



М.Л. Васютина¹ 
К.В. Лепик² 
М.С. Истомина¹ 
К.А. Левчук¹ 
А.В. Петухов¹ 
Е.В. Щелина¹ 
А.Е. Ершова^{1,4} 
О.Н. Демидов^{3,4} 
Я.Г. Торопова^{1,5} 

Методы доклинической оценки эффективности противоопухолевых лекарственных средств *in vivo* (обзор)

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, 197341, Российская Федерация

² НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачевой, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Рентгена, д. 12, Санкт-Петербург, 197022, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии РАН», Тихорецкий пр., д. 4, Санкт-Петербург, 194064, Российская Федерация

⁴ Научно-технологический университет «Сириус», Олимпийский просп., д. 1, Краснодарский край, федеральная территория «Сириус», 354340, Российская Федерация

⁵ Институт аналитического приборостроения Российской академии наук, ул. Ивана Черных, д. 31–33, Санкт-Петербург, 198095, Российская Федерация

✉ Васютина Марина Львовна; vasyutina_ml@almazovcentre.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Основной риск низкой транслируемости результатов доклинических исследований препаратов для лечения онкологических заболеваний в клиническую практику базируется на сложности моделирования клинических условий в эксперименте. Всего около 5% из общего числа препаратов-кандидатов оказываются эффективными в клинических условиях, поэтому поиск новых подходов для доклинической оценки эффективности противоопухолевых лекарственных препаратов является одним из актуальных направлений в медицине.

ЦЕЛЬ. Анализ и систематизация методов, используемых в доклинических исследованиях эффективности противоопухолевых средств в условиях *in vivo*, для формирования методической поддержки при планировании экспериментальной работы с моделированием опухолевого процесса.

ОБСУЖДЕНИЕ. Рассмотрены этапы создания опухолевых моделей на животных, выбора клеточных линий, их тестирования на туморогенность и жизнеспособность. Показано, что использование систем визуализации, окраски витальными красителями, флуоресцентного и люминесцентного методов позволяет производить оценку эффективности противоопухолевых препаратов на моделях как солидных, так и гематологических опухолей. Основные разновидности опухолевых моделей на мышах представлены в виде схемы. Показано, что универсальной модели для экспериментального моделирования опухолевых заболеваний *in vivo* не существует. Особое внимание при выборе моделей и оценке их преимуществ и недостатков следует уделять сходству механизмов заболевания в модели и у человека на тканевом и молекулярном уровнях в зависимости от поставленных задач исследования.

ВЫВОДЫ. Результаты проведенного сравнительного анализа методов доклинической оценки эффективности противоопухолевых средств необходимы

для планирования экспериментальных исследований и для обеспечения достоверности получаемых результатов. Правильный выбор метода исследований позволит повысить успех трансляции экспериментальных данных в клиническую практику.

Ключевые слова: ксенографтные модели; ксенотрансплантат; *in vivo* визуализация; противоопухолевая активность; модели рака на животных; доклинические исследования

Для цитирования: Васютина М.Л., Лепик К.В., Истомина М.С., Левчук К.А., Петухов А.В., Щелина Е.В., Ершова А.Е., Демидов О.Н., Торопова Я.Г. Методы доклинической оценки эффективности противоопухолевых лекарственных средств *in vivo* (обзор). *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2025;15(3):289–300. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-655>

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации («Создание новых препаратов для лечения и профилактики доксорубицин-индуцированной кардиомиопатии» № 123021000147-5).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Marina L. Vasyutina¹ 
Kirill V. Lepik² 
Maria S. Istomina¹ 
Ksenia A. Levchuk¹ 
Alexey V. Petukhov¹ 
Ekaterina V. Shchelina¹,
Alina E. Ershova^{1,4} 
Oleg N. Demidov^{3,4} 
Yana G. Toropova^{1,5} 

Methods for Preclinical Assessment of the Efficacy of Anticancer Medicines *in vivo* (Review)

¹ V.A. Almazov National Medical Research Center,
2 Akkuratov St., St Petersburg 197341, Russian Federation

² R.M. Gorbacheva Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantation, Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University,
12 Roentgen St., St Petersburg 197022, Russian Federation

³ Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences,
4 Tikhoretsky Ave, St Petersburg 194064, Russian Federation

⁴ Sirius University of Science and Technology,
1 Olympic Ave, Sirius Federal Territory, Krasnodar Region 354340, Russian Federation

⁵ Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences,
31–33 Ivan Chernykh St., St Petersburg 198095, Russian Federation

✉ Marina L. Vasyutina; vasyutina_ml@almazovcentre.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. The main risk to the clinical translatability of preclinical results for anticancer medicinal products is posed by the difficulty of simulating clinical conditions in an experimental model. With only 5% of product candidates proving clinically effective, the search for new approaches to the preclinical development of anticancer medicinal products is currently an active area of research in medicine. **AIM.** This study aimed to provide methodological support for planning experiments with modelling of neoplastic processes through analysis and classification of the methods used in preclinical studies of the efficacy of anticancer medicinal products *in vivo*.

DISCUSSION. This article reviews the development of animal tumour models and the selection of cell lines and their testing for tumourigenicity and viability on a step-by-step basis. According to the study results, imaging systems, vital staining, and fluorescence- and luminescence-based methods can be used to assess the efficacy of anticancer medicinal products in both solid tumour models and haematological malignancy models. The article presents a schematic representation of the main types of mouse cancer models. However, no single animal species is universally suitable for *in vivo* cancer modelling. Researchers selecting models and considering their advantages and disadvantages should pay special attention to the similarity

of disease mechanisms in animal models and humans at the tissue and molecular level, keeping in mind the aims of their research.

CONCLUSIONS. The results of this comparative analysis of methods for preclinical efficacy evaluation of anticancer medicinal products are essential for designing experimental studies and ensuring the reliability of the results obtained. Choosing the correct research method will increase the chances of obtaining experimental data that can be successfully translated into clinical practice.

Keywords: xenograft models; xenograft; *in vivo* imaging; antitumour activity; animal models of cancer; preclinical studies

For citation: Vasyutina M.L., Lepik K.V., Istomina M.S., Levchuk K.A., Petukhov A.V., Shchelina E.V., Ershova A.E., Demidov O.N., Toropova Ya.G. Methods for preclinical assessment of the efficacy of anticancer medicines *in vivo* (review). *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2025;15(3):289–300. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-655>

Funding. The study was carried out with the financial support of the Ministry of Health of the Russian Federation (“Development of novel medicinal products for the prevention and treatment of doxorubicin-induced cardiomyopathy” No. 123021000147-5).

