

## МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

Н.Ю. Тимофеева\*, Н.В. Бубнова, Г.Ю. Стручко, О.Ю. Кострова, И.С. Стоменская

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова»  
428015, Российская Федерация, Чебоксары, Московский просп., 15

Одной из основных проблем современной медицины являются онкологические заболевания, которые занимают второе место среди причин смерти после сердечно-сосудистой патологии. Злокачественные новообразования известны давно, но их изучение представляет большую сложность. Моделирование злокачественных процессов на животных позволяет исследовать опухоли и выявить основные закономерности злокачественного роста, характерные для животных и человека. Основной причиной смерти при злокачественных новообразованиях является процесс образования метастазов, который до сегодняшнего дня полностью не изучен. Исследование процессов метастазирования — одна из важнейших задач онкологии, для изучения которой создаются различные модели метастазирования опухолей. В статье представлены литературные данные по наиболее используемым в экспериментальных условиях моделям метастазирования, проводится их сравнительная характеристика. Произведена оценка преимуществ и недостатков основных способов моделирования метастазирования.

**Ключевые слова:** злокачественные новообразования, модели метастазирования, эксперимент

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Тимофеева Н.Ю., Бубнова Н.В., Стручко Г.Ю., Кострова О.Ю., Стоменская И.С. Методы экспериментального моделирования метастазирования. *Биомедицина*. 2021;17(4):44–49. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-4-44-49>

Поступила 01.12.2020

Принята после доработки 18.03.2021

Опубликована 10.12.2021

## METHODS OF EXPERIMENTAL MODELING OF METASTASIS

Natalia Yu. Timofeeva\*, Natalia V. Bubnova, Gleb Yu. Struchko, Olga Yu. Kostrova,  
Irina S. Stomenskaya

I.N. Ulyanov Chuvash State University  
428015, Russian Federation, Cheboksary, Moskovskiy Avenue, 15

One of the main problems of modern medicine is cancer, which is the second leading cause of death after cardiovascular disease. Malignant neoplasms have been known for a long time; however, their study still presents significant difficulties. Modeling of malignant processes in animals allow researchers to study tumors and the main patterns of malignant growth characteristic of animals and humans. The main cause of death in malignant neoplasms is the process of metastasis formation, which remains to be understood in detail. The study of metastatic processes is one of the most important tasks of oncology. To this end, various models of tumor metastasis are created. The article reviews literature data on the most popular models of metastasis in experimental conditions. The advantages and disadvantages of the main approaches to modeling metastasis are evaluated.

**Keywords:** malignant neoplasms, metastasis models, experiment

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**For citation:** Timofeeva N.Yu., Bubnova N.V., Struchko G.Yu., Kostrova O.Yu., Stomenskaya I.S. Methods of Experimental Modeling of Metastasis. *Journal Biomed.* 2021;17(4):44–49. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-4-44-49>

Submitted 01.12.2020

Revised 18.03.2021

Published 10.12.2021

## Введение

Злокачественная патология в настоящее время занимает одно из ведущих мест в структуре смертности населения. Основной причиной летального исхода при развитии онкологического заболевания является метастазирование — процесс расселения опухолевых клеток по всему организму. Метастазирование — это наиболее разрушительный аспект опухолевого процесса и главная причина неэффективности лечения [7]. Именно поэтому развитие злокачественных новообразований и процессы метастазирования являются одной из интенсивно изучаемых проблем в науке.

Несмотря на значительные достижения в области диагностики и лечения рака, метастатические процессы изучены не полностью. Не раскрыт сам механизм появления метастазов. Отсутствие достоверных знаний о патогенезе расселения опухолевых клеток лишает возможности их ранней диагностики. Изучение процессов метастазирования на пациентах ограничено в силу ряда причин. В основном это связано с тем, что пациенты чаще всего обращаются за медицинской помощью в запущенном состоянии вследствие бессимптомного течения начала метастатического процесса. Проведение общеклинического и биохимического анализов крови возможно на любой стадии развития злокачественной опухоли, но, к сожалению, чаще всего их результаты носят малоинформативный и неспецифический характер. Изучение метастазов, удаленных во время операции, позволяет получить представление только о соотношении определенных биологически активных

веществ в них в момент забора материала, и при этом не позволяет проследить динамику процесса роста, сравнить полученные результаты со здоровой тканью. Для того чтобы ответить на вопросы, возникающие у практикующих врачей и ученых, необходимо проведение экспериментальных исследований. Экспериментальные исследования — это единственный инструмент, позволяющий ответить на интересующие вопросы. Развитие науки невозможно без постановки экспериментов, проведение которых на человеке недопустимо.

