

Для цитирования: *Камаева И.А., Гончарова А.С., Лукбанова Е.А.* Методы создания моделей рака мочевого пузыря и их применение в доклинических исследованиях (обзор литературы). Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(2): 143–149. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-143-149

For citation: *Kamaeva I.A., Goncharova A.S., Lukbanova E.A.* Methods of creation of bladder cancer models and their application in preclinical studies (literature review). Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(2): 143–149. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-2-143-149

МЕТОДЫ СОЗДАНИЯ МОДЕЛЕЙ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

И.А. Камаева, А.С. Гончарова, Е.А. Лукбанова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Россия
Россия, 344037, ул. 14 Линия, 63, г. Ростов-на-Дону. E-mail: inkamaeva@yandex.ru

Аннотация

Цель исследования. Обобщение имеющихся данных о методах создания моделей рака мочевого пузыря для их использования в доклинических исследованиях. **Материал и методы.** Поиск соответствующих источников производился в системах Elibrary, Pubmed, GoogleScholar, CyberLeninka. Количество иностранных источников составило свыше 80 %. **Результаты.** В обзоре отражены современные данные о различных моделях рака мочевого пузыря и их применении в практике. Патофизиология рака мочевого пузыря, определение диагностических маркеров, а также разработка новых методов терапии являются одними из основных задач современной онкоурологии. Для решения подобных проблем зачастую необходимо проведение доклинических исследований с использованием экспериментальных моделей. **Заключение.** Модели РМП, способные полностью воспроизводить заболевание человека с точки зрения гистологии и поведения, необходимы для изучения факторов, участвующих в инициации, прогрессии опухоли и ее метастазировании. Для этого в настоящее время используют различные экспериментальные модели. Наиболее широко применяют ксенографты опухолей человека на мышах, т.к. они позволяют воспроизвести основные патофизиологические особенности биологии многих злокачественных новообразований. Кроме того, модели трансплантируемых опухолей могут быть использованы для изучения многоступенчатых каскадов канцерогенеза, прогрессирования рака мочевого пузыря (РМП), метастазирования, а также изучения новых способов терапии. Однако необходимо четко представлять все плюсы и минусы выбираемых экспериментальных моделей. В литературном обзоре представлены современные данные зарубежных и отечественных авторов об этиопатогенезе рака мочевого пузыря, результаты доклинических исследований на различных экспериментальных моделях, включая ортотопические и гетеротопические ксенографты.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, ксенографт, ортотопические опухолевые модели, иммунодефицитные мыши, доклинические исследования.

METHODS OF CREATION OF BLADDER CANCER MODELS AND THEIR APPLICATION IN PRECLINICAL STUDIES (LITERATURE REVIEW)

I.A. Kamaeva, A.S. Goncharova, E.A. Lukbanova

National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia
63, 14 Line St., 344037, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: inkamaeva@yandex.ru

Abstract

Purpose of the study to summarize available data on methods for creating bladder cancer models for their application in preclinical studies. **Material and Methods.** A systematic literature search was conducted in the Elibrary, Pubmed, GoogleScholar, CyberLeninka databases. **Results.** The review shows current data on various bladder cancer models and their application in practice. Bladder cancer pathology, identification of diagnostic markers and the development of new therapies are of the main challenges facing the management of bladder cancer. To solve these problems, it is often necessary to conduct preclinical studies using experimental models. **Conclusion.** Bladder cancer models that can fully reproduce a human disease in terms of histology and behavior are necessary to study the factors involved in cancer development, progression and metastasis. For this, various experimental models are currently used. Human tumor xenografts in mice are widely used. They can reproduce the main pathophysiological features of cancer biology. However, it is necessary to clearly present all the pros and cons of the selected experimental models. The literature review presents modern data on the etiology of bladder cancer, results of preclinical studies on various experimental models, including orthotopic and heterotopic xenografts.

Keywords: bladder cancer, xenograft, orthotopic tumor models, immunodeficiency mice, preclinical studies.

