



Consiglio Nazionale
delle Ricerche

BENESSERE DEGLI ANIMALI DA LABORATORIO E METODI ALTERNATIVI ALLA SPERIMENTAZIONE ANIMALE

Modelli animali in oncologia

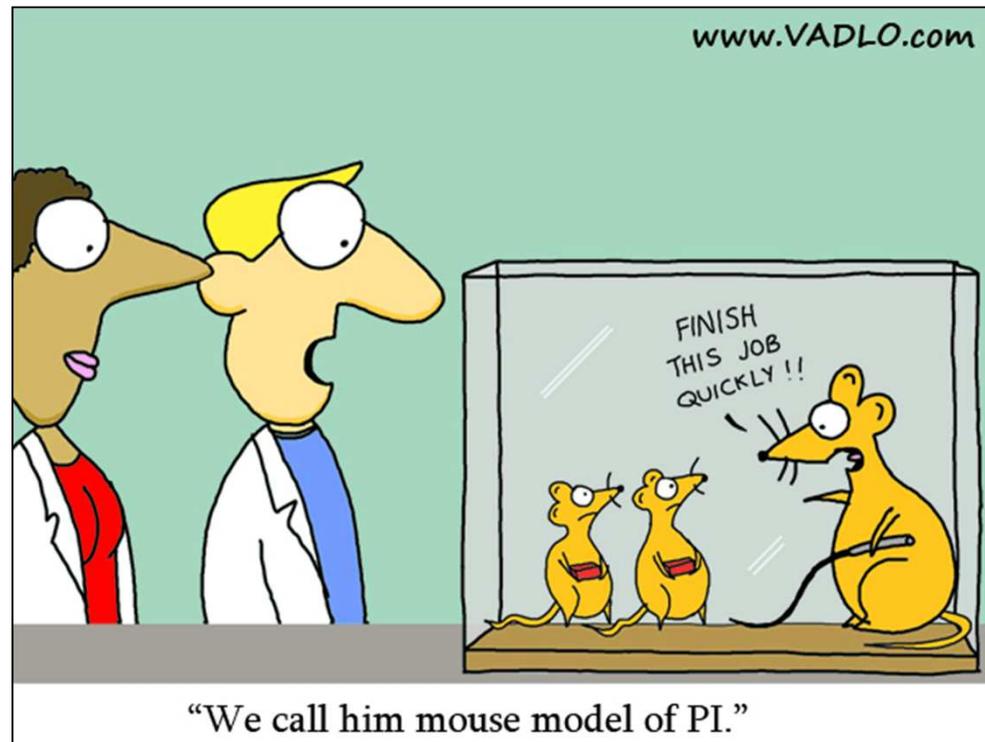
Dr.ssa Chiara Focaccetti

18.10.2019



DI COSA PARLEREMO

- Definizione di modello animale
- Specie utilizzate come modelli animali in oncologia
- Evoluzione dei modelli animali in oncologia
- Metodiche per lo sviluppo di un modello animale di tumore
- Esempi di modelli utilizzati



- **Definizione di modello animale**



modello

[mo-dèl-lo] agg. m. e f. invar.

8. (scient.) schema teorico che descrive un fenomeno o un insieme di fenomeni mettendone in evidenza le caratteristiche strutturali ritenute più rilevanti: *modello dell'atomo, del cervello*

COSA E' UN MODELLO?

Un modello è quella condizione che permette di studiare i processi biologici e comportamentali di base, o in cui può essere studiato un processo patologico indotto, e nel quale il fenomeno è simile, almeno sotto un certo punto di vista, allo stesso fenomeno nell'uomo o in altre specie animale.

PERCHE' ABBIAMO BISOGNO DI UN MODELLO?

Comprendere quali siano i passaggi che portano alla formazione di un tumore serve non solo per capirne la sua origine e le cause ma anche per decifrare l'insorgenza delle resistenze alle terapie.

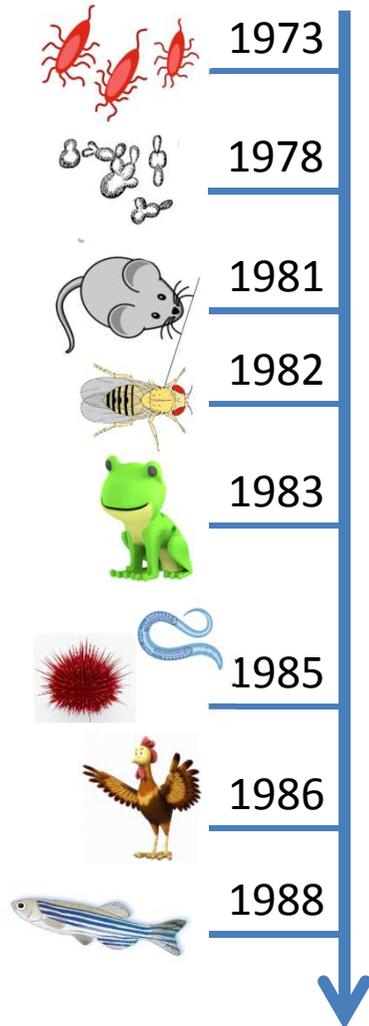
A COSA PUO' SERVIRE IL MODELLO?

Lo sviluppo preclinico di un farmaco è limitato dalla ristretta disponibilità di modelli animali adeguati che mimino l'evoluzione, la cinetica di crescita, l'eterogeneità e le proprietà funzionali e fenotipiche dei tumori umani.

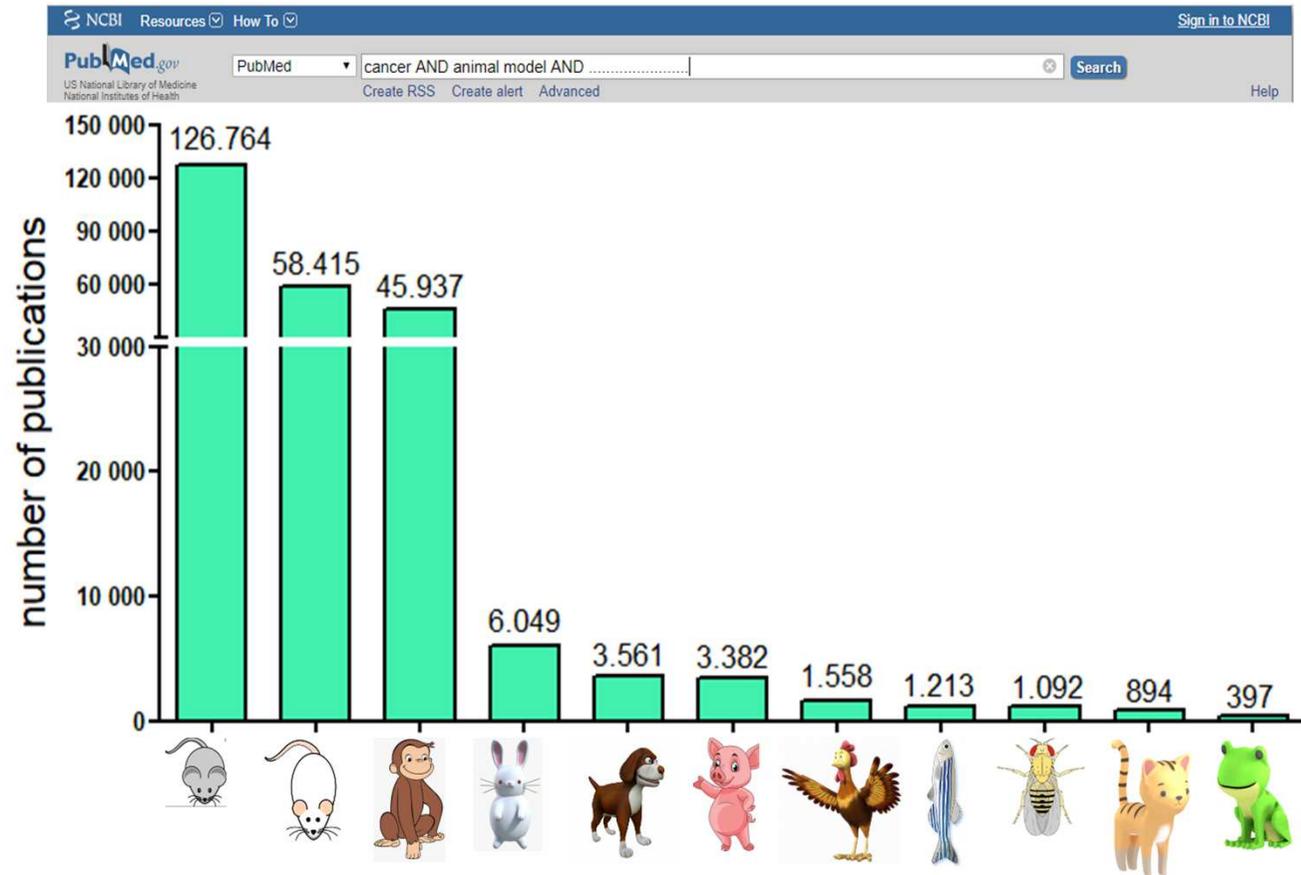
- **Specie utilizzate come modelli animali in oncologia**

Storicamente l'abilità di indurre cambiamenti ereditabili nel genoma animale correlava con la complessità della specie.

Sono numerose le specie animali che possono essere impiegate a scopi di ricerca di base o pre-clinica ma per varie ragioni alcune sono preferite o preferibili

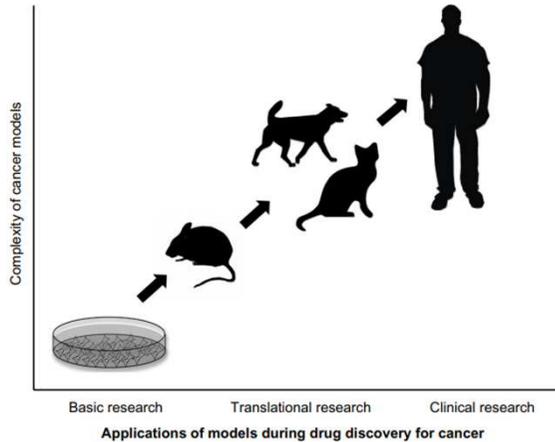


Il topo rapidamente è diventato l'animale d'elezione per comprendere le malattie umane e traslare le scoperte nella pratica clinica

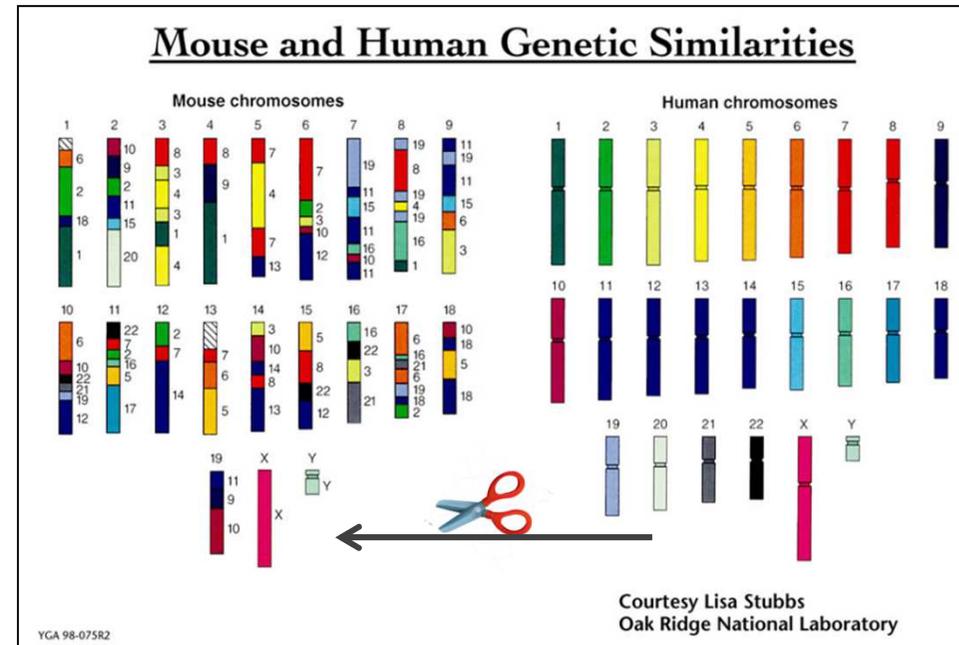


- **Specie utilizzate come modelli animali in oncologia**

Gli studi in vivo spesso portano a risultati diversi da quelli ottenuti ex vivo usando colture primarie o tessuti/organi espianati, a causa della complessità genetica e fisiologica di un organismo vivente. Anche i trials clinici spesso non replicano l'efficacia dimostrata negli studi preclinici.



Il modello animale ha delle limitazioni ma nonostante ciò il suo impiego resta comunque fondamentale e rilevante per gli studi clinici.



Il sequenziamento del genoma murino e di quello umano ha dimostrato che solo circa 300/30.000 geni sono specifici di una della due specie.