Disclosure. The authors declare no conflicts of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Онкологические заболевания характеризуются сложностью патогенеза и на разных стадиях своего развития демонстрируют ряд специфических признаков, таких как неконтролируемая пролиферация, подавление клеточной гибели, стимуляция ангиогенеза, активация инвазии и метастазирования. Поиск подходов для лечения онкологических заболеваний является одним из актуальных направлений медицины. При этом среди вновь разрабатываемых лекарственных средств всего около 5% из общего числа препаратов-кандидатов демонстрируют свою эффективность в клинических условиях [1, 2]. Основной риск низкой транслируемости противоопухолевых эффектов лекарственных препаратов в клиническую практику базируется на сложности воспроизведения злокачественного новообразования в эксперименте [3]. Исследования *in vitro* не позволяют в полной мере воспроизвести весь комплекс патогенетических звеньев, характерных для опухолевого процесса в организме [4]. Модели *in vitro* пригодны на этапе скрининга, а также для подтверждения эффективности препарата в рамках пилотных экспериментов «proof-of-concept» (т.е. проверки концепции применимости). Ключевую роль в успехе трансляции противоопухолевых инноваций в клиническую практику играет выбор релевантной модели опухолевого процесса на животных [5, 6].

Представленные в литературе методологические подходы к моделированию опухолевых процессов в эксперименте, а также методы исследования и оценки эффективности противоопухолевых лекарственных препаратов с различными механизмами действия требуют анализа их применимости и информативности.

Цель работы — анализ и систематизация методов, используемых в доклинических исследованиях эффективности противоопухолевых средств в условиях *in vivo* для формирования методической поддержки при планировании экспериментальной работы с моделированием опухолевого процесса.

В обзор включены публикации с открытым доступом в базах данных PubMed и Google Scholar на 10 октября 2024 г. В приоритете были научные статьи, опубликованные за последние 5–10 лет. Ключевыми словами для поиска являлись: ксенографтные модели; PDX (patient-derived xenograft — ксенотрансплантат, полученный от пациента); *in vivo* визуализация; противоопухолевая активность; модели рака на животных; доклинические исследования.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Подготовка опухолевых клеток для моделирования опухолевого процесса на лабораторных животных

Крупнейшие на сегодняшний день клеточные банки содержат более 1800 линий клеток человека и более 1500 клеточных линий животных [7, 8]. Такое разнообразие клеточных линий позволяет подобрать наиболее валидную клеточную модель исходя из поставленных задач в рамках запланированных исследований. Основной критерий для создания релевантной модели *in vivo*: клеточная линия должна отражать основные генотипические и фенотипические характеристики опухоли, в отношении которой направлена разрабатываемая терапия. Существуют панели опухолевых линий, категоризированных не только по нозологиям, но и по генетическим особенностям, таким как мутация, на которую направлена разрабатываемая терапия, или экспрессия опухолевых неоантигенов [9–11].

Методы визуализации антителами позволяют идентифицировать поверхностные и (или) внутриклеточные онкомаркеры (иммуногистохимически [12] или при использовании проточной цитофлуориметрии [13]), а затем подтверждать наличие мутаций с помощью секвенирования целевой последовательности. Для проверки соответствия клеточных линий предполагаемому генотипу существует возможность проведения STR-типирования (short tandem repeats – короткие tandemные повторы).

Высокая вероятность развития опухолевого процесса у животных характерна не для всех клеточных линий. В связи с этим на этапе планирования экспериментов целесообразно проводить анализ конкретных опухолевых линий на туморогенность, используя при этом данные научной литературы. Полученные результаты позволят повысить успешность трансфера при переходе к исследованиям *in vivo*.

Для повышения успешности моделирования опухолевого процесса у животных с помощью введения в их организм опухолевых клеток рекомендуется провести ряд следующих тестов: тесты на жизнеспособность и пролиферацию клеток, анализы миграции и инвазии, детекцию апоптоза и других типов клеточной смерти, окраску сенесцентных клеток, определение энергетического метаболизма и его изменений, оценку ангиогенеза, окислительного стресса, анализы экспрессии генов и белков ключевых сигнальных путей [14–16].

Большинство доступных к использованию тестов основаны на определении активности клеточных ферментов, скорости синтеза и количественного содержания ДНК, уровня клеточного АТФ и целостности мембран, которые являются индикаторами жизнеспособности клеток [17, 18]. Окраска витальными красителями (трипановый синий) позволяет выявить клетки с нарушением целостности мембраны. Для оценки пролиферативного потенциала проводят исследование включения ³[H] тимидина с последующей оценкой суммарной включенной радиоактивности, однако метод ограничен в использовании из-за требований по радиационной безопасности [19].

Для определения жизнеспособности клеток широко используют фермент-субстратные методы с последующим колориметрическим или флуориметрическим анализом. К их числу можно отнести измерения внеклеточного уровня

цитозольного фермента лактатдегидрогеназы (LDH-тест). Также применяют тесты, основанные на превращении субстрата жизнеспособными клетками в окрашенный или флуоресцентный продукт, содержание которого прямо пропорционально количеству жизнеспособных клеток. Принцип действия этих тестов основан на способности митохондриальных дегидрогеназ живых клеток восстанавливать соли тетразолия до водонерастворимых кристаллов пурпурного формазана, которые после растворения в органических растворителях определяют колориметрическим способом [20]. Для этой цели могут быть использованы различные соли тетразолия: 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ), 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2Н-тетразолий (МТС), 2,3-бис-(2-метокси-4-нитро-5-сульфофенил)-2Н-тетразолий-5-карбоксанилид (ХТТ), 2-(2-метокси-4-нитропентил)-3-(4-нитропентил)-5-(2,4-дисульфопенил)-2Н-тетразолий (WST-8). Кроме того, используют проникающие сквозь клеточную мембрану ДНК-красители, имеющие флуоресценцию при связывании с нуклеиновыми кислотами для специфического окрашивания ядер: 7-аминоактиномицин D (7-AAD), пропидий йодид, DRAQ7™ и др. [21, 22].

Ключевую роль в количественной оценке жизнеспособности индивидуальных клеток играет метод проточной цитофлуориметрии. Фенотипирование опухолевых клеток имеет особое значение для исследования противоопухолевой активности исследуемых препаратов в отношении пула опухолевых и лейкоэмических стволовых клеток [23]. Кроме того, существует подход, основанный на анализе способности одной клетки вырасти в колонию (клоногенный анализ или анализ образования колоний)¹ [24]. Для непрерывного мониторинга пролиферации клеток используют платформы, требующие специализированного оборудования: IncuCyte, Cell-IQ, Evos XL Core, ZEISS Celldiscoverer 7, Cytation 5, xCELLigence RTCA, которые позволяют в режиме реального времени визуализировать и регистрировать клеточные изменения. Для тестирования миграции опухолей и инвазии наиболее распространенным методом является Скретч-тест (scratch assay), направленный на оценку скорости заращения дефекта монослоя клеток. Принцип данного метода заключается в создании стандартизованного повреждения монослоя, которое инициирует миграцию

¹ Croft J. Colony formation assay counting: Advancing the frontiers of cancer research. Presentation. 2018. https://www.researchgate.net/publication/328048722_Colony_formation_assay_counting_Advancing_the_frontiers_of_cancer_research

опухолевых клеток, находящихся на краю данного повреждения, в свободную сторону [25]. Более информативными методами для этих целей являются: анализ миграции клеток с помощью камеры Бойдена, миграции клеток в капиллярной камере, анализ зоны исключения клеток, миграции сфероидов и мониторинг миграции клеток в реальном времени, в том числе с помощью оборудования xCELLigence.

