

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN POSTBİYOTİK ETKİLERİNİN İNSAN KOLON KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

ICP A-9 | TS102

Doç.Dr.Mehmet Burak Aksu

MSc.Zeynep Tunca

Azra Arslan

Zeynep Dila Telbisoglu

Beyza Selen Demir

Sudem Coşkun

Sunum Akışı

GİRİŞ VE AMAÇ

YÖNTEM VE
BULGULAR

TARTIŞMA VE
SONUÇ-ÖNERİLER

GİRİŞ

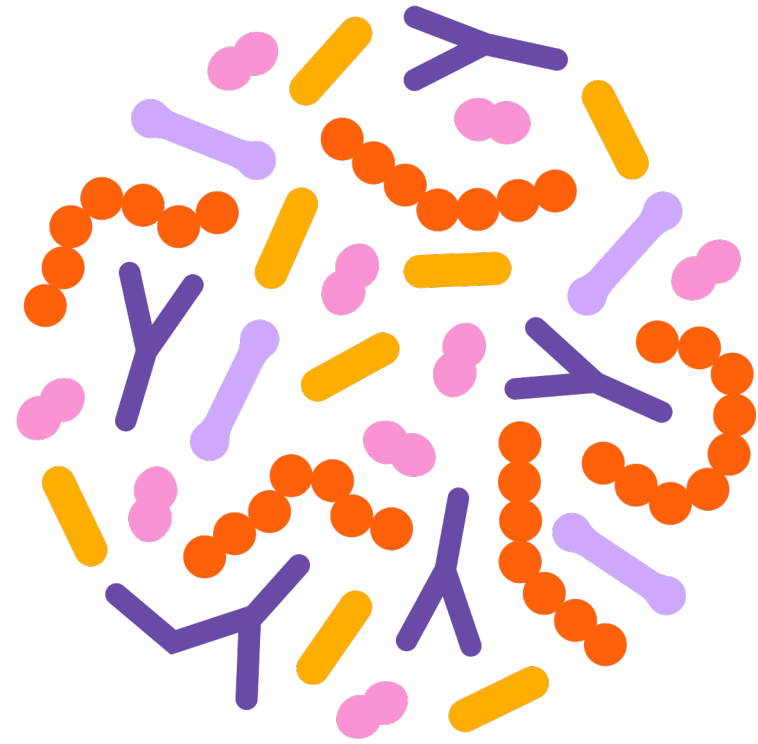


POSTBIYOTİK NEDİR?



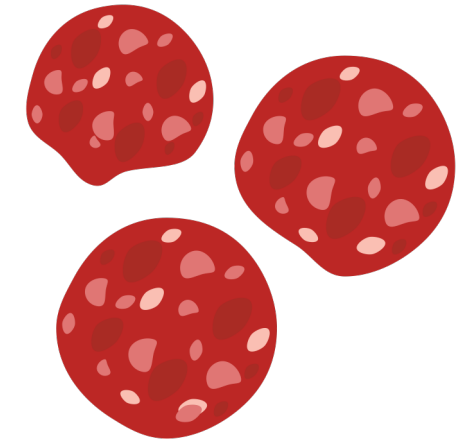
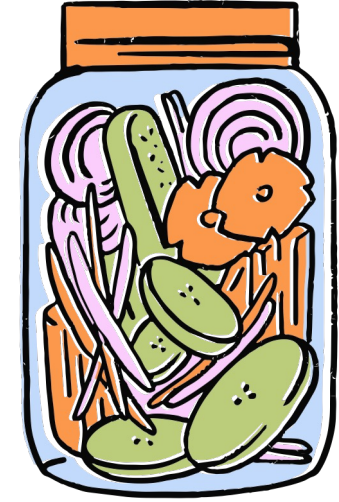
Probiyotikler, bağırsak mikrobiyotasını oluşturmak başta olmak üzere çeşitli etkilerle kişinin sağlığına yarar sağlayan canlı mikroorganizmalardır. Postbiyotikler, probiyotik bakterilerin hücre bileşenleri veya metabolik ürünleridir (1).

Postbiyotiklerin immunomodölatör ve antisklerotik etkilerinin yanında kanser hücrelerinde apoptoz ve otofajiyi indükleyerek vücutta antikanser özellik gösterdiği kanıtlanmıştır (2).



