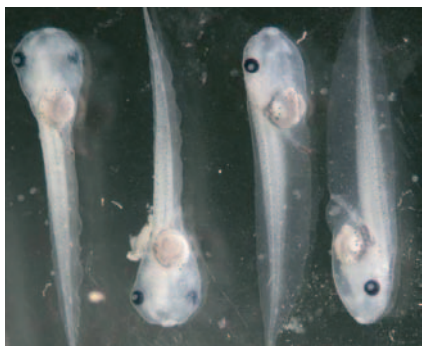


FROG EMBRYO TERATOGENESIS ASSAY-XENOPUS (FETAX)



DEFINICIÓ

Test complementari *in vitro* per a l'avaluació del potencial teratogen d'un agent, mitjançant l'estudi del desenvolupament d'embrions de *Xenopus laevis*.

END-POINT

Càlcul de l'índex de teratogènia (TI: LC50/EC50), valoració de la inhibició del creixement, malformacions i letalitat dels embrions de *Xenopus laevis*.

MOSTRA

Embrions de *Xenopus laevis*.

INTRODUCCIÓ

Els amfibis presenten diverses característiques que expliquen la seva persistència, al llarg dels anys, com a model preferent en l'estudi del desenvolupament embrionari dels vertebrats i com a model experimental en estudis de reprotoxicitat:

- Un desenvolupament embrionari representatiu de tot el *subphylum* Vertebrats.
- Embrions de la mida adient per a una àgil manipulació experimental i apropiadament sensibles a les alteracions de l'entorn.
- Fàcil inducció de l'ovulació i l'aparellament en qualsevol època de l'any, mitjançant tractament amb l'hormona gonadotropina coriònica humana.
- El gripau *Xenopus laevis* és especialment apte pel seu manteniment en captivitat.

El *Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus* (FETAX) és considerat un test *in vitro* complementari en estudis de teratogènia, ja que permet la detecció o caracterització dels efectes tòxics sobre el procés reproductