



Model animal de la membrana corioalantoidea en embrió de pollet (CAM): des de la recerca microbiològica a l'oncològica

Gemma Fuster PhD

Associate Professor Uvic

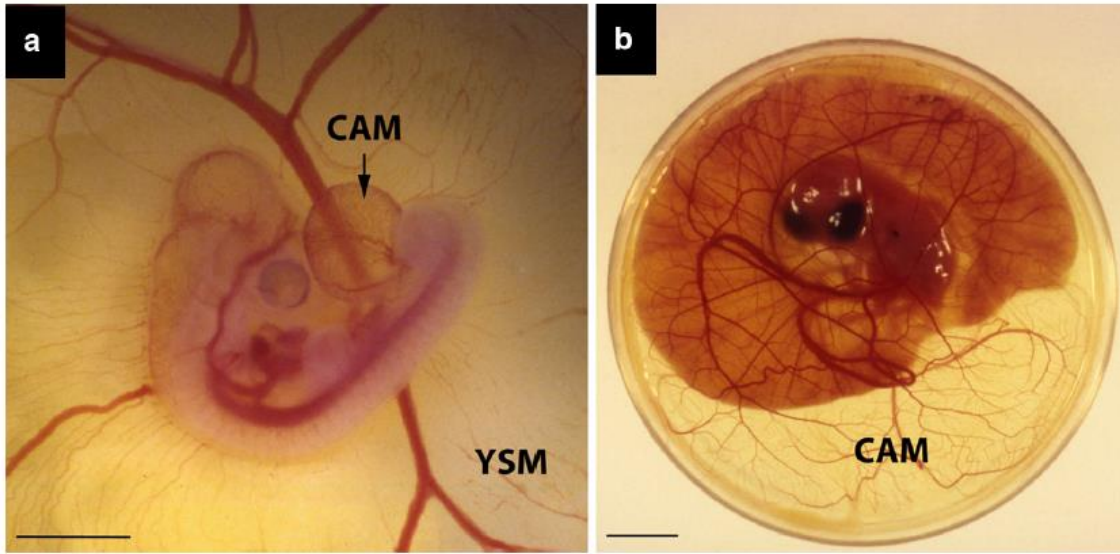
Researcher at TR2Lab (UVIC) and collaborator at NECLab (UB)

Introducció al model de CAM

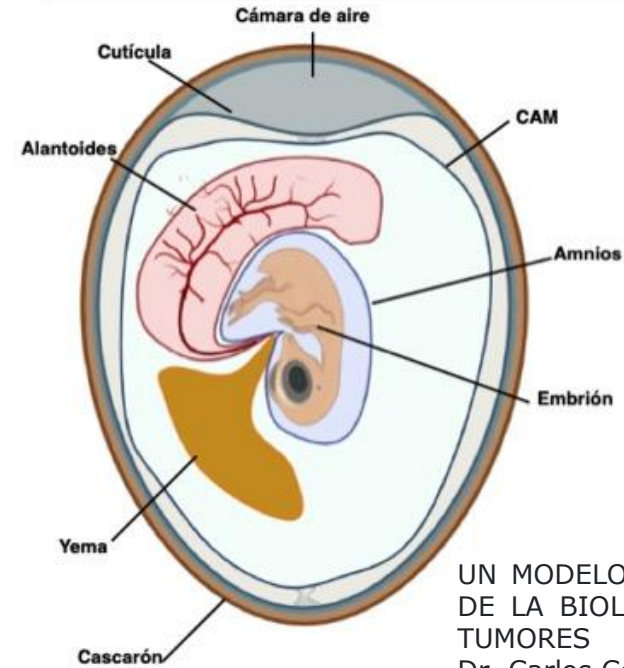
CAM: chorioallantoic membrane

4 Dies post-fertilització

10 Dies post-fertilització



LOCALIZACIÓN DE LA MEMBRANA CORIOALANTOIDEA (CAM)

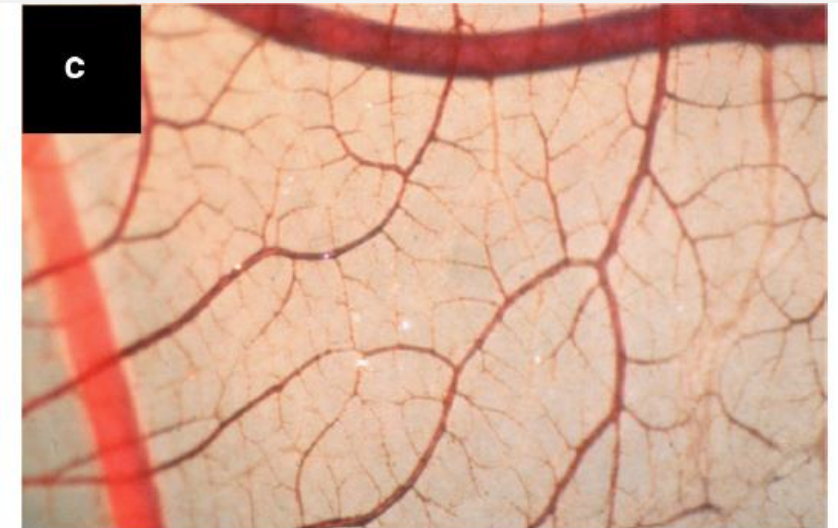
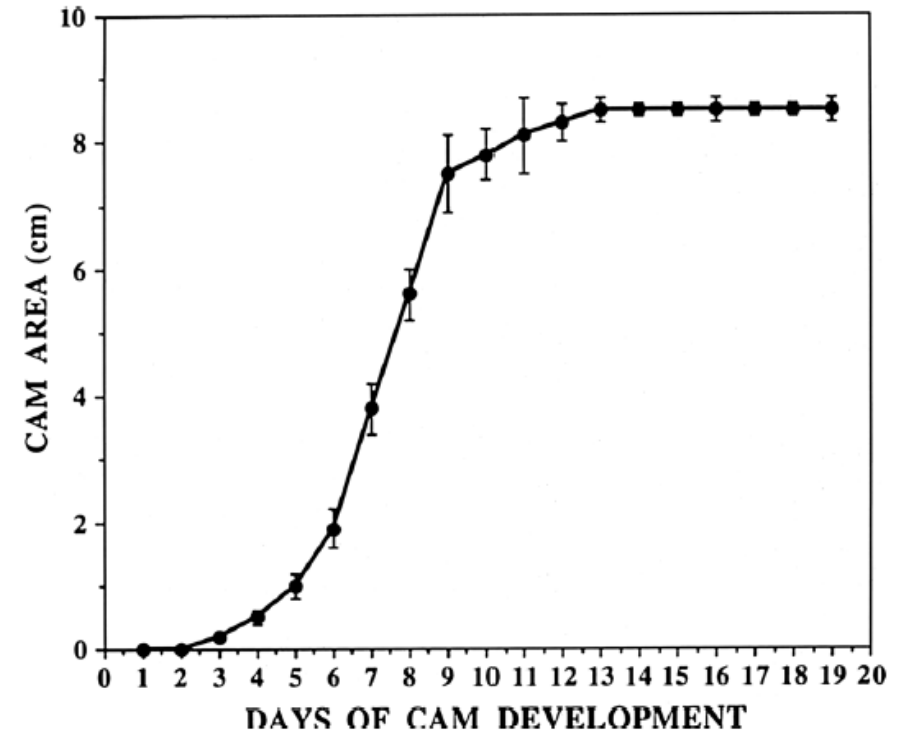


UN MODELO IN OVO PARA EL ESTUDIO DE LA BIOLÓGIA DEL DESARROLLO DE TUMORES
Dr. Carlos César Patiño Morales

CAM: Membrana dels ous de gallina que ajuda als embrions de pollet al seu **desenvolupament**. Es desenvolupa ràpidament després de la post-fertilització i s'expandeix generant una **xarxa vascular rica** que assegura un intercanvi de gasos, l'obtenció de calci i eliminació de residus.

