

INHIBISI AKTIVITAS PROLIFERASI SEL DAN PERUBAHAN HISTOPATOLOGIS MUKOSA WISTAR DENGAN PEMBERIAN PERASAN SELEDRI

Aswiyanti Asri

Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
E-mail: Aswiyanti.Asri@gmail.com

Abstrak

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian perasan seledri pada tikus wistar yang diinduksi karsinogenesis kolon.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa seledri dapat mencegah karsinogenesis kolon pada tikus wistar yang diinduksi dengan 1,2 dimethylhydrazine (DMH) dengan dan tanpa diet tinggi lemak dan tinggi protein.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain *randomized post test control group*. Subyek penelitian adalah 25 ekor tikus wistar jantan berusia 12 minggu yang dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I mendapat injeksi 1,2 DMH subkutan; kelompok II mendapat injeksi 1,2 DMH dan seledri per oral ; kelompok III mendapat injeksi 1,2 DMH subkutan dan diet tinggi lemak dan protein sedangkan kelompok IV selain mendapat injeksi 1,2 DMH subkutan dan diet tinggi lemak dan protein, juga diberi seledri per oral. Perlakuan untuk kelompok I –IV diberikan selama 12 minggu. Sedangkan kelompok V mendapat 1,2 DMH dan seledri selama 16 minggu.

Setelah masa perlakuan berakhir, semua tikus dimatikan dan usus besar diambil. Untuk menilai perubahan histopatologik salah satu potongan diproses dan diwarnai dengan HE. Potongan yang lain diwarnai dengan teknik argirofilik dari Ploton untuk analisis aktivitas proliferasi sel. Perubahan histopatologis dinilai secara mikroskopik sesuai kriteria WHO sedangkan aktivitas proliferasi sel dinilai dari jumlah titik AgNOR.

Perubahan histopatologik menunjukkan bahwa tikus yang diinduksi dengan 1,2 DMH atau disertai diet tinggi lemak dan protein mengalami perubahan morfologik dan displasia yang lebih berat dibanding tikus yang diinduksi dan diberi seledri.

Analisis statistik memakai uji Mann-Whitney didapatkan perbedaan bermakna aktivitas proliferasi sel antara kelompok yang diberi 1,2 DMH dan seledri dengan kelompok yang hanya diberi 1,2 DMH. Pemberian seledri mampu menghambat perubahan histopatologis dan aktivitas proliferasi argrophylic nucleolar regions (AgNOR) sel epitel mukosa pada tikus yang diinduksi karsinogenesis kolon dengan 1,2 DMH atau disertai diet tinggi lemak dan protein.

*Kata Kunci : Karsinogenesis kolon, Seledri, 1,2 DMH, Diet tinggi lemak dan protein
Perubahan histopatologis, hitung AgNOR*

Abstract

Has been done research on the effect of celery juice to wistar rats that induced for colon carcinogenesis. Specifically, the aim of this research is to prove celery

could prevent the colon carcinogenesis of wistar rats which induced while 1.2 DMH in condition with or without high fat high protein dietary.

This study was an experimental study with randomized post test control group. Design totally 25 male wistar rats, aged 12 weeks which randomly divided into five groups, each group consist of 5 rats. Each group were treated by s.c injection of 20 mg/kgBW 1.2 DMH which had been injected once a week. Groups II, IV and V had orally been given a juice celery everyday. Whereas, groups III and IV were fed with the high fat high protein diet, ad libitum. Such above treatment mentioned was treated to all of groups I to IV for 12 weeks, but group V treated for 16 weeks.

After the limit of this treatment was finished, all rats were terminated, and large intestines were resected. For the purpose of the histopathological evaluation one of cut sections processed by histological procedures regularly and stained with H&E. The other of sections was stained by using the argyrophilic techniques as described by Ploton to analyses the activity of cell proliferation. Histopathological pattern in form of epithelial changes had been evaluated by using WHO's criterias. AgNOR dots were calculated in the nucleus of 100 epithelial cells by using high power fields with emersion oil.