Рак мочевого пузыря (РМП) является одной из самых распространенных злокачественных опухолей, характеризуется высокими темпами ежегодного роста заболеваемости и занимает одно из ведущих мест в структуре онкологической смертности в развитых странах [1, 2]. В России РМП занимает 8-е место в структуре онкологической патологии у мужчин и 18-е место – у женщин. При этом на РМП I–II стадии приходится 57,4 % пациентов с первичным диагнозом, на II–III – 26,8 %, на IV – 11,4 % [3]. В структуре преобладают пациенты старше 60 лет, в России они составляют 78,4 %. Средний возраст пациентов в России составляет 65,7 года для мужчин и 69,2 – для женщин. Увеличение частоты встречаемости РМП связано в первую очередь со сложной диагностикой заболевания на начальных стадиях, обусловленной бессимптомным течением, или сходством клиники и симптомов с другими заболеваниями мочеполовых органов. Существует множество этиологических факторов, приводящих к РМП. Большинство случаев РМП связывают с влиянием выделяемых с мочой канцерогенных веществ на уротелий [4].

Значительную роль в улучшении методов лечения РМП играют доклинические исследования *in vivo*. В настоящее время разработано большое количество животных моделей, отражающих различные типы и стадии заболевания. В обзоре представлен анализ зарубежной и отечественной литературы, посвященный созданию и применению моделей *in vivo* в области экспериментальной онкологии [5]. Поиск статей был выполнен в базе данных PubMed, GoogleScholar, CyberLeninka с использованием следующих поисковых запросов: xenograft, bladder cancer, orthopic model, heterotopic model.

На сегодняшний день наиболее часто для моделирования опухолевого роста применяют ксенографты опухолей человека на мышах, т. к. они позволяют воспроизвести основные патофизиологические особенности биологии многих

злокачественных новообразований. Для получения этих моделей обычно используют иммунодефицитных животных линий SCID, NOD-SCID, NOG, NSG, Balb/cNude, т. к. вследствие их иммунодефицитного статуса не происходит отторжения чужеродного биологического материала [6, 7]. В многочисленных работах по созданию и использованию ксеногенных опухолевых моделей продемонстрированы примеры применения как гетеротопического (подкожного) варианта трансплантации опухолевого материала, так и ортотопического (гистологически соответствующая зона животного) [8, 9].

Большое значение имеет опухолевый потенциал клеточной линии. Необходимо иметь в виду, что не все линии опухолевых клеток, доступных на коммерческой основе, являются туморогенными. Известно, что клетки линии UM-UC3, TCCSUP имеют высокую степень приживаемости при ортотопической имплантации. KU7, KU-19, T24, UM-UC1, UM-UC3, UM-UC13 линии переходно-клеточных карцином могут быть привиты трансуретрально. Отличия клеточных линий обусловлены различным набором генетических свойств. Например, клеточная линия UM-UC-6 получена путем трансуретральной резекции и способна продуцировать опухоли преимущественно у мышей Balb/cNude. Конкретные характеристики клеточных линий представлены на коммерческих сайтах. Для получения опухолей мочевого пузыря часто используются клеточные линии MB49, MBT-2, VTT-T739 [10].

Ортотопические модели

Большинство мышинных ортотопических моделей могут быть получены тремя способами: индуцирование химическими канцерогенами, имплантация человеческих клеток РМП, имплантация мышинных клеток РМП (сингенные модели) [11]. В настоящее время достаточно широко используются ортотопические ксенографты, для которых необходимо использовать иммунодефицитных мышей во избежание иммунных реакций, предпочтительнее

использовать мышей SCID, NOD-SCID [12]. Мыши хорошо подходят для создания ортотопических ксенотрансплантантов РМП, т.к. структура и функция их мочевыделительной системы схожи с человеком. Для облегчения катетеризации мочевого пузыря в исследованиях следует использовать самок мышей [13]. Для надежности и воспроизводимости модели животного необходима высокая скорость приживления опухолевых клеток. Мыши SCID-beige наиболее восприимчивы к приживлению опухоли ввиду отсутствия Т-, В-клеток, а также нарушения активности НК-клеток.

Несмотря на то, что ортотопические модели обеспечивают нормальное микроокружение опухоли, они сильно ограничены из-за технических трудностей. Процедура создания ортотопического ксенографта занимает относительно много времени, а размер опухоли сильно ограничен из-за небольшой емкости мочевого пузыря мышей [13]. Недостатком данной модели также является невозможность оценки иммунного ответа на интравезикулярную терапию ввиду отсутствия характерного микроокружения опухоли [14].

