

Desenvolvimento de modelo experimental de endometriose em ratas

Development of an experimental model of endometriosis in rats

VIVIAN FERREIRA DO AMARAL¹; EDUARDO ANDREAZZA DAL LAGO²; WILLIAM KONDO, ACBC-PR³; LUIZ CÉSAR GUARITA-SOUZA⁴; JÚLIO CÉSAR FRANCISCO⁵

R E S U M O

Objetivo: Desenvolver um modelo de endometriose experimental em ratas. **Métodos:** Foram utilizadas 30 ratas adultas da linhagem Wistar. A técnica cirúrgica consistiu em laparotomia mediana com identificação do útero bicornado e ressecção de um segmento de 2 cm do corno uterino direito. Um retalho de 0,25 cm² foi retirado dessa estrutura e suturado na parede abdominal com a face endometrial voltada para a cavidade peritoneal. As ratas foram divididas aleatoriamente em dois grupos de acordo com o tempo para a reoperação: grupo 1 (n=15), reoperado em 30 dias, e grupo 2 (n=15), em 60 dias. No momento da segunda laparotomia os implantes foram avaliados macroscopicamente, ressecados e encaminhados para análise microscópica com coloração hematoxilina-eosina e imunohistoquímica (HEMA, AE1 e AE2). **Resultados:** Os implantes se desenvolveram em 83,3 % do Grupo 1 e 71,4% no Grupo 2. Não houve diferença estatisticamente significativa entre o peso dos animais dos dois grupos. Também não houve diferença estatisticamente significativa no tamanho da área das lesões induzidas: no Grupo 1 a média foi 0,37 cm² e no Grupo 2, de 0,25 cm². Segundo a classificação histológica semi-quantitativa de Keenan (de acordo com a preservação da camada epitelial de endométrio), o Grupo 1 teve média de 1,9 e o Grupo 2, de 2,4. **Conclusão:** A técnica utilizada para o desenvolvimento de endometriose em ratas foi satisfatória.

Descritores: Endometriose. Ratos. Modelos animais. Endométrio.

INTRODUÇÃO

A endometriose é condição crônica caracterizada pela presença de tecido endometrial (glândulas e/ou estroma) fora da cavidade uterina¹. Estes depósitos ectópicos de endométrio são mais comumente encontrados em ovários, peritônio, ligamentos útero-sacros e fundo-de-saco retovaginal, mas implantes extra-pélvicos também podem estar presentes².

A sua prevalência nas mulheres em idade reprodutiva é estimada em 10%³. Nas com dor pélvica crônica, essa prevalência pode chegar a até 82%^{4,5} e naquelas submetidas à investigação por infertilidade, entre 20 e 50%^{3,6-8}.

Várias teorias têm sido sugeridas para explicar a patogênese desta doença⁹. Dentre elas se destacam a teoria da menstruação retrógrada (teoria da implantação ou de Sampson)¹⁰, a da metaplasia celômica¹¹⁻¹³ e a dos restos embrionários^{14,15}; mas nenhuma delas foi capaz de elucidar completamente a etiopatogenia da doença. Existe tendência atual em se associar essas teorias entre si e a outros elementos como fatores imunológicos, hormonais, genéticos e ambientais.

A endometriose geralmente aparece na idade reprodutiva, quando as lesões são estimuladas pelos hormônios ovarianos. Um número significativo de mulheres permanece assintomática. Nas sintomáticas, as manifestações dolorosas tendem a ser mais intensas no pré-menstrual, melhorando após a parada da menstruação. A dor pélvica, na forma de dismenorréia, é o sintoma mais comum e não se correlaciona nem com o grau de endometriose visível¹⁶ nem com a profundidade de infiltração tecidual^{17,18}. Outros sintomas que podem estar presentes são dor lombar, disquesia, dor durante a micção e dispareunia. Esta, quando profunda, pode ser decorrente de fibrose dos ligamentos útero-sacros, nodularidade do septo reto-vaginal, obliteração do fundo de saco e/ou retroversão uterina. Além disso, a endometriose está associada à infertilidade por causa de aderências que distorcem a anatomia pélvica e causam dificuldade para a liberação e captura do óvulo. No entanto, a distorção tubária não é a única causa de infertilidade porque pacientes com endometriose parecem ter pior reserva ovariana, com pior qualidade do oócito e do embrião².

O padrão-ouro para o diagnóstico da endometriose é a visualização direta da lesão endometrial

Trabalho realizado no Trabalho realizado no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia experimental da PUCPR- BR.

1. Professora adjunta de Ginecologia na PUCPR e da Pós-graduação em Ciências da Saúde na PUC - PR - BR; 2. Acadêmico de Medicina na PUC - PR - BR; 3. Mestrando de Ciências da Saúde da PUC - PR - BR; 4. Professor Técnica Operatória e da Pós-graduação em Ciências da Saúde da PUC - PR - BR; 5. Doutorando em Biotecnologia pela UFPR - BR; Graduação em Farmácia e Bioquímica na PUCPR.

utilizando a via laparoscópica, acompanhada por confirmação histológica da presença de pelo menos dois dos seguintes achados: macrófagos contendo hemosiderina ou epitélio, glândulas ou estroma endometrial¹⁹.

O tratamento ideal para esta doença ainda não existe²⁰. As opções disponíveis são medicamentosas, cirúrgicas e associação de ambos. A modalidade terapêutica a ser adotada depende de fatores como o estágio de evolução da doença, a sintomatologia, a idade da paciente e o desejo futuro de uma gestação.

O fato de a endometriose necessitar de um método invasivo para seu diagnóstico dificulta ou até mesmo impossibilita a realização de estudos controlados sobre o comportamento dos implantes de endometriose perante os diversos medicamentos²¹. Portanto, um bom modelo experimental animal é necessário para elucidar o mecanismo da doença e testar novas drogas terapêuticas. No entanto, a endometriose ocorre espontaneamente apenas em primatas, que são muito onerosos para uso experimental²². Consequentemente, modelos experimentais tem sido criados cirurgicamente em pequenos animais, tais como coelhos, ratos e camundongos²³⁻²⁸. O modelo murino proposto por Jones²⁹ em 1984 é o mais amplamente utilizado, uma vez que a técnica operatória é simples e a maioria dos implantes tem sucesso, ou seja, a indução da endometriose é eficaz e reprodutível²¹.

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um modelo experimental de endometriose em ratas seguindo a técnica proposta por Jones²⁹.

MÉTODOS

O estudo foi previamente aprovado pelo parecer número 80/07 do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR) e seguiu as recomendações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

As ratas da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), adultas e virgens, foram mantidas em gaiolas apropriadas com cinco animais, sob controle de temperatura, umidade e luminosidade do ambiente, e alimentadas com água e ração ad libitum. Após período de adaptação de três dias, o procedimento cirúrgico para indução de endometriose foi realizado.

Durante o período de dezembro de 2007 a janeiro de 2008 foram operadas 30 ratas no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da PUCPR. Como pré-operatório foi instituído jejum nas 12 horas que antecederam a operação.

Antes da anestesia os animais foram pesados para o cálculo da dose anestésica. A anestesia foi realizada com injeção intraperitoneal de 0,2 mL para cada 100 gramas de peso da mistura de um mililitro de ketamina (50mg/mL) com um mililitro de xilazina (20 mg/mL).

Após a anestesia, foi utilizado tricótomo elétrico para a realização da tricotomia da parede abdominal dos animais que foram então atados à mesa cirúrgica em

decúbito dorsal, com os membros em abdução, e realizada antissepsia de rotina. A operação iniciou-se com incisão mediana de 3 cm, a 2 cm acima do púbis do animal.

A operação para o desenvolvimento da lesão endometriótica foi realizada com base em trabalho publicado²⁹. Para executá-la, identificou-se o útero bicornio e foi realizada a ligadura dos vasos sanguíneos do corno uterino esquerdo com fio de vicryl 3-0 (Figuras 1 e 2). Um segmento de 2 cm do terço médio do corno uterino esquerdo foi então ressecado. Este fragmento foi imerso em soro fisiológico 0,9% a 4° C por cerca de dois minutos e então incisado longitudinalmente dando origem a um retalho, de onde foi retirado um segmento de 5 x 5mm (0,25 cm²). Este fragmento foi suturado à parede abdominal do lado direito da rata utilizando dois pontos simples de mononáilon 6-0, próximo a um vaso sanguíneo, de modo que a face endometrial sempre ficasse voltada para a cavidade abdominal (Figura 3). Após checar a hemostasia do corno uterino esquerdo e promover a limpeza da cavidade abdominal, a parede abdominal foi fechada por planos, sendo o músculo-aponeurótico com sutura contínua de vicryl 3-0 e a pele com sutura contínua de mononylon 3-0.

Após a operação, os animais foram encaminhados ao Biotério da PUC-PR, onde permaneceram até a data da reoperação.

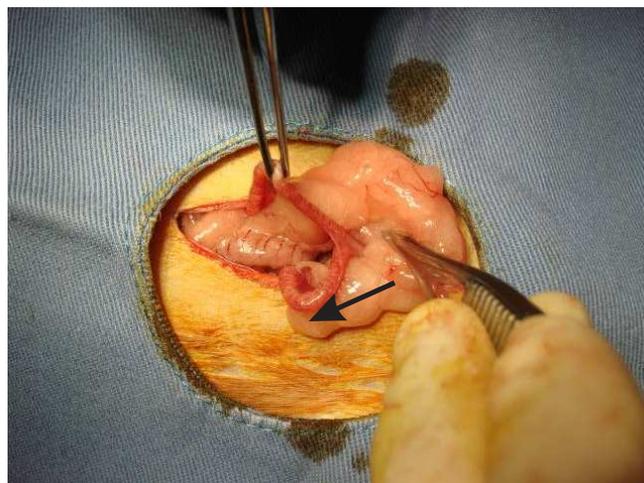


Figura 1 - Útero típico de ratas, com aspecto bicornio.



Figura 2 - Ressecção de segmento do corno uterino.

Reoperação e análise histológica

A reoperação foi realizada um mês (Grupo 1) e dois meses (Grupo 2) após o primeiro procedimento com o intuito de se comprovar macroscopicamente o desenvolvimento da lesão e de coletar amostra para avaliação histológica. Após abertura da parede abdominal, as lesões foram identificadas e suas dimensões, anotadas. Em seguida, esses implantes foram ressecados (Figura 4), fixados em formol a 10% e processados para inclusão em parafina, para posterior análise histológica no Laboratório de Patologia Experimental da PUC-PR.

As lâminas foram coradas com HE (hematoxilina/eosina) e analisadas ao microscópio óptico (Olympus; Melville, NY) para confirmar a presença de tecido endometrial. A partir dos blocos de parafina procedeu-se a técnica de Tissue Microarray manual. As lâminas confeccionadas foram analisadas em microscópio óptico para localização das áreas com endométrio. Esse local foi marcado com caneta. Através do sistema de espelho, a lâmina

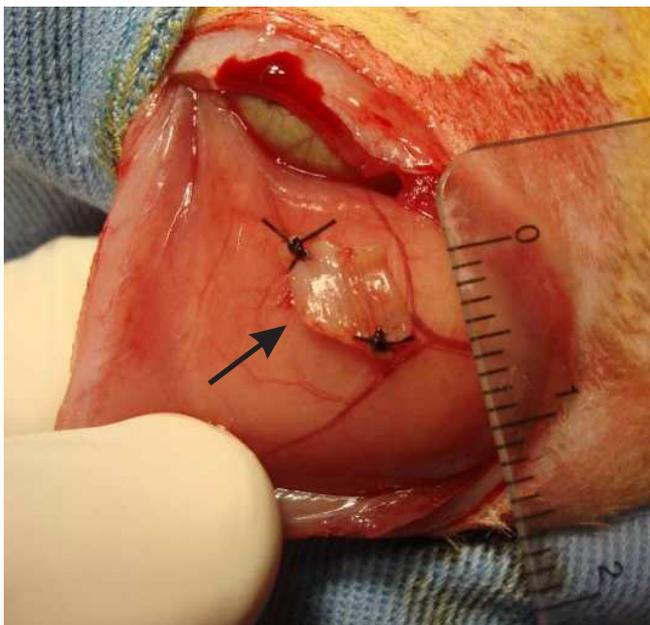


Figura 3 - Implante de endométrio na parede abdominal.

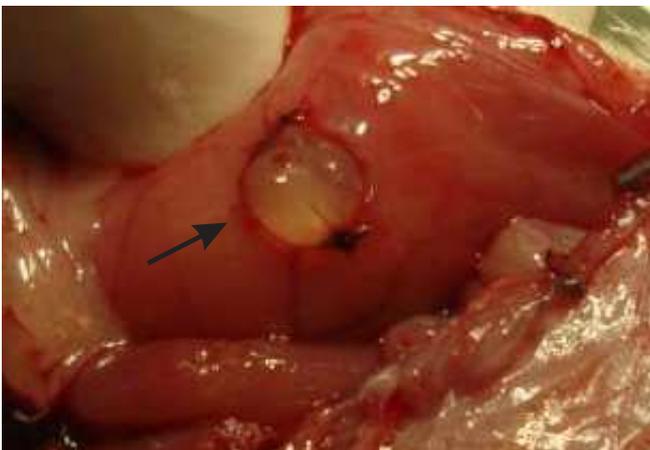


Figura 4 - Implante de endométrio no Grupo 2.

marcada foi utilizada para localização da região no bloco de parafina que, por sua vez, também recebeu marcação. Foi escolhida a pinça do tipo Punch de biópsia de pele, com diâmetro de 2 mm, para retirada do fragmento do bloco de parafina. Para que o material fosse devidamente localizado, foi confeccionado um mapa. Após a retirada dos fragmentos de todos os blocos foram confeccionadas lâminas histológicas utilizando os marcadores HEMA, AE1 e AE2.

A persistência de células epiteliais nos implantes foi avaliada conforme a classificação proposta por Keenan³⁰, da seguinte maneira: camada epitelial bem preservada = escore 3, epitélio moderadamente preservado com infiltrado leucocitário = escore 2, epitélio mal preservado (apenas células epiteliais ocasionais) = escore 1, nenhum epitélio = escore zero.

Os resultados obtidos no estudo foram expressos por médias, medianas, valores mínimos, valores máximos e desvios-padrão ou por frequências e percentuais. Para a comparação dos grupos em relação às variáveis quantitativas foi usado o teste t de Student para amostras independentes ou o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, quando apropriado. Em relação a variáveis nominais dicotômicas os grupos foram comparados usando-se o teste exato de Fisher. Valores de $p < 0,05$ indicaram significância estatística.

RESULTADOS

Das 30 ratas operadas, quatro foram a óbito no período entre a primeira e a segunda operação, sendo três do Grupo 1 e uma do Grupo 2. No momento da reoperação, foi realizada análise macroscópica dos sítios de implante do tecido endometrial e em quatro animais não foi possível identificar tal tecido (dois animais em cada grupo). Além disso, em duas ratas do Grupo 2 foi observada a presença de um abscesso no local do implante. Estes animais foram considerados como não desenvolvendo a lesão, totalizando taxa de sucesso de 76,9% (20/26), sendo que discriminando cada Grupo, elas foram de 83,3% no grupo 1 (10/12) e de 71,4% no Grupo 2 (10/14).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre o peso médio dos animais do Grupo 1 e 2 (271,6 g e 260 g, respectivamente; $p = 0,147$).

Avaliando-se as dimensões da lesão de endometriose induzida cirurgicamente, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação às variáveis comprimento, largura e área (tabela 1).

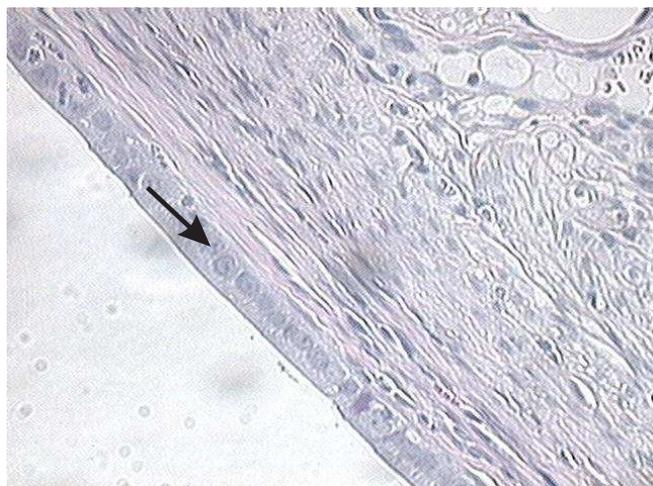
Todos os implantes foram submetidos à análise histológica e não houve diferença entre os dois grupos (Figura 5).

DISCUSSÃO

Os modelos experimentais de endometriose criados cirurgicamente em pequenos animais são classifi-

Tabela 1 - Comparação das medidas de comprimento, largura e área dos grupos.

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p*
Comprimento	1	10	0,72	0,6	0,4	1,1	0,27	0,190
	2	10	0,57	0,5	0,3	1	0,22	
Largura	1	10	0,51	0,5	0,3	0,8	0,15	0,165
	2	10	0,41	0,3	0,2	1	0,25	
Área	1	10	0,37	0,32	0,15	0,77	0,18	0,075
	2	10	0,25	0,15	0,06	0,80	0,22	

**Figura 5** - Fotomicrografia de célula epitelial bem-preserveda (animal do Grupo 2).

cados em dois tipos: homólogos e heterólogos. Nos modelos homólogos, o endométrio é obtido do útero do animal e suturado ou disperso na cavidade peritoneal. No modelo heterólogo, fragmentos endometriais de humanos são injetados em ratas imunodeficientes por via intraperitoneal ou subcutânea. Em ambos, lesões endometrióticas-símiles, identificadas histologicamente, são induzidas nos animais.

Embora o uso de modelos em não primatas seja vantagem com relação ao seu baixo custo e habilidade de estabelecer lesões endometrióticas-símiles, esses modelos têm uma série de desvantagens. As comparações são dificultadas pelo grande número de técnicas experimentais utilizadas e pelo grande intervalo filogenético entre os não primatas e os humanos. Mais importante, os não primatas não têm ciclos menstruais e não desenvolvem endometriose espontânea. A rata ovula espontaneamente, mas a fase lútea é mais curta que nos humanos. As lesões endometrióticas produzidas nas ratas são diferentes das em humanos, consistindo de cistos que contêm fluido seroso claro, sem evidência de neoangiogênese³¹. Apesar dessas diferenças, os modelos experimentais são de grande importância para o estudo da doença e o teste de novas modalidades terapêuticas.

A opção deste estudo pelo modelo experimental com ratas decorreu do baixo custo, do embasamento prévio de literatura e da resistência desses animais às infecções. A técnica descrita por Jones em 1984²⁹ em modelo

murino é a mais amplamente utilizada na literatura mundial, uma vez que o procedimento cirúrgico é simples e a maioria dos implantes se desenvolve com sucesso, ou seja, a indução da endometriose é eficaz e reprodutível^{21,23}. Pode-se, desta maneira, padronizar o tamanho dos implantes, o que é indispensável para avaliar a eficácia de novas drogas terapêuticas.

Neste estudo, das 30 ratas submetidas ao procedimento, quatro foram descartadas pois morreram entre a primeira e a segunda operações, restando 26 animais para a análise final. A taxa de sucesso no desenvolvimento macroscópico da lesão de endometriose foi de 76,9% (20 de 26). Algumas vezes as lesões não são claras o suficiente para se distinguir do tecido normal adjacente. Isto torna difícil a determinação da área e do peso das lesões, que são variantes essenciais no experimento³².

O principal parâmetro analisado neste estudo foi a área dos implantes. Ao contrário da maior parte dos trabalhos, que demonstra estabilidade ou crescimento das lesões no intervalo entre a segunda e a terceira operações²², encontrou-se regressão da área dos implantes (0,37 cm² para 0,25 cm²), mas sem diferença estatisticamente significativa.

De acordo com a classificação anátomo-patológica proposta por Keenan³⁰, oito animais apresentaram escore zero. Conceitualmente, as lesões desses animais não poderiam ser consideradas endometriose, uma vez que esta doença é caracterizada pela presença de tecido glandular e/ou estromal fora da cavidade uterina. No entanto, incluindo os animais com escore zero, obteve-se média de escores de 1,3 e 1,4 nos Grupos 1 e 2, respectivamente, o que é semelhante à média dos escores do grupo controle do estudo de Keenan³⁰.

Muito embora a literatura utilize a expressão "endometriose experimental", a rigor, este estudo é de fragmentos de endométrio normal na parede abdominal de ratas saudáveis. A verdadeira correlação destes focos de tecido endometrial com endometriose humana não é conhecida³³. No entanto, a ampla utilização de protocolos de pesquisa com endometriose experimental em modelos animais é justificada pelo fato de que a avaliação rigorosa dos implantes em humanos não é viável, uma vez que os métodos diagnósticos são invasivos (videolaparoscopia ou laparotomia).

O desenvolvimento de endometriose experimental em ratas segundo modelo de Jones foi satisfatório.

A B S T R A C T

Objective: To develop an experimental model of endometriosis in rats. **Methods:** Thirty adult female Wistar rats were used. The surgical technique consisted of median laparotomy with identification of the bicornuate uterus and resection of a 2-cm segment of the right uterine horn. A 0.25 cm² flap was removed from that structure and sutured to the abdominal wall with the endometrial side facing the peritoneal cavity. The rats were randomly divided into two groups according to the reoperation date: group 1 (n=15) was reoperated in 30 days, and group 2 (n=15), in 60 days. On the occasion of the second laparotomy, the implants were evaluated macroscopically, resected and referred for microscopic analysis with hematoxylin-eosin and immunohistochemical staining (HEMA, AE1 and AE2). **Results:** The implants developed in 83.3 % of group 1 and 71.4% of group 2. There was no statistically significant difference between the weights of the animals in the two groups. No statistically significant difference was found in the surface area of the induced lesions: in group 1, the mean was 0.37 cm² and in group 2, 0.25 cm². According to Keenan's semiquantitative histological classification (based on the preservation status of the epithelial layer of the endometrium), the mean for group 1 was 1.9 and for group 2, 2.4. **Conclusion:** The technique used for inducing the development of endometriosis in rats was satisfactory.

Key words: Endometriosis. Rats. Models, animal. Endometrium.

REFERÊNCIAS

- Farquhar C. Endometriosis. *BMJ*. 2007; 334(7587):249-53.
- Mounsey AL, Wilgus A, Slawson DC. Diagnosis and management of endometriosis. *Am Fam Physician*. 2006; 74(4):594-600.
- Eskenazi B, Warner ML. Epidemiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1997; 24(2):235-58.
- Laufer MR, Goitein L, Bush M, Cramer DW, Emans SJ. Prevalence of endometriosis in adolescent girls with chronic pelvic pain not responding to conventional therapy. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 1997; 10(4):199-202.
- Carter JE. Combined hysteroscopic and laparoscopic findings in patients with chronic pelvic pain. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 1994; 2(1):43-7.
- Mahmood TA, Templeton A. Prevalence and genesis of endometriosis. *Hum Reprod*. 1991; 6(4):544-9.
- Strathy JH, Molgaard CA, Coulam CB, Melton LJ 3rd. Endometriosis and infertility: a laparoscopic study of endometriosis among fertile and infertile women. *Fertil Steril*. 1982; 38(6):667-72.
- Verkauf BS. Incidence, symptoms, and signs of endometriosis in fertile and infertile women. *J Fla Med Assoc*. 1987; 74(9):671-5.
- Seli E, Berkkanoglu M, Arici A. Pathogenesis of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2003; 30(1):41-61.
- Sampson JA. Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *Am J Obstet Gynecol*. 1927; 14(4):422-69.
- Metzger DA, Haney AF. Etiology of endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1989; 16(1):1-14.
- Ridley JH. The histogenesis of endometriosis: a review of facts and fancies. *Obstet Gynecol Surv*. 1968; 23(1):1-35.
- Gardner G, Greene RR, Ranney B. The histogenesis of endometriosis; recent contributions. *Obstet Gynecol*. 1953; 1(6):615-37.
- Von Recklinghausen F. Adenomyomas and cystadenomas of the wall of the uterus and tube their origin as remnants of the wolffian body. *Wien Klin Wochenschr*. 1896; 8:530.
- Russell WW. Aberrant portions of the müllerian duct found in an ovary: ovarian cysts of müllerian origin. *Bull John Hopkins Hospital*. 1899; 10:8-10.
- Demco L. Mapping the source and character of pain due to endometriosis by patient-assisted laparoscopy. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*. 1998; 5(3):241-5.
- Koninckx PR, Martin DC. Deep endometriosis: a consequence of infiltration or retraction or possibly adenomyosis externa? *Fertil Steril*. 1992; 58(5):924-8.
- Koninckx PR, Oosterlynck D, D'Hooghe T, Meuleman C. Deeply infiltrating endometriosis is a disease whereas mild endometriosis could be considered a non-disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1994; 734:333-41.
- ACOG Committee on Practice Bulletins-Gynecology. ACOG practice bulletin. Medical management of endometriosis. Number 11, December 1999 (replaces Technical Bulletin Number 184, September 1993). Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet*. 2000; 71(2):183-96.
- Amaral VF, Sanson LT, Sepulcri RP. Novas perspectivas no tratamento da endometriose pélvica. *Femina*. 2006; 34(3):189-96.
- Schor E, Freitas V, Soares Jr. JM, Simões MJ, Baracat ED. Endometriose: modelo experimental em ratas. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 1999; 21(5):281-4.
- 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(8):2092-6.
- Schenken RS, Asch RH. Surgical induction of endometriosis in the rabbit: effects on fertility and concentrations of peritoneal fluid prostaglandins. *Fertil Steril*. 1980; 34(6):581-7.
- Zamah NM, Dodson MG, Stephens LC, Buttram VC Jr, Besch PK, Kaufman RH. Transplantation of normal and ectopic human endometrial tissue into athymic nude mice. *Am J Obstet Gynecol*. 1984; 149(6):591-7.
- Bergqvist A, Jeppsson S, Kullander S, Ljungberg O. Human endometrium transplanted into nude mice. Histologic effects of various steroid hormones. *Am J Pathol*. 1985; 119(2):336-44.
- Vernon MW, Wilson EA. Studies on the surgical induction of endometriosis in the rat. *Fertil Steril*. 1985; 44(5):684-94.
- Somigliana E, Viganò P, Rossi G, Carinelli S, Vignali M, Panina-Bordignon P. Endometrial ability to implant in ectopic sites can be prevented by interleukin-12 in a murine model of endometriosis. *Hum Reprod*. 1999; 14(12):2944-50.
- Bruner KL, Matrisian LM, Rodgers WH, Gorstein F, Osteen KG. Suppression of matrix metalloproteinases inhibits establishment of ectopic lesions by human endometrium in nude mice. *J Clin Invest*. 1997; 99(12):2851-7.
- Jones RC. The effect of a luteinizing hormone releasing hormone (LRH) agonist (Wy-40,972), levonorgestrel, danazol and ovariectomy on experimental endometriosis in the rat. *Acta Endocrinol*. 1984; 106(2):282-8.
- Keenan JA, Williams-Boyce PK, Massey PJ, Chen TT, Caudle MR, Bukovsky A. Regression of endometrial explants in a rat model of endometriosis treated with the immune modulators loxoribine and levamisole. *Fertil Steril*. 1999; 72(1):135-41.
- Story L, Kennedy S. Animal studies in endometriosis: a review. *ILAR J*. 2004; 45(2):132-8.
- Nogueira Neto J, Torres OJM, Borges MOR, Coelho TM, Nascimento AGPAC, Nunes Jr JNN, Esteves GL. Modificações do volume e da histologia de focos de endometriose em ratas tratadas com sinvastatina. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2007; 29(8):396-402.
- Rosa e Silva, JC. Desenvolvimento de um modelo experimental de endometriose em coelha [dissertação]. Ribeirão Preto (SP): Universidade de São Paulo; 2004.

Recebido em 12/10/2008

Aceito para publicação em 12/12/2008

Conflito de interesses: nenhum

Fonte de financiamento: nenhuma

Como citar este artigo:

Amaral VF, Dal Lago EA, Kondo W, Souza LCG, Francisco JC. Desenvolvimento de modelo experimental de endometriose em ratas. Rev Col

Bras Cir. [periódico na Internet] 2009; 36(3). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

Endereço para correspondência:

William Kondo

E-mail: williamkondo@yahoo.com