

Model Hewan Rodensia sebagai Pendekatan Eksperimental untuk Memahami Karsinoma Ovarium yang Terasosiasi dengan Endometriosis (EAOC)

Risti Sifa' Fadhilah

ristisifa@apps.ipb.ac.id

1. Pendahuluan

Endometriosis merupakan suatu kondisi penyakit ginekologis jinak yang dialami oleh setidaknya 10% wanita berusia produktif di dunia. Perkembangan endometriosis berkaitan erat dengan proses menstruasi, sehingga hewan coba untuk penyakit manusia yang terbaik adalah primata non-manusia yang mengalami menstruasi.¹

Namun, penggunaan hewan coba menantang kode etik serta membutuhkan biaya yang sangat besar. Berbagai hewan coba telah dikembangkan pada laboratorium hewan, dan yang terbaru didasarkan kepada jaringan yang menyerupai endometrium menstrual yang dapat ditransfer ke hewan penerima. Model-model hewan coba ini secara genetik dapat dimanipulasi dan memfasilitasi studi mekanistik yang tepat. Selain itu, hewan coba tersebut dapat digunakan untuk mempelajari transformasi keganasan pada karsinoma ovarium epitelial. Bukti epidemiologis dan molekuler menunjukkan bahwa endometriosis adalah prekursor yang paling masuk akal dari kedua sel yang jelas dan kanker ovarium yang berkaitan dengan endometriosis (*Endometriosis-Associated Ovarian Carcinoma*/EAOC). Pemahaman mengenai mekanisme yang mendasari transformasi keganasan tersebut dapat dijadikan strategi baru untuk pencegahan dan terapi. Model hewan coba transgenik yang ada sekarang, yang secara genetik memodifikasi permukaan epitel ovarium serta oviduk, merupakan model hewan yang buruk untuk jaringan endometrium ektopik.^{1,2}

Model hewan endometriosis diperlukan untuk mengevaluasi mekanisme patofisiologi yang mendasari perkembangan penyakit ginekologi tersebut. Model hewan yang digunakan masing-masingnya memiliki kekurangan dan kelebihan, sehingga perlu dipertimbangkan ketika merancang pendekatan eksperimental yang berkaitan tujuan penelitian yaitu dengan mempertimbangkan karakteristik metabolisme spesifik spesies atau fisiologi reproduksi dan biaya pemeliharaan hewan. Primata dapat digunakan untuk penelitian endometriosis karena siklus menstruasi yang mirip dengan manusia, namun biaya yang sangat tinggi dan kesulitan dalam penanganan hewan mengakibatkan terbatasnya penggunaan primata sebagai model eksperimental.

Berbeda dengan manusia dan primata, mencit dan tikus tidak mengalami menstulasi melainkan siklus estrus, sehingga model hewan ini tidak dapat membentuk endometriosis secara spontan. Namun, endometriosis dapat diinduksi dengan cara transplantasi jaringan endometrium ke situs ektopik baik pada model homolog maupun heterolog. Model homolog dibuat dengan melakukan transplantasi jaringan endometrium dari hewan yang sama atau singenik ke situs ektopik, sedangkan model heterolog dibuat dengan melakukan transfer fragmen endometrium manusia ke intraperitoneal atau subkutan tikus imunodefisiensi.^{1,2}

Berbagai penelitian yang dilakukan untuk mengembangkan terapi kanker endometrium akan berkaitan dengan kebutuhan hewan coba yang sesuai. Model hewan coba EAOC yang telah dikembangkan antara lain model yang secara spontan membentuk kanker endometrium (*Donryu rats*, *DA/Han rats*, *BDII/Han rats*), tikus yang diinokulasikan tumor ke dalam tubuhnya (*rat EnDATumor*, *human EnCa 101 tumor*), mencit yang dipaparkan dengan estrogen tinggi, mencit transgenik (*pten+/-mice*) dan kultur *cell line* tumor endometrial. Penggunaan model tikus keturunan F1 dari hasil persilangan galur BN dan LE dapat dikembangkan menjadi model EAOC secara spontan dengan injeksi DMBA pada tikus.^{3,4}

