

Hewan Model Kanker Ovarium untuk Studi Preklinik dan Pengembangan Obat Kanker Ovarium

(Ovarian Cancer Animal Models for Preclinical Studies and Development of Ovarian Cancer Drugs)

NI MADE DWI SANDHIUTAMI^{1,2*}, PUSPITA EKA WUYUNG³, WAWAIMULI AROZAL⁴,
MELVA LOUISA⁴, DENI RAHMAT¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jalan Raya Lenteng Agung, Srengseng Sawah Jagakarsa, Jakarta Selatan.

²Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jalan Salemba Raya No.4, Jakarta.

³Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jalan Salemba Raya No.4.

⁴Departemen Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jalan Salemba Raya No.4.

*Penulis korespondensi, Hp : 08123888252
e-mail: dwisandhiutami@gmail.com

Diterima 13 Februari 2019, Disetujui 2 Oktober 2019

Abstrak: Pengobatan pada karsinoma ovarium masih jauh dari optimal, model hewan masih diperlukan untuk mempelajari kanker ovarium tipe epitelial manusia. Hewan model kanker ovarium sangat penting untuk memahami patogenesis penyakit dan untuk menguji strategi pengobatan baru. Model karsinogenesis ovarium pada tikus telah dimodifikasi dan diperbaiki untuk menghasilkan lesi preneoplastik dan neoplastik ovarium yang secara patogen menyerupai kanker ovarium manusia. Meskipun tumor ovarium spontan pada tikus telah dilaporkan, namun beberapa kekurangan dari penelitian yang telah ada menghalangi penggunaannya sebagai hewan coba model kanker ovarium. Karena itu, banyak upaya telah dilakukan untuk mengembangkan model hewan yang relevan untuk kanker ovarium. Model-model hewan coba dikembangkan secara akurat agar dapat mewakili perubahan seluler dan molekuler yang terkait dengan inisiasi dan perkembangan kanker ovarium manusia. Model hewan coba yang akurat memiliki potensi signifikan dalam memfasilitasi pengembangan metode yang lebih baik untuk deteksi dini dan pengobatan kanker ovarium. Beberapa model hewan coba kanker ovarium telah dilaporkan, termasuk manipulasi berbagai faktor reproduksi atau paparan karsinogen. Kemajuan terbaru dalam pemodelan kanker ovarium adalah menggunakan tikus yang direkayasa genetika.

Kata kunci: Hewan model, kanker ovarium, karsinogen

Abstract: Treatment for ovarian carcinoma is still far from optimal, animal models are still needed to study human epithelial ovarian cancer. Animal models of ovarian cancer are very important for understanding the pathogenesis of the disease and for testing new treatment strategies. Ovarian carcinogenesis models in mice have been modified and repaired to produce preneoplastic lesions and neoplastic ovaries that are pathogens resembling human ovarian cancer. Although spontaneous ovarian tumors in mice have been reported, some of the shortcomings of existing studies preclude their use as animal models of ovarian cancer. Because of this, many efforts have been made to develop animal models that are relevant for ovarian cancer. Experimental animal models are developed accurately to represent cellular and molecular changes associated with the initiation and development of human ovarian cancer. Accurate experimental models have significant potential in facilitating the development of better methods for early detection and treatment of ovarian cancer. Several animal models of ovarian cancer have been reported, including manipulation of various reproductive factors or exposure to carcinogens. The latest advance in ovarian cancer modeling is using genetically engineered mice..

Keywords: Animal models, ovarian cancer, carcinogen

PENDAHULUAN

SEBAGIAN besar kanker ovarium didiagnosis pada stadium lanjut. Prognosis yang buruk pada wanita yang didiagnosis kanker ovarium sebagian besar terjadi karena adanya metastasis pada 81% pasien saat didiagnosis. Tingkat kelangsungan hidup penderita kanker ovarium dalam 5 tahun adalah sebesar 30%-69% dan jika terdeteksi pada stadium awal, dapat memiliki angka ketahanan hidup hingga 92%. Pengobatan yang ada sekarang memberikan manfaat yang tidak terlalu besar dan meningkatkan angka ketahanan hidup hanya 2-4%⁽¹⁾.

Meskipun terdapat peningkatan pengetahuan tentang etiologi kanker ovarium, pembedahan sitoreduksi yang agresif, dan kombinasi kemoterapi yang modern, namun hanya terdapat sedikit perubahan statistik angka ketahanan hidup dalam 30 tahun terakhir, dan sekitar 60% dari wanita yang menderita kanker ovarium akan meninggal. Skrining yang kurang memadai untuk mendeteksi penyakit lebih dini, mendeteksi perubahan preneoplastik atau neoplastik awal pada sel epitel dan terjadinya kemoresisten menyebabkan peningkatan angka kematian penderita kanker ovarium. Kanker ovarium dapat muncul di ovarium dari sel germinal, sel stroma, atau sel epitel. Sebagian besar (90%) kanker ovarium muncul dari jaringan epitel, lapisan sel yang menutupi permukaan ovarium. Terdapat beberapa histologi kanker ovarium tipe epitel yang berbeda yaitu *high-grade serous* (HGS) dan *low-grade serous ovarian, mucinous, endometrioid, clear cell*, dan transisional atau tidak terdiferensiasi⁽²⁾.

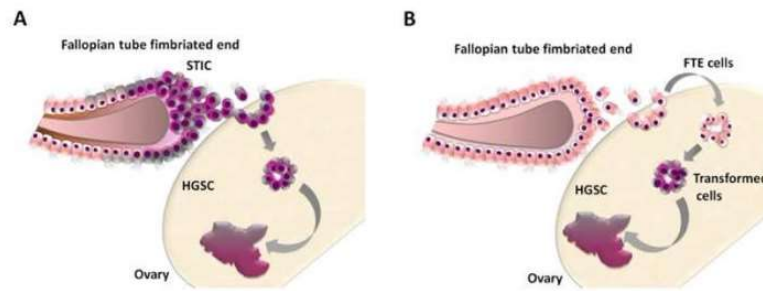
Epidemiologis, patologis, dan studi molekuler telah dikembangkan terus menerus oleh para ilmuwan dan hipotesis yang diperoleh adalah bahwa tumor ovarium terdiri dari berbagai jenis serta dapat timbul dari sel prekursor yang berbeda, termasuk yang berasal dari saluran tuba, endometrium, serviks, dan saluran gastrointestinal (GI)⁽³⁻⁴⁾. Kanker ovarium yang muncul dari prekursor yang berbeda memiliki subtipe kanker ovarium yang secara histologis dan genetik berbeda. Kanker ovarium telah dibagi menjadi dua kelas, yaitu : (1) Kanker tipe 1, berkembang dari tumor dengan keganasan yang lebih rendah, terjadi mutasi jalur Ras. *Low-grade serous ovarian, mucinous, endometrioid, clear cell* ini termasuk dalam kanker tipe 1; (2) Kanker tipe 2, berkembang dengan cepat dan terdapat mutasi TP53. Kanker ini termasuk *high-grade serous* (HGS), tidak terdiferensiasi, dan karsinosarkoma⁽⁵⁾. Studi terbaru menunjukkan bahwa beberapa tumor HGS dapat berawal dari fimbria tuba falopi⁽⁶⁾. Ketika kanker ovarium berkembang, sel-sel tumor berakumulasi membentuk agregat sel tunggal maupun multisel pada

cairan asites⁽⁷⁾. Akumulasi cairan asites pada kanker stadium akhir berkorelasi dengan prognosis yang buruk⁽⁸⁾. Sel-sel tumor ini dapat bermetastasis secara lokal. Lokasi metastasis yang sering terjadi termasuk di omentum, dinding peritoneum, diafragma, dan mesenterium usus kecil⁽⁹⁾.

