

MODELOS ANIMAIS DE CARCINOGÊNESE COLORRETAL

Animal models for colorectal cancer

Alana Serrano Campelo **DE-SOUZA**¹, Thais Andrade **COSTA-CASAGRANDE**¹

Como citar este artigo: De-Souza ASC, Costa-Casagrande TA. Modelos animais de carcinogênese colorretal. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2018;31(2):e1369. DOI: /10.1590/0102-672020180001e1369

Trabalho realizado no ¹Mestrado Profissional em Biotecnologia Industrial, Universidade Positivo, Curitiba, Paraná, Brasil

RESUMO – Introdução: O câncer de cólon e reto é bastante frequente na população e com elevado índice de mortalidade. Ele se desenvolve a partir da associação de fatores genéticos e ambientais e está relacionado a múltiplas vias de sinalização celular. Para o estudo da doença são utilizados cultivos celulares e modelos animais, que sejam capazes de reproduzir o processo de desenvolvimento da doença em humanos. Dos modelos existentes, os mais comumente utilizados são os animais induzidos ao desenvolvimento tumoral por agentes químicos e os animais geneticamente modificados. **Objetivo:** Apresentar e sintetizar os principais modelos animais de carcinogênese colorretal utilizados na pesquisa, comparando suas vantagens e desvantagens. **Método:** Para o desenvolvimento dessa revisão foi realizada uma busca por artigos científicos dos últimos 18 anos nas bases de dados PubMed e Science Direct, utilizando como palavras-chave “modelos animais”, “carcinogênese colorretal” e “indução tumoral”. **Resultado:** O 1,2 dimetilhidrazina e o azoximetano são agentes carcinógenos com alta especificidade para o intestino delgado e grosso. Por isso, as duas substâncias são amplamente utilizadas. Dos modelos animais geneticamente modificados observa-se maior quantidade de estudos referentes às mutações dos genes *APC*, *p53* e *K-ras*. Os animais com mutação do gene *APC* desenvolvem neoplasias colorretais, enquanto que animais com mutações dos genes *p53* e *K-ras* são capazes de potencializar os efeitos da mutação do gene *APC*, bem como dos indutores químicos. **Conclusão:** Cada modelo animal apresenta vantagens e desvantagens, sendo que alguns são individualmente eficientes na indução da carcinogênese, e em outros casos a associação de duas formas de indução é a melhor maneira de se obter resultados representativos da carcinogênese em humanos.

DESCRIPTORIOS - Modelos animais. Neoplasias colorretais. Carcinógenos.

Correspondência:

Alana Serrano Campelo de-Souza
E-mail: alanaserrano65@gmail.com;
alana_campelo@hotmail.com

Fonte de financiamento: não há
Conflito de interesse: não há

Recebido para publicação: 23/01/2018
Aceito para publicação: 27/03/2018

HEADINGS - Models, animal. Colorectal neoplasms. Carcinogens.

ABSTRACT – Introduction: Colorectal cancer is a very frequent sort of neoplasm among the population, with a high mortality rate. It develops from an association of genetic and environmental factors, and it is related to multiple cell signaling pathways. Cell cultures and animal models are used in research to reproduce the process of disease development in humans. Of the existing animal models, the most commonly used are animals with tumors induced by chemical agents and genetically modified animals. **Objective:** To present and synthesize the main animal models of colorectal carcinogenesis used in the research, comparing its advantages and disadvantages. **Method:** This literature review was performed through the search for scientific articles over the last 18 years in PubMed and Science Direct databases, by using keywords such as “animal models”, “colorectal carcinogenesis” and “tumor induction”. **Results:** 1,2-dimethylhydrazine and azoxymethane are carcinogenic agents with high specificity for the small and large intestine regions. Therefore, the two substances are widely used. Concerning the genetically modified animal models, there is a larger number of studies concerning mutations of the *APC*, *p53* and *K-ras* genes. Animals with the *APC* gene mutation develop colorectal neoplasms, whereas animals with *p53* and *K-ras* genes mutations are able to potentiate the effects of the *APC* gene mutation as well as the chemical inducers. **Conclusion:** Each animal model has advantages and disadvantages, and some are individually efficient as to the induction of carcinogenesis, and in other cases the association of two forms of induction is the best way to obtain representative results of carcinogenesis in humans.