Penggunaan model hewan rodentia dalam penelitian endometriosis dan transformasi keganasan pada EAOc menawarkan pendekatan yang efisien dan ekonomis dibandingkan model primata. Meskipun tikus dan mencit tidak mengalami menstruasi, induksi endometriosis melalui transplantasi jaringan endometrium pada model homolog maupun heterolog telah memungkinkan studi patofisiologi secara mendalam. Selain itu, model rodentia transgenik dan tikus dengan paparan agen tertentu, seperti DMBA, telah digunakan untuk mempelajari transformasi keganasan secara lebih spesifik. Optimalisasi model rodentia yang lebih representatif terhadap patologi manusia sangat diperlukan untuk meningkatkan akurasi penelitian dan mendukung pengembangan terapi baru.

2. Model Rodentia (Hewan Pengerat)

Berbeda dengan manusia dan primata bukan manusia, hewan yang mengalami estrus tidak mengalami peluruhan pada jaringan endometriurnya, sehingga hewan-hewan tersebut tidak dapat mengalami endometriosis secara spontan. Meskipun demikian, endometriosis dapat diinduksi dengan cara transplantasi jaringan endometrium pada tempat ektopik (endometrium ektopik). Model hewan yang digunakan pada metode tersebut diklasifikasikan menjadi dua tipe, yaitu homolog dan heterolog. Model homolog dilakukan dengan cara transplantasi endometrium yang berasal dari hewan yang sama atau singenik yang imunokompeten, sedangkan pada model heterolog, jaringan endometrium manusia dimasukkan baik secara intraperitoneal maupun subkutan ke mencit imunodefisiensi.^{1,2}

2.1. Autotransplantasi endometrium pada mencit dan tikus imunokompeten

2.1.1 Karakterisasi model homolog

Autotransplantasi jaringan uterus pada tempat ektopik pada hewan laboratorium kecil telah dilakukan pada tikus, mencit, dan kelinci. Dari semua model hewan bukan primata tersebut, model tikus dan mencit merupakan model hewan yang paling sering digunakan sehingga lebih berkembang dibanding kelinci. Pada model hewan tersebut, uterus dipindahkan dan dipotong menjadi bagian-bagian kecil yang kemudian dimasukkan kembali dengan cara sutura/menjahitkannya ke dinding rongga peritoneal. Pada hampir dari semua studi yang telah dilakukan, endometrium tidak dipisahkan dari miometrium. Pada tikus, jaringan uterus berkembang menjadi struktur kista ovoid yang berisi cairan yang tersusun dari jaringan miometrium dan endometrium. Kista tersebut terus berkembang namun ukurannya akan tetap stabil hingga 2 bulan dan akan bertahan hingga paling tidak selama 10 bulan.¹

Pada mencit, fragmen uterus ektopik menunjukkan karakteristik histologis yang mirip dengan manusia, termasuk pembentukan lesi multipel tervaskularisasi yang mengandung kelenjar endometrium, stroma, dan kista, tidak berhubungan dengan lokalisasi peritonealnya pada abdomen. Pada sejumlah kecil penelitian eksperimental yang terkait pada tikus, endometrium dipisahkan dari miometrium dengan cara menginokulasikan endometrium tersebut pada tempat ektopik. Somigliana *et. al.* pada tahun 1999 mengisolasi jaringan endometrium mencit untuk dipotong dan direintroduksi pada dinding rongga peritoneal hewan singenik. Baik mencit donor maupun resipien telah di ovariectomi dan diberi pajanan estrogen. Pada studi tersebut, semua hewan resipien mengalami endometrosis setelah 3 minggu dan neovaskularisasi ditemukan pada permukaan lesi.⁵

