

ATEROSKLEROTİK FARELERDE KEFİR VE YOĞURDUN LİPİDPEROKSİDASYONUNA VE ANTİOKSİDAN ENZİMLERE ETKİLERİ

Aysel GÜVEN*

Abamüslüm GÜVEN**

Murat GÜLMEZ**

Ebru BEYTUT***

Mine ERİŞİR****

Geliş Tarihi : 28.03.2003

Özet: Bu çalışmanın amacı, yüksek oranda kolesterol içeren diyetle beslenen farelerin eritrositlerindeki antioksidatif savunma sistemi ve artan lipid peroksidasyonu (malondialdehit (MDA)) üzerine kefir ve yoğurt ilavesinin koruyucu rolünü belirlemektir. 40 adet yetişkin erkek Swis Albina fare, her grupta 10 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Fareler normal bir diyetle beslenmekle birlikte 2, 3 ve 4. grupların yemlerine 90 gün boyunca günlük olarak 2 g/100 g canlı ağırlık (c.a.) hesabı ile kolesterol ilave edildi. Bu süreyi takip eden 60 gün boyunca ise 2. gruba 30 ml/kg kefir, 3. gruba ise 30 ml/kg yoğurt yedirildi. Bu uygulamanın sonunda fareler MDA, redükte glutasyon (GSH) düzeyleri ile glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktivitelerini ölçmek için öldürüldü. Kan örnekleri kalpten alındı.

Plazma MDA düzeyleri kontrol grubuna göre kolesterol grubunda daha yüksekti ($P<0.01$). Aynı zamanda, eritrosit GSH düzeyleri ile GSH-Px ve CAT aktiviteleri ise kolesterol grubunda kontrol grubuna göre daha düşüktü. Ancak, kefir ve yoğurt verilen grupların daha önceden yüksek olan MDA düzeyleri önemli oranda ($P<0.01$) azaldı. Bu sonuçlar, kefir ve yoğurt ilavesinin yüksek kolesterolün neden olduğu lipid peroksidasyonu artışına karşı kanda önemli koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Aterosklerozis, kefir, yoğurt, lipid peroksidasyonu, antioksidan enzimler.

Protective Role of Supplementat Kefir and Yoğurt on Increased Lipid Peroxidation Caused by High-Cholesterol Diet

Summary: The aim of this study was to determine the protective role of dietary intake Kefir and Yoğurt on increased lipid peroxidation as malondialdehyde (MDA) and on the antioxidative defense mechanisms in the erythocytes of mice receiving a high-cholesterol diet. Forth adult male swiss Albino Mice (10 in each group) were rondonly divided into four groups. The mice were fed a normal diet, but group 2, 3 and 4 received a daily supplement in their diet of 2g/100g body weight (b.w.) for 90 days. For 60 days subsequently, the control group (group 1) was fed with a normal diet, and the second group fed 30 ml/kg kefir, the third group was fed 30 ml/kg yogurt. After the last supplemental kefir and yogurt, 10 mice from each group were killed. Blood samples were taken for the levels of molonildialdehyde (MDA) and reduced glutathione (GSH), and activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) enzymes measurements by heart puncture.

MDA levels in the plasma was significantly ($P<0.01$) higher in the cholesterol feed group than in the control group. Also, the GSH levels and GSH-Px and CAT activities in erythrocytes were significantly ($P<0.05$, $P<0.01$, respectively) lower in the cholesterol group than in the control group. However, the MDA levels of plasma in kefir and yogurt supplementation groups were significantly ($P<0.01$) decreased. These results indicate that supplemental kefir and yogurt heve significant protective effects on the blood against increased LPO caused by high-Cholesterol.

Key words: Atherosclerosis, kefir, yogurt, lipid peroxidation, antioxidant enzymes.

