



Deney Hayvanında Mesane Kanseri Modelleri

Experimental Bladder Cancer Models for Animals

Dr. Murat Koşan¹, Dr. Aydın Mungan²

¹Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

²Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

Özet

Değişici hücreli karsinom (DHK) genito üriner kanserler içinde en yaygın olarak görülenlerden olup son yıllarda çeşitli çalışmalar için DHK modelleri geliştirilmektedir. Preklinik çalışmalarla etkili tedavilerin geliştirilebilmesi için bu deneysel çalışmalara ihtiyaç devam etmektedir. In vitro modellerin yeni tedavi modalitelerinin ve ajanların değerlendirilmesinde kullanışlı olmasına rağmen, uygun hayvan modellerinin geliştirilmesi, etkili ve güvenli tedavilerinin geliştirilebilmesi için gereklidir. Çok çeşitli ex vivo ve in vivo modeller tanımlanmıştır. Mesane kanseri modellerinde kimyasal karsinojenler geniş bir kullanım alanına sahiptir. Onkolojik süreçlerin değerlendirilmesinde hücre kültürleri de sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca, potansiyel yeni ajanların preklinik değerlendirme sürecinde, ortotopik modeller oldukça kullanışlıdır. Bu derlemede, mesane kanserlerine yönelik çalışmalar için uygun olabilecek bu hayvan modellerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Mesane kanseri, değişici hücreli karsinom, deneysel hayvan modeli

Summary

Transitional cell carcinoma (TCC) is the most common malignancy of the genitourinary tract and TCC models are being developed over the past decades. Experimental models are needed so that more effective treatments can be developed in preclinical evaluation. Even if, in vitro models are useful for initial development and evaluation of therapeutic agents and modalities, adequate animal models are still essential in the preclinical development of new effective and safe therapies. A great variety of ex vivo and in vivo models has been described in the literature. Chemical carcinogens are most commonly used to induce bladder cancer. Cell culture techniques are also widely used to study different oncological processes. To test potential new drugs in a preclinical setting, a clinically relevant orthotopic bladder tumor model is highly desirable. The aim of this review article was the assessment of different animal models available for the study of bladder carcinogenesis.

Key Words: Bladder cancer, transitional cell carcinoma, experimental animal models

Giriş

Ürogenital sistemin sık görülen kanserlerinden olan mesane tümörleri her yıl artan insidansa sahiptir. Mesane tümörlerinde kasa invaziv olmayan (KİOMT) grubun %70'in üstünde bir oranla çoğunluğu oluşturduğu da bilinmektedir. Bu hastaların üçte birinin nüks ve bir kısmının da progresyonla seyredeceği gösterilmiştir (1). Yine, KİOMT'nin %20'sinde subepitelial bağ doku tutulumu (pT1) olduğu, yaklaşık %10'unda da karsinoma in situ (KİS) bulunduğu söylenebilir (2). Dolayısıyla KİOMT'de başarılı bir cerrahi girişim (Transüretal rezeksiyon-TÜR) sonrası ek tedavilerle ilgili araştırmalar devam etmektedir. Postoperatif erken dönemde uygulanan intravezikal kemoterapi, kemoterapinin başarısını arttırmak için ek yaklaşımlar, hastalığın patolojik ve klinik karakteristiğine bağlı olarak şekillenen intravezikal immünoterapi (BCG) tedavisi, bu tedaviye eklenen ve değişen süre ve kürlerde idame tedaviler sayılabilecek başlıca yaklaşımlardır. Bu tedavilerin geliştirilmesi ve mekanizmalar üzerine çok sayıda klinik çalışma bildirilmekte, geniş serili çok merkezli çalışmalar yapılmaktadır. Ancak, yeni bilgilere ve tedavi modalitelerine ulaşılabilmesi için, preklinik çalışmalara ihtiyaç

olduğu da bir gerçektir. Bir tedavinin insanda denenmesinden önce bir deneysel sürecin gereken basamakları titizlikle, en iyi sembolik modeller üzerinde yürütülmelidir. Davranış paterni değişken, varyantları da olan bir tümör grubu olarak mesane tümörlerinin biyolojisinin daha iyi aydınlatılması, yeni tedavi modellerinin geliştirilmesi sırasında insan çalışmalarından önce ihtiyaç duyulan preklinik çalışmaların yürütülebilmesi için deneysel hayvan modelleri hala vazgeçilmez gibi görünmektedir. Bu derlemede mesane tümörü araştırmalarında kullanılmakta olan deneysel hayvan modellerinin gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

Mesane Tümörü Hayvan Modellerinin Özellikleri

Birçok tedavi tipinin ve ajanının incelenmesi için in-vitro modeller önemli bilgiler vermektedir. Ancak etkili ve güvenli tedavilerin araştırılabilmesi için yeterli özelliklere sahip hayvan modellerine duyulan ihtiyaç devam etmektedir. Yeni anti-tümör yaklaşımlar, ilaç rejimleri, immünolojik ajanlar, bunların toksisiteleri ve farmakokinetik özellikleri bu kapsamda değerlendirilebilir (2). İnsandaki histopatolojik ve davranışsal özellikleri bakımından

mesane tümörleri için geliştirilen ideal bir hayvan modelinin özellikleri aşağıdaki gibi belirlenmiştir (3);

- İntravezikal (ortotopik) tümör gelişmesi. Bunlar, tümörün doğal ortamında, özellikle intravezikal tedavilere verdiği yanıtın değerlendirilmesine katkı sağlayan modellerdir.

- Deneysel modellerde mesane tümörü ürotelyal kaynaklı ve çeşitli evrelerde gelişim göstermiş olmalıdır. Bu insanda gelişen mesane tümörlerinin temel özelliklerini gösterebilmesi için önemlidir. Aynı nedenle, tümörlerin çoğunlukla KİOMT grubunda olması beklenir.

- Konakçı hayvanın immünitesi özellikle önemlidir ve deneysel modele uygun olmalıdır. KİOMT adjuvan tedavileri içinde yer alan anti-tümör ajanlar, immünoterapiler (özellikle BCG) ve fotodinamik tedavilerin etkinliğinin değerlendirilebilmesi için modele ait özelliklerin bilinmesi gereklidir.

- Tümörün gelişim sürecinin, deneysel çalışma için kabul edilebilir bir zaman diliminde olması ve bunun tümörün doğal seyrini temsil etmesi beklenir.

Bu nedenle, in-vivo rat modelleri daha çok dikkat çekmiş ve araştırmalarda kullanım alanı bulmuştur.

Kanser gelişimi ve hücre transformasyonlarına yönelik bazı genetik temel araştırmalarda hücre kültürleri sık kullanılmaktadır. Bu amaçla bir tümör hücresi çeşitli besin öğelerini içeren vasatlarda büyütülmektedir. Bu konudaki ilk tanımlamalar 1952 yılında yapılmış ve kullanılmıştır (4). Hücre kültürlerinde iki boyutlu hücre dizilimi, elde edilen bilgilerin, insana ait verilerin tam olarak temsil edilmesini engelleyici bir faktör olarak görülebilmektedir. Ayrıca tümörün çevre organlar ev insandaki immün sisteme etkileşimi, tümörün geliştiği organdaki diğer hücrelerle ilişkisi doğal seyrini etkilemektedir. Bu nedenle, in-vivo deneylerle elde edilen bilgiler, tümör konak etkileşiminin en iyi incelenebildiği modeller olarak ön plana geçmektedir. Bu şekilde ortotopik modeller olarak adlandırılan modellerde, tümör gelişimi ve değerlendirilmesi üzerine çok sayıda çalışma bulunmaktadır (2,5).

İn-vivo Modeller

Kemirgenlerin alt üriner sistem özellikleri, insana ait olanlarla oldukça benzerdir. Bu nedenle ratlar ve fareler bu şekilde deneysel modellerde sık kullanılmaktadır (6). Tümör hücrelerinin transferi, kimyasal yöntemlerle tümör gelişiminin sağlanması, subkutanöz (heterotopik) veya intravezikal (ortotopik) tümör gelişimi yollarından birisiyle deneysel çalışmalar yapılabilir (2). Hayvanın boyutu göz önüne alınırsa, rat mesanesinin bu şekilde kullanımının daha kolay olacağı söylenebilir. Fare modellerinde tümör gelişiminin takibi, intravezikal tanısız (sistoskopik) ve tedaviye yönelik girişimler daha zor olmaktadır. Fare mesanesine göre rat mesanesinin yaklaşık on kat büyük olduğu bildirilmiştir. Mesane duvarının kalınlığı da göreceli olarak daha fazladır. Yine tümör gelişimi ve kateterizasyon gibi girişimler için de uygulanabilirlik ve güvenlik açısından kolaylaştırıcı bir faktör olduğu söylenebilmektedir (7).