Untuk identifikasi ukuran serta lokalisasi lesi endometriosis ektopik setelah transplantasi, Hirat *et. al.* (2005) mengembangkan sebuah model mencit homolog menggunakan "*green mice*" atau mencit hijau yang mengekspresikan protein hijau fluoresens/green fluorescent protein (GFP) sebagai donor dan mentransplantasikan jaringan endometrium yang berpendar pada mencit resipien. Berdasarkan penelitian tersebut, berat lesi endometriosis diketahui memiliki korelasi

dengan intensitas pendaran cahaya yang terukur secara signifikan. Pendaran fluoresens paling tinggi diketahui terdapat pada mencit yang diberikan estrogen dibandingkan dengan hewan kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa peran estrogen sangat penting dalam perkembangan lesi endometrium ektopik.⁶

2.1.2. Penerapan pada model homolog

Endometriosis diketahui merupakan penyakit yang bersifat *estrogen-dependent* pada wanita, dan supresi tingkat estrogen akan menyebabkan regresi pada lesi ektopik tersebut. Jaringan uterus yang diautotransplantasi pada model hewan rodensia menunjukkan adanya ketergantungan hormon, oleh karenanya model hewan tersebut telah digunakan secara luas untuk menentukan reaktivitasnya lesi ektopik terhadap hormon steroid dan obat-obatan yang mengganggu aktivitas steroid. Sesuai dengan yang dialami oleh manusia, pertumbuhan jaringan endometrium ektopik pada tikus dan mencit bersifat estrogen-dependent. Pada tikus yang telah diovariectomi 3 minggu setelah transplantasi jaringan uterus, lesi ektopik mengalami pemulihan jauh lebih baik pada kelompok perlakuan yang diberikan estrogen dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang diberikan estrogen dan progesteron. Fang et. al (2004) menjelaskan peran penting estrogen sebagai faktor penentu ukuran implan pada mencit dan menunjukkan bahwa pengaruh antiproliferasi dari progesteron pada pertumbuhan estrogen-dependent jaringan endometrium diperantarai oleh reseptor progesteron. Hal tersebut disebabkan pertumbuhan estrogen-dependent dapat ditekan oleh progesteron pada jaringan uterus pada mencit *wild-type* yang bukan merupakan mencit yang defisiensi reseptor progesteron.⁷

Berdasarkan situasi tersebut pada wanita, regresi uterus ektopik implan dapat diinduksi pada tikus dengan cara membuat tikus tersebut dalam keadaan hipoestrogenik, yaitu dengan cara ovariectomi, pemberian agonis GnRH, atau dengan pemberian senyawa progestasional sintetis seperti levonorgestrel atau dienogest. Efek yang sesuai dapat dicapai pada model hewan ini dengan mengurangi kadar estrogen dengan menggunakan anti-estrogen, dengan menggunakan raloxifen yang merupakan modulator reseptor estrogen selektif, atau dengan pemberian inhibitor aromatase yang akan mengganggu sintesis estrogen.¹

Perkembangan eksperimen induksi endometriosis pada tikus dihambat oleh *recombinant human tumour necrosis factor (TNF)-binding protein-1* (r-hTBP-1), yang merupakan bentuk terlarut dari reseptor TNF tipe 1. Pengaruh tersebut juga terlihat setelah pemberian pentoxifylline, sebuah substansi anti-inflamasi yang diketahui dapat mengurangi produksi sitokin inflamasi tanpa menyebabkan keadaan hipoestrogenik. Selain itu, perkembangan awal transplantasi ektopik pada tikus direduksi oleh inhibitor cyclooxygenase-2 (COX-2) dan juga oleh pemberian berbagai macam obat-obat anti-inflamasi non-steroid seperti celecoxib, indomethacin, sulindac, dan ibuprofen (bukan aspirin) pada model tikus endometriosis.¹