INTRODUÇÃO

O câncer é doença capaz de atingir a maioria dos órgãos e tecidos do corpo humano. Ele se caracteriza principalmente pelo crescimento desordenado de células, muitas vezes capazes de fazer metástase para outras regiões do organismo. De acordo com Petit et al.¹⁹, a doença está associada tanto a fatores genéticos, inerentes de cada indivíduo, como a fatores ambientais.

O câncer de cólon e reto (CCR) é a quarta neoplasia mais frequente na população mundial, tendo sido responsável por 694 mil das 8,2 milhões de mortes por câncer em 2012²⁶. É um tipo bastante agressivo e que tem elevado potencial metastático. Desenvolve-se em 90-95% dos casos devido a fatores ambientais^{2,14} e está relacionado à múltiplas cascatas de transdução de sinal, importantes para diferentes tipos de resposta biológica como angiogênese, apoptose e proliferação de células^{24,29}.

O CCR pode ser hereditário ou esporádico, que representa 80% dos casos de CCR. A forma hereditária está relacionada a duas síndromes familiares, a polipose adenomatosa familiar (PAF), na qual se observa o aparecimento de múltiplos pólipos intestinais, e

ao câncer colorretal hereditário sem polipose (HNPCC). Os indivíduos que desenvolvem PAF apresentam uma mutação no gene supressor de tumor APC (polipose adenomatosa do cólon); já aqueles que desenvolvem o HNPCC têm mutações em genes envolvidos com o reparo de DNA, genes MMR (do inglês: "mismatchrepair")⁶. A forma esporádica, por sua vez, relaciona-se a processos inflamatórios intestinais como a doença de Crohn e a colite ulcerativa, e também a hábitos alimentares como o consumo de carne vermelha e baixa ingestão de fibras^{12,19}.

Para a realização de estudos relacionados ao desenvolvimento, tratamento e prevenção desses tumores são usados modelos animais ou culturas celulares, que sejam representativos de uma situação de carcinogênese em humanos. Porém, apesar de todos os conflitos éticos envolvidos na experimentação animal²⁰, uma das grandes desvantagens do cultivo celular, frente aos modelos animais, é a incapacidade de se reproduzir situações de metástase e angiogênese¹¹.

Para fins de pesquisa, os dois principais modelos animais de carcinogênese colorretal são os tumores colorretais induzidos por agentes químicos ou ambientais em roedores, que representam o CCR esporádico, e os camundongos geneticamente modificados, que simulam as síndromes hereditárias PAF e HNPCC¹¹.

Esta revisão tem por objetivo apresentar e sintetizar os principais modelos animais de carcinogênese colorretal, utilizados na pesquisa, comparando suas vantagens e desvantagens.

MÉTODOS

Foi realizada busca por artigos científicos dos últimos 18 anos nas bases de dados PubMed e Science Direct, utilizando como palavras-chave modelos animais, neoplasias colorretais e câncer de cólon induzido. A busca resultou em 89 artigos, dos quais 31 foram selecionados de acordo com a sua relevância para o desenvolvimento dessa revisão.

RESULTADOS

Câncer colorretal induzido por agentes exógenos

De acordo com Andrade et al.³ existem diversos fatores capazes de aumentar as chances de se desenvolver o câncer colorretal, dentre eles ingestão de alimentos ricos em gordura, e com baixo teor de fibras. Sendo assim, os hábitos alimentares de um indivíduo podem influenciar diretamente no aparecimento dessa neoplasia³.

Fazendo uso de dieta rica em gordura, chamada "Western diet" Newmark et al.¹⁷ observaram que 25% dos animais alimentados por dois anos com essa dieta apresentaram adenocarcinomas invasivos, na região de intestino delgado, ceco e cólon proximal; e que um outro grupo, alimentado com uma dieta enriquecida com cálcio e vitamina D, não apresentou as lesões intestinais. Além disso, Yang et al.²⁸ observaram que 75% dos animais, tratados por um ano e meio com a mesma dieta lipídica, apresentavam a mutação APC^{-/+} e 57% a mutação Muc2^{-/-}, importante no desenvolvimento dessa neoplasia; porém, somente 27% deles apresentaram alterações na mucosa intestinal.

