

Для цитирования: Муразов Я.Г., Ковалева М.А., Крышень К.Л., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Ортотопические модели в экспериментальной онкологии: обзор литературы. К 150-летию первой успешной серийной трансплантации опухоли у животных. Сибирский онкологический журнал. 2025; 24(6): 160–172. – doi: 10.21294/1814-4861-2025-24-6-160-172
For citation: Murazov Ja.G., Kovaleva M.A., Kryshen K.L., Makarova M.N., Makarov V.G. Orthotopic models in cancer research: a literature review. To the 150th anniversary of the first successful serial tumor transplantation in animals. Siberian Journal of Oncology. 2025; 24(6): 160–172. – doi: 10.21294/1814-4861-2025-24-6-160-172

ОРТОТОПИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. К 150-ЛЕТИЮ ПЕРВОЙ УСПЕШНОЙ СЕРИЙНОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ОПУХОЛИ У ЖИВОТНЫХ

Я.Г. Муразов, М.А. Ковалева, К.Л. Крышень, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров

Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»
Россия, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмоловский, ул. Заводская, 3, к. 245

Аннотация

Актуальность. Трансплантируемые модели с использованием аллографтов и ксенографтов опухолей человека остаются незаменимым инструментом в экспериментальной онкологии для изучения механизмов канцерогенеза и оценки противоопухолевой активности перспективных средств лечения злокачественных новообразований. **Цель исследования** – провести традиционный анализ научной литературы, посвященной возможностям метода ортотопической трансплантации у лабораторных животных с использованием различных источников получения опухолевого материала; описать основные преимущества и ограничения ортотопических моделей; представить практические рекомендации, которые помогут исследователям в рутинной практике при работе с ортотопическими трансплантируемыми моделями. **Материал и методы.** Поиск публикаций выполняли в базах данных PubMed и Google Scholar. В обзор включали релевантные публикации, доступные для поиска на 30 апреля 2025 г. **Результаты.** Показано, что по сравнению с трансплантацией суспензий опухолевых клеток, культивированных *in vitro*, трансплантация фрагментов солидных опухолей обеспечивает сохранение клональной гетерогенности опухоли, компонентов ее микроокружения и внеклеточного матрикса, которые поддерживают энgraftмент и рост опухоли. В сравнении с подкожной перевивкой ортотопические модели более точно воспроизводят сложное взаимодействие в системе «опухоль-организм хозяина» и патологические особенности злокачественных новообразований человека, включая метастатическую болезнь. Поскольку ортотопические опухоли находятся в естественном микроокружении, доклиническая оценка ответа таких опухолей в дальнейшем лучше транслируется в ранние фазы клинического изучения. **Заключение.** Включение ортотопических моделей в программы неклинических фармакодинамических исследований *in vivo* дает возможность получить более полное представление о противоопухолевой активности проводимого экспериментального лечения, а также повышает прогностическую ценность и надежность доклинических результатов.

Ключевые слова: доклиническое исследование, канцерогенез, ортотопическая трансплантация, клеточная линия, фрагмент солидной опухоли, ксенографт, изографт.

ORTHOTOPIC MODELS IN CANCER RESEARCH: A LITERATURE REVIEW. TO THE 150TH ANNIVERSARY OF THE FIRST SUCCESSFUL SERIAL TUMOR TRANSPLANTATION IN ANIMALS

Ia.G. Murazov, M.A. Kovaleva, K.L. Kryshen, M.N. Makarova, V.G. Makarov

Research and manufacturing company "Home of Pharmacy"
245, Zavodskaya St., Kuzmolovskiy t.s., Vsevolozhsk district, Leningrad oblast, 188663, Russia

Abstract

Background. Transplantation models, including allografts and xenografts are crucial in oncology research because they help study the mechanisms of carcinogenesis and assess the activity of promising antitumor agents. **Objectives:** 1) to conduct a traditional analysis of scientific literature devoted to orthotopic transplantation in laboratory animals using various sources of tumor material, 2) to describe the main advantages and limitations of orthotopic models, 3) to provide practical recommendations for researchers dealing with orthotopic transplantation models. **Material and Methods.** A search was conducted in PubMed and Google Scholar bibliographic databases. The review included relevant publications available for search until April 30, 2025. **Results.** Compared to transplantation of tumor cell suspensions cultured *in vitro*, transplantation of solid tumor fragments ensures preservation of the clonal heterogeneity of the tumor, components of its microenvironment and extracellular matrix, which support engraftment and tumor growth. Compared to subcutaneous transplantation, orthotopic models offer a more realistic depiction of the complex interactions in the tumor-host system and the pathological characteristics of human cancers, particularly those involving metastasis. Because orthotopic tumors exist within their natural environment, the evaluation of their response during preclinical research is more likely to be translatable in the initial phases of clinical trials. **Conclusion.** Incorporating orthotopic models into non-clinical *in vivo* pharmacodynamic research programs improve the predictive value and dependability of preclinical results and offer a chance to gain a more thorough understanding of the antitumor activity of the experimental treatment.

Key words: preclinical study, carcinogenesis, orthotopic transplantation, cell line, solid tumor fragment, xenograft, isograft.

Введение

19 декабря 1875 г. в зоохирургическом кабинете ветеринарного отделения Императорской медико-хирургической академии (ныне Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, г. Санкт-Петербург) русский ветеринарный врач Мстислав Александрович Новинский успешно выполнил первую серийную трансплантацию подкожных опухолей («*carcinoma medullare parvicellulare*») со-

бакам (рис. 1). Именно М.А. Новинский по праву считается основоположником экспериментальной онкологии не только в России, но и в мире. Экспериментальная модель перевиваемой карциномы Эрлиха мышей появится лишь спустя 30 лет [1]. К сожалению, деятельность М.А. Новинского освещена в литературе лишь немногими исследователями. Основные факты его биографии ввел в научный оборот Л.М. Шабад, ученый-онколог,



Рис. 1. Титульная страница диссертации (слева) и почтовая марка с портретом М.А. Новинского (справа).

Примечание: рисунок выполнен авторами Fig. 1. The cover page of the dissertation (left) and a postage stamp (right) with the portrait of M.A. Novinsky. Note: created by the authors

один из создателей экспериментальной онкологии в Советском Союзе, работавший с архивами, содержащими информацию по теме исследований М.А. Новинского [2].

Спустя 150 лет трансплантируемые модели у животных, в первую очередь у грызунов, с использованием аллографтов (сингенных опухолей) и ксенографтов опухолей человека остаются незаменимым и важным инструментом в экспериментальной онкологии для изучения механизмов канцерогенеза и оценки противоопухолевой активности перспективных фармакологических и нефармакологических методов лечения злокачественных новообразований (ЗНО) [3–5]. Представленный обзор обобщает данные литературы, посвященные теоретическим и практическим аспектам разработки ортотопических моделей на доклиническом этапе изучения средств противоопухолевой терапии.

Цель исследования – провести традиционный анализ научной литературы, посвященной возможностям метода ортотопической трансплантации у лабораторных животных с использованием различных источников получения опухолевого материала; описать основные преимущества и ограничения ортотопических моделей; представить практические рекомендации, которые помогут исследователям в рутинной практике при работе с ортотопическими трансплантируемыми моделями.

Поиск публикаций выполняли в базах данных PubMed и Google Scholar. В обзор включали релевантные публикации, доступные для поиска на 30 апреля 2025 г.

Результаты и обсуждение

В историческом плане получение инбредных линий мышей в 30–50-х гг. XX в. было важным шагом на пути изучения причин и механизмов канцерогенеза, а также новых терапевтических подходов на сингенных моделях у животных [6]. В результате этих ранних исследований сложилось общее заблуждение, что опухоли у грызунов чувствительны к лекарственной терапии и хорошо поддаются лечению. На самом деле это не так, и еще в 1987 г. Т.Н. Corbett et al. отметили, что большинство лекарственных средств, которые в то время поступили в клиники, обладали слабой или «нулевой» активностью в отношении большинства трансплантируемых солидных опухолей у мышей [7]. В 1970-х гг. внедрение трансплантации опухолевого материала, полученного от человека, иммунодефицитным мышам дало надежду на повышение предиктивной валидности, воспроизводимости и транслируемости доклинических результатов. Эта надежда оправдалась лишь частично. Причина этого отчасти заключается в широком распространении подхода, основанного на трансплантации иммортализованных гомоген-

ных клеточных линий опухолей человека (cell line-derived xenograft, CDX) [8, 9]. В 1969 г. J. Rygaard и С.О. Povlsen впервые успешно выполнили гетеротопическую трансплантацию фрагмента опухоли толстой кишки пациента бестимусной мыши [10], что положило начало развитию нового подхода с трансплантацией ксенографтов, полученных от пациента (patient-derived xenograft, PDX). Фрагменты опухоли, полученные от пациента, трансплантируются иммунодефицитным мышам без предварительного культивирования *in vitro*, что позволяет сохранить исходные характеристики опухоли [11].

Методы трансплантации опухолевого материала в исследованиях *in vivo*

Основными методами трансплантации опухолевого материала являются подкожный (эктопический, гетеротопический) и ортотопический [12–14]. Подкожная (внутрикожная) трансплантация – это простая в освоении техника, которая не считается инвазивной процедурой. После того как наблюдается энграфтмент опухоли, ее объем легко можно измерить вручную с помощью штангенциркуля, что позволяет эффективно отслеживать кинетику роста опухоли. Ортотопические трансплантаты представляют собой опухоли, перевиваемые в физиологически релевантную нишу, то есть орган или ткань, из которого опухоль развивается спонтанно у человека или животных. Хотя и ортотопическая, и подкожная трансплантация имеют свои уникальные преимущества и ограничения, выбор между ними должен основываться на целях конкретного исследования. Для исследований, направленных на изучение общих вопросов опухолевого роста или раннего скрининга молекул-кандидатов, предпочтительнее использовать подкожные модели. Для экспериментов, требующих «клинически значимой пользы» и высокого трансляционного потенциала, особенно для изучения процессов метастазирования или взаимодействия опухоли с ее микроокружением, предпочтительнее использовать ортотопические модели. Преимущества, ограничения и область применения подкожных и ортотопических моделей представлены в таблице.

Практические аспекты создания ортотопических моделей

Источники получения опухолевого материала

Происхождение опухолевого материала является одним из наиболее важных факторов, влияющих на биологический фенотип аллографтов и ксенографтов у лабораторных животных [15]. Основными источниками получения опухолевого материала для ортотопической трансплантации являются суспензия опухолевых клеток и интактные фрагменты солидной опухоли человека (PDX) или животных (изографты).

Основные характеристики подкожных и ортотопических моделей

The main features of subcutaneous and orthotopic models

Преимущества/Advantages	Ограничения/Limitations	Область применения/ Scope of application
Подкожная модель/Subcutaneous model		
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Простота: инокуляция опухолевых клеток или фрагментов опухоли подкожно/внутрикожно проводится обычно в боковую поверхность тела животного. Модель технически простая и быстрая в сравнении с ортотопической/Simplicity: subcutaneous/intradermal inoculation of tumor cells or tumor fragments usually carried out into the flank of animal's body. The model is technically easier and faster than orthotopic. ✓ Измерение опухоли: подкожные опухоли легко пальпируются, что позволяет легко наблюдать за их ростом и измерять штангенциркулем/Tumor measurement: tumors implanted subcutaneously are easily palpable, allowing for straightforward monitoring of tumor growth by simple caliper measurements. ✓ Высокий энграфтмент (прививаемость): подкожные опухоли демонстрируют высокую степень прививаемости, требуют меньшего количества животных и делают результаты исследования более предсказуемыми/High engraftment (take rate): subcutaneous tumor often yields a high take rate, requiring fewer animals and making it more predictable for study outcomes. ✓ Экономическая эффективность: требуется меньше технически подготовленного персонала, что ускоряет процедуры и снижает затраты/Cost-efficient: less technically trained personnel are required, translating to quicker procedures and reduced cost. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Анатомические различия: подкожные опухоли не отражают микроокружение опухоли в нативных тканях, в которых она возникла. Это может влиять на поведение опухоли и ответ на лечение/Anatomical differences: subcutaneous environment might not accurately reflect the native tissue from which the tumor originated. This can affect tumor behavior and responsiveness to treatment. ✓ Низкий метастатический потенциал: подкожные модели редко метастазируют, что ограничивает их использование в исследованиях, где основной целью является изучение метастазирования/Low metastatic potential: subcutaneous models are less likely to metastasize compared to orthotopic models, which limits its use in studies where metastasis is the primary aim. ✓ Слабая степень васкуляризации: подкожные опухоли не образуют, как правило, обширную сосудистую сеть, характерную для ортотопических или спонтанных опухолей. Это может влиять на доставку тестируемых объектов к опухоли и ее взаимодействие с микроокружением/Poor vascularization: subcutaneous tumors might not develop the extensive vascular network seen in orthotopically implanted or spontaneous tumors. This may affect drug delivery and tumor microenvironment interactions. ✓ Неоднозначный ответ опухоли на изучаемое вмешательство: при подкожной перевивке ответ опухоли на лечение, особенно при воздействии на определенные органы или системы, может быть иным, нежели при ортотопической трансплантации или в условиях организма человека/Inconsistent tumor response to the intervention: some therapeutics especially those targeting specific organ or systems, might not elicit the same response in subcutaneous models as they would in orthotopic models or human conditions. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Подкожные модели идеальны для предварительных/разведочных исследований, оценки туморогенности клеточной линии или биомедицинского клеточного продукта или оценки противоопухолевой активности на ранней стадии разработки/Subcutaneous models are ideal for preliminary/exploratory studies, assessment of the tumorigenicity of a cell line or biomedical cell product, or evaluation of antitumor activity at an early stage of development. ✓ Несложный мониторинг роста делает подкожные модели особенно подходящими для проектов, в которых приоритет отдается простому, неинвазивному отслеживанию прогрессирования опухоли/Ease of growth monitoring makes subcutaneous models especially suitable for projects that prioritize straightforward, non-invasive tracking of tumor progression. ✓ Если исследование проводится в условиях бюджетных ограничений и требуется более экономически эффективный подход без ущерба для основных аспектов роста опухоли, подкожные модели являются самыми подходящими/ When the study operates under budget constraints and a more cost-effective approach is required without compromising basic aspects of tumor growth, subcutaneous models are most suitable. ✓ Модель подходит для краткосрочных исследований, которые не требуют углубленного изучения поведения опухоли и ее метастазирования/The model is suitable for short-term studies that do not require in-depth investigation of tumor behavior and its metastasis.