Baru-baru ini, Dinulescu et. al (2005) telah berhasil mendeskripsikan model tikus de-novo endometriosis pertama. Aktivasi onkogen K-ras pada sel epitel permukaan ovarium menyebabkan perkembangan lesi epitel jinak dengan karakteristik histomorfologi endometriosis manusia. Hampir setengah dari jumlah keseluruhan mencit yang diteliti juga mengalami endometriosis peritoneal 8 bulan setelah aktivasi K-ras pada sel epitel permukaan ovarium. Bekerjasama dengan delesi Pten yang terlibat dalam transformasi keganasan endometriosis ovarium menjadi Endometriosis-Associated Ovarian Carcinoma (EAOC) pada manusia, ekspresi K-ras seringkali menginduksi metastasis adenokarsinoma ovarium endometrioid. Namun demikian, sejauh ini diketahui tidak ada mutasi K-ras yang terjadi pada endometriosis yang dialami manusia.^{1,8}

Efek daripada lesi ektopik endometrium sudah diketahui pada model hewan tikus endometriosis. Fragmen kista endometrium ektopik hasil autotransplantasi akan mengembangkan sistem persarafannya sendiri termasuk eferen simpatik sensori, yang akan memberikan pengaruh terhadap sistem saraf. Hal tersebut didukung oleh penemuan bahwa nyeri vagina meningkat pada tikus dengan kista endometrium, sama dengan wanita yang mengalami endometriosis. Model tikus tersebut juga mengalami hiperalgesia vagina yang merupakan satu gejala yang dapat meningkatkan nyeri panggul pada wanita. Agen neuroaktif yang terdapat pada kista endometrium diduga dapat mengaktivasi aferen rasa sakit yang memengaruhi mekanisme sistem saraf pusat yang berkaitan dengan interaksi viseral. Masih belum diketahui secara jelas apakah tikus dapat mengalami gejala nyeri panggul kronis selain hiperalgesia vagina pada model hewan endometriosis tersebut.¹

2.1.3. Evaluasi model homolog

Terdapat beberapa perbedaan yang relevan antara fisiologi reproduksi rodensia dan manusia, yaitu masing-masingnya memiliki keterbatasan. Dikarenakan rodensia tidak mengalami menstruasi, hewan tersebut tidak dapat mengalami endometriosis spontan, oleh karenanya penyakit tersebut harus diinduksi secara artifisial dengan autotransplantasi jaringan uterus. Fragmen uterus yang ditransplantasikan termasuk lapisan miometrium yang dapat menyebabkan perkembangan lesi. Ketika ukuran dan berat lesi ektopik dievaluasi, miometrium tersebut memiliki proporsi yang cukup besar, namun tetap tidak menggambarkan lesi endometriosis manusia.¹

Terlepas dari keterbatasan-keterbatasan tersebut, penggunaan model rodensia memiliki beberapa keuntungan. Selain dikarenakan keterbatasan dana dan adanya kesempatan untuk melakukan penelitian tersebut pada kelompok hewan yang secara genetik memiliki kemiripan dan dilakukan dalam jumlah besar, studi jangka panjang dapat dilakukan karena tidak adanya penolakan dari jaringan ektopik yang ditransplantasikan. Hal tersebut sesuai dipergunakan dalam studi mengenai mekanisme yang terlibat dalam perlekatan peritonium pada sel-sel endometrium dan juga studi mengenai pengaruh terapi obat-obatan serta bahan-bahan kimia. Model hewan rodensia homolog dari endometriosis hasil autotransplantasi juga memiliki sistem imun yang baik yang dapat digunakan dalam studi terapi imunomodulator dan agen antiinflamasi pada endometriosis.¹

2.2. Xenotransplantasi endometrium manusia pada mencit imunodefisiensi

2.2.1. Karakterisasi model hewan heterolog

Dikarenakan faktor penyebab perkembangan endometriosis dapat berasal dari endometrium itu sendiri dan dapat pula tidak muncul pada endometrium rodensia, model hewan telah dikembangkan dengan cara menanam jaringan endometrium manusia sebagai ganti dari penanaman endometrium autolog ke dalam mencit strain imunodefisiensi. Jenis yang paling sering digunakan yaitu mencit nude atimik (*athymic nude mouse*) yang tidak memiliki limfosit T. Bagian dari endometrium manusia pada fase proliferasi atau sekretori siklus menstruasi dan endometrium menstruasi telah berhasil ditanam pada mencit nude baik secara subkutan maupun intraperitoneal. Bagian tersebut akan membentuk lesi mirip endometriosis yang terlihat hampir sama dengan lesi yang ditemukan pada pasien baik secara makroskopik maupun secara penampakan histologisnya. Tahapan pada siklus menstruasi tidak berpengaruh pada perkembangan lesi ektopik tersebut pada saat pengambilan jaringan endometrium tersebut. Ketika jaringan endometrium diinokulasi secara acak pada rongga peritonium, adhesi peritoneal terjadi 2 hari sejak implantasi tersebut.

Tempat implantasi yang disarankan adalah pada bagian usus, otot dinding abdomen, hati, dan jaringan adiposa yang mengelilingi organ abdominal.^{1,9}

Pada deteksi dan penghitungan hasil implantasi jaringan endometrium non-invasif, Tabibzadeh et al. (1999) memasukkan kelenjar dan sel stroma secara terpisah dengan pewarna lipofilik fluoresens sebelum melakukan transplantasi *in vivo*.¹⁰ Selain itu, Fortin et. al. (2003) melakukan transduksi fragmen endometrium dalam fase proliferasi dengan GFP cDNA sebelum dilakukannya implantasi, yang kemudian menghasilkan fluoeresensi jaringan endometrium sementara sehingga pencitraan *in vivo* dapat dilakukan.¹¹ Karena adenovirus merupakan vektor ekspresi yang bersifat sementara, fluoeresensi tersebut menghilang setelah minggu ketiga atau keempat.

Dikarenakan pada model hewan mencit heterolog jaringan manusia ditransplantasikan, waktu yang dibutuhkan untuk preservasi jaringan menjadi terbatas. Pada sebagian besar studi yang telah dilakukan, kultur jaringan endometrium manusia pada mencit *nude* bertahan tidak lebih dari 4 minggu setelah transplantasi. Setelah 3 minggu sejak inokulasi, parameter mengalami dediferensiasi dan infiltrasi limfosit dapat diamati.

Model hewan mencit yang gangguan pada sistem imunnya lebih sering digunakan sebagai model hewan heterolog pada endometriosis. Jaringan endometrium manusia telah berhasil ditransplantasikan pada mencit yang mengalami *severe combined immunodeficient* (SCID) dan mencit *non-obese diabetic* (NOD-SCID), yang keduanya menunjukkan adanya defisiensi kongenital kombinasi pada fungsi sel limfosit T dan B. Dibandingkan dengan menggunakan model mencit *nude*, mencit yang ditransplantasi jaringan endometrium manusia pada model mencit SCID/NOD-SCID menunjukkan tingkat "*take-rate*" fragmen jaringan yang lebih tinggi dengan morfologi serta ekspresi reseptor hormon yang lebih baik dalam periode 4 minggu. Meskipun mencit jenis tersebut tidak memiliki limfosit T dan B, mereka tetap memiliki aktivitas sel Natural Killer (NK). Baru-baru ini, Matsuura-Sawada et. al (2005) telah berhasil mengkultur jaringan endometrium manusia secara subkutan pada mencit imunodefisiensi NOD/SCID/ γC^{null} yang ternyata dapat mengganggu aktivitas sel NK. Model tersebut mengalami siklus menstruasi manusia sepanjang 28 hari disebabkan oleh pajanan hormon pada hewan yang telah diovariectomi.^{1,12}