GİRİŞ

Aterosklerotik kalp hastalıklarının nedeni ve hastalığın tedavisine ilişkin son yıllarda yoğun deneysel ve klinik araştırmalar yapılmıştır¹⁻³. Karbonhidrat, kolesterol ve doymuş yağlardan oluşan yüksek kalorili beslenmede aterosklerotik kalp damar hastalıklarının oluşma riskinin yüksek olduğu bildirilmektedir^{4,5}. Organizmada en çok görülen radikal hasarı lipid peroksidasyonu şeklinde olup, membranda doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen çıkmasıyla yağ (L.) radikali oluşur ve zincir şeklindeki reaksiyonların sonunda sitotoksik ürünler olan aldehitler ayrıca pentan gibi hidrokarbon gazları meydana gelir. Bu toksik ürünlerden aldehitlerin en son basamağında yer alan malondialdehid ise lipid peroksidasyonunun saptanmasında yağın olarak kullanılmaktadır⁶⁻⁸.

Fermente süt ürünlerinin (kefir ve yoğurt gibi) başta aterosklerotik ve hiperkolesteremiden kaynaklanan peroksidasyonlar olmak üzere bir çok has-

talığın oluşumunu engellediği bildirilmektedir⁹⁻¹¹. Kefir, Kafkas ülkelerine özgü olarak bilinen ancak dünyanın bir çok ülkesinde ticari olarak üretilen ve kullanılan, kazein, süt asitleri ve birbirleriye ortak yaşayan mikroorganizmaların meydana getirdiği, bileşiminde % 1 kadar etil alkol ona yakın süt asidi içeren fermente bir süt içeceğidir¹²⁻¹⁴. Kefirin yapısında bulunan laktik asit, okzalik asit ve α -ketoglutarik asit kefire ekşimsi ve ferahlatıcı bir özellik kazandırır. Aromasında; uçucu yağ asitleri, alkoller ve karbonil bileşikler ile kefirin olgunlaşma dönemlerinde oluşan diasetil, propiyon aldehit, asetaldehit, n-propanol ve izoamil alkol önemli rol oynar¹⁴⁻¹⁶. Kefirin mikroflorası için belirli bir standart vermek zordur. Genellikle orjine bağlı olarak granül mikroflorasında laktik asit bakterileri, bazı maya türleri ile asetik asit bakterileri bulunmaktadır¹⁵⁻¹⁸.

Kefirde çiğ sütte bulunan bir çok mikroorganizma bulunmakta fakat patojen bakteriler gelişmemektedir. Hatta granüldeki mikroflora dışında buraya yabancı

* Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Biyokimya Bilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

** Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

*** Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

**** Firat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

mikroorganizma girip yaşayamaz^{14,15,18,19}. Yoğurt ise süte *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*'un ilave edilmesiyle oluşan fermente bir süt ürünüdür²⁰.

İn vivo ve in vitro olarak yapılan çeşitli çalışmalarda kefir ve kefir granüllerinin antibakteriel^{15,19,21}, antifungal^{15,22}, antitumoral^{15,22,23}, hipokolestemik^{11,24}, immunomodilatör^{22,25,26} ve antioksidan^{27,28} etkisinin bulunduğu belirtilmiştir. Ayrıca başka bir fermente süt ürünü olan yoğurdun da antitumoral²⁹ etkisinin yanında insan sağlığı üzerine çok olumlu etkilerinin olduğu ileri sürülmektedir³⁰. Günde L. acidophilus LI içeren 200 ml fermente süt tüketen hiperkolesterolemik bireylerde % 2.4-3.2 oranında kolesterol düzeyinde azalma meydana geldiği, bununla her %1'lik kolesterol azalmasının kalp hastalıkları riskini %3 oranında azalttığı bildirilmektedir¹¹.

Bu çalışmada yağsız süttten yapılan kefir ve yoğurdun karşılaştırmalı olarak aterosklerotik farelerde plazma lipid peroksidasyonu ve redükte glutatyon düzeyleri ile glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim aktivitelere etkilerini belirlemek ve tartışmak amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan gruplarının oluşturulması: Çalışmada 40 adet Swiss albino erkek fare deneme öncesi bir hafta boyunca adaptasyon sağlamaya yönelik olarak standart fare yemi (Tablo. I) ve su ile ad libitum olarak beslendi. Daha sonra 4 eşit gruba ayrılan hayvanlara 12 saat ışık ve 12 saat karanlık, yaklaşık 22±2 °C ısı ve nem oranı ortalama %50±5 olan özel bir ortam sağlandı ve bu çalışma iki aşamada gerçekleştirildi.

