakterilerin fonksiyonel özellikleri verilmektedir.

■ Probiyotiklerin Kullanım Alanları

Probiyotikler günümüzde sağlığın korunması yönüyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Aşğıda probiyotiklerin kullanım alanları, tablo-3'te ise bilinen etki mekanizmaları gösterilmektedir. Probiyotiklerin başlıca kullanım alanları şunlardır:

- İmmün sistemin güçlendirilmesi
- İntestinal ve besin zehirlenmesindeki patojenleri inhibe eden antimikrobiyal etkileri
- Mikroflora dengesini düzelterek intestinal hareketliliği normale getirmek suretiyle konstipasyonun azaltılması
- İnfantlarda, sık seyahat eden kişilerde ve antibiyotik kullanan kişilerde oluşan diyarelerin tedavisi
- Kolesterolün düşürülmesi, diyabetin kontrolü ve osteoporozun önlenmesi
- Besinlerin sindirimi, vitamin, mineral ve aminoasitlerin emiliminde yardımcı olarak
- Hücre fonksiyonlarının düzenlenmesi
- Enfeksiyonlardan korunma
- Enfektif hastalıkların daha kolay atlatılması.

■ Probiyotikler ve İmmün Sistem

Yıllardan beri probiyotiklerin immün sistem üzerine gösterdiği olumlu etkilerin mekanizmaları araştırılmaktadır. Gastrointestinal sistem

hem mikroorganizmalara hem de mikroorganizmalardan gelen antijenlere karşı güçlü bir bariyer olarak görev yapar. Barsaktaki immünofizyolojik dengenin varlığı, oraya özgü güçlü bir mikrofloranın kurulmasına bağlıdır. Böylece probiyotiklerin kabul gören etkilerinden bir tanesi de bozulmuş barsak ekolojisini düzenleyerek nonimmünolojik intestinal savunma bariyerini artırmak şeklinde olmaktadır. Olası diğer mekanizmalardan bir tanesi de intestinal Ig-A yoluyla intestinal immunolojik bariyerin artırılması şeklinde olmaktadır. Birçok probiyotik etki immün düzenleme yoluyla özellikle de pro ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengeyi kontrolü ile gerçekleşir.

Bu veriler probiyotiklerin, intestinal enflamasyonu hafifletebilecek, barsak mukozal disfonksiyonunu normalleştirebilecek ve aşırı duyarlılık reaksiyonlarını azaltabilecek yeni tedavi metodları olarak çok yakın zamanlarda kullanılabilirceği görüşünü kuvvetlendirmektedir.

Laktobasillerin oral kullanımları konağın mikrobiyal patojenlere karşı nonspesifik direncini artırmakta, böylece de konağın barsak patojenlerinin eliminasyonunu kolaylaştırmaktadır. Canlı laktik asit bakterilerinin birçok türünün proinflamatuvar sitokinler olan TNF- α ve IL-6'nın in vitro salınımını artırdığı ve nonspesifik immünitinin stimülasyonunu sağladığı gösterilmiştir.

Laktobasillus casei ve Laktobasillus bulgaricus'un makrofajların sitokin ekspresyonunu aktive ettiği; L.casei ve L.acidophilus uygulamasının farelerde fagositozu indüklediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. İnsanlarda L.acidophilus LAL tarafından indüklenen fagositoz artışı yayınlarda mevcuttur. Artmış fagositoz normalde insanlarda, fagositik hücrelerden diğer inflamatuvar mediatörlerin salınımına ve o bölgeye polimorfonükleer hücrelerin toplanmasının stimülasyonuna, aynı zamanda fagositoz esnasında toksik oksijen radikallerinin salınımıyla sonuçlanan olaylar zincirine ve dolayısıyla bölgede enflamasyonun gelişmesine neden olmak-

tadır. Probiyotiklerin bu inflamasyon zincirini, sitokin ekspresyonu ile geriletildiği gösterilmiştir.

Genellikle intestinal inflamasyon intestinal mikrofloradaki dengesizlikle birliktedir. Örneğin Rotavirus diyareleri fekal üreaz konsantrasyonlarının artışıyla ilişkilidir. Bu da barsak mukozasının amonyak yoluyla tahrip edilmesine ve böylece üreaz üreten bakterilerin aşırı çoğalmasına neden olmaktadır. Yine romatoid artritli hastalar sağlam deneklerle karşılaştırıldıklarında intestinal florada değişiklik saptanmıştır. Bu da floranın lokal düzenlemelerden ziyade enflamasyona yanıt veren bir ekosistem oluşturduğunu düşündürmektedir. Fekal üreaz konsantrasyonlarının juvenil romatoid artritli hastalarda da arttığı gösterilmiştir. Bu tip enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz etiyolojili inflamatuvar durumlarda oral probiyotik tedavisi, fekal üreaz konsantrasyonlarını düşürmektedir. Böylece probiyotik tedavi barsağın mikrobiyal dengesini stabilize etmeye yardımcı olur ve intestinal bütünlüğü bozma potansiyeli olan zararlı intraluminal antijenlere karşı, barsak lenfoid dokusunun sabit bir yanıtı olan inflamatuvar mediatörlerin oluşumunu azaltır.

IL-1, TNF- α ve IFN- γ yi içeren proinflamatuvar sitokinler enflamasyonda primer olduğu kadar, paradoksik rol de oynarlar. Sitokinleri genetik olarak inaktive edilmiş farelerde yapılan araştırmalar kommensal barsak florasına karşı zararsız immün yanıtın IL-10 ve IL-2'nin yokluğunda zararlı bir duruma geldiğini göstermektedir.

Bu durum enflamasyonun, dengesiz lokal ya da sistemik sitokin salınımı ile tetiklendiğini düşündürmektedir. L.rhamnosus ile yapılan çalışmalarda, bu probiyotik ile yapılan oral tedavinin ardından atopik dermatit ve inek sütü alerjisi olan hastalarda, TNF- α 'nın artmış fekal konsantrasyonlarının azaldığı gösterilmiştir. Paradoks olarak laktobasillerin mayalanmış süt ürünleri ile veya canlı atenü halde alınmalarının kanda mononükleer hücreler yoluyla IFN- γ üretimini potansiyelize ettiği gösterilmiştir. IFN- γ spesifik Ig-A

vasıtasıyla peyer plaklarındaki antijenlerin uptake'ini artırabilir. Laktobasillerin oral uygulanmasından sonra besinsel antijenlere karşı artmış bir sistemik ve mukozal Ig-A yanıtı gösterilmiştir. Böylece probiyotik bakterinin lokal proinflamatuar bir madde olan TNF- α 'nın oluşumunu azaltarak ve fizyolojik koruyucu etkileri olan IFN- γ 'nın sistemik ve lokal üretimini takviye ederek barsak mukozasının immünolojik bariyerini stabilize ettiği kabul edilmektedir. Bununla beraber ilginç bir sonuçta aşırı IFN- γ üretiminin toleransın indüklenmesini etkilediği ve barsak epitelinin bütünlüğünü bozduğu görülmüştür. Probiyotik bakterilerinin spesifik türlerinin in vitro olarak IFN- γ 'nın aşırı antijen aracılı üretimini normale döndürmesi de ilginçtir. Tüm bu veriler probiyotik bakterilerin immün düzenleyici etkilerinin, konağın immünolojik durumuna bağlı olabileceğini ve probiyotik bakterilerinin spesifik türleri arasında da farklılıklar olabileceğini göstermektedir.

Bununla birlikte günümüzde probiyotiklerin spesifik kullanımları da söz konusu olmaktadır. Spesifik kullanım potansiyel zararlı antijenlere karşı konağın immün yanıtlarını düzenlemeyi hedef almaktadır. Bifidobakterium bifidum'un oral alımının ovalbumine karşı antikor yanıtını artırdığı gösterilmiş ve B. breve'nin farelerde kolera toksinine karşı Ig-A yanıtını artırdığı gösterilmiştir. Benzer şekilde diyarenin akut fazında L.rhamnosus alan akut rotavirüs diyareli çocuklarda rotavirüse spesifik Ig-A tipinde antikor salgılayan hücrelerin artışı da içeren humoral immün yanıt artışı mevcuttur. Bu bireylerde serum rotavirüs Ig-A düzeyleri de yüksek olarak bulunmuştur.

İnsanlarda oluşan inek sütü alerjisi, inek sütü proteinlerine karşı gecikmiş tip aşırı duyarlılık ile Ig-E aracılı aşırı duyarlılık olup ek olarak lokal Ig-A yanıtlarında defekt mevcuttur. İnek sütü alerjisi olan atopik infantlarda probiyotik ilaveli diyet arkasından atopik dermatitte belirgin iyileşmeler saptanmıştır.