Os dois estudos mostram que a dieta pode influenciar diretamente no aparecimento de neoplasias colorretais, pois promove reprogramação das células intestinais, representando o modelo de câncer colorretal espontâneo em humanos. Entretanto, apesar de os autores terem observado diferentes neoformações intestinais nos animais tratados com a dieta hipercalórica, não foi possível avaliar quais mutações foram responsáveis pelo desenvolvimento dos tumores. Ainda, a dieta pode não ser considerada o melhor modelo de carcinogênese colorretal, visto que a porcentagem de animais que desenvolvem a neoplasia é pequena, e o tempo para que isso ocorra é longo.

Além da dieta, também são utilizadas substâncias químicas com potencial carcinogênico. Os dois indutores tumorais mais utilizados, em modelos animais, para indução de CCR esporádico são o azoximetano (AOM), que é indutor direto, e o 1,2 dimetilhidrazina (DMH) que é indutor indireto de carcinogênese. Eles conseguem representar os mecanismos de desenvolvimento do CCR que acontece naturalmente em humanos, sendo modelos bastante úteis em estudos que visem estudar efeitos quimiopreventivos e quimioterápicos de outras substâncias¹⁸.

O DMH é agente pró-carcinógeno para o câncer de cólon, ele é ativado no fígado e transportado até o intestino pela bile e pelo sangue. Sua utilização promove a produção de radicais livres, que são responsáveis por causar danos oxidativos ao DNA das células do cólon e do fígado²³.

De acordo com Burlamaqui et al.⁴ o AOM é um metabólito ativo do DMH usado também para a indução tumoral em roedores. Ele afeta principalmente órgãos como fígado, pulmões e cólon, e as lesões encontradas são diretamente proporcionais ao tempo de exposição e à dose administrada¹³.

Em 2014, Lahouar et al.¹³, utilizando AOM como indutor, observaram que os animais do grupo que recebeu o AOM apresentaram significativamente mais criptas aberrantes, que são lesões pré-neoplásicas, do que os animais do grupo controle. Além disso, também perceberam o aparecimento lesões inflamatórias e alterações histológicas nos tecidos hepático e pulmonar dos animais. Já em 2015, Yu et al.³¹, além de observarem lesões pré-neoplásicas nos camundongos tratados com AOM, observaram também aumento de 51% e 46% nas citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6) respectivamente.

Aachary et al.¹ observaram que animais tratados com DMH desenvolveram focos de criptas aberrantes e também apresentaram alterações na microbiota intestinal. Quando comparados ao grupo controle mostraram redução do número de bifidobactérias e aumento das espécies *E. coli* e *C. perfringens*.

Umesalma e Sudhandiran²⁵ demonstraram que animais tratados com DMH apresentaram aumento na expressão de marcadores inflamatórios ciclooxigenase 2 (cox-2) e IL-6. Em que o grupo controle apresentou 0,6% e 1,4% de células expressando os dois marcadores, respectivamente; e o grupo DMH apresentou 1,2% e 3,5% de expressão.

O DMH também se mostrou eficaz na indução de tumores colorretais em estudo feito por Youssef et al.³⁰ que detectaram cerca de 100,5 focos de criptas aberrantes (FCA) nos 10 animais que receberam o indutor, e um total de 20 tumores colorretais nesses mesmos indivíduos, enquanto que os animais do grupo controle, não apresentaram nem lesões pré-neoplásicas nem neoformações.

Ambas as substâncias são utilizadas para a indução do câncer de cólon em roedores. Entretanto, há controvérsias sobre qual das duas substâncias seja a mais efetiva na indução tumoral. Burlamaqui et al.⁴ afirmaram que o AOM é um indutor mais potente que o DMH, pois é ativado mais rapidamente no organismo. Porém, em um estudo comparado feito por Jucá et al.¹² foi observado que a indução por DMH promoveu o aparecimento de displasias em grau leve, moderado e severo, além de carcinomas in situ, enquanto a indução por AOM promoveu somente displasias moderadas no cólon dos animais.