I. aşamada kontrol grubu hariç tüm gruplar 90 gün boyunca günlük olarak kolesterolce zengin (2 g/100 g

canlı ağırlık) yemle beslendi. Süre sonunda kan örnekleri alınarak, 2500 g 15 dakika santrifüj edildikten sonra analize kadar -20 °C de bekletildi (18 saat) ve hayvanlar ikinci aşama için hazır hale getirildi.

II. aşamada her gün saat 09.00 da I. grup (kontrol grubu) standart fare yemi + su, II. grup 30 ml/kg kefir + standart yem, III. grup ise aynı zaman aralığında 30 ml/kg yoğurt + standart yem ve IV. grup standart fare yemi+su ile 60 gün beslendi.

Kefir Yapımı: Kefir yapımında kullanılan süt, 90 °C de 10 dakika ısıtıldıktan sonra bir kaba konuldu ve 25 °C'ye kadar soğutudu, 1/2 litreye 15-20 gram kadar kefir granülleri katıldı ve iyice karıştırıldı. Kabin kapağı kapatılıp 22 °C'de 20 saat fermentasyona bırakıldı. Fermentasyon sonunda granüller süzgeçten geçirilmek suretiyle ayrıldı. Süzgeçte kalan granüller yeni bir kefir yapımı için kullanıldı¹². Elde edilen kefir 4 °C de 24 saat tutulduktan sonra belirtilen oranlarda farelere günlük olarak verildi. Her iki günde bir yeni kefir yapıldı.

Yoğurt yapımı: Pastörize edilmiş ve 43 °C'ye kadar soğutulmuş yağsız süte % 2 oranında yoğurt kültürü (*Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) ilave edilerek 43±1 °C de inkübe edildi ve 24 saat buzdolabında bekletildikten sonra deney gruplarına belirtilen oranlarda verildi²⁰ ve her iki günde bir yeni yoğurt yapıldı.

Kan örneklerinin alınması: Kolesterol uygulamasının 12. haftasında, kefir ve yoğurt uygulamasının 60. gününde heparinli enjektörler ile kanlar alındı ve 15 dakika 2500 g. de +4 °C de santrifüjasyonla plazmaları alındı. Plazmaları analiz edileceği ana kadar -20 °C de derin dondurucuda saklandı. Eritrosit paketi için hemolizat 3 kez % 0.9'lük sodyum klorür ile yıkanarak hemolizat 9 oranında di-ionize su ile sulandırılarak -20 °C 18 saat saklandı.

Lipid peroksidasyonu ve enzim analizleri: Plazma MDA düzeyleri Akkuş'ın³¹ belirttiği metot ile tayin edildi. Bu metot lipid peroksidasyonunun aldehid ürünlerinden biri olan MDA ile Tiobarbitürik asit (TBA)'nın reaksiyonu temelinde dayanır. 0.2 ml plazma üzerine 0.8 ml fosfat tamponu, 0.025 ml BHT ve 0.5 ml % 30'lük TCA eklendi. Tüpler vortekste karıştırıldı ve iki saat buzdolabında bekletildikten sonra 2000 devir/dak'da 15 dakika santrifüj edildi. Berrak kısımdan 1 ml alınarak üzerine 0.075 ml 0.1M EDTA ve 0.25 ml %1'lik TBA ilave edilerek karıştırıldı ve kaynar su hamamında 15 dakika bekletildi. Standart olarak 1, 1, 3, 3 tetra-ethoxypropane çözeltisi kullanıldı. Redükte glutatyon; Ellman'a göre³² yapılırken, Eritrosit Glutatyon peroksidaz; Lawrence and

Tablo 1. Kullanılan fare yeminin içeriği.
Table 1. Diet composition.

Karışım	%
Buğday	10
Mısır	23
Arpa	15
Kepek	8
Soya	26
Balık unu	8
Et-kemik unu	4
Melas	5
Tuz	0.8
Vitamin+mineral*	0.2

* Vitamin A, D3, E, K3, B1 ve B12, Nikotinamid, folik asit, Biotin Mn, Fe, Cu, I, Co, Se, antioksidan (butilhidroksitoluol) ve Ca.