Introducció al model de CAM

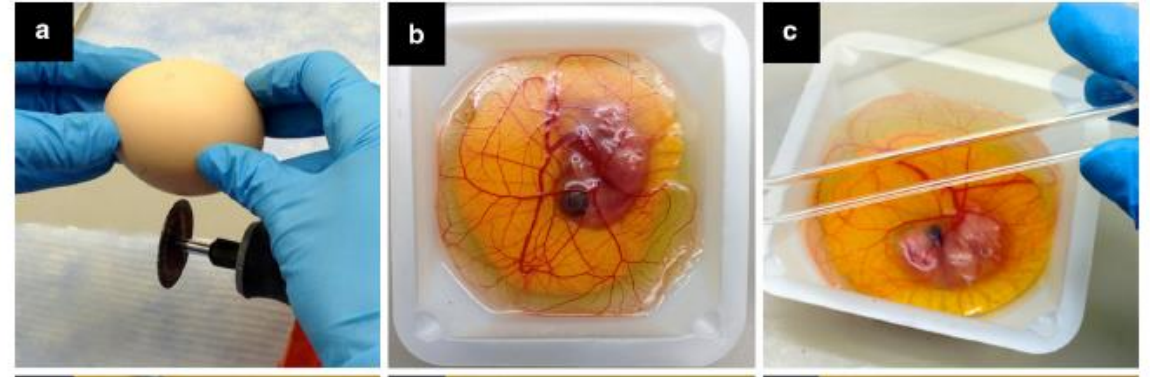
- Angiogenesis (2014) 17:779–804
DOI 10.1007/s10456-014-9440-7



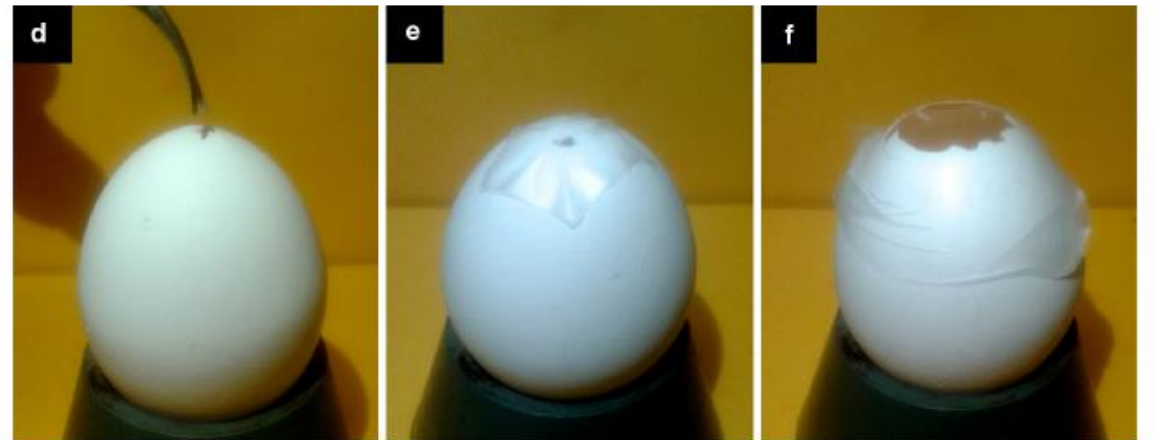
Característiques del model CAM

- Visibilitat
- Accessibilitat
- Desenvolupament ràpid de la membrana corioalantoïda

Ex ovo protocol

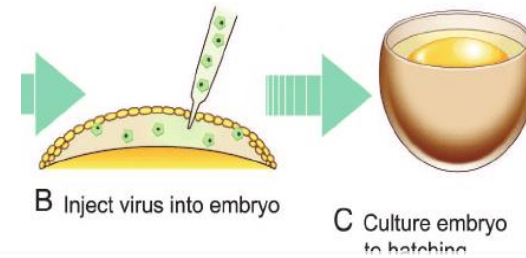


In ovo cultivation



Primers usos del CAM

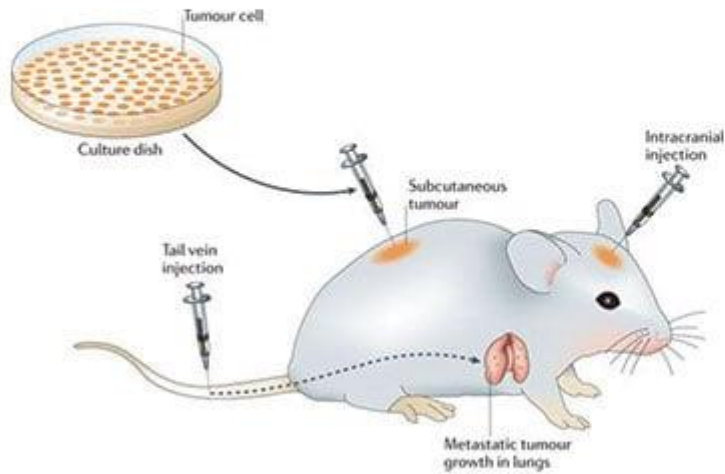
- **Inoculació de virus i bacteris:**
 - 1911, Rous i Murphy, creixement tumoral sarcoma aviar, inoculava Virus (virus del sarcoma aviar)



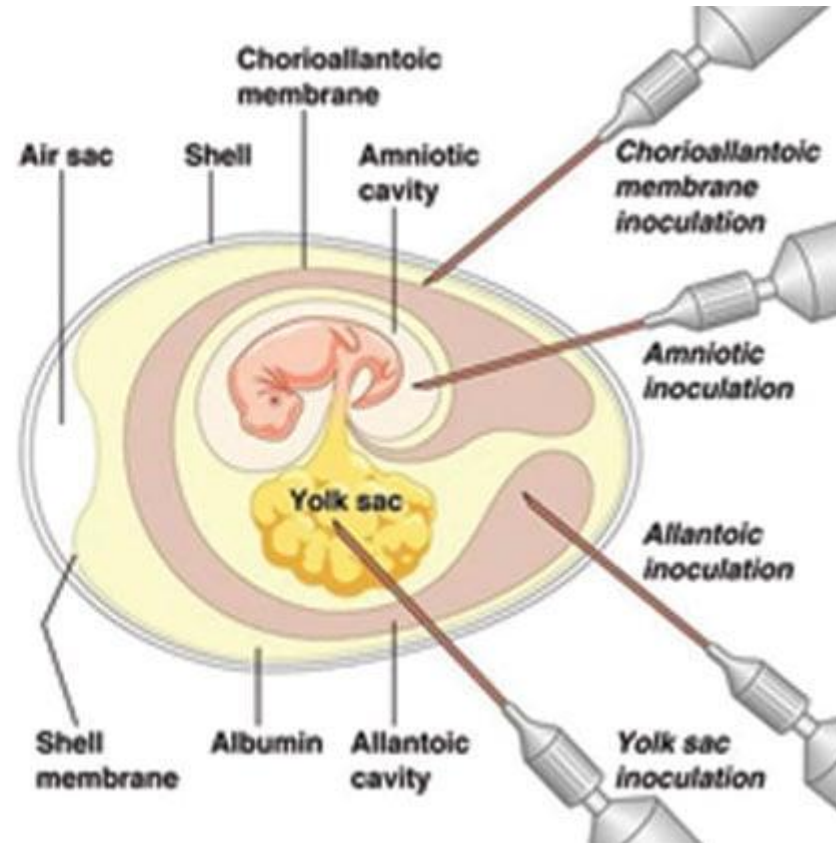
Primers usos del CAM

- Inoculació de virus i bacteris:

Virus Cultivation Purposes and Methods

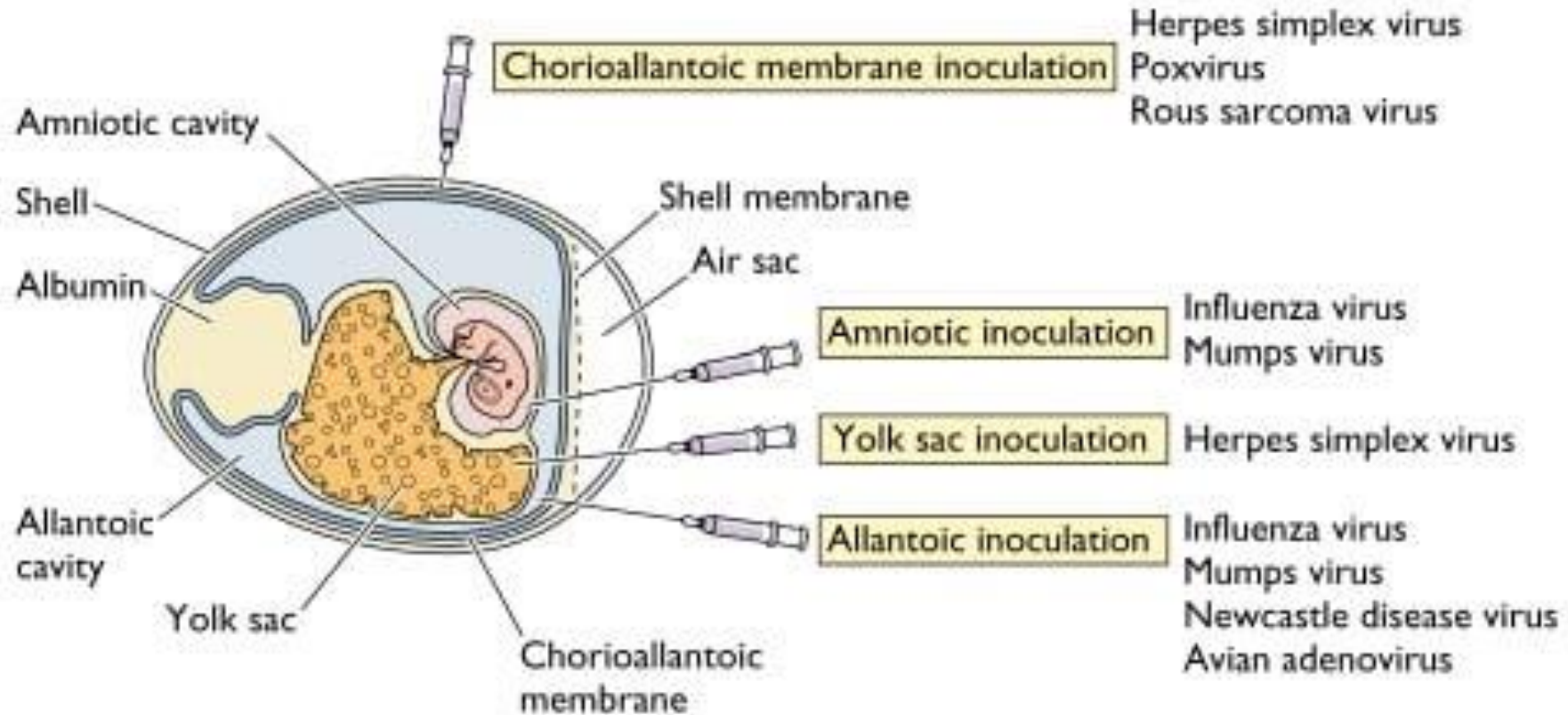


Nature Reviews | Immunology



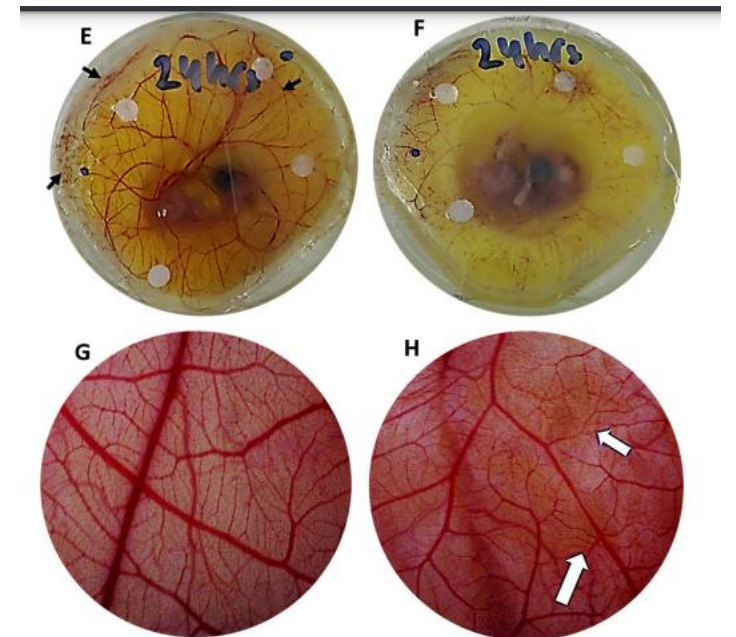
Primers usos del CAM

- Inoculació de virus i bacteris:



Primers usos del CAM

- **Inoculació de virus i bacteris:**
 - 1935, inicien la inoculació de bacteris a la CAM.
- Estudi realitzat per valorar els efectes vasculars de les infeccions persistents en ferides cròniques.
- Infecció feta amb *staphylococcus aureus*.
- Aplicació de discos amb antibiòtics.



SCIENCE

21 Oct 1938; Vol 88, Issue 2286; pp. 384-385

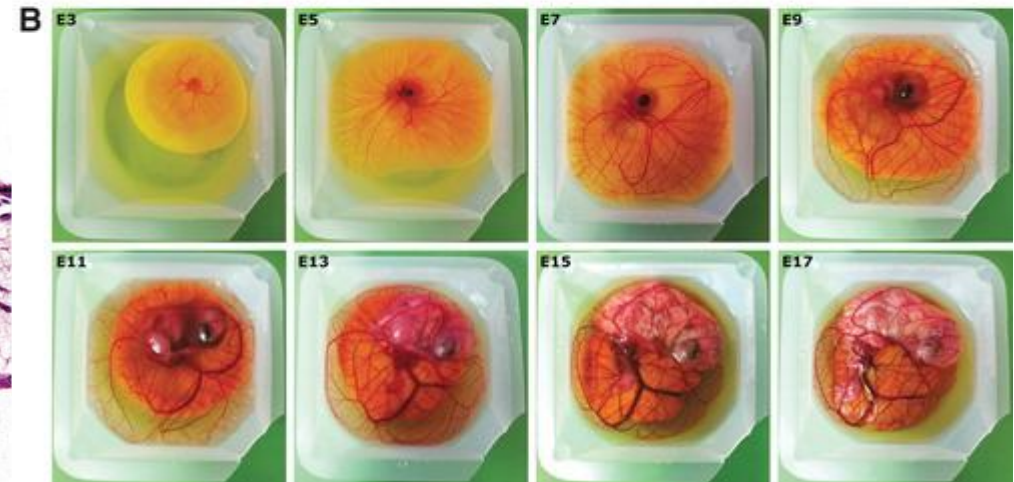
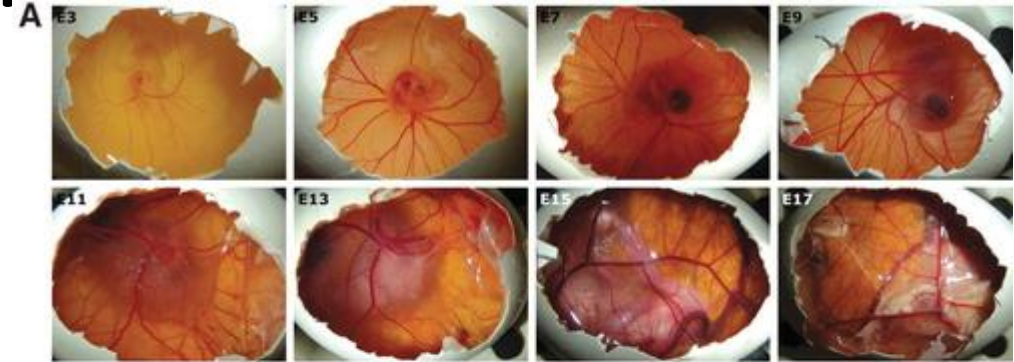
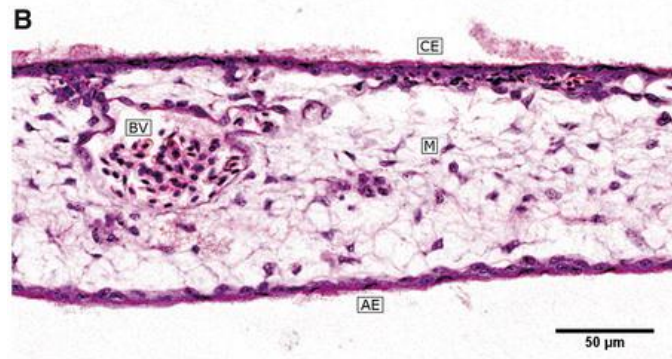
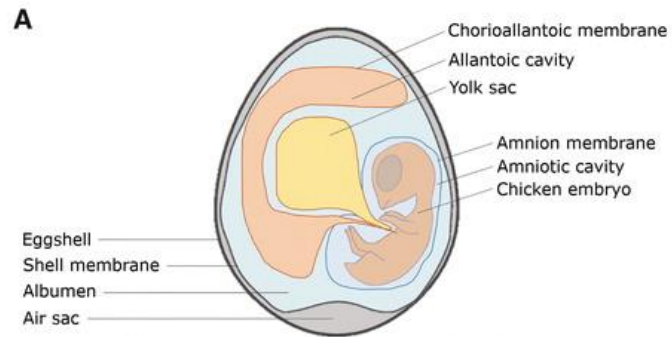
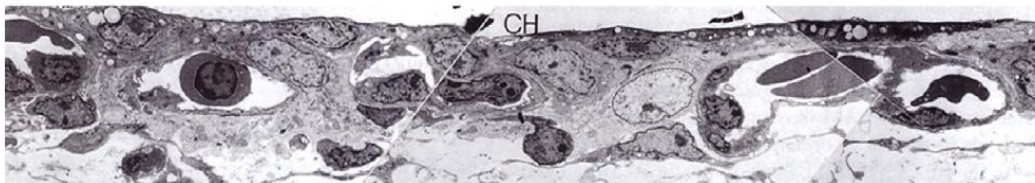
[DOI: 10.1126/science.88.2286.384](https://doi.org/10.1126/science.88.2286.384)