Tutti i topi generati per uno studio sono **geneticamente identici**, riducendo i fattori di disturbo, sono **stabulati nelle stesse condizioni** e **sottoposti alle stesse procedure** sperimentali

L'intervallo inter-generazionale è di soli **3 mesi**, quindi si può creare rapidamente un **campione valido** per una analisi statistica.

- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

I modelli animali esistenti e in sviluppo per il campo oncologico si possono riunire in diverse categorie in base al grado di complessità

PRIMA GENERAZIONE: trapianto di cellule tumorali

- Xenotrapianto, trapianto singenico
- Trapianto sottocutaneo, ortotopico, endovena

SECONDA GENERAZIONE: modelli transgenici (GEMM*)

- Espressione costitutiva di un onco/gene
- Espressione condizionale di un onco/gene

TERZA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (1)

- Espressione temporalmente e spazialmente controllata di mutazioni oncogene e loro combinazione

QUARTA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (2)

- Modelli di sviluppo spontaneo del tumore che mimano evoluzione ed eterogeneità
- Xenograft derivati dai pazienti (PDX)

QUINTA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (3)

- Modelli di terza o quarta generazione che mimano la progressione metastatica
- Modelli high-throughput per validazione di target (CrispR/Cas9)



*GEMM: genetically engineered mouse model

- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

PRIMA GENERAZIONE: trapianto di cellule tumorali

- Trapianto singenico, Xenotrapianto
- Trapianto sottocutaneo, ortotopico, endovena

Trapianto singenico: impianto di cellule, tessuti o organi da un animale ad un altro della stessa specie



BALB/cj



C57BL/6J

Xenotrapianto: impianto di cellule, tessuti o organi da un animale di una specie ad uno di un'altra



SCID mice



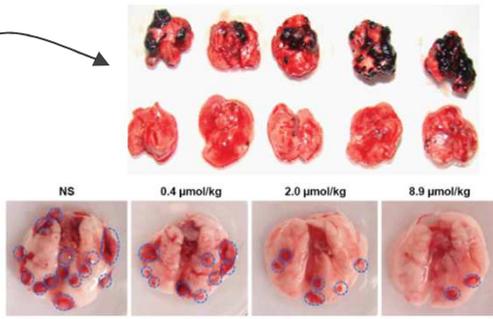
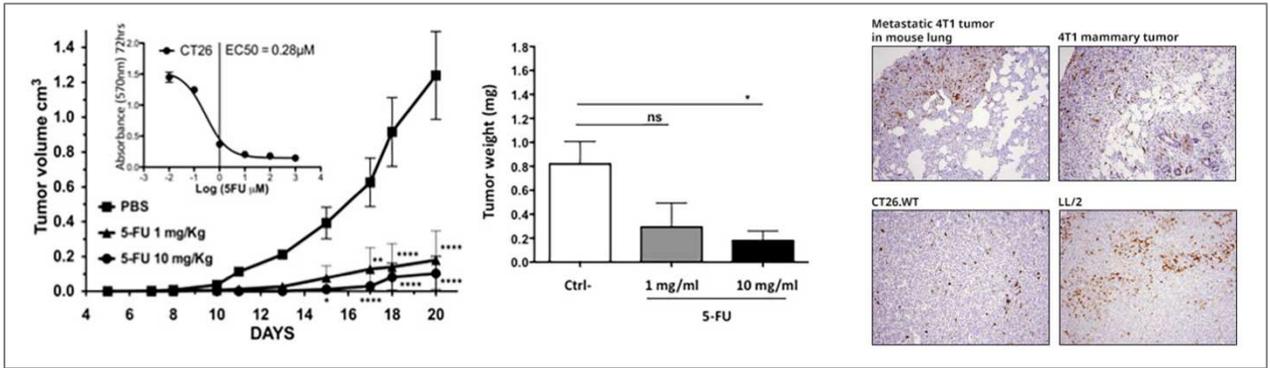
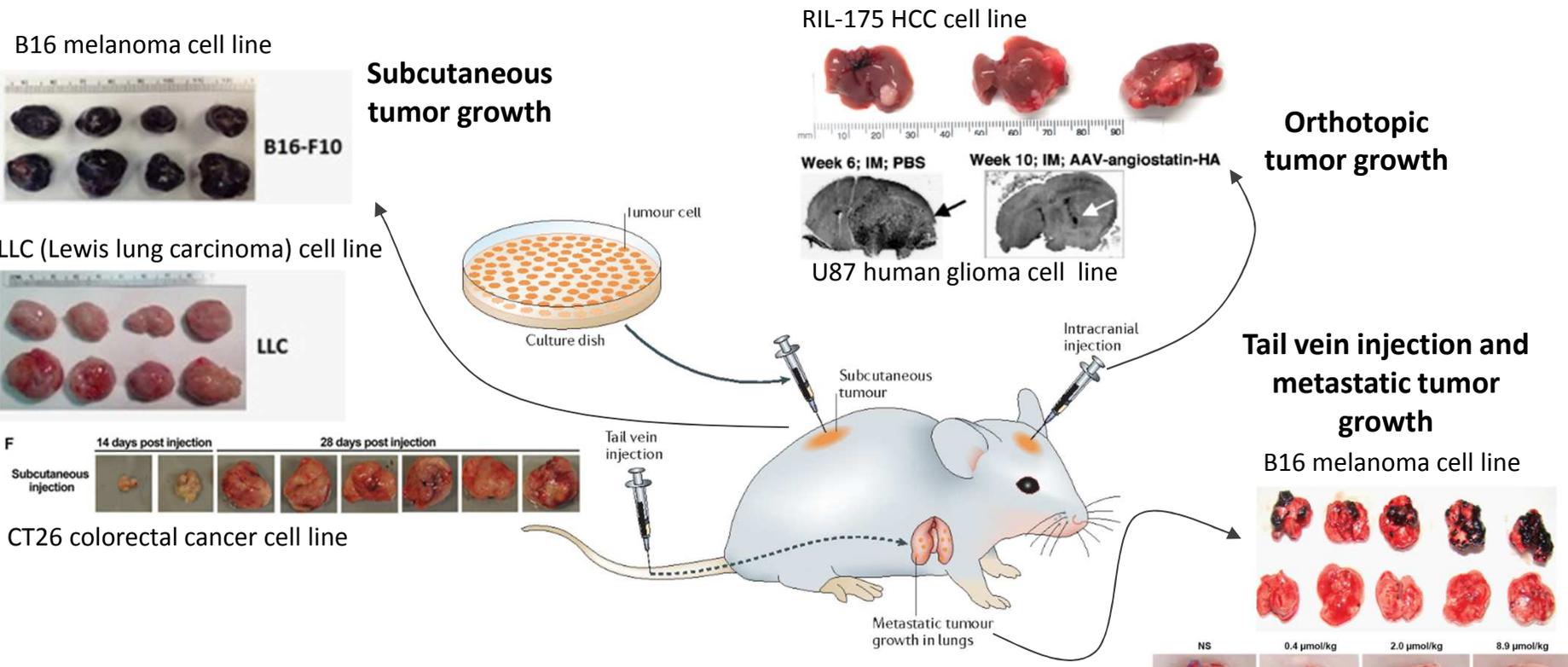
Athymic nude mice

Topo	Alterazione genetica spontanea	Sistema immunitario	Capacità di crescita tumorale
Nudo	Foxn1 ^{mut}	<ul style="list-style-type: none"> • Assenza cellule T; • Aumento NK; • Immunità innata funzionale. 	Variabile
SCID	Prkdc ^{scid}	<ul style="list-style-type: none"> • Assenza cellule T e B; • funzionalità NK; • Immunità innata funzionale 	Variabile
NOD-SCID	SCID mice x NOD (Non Obese Diabetic mice)	<ul style="list-style-type: none"> • Assenza cellule T e B; • funzionalità NK residuale; • Immunità innata funzionalità ridotta; • Perdita del complemento; • Macrofagi funzionalmente immaturi. 	Aumentata

• **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

PRIMA GENERAZIONE: trapianto di cellule tumorali

- Trapianto singenico, Xenotrapianto
- Trapianto sottocutaneo, ortotopico, endovena



LLC (Lewis lung carcinoma) cell line

Talebian, PlosOne, 2012
 Dranoff, Nat Rev Imm, 2012
 Ma HI, Cancer Res, 2002
 Gan T, Dovepress, 2015
 Brown, Method prot, 2018
 Focaccetti C, PlosOne, 2015

• **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

SECONDA GENERAZIONE: modelli transgenici (GEMM*)

- Espressione costitutiva di un onco/gene
- Espressione condizionale di un onco/gene

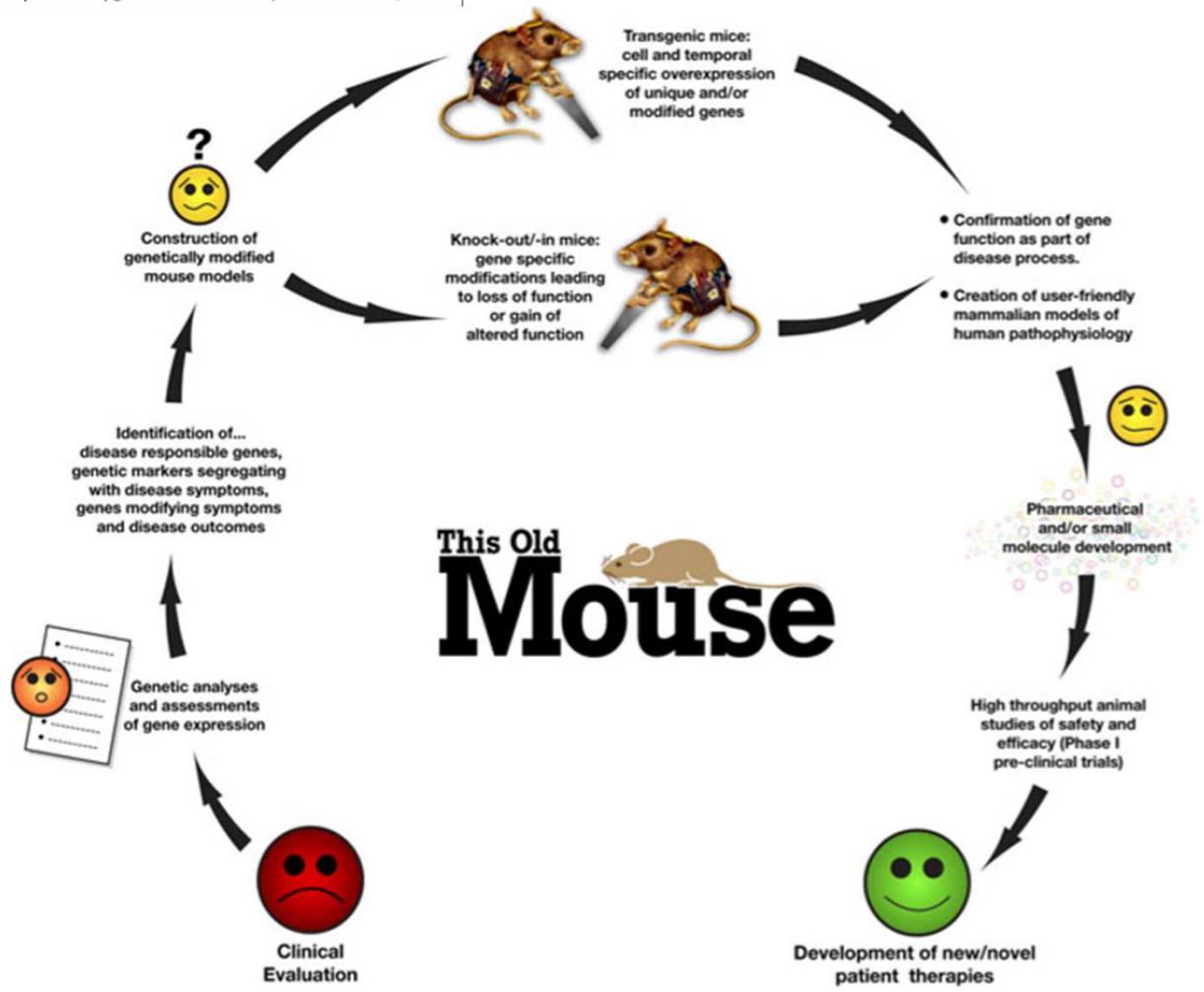
Proc. Nat. Acad. Sci. USA
 Vol. 73, No. 4, pp. 1260-1264, April 1976
 Cell Biology

Germ line integration and Mendelian transmission of the exogenous Moloney leukemia virus

(in vitro infection of 4-8 cell embryos with exogenous Moloney leukemia virus/leukemia/genetic transmission/DNA annealing kinetics/gene amplification)