## Моделирование метастазирования

Пригодность моделей опухолевого роста и метастазирования *in vivo* зависит от того, насколько точно они имитируют человеческие заболевания.

В настоящее время используют два основных способа моделирования метастазирования. Первый из них — экспериментальный, или искусственный, включает в себя модели, в которых опухолевые клетки вводятся непосредственно в орган или вены [10, 14, 17, 21]. При внутрисосудистом введении опухолевые клетки проникают в капиллярное русло и создают сайты экспериментальных метастазов в том органе, в региональный сосуд которого они попали, например печень, легкие [2, 14]. Так, при введении клеток в хвостовую вену грызунов метастазы формируются в легких, при инъекции клеток в левый желудочек сердца метастазы главным образом формируются в печени, реже в костном и головном мозге [7]. Их главный недостаток состоит в том, что опухолевый процесс

при этом нельзя считать метастазом, т.к. отсутствует первичный очаг.

В других случаях опухоль помещается непосредственно в орган [21], т.е. производится ортотопическая пересадка, которая приводит к локализованному и быстрому росту опухоли, а в некоторых моделях — к развитию отдаленных метастазов [7]. Ортотопическая имплантация опухоли является предпочтительной для более тщательного анализа роста опухоли и ее метастазирования. Несмотря на хорошее соответствие ортотопической модели опухоли клинической картине, ее использование затруднено из-за технологических сложностей, длительности и дороговизны проведения экспериментов [8].

Существует модель метастазирования с введением раковых клеток различных тканей в селезенку крыс и мышей под общим наркозом [1, 13, 18, 22]. Опухоли в данном случае чаще метастазируют в печень. Из минусов необходимо указать на использование животных Nude с нарушенной иммунной системой, потерю гистологического сходства злокачественных клеток человека, пересаженных этим животным, с основной опухолью при повторном применении, сочетанное (гематогенно-лимфогенное) метастазирование привитых опухолей и отсутствие возможности безоперативного контроля роста первичного очага опухоли в селезенке.

Наиболее часто используется подкожное или внутримышечное введение взвеси опухолевых клеток [3, 7]. Не теряет своего значения метод инъекции опухолевых клеток в брюшную полость животных с последующим получением т.н. асцитных опухолей в виде суспензии размножающихся клеток в накапливающейся перитонеальной жидкости [7].

Второй способ моделирования метастазирования называется спонтанным. При этом метастазы образуются из первичных солидных опухолей, которые могут быть полу-

чены несколькими путями. Данная группа включает модели, использующие канцерогены [4, 5]. К наиболее часто применяемым канцерогенам относятся диметилгидразин и его метаболиты азоксиметан, N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидин и N-метил-N-нитрозомочевина [15]. Возможно применение ультрафиолетового излучения [16] и онкогенных вирусов [19]. В результате воздействия канцерогенов образуются т.н. автохтонные опухоли [7]. Считается, что такие опухоли могут точнее имитировать человеческие по сравнению с трансплантируемыми (например, подкожными или ортотопическими). Достоинствами автохтонных моделей являются ортотопический рост опухоли, правильная ее гистоморфология без внесения изменений, характерных для перевиваемой опухоли, а также метастазирование через лимфатические и кровеносные сосуды, окружающие и пронизывающие первичную опухоль [12]. Успехи эксперимента, в частности развитие злокачественного роста и образование метастазов при этом, напрямую зависят от используемого канцерогена, его дозировки, длительности, способа и частоты введения, а также от особенностей животного, которому его вводят. Резекция первичной опухоли в данном методе увеличивает скорость роста метастазов. При проведении данных экспериментов могут быть учтены множество параметров, включая количество метастазов, сайты метастазирования, скорость роста опухоли, наличие и гистопатологию спонтанных метастазов и их иммуногистохимию [7]. К главным недостаткам данного метода относятся низкая скорость метастазирования, токсическое воздействие канцерогена на организм и длительность эксперимента.