J. Funct. Biomater. 2020, 11, 37; doi:10.3390/jfb11020037

Aplicacions del model de CAM

- Model de desenvolupament vascular i angiogènesi
 - Decades més tard dels primers estudis.

Ribatti D, Vacca A, Roncali L, Dammacco F (2000). *Curr Pharm Biotechnol* 1(1):73–82

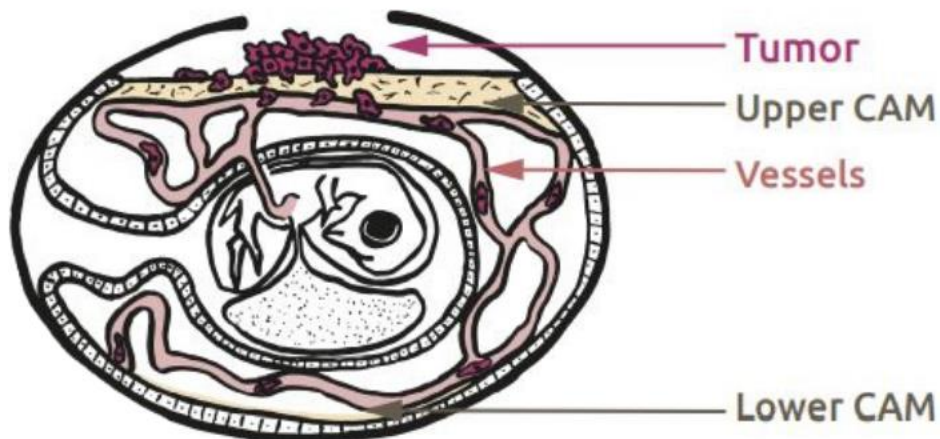


Greet Merckx, Hanna Tay, Melissa Lo Monaco, Marc van Zandvoort, Ward De Spiegelaere, Ivo Lambrichts, and Annelies Bronckaers

Tissue Engineering Part B: Reviews 2020 26:6, 519-539

Aplicacions del model de CAM

- **Model de creixement de tumors**
 - Decades més tard dels primers estudis.



<https://www.inovotion.com/our-technology/a-unique-in-vivo-technology>

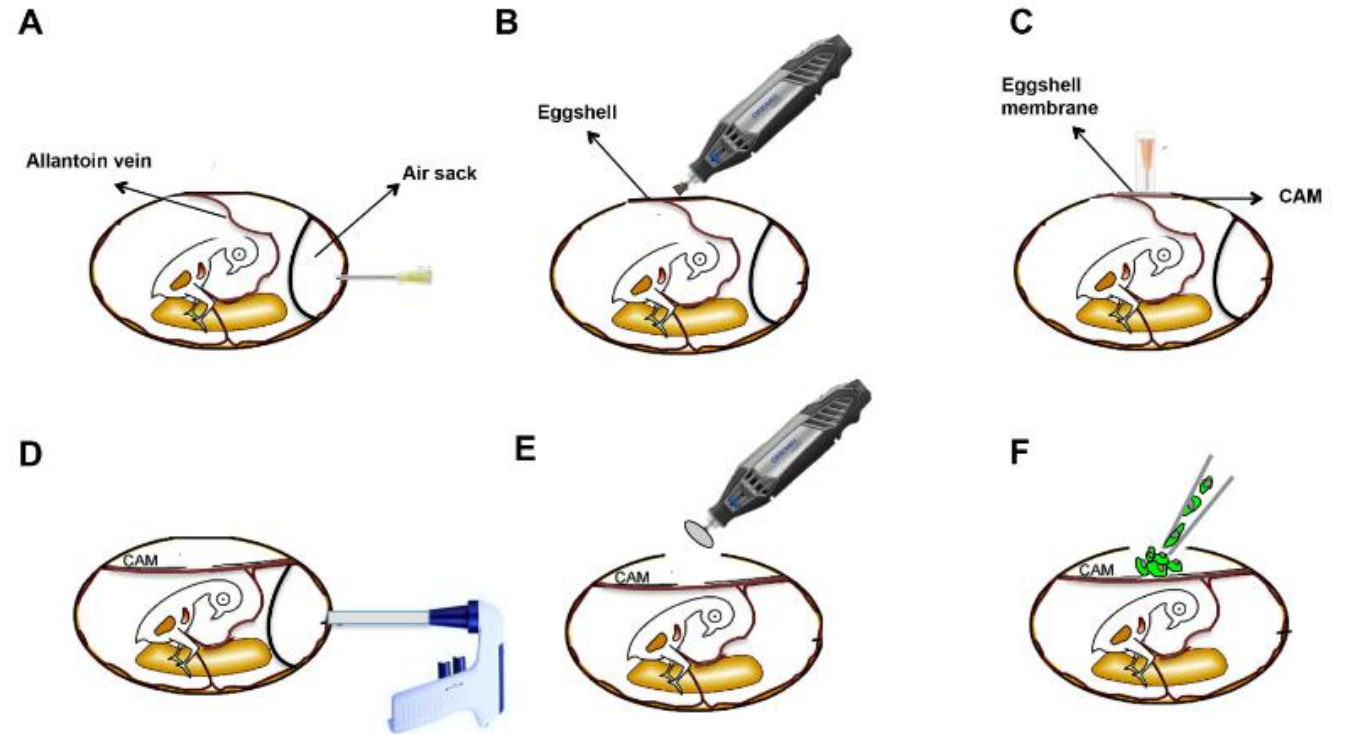
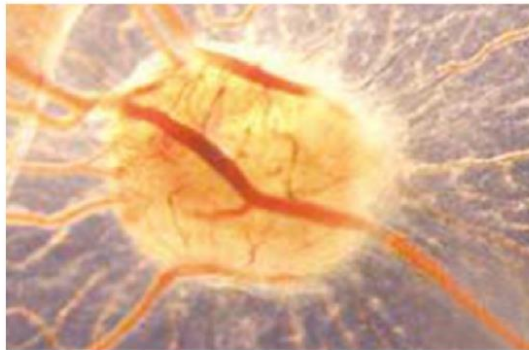


Figure 1. Schematic Illustration of the CAM angiogenesis assay.