Geleneksel Türk Fermente Besin Ürünleri

- KEFİR
- TURŞU
- TARHANA
- BOZA
- SUCUK
- PASTIRMA



AMAC



AMAÇ



**FERMENTE BESİNLERDEN
POSTBİYOTİK METABOLİT
(PM) ELDESİ**

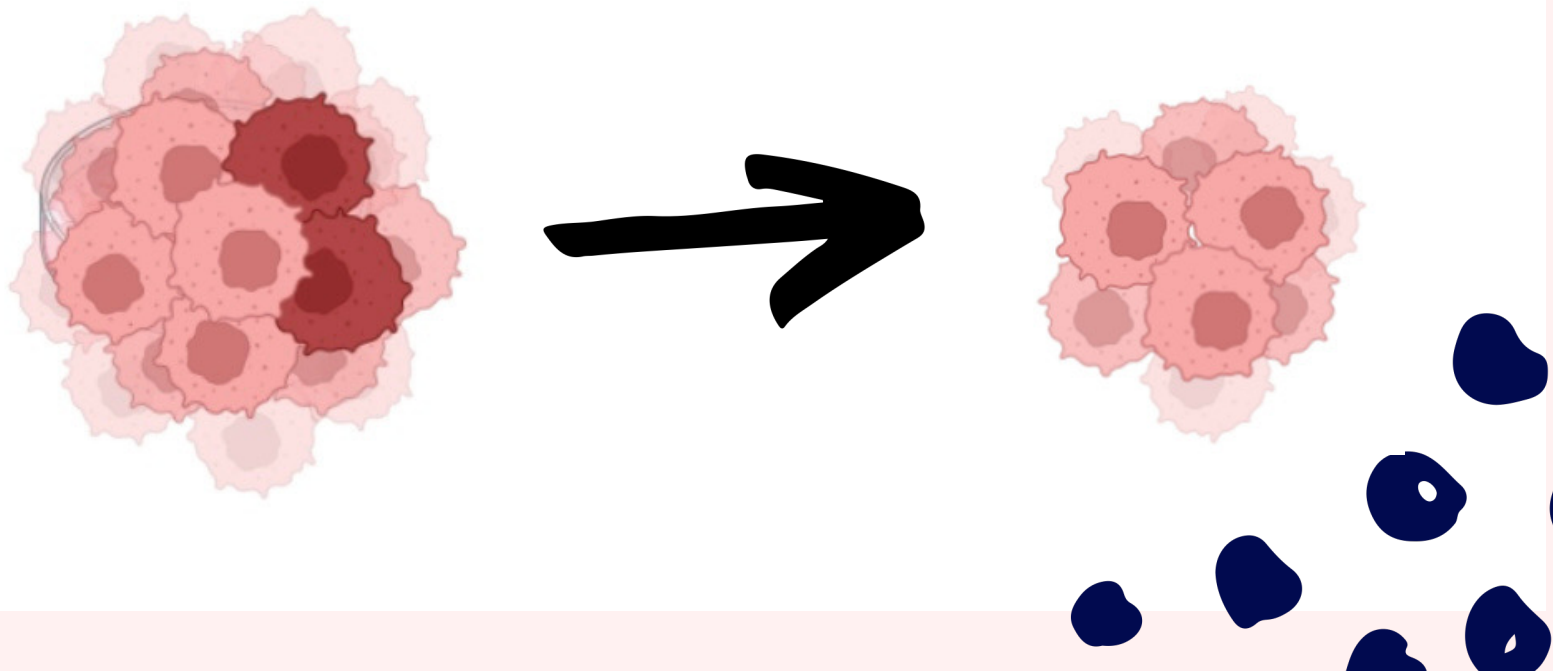


**PM'İN KANSER
HÜCRELERİNE
SİTOTOKSİK ETKİSİ**



**PM'İN KANSER
HÜCRELERİNDE
ANTİMİGRASYON ETKİSİ**

POSTBİYOTİKLER KANSER TEDAVİSİNE DESTEKLEYİCİ OLABİLİR Mİ?



KEMOTERAPİ

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi, kanserli hücrelerin gelişmesini önlerken sağlıklı hücreleri de baskılamaktadır.

POSTBİYOTİKLER

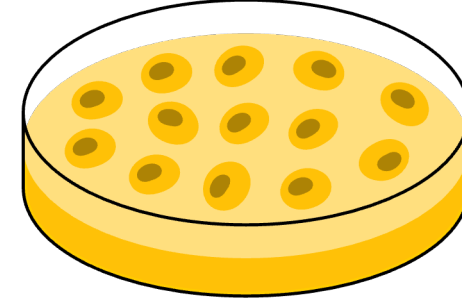
Postbiyotikler komşu hücrelere zarar vermeden kanser hücrelerinin apoptozuna neden olmaktadır.



YÖNTEMI



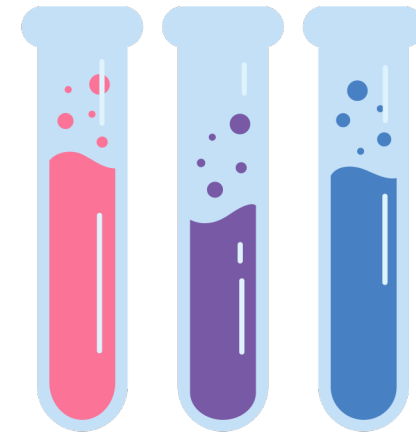
1) PROBİYOTİKLERİN
İZOLASYONU VE
POSTBİYOTİK
METABOLİTLERİN
ELDE EDİLMESİ



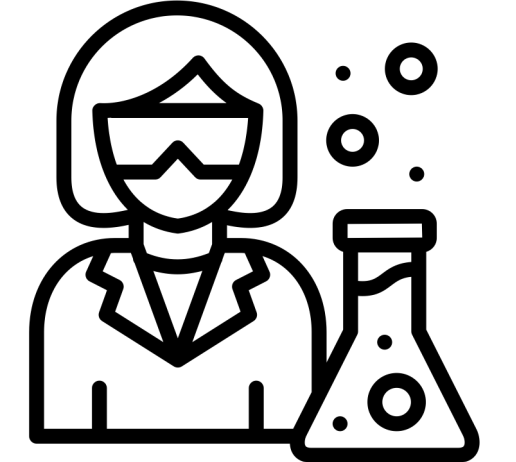
2) KOLON KANSERİ
HÜCRE KÜLTÜRÜNÜN
ELDE EDİLMESİ

YÖNTEM

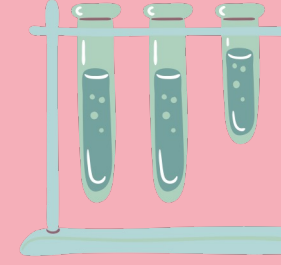
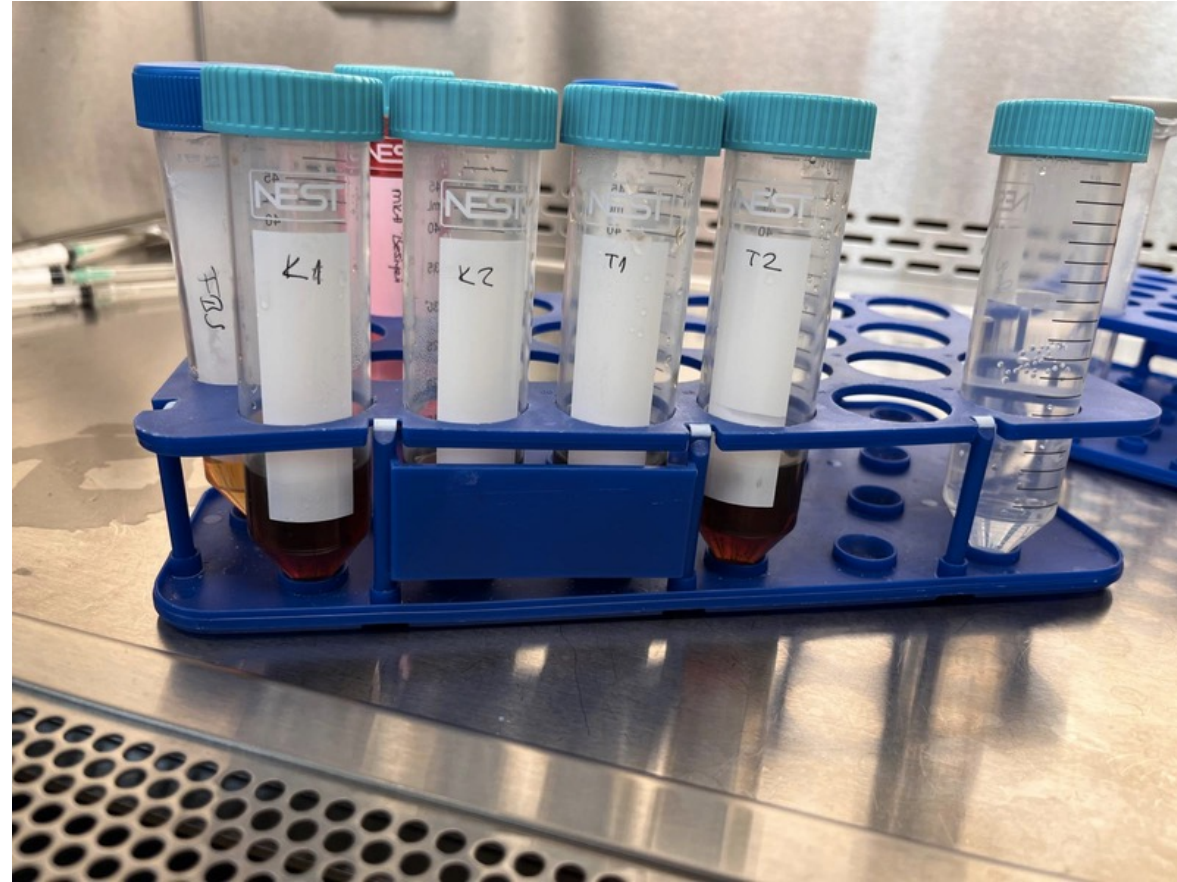
3) KOLON KANSERİ
HÜCRELERİ
ÜZERİNE
SİTOTOKSİK ETKİSİ
VE HÜCRE
CANLILIĞI ANALİZİ