Ортотопическая модель/Orthotopic model

- ✓ Микроокружение опухоли: трансплантация опухоли в орган/ткань, из которой она возникла, лучше отражает естественное микроокружение и позволяет повысить трансляционный потенциал модели/Tumor microenvironment: implanting the tumor in its organ/tissue of origin better reflects the natural microenvironment and allows for increased translational potential of the model.
- ✓ Метастатический потенциал: ортотопические опухоли демонстрируют высокую способность к метастазированию, что важно в контексте изучения процессов метастазирования или при оценке средств, нацеленных на метастатические клетки/Metastatic potential: orthotopic tumors show a higher tendency for metastasis, which is important in the context of studying metastasis processes or testing drugs targeting metastatic cells.
- ✓ Ответ на лечение: поскольку опухоли находятся в физиологической среде и способны сами влиять на свое микроокружение, они могут реагировать на лечение так же, как и у человека, что позволяет более точно прогнозировать эффективность в дальнейших клинических исследованиях/Treatment response: since the tumors are in a physiological environment and can influence their own microenvironment, they might respond more similarly to therapies as they would in humans, providing a more accurate prediction of efficacy in further clinical trials.
- ✓ Расширенная совместимость с методами визуализации: расположение опухоли в нативных тканях при наличии специализированного оборудования (например, для биолуминесцентных методов) позволяет использовать точные методы прижизненной визуализации, обеспечивая более глубокое понимание механизмов опухолевого роста, ангиогенеза и ответа на проводимое экспериментальное лечение/Advanced imaging compatibility: with the specialized equipment (e.g. bioluminescence techniques), the tumor location in native tissues allows for precise intravital visualization methods, providing a deeper understanding of tumor growth, angiogenesis, and response to experimental treatment.
- ✓ Техническая сложность: ортотопическая трансплантация является технически сложной процедурой и требует специальных навыков, особенно при сложном хирургическом доступе (головной мозг, поджелудочная железа и др.)/Technical complexity: orthotopic transplantation is a technically demanding procedure and requires special skills, especially with challenging surgical access (brain, pancreas, etc).
- ✓ Различия в степени энgraфтмента опухоли: в зависимости от гистогенеза опухоли или особенностей клеточной линии может наблюдаться разница в частоте успешного энgraфтмента. В некоторых случаях для получения объективных результатов может потребоваться большее число животных или образцов/Variability in tumor engraftment: depending on the tissue type and cell line, there can be variability in the successful engraftment of the tumor. In some cases, more animals or samples may be required to obtain objective results.
- ✓ Высокая стоимость: из-за потребности в специализированном оборудовании и необходимости подготовки квалифицированного персонала ортотопические модели могут быть дороже, чем подкожные/High cost: due to the need for specialized equipment and trained staff, orthotopic models might be more expensive than subcutaneous
- ✓ High cost: due to the need for specialized equipment and trained staff, orthotopic models might be more expensive than subcutaneous.
- ✓ Модель необходима тогда, когда основное внимание уделяется изучению взаимодействия опухоли с ее микроокружением: клетками стромы, резидентными и инфильтрирующими опухоль иммунными клетками организма-хозяина и компонентами внеклеточного матрикса/The model is required when the focus is on studying the interaction of the tumor with its microenvironment, including the relationship with stromal cells, resident and tumor-infiltrating immune cells of the host organism, and components of the extracellular matrix.
- ✓ Модель особенно полезна при изучении механизмов метастазирования или оценке противоопухолевых средств, нацеленных на метастазирование/The model is particularly beneficial when studying metastasis mechanisms or evaluating antitumor agents targeting metastasis.
- ✓ Модель незаменима, если необходимо оценить, как опухоль конкретной локализации реагирует на лечение, особенно при последующей трансляции результатов в клинические исследования/The model is essential if it is necessary to assess how a tumor of a specific location responds to treatment, especially when findings translated to further clinical trials.
- ✓ Исследования, в которых используются передовые аппаратные методы прижизненной визуализации роста ортотопических опухолей, являются более совершенными/Studies equipped to use modern imaging techniques for intravital visualization of orthotopic tumor growth are more advanced.

Примечание: таблица составлена авторами

Note: the table created by authors

Ортопическая трансплантация суспензии опухолевых клеток (cellular orthotopic injection, COI) особенно ценна, когда требуются предварительные манипуляции с клетками, такие как культивирование *ex vivo*, экспозиция к фармакологически активным средствам, редактирование генов или генетический скрининг. Использование суспензии клеток делает эксперимент более «гомогенным», позволяя точно «дозировать» опухолевую нагрузку (количество трансплантируемых клеток) на каждое животное и избегать некоторых систематических ошибок на этапе получения и подготовки опухолевого материала для трансплантации. Суспензия опухолевых клеток может быть получена из коммерчески доступных иммортализованных сингенных и ксеногенных (CDX) клеточных линий, культивируемых *in vitro*, асцитных вариантов опухоли или путем механической и/или ферментативной диссоциации фрагментов солидной опухоли. Основным недостатком использования суспензии опухолевых клеток является высокий риск вытекания инокулята через канал, сформированный иглой (рис. 2). Это приводит к гематогенному и прямому имплантационному распространению опухоли в брюшной полости и артефактам метастазирования [16, 17]. Несколько факторов, таких как неоптимальные хирургические процедуры и неподходящий объем инъекции или размер иглы, могут увеличить риск вытекания клеток. Чтобы снизить риск вытекания клеточного инокулята, используются такие подходы, как совершенствование хирургической техники и выполнение манипуляции одним оператором, добавление к суспензии клеток солибуилизованного матрикса базальной мембраны, секретируемого клетками саркомы мыши Энгельбрета–Холма–Роя (Матригель®, Corning Life Sciences и его аналоги) в различной концентрации, использование ватного тампона для нажатия на место инъекции в течение ≥ 20 с [18, 19]. Стоит отметить, что в некоторых работах было показано, что Матригель® не способен предотвратить искусственное распространение опухолевых клеток [20]. Кроме того, поскольку Матригель® представляет собой матрикс базальной мембраны, его качество нестабильно, что может привести к вариабельности получаемых результатов [21].

Проблемы, сопряженные с культивированием клеток, такие как ошибочная идентификация клеточных линий, заражение микоплазмой, а также генотипическая и фенотипическая нестабильность, часто игнорируются научным сообществом [22]. В настоящее время ведутся широкие дебаты по поводу достоверности результатов, получаемых с использованием иммортализованных клеточных линий, из-за возможности клональной селекции и артефактов, связанных с культивированием *in vitro*. Клеточные линии адаптируются к искусственной среде роста «на пластике» без стромальных и сосудистых компонентов, иммунных клеток,

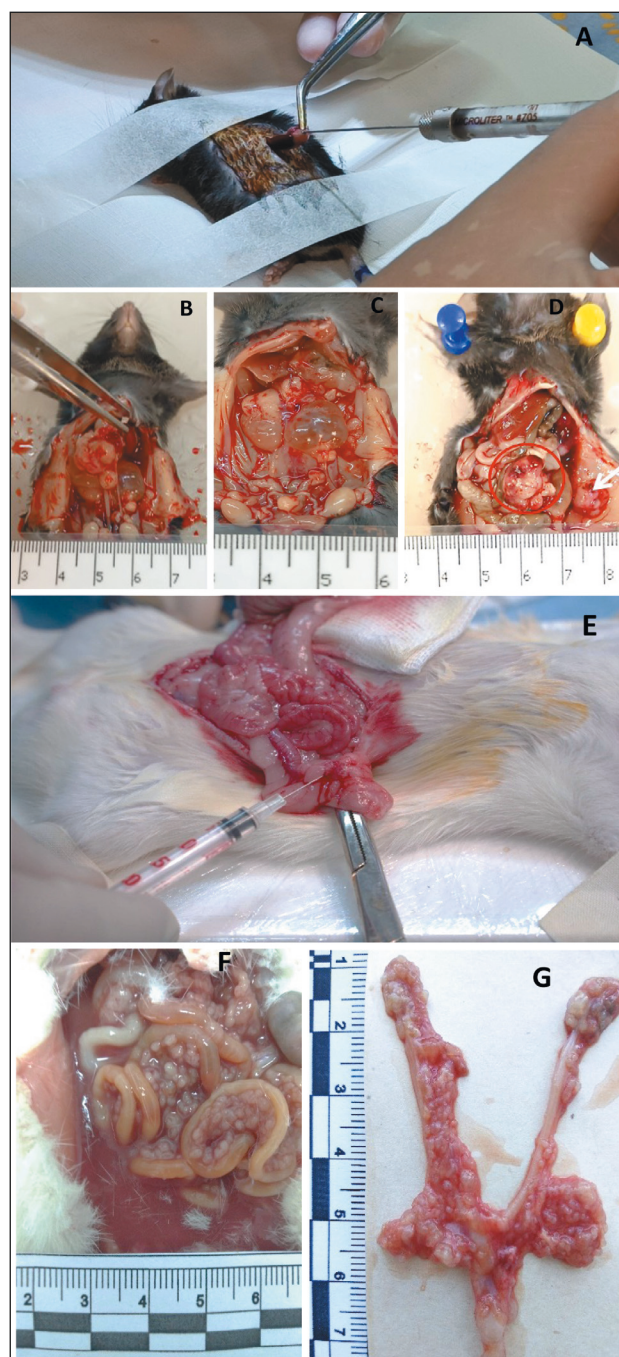


Рис. 2. Артефакты внутрибрюшинного и забрюшинного распространения опухоли в результате вытекания инокулята из места инъекции. A-D – трансплантация суспензии клеток сингенной протоковой аденокарциномы поджелудочной железы PAN02 вместе с Матригелем® (1:1) в тело-хвост органа мышам *C57BL/6*. Красным кругом отмечена первичная опухоль поджелудочной железы; белой стрелкой обозначен опухолевый узел в области послеоперационной раны; E-G – трансплантация суспензии сингенной карциномы яичника под капсулу сумки яичника у крыс *Wistar*. Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 2. Artifacts of intraperitoneal and retroperitoneal tumor dissemination due to inoculum leakage from the injection site. A-D – transplantation of cell suspension of syngeneic pancreatic ductal adenocarcinoma PAN02 together with Matrigel® (1:1) into the body-tail of the organ in *C57BL/6* mice. Red circle – the primary pancreatic tumor; white arrow – the tumor node in the area of the postoperative wound; E-G – transplantation of syngeneic ovarian carcinoma suspension under the ovarian bursa capsule in *Wistar* rats. Note: created by the authors