Уротелиальные опухолевые клетки могут быть привиты трансуретрально с помощью 22G или 24G уретрального катетера. Повышение количества опухолевых клеток в образце означает увеличение продолжительности контакта опухолевых клеток со слизистой оболочкой мочевого пузыря, что способствует лучшему приживлению опухоли [15, 16]. Поверхность слизистой оболочки мочевого пузыря покрыта слоем гликозаминогликана, который действует как защитный барьер к имплантации опухоли. Следовательно, для того чтобы успешно привить опухоль, этот барьер необходимо убрать: возможно механическое нарушение слизистой оболочки путем предварительного выскабливания уротелия стилетом [17]. Слизистая оболочка мочевого пузыря может быть также удалена путем прижигания [18]. В других литературных источниках сообщается о внутрипузырном введении 0,1 мл 0,2 % трипсина в течение 30 мин и незамедлительной травматизации слизистой оболочки с последующим прививанием опухоли [19]. Во время катетеризации мочевых пузырей зачастую возможно образование воздушного пузыря за счет воздуха, содержащегося в катетере. Чтобы проанализировать, влияет ли это на возникновение опухоли, был опробован альтернативный метод инстиляции, при котором сам катетер заполняется суспензией опухолевых клеток до катетеризации мочевого пузыря. Это предотвращает образование воздушного пузыря. Однако сравнение обоих методов инстиляции не выявило различий в формировании опухоли у мышей линии SCID-beige [20].

Гетеротопические модели

Гетеротопические модели включают в себя имплантацию и рост опухоли в месте, отличном

от исходного органа, преимущественно подкожной локализации. При этом гетеротопические ксенографты обладают рядом преимуществ. При подкожной имплантации, когда опухоль прививают в подкожно-жировую клетчатку иммунодефицитных мышей, рост опухолей можно легко оценить визуально, при помощи пальпации или замеров. В литературе описаны и другие локализации гетеротопических ксенографтов РМП. Например, опухолевые клетки РМП могут прививаться под почечную капсулу мышей SCID путем открытого хирургического вмешательства, такая методика позволяет получить более высокую приживаемость ввиду обильного кровоснабжения анатомической области. Из-за наличия жировой ткани стромы опухоли, поддерживающей ее рост, данный способ обеспечивает имитацию оригинального микроокружения [21–23]. Клетки можно имплантировать в бок или заднюю ногу иммунодефицитной мыши, есть данные о прививании клеток через хвостовую вену и левый желудочек сердца, последние чаще используются для оценки процесса метастазирования. Подкожные ксенографты создать, несомненно, проще, чем ортотопические модели. Эту модель часто используют при оценке терапевтических средств. Она может применяться для изучения местного рецидива после иссечения. Гетеротопические ксенографты имеют существенный недостаток – они не воспроизводят реальное микроокружение опухоли и не метастазируют [24, 25].

Модели PDX

Новым инструментом в решении проблем гетерогенности опухолей стали модели, полученные путем имплантации опухолевого материала от пациента иммунодефицитным мышам – PDX (Patient-derived xenograft). PDX способны отражать биологические характеристики опухолей более точно, чем линии опухолевых клеток: линии опухолевых клеток могут не иметь сходств с исходной опухолью и не могут точно имитировать клиническую ситуацию [26]. Кроме того, культура клеток лишена стромальных и эндотелиальных элементов. Таким образом, чтобы справиться с микроокружением, эти опухолевые клетки претерпевают генетические и эпигенетические изменения, в результате которых фенотип отличается от исходной опухоли [27]. Модели PDX были разработаны достаточно давно, однако их характеристика была ограничена фенотипическими анализами, такими как гистологическое исследование с окраской гематоксилин-эозином или иммуноцитохимический метод, без детального молекулярного анализа. Для изучения молекулярных изменений в ксенотрансплантатах необходимо проводить дальнейшие генетические исследования. В литературе встречаются данные о шести моделях ксенотрансплантата РМП с гетерогенными клинико-патологическими осо-

бенностями. Четыре из шести моделей имеют мутацию HRAS, CTNNB1, BRAF, TP53, причем ни одна из них не имеет мутации в других генах. Было доказано, что ранний перенос PDX-моделей ксенотрансплантата обеспечивает практически полное сходство со стороны гистологии, мутационного статуса и геномных изменений [27]. Исходя из этого, модели PDX являются актуальными для изучения противоопухолевого ответа. Существуют и недостатки использования PDX-моделей. Необходимо иметь в виду, что несмотря на фенотипические и генотипические сходства с первичными опухолями, не доказано, схожи ли они в «клинических» аспектах, например, обладают ли они лекарственной или радиационной резистентностью [28].