4) KOLON KANSERİ
HÜCRELERİNİN
MİGRASYON
YETENEĞİ ÜZERİNE
ETKİSİ VE ANALİZİ



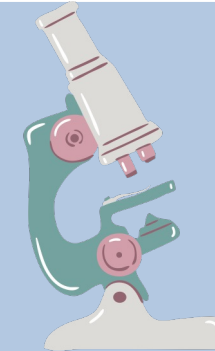
PROBİYOTİKLERİN İZOLASYONU VE POSTBİYOTİK METABOLİTLERİN ELDE EDİLMESİ



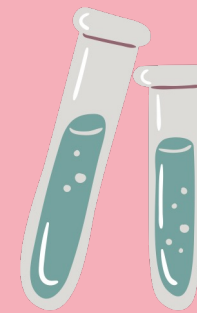
**Kefir ve turşunun uygun
besi yerine ekilmesi**



**Gram boyama yapılması ve
mikroskopta incelenmesi**



Bakterilerin tanımlanması

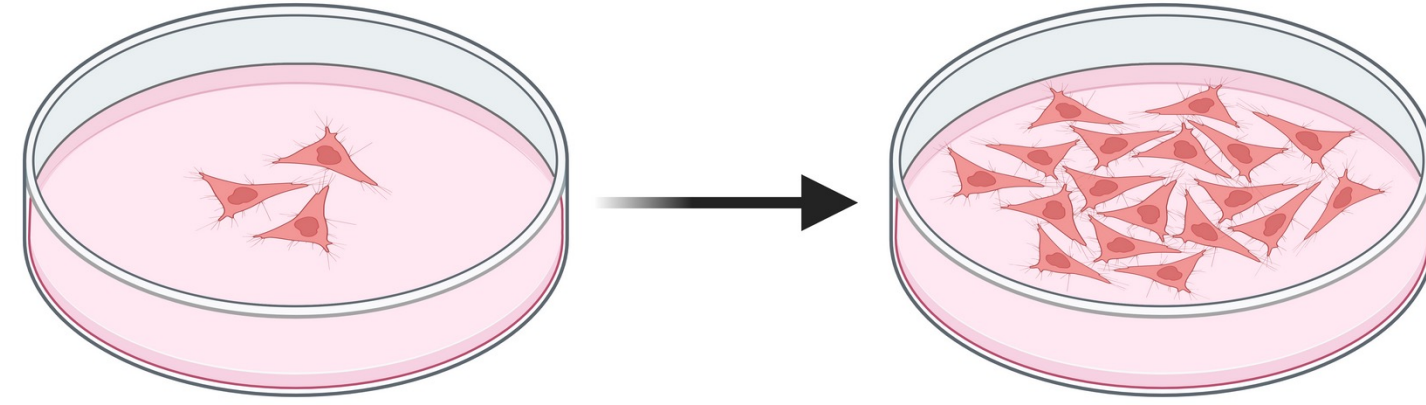


**Santrifüj ile kültür üstü
sıvının eldesi ve filtrasyon**

| Fermente Gıda | Kod | Saptanan Bakteri |
|-----------------|-----|--------------------------------|
| Ev yapımı kefir | K1 | <i>Enterococcus durans</i> |
| Ticari Kefir | K2 | <i>Enterococcus durans</i> |
| Ev yapımı turşu | T1 | Tanımlanamayan bakteri |
| Ev yapımı turşu | T2 | <i>L.pentosus, L.plantarum</i> |

Tablo 1: Fermente besin ögeleri ve tanımlanan bakteriler

KANSER HÜCRE KÜLTÜRÜNÜN ELDE EDİLMESİ



İnsan kolon kanseri hücreleri (HCT-116),
%10 FBS ve antibiyotik içeren DMEM besi
yerinde üretildi.

Kontrol Değişkenleri

- HCT-116 insan kolon kanseri hücresi
- İnkübasyon şartları

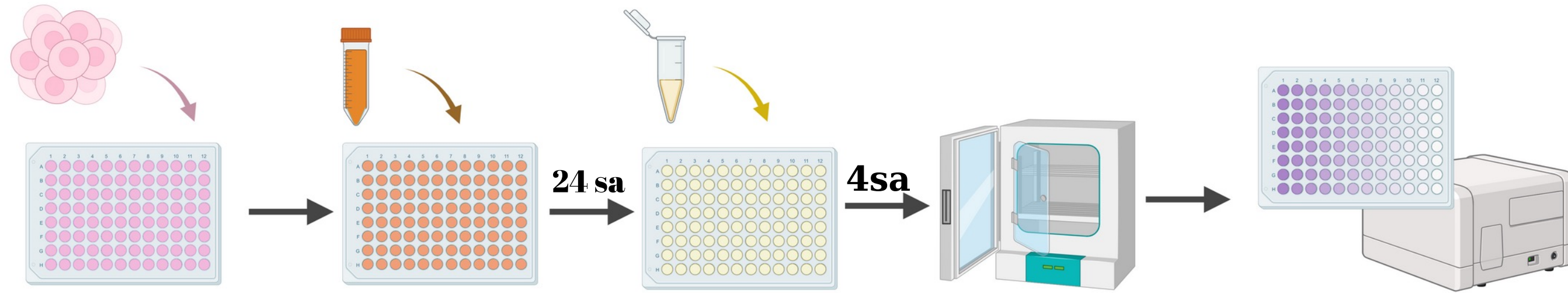
Bağımsız Değişkenler

- Postbiyotik metabolitlerinin elde edildiği fermente besinler
- Postbiyotik metabolit konsantrasyonları

Bağımlı Değişkenler

- Kolon kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik ve migrasyon üzerindeki etkisi