RUDOLF JAENISCH

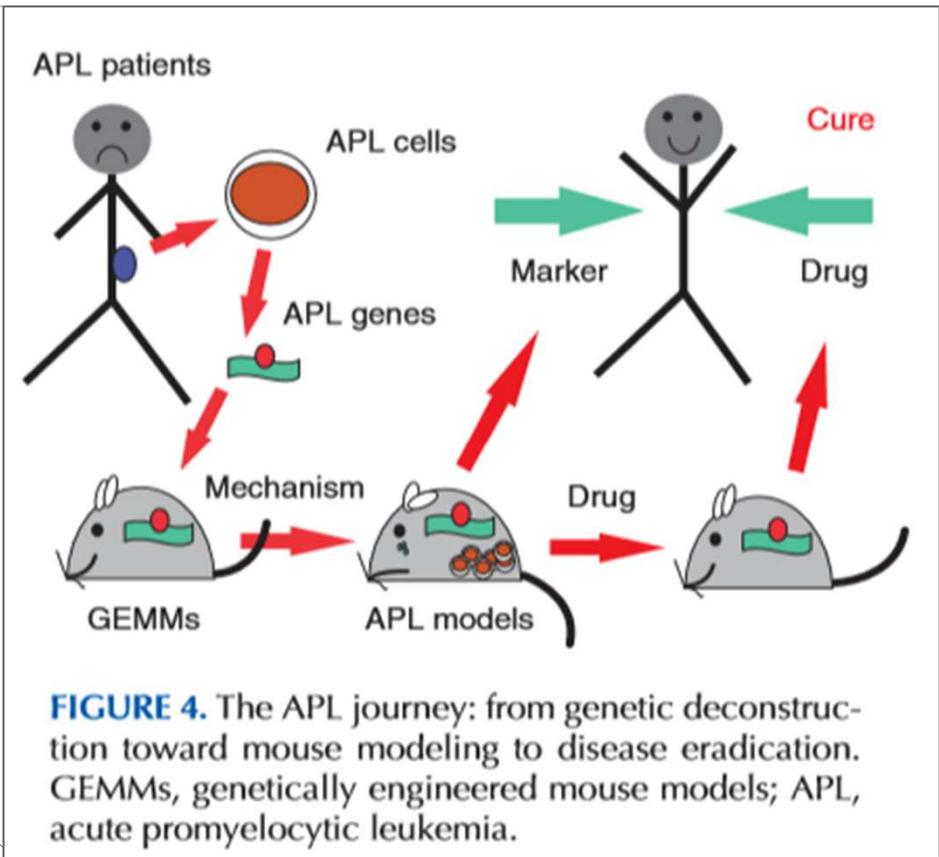
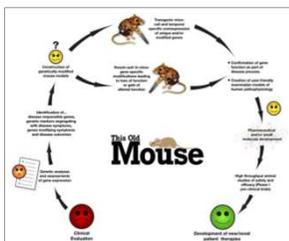
Tumor Virology Laboratory, The Salk Institute, P.O. Box 1809, San Diego, California 92111



• **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

SECONDA GENERAZIONE: modelli transgenici (GEMM*)

- Espressione costitutiva di un onco/gene
- Espressione condizionale di un onco/gene



Nel **2007** la FELASA* ha rilasciato delle linee guida per mettere ordine nella nomenclatura degli animali transgenici.

La definizione di **TRANSGENICO**:

Un animale in cui siano avvenute mutazioni spontanee o chimicamente indotte o eventi di ricombinazione del DNA casuale o gene-specifica che siano incorporate in ciascuna cellula dell'animale e siano divenute ereditabili.

*FELASA: Federation of European Laboratory Animal Science Associations

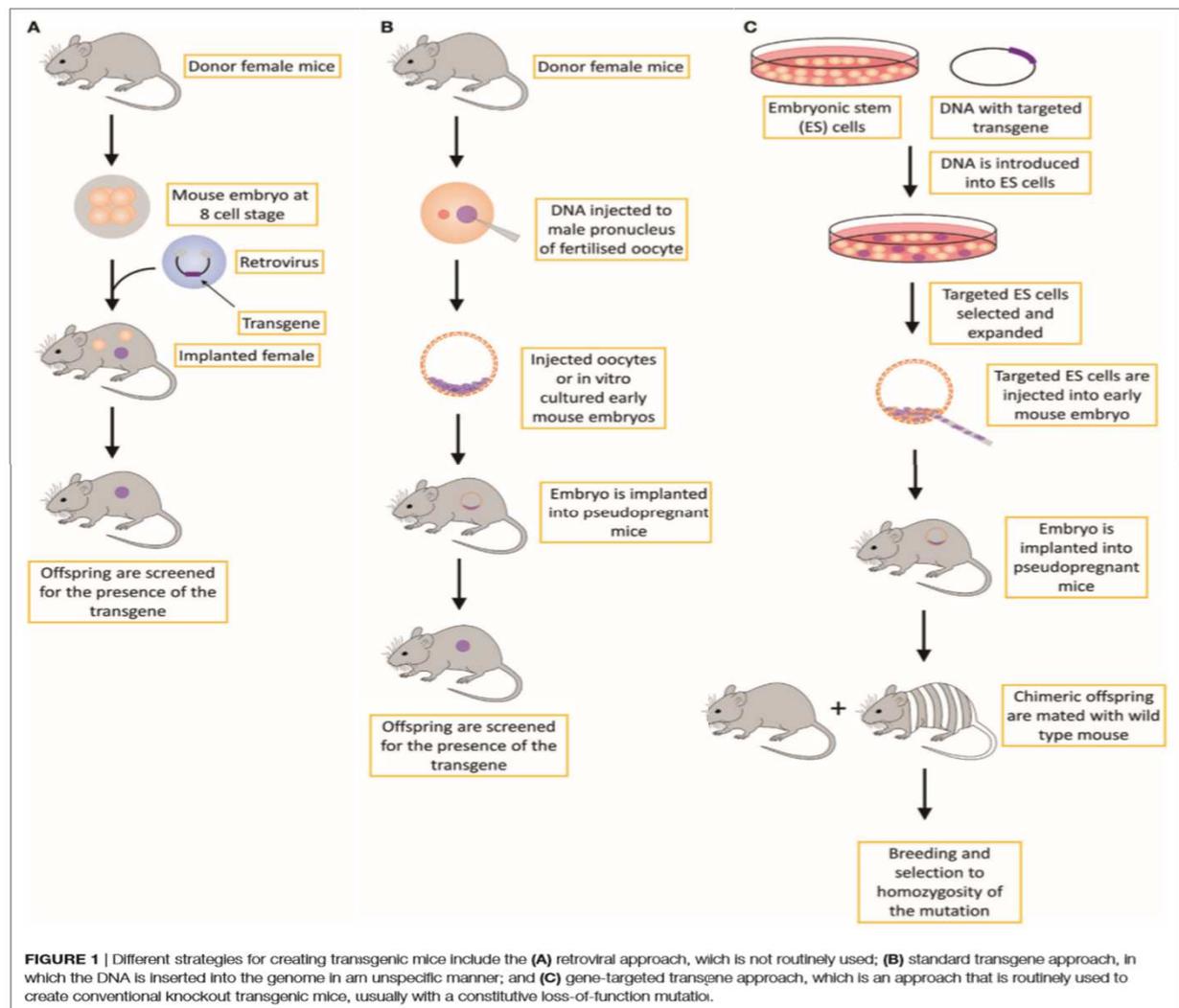
• **Metodiche per lo sviluppo di un modello animale di tumore**

SECONDA GENERAZIONE: modelli transgenici (GEMM*)

- Espressione costitutiva di un onco/gene
- Espressione condizionale di un onco/gene

Gli animali transgenici possono essere prodotti di diversi modi introducendo DNA nel genoma del topo

- A. **Infezione retrovirale** degli embrioni a diversi gradi di sviluppo.
- B. Per **microiniezione di costrutti di DNA** o nuovi reagenti endonucleasici (Cas9) direttamente nel pronucleo dell'uovo fertilizzato.
- C. Una strategia che si chiama **"gene-targeted transgene approach"** in cui si manipola in un locus preciso la cellula staminale embrionale (ES) introducendo una mutazione che induce la perdita di funzione. Queste cellule sono poi inserite in una blastocisti e trapiantate in una femmina ricevente pseudogravida.



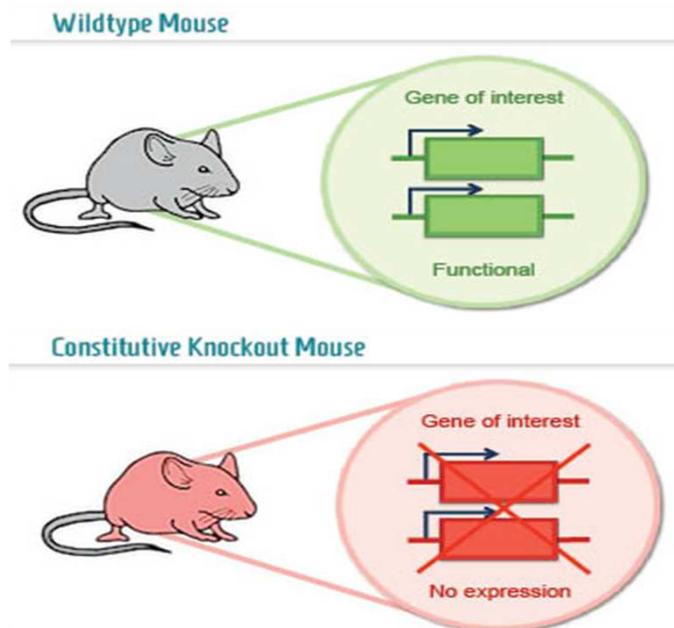
- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

SECONDA GENERAZIONE: modelli transgenici (GEMM*)

- Espressione costitutiva di un onco/gene
- Espressione condizionale di un onco/gene

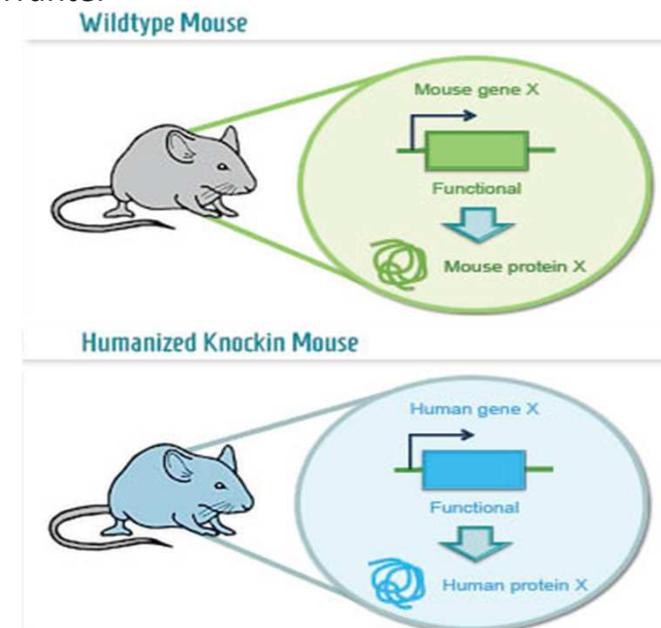
➤ **Topi Knockout: topo transgenico in cui un gene è eliminato o silenziato causando una perdita di funzione (Loss of function)**

- Permette di verificare la validità di una terapia mirata perché il bersaglio può essere selettivamente inattivato nel tumore
- Permette di comprendere la relazione di causalità per lo sviluppo del tumore



➤ **Topi Knockin: topo transgenico in cui un gene è inserito o sostituito ad un altro causando un'acquisizione di funzione (Gain of function)**

- Permette di comprendere in vivo il ruolo di un oncogene nella cancerogenesi osservandone l'espressione a livello trascrizionale o traduzionale
- L'incorporazione casuale nel genoma può risultare in una espressione eccessiva o spazio-temporalmente aberrante.



