

1,2 DİMETİLHİDRAZİN İLE OLUŞTURULAN KOLON KANSERİ MODELİNDE ZEOLİT DESTEKLİ BESLENMENİN KANSER GELİŞİMİNE ETKİLERİ

THE EFFECTS OF ZEOLITE SUPPORTED NUTRITION ON CANCER DEVELOPMENT IN THE 1,2 DYMETHYLHYDRASIN INDUCED -COLON CANCER MODEL

Serap KURUCA¹ , Kadriye AKGÜN DAR¹ , Ayşegül KAPUCU¹ , Dilşad ÖZERKAN² 

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²Kastamonu Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Kastamonu, Türkiye

ORCID IDs of the authors: S.K. 0000-0002-5566-7844; K.A.D. 0000-0003-2060-1199; A.K. 0000-0002-0946-1407; D.Ö. 0000-0002-0556-3879

Cite this article as: Kuruca S, Agun Dar K, Kapucu A, Ozerkan D. The effects of zeolite supported nutrition on cancer development in the 1,2 dymethylhydrasin induced -colon cancer model. J Ist Faculty Med. Published online November 18, 2019. doi: 10.26650/IUITFD.2019.0039

ÖZET

Amaç: Çevre kirliliği ve 1,2-Dimetilhidrazin (DMH) gibi kimyasal maddelere maruz kalan bitki ve hayvanlara beslenmek insanlarda çeşitli hastalıklara yol açar. Bunlardan biri kolon kanseridir. Yapılan çalışmalarda DMH'in gastrointestinal sistemde birikerek organların fonksiyonlarını bozduğu ve kansere yol açtığı görülmüştür. Zeolit, adsorbsiyon ve iyon değiştirme özelliği nedeniyle birçok alanda kullanılmakla birlikte özellikle tıpta kullanımı da yaygınlaşan alüminyum silikat yapısındaki bir volkanik mineraldir. Zeolit'in en bilinen türü olan ve zararsız olduğu kanıtlanan klinoptilolit, insanlara oral yolla verildiğinde kana geçmediği ve gastrointestinal sistemden feçes olarak atıldığı görülmüştür. Ayrıca insanlara oral yolla verilen klinoptilolit, kanda çözünmeden gastrointestinal sistemden geçtiği görülmüştür.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada sıçanlarda DMH ile oluşturulan kolon kanserine klinoptilolit ile beslenmenin etkileri araştırılmıştır. Deneyde kontrol, klinoptilolit, DMH ve klinoptilolit+DMH grubu olmak üzere 27 Wistar albino sıçan kullanılmıştır. 16 hafta boyunca DMH grubuna haftada bir DMH enjekte edilirken; klinoptilolit ve klinoptilolit+DMH grupları klinoptilolit ile beslenmiştir. Alınan tüm kolon örnekleri rutin preparasyon işlemlerinden geçirilerek, ışık mikroskopunda incelenmiştir. Ayrıca kolon kanserinde sık rastlanan Wnt-β-katenin sinyal yoluna özgü β-katenin antikoru ile immunhistokimyasal boyama yapılarak moleküler değişiklikler belirlenmiştir.

Bulgular: DMH grubunda epitel hücrelerinin boylarında kısalma, nükleuslarında şekil değişiklikleri, kripta hücrelerinde büyüme, kan damarı ve bağ doku miktarında artış ve lökosit infiltrasyonu gözlenmiştir. DMH+Klinoptilolit uygulanmasının bu değişiklikleri azalttığı saptanmıştır. β-katenin reaksiyon şiddeti sırasıyla DMH>

ABSTRACT

Objective: Environmental pollution and nutrition with plants and animals exposed to chemical substances such as 1,2-Dimethylhydrazine (DMH) causes many diseases. Colon cancer is one of them. DMH has been found to accumulate in the gastrointestinal tract, impairing the functions of its organs and causing cancer. Zeolite is a volcanic mineral which contains aluminum silicate, which is used in many areas due to its absorption and ion exchange capability, and which has had widespread medical use in recent years. Clinoptilolite, the most well-known species of zeolite, proved to be harmless, did not enter the blood when administered orally to humans and was excreted as a faeces from the gastrointestinal tract. In addition, clinoptilolite administered orally to humans passes through the gastrointestinal tract without dissolving in the blood.

Material and Method: The aim of this study was to investigate the effects of clinoptilolite nutrition on colon cancer induced by DMH in rats. The rats were divided into four experimental groups which were control, clinoptilolite, DMH, and clinoptilolite+DMH using a total of 46 Wistar albino rats. Rats of DMH and clinoptilolite + DMH groups were injected with DMH subcutaneously once a week for 16 weeks at a dose of 20 mg/kg and also clinoptilolite and clinoptilolite+DMH groups were fed a diet with 50% clinoptilolite for eight months.

Results: Molecular changes were examined by immunohistochemical staining in colon tissue samples with β-catenin antibody specific for Wnt-β-catenin signaling pathway, which is common in colon cancer. The reaction intensity of β-catenin was determined as DMH> clinoptilolite control> DMH + clinoptilolite, respectively.

İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: sererdem@yahoo.com

Başvuru/Submitted: 14.05.2019 • **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 12.07.2019 •

Son Revizyon/Last Revision Received: 17.07.2019 • **Kabul/Accepted:** 22.08.2019 • **Online Yayın/Published Online:** 18.11.2019

©Telif Hakkı 2019 J Ist Faculty Med - Makale metnine jmed.istanbul.edu.tr web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2019 by J Ist Faculty Med - Available online at jmed.istanbul.edu.tr

klinoptilolit> kontrol > DMH + Klinoptilolit olarak belirlenmiştir.

Sonuç: Klinoptilolit, hücre proliferasyonunu azaltarak DMH'nin olası toksik etkilerini azalttığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Klinoptilolit, DMH, Kolon kanseri, histokimya

Conclusion: We may think that clinoptilolite reduces the potential toxic effects of DMH by decreasing cell proliferation.

Keywords: Clinoptilolite, DMH, Colon cancer, histochemistry

GİRİŞ

Kolon kanseri gelişmiş ülkelerde görülme sıklığı ve ölüm oranı oldukça fazla olan önemli bir hastalıktır. Yapılan araştırmalara göre, kolon kanserinin görülme sıklığının yüksek olması ve beslenme ile ilişkisi bu hastalığın önemini bir kez daha vurgulanmasına yol açmıştır. Kadın ve erkekte görülme sıklığı hemen hemen eşit olmakta, ancak yaşa ve tümörün bulunduğu bölgeye göre değişiklik göstermektedir. Ölüme sebebiyet verme anlamında da aynı dereceye sahiptir. Kolorektal kanserin etyolojisi tam olarak bilinmese de yüksek proteinli, yağca zengin, az lifli diyetle beslenmek; obezite, sigara kullanımı ve birinci derecedeki akrabalarda kolon kanseri görülmesi gibi genetik faktörler, kişilerde kolon kanseri riskini artırır (1).

Kolon kanseri modellerinde en sık kullanılan toksik ve karsinojenik madde olan 1,2 dimetilhidrazin (DMH) sıçan gibi kemirgenlerde gastrointestinal sistem organlarında birikerek onların fonksiyonlarını bozar ve kolon kanserine yol açar (2,3). Deneysel kanser araştırmalarında (hayvan modellerinde) genellikle kimyasal karsinojenler ile spontan tümör oluşturulması veya transplante edilebilen tümörlerin kullanılması tercih edilir (4). Deneysel kanser oluşturmada kullanılacak olan tümörün ve ilacın etkisinin istenildiği gibi olması ve yüksek oranda kanserli hayvan elde edilebilmesi için tür, soy, yaş ve cinsiyetin seçilmesi önemlidir. Deneysel hayvanlarında kimyasal karsinojenlerle ilk çalışma Lorenz ve Stewart tarafından 1941 yılında yapılmıştır. Bu çalışmada oral yolla dibenzantresan veya metilkolantren verilen farelerin ince barsaklarında çoklu tümörlerin geliştiği fakat kolonda tümör gelişmediği belirtilmiştir (5). 1952 yılında Walpole ve arkadaşları sıçanlarda deri altına dimetilaminobifenil enjeksiyonu yaparak ince barsak ve kolonda adenokarsinoma oluşturmuştur (6). 1962 yılında kemirgenlerde kalın barsakta kanser oluşturma çalışmaları Laqueur tarafından geliştirilmiştir. Bu çalışmada bitkisel bir ürün olan cycinin'in (methyloxymethanol glycoside) kemirgenler için karsinojen olduğu tespit edilmiştir (7). Daha sonra 1,2 Dimetilhidrazin (DMH) ve azoksimetan (AOM) gibi sıçanlarda daha etkili olan karsinojen maddeler bulunmuştur. Bu kimyasalların çeşitli kemirgenlerde tümör oluşturma derecesi farklıdır ve sıçanlarda daha iyi sonuç verirler. 1,2 Dimetilhidrazin toksik kimyasal bir maddedir ve günümüzde kolon kanseri modellerinde en sık kullanılan karsinojendir (8). DMH; DNA, RNA ve protein sentezini bozar. DMH ve azoksimetanla yapılan çalışmalarda DMH'in karaciğerde azoksimetan ve azoksimetanole dönüşmesiyle karsinogenezin başladığı tespit edilmiştir.

DMH tarafından indüklenen kolon tümörleri insan kolon neoplazmasına benzer histolojik, morfolojik ve anatomik özellik gösterir. Ayrıca çabuk metabolize olması ve vücuttan temizlenmesi DMH'in kullanılmasının diğer bir avantajıdır (9). DMH'in sıçanlara oral yolla verilmesi sonucu %30 tümör görülürken subkutan yolla verilmesi sonucu %100 tümör görülmüştür (10). Dolayısıyla DMH gibi vücutta birikip kolon kanserine sebep olabilecek karsinojenik maddelerin vücuttan uzaklaştırılması organizma sağlığı açısından son derece önemlidir.