Heterotopik-Subkutanöz Modeller

Bu modelde tümör lokalizasyonu için seçilen bölgeler, genellikle kemirgenin bacak üst bölgesi ve flank bölgedir. Konakçıya tümör fragmanları veya hücrelerinin inokülasyonu yapılmaktadır. İmmünolojik temelli çalışmalar da yapılabileceği göz önüne

alınırsa immün sistemin uyumlu olması beklenir. Tümör gelişim sürecinin değerlendirilmesi, fizik muayenede kitlenin palpasyonu ve radyolojik görüntülemeyle olabilmektedir. Hem lokal hem de sistemik tedaviler için uygun bulunmaktadır (2,8). Ortotopik modellerden daha kolay uygulanabilir olması ve tümör kinetiğinin değerlendirilmesine olanak tanıdığı için geniş kullanım alanı bulmaktadır. Yalnız, bu modellerde gelişen tümörlerin doğal seyrinin, her zaman asıl gelişim yeriyle uyumlu olmayabileceği de unutulmamalıdır. Aynı tedavi edici ajan, tümör inhibisyonunu ortotopik modellerde daha az, heterotopik modellerde daha fazla yapabilir. Çeşitli çalışmalarda bu uyumsuzluğa dair bilgiler sunulmuştur (9). Elbette mesane tümörlerinin tedavisinde KİOMT grubunda önemli bir yer tutan intravezikal ilaç uygulamaları, immünoterapiler için de uygun modeller heterotopik modeller değildir. Bu tip araştırmalarda ortotopik modellerin seçilmesi daha uygun görünmektedir.

Ortotopik-Intravezikal Modeller

Ortotopik modellerde tümör gelişimi: Özellikle yeni tedavi modellerine yönelik gelişmeler açısından, KİOMT'de ortotopik modellerle yapılan çalışmalar daha geniş kabul görmektedir. Bu alanda kullanılan modeller şu şekilde sıralanabilir (2);

- Kimyasal ajanlarla tümör gelişiminin sağlanması,

- İnsan ürotelyal kanserinin, immün yetmezlikli ratlara transplantasyonu (xenograft model),

- Karsinojenle uyarılmış mesane kanserinin immün yeterli ratlara transplantasyonu (syngeneik model).

Kimyasal ajanlarla mesane tümörü gelişiminde özellikle efektif bulunmuştur; FANFT (N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide), OH-BBN (N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine) ve MNU (N-methyl-N-nitrosourea) (10,11). Kimyasal ajanlara ait kullanım şekilleri ve oluşan histopatolojik süreçlere ait bilgiler Tablo 1'de özetlenmiştir (11). Bu alanda önemli bir sınırlayıcı faktör, uzun süren tümör gelişimi ki bu ayları bulabilen bir zaman dilimine yayılabilmektedir. Ayrıca skuamöz diferansiyasyon gözlenmesi de bir sorun olarak bildirilmektedir. Özellikle tedavi edici etkinliğe yönelik araştırmalarda kullanımı pratik bulunmamaktadır (2). Bu modeller özellikle, tümör hücre biyolojisi, antikolar, sitotoksik tedaviler ve radyoterapi gibi tedavilerin etkinliğine yönelik çalışmalar için uygun görülmektedir (12). Mesane tümörünün transplantasyonu yani xenograft modelde, daha hızlı in-vivo tümör gelişimi sağlanabilmektedir. Ayrıca in situ insan tümör hücrelerinin davranışına daha benzer bir seyir elde edilebilmektedir. Ancak KİOMT araştırmalarında - özellikle BCG tedavileri söz konusu ise - bağışıklık sistemin özellikleri açısından uygun bir model olmamaktadır çünkü genetik bir mutasyonla bağışıklık sistemi baskılanmış bir hayvan kullanılmaktadır. Bu tip çalışmaların yapılabildiği, sinojenik ortotopik rat modelleri geliştirilmiştir (3). Bu örnekte, Fischer F344 ratlarında, FANFT kullanılarak geliştirilmiş, ürotelyal karsinom hücre kültürü olan AY-27 kullanılmıştır. Bu çalışmanın da desteklediği gibi, tümör gelişim süreçlerinin her hayvanda farklı olabilmesi sorun oluşturmaktadır. Bazı hayvanlarda KİOMT gözlenirken, bir grup hayvan kasa invaziv süreçte bulunabilmektedir. Bu durum, intravezikal tedavilerin zamanlamasıyla ilgili problemlere neden olmaktadır. Hendricksen ve ark., çalışmalarında bu modelde 3-5 gün içinde tümör gelişebileceğini, en fazla 5 gün KİOMT sürecinin devam edebileceğini ve %40 hayvanda 6 günden sonra

kasa invaziv tümör gözlenebileceğini bildirmişlerdir (13). Bu modelde bir başka sorun da, tümörün başlangıçta kasa invaziv olabilmesidir. Bunun tümörün saldırgan seyriden ziyade, ürotelyal hasarlanmayla ilişkisi vurgulanmaktadır. Tümörün ürotelyal instilasyonu için kimyasal hasar oluşturulmasıyla ilgili yöntemler de geliştirilmiştir. MNU, HCl ve KOH kombinasyonları ile multifokal lezyonlar veya kateterle mekanik olarak lezyon oluşturulması diğer yöntemler arasında gösterilmektedir (14). Ortotopik modellerde tümörün değerlendirilmesi: Başarılı bir tümör gelişimi veya implantasyonun gerçekleştirildiğinden emin olunması, daha sonraki, özellikle tedaviye yönelik verilerin değerlendirilebilmesi için ön koşuldur. Sakrifikasyon ve otopsi çalışmaları da dahil olmak üzere, bir tümörde gözlenen bir yanıt veya yanıtızlık kararının verilebilmesi için de bu koşulun gerçekleşmiş olması gereklidir. Bir tedavi edici ajanın intravezikal uygulanmasının ardından oluşan yanıtın takibi de çeşitli

güçlükler arz etmektedir. Bu durum KİOMT için daha önemli olmakta ve non invaziv değerlendirme yöntemlerinde sorunlarla karşılaşmaktadır (2). Bu nedenle çeşitli görüntüleme yöntemleri, sistoskopik değerlendirme ve histopatolojik değerlendirmelere başvurulmaktadır. Magnetik rezonans görüntüleme (MRC) bu amaçla kullanılmıştır. Özellikle küçük lezyonlarda güvenilirliğinin düşük olması, pahalı bir yöntem olması nedenleriyle kısıtlılıkları bulunmaktadır (15,16). Ultrasonografinin intravezikal kullanımı bu nedenle denemiş, tümörün varlığı ve yerleşiminin tespitinde yetersiz bulunmuş, ancak evresinin tespitiyle ilgili olarak pozitif ön görü değeri %85 olarak bildirilmiştir (17). Mesane tümörlerinin değerlendirilmesinde insanda olduğu gibi, çok ince sistoskoplar kullanılarak yapılan endoskopik değerlendirme özgülük ve duyarlılığı yüksek (>%90) bir yöntem olarak tanımlanmıştır (13). Tümör gelişiminden sonraki sürecin değişkenliği ve hızlı olması, bu teknik için suboptimal verilerin elde edilmesine de neden

Tablo 1. Mesane kanseri oluşumunda kullanılan kimyasal indükleyiciler (11)