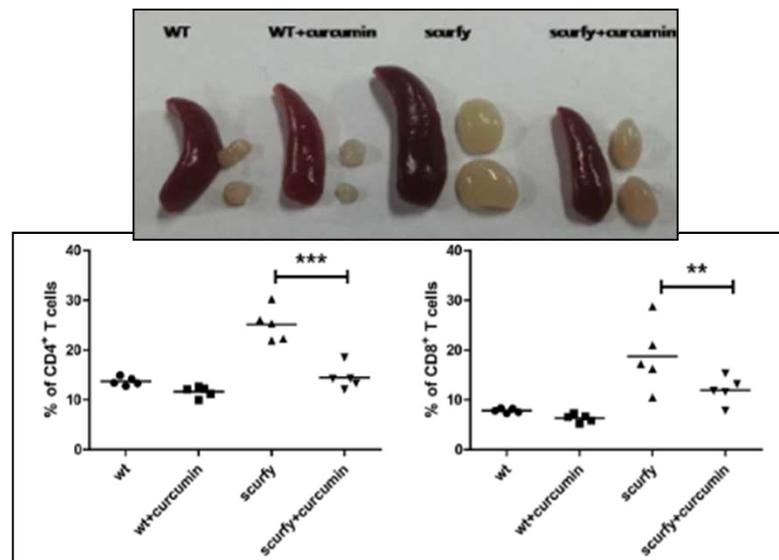
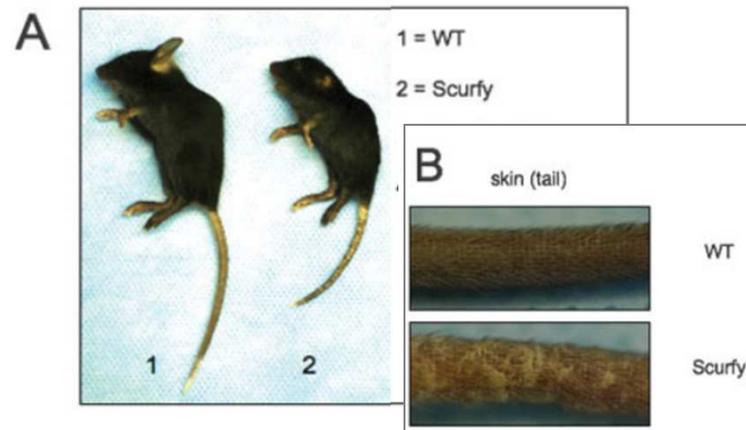
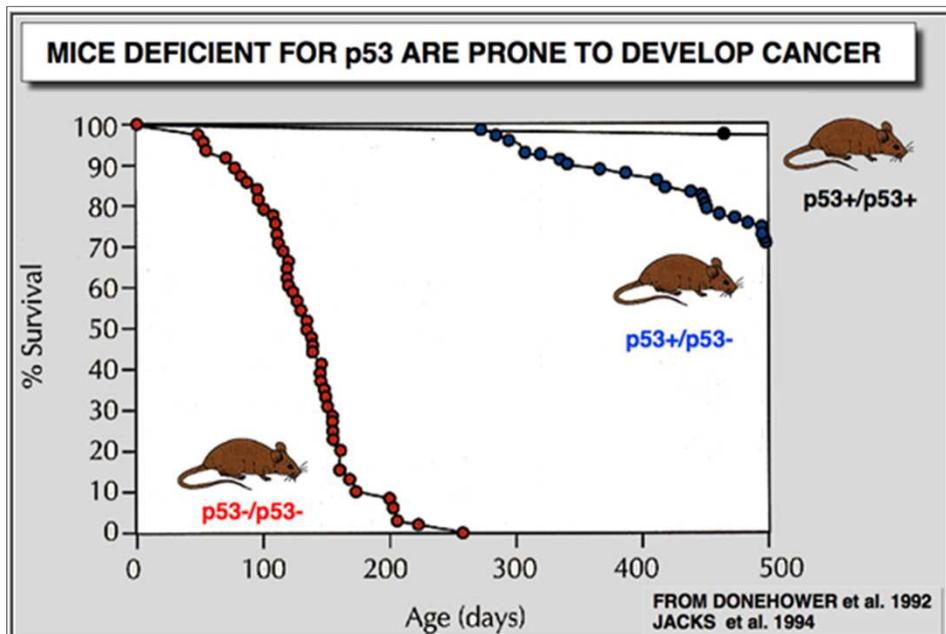
- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

SECONDA GENERAZIONE: modelli transgenici (GEMM*)

- Espressione costitutiva di un oncogene
- Espressione condizionale di un oncogene

Esempi di Topi Knockout

- **Sindrome murina Scurfy:** mutazione in *Foxp3*; i maschi mostrano ereditarietà associata al cromosoma X, poliendocrinopatia, enteropatia, difetto di accrescimento e dermatite, morte durante la terza-quarta settimana di vita
- **Perdita di p53:** i topi che non hanno p53 hanno uno sviluppo normale ma sono più suscettibili allo sviluppo di tumori



Huter EN, Eur J Immunol, 2008
 Lee, Phytomed, 2017
 Donehower, Nature, 1992

• **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

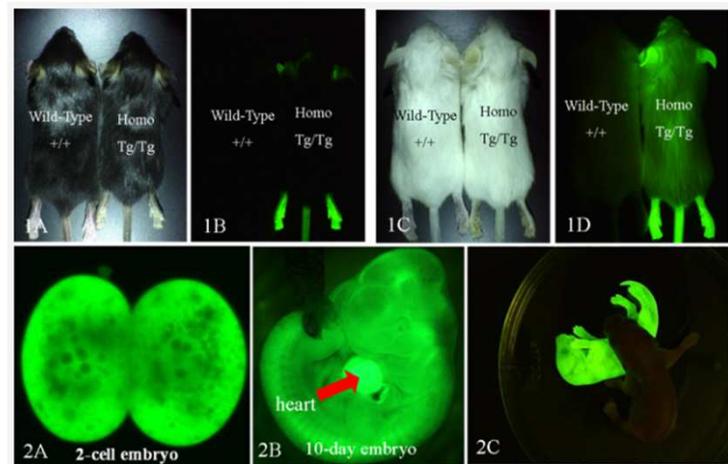
SECONDA GENERAZIONE: modelli transgenici (GEMM*)

- Espressione costitutiva di un oncogene
- Espressione condizionale di un oncogene

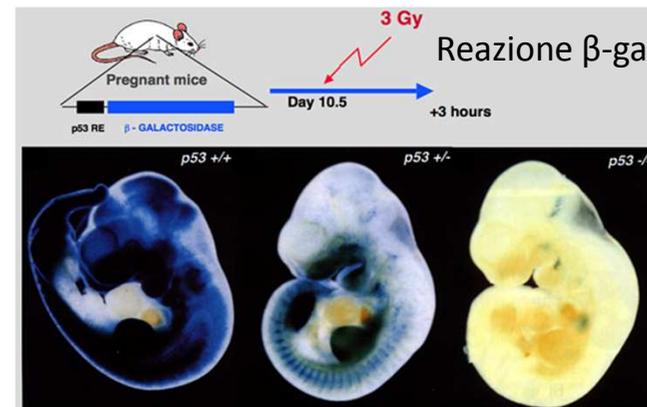
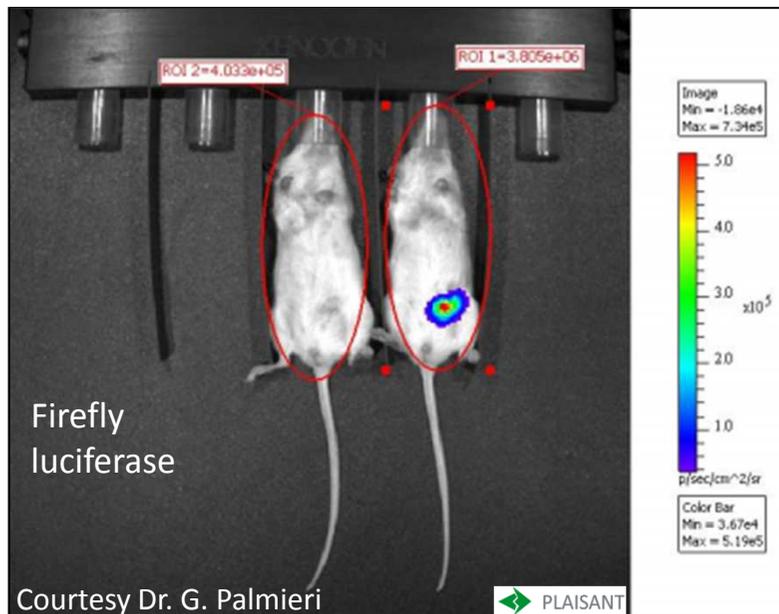
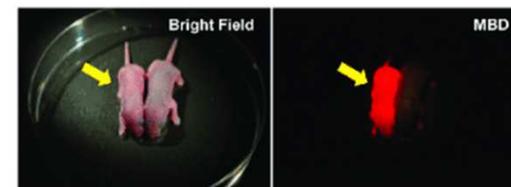
GFP: green fluorescent protein

Esempi di Topi Knockin

- **Reporter model** in cui un transgene è impiegato per la visualizzazione di eventi proteomici, metabolici, cellulari o genetici direttamente in vivo.
- La tecnologia più usata è l'imaging in **fluorescenza** (GFP, RFP) o **bioluminescenza** (firefly luciferase)
- Metodica in linea col principio delle 3R: **REDUCTION** (meno animali impiegati), **REFINEMENT** (meno dannoso per l'animale)



RFP: red fluorescent protein

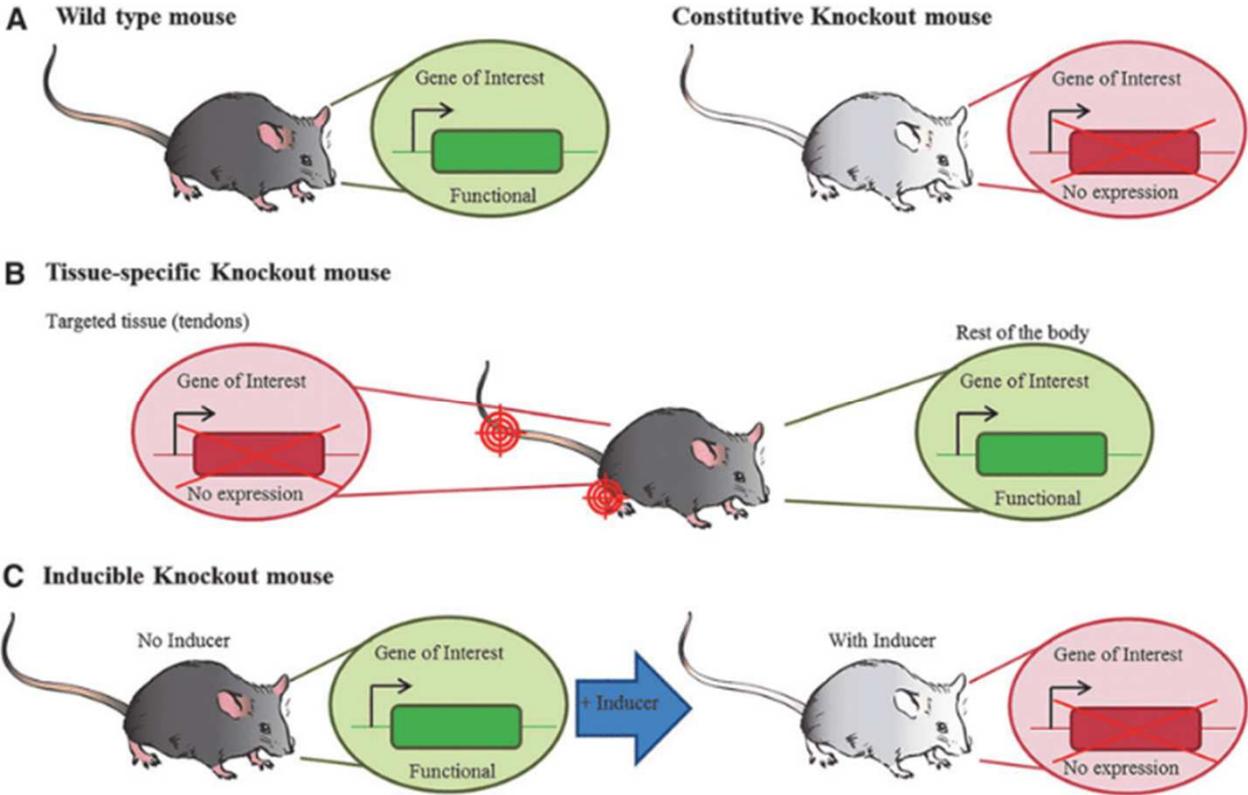
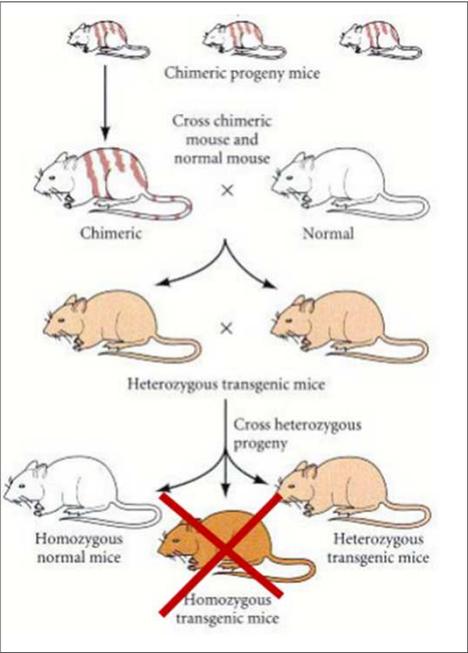


• **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

SECONDA GENERAZIONE: modelli transgenici (GEMM*)

- Espressione costitutiva di un onco/gene
- Espressione condizionale di un onco/gene

- Mutante costitutivo: **in/attivazione permanente** del gene in ciascuna cellula dell'organismo
- Mutante condizionale: **in/attivazione inducibile** del gene in cellule o tessuti specifici o in un momento specifico