Моделирование опухолевого процесса на лабораторных животных

При большом количестве исследований в области экспериментального моделирования опухолевых заболеваний *in vivo* идеальной (универсальной) модели все еще не существует. Поэтому при выборе моделей необходимо оценить их особенности, достоинства и недостатки, степень пригодности для решения поставленных задач. При моделировании опухолевого процесса на животных должно быть соблюдено ключевое условие — сходство механизмов заболевания в модели и у человека на различных уровнях (в зависимости от поставленных задач — тканевой, молекулярный) [26–29].

Для моделирования злокачественных опухолей и последующей оценки эффективности исследуемых препаратов с противоопухолевым эффектом могут быть использованы животные различных видов, включая *Danio rerio* (зебрафиш) [30, 31], генетически модифицированных свиней [32–35] и нечеловекообразных приматов [36–39]. Эти модели имеют значительный потенциал в области онкологических исследований, одна-

ко классическим объектом для моделирования рака являются лабораторные мыши [40–42]. Основные разновидности опухолевых моделей на мышах представлены на рисунке 1.

С точки зрения прогностической фармакологии основными задачами при разработке и в доклинических исследованиях противоопухолевых препаратов являются [43]:

- демонстрация ингибирования патологического процесса (ингибирование опухолевого роста, влияние на отдельные патогенетические звенья опухолевого процесса);
- идентификация и валидация биомаркеров доклинической модели (путем сравнения профилей экспрессии генов первичных опухолей в ходе терапии);
- поиск комбинированных подходов к лечению злокачественных новообразований;
- исследование роли отдельных генов в развитии опухолевого процесса;
- определение механизма действия препаратов;
- анализ побочных эффектов.

Использование одной модели не позволяет отразить патогенез опухолевого процесса с учетом генетики, эпигенетики, иммунологии, гистопатологии и гетерогенности. В ходе одного исследования, связанного с разработкой и тестированием противоопухолевых препаратов, возможно использование нескольких моделей *in vitro* и *in vivo* [44, 45]. Также в некоторых случаях динамику опухолевого роста *in vivo* целесообразно оценивать с использованием

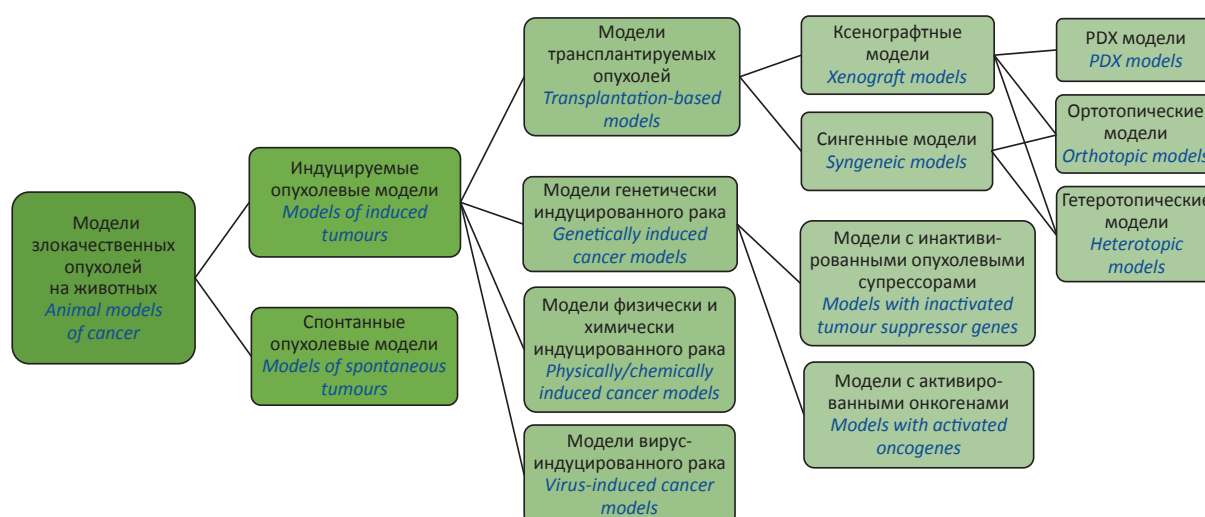


Рисунок подготовлен авторами по данным источников [26–29, 40–42] / The figure is prepared by the authors using data from [26–29, 40–42]

Рис. 1. Разновидности моделей злокачественных опухолей на животных. PDX (patient-derived xenograft) — ксенотрансплантат, полученный от пациента

Fig. 1. Variety of animal models in cancer research. PDX, patient-derived xenograft

гетеротопических моделей, а оценку продолжительности жизни — с помощью ортотопических.

Опухоли, индуцированные у лабораторных животных с помощью химического или физического воздействия, как и при спонтанном опухолевом процессе, развиваются непосредственно из клеток хозяина. Следовательно, преимуществом этих моделей в сравнении с моделями перевиваемых опухолей является большая приближенность патогенеза к действительному клиническому сценарию [46]. Однако существует видовая чувствительность к химическим веществам-канцерогенам, связанная с особенностями их метаболизма у различных животных в органах-мишенях [47–49]. Поэтому наиболее часто применяют модели перевиваемых опухолей и используют для этого линии раковых клеток, тканевые или клеточные материалы, полученные от человека или лабораторных животных.

В зависимости от метода трансплантации такие модели могут быть разделены на гетеротопические и ортотопические. В качестве примера гетеротопической трансплантации можно привести подкожное или внутрибрюшинное введение опухолевых клеток молочной железы. В этом случае опухоль будет развиваться в области участка введения с образованием твердых (солидных) опухолевых узлов под кожей или асцитных изменений в брюшной полости соответственно. Процедура инокуляции в этом случае проста в техническом исполнении, что удобно для проведения скрининговых исследований противоопухолевых препаратов.

Ортотопическая трансплантация предполагает инокуляцию опухоли непосредственно в орган-мишень путем инъекции или, нередко, хирургических манипуляций. Например, модель рака мочевого пузыря у мышей была создана с использованием ортотопической трансплантации клеток карциномы мочевого пузыря человека UM-UC-3 [50]. Было показано, что хирургическая трансплантация усиливает метастатическую активность опухоли [51]. Такой подход позволяет приблизить процесс моделирования к естественному развитию опухоли с учетом формирования стромы, микроокружения, ангиогенеза и ответа на терапию.

В зависимости от происхождения трансплантируемого опухолевого материала модели на животных разделяют на сингенные и ксенографтные. Сингенные модели предполагают использование опухолевого материала, полученного от животных того же вида, на котором производится моделирование. Также необходимо сродство

генетического фона для того, чтобы обеспечить максимальный уровень приживления трансплантата и снизить вероятность не связанного с онкологией иммунного ответа. Опухоли в этом случае, как правило, изначально спонтанные или химически индуцированные, поддерживаются и банкируются в виде клеточных линий и могут быть сравнительно легко привиты животным в исследовании. Однако в таких моделях отсутствует возможность изучить отдельные патогенетические механизмы, видоспецифичные для человека.