Sendo o AOM um metabólito ativo do DMH, o mecanismo de indução de carcinogênese promovido pelas duas substâncias é bastante similar. Nos estudos citados, observou-se a formação de FCA e processos inflamatórios intestinais nos animais tratados tanto com DMH, quanto com AOM. Entretanto, o DMH parece ser agente mais eficaz, visto que, além das lesões pré neoplásicas e inflamatórias, também promoveu o desenvolvimento de adenomas e carcinomas intestinais. Dessa forma, dos modelos induzidos por agentes exógenos pode-se concluir que todos os agentes, dieta, AOM e DMH, são capazes de induzir CCR. Porém a dieta demonstra ser modelo

lento e de baixa eficiência; o AOM indutor principalmente de FCA e inflamação; e o DMH indutor de tumores colorretais em estágios mais avançados, mostrando-se o modelo mais eficiente.

Animais geneticamente modificados

São muitos os genes envolvidos na carcinogênese colorretal, dentre eles temos os supressores tumorais APC, DCC (deletado em carcinomas colorretais), p53 (gene que codifica para proteína tumoral p53) e MCC (mutado em câncer colorretal); os oncogenes K-ras (homólogo do oncogene viral de sarcoma de rato Kirsten), SRC (proto-oncogene SRC) e C-myc (myelocytomatosis viral oncogene homolog); os genes de reparo do DNA hMSH2 (homólogo mutS 2), hMSH6 (homólogo mutS 6), hMLH1 (homólogo mutL 1), hPMS1 (proteína rica em prolina BstNI subfamília 1) e hPMS2 (proteína rica em prolina BstNI subfamília 2); além dos genes CD44 (gene que codifica para molécula CD44) e COX-2 (citocromo C oxidase, subunidade 2). Cada um deles atua de forma diferente para o desenvolvimento das neoplasias colorretais, e muitas vezes, mutações em dois ou mais desses genes estão relacionadas ao perfil de malignidade dos tumores⁶.

Sendo assim, existem inúmeros modelos animais geneticamente modificados, que foram desenvolvidos a partir dos conhecimentos a respeito dos fatores genéticos envolvidos no desenvolvimento da doença⁶. Contudo, apenas os modelos, cujas mutações são mais frequentes no CCR esporádico em humanos (APC >70%; p53 >60% e K-ras >40%) e em CCR hereditário PAF (APC) e HNPCC (MMR)¹¹ serão descritos a seguir.

Os animais APC^{min} são geneticamente modificados, que apresentam uma mutação no gene APC. A sigla "min" significa múltiplos neoplasmas intestinais, e essa é mutação autossômica dominante, que em homozigose é letal aos animais. Os animais heterozigotos para a mutação desenvolvem importantes quadros anêmicos aos 60 dias de vida e desenvolvem tumores em intestino grosso e delgado. Assim como ocorre nos casos de PAF, os animais APC^{min} também desenvolvem adenomas colorretais, porém morrem aos 120 dias de vida²⁷.

Animais knockout para o gene p53 raramente desenvolvem tumores colorretais. Reed et al.²¹ relataram, em 2008, que os animais p53 knockout não desenvolveram neoplasias colorretais; porém, a associação de mutações APC^{min} e p53 knockout promoveu aumento no número de criptas aberrantes, quando comparada com animais APC^{min}. Além disso, em 2008, Hu et al.¹⁰ relataram que uma associação de animais p53 knockout com o indutor tumoral AOM foi eficiente na indução de carcinogênese no cólon dos animais, além de potencializar a ação do AOM. O mesmo também pode ser

observado por Sakai et al.²² em que animais p53 knockout só apresentaram desenvolvimento neoplásico, quando colocados em contato com o indutor DMH.

Além dos animais com mutações nos genes APC e p53, também são utilizados camundongos com mutações no códon 12 do gene K-ras. A partir de processo de recombinação homóloga, um dos alelos do gene K-ras é substituído por um alelo mutado K-ras^{G12D}, no qual há a substituição de uma guanina por uma adenina na segunda base do códon⁸. De acordo com Haigis et al.⁹ os animais com essa mutação apresentam regiões de hiperplasia no cólon e também formações de criptas aberrantes e células em anel. Associando as mutações K-ras^{G12D} e APC^{min} Calcagno et al.⁵ e Luo et al.¹⁶ relataram o aumento no número de lesões no cólon, além da presença de células completamente indiferenciadas.