Индукцированные модели

Согласно литературным данным, существует прямая связь между количеством выкуриваемых сигарет и возникновением РМП. Поэтому крайне важно изучить взаимосвязь между химическим канцерогенозом и РМП. Первая модель индуцированного уротелиального рака была получена у крыс, после чего было открыто несколько канцерогенов у различных видов, включая мышей и собак [29–30]. Основными химическими канцерогенами являются 4-гидроксибутил-нитрозамин (BNN) N-(4,5-нитро-2-фурил)формамид (FANFT) и метил-нитрозомочевина (MNU). Большинство из них содержат ароматические аминные компоненты. BNN вводят либо перорально, добавляя его в питьевую воду, при этом происходит его дальнейшая дегградация до N-бутил-нитрозамина, либо внутривенно. BNN-индуцированные модели рака имеют мутации p53, высокий уровень EGFR [33]. Однако создание опухолевых моделей, индуцированных BNN, – процесс длительный и занимает от 5 до 8 мес. MNU – канцероген, который действует непосредственно на уротелий после внутрипузырной инстилляцией, что приводит к метилированию ДНК [34]. Основное преимущество этой модели заключается в том, что карцинома развивается уже спустя 12 нед. Однако MNU крайне неустойчив во внешней среде и поэтому должен храниться при низких температурах и отсутствии света [35]. FANFT – химический канцероген, который стимулирует слизистую оболочку мочевого пузыря и в основном способствует развитию переходноклеточного рака [36].

Трансгенные модели

Особым типом сингенных моделей являются трансгенные мыши, геном которых модифицируется с целью изучения важности конкретного гена в развитии и прогрессировании рака. Активация онкогенов, таких как Ha-ras, или изменения в генах-супрессорах RB1, p53 в уротелии считаются пусковыми в развитии уротелиальных опухолей.

В литературе встречается информация о том, что трансгенные мыши с дефицитом pRB, p53 очень чувствительны к возникновению РМП, у них обнаружена инвазивная карцинома, гистологически схожая с РМП человека [37, 38]. Однако генно-инженерные модели имеют ряд ограничений. Во-первых, опухоли, развивающиеся в этих моделях, менее гетерогенны, чем опухоли мочевого пузыря человека. Во-вторых, трансгенные модели могут недостоверно отображать процессы, происходящие при РМП у человека [37]. У мышей с делецией зародышевой линии часто невозможно исследовать функцию гена – нокаут приводит к преждевременной или перинатальной смерти. Вследствие этого не получится четко разграничить тканеспецифический и клеточный вклад данного гена в развитие заболевания. Подход, который позволит избежать данного ограничения, включает в себя The Cre-loxP систему, содержащую бактериофаг P1 и позволяющую изучать функцию генов в конкретных клеточных и тканевых типах [39]. Уротелий-специфическая система The Cre-loxP доступна и выборочно используется для достижения нокаута генов в эпителии мочевого пузыря [27].

Возможности применения ксенографтов

Ортотопические ксенографты могут быть использованы для изучения новых терапевтических стратегий борьбы с РМП. Так, например, в исследованиях по изучению ингибирующего влияния экзогенной miR-145 на рост опухолей мочевого пузыря *in vivo* использовали мышиную модель с ортотопически привитыми опухолевыми клетками. Препарат miR-145 значительно ингибировал рост ортотопических ксенотрансплантантов РМП. Как известно, miR-145 выступает в качестве супрессора опухолевого роста [20]. Для подтверждения подавления роста ксенотрансплантированной опухоли путем внутрипузырного введения были исследованы уровень экспрессии miR-145 методом qRT-ПЦР, а уровни экспрессии возможных мишеней miR-145 генов методом вестерн-блоттинга. Ожидается, что уровень экспрессии miR-145 был достоверно повышен в ксенотрансплантированных тканях по сравнению с контрольной группой. Анализ вестерн-блоттингом показал, что уровни белка miR-145 таргетных генов, таких как c-Myc, socs7, FSCN1, E-кадгерин и β-Катенин, были значительно снижены. Интересно, что уровни c-Myc, socs7 были снижены в большей степени по сравнению с результатами экспериментов *in vitro*. Эти данные позволяют предположить, что внутрипузырное введение miR-145 эффективно проявило свой противоопухолевый эффект в ксенотрансплантированной опухоли. Согласно некоторым исследованиям также следует отметить, что оптимальным сроком начала терапевтического воздействия у животных-опухоленосителей может считаться интервал до 7 дней после процедуры инстилляцией опухолевых клеток [40].