Ксенографтные модели являются наиболее часто используемыми в доклинических испытаниях. В данном случае для трансплантации используется опухолевый материал или клеточные линии, полученные от человека, что приближает такие модели к фактическим клиническим сценариям.

Следует учитывать, что в зависимости от участка трансплантации поведение опухоли может меняться: во время введения опухолевые клетки подвергаются кинетическим изменениям, часто при пассажах снижается скорость удвоения, однако ксенотрансплантированные опухоли человека сохраняют множество оригинальных морфологических и биохимических характеристик. Поэтому именно ксенографтные модели на текущий момент являются наиболее востребованными [52].

Поскольку трансплантат имеет видовую специфику, для исключения реакции «трансплантат против хозяина» животные для моделирования должны обладать определенной степенью иммунодефицита, который может быть достигнут путем медикаментозной иммуносупрессии или хирургически (удаление тимуса). Однако такие подходы трудоемки и не в полной мере поддаются валидации, в отличие от использования генетически модифицированных иммунодефицитных животных. Наиболее часто используют атимических мышей (например, линия Balb/c-Nude) и мышей с комбинированным иммунодефицитом (severe combined immunodeficiency, SCID). На фоне отсутствия определенных компонентов иммунной системы такие животные не демонстрируют отторжения трансплантируемого материала.

Использование мышей линии NSG (NOD/SCID/Gamma) позволило вывести биомоделирование на новый уровень. Тяжелый комбинированный иммунодефицит животных этой линии определяет возможность выполнения трансплантации различных типов человеческих клеток и тканей. В случае модификации этой линии и ее аналогов

(NOG hIL2, NSG-SGM) может быть учтена специфика гемопоэза и иммунитета человека, реализована экспрессия человеческих цитокинов, что позволяет в еще большей степени воссоздать вероятные иммунные ответы на терапию, например в случае применения биологически модифицированных клеточных продуктов, таких как CAR-T (chimeric antigen receptor T-cells — Т-клетки с химерным антигенным рецептором) [53].

Особый интерес для исследований представляют гуманизированные животные [54]. Взаимосвязь состояния иммунной системы организма с вероятностью канцерогенеза и с ответом на противоопухолевую терапию [55] использована в исследованиях по иммунотерапии рака [56, 57]. Гуманизированные мыши — модельный объект, особенностью которого является наличие человеческих генов, клеток или тканей, что позволяет в большей степени отобразить специфику патофизиологических процессов, характерных для человека [58].

Гуманизированные мыши с функционирующими звеньями иммунной системы человека используются для исследования роли иммунных механизмов в патогенезе рака у человека [59–61]. Для получения таких животных применяется трансплантация человеческих гематопоэтических клеток, для приживания которых необходимо предварительное подавление гемопоэза, которое достигается путем облучения иммунодефицитных мышей (irNSG, irradiated NOD/SCID/Gamma) или же путем генетической модификации (линия NBSGW) [62].

Области применения, ограничения и преимущества моделей трансплантируемых опухолей у мышей представлены в *таблице 1*.

Методы оценки эффективности противоопухолевых препаратов *in vivo*

Изменение размера опухоли является наиболее важным показателем при проведении исследований эффективности противоопухолевых препаратов. В зависимости от участка расположения опухоли для измерения ее размера могут быть использованы штангенциркуль (солидные опухоли, инокулированные подкожно) или специальные методы визуализации: компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, 3D-система оптической визуализации *in vivo* (*in vivo* imaging system, IVIS). IVIS особенно важна для оценки динамики роста гематологических опухолей (так называемых «жидких» опухолей) и ортотопически инокулированных опухолей. В ходе исследования производят мониторинг

увеличения или уменьшения размера опухоли индивидуально по каждому животному и затем групповой анализ.

Для работы с животными и получения ксенографтных моделей клеточные линии часто модифицируют для визуализации. Наиболее распространенная модификация для биолуминесцентной детекции осуществляется благодаря стабильной повышенной экспрессии люциферазы. Обычно используют два типа люцифераз: целентеразин расщепляющие или люциферин расщепляющие, иногда одновременно оба типа. Овер-экспрессия люцифераз в клеточных линиях достигается доставкой соответствующего гена под конститутивным промотором, что позволяет осуществить стабильную экспрессию. Наиболее используемым методом доставки генов люцифераз является лентивирусная трансдукция [67]. Лентивирус, несущий целевой ген, производится в immortalized клетках почки эмбриона человека HEK293T методом транзientной трансфекции трех и более плазмидных векторов, кодирующих оболочку лентивируса, систему упаковки и ген люциферазы. Лентивирусные частицы спустя 2–3 суток после трансфекции собирают в культуральную среду и концентрируют в ней для последующего заражения необходимой клеточной линии. Данные генно-инженерные модификации не влияют на свойства и чувствительность опухолевых клеток, но позволяют им расщеплять субстрат, вводимый животному, с выделением света, что детектируется оборудованием для визуализации.

Применение оптической биолуминесцентной визуализации позволяет проводить широкий спектр биологических исследований *in vivo* на мелких лабораторных животных. Поскольку большинство клеток организма не обладают собственной люминесценцией, использование данного типа визуализации позволяет достичь высокого отношения сигнал/шум и избежать фоновой автофлуоресценции ткани. Использование меток с излучением в диапазоне от красного до инфракрасного (>600 нм) является наиболее предпочтительным из-за низкого поглощения в тканях при этих длинах волн. Результаты моделирования распространения фотонов через ткани показывают, что количество биолуминесцентных клеток на уровне нескольких сотен может быть обнаружено подкожно, в то время как для обнаружения сигналов на глубине ~2 см в ткани требуется ~10⁶ клеток [68].

Кроме подхода, основанного на люминесценции, в последнее время широко используют

Таблица 1. Модели трансплантируемых опухолей у лабораторных мышей [1, 63–66]

Table 1. Transplantation-based tumour models in laboratory mice [1, 63–66]

Модель <i>Model</i>	Применение <i>Application</i>	Преимущества <i>Advantages</i>	Ограничения <i>Limitations</i>
Ксенографты клеточных линий (CDX) <i>Cell-derived xenografts</i>	- Скрининг молекул-кандидатов (фармакокинетика, эффективность) - Тестирование широкого спектра противоопухолевых препаратов различного механизма действия, в том числе клеточных продуктов - Некоторые модели могут быть использованы для исследования процессов метастазирования <i>Screening candidate molecules (pharmacokinetics, efficacy)</i> <i>Testing a wide range of anticancer medicinal products varying in the mechanism of action (including cell-based medicinal products)</i> <i>Studying the mechanism of metastasis (some models)</i>	- Доступная логистика - Стандартизованность - Наличие вариантов с люминесцентными и флуоресцентными метками <i>Affordable logistics</i> <i>High level of standardisation</i> <i>Available options with fluorescent and luminescent labels</i>	- Низкая предиктивность - Ограниченная генетическая однородность - Необходимо использование иммунодефицитных мышей, т.е. нежелательны при исследовании иммуноопосредованных эффектов <i>Low predictive value</i> <i>Limited genetic homogeneity</i> <i>Need for immunodeficient mice (not eligible for studying immune-mediated effects)</i>
Ксенографты опухолей, полученных от пациентов (PDX) <i>Patient-derived xenografts</i>	- Скрининг препаратов - Исследование эффективности - Исследование фармакодинамики - Исследование механизмов устойчивости к препаратам <i>Screening medicinal product candidates</i> <i>Studying the efficacy</i> <i>Studying pharmacodynamics</i> <i>Studying drug resistance mechanisms</i>	- Гистологическое сходство с исходной опухолью пациента - Подробно охарактеризованы - Показывают высокий уровень предиктивности <i>Histological similarity between patient tumours and patient-derived xenografts</i> <i>High level of characterisation</i> <i>High predictive value</i>	- Необходимо использование иммунодефицитных мышей - Затрудненная логистика и сравнительная дороговизна - Обычно показывают более медленный рост <i>Need for immunodeficient mice</i> <i>Cumbersome logistics and relatively high cost</i> <i>Lower growth rate (usually)</i>
Модели на гуманизированных животных <i>Humanised animal models</i>	- Разработка терапевтических подходов в случае отсутствия «мышинного гомолога» мишени или суррогатных антител - Исследование аспектов иммунного ответа человека на мышиной модели <i>Developing therapeutic approaches in the absence of murine homologous targets or surrogate antibodies</i> <i>Studying aspects of human immune responses in murine models</i>	- Возможность оценки выработки человеческих антител - Возможно применение как CDX, так и PDX линий животных - Имитация некоторых аспектов иммунной системы человека <i>Possibility to assess human antibody production</i> <i>Possibility to use both CDX and PDX animal models</i> <i>Possibility to mimic certain aspects of the human immune system</i>	- Дорогостоящие исследования - Невосприимчивость к аллогraftам - Развитие реакции «трансплантат против хозяина» <i>Expensive studies</i> <i>Resistance to xenotransplantation</i> <i>Graft-versus-host reaction</i>
Трансплантация клеток сингенных опухолей <i>Transplantation of syngeneic tumour cells</i>	- Скрининг молекул-кандидатов - Исследование эффективности противоопухолевых препаратов - Исследование механизмов действия противоопухолевых препаратов <i>Screening candidate molecules</i> <i>Studying the efficacy of anticancer medicinal products</i> <i>Studying the mechanisms of action of anticancer medicinal products</i>	- Интактная иммунная система - Сравнительно доступная логистика - Наличие вариантов с люминесцентными и флуоресцентными метками <i>Intact immune system</i> <i>Relatively affordable logistics</i> <i>Available options with fluorescent and luminescent labels</i>	- Низкая предиктивность - За счет массивного бэкграунда возможно генетическое загрязнение, и, следовательно, разница в результатах между разными лабораториями - Общее число моделей ограничено <i>Low predictive value</i> <i>Potential genetic contamination due to massive background, and hence interlaboratory result variability</i> <i>Limited total number of applicable models</i>

Таблица составлена авторами по данным источников [1, 63–66] / The table is adapted by the authors from [1, 63–66]

флуоресцентную детекцию, основанную на трансдукции клеточных линий лентивирусами, кодирующими флуоресцентные белки дальне-красного и ближнего инфракрасного спектра [69, 70]. Данный подход не требует наличия субстрата, а оптическая визуализация в ближней инфракрасной области спектра позволяет повысить чувствительность детекции и избежать автофлуоресценции, возникающей из-за эндогенных флуоресцентных молекул в биологических тканях [71].

Для достижения уровня модификации клеток, близкого к 100% в популяции, как при работе с люциферазами, так и с флуоресцентными белками, используют бицистронные системы генной экспрессии, и часто вторым овер-экспрессируемым геном является ген устойчивости к селективным антибиотикам: пурамицину, зеоцину, генетицину, бластицидину, гигромицину. В связи с этим модифицированные линии проходят этап селекции от 1 до 3 недель. После проведенной селекции наличие данных антибиотиков в культуральной среде не обязательно.

Подходы с применением систем визуализации позволяют производить оценку эффективности противоопухолевых препаратов на моделях как солидных, так и гематологических опухолей, при этом существует возможность отслеживать динамику опухолевого процесса на одном животном.

Другой значимый показатель в исследованиях эффективности лекарственных препаратов с противоопухолевым действием — продолжительность жизни животного с опухолевым процессом. Учитывают гуманные конечные точки: животные должны быть выведены из исследования в случае устойчивой тенденции к потере массы тела, проявления признаков боли и дистресса. Отдельно оценивают физическое состояние животного (body condition score, BCS), так как при развитии опухолевого процесса масса тела животного может выходить на плато, а в некоторых случаях даже расти только за счет увеличения массы опухоли при том, что животное может быть истощено [72]. Кроме того, показателями для выведения животного из эксперимента являются: нарушение целостности опухолевого узла, превышения им размеров 1,5–2 см в диаметре или 2000 мм³ в объеме, нарушение основных физиологических функций на фоне онкологического процесса (невозможность передвигаться, принимать пищу) [73, 74].

Кроме данных о динамике роста опухоли и продолжительности жизни лабораторных животных,

могут быть использованы и другие показатели эффективности терапии в зависимости от типа опухоли и метода лечения. Так, возможна оценка уровня подавления метастатической активности опухоли в условиях противоопухолевого лечения с оценкой количества и размера метастаз. В том случае, если терапия направлена на усиление противоопухолевого иммунитета, необходимы исследования, направленные на выявление рецидивов опухолевого процесса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Успешная трансляция результатов доклинических исследований эффективности противоопухолевых препаратов в клинику в значительной степени зависит от правильности выбора экспериментальной модели (релевантного вида животного, соответствия генетического статуса животного и человека, сходства патогенеза заболеваний и способа терапии).

В работе систематизированы представленные в литературе экспериментальные подходы для моделирования опухолевых процессов у лабораторных животных и способы оценки эффективности противоопухолевых препаратов. Проведен сравнительный анализ используемых в доклинических исследованиях моделей опухолевого процесса у мышей. Определены преимущества и ограничения каждой из них, позволяющие сделать выбор релевантной модели для конкретных задач исследования.