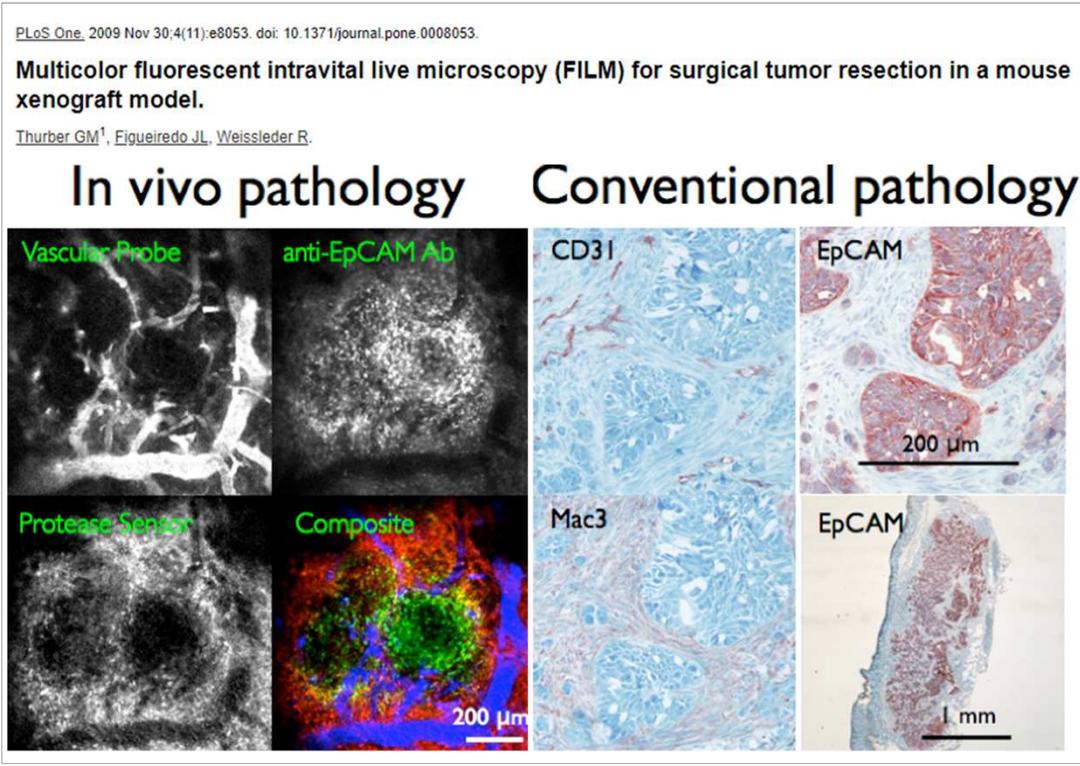
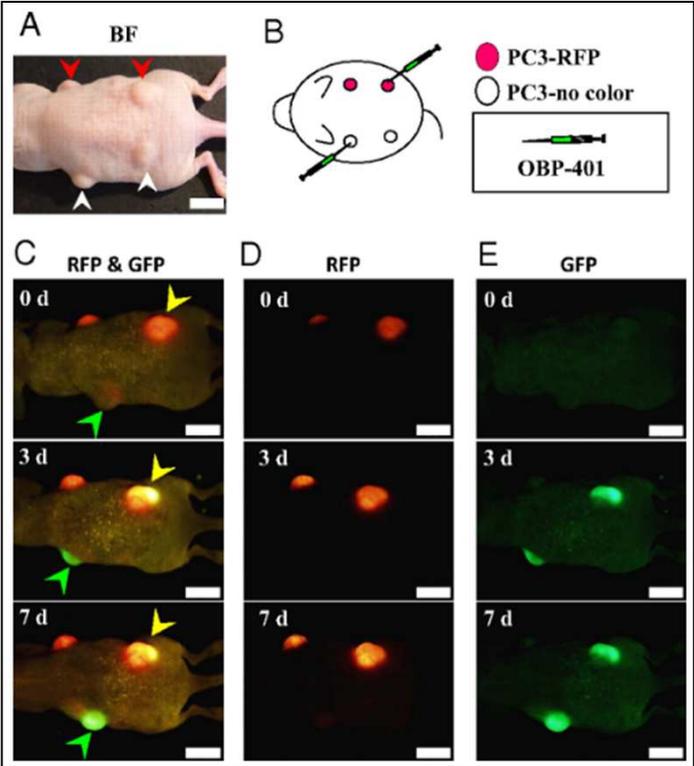


- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

TERZA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (1)

- Espressione temporalmente e spazialmente controllata di mutazioni oncogene e loro combinazione

La combinazione delle fluorescenze permette di osservare/seguire più cose contemporaneamente



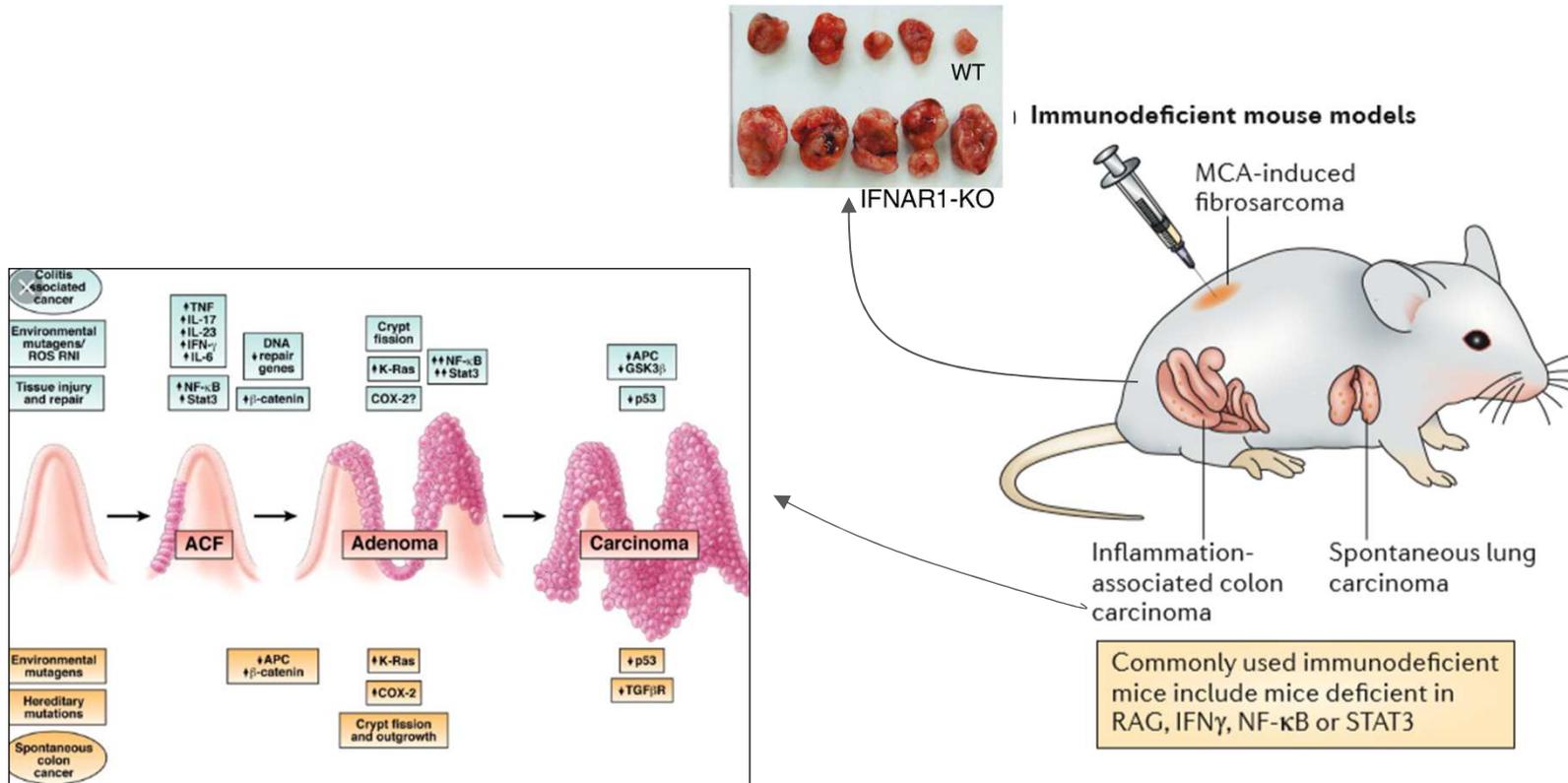
- Andrius Masedunskas, J Vis Exp. 2013; Intravital Microscopy for Imaging Subcellular Structures in Live Mice Expressing Fluorescent Proteins.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3857357/>

- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

QUARTA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (2)

- Modelli di sviluppo spontaneo del tumore che mimano evoluzione ed eterogeneità
- Xenograft derivati dai pazienti (PDX)

➤ **Cancerogenesi spontanea indotta chimicamente**



Topi immunodeficienti hanno una suscettibilità allo sviluppo dei tumori maggiore

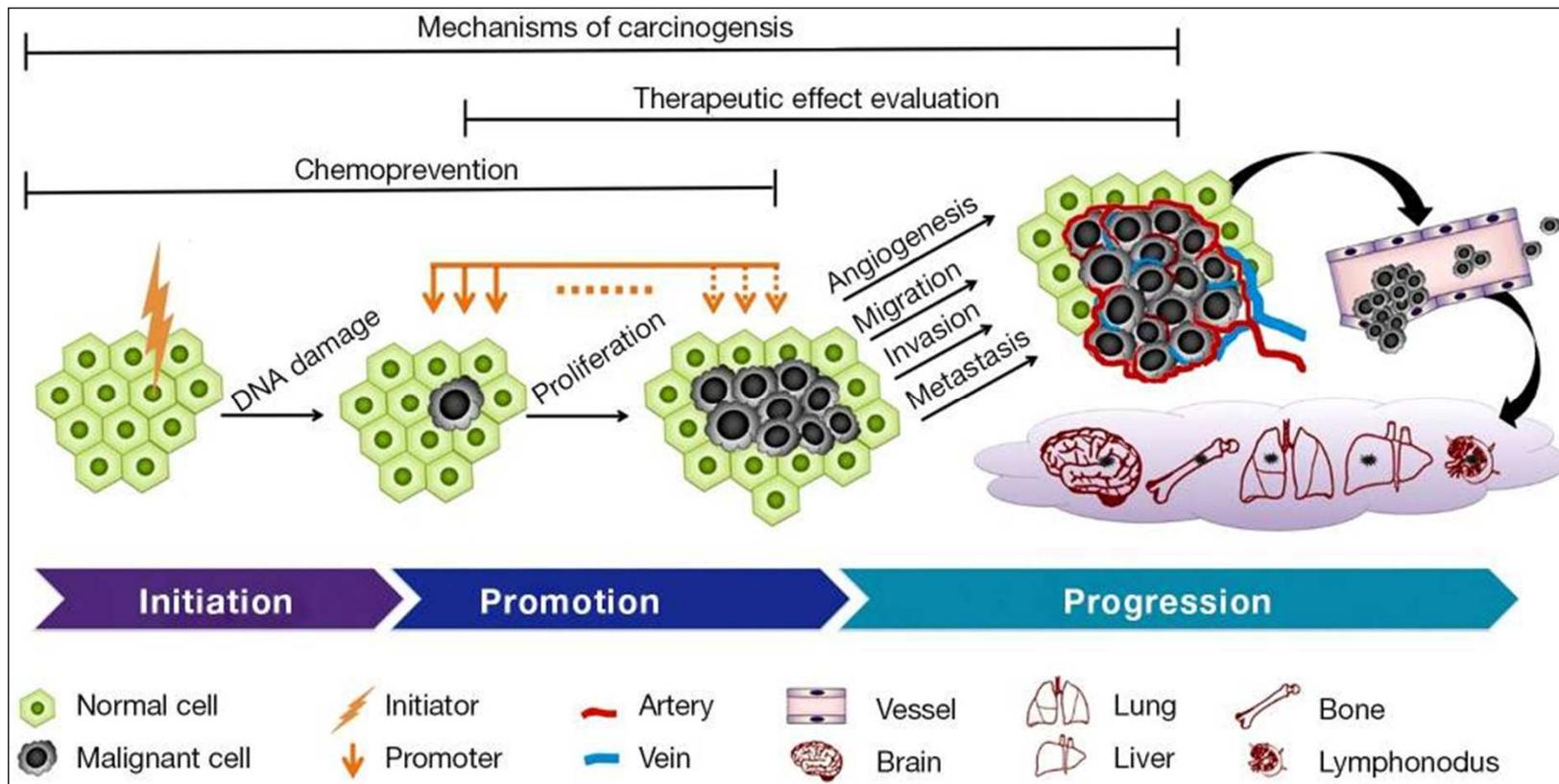
La stimolazione con sostanze cancerogene può portare più facilmente allo sviluppo di tumori

- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

QUARTA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (2)

- Modelli di sviluppo spontaneo del tumore che mimano evoluzione ed eterogeneità
- Xenograft derivati dai pazienti (PDX)

Sono tre le fasi del processo di cancerogenesi a seguito della somministrazione di un cancerogeno. Sono mostrate le numerose applicazioni di ricerca di base che possono essere effettuate su questi modelli animali di tumori primari



- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

QUARTA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (2)

- Modelli di sviluppo spontaneo del tumore che mimano evoluzione ed eterogeneità
- Xenograft derivati dai pazienti (PDX)

Table 1

Classification of some chemical carcinogens in experimental animal models

Classification	Compound	Abbreviation	Mechanism	Target organ	Susceptible species
N-nitroso compound (NOC)	N-Nitrosodiethylamine	DENA	Complete carcinogen/initiator	Liver	Rat (35,39-46), mouse (47,48), primate (49)
			Initiator	Kidney	Rat (50), mouse (50)
			Initiator	Lung	Rat (51), mouse (52)
	N-Methyl-No-nitro-N-nitrosoguanidine	MNNG	Complete carcinogen	Stomach	Rat (53,54), primate (49)
			Initiator	Liver	Rat (55), mouse (56)
	N-Nitrosodimethylamine	NDMA	Initiator	Esophagus	Rat (56)
			Initiator	Liver	Rat (57)
	Dimethylnitrosamine	DMN	Complete carcinogen/initiator	Lung	Mouse (58-61), rat (62,63)
			Complete carcinogen	Pancreas	Hamster (64)
	N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine	BBN	Complete carcinogen	Bladder	Mouse (65-69), rat (70-72)
Promoter			Liver	Rat (42,84), mouse (44,85)	
Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)	2-Acetylamino-fluorene	2-AAF	Complete carcinogen	Breast	Rat (86-92), mouse (93,94)
			Initiator	Skin	Mouse (87)
	7,12-Dimethylbenzanthracene	DMBA	Complete carcinogen	Oral cavity	Hamster (95)
			Complete carcinogen	Lung	Mouse (96,97)
	Benzo[a]pyrene	BaP	Complete carcinogen	Stomach	Mouse (98)
			Complete carcinogen	Colon	Mouse (99)
Naturally occurring compound	3-Methylcholanthrene	MCA	Initiator	Lung	Mouse (100), rat (101)
			Complete carcinogen	Liver	Rat (115), mouse (116,117), fish (118), primate (49)
	Asbestos	/	Complete carcinogen	Lung, pleura	Rat (119), mouse (120), hamster (120)
			Complete carcinogen	Peritoneum	Mouse (121), rat (122)



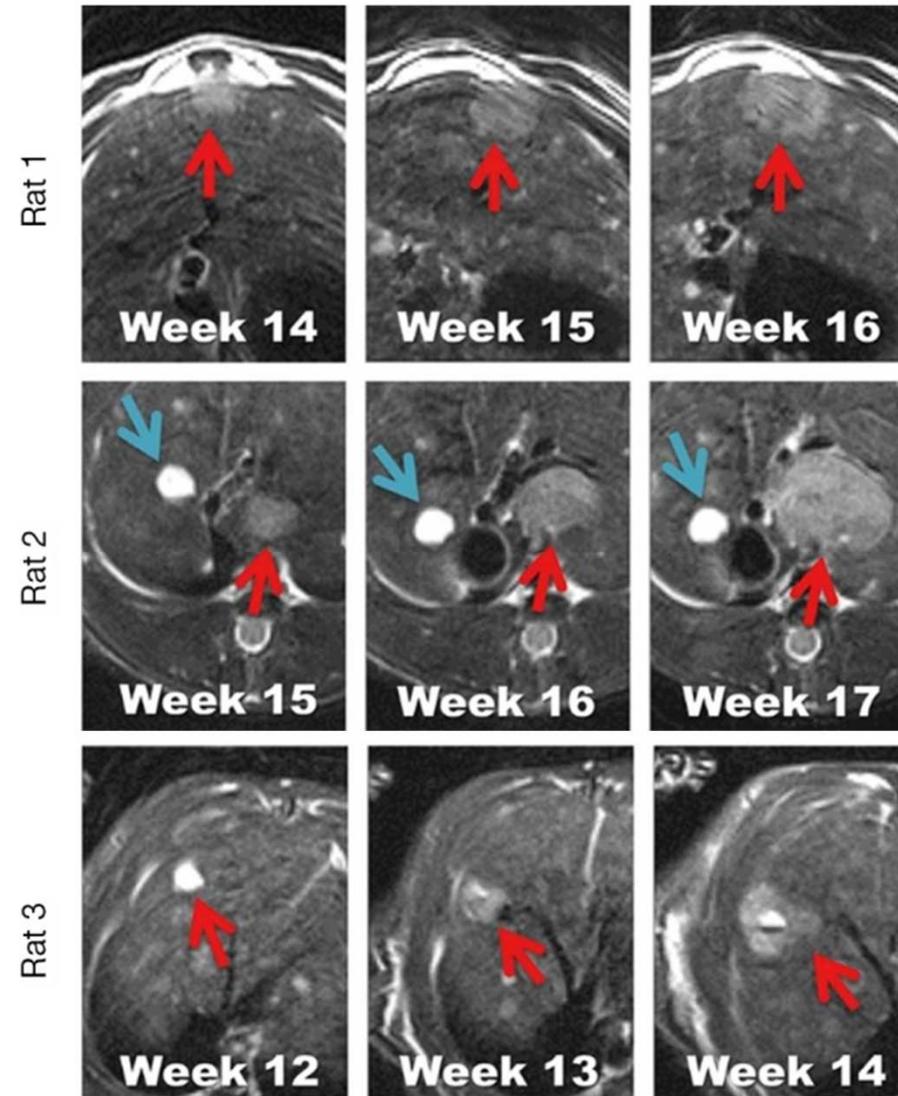
- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

QUARTA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (2)

- Modelli di sviluppo spontaneo del tumore che mimano evoluzione ed eterogeneità
- Xenograft derivati dai pazienti (PDX)

E' possibile monitorare la crescita tumorale attraverso la risonanza magnetica (MRI).

Questi mostrati sono tumori primari insorti in ratti Sprague Dawley e generati dalla somministrazione di nitrosodietilammina (DENA)



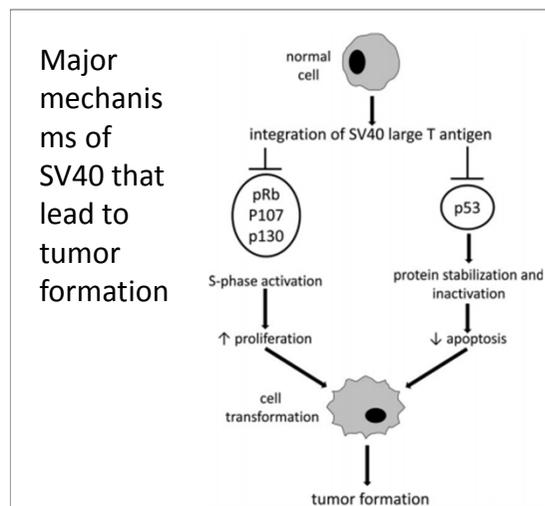
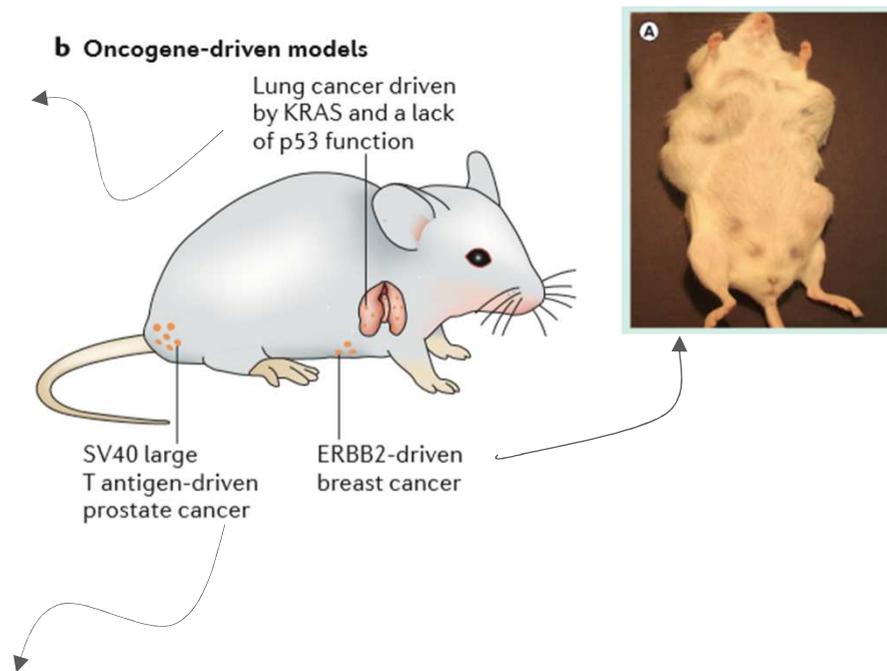
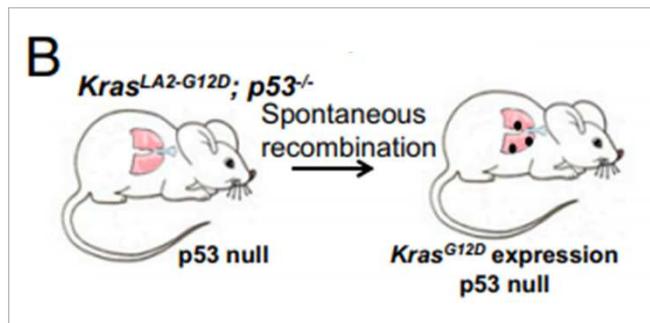
- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

QUARTA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (2)

- Modelli di sviluppo spontaneo del tumore che mimano evoluzione ed eterogeneità
- Xenograft derivati dai pazienti (PDX)

➤ **Cancerogenesi spontanea indotta da oncogeni o oncosoppressori**

L'espressione, tessuto-specifica e/o controllata nel tempo, di oncogeni o la perdita di funzione di oncosoppressori può portare alla formazione di tumori che ricapitolano le lesioni genetiche rilevate nei tumori umani



• **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

QUARTA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (2)

- Modelli di sviluppo spontaneo del tumore che mimano evoluzione ed eterogeneità
- Xenograft derivati dai pazienti (PDX)

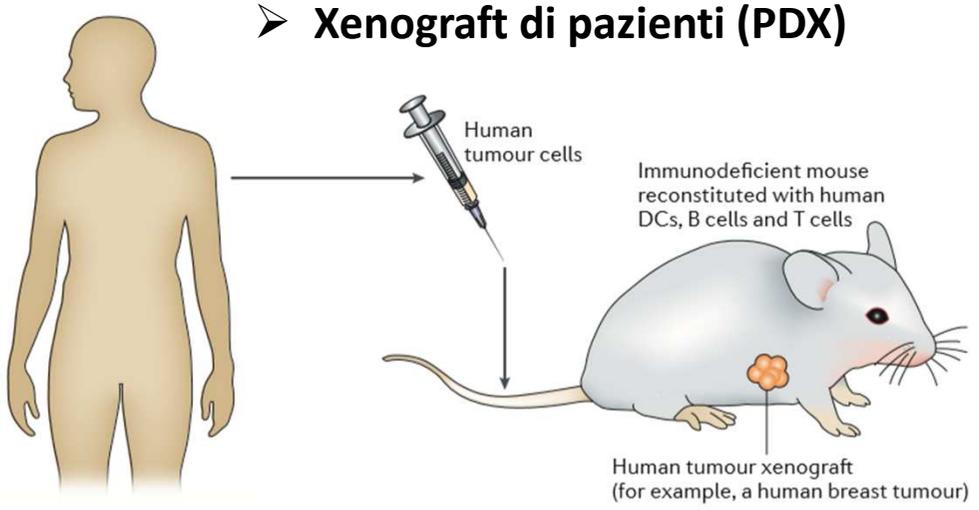


Figure 3 | **Humanized mouse tumour models.** Human tumour xenografts can be implanted in immunodeficient mice that have been reconstituted with human immune cells, including dendritic cells (DCs), B cells and T cells. This system can be used to characterize the human immune response that is directed against a human cancer. Potential applications include the optimization of immunotherapy and the identification of crucial immune pathways that promote tumour growth.