Burk'un³³ belirttikleri metoda göre tespit edildi. Eritrosit katalaz aktivitesi ise Aebi³⁴ tarafında modifiye edilen H₂O₂ in parçalanması sonucu 240 nm'deki absorbans azalmasının ölçülmesine göre yapıldı.

İstatistiksel analizler: İstatistiksel analizler varyans analizi (ANOVA) yapılarak, her grubun kontrol grubuna göre farkını belirlemek için Student's t-testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak belirlendi P<0.05 istatistiksel farklılığı gösterdi.

BULGULAR

Grupları tanımlayıcı özellikler Tablo 2 ve 3'te gösterilmiştir. Tablo 2'de görüldüğü gibi başlangıçta tüm gruplar yaş, ağırlık ve cinsiyet bakımından benzerdir. Kolesterol kullanımını takiben grupların ağırlıklarında artış gözlenirken, kolesterol uygulanması sonunda alınan kan örneklerinin analiz sonuçları ile kefir ve yoğurt kullanımından sonra alınan kan örneklerindeki MDA ve GSH düzeyleri, CAT ve GSH-Px aktiviteleri Tablo 4 ve 5'te verilmiştir. Kolesterol uygulamasından sonra örneklerde yapılan analiz sonuçları kontrol grubu ile büyük farklılık göstermektedir. MDA düzeyi kontrol grubunda (I), 0.93 iken II, III ve IV. gruplarda sırası ile 3.70, 3.40 ve 2.96 olmuştur. GSH-Px düzeyi ise grup I'de 32.33 olarak saptanmışken, II. grupta 26.80, III. grupta 27.0 ve IV. grupta 26.97 olarak bulunmuştur (Tablo 4). II. aşama sonrasında kontrol grubunda 1.16 olan MDA düzeyi II, III ve IV. gruplarda sırası ile 2.13, 2.89, ve 2.15 olmuştur. GSH-Px düzeyi ise kontrol, II, III, ve

Tablo 2. Grupların demografik özellikleri.

Table 2. The demographic properties of groups.

Hayvan grupları	Kontrol grubu (Grup I)	Kefir grubu (Grup II)	Yoğurt grubu (Grup III)	Kontrol II (Grup IV)
Sayı	10	10	10	10
Yaş	20 günlük	20 günlük	20 günlük	20 günlük
Cinsiyet	Erkek	Erkek	Erkek	Erkek
Ağırlık (g)	24.5	24.8	24.5	24.6
Kolesterol Kullanım süresi	Kullanılmadı	90 gün	90 gün	90 gün

Tablo 3. Kefir ve yoğurt uygulamasından sonra grupların demografik özellikleri

Table 3. The demographic properties of groups after the kefir and yoğurt treatment.

Hayvan grupları	Kontrol grubu (Grup I)	Kefir grubu (Grup II)	Yoğurt grubu (Grup III)	Kontrol II (Grup IV)
Sayı	10	10	10	10
Yaş	110 günlük	110 günlük	110 günlük	110 günlük
Cinsiyet	Erkek	Erkek	Erkek	Erkek
Ağırlık (g)	28.6	26.2	25.8	25.0
Kefir Kullanım süresi	Kullanılmadı	60 gün	Kullanılmadı	Kullanılmadı
Yoğurt Kullanım süresi	Kullanılmadı	Kullanılmadı	60 gün	Kullanılmadı

Tablo 4. Kontrol ve kolesterol uygulanan deney gruplarda lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim düzeyleri.

Table 4. The lipid peroxidation and some antioxidant levels in control and cholesterol treated groups.

Parametre-ler	I. Grup Kontrol	II. Grup (2g/100g kolst.)	III. Grup (2g/100g kolst.)	IV. Grup (2g/100g kolst.)
MDA (nmol/ml)	0.93±0.2	3.70±2.1**	3.40±1.4**	2.96±0.6**
GSH (nmol/ml)	1.66±0.2	1.02±0.4*	0.98±0.2*	1.16±0.3*
GSH-Px (U/gHb)	32.33±1.7	26.80±1.3**	27.00±1.0**	26.97±2.1**
CAT (k/mg Hb)	30.27±2.3	28.16±1.8**	28.13±2.6**	28.10±3.4**

** P<0.01, * P<0.05

Tablo 5. Kefir ve yoğurdun arterosklerotik gruplarda lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidan enzim düzeylerine etkileri.