Strategi terapi baru harus terus dikembangkan untuk meningkatkan hasil klinis pengobatan kanker ovarium. Model-model hewan coba dikembangkan secara akurat agar dapat mewakili perubahan seluler dan molekuler yang terkait dengan inisiasi dan perkembangan kanker ovarium manusia. Model hewan coba diharapkan dapat menggambarkan sifat biologis kanker ovarium manusia (mis., massa ovarium, asites, penyebaran intraperitoneal, dan metastasis). Model hewan coba memiliki potensi signifikan dalam memfasilitasi pengembangan metode yang lebih baik untuk deteksi dini dan pengobatan kanker ovarium. Beberapa model hewan coba kanker ovarium telah dilaporkan, termasuk yang melibatkan manipulasi berbagai faktor reproduksi atau paparan karsinogen. Kemajuan terbaru dalam pemodelan kanker ovarium adalah menggunakan tikus yang direkayasa genetika⁽¹⁰⁻¹²⁾. Berikut diuraikan beberapa model pada hewan coba yang telah dikembangkan untuk meneliti transformasi sel ovarium.

Mencit yang Direkayasa secara Genetis.

Mencit yang direkayasa secara genetis untuk mendapatkan model kanker ovarium tipe *high grade serous carcinoma* (HGSC) sulit dihasilkan. Pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan pemberian onkogen secara langsung pada mencit dan atau mengganggu gen penekan tumor pada ovarium. Hal tersebut memungkinkan pembentukan mencit model kanker ovarium dengan patogenetik HGCS yang ditandai dengan keberadaan lesi dan prekursor lain yang mirip dengan karsinoma ovarium tipe epithelial^(13,14). Kim et al. mengembangkan model mencit kanker ovarium tipe epithelial yang diperoleh Dicer-Pten double knockout. Secara klinis, model tersebut menyerupai HGSC manusia, kanker ovarium tipe epithelial ini muncul dari saluran telur, menyebar ke rongga perut dan ke ovarium, serta menyebabkan asites dan kematian 100% pada mencit. Secara fenotip dan morfologis, tumor yang dikembangkan tersebut menyerupai HGSC⁽¹⁵⁾. Peneliti lain juga telah menghasilkan model mencit kanker ovarium melalui inaktivasi Brca 1/2, Pten dan Tp53 dalam sel sekretori tuba falopi, meniru perubahan molekuler yang biasa diamati pada HGSC manusia⁽¹³⁾. Sherman-Baust et al., 2014 melaporkan model mencit transgenik yang dikembangkan untuk menjadi model HGSC dari karsinoma serosa tipe epithelial



Gambar 1. Hipotesis tuba fallopi tentang asal-usul serous carcinoma (HGSC). Sel Fallopian tube epithelium (FTE) mengalami transformasi neoplastik awal dan kemudian menjadi serous tubal intraepithelial carcinoma (STIC). Sel-sel STIC memiliki ketahanan dan invasi di permukaan ovarium. Lingkungan mikro ovarium, kaya akan faktor hormonal dan inflamasi, mendorong transformasi neoplastik penuh menjadi HGSC) invasif (A). Atau, sel-sel FTE normal terperangkap dalam ovarium dan ikut dalam proses ovulasi fisiologis. Sel FTE yang terperangkap mengalami transformasi neoplastik progresif di dalam ovarium melalui akumulasi perubahan molekuler (B)⁽¹⁶⁾.

di tuba dilakukan melalui inaktivasi jalur p53 dan Rb, sehingga menyerupai HGSC⁽¹⁴⁾. Kedua model mencit tersebut dapat menyerupai HGSC manusia dari sudut pandang klinis, histopatologis, dan genetik⁽¹³⁻¹⁴⁾. Secara keseluruhan, semua model mencit yang dimodifikasi secara genetik ini memberikan bukti baru yang mendukung “hipotesis tuba fallopi”, yaitu bahwa HGSC dapat berasal dari tuba fallopi (Gambar 1).

Hipotesis ini memberikan peluang untuk menjelaskan peristiwa awal HGSC dan karsinogenesis, serta dapat mengeksplorasi strategi baru dalam deteksi dini, pencegahan dan terapi pada kanker ovarium tipe epitelial. Selain itu, model mencit jenis syngeneic ini optimal untuk studi lingkungan mikro tumor, angiogenesis, interaksi epitelial-stromal dan mekanisme imun antitumor sebagai penjaga sistem kekebalan tubuh. Keterbatasan utama dari model ini adalah bahwa model ini sulit, mahal dan memakan waktu serta tidak sepenuhnya mereplikasi kompleksitas genetik dan epigenetik dari HGSC spontan.

Transplantasi Sel Primer Kanker Ovarium Manusia pada Mencit Xenograft. Transplantasi sel yang heterogen dimungkinkan dalam lingkungan *immunounresponsive* sehingga dapat mencegah penolakan transplantasi. Namun, tingkat pengikatan sel kanker manusia pada mencit dengan penekanan sistem imun adalah rendah karena kemungkinan adanya kemampuan adaptif dan/atau kekebalan bawaan, karakteristik intrinsik tumor dan pendekatan eksperimental yang digunakan. Saat ini, model xenografts dikembangkan dengan transplantasi tumor manusia dari tumor primer atau *cell line* kanker ke dalam mencit yang immunodeficient, seperti: i) *athymic nude mice* yang kekurangan limfosit T fungsional, ii) *severe combined immunodeficient mice*

(SCID) yang kekurangan limfosit B dan T, dan iii) nonobese diabetic (NOD) / SCID / IL2R γ null, mencit yang cacat dalam kekebalan adaptif dan bawaan karena kurangnya pematangan limfosit dan sel T (NK sel). Tiga rute utama implantasi yang digunakan untuk menghasilkan model xenografts kanker ovarium tipe epitelial adalah subkutan (ektopik), intraperitoneal dan intrabursal (ortotopik)⁽¹⁷⁾. Implantasi subkutan memfasilitasi terjadinya kanker ovarium tipe epitelial, tetapi sulit mengetahui perkembangan tumor secara klinis, karena asites yang berat dan terbentuknya karsinoma peritoneum⁽¹⁸⁾. Implantasi intrabursal terdiri dari injeksi sel ke dalam membran bursal yang membungkus ovarium dan saluran telur mencit. Lokasi implantasi ini menghasilkan lingkungan fisiologis yang sesuai untuk pertumbuhan HGSC, sehingga tumor dan lingkungan mikro ovarium dapat saling berinteraksi dan dimodulasi⁽¹⁹⁻²⁰⁾. Oleh karena itu, implantasi intrabursal dan intraperitoneal paling baik menghasilkan manifestasi klinis HGSC seperti pada manusia, dapat menggambarkan tahap awal dan akhir penyakit^(17,20). Selain itu, munculnya instrumen pencitraan non-invasif yang dirancang khusus untuk hewan kecil memungkinkan pemantauan pertumbuhan tumor di dalam peritoneal *in vivo* dari waktu ke waktu. Yang perlu diperhatikan untuk keberhasilan dalam membuat model hewan coba adalah bahwa implantasi intraperitoneal dan intrabursal membutuhkan lebih banyak waktu dan keterampilan teknis khusus jika dibandingkan dengan pemberian secara subkutan⁽¹⁸⁾.