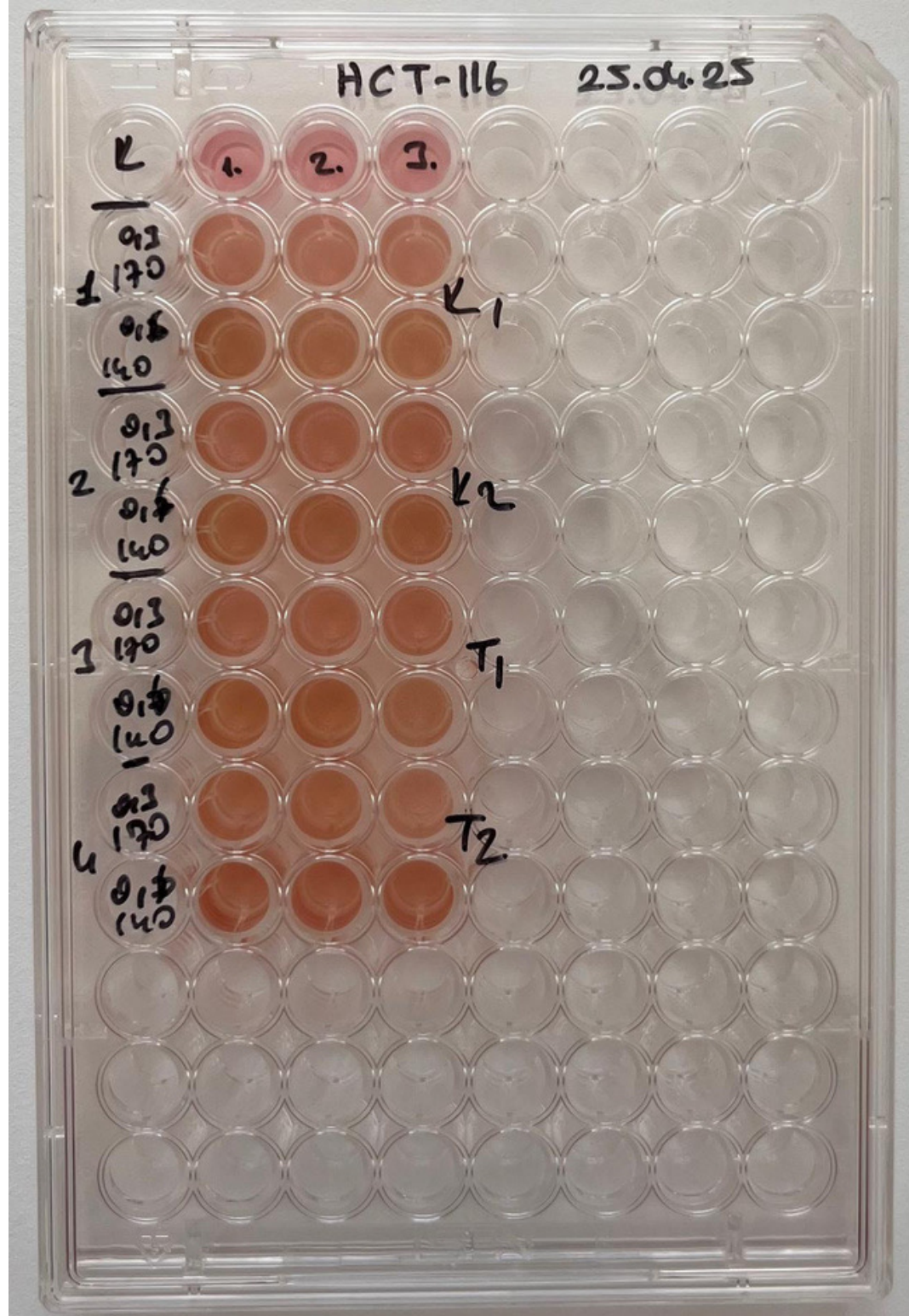
MTT Analizi



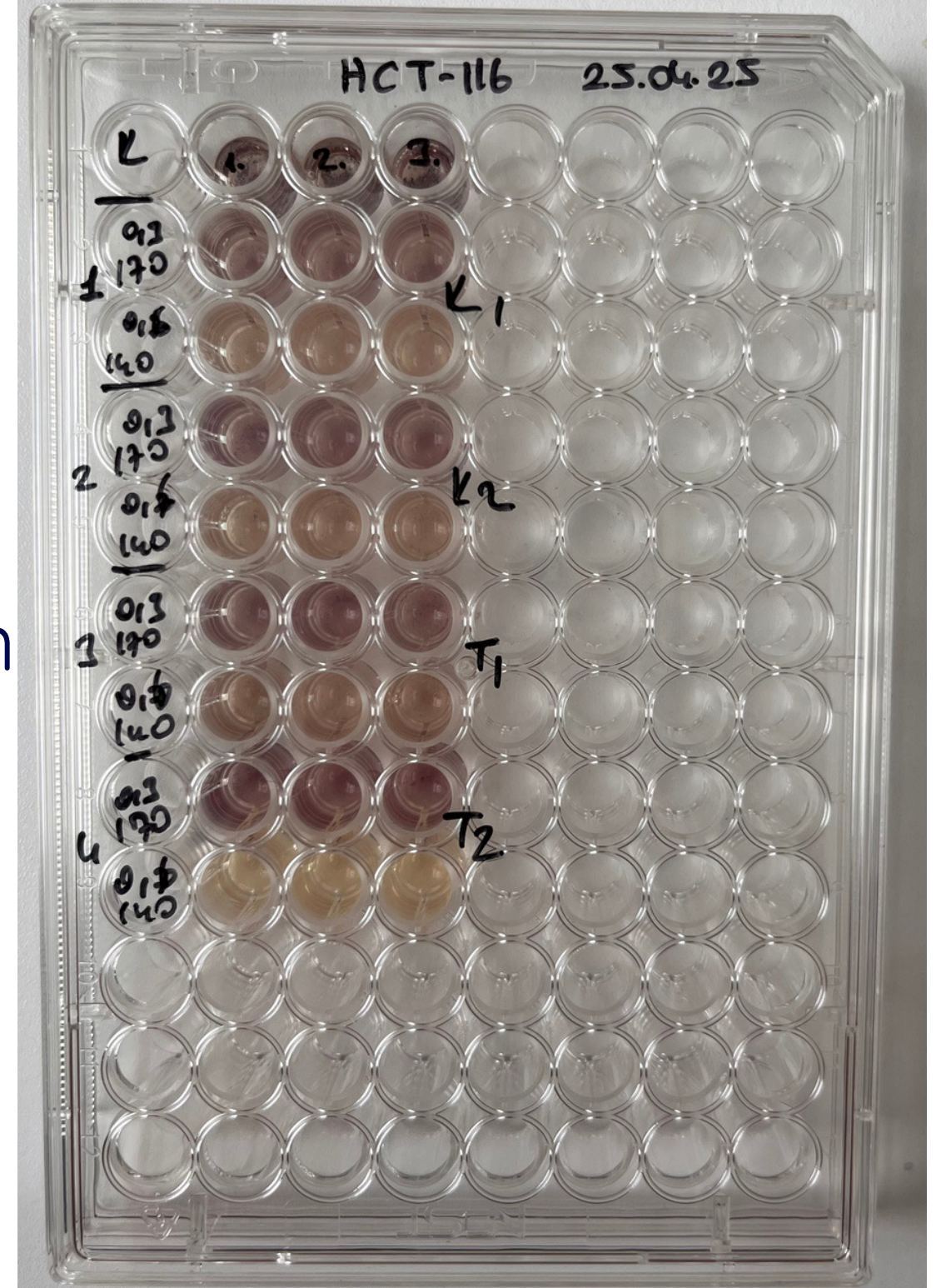
Şema 1: MTT Analizi

MTT testi hücre canlılığını ölçmek için kullanılan bir yöntemdir. Canlı hücreler MTT isimli kimyasalı metabolize ederek mor renkli formazan kristalleri oluşturur. Oluşan mor renk yoğunluğu, canlı hücre sayısı ile orantılıdır ve spektrofotometre ile ölçülür.