Zeolit, özellikle son yıllarda tıpta kullanımı artan doğal bir adsorbenttir. Bir zeolit türü olan klinoptilolit ile atık suların ağır metaller uzaklaştırılarak, suların temizlenmesi sağlanmaktadır (11). Ayrıca, hayvanlarda verim ve kilo artırıcı, barsak metabolizmasını düzenleyici olması nedeniyle yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Tavuk ve horoz kümeslerinde, büyükbaş hayvan ahırlarında, kedi kumlarına katılarak antibakteriyel ve amonyak tutucu özelliklerinden dolayı kullanımı yaygındır. Zeolitin bu uygulamalar için seçilme nedeni yapısındaki iyon değiştirme özelliğidir (12). Yapılan araştırmalarda klinoptilolit tavuklara besin ile birlikte verildiğinde besin metabolizmasını ve üretim performansını artırdığı gözlenmiştir (13). Bunun yanı sıra klinoptilolit fare ve sıçan deneylerinde oral yolla verilmesinde, 6 aydan 12 aya kadar yapılan gözlemlerde, herhangi bir toksik etkisinin olmadığı da gözlenmiştir (14). Klinoptilolit farelerde serum biyokimyasına olan etkileri araştırıldığında, klinoptilolit diyetinin farelerdeki potasyum seviyesini ortalama %20 oranında artırdığı bildirilmiştir (15). Ayrıca karsinomali farelerde klinoptilolit fare beyinindeki serotonerjik reseptörleri değiştirerek orta beyin, hipotalamus, rafe çekirdeklerinde serotonin düzeylerini artırdığı gösterilmiştir. Bu farelerde ayrıca elektrolit dengesinin daha düzgün hale geldiği ve bağırsıklıklarının da düzene girdiği tespit edilmiştir (16). Bunun yanı sıra klinoptilolit diyeti ile beslenmenin, kanserli fare ve köpeklerde anlamlı bir iyileşme sağladığı ve hatta bazı fare ve köpeklerin genel sağlığının da düzeldiği görülmüştür (17). Yine farelerde yapılan bir kanser modelinde, klinoptilolit akciğer metastazlarını engellediği tespit edilmiştir (18). Klinoptilolit araştırmaları sadece hayvan deneyleri ile sınırlı değildir son yıllarda tıpta kullanımı da artmaktadır. Klinoptilolit, toksik etkisinin gözlenmemesi nedeniyle biyomedikal alanlarda kullanılan zeolit türüdür. Antimikrobiyal özelliği nedeniyle geleneksel tıpta yara iyileştirici olarak kullanılmakta, antikanser ve immun sistemi güçlendirici özelliklerinden söz edilmektedir (19). Yapılan klinik çalışmalarında

amonyak, üre, nitrik oksit gibi metabolizma sonucu üretilen toksik maddelerin insan vücudundan uzaklaştırılması ve insanlarda toksik ağır metallerin vücuttan atılmasını kolaylaştırmak için kullanılabilirliği tespit edilmiştir (20,21). Ayrıca klinoptilolit Küba'da ishal tedavisinde anti-diaretik ilaç olarak kullanılmıştır (22). Bu çalışmalarda klinoptilolit, insanlara oral yolla verildiğinde kanda çözünmeden direkt olarak gastrointestinal sistemden geçip vücuttan atılması özelliği nedeniyle kullanılmaktadır.

Kolon kanserinin erken dönemlerinde β -katenin geni ve ürünündeki değişimlerin erken dönem tümör oluşumu ile ilişkili olduğu da bilinmektedir. β -katenini kodlayan gende mutasyonların gerçekleşmesi sonucunda hücre çoğalması gözlenir. Kolon kanseri oluşumunun erken safhasında, intestinal epitel hücrelerinde Wnt- β -katenin sinyal yolunun anormal aktivasyonu erken bir kanıt olarak kabul edilmektedir (23). β -katenin gen mutasyonları, β -kateninin nükleus içerisinde aşırı birikimine ve hedeflediği genlerin uyarılmasına yol açar (24,25). Bu doğrultuda çalışmada, kolon spesifik karsinojen olan DMH ile sıçan kolon kanseri modelinde klinoptilolit destekli beslenmenin DMH'nin etkilerine karşı koruyuculuğu incelenerek, tedaviye katkısı araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 27.06.2012 tarih'li 2012/100 no'lu izni alınarak çalışma planlanmıştır. Bu çalışmada 5 haftalık, 250–350 g ağırlığında *Wistar albino* erkek sıçanlar kullanıldı. İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE)'den alınan 5 haftalık, 250–350 g ağırlığında 27 adet *Wistar albino* erkek sıçanlar