Transplantasi Cell Line Kanker Ovarium Manusia pada Mencit Xenograft. Meskipun terdapat banyak kekurangan, model mencit xenografts yang diberikan *cell line* kanker adalah model hewan yang paling banyak digunakan dalam penelitian kanker ovarium tipe epitelial. Model ini memberikan banyak manfaat untuk mengeksplorasi biomolekular

dan pengembangan pengobatan pada kanker ovarium tipe epithelial^(10,17,19,20). Tidak semua *cell line* kanker ovarium dapat digunakan, hanya *cell line* tertentu yang dapat membentuk tumor ketika disuntikkan ke mencit yang immunocompromised, dan tumor yang diinjeksi akan menghasilkan morfologi yang tidak terdiferensiasi dengan jelas serta menampilkan susunan genetik yang kompleks jika *cell line* berasal dari pasien dengan stadium lanjut^(19,21,22). Model mencit xenograft yang diinjeksi *cell line* ovarium tipe epithelial umumnya diperoleh dengan injeksi intraperitoneal sel lestari A2780, OVCAR-3 dan SK-OV-3. Di antara *cell line* tersebut, OVCAR-3 secara genetik berkorelasi dengan HGSC primer, sedangkan A2780 dan SK-OV-3 tidak menunjukkan perubahan genetik khas seperti HGSC dan kemungkinan menjadi karsinoma endometrioid⁽²³⁾. Sebagai akibatnya, model tersebut tidak secara akurat menampilkan respon klinis HGSC dan respon terhadap agen antikanker

baru, serta tidak dapat digunakan dalam studi resistensi obat dan reaksi yang merugikan⁽²⁴⁾. Namun demikian, beberapa studi praklinis, menggunakan model mencit xenograft yang diinjeksi *cell line* kanker ovarium tipe epithelial, dapat digunakan untuk memprediksi respons obat antikanker dengan benar dan secara efektif berkontribusi untuk pengembangan terapi HGSC. Penelitian lain menyebutkan bahwa agen antiangiogenik secara efektif mengurangi pembentukan asites di mencit xenograft yang diinjeksi *cell line* kanker OVCAR-3 dan SK-OV-3 dan dalam kombinasi dengan paclitaxel secara sinergis dapat mengurangi pertumbuhan tumor⁽²⁵⁾. Contoh lain dari keberhasilan penggunaan model mencit xenograft yang diinjeksi *cell line* kanker adalah keberhasilan uji praklinis dari PARP inhibitor dalam sel yang kekurangan BRCA secara in vitro dan in vivo⁽²⁶⁾. Penelitian terakhir menunjukkan kemampuan model mencit xenograft yang diinjeksi *cell line*

Tabel 1. Perbandingan antara model hewan yang paling umum digunakan dalam penelitian kanker ovarium.
Ringkasan keuntungan dan keterbatasan dari berbagai model hewan yang digunakan dalam penelitian kanker ovarium (modifikasi)⁽¹⁶⁾.

No	Model Hewan	Keuntungan	Keterbatasan
1	Mencit yang direkayasa secara genetik	<ul style="list-style-type: none"> a. Dapat digunakan dalam studi kemopreventif b. Dapat digunakan dalam mempelajari inisiasi dan progresi tumor c. Menampilkan lingkungan tumor seperti pada kondisi kanker ovarium di manusia d. Menampilkan perubahan molekular tumor 	<ul style="list-style-type: none"> a. Menampilkan genomik yang terlalu sederhana b. Waktu pembentukan tumor yang lambat dan bervariasi c. Kurang dapat menggambarkan kondisi seperti pada manusia d. Mahal dan membutuhkan waktu yang panjang
2	Transplantasi sel primer kanker ovarium manusia pada mencit <i>xenograft</i>	<ul style="list-style-type: none"> a. Menampilkan heterogenitas sel tumor seperti yang terjadi pada manusia b. Menampilkan perubahan molekular tumor seperti yang terjadi pada manusia c. Menampilkan tumor progresi d. Baik digunakan dalam studi kanker ovarium pada manusia 	<ul style="list-style-type: none"> a. Membutuhkan jaringan HGCS manusia yang segar b. Waktu implantasi yang menjadi bervariasi c. Membutuhkan hewan coba dengan defisiensi sistem imun d. Tidak dapat digunakan dalam studi kemopreventif
3	Transplantasi <i>cell line</i> kanker ovarium manusia pada mencit <i>xenograft</i>	<ul style="list-style-type: none"> a. Mudah, cepat, dan <i>reproducible</i> b. Menampilkan progresi tumor yang sesuai 	<ul style="list-style-type: none"> a. Populasi tumor yang homogen b. Tidak dapat menampilkan kondisi seperti pada manusia kanker ovarium c. Kurangnya interaksi tumor-stroma d. Tidak dapat digunakan dalam studi kemopreventif
4	Model hewan kanker ovarium spontan dan penggunaan karsinogen	<ul style="list-style-type: none"> a. Dapat digunakan dalam studi kemopreventif b. Pertumbuhan kanker yang progresif dan spontan 	<ul style="list-style-type: none"> a. Kurang relevan untuk karsinogenesis HGCS b. Variasi waktu pertumbuhan tumor c. Variasi angka kejadian tumor d. Histopatologi yang kurang dapat diperkirakan e. Kurang dapat menggambarkan perubahan molekular

kanker secara paralel adalah dengan studi in vitro dalam memprediksi efektifitas obat, mengantisipasi toksisitas obat, mengidentifikasi biomarker yang terkait dengan respons obat⁽²⁷⁻²⁸⁾. Oleh karena itu, keberhasilan pada uji praklinis untuk terapi HGSC sangat tergantung pada pemilihan cell line yang sesuai, memperhitungkan profil molekuler HGSC primer dan sensitivitas obat.

Keuntungan model mencit xenograft yang diinjeksi cell line kanker meliputi kecepatan pembentukan tumor, kemudahan prediksi, reproduksibilitas, kesesuaian profil HGSC, dan penggunaan mencit yang tidak banyak dalam studi respons obat. Di sisi lain, keterbatasan utama hasil dari penggunaan cell line tertentu (seperti yang telah disebutkan di atas) dan mencit yang *immunocompromised*, sehingga interaksi kompleks antara sel lestari dengan lingkungan mikro tidak terbentuk (sistem kekebalan, stroma, peradangan, pembuluh darah) (Tabel 1)⁽¹⁶⁾.

Patient-Derived Murine Xenograft Models (Pdx). Penggunaan Patient-derived murine xenograft models (PDX) telah dilakukan sejak tahun 1969, tetapi dalam beberapa dekade terakhir penggunaannya menjadi cukup sering dalam penelitian kanker. Berbeda dengan *xenografts cell line*, model ini dibuat dengan transfer langsung tumor/asites dari pasien ke tikus NOD / SCID. *Murine xenograft* yang mengalami tumor asites pasien biasanya tidak bertahan hidup setelah 8 minggu dan dari hasil nekropsis menunjukkan efusi peritoneum dan beberapa nodul tumor di dinding peritoneum dan mesenterium, yang merupakan ciri khas HGSC stadium lanjut pada pasien. Morfologis dan genetik molekuler (mutasi TP53 dan perubahan jumlah salinan DNA) dari tumor PDX hampir tidak dapat dibedakan dari tumor yang diperoleh dari pasien, hal ini menunjukkan bahwa model PDX dapat dengan mensimulasikan HGSC manusia⁽²⁹⁻³²⁾. Karakteristik penting dari model PDX yang membedakan dengan *xenografts cell line* adalah: i) tumor dalam PDX menunjukkan stroma intratumoral seperti pada manusia dan vaskularisasi yang sesuai dengan lingkungan mikro fisiologis; ii) *xenografts PDX* memungkinkan propagasi dan ekspansi tumor seperti pada manusia dan mempertahankan kesesuaian morfologis dan genetik yang signifikan dengan HGSC primer selama beberapa generasi dari murine tersebut. Berkat karakteristik tersebut, model PDX mampu mencerminkan/memprediksi respon terapeutik yang diamati di klinik, menunjukkan kesesuaian dengan respon pengobatan pasien asli^(31,33), sehingga memiliki peluang untuk pengembangan targeted terapi pada HGSC. Namun, beberapa keterbatasan juga ditemukan