Table 5. The effects of mefin ahd yoğurt on the lipid peroxidation and some antioxidant levels in the arterosclerotic groups.

Parametre-ler	I. Grup Kontrol	II. Grup (30ml/kg kefir)	III. Grup (30ml/kg yoğurt)	IV. Grup ^a
MDA (nmol/ml)	1.16±0.2	2.13±0.3**	2.89±0.5**	2.15±0.8*
GSH (nmol/ml)	1.68±0.2	1.29±0.2*	1.04±0.4*	0.98±0.2*
GSH-Px (U/gHb)	34.38±1.70	29.82±2.2**	28.17±1.2*	27.13±2.4*
CAT (k/mg Hb)	30.20±1.7	29.22±2.7*	29.00±1.1*	28.80±1.7*

** P<0.01, * P<0.05

^a Kolesterol verilip II. aşamada sadece standart yem ve su ile beslenen grup.

IV. gruplarda sırasıyla 34.38, 29.82, 28.17 ve 27.13 olarak tespit edilmiştir (Tablo 5). Bu aşamadaki kan örnekleri analizi sonucunda kefir ve yoğurt verilen gruplarla kontrol grubu arasında anlamlı farklar tespit edilmiştir (Tablo 5).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kolesterol yönünden zengin diyetle beslenen bireylerde kolesterol, özellikle kan miktarı fazla olan kalp gibi iç organların damar endotelinde birikerek ateroskleroza neden olmaktadır^{35,36}. Aterosklerozun görülme sıklığı, oluşması ve ilerlemesinin yaş, cinsiyet, yaşam biçimi, kalıtım ve diyet gibi faktörlerle ilgili olduğu bilinmektedir^{1,2,37}. Risk faktörü olarak adlandırılan bu faktörler arasında beslenme biçimi dolayısıyla diyet önemli yer tutmaktadır.

Yapılan bir çok çalışmada, lipoproteinlerin kolesterol ile aterosklerotik kalp hastalıkları arasındaki ilişki deneysel olarak gösterilmiştir^{38,39}. Nitekim deneysel olarak genç tavşanları 2 yıl süre ile kolesterolle zenginleştirilmiş bir diyetle besleyen bir grup araştırıcı sellüler olmayan fibroz tip bir ateroskleroz elde etmişler ve bunun hiperkolesteremiye bağlı olduğunu tespit etmişlerdir⁴⁰. Aynı zamanda hiperkoles-

terolemi ve aterosklerozis ile ters ilişki gösteren yani her iki hastalık riskini de azaltıcı yönde etki gösteren besinlerde mevcuttur. Yoğurt, kefir, vitamin E ve C içeren besinler böyle etkiye sahip besinlerdir^{11,41,42}. Eichholer ve Stahelin⁴³ inek sütü ve süt ürünlerinin hipokolesterimik etkiler gösterdiğini bildirirken, Hapner ve ark.⁴⁴ da kolesterolün yoğurt tüketen insanlarda düştüğünü, aynı şekilde Keim ve ark.¹⁰ günlük olarak yoğurt verilen insanlarda HDL'nin önemli oranda azaldığını belirtmektedirler.

Kontrol grubunda lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA konsantrasyonunu 0.93 nmol/ml. II. ve III. grupta ise MDA değeri sırasıyla 3.70 ve 3.40 nmol/ml bulundu. Aterosklerotik kefir uygulanan grupta 2.13 nmol/ml ve aterosklerotik yoğurt uygulanan grupta ise 2.89 nmol/ml olarak tespit edildi. Bu durum; kefir ve yoğurdun kan kolesterol oranını düşürdüğü ve buna paralel olarak da lipid peroksidasyon oranında azalmanın olduğu şeklinde açıklanabilir. Çünkü kolesterol ve trigliserid birikimi lipid peroksidasyonunun nedenlerindedir. Nitekim Hapner ve ark.⁴⁴ günlük olarak 750 ml yoğurt verdikleri hastalarda kan kolesterol düzeyinin % 2 oranında düştüğünü, Agrebeck ve ark.⁴⁵ yoğurt uyguladıkları insanlarda 3. haftada kolesterolde %3, 6. haftada ise %6 oranında bir azalma olduğunu bildirmektedirler. Oksidan özelliği bilinen kolesterolün düşmesi kefir ve yoğurta bulunan *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium* bakterileri tarafından LDL'in (low density lipoprotein) inhibe edilmesi ile açıklanmaktadır^{46,47}.

