

Kolorektal Kanser Kemoprevansiyonunda Ursodeoksikolik Asit

Murat KIYICI

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Bursa



Murat KIYICI

KOLOREKTAL KANSER VE PRİMER-SEKONDER KORUNMA

Kolorektal kanser günümüzde önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir. Tüm dünyada 3. sırada en sık tanı konan kanserdir (1) ve ABD'de mortalite sebepleri arasında ikinci sırada bulunmaktadır. Eğer kolorektal kanser erken ve lokalize evrede saptanabilirse; 5 yıllık survisi %90'lar düzeyine çıkmaktadır. Ancak olguların sadece %37'si rastlantısal olarak erken evrede tanı alabilmektedir (2).

Genetik yatkınlığın yanı sıra çeşitli çevresel faktörlerin de etkisi ile geliştiği kabul edilen kolorektal kanserler için tarama ve önleme programları yapılmaz ise insidansın artabileceği, örneğin ABD'de kolorektal kanser insidansının %6 gibi oldukça yüksek bir orana çıkabileceği belirtilmektedir (2). Diyetteki anti-karsinojenlerle veya farmakolojik ajanlar ile "primer korunma" yapılabileceği gibi,

gaitada gizli kan aranması veya fleksibl sigmoidoskopik incelemeler ile "sekonder korunma" yöntemleri de uygulanabilir (3-5). Gerek primer, gerekse sekonder korunma yöntemleri kolorektal kanserin hem morbiditesinin, hem de mortalitesinin azaltılmasında umut vermektedir (6). Örneğin düzenli olarak gaitada gizli kan aranması ve aralıklı sigmoidoskopik incelemeler ile mortalitenin %33 oranında azaldığı gösterilmiştir (7,8). Korunma ve tarama yöntemlerine verilen önem, bu yöntemlerin yaygın olarak kullanıldığı 1985-1997 yılları arasında sol kolon kanserlerinin insidans ve mortalitesinin azaldığının gösterilmesi ile artmıştır. Ancak sağ kolon kanserinin sıklık ve mortalitesi henüz korunma ve tarama yöntemlerinden fazla etkilenmemiş gibi gözükmemektedir (2).

Diyet düzenlemeleri ve farmasötik ajanlar kolorektal kanser kemoprevansiyonunda detaylı olarak çalışılmıştır. Bir meta-analizde, diyetteki lif miktarının artırılmasının kolorektal kanser gelişme riskini %43 azalttığı bildirilmiştir (9), fakat ardından gelen geniş kesitsel çalışmalar bunu teyit etmemiştir. Vitamin A, C ve E, β -karoten, selenyum gibi antioksidanlar hakkında çelişkili sonuçlar mevcuttur (10,11). Dört yıl izlem süresi olan bir çalışmada, günlük 3 gr kalsiyum karbonat alımının rekürren kolorektal adenoma gelişimi riskini %15 azalttığı gösterilmiştir ve günümüzde kalsiyumun orta derecede etkili bir anti-karsinojen ajan olduğu kabul edilmektedir (12). NSAİİ'lerin da genel olarak anti-proliferatif etkileri olduğu bilinmektedir. Kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalarla, bu grup

ilaçların hücre siklusunu yavaşlatmaları ve apoptosisi indüklemeleri nedeni ile tümör büyümesini yavaşlattığı gösterilmiştir. Etken maddeye göre farklı düzeyde olan bu etki (örn. piroksikam > sulindak > aspirin ve ibuprofen) henüz insanlar üzerinde kesin olarak kanıtlanamamıştır. Ancak NSAİİ ilaçların kullanımının kolorektal kanser sıklığını azaltıcı etkisi geniş epidemiyolojik çalışmalar ile değerlendirilmiştir (13). Yaklaşık 22.000 sağlıklı gönüllünün alındığı 5 yıl izlem süreli bir çalışmada, günde 325 mg aspirin alan grup ile plasebo alan grup arasında kolorektal kanser gelişimi açısından anlamlı fark saptanamamıştır (14). İzlem süresinin 12 yıla çıkarılması da bu durumu değiştirmemiştir (15). Kolorektal kanser operasyonu sonrasında 325 mg/gün aspirin verilen bir çalışmada ise (n=635), 31 aylık izlem sonunda rekürren adenoma gelişme sıklığı plaseboya göre %27'den %17'ye düşmüştür ve bu fark anlamlı bulunmuştur (16). NEJM'nin aynı sayısında yayınlanan diğer bir çalışmada ise, günde 81 mg aspirin alımının 325 mg/gün dozuna göre daha anlamlı koruyucu etkisi olduğu rapor edilmiştir, ancak bu farkın açıklaması net olarak yapılamamıştır (17). Aspirin alan grupta inme ve ciddi kanama gibi komplikasyonlar daha fazla görülmüştür. Günümüzde aspirinin kolorektal kanser kemoprevansiyonunda orta derecede etkili olduğu kabul edilmektedir, ancak bir tek kanser olgusunun önlenmesi için çok sayıda kişiye aspirin başlanması gerektiği bildirilmektedir. Bu durumda ön-görülebilir bazı komplikasyonlar da yanında getirmektedir, dolayısı ile yarar-zarar hesabı yapılarak verilmelidir. Yan etkileri azaltmak amacı ile COX-2 selektif NSAİİ kolorektal kanser kemoprevansiyonunda kullanılması gündeme gelmesi doğaldır. Her ne kadar bu grup ilaçlar için bazı olumlu sonuçlar bildirilmiş ise de, akut koroner ve serebrovasküler olay sıklığında artış meydana getirmeleri nedeni ile marketten çekilmeleri dolayısıyla, artık bu amaçla da kullanımları mümkün değildir. Son olarak, östrojen preparatlarının kolorektal kanser kemoprevansiyonunda değerinin araştırıldığı 28 gözlem çalışmasının bir meta-analizinde, kolon kanserin göreceli riskinde 0.81, rektum kanserinde ise 0.80 azalma tespit edilmiştir (18).

Sekonder Safra Asitlerinin Kolorektal Kansere Patogenezindeki Yeri:

Safra asitleri "amfifilik" bileşiklerdir ve sıvı ortamda deterjan etkisi gösterirler. Yan zincir yapıları, nükleer bileşenlerinin sayısı, tip ve yerleşim yerleri gibi özellikleri safra asitlerinin birbirleri ile birleşmeleri-

ne ve "miçel" oluşturmalarına etki eder. Miçel oluşturma konsantrasyonlarına "*kritik miçellar konsantrasyon*" denir ve bu eşğin üzerinde safra asitlerinin deterjan etkileri ortaya çıkar. Safra asitlerinin toksik etkileri hepatosit, eritrosit ve intestinal hücre kültürlerinde gösterilmiştir. Safra asitlerinin toksisiteyi hidrofobisitelere paraleldir.

Konjuge ve konjuge olmayan safra asitlerinin kültüre kolon kanser hücreleri üzerindeki toksisitesini irdeleyen bir çalışmada, toksisiteye yol açan minimum konsantrasyon; deoksikolik asit < kenodeoksikolik asit < taurodeoksikolik asit < ursodeoksikolik asit < taurokenodeoksikolik asit < kolik asit < tauro-ursodeoksikolik asit şeklinde saptanmıştır. Ancak beklenen *in-vivo* mekanizmaların tersine, *in-vitro* koşullarda safra asitlerinin kolon kanseri hücreleri üzerinde hiper-proliferatif etkileri olmamıştır. Bu belki de kolon kanser hücrelerinin artık safra asitlerine proliferatif cevap verme yeteneklerini kaybetmeleri nedeni ile olabilir (19).