инфильтрирующей опухоль. Известно, что из-за селекционного давления при культивировании *in vitro* клеточная линия, как правило, не сохраняет исходные молекулярные характеристики и гетерогенность материнской опухоли, из которой она была получена изначально [23]. Кроме того, механическая и/или ферментативная диссоциация является стрессовым событием для опухолевых клеток, которое нарушает межклеточную коммуникацию и естественное взаимодействие с компонентами стромы [17]. Клеточные суспензии не имеют нативной трехмерной архитектуры, которая, по-видимому, важна для полной реализации их спонтанного метастатического потенциала. L. Thorel et al. [24] провели крупное сравнительное исследование с использованием 7 моделей светлоклеточной карциномы яичника (4 клеточные линии, два органоида, полученных от пациента, и одна PDX-модель). Авторы продемонстрировали, что модели клеточных линий не подходят для прогнозирования ответа опухоли и разработки персонализированных методов лечения.

В ранее проведенных исследованиях показано, что ортотопическая трансплантация опухоли в виде фрагментов (surgical orthotopic implantation, SOI) является предпочтительной, поскольку они содержат компоненты стромы, внеклеточного матрикса и секретируемые биологически активные вещества. Модели SOI минуя этап диссоциации клеток. По данным ряда авторов, трансплантация фрагментов обеспечивает снижение латентного периода до появления измеряемых опухолей, увеличивает энgraftмент и усиливает их метастатический потенциал [25, 26]. Имплантация фрагментов опухоли (а не клеточной суспензии) является клинически более обоснованным подходом к созданию ортотопических моделей у мышей [27]. Трансплантируемые фрагменты опухоли человека (PDX) в целом лучше сохраняют генетические и эпигенетические особенности материнской опухоли по сравнению с клетками, культивированными *in vitro*. PDX-модели растут в трехмерной микросреде, которая включает в себя сосудистую сеть, обеспечивающую доставку питательных веществ и кислорода *in vivo*, а также стромальные и иммунокомпетентные клетки организма-хозяина, которые взаимодействуют и обмениваются информацией с опухолевыми клетками [28]. В случае ортотопической трансплантации ксенографтов опухолей человека (patient-derived orthotopic xenograft, PDOX) свежая опухолевая ткань может быть получена из первичных или предлеченных пациентов во время операции, при биопсии или из свежего аутопсийного материала. Также распространен подход, когда интересующая опухоль сначала трансплантируется подкожно или ортотопически нескольким животным-донорам в виде суспензии сингенной или ксеногенной кле-

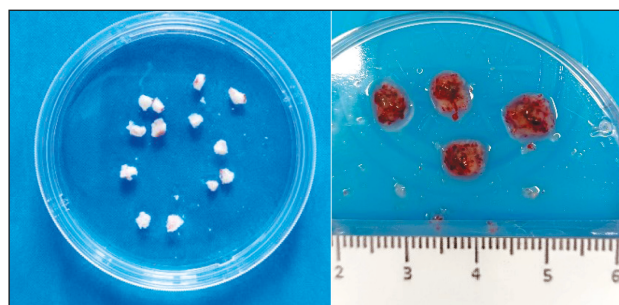


Рис. 3. Фрагменты солидной опухоли, подготовленные для ортотопической трансплантации мышам.
Примечание: рисунок выполнен авторами
Fig. 3. Solid tumor fragments prepared for orthotopic transplantation into mice. Note: created by the authors

точной линии, культивированной *in vitro*, а затем сформированная стоковая опухоль разрезается на фрагменты и используется в основном эксперименте [16, 29–32]. Обычно для серийной трансплантации или трансплантации с целью изучения противоопухолевой активности можно получить 20–50 трансплантируемых фрагментов из одного опухолевого трансплантата (нулевого пассажа, P0). При этом крайне важно избегать некротических участков опухоли [33]. Рекомендуется использовать фрагменты опухоли размером 1–3 мм³ (~30 мг) [3, 16, 31, 33]. Для снижения риска систематической ошибки фрагмент опухоли для трансплантации конкретному животному должен выбираться случайным образом из всего набора подготовленных фрагментов (рис. 3).

Таким образом, для ортотопической трансплантации приемлемо использовать как фрагменты опухолей, так и клеточные суспензии, каждый из методов имеет свои преимущества и недостатки. Выбор между источниками опухолевого материала должен основываться на конкретных целях исследования и характеристиках изучаемой опухоли.

Способы фиксации фрагмента опухоли в целевом органе или ткани

Для фиксации фрагмента опухоли используются три основных метода: с помощью шовного материала; бесшовный метод; метод тканевой адгезии с использованием медицинского тканевого клея. Метод наложения швов подразумевает прямое подшивание фрагмента опухоли к органу или ткани. Чаще всего используется нить размером 7–0 или 8–0 [29, 34]. Данный метод технически сложен, требует специального оборудования (хирургический микроскоп), а также хороших хирургических навыков персонала. Бесшовная техника заключается в формировании кармана (полости) в ткани органа, где происходит иммобилизация фрагмента без наложения швов, что может снизить риск кровотечения и периоперационных осложнений [35–37]. Метод с использованием тканевого клея является хорошей альтернативой для исследователей, которые мало знакомы с

микрохирургическими методами (рис. 4) [29, 38]. Тканевые биоразлагаемые цианакрилатные клеи широко используются в хирургической практике. Цианакрилаты быстро полимеризуются в течение 5–60 с в присутствии слабых оснований, например воды или крови. Необходимо отметить, что цианакрилатные клеи могут проявлять прямые цитотоксические эффекты. Реакция полимеризации клея является экзотермической, а выделяющееся тепло вызывает повреждение клеток, по крайней мере в исследованиях *in vitro* [39].

Периоперационный уход и обеспечение благополучия животных

Из-за возможных проблем, связанных с благополучием животных, требуется убедительное обоснование использования ортотопических моделей, основанное на научной необходимости и соответствии данной модели исследовательскому вопросу, чтобы уравновесить потенциальную пользу для здоровья человека или научных знаний и потенциальный вред для животных. Поскольку ортотопическая трансплантация является инвазивной процедурой и подразумевает оперативное вмешательство (за исключением трансплантации опухолей молочной железы, кожи), необходимо учитывать благополучие животных и проводить процедуры с особой тщательностью, чтобы свести к минимуму дискомфорт, боль и страдания. Согласно директиве Европейского Союза 2010/63/EU, все процедуры, проводимые на животных, должны быть классифицированы как легкие, умеренные или тяжелые [40]. Применение такой классификации к ортотопическим моделям с множественными возможными нежелательными эффектами представляется затруднительным.

Рекомендации OBSERVE (The Oncology Best-practices: Signs, Endpoints and Refinements for *in Vivo* Experiments) предоставляют полный набор практических и конкретных рекомендаций по совершенствованию моделей ЗНО у мышей для исследователей, ветеринаров и сотрудников, ухаживающих за животными [41]. В рамках руководства OBSERVE подробно рассмотрены вопросы надлежащей подготовки и совершенствования конкретных методов трансплантации опухоли (внутрилегочная, органы брюшной полости и др.), а также описаны клинические органоспецифические признаки, которые могут быть связаны с конкретным типом опухоли, и способы оценки этих признаков.