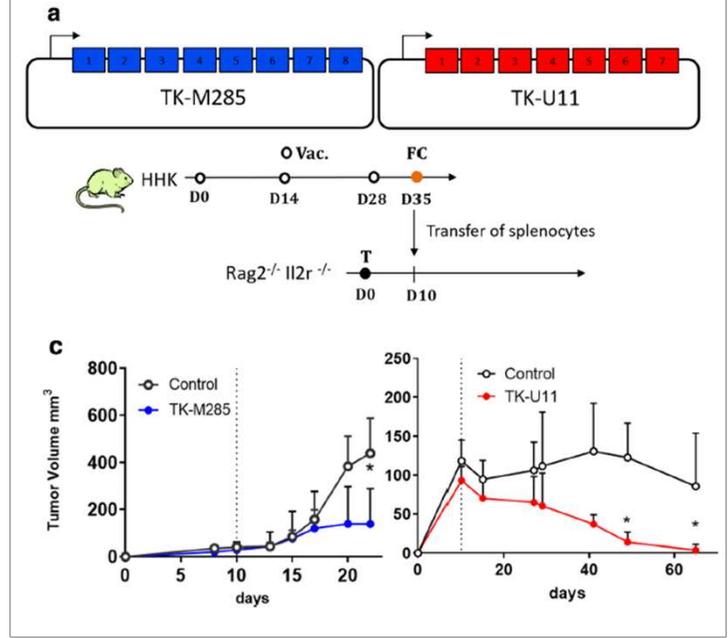


Table 1. Different Immunodeficient Host Mice Used for Humanization Protocols

Mouse common or branded name	Strain name	Provider	Refs
NSG B2m, $\beta 2m$ KO NSG	NOD <i>scid</i> <i>Il2r^{nu/nu}</i> <i>B2m^{nu/nu}</i>	www.jax.org	[18]
BALB <i>scid</i>	CBySmn.CB17- <i>Prkdc^{scid}</i>	www.jax.org ; www.taconic.com ; www.horizondiscovery.com	
BRG	BALB/c <i>Rag2^{-/-}</i> <i>IL-2Rg_c^{-/-}</i>	www.taconic.com	[13]
BRG hIL-3 hGM-CSF	BALB/c <i>Rag2^{-/-}</i> <i>IL-2Rg_c^{-/-}</i> <i>IL3^h</i> <i>CSF2^h</i>	www.taconic.com	[48]
BRGS	BALB/c <i>Rag2^{-/-}</i> <i>IL-2Rg_c^{-/-}</i> <i>NOD.sirpa</i>	www.axenis.fr	[13]
BRGSF	BALB/c <i>Rag2^{-/-}</i> <i>IL-2Rg_c^{-/-}</i> <i>Flt3^{-/-}</i>	www.axenis.fr	[43,44]
DRAG	NOD.Cg- <i>Rag1^{tm1Mom}</i> <i>Il2rg^{tm1Wjl}</i> Tg(HLA-DRA,HLA-DRB1*0401)39-2Kito/ScasJ	www.jax.org	[56]
HCTLA-4 C57BL/6	C57BL/6 <i>CTLA4^h</i>	www.biocytogen.com	[59]

Aurisicchio, J Exp Clin Caan Res, 2019
 Laroche, Trands in Immunol, 2018
 Dranoff, Nat Rev Imm, 2012

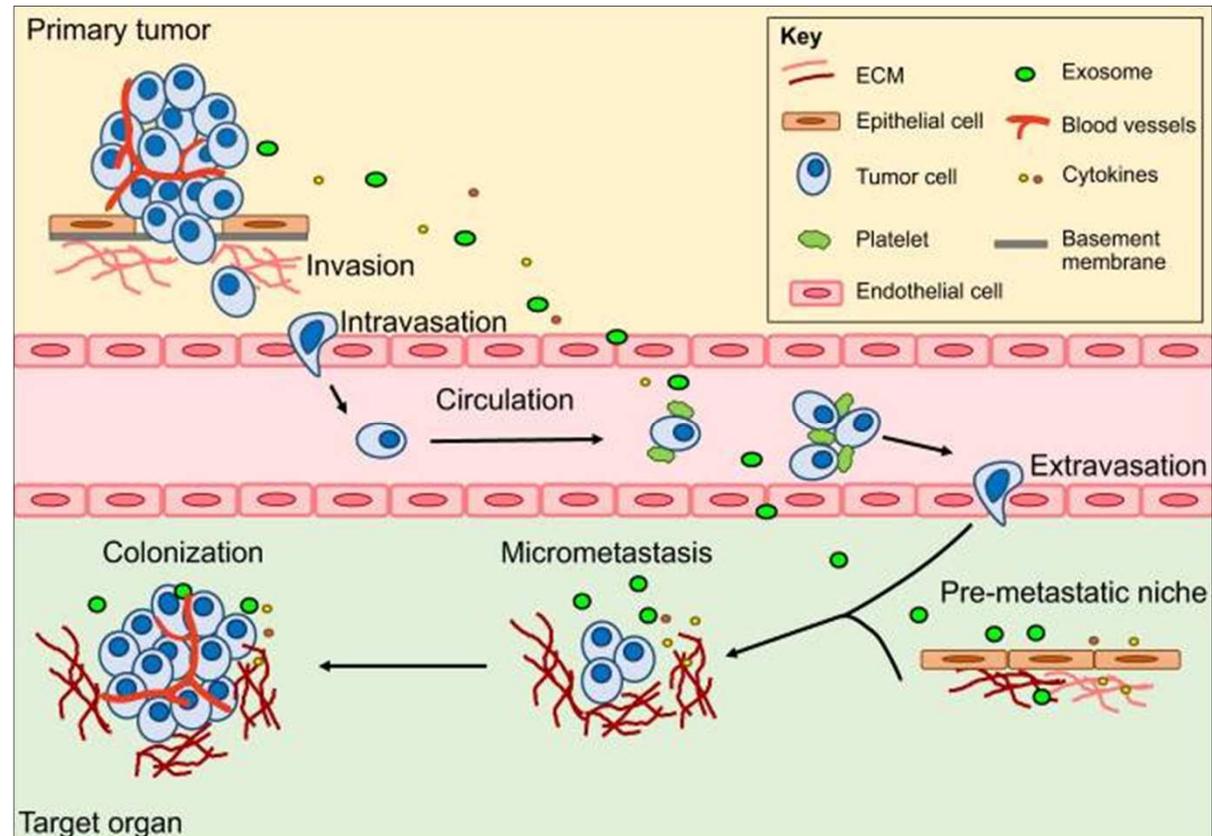
- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

QUINTA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (3)

- Modelli di terza o quarta generazione che mimano la progressione metastatica
- Modelli high-throughput per validazione di target (CrispR/Cas9)

La formazione delle metastasi è un processo che procede attraverso molti passaggi successivi.

La cellula tumorale inizia a migrare nei tessuti adiacenti (invasione locale) rompendo la membrana basale e invadendo la ECM. Continua con l'intravasazione e si sposta grazie al circolo sanguigno fino a raggiungere un sito distante nel quale abbandona il vaso, si attacca alla cellula endoteliale ed esce dal circolo sanguigno. Nel nuovo sito inizia a formare una metastasi subito o dopo un periodo di dormienza.



- **Evoluzione dei modelli animali in oncologia**

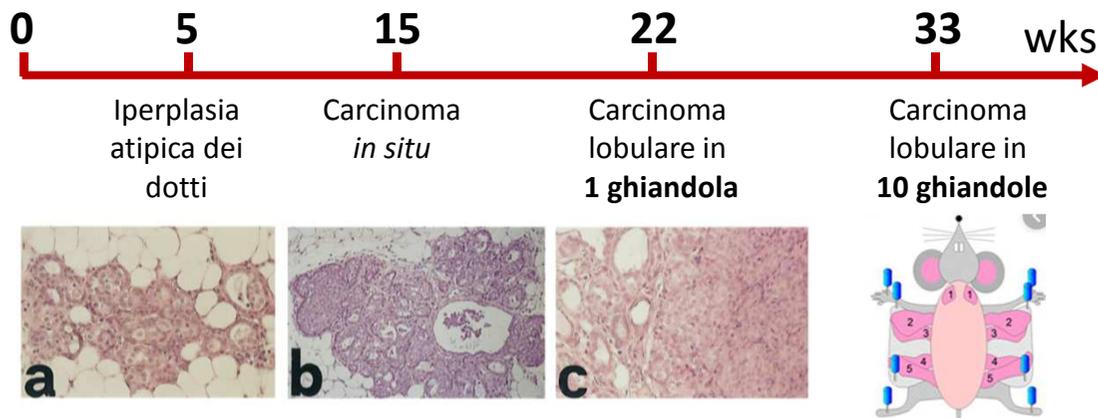
QUINTA GENERAZIONE: modelli transgenici avanzati (3)

- Modelli di terza o quarta generazione che mimano la progressione metastatica
- Modelli high-throughput per validazione di target (CrispR/Cas9)

Table 2. Examples of commonly used models of metastasis

Classification	Tumor type	Cells/tumors transplanted in mice or genotypic details of GEMM strain	Site of metastasis	References
Spontaneous metastasis				
Allograft, orthotopic	Melanoma	Mouse B16 cells (C57BL/6 mice)	Lungs	(Fidler, 1973)
Allograft, orthotopic	Mammary	Mouse <i>K14Cre; Cdh1^{FIF}; Trp53^{FIF}</i> (KEP) cell line and tumor fragments (FVB mice)	Lungs, lymph nodes, liver, spleen, gastrointestinal and urogenital tract, pancreas, mesenterium and peritoneum	(Coffelt et al., 2015; Derksen et al., 2006; Doornebal et al., 2013)
Allograft, ectopic (subcutaneous)	Lung	Mouse 4T1 cells (BALB/c mice)	Lungs and liver	(Aslakson and Miller, 1992)
		Mouse Lewis lung carcinoma (LLC1) cells (C57B1 mice)	Lungs	(Bertram and Janik, 1980)
Xenograft, orthotopic	Mammary	Human MDA-MB-231 cells (NOD/SCID mice)	Lungs, liver, lymph nodes	(Munoz et al., 2006)
		Human SUM1315 cells (NOD/SCID mice)	Lung and human bone implant	(Kuperwasser et al., 2005)
Xenograft, orthotopic	Colon	Human HCT116, SW-620, DLD-1 cells (Swiss Nu/Nu)	Peritoneum, diaphragm, lymph nodes, pancreas, liver and lungs	(Céspedes et al., 2007)
Xenograft, orthotopic	Melanoma	Human 113/6-4L melanoma cells derived from WM239A (CB17-SCID mice)	Central nervous system	(Cruz-Munoz et al., 2008)
Experimental metastasis				
Intra-venous	Mammary	Human MDA-MB-231 cells	Lung	(Minn et al., 2005)
	Mammary	Mouse Met-1 cells	Lung	(Qian et al., 2011)
	Melanoma	Human A7 and mouse B16 cells	Lung	(Gil-Bernabe et al., 2012)
	Melanoma	Mouse B16 cells	Lung	(Hiratsuka et al., 2002, 2006; Kaplan et al., 2005)
	Lung	Mouse Lewis lung carcinoma (LLC) cells	Lung	(Hiratsuka et al., 2002, 2006; Kaplan et al., 2005)
Intra-cardiac	Mammary	Human MDA-MB-231 cells	Brain	(Bos et al., 2009)
	Mammary	Human MDA-MB-231 cells	Bone	(Kang et al., 2003)
	Prostate	Mouse RM1 cells	Bone	(Jung et al., 2013)

Esempi di modelli utilizzati **Modello tumore mammella**



Topi BALB-neuT: su **background BALB/c**, over-esprimono, in forma attivata, l'oncogene di ratto Neu (HER-2/*neu*), sotto il promotore MMTV-LTR (murine mammary tumor virus long terminal repeat).

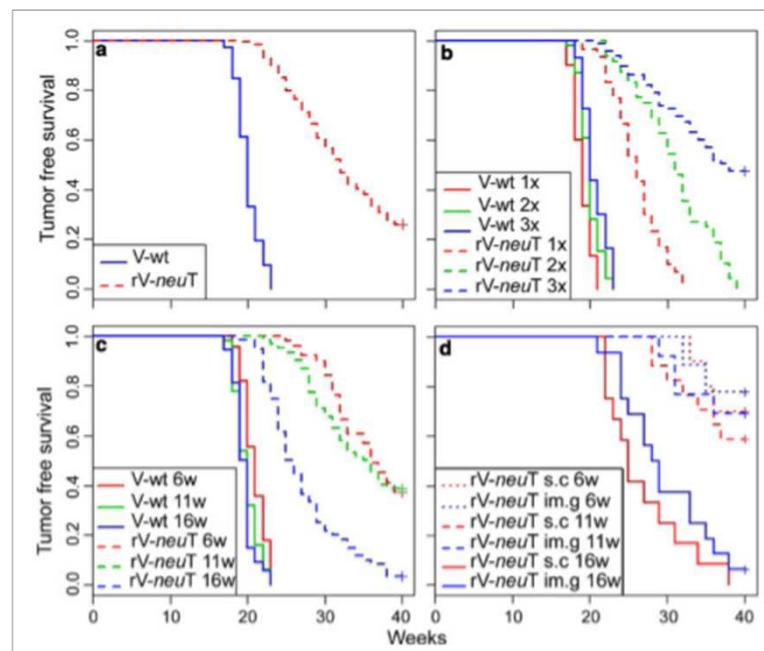
Questa espressione induce la formazione **rapida e multifocale** di tumori mammari in tutte le ghiandole mammarie del topo femmina.

La **progressione tumorale spontanea** è definita nel tempo, gli animali vengono ispezionati a partire dalla 4^a settimana, le formazioni tumorali sono accessibili e misurabili con calibro. Gli animali sono monitorati finché tutte le 10 ghiandole mammarie hanno tumori o finché uno di quelli presenti supera il volume indicato dalla normativa, a questo livello vengono sacrificati.

La linea cellulare singenica derivata da questo modello si chiama **TUBO** (HER-2/*neu*⁺).

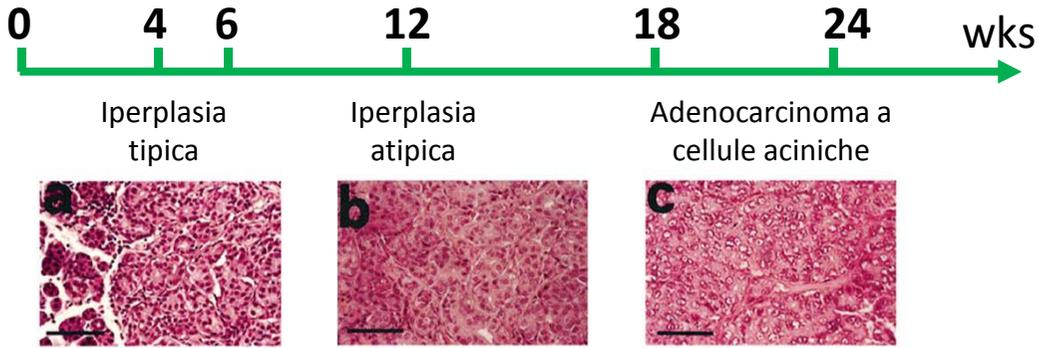
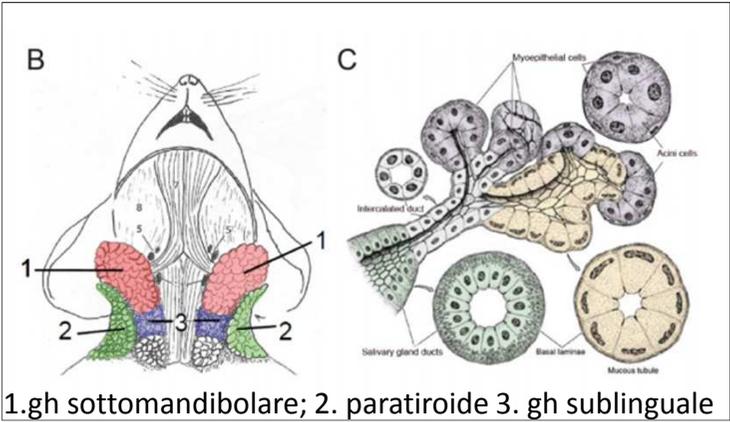
Transgenic mice were produced by microinjection of the construct into pronuclei of one-cell embryos. The surviving embryos were transferred into oviducts of pseudopregnant females following standard techniques [6]. The 1-cell embryos were derived by mating BDF-1 (C57BL6 × DBA) females with CD1 males. The founder was mated with a CD1 background and the DNA obtained from the tails of the animals was analysed by Southern blot for the presence of the transgene. RNA was extracted from tumors and other tissues by standard techniques [13] and Neu expression was analysed by Northern blot.

Lucchini, Cancer Lett, 1992



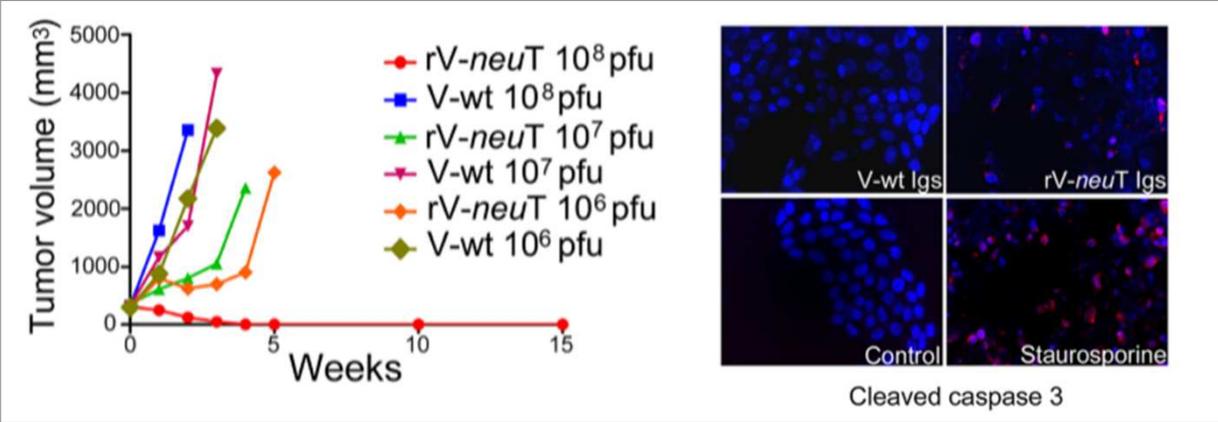
Esempi di modelli utilizzati

Modello tumore testa-collo



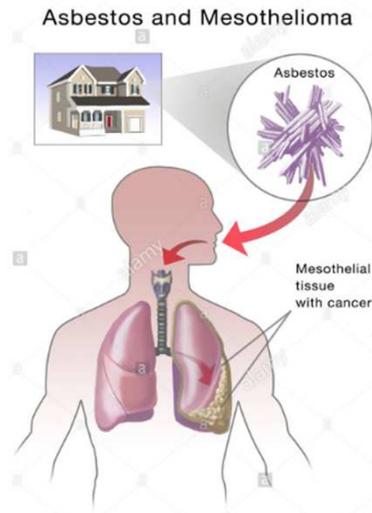
In questo modello, su **background BALB/c** si utilizza la linea cellulare singenica **SALTO**.
 Essa è stata derivata da topi maschi, transgenici per l'espressione di Neu, sotto il promotore MMTV.
 Questi topi **over-esprimono Neu nelle ghiandole salivari** e sviluppano tumore dell'epitelio ghiandolare.

La **progressione tumorale spontanea** è definita nel tempo, gli animali vengono ispezionati a partire dalla 4° settimana, la formazione tumorale è accessibile e misurabile con calibro e gli animali sono sacrificati (< 40 settimane) a raggiungimento del volume stabilito dalla normativa.



Diodoro, Int J canc, 2000
 Masuelli, J transl med, 2014

Esempi di modelli utilizzati **Modello mesotelioma**



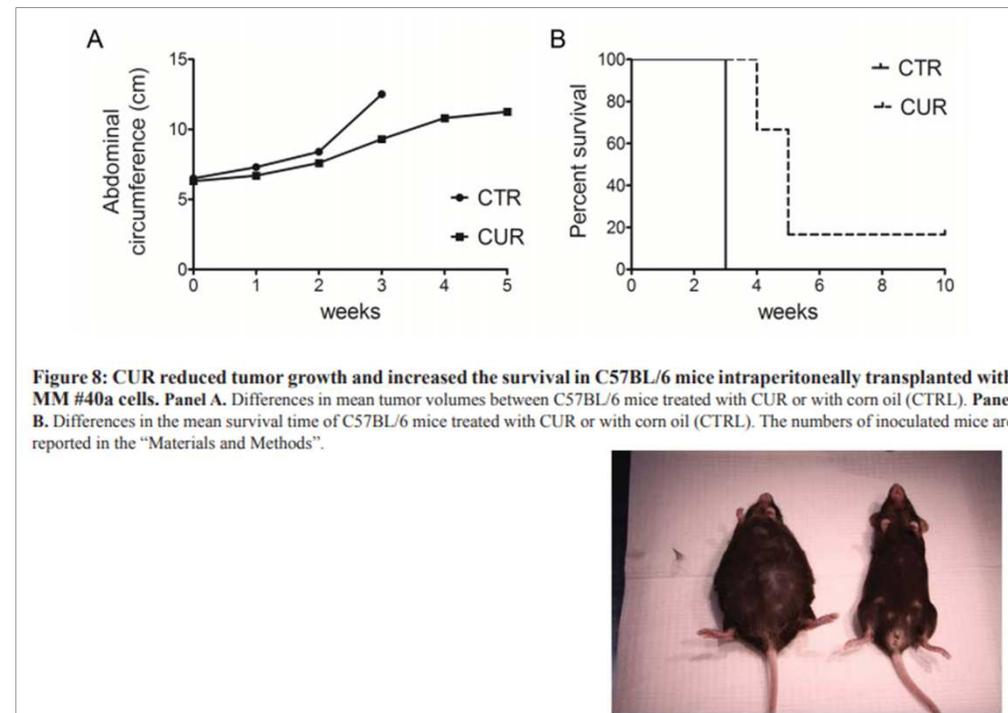
Il mesotelioma maligno è una neoplasia rara che origina dalla pleura (3 su 4 casi), dal pericardio o dalle membrane peritoneali.

Molti pazienti con questa patologia hanno una storia pregressa di esposizione (professionale) a fibre di AMIANTO (o Asbesto). Altri casi possono derivare da una esposizione naturale ad Erionite, infiammazione cronica o radiazioni.

Questo modello è stato sviluppato effettuando iniezioni settimanali i.p. di crocidolite in fibre di varie dimensioni. Il danno indotto dalla fibra induce una proliferazione delle cellule del mesotelio che danno origine a linee cellulari che sono state stabilizzate e caratterizzate.

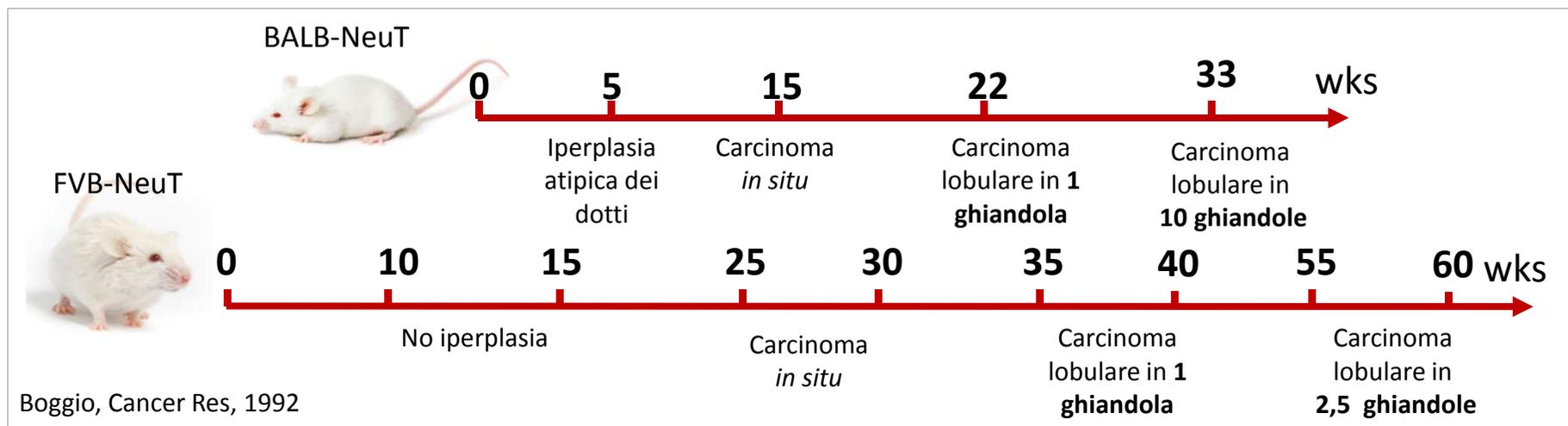
La linea cellulare impiegata, su **background C57BL/6**, si chiama #40a ed è derivata dalla linea di mesotelioma 40 in seguito a due passaggi nella cavità peritoneale, una settimana dopo la somministrazione di olio minerale che induce la formazione di un ambiente infiammato.

L'accrescimento della linea cellulare in vivo provoca la formazione di ascite e la circonferenza addominale è il parametro sperimentale che viene registrato quando si effettuano dei trattamenti.



CONCLUSIONI

- In questo momento della evoluzione scientifica quasi ogni patologia nota ha un modello animale di riferimento.
- Il modello animale più giusto per lo studio di una patologia non è detto che sia necessariamente quello murino, al momento è solo il più diffuso perché è quello per il quale si hanno più strumenti.
- E' bene impiegare il modello animale in maniera critica: è giusto accantonare lo studio su un composto se in un modello murino si è avuto un insuccesso?
- Non è detto che la stessa modificazione genetica mostri lo stesso fenotipo in tutti i background.



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