pada model ini. Pertama, membutuhkan sejumlah besar tumor segar manusia dan periode waktu bervariasi untuk engraftment (2 hingga 4 bulan)⁽³⁴⁾. Kedua, tingkat *engraftment* tumor bervariasi secara signifikan dalam studi yang berbeda tergantung pada karakteristik tumor, strain murine dan lokasi implantasi. Ketiga, PDX tidak memungkinkan untuk mempelajari peran sistem kekebalan tubuh dan, dalam jangka panjang, juga interaksi tumor-stroma⁽³⁵⁾. Pengembangan, penyebaran, dan pemeliharaan PDX memakan waktu, rumit, dan mahal.

Model Humanized-Xenograft. Kelemahan utama *xenografts* adalah kurangnya respons yang dimediasi limfosit sebagai konsekuensi dari hewan coba yang mengalami imunodefisiensi yang digunakan sebagai penerima. Oleh karena itu, *xenografts* menghalangi interaksi patofisiologis antara sel kanker dan sistem kekebalan tubuh yang memainkan peran penting dalam inisiasi kanker ovarium tipe epitelial, perkembangan dan respon terapi⁽³⁶⁾. Untuk mengatasi masalah ini, tikus yang *immunocompromised* dapat di *engrafted* dengan sel darah yang positif CD34, yang dapat diisolasi dari tali pusat manusia atau hati janin, yang kaya hematopoietic stem cells. Strategi ini mengembalikan hampir seluruh sistem kekebalan hewan coba seperti pada manusia, dan memungkinkan untuk mempelajari respon imunologis terhadap HGSC⁽³⁷⁻³⁸⁾.

Model Hewan Kanker Ovarium Spontan dan Penggunaan Karsinogen. Selain model hewan coba diatas, telah diketahui bahwa ayam, beberapa galur tikus (tikus galur Wistar dan Sprague-Dawley) dan kera (primata) digunakan dalam pengembangan hewan model tumor ovarium secara spontan⁽³⁹⁾. Pada ayam petelur telah dikembangkan sebagai model kanker ovarium tipe epitelial, yang menghasilkan 4 histotipe utama kanker epitel ovarium (serous, endometrioid, mucinous dan clear cell).[40] Sementara itu tikus dan mencit dapat digunakan dalam pengembangan berbagai tumor seperti tubular adenoma, papillary cystadenoma, adenocarcinoma, mesothelioma, germ cell tumor, granulosa cell tumor dan sex-cord stromal tumor.[41-43] Pada kera, secara spontan dapat dikembangkan granulosa cell dan sex-cord stromal tumors, tetapi tidak dapat membentuk tumor epitel yang terdapat pada manusia, walaupun secara anatomi kera memiliki kemiripan dengan manusia.[39] Pada beberapa kasus dalam penelitian, pembentukan tumor yang relative cukup lama dan rendahnya angka kejadian tumor membuat model tumor atau kanker ovarium pada hewan tidak banyak dilakukan pengujian secara in vivo.

Sejak akhir tahun enam puluhan,

sitokeratin, penanda epitel permukaan ovarium^(45,52).

Efek karsinogenik DMBA pada tikus sebelumnya telah diklasifikasikan sebagai adenokarsinoma. Nishida dkk. mencatat neoplasma pada 19 dari 40 tikus (47,5%)⁽⁴⁹⁾. Tujuh belas diklasifikasikan sebagai adenokarsinoma, dan dua sebagai fibrosarkoma. Pada tahun 2002 Tanaka et al., melaporkan tujuh dari 20 tikus (35%) dengan adenokarsinoma 51 minggu setelah injeksi ovarium dengan DMBA.^[53] Pada tahun 2004 Tanaka et al., melaporkan 9/20 tikus (45%) yang diinduksi dengan DMBA mengembangkan adenokarsinoma⁽⁵⁰⁾.

Tikus model kanker ovarium dengan induksi 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) yang disalut pada benang. Karakterisasi adenocarcinoma pada ovarium tikus yang diinduksi dengan DMBA yang disalut pada benang dan dijahit pada ovarium telah dilaporkan. DMBA dengan kemurnian 99% dilelehkan pada 124°C untuk pada benang steril dengan panjang 1 cm, kemudian diimplantasi langsung pada ovarium tikus Wistar Furth usia 7 minggu. Ovarium yang diimplantasi dengan DMBA menunjukkan hilangnya folikel primer yang hampir lengkap dan degenerasi sel granulosa pada 16 minggu, konsisten dengan respons toksik ovarium yang diketahui terhadap aplikasi DMBA langsung. Ovarium kanan yang tidak diinduksi menunjukkan kondisi normal. Tumor ovarium dapat diraba 175 hari setelah implantasi DMBA. Tumor ovarium pada tikus yang diinduksi dengan DMBA pertama kali dicatat pada 26 minggu pasca implantasi yang mencapai insidensi tumor kumulatif 77% (23/30) pada 52 minggu. Kontrol menunjukkan tidak ada bukti tumor pada 52 minggu (0/31). Histologi tumor didistribusikan sebagai adenokarsinoma yang berdiferensiasi baik (1/23), adenokarsinoma yang berdiferensiasi buruk (8/23), tumor sel sel granulosa (8/23), dan sarkoma yang tidak berdiferensiasi (23/5). Beberapa tumor muncul ke mesenterium peritoneal, limpa dan dinding perut. Adenokarsinoma tampaknya berasal dari epitel permukaan ovarium dengan focal papillary yang meluas ke ruang kistik. Sel-sel tumor yang dihasilkan dari epitel bereaksi positif dengan antibodi sitokeratin (8/8), epithelial cell adhesion molecule (Ep-CAM 5/5) dan prostaglandin synthetase-1 (COX-1 4/4). Sel-sel epitel positif terhadap Vimentin ketika terdapat adenokarsinoma (4/7), ditunjukkan dengan pewarnaan perinuklear, sangat berbeda dengan sel-sel stromal pada thecal/granulosa tumor (8/8). Tumor sel thecal/granulosa menunjukkan Ep-CAM negatif (0/5) dan COX-1 positif yang sangat lemah (4/4). Dengan demikian, model implantasi DMBA yang disalut pada benang di

ovarium tikus menghasilkan tumor epitel yang secara histologis mirip dengan manusia, sehingga model ini dapat digunakan untuk pengujian agen pencegahan atau terapi⁽⁵²⁾.

Mayoritas tumor (74%) terdiri dari dua tipe histologis. Adenokarsinoma, sebagian besar (8/23) berdiferensiasi buruk, ditandai dengan nest pada struktur kelenjar, umumnya back to back, dibatasi oleh lapisan tunggal sel yang diketahui sebagai lumina dan memiliki rasio sitoplasma yang tinggi, terjadi pleomorfisme nukleolus dengan kelenjar kromatin dan nukleoli yang menonjol⁽⁵²⁾. Berbeda dengan laporan penelitian lain yang menggunakan benang jahit yang dilapisi DMBA, hanya satu *cystadenocarcinoma* serosa papiler yang dicatat di antaranya^[54]. Salah satu tumor diketahui berdiferensiasi dengan baik dan menunjukkan struktur ductal yang produktif. Sel tumor thecal/granulosa (8/23) mempertahankan beberapa struktur folikel normal dengan sel granulosa kuboid yang memiliki nukleolus sentral yang besar, tetapi sebagian besar ditandai oleh palisade yang terjalin dan lingkaran sel-sel skal berbentuk gelendong yang besar.

Adenokarsinoma ovarium pada tikus yang diinduksi oleh paparan DMBA yang tersalut pada benang telah dilaporkan pada beberapa penelitian. Jumlah epitel permukaan ovarium yang terbatas dan kesulitan dalam palpasi lesi awal telah menghambat deteksi arah perkembangan dan metaplasia awal epitel permukaan pada ovarium. Variasi histologi yang terlihat, termasuk sarkoma agresif yang tidak berdiferensiasi, menunjukkan bahwa DMBA menginduksi tumor pada berbagai tipe sel. Tiga puluh sembilan persen (9/23) dari tumor ditemukan sebagai adenokarsinoma dan mengekspresikan penanda epitel dan metabolisme yang mirip dengan tumor epitel ovarium manusia⁽⁵²⁾.

Tikus model kanker ovarium dengan induksi 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) yang disalut pada benang jahit dibandingkan dengan salut pada kain (0,5x0,5 cm). Karsinogen 7, 12-dimetilbenz [a] antrasena (DMBA), merupakan hidrokarbon aromatik polisiklik yang menginduksi mutasi karsinogenik dengan membentuk adisi DNA. [45,52] Insiden induksi adenokarsinoma ovarium oleh DMBA bervariasi antara 10 hingga 45%^[52,55], yang mungkin disebabkan oleh perbedaan strain tikus yang digunakan, bentuk kimia dari DMBA yang digunakan dan rute obat yang diberikan dalam studi tersebut. Rute penggunaan dengan implantasi langsung karsinogen memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian intragastrik tunggal atau injeksi DMBA intravena pada tikus, meskipun

hampir sebagian besar tumor menunjukkan histologi tumor stroma⁽⁵⁴⁾. Pada penelitian ini membandingkan cara menggunakan DMBA dalam menginduksi kanker ovarium. Kelompok S adalah kelompok yang diimplantasi dengan DMBA yang disalut pada benang sedangkan kelompok CS adalah kelompok yang diimplantasi dengan DMBA yang disalut pada kain (0,5x0,5 cm). Hasil dilaporkan bahwa 75% insiden tumor terjadi pada akhir 32 minggu dan 93,75% (90/96) dari semua tumor dan didiagnosis sebagai adenokarsinoma. Tumor pada kedua kelompok berbentuk padat dalam struktur, meskipun beberapa tumor memiliki lubang kistik yang mengandung abses. Terjadi penyebaran intraperitoneal, dengan atau tanpa asites.

Secara morfologis, tikus dengan tumor memiliki perut yang membesar. Tumor tampak sebagai massa besar dengan warna kemerahan dari ovarium, dan secara agresif menyerang organ-organ sekitarnya termasuk limpa, usus, ginjal, dan rahim, termasuk beberapa dengan asites. Dimensi terbesar rata-rata tumor pada kelompok CS (3,63±0,89 cm) dan kelompok S (2,44±1,89 cm). Mayoritas tumor pada kedua kelompok adalah adenokarsinoma. Adenokarsinoma dapat dikategorikan sebagai karsinoma campuran, di mana sel-sel epitel terdiri dari sel-sel pipih atau berbentuk kuboid menyerupai epitel permukaan ovarium, sel-sel hobnail, dan sel-sel kolumnar, dengan inti pseudostratifikasi. Secara histologis, 93,75% (90/96) dari tumor ovarium pada kelompok CS adalah adenokarsinoma; tumor yang tersisa (6/96) menampilkan fitur khas sarkoma ovarium. Sementara pada kelompok S, tipe histologis dari tumor yang diinduksi meliputi: adenokarsinoma (21/37), karsinoma skuamosa (3/37), tumor sel granulosa (3/37), sarkoma (4/37), karsinoma tidak berdiferensiasi tanpa karakter adeno (2/37), tumor ovarium jinak (2/37), dan teratoma ganas (1/37)⁽⁵⁶⁾.

Pada penelitian terdahulu penginduksi menggunakan DMBA tidak selalu berhasil menghasilkan karsinoma ovarium dengan tingkat kejadian sekitar 50%. Hingga saat ini, banyak laporan yang tersedia mengenai karsinoma yang diinduksi DMBA secara keseluruhan pada tikus telah menunjukkan neoplasma ovarium yang dapat direproduksi dengan rute pemberian yang berbeda, dosis, lama pajanan, dan lama waktu sebelum pengumpulan jaringan. Dalam satu penelitian, tikus C57BL6 menerima dosis DMBA harian secara peroral selama 3 minggu; 71% hewan menghasilkan tumor sel granulosa setelah satu tahun⁽⁵⁷⁾. Dalam penelitian lain, tikus dari C57BL6; menerima dosis DMBA

mingguan secara peroral selama 6 minggu; 6 bulan setelah induksi, 27,3% (12/44) tikus mengalami neoplasma ovarium, 58% di antaranya adalah tumor sel granulosa⁽⁵¹⁾. Baru-baru ini, sebuah studi yang menilai kejadian kanker pada tikus dengan mutasi P53 (p53Ala135Val / wt) menemukan bahwa 80% tikus yang menerima implan dari DMBA ke dalam indung telur mampu menghasilkan tumor ovarium, di mana 50% adalah adenokarsinoma ketika dievaluasi 3 bulan setelah implantasi⁽⁵⁸⁾. Dibandingkan dengan ovarium manusia, perkembangan neoplasma epitel jarang terjadi di ovarium hewan pengerat. Salah satu alasan yang menjelaskan rendahnya kejadian adalah bahwa ovarium tikus sepenuhnya diselubungi oleh kantong membran, yang melindungi epitel permukaan terhadap efek karsinogen lokal⁽⁵⁹⁾.

Dalam penelitian Huang et al., 2014 ini, sebagian besar tumor ovarium yang diinduksi dengan DMBA yang disalut pada kain adalah adenokarsinoma, sementara kelompok yang diinduksi DMBA yang disalut pada benang menunjukkan cukup banyak jenis tumor non-epitel. Hasil yang sangat berbeda dari dua kelompok dapat disebabkan oleh prosedur selama operasi. Pada kelompok CS, peneliti secara maksimal menjaga bagian dalam ovarium tidak terluka dengan hanya membedah kantong membran dan membiarkan sel permukaan terpapar obat-obatan. Sementara dalam kelompok S, peneliti melukai jaringan dalam ovarium ketika memasukkan jahitan berlapis DMBA dengan jarum untuk memungkinkan obat menembus ke dalam jaringan di samping permukaan. Hasil penelitian ini juga memberikan bukti lebih lanjut bahwa asal usul kanker epitel ovarium berasal dari sel permukaan ovarium, dan jenis kanker lainnya mungkin berasal dari lapisan tengah ovarium. Dengan demikian, model strip kain menghasilkan model kanker epitel ovarium yang lebih homogen. Hal ini dapat menyediakan model hewan yang lebih cocok untuk penelitian kanker ovarium daripada model yang diinduksi bahan kimia yang dilaporkan sebelumnya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa model strip kain DMBA pada tikus menghasilkan insiden dan spesifisitas yang tinggi dari tumor yang diturunkan epitel secara histologis serupa dengan EOC manusia sehingga dapat digunakan untuk menguji agen pencegahan atau terapi untuk EOC⁽⁵⁶⁾.