Ввиду высокой востребованности исследований в области онкологии и стремительно растущей информационной и методологической базы количество подходов и инструментов для доклинических исследований противоопухолевых препаратов непрерывно растет. Появляются новые методы флуоресцентного или люминесцентного мечения опухолевых линий для их визуализации *in vivo*, новые возможности тестирования клеточного материала перед *in vivo* этапом. Такое обилие инструментов позволяет максимально комплексно подойти к дизайну исследования и его реализации, что позволяет учесть больше специфических факторов и облегчает преодоление трансляционных барьеров между разными этапами исследований. Использование информации, представленной в настоящей работе, позволит обеспечить достоверность получаемых экспериментальных данных об эффективности противоопухолевых лекарственных средств, а также повысить успех трансляции результатов исследований в клиническую практику.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Day CP, Merlino G, Van Dyke T. Preclinical mouse cancer models: a maze of opportunities and challenges. *Cell*. 2015;163(1):39–53. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.08.068>
- Sajjad H, Imtiaz S, Noor T, Siddiqui YH, Sajjad A, Zia M. Cancer models in preclinical research: A chronicle review of advancement in effective cancer research. *Animal Model Exp Med*. 2021;4(2):87–103. <https://doi.org/10.1002/ame2.12165>
- Галагудза ММ, Гушин ЯА, Исакова-Сивак ИН, Карал-Оглы ДД, Ковалева МА, Ловат МЛ и др. Методология доклинических исследований. В кн.: Макаров ВГ, Шестаков ВН, ред. *Консультант GLP-planet. Мнение фармацевтической отрасли*. М.: Русский врач; 2021. С. 56–73. Galagudza MM, Gushchin YaA, Isakova-Sivak IN, Karal-Ogly DD, Kovaleva MA, Lovat ML, et al. Methodology of preclinical studies. In: Makarov VG, Shestakov VN, eds. *GLP-planet consultant. Opinion of the pharmaceutical industry*. Moscow: Russkiy Vrach Publishing House; 2021. P. 56–73 (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/978-5-7724-0177-4-s3>
- Китаева КВ, Ризванов АА, Соловьева ВВ. Современные методы доклинического скрининга противоопухолевых препаратов с применением тест-систем на основе культур клеток. *Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки*. 2021;163(2):155–76. Kitaeva KV, Rizvanov AA, Solovyeva VV. Modern methods of preclinical anticancer drug screening using test systems based on cell cultures. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*. 2021;163(2):155–76 (In Russ.). <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2021.2.155-176>
- Lee MW, Miljanic M, Triplett T, Ramirez C, Aung KL, Eckhardt SG, Capasso A. Current methods in translational cancer research. *Cancer Metastasis Rev*. 2021;40(1):7–30. <https://doi.org/10.1007/s10555-020-09931-5>
- Mahalmani V, Sinha S, Prakash A, Medhi B. Translational research: Bridging the gap between preclinical and clinical research. *Indian J Pharmacol*. 2022;54(6):393–6. https://doi.org/10.4103%2Fijp.ijp_860_22
- Hay RJ, Reid YA, McClintock PR, Chen TR, Macy ML. Cell line banks and their role in cancer research. *J Cell Biochem Suppl*. 1996;24:107–30. <https://doi.org/10.1002/jcb.240630507>
- Mirabelli P, Coppola L, Salvatore M. Cancer cell lines are useful model systems for medical research. *Cancers (Basel)*. 2019;11(8):1098. <https://doi.org/10.3390/cancers11081098>
- Yu C, Mannan AM, Yvone GM, Ross KN, Zhang YL, Marton MA, et al. High-throughput identification of genotype-specific cancer vulnerabilities in mixtures of bar-coded tumor cell lines. *Nat Biotechnol*. 2016;34(4):419–23. <https://doi.org/10.1038/nbt.3460>
- Barretina J, Caponigro G, Stransky N, Venkatesan K, Margolin AA, Kim S, et al. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature*. 2012;483(7391):603–7. <https://doi.org/10.1038/nature11003>
- Yang X, Wen Y, Song X, He S, Bo X. Exploring the classification of cancer cell lines from multiple omic views. *PeerJ*. 2020;8:e9440. <https://doi.org/10.7717/peerj.9440>
- Amereh M, Akbari M. Immunohistochemistry (IHC) staining of *in-vitro* cancer cell-generated tumoroids. *MethodsX*. 2023;10:102242. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102242>
- Mentink A, Isebia KT, Kraan J, Terstappen L, Stevens M. Measuring antigen expression of cancer cell lines and circulating tumour cells. *Sci Rep*. 2023;13(1):6051. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-33179-y>
- Hayes JD, Dinkova-Kostova AT, Tew KD. Oxidative stress in cancer. *Cancer Cell*. 2020;38(2):167–97. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.06.001>
- Rockwell S. In vivo-in vitro tumour cell lines: Characteristics and limitations as models for human cancer. *Br J Cancer Suppl*. 1980;4:118–22. PMID: 6932914
- Pinho JO, Matias M, Godinho-Santos A, Amaral JD, Mendes E, Perry MJ, et al. A step forward on the *in vitro* and *in vivo* assessment of a novel nanomedicine against melanoma. *Int J Pharm*. 2023;640:123011. <https://doi.org/10.1016/j.jipharm.2023.123011>
- Almutairi MS, Hassan ES, Keeton AB, Piazza GA, Abdelhameed AS, Attia MI. Antiproliferative activity and possible mechanism of action of certain 5-methoxyindole tethered C-5 functionalized isatins. *Drug Des Devel Ther*. 2019;13:3069–78. <https://doi.org/10.2147/dddt.s208241>
- Ediriweera MK, Tennekoon KH, Samarakoon SR. In-vitro anti-proliferative assays and techniques used in pre-clinical anti-cancer drug discovery. *Frontiers in Anti-Cancer Drug Discovery*. 2019;10:43–61. <https://doi.org/10.2174/9789811400711119100005>
- Mishra R, Mishra PS, Varshney S, Mazumder R, Mazumder A. *In vitro* and *in vivo* approaches for screening the potential of anticancer agents: A review. *Curr Drug Discov Technol*. 2022;19(3):e060122200071. <https://doi.org/10.2174/1570163819666220106122811>
- Афанасьева АН, Сапарова ВВ, Сельменских ТА, Макаренко ИЕ. Выбор оптимального метода детекции жизнеспособности клеточных культур для тестов на пролиферативную активность и цитотоксичность. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2021;(2):16–24. Afanasyeva AN, Saparova VB, Selmenskikh TA, Makarenko IE. Optimal choice method of detection of the viability of cell cultures for tests on proliferation and cytotoxicity. *Laboratory Animals for Science*. 2021;(2):16–24 (In Russ.). <https://doi.org/10.29296/2618723X-2021-02-03>
- Dadmehr M, Mortezaei M, Korouzhdehi B. Dual mode fluorometric and colorimetric detection of matrix metalloproteinase MMP-9 as a cancer biomarker based on AuNPs@gelatin/AuNCs nanocomposite. *Biosens Bioelectron*. 2023;220:114889. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2022.114889>
- Batool S, Javaid S, Javed H, Asim L, Shahid I, Khan M, Muhammad A. Addressing artifacts of colorimetric anticancer assays for plant-based drug development. *Med Oncol*. 2022;39(12):198. <https://doi.org/10.1007/s12032-022-01791-z>
- Cobaleda C, Sánchez-García I. Leukemia stem cell drug discovery. *Methods Mol Biol*. 2021;2185:39–48. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0810-4_3
- Nakamura D. The evaluation of tumorigenicity and characterization of colonies in a soft agar colony formation assay using polymerase chain reaction. *Sci Rep*. 2023;13:5405. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32442-6>
- Bobadilla AVP, Arévalo J, Sarró E, Byrne HM, Maini PK, Carraro T, et al. *In vitro* cell migration quantification method for scratch assays. *J R Soc Interface*. 2019;16(151):20180709. <https://doi.org/10.1098/rsif.2018.0709>
- Cheon D-J, Orsulic S. Mouse models of cancer. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:95–119. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.3.121806.154244>
- Rivina L, Schiestl R. Mouse models of radiation-induced cancers. *Adv Genet*. 2013;84:83–122. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-407703-4.00003-7>
- Li Z, Zheng W, Wang H, Cheng Y, Fang Y, Wu F, et al. Application of animal models in cancer research: Recent progress and future prospects. *Cancer Manag Res*. 2021;13:2455–75. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S302565>
- Yusuf K, Umar S, Ahmed I. Animal models in cancer research. In: Pathak S, Banerjee A, Bisgin A, eds. *Handbook of animal models and its uses in cancer research*. Singapore: Springer; 2023. https://doi.org/10.1007/978-981-19-3824-5_17

30. Chen X, Li Y, Yao T, Jia R. Benefits of zebrafish xenograft models in cancer research. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:616551. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.616551>
31. Gamble JT, Elson DJ, Greenwood JA, Tanguay RL, Kolluri SK. The zebrafish xenograft models for investigating cancer and cancer therapeutics. *Biology (Basel)*. 2021;10(4):252. <https://doi.org/10.3390/biology10040252>
32. Schachtschneider KM, Schwind RM, Newson J, Kinach-tchouk N, Rizko M, Mendoza-Elias N, et al. The onco-pig cancer model: An innovative large animal trans-lational oncology platform. *Front Oncol*. 2017;7:190. <https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00190>
33. Bailey KL, Carlson MA. Porcine models of pancreatic cancer. *Front Oncol*. 2019;9:144. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00144>
34. Kalla D, Kind A, Schnieke A. Genetically engineered pigs to study cancer. *Int J Mol Sci*. 2020;21(2):488. <https://doi.org/10.3390/ijms21020488>
35. Robertson N, Schook LB, Schachtschneider KM. Por-cine cancer models: Potential tools to enhance cancer drug trials. *Expert Opin Drug Discov*. 2020;15(8):893–902. <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1757644>
36. Simmons HA, Mattison JA. The incidence of spontaneous neoplasia in two populations of captive rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Antioxid Redox Signal*. 2011;14(2):221–7. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3311>
37. Chapman KL, Pullen N, Andrews L, Ragan I. The future of non-human primate use in mAb development. *Drug Discov Today*. 2010;15(5–6):235–42. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.01.002>
38. Deycar S, Gomes B, Charo J, Ceppi M, Cline JM. Spontane-ous, naturally occurring cancers in non-human primates as a translational model for cancer immunotherapy. *J Immuno-ther Cancer*. 2023;11(1):e005514. <https://doi.org/10.1136/jitc-2022-005514>
39. Dewi FN, Cline JM. Nonhuman primate model in mam-mary gland biology and neoplasia research. *Lab Anim Res*. 2021;37(1):3. <https://doi.org/10.1186/s42826-020-00053-1>
40. Pisano M, Cheng Y, Sun F, Dhakal B, D'Souza A, Chhabra S, et al. Laboratory mice – a driving force in immunopathology and immunotherapy studies of human multiple myeloma. *Front Immunol*. 2021;12:667054. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.667054>
41. Sargent JK, Warner MA, Low BE, Schott WH, Hoffert T, Cole-man D, et al. Genetically diverse mouse platform to xe-nograft cancer cells. *Dis Model Mech*. 2022;15(9):dmm.049457. <https://doi.org/10.1242/dmm.049457>
42. Onaciu A, Munteanu R, Munteanu VC, Gulei D, Raduly L, Feder RI, et al. Spontaneous and induced animal models for cancer research. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(9):660. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10090660>
43. Hoffmann J. Integrative oncology drug discovery accom-panied by preclinical translational research as prerequisite for clinical development. *Chin Clin Oncol*. 2014;3(2):15. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2304-3865.2014.05.09>
44. Durinikova E, Buzo K, Arena S. Preclinical models as patients' avatars for precision medicine in colorectal cancer: Past and future challenges. *J Exp Clin Cancer Res*. 2021;40(1):185. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-01981-z>
45. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*. 2011;144(5):646–74. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
46. Guerin MV, Finisguerra V, Van den Eynde BJ, Bercovici N, Trautmann A. Preclinical murine tumor models: A struc-tural and functional perspective. *Elife*. 2020;9:e50740. <https://doi.org/10.7554/elife.50740>
47. Kemp CJ. Animal models of chemical carcinogen-esis: Driving breakthroughs in cancer research for 100 years. *Cold Spring Harb Protoc*. 2015;10(10):865–74. <https://doi.org/10.1101/pdb.top069906>
48. Oka K, Fujioka S, Kawamura Y, Komohara Y, Chujo T, Sekiguchi K, et al. Resistance to chemical carcino-genesis induction via a dampened inflammatory re-sponse in naked mole-rats. *Commun Biol*. 2022;5(1):287. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03241-y>
49. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *Chemical agents and related occupations*. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2012.
50. Naito T, Higuchi T, Shimada Y, Kakinuma C. An improved mouse orthotopic bladder cancer model exhibiting pro-gression and treatment response characteristics of human recurrent bladder cancer. *Oncol Lett*. 2020;19(1):833–9. <https://doi.org/10.3892/ol.2019.11172>
51. Khanna C, Hunter K. Modeling metastasis *in vivo*. *Carcino-genesis*. 2005;26(3):513–23. <https://doi.org/10.1093/car-cin/bgh261>
52. Liu Y, Wu W, Cai C, Zhang H, Shen H, Han Y. Patient-derived xenograft models in cancer therapy: Technologies and applications. *Signal Transduct Target Ther*. 2023;8(1):160. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01419-2>
53. Richmond A, Su Y. Mouse xenograft models vs GEM models for human cancer therapeutics. *Dis Model Mech*. 2008;1(2–3):78–82. <https://doi.org/10.1242/dmm.000976>
54. Tian H, Lyu Y, Yang Y-G, Hu Z. Humanized rodent mod-els for cancer research. *Front Oncol*. 2020;10:1696. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01696>
55. Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature*. 2017;541(7637):321–30. <https://doi.org/10.1038/nature21349>
56. Waldman AD, Fritz JM, Lenardo MJ. A guide to can-cer immunotherapy: From T cell basic science to clin-ical practice. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(11):651–68. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0306-5>
57. Esfahani K, Roudaia L, Buhlaiga N, Del Rincon SV, Papneja N, Miller WH Jr. A review of cancer immunotherapy: From the past, to the present, to the future. *Curr Oncol*. 2020;27(Suppl 2):S87–S97. <https://doi.org/10.3747/co.27.5223>
58. Cogels MM, Rouas R, Ghanem GE, Martinive P, Awada A, Van Gestel D, Krayem M. Humanized mice as a valuable pre-clinical model for cancer immunotherapy research. *Front Oncol*. 2021;11:784947. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.784947>
59. Shultz LD, Brehm MA, Garcia-Martinez JV, Greiner DL. Humanized mice for immune system investigation: Progress, promise and challenges. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(11):786–98. <https://doi.org/10.1038/nri3311>
60. Tan JHL, Hwang YY, Chin HX, Liu M, Tan SY, Chen Q. To-wards a better preclinical cancer model – human immune aging in humanized mice. *Immun Ageing*. 2023;20(1):49. <https://doi.org/10.1186/s12979-023-00374-4>
61. Hu Z, Yang YG. Human lymphohematopoietic reconsti-tution and immune function in immunodeficient mice receiving cotransplantation of human thymic tissue and CD34(+) cells. *Cell Mol Immunol*. 2012;9(3):232–6. <https://doi.org/10.1038/cmi.2011.63>
62. McIntosh BE, Brown ME, Duffin BM, Maufort JP, Vereide DT, Slukvin II, Thomson JA. Nonirradiated NOD.B6.SCID Il2ry^{-/-} Kit^{W41/W41} (NBSGW) mice support multilineage engraftment of human hematopoietic cells. *Stem Cell Reports*. 2015;4(2):171–80. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2014.12.005>
63. Jin J, Yoshimura K, Sewastjanow-Silva M, Song S, Ajani JA. Challenges and prospects of patient-derived xenografts for cancer research. *Cancers (Basel)*. 2023;15(17):4352. <https://doi.org/10.3390/cancers15174352>
64. He M, Henderson M, Muth S, Murphy A, Zheng. Preclini-cal mouse models for immunotherapeutic and non-im-munotherapeutic drug development for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Ann Pancreat Cancer*. 2020;3:7. <https://doi.org/10.21037/apc.2020.03.03>