Этические нормы требуют использования анестезии, мультимодальной обезболивающей терапии и других мер для обеспечения гуманного обращения с животными. Только при наличии прямых доказательств влияния противоболевой терапии на развитие экспериментальной патологии необходимо разработать альтернативный план по облегчению боли/дискомфорта животных совмест-

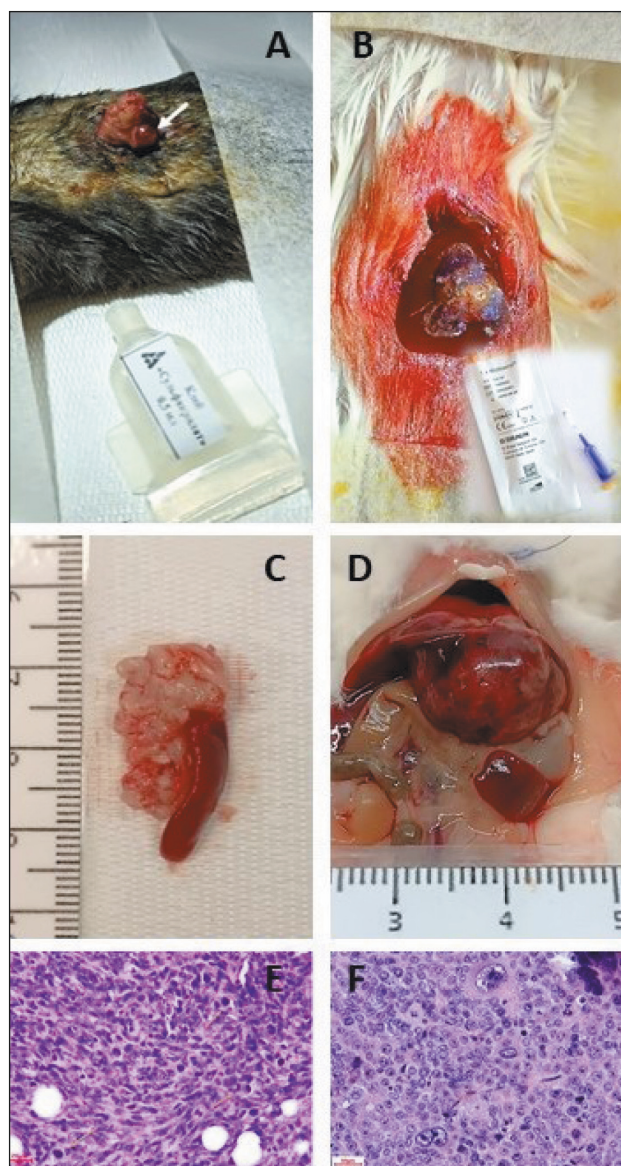


Рис. 4. Ортотопическая трансплантация методом тканевой адгезии. А – фиксация фрагмента опухоли (белая стрелка) на поверхности хвоста поджелудочной железы мыши *C57BL/6* с помощью клея «Сульфакрилат», Россия; В – фиксация фрагмента опухоли на поверхности левой доли печени мыши *C-NKG* с помощью клея Histoacryl®, Испания; С – макроскопический вид сформированной ортотопической опухоли поджелудочной железы; D – макроскопический вид сформированной ортотопической опухоли печени; E – микроскопическая картина фрагмента ортотопической опухоли поджелудочной железы. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; F – микроскопическая картина фрагмента ортотопической опухоли печени. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 4. Orthotopic transplantation by tissue adhesive method. A – fixation of a tumor fragment (white arrow) on the surface of the pancreas tail of a *C57BL/6* mouse using Sulfacrylate glue, Russia; B – fixation of a tumor fragment on the surface of the left lobe of the liver of a *C-NKG* mouse using Histoacryl® glue, Spain; C – macroscopic view of formed pancreatic orthotopic tumor; D – macroscopic view of the formed orthotopic tumor in the liver. E – microscopic image of a fragment of an orthotopic pancreatic tumor. Hematoxylin and eosin staining, $\times 400$; F – microscopic image of a fragment of an orthotopic liver tumor. Hematoxylin and eosin staining, $\times 400$. Note: created by the authors

но с ветеринарным персоналом. Ортотопическая трансплантация опухоли должна выполняться квалифицированным персоналом с использованием методов асептики и надлежащим периоперационным уходом (профилактика гипотермии, дегидратации). Чтобы уменьшить послеоперационный болевой синдром, размер разрезов должен быть минимальным, следует использовать иглы подходящего размера и минимальный объем для введения клеточной суспензии. Чтобы предотвратить случайную диссеминацию опухолевых клеток, при оперативном вмешательстве настоятельно рекомендуется использовать два набора хирургических инструментов: для манипуляций с опухолевой тканью; для манипуляций с неопухолевой тканью. Интрамаммарную трансплантацию (в жировую клетчатку молочной железы) предпочтительнее выполнять в третью или четвертую пару желез, так как в этой области с меньшей вероятностью возникнут осложнения, и влияние на нормальные функции организма будет минимальным. Следует избегать имплантации в краниальные (первые) и каудальные молочные железы (пятую у мышей, шестую у крыс), если в этом нет явной научной необходимости, так как рост опухоли в этой зоне может затруднить передвижение животного [41]. С учетом возможной пери- и постоперационной гибели животных, а также вариативности энграфтмента (частоты приживления) необходимо рассмотреть вопрос об увеличении размера выборки.

Методы прижизненной визуализации роста ортотопических опухолей

В отличие от подкожных и некоторых ортотопических опухолей поверхностной локализации (молочная железа, кожа), прижизненное наблюдение за ростом большинства ортотопических опухолей невозможно без эвтаназии животного. Поэтому при отсутствии специального аппаратного оснащения в экспериментах с ортотопическими моделями для наблюдения за ростом опухолей и построения кинетических кривых на определенных временных точках выполняют эвтаназию части животных в группах [19]. Для прижизненной визуализации абдоминальных опухолей наиболее простым и доступным способом оценки энграфтмента и измерения размеров ортотопических трансплантатов является контрольная лапаротомия в конкретный день после перевивки с последующим измерением линейных размеров опухоли штангенциркулем [42].

Различные аппаратные методы визуализации позволяют проводить серийные измерения опухоли в течение периода наблюдения, предоставляя ценные данные о размере опухолевого очага и прогрессировании процесса. Методы оптической визуализации, такие как биолюминесцентная визуализация всего животного (*in vivo* imaging system, IVIS), часто используются благодаря своей специфичности и универсальности, поскольку клетки можно либо трансфицировать генами

биолюминесцентных ферментов, либо пометить флуоресцентным зондом [43]. В рутинной практике наиболее широко используется метод наблюдения за ортотопическими опухолями, который заключается в использовании клеток, трансфицированных люциферазой – ферментом, который излучает свет при взаимодействии со своим субстратом, люциферинном. Субстрат вводится в организм, что позволяет неинвазивно получать изображения и определять интенсивность света в определенной области для оценки роста опухоли [38, 44]. Следует учитывать, что любые методы оптической визуализации подвержены рассеиванию и поглощению света. Поэтому оптическая визуализация может быть затруднена из-за глубины тканей и, как правило, применима только к мелким грызунам. Точное измерение опухолей становится особенно сложной задачей при наблюдении за ростом ортотопических трансплантатов, когда опухоли начинают расти за пределами нормального анатомического пространства, поскольку они могут достигать больших размеров, не препятствуя передвижению животного или его жизнеспособности. Большая опухоль не только увеличивает рассеивание, но и «подстраивается» под свое микроокружение, что приводит к изменениям в кровоснабжении, pH и окислительных субстратов, ключевых компонентов, которые регулируют реакции оксидоредуктаз (люцифераз). Кроме того, в больших опухолях формируются некротические очаги, нарушается кровоснабжение, вызывающее гипоксию и аномальный метаболизм, что может приводить к снижению концентрации люциферина и активности ферментов, уменьшению флуоресцентных сигналов и ложному снижению интенсивности флуоресценции [45]. Ввиду высокой стоимости оборудования для IVIS может быть недоступно для научных организаций.