Konjuge olmayan safra asitleri kolorektal epitelde sitotoksik etki gösterirler ve adenomatöz lezyonların karsinomaya ilerlemesine yol açabilirler. Bu etki ratlarda diyetle veya rektuma instilasyon ile sekonder safra asitleri verilerek gösterilmiştir (20). Ardından gelen çalışmalarda gaitada safra asit seviyesinin artışı ile kolorektal kanser gelişimi arasında ilişki saptanması da bu hipotezi desteklemiştir (21). Ancak aksi yönde yayınlar da mevcuttur (22). Bazı epidemiyolojik çalışmalar, kolesistektomiden sonra gaita ile atılan safra asidi miktarını artması nedeniyle kolorektal kanser sıklığının da arttığını belirtse de sonradan bu tespiti teyit etmeyen yayınlar da olmuştur (23-25). Ayrıca sekonder bir safra asidi olan deoksikolat'ın serum seviyesi kolorektal adenomu olan kişilerde artmış olarak saptanmıştır (26).

Sekonder safra asitlerinin, özellikle deoksikolik asidin, kolorektal kript hücre proliferasyonu ve farklılaşması ile apoptosisi arasındaki dengeyi bozarak maligniteye yol açtığı ileri sürülmektedir (27-29). Bu tip safra asitleri intrasellüler sinyal iletimini ve gen ekspresyonunu değiştirmektedirler. Spesifik olarak belirtmek gerekirse; deoksikolik asit "*aktivatör protein-1*"'in etkinliğini düzenleyen en az iki farklı yolağı uyarmaktadır (30).

Konjuge safra asitleri barsakta flora bakterileri ile sadece dekonjuge olmazlar, aynı zamanda 7- α -dehidroksilasyona da uğrarlar. 7- α -dehidroksilasyon ile çoğunlukla kolik asit deoksikolik aside, kenodeoksikolik asit ise litokolik aside dönüşür (31).

Hayvan çalışmalarında bu iki sekonder safra asitinin hem epitel hücre proliferasyonuna, hem de kolonik karsinogeneze yol açtığı ileri sürülmektedir. Ancak sorumlu mekanizma tam olarak açık değildir. Sekonder safra asitlerinden özellikle deoksikolik asit kolon kanseri gelişiminde en fazla suçlanan safra asididir. UDKA ise kenodeoksikolik asitin 7- β epimeri olan hidrofilik bir tersiyer safra asitidir ve sitotoksik değildir. UDKA barsak bakterilerinin 7- β dehidroksilasyonu ile litokolik aside döner. Bu reaksiyonun hızı 7- α - dehidroksilasyon ile kenodeoksikolik asidin litokolik aside dönüşümüne göre birkaç kat azdır. Bundan dolayı, UDKA alımı kolonik kolik asit ve bunun dönüştüğü fekal deoksikolik asit seviyelerini azaltır (32,33). UDKA'nın kolon kanserinden koruyucu etkisi muhtemelen gaitadaki deoksikolik asit seviyesini düşürmesi ile ilgilidir. Çünkü insanlar ve kemirgenler üzerindeki çalışmalar, 7- β dehidroksilasyon hızının 7- α - dehidroksilasyona göre düşük olmasına rağmen, UDKA'nın esas olarak litokolik aside dönüştüğünü göstermektedir (34).

Sekonder safra asitlerinin solid (katı) faz gaitadaki değil, aköz (sıvı) faz gaitadaki seviyesinin kolon karsinogenezinde daha önemli olduğu ileri sürülmektedir. Sıvı fazdaki gaitanın kolon mukozası ile direkt kontakının daha fazla olması bu farkı yaratıyor gibi gözükmektedir (35).

Bilindiği gibi gastrointestinal kanalın bir "Mikroflorası" vardır ve bu mikroflora'nın da kolorektal kanser patogenezi için yeri olduğu düşünülmektedir. Safra asitleri intestinal bakterilerden diaçilgliserol salınımını artırır (36) ve indükledikleri diaçilgliserol artışı fosfatidilinositol-spesifik fosfolipaz C'yi aktive ederek kolonik epitel proliferasyonuna neden olabilir (37).

Ursodeoksikolik Asit İle Kolorektal Kanser Kemoprevansiyonu

UDKA'nın çeşitli patogenetik mekanizmalar ile kolorektal kanser gelişimini baskıladığı ileri sürülmektedir (Tablo 1). Bu safra asitinin kemoprevantif etkisi öncelikle inflamatuvar barsak hastalığı + primer sklerozan kolanjit nedeni ile UDKA kullanan hastalarda gözlenmiş ve deneysel kolorektal neoplazinin hayvan modellerinde (azoksimetan, 1,2-dimetilhidrazin modelleri; Min mutant sıçanlar gibi) de teyit edilmiştir.

Arizona ve Chicago üniversitelerinin ortak bir çalışmasında; ratlarda kolon kanserinin deneysel azoksimetan modelinde, diyetle ağırlık olarak %0.4 oranında UDKA eklenmesi ile kolonik adenom ve adenokanser gelişme sıklığı anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (38). Kısa bir süre önce yayınlanan diğer bir faz III çalışmada; son 6 ay içinde polipektomi yapılan 661 hastaya 8–10 mg/kg/gün UDKA ve 624 kontrol hastasına da plasebo verilerek 3 yıl takip edilmiştir. Çalışma sonunda UDKA grubunda adenom nüksü oranının plaseboya göre %12 azaldığı saptanmıştır, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Çalışmanın alt grup analizlerinde ise, 'yüksek-dereceli displazisi olan adenomların nüksünün UDKA grubunda istatistiksel anlamlı azaldığı tespit edilmiştir (39).

Sekonder safra asitleri apoptosisi indükler iken, UDKA'nın hücre proliferasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır (29). Örneğin, UDKA'nın kolon kanseri hücresindeki EGFR/Raf-1/ERK gibi önemli sinyal iletim yollarını etkileyerek proliferasyonu baskıladığı gösterilmiştir (40).

UDKA ile kolorektal kanser prevansiyonu çalışmalarının ortak sorunları; optimum ilaç doz ve süresinin belirsizliğidir (6). Örneğin Pardi ve ark. UDKA'yı ülseratif kolitli ve sklerozan kolanjitli hastalarda,

Tablo 1. UDKA'nın muhtemel kolonik kemoprotektif etki mekanizmaları

Muhtemel Etki Mekanizmaları	Kaynak
1. Fekal deoksikolik asit seviyesini düşürür	32, 33
2. Tüm hücre tiplerinde mitokondrial membran düzensizliklerini önleyerek apoptosise eğilimi artırır ve apoptosise gidişi azaltır	42
3. Telomeraz aktivitesini engelleyerek aberran kript odaklarının gelişmesini baskılar	45
4. Anti-oksidan etki meydana getirir	50
5. Hücre membranı ve intestinal bariyer stabilizasyonu yapar	50, 51
6. Kolonik doku uygunluk (MHC) antijenlerinin sunumunu artırarak tümör hücrelerinin saptanma ve eradikasyonunu güçlendirir	56
7. Kolonik mukozal siklooksijenaz-2 sunumunu inhibe eder ve araşidonic asit metabolizmasını değiştirir	59, 60

çoğunlukla kullanılan doz olan, 13–15 mg/kg/gün dozunda ve 12 yıl süreyle kullanmışlardır (41). Bu grup UDKA'nın kemoprevantif etkisinin en az 6 yıl kullanımdan sonra başlayacağını ileri sürmektedir. Bu nedenle kolorektal adenoma faz III çalışmalarının en az 6–10 yıl izlem süreli olarak tasarlanması önerilmektedir. Ancak geniş hasta grubu gereksinimi, hasta uyumunu izlemenin güçlüğü ve oldukça fazla olan maliyetleri bu tarzdaki çalışmaların önündeki en büyük engellerdir.