The results of histopathological changes indicated the rats induced by 1.2 DMH only or with high fat high protein diet demonstrated a higher degren on morphological changes and dysplasia when it was compared with the group of rats given by celery beside carcinogenic agents. By having analyzed to group I against group II by using Mann-Whittney U-test, it significant differences for cell proliferative activity. This study concluded that celery was effective to prevent histopathological changes and decrease the activity of cell proliferation (AgNOR) in 1.2 DMH induced colon tumors.

Keywords: Colon carcinogenesis, celery, 1.2 DMH, high fat high protein diet, histopathological changes, AgNOR count

PENDAHULUAN

Kanker kolorektal berkembang melalui serangkaian tumorigenesis histologis. Perubahan epitelial tersebut telah terbukti disertai oleh perubahan genetik.⁽¹⁾ Perubahan epitelial tersebut mulai dari epitel normal, epitel hiperproliferatif, adenoma dan karsinoma yang disertai displasia.^(2,3)

Perubahan lain yang terjadi pada awal progresifitas sel normal menjadi sel kanker adalah peningkatan proliferasi sel.⁽⁴⁾ *Nucleolar organizer regions* (NORs) akhir-akhir ini banyak dipakai untuk mengukur aktivitas proliferasi sel.⁽⁵⁾ Menurut *Schwint et.al* yang dikutip dari Ahmad Ghozali dkk. Pada tahun 1997, jumlah AgNOR dapat membedakan antara epitel mulut yang normal dengan epitel mulut di dekat karsinoma epidermoid yang masih terlihat normal dan belum menunjukkan tanda-tanda displasia. Pada penelitian tersebut jumlah AgNOR dianggap dapat mendeteksi adanya perubahan seluler sebelum perubahan morfologi terjadi, yaitu peningkatan aktivitas proliferasi pada mukosa mulut di dekat karsinoma epidermoid.⁽⁵⁾

Seledri dikenal dengan nama ilmiah *Apium graveolens*, merupakan salah satu tumbuhan dengan kandungan antioksidan tinggi.^(6,7) *Apium graveolens* mengandung senyawa aktif *lutein*, *flavonoid* (*apigenin*, *apiin*), *sedanolide* dan serat.^(6,8)

The US Department of Agriculture-Nutrition Coordinating Centre menyatakan bahwa intake *lutein* berhubungan dengan turunnya risiko kanker kolon.⁽⁹⁾ *Kim JM et.al* pada tahun 1998 mengemukakan bahwa *lutein* mempunyai potensi sebagai agen kemopreventif melawan karsinogenesis kolon.⁽⁸⁾ Dalam suatu studi dengan sampel penderita kanker kolorektal dan tidak, ditemukan bahwa orang yang mengkonsumsi diet kaya *lutein* (dari seledri, bayam, tomat, wortel, selada,

brokoli, jeruk) secara signifikan lebih sedikit menderita kanker kolorektal.⁽¹⁰⁾

Apium graveolens mengandung bahan aktif *sedanolide*, dan *apigenin* yang mempunyai kemampuan untuk menghambat enzim COX-1 dan COX-2. COX-2 berperan dalam sintesa PG-E₂, yang berfungsi meningkatkan proses inflamasi. Proses inflamasi, bila berlangsung kronik, menyebabkan perubahan mukosa kolon menuju keganasan.⁽¹¹⁾ *Van Dross R et. al* (2003) melaporkan bahwa *apigenin* berperan sebagai zat kemopreventif terhadap kultur sel karsinoma kolon.⁽¹²⁾

Apium graveolens memiliki kandungan serat cukup tinggi (1,7 g/100 g).⁽¹³⁾ Studi epidemiologik dan eksperimental (hewan coba) menunjukkan bahwa serat mempunyai efek protektif terhadap karsinogenesis kolon melalui berbagai mekanisme antara lain penurunan waktu transit, pengikatan asam empedu sekunder dan pembentukan butir.⁽¹⁴⁾

Berdasarkan hasil penelusuran majalah ilmiah sampai saat ini, belum ada peneliti yang melaporkan tentang efek seledri secara keseluruhan terhadap penghambatan karsinogenesis kolon.