<https://www.creative-bioarray.com/support/chick-chorioallantoic-membrane-cam-angiogenesis-assay.htm>

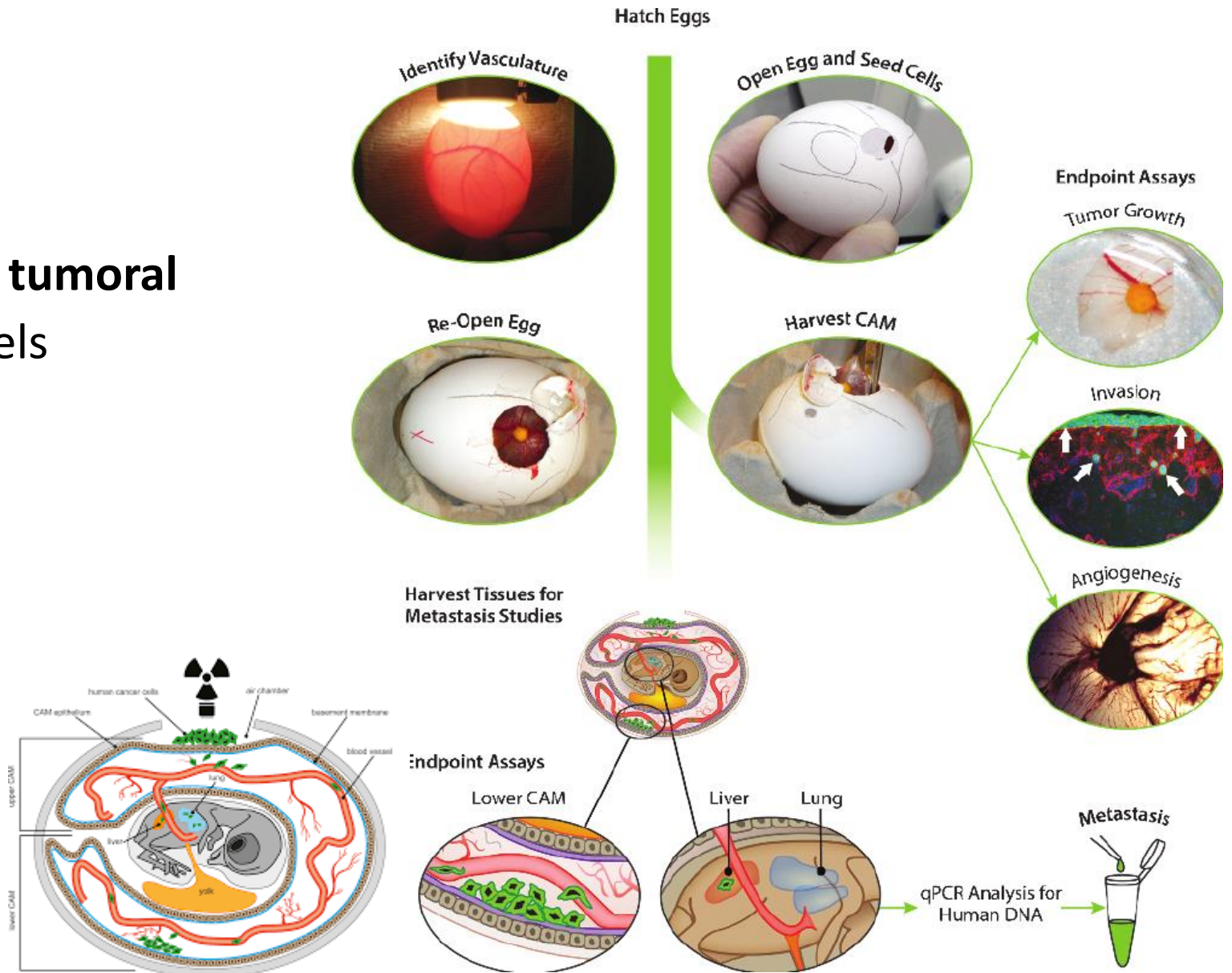
Aplicacions del model de CAM

- **Model de creixement tumoral**
 - Decades més tard dels primers estudis.



Angiogenesis (2014) 17:779–804

Cancers 2019, 11(10), 1499; <https://doi.org/10.3390/cancers11101499>



Aplicacions del model de CAM

Table 5 Tumor cell lines and tumor tissue successfully used in the CAM to study tumor growth

| Type | Inoculation technique | Administration | Ref. |
|--|---|------------------|------------|
| <i>Tumor cell lines</i> | | | |
| Human ovarian carcinoma (A2780) | Spheroid | Topical | [39] |
| Non-metastatic human colon carcinoma (SW480) | Suspension serum-free medium | i.v. | [93] |
| Human colorectal cancer (HTC-116) | Matrigel | Topical | [32] |
| Human sarcoma (Saos-2 and SW1353) | Matrigel | | [94] |
| Human clear cell renal cell carcinoma (CCRCC) | Suspension in medium | | [95] |
| Osteosarcoma (various types) | | | [96] |
| Murine melanoma B16-F10 | | | [97] |
| Human myeloma plasma cells | Suspension in medium adsorbed on a gelatin sponge | | [98] |
| Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) and peripheral blood mononuclear cells (PBMC) co-culture | Cell culture insert | | [99] |
| <i>Tumor tissue</i> | | | |
| Walker 256 carcinosarcoma | 1–1.5 mm tissue fragments | Allantoic cavity | [71] |
| Human sarcoma | 1–1.5 mm tissue fragments | Topical | [94] |
| Mouse teratoma, mouse C57 melanoma, rabbit V2 carcinoma | | | [100] |
| Meningioma, glioblastoma | Lyophilized pieces | | [101] |
| Neuroblastoma | 1–2 mm fragment | | [101] |
| Hepatocellular carcinoma | Fragment | | [102] |
| Human M21-L melanoma, S100 melanoma | 50 mg fragment | | [103, 104] |
| Human ovarian adenocarcinoma | 3–8 mm fragment | | [105] |
| Cryopreserved human ovarian adenocarcinoma | 1–2 mm fragment | | [106] |

Aplicacions del model de CAM

Table 6 Tumor cell lines shown to exhibit spontaneous cell intravasation, vasculotropism and metastasis in the CAM

| Cell type | Inoculation technique | Administration | Ref. |
|--|---------------------------------|----------------|--------------------|
| Human neuroblastoma (IMR-32) | Serum-free medium and matrigel | Topical | [108] |
| Human epidermoid carcinoma, human sarcoma, human embryonal rhabdomyosarcoma | Explanted | Subcutaneous | [16] |
| Rat sarcoma | Explanted | Into the CAM | [92] |
| Human epidermoid carcinoma (HEp-3) | Suspension | Topical | [109] |
| Estrogen receptor negative (MDAMB231) and positive (MCF-7) breast adenocarcinoma | | | [109] |
| Androgen receptor negative (PC3) and positive (LNCaP) prostate adenocarcinoma | | | [109] |
| Human fibrosarcoma (HT-1080) | | | [93, 109] [110] |
| Human ovarian carcinoma (OVCAR-3, SKOV-3 and OV-90) | | | [111] |
| Human embryo fibroblasts (HEF) | | | [109] |
| Human colon carcinoma metastatic (SW620) and non-metastatic (SW480) | Suspension in serum-free medium | i.v. | [93] |
| Rat C6 glioma and 10AS pancreatic carcinoma | Suspension in medium | Topical | [83] |
| Human Burkitt's lymphoma (BL) | Matrigel | | [112] |

Model de CAM

COMPOUND TYPES

- Small molecules
- Immunotherapy
- Peptides
- Proteins
- Natural compounds
- Viruses
- Nanostructures
- Other

CELL LINES

- Standard
- Genetically-modified
- Patient-derived (PDX)
- Multi-cancer panel
- Cancer-associated fibroblasts (CAFs)