Hidrofobik safra asitlerinin hücrelerin apoptosis ile ölümüne yol açtığına değinilmiştir. UDKA'nın apoptosisi önleme yeteneği olup olmadığı değerlendirilen bir çalışmada; deoksikolik asit, etanol, TGF- β 1, Fas ligand gibi apoptosisi indükleyen ajanlar ile beraber UDKA verildiğinde apoptosisin %50–100 oranında azaldığı gösterilmiştir. Apoptosisin önlenmesinde kabul edilen patogenetik mekanizma ise, UDKA'nın mitokondrial membranın permeabilitesini azaltmasıdır (42). Aynı grup daha sonra yayınladıkları ileri çalışmalarında; pro-apoptotik ajanların hücrelerin mitokondrilerinden sitokrom C salınımına neden olduğu olduğunu ve sitozole geçen sitokrom C'nin kaspaz (caspase) aktivasyonuna, nükleer kondensasyon ve fragmantasyona yol açarak apoptosisi tetiklediği belirtilmektedir. Yazarlar ayrıca sitokrom C salınımının mitokondri membran permeabilitesinden bağımsız olduğunu ileri sürmektedirler. UDKA beraber kültüre edildiği hücrelerde, öncelikle pro-apoptotik uyarılara cevap olarak oluşan mitokondri membran geçirgenliğini (ve böylece depolarizasyonunu) azaltmaktadır. Ayrıca yazarlara göre ikinci muhtemel mekanizma da; UDKA'nın Bax translokasyonu ile ilişkili "kanal-oluşturma aktivitesini" değiştirmesidir (43).

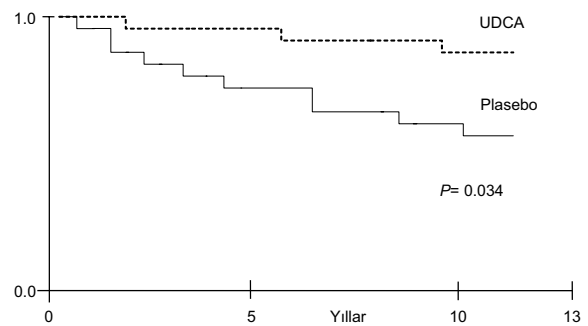
Telomeraz enzimi bir ribonükleoprotein enzim kompleksidir ve telomerlerin uçlarına eklemeler yaparak onların boylarını uzatır. Telomeraz enzimin hücre çoğalması yanında tümör hücrelerinin "ölümsüz" olmalarında da önemli rolü olduğu kabul edilmektedir. UDKA için ileri sürülen diğer bir anti-karsinogenetik mekanizma ise; telomeraz aktivitesini engellemesi ve böylece aberran kript odaklarının gelişimini baskılamasıdır. Ratlarda UDKA'nın kolorektal kanserin erken belirteci olan kolon mukozasındaki "aberran kript odakları" nı azalttığı birkaç çalışmada gösterilmiştir (44,45).

İnflamatuvar Barsak Hastalığı ve UDKA İle Kolon Kanseri Profilaksisi:

İnflamatuvar barsak hastalığı (İBH) olan hastalarda UDKA kullanımını ile ilgili birkaç çalışma mevcuttur.

Bu hastalar artmış kolorektal kanser insidansı nedeni ile özellikle önem kazanmışlardır. Aksi yönde yayınlar da olmasına rağmen; ülseratif kolit (ÜK) ve primer sklerozan kolanjit (PSK) beraberliğinde, yalnız ÜK'si olanlara göre, kolorektal kanser gelişme insidansının arttığı ileri sürülmektedir. İBH ve PSK olgularında literatürdeki ilk çalışma Tung ve arkadaşlarına aittir. Bu retrospektif çalışmada, 59 olgu incelenmiştir. Bunlardan 41'i UDKA almış olup 18'i ilaçsız takip edilen kontrol grubunu oluşturmuştur. Değerlendirme sonunda UDKA kullanımının kolonik displazi gelişimi üzerine kuvvetli baskılayıcı etkisi olduğu görülmüştür (Odds oranı 0.18; p=0.005). Ancak bu çalışmanın UDKA alan grup hastalarının daha yaşlı olması ve İBH öykülerinin daha kısa olması gibi açık tarafları vardır (46).

Pardi ve arkadaşlarının randomize ve plasebo kontrollü çalışmasında; 52 ÜK ve PSK tanılı hasta, toplam olarak 355 hasta yılı izlenmiştir. Çalışmaya yaklaşık 15 yıllık ÜK öyküsü olan pankolitli hastalar alınmıştır. Bunlardan 29'una UDKA, 23'üne plasebo verilmiş ve ortancası 42 ay olan izlem sonunda UDKA alan grupta 3 displazi olgusu (%10) görülür iken plasebo kolunda 6 displazi ve 2 kanser vakası saptanmış. Çalışma sonunda göreceli risk oranı 0.26 (%95 güven aralığı, 0.06–0.92, p=0.034) olarak bildirilmiştir. Çalışmanın yorumunda UDKA kolunda kolorektal neoplazi gelişme riskinin %74 oranında azaldığı belirtilmekle birlikte; kanser gelişen iki olgunun önce plasebo kolunda olduğu, daha sonra çapraz-randomizasyon ile UDKA koluna alındığında kanser saptandığı bildirilmektedir. Bu nedenle bu çalışmanın sonuçlarının dikkatle değerlendirilmeye ve teyit edilmeye ihtiyacı vardır (Şekil 1) (41).



Şekil 1. Ülseratif kolit ve primer sklerozan kolanjitli hastalarda UDKA kullanımının kolorektal displazi ve kanser gelişmesi üzerine etkisi (Pardi ve ark.'dan uyarlanmıştır) (41)

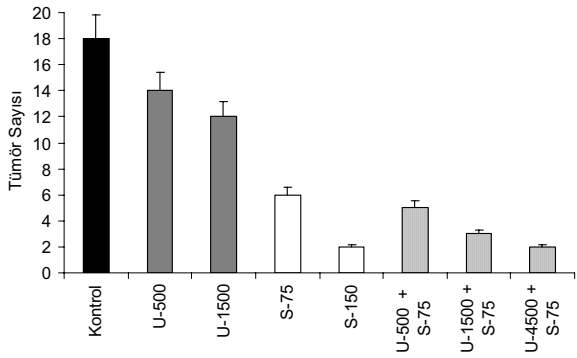
Yine İBH uygulandı yapılan daha yeni bir çalışmada; uzun süreli hastalık öyküsü olan (ortanca süresi 21 yıl), yaygın tutulumlu ve kolon mukozasında düşük dereceli displazi ve/veya DNA anöploidisi saptanan 19 İBH hastası (13 ÜK, 6 Crohn Hastalığı) UDKA (n= 10) ve plasebo (n= 9) kollarına randomize edilmişlerdir. Çift-kör ve iki yıl izlem süreli bu çalışmanın sonunda; UDKA kolunda hiçbir hastada displazi progresyonu gözlenmez iken, plasebo alan grupta bir hastada yüksek dereceli displaziye ilerleme, ikinci bir hastada ise düşük dereceli displaziye ek olarak DALM gelişmesi üzerine kolektomi endikasyonu konmuştur. Ancak gruplar arasında, muhtemelen olgu sayısının az veya izlem süresinin kısa olması nedenleri ile displazi skorlamaları açısından istatistiksel fark oluşmamıştır (47).

İBH'nin deneysel modelleri üzerinde de UDKA'nın terapötik etkisi değerlendirilmiştir. Özellikle Crohn hastalığının iyi bir deneysel modeli olan ratlarda İndometazin-ilişkili enteropati modelinde yapılan literatürdeki ilk çalışmalar, iki ayrı grup tarafından eşzamanlı olarak yayınlanan ve birbiri ile çelişen sonuçlar bildiren raporlardır. Kullmann ve ark. (48) 10 mg/kg/gün UDKA dozunda intestinal inflamasyonda azalma gözlemlenmişler, ancak Uchida ve ark. (49) 400 mg/kg/gün gibi suprafizyolojik dozda UDKA'nın intestinal inflamasyonu arttırdığını bildirmişlerdir. Bu kadar yüksek dozda UDKA uygulamasının sekonder safra asitlerinin düzeylerinde ve dolayısı ile safranin hidrofobisitesinde de artışa neden olarak deterjan etki gösterdiği ileri sürülmektedir. Bu konudaki yeni bir yayında ise, indometazine ek olarak UDKA alan ratlarda, yalnızca indometazin alanlara oranla, makro- ve mikroskopik intestinal hasar belirteçlerinde anlamlı azalma saptanmıştır. Bu araştırma grubu UDKA'nın oksidatif stresi ve intestinal bariyeri düzenleyici etkisinin, ilginç olarak, safra asidi kompozisyonunda değişikliğe yol açmadan oluştuğunu ileri sürmektedirler (50). Burada tanımlanan sadece 3 günlük UDKA uygulaması muhtemelen, henüz safra asidi kompozisyonunda anlamlı bir değişiklik meydana getirmeden, başka *lokal mekanizmalar* ile (intestinal bariyer stabilizasyonu ve anti-oksidan etki gibi) olumlu etkiler göstermektedir (50,51). Bu çalışmanın ışığında UDKA'nın akut etkisi safra asidi kompozisyonu değişikliğinden (safra içindeki UDKA oranından) bağımsızdır denilebilir.

UDKA İle NSAİİ'ların Kolon Kanseri Önleyici Etkilerini Karşılaştıran Çalışmalar:

NSAİİ'ların genel bir kanser önleyici etkisi olduğuna daha önce değinilmişti. Doğal olarak UDKA ile NSAİİ'ların bu etkileri çeşitli çalışmalarda karşılaştırılmıştır. Hatta bazı hayvan çalışmalarında UDKA piroksikama göre kolon kanserini önlemede daha etkin bulunmuştur (52). "Adenomatöz polipozis coli" (APC) genindeki otozomal, dominant, heterozigot ve non-sense bir mutasyon nedeni ile multipl intestinal tümörler gelişen "Min mutant sıçanlarda" yapılan bir çalışmada; sulindak ve UDKA'nın kombine kemoprevantif etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın ana rasyoneli; toksik etkisinin ortaya çıkmayacağı kadar düşük dozda verilen bir NSAİİ'ya kombine edilen UDKA'nın yüksek dozda NSAİİ'ya benzer veya daha iyi bir kemoprevantif etki oluşturup oluşturamayacağını gözlenmesidir. 30 günlük Min mutant sıçanlarının içme sularına 50 ppm sulindak konduğunda önemli bir toksisite görülmez iken 150 ppm dozunda haftalık kilo alışı hızlarında azalma saptanmıştır. Fakat doz 500 ppm'e çıktığında denek hayvanlarda belirgin morbidite ve mortalite artışı olmuştur. Bu nedenle 75 ppm gibi kolay tolere edilebilen ve orta derecede anti-karsinojen etki gösterebilecek dozda sulindak, UDKA ile kombine edilmiştir. Bu sulindak dozunda belirgin morbidite saptanmamış ve hiç mortalite olmamıştır. Çalışma sonucunda artan dozlarda UDKA eklenmesi ile sulindak'ın anti-tümöral etkisinde belirgin artış olduğu saptanmıştır (Şekil 2). Bu çalışmada saptanan önemli bir nokta da sulindak + UDKA kombinasyonu ile FAP modeli olan Min mutant sıçanlarda safra ile en çok karşılaşan bölge olan duodenal ve proksimal ince barsak tümörlerinde de belirgin azalma sağlanmış olmasıdır. Sporadik adenomlu hastaların birçoğunda da APC geni mutasyonu olduğundan bu tedavi yaklaşımı sporadik adenomlularda da faydalı olabilir (53).

Tümörlerin immun sistemin takibinden kaçış yollarından biri de hücrelerin MHC (doku uygunluk) antijen sunumlarının azaltılarak tümör antijenlerinin lenfositlerce yeterince tanınmamasıdır. Örneğin, kolon kanser kitleleri ve yakın çevrelerinde HLA sınıf I ve II antijenler kontrollere göre anlamlı şekilde azalmış iken, uzak bölgelerdeki HLA antijenlerinde farklılık saptanmamıştır (54). Bu nedenle ilaçlar ile MHC antijen sunumunun değiştirilmesi uygun bir hedef olabilir. Daha önce kolon adenokanser hücre kültüründe litokolik asidin HLA sınıf I antijen sunumu azalttığı bildirilmişti (55). Bir kolonik karsinojen olan azoksimetan verilen ratlarda kolik asit,



Şekil 2. Otozomal dominant heterozigot adenomatöz polipozis coli (APC) geni mutasyonu olan "Min mutant sıçanlarda" sulındak ve UDKA'nın intestinal tümör sayısına etkileri. Sıçanlara ilaçlar diyetle beraber 30–80 günlük oldukları dönemlerinde verilmiştir. Tüm ince ve kalın barsak tümörleri sayılmıştır. Veriler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir ve her grupta 8 sıçan vardır. Barlar sıçan başına düşen ortalama tümör sayısını göstermektedir. U-500: içme suyunda 500 ppm UDKA, U-1500: 1500 ppm UDKA, U-4500: 4500 ppm UDKA, S-75: içme suyunda 75 ppm sulındak, S-150: 150 ppm sulındak bulunması anlamına gelmektedir. Çizgi ile taranan barlar kombine tedaviyi belirtmektedir. (Jacoby ve ark.'dan uyarlanmıştır) (53)

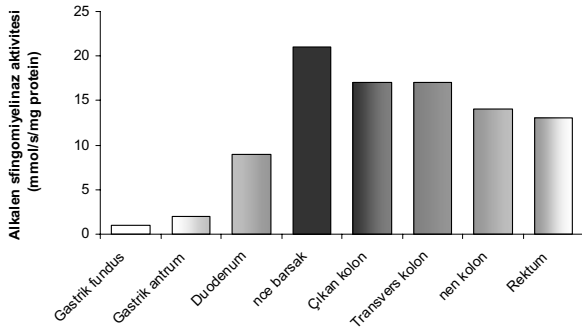
UDKA, kolik asit + UDKA ve piroksikam'ın MHC antijenlerinin sunumu üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda UDKA'nın azoksimetan verilen ratlarda kolonik MHC antijenlerinin sunumunu arttırdığı, azoksimetan verilmeyenlerde ise değıştirmedeği saptanmıştır. Bu durum hem HLA sınıf I, hem de sınıf II antijenler için geçerlidir. Kolik asit eklenmesi ise bu durumu ancak zayıflatmaktaydı. Bu çalışmada MHC antijen sunumu ile tümör oluşumu arasında muhtemel bir ilişki olduğu ileri sürülmektedir ve UDKA'nın koruyucu etkisinin MHC sunumuna ile paralel olarak arttığı belirtilmektedir. Ancak bu ilişkinin sebebi açıkça ortaya konamamıştır. Ayrıca piroksikamın etkisinin de UDKA etkisine benzediği ve azoksimetan verilen ratlarda kolonik sınıf I ve II MHC antijenlerinin sunumunu arttırdığı gözlenmiştir (56). UDKA premalign dokularda HLA antijenlerinin sunumunu uyarır, protein kinaz-ilişkili yolak ile hücre çoğalma ve farklılaşmasını değıştirerek malign sürecin başlamasına engel olabilir (57).