Согласно литературным данным, РМП метастазирует преимущественно лимфогенно: в обтураторные лимфатические узлы; гематогенные метастазы чаще всего возникают в печени. Несмотря на свою актуальность, на сегодняшний день существует очень мало доклинических моделей, доступных для изучения спонтанного метастазирования РМП. В литературе описывается роль эпителиально-мезенхимального перехода в прогрессировании и метастазировании РМП. Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – обратимый клеточный процесс, происходящий в эпителиальных тканях, при котором гомотипная адгезия и клеточная поляриность временно теряются, поскольку клетки приобретают мезенхимальные свойства, становятся инвазивными и мигрирующими [41]. Для изучения этого явления были созданы новые модели ксенотрансплантатов, полученные из линий клеток рака мочевого пузыря человека с использованием ортотопического метода «рециркуляции». В исследовании использовались мыши Balb/cNude, SCID-beige. Для инстиляции опухолевых клеток были отобраны самки 14 нед, мочевого пузыря которых катетеризировали с помощью 24G катетера. Метод «ортотопической рециркуляции» заключается в том, что опухолевые клетки имплантируются в их нативное микроокружение, способствуя переходу к более «эпителиальному» фенотипу и усилению роста первичной опухоли. Метастазы затем повторно имплантируют в ортотопический участок для обогащения спонтанного метастатического фенотипа. Этот процесс повторяется до тех пор, пока практически у всех мышей не развиваются метастазы после короткого латентного периода. На 20-й день после инстиляции опухолевых клеток МРТ-изображения демонстрируют пристеночные образования, выступающие в полость мочевого

пузыря мышей. При этом ксенографты локализовались преимущественно в области верхушки мочевого пузыря. Было показано, что ингибирование ЭМП в данной модельной системе полностью блокирует метастазирование [41].

Заключение

Увеличение количества случаев возникновения РМП связано со многими причинами. Прежде всего, это бессимптомное течение начальных стадий заболевания, что, безусловно, затрудняет диагностику процесса. В настоящее время разработаны различные экспериментальные модели. В зависимости от цели необходимо четко представлять преимущества и недостатки каждой из них. PDX-модели и остальные могут быть применены в изучении основных патофизиологических механизмов возникновения РМП, а также для изучения новых терапевтических средств лечения не только РМП, но и его метастазов. Модели PDX в настоящее время способны наиболее точно отражать фенотип опухоли, генетически стабильны, гетерогенны. Кроме того, они отлично подходят для изучения действия противоопухолевых препаратов. Имеются и недостатки использования PDX-моделей: экономические затраты для создания и хранения тканей в биобанках, низкая скорость приживления опухолей. С точки зрения пользы для пациентов такая модель представляет собой огромный интерес, но для больных с быстро прогрессирующим процессом такая модель не подходит. Что касается использования трансгенных мышей, то они не могут воспроизводить реальное микроокружение опухолей, как и ксенографты. Зачастую имеет смысл использовать несколько экспериментальных моделей, когда недостатки одной модели могут компенсироваться достоинствами другой.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 г. (заболеваемость и смертность). М., 2017. 250 с. [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality). Moscow, 2017. 250 p. (in Russian)].
2. Torre L.A., Siegel R.L., Ward E.M., Jemal A. Global cancer incidence and mortality rates and trends – an update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016; 25(1): 16–27. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0578.
3. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2006 году (заболеваемость, смертность). М., 2007. [Chissov V.I., Starinskii V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2006 (morbidity, mortality). Moscow, 2007. (in Russian)].
4. Давыдов М.И., Петровский А.В. Онкология. Клинические рекомендации. М., 2018; 976 с. [Davydov M.I., Petrovskii A.V. Oncology. Clinical guidelines. Moscow, 2018; 976 p. (in Russian)].
5. Кит О.И., Ващенко Л.Н., Дашкова И.Р., Кутилин Д.С., Максимов А.Ю., Гончарова А.С. Ксеногенные модели рака молочной железы человека в экспериментальных исследованиях. Современные проблемы науки и образования. 2019; 6: 184. [Kit O.I., Vashchenko L.N., Dashkova I.R., Kutilin D.S., Maksimov A.Yu., Goncharova A.S. Xenogenic models of human breast cancer in experimental studies. *Modern Problems of Science and Education.* 2019; 6: 184. (in Russian)].
6. Трещалина Е.М. Иммунодефицитные мыши Balb/cNude и моделирование различных вариантов опухолевого роста для доклинических исследований. Российский биотерапевтический журнал. 2017; 16(3): 6–13. doi: 10.17650/1726-9784-2017-16-3-6-13.