2.2.2. Penerapan model hewan heterolog

Model hewan endometriosis hasil xenotransplantasi jaringan endometrium manusia dapat menjelaskan mekanisme yang terlibat dalam pembentukan endometriosis serta pengujian efek terapi potensial pada jaringan manusia. Pendekatan yang dapat mencegah perkembangan endometriosis peritoneal dapat menargetkan jaringan endometrium dan invasinya kepada perbatasan peritoneal. MMP terlibat dalam proses invasi tersebut. MMP diregulasi oleh hormon steroid sitokin pada jaringan endometrium dan penekanan jumlah MMP akan menghambat pembentukan lesi ektopik oleh jaringan endometrium manusia yang ditransplantasikan pada mencit *nude*.

Target terapi lain yang sedang didiskusikan yaitu pada perkembangan pembuluh darah baru, yang sangat esensial terhadap ketahanan lesi ektopik. *Xenograft* endometrium pada mencit *nude* memiliki tingkat VEGF yang tinggi dan agen anti-angiogenik seperti reseptor VEGF terlarut (sflt-1) dan antibodi VEGF-A secara signifikan menghambat pertumbuhan lesi endometriosis pada mencit *nude*.

Dikarenakan endometriosis merupakan suatu penyakit *estrogen-dependent*, tingkat respon yang diberikan lesi ektopik manusia terhadap hormon steroid telah diketahui pada model mencit. Pada kelompok perlakuan sel endometrium yang hanya diberi pajanan estrogen atau pajanan

kombinasi dengan progestin (sebelum injeksi pada rongga peritoneal mencit *nude*) menunjukkan tingginya persentase perkembangan lesi yang mirip endometriosis. Dengan menggunakan pencitraan optikal *in vivo*, Fortin et. al. (2004) berhasil mendemonstrasikan ukuran lesi yang tereduksi secara signifikan pada mencit *nude* yang diberi estrogen dan mencit tanpa pemberian estrogen yang sebelumnya sudah diovariectomi.^{1,13}

Berbeda dengan model hewan rodensia homolog, menit yang digunakan pada model heterolog memiliki sistem imun yang defisien sehingga sulit digunakan dalam studi yang dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh obat-obatan yang bersifat immunomodulasi. Penerapan inhibitor COX-2, yang diketahui terupregulasi pada situs inflamasi, tidak berpengaruh terhadap jumlah atau ukuran lesi endometrium ektopik pada mencit *nude*. Namun demikian, komponen anti-inflamasi seperti cairan peritoneal pada wanita dapat diteliti pada model tersebut. Tabibzadeh et al. (1999) menunjukkan bahwa sel endometrium yang tersuspensi pada cairan peritoneal wanita yang tidak mengalami endometriosis membentuk lesi ektopik yang kurang dibandingkan jaringan endometrium yang tersuspensi pada cairan peritoneal wanita yang mengalami endometriosis setelah injeksi intraepitoneal pada mencit *nude*.^{1,10}

2.2.3. Evaluasi model heterolog

Model tersebut memiliki keuntungan yang sama dengan model hewan homolog, yaitu mudah ditemukan serta menghabiskan biaya lebih kecil, begitu juga dengan keterbatasannya seperti perbedaan antara fisiologi hewan rodensia dengan manusia. Meskipun demikian, hal tersebut tidak menyediakan sistem kekebalan tubuh yang utuh. Namun model mencit heterolog untuk endometriosis dan EAOc merupakan sebuah alat yang menjanjikan untuk pendekatan eksperimental dalam evaluasi etiologi penyakit serta untuk pengujian farmakologi dan modulasi hormon, karena hal tersebut menggunakan jaringan endometrium manusia. Untuk penelitian-penelitian tersebut, jaringan endometrium manusia dapat diperoleh dari wanita dengan atau tanpa endometriosis, begitu juga dengan lesi endometriosis. Mekanisme regulasi, sebagai contoh, setelah pemberian obat-obatan, dapat dievaluasi pada jaringan ektopik manusia dalam keadaan *in vivo*. Studi jangka panjang yang layak dapat dilakukan pada wanita, dan status hormon siklus menstruasi manusia dapat ditiru pada hewan yang diovariectomi. Metode baru yang ditemukan, yaitu pencitraan *in vivo* dengan menggunakan fluoresens dapat memperbaiki penghitungan ukuran serta jumlah lesi ektopik. Teknik *magnetic resonance imaging* (MRI) untuk *in vivo monitoring* lesi sedang dikembangkan untuk penelitian selanjutnya.¹