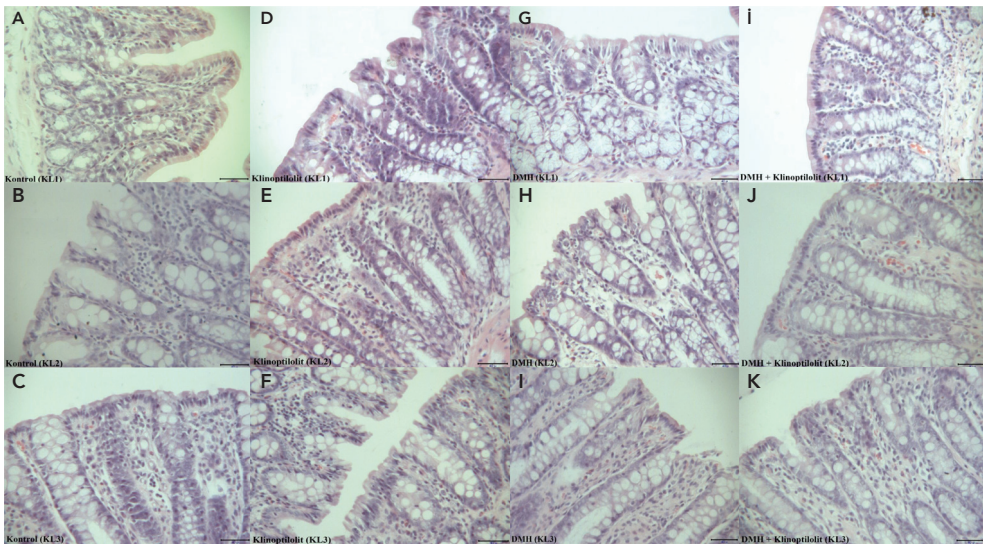
kullanıldı. Sıçanlar deney boyunca kontrollü çevresel koşullar altında (7:00–19:00 aydınlık / karanlık döngüsü ve 22–24°C) muhafaza edildi.

1- Kontrol grubu (n=5) normal sıçan yemiyle;
2- Klinoptilolit (n=5) grubundaki sıçanlar normal yemle ve %50 klinoptilolit karıştırılarak oluşturulan bisküvilerle;
3- DMH (n=9) grubundaki sıçanlara 15 hafta boyunca, ilk haftadan itibaren hafta bir defa olmak üzere 20 mg/kg subkutan olarak DMH uygulandı ve normal sıçan yemiyle;
4- DMH + Klinoptilolit (n=8) sıçanlara 15 hafta boyunca, ilk haftadan itibaren haftada bir defa olmak üzere 0,6 mg/Hayvan (20 mg/kg) subkutan yolla DMH enjeksiyonu uygulandı ve klinoptilolitli bisküvilerle 32 hafta boyunca oral yolla beslendi.

Bu süre sonunda ketamin HCl (60 mg/kg) anestezisi altında tüm deney ve kontrol grubu sıçanlardan alınan karaciğer, proksimal ve distal kolon örnekleri rutin histolojik yöntemlerle parafine gömüldü, alınan kesitler H+E ve beta katenin ile immunohistokimyasal olarak boyandı, histopatolojik olarak incelendi.

BULGULAR

DMH uygulanan sıçanların kolonlarında epitel hücrelerinin boylarında kısalma, nükleuslarında şekil değişiklikleri, kripta hücrelerinde büyüme, kan damarı ve bağ doku miktarında artış, çok sayıda ve bazıları oldukça büyük alanı kaplayan lökosit infiltrasyonu görüldü. Bu değişiklikler kolonun distal bölümünde daha belirgindi. DMH + Klinoptilolit uygulanmasıyla lökosit infiltrasyonu dışındaki değişikliklerin büyük oranda düzeldiği saptandı (Şekil 1).



Şekil 1: Kontrol ve deney gruplarının kolonların farklı bölgelerindeki (KL1: Kolonun başlangıç kısmı, KL2: Kolonun orta kısmı ve KL3: Kolonun son kısmı) histolojik değişiklikler. **A.** Kontrol (KL1) **B.** Kontrol (KL2) **C.** Kontrol (KL3) **D.** Klinoptilolit (KL1) **E.** Klinoptilolit (KL2) **F.** Klinoptilolit (KL3) **G.** DMH (KL1) **H.** DMH (KL2) **I.** DMH (KL3) **İ.** DMH+Klinoptilolit (KL1) **J.** DMH+Klinoptilolit (KL2) **K.** DMH+Klinoptilolit (KL3) Bar 40 μ m.

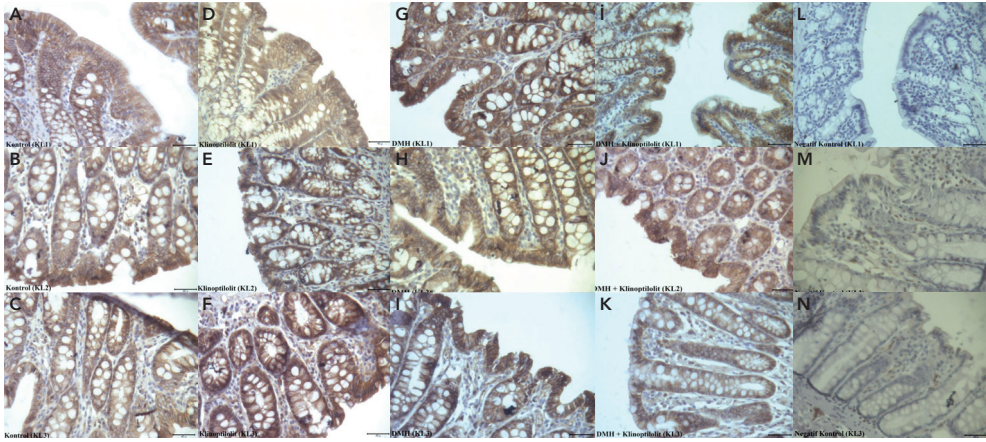
Beta katenin ile immunohistokimyasal olarak boyanan kontrol ve deney gruplarının kolon kesitlerinde reaksiyonun şiddeti çoktan aza doğru sırasıyla, DMH> klinoptilolit> kontrol > DMH + Klinoptilolit olarak belirlendi

