

TÜRKÇE ÖZET

Enstitüsü : Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı : Moleküler Biyoloji ve Genetik
Programı : Moleküler Biyoloji ve Genetik
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Özge ÇELİK
Eş Danışmanı : Dr. Öğr. Üyesi Özlem ATEŞ DURU
Tez Türü ve Tarihi : Doktora – KASIM 2024

KISA ÖZET

PROBİYOTİKLERİN BAĞIRSAK FLORASI VE KOLON KANSERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİN İNCELENMESİ

Pınar SARI YOLSEL

Kolon kanseri, dünya genelinde farklı ülkeler arasında farklılık gösteren kanser türleri arasında öne çıkmaktadır. Gelişmiş ülkelerde, kolon kanseri sağlık alanında önemli bir sorun olarak kabul edilmektedir. Türkiye'de Sağlık Bakanlığının verilerine göre, kadınlarda kolon kanseri tüm kanser vakaları içinde üçüncü sırada yer alırken, erkeklerde dördüncü sıradadır. Kolon kanserlerindeki artış hem ülkemizde hem de dünya genelinde yaygın olan beslenme alışkanlıklarındaki değişikliklerle doğrudan ilişkilidir. Bu yüzden araştırmacılar, kanser riskini azaltan besin takviyeleri geliştirmek ve optimal beslenme stratejilerinin önemini vurgulamak için büyük çaba sarf etmektedirler.

Bu çalışmada, probiyotik olan *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Bacillus clausii*, *Bifidobacterium animalis* metabolitleri kullanılmıştır. Bu metabolitlerin farklı dozlarının, ilk başta patojenlere (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) karşı etkisi araştırılmıştır. Anaerobik çalışmalarda 24 saat inkübasyonda *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerinde inhibisyon olarak en etkili olan probiyotik bakteri *Bacillus clausii* ondan sonra ise *Bifidobacterium longum* ve *Bifidobacterium animalis* olduğu gösterilmiştir. Anaerobik koşullarda 48 saat inkübasyonda ise probiyotik metabolitlerde de aynı etki gözlenmiştir. Ayrıca bağırsak florasına benzer olarak; anaerobik şartlarda etkileri değerlendirildiğinde, aerobik koşullara göre daha yüksek inhibisyon etkinliği saptanmıştır. Probiyotik metabolitlerimiz, İnsan Kolon Kanseri Hücre Hatları (HCT-116 ve HT-29) ve Sağlıklı Fibroblast hücre L929 hattı üzerinde test edilmiştir. Her üç hücre hattının 24 saatlik proliferasyonunda %50 azalmaya neden olan metabolitlerin inhibitör konsantrasyonu (IC50), hücre canlılık analizi kullanılarak belirlenmiştir. Sağlıklı hücre hatlarına karşı herhangi bir toksik etki göstermediğini ortaya koymak için kontrol olarak L929 hücresi

üzerinde denenmişlerdir. Hücre canlılık sonuçlarına dayanarak seçilen *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* metabolitleriyle çalışılmıştır. Bu metabolitler, HCT-116 hücrelerine karşı en toksik etkiyi gösterirken L929 hücrelerine karşı olabildiğince az aktif olanlar olarak belirlenmiştir. *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* metabolitlerinin HCT-116 üzerindeki ve *Bifidobacterium animalis* metabolitinin HT-29 üzerindeki antiproliferatif ve apoptotik etkileri CellEvent™ Caspase-3/7 Green Flow Cytometry Assay analizi ile araştırılmıştır. Probiyotik *Bifidobacterium animalis* ve *Lactobacillus gasseri* metabolitlerinin HCT-116 hücre hattında ve *Bifidobacterium animalis* metabolitinin HT-29 üzerinde antiproliferatif, apoptotik ve nekrotik etkilerin olduğu gösterilmiştir. Literatürde probiyotiklerin ve patojenlerin organizma düzeyinde hücrelerdeki etkilerine dair çalışmalar mevcut olsa da metabolitlerin hücre hatlarındaki etkileri ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bundan dolayı çalışmamız kolon kanseri hücre hatları üzerinde sağladığı apoptotik etkinlik ve probiyotik metabolitlerin etkin bir tedavi yöntemi olarak değerlendirilmesine dair literatüre katkı sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, HCT-116, Apoptoz, Metabolit, Kanser

Bilim Dalı Sayısal Kodu: 20610

YABANCI DİL ÖZET

Institute : Institute of Graduate Studies
Department : Molecular Biology and Genetics
Programme : Molecular Biology and Genetics
Supervisor : Prof. Dr. Özge ÇELİK
Co-Supervisor : Asst. Prof. Özlem ATEŞ DURU
Degree Awarded and Date: Doctorate – November 2024

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PROBIOTICS ON INTESTINAL FLORA AND COLON CANCER

Pınar SARI YOLSEL

Colon cancer stands out among the types of cancer, differing across various countries worldwide. In developed countries, colon cancer is considered a significant health problem. According to the data from the Turkish Ministry of Health, colon cancer ranks third among all cancer cases in women and fourth in men. The increase in colon cancer is directly related to changes in dietary habits, which are widespread both in our country and globally. Therefore, researchers are making great efforts to develop nutritional supplements that reduce cancer risk and emphasize the importance of optimal nutrition strategies.

In this study, the metabolites of probiotic strains *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Bacillus clausii*, and *Bifidobacterium animalis* were used. The effects of different doses of these metabolites were initially investigated against pathogens (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*). In anaerobic studies, *Bacillus clausii* was found to be the most effective probiotic bacterium in inhibiting *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* after 24 hours of incubation, followed by *Bifidobacterium longum* and *Bifidobacterium animalis*. In anaerobic conditions, after 48 hours of incubation, the same effect was observed in probiotic metabolites. Furthermore, similar to the intestinal flora, when their effects were evaluated under anaerobic conditions, higher inhibition activity was detected compared to aerobic conditions.

Our probiotic metabolites were tested on human colon cancer cell lines (HCT-116 and HT-29) and healthy fibroblast cell line L929. The inhibitory concentration (IC50) of the metabolites, which caused a 50% reduction in the proliferation of all three cell lines

after 24 hours, was determined using cell viability analysis. To demonstrate that they did not exhibit any toxic effects on healthy cell lines, they were tested on the L929 cells as a control. Based on the cell viability results, the metabolites of *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacterium animalis* were selected for further study. These metabolites were identified as the most toxic against HCT-116 cells while showing the least activity against L929 cells. The antiproliferative and apoptotic effects of *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacterium animalis* metabolites on HCT-116 cells, and the effects of *Bifidobacterium animalis* metabolites on HT-29 cells, were investigated using the CellEvent™ Caspase-3/7 Green Flow Cytometry Assay analysis. It was shown that probiotic metabolites of *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus gasseri* had antiproliferative, apoptotic, and necrotic effects on the HCT-116 cell line, and *Bifidobacterium animalis* metabolites exhibited similar effects on the HT-29 cell line.

Although there are studies in the literature regarding the effects of probiotics and pathogens on cells at the organism level, there is not enough research on the effects of metabolites on cell lines. Therefore, our study contributes to the literature on the apoptotic effects achieved on colon cancer cell lines and the potential of probiotic metabolites as an effective treatment method.

Keywords: Probiotic, HCT-116, Apoptosis, Metabolite, Cancer

Scientific Numeric Code: 20610