İntestinal mikroflora barsaktaki besin antijenlerinin işlenmesinde de önemli rol oynamaktadır. İntestinal floradan izole edilen belirli bakteriyel türlerin immün yanıtları tetikleyen düşük molekül ağırlıklı peptidleri serbestleştirdikleri görülmüştür. Bakterilerin oluşturdukları probiyotik proteazlar inek sütü kazeinini parçalayabilir ve lenfosit proliferasyonu üzerine supresif etkisi olan peptidlerin oluşumunu tetikleyebilir.

Probiyotiklerin immün sistem üzerine olan etkilerini daha iyi tanımlayabilmek için inek sütü alerjisi olan atopik infantlarda, mononükleer hücrelerde probiyotik bakteri kaynaklı enzimler tarafından parçalanan kazeinlerin anti-CD3 antikor yoluyla sitokin üretimini düzenleyip düzenlemediğine yönelik bir çalışma planlanmıştır. Sonuç olarak probiyotik olarak L.rhamnosus verilen kişilerde kazein IL-4 üretimini azaltmıştır. Bu sonuçlar probiyotiklerin, potansiyel zararlı antijenlerin yapısını değiştirdiklerini ve bu mekanizmayla immünite üzerinde etki gösterdiklerini ispatlamıştır.

Son yıllarda probiyotiklerin inflamatuvar barsak hastalıkları üzerine regresyon yapıcı etkilerinin araştırıldığı çalışmalardan önemli sonuçlar ortaya çıkmıştır. Laktobasil ve Bifidobakterium türleri kullanılarak yapılan çalışmalarda probiyotiklerin barsaklardaki enflamasyonu bariz bir biçimde azalttığı, kronik relapsları engellediği, bunu da konak immün sistemi üzerinde non-spesifik stimülasyonu, immüno sit proliferasyonu, fagositik aktivitede artış ve sekretuar Ig-A'yı artırmak suretiyle sağladığı düşünülmektedir. Probiyotik tedavisi sırasında, inflamatuvar barsak hastalığı bulunan vakalarda IL-10, TNF- α ve IL-1 γ düzeylerinde azalma saptanmıştır. Ek olarak inflame dokudan yapılan çalışmada artmış olan iNOS (nitrik oksit sentetaz) ve MMP (Matriks metalloproteinaz) düzeylerinde probiyotik alımıyla azalma görülmüştür.

Sonuç olarak, yapılan çalışmalarda, sağlıklı bireyler ile hastalıklı bireyler arasında probiyotik bakterilerin immün düzenleyici etkilerinin fark-

lıklar göstermesi, bu etkinin konağın immün durumuna bağlı olabileceğini göstermektedir. Değişmiş barsak florasının düzeltilmesi ile barsaktaki nonimmünolojik (endojen) savunma bariyeri güçlenmektedir. İntestinal Ig-A ve intestinal inflamatuvar yanıtın hafifletilmesi de bariyerin güçlenmesine katkıda bulunmaktadır. Bu veriler probiyotik tedavinin akut gastroenterit, besin alerjisi ve inflamatuvar barsak hastalıkları gibi barsak mukozal bariyerinin disfonksiyonunda yeni tedavi yöntemleri olarak kullanılabilirliğini göstermektedir.

Probiyotiklerin immün yetmezlikli konakları kandidiyazisten koruma yeteneğinden bahsedene birkaç çalışma vardır. Araştırmacılar siklofosfamid ile indüklenmiş lökopenili farelerin ısıyla öldürülmüş *E.fekalisle* beslemelerinin, *C.albicans* antijenlerine karşı humoral immün yanıtın iyileşmesini hızlandırıcı etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise *L.asidofilus* ve *S.termofilus* kortikosteroidle immünsuprese edilmiş fareleri sistemik kandidiyazisten korumuştur. Konjenital immün yetmezlikli farelerde yapılan çalışmalarda ise probiyotiklerin kısmen koruyucu oldukları yönünde sonuçlar çıkmıştır.

Çalışmada kullanılan probiyotik bakteri türleri içinde kandidiyazise olan histeropötik etkinlik açısından en uygun olanının *B.animalis* olduğu saptanmıştır. *B.animalis* kandidiyazise bağlı sağ kalımı uzatmış ve sistemik yayılımı azaltmıştır. Sindirim yolunda *C.albicans*'ı inhibe etmiş, anti-kor ve hücre aracılı immüniteyi stimüle etmiş ve farelerde orogastrik kandidiyazisin ciddiyet ve insidansını belirgin derecede azaltmıştır. *B.animalis* fonksiyonel timusu bulunan farelerde atimik farelere göre daha etkilidir. Veriler orogastrik kandidiyazise karşı fareleri korumada fonksiyonel bir timusun önemini desteklemektedir. Burada timusta olgunlaşan T hücrelerinin rolü büyüktür.