Araşidonik asit metabolitlerinin birçok organ kansinogenezinde rolü olduğu ileri sürülmektedir. Örneğin, araşidonik asit metabolizmasının hız sınırlayıcı enzimlerinden olan fosfolipaz A₂ aktivitesinin kolon

kanserli hastalarda arthğı bildirilmiştir (58). Kolonik mukozal lümeninde sekonder safra asitlerinin artmasının yine lümendeki fosfolipaz A₂ aktivitesini de arttırdığı saptanmıştır. Yani araşidonik asit metabolizması ile sekonder safra asitleri arasındaki ilişki burada da vurgulanmaktadır. Sekonder safra asitleri ile aktive olan fosfolipaz A₂, araşidonik asit metabolitlerinin salınımını hızlandırır. Azoksimetan verilen ratların kolon mukozalarında PGE₂ ve 6-ke-to PGF1 α seviyeleri artmakta iken, UDKA verilenlerde belirgin şekilde azalmaktadır (59). Ayrıca UDKA'nın kolon kanserli hastalarda sık görülen K-ras mutasyonlarına bağılı olsun veya olmasın siklo-oksijenaz-2 sunumunu da azalttığı bildirilmiştir (60). Bu bulgular UDKA'nın araşidonik asit metabolizmasını da etkilediğini düşündürmektedir.

UDKA'nın İntestinal Alkale Sfingomiyelinaz Üzerine Etkisi:

Sfingomiyelin metabolizması üzerine ilgi giderek artmaktadır. Çünkü sfingomiyelin hidrolizi ile oluşan ürünler hücre çoğalması ve farklılaşması üzerinde önemli etkilere sahiptirler. Sfingomiyelinin hidrolizinde ilk basamak sfingomiyelinaz ile katalize edilir ve bu enzim sfingomiyelin seramid ve fosfolipid ayırır. İki tip sfingomiyelinaz tanımlanmıştır; ilki "asidik sfingomiyelinaz" dir ve lizozomlarda bulunur. Bu hücre içindeki sfingomiyelin parçalar ve eksikliğinde "Niemann-Pick Hastalığı" oluşur. Diğeri ise "nötral sfingomiyelinaz" dir ve bu hücre yüzeyinde bulunur. Bunun görevi ise hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptozisini düzenleyen lipid mesajcılarının oluşturulmasıdır (61). Yaklaşık 35 yıl önce Nilsson ve ark. intestinal mukozada bulunan bir sfingomiyelinaz daha tanımlamışlardır (62,63). Bu en yüksek aktivitesi pH 9.2'de olan "alkalen sfingomiyelinaz" ın dokulardaki dağılımı üzerine ratlarda yapılan bir çalışmada; en yüksek seviyenin jejunumda (fırçamsı kenarda) olduğu saptanmıştır. İleum ve kolonda daha düşük seviyeler ölçülmüş olup, mide, duodenum, pankreas ve karaciğerde hiç alkale sfingomiyelinaz aktivitesi tespit edilememiştir (61). Alkale sfingomiyelinazın aktive olabilmesi için alkale pH, dolayısı ile safra asitleri gereklidir. Bu enzim tripsine karşı dayanıklı olup diyetle alınan sfingomiyelinin parçalanmasında önem kazanmaktadır. Ardından insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda; alkale sfingomiyelinaz aktivitesinin mide de hiç olmadığı, duodenumda artmaya başladığı ve en yüksek seviyelerine ince barsakta ulaştıktan sonra kolon ve rektumda giderek aktivitesini kaybettiği izlenmiştir (Şekil 3) (64). İnsan safrasında da alkale sfingomiyelinaz



Şekil 3. Alkalen sfingomiyelinaz aktivitesinin insan gastrointestinal kanalında dağılımı. (Duan ve ark.'dan uyarlanmıştır) (64)

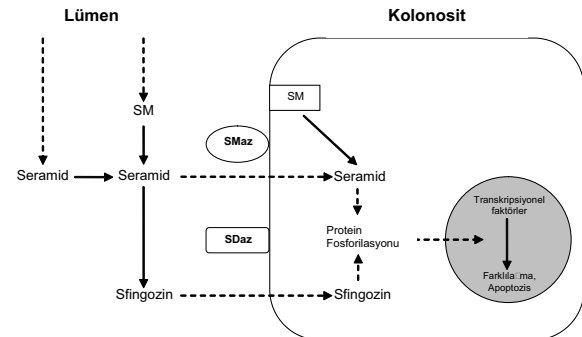
saptanmıştır (65), ancak yukarıda belirtilen dağılım safranin gastrointestinal kanal lümenindeki yoğunluğuna paralel gibi gözükmemektedir. Çünkü duodenumda distal ileum ve kolondan çok daha az miktarda bulunduğu görülmüştür. Ayrıca rat, hamster ve domuz safirasında alkalen sfingomiyelinaz bulunmamasına rağmen intestinal kanallarda saptanmıştır. Diyetle alınan sfingomiyelin sfingomiyelinazın substratıdır ve kolon kanseri oluşmasına inhibitör etki göstermektedir. Ratlarda diyetteki saflaştırılmış sfingomiyelin miktarının artırılması ile aberran kript odaklarının sayısının %70 oranında azaldığı gösterilmiştir (66).

İntestinal mukozal membran sfingolipidlerden zengin olduğundan ve enterositler çok hızlı farklılaşmaya uğradığından dolayı, alkalen sfingomiyelinazın enterosit çoğalma ve farklılaşmasında önemli olduğu ileri sürülmektedir. Alkalen sfingomiyelinazın intestinal karsinogenez üzerinde inhibitör etkisi vardır. Örneğin, alkalen sfingomiyelinaz seviyelerinin çok yüksek olduğu ince barsakta kanser insidansı çok azdır. Ratlarda bir kolon kanserini olan 1,2-dimetil-hidrazin verilmesi ile kolon mukozasında sfingomiyelin birikimi ve nötral sfingomiyelinaz aktivitesinde de azalma olduğu tespit edilmiştir (67). Kolorektal kanser dokusunda, normal dokulara göre, her üç sfingomiyelinaz (alkalen, nötral ve asidik) aktivitesinde de azalma olduğu bildirilmiştir (68). En belirgin azalma alkalen sfingomiyelinazda olmakta ve tümör dokusunda aktivitesi yaklaşık %75 kadar (asidik sfingomiyelinazın 2 katı) düşmektedir. Alkalen sfingomiyelinaz aktivitesinde azalma malign dönüşümün erken safhasında görülmekte ve henüz adenom seviyesinde iken aktivitede azalma %50'ler seviyesinde olmaktadır. Familial adenomatöz polipozis (FAP) hastalarında alkalen sfingomiyelinaz aktivitesinde

%90 düşüş tespit edilmiştir (69). FAP'da görülen APC geni mutasyonu ile alkalen sfingomiyelinaz aşağı-regülasyonu arasında ilişki olmadığı da son zamanlarda ortaya konmuştur (70). Ancak adenomdan karsinoma ilerleyen yolda apoptosise karşı sürekli artan bir direnç olduğu bilinmektedir ve alkalen sfingomiyelinazın aktivitesindeki defektin buna neden olduğu U937 insan monosit-benzeri hücrelerinde gösterilmiştir (71).