3. Penutup

Penggunaan model hewan rodensia untuk endometriosis dan EAOc merupakan hal yang sangat penting dan sangat diperlukan dalam evaluasi mekanisme patofisiologi yang mendasari perkembangan penyakit ginekologi. Selain itu, penelitian dengan menggunakan hewan rodensia untuk EAOc telah dilakukan oleh beberapa studi dan diharapkan dapat mengatasi masalah sampel yang terbatas jika menggunakan jaringan manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Grümmer G. Animal models in endometriosis research. *Hum Reprod Update*. 2006;12:641–9.
2. Do Amaral VF, Dal Lago EA, Kondo W, Guarita-Souza LC, Francisco CJ. Development of an experimental model of endometriosis in rats. *Rev Col Bras Cir*. 2009;36:250–5.
3. Vollmer G. Endometrial cancer: experimental models useful for studies on molecular aspects of endometrial cancer and carcinogenesis. *Endocr Relat Cancer*. 2003;10:23–42.
4. Anisimov VN, Ukraintseva SV, Yashin AI. Cancer in rodents: does it tell us about cancer in humans? *Nat Rev Cancer*. 2005;5:807–18.
5. Rossi G, Somigliana E, Moschetta M, Santorsola R, Cozzolino S, Filardo P, et al. Dynamic aspects of endometriosis in a mouse model through analysis of implantation and progression. *Arch Gynecol Obstet*. 2000;263:102–7.
6. Hirata T, Osuga Y, Yoshino O, Hirota Y, Harada M, Takemura Y, et al. Development of an experimental model of endometriosis using mice that ubiquitously express green fluorescent protein. *Hum Reprod*. 2005;20:2092–6.
7. Fang Z, Yang S, Lydon JP, DeMayo F, Tamura M, Gurates B, et al. Intact progesterone receptors are essential to counteract the proliferative effect of estradiol in a genetically engineered mouse model of endometriosis. *Fertil Steril*. 2004;82:673–8.
8. Dinulescu DM, Ince TA, Quade BJ, Shafer SA, Crowley D, Jacks T. Role of K-ras and Pten in the development of mouse models of endometriosis and endometrioid ovarian cancer. *Nat Med*. 2005;11:63–70.
9. Uchiide I, Ihara T, Sugamata M. Pathological evaluation of the rat endometriosis model. *Fertil Steril*. 2002;78:782–6.
10. Tabibzadeh S, Miller S, Dodson WC, Satyaswaroop PG. An experimental model for endometriosis in athymic mice. *Front Biosci*. 1999;4:C4–C9.
11. Fortin M, Lepine M, Page M, Osteen K, Massie B, Hugo P, et al. An improved mouse model for endometriosis allows noninvasive assessment of lesion implantation and development. *Fertil Steril*. 2003;80(Suppl 2):832–8.
12. Matsuura-Sawada R, Murakami T, Ozawa Y, Nabeshima H, Akahira J, Sato Y, et al. Reproduction of menstrual changes in transplanted human endometrial tissue in immunodeficient mice. *Hum Reprod*. 2005;20:1477–84.
13. Fortin M, Lepine M, Merlen Y, Thibeault I, Rancourt C, Gosselin D, et al. Quantitative assessment of human endometriotic tissue maintenance and regression in a noninvasive mouse model of endometriosis. *Mol Ther*. 2004;9:540–7.