Uma outra mutação encontrada em tumores colorretais é a mutação K-ras^{V12}, na qual ocorre a substituição de uma guanina por uma timina. Em 2007, Luo et al.¹⁵ demonstraram que os a mutação K-ras^{V12}, por si só, não é capaz de induzir a tumorigênese, mas associada à mutações em genes de reparo, como o gene MSH2, promove e acelera o desenvolvimento tumoral. Animais K-ras^{V12}/Msh2^{-/-} apresentaram maior quantidade de tumores, tanto em intestino delgado, quanto em intestino grosso, do que animais Msh2^{-/-} de 1,41 para 7,75 tumores por rato, em intestino delgado; e de 0,13 para 2,7 tumores por rato em intestino grosso.

Essas mutações nos genes de reparo do DNA são representativas do HNPCC. De acordo com Edelman et al.⁷ 7/22 (32%) camundongos MLH1^{+/-} e 13/18 (72%) dos camundongos MLH1^{-/-} desenvolveram tumores, contra 1/20 (5%) dos sem a mutação. Além disso, também observaram que a sobrevivência dos animais foi menor nos animais MLH1^{-/-} do que nos animais MLH1^{+/-}, 7 e 9,8 meses, respectivamente.

Dentre os modelos geneticamente modificados, aquele que melhor representa o CCR hereditário são os animais APC^{min}, nos quais observa-se a formação de tumores intestinais. Os outros mutantes, somente se tornam modelos representativos, quando é feita a associação de dois ou mais tipos de mutação, ou a associação de uma mutação com a indução por um agente exógeno, como a dieta, por exemplo. Todos os modelos apresentados, tanto induzidos por agente exógenos, quanto os geneticamente modificados, apresentam vantagens e desvantagens (Tabela 1) para o estudo da carcinogênese colorretal. Entretanto, alguns deles como a indução tumoral pelo DMH e os animais APC^{min} mostram-se mais adequados para a pesquisa devido a sua capacidade de desenvolverem neoplasias colorretais, sem que haja a necessidade de associação de dois ou mais métodos de indução.

TABELA 1 – Modelos animais usados para estudos de carcinogênese colorretal com suas principais vantagens e desvantagens

Modelo animal	Tipo de CRC	Vantagens	Desvantagens	Referências
Western Diet	Esporádico	Indução de carcinogênese em intestino delgado, ceco e cólon proximal.	Ainda não foram descritas quais as mutações induzidas pela dieta. Poucos animais desenvolvem lesões neoplásicas e o tempo de desenvolvimento é longo.	17, 28
DMH	Esporádico	Capaz de fazer metástase. Induz desde o adenoma até os adenocarcinomas. Alto grau de especificidade para o intestino.	Indutor indireto. Promove toxicidade hepática.	23
AOM	Esporádico	Indutor direto. Alto grau de especificidade para o intestino.	Mais caro que o DMH. Promove toxicidade hepática.	4
APC	Esporádico e Hereditário (PAF)	Bons para o estudo de CCR hereditário (PAF).	Animais morrem com 120 dias.	27
P53	Esporádico	Potencializa a ação de outros genes ou indutores tumorais.	A inibição da expressão do gene, isoladamente, não foi capaz de induzir a carcinogênese colorretal.	21
K-ras	Esporádico	Hiperplasia e presença de criptas aberrantes. Potencializa a tumorigênese de outras mutações.	Não desenvolvem tumores, somente lesões pré-neoplásicas. Necessária a associação com outras mutações e/ou indutores.	9, 15
MMR	Hereditário (HNPCC)	Bons para o estudo de CCR hereditário (HNPCC).	Maior quantidade de tumores em intestino delgado.	7, 15

DISCUSSÃO

Os modelos animais são importantes para estudos do desenvolvimento e patogênese de tumores colorretais, bem como para a avaliação de possíveis fatores de risco, agentes preventivos e tratamentos. Como mostrado, alguns modelos individuais são representativos da CRC em seres humanos e considerados modelos animais bons para esse tipo de estudo. No entanto, nota-se que a associação de pelo menos dois métodos de indução de carcinogênese colorretal é necessária para a maioria dos modelos. Isso se deve ao fato de que o câncer de cólon é doença multifatorial que se desenvolve pela presença de múltiplos fatores, tanto genéticos como ambientais.