Sfingomiyelin sindirimi ile kolonosit çoğalması arasındaki hipotetik ilişki Şekil 4'de özetlenmiştir. Sfingomiyelinin yavaşlamış ve tam olmayan sindirimi ve absorpsiyonu sonucunda çok miktarda sfingomiyelin ve onun ürünü seramid kolon lümenine gelmektedir. Bunlar alkalen sfingomiyelinaz ve seramidaz ile parçalandıktan sonra hücre içine girmekte ve intrasellüler seramid ve sfingozin düzeylerini yükseltmektedirler. Kolonik intrasellüler seramid aynı zamanda membrana bağlı sfingomiyelininden de üretilebilmektedir. Seramid ve sfingozin protein fosforilasyonu düzeyini değiştirmekte ve nükleusa sinyal göndererek hücre çoğalmasını inhibe ederken, apoptosise uyarılmaktadır (72). Seramidin intrasellüler protein fosforilasyon düzeyini ayarlamak için protein kinaz C (PKC) ailesine ait bir izoenzim olan PKC ζ 'yi aktive eder. PKC ζ 'da transkripsiyonal faktör NF- κ B'yi aktive ederek hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptosisini kontrol eder (73).

Bu hipotetik bilgi ve klinik gözlemlerin ışığında sfingomiyelin metabolizması üzerinde UDKA ve diğer safra asitlerinin etkileri merak konusu olmuştur. Bu amaçla ratlarda yapılan bir çalışmada öncelikle taurokolat, taurodeoksikolat, glikokolat, glikodeoksikolat ve CHAPS (bir non-fizyolojik



Şekil 4. Sfingomiyelin ve seramid'in kolonosit büyüme ve farklılaşması üzerine muhtemel etki mekanizması (Duan RD'den uyarlanmıştır) (72). SM = Sfingomiyelin; SMaz = Sfingomiyelinaz; SDaz = Seramidaz

deterjan) ile intestinal mukozadaki alkalin sfingomiyelinazın ayrıldığı ve lümeneye geçtiği gözlenirken, UDKA alanlarda bunun olmadığı izlenmiştir. Ayrıca UDKA diğer safra tuzları ile kombine verildiğinde yine alkalin sfingomiyelinazın intestinal mukozadan ayrılmasına engel olmaktadır. Normalde fizyolojik koşullarda da safra asitlerinin mukozadaki alkalin sfingomiyelinazın ayrılmasına yönelik hafif bir etkisi vardır. Ancak lümendeki yüksek safra asidi düzeylerinde bu ayrılma çok artmakta, enzimin sentez hızını geçmekte ve kolon karsinogenezinde değinilen düşük mukozal alkalin sfingomiyelinaz seviyeleri tehlikesi meydana gelmektedir. Gerçekten de bu çalışmada ratların diyetine 4 gün %0.3 taurokolat ile eklenmesi ile alkalin sfingomiyelinazın total aktivitesi %20, tepe aktivitesi %39 azalmakta iken, diyete aynı doz ve süre UDKA eklenmesi ile alkalin sfingomiyelinazın total aktivitesi %80, tepe aktivitesi ince barsakta

%87, kolonda %187 artmıştır (74). UDKA'nın hem mukozadaki, hem de feçesteki alkalin sfingomiyelinaz seviyelerini artırması bu enzimin biyosentezi de artırdığını düşündürmektedir. Ayrıca UDKA'nın protein kinaz C izoformları (PKC ζ gibi) üzerinde de etkisi vardır ve özellikle karsinogenlerin oluşturduğu PKC değişikliklerini engeller (75).

Sonuç olarak; predispozan faktörlerin giderek daha iyi tanınması ile kolorektal kanserlerin primer ve sekonder korunma yöntemleri önem kazanmaktadır. UDKA gerek kolorektal karsinogenezde geçerli birçok patogenetik mekanizma üzerinde olumlu etkilerinin olduğunun gösterilmesi, gerek iyi tolere edilip yan etki profilinin düşük olması gibi nedenlerle kolorektal kanser kemoprevansiyonunda umut vermektedir. Ancak yine de klinik kullanımda etkinliğinin değerlendirilebilmesi için geniş ve uzun dönemli kesitsel çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005 Mar-Apr; 55(2): 74-108.
2. Levin B. Colorectal cancer, In: Kelsen DP, Daly JM, Kern SE, et al. *Gastrointestinal Oncology: Principles and Practice.* 1st ed. Philadelphia. Lippincott Williams and Wilkins 2002; 663-4.
3. Ferguson LR, Philpott M, Karunasinghe N. Dietary cancer and prevention using antimutagens. *Toxicology.* 2004 May 20; 198(1-3): 147-59.
4. Mandel JS, Church TR, Bond JH, et al. The effect of fecal occult-blood screening on the incidence of colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2000 Nov 30; 343(22): 1603-7.
5. Selby JV, Friedman GD, Quesenberry CP Jr, et al. A case-control study of screening sigmoidoscopy and mortality from colorectal cancer. *N Engl J Med.* 1992 Mar 5; 326(10): 653-7.
6. Brasitus TA. Primary chemoprevention strategies for colorectal cancer: ursodeoxycholic acid and other agents. *Gastroenterology.* 1995 Dec; 109(6): 2036-8.
7. Kronborg O, Fenger C, Olsen J, et al. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test. *Lancet.* 1996 Nov 30; 348(9040): 1467-71.
8. Newcomb PA, Norfleet RG, Storer BE, et al. Screening sigmoidoscopy and colorectal cancer mortality. *J Natl Cancer Inst.* 1992 Oct 21; 84(20): 1572-5.
9. Trock B, Lanza E, Greenwald P. Dietary fiber, vegetables, and colon cancer: critical review and meta-analyses of the epidemiologic evidence. *J Natl Cancer Inst.* 1990 Apr 18; 82(8): 650-61.
10. Roncucci L, Di Donato P, Carati L, et al. Antioxidant vitamins or lactulose for the prevention of the recurrence of colorectal adenomas. *Colorectal Cancer Study Group of the University of Modena and the Health Care District 16. Dis Colon Rectum.* 1993 Mar; 36(3): 227-34.
11. Greenberg ER, Baron JA, Tosteson TD, et al. A clinical trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma. *Polyp Prevention Study Group. N Engl J Med.* 1994 Jul 21; 331(3): 141-7.
12. Baron JA, Beach M, Mandel JS, et al. Calcium supplements for the prevention of colorectal adenomas. *Calcium Polyp Prevention Study Group. N Engl J Med.* 1999 Jan 14; 340(2): 101-7.
13. Thun MJ, Henley SJ, Patrono C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *J Natl Cancer Inst.* 2002 Feb 20; 94(4): 252-66.
14. Gann PH 1993 85 (Aspirin 5 yıl izlem) Gann PH, Manson JE, Glynn RJ, Buring JE, Hennekens CH. Low-dose aspirin and incidence of colorectal tumors in a randomized trial. *J Natl Cancer Inst.* 1993 Aug 4; 85(15): 1220-4.
15. Sturmer T, Glynn RJ, Lee IM, et al. Aspirin use and colorectal cancer: post-trial follow-up data from the Physicians' Health Study. *Ann Intern Med.* 1998 May 1; 128(9): 713-20.
16. Sandler RS, Halabi S, Baron JA, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas in patients with previous colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2003 Mar 6; 348(10): 883-90.