7. Treshalina H.M. Immunodeficient mice Balb/C Nude and modeling of various types of tumor growth for preclinical studies. *Russian Biotherapeutic Journal.* 2017; 16(3): 6–13. doi: 10.17650/1726-9784-2017-16-3-6-13. (in Russian)].
8. Холоденко И.В., Доронин И.И., Холоденко Р.В. Опухолевые модели в изучении онкологических заболеваний. Иммунология. 2013; (5): 282–6. [Kholodenko I.V., Doronin I.I., Kholodenko R.V. Tumor models in the study of cancer diseases. *Immunology.* 2013; (5): 282–6. (in Russian)].
9. Zhao X., Li L., Starr T.K., Subramanian S. Tumor location impacts immune response in mouse models of colon cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(33): 54775–87. doi: 10.18632/oncotarget.18423.
10. Hoen I., Speirs V., Morrissey B., Blyth K. In vivo models in breast cancer research: progress, challenges and future directions. *Dis Model Mech.* 2017; 10(4): 359–71. doi: 10.1242/dmm.028274.
11. Huebner D., Rieger C., Bergmann R., Ulrich M., Meister S., Toma M., Wiedemuth R., Temme A., Novotny V., Wirth M.R., Bachmann M., Pietzsch J., Fuessel S. An orthotopic xenograft model for high-risk non-muscle invasive bladder cancer in mice: influence of mouse strain, tumor cell count, dwell time and bladder pretreatment. *BMC Cancer.* 2017; 17: 790. doi: 10.1186/s12885-017-2778-3.
12. Yang X.H., Ren L.S., Wang G.P., Zhao L.L., Zhang H., Mi Z.G., Bai X. A new method of establishing orthotopic bladder transplantable tumor in mice. *Cancer Biol Med.* 2012; 9(4): 261–5. doi: 10.7497/j.issn.2095-3941.2012.04.007.
13. Sabichi A., Keyhani A., Tanaka N., Delacerda J., Lee O.L., Zhou J.H., Benedict W.F., Grossman H.B. Characterization of a panel of

cell lines derived from urothelial neoplasms: genetic alterations, growth in vivo and the relationship of adenoviral mediated gene transfer of coxsackie adenovirus receptor expression. *J Urol.* 2006; 175(3): 1133–7.

13. Reis L.O., Sopena J.M., Fávoro W.J., Martín M.C., Simão A.F., Reis R.B., Andrade M.F., Domenech J.D., Cardo C.C. Anatomical features of the urethra and urinary bladder catheterization in female mice and rats. An essential translational tool. *Acta Cir Bras.* 2011; 2: 106–10. doi: 10.1590/s0102-86502011000800019.

14. Grossman H.B., Wedemeyer G., Ren L. UM-UC-1 and UM-UC-2: characterization of two new human transitional cell carcinoma lines. *J Urol.* 1984; 132(4): 834–7. doi: 10.1016/s0022-5347(17)49883-1.

15. Grivas P.D., Day K.C., Karatsinides A., Paul A., Shakir N., Owainat I., Liebert M., Kunju L.P., Thomas D., Hussain M., Day M.L. Evaluation of the antitumor activity of dacomitinib in models of human bladder cancer. *Mol Med.* 2013; 19(1): 367–76. doi: 10.2119/molmed.2013.00108.

16. Eijan A.M., Lodillinsky C., Sandes E.O. Animal models for basic and preclinical research in bladder cancer. *Bladder Cancer—from basic science to Robotic Surgery / Ed. Canda A.E. In Tech.* 2012; 383–404. doi:10.5772/28580.

17. Smith E.B., Schwartz M., Kawamoto H., You X., Hwang D., Liu H., Scherr D.S. Antitumor effects of imidazoquinolines in urothelial cell carcinoma of the bladder. *J Urol.* 2007; 177(6): 2347–51. doi: 10.1016/j.juro.2007.01.112.

18. Cheon J., Moon D.G., Cho H.Y., Park H.S., Kim J.J., Gardner T.A., Kao C. Adenovirus-mediated suicide-gene therapy in an orthopic murine bladder tumor model. *Int J Urol.* 2002; 9(5): 261–7. doi: 10.1046/j.1442-2042.2002.00464.x.