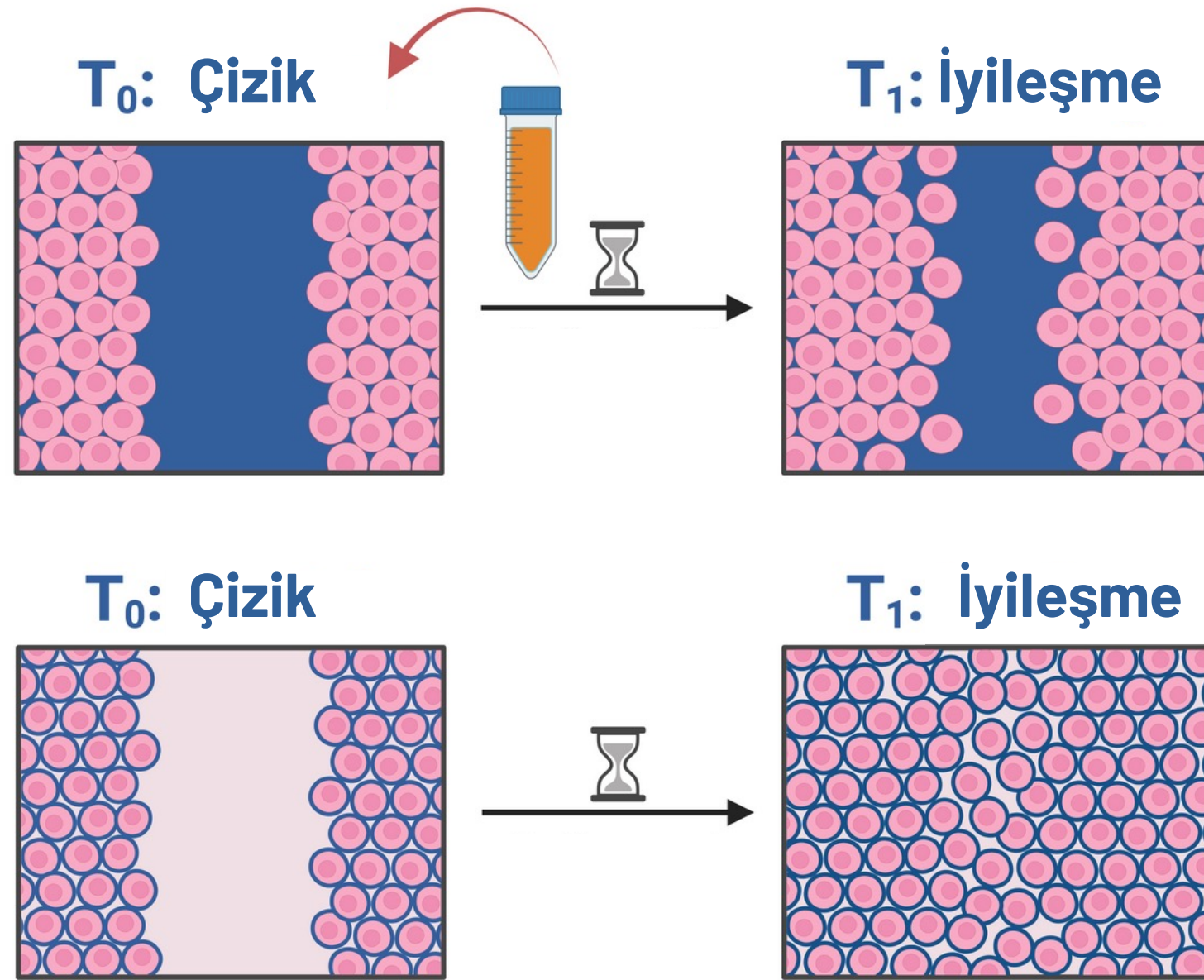
MTT Analizi



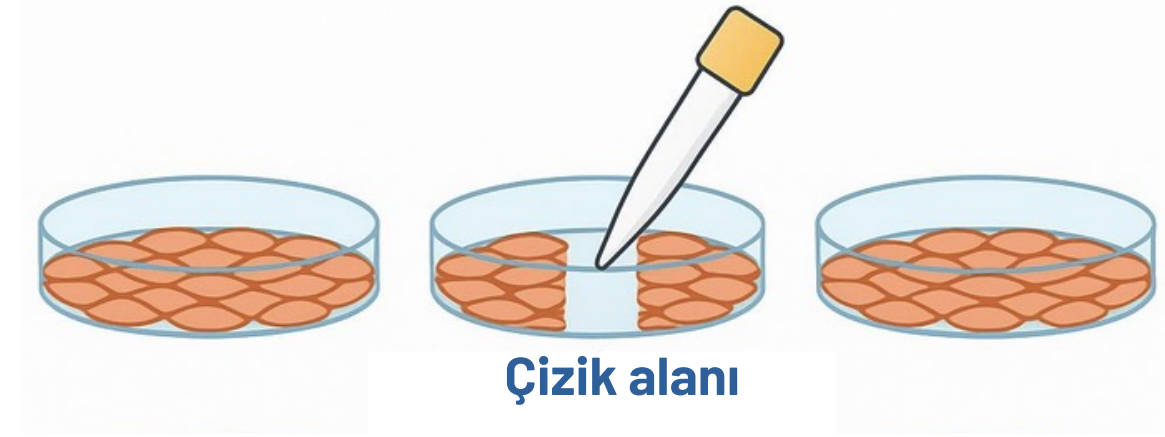
4 saatlik inkübasyon



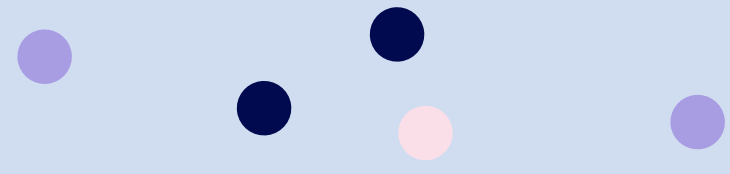
Migrasyon Analizi



Şema 2: Migrasyon Analizi



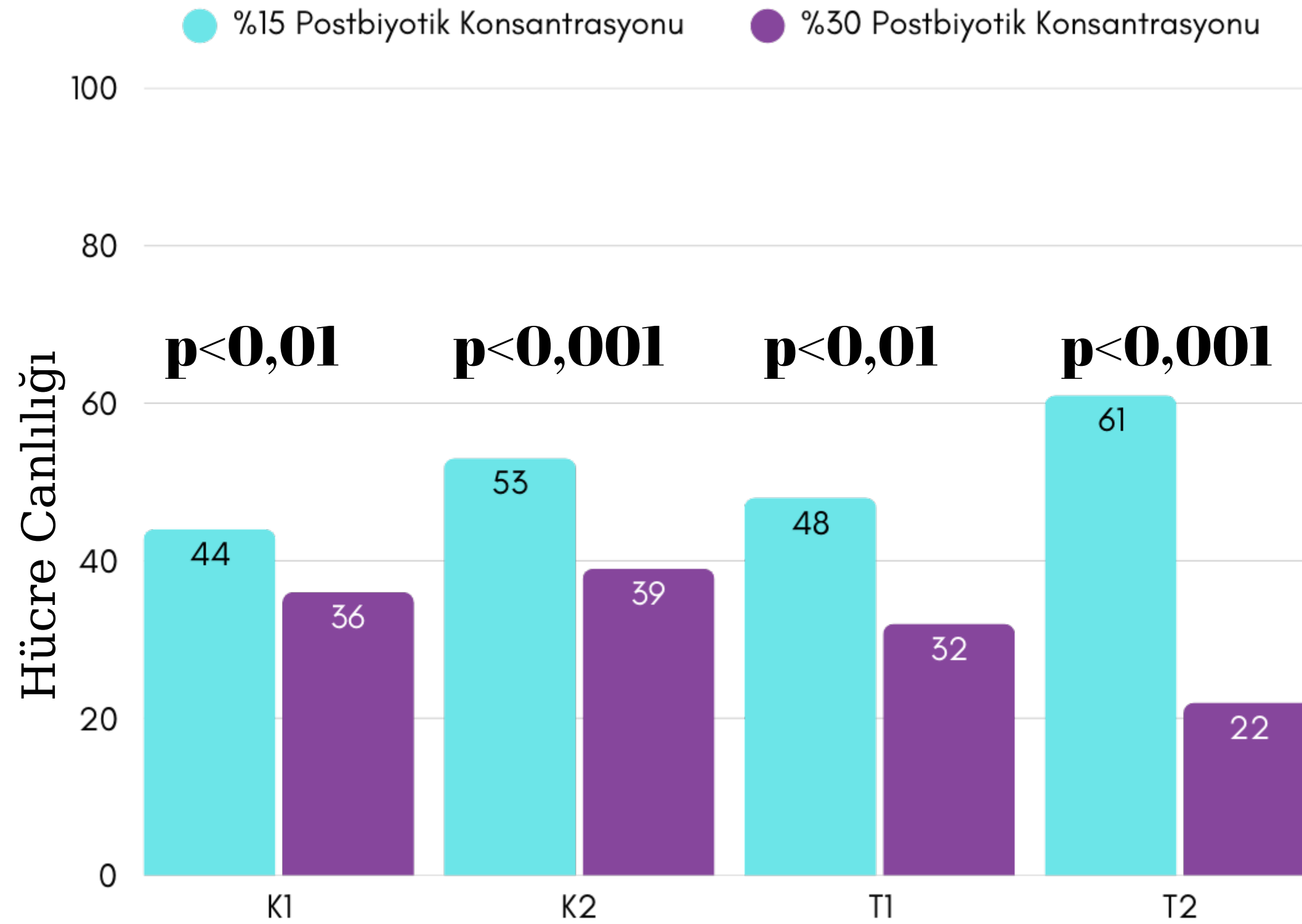
Migrasyon testi, hücrelerin göç yeteneğini değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir. Kanseri hücreleri plak tabanında tek katman oluşturduktan sonra, pipet ucu ile hücre tabakasında bir çizik oluşturulur. Hücrelerin çizik alanına migrasyon süreci izlenir