Yapılan çalışmalar probiyotik bakterilerden *L.asidofilus* ve *B.animalis*'in *C.albicans*'la enfek-

te mukozal dokularda enflamasyonu güçlendirdiğini göstermiştir. Bu fare çalışmalarında deneklerin mide mukozalarında çok az sayıda inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlenmiştir.

■ Probiyotikler ve Hipertansiyon

Probiyotikler ve hipertansiyon üzerine yapılmış olan çok sayıda çalışmaya rağmen, probiyotik bakterinin hipertansiyonu kontrolde rol oynayabileceği hakkında çok az şey bilinmektedir. Spontan hipertansif farelerde yapılan çalışmalar probiyotiklerin süt fermantasyonu esnasında, kazein üzerine olan proteolitik etkileri ile ortaya çıkan peptidlerin, hipertansif bireylerde kan basıncını düşürebileceğini öne sürmektedir. *Saccharomyces cerevisiae* ve *Lactobacillus helveticus* tarafından fermente edilen sütte bulunan iki tripeptid (valin-prolin-prolin ve isolosin-prolin-prolin) aktif komponent olarak belirlenmiştir. Bu tripeptidler anjiotensin konverting enzim inhibitörü olarak fonksiyon görürler ve kan basıncını düşürücü yönde etki gösterirler. Japonya'da faaliyet gösteren bir firma olan Calpis (Kanagawa, Japan) bu teknolojiye dayalı Amel-S adını verdiği bir ürünü bu etkisi için piyasaya sürmüştür. Probiyotiklerin hipertansiyon üzerine olan etkileri diğer birçok probiyotik etkiden farklı olarak, bir fermantasyon son ürünü tarafından gerçekleştirilmektedir.

Diğer bir antihipertansif etki de *L. casei* YIT9018'nin (Sawada ve ark. 1990) hücre duvarı parçalarıyla ilişkilidir. 28 hipertansif hasta üzerinde yapılan plasebo kontrollü bir çalışmada, toz haline getirilmiş hücre özütleri oral olarak uygulanarak, kalp hızı, sistolik ve diyastolik kan basıncı üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Her üçünde de küçük ama anlamlı düşmeler saptanmıştır.

Tüm bu etkilerin ortak özelliği, probiyotik etkinin bizzat mikroorganizma tarafından değil onun fermantasyon ürünü olan bir metabolit ile oluşturulmuş olmasıdır.

■ Probiyotikler ve Ürogenital Enfeksiyonlar

Kadınlarda görülen üriner ve vajinal enfeksiyonların birçoğunun kaynağı intestinal (anal) yoldur. Vajinal enfeksiyonlarda en sık rastlanan patojenler *Trichomonas*, *Candida* veya miks enfeksiyona neden olan *Gardnerella vaginalis* ve *Mycoplasma hominis*'tir. Üriner kanal enfeksiyonlarında en sık rastlanan etkenler ise anaerobik gram (-) basiller, *E.coli*, *Chlamydia* ve *Candida*'dır. Tüm bu enfeksiyonların kolay ve etkili tedavi yöntemleri olsa da oldukça ciddi olarak seyreden birçok tehlikeli ve ağır tablolara yol açabilirler. Örneğin vajinal enfeksiyonlar düşük doğum ağırlığı, preterm doğum, infertilite ile sonuçlanan pelvik enfeksiyonlar ve cinsel yolla bulaşan hastalıklar için ciddi bir risk faktörüdür. Bunun ötesinde hem üriner hem de vajinal enfeksiyonlar sıklıkla rekürrens gösterirler ve mevcut tedavilerinin profilaktik bir tedavi ile desteklenmesinde fayda olacaktır.