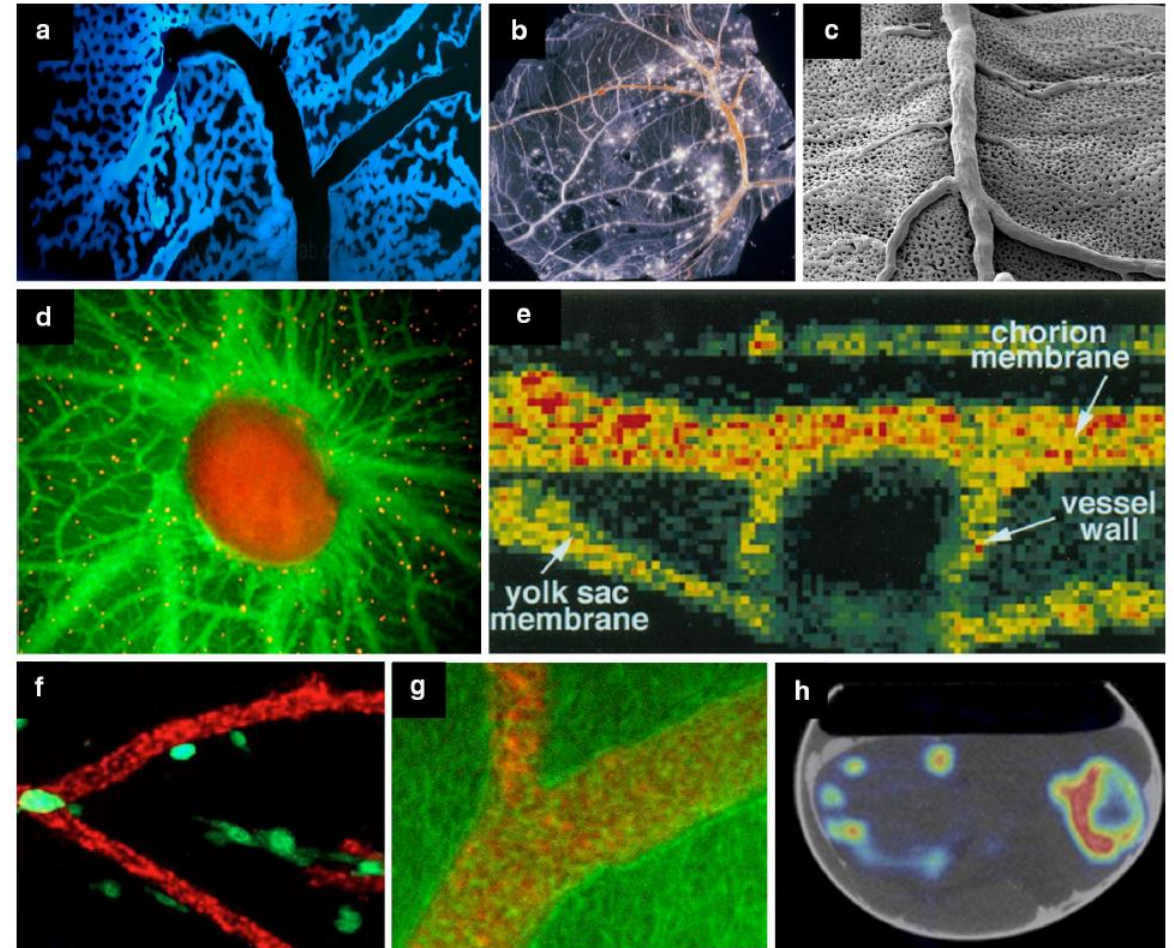
TREATMENT TYPES

- Standalone compound
- Synergistic effects
- Sequential effects
- Radiation

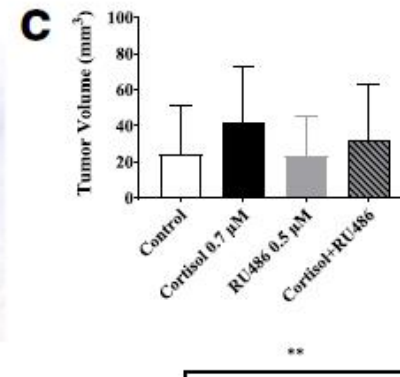
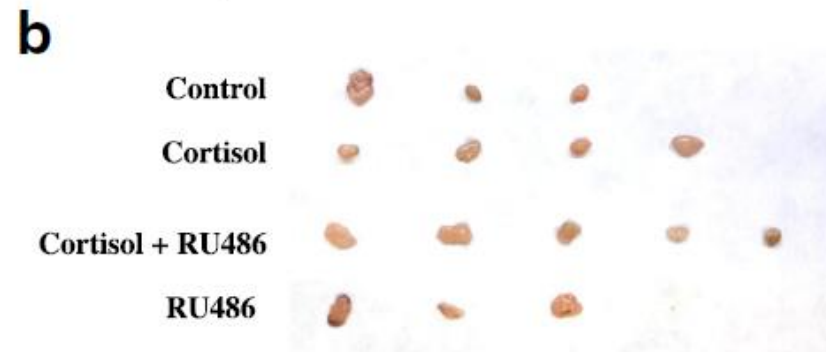
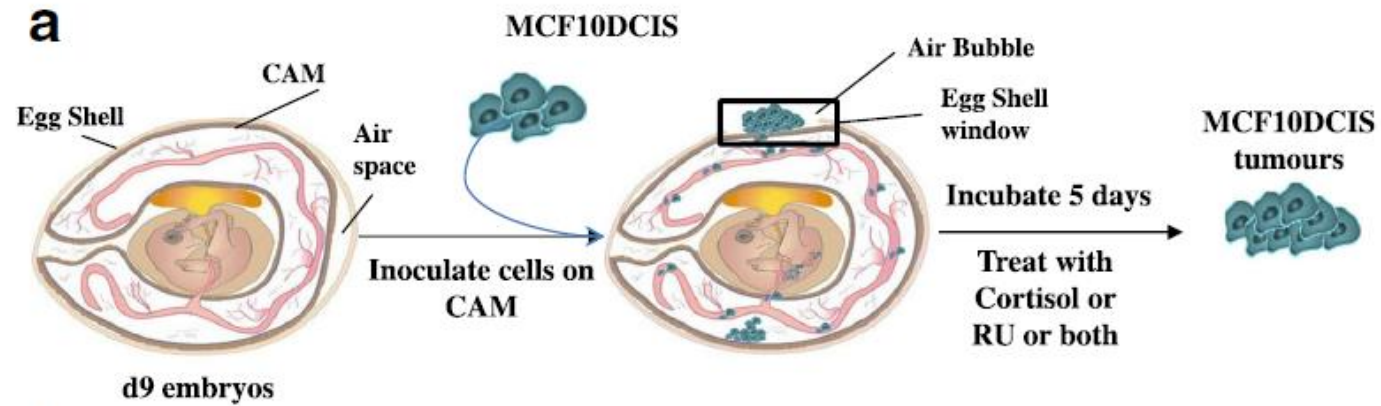
SIMULTANEOUS READOUTS

- Tumor growth
- Metastatic invasion
- Toxicity
- Teratogenesis
- Angiogenesis
- Pharmacokinetic
- Transcriptomic
- Immune cell infiltration
- Histology
- Immunohistology
- Mechanisms of action
- Pharmacokinetic
- Tumors available for all type of analysis