17. Baron JA, Cole BF, Sandler RS, et al. A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. *N Engl J Med*. 2003 Mar 6; 348(10): 891-9.
18. Grodstein F, Newcomb PA, Stampfer MJ. Postmenopausal hormone therapy and the risk of colorectal cancer: a review and meta-analysis. *Am J Med*. 1999 May; 106(5): 574-82.
19. Shekels LL, Beste JE, Ho SB. Tauroursodeoxycholic acid protects in vitro models of human colonic cancer cells from cytotoxic effects of hydrophobic bile acids. *J Lab Clin Med*. 1996 Jan; 127(1): 57-66.
20. Bull AW, Marnett LJ, Dawe EJ, et al. Stimulation of deoxythymidine incorporation in the colon of rats treated intrarectally with bile acids and fats. *Carcinogenesis*. 1983; 4(2): 207-10.
21. Stadler J, Yeung KS, Furrer R, et al. Proliferative activity of rectal mucosa and soluble fecal bile acids in patients with normal colons and in patients with colonic polyps or cancer. *Cancer Lett*. 1988 Jan; 38(3): 315-20.
22. Moskovitz M, White C, Barnett RN, et al. Diet, fecal bile acids, and neutral sterols in carcinoma of the colon. *Dig Dis Sci*. 1979 Oct; 24(10): 746-51.
23. Ekblom A, Yuen J, Adami HO, et al. Cholecystectomy and colorectal cancer. *Gastroenterology*. 1993 Jul; 105(1): 142-7.
24. Gudmundsson S, Moller TR, Olsson H. Cancer incidence after cholecystectomy--a cohort study with 30 years follow-up. *Eur J Surg Oncol*. 1989 Apr; 15(2): 113-7.
25. Nielsen GP, Theodors A, Tulinius H, et al. Cholecystectomy and colorectal carcinoma: a total-population historical prospective study. *Am J Gastroenterol*. 1991 Oct; 86(10): 1486-90.
26. Bayerdorffer E, Mannes GA, Richter WO, et al. Increased serum deoxycholic acid levels in men with colorectal adenomas. *Gastroenterology*. 1993 Jan; 104(1): 145-51.
27. Bayerdorffer E, Mannes GA, Ochsenkuhn T, et al. Unconjugated secondary bile acids in the serum of patients with colorectal adenomas. *Gut*. 1995 Feb; 36(2): 268-73.
28. Ochsenkuhn T, Bayerdorffer E, Meining A, et al. Colonic mucosal proliferation is related to serum deoxycholic acid levels. *Cancer*. 1999 Apr 15; 85(8): 1664-9.
29. Martinez JD, Stratagoules ED, LaRue JM, et al. Different bile acids exhibit distinct biological effects: the tumor promoter deoxycholic acid induces apoptosis and the chemopreventive agent ursodeoxycholic acid inhibits cell proliferation. *Nutr Cancer*. 1998; 31(2): 111-8.
30. Qiao D, Chen W, Stratagoules ED, et al. Bile acid-induced activation of activator protein-1 requires both extracellular signal regulated kinase and protein kinase C signaling. *J Biol Chem*. 2000 May 19; 275(20): 15090-8.
31. White BA, Fricke RJ, Hylemon PB. 7 beta-Dehydroxylation of ursodeoxycholic acid by whole cells and cell extracts of the intestinal anaerobic bacterium, *Eubacterium species V*. P. I. 12708. *J Lipid Res*. 1982 Jan; 23(1): 145-53.
32. Kurtz WJ, Guldutuna S, Leuschner U. Differing effect of chenodeoxycholic acid and ursodeoxycholic acid on bile acids in rat colonic wall and contents. *Tokai J Exp Clin Med*. 1988 Jun; 13(2): 91-7.
33. Batta AK, Salen G, Holubec H, et al. Enrichment of the more hydrophilic bile acid ursodeoxycholic acid in the fecal water-soluble fraction after feeding to rats with colon polyps. *Cancer Res*. 1998 Apr 15; 58(8): 1684-7.
34. Bazzoli F, Fromm H, Sarva RP, et al. Comparative formation of lithocholic acid from chenodeoxycholic and ursodeoxycholic acids in the colon. *Gastroenterology*. 1982 Oct; 83(4): 753-60.
35. Alberts DS, Einspahr JG, Earnest DL, et al. Fecal bile acid concentrations in a subpopulation of the wheat bran fiber colon polyp trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2003 Mar; 12(3): 197-200.
36. Morotomi M, Guillem JG, LoGerfo P, et al. Production of diacylglycerol, an activator of protein kinase C, by human intestinal microflora. *Cancer Res*. 1990 Jun 15; 50(12): 3595-9.
37. Nomoto K, Morotomi M, Miyake M, et al. The effects of bile acids on phospholipase C activity in extracts of normal human colon mucosa and primary colon tumors. *Mol Carcinog*. 1994 Feb; 9(2): 87-94.
38. Earnest DL, Holubec H, Wali RK, et al. Chemoprevention of azoxymethane-induced colonic carcinogenesis by supplemental dietary ursodeoxycholic acid. *Cancer Res*. 1994 Oct 1; 54(19): 5071-4.
39. Alberts DS, Martinez ME, Hess LM, et al. Phoenix and Tucson Gastroenterologist Networks. Phase III trial of ursodeoxycholic acid to prevent colorectal adenoma recurrence. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Jun 1; 97(11): 846-53.
40. Im E, Martinez JD. Ursodeoxycholic acid (UDCA) can inhibit deoxycholic acid (DCA)-induced apoptosis via modulation of EGFR/Raf-1/ERK signaling in human colon cancer cells. *J Nutr*. 2004 Feb; 134(2): 483-6.
41. Pardi DS, Loftus EV Jr, Kremers WK, et al. Ursodeoxycholic acid as a chemopreventive agent in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology*. 2003 Apr; 124(4): 889-93.
42. Rodrigues CM, Fan G, Ma X, et al. A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. *J Clin Invest*. 1998 Jun 15; 101(12): 2790-9.
43. Rodrigues CM, Ma X, Linehan-Stieers C, et al. Ursodeoxycholic acid prevents cytochrome c release in apoptosis by inhibiting mitochondrial membrane depolarization and channel formation. *Cell Death Differ*. 1999 Sep; 6(9): 842-54.
44. Ikegami T, Matsuzaki Y, Shoda J, et al. The chemopreventive role of ursodeoxycholic acid in azoxymethane-treated rats: suppressive effects on enhanced group II phospholipase A2 expression in colonic tissue. *Cancer Lett*. 1998 Dec 25; 134(2): 129-39.