Чаще всего в качестве объектов исследования для моделирования метастатического поражения используют мышей или крыс с сохраненным или ослабленным иммунитетом. Для этого экспериментальным животным пересаживают опухолевые

штаммы данного вида или вводят канцерогены. Перевивка человеческих опухолей возможна иммунодефицитным животным (Nude) и животным с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (SCID) [6, 7]. Отличием Nude крыс и мышей является отсутствие тимуса, вследствие чего в их организме не происходит процессов образования Т-лимфоцитов. У мышей SCID есть мутация в рецепторе цитокинов (интерлейкин-2), которая приводит к нарушению процессов созревания лимфоцитов и дефициту циркулирующих зрелых Т- и В-клеток [7]. Для снижения активности естественного иммунитета используют мышей с мутацией *beige*, в результате которой NK-клетки (естественные киллеры) мышей лишены вторичных гранул и имеют значительно ослабленную активность [23]. Также используют NOD-SCID-мышей, которых можно гуманизировать введением клеток периферической крови человека или клеток костного мозга, что создает более адекватную систему микроокружения для опухолевых клеток [11]. Вследствие этого иммунодефицитным животным возможна перевивка широкого спектра типов опухолей и проведение генетических или терапевтических манипуляций *ex vivo* перед ксенотрансплантацией. Но есть ряд недостатков таких моделей: кровоснабжение и строма опухоли обеспечиваются мышью, ортотопическая трансплантация технически затруднена, а метастазирование новообразования происходит очень редко. Кроме того, если источником ксенотрансплантатов являются постоянные непрерывно перевиваемые (>100 раз) клеточные линии, то они становятся недифференцированными и теряют свое гистологическое сходство с реальной опухолью [20]. Кроме того, стоимость мутантных животных достаточно высока, что значительно снижает их доступность.

Существуют модели экспериментального метастазирования на куриных эмбрионах [24]. Куриный эмбрион является уникальной моделью, позволяющей обойти многие ограничения при изучении канцерогенеза *in vivo* [24]. Доступностью хориоаллантоисной мембраны, хорошо васкуляризированной экстраэмбриональной ткани, расположенной под скорлупой и толерантной к ксенотрансплантатам опухолевых клеток, объясняется удобство применения объекта для проведения экспериментальных исследований для изучения молекулярных механизмов опухолевого роста, включая метаплазию, вирусный канцерогенез, реакции на ксенотрансплантацию опухолевых клеток, ангиогенез и метастазирование [24]. Ввиду иммунодефицитности куриного эмбриона на хориоаллантоисной мембране хорошо приживаются как нормальные, так и опухолевые клетки [24]. Важно то, что на хориоаллантоисной мембране опухолевые клетки сохраняют основные свойства, в т.ч. способность к росту, инвазии, ангиогенезу и перестройке соседних структур. В связи с этим данный объект является исключительно удобной моделью для изучения молекулярных механизмов опухолевого роста [9, 24].

## Заключение

Таким образом, высокая частота метастазирования рака и низкая эффективность традиционных методов терапии требуют более глубокого изучения данного процесса. В решении данных вопросов нам помогают экспериментальные методы исследования. Выбор и создание модели опухоли для изучения процессов канцерогенеза и метастазирования является очень сложной задачей. Необходимо четко понимать преимущества и недостатки каждой из имеющихся моделей.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трепитаки Л.К., Евстратова О.Ф. Способ получения метастазов печени в эксперименте. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014;6:745–747. [Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Evstratova O.F. Spособ polucheniya metastazov pecheni v eksperimente [Method for obtaining liver metastases in an experiment]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2014;6:745–747. (In Russian)].
2. Козлова М.Б., Франциянц Е.М., Трепитаки Л.К., Каплиева И.В., Погорелова Ю.А., Сергостьянц Г.З., Айрапетова Т.Г., Чубарян А.В. Роль пола в характере системных и тканевых нарушений гормонального гомеостаза у крыс с экспериментальной моделью метастазирования в легкие. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2016;3:377–380. [Kozlova M.B., Frantsiyants E.M., Trepitaki L.K., Kaplieva I.V., Pogorelova Yu.A., Sergost'yan G.Z., Airapetova T.G., Chubaryan A.V. Rol' pola v kharaktere sistemnykh i tkanevykh narushenii gormonal'nogo gomeostaza u kryс s eksperimental'noi model'yu metastazirovaniya v legkie [The role of gender in the nature of systemic and tissue disorders of hormonal homeostasis in rats with an experimental model of lung metastasis]. *Meditinskii vestnik Severnogo Kavkaza* [Medical Bulletin of the North Caucasus]. 2016;3:377–380. (In Russian)].
3. Лацерус Л.А., Пинигина Н.М., Козлов А.М., Барышников А.Ю. Влияние препарата Абисилин на процесс искусственного рецидивирования и метастазирования карциномы легкого Льюис мышей. *Российский биотерапевтический журнал*. 2010;1:29–33. [Latserus L.A., Pinigina N.M., Kozlov A.M., Baryshnikov A.Yu. Vliyanie preparata Abisilin na protsess iskusstvennogo retsidivirovaniya i metastazirovaniya kartsinomy legkogo L'yuis myshei [The influence of the drug Abisilin the process of artificial recurrence and metastasis of lung carcinoma Lewis mice]. *Russian Biotherapeutic Journal*. 2010;1:29–33. (In Russian)].
4. Москвичев Е.В., Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Кострова О.Ю. Морфология рака толстой кишки после применения 1,2-диметилгидрозолин дегидрохлорида. *Вестник новых медицинских технологий*. 2009;S2:121–122. [Moskvichev E.V., Struchko G.Yu., Merkulova L.M., Kostrova O.Yu. Morfologiya raka tolstoi kishki posle primeneniya 1,2-dimetilgidrozolin degidrokhlorida [Morphology of colon cancer after the use of 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride]. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii* [Bulletin of New Medical Technologies]. 2009;S2:121–122. (In Russian)].
5. Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Москичев Е.В., Михайлова М.Н., Кострова О.Ю., Стоменская И.С. Морфофункциональное состояние тимуса в условиях развития опухоли толстой кишки. *Здравоохранение Чувашии*. 2009;3:47–52. [Struchko G.Yu., Merkulova L.M., Moskvichev E.V., Mikhailova M.N., Kostrova O.Yu., Stomenskaya I.S. Morfofunktsional'noe sostoyanie timusa v usloviyakh razvitiya opukholi tolstoi kishki [Morphofunctional state of the thymus in the conditions of colon tumor development]. *Zdravookhranenie Chuvashii* [Chuvashia Healthcare Journal]. 2009;3:47–52. (In Russian)].
6. Трещалина Е.М. Иммунодефицитные мыши Balb/c nude и моделирование различных вариантов опухолевого роста для доклинических исследований. *Российский биотерапевтический журнал*. 2017;3:6–13. [Treshchalina E.M. Immunodefitsitnye myshi Balb/c nude i modelirovanie razlichnykh variantov opukholevogo rosta dlya doklinicheskikh issledovaniy [Immunodeficient BALB/c nude mice and modeling of various tumor growth variants for preclinical studies]. *Russian Biotherapeutic Journal*. 2017;3:6–13. (In Russian)].
7. Холоденко И.В., Доронин И.И., Холоденко Р.В. Опухолевые модели в изучении онкологических заболеваний. *Иммунология*. 2013;5:282–286. [Kholodenko I.V., Doronin I.I., Kholodenko R.V. Opukholevye modeli v izuchenii onkologicheskikh zabolevaniy [Tumor models in the study of oncological diseases]. *Immunology*. 2013;5:282–286. (In Russian)].
8. Bibby M.C. Orthotopic models of cancer for preclinical drug evaluation: advantages and disadvantages. *Eur. J. Cancer*. 2004;40(6):852–857. DOI: 10.1016/j.ejca.2003.11.021.
9. Bobek V., Plachy J., Pinterova D., Kolostova K., Boubelik M., Jiang P., Yang M., Hoffman R.M. Development of a green fluorescent protein metastatic-cancer chick-embryo drugscreen model. *Clin. Exp. Metastasis*. 2004;21(4):347–352. DOI: 10.1023/b:clin.0000046138.58210.31.
10. Bocut D., Wolff A., Krause P., et al. The adaptation of colorectal cancer cells when forming metastases in the liver: expression of associated genes and pathways in a mouse model. *BMC Cancer*. 2017;17(1):342. DOI: 10.1186/s12885-017-3342-1.
11. Cespedes V.M., Casanova I., Parreno M., Mangueres R. Mouse models in oncogenesis and cancer therapy. *Clin. Transl. Oncol*. 2006;8(5):318–329.
12. Fiebig H.H., Burger B.A. Relevance of tumor models for anticancer drug development. *Contributions to oncology*. Basel: Karger. 1999;15–27.
13. Fleten K.G., Bakke K.M., Maelandsmo G.M., et al. Use of non-invasive imaging to monitor response to aflibercept treatment in murine models of colorectal cancer liver metastases. *Clin. Exp. Metastasis*. 2017;34(1):51–62. DOI: 10.1007/s10585-016-9829-3.
14. Hatwell C., Zappa M., Wagner M., et al. Detection of liver micrometastases from colorectal origin by perfusion CT in a rat model. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int*. 2014;13(3):301–308. DOI: 10.1016/s1499-3872(14)60043-6.