Sağlıklı bir vajinal yol, laktobasillerin yüksek popülasyonu ve pH'nın 5'in altında tutulmasıyla sağlanır. Yapılan klinik çalışmalar ile laktobasillerin intravajinal suppozituarlar şeklinde kullanılarak bakteriyel vajinosis tedavisindeki ve kandidiyazis tedavisindeki yerleri ile rekürrens enfeksiyonlardan korunmadaki etkinliği ölçülmüştür. Bununla birlikte vajinal ve üriner enfeksiyonların etiolojisinde anal kanalla olan bulaşmanın rolünün çok büyük olmasının, oral yolla alınacak probiyotiklerin bu enfeksiyonları önlemede önemli rol oynayabileceği fikrini doğurmuştur. Nyirjesi ve ark. kronik vajinal semptomlu hastalarda alternatif tıbbın yararlı olamayacağını söylese de, birçok çalışmada oral veya intestinal yolla alınacak probiyotiklerin belki de vajinal yolun laktobasillerle yeniden kombinasyonunu sağlayarak, hastalıktan korunmada primer bir rol oynayabileceği sonucu ortaya çıkmaktadır. Shalev ve ark. 46 hastalık bir çalışmada canlı *L. Asidophilus* içeren probiyotik bir yo-

ğurt ile pastörize bir yoğurdu karşılaştırmışlar ve bunların enfeksiyonlardan koruma yeteneğini araştırmışlardır. Probiyotik yoğurt tüketen ile, hiç yoğurt tüketmeyen veya pastörize yoğurt tüketen kişiler arasında vajinosis yönünden anlamlı farklılıklar görülmüştür. Probiyotik yoğurt tüketimi ile kandidiyazis arasında anlamlı sonuçlar bulunmuştur. Hilton ve arkadaşları da benzer bir çalışma ile probiyotik yoğurt tüketimi ile candida vajiniti arasındaki ilişkiyi araştıran 13 hastalık bir çalışma yayımlamışlardır. Burada probiyotik yoğurt tüketen hastalarda, tüketmeyenlere oranla enfeksiyonlarda belirgin bir azalma olduğu izlenmiştir. Bu hastalarda rekürrenste de belirgin bir azalma izlenmiştir. Üriner sistem enfeksiyonlarında laktobasillerin oral kullanımlarına yönelik henüz net bir bilgi yoktur. Kurutulmuş laktobasillerin, 10 premenapozal kadında haftalık intravajinal uygulanması ile, uygulama öncesi hasta başına 6.3 olan üriner yol enfeksiyonlarının 1.3'e indiği izlenmiştir. Çalışma sırasında ortalama vajinal pH 4.8 iken, çalışma öncesi bu değer 5.0 bulunmuştur.

Birlikte değerlendirildiğinde bu çalışmalar, kadınlarda vajinal ve üriner sistem enfeksiyonlarının kontrolünde, oral veya vajinal yoldan verilen probiyotik preparatların enfeksiyonlardan korunmada önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Negatif yan etkilerinin olmayışı, tedaviden çok korunmaya yapılan vurgu ve doğal imaj bu yaklaşımın olumlu yanları olarak değerlendirilebilir.

■ Probiyotikler ve Laktoz İntoleransı

Erişkinlerde laktoz intoleransı oldukça yaygın olup bu kişiler yoğurttan bulunan laktozu süttekinden daha iyi tolere etmektedirler. Laktoz sindirim bozukluğunun tanısı solunum havasındaki hidrojen konsantrasyonun ölçümüyle yapılmaktadır. Laktoz sindirimi kolaylaştıracak şekilde probiyotik yoğurtların yapımında kullanılan kültürlerle laktaz eklenmesinin, solunum hava-

siyla hidrojen atılımını azalttığı gösterilmiştir. Bunda yoğurdun süte oranla daha yavaş bir gastrik boşalma süresine sahip olması da önemli bir rol oynamaktadır. Probiyotik yoğurt yapımında kullanılan Streptokokus, Termofilus ve Laktobasillus türü bakterilerin laktoz sindirimini belirgin bir biçimde düzelttiği bilinmektedir. Bununla birlikte yapılan birçok çalışmada yoğurtlardaki total laktaz seviyeleri ile solunum havası hidrojen konsantrasyonları arasında korelasyon bulunmamıştır.

Probiyotik sütlerle elde edilen sonuçlar ise daha kısıtlıdır. Bazı çalışmalarda probiyotik bakterilerle formüle edilen süt ürünlerinin laktoz intoleransında etkili olmadığına yönelik sonuçlar bulunmuştur. Muhtemelen bu ürünlerdeki probiyotik hücre sayısının azlığı da bu sonuçlarda rol oynamış olabilir. Yapılan çeşitli çalışmaların sonuçlarında, genelde bu bakterilerin laktoz sindirimindeki kolaylaştırıcı etkinliklerini laktaz ile değil, mide boşalmasıdaki geciktirici etkilerle sağladıkları gösterilmektedir.