Druckrey et. al pada tahun 1967, merupakan orang yang pertama kali menginduksi kanker kolon pada tikus dengan menggunakan 1,2 DMH dan mengatakan bahwa target jaringan utama induksi adalah intestinum, khususnya kolon dan rektum, via injeksi subkutan.⁽¹⁵⁾

Penelitian epidemiologik, eksperimental (hewan coba) dan klinis menyatakan bahwa diet kaya lemak protein, alkohol dan daging berhubungan dengan peningkatan insiden kanker kolorektal. Asupan lemak yang tinggi juga meningkatkan risiko rekurensi adenoma paska polipektomi.⁽¹⁴⁾ Diet tinggi lemak juga menstimulasi efek karsinogenik 1,2 DMH pada hewan coba.⁽¹⁶⁾ Protein yang dicerna dalam tubuh meningkatkan kadar amin dan amida yang berperan dalam pembentukan nitrosamide. *Nitrosamide* merupakan

karsinogen yang akan menimbulkan jejas pada sel kolon.⁽¹⁷⁾

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa seledri dapat menghambat perubahan histopatologis dan aktivitas proliferasi (AgNOR) sel epitel mukosa kolon pada tikus wistar yang diinduksi karsinogenesis kolon dengan 1,2 DMH dan diet tinggi lemak dan protein.

HEWAN PERCOBAAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *Randomized Post Test Control Group*.

Sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan, sehat, dengan berat badan 180-200 gram yang telah menjalani adaptasi selama 1 minggu dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yaitu: kelompok I mendapat injeksi 1,2 DMH s.c; kelompok II mendapat 1,2 DMH s.c dan seledri p.o; kelompok III diberi injeksi 1,2 DMH s.c dan diet tinggi lemak dan protein ; kelompok IV selain mendapat injeksi 1,2 DMH dan diet tinggi lemak dan protein juga diberi seledri p.o serta kelompok V yang mendapat injeksi 1,2 DMH dan seledri tetapi diberikan selama 16 minggu, berbeda dengan kelompok I sampai IV dimana perlakuan diberikan selama 12 minggu.

Injeksi 1,2 DMH subkutan diberikan sekali seminggu dengan dosis 20 mg/kgBB. Seledri diberikan melalui sonde lambung dalam bentuk jus, sedangkan seratnya dicampurkan dengan pakan tikus, setiap hari dengan dosis 2,4192 gr/tikus. Diet tinggi lemak dan protein mengandung lemak 40% dan protein 24%, dalam bentuk pakan siap pakai, diberikan secara oral setiap hari.

Setelah perlakuan 12 minggu dan 16 minggu, tikus dibunuh dengan cara dekapi-tasi. Setelah peritoneum dibuka, diambil kolon dan dimasukkan kedalam larutan buffer formalin 10%, dipotong pada bagian yang mencurigakan atau

tumor, kemudian dilakukan prosesi jaringan. Preparat diwarnai dengan HE untuk pemeriksaan perubahan histopatologis dan AgNOR untuk aktivitas proliferasi sel.

Perubahan histopatologis mukosa kolon dilihat dari perubahan morfologik kelenjar mukosa kolon secara mikroskopik sesuai kriteria WHO.