CONCLUSÃO

Cada modelo animal apresenta vantagens e desvantagens, e alguns são individualmente eficientes quanto à indução de carcinogênese; em outros casos, a associação de duas formas de indução é a melhor maneira de obter resultados representativos da carcinogênese em seres humanos.

REFERÊNCIAS

- Aachary AA, Gobinath D, Srinivasan K, Prapulla SG. Protective effect of xylooligosaccharides from corn cob on 1,2-dimethylhydrazine induced colon cancer in rats. *Bioact Carbohydrates Diet Fibre* [Internet]. Elsevier; 2015;5(2):146-52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcdf.2015.03.004>
- Anand P, Kunnumakkara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Tharakan ST, Lai OS, Sung B, Aggarwal BB. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharm Res*. 2008;25:2097-2116.
- Andrade PO, Bitar RA, Yassoyama K, Martinho H, Santo AME, Bruno PM, et al. Study of normal colorectal tissue by FT-Raman spectroscopy. *Anal Bioanal Chem*. 2007;387(5):1643-8.
- Burlamaqui IMB, Dornelas CA, Almeida PRC, Jamaru FVF, Mota DMC, Mesquita FJC, De Brito LA, Veras LB, Rodrigues LV. Repercussão hepática da carcinogênese colorretal induzida pelo azoximetano. *Rev Col Bras Cir*. 2013;40:137-141.
- Calcagno SR, Li S, Colon M, Kreinest PA, Thompson EA, Fields AP, Murray NR. Oncogenic Kras promotes early carcinogenesis in the mouse proximal colon. *Int J Cancer*. 2008;122:2462-2470.
- Cotti GCC, Pires FPS, Sebastianes FM, Habr-Gama A, Seid VE, Martino RB. Genética do câncer colorretal. *Rev Med*. 2000;79:45-64.
- Edelmann W, Yang F, Kuraguchi M, Heyer J, Lia M, Kneitz B, Fan KH, Brown AMC, Lipkin M, Kucherlapati R. Tumorigenesis in Mlh1 and Mlh1/Apc1638N mutant mice. *Cancer Research*. 1999; 59:1301-1307.
- Fearon ER. Molecular genetics of colorectal cancer. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:479-507.
- Haigis KM, Kendall KR, Wang Y, Cheung A, Haigis MC, Glickman JN, Niwa-Kawakita M, Sweet-Cordero A, Sebolt-Leopold J, Shannon KM, Settlemann J, Giovannini M, Jacks T. Differential effects of oncogenic K-Ras and N-Ras on proliferation, differentiation and tumor progression in the colon. *Nat Genet*. 2008;40:600-608.
- Hu Y, Le Leu RK, Belobrajdic D, Young GP. The potential of sphingomyelin as a chemopreventive agent in AOM-induced colon cancer model: wild-type and p53^{+/+} mice. *Mol Nutr Food Res*. 2008;52:558-566.
- Johnson RL, Fleet JC. Animal Models of Colorectal Cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2013;32(0):39-61.
- Jucá MJ, Bandeira BC, Carvalho DS, Leal AT. Comparative study of 1,2-dimethylhydrazine and azoxymethane on the induction of colorectal cancer in rats. *J Coloproctology* [Internet]. Sociedade Brasileira de Coloproctologia; 2014;34(3):167-73. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2237936314000550>