BULGULAR

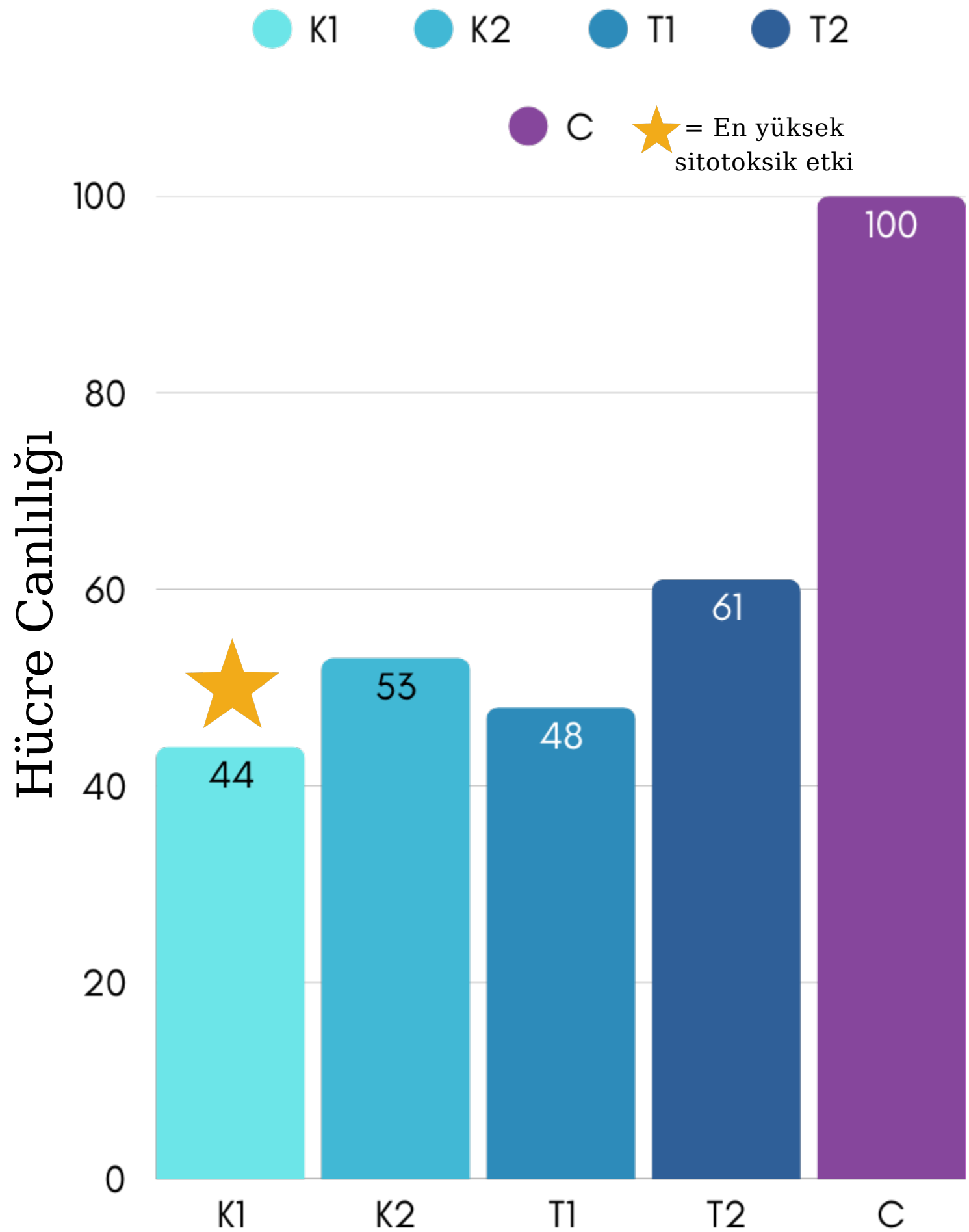


Sitotoksosite Analizi



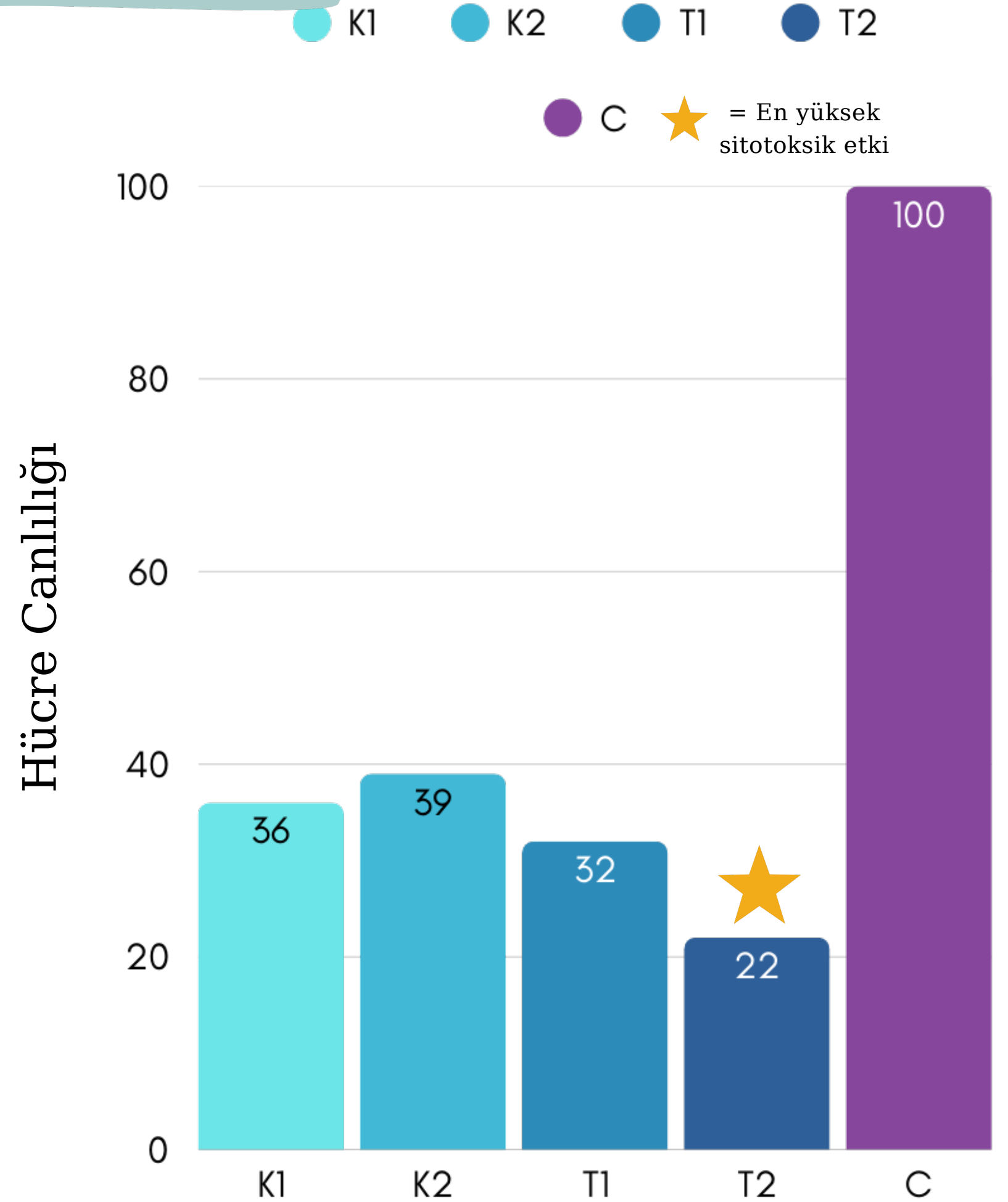
Grafik 1: MTT Testi sonucu hücre canlılığı oranları

%15'lik PM



Grafik 2: %15'lik PM ve hücre canlılığı oranları

%30'luk PM



Grafik 3: %30'luk PM ve hücre canlılığı oranları