Tikus model kanker ovarium dengan induksi 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) dikombinasi dengan stimulasi hormon gonadotropin. Induksi DMBA juga dikombinasikan dengan pemberian stimulasi hormon gonadotropin berulang untuk menginduksi beberapa siklus proliferasi aktif pada epitel permukaan ovarium.

berulang untuk menginduksi beberapa siklus proliferasi aktif pada epitel permukaan ovarium. Pada penelitian Stewart et al., 2004, hewan dibagi dalam tiga kelompok DMBA dengan dosis berbeda atau diikuti dengan pemberian hormon. Tampak pada ovarium yang diinduksi DMBA jika dibandingkan dengan control yaitu adanya lesi asal sel epitel pada tahapan preneoplasia dan neoplasia yang berbeda secara morfologis pada hewan yang diinduksi DMBA. Histologi dan jalur penyebarannya ke organ lain sangat mirip dengan kanker ovarium manusia. *Co-treatment* hormon menyebabkan peningkatan keparahan lesi, menunjukkan bahwa gonadotropin dapat meningkatkan progresi kanker ovarium. Mutasi pada gen Tp53 dan Ki-Ras terdeteksi, yang juga merupakan karakteristik karsinoma ovarium manusia. Selain itu, ekspresi berlebih dari reseptor estrogen dan progesteron diamati pada lesi preneoplastik dan neoplastik awal, menunjukkan peran reseptor ini dalam perkembangan kanker ovarium. Data ini menunjukkan bahwa model hewan DMBA ini menimbulkan lesi ovarium yang sangat mirip dengan kanker ovarium manusia dan cukup untuk studi tambahan tentang mekanisme penyakit dan manajemen klinisnya⁽⁴⁵⁾.

Ovulasi yang terus-menerus, peningkatan kadar hormon gonadotropin pasca-menopause, peradangan kronis, dan karsinogen lingkungan diasumsikan memainkan peran kunci dalam onkogenesis ovarium⁽⁶⁰⁾. Model-model hewan yang dapat menggambarkan kanker ovarium pada manusia sangat penting untuk memahami patogenesisnya dan untuk menguji strategi pengobatan baru. Sejumlah model telah dikembangkan hingga saat ini berdasarkan pengobatan karsinogen, stimulasi hormon gonadotropin / steroid, dan pemodelan genetik.

Untuk meningkatkan penggunaan dan relevansi fisiologisnya dengan penyakit manusia, model kanker ovarium DMBA telah dimodifikasi dengan (a) mengurangi dosis DMBA secara signifikan, dengan demikian menjaga integritas organ secara maksimal dan (b) dengan menggabungkan beberapa penggunaan hormon gonadotropin, dengan demikian akan meningkatkan faktor risiko tambahan yang terkait dengan kanker ovarium manusia, yang diketahui juga dapat menginduksi hiperovulasi dan meningkatkan mitogenesis epitel permukaan ovarium⁽⁴⁵⁾. Karakterisasi model hewan yang dimodifikasi ini menunjukkan munculnya lesi awal dan lanjut dengan sifat progresif yang berkisar dari nonneoplastik ke preneoplastik ke ganas. Histopatologi dan jalur penyebarannya sangat menyerupai kanker ovarium manusia.

Pada penelitian ini implantasi DMBA

disertai dengan pemberian hormon gonadotropin. Untuk menentukan urutan perubahan histologis dan molekuler yang ditimbulkan oleh DMBA di ovarium, subkelompok hewan dikorbankan di berbagai titik waktu, hingga 12 bulan. Pada 5 sampai 6 bulan pasca induksi, sejumlah jenis lesi diamati: (a) lesi nonneoplastik (peradangan kronis, granuloma benda asing, corpora lutea yang menonjol, granuloma, dan salpingitis) ditemukan pada ovarium yang diimplan DMBA; dan (b) penampilan lesi yang bersifat preneoplastik putatif dan dengan karakter progresif diamati terutama pada ovarium yang diimplan DMBA. Ini mewakili lesi epitel proliferaatif, tampak di sepanjang permukaan organ atau di korteks ovarium. Lesi preneoplastik lainnya merupakan kista inklusi atau mikrosisteri serosa sederhana; lesi kortikal lainnya dikelilingi oleh stroma ovarium dan ditandai dengan adanya beberapa struktur seperti kelenjar, biasanya ditutupi oleh epitel kuboid serosa, dan beberapa menyerupai diferensiasi epitel tuba tuba fallopi (endosalpingiosis). Beberapa lesi preneoplastik menunjukkan atypia seluler dan diklasifikasikan sebagai lesi hiperplastik epitel dengan displasia. Ciri-ciri khas ini membedakannya dengan *borderline ovarian tumors* atau *adenokarsinoma invasive*.

Penelitian ini berusaha untuk meningkatkan onkogenesis pada model implantasi DMBA pada tikus dan mengkarakterisasi tahapan preneoplasia dan neoplasia. Kontribusi hormon gonadotropin untuk proses ini juga ditunjukkan. Implantasi DMBA pada ovarium menginduksi lesi preneoplastik putatif yang berasal dari sel epitel dan dengan histologi progresif yang dianggap mewakili prekursor perkembangan jenis kanker ovarium. Lesi yang diamati pada ovarium tikus menunjukkan lesi epitel proliferaatif dengan derajat diferensiasi yang bervariasi, tanpa atau dengan displasia, dan terlokalisasi di sepanjang permukaan ovarium dan korteks. Beberapa lesi, terutama yang terlihat di permukaan, mirip dengan papilla atau papillomatosis difus terlihat pada ovarium manusia. Selain itu, kadang-kadang ditemukan struktur epitel permukaan ovarium lainnya yang sebelumnya dijelaskan pada manusia, yaitu kista inklusi atau *simple serous microcysts*. Perkembangan lesi prekursor diduga secara umum mendahului munculnya tumor *bonafide*, yang juga menampilkan derajat diferensiasi dan perkembangan, mulai dari tumor awal hingga kanker karsinoma invasif tingkat tinggi yang ganas. Selain tumor yang terdeteksi dalam penelitian ini, karsinoma invasif bilateral dengan histologi sel jernih terdeteksi dalam 12 bulan pada hewan yang diimplantasi dengan DMBA. Tumor lanjut ini menampilkan penyebaran luas ke peritoneum, **asites**,

preneoplastik yang diinduksi DMBA dan dalam karsinoma, telah dikaitkan dengan 20% dari tumor ovarium manusia: 60% ditemukan dalam mucinous dan 20% dalam serous karsinoma⁽⁶²⁾. Frekuensi mutasi Ki-Ras yang relatif tinggi dalam lesi preneoplastik dan, terutama pada yang dengan displasia memberikan indikasi kuat sifat klonal mereka (yaitu, neoplastik). Juga ditambahkan bahwa aktivasi Ki-Ras, melalui mutase sangat penting selama perkembangan kanker ovarium. Akhirnya, ekspresi berlebih yang signifikan dari protein ER- dan PgR juga ditunjukkan pada lesi preneoplastik dan serous low malignant potential tumor yang signifikan. Namun, ekspresi kedua reseptor itu sangat menurun atau tidak ada pada karsinoma lanjut. Selanjutnya, polimorfisme Val660Leu yang sering terjadi pada ekson 4 PgR memiliki hubungan dengan karakteristik kanker ovarium manusia dan dengan risiko kanker ovarium secara keseluruhan.