65. Long Y, Xie B, Shen HC, Wen D. Translation potential and challenges of *in vitro* and murine models in cancer clinic. *Cells*. 2022;11(23):3868. <https://doi.org/10.3390/cells11233868>
66. Li Q-X, Feuer G, Ouyang X, An X. Experimental animal modeling for immuno-oncology. *Pharmacol Ther*. 2017;173:34–46. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.002>
67. Brennan TV, Lin L, Huang X, Yang Y. Generation of luciferase-expressing tumor cell lines. *Bio Protoc*. 2018;8(8):e2817. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2817>
68. Rice BW, Cable MD, Nelson MB. *In vivo* imaging of light-emitting probes. *J Biomed Opt*. 2001;6(4):432–40. <https://doi.org/10.1117/1.1413210>
69. Левчук КА, Богданова ДА, Ершова АЕ, Смирнов СВ, Голдаева АА, Васютина МЛ и др. Прямое сравнение вариантов дальне-красных флуоресцентных белков KATUSHKA с люциферазной биолуминесценцией на ксенографтных мышиных моделях изучения опухолей эпителиального происхождения. *Трансляционная медицина*. 2022;9(6):59–70. Levchuk KA, Bogdanova DA, Ershova AE, Smirnov SV, Goldaeva AA, Vasutina ML, et al. Direct comparison of KATUSHKA far-red fluorescent protein variants with luciferase bioluminescence in xenograft mouse models of epithelial tumor studies. *Translational Medicine*. 2022;9(6):59–70 (In Russ.). <https://doi.org/10.18705/2311-4495-2022-9-6-59-70>
70. Choi YJ, Ramos SC, Sim HB, Han JY, Park DH, Mun SK, Lee JB, Lee CH, Lee YA, Kim JJ. Promising approach for optimizing *in vivo* fluorescence imaging in a tumor mouse model: Precision in cancer research. *Anticancer Research*. 2024;44(10):4347–58. <https://doi.org/10.21873/anticancerres.17264>
71. Diao S, Hong G, Antaris AL, Blackburn JL, Cheng K, Cheng Z, et al. Biological imaging without autofluorescence in the second near-infrared region. *Nano Res*. 2015;8:3027–34. <https://doi.org/10.1007/s12274-015-0808-9>
72. Paster EV, Villines KA, Hickman DL. Endpoints for mouse abdominal tumor models: refinement of current criteria. *Comp Med*. 2009;59(3):234–41. PMID: PMC2733284
73. Silva-Reis R, Faustino-Rocha AI, Gonçalves M, Ribeiro CC, Ferreira T, Ribeiro-Silva C, et al. Refinement of animal model of colorectal carcinogenesis through the definition of novel humane endpoints. *Animals (Basel)*. 2021;11(4):985. <https://doi.org/10.3390/ani11040985>
74. Winn CB, Hwang SK, Morin J, Bluet CT, Manickam B, Jiang ZK, et al. Automated monitoring of respiratory rate as a novel humane endpoint: A refinement in mouse metastatic lung cancer models. *PLoS One*. 2021;16(9):e0257694. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257694>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: М.Л. Васютина, Я.Г. Торопова, К.В. Лепик, А.В. Петухов — концепция работы, написание текста рукописи, формулирование выводов; М.С. Истомина, К.А. Левчук, Е.В. Щелина, А.Е. Ершова — сбор и анализ источников литературы; О.Н. Демидов — участие в формулировании выводов, критический пересмотр текста и утверждение окончательного варианта рукописи для публикации.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Marina L. Vasyutina, Yana G. Toropova, Kirill V. Lepik, and Alexey V. Petukhov conceptualised the study, drafted the manuscript, and formulated the conclusions. Maria S. Istomina, Ksenia A. Levchuk, Ekaterina V. Shchelina, and Alina E. Ershova collected and analysed literature. Oleg N. Demidov participated in the formulation of the conclusions, critically revised the manuscript, and approved the final version of the manuscript for publication.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Васютина Марина Львовна / Marina L. Vasyutina

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3295-8411>

Лепик Кирилл Викторович, канд. мед. наук / **Kirill V. Lepik**, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4056-050X>

Истомина Мария Сергеевна / Maria S. Istomina

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2497-653X>

Левчук Ксения Александровна / Ksenia A. Levchuk

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2883-2496>

Петухов Алексей Вячеславович / Alexey V. Petukhov

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7298-5238>

Щелина Екатерина Викторовна / Ekaterina V. Shchelina

Ершова Алина Евгеньевна / Alina E. Ershova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5791-8360>

Демидов Олег Николаевич, д-р мед. наук / **Oleg N. Demidov**, Dr. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4323-7174>

Торопова Яна Геннадьевна, д-р биол. наук / **Yana G. Toropova**, Dr. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1629-7868>

Поступила 06.05.2024

После доработки 10.09.2024

Принята к публикации 04.12.2024

Online first 31.01.2025

Received 6 May 2024

Revised 10 September 2024

Accepted 4 December 2024

Online first 31 January 2025