İstatistiksel Veriler

1) Postbiyotik metabolitlerinin %15 ve %30 konsantrasyonlarının kullanımı ile kalan canlı kanser hücreleri oranları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

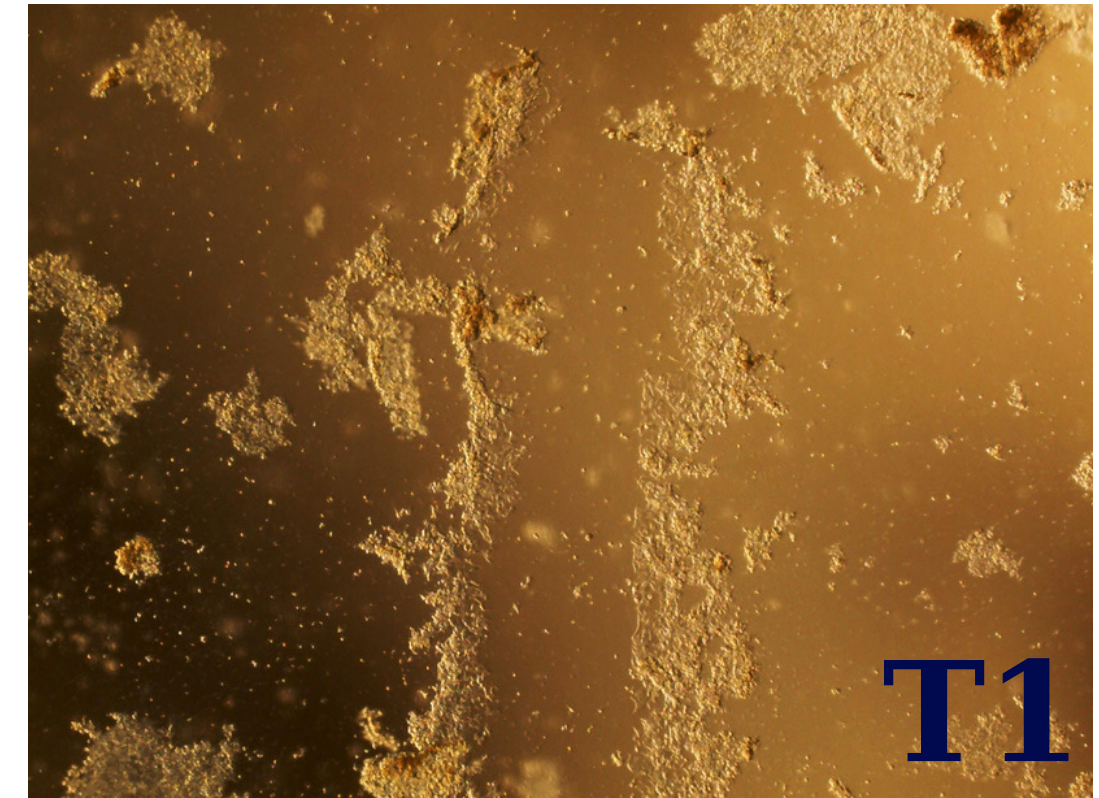
Test tipi: Student t-test (çift yönlü)