(Tablo 1, Şekil 2).

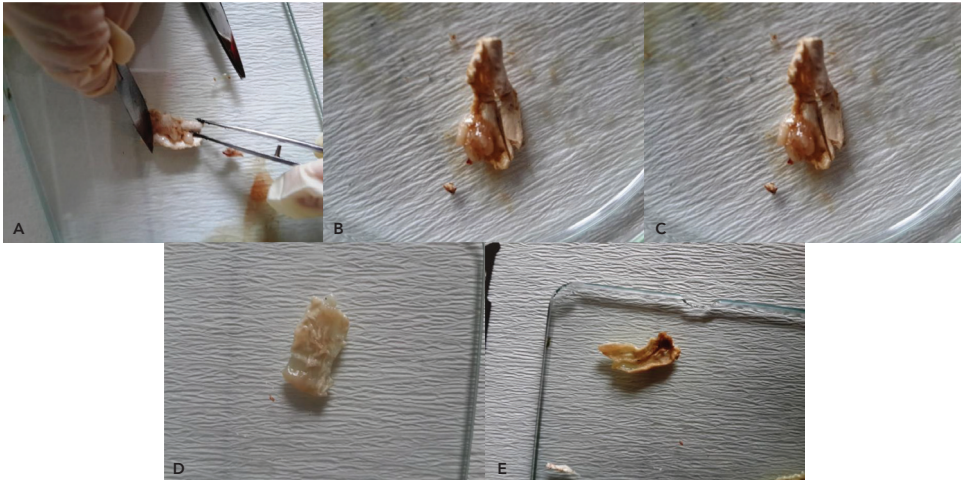
Şekil 3'de ise kolonda oluşan tümörlerin makroskopik görünümü bulunmaktadır.

Tablo 1: Kontrol ve deney gruplarında kolonun farklı bölgelerindeki (KL1: Kolonun başlangıç kısmı, KL2: Kolonun orta kısmı ve KL3: Kolonun son kısmı) β katenin immünohistokimyasal boyanma şiddeti.

Deney Grupları	β Katenin Reaksiyon Şiddeti		
	KL1	KL2	KL3
Kontrol	+	+(KL1'den daha az)	+
Klinoptilolit	++	++	++
DMH	+++	+++	+++ (bağ doku \uparrow)
DMH+Klinoptilolit	+	+	+(bağ doku \downarrow)



Şekil 2: Kontrol ve deney gruplarında kolonun farklı bölgelerindeki beta katenin (kahverengi boyama) immünreaksiyonları ve negatif kontrol örnekleri. **A.** Kontrol (KL1) **B.** Kontrol (KL2) **C.** Kontrol (KL3) **D.** Klinoptilolit (KL1) **E.** Klinoptilolit (KL2) **F.** Klinoptilolit (KL3) **G.** DMH (KL1) **H.** DMH (KL2) **I.** DMH (KL3) **J.** DMH+Klinoptilolit (KL1) **K.** DMH+Klinoptilolit (KL2) **L.** Negatif Kontrol (KL1) **M.** Negatif Kontrol (KL2) **N.** Negatif Kontrol (KL3) Bar 40 μ m.