Kullanılan Ajan	Kullanılma Şekli	Konakçı	Lezyon ve Tümör Tipi
BBN	%0,05 suda, 40 hafta	ACI rat	3. hafta; Hiperplazi, 4 ve 12 hafta Papillom, 20. hafta DHK
	%0,05, %0,01 ve %0,005 suda, 4, 8, 16, 20 ve 26 hafta	C3H/He fare	%0,05; 4. hafta hiperplazi, 12.-26. hafta displazi, KİS, invaziv kanser
			%0,01; 4. hafta hiperplazi, 8.-12. hafta displazi, 20.-26. hafta hiperplazi, displazi, KİS, invaziv kanser
	50-100 mg gastrik intubasyon, 2-9 hafta	B6D2F1	%0,005; 4. hafta lezyon yok, 8.-12. hafta hiperplazi, 16.-20. hafta hiperplazi, displazi, 26. hafta hiperplazi, displazi, KİS, invaziv kanser
	%0,05 suda, 20 hafta		DHK, Skuamöz difr, papiller tümör
EHBN	%0,05 suda, 16-32 hafta	Wistar rat	Hiperplazi, DHK, papiller tümör
	Gavaj; 3 doz/gün, (+1/2 propandiol 300 mg/Kg)	Fisher 344	DHK
		Wistar rat	19 aydan sonra, papillom, invaziv karsinom
EHBN	%0,025 suda, 4,12, 20, 28 ve 36 hafta	B6D2F1	4. hafta displazi, 12.-36. hafta hiperplazi, displazi, papillo, skuamöz difr.
	%0,05 suda, 32 hafta	B6D2F1	Adeno kanser, KİS, metastaz DHK (invaziv), skuamöz difr.
FANFT	Diyetle, %0,1, 45 hafta	C3H/He fare	Displazi, KİS, DHK
	Diyetle, %0,02, 4 hafta	Fisher 344	6. hafta hiperplazi, 8. hafta nodüler hiperplazi, 10.-14. hafta papiller tümör
	Diyetle, %0,1, 38 hafta	C3H/He fare	Displazi, KİS, DHK
MNU	Intravezikal 5 mg/Kg,	Wistar rat	15. ay sonra, ekzofitik papillom ve invaziv karsinom
	1,5 mg/2 hafta intravezikal	Fisher 344	Hiperplazi, papiller lezyon, skuamöz metaplazi
	Intravezikal 0.15 ml, 6 hafta 4 doz	Fisher 344	10 hafta sonra, DHK

DHK: değişici hücreli karsinom, FANFT: N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazoly] formamide), BBN: N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine ve MNU: N-Methyl-N-nitrosurea, EHBN: N-Ethyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine, KİS: karsinoma in situ

olmuştur. Bu nedenle sakrifikasyon olsun veya olmasın, tümör gelişim süreçlerinin takibi ve değerlendirilmesi için bu nedenle altın standart değerlendirme histopatoloji olarak görülmektedir (2). Ortotopik mesane tümörü modelleriyle ilgili çeşitli çalışma ve gelişmeler devam etmektedir. Bu amaçla geliştirilen rat modellerinden biri de ACI rat mesane tümörü modelidir. Bu modelle fenotipik ve sitogenetik olarak insan K10MT modeline benzer ve skuamöz hücrelerin gözlenmediği bir tümör gelişimi söz konusu olmaktadır. Bu model, anti tümör etkili ajanlar, dolayısıyla tedaviye yönelik çalışmalar için daha uygun görülmektedir (2,18). Bu tip modellerde tek boyutlu tümör gelişimi sağlanan hücre kültürlerinin kullanılması söz konusudur. Longitudinal çoğalan bir tümör modelinin geliştirilmesi ve hem sürecin hem de sadece K10MT gelişmesinin sağlandığı modeller, tümörün davranışı ve tedaviye yönelik çalışmalar için daha uygun olacaktır. Genetik olarak değişime uğratılmış hayvanların kullanıldığı bir diğer model Transgenik modellerdir. Supressor genlerin aktivitesinin kaldırıldığı, özel olarak üretilmiş knockout fareler kullanılmaktadır (19). Retinoblastom ve P-53 tümör supressor genlerin baskılanması tüm organizmayı etkileyen onkojenik süreçlerdir. Sadece ilgili organın yani mesanenin etkilendiği modellere ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun içinde çeşitli modeller üzerinde çalışmalar yürütülmektedir. Bu genetik değişimlerle, ürotelyumda onkojenik sürecin başladığı, proloferasyon, hiperplazi, atipi ve sonunda ürotelyal K10MT gelişimi gösterilmiştir (20).

Sonuç

Hayvan modellerinde yürütülen kanser çalışmaları, birçok tümör grubunda olduğu gibi mesane tümörleri için yapılan insan çalışmalarına öncülük etmektedir. Tümörün davranış paterninin anlaşılmasına, etyopatogeneze yönelik çalışmaların yapılmasına ve en önemlisi tedaviye yönelik yeni ajanların ve uygulamaların geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Ekonomik olanakların yanı sıra tecrübenin ve laboratuvar alt yapısının çok önemli olduğu bu deneysel araştırmaların, onkoloji ve üroonkolojinin gelişmesi için günümüzde ve gelecekte önemini koruyacağı bir gerçektir.

Çıkar çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Kaynaklar

1. Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, et al. EAU guidelines on non-muscleinvasive urothelial carcinoma of the bladder, the 2011 update. *Eur Urol* 2011;59:997-1008.
2. Arentsen HC, Hendricksen K, Oosterwijk E, Witjes JA. Experimental rat bladder urothelial cell carcinoma models. *World J Urol* 2009;27:313-317.
3. Xiao Z, McCallum TJ, Brown KM, et al. Characterization of a novel transplantable orthotopic rat bladder transitional cell tumor model. *Br J Cancer* 1999;81:638-646.
4. Gey GO, Cofmann WD, Kubicek MT. Tissue culture studies of the proliferative capacity of cervical carcinoma and normal epithelium. *Cancer research* 1952;12:264-265.
5. Chong L, Ruping Y, Jiancheng B, et al Characterization of a novel transplantable orthotopic murine xenograft model of a human bladder transitional cell tumor (BIU-87). *Cancer Biol Ther* 2006;5:394-398.
6. Oyasu R. Epithelial tumours of the lower urinary tract in humans and rodents. *Food Chem Toxicol* 1995;33:747-755.
7. Oshinsky GS, Chen Y, Jarrett T, et al. A model of bladder tumor xenografts in the nude rat. *J Urol* 1995;154:1925-1929.
8. Moltedo B, Faunes F, Haussmann D, et al Immunotherapeutic eVect of Concholepas hemocyanin in the murine bladder cancer model: evidence for conserved antitumor properties among hemocyanins. *J Urol* 2006;176:2690-2695.
9. Wilmanns C, Fan D, O'Brian C et al Modulation of doxorubicin sensitivity and level of P-glycoprotein expression in human colon carcinoma cells by ectopic and orthotopic environments in nude mice. *Int J Oncol* 1993;3:413-422.
10. Schalken JA, Van Moorselaar RJA, Binguier PP, Debruyne FMJ. Critical review of the models to study the biologic progression of bladder cancer. *Semin Surg Oncol* 1992;8:274-278.
11. Oliveira PA, Colaço A, De la Cruz LF, Lopes C. Experimental bladder carcinogenesis-rodent models. *Exp Oncol* 2006;28:2-11.
12. Eijan AM, Lodillinsky C, Sandes EO. Animal Models for Basic and Preclinical Research in Bladder Cancer. In *Bladder Cancer- From Basic Science to Robotic Surgery*. Ed: Dr. Abdullah Cancda. Croatia: InTech, 2012. Sayfa 383-404.
13. Hendricksen K, Molkenboer-Kueneen J, Oosterwijk E, et al. Evaluation of an orthotopic rat bladder urothelial cell carcinoma model by cystoscopy. *BJU Int* 2008;101:889-893.
14. Bisson J, Parache RM, Droulle P, et al. A new method of implanting orthotopic rat bladder tumor for experimental therapies. *Int J Cancer* 2002;102:280-285.
15. Chin J, Kadhim S, Garcia B, et al. Magnetic resonance imaging for detecting and treatment monitoring of orthotopic murine bladder tumor implants. *J Urol* 1991;145:1297-1301.
16. Kikuchi E, Xu S, Ohori M, et al. Detection and quantitative analysis of early stage orthotopic murine bladder tumor using in vivo magnetic resonance imaging. *J Urol* 2003;170:1375-1378.
17. Satoh H, Morimoto Y, Arai T, et al. Intravesical ultrasonography for tumor staging in an orthotopically implanted rat model of bladder cancer. *J Urol* 2007;177:1169-1173.
18. Van Moorselaar RJA, Ichikawa T, Schaafsma HE, et al. The rat bladder tumor model system RBT resembles phenotypically and cytogenetically human superWcial transitional cell carcinoma. *Urol Res* 1993;21:413-421.
19. Tombul ŞT, Müezzinoğlu T. Mesane kanserlerinde deneysel hayvan modelleri. *Üroonkoloji Bülteni* 2013;12:50-53
20. Mo L, Cheng J, Lee EY, Sun TT, et al. Gene deletion in urothelium by specific expression of Cre recombinase. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;289:562-563.