Aktivitas proliferasi sel dinilai dengan menggunakan pewarnaan AgNOR yaitu jumlah titik-titik AgNOR dalam inti sel pada 100 sel tumor dengan pembesaran 1000 x menggunakan minyak emersi.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Perubahan Histopatologis Mukosa Kolon

Kelom pok	Perubahan Histopatologis	
	Blok I	Blok II
I. Tikus 1	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan	Pertumbuhan papillifer, displasia ringan
Tikus 2	Adenoma tubulovilos a, displasia sedang	Pertumbuhan papillifer, displasia ringan
Tikus 3	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan	Adenoma tubulovilosa, displasia sedang
Tikus 4	Adenoma tubulovilos a, displasia sedang	Pertumbuhan papillifer, dsiplasia ringan
II. Tikus 1	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan
Tikus 2	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan
Tikus 3	Hiperplasia kelenjar, displasia	Hiperplasia kelenjar, displasia

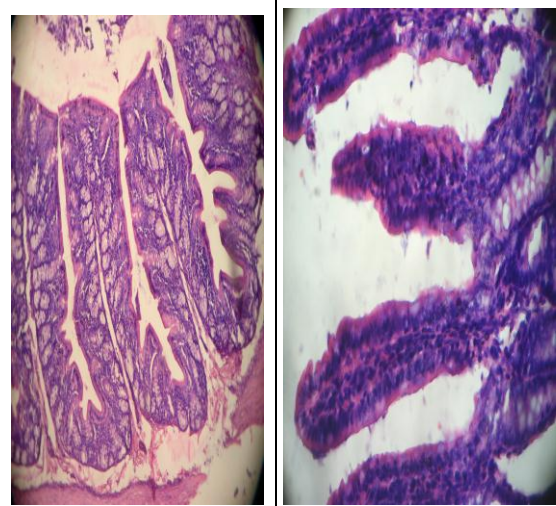
	ringan	ringan	kelenjar,	ringan
Tikus 4	Hiperplasia kelenjar, tanpa displasia	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan	displasia ringan	Hiperplasia kelenjar, tanpa displasia
Tikus 5	Adenoma tubulovilosa, displasia ringan	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan	displasia ringan	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan
III.Tikus1	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan	Pertumbuhan papillifer, displasia ringan	Hiperplasia kelenjar, tanpa displasia	Hiperplasia kelenjar, tanpa displasia
Tikus 2	Pertumbuhan papillifer, displasia ringan	Adenoma vilosa, displasia berat	Pertumbuhan papillifer, displasia ringan	Hiperplasia kelenjar, tanpa displasia
Tikus 3	Adenoma tubulovilosa, displasia sedang	Adenoma vilosa, displasia berat		
Tikus 4	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan	Adenoma tubulovilosa, displasia sedang		
Tikus 5	Adenoma tubulovilosa	Pertumbuhan papillifer, displasia ringan		
IV.Tikus 1	Adenoma tubulovilosa, displasia ringan	Hiperplasia kelenjar, tanpa displasia		
Tikus 2	Hiperplasia kelenjar, tanpa displasia	Pertumbuhan papillifer, displasia ringan		
Tikus 3	Hiperplasia kelenjar, displasia ringan	Hiperplasia kelenjar, tanpa displasia		
Tikus 4	Adenoma tubulovilosa, displasia ringan	Adenoma tubulovilosa, displasia		
V.Tikus 1	Hiperplasia	displasia		

Hasil penelitian berupa aktivitas proliferasi sel epitel mukosa kolon yang dinilai dari jumlah titik AgNOR dalam inti sel dimasukkan dalam Tabel 2 serta dibuat grafik box plot. Data dianalisis dengan SPSS 12.0 for windows.

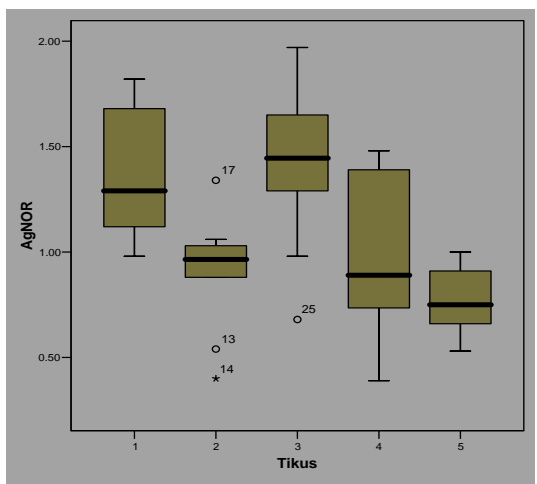
Tabel 2. Aktivitas proliferasi sel (AgNOR)