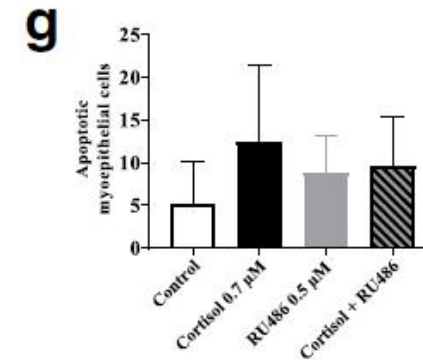
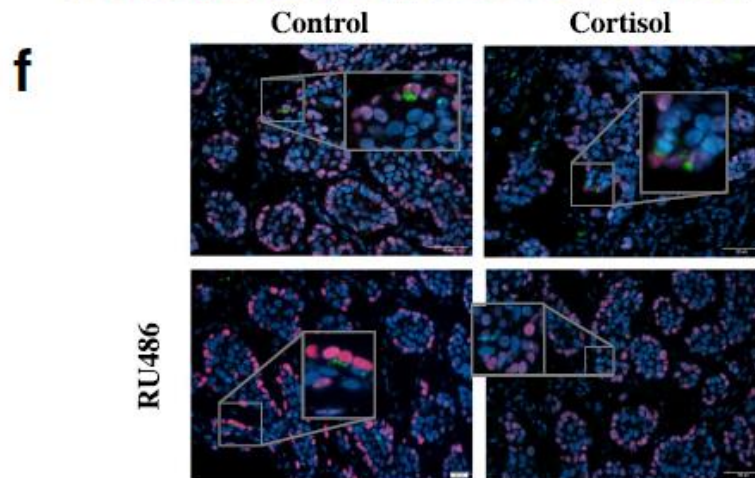
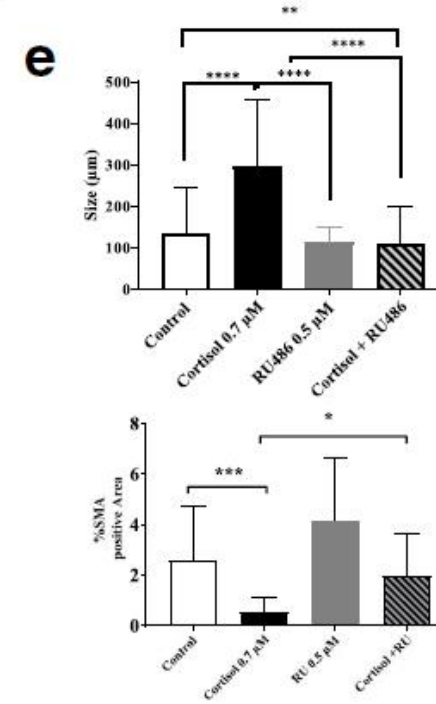
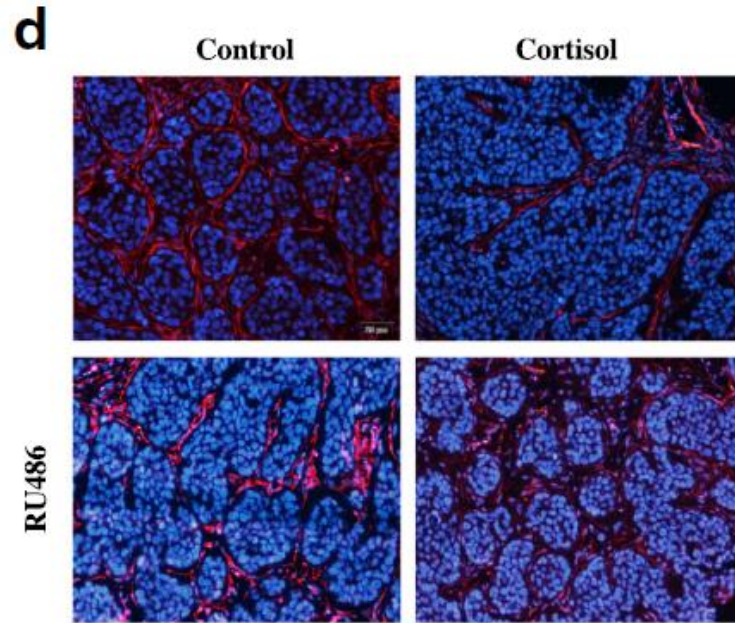
Avantatges del model CAM vs



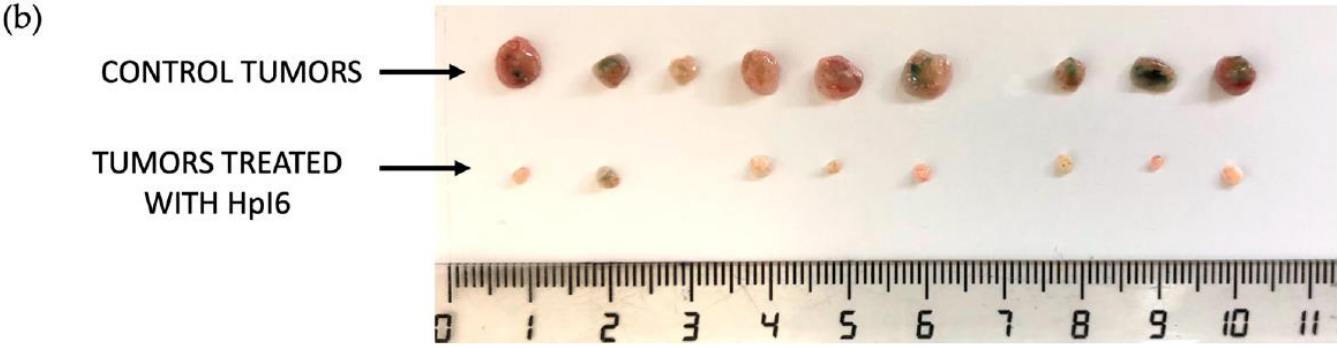
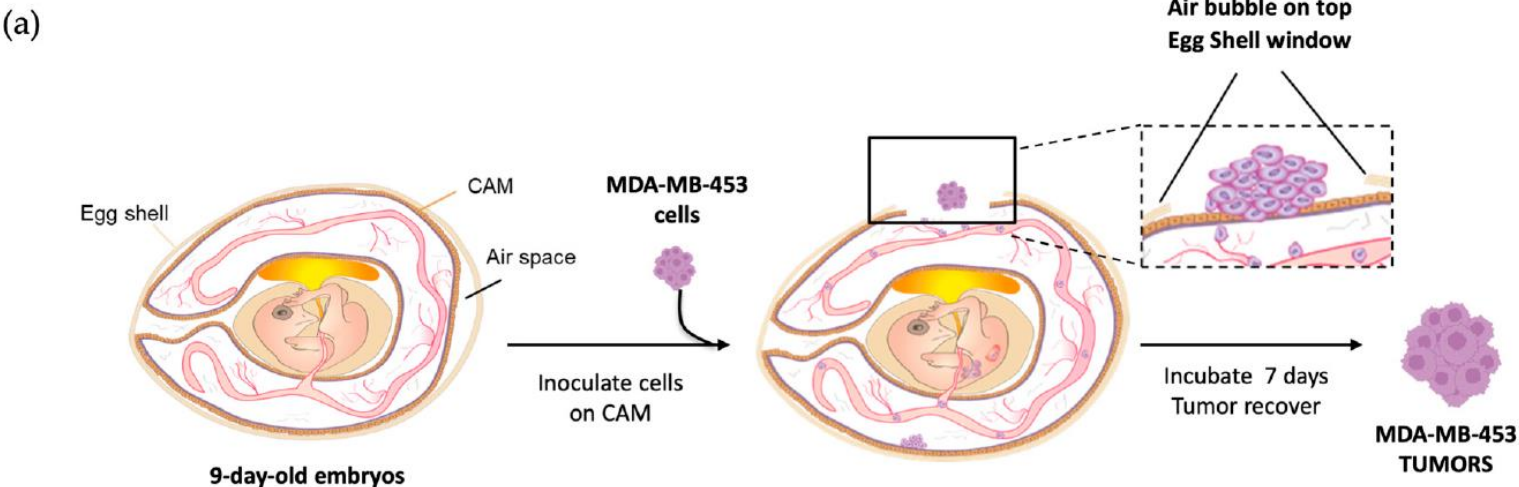
Model de CAM en creixement tumoral al nostre laboratori