■ Probiyotikler ve Kolesterol

Yapılan çalışmalarda konvansiyonel hayvanların (floraları bulunan), mikropsuz hayvanlara göre feçesle daha fazla kolesterol atıklarının gösterilmesi, kolonize probiyotik bakterilerin serum kolesterol düzeyini etkileyebilecekleri düşüncesini doğurmuştur. Kültür içeren süt ürünleri veya probiyotik bakterilerin kolesterol düzeyleri üzerindeki etkisi hakkında yapılan araştırmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. 1974'ten beri fermante süt ürünleri tüketen insanlarda kan lipitlerini değerlendiren 13 çalışma yayımlanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı total kolesterol düşüşü %5.4 - %23.2 arasında ve LDL-kolesterol düşüşü %9 - %9.8 arasında değişmektedir.

Bu konuda birçok çalışma yapılmasına karşın, yapılan çalışmalar beslenme protokolünden önce baz değerlerin stabilize edilmemesi, az sayıda örnekleme yapılması, kısa çalışma süresi, uy-

gun olmayan fazla miktarda süt alımı ve deneklerin fiziksel aktivite ve diyetlerinin kontrolünde eksiklik nedeniyle yoğun eleştirilmiştir.

Probiyotik bakterilerin serum kolesterolünün düşürülmesi üzerine olan etkileri ve bunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bir kısım otörlerin hipotezine göre *L.asidophilus*'un bazı soyları kolesterol molekülünü asimile etmektedirler. Bu hipotez laboratuvar ölçümleriyle test edilmiştir. Bu hipotez için gösterilen en büyük eleştiri in vitro ortamda gösterilen bu asimilasyon kinetiğinin fizyolojik uygunluğunun olup olmamasıdır. Eleştiri getiren bir kısım otörler kolesteroldeki bu düşmenin asimilasyondan çok laboratuvardaki pH değişikliklerinden kaynaklanan çökme olduğunu söylemektedir.

Bu konuda gerçekleştirilen en gerçekçi teori Laktobasil ve Bifidobakterilerin safra asitlerini enzimatik olarak dekonjuge etmeleri ve ekskresyonlarını artırma yeteneklerine bağlanmaktadır. Kolesterol safra asitlerinin prokürsörü olduğundan serum kolesterolünde azalma olur ancak dekonjuge safra asitleri bakteriler tarafından sekonder safra asitlerine dönüştürüleceklerinden kolonik kanser riskinde de bir artış beklenecektir. Bu durum safra tuzu hidrolaz negatif probiyotiklerin seçilmesi mantığını açıklamaktadır.

Mann tarafından öne sürülen bir mekanizmada fermante sütteki HMG'nin kolesterol sentezindeki hız kısıtlayıcı bir enzim olan HMG CoA reductazı inhibe etmesidir. Gliand ve ark. erkek domuzlarda yaptığı kolesterol asimile eden probiyotik türlerinin kolesterol düşürücü etkilerini göstermelerine rağmen bu modeller hayvan ve insan çalışmalarıyla onaylanmamıştır. Mekanizmalar üzerinde çalışmaya ihtiyaç vardır.

■ Probiyotik Ürün Formları ve

Örnekleri

Probiyotik bakteriler konvansiyonel besinler, diyet katkıları ve medikal besinlerde dahil olmak üzere çeşitli ürünler içinde yaygın olarak

kullanılmaktadır. ABD'de probiyotik bakteriler için ana kaynaklar süt ürünleri ve diyet katkısıdır.

Probiyotik bakteri içeren süt ürünleri yoğurt, kültür içeren sıvı sütler ve ekşi süttten yapılan peynirlerden oluşur. Tüketiciler doğal olarak fermante süt ürünlerini canlı kültürlerle ilişkilendirmekte ve bu kültürlerin varlığından yarar beklemektedirler.

Avrupa ve Japonya'da geleneksel süt ürünlerine ve hap şeklindeki diyet katkılarına ek olarak hibrit ürünler satılmaktadır. Actimel (Danone, Paris) ve Yakult (Tokyo) gibi ürünler bir ya da daha fazla probiyotik bakterinin fermentasyonu ile üretilen süt bazlı içecekler içeren özel küçük boyutlu şişelerde satılmaktadır. Besin katkısı gibi günlük tüketim için piyasaya sürülmektedirler.