Kelompok	AgNOR	Uji Beda Mann-Whitney U test
Kel. I (n=8)		
<i>Mean</i>	1,37	Kel I vs II : 0,007*
<i>Median</i>	1,29	
S D	0,32	
Kel.II (n=10)		
<i>Mean</i>	0,90	Kel III vs IV : 0,068
<i>Median</i>	0,97	
S D	0,27	
Kel.III (n=10)		
<i>Mean</i>	1,44	

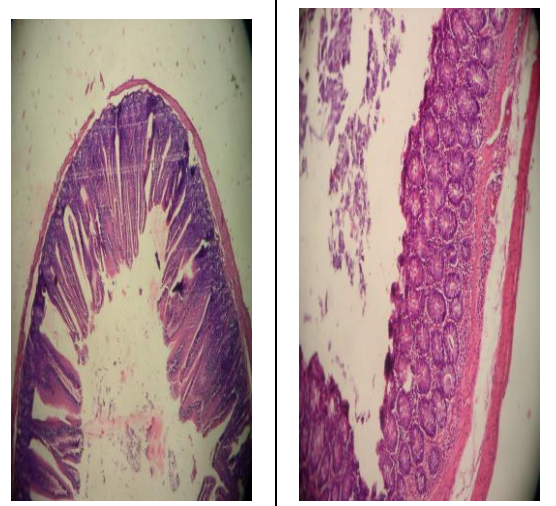
<i>Median</i>	1,45	
<i>S D</i>	0,40	
Kel IV (n=8)		
<i>Mean</i>	0,99	
<i>Median</i>	0,89	
<i>S D</i>	0,40	
Kel V (n=8)		Kel II vs V :
<i>Mean</i>	0,77	0,100
<i>Median</i>	0,75	
<i>S D</i>	0,16	



Mann-Whitney U test * $p < 0,05$: signifikan

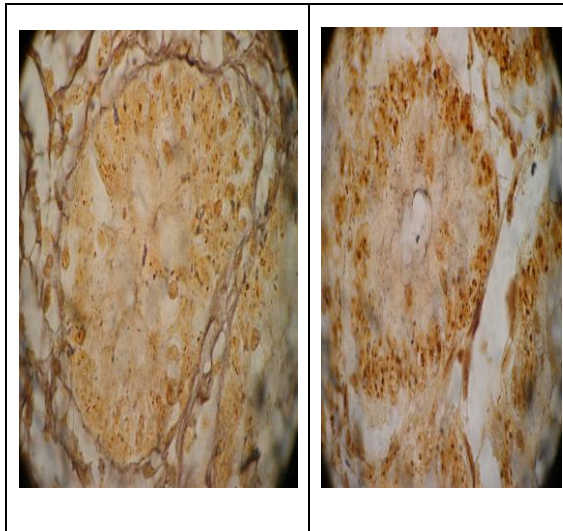


Kelompok III : HE, Obyektif 4 x ; Adenoma vilosa, displasia berat	Kelompok V : HE, Obyektif 10 x ; Hiperplasia epitel kelenjar, tanpa displasia
---	--



Gambar 2. Grafik Box-Plot Aktivitas proliferasi sel (hitung AgNOR) tikus wistar Perubahan Histopatologik Epitelial

Kelompok I : HE, Obyektif 10 x ; Adenoma tubulovilosa multiple, displasia sedang	Kelompok I : HE, Obyektif 40 x; Papillary growth, displasia ringan	Aktivitas Proliferasi Sel (AgNOR)	
		Kelompok III : AgNOR, Obyektif 100 x, hitung AgNOR 1,97	Kelompok II: AgNOR, Obyektif 100 x, hitung AgNOR 1,03