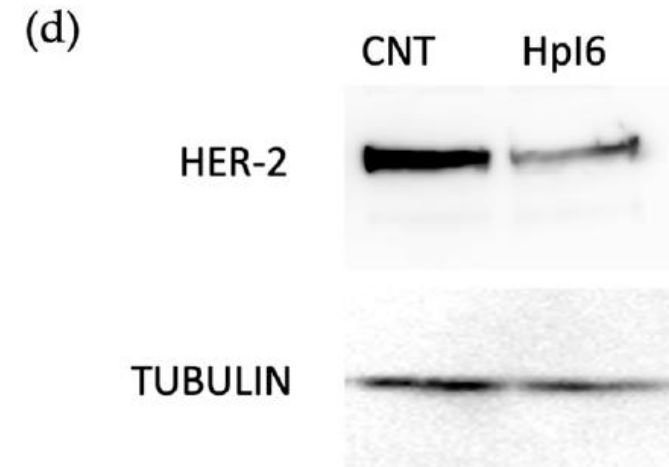
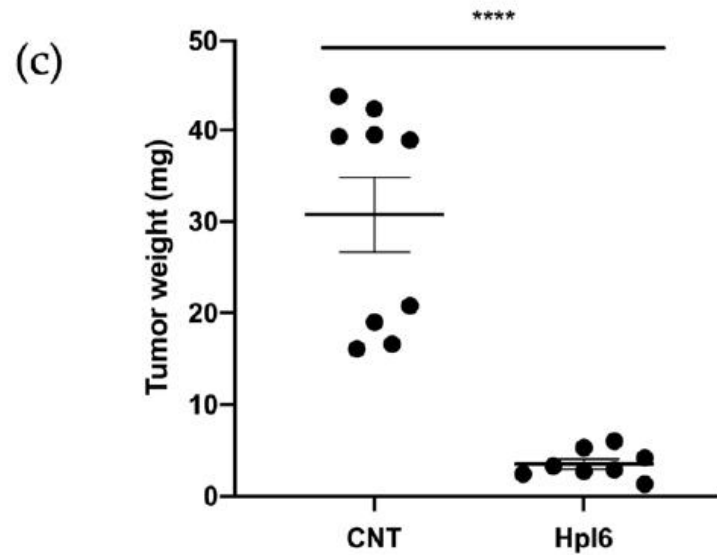
Model de CAM en creixement tumoral al nostre laboratori



Model de CAM en creixement tumoral al nostre laboratori



Model de CAM en creixement tumoral al nostre laboratori



AVANTATGES DEL MODEL CAM

- **AVANTATGES:**

- SIMPLE I DE FÀCIL MANIPULACIÓ
- RÀPID
- BAIX COST
- SISTEMA ROBUST: alta reproducibilitat
- PERMET SCREENING DE TRACTAMENTS FARMACOLÒGICS O ASSAJOS FUNCIONALS
- PERMET INOCULAR MOSTRES DE DIFERENTS TIPUS, INCLOENT PDXs DE PACIENTS DE CÀNCER.
- MILLORA DELS ESTUDIS EN ANIMALS (3Rs refinament, reducció, reemplaçament)
- LA IMMUNITAT L'ADQUIREIX A PARTIR DEL DIA 13-14 DE DESENVOLUPAMENT TÉ IMMUNODEFICIÈNCIA NATURAL.
- TÉ UNA VASCULARITZACIÓ RÀPIDA I PERMET REALITZAR UNA MONITORITZACIÓ A TEMPS REAL DE L'EVOLUCIÓ

The 3 R's of Animal Research



INCONVENIENTS DEL MODEL CAM

INCOVENIENTS:

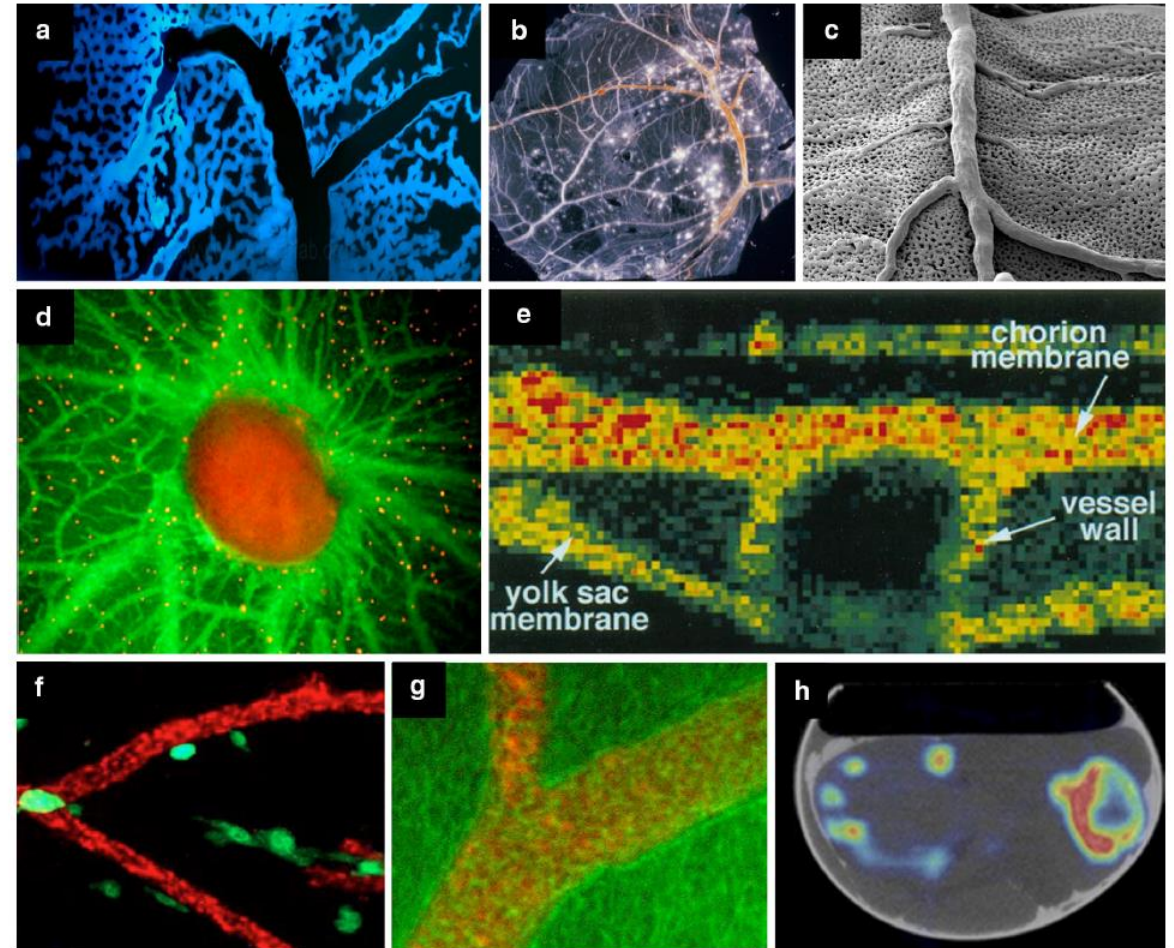
- CURT PERIODE DE TEMPS D'EXPERIMENTACIÓ: més enllà dels 18 dies post-fecundació pot comportar l'eclosió de l'ou i per tant, el naixement del pollet
- A partir del dia 15 d'incubació pot desenvolupar una REACCIÓ INFLAMATÒRIA NO ESPECÍFICA que pot comportar problemes per valorar experimentalment
- A L'HORA DEL TRACTAMENT O ANÀLISI, ELS REACTIUS PODEN NO PRESENTAR INTERACCIÓ O REACCIÓ AMB AUS, COM ANTICOSSOS, CITOQUINES, I PRIMERS.
- NO ES POT ANALITZAR REACCIÓ SISTEMA IMMUNE-TUMOR
- NO ES POT TESTAR LA VIA ORAL
- COMPORTAMENTS NO SIMILARS ENTRE MAMÍFERS I AUS DAVANT DE DETERMINATS TRACTAMENTS.

TAKE-HOME MESSAGES

La composició i accessibilitat de la CAM fan que aquest sigui un model molt interessant pels estudis preclínics *in vivo*.

Aquest model permet:

- 1) Estudis bacterians i virals
- 2) Estudis de desenvolupament embrionari
- 3) Estudis vasculars
- 4) Estudis de creixement tumoral
- 5) Screening de drogues avaluant efectes als diferents nivells descrits en els punts 1-4.
- 6) Estudis de farmacocinètica i toxicologia





THANK

YOU

FOR

YOUR

ATTENTION

Contactes:

gemmafuster@ub.edu ;

gemma.fuster@uvic.cat

ncarbo@ub.edu;

pfernandezn@ub.edu