19. Jäger W., Moskalev I., Janssen C., Hayashi T., Awrey S., Gust K.M., So A.I., Zhang K., Fazli L., Li E., Thüroff J.W., Lange D., Black P.C. Ultrasound-guided intramural inoculation of orthotopic bladder cancer xenografts: a novel high-precision approach. *PLoS One.* 2013; 8(3). doi: 10.1371/journal.pone.0059536.

20. Yu D.S., Lee C.F., Chang S.Y. Immunotherapy for orthotopic murine bladder cancer using bacillus Calmette-Guérin recombinant protein Mpt-64. *J Urol.* 2007; 177(2): 738–42. doi: 10.1016/j.juro.2006.09.074.

21. Lodillinsky C., Rodriguez V., Vauthay L., Sandes E., Casabé A., Eijan A.M. Novel invasive orthotopic bladder cancer model with high cathepsin B activity resembling human bladder cancer. *J Urol.* 2009; 182(2): 749–55. doi: 10.1016/j.juro.2009.03.076.

22. Wang Y., Revelo M.P., Sudilovsky D., Cao M., Chen W.G., Goetz L., Xue H., Sadar M., Shappell S.B., Cunha G.R., Hayward S.W. Development and characterization of efficient xenograft models for benign and malignant human prostate tissue. *Prostate.* 2005; 64(2): 149–59. doi: 10.1002/pros.20225.

23. Cutz J.C., Guan J., Bayani J., Yoshimoto M., Xue H., Sutcliffe M., English J., Flint J., LeRiche J., Yee J., Squire J.A., Gout P.W., Lam S., Wang Y.Z. Establishment in severe combined immunodeficiency mice of subrenal capsule xenografts and transplantable tumor lines from a variety of primary human lung cancers: potential models for studying tumor progression-related changes. *Clin Cancer Res.* 2006; 12(13): 4043–54. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0252.

24. Wu Z., Owens C., Chandra N., Popovic K., Conaway M., Theodorescu D. RalBP1 is necessary for metastasis of human cancer cell lines. *Neoplasia.* 2010; 12(12): 1003–12. doi: 10.1593/neo.101080.

25. Talmadge J.E., Singh R.K., Fidler I.J., Raz A. Murine models to evaluate novel and conventional therapeutic strategies for cancer. *Am J Pathol.* 2007; 170(3): 793–804. doi: 10.2353/ajpath.2007.060929.

26. Fichtner I., Slisow W., Gill J., Becker M., Elbe B., Hillebrand T., Bibby M. Anticancer drug response and expression of molecular markers

in early-passage xenotransplanted colon carcinomas. *Eur J Cancer.* 2004; 40(2): 298–307. doi: 10.1016/j.ejca.2003.10.011.

27. John B.A., Said N. Insights from animal models of bladder cancer: recent advances, challenges, and opportunities. *Oncotarget.* 2017; 8(34): 57766–81. doi: 10.18632/oncotarget.17714.

28. Park B., Jeong B.C., Choi Y.L., Kwon G.Y., Lim J.E., Seo S.I., Jeon S.S., Lee H.M., Choi H.-Y., Lee K.-S. Development and characterization of a bladder cancer xenograft model using patient-derived tumor tissue. *Cancer Science.* 2013; 104(5): 631–8. doi: 10.1111/cas.12123.

29. Babjuk M., Burger M., Zigeuner R., Shariat S.F., van Rhijn B.W., Compérat E., Sylvester R.J., Kaasinen E., Böhle A., Palou Redorta J., Rouprêt M.; European Association of Urology. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013. *Eur Urol.* 2013; 64(4): 639–53. doi: 10.1016/j.eururo.2013.06.003.

30. Druckrey H., Preussmann R., Ivankovic S., Schmidt C.H., Mennel H.D., Stahl K.W. Selective induction of bladder cancer in rats by dibutyl and n-butyl-n-butanol-nitrosamine. *Deutsche Krebsforschungszentrum.* 1964; 66: 280–90.

31. Fukushima S., Hirose M., Tsuda H., Shirai T., Hirao K. Histological classification of urinary bladder cancers in rats induced by N-butyl-n-4-hydroxybutyl-nitrosamine. *Gann.* 1976; 67(1): 81–90.

32. Hicks R.M., Wakefield J.S. Rapid induction of bladder cancer in rats with N-nitrosourea. *Hystology.* Chem Biol Interact. 1972; 5(2): 139–52. doi: 10.1016/0009-2797(72)90040-3.