PEMBAHASAN

Kanker kolorektal adalah salah satu jenis kanker yang telah banyak diteliti untuk mengetahui patogenesis kanker. Berbagai penelitian terdahulu menunjukkan bahwa kanker kolorektal berasal dari rangkaian perubahan genetik dan morfologik yang dimulai dari epitel normal, epitel hiperproliferatif, adenoma sampai adenokarsinoma.⁽¹⁻³⁾

1,2 DMH secara luas dipakai dalam penelitian eksperimental kanker kolorektal pada hewan coba. 1,2 DMH adalah karsinogen lengkap yang dapat menimbulkan metilasi DNA kolon, disamping itu 1,2 DMH juga merusak barrier epitelial, yang selanjutnya menimbulkan inflamasi kronik dan pembentukan radikal bebas.^(15,18) Diet tinggi lemak dapat meningkatkan sterol bilier, yang bersifat merusak sel, sedangkan protein meningkatkan kadar amin dan amida, yang berperan dalam pembentukan nitrosamide, suatu karsinogen yang dapat menimbulkan jejas pada sel kolon.^(16,17)

Pada kelompok kontrol, didapat perubahan histopatologik mukosa kolon yang berkisar antara hiperplasia kelenjar, pertumbuhan papillifer kelenjar sampai terbentuknya tumor jinak tipe histologik adenoma tubulovilosa, pada tiga dari empat ekor tikus. Kelompok III, yang diinduksi karsinogenesis kolon dengan

1,2 DMH dan diet tinggi lemak dan protein, gambaran mikroskopik yang ditemukan berupa adenoma vilosa yang sudah disertai displasia sel. Kelompok II, IV dan V yang selain diinduksi karsinogenesis kolon juga diberi seledri, gambaran mikroskopik yang ditemukan adalah hiperplasia kelenjar, pertumbuhan papillifer dan adenoma tubulovilosa. Adenoma tubulovilosa ditemukan pada satu dari lima ekor tikus kelompok II (1,2 DMH dan seledri, 12 minggu), dan pada dua dari empat ekor tikus kelompok IV (1,2 DMH + diet tinggi lemak dan protein + seledri, 12 minggu). Adenoma tubulovilosa yang masih ditemukan pada kelompok II dan IV tersebut bisa disebabkan oleh variasi biologis dan teknik pemberian seledri yang belum sempurna. Namun pada kelompok V hanya ditemukan hiperplasia kelenjar dan pertumbuhan papillifer.

Polip adenomatosa atau adenoma adalah neoplasma intraepitelial berupa lesi kecil bertangkai sampai neoplasma besar, *sessile*, secara histologik dibagi atas adenoma tubular, adenoma tubulovilosa dan adenoma vilosa. Semua lesi adenoma berasal dari perubahan proliferasif epitelial yaitu displasia, mulai dari displasia ringan, sedang sampai berat.^(17,19)

Perbedaan gambaran histopatologik yang cukup mencolok antara ke-5 kelompok tersebut menunjukkan bahwa seledri mampu menghambat perkembangan lesi karsinogenesis kolon.

Rerata hitung AgNOR pada kelompok I dan III lebih tinggi dibanding kelompok II, IV dan V. Perubahan histopatologik kelompok I dan III juga merupakan lesi pada tingkat yang lebih lanjut dibanding tiga kelompok lainnya. *Chen LT et al* pada tahun 1995, meneliti jumlah titik AgNOR pada mukosa kolon normal, polip adenomatosa dan adenokarsinoma, ternyata rerata titik AgNOR per inti sel meningkat sesuai dengan lesi yang lebih berat, tertinggi yaitu pada adenokarsinoma.⁽²⁰⁾