- Lahouar L, Ghrairi F, Arem A El, Sghaier W, Felah M El, Salem H Ben, et al. Attenuation of histopathological alterations of colon, liver and lung by dietary fibre of barley Rihane in azoxymethane-treated rats. *Food Chem* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;149:271-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.101L>
- Li Y-H, Niu Y-B, Sun Y, Zhang F, Liu C-X, Fan L, et al. Role of phytochemicals in colorectal cancer prevention. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2015;21(31):9262-72. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4541379&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Luo F, Brooks DG, Ye H, Hamoudi R, Pouligiannis G, Patek CE, Winton DJ, Arends MJ. Conditional expression of mutated K-ras accelerates intestinal tumorigenesis in Msh2-deficient mice. *Oncogene*. 2007 26:4415-4427.
- Luo F, Brooks DG, Ye H, Hamoudi R, Pouligiannis G, Patek CE, Winton DJ, Arends MJ. Mutated K-ras(Asp12) promotes tumorigenesis in Apc(Min) mice more in the large than the small intestines, with synergistic effects between K-ras and Wnt pathways. *Int J Exp Pathol*. 2009;90:558-574.
- Newmark HL, Yang K, Kurihara N, Fan K, Augenlicht LH, Lipkin M. Western-style diet-induced colonic tumors and their modulation by calcium and vitamin D in C57Bl/6 mice: a preclinical model for human sporadic colon cancer. *Carcinogenesis*. 2009;30:88-92.
- Perse M, Cerar A. Morphological and molecular alterations in 1,2 dimethylhydrazine and azoxymethane induced colon carcinogenesis in rats. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:1-14.
- Petit C, Oswald E, Nougayrede JP. Role des genotoxines produites par des bacteries du microbiote dans le cancer colorectal. *Rev Francoph des Lab* [Internet]. Elsevier; 2013(456):77-82. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X\(13\)72226-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X(13)72226-3)
- Raymundo MM, Goldim JR. Ética Da Pesquisa Em Modelos Animais. *Rev Bioética*. 2002;10(1):31-44.
- Reed KR, Meniel VS, Marsh V, Cole A, Sansom OJ, Clarke AR. A limited role for p53 in modulating the immediate phenotype of Apc loss in the intestine. *BMC Cancer*. 2008;8:1-9. doi: 10.1186/1471-2407-8-162.
- Sakai H, Tsukamoto T, Yamamoto M, Shirai N, Iidaka T, Hirata A, Yanaï T, Masegi T, Donehower LA, Tatematsu M. High susceptibility of nullizygous p53 knockout mice to colorectal tumor induction by 1,2-dimethylhydrazine. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2003;129:335-340.
- Shih CK, Ho CJ, Li SC, Yang SH, Hou WC, Cheng HH. Preventive effects of rice bran oil on 1,2-dimethylhydrazine/dextran sodium sulphate-induced colon carcinogenesis in rats. *Food Chem* [Internet]. Elsevier Ltd; 2011;126(2):562-7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.043>
- Subramaniam A, Shanmugam MK, Perumal E, Li F, Nachiyappan A, Dai X, Swamy SN, Ahn KS, Kumar AP, Tan BK, Hui KM, Sethi G. Potential role of signal transducer and activator of transcription (STAT)3 signaling pathway in inflammation, survival, proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1832:46-60.
- Umesalma S, Sudhandiran G. Differential inhibitory effects of the polyphenol ellagic acid on inflammatory mediators NF- κ B, iNOS, COX-2, TNF- α , and IL-6 in 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2010;107(2):650-5.
- World Health Organization (WHO). Câncer. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/> (acesso em 28.04.2015).
- Yamada Y, Mori H. Multistep carcinogenesis of the colon in Apc(Min/+) mouse. *Cancer Sci*. 2007;98:6-10.
- Yang K, Kurihara N, Fan K, Newmark H, Rigas B, Bancroft L, Corner G, Livote E, Lesser M, Edelmann W, Velich A, Lipkin M, Augenlicht L. Dietary induction of colonic tumors in a mouse model of sporadic colon cancer. *Cancer Res*. 2008;68:7803-10.
- Yang CL, Liu YY, Ma YG, Xue YX, Liu DG, Ren Y, Liu XB, Li Y, Li Z. Curcumin Blocks Small Cell Lung Cancer Cells Migration, Invasion, Angiogenesis, Cell Cycle and Neoplasia through Janus Kinase-STAT3 Signaling Pathway. *PLoS One*. 2012;7:1-12.
- Youssef KM, Ezzo AM, El-Sayed MI, Hazzaa AA, EL-Medany AH, Arafat M. Chemopreventive effects of curcumin analogs in DMH-Induced colon cancer in albino rats model. *Futur J Pharm Sci* [Internet]. Elsevier Ltd; 2015;1(2):57-72. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2314724515300273>
- Yu C, Wen XD, Zhang Z, Zhang CF, Wu XH, Martin A, et al. American ginseng attenuates azoxymethane/dextran sodium sulfate-induced colon carcinogenesis in mice. *J Ginseng Res* [Internet]. Elsevier Ltd; 2015;39(1):14-21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgr.2014.07.001>