GSH düzeyine bakıldığında kontrol grubunda 1.66 nmol/ml iken kolesterol kullanılan grupta bu değer üç grup ortalaması yaklaşık 1.05 nmol/ml dir. Kefir uygulanan grupta bu değer 1.29 nmol/ml, yoğurt uygulanan grupta ise 1.04 nmol/ml, kolesterolden sonra normal diyetle beslenen grupta (IV) ise 0.98 nmol/ml olarak tespit edilmiştir. Kolesterol uygulamasından sonraki değerler ile kefir ve yoğurt uygulamasından sonraki MDA, GSH-Px ($p<0.01$), CAT ve GSH ($p<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Aynı zamanda kontrol grubuna kıyasla canlı ağırlıkta da önemli bir artışın gözlenmesi kefirin koruyucu etkilerinin yanında besleyici ve metabolizma düzenleyici görevlerinin olduğunun bir diğer ifadesidir.

Çalışmada, geleneksel yoğurt ve kefirin aterosklerotik bireylere veya predispoze bireylere uygulanacak diyet kürlerinin arasında yer alabileceği, koruyucu tedavide kullanılacak alternatif gıda olarak önemli olduğu ve oluşabilecek oksidan hasarlarına karşı da savunma mekanizması sağlayabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. **Albertini R, Moratti R, De Luca G:** Oxidation of low-density lipoprotein in atherosclerosis from basic biochemistry to clinical studies. *Curr Mol Med.* 2(6):579-592, 2002.
2. **Palinski W, Napoli C:** The fetal origins of atherosclerosis: maternal hipercholesterolemia, and cholesterol-lowering or antioxidant treatment during pregnancy influence in utero programming and postnatal susceptibility to atherogenesis. *FASEB J* 16(11):1348-1360, 2002.
3. **Ohmura H, Mokunno H, Sawano M, Hatsumi C, Mitsugi Y, Watanabe Y, Daida H, Yamaguchi H:** Lipid compositional differences of small, dense low-density lipoprotein particle its oxidative susceptibility: possible implication of increased risk of corneal artery disease in subjects with phenotype *B. Metabolism*, 51(9): 1081-1087, 1987.
4. **Ahotupa M, Ruutu M, Mantyla E:** Simple methods of quantifying oxidation products and antioxidant potential of low density lipoproteins. *Clinical Bioch.* 29: 139-144, 2002.
5. **Guo Z, Mitchell-Raymundo F, Yang H, Ikeno Y, Nelson J, Diaz V, Richardson A, Reddick R:** Dietary restriction reduces atherosclerosis and oxidative stress in the aorta of apolipoprotein E-deficient. *Mech Ageing Dev.* 123(8) 1121-1131, 2002.
6. **Manno M, Bertazzon A, Burlina A, Galzigna L:** Interaction of low doses of ionizing radiation an carbon tetrachloride on liver superoxide dismutase and glutathione peroxidase in mice. *Enzym.* 34: 107-112, 1985.
7. **Beytut E, Erişir M, Aksakal M:** Beyaz kas hastalıklı kuzuların kalp, iskelet kası ve karaciğerlerinde redükte glutasyon, malondialdehit düzeyleri ile katalaz enzim aktivitesi. *Kaf Üniv Vet Fak Derg.* 7(1): 1-5, 2001.
8. **Okoda M, Ito Y, Inano K, Mida T, Mutsuto T:** Structural changes in oxidative modification products, surface charge, and spectrophotometric patterns. *Ann Clin Biochem.* 34: 173-178, 1997.
9. **Mitsuoka T:** The human gastrointestinal tract. The Lactic Acid Bacteria in health and Disease. Wood BJB (ed): (in) The Lactic Acid Bacteria vol. 1. Elsevier Applied Sci. London, United Kingdom. pp 69-114 1992.
10. **Keim NL, Marlett JA, Amudson CH:** The cholesterol effect of skim milk in young men consuming controlled diets. *Nutr Res.* 1:429, 1981.
11. **James W, Anderson MD, Stanly F, Gilliland PHD:** Effect of fermented milk (yogurt) containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *J Am Coll Nutr.* 18(1): 43-50, 1999.
12. **Marshall MV, Cole WM:** Methods for making kefir and fermented milks based on kefir. *J Dairy Res.* 52, 451-456, 1985.
13. **Yaygın H:** Kefir ve özellikleri. III. Milli Süt Ürünleri Sempozyumu. 2-3 Haziran. İstanbul. MPM Yayını. 548, 246-252, 1996.
14. **Koroleva NS:** Starters for fermented milk. Section 4. Kefir and Kumys starter, Bulletin of the IDF. 227, 179, capt 2. International Dairy Federation, Square Vergotte, Brussels, Belgium. 1988.
15. **Çevikbaş A, Yemeni E, Ezzeden FW, Yardımcı T:** Antitumoral, antibacterial and antifungal activities of kefir and grain. *Phytoher Res.* (8): 78-82, 1994.
16. **Hirota T, Kikuchi T:** Studies on kefir grains. I. Isolation and classification of microorganisms from kefir grains and their characteristics. Reports of Research of Snow Brand Milk Products Co. Laboratory. No. 74: 63-82, 1976.
17. **Angulo L, Lopez E, Lema C:** Microflora present in kefir grains of the Galician Reigon (North-West of Spain). *J Dairy*