Lutein yang banyak terkandung dalam *Apium graveolens* dapat mengikat radikal bebas dengan efektif sehingga terbentuk senyawa inaktif.^(9,11) Bahan aktif *sedanolide* dan *apigenin* mempunyai kemampuan untuk menghambat enzim COX-1 dan COX-2 pada pH 7. COX-2 berperan dalam sintesa PG-E₂, suatu mediator inflamasi endogen yang berfungsi meningkatkan proses inflamasi. COX-2 cenderung meningkatkan proliferasi sel epitel kriptek kolon dan menurunkan apoptosis yang merupakan mekanisme proteksi terhadap karsinogenesis.^(11,21,22)

Serat dalam seledri mampu melarutkan karsinogen dan memperpendek waktu transit.⁽¹³⁾ Serat juga menurunkan konsentrasi asam empedu dalam feses, yang akan mengurangi aktivitas promotor tumor dari SBA (*secondary bile acids*).⁽¹³⁾

Data kelompok V menunjukkan bahwa perubahan histologik yang terjadi sesudah pemberian 1,2 DMH dan seledri selama 16 minggu adalah penambahan jumlah kelenjar dan pertumbuhan papillifer. Sampai saat ini belum ditemukan literatur yang membahas tentang efek lama pemberian seledri terhadap penghambatan karsinogenesis kolon. Tetapi dapat dikatakan bahwa dengan waktu induksi yang berbeda, seledri tetap berpotensi untuk menghambat karsinogenesis kolon.

Penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu : 1) penelitian dilakukan pada tikus wistar sehingga belum bisa digeneralisasikan pada manusia; 2) waktu pemberian belum cukup lama sehingga belum dapat dinilai efek seledri terhadap sel adenokarsinoma; 3) jumlah sampel masih terlalu sedikit.

KESIMPULAN

Pemberian seledri mampu menghambat perubahan histopatologis dan aktivitas proliferasi (AgNOR) sel epitel mukosa pada tikus yang diinduksi

karsinogenesis kolon dengan 1,2 DMH atau disertai diet tinggi lemak dan protein. Perbedaan yang bermakna didapatkan pada perbandingan aktivitas proliferasi sel antara tikus yang diberi seledri dan induksi karsinogenesis kolon dengan 1,2 DMH dengan tikus yang diinduksi 1,2 DMH tapi tidak diberi seledri.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan waktu dan sampel yang lebih banyak, variasi dalam lama perlakuan dan dosis seledri serta penelitian dengan penekanan pada pengaruh senyawa aktif dalam seledri terhadap karsinogenesis kolon misalnya dengan meniadakan efek serat dalam seledri.

KEPUSTAKAAN

1. Yamada Y, Mori H. Pre-cancerous lesions for colorectal cancers in rodents: a new concept. Carcinogenesis [serial on the Internet] 2003 [cited 2004 June 15]; 24 (6). Available from: URL: <http://carcin.oupjournals.org/cgi/content/full/24/6/1015?>
2. Suhartono Taat Putra. Patologi molekuler kanker. Dalam : Biologi molekuler kedokteran. Edisi pertama. Surabaya : Airlangga University Press; 1997: 59-84.
3. Franks LM, Teich NM. Introduction to the cellular and molecular biology of cancer. 3rd edition. Oxford : Oxford University Press, 1997 : 115.
4. Bernstein C, Bernstein H, Payne CM, Garewal H. Fields defects in progression to adenocarcinoma of the colon and esophagus. Electronic journal of biotechnology [serial on the Internet]. 2000 July {cited 2004 June 2} ; 3 (3). Available from : URL: <http://www.bioline.org.br/request/ej00018>.