45. Narisawa T, Fukaura Y, Terada K, et al. Inhibitory effects of ursodeoxycholic acid on N-methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis and colonic mucosal telomerase activity in F344 rats. *J Exp Clin Cancer Res.* 1999 Jun; 18(2): 259-66.
46. Tung BY, Emond MJ, Haggitt RC, et al. Ursodiol use is associated with lower prevalence of colonic neoplasia in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Ann Intern Med.* 2001 Jan 16; 134(2): 89-95.
47. Sjoqvist U, Tribukait B, Ost A, et al. Ursodeoxycholic acid treatment in IBD-patients with colorectal dysplasia and/or DNA-aneuploidy: a prospective, double-blind, randomized controlled pilot study. *Anticancer Res.* 2004 Sep-Oct; 24(5B): 3121-7.
48. Kullmann F, Gross V, Ruschoff J, et al. Effect of ursodeoxycholic acid on the inflammatory activity of indomethacin-induced intestinal inflammation in rats. *Z Gastroenterol.* 1997 Mar; 35(3): 171-8.
49. Uchida A, Yamada T, Hayakawa T, et al. Taurochenodeoxycholic acid ameliorates and ursodeoxycholic acid exacerbates small intestinal inflammation. *Am J Physiol.* 1997 May; 272(5 Pt 1): G1249-57.
50. Bernardes-Silva CF, Damiao AO, Sipahi AM, et al. Ursodeoxycholic acid ameliorates experimental ileitis counteracting intestinal barrier dysfunction and oxidative stress. *Dig Dis Sci.* 2004 Oct; 49(10): 1569-74.
51. Guldutuna S, Zimmer G, Imhof M, et al. Molecular aspects of membrane stabilization by ursodeoxycholate. *Gastroenterology.* 1993 Jun; 104(6): 1736-44.
52. Earnest DL, Holubec H, Wali RK, et al. Chemoprevention of azoxymethane-induced colonic carcinogenesis by supplemental dietary ursodeoxycholic acid. *Cancer Res.* 1994 Oct 1; 54(19): 5071-4.
53. Jacoby RF, Cole CE, Hawk ET, et al. Ursodeoxycholate/Sulindac combination treatment effectively prevents intestinal adenomas in a mouse model of polyposis. *Gastroenterology.* 2004 Sep; 127(3): 838-44.
54. McDougall CJ, Ngoi SS, Goldman IS, et al. Reduced expression of HLA class I and II antigens in colon cancer. *Cancer Res.* 1990 Dec 15; 50(24): 8023-7.
55. Arvind P, Papavassiliou ED, Tsioulis GJ, et al. Lithocholic acid inhibits the expression of HLA class I genes in colon adenocarcinoma cells. Differential effect on HLA-A, -B and -C loci. *Mol Immunol.* 1994 Jun; 31(8): 607-14.
56. Rigas B, Tsioulis GJ, Allan C, et al. The effect of bile acids and piroxicam on MHC antigen expression in rat colonocytes during colon cancer development. *Immunology.* 1994 Oct; 83(2): 319-23.
57. Brasitus TA. Primary chemoprevention strategies for colorectal cancer: ursodeoxycholic acid and other agents. *Gastroenterology.* 1995 Dec; 109(6): 2036-8.
58. Hendrickse CW, Radley S, Donovan IA, et al. Activities of phospholipase A2 and diacylglycerol lipase are increased in human colorectal cancer. *Br J Surg.* 1995 Apr; 82(4): 475-8.
59. Ikegami T, Matsuzaki Y, Shoda J, et al. The chemopreventive role of ursodeoxycholic acid in azoxymethane-treated rats: suppressive effects on enhanced group II phospholipase A2 expression in colonic tissue. *Cancer Lett.* 1998 Dec 25; 134(2): 129-39.
60. Khare S, Cerda S, Wali RK, et al. Ursodeoxycholic acid inhibits Ras mutations, wild-type Ras activation, and cyclooxygenase-2 expression in colon cancer. *Cancer Res.* 2003 Jul 1; 63(13): 3517-23.
61. Duan RD, Nyberg L, Nilsson A. Alkaline sphingomyelinase activity in rat gastrointestinal tract: distribution and characteristics. *Biochim Biophys Acta.* 1995 Oct 26; 1259(1): 49-55.
62. Nilsson A. Metabolism of sphingomyelin in the intestinal tract of the rat. *Biochim Biophys Acta.* 1968 Dec 18; 164(3): 575-84.
63. Nilsson A. The presence of sphingomyelin- and ceramide-cleaving enzymes in the small intestinal tract. *Biochim Biophys Acta.* 1969 Mar 4; 176(2): 339-47.
64. Duan RD, Hertervig E, Nyberg L, et al. Distribution of alkaline sphingomyelinase activity in human beings and animals. Tissue and species differences. *Dig Dis Sci.* 1996 Sep; 41(9): 1801-6.
65. Nyberg L, Duan RD, Axelson J, et al. Identification of an alkaline sphingomyelinase activity in human bile. *Biochim Biophys Acta.* 1996 Mar 29; 1300(1): 42-8.
66. Schmelz EM, Dillehay DL, Webb SK, et al. Sphingomyelin consumption suppresses aberrant colonic crypt foci and increases the proportion of adenomas versus adenocarcinomas in CF1 mice treated with 1, 2-dimethylhydrazine: implications for dietary sphingolipids and colon carcinogenesis. *Cancer Res.* 1996 Nov 1; 56(21): 4936-41.
67. Dudeja PK, Dahiya R, Brasitus TA. The role of sphingomyelin synthetase and sphingomyelinase in 1, 2-dimethylhydrazine-induced lipid alterations of rat colonic plasma membranes. *Biochim Biophys Acta.* 1986 Dec 16; 863(2): 309-12.
68. Hertervig E, Nilsson A, Nyberg L, et al. Alkaline sphingomyelinase activity is decreased in human colorectal carcinoma. *Cancer.* 1997 Feb 1; 79(3): 448-53.
69. Hertervig E, Nilsson A, Bjork J, et al. Familial adenomatous polyposis is associated with a marked decrease in alkaline sphingomyelinase activity: a key factor to the unrestrained cell proliferation? *Br J Cancer.* 1999 Sep; 81(2): 232-6.
70. Hertervig E, Nilsson A, Nilbert M, et al. Reduction in alkaline sphingomyelinase in colorectal tumorigenesis is not related to the APC gene mutation. *Int J Colorectal Dis.* 2003 Jul; 18(4): 309-13.

-
71. Wright SC, Zheng H, Zhong J. Tumor cell resistance to apoptosis due to a defect in the activation of sphingomyelinase and the 24 kDa apoptotic protease (AP24). *FASEB J*. 1996 Feb; 10(2): 325-32.
72. Duan RD. Sphingomyelin hydrolysis in the gut and clinical implications in colorectal tumorigenesis and other gastrointestinal diseases. *Scand J Gastroenterol*. 1998 Jul; 33(7): 673-83.
73. Lozano J, Berra E, Municio MM, et al. Protein kinase C zeta isoform is critical for kappa B-dependent promoter activation by sphingomyelinase. *J Biol Chem*. 1994 Jul 29; 269(30): 19200-2.
74. Duan RD, Cheng Y, Tauschel HD, et al. Effects of ursodeoxycholate and other bile salts on levels of rat intestinal alkaline sphingomyelinase: a potential implication in tumorigenesis. *Dig Dis Sci*. 1998 Jan; 43(1): 26-32.
75. Wali RK, Frawley BP Jr, Hartmann S, et al. Mechanism of action of chemoprotective ursodeoxycholate in the azoxymethane model of rat colonic carcinogenesis: potential roles of protein kinase C-alpha, -beta II, and -zeta. *Cancer Res*. 1995 Nov 15; 55(22): 5257-64.