- Res. 60,263-267. 1993.
- 18 **Rea MC, Lennartsson T, Dillon P, Drinan FD, Reville WJ, Heapes M, Cogan TM:** Irish kefir-like grains, their structure, microbial composition and fermentation kinetics. *J Applied Bacteriol*, 81,83-94, 1996.
 - 19 **Garrote GL, Abraham AG, De Antoni GL:** Inhibitory power of kefir: the role of organic acids. *J Food Prct*. 63, 364-369.2000.
 - 20 **Tekinşen OC:** Süt Ürünleri Teknolojisi. 3. basım. Selçuk Üniv Basımevi. Konya. 2000.
 - 21 **Zacconi C, Parisi MG, Sarra PG, Dallavalle P and Botazzi V:** Competitive exclusion of Salmonella kedougou in kefir fed chicks. *Microbiol Aliment Nutr*,12,387-390. 1995.
 - 22 **Hoolihan LK:** Prophylactic and therapeutic use of probiotics: A review. *J Am Diet Assoc*, 101, 220-238, 241, 2001
 - 23 **Shiomi M, Sasaki K, Murofushi M, Aibara K:** Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from kefir grains. *Jpn J Med Sci Biol*, 35,75, 1982
 - 24 **Tamai Y, Yoshimitsu N, Watanabe Y, Kuwara Y:** Effect of milk fermented by culturing with various lactic acid bacteria and yeast on serum cholesterol level in rats. *J Ferment Bioeng*, 81, 181-182, 1996.
 - 25 **Osada K, Nagira K, Teruya K, Tachibana H, Shirahata S Murakami H:** Enhancement of interferon- β production with sphingomyelin from fermented milk. *Biotherapy*, 115-123, 1994.
 - 26 **Thoureaux K, Schmucker DL:** Kefir: milk enhances intestinal immunity in young but not old rats. *J Nutr*, 131, (3): 807-812, 2001.
 - 27 **Güven A, Güven A:** Kefirin antioksidan etkilerinin araştırılması. 17. Ulusal Biyokimya Kongresi, ODTÜ Kültür ve Kongre Merkezi, 24-27 Haziran, 2002. Ankara.
 - 28 **Lin MY, Chang FJ:** Antioxidative effect of intestinal bacteria Bifidobacterium longum ATCC 15708 and Lactobacillus acidophilus ATCC 4356. *Dig Dis Sci*, 45: (8) 1617-1622, 2000.
 - 29 **Furukawa N, Matsuoka A, Yumanaka Y:** Effects of orally administered yogurt and kefir on tumour growth in mice. *J Japan Soc Nutr Food Sci*, 43: 450-453, 1990.
 - 30 **Saloff-Coste CJ:** Kefir: nutritional and health benefits of yogurt and fermented milks. *Danone World Newsl*, 11,1-7, 1996.
 - 31 **Akkuş İ:** Serbest radikaller ve fizyolojik etkileri, 2. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
 - 32 **Sedlak J, Lindsay RH:** Estimation of total, protein-bound and non-protein sulphhydryl groups in tissue with Ellman's Reagent. *Analytical Biochemistry*, 25:192-205, 1968.
 - 33 **Lawrence RA, Burk, RF:** Hepatic cytosolic non-selenium dependant glutathione peroxidase activity. *Biochem Biophys-Res-Commun*, 71: 952, 1976.