Şekil 3: Kolonda oluşan tümörlerin makroskopik görünümü. **A,B,C.** 0,5 mm çapındaki tümörler **D.** yaygın tümörler **E.** Tümör olmayan kolon.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kolon kanseri, gelişmiş ülkelerde görülme sıklığı ve ölüm oranı oldukça fazla olan önemli bir hastalıktır. Kolon kanserinin etiyojisi tam olarak bilinmese de yüksek proteinli, yağca zengin, az lifli diyetle beslenmek; obezite, sigara kullanımı ve birinci derecedeki akrabalarda kolon kanseri görülmesi gibi genetik faktörler, kişilerde kolon kanseri riskini arttırır (1). Dolayısıyla kolon kanseri gelişim mekanizmasını anlamak ve tedaviye yönelik yeni stratejiler geliştirmek oldukça önemlidir. Kolon kanseri hayvan modeli oluşturma amacıyla sıklıkla kullanılan karsinogenler 1,2-dimetilhidrazin (DMH) ve onun metabolitleri olan azoksimetan, N-metil-N nitro-N-nitrosoguanidin ve N-metil-N-nitrosoüre'dir (26). Bir metil hidrazin türevidir olan DMH, organizma da metil radikali salıveren bileşiklere dönüşmek suretiyle etkinlik kazanan bir ajandır. DNA moleküllerini metilleyerek mutajenik etki yapan DMH, aynı zamanda RNA ve dolayısıyla protein sentezini de bozarak kolon kanseri oluşumuna neden olur (5). Hayvan modellerinde kolon kanser gelişme oranı, kullanılan karsinogenin dozuna, uygulama yoluna, uygulama sıklığı ve süresine bağlıdır. Bunlara ilaveten farelerin cinsiyeti, yaşı ve genetik geçmişi de kolon kanser gelişme oranını etkileyebilmektedir (27). Genetik farklılıklar ile ilgili farelerde yapılan bir çalışmada, iki farklı karsinogen farklı tür farelere enjekte edilmiş ve fare ırkları arasında Balb/C farelerinin DMH'ye karşı cevapta en duyarlı ırk olduğu belirtilmiştir (28). DMH ile kolon kanseri indüklemeye farklı deney hayvanları kullanıldığı gibi farklı veriliş yolları da tercih edilmiş ve en çok kullanılan yöntem s.c yol olmuştur. Çünkü DMH'nin oral yoldan sıçanlara verilmesi sonucu düşük tümör insidansı görülürken (%30), kas içi (i.m) uygulamalar da %80 oranında, s.c uygulamalar da ise %100 oranında tümör geliştiği gözlenmiştir. (10). Çalışmamızda da Wistar türü erkek sıçanlar kullanıldı ve DMH s.c yoldan enjekte edilmesine rağmen %20 oranında makroskopik tümör oluşturulabildi (Şekil 3). Grupta hiç ölen hayvan bulunmaması bu dozun toksik düzeyde olmadığını ama karsinogenesis için de yeterli olmadığını düşündürmektedir. Oysa bizim kullandığımız dozla aynı bir başka çalışmada (DMH 20 mg/kg) ilk 16 hafta boyunca, hayvanların %53'ünün öldüğü rapor edilirken 16 aynı doz verilen başka bir çalışmada, DMH enjeksiyonundan sonra farklı zamanlarda 210 farenin 13 tanesinin öldüğü belirtilmiştir (29).

Ayrıca Beta katenin ile immunohistokimyasal olarak boyanan kontrol ve deney gruplarının kolon kesitlerinde reaksiyonun şiddeti çoktan aza doğru sırasıyla, DMH > klinoptilolit > kontrol > DMH + Klinoptilolit olarak belirlenmesi hücre proliferasyonunun ve bağ dokunun arttığı displazik değişimler olduğu belki deney süresi uzatıldığında makroskopik tümör artışı da gözlenebileceğini düşünebiliriz.

Bu çalışmada doğal bir adsorbent olan klinoptilolit DMH'in toksik etkilerini azaltarak antikanser kullanımının

mümkün olup olmadığını araştırmak istedik. Klinoptilolit, toksik etkisinin gözlenmemesi nedeniyle biyomedikal alanlarda kullanılan zeolit türüdür. Klinoptilolitin fare ve sıçan deneylerinde oral yolla verilmesinde, 6 aydan 12 aya kadar yapılan gözlemlerde, herhangi bir toksik etkisinin olmadığı da gözlenmiştir (14). Klinoptilolitin farelerde serum biyokimyasına olan etkileri araştırıldığında, klinoptilolit diyetinin farelerdeki potasyum seviyesini ortalama %20 oranında arttırdığı bildirilmiştir (15). Ayrıca karsinomali farelerde klinoptilolitin fare beyinindeki serotonerjik reseptörleri değiştirerek orta beyin, hipotalamus, rafe çekirdeklerinde serotonin düzeylerini artırdığı gösterilmiştir. Bu farelerde ayrıca elektrolit dengesinin daha düzgün hale geldiği ve bağışıklıklarının da düzene girdiği tespit edilmiştir (16). Bunun yanısıra klinoptilolit diyeti ile beslenmenin, kanserli fare ve köpeklerde anlamlı bir iyileşme sağladığı ve hatta bazı fare ve köpeklerin genel sağlığının da düzeldiği görülmüştür (17). Yine farelerde yapılan bir kanser modelinde, klinoptilolitin akciğer metastazlarını engellediği tespit edilmiştir (18). Klinoptilolit araştırmaları sadece hayvan deneyleri ile sınırlı değildir son yıllarda tıpta kullanımı da artmaktadır. Klinoptilolit, toksik etkisinin gözlenmemesi nedeniyle biyomedikal alanlarda kullanılan zeolit türüdür. Antimikrobiyal özelliği nedeniyle geleneksel tıpta yara iyileştirici olarak kullanılmakta, antikanser ve immün sistemi güçlendirici özelliklerinden söz edilmektedir (19). Yapılan klinik çalışmalarında amonyak, üre, nitrik oksit gibi metabolizma sonucu üretilen toksik maddelerin insan vücudundan uzaklaştırılması ve insanlarda toksik ağır metallerin vücuttan atılmasını kolaylaştırmak için kullanılabileceği tespit edilmiştir (20,21). Ayrıca klinoptilolit Küba'da ishal tedavisinde anti-diaretik ilaç olarak kullanılmıştır (22). Bu çalışmalarda klinoptilolit, insanlara oral yolla verildiğinde kanda çözünmeden direkt olarak gastrointestinal sistemden geçip vücuttan atılması özelliği nedeniyle kullanılmaktadır.