DMBA adalah karsinogen pluripoten, melalui pembentukan adisi DNA, menginduksi mutasi awal yang mengubah ekspresi dan / atau aktivitas sejumlah onkogen dan gen penekan tumor. DMBA memiliki mekanisme mutagenik yang serupa dengan hidrokarbon aromatik polisiklik lainnya yang jumlahnya relatif tinggi dalam polutan udara dan asap tembakau dan yang telah terlibat dalam perkembangan kanker manusia. Kesamaan dalam histologi dan jalur penyebaran karsinoma ovarium tikus yang diinduksi DMBA dengan yang ada pada manusia, serta adanya mutasi gen yang umum pada kanker ovarium manusia, menunjukkan validitas model hewan ini⁽⁴⁵⁾.

SIMPULAN

Dua masalah yang paling mendesak dalam pengelolaan kanker ovarium adalah kurangnya strategi diagnostik atau skrining yang memadai, dan kambuhnya penyakit yang sering resisten terhadap kemoterapi. Kurangnya metode dalam diagnostik adalah karena kurangnya penanda untuk mendeteksi perubahan pra-neoplastik atau neoplastik awal dalam sel-sel kanker ovarium tipe epitelial. Model hewan coba yang mengalami transformasi neoplastik *in vivo* akan memberikan peluang yang sangat dibutuhkan untuk meneliti perubahan seluler dan molekuler yang terkait dengan inisiasi transformasi sel kanker ovarium tipe epitelial, serta untuk menyediakan model hewan coba untuk penelitian dalam pencegahan, diagnostik, seleksi dan strategi terapeutik dapat dikembangkan. Model xenograft cukup sulit untuk diterapkan. Karsinogen DMBA dapat mewakili efek yang dimiliki karsinogen tersebut pada ovarium wanita yang terpapar. Kesamaan dalam histologi dan jalur penyebaran karsinoma

ovarium tikus yang diinduksi DMBA dengan yang ada pada manusia, serta adanya mutasi gen yang umum pada kanker ovarium manusia, menunjukkan validitas model hewan ini. Onkogenesis ovarium yang diinduksi DMBA pada tikus dapat digunakan untuk menguji praklinis agen baru untuk pencegahan dan / atau terapi penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

1. American Cancer Society, 2018-cancer facts and figures 2018.pdf.
2. Rescigno P, Cerillo I, Ruocco R, Condello C, De Placido S, Pensabene M. New hypothesis on pathogenesis of ovarian cancer lead to future tailored approaches. *BioMed research international*. 2013;2013.
3. Piek JM, Van Diest PJ, Verheijen RH. Ovarian carcinogenesis: an alternative hypothesis. In: *Ovarian Cancer*. Springer; 2008:79-87.
4. Yang-Hartwich Y, Gurrea-Soteras M, Sumi N, et al. Ovulation and extra-ovarian origin of ovarian cancer. *Scientific reports*. 2014;4:6116.
5. Bowtell DD. The genesis and evolution of high-grade serous ovarian cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2010;10(11):803.
6. Koshiyama M, Matsumura N, Konishi I. Recent concepts of ovarian carcinogenesis: type I and type II. *BioMed research international*. 2014;2014.
7. Ahmed N, Stenvers K. Getting to know ovarian cancer ascites: opportunities for targeted therapy-based translational research. *Frontiers in oncology*. 2013;3:256.
8. Puls LE, Duniho T, Hunter IV JE, Kryscio R, Blackhurst D, Gallion H. The prognostic implication of ascites in advanced-stage ovarian cancer. *Gynecologic oncology*. 1996;61(1):109-112.
9. Lengyel E. Ovarian cancer development and metastasis. *The American journal of pathology*. 2010;177(3):1053-1064.
10. Connolly DC. Animal models of ovarian cancer. In: *Ovarian Cancer*. Springer; 2009:353-391.
11. Ruggeri BA, Camp F, Miknyoczki S. Animal models of disease: pre-clinical animal models of cancer and their applications and utility in drug discovery. *Biochemical pharmacology*. 2014;87(1):150-161.
12. Vanderhyden BC, Shaw TJ, Ethier J-F. Animal models of ovarian cancer. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2003;1(1):67.
13. Perets R, Wyant GA, Muto KW, et al. Transformation of the fallopian tube secretory epithelium leads to high-grade serous ovarian cancer in *Brca*; *Tp53*; *Pten* models. *Cancer cell*. 2013;24(6):751-765.
14. Sherman-Baust CA, Kuhn E, Valle BL, et al. A genetically engineered ovarian cancer mouse model based on fallopian tube transformation mimics human high-grade serous carcinoma development. *The Journal of pathology*. 2014;233(3):228-237.

15. Kim J, Coffey DM, Creighton CJ, Yu Z, Hawkins SM, Matzuk MM. High-grade serous ovarian cancer arises from fallopian tube in a mouse model. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(10):3921-3926.
16. Kuhn E, Tisato V, Rimondi E, Secchiero P. Current preclinical models of ovarian cancer. *J Carcinog Mutagen*. 2015;6(2):220.
17. Shaw TJ, Senterman MK, Dawson K, Crane CA, Vanderhyden BC. Characterization of intraperitoneal, orthotopic, and metastatic xenograft models of human ovarian cancer. *Molecular therapy*. 2004;10(6):1032-1042.
18. Connolly DC, Hensley HH. Xenograft and Transgenic Mouse Models of Epithelial Ovarian Cancer and Non-Invasive Imaging Modalities to Monitor Ovarian Tumor Growth In Situ: Applications in Evaluating Novel Therapeutic Agents. *Current protocols in pharmacology*. 2009;45(1):14.12. 11-14.12. 26.
19. Kiguchi K, Kubota T, Aoki D, et al. A patient-like orthotopic implantation nude mouse model of highly metastatic human ovarian cancer. *Clinical & experimental metastasis*. 1998;16(8):751-756.
20. XINYU F, Robert M. Human ovarian carcinoma metastatic models constructed in nude mice by orthotopic transplantation of histologically-intact patient specimens. *Anticancer research*. 1993;3:283-286.
21. Verschraegen CF, Hu W, Du Y, et al. Establishment and characterization of cancer cell cultures and xenografts derived from primary or metastatic Mullerian cancers. *Clinical cancer research*. 2003;9(2):845-852.
22. Schumacher U, Adam E, Horny HP, Dietl J. Transplantation of a human ovarian cystadenocarcinoma into severe combined immunodeficient (SCID) mice—formation of metastases without significant alteration of the tumour cell phenotype. *International journal of experimental pathology*. 1996;77(5):219-227.
23. Domecke S, Sinha R, Levine DA, Sander C, Schultz N. Evaluating cell lines as tumour models by comparison of genomic profiles. *Nature communications*. 2013;4:2126.
24. Sabbatini P, Harter P, Scambia G, et al. Abagovomab as maintenance therapy in patients with epithelial ovarian cancer: a phase III trial of the AGO OVAR, COGI, GINECO, and GEICO—the MIMOSA study. *Journal of clinical oncology*. 2013;31(12):1554.
25. Hu L, Hofmann J, Holash J, Yancopoulos GD, Sood AK, Jaffe RB. Vascular endothelial growth factor trap combined with paclitaxel strikingly inhibits tumor and ascites, prolonging survival in a human ovarian cancer model. *Clinical Cancer Research*. 2005;11(19):6966-6971.
26. Farmer H, McCabe N, Lord CJ, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*. 2005;434(7035):917.
27. Cannistra SA, Matulonis UA, Penson RT, et al. Phase II study of bevacizumab in patients with platinum-resistant ovarian cancer or peritoneal serous cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2007;25(33):5180-5186.
28. Hu L, Hofmann J, Zaloudek C, Ferrara N, Hamilton T, Jaffe RB. Vascular endothelial growth factor immunoneutralization plus Paclitaxel markedly reduces tumor burden and ascites in athymic mouse model of ovarian cancer. *The American journal of pathology*. 2002;161(5):1917-1924.
29. Werooha SJ, Becker MA, Enderica-Gonzalez S, et al. Tumorgrafts as in vivo surrogates for women with ovarian cancer. *Clinical Cancer Research*. 2014;20(5):1288-1297.
30. Dobbin ZC, Katre AA, Steg AD, et al. Using heterogeneity of the patient-derived xenograft model to identify the chemoresistant population in ovarian cancer. *Oncotarget*. 2014;5(18):8750.
31. Ricci F, Bizzaro F, Cesca M, et al. Patient-derived ovarian tumor xenografts recapitulate human clinicopathology and genetic alterations. *Cancer research*. 2014;74(23):6980-6990.
32. Elkas JC, Baldwin RL, Pegram M, Tseng Y, Slamon D, Karlan BY. A human ovarian carcinoma murine xenograft model useful for preclinical trials. *Gynecologic oncology*. 2002;87(2):200-206.
33. Khabele D, Fadare O, Liu AY, et al. An orthotopic model of platinum-sensitive high grade serous fallopian tube carcinoma. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2012;5(1):37.
34. Hidalgo M, Bruckheimer E, Rajeshkumar N, et al. A pilot clinical study of treatment guided by personalized tumorgrafts in patients with advanced cancer. *Molecular cancer therapeutics*. 2011;10(8):1311-1316.
35. Scott CL, Mackay HJ, Haluska Jr P. Patient-derived xenograft models in gynecological malignancies. Paper presented at: American Society of Clinical Oncology educational book/ASCO. American Society of Clinical Oncology. Meeting2014.
36. Curiel TJ, Coukos G, Zou L, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nature medicine*. 2004;10(9):942.
37. Ito R, Takahashi T, Katano I, Ito M. Current advances in humanized mouse models. *Cellular & molecular immunology*. 2012;9(3):208.
38. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331(6024):1565-1570.
39. Cooper TK, Gabrielson KL. Spontaneous lesions in the reproductive tract and mammary gland of female non-human primates. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*. 2007;80(2):149-170.
40. Barua A, Bitterman P, Abramowicz JS, et al. Histopathology of ovarian tumors in laying hens: a preclinical model of human ovarian cancer. *International Journal of Gynecologic Cancer*. 2009;19(4):531-539-531-539.
41. Tillmann T, Kamino K, Mohr U. Incidence and spectrum of spontaneous neoplasms in male and