33. Masui T., Dong Y., Yamamoto S., Takada N., Nakanoshi H., Inada K., Fukushima S., Tatematsu M. p53 mutations in transitional cell carcinomas of the urinary bladder cancer in rats treated with N-butyl-n-hydroxybutyl-nitrosamine. *Cancer Letters.* 1996; 105(1): 105–12.

34. Reis L.O., Pereira T.C., Favaro W.J., Cagnon V.H., Lopes-Cendes I., Ferreira U. Experimental animal model and RNA interference: a promising association for bladder cancer research. *World J Urol.* 2009; 27(3): 353–61. doi: 10.1007/s00345-009-0374-4.

35. Spry L.A., Zenser T.V., Cohen S.M., Davis B.B. Role of renal metabolism and excretion in 5-nitrofurantoin-induced uroepithelial cancer in the rat. *J Clin Invest.* 1985; 76(3): 1025–31. doi: 10.1172/JCI112055.

36. Ahmad I., Sansom O.J., Leung H.Y. Exploring molecular genetics of bladder cancer: lessons learned from mouse models. *Dis Model Mech.* 2012; 5(3): 323–32. doi: 10.1242/dmm.008888.

37. He F., Mo L., Zheng X.Y., Hu C., Lapor H., Lee E.Y., Sun T.T., Wu X.R. Deficiency of pRb family proteins and p53 in invasive urothelial tumorigenesis. *Cancer Res.* 2009; 69(24): 9413–21. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2158.

38. Nagy A. Cre recombinase: the universal reagent for genome tailoring. *Genesis.* 2000; 26(2): 99–109.

39. Inamoto T., Papineni S., Clintharlapalli S., Cho S.D., Safe S., Kamat A.M. 1,1-Bis-1-p-chlorophenyl-methane activates the orphan nuclear receptor Nurrl and inhibits bladder cancer growth. *Mol Cancer Ther.* 2008; 7(12): 3825–33. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0730.

40. Bernardo C., Costa C., Palmeira C., Pinto-Leite R., Oliveira P., Freitas R., Amado F., Santos L.L. What we have learned from urinary bladder cancer models. *J Cancer Met Treat.* 2016; 2: 51–8.

41. Black P.C., Brown G.A., Dinney C.P., Kassouf W., Inamoto T., Arora A., Gallagher D., Munsell M.F., Bar-Eli M., McConkey D.J., Adam L. Receptor heterodimerization: a new mechanism for platelet-derived growth factor induced resistance to anti-epidermal growth factor receptor therapy for bladder cancer. *J Urol.* 2011; 185(2): 693–700. doi: 10.1016/j.juro.2010.09.082.

Поступила/Received 23.03.2020

Одобрена после рецензирования/Revised 23.11.2020

Принята к публикации/Accepted 02.12.2020

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Камаева Инна Анатольевна, врач-ординатор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). Email: inkamaeva@yandex.ru. SPIN-код: 8953-3351. ORCID: 0000-0003-3001-0675.

Гончарова Анна Сергеевна, кандидат биологических наук, заведующая отделением «Испытательный лабораторный центр», ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 7512-2039. ORCID: 0000-0003-0676-0871.

Лукбанова Екатерина Алексеевна, научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России (г. Ростов-на-Дону, Россия). SPIN-код: 4078-4200. ORCID: 0000-0002-3036-6199.

ВКЛАД АВТОРОВ

Камаева Инна Анатольевна: концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, редактирование рукописи.

Гончарова Анна Сергеевна: концепция и дизайн исследования, редактирование рукописи.
Лукбанова Екатерина Алексеевна: редактирование рукописи.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Inna A. Kamaeva, MD, Resident Doctor, National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). Email: inkamaeva@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-3001-0675.

Anna S. Goncharova, PhD, Head of Department «Testing Laboratory Center», National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0003-0676-0871.

Ekaterina A. Lukbanova, Researcher, National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Rostov-on-Don, Russia). ORCID: 0000-0002-3036-6199.

AUTHOR CONTRIBUTION

Inna A. Kamaeva: concept and design of the study, data collection and analysis, statistical processing, writing of the text, editing of the manuscript.

Anna S. Goncharova: concept and design of the study, editing of the manuscript.

Ekaterina A. Lukbanova: editing of the manuscript.

Funding

This study required no funding

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.