Avrupa'da tek bir Laktobasil türünün tablet veya kapsül formuyla satıldığı ürünler vardır (KEL-KE99). Bunların genelde günde 1 veya 2 tablet halinde alınmaları önerilmektedirler.

Tüketiciler neyi aldıklarını nereden anlayacaklar: ABD'de genelde probiyotik içeren besinsel ürünler ürün başına bulunan probiyotik bakteri sayısından bahsetmezler. Birçok ürün canlı kültür olarak eklenen bakteriyel cins ve türleri listeler ama düzeylerini vermezler. California ve

Oregon'da asidofilus içeren sıvı süt ürünleri için yasaya minimal olması değer konulmuştur (106/ml). ABD'de yoğurdun viabl kültür içermesine gerek yoktur. Ulusal Yoğurt Birliği üretim anında gram başına 108 viabl kültür içeren ürünlere Canlı Aktif Kültür onayı vermektedir. Sıvı süt ürünlerinde istenen viabl bakteri düzeyini tuturmada büyük sıkıntılar yaşanmamaktadır ve yoğurda göre daha kolaydır. Yoğurtta ise viabl bakteri düzeylerinde daha geniş bir aralık bulunmaktadır. Bazı ticari markalar kabul edilebilir düzeyleri tutturmuşken bazı markalarda ise teknolojik yetersizlikler ve formların dayanıksızlığı yeterli düzeyin tutturulmasını engellemektedir.

Probiyotik besinlerin ve katkı maddelerinin tüketiciye sunulma aşamasında etkinliğini belirleyen en önemli faktör besinin raf süresidir. Çoğu firma üretim anında üründe doz başına viabl bakteri sayısını belirtmişken raf ömrü sonundaki sayıyı belirtmemektedir. Burada yapılan en büyük hatalar etiketlendirme hataları, viabl bakteri sayısının yanlış bildirilmesi ve mevcut bakteri türlerinin listeye yazılmamasıdır. Açıkçası bu ürünlerde uygun bakterinin yüksek potensli dozda verilmesi için probiyotik endüstrisine ihtiyaç vardır.

Tablo-1: Günümüzde yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalar

Lactobacillus türleri	Bifidobacterium türleri	Diğer laktik asit bakterileri	Nonlaktik asit bakteriler
L.acidophilus	B.adolescentis	Enterococcus faecalis	Bacillus cerus var.toyoi
L.amylovorus	B.animalis	Enterococcus faecium	Escherichia coli strain
L.casei	B.bifidum	Lactococcus lactis	Propionibacterium freud
L.crispatus	B.breve	Leuconstoc mesenteroides	Saccoromyces cerevis
L.delbrueckii	B.infantis	Pediococcus acidilactici	Saccoromyces oulardi
L.gallinarum	B.lactis	Sporolactobacillus inulinus	
L.gassari	B.longum	Streptococcus thermophilus	
L.johnsonii			
L.paracasei			
L.plantarum			

Tablo-2: Probiyotik bakterilerin fonksiyonel özellikleri

Özellik	Lactobacillus rhomnosus	Lactobacillus johnsonii	Lactobacillus acidophilus	Lactobacillus
Özellik				
Casei				
Orijin	insan	insan	insan	---
Emniyet	var	var	var	var
Asidorezistans	evet	evet	evet	evet
Safra stabilitesi iyi	iyi	iyi		iyi
Kolonizasyon	---	+	+	--
Bakteriyosin				
Üretimi	yok	---	var	yok
Adherens (Caco-2)	hayır	evet	evet	hayır
Adherens (mukoza)	---	evet	evet	evet

---: Net bir bilgi yok

Tablo-3: Probiyotiklerin etki mekanizmaları

- Antimikrobiyal aktivite
- Mikroorganizmaların kolonize olmalarını engelleme
- İmmün etkileri
 - Adjuvan etki
 - Sitokin ekspresyonu
 - Fagositozun stimülasyonu
 - IgA sekresyonu
- Antimutajenik etki
- Antigenotoksik etki
- Enzim aktivitesinin düzenlenmesi
- Enzim sekresyonu

Referanslar:

1. Sanders ME. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr* 2000 Feb 130: 2S Suppl 384S-390S
2. Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Björkroth J, Schillinger U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr* 2001 Feb 73: 2 Suppl 365S-373S
3. Vaughan EE, Mollet B. Probiotics in the new millennium. *Nahrung* 1999 Jun 43: 3 148-53
4. Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Matto J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol* 2000 Dec 28 84: 3 197-215
5. Klein G, Pack A, Bonaparte C, Reuter G. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol* 1998 May 26 41:2 103-25
6. Lammers KM, Helwig U, Svennen E, Rizzello F, Venturi A, Caramelli E, Kamm MA, Brigidi P, Gionchetti P, Campieri M. Effect of probiotic strains on inter-

- leukin 8 production by HT29/19A cells. *Am J Gastroenterol* 2002 May 97: 5 1182-6
7. Ouwehand AC, Tuomola EM, Tolkkio S, Salminen S. Assessment of adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus. *Int J Food Microbiol* 2001 Feb 28 64: 1-2 119-26.
 8. Isolauri E, Sutas Y, Kankaanpää P, Arvilommi H, Salminen S. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 2001 Feb 73: 2 Suppl 444S-450S
 9. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, Moilanen E, Salminen S. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy* 2000 Nov 30: 11 1604-10
 10. Klaenhammer TR, Kullen MJ. Selection and design of probiotics. *Int J Food Microbiol* 1999 Sep 15 50: 1-2 45-57
 11. de Waard R, Snel J, Bokken GC, Tan PS, Schut F, Huis In't Veld JH. Comparison of faecal *Lactobacillus* populations in experimental animals from different breeding facilities and possible consequences for probiotic studies. *Lett Appl Microbiol* 2002 34: 2 105-9
 12. Heller KJ. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *Am J Clin Nutr* 2001 Feb 73: 2 Suppl 374S-379S
 13. de Roos NM, Katan MB. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *Am J Clin Nutr* 2000 Feb 71: 2 405-11
 14. Endo T, Nakano M, Shimizu S, Fukushima M, Miyoshi S. Effects of a probiotic on the lipid metabolism of cocks fed on a cholesterol-enriched diet. *Biosci Biotechnol Biochem* 1999 Sep 63:9 1569-75
 15. Isolauri E, Rautava S, Kalliomaki M, Kirjavainen P, Salminen S. Role of probiotics in food hypersensitivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002 Jun 2:3 263-71
 16. Rani B, Khetarpaul N. Probiotic fermented food mixtures: possible applications in clinical anti-diarrhoea usage. *Nutr Health* 1998 12: 2 97-105
 17. Shah NP. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *J Dairy Sci* 2000 Apr 83: 4 894-907
 18. Wagner RD, Pierson C, Warner T, Dobnialek M, Hilty M, Balish E. Probiotic effects of feeding heat-killed *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* to *Candida albicans*-colonized immunodeficient mice. *J Food Prot* 2000 May 63: 5 638-44
 19. Ulisse S, Gionchetti P, D'Alo S, Russo FP, Pesce I, Ricci G, Rizzello F, Helwig U, Cifone MG, Campieri M, De Simone C. Expression of cytokines, inducible nitric oxide synthase and matrix metalloproteinases in pouchitis: effects of probiotic treatment. Expression of cytokines, inducible nitric oxide synthase and matrix metalloproteinases in pouchitis: effects of probiotic treatment. *Am J Gastroenterol* 2001 Sep 96: 9 2691-9
 20. Madsen KL. The use of probiotics in gastrointestinal disease. *Can J Gastroenterol* 2001 Dec 15: 12 817-22
 21. Vinderola CG, Mocchiutti P, Reinheimer JA. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *J Dairy Sci* 2002 Apr 85: 4 721-9
 22. Wagner RD, Pierson C, Warner T, Dobnialek M, Farmer J, Roberts L, Hilty M, Balish E. Biotherapeutic effects of probiotic bacteria on candidiasis in immunodeficient mice. *Infect Immun* 1997 Oct 65:10 4165-72
 23. Matsuzaki T, Chin J. Modulating immune responses with probiotic bacteria. *Immunol Cell Biol* 2000 Feb 78:1 67-73
 24. Mohan B, Kadirvel R, Natarajan A, Bhaskaran M. Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilisation and serum cholesterol in broilers. *Br Poult Sci* 1996 May 37:2 395-401
 25. Fukushima M, Nakano M. The effect of a probiotic on faecal and liver lipid classes in rats. *Br J Nutr* 1995 May 73:5 701-10