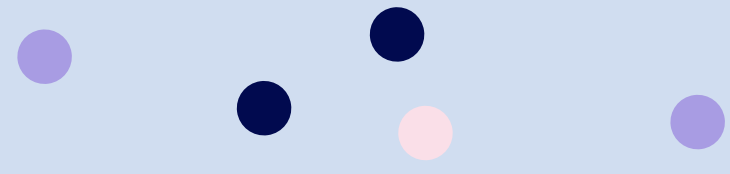
2) Farklı postbiyotiklerin kullanımı ile kalan canlı kanser hücreleri oranları istatistiksel olarak anlamlıdır.

Test tipi: One-Way ANOVA

| | | |
|----------------|-------------|------------------|
| %15 | <i>test</i> | %30 |
| ($p < 0,05$) | | ($p < < 0,05$) |

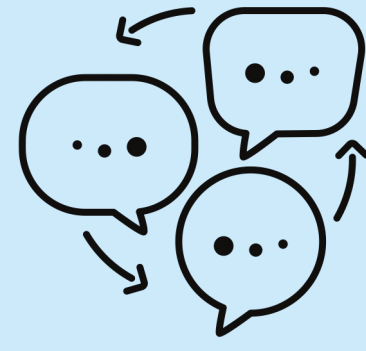
Migrasyon Analizi





TARTIŞMA





TARTIŞMA

İTALYA CATANIA ÜNİVERSİTESİ

- *L.rhamnnosus* GG bakterisinden elde edilen postbiyotik suşunun HT-29 ve HCT-116 insan kolon kanseri hücreleri üzerindeki etkisi incelenmiş ve %20'lik sağ kalım oranı saptanmıştır.
- Aynı zamanda kemoterapi ile sinerjik etkisi incelenmiş ve LGG süpernatantına maruz bırakılmış hücrelerin kemoterapiye daha duyarlı hale geldiği tespit edilmiştir (3).

YUNANİSTAN DEMOCRİTUS ÜNİVERSİTESİ

- Zeytinden elde edilmiş *L.pentosus* ve *L.plantarum* suşlarının kolon kanseri hücrelerinin adezyon ve proliferasyon yeteneklerine etkisi incelenmiştir.
- Koloni oluşturma yeteneklerinin %46-62 oranında azalığı tespit edilmiştir (4).

MALEZYA PUTRA ÜNİVERSİTESİ

- *L.plantarum* suşundan elde edilen postbiyotiklerin %22'lik ve %28'lik konsantrasyonlarda insan kolon kanseri hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiş ve %50 oranında sitotoksik etki gösterdiği gözlenmiştir.
- Çalışılan farklı kanserler üzerinde de postbiyotiklerin sitotoksik ve antiproliferatif etkileri incelenmiş ve anlamlı bulunmuştur (5).

KISITLILIKLAR



**Postbiyotik metabolitlerinin türünün
saptanamamış olması**

**Postbiyotiklerin kanser hücreleri üzerindeki
sitotoksik etki mekanizmasının bilinmemesi**

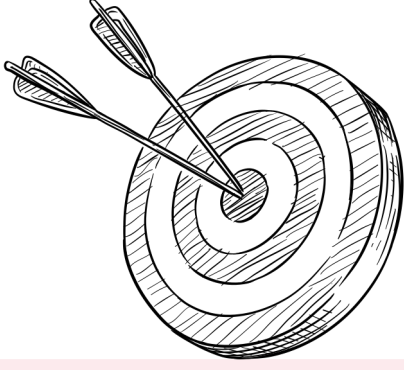
**Turşu 1'den izole ettiğimiz bakteri türünün
tanımlanamamış olması**



SONUÇ VE ÖNERİLER



SONUÇLAR

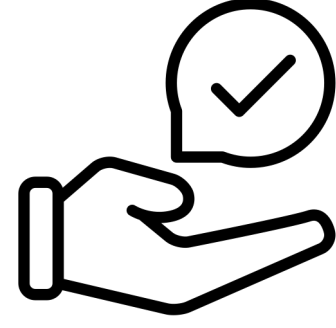


Postbiyotiklerin antikanser potansiyeli taşıdığı bulunmuştur.

Postbiyotik metabolitlerin kanser hücreleri üzerinde doza bağlı artan sitotoksik etkisi saptanmıştır.

Postbiyotiklerin yüksek konsantrasyondaki yoğun sitotoksik etkisinden dolayı migrasyon analizi tamamlanamamıştır.

ÖNERİLER



Farklı postbiyotiklerin kombinasyonlarının etkinliği araştırabilir.

Elde edilen postbiyotik metabolitlerinin farklı kanser hücreleri üzerindeki etkisi gelecek çalışmalarda araştırılabilir.

Postbiyotik metabolitlerinin *in vivo* koşullarda kanser üzerine etkisi araştırılabilir.

Düzenli fermente besin tüketiminin kanserden koruyucu etkisi incelenebilir.

REFERANSLAR

- 1) Żółkiewicz, J., Marzec, A., Ruszczyński, M., & Feleszko, W. (2020). Postbiotics—A Step Beyond Pre- and Probiotics. In *Nutrients* (Vol. 12, Issue 8, p. 2189). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12082189>
- 2) Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T.A., Nakato, G., Takahashi, D., Nakanishi, Y., Uetake, C., Kato, K., Kato, T. (2013) Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*, 504, 446–450.
- 3) Salemi, R., Vivarelli, S., Ricci, D., Scillato, M., Santagati, M., Gattuso, G., Falzone, L., & Libra, M. (2023). Cell-free supernatant from *Lactobacillus rhamnosus* GG as a novel adjuvant for cancer therapy. *Journal of Translational Medicine*, 21(1), 195.
- 4) Saxami, G., Karapetsas, A., Lamprianidou, E., Kotsianidis, I., Chlichlia, A., Tassou, C., Zoumpourlis, V., & Galanis, A. (2016). Two potential probiotic *Lactobacillus* strains isolated from olive microbiota exhibit adhesion and anti-proliferative effects in cancer cell lines. *Journal of Functional Foods*, 24, 461–471.
- 5) Chuah, L.-O., Foo, H. L., Loh, T. C., Alitheen, N. B. M., Yeap, S. K., Abdul Mutalib, N. E., Abdul Rahim, R., & Yusoff, K. (2019). Postbiotic metabolites produced by *Lactobacillus plantarum* strains exert selective cytotoxicity effects on cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 114.



**Bizi dinlediđiniz için
teŖekkür ederiz ...**