Aynı zamanda deney grupları histopatolojik olarak değerlendirildiğinde, DMH uygulanan bireylerin kolonlarında epitel hücrelerinin boylarında kısalma, nukleuslarında şekil değişiklikleri, kripta hücrelerinde büyüme, kan damarı ve bağ doku miktarında artış, çok sayıda ve bazıları oldukça büyük alanı kaplayan lökosit infiltrasyonu görüldü. Bu değişiklikler kolonun distal bölümünde daha belirgindi. DMH + Klinoptilolit uygulanmasıyla lökosit infiltrasyonu dışındaki değişikliklerin büyük oranda düzeldiği saptandı (Şekil 1).

Sonuç olarak DMH ile kolon kanseri insidansımız düşük de olsa, sıçanlarda klinoptilolit uygulaması ile kanser bulgularının azaldığı ve özellikle kolon kanseri markırı olan beta-katenin boyanmasının azaldığını gözlemlenmiştir. Yapılacak yeni deneylerle birlikte zeolitin tıptaki ve medikal uygulamalardaki kullanım alanlarından biri olan kanserde de tedavi amaçlı kullanımının artırılıp artırılamayacağı da araştırılmış olacak ve bu sayede hem ülke ekonomisine hem de zeolitin kullanım alanlarının artırılmasına katkıda bulunulacaktır. Doğal zeolitin yani klinop-

tilolitin dünyadaki rezervlerinin %50 ye yakını Türkiye’de bulunmaktadır (30). Ancak medikal uygulamaları ülkemizde ve bunun yanısıra dünyadaki diğer ülkelerde de yaygın değildir. Dolayısıyla yapılan araştırmalarla doğal bir zenginlik kaynağımız olan klinoptilolitin tıpta kullanımı değerlendirilebilecektir.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan alınmıştır. (2012/100).

Bilgilendirilmiş Onam: Katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- S.K., K.A.D.; Veri Toplama- A.K.; Veri Analizi/Yorumlama- S.K., D.Ö.; Yazı Taslağı- S.K., A.K., D.Ö.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- S.K., A.K., D.Ö.; Son Onay ve Sorumluluk- S.K., K.A.D., A.K., D.Ö.; Malzeme ve Teknik Destek- S.K., A.K., D.Ö.; Süpervizyon- S.K., D.Ö.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Biriminin 25342 numaralı projesi kapsamında desteklenmiştir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from the ethics committee of Istanbul Faculty of Medicine Animal Experiments Local Ethics Committee. (2012/100).

Informed Consent: Written consent was obtained from the participants.

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- S.K., K.A.D.; Data Acquisition- A.K.; Data Analysis/Interpretation- S.K., D.Ö.; Drafting Manuscript- S.K., A.K., D.Ö.; Critical Revision of Manuscript- S.K., A.K., D.Ö.; Final Approval and Accountability- S.K., K.A.D., A.K., D.Ö.; Technical or Material Support- S.K., A.K., D.Ö.; Supervision- S.K., D.Ö.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: This study was supported by Istanbul University Scientific Research Projects Coordination Unit Project 25342.