5. Ahmad Ghozali, Harijadi. Pewarnaan nucleolar organizer region (AgNOR) pada perubahan fibrokistik payudara. Berkala ilmu kedokteran. 1997. 29 (2) : 47-51.
6. Information Alternative Medicine. Celery [online] 2001 [cited 2003 April 3]. Available from: URL: <http://holistic-online.com/Herbal-Med/Herbs/h212.htm>.
7. Ayuningsih, Fajar. Seledri (*Apium graveolens*). Nirmala, 2002 : 49-51.
8. Kim JM, Araki S, Kim DJ, Park CB, Takasuka N, Toriyama-Baba H et al. Chemopreventive effects of carotenoids and curcumins on mouse colon carcinogenesis after 1,2 dimethylhydrazine initiation. Carcinogenesis [serial on the Internet] 1998 [cited 2003 Oct 8]; 19. Available from: URL: <http://carcin.oupjournals.org/cgi/content/abstract/19/1/81?>.
9. Mann, Denise. Produce may protect against colon cancer. Web MD Medical/News. New York 2000 Feb 17.
10. Celery seed-overview [online].2002 [cited 2003 Oct 7]. Available from : URL,: <http://www.umm.edu/altmed/ConsHerbs/CelerySeedch.html>.
11. Constantinides P. Inflammation response. In : General pathobiology. Norwalk.: Appleton & Lange. 1994 : 143-4.
12. Van Dross R, Xue Y, Knudson A, Pelling JC. The chemopreventive bioflavonoid apigenin modulates signal transduction pathways in keratinocyte and colon carcinoma cell lines. J.Nutr. [serial on the Internet] . 2003 November [cited 2004 January 23] ; 133 Suppl : [about 4p].. Available from : URL,: <http://www.nutrition.org/cgi/content/full/133/11/3800S>
13. Young GP, Mason J, Cerda JJ. Gastroenterology [serial on the Internet]. 2000 June [cited 2004 June 7]; 118 (6).Available from: URL,: <http://www.gastrojournal.org/scripts/om.dll/serve?action=searchDB&searchDBfor=art&artType=fullfre&id=a0060001235>.
14. Quade G. Prevention of colorectal cancer. [online].2002 [cited 2004 April 29]. Available from URL,: <http://www.meb.uni-bonn.de/cancernet/304731.html>.
15. Joseph CA, Woo Y-T, Argus MF. Chemical induction of cancer. London: Academic Press, 1982 : 350-93.
16. Juergen EG. A diet rich in fat and poor in dietary fibre increases the in vitro formation of reactive oxygen species in human feces. The Journal of Nutrition 1997; 127 (5) : 706-9.
17. Crawford JM, Liu C. The gastrointestinal tract. In : Kumar V, Abbas AK, Fausto N (eds) Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease.7th edition. Philadelphia : Elsevier Saunders, 1999: 857-68.
18. Bruce WR, Giacca A, Medline A. Possible mechanism relating diet and risk of colon cancer. Cancer epidemiology biomarkers and prevention. [serial on the Internet]. 2000 Dec {cited 2004 June 12}; 9. Available from : URL : <http://cebp.aacrjournals.org/cgi/content/full/9/12/1271>.
19. Welton ML, Varma MG, Amerhauser A. Colon, rectum and anus. In : Norton J et al (eds). Surgery basic science and clinical evidence. New York: Springer, 2001: 702-26.
20. Chen LT, Huang MS, Wang YL, Lin CS, Jan CM. Utility of argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNOR) in differentiating malignant from benign of colorectal tumors.

- Gaoxiong Yi Xue Ke Xue Za Zhi [serial on the Internet]. 1995 Nov [cited 2004 August26]; 11 (11). Available from: URL,,: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=7490794.
21. Wang Q-S, Walsh AM, Goldsby JS, Papanikoloau A, Bolt AB, Rosenberg DW. Preliminary analysis of azoxymethane-induced colon tumorigenesis in mouse aggregation chimeras. *Carcinogenesis* [serial on the Internet]. 1999 April [cited 2003 Nov 16]; 20 (4): [about 7p]. Available from: URL,,: <http://carcin.oupjournals.org/cgi/content/full/20/4/691>.
22. Kojima M. Association of enhanced cyclooxygenase expression with possible local immunosuppression in human colorectal carcinoma. *J. Exp Cell Res* 2001 ; 268 (2) : 139-49.