 - 34 **Aebi H:** Catalase-In methods of enzymatic analysis (3rd edn) Bergmeyer HU (ed). Verlag chenie: deerfield Beach. *FLVCH*, 273-286, 1987.
 - 35 **Kinsell LW, Michaels GD, Frisky RW, Splitter S:** Essential fatty acids, lipid metabolism and atherosclerosis. *Lancet I*, 334-9, 1959.
 - 36 **Hodis HN, Mack WJ, LaBree L, Mahrer PR, Sevanian A, Liu CR, Liu CH, Hwang J, Selzer RH, Azen SP:** Alpha-tocopherol supplementation in healthy individuals reduces low-density lipoprotein oxidation but not atherosclerosis: the vitamin E atherosclerosis prevention study (VEAPS). *Circulation* 106:(12) 1453-1459, 2002.
 - 37 **Le Morvan V, Dumon MF, Palos-Pinto A, Berard AM:** n-3 FA increase liver uptake of HDL-cholesterol in mice. *Lipids*, 37(8):767-772, 2002.
 - 38 **Dods C, Mills GL:** Influence of myocardial infarction of plasma lipoprotein concentration. *Lancet I*, 1160-1167, 1959.
 - 39 **Guo ZM, Mitchel-Raymundo F, Yang H, Ikeno Y, Nelson J, Diaz V, Richardson A, Reddick R:** Dietary restriction reduces atherosclerosis and oxidative stress in the aorta of apolipoprotein E-deficient mice. *Mechanisms of Ageing and Development*, 123; 1121-1131, 2002.
 - 40 **Adams CW:** Lipoprotein levels and tissue lipids in fatty fibros atherosclerosis induced in rabbits by two years cholesterol feeding at a low level atherosclerosis, 1,1-8,1982
 - 41 **Anderson MD, Gilliland SE:** Effect of fermented milk (yogurt) containing Lactobacillus acidophilus L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *J Am Coll Nutr*, 18:(1) 43-50, 1999.
 - 42 **Sies H, Stahl W, Sundquist AR:** Antioxidant functions of vitamins, vitamins E and C, Beta-caroten, and other carotenoids. *Academy of Sciences Annals New York*. 669; 7-21, 1992.
 - 43 **Eichholzer M, Stahelin H:** Is there a hypocholesterolemic factor in milk and milk products? *Int J Vitam Nutr Res*. 63(3) 159-167, 1993.
 - 44 **Hapner G, Fried R, Stjeor S, Fusetti L, Morin R:** Hypocholesterolemic effect of yogurt and milk. *Am J Clin Nutr*, 32:19-24, 1979.
 - 45 **Agreback M, Gerdes LU, Richelsen B:** Hypocholesterolemic effect of a new fermented milk product in healthy middle-aged men. *Euro J Clin Nutr*, 49:346-352, 1995.
 - 46 **Danielson AD, Peo-JR ER, Shahani KM, Lewis AJ, Whalen PJ, Amer MA:** Anticholesteremic property of Lactobacillus acidophilus yogurt fed to mature boars. *J Anim Sci*. 67: 966-74, 1989.
 - 47 **Tejada-Simon MV, Lee JH, Ystunol Z, Pestka JJ:** Ingestion of yogurt containing Lactobacillus acidophilus and bifido- bacterium to potentiate immunoglobulin A. responses to cholera toxin in mice. *J Dairy Sci*, 82: 649-660, 1999.