KAYNAKLAR

1. Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RG, Barzi A, et al. Colorectal cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2017;67(3):177-93. [CrossRef]
2. Fernia AP, Caderni G. Rodents Models of Colon Carcinogenesis for the Study of Chemopreventive Activity of Natural Products. *Planta Med* 2008;74:1602-7. [CrossRef]
3. Rosenberg DW, Giardina C, Tanaka T. Mouse models for the study of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2009;30(2):183-96. [CrossRef]
4. Irving AA, Yoshimi K, Hart ML, Parker T, Clipson L, Ford MR, Kuramoto T, Dove WF, Amos-Landgraf JM. The utility of Apc-mutant rats in modeling human colon cancer. *Dis Model Mech* 2014;7(11):1215-25. [CrossRef]
5. Lorenz E, Stewart HL. Intestinal carcinoma and other lesion in mice following oral administration of 1,2,5,6-dibenzathracene and 20-methylcholanthrene. *J Natl Cancer* 1941;1(1):17-40.
6. Walpole AL, Williams M, Roberts DC. The carcinogenic action of 4-aminodiphenyl and 3,2 dimethyl 4-aminodiphenyl. *Br J Ind Med* 1952;9:255-263. [CrossRef]
7. Laquer GL, Mickelson O, Whiting MG, Kurland LT. Carcinogenic properties of nuts from cycas circinalis indigenous to Guam. *J Natl Cancer Inst* 1963;31:919-23.
8. Rosenberg DW, Giardina C, Tanaka T. Mouse models for the study of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2009;30(2):183-96. [CrossRef]
9. Perşe M, Cerar A. Morphological and molecular alterations in 1,2 dimethylhydrazine and azoxymethane induced colon carcinogenesis in rats. *J Biomed Biotechnol* 2011;473964. [CrossRef]
10. Heijstek MW, Kranenburg O, Rinkes IB. Mouse Models of Colorectal Cancer and Liver Metastases. *Dig Surg* 2005;22:16-25. [CrossRef]
11. Mastinu A, Kumar A, Maccarinelli G, Bonini SA, Premoli M, Aria F. et al. Zeolite Clinoptilolite: Therapeutic Virtues of an Ancient Mineral. *Molecules* 2019;24(8):1517. [CrossRef]
12. Inglezakis V, Loizidou MD, Grigoropoulou HP. Ion Exchange of Pb²⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, and Cr³⁺ on Natural Clinoptilolite: Selectivity Determination and Influence of Acidity on Metal Uptake. *J Colloid Interf Sci* 2003;261:49-54. [CrossRef]
13. Mihoslov M, Vecerek V, Mas N. Effect of the Feed Additive Clinoptilolite (ZeoFeed) on Nutrient Metabolism and Production Performance of Laying Hens. *Acta Vet Brno* 2010;79: 29-34. [CrossRef]
14. Grce M, Pavelic K. Antiviral Properties of Clinoptilolite. *Micropor Mesopor Mat* 2005;79:165-9. [CrossRef]
15. Kleiner M, Flegar Z, Zadro R. The Effect of the Zeolite Clinoptilolite on Serum Chemistry and Hematopoiesis in Mice. *Food Chem Toxicol* 2001;39:717-27. [CrossRef]
16. Mück D, Pivac N. The Effect of Natural Clinoptilolite on The Serotonergic Receptors in The Brain of Mice with Mammary Carcinoma. *Life Sci* 2003;73:2059-69. [CrossRef]
17. Pavelić K, Hadzija M, Bedrica L, Pavelić J, Dikić I, Katić M, et al. Natural zeolite clinoptilolite: new adjuvant in anticancer therapy. *J Mol Med Berl* 2001;78:708-20. [CrossRef]
18. Pavelic K, Katic M, Sverko V. Immunostimulatory Effect of Natural Clinoptilolite as a Possible Mechanism of its Antimetastatic Ability. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:37-44. [CrossRef]
19. Pavelic K, Hadzija M, Bedrica L. Natural Zeolite Clinoptilolite: New Adjuvant in Anticancer Therapy. *J Mol Med* 2001;78:708-20. [CrossRef]
20. Genuis JS. Elimination of Persistent Toxicants from The Human Body. *Hum Exp Toxicol* 2011;30(1):3-18. [CrossRef]
21. Flowers JL, Lonkey SA, Deitsch JE. Clinical Evidence Supporting The Use of an Activated Clinoptilolite Suspension as an Agent to Increase Urinary Excretion of Toxic Heavy Metals. *J Nutr Diet Supp* 2009;1(4):11-8. [CrossRef]

22. Rodriguez-Fuentes G, Barrios MA, Iraizoz A, Perdomo I, Cedre B. Enterex: Anti-diarrheic Drug Based On Purified Natural Clinoptilolite. *Zeolites* 1997;19:441-8. [\[CrossRef\]](#)
23. Lecarpentier Y, Claes V, Vallée A, Hébert JL. Interactions between PPAR gamma and the canonical Wnt/beta-catenin pathway in type 2 diabetes and colon cancer. *PPAR research* 2017;2017:1-9. [\[CrossRef\]](#)
24. He T-C, Chan TA, Vogelstein B, Kinzler KW. PPAR delta is an APC regulated target of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cell* 1999;99:335-45. [\[CrossRef\]](#)
25. Tetsu O, McCormick F. b-Catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* 1999;39:422-6. [\[CrossRef\]](#)
26. Heijstek MW, Kranenburg O, Borel Rinkes IH. Mouse models of colorectal cancer and liver metastases. *Dig Surg* 2005;22(1-2):16-25. [\[CrossRef\]](#)
27. Harris CC, Autrup H, Stoner GD, McDowell EM, Trump BF, Schafer P. Metabolism of dimethylnitrosamine and 1,2-dimethylhydrazine in cultured human bronchi. *Cancer Res* 1977;37:2309-11.
28. Kuraguchi M, Cook H, Williams ED, Thomas GA. Differences in susceptibility to colonic stem cell somatic mutation in three strains of mice. *J Pathol* 2001;193(4):517-21. [\[CrossRef\]](#)
29. Thulesen J, Hartman B, Hare KJ, Kissow H, Ørskov C, Holst JJ. Glucagon-like peptide 2 (GLP-2) accelerates the growth of colonic neoplasms in mice. *Gut* 2004;53(8):1145-50. [\[CrossRef\]](#)
30. Maden tetkik arama (MTA). Zeolit. (Cited 2019, August 30). Available from: URL: <http://www.mta.gov.tr/v3.0/bilgi-merkezi/zeolit>