K. Doyle et al. [44] в экспериментах с ортотопической моделью нейробластомы NB1643 установили, что рост опухоли хорошо отслеживается с помощью ультразвука с применением ультразвукового датчика Wisonic Piloter Veterinary 6–15 МГц. Хотя этот датчик обладает меньшей разрешающей способностью, чем датчики 22–55 МГц, он заметно дешевле и доступнее. Многочисленные исследования продемонстрировали успешное использование ультразвука для мониторинга роста опухоли *in vivo* с равными или превосходящими результатами по сравнению с одной только биолюминесцентной визуализацией. По данным авторов, не было существенной разницы в возможностях визуализации при ультразвуковом исследовании (УЗИ) по сравнению с IVIS, а УЗИ-мониторинг в динамике способствует более точной идентификации и измерению опухоли.

Компьютерная томография (КТ) используется у человека для определения локализации и характеристики опухолей, наблюдения за инвазией и метастазированием, а также планирования лечебного вмешательства и лекарственной терапии. КТ

обычно плохо контрастирует с мягкими тканями. M.S. Myers et al. [45] установили, что, несмотря на сопоставимую скорость и более высокую точность, самым большим недостатком КТ по сравнению с биолюминесцентным методом является то, что она требует предварительных анатомических знаний, особенно без использования маркированных зондов. Авторы показали, что измерения с помощью биолюминесценции значительно различаются и не отражают реальный рост опухоли в ортотопической модели LNCaP. С другой стороны, КТ очень точно оценивала реальный размер и форму опухоли в динамике в двух ортотопических моделях рака предстательной железы. По мнению авторов, КТ более предпочтительна, когда невозможно провести биолюминесцентную трансфекцию или флуоресцентную маркировку трансплантируемого опухолевого материала [45].

В экспериментальной онкологии магнитно-резонансная томография (МРТ) может быть использована для определения размера, местоположения, сосудистой инвазии и гетерогенности опухоли. Этот метод хорошо переносится лабораторными животными, а повторное исследование не влияет на благополучие животных или рост опухоли [14].

В сравнении с оптической визуализацией метод позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с КТ (ПЭТ/КТ), предполагает использование дорогостоящих радиоактивных соединений и требует строгих подходов к обеспечению безопасности и необходимости логистики радиоактивных изотопов. В то же время метод ПЭТ/КТ не требует предварительной генетической модификации опухолевых клеток и предоставляет томографическую, анатомическую и молекулярную информацию с высоким разрешением. Использование радиоактивного изотопа ^{18}F -фтордезоксиглюкозы (^{18}F ФДГ) гарантирует высокую трансляционную мощность исследований, проводимых с помощью этого метода. Во время исследования методом ПЭТ/КТ с ^{18}F ФДГ голодание и согревание мышей, а также время поглощения ^{18}F ФДГ в 1 час могут значительно улучшить визуализацию опухолей, поскольку условия сканирования сильно влияют на контрастность ПЭТ [32, 46].

Преимущества и недостатки основных методов неинвазивной прижизненной визуализации, используемых в доклинических исследованиях, их чувствительность, производительность, разрешающая способность описаны в работе M. Baker [47].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Radulski D.R., Stipp M.C., Galindo C.M., Acco A. Features and applications of Ehrlich tumor model in cancer studies: a literature review. *Transl Breast Cancer Res.* 2023; 4: 22. doi: 10.21037/tbcr-23-32.
2. Шабад Л.М. М.А. Новинский – родоначальник экспериментальной онкологии. М., 1950. 260 с. [*Shabad L.M. M.A. Novinsky – the founder of experimental oncology. Moscow, 1950. 260 p. (in Russian)*].
3. Jantscheff P., Beshay J., Lemarchand T., Obodozie C., Schächtele C., Weber H. Mouse-Derived Isograft (MDI) In Vivo Tumor Models I. Sponta-

Заключение

Спустя 150 лет после первой успешной серийной трансплантации опухоли *in vivo* выбор подходящей экспериментальной модели с участием животных остается критически важным этапом при рациональной разработке новых методов лечения злокачественных новообразований. Все виды моделей, используемых в экспериментальной онкологии, лишь аппроксимируют реальную клиническую ситуацию у человека. Об этом часто забывают, когда доклинические результаты транслируются в клинические исследования, что в дальнейшем приводит к дорогостоящим неудачам. Рост опухоли – это сложный процесс, на который влияет множество факторов, в том числе источник получения опухолевого материала и место трансплантации. По сравнению с трансплантацией суспензий опухолевых клеток, культивированных *in vitro*, трансплантация фрагментов солидных опухолей обеспечивает сохранение клональной гетерогенности опухоли, компонентов ее микроокружения и внеклеточного матрикса, которые поддерживают энgraftмент и рост опухоли.

Значение места трансплантации особенно важно, так как рост опухоли, ее метастазирование и фармакокинетика тестируемых противоопухолевых средств зависят от анатомических и физиологических особенностей тканей. По сравнению с подкожной трансплантацией ортотопические модели лучше воспроизводят сложное взаимодействие в системе «опухоль-организм хозяина» и патологические особенности злокачественных новообразований у человека, включая метастатическую болезнь. Поскольку ортотопические опухоли находятся в естественной среде (микроокружении), их ответ на лечение приближен к ответу опухоли у человека. Рекомендуется включать ортотопические модели в программы неклинических фармакодинамических исследований *in vivo* для углубленной оценки противоопухолевой активности экспериментального лечения, а также для повышения прогностической ценности и надежности доклинических результатов. Совершенствование техники ортотопической трансплантации и методов неинвазивной визуализации роста опухоли наряду с созданием крупных библиотек (биобанков) фрагментов опухолей человека (PDX) позволяет использовать данные модели для проспективного формулирования клинических гипотез и трансляционных исследований в онкологии.

neous sMDI Models: Characterization and Cancer Therapeutic Approaches. *Cancers.* 2019; 11(2): 244. doi: 10.3390/cancers11020244.

4. Guerin M.V., Finisguerra V., van den Eynde B.J., Bercovici N., Trautmann A. Preclinical murine tumor models: A structural and functional perspective. Settleman J., Kawakami Y., eds. *Elife.* 2020; 9: e50740. doi: 10.7554/eLife.50740.

5. Ireson C.R., Alavijeh M.S., Palmer A.M., Fowler E.R., Jones H.J. The role of mouse tumour models in the discovery and development of anticancer drugs. *Br J Cancer.* 2019; 121(2): 101–108. doi: 10.1038/s41416-019-0495-5.

6. Chulpanova D.S., Kitaeva K.V., Rutland C.S., Rizvanov A.A., Solovyeva V.V. Mouse Tumor Models for Advanced Cancer Immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(11): 4118. doi:10.3390/ijms21114118.
7. Corbett T.H., Valeriotte F.A., Baker L.H. Is the P388 murine tumor no longer adequate as a drug discovery model? *Invest New Drugs.* 1987; 5(1): 3–20. doi:10.1007/BF00217664.
8. Long Y., Xie B., Shen H.C., Wen D. Translation Potential and Challenges of In Vitro and Murine Models in Cancer Clinic. *Cells.* 2022; 11(23): 3868. doi: 10.3390/cells11233868.
9. Liu Y., Wu W., Cai C., Zhang H., Shen H., Han Y. Patient-derived xenograft models in cancer therapy: technologies and applications. *Sig Transduct Target Ther.* 2023; 8(1):160. doi: 10.1038/s41392-023-01419-2.
10. Rygaard J., Povlsen C.O. Heterotransplantation of a human malignant tumour to "Nude" mice. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1969; 77(4): 758–60. doi:10.1111/j.1699-0463.1969.tb04520.x.
11. Liu M., Yang X. Patient-derived xenograft models: Current status, challenges, and innovations in cancer research. *Genes Dis.* 2025; 12(5): 101520. doi: 10.1016/j.gendis.2025.101520.
12. Fernandez J.L., Årbogen S., Sadeghinia M.J., Haram M., Snipstad S., Torp S.H., Einen C., Mühlenpfordt M., Maardalen M., Vikedal K., Davies, C.L. A Comparative Analysis of Orthotopic and Subcutaneous Pancreatic Tumour Models: Tumour Microenvironment and Drug Delivery. *Cancers (Basel).* 2023; 15(22): 5415. doi: 10.3390/cancers15225415.
13. Zhang W., Fan W., Rachagani S., Zhou Z., Lele S.M., Batra S.K., Garrison J.C. Comparative Study of Subcutaneous and Orthotopic Mouse Models of Prostate Cancer: Vascular Perfusion, Vasculature Density, Hypoxic Burden and BB2r-Targeting Efficacy. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 11117. doi:10.1038/s41598-019-47308-z.
14. Cai Y., Chen T., Liu J., Peng S., Liu H., Lv M., Ding Z., Zhou Z., Li L., Zeng S., Xiao E. Orthotopic Versus Allotopic Implantation: Comparison of Radiological and Pathological Characteristics. *J Magn Reson Imaging.* 2022; 55(4): 1133–40. doi: 10.1002/jmri.27940.
15. Муразов Я.Г., Агацарская Я.В., Крышень К.И. Особенности роста меланомы B16 у мышей C57BL/6 при использовании различных методов получения опухолевого материала и мест трансплантации сингенной опухоли. *Российский биотерапевтический журнал.* 2024; 23(1): 28–36. [Murazov I.G., Agatsarskaya I.V., Kryshen K.L. B16 melanoma growth characteristic in C57BL/6 mice with various methods of obtaining tumor material and syngeneic tumor transplantation sites. *Russian Journal of Biotherapy.* 2024; 23(1): 28–36. (in Russian)]. doi: 10.17650/1726-9784-2024-23-1-28-36. EDN: QNYNBM.
16. Guo J., Cai J., Zhang Y., Zhu Y., Yang P., Wang Z. Establishment of two ovarian cancer orthotopic xenograft mouse models for in vivo imaging: A comparative study. *Int J Oncol.* 2017; 51(4): 1199–208. doi: 10.3892/ijo.2017.4115.
17. Zhang D., Wang Y., Liu L., Li Z., Yang S., Zhao W., Wang X., Liao H., Zhou S. Establishment and evaluation of ectopic and orthotopic prostate cancer models using cell sheet technology. *J Transl Med.* 2022; 20(1): 381. doi: 10.1186/s12967-022-03575-5.
18. Wang C., Xie G.M., Zhang L.P., Yan S., Xu J.L., Han Y.L., Luo M.J., Gong J.N. High Engraftment and Metastatic Rates in Orthotopic Xenograft Models of Gastric Cancer via Direct Implantation of Tumor Cell Suspensions. *Cancers (Basel).* 2024; 16(4): 759. doi: 10.3390/cancers16040759.
19. Erstad D.J., Sojoodi M., Taylor M.S., Ghoshal S., Razavi A.A., Graham-O'Regan K.A., Bardeesy N., Ferrone C.R., Lanuti M., Caravan P., Tanabe K.K., Fuchs B.C. Orthotopic and heterotopic murine models of pancreatic cancer and their different responses to FOLFIRINOX chemotherapy. *Dis Model Mech.* 2018; 11(7): dmm034793. doi:10.1242/dmm.034793.
20. Wang J., Liu X., Ji J., Luo J., Zhao Y., Zhou X., Zheng J., Guo M., Liu Y. Orthotopic and Heterotopic Murine Models of Pancreatic Cancer Exhibit Different Immunological Microenvironments and Different Responses to Immunotherapy. *Front Immunol.* 2022; 13: 863346. doi:10.3389/fimmu.2022.863346.
21. Aisenbrey E.A., Murphy W.L. Synthetic alternatives to Matrigel. *Nat Rev Mater.* 2020; 5(7): 539–51. doi: 10.1038/s41578-020-0199-8.
22. Geraghty R.J., Capes-Davis A., Davis J.M., Downward J., Freshney R.I., Knezevic I., Lovell-Badge R., Masters J.R., Meredith J., Stacey G.N., Thraves P., Vias M.; *Cancer Research UK.* Guidelines for the use of cell lines in biomedical research. *Br J Cancer.* 2014; 111(6): 1021–46. doi: 10.1038/bjc.2014.166.
23. Stribbling S.M., Beach C., Ryan A.J. Orthotopic and metastatic tumour models in preclinical cancer research. *Pharmacol Ther.* 2024; 257: 108631. doi:10.1016/j.pharmthera.2024.108631.
24. Thorel L., Morice P.M., Paysant H., Florent R., Babin G., Thomine C., Perréard M., Abeillard E., Giffard F., Brotin E., Denoyelle C., Villenet C., Sebda S., Briand M., Joly F., Dolivet E., Goux D., Blanc-Fournier C., Jeanne C., Villedieu M., Meryet-Figuierie M., Figeac M., Poulain L., Weiswald L.B. Comparative analysis of response to treatments and molecular features of tumor-derived organoids versus cell lines and PDX derived from the same ovarian clear cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res.* 2023; 42(1): 260. doi: 10.1186/s13046-023-02809-8.
25. Zhang Y., Zhang G.L., Sun X., Cao K.X., Ma C., Nan N., Yang G.W., Yu M.W., Wang X.M. Establishment of a murine breast tumor model by subcutaneous or orthotopic implantation. *Oncol Lett.* 2018; 15(5): 6233–40. doi:10.3892/ol.2018.8113.
26. Murakami T., Zhang Y., Wang X., Hiroshima Y., Kasashima H., Yashiro M., Hirakawa K., Miwa A., Kiyuna T., Matsuyama R., Tanaka K., Bouvet M., Endo I., Hoffman R.M. Orthotopic Implantation of Intact Tumor Tissue Leads to Metastasis of OCUM-2MD3 Human Gastric Cancer in Nude Mice Visualized in Real Time by Intravital Fluorescence Imaging. *Anticancer Res.* 2016; 36(5): 2125–30.
27. Rao Q., You A., Guo Z., Zuo B., Gao X., Zhang T., Du Z., Wu C., Yin H. Intrahepatic Tissue Implantation Represents a Favorable Approach for Establishing Orthotopic Transplantation Hepatocellular Carcinoma Mouse Models. *PLoS One.* 2016; 11(1): e0148263. doi:10.1371/journal.pone.0148263.
28. Huo K.G., D'Arcangelo E., Tsao M.S. Patient-derived cell line, xenograft and organoid models in lung cancer therapy. *Transl Lung Cancer Res.* 2020; 9(5): 2214–32. doi:10.21037/tlcr-20-154.
29. Hu H.T., Wang Z., Kim M.J., Jiang L.S., Xu S.J., Jung J., Lee E., Park J.H., Bakheet N., Yoon S.H., Kim K.Y., Song H.Y., Chang S. The Establishment of a Fast and Safe Orthotopic Colon Cancer Model Using a Tissue Adhesive Technique. *Cancer Res Treat.* 2021; 53(3): 733–43. doi:10.4143/crt.2020.494.
30. Xu Z.T., Ding H., Fu T.T., Zhu Y.L., Wang W.P. A Nude Mouse Model of Orthotopic Liver Transplantation of Human Hepatocellular Carcinoma HCCLM3 Cell Xenografts and the Use of Imaging to Evaluate Tumor Progression. *Med Sci Monit.* 2019; 25: 8694–703. doi:10.12659/MSM.917648.
31. Hage C., Hoves S., Ashoff M., Schandl V., Hört S., Rieder N., Heichinger C., Berrera M., Ries C.H., Kiessling F., Pöschinger T. Characterizing responsive and refractory orthotopic mouse models of hepatocellular carcinoma in cancer immunotherapy. *PLoS One.* 2019; 14(7): e0219517. doi: 10.1371/journal.pone.0219517.
32. Gan W., He Y.M., Hu F.L., Xu B., Liu Y.K., Wang A.J., He Y.Q., Zou G.W. Establishment of an orthotopic model of lung cancer by transthoracic lung puncture using tumor fragments. *J Thorac Dis.* 2023; 15(4): 2012–21. doi: 10.21037/jtd-23-439.
33. Tovar E.A., Essenburg C.J., Graveel A.C. In vivo Efficacy Studies in Cell Line and Patient-derived Xenograft Mouse Models. *Bio Protoc.* 2017; 7(1): e2100. doi: 10.21769/BioProtoc.2100.
34. Hwang H.K., Murakami T., Kiyuna T., Kim S.H., Lee S.H., Kang C.M., Hoffman R.M., Bouvet M. Splenectomy is associated with an aggressive tumor growth pattern and altered host immunity in an orthotopic syngeneic murine pancreatic cancer model. *Oncotarget.* 2017; 8(51): 88827–34. doi: 10.18632/oncotarget.21331.
35. Nishino H., Hollandsworth H.M., Sugisawa N., Yamamoto J., Tashiro Y., Inubushi S., Hamada K., Sun Y.U., Lim H., Amirfakhri S., Filemomi F., Hoffman R.M., Bouvet M. Sutureless Surgical Orthotopic Implantation Technique of Primary and Metastatic Cancer in the Liver of Mouse Models. *In Vivo.* 2020; 34(6): 3153–57. doi: 10.21873/invivo.12149.
36. Zhang X., Li F., Yang H., Xu H., Wang A., Jia Q., Zhang L., Liu L. A novel simple suture method for establishing an orthotopic pancreatic cancer mouse model: a comparative study with two conventional methods. *Am J Transl Res.* 2024; 16(9): 4422–35. doi: 10.62347/JUDX2512.
37. Wang Y., Xue H., Cutz J.C., Bayani J., Mawji N.R., Chen W.G., Goetz L.J., Hayward S.W., Sadar M.D., Gilks C.B., Gout P.W., Squire J.A., Cunha G.R., Wang Y.Z. An orthotopic metastatic prostate cancer model in SCID mice via grafting of a transplantable human prostate tumor line. *Lab Invest.* 2005; 85(11): 1392–404. doi: 10.1038/labinvest.3700335.
38. Chen W., Chen W.M., Chen S.X., Jiang L., Shu G.G., Yin Y.X., Quan Z.P., Zhou Z.Y., Shen M.J., Qin Y.T., Yang C.L., Su X.J., Kang M. Establishment of a visualized mouse orthotopic xenograft model of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Biol Ther.* 2024; 25(1): 2382531. doi: 10.1080/15384047.2024.2382531.
39. Leggat P.A., Smith D.R., Kedjarune U. Surgical applications of cyanoacrylate adhesives: a review of toxicity. *ANZ J Surg.* 2007; 77(4): 209–13. doi: 10.1111/j.1445-2197.2007.04020.x.
40. *Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.* *Official Journal of the European Union.* 2010; 53: 33–79.
41. De Vleeschauwer S.I., van de Ven M., Oudin A., Debusschere K., Connor K., Byrne A.T., Ram D., Rhebergen A.M., Raeyes Y.D., Dahlhoff M., Dangles-Marie V., Hermans E.R. OBSERVE: guidelines for the refinement of rodent cancer models. *Nat Protoc.* 2024; 19(9): 2571–96. doi: 10.1038/s41596-024-00998-w.
42. Киблицкая А.А., Максимов А.Ю., Гончарова А.С., Непомнящая Е.М., Златник Е.Ю., Егоров Г.Ю., Лужбанова Е.А., Заикина Е.В., Волкова А.В. Варианты создания гетеротопических и ортотопических PDX-моделей колоректального рака человека. *Бюллетень сибирской*

медицины. 2022; 21(3): 50–58. [Kiblitkaya A.A., Maksimov A.Y., Goncharova A.S., Nepomnyashchaya Ye.M., Zlatnik Ye.Y., Yegorov G.Y., Lukbanova Ye.A., Zaikina Ye.V., Volkova A.V. Variants of creating heterotopic and orthotopic PDX models of human colorectal cancer. Bulletin of Siberian Medicine. 2022; 21(3): 50–58. (in Russian)]. doi: 10.20538/1682-0363-2022-3-50-58. EDN: UOKYZC.

43. Anker J.F., Mok H., Naseem A.F., Thumbikat P., Abdulkadir S.A. A Bioluminescent and Fluorescent Orthotopic Syngeneic Murine Model of Androgen-dependent and Castration-resistant Prostate Cancer. J Vis Exp. 2018; 133: 57301. doi: 10.3791/57301.

44. Doyle K., Hassan A.E., Sutter M., Rodriguez M., Kumar P., Brown E. Development of a Simple and Reproducible Cell-derived Orthotopic Xenograft Murine Model for Neuroblastoma. In Vivo. 2024; 38(2): 531–38. doi:10.21873/invivo.13471.

45. Myers M.S., Kosmacek E.A., Chatterjee A., Oberley-Deegan R.E. CT vs. bioluminescence: A comparison of imaging techniques for orthotopic prostate tumors in mice. PLOS ONE. 2022; 17(11): e0277239. doi: 10.1371/journal.pone.0277239.

46. Colin D.J., Bejuy O., Germain S., Triponez F., Serre-Beinier V. Implantation and Monitoring by PET/CT of an Orthotopic Model of Human Pleural Mesothelioma in Athymic Mice. J Vis Exp. 2019; (154): e60272. doi: 10.3791/60272.

47. Baker M. Whole-animal imaging: The whole picture. Nature. 2010; 463(7283): 977–80. doi:10.1038/463977a.

Поступила/Received 13.05.2025

Одобрена после рецензирования/Revised 09.06.2025

Принята к публикации/Accepted 21.11.2025

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Муразов Ярослав Геннадьевич, кандидат биологических наук, руководитель лаборатории онкофармакологии и канцерогенеза, Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ» (г.п. Кузьмоловский, Россия). SPIN-код: 2770-5375. Researcher ID (WOS): AAY-9767-2021. Author ID (Scopus): 53863794000. ORCID: 0000-0002-6573-3112.

Ковалева Мария Александровна, кандидат биологических наук, руководитель научно-методической группы, Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ» (г.п. Кузьмоловский, Россия). SPIN-код: 3249-0064. Author ID (Scopus): 36523050900. ORCID: 0000-0002-0740-9357.

Крышень Кирилл Леонидович, кандидат биологических наук, заместитель директора по науке, Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ» (г.п. Кузьмоловский, Россия). SPIN-код: 5650-2840. ORCID: 0000-0003-1451-7716.

Макарова Марина Николаевна, доктор медицинских наук, директор, Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ» (г.п. Кузьмоловский, Россия). SPIN-код: 2479-7871. Author ID (Scopus): 22951358800. ORCID: 0000-0003-3176-6386.

Макаров Валерий Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель, Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ» (г.п. Кузьмоловский, Россия). SPIN-код: 5279-6329. Researcher ID (WOS): F-8746-2016. Author ID (Scopus): 7401690256. ORCID: 0000-0002-2447-7888.

ВКЛАД АВТОРОВ

Муразов Ярослав Геннадьевич: идея, оригинальный текст статьи.

Ковалева Мария Александровна: редактирование и переработка текста статьи.

Крышень Кирилл Леонидович: редактирование текста статьи.

Макарова Марина Николаевна: редактирование статьи, критические замечания.

Макаров Валерий Геннадьевич: критические замечания.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Iaroslav G. Murazov, PhD, Head of Laboratory of Oncopharmacology and Carcinogenesis, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy” (Kuzmolovskiy t.s., Russia). Researcher ID (WOS): AAY-9767-2021. Author ID (Scopus): 53863794000. ORCID: 0000-0002-6573-3112.

Maria A. Kovaleva, PhD, Head of the scientific and methodological group, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy” (Kuzmolovskiy t.s., Russia). Author ID (Scopus): 36523050900. ORCID: 0000-0002-0740-9357.

Kirill L. Kryshen, PhD, Deputy Director for Science, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy” (Kuzmolovskiy t.s., Russia). ORCID: 0000-0003-1451-7716.

Marina N. Makarova, MD, DSc, Director, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy” (Kuzmolovskiy t.s., Russia). Author ID (Scopus): 22951358800. ORCID: 0000-0003-3176-6386.

Valery G. Makarov, MD, DSc, Professor, Scientific Supervisor, Research and manufacturing company “Home of Pharmacy” (Kuzmolovskiy t.s., Russia). Researcher ID (WOS): F-8746-2016. Author ID (Scopus): 7401690256. ORCID: 0000-0002-2447-7888.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Iaroslav G. Murazov: idea, original draft of the manuscript.

Maria A. Kovaleva: editing and revising of the manuscript.

Kirill L. Kryshen: editing of the manuscript.

Marina N. Makarova: editing of the manuscript, critical revision.

Valery G. Makarov: critical revision.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.