15. Heijstek M.W., Kranenburg O., Borel Rinkes I.H. Mouse models of colorectal cancer and liver metastases. *Dig. Surg.* 2005;22(1–2):16–25. DOI: 10.1159/000085342.
16. Mason R.S., Reichrath J. Sunlight vitamin D and skin cancer. *Anticancer Agents. Med. Chem.* 2013;13(1):83–97.
17. Muraoka T., Shirouzu K., Ozasa H., et al. The effect of starvation on blood stream cancer cell metastasis to the liver in rat after laparotomy. *Kurume Med. J.* 2013;60(2):59–66. DOI: 10.2739/kurumemedj.ms63005.
18. Nakamura M., Suemizu H. Novel metastasis models of human cancer in NOG mice. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2008;324:167–177. DOI: 10.1007/978-3-540-75647-7\_11.
19. Ross S.R. Mouse mammary tumor virus molecular biology and oncogenesis. *Viruses.* 2010;2(9):2000–2012. DOI: 10.3390/v2092000.
20. Sausville E.A., Burger A.M. Contributions of human tumor xenografts to anticancer drug development. *Cancer Res.* 2006;66(7):3351–3354, discussion 3354. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3627.
21. Strowitzki M.J., Dold S., von Heesen M., et al. The phosphodiesterase 3 inhibitor cilostazol does not stimulate growth of colorectal liver metastases after major hepatectomy. *Clin. Exp. Metastasis.* 2014;31:795–803.
22. Suemizu H., Monnai M., Ohnishi Y., Ito M., et al. Identification of a key molecular regulator of liver metastasis in human pancreatic carcinoma using a novel quantitative model of metastasis in NOD/SCID/gammanull (NOG) mice. *Int. J. Oncol.* 2007;31(4):741–751.
23. Talmadge J.E., Meyers K.M., Prieur D.J., Starkey J.R. Role of NK cells in tumour growth and metastasis in beige mice. *Nature.* 1980;284(5757):622–624. DOI: 10.1038/284622a0.
24. Zijlstra A., Mellor R., Panzarella G. A quantitative analysis of rate-limiting steps in the metastatic cascade using human-specific real-time polymerase chain reaction. *Cancer Res.* 2002;62(23):7083–7092.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Тимофеева Наталья Юрьевна\***, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»;  
e-mail: [bla11blabla@yandex.ru](mailto:bla11blabla@yandex.ru)

**Бубнова Наталья Владимировна**, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»;  
e-mail: [natalia210485@yandex.ru](mailto:natalia210485@yandex.ru)

**Стручко Глеб Юрьевич**, д.м.н., проф., ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»;  
e-mail: [glebstr@mail.ru](mailto:glebstr@mail.ru)

**Кострова Ольга Юрьевна**, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»;  
e-mail: [evkbiz@yandex.ru](mailto:evkbiz@yandex.ru)

**Стоменская Ирина Станиславовна**, к.м.н., доц., ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»;  
e-mail: [irina.stomenskaja@gmail.com](mailto:irina.stomenskaja@gmail.com)

**Natalia Yu. Timofeeva\***, I.N. Ulyanov Chuvash State University;  
e-mail: [bla11blabla@yandex.ru](mailto:bla11blabla@yandex.ru)

**Natalia V. Bubnova**, I.N. Ulyanov Chuvash State University;  
E-mail: [natalia210485@yandex.ru](mailto:natalia210485@yandex.ru)

**Gleb Yu. Struchko**, Dr. Sci. (Med.), Prof., I.N. Ulyanov Chuvash State University;  
e-mail: [glebstr@mail.ru](mailto:glebstr@mail.ru)

**Olga Yu. Kostrova**, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., I.N. Ulyanov Chuvash State University;  
e-mail: [evkbiz@yandex.ru](mailto:evkbiz@yandex.ru)

**Irina S. Stomenskaya**, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., I.N. Ulyanov Chuvash State University;  
e-mail: [irina.stomenskaja@gmail.com](mailto:irina.stomenskaja@gmail.com)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author