- female CBA/J mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2000;52(3):221-225.
42. Walsh KM, Poteracki J. Spontaneous neoplasms in control Wistar rats. *Fundamental and applied toxicology*. 1994;22(1):65-72.
43. Gregson R, Lewis D, Abbott D. Spontaneous ovarian neoplasms of the laboratory rat. *Veterinary pathology*. 1984;21(3):292-299.
44. Krarup T. Oocyte destruction and ovarian tumorigenesis after direct application of a chemical carcinogen (9:10-dimethyl-1:2-benzanthrene) to the mouse ovary. *International journal of cancer*. 1969;4(1):61-75.
45. Stewart SL, Querec TD, Ochman AR, et al. Characterization of a carcinogenesis rat model of ovarian preneoplasia and neoplasia. *Cancer research*. 2004;64(22):8177-8183.
46. Gertig DM, Hunter DJ, Cramer DW, et al. Prospective study of talc use and ovarian cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2000;92(3):249-252.
47. Sims DE, Singh A, Donald A, Jarrell J, Villeneuve DC. Alteration of primate ovary surface epithelium by exposure to hexachlorobenzene: a quantitative study. *Histology and histopathology*. 1991;6(4):525-529.
48. Maronpot RR. Ovarian toxicity and carcinogenicity in eight recent National Toxicology Program studies. *Environmental health perspectives*. 1987;73:125-130.
49. Nishida T, Sugiyama T, Kataoka A, Ushijima K, Yakushiji M. Histologic characterization of rat ovarian carcinoma induced by intraovarian insertion of a 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene-coated suture: Common epithelial tumors of the ovary in rats? *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 1998;83(5):965-970.
50. Tanaka T, Kohno H, Suzuki R, Sugie S. Lack of modifying effects of an estrogenic compound atrazine on 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene-induced ovarian carcinogenesis in rats. *Cancer letters*. 2004;210(2):129-137.
51. Hoyer PB, Davis J, Bedrnicek J, et al. Ovarian neoplasm development by 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) in a chemically-induced rat model of ovarian failure. *Gynecologic oncology*. 2009;112(3):610-615.
52. Crist KA, Zhang Z, You M, et al. Characterization of rat ovarian adenocarcinomas developed in response to direct instillation of 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) coated suture. *Carcinogenesis*. 2005;26(5):951-957.
53. Tanaka T, Kohno H, Tanino M, Yanaida Y. Inhibitory effects of estrogenic compounds, 4-nonylphenol and genistein, on 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene-induced ovarian carcinogenesis in rats. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2002;52(1):38-45.
54. Tunca JC, Ertürk E, Ertürk E, Bryan GT. Chemical induction of ovarian tumors in rats. *Gynecologic oncology*. 1985;21(1):54-64.
55. Hilfrich J. Comparative morphological studies on the carcinogenic effect of 7, 12-dimethylbenz (A) anthracene (DMBA) in normal or intrasplenic ovarian tissue of C3H mice. *British journal of cancer*. 1975;32(5):588.
56. Huang Y, Jiang W, Wang Y, Zheng Y, Cong Q, Xu C. Enhanced efficacy and specificity of epithelial ovarian carcinogenesis by embedding a DMBA-coated cloth strip in the ovary of rat. *Journal of ovarian research*. 2012;5(1):21.
57. McDermott S, Ranheim E, Leatherberry V, Khwaja S, Klos K, Alexander C. Juvenile syndecan-1 null mice are protected from carcinogen-induced tumor development. *Oncogene*. 2007;26(10):1407.
58. Wang Y, Zhang Z, Lu Y, et al. Enhanced susceptibility to chemical induction of ovarian tumors in mice with a germ line p53 mutation. *Molecular Cancer Research*. 2008;6(1):99-109.
59. Chien JR, Aletti G, Bell DA, Keeney GL, Shridhar V, Hartmann LC. Molecular pathogenesis and therapeutic targets in epithelial ovarian cancer. *Journal of cellular biochemistry*. 2007;102(5):1117-1129.
60. Ness RB, Cottreau C. Possible role of ovarian epithelial inflammation in ovarian cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 1999;91(17):1459-1467.
61. Tsuta K, Shikata N, Kominami S, Tsubura A. Mechanisms of Adrenal Damage Induced by 7, 12-Dimethylbenz (α) anthracene in Female Sprague-Dawley Rats. *Experimental and molecular pathology*. 2001;70(2):162-172.
62. Enomoto T, Weghorst C, Inoue M, Tanizawa O, Rice J. K-ras activation occurs frequently in mucinous adenocarcinomas and rarely in other common epithelial tumors of the human ovary. *The American journal of pathology*. 1991;139(4):777.155, 283, 290-91, 378-9, 441-2, 445-6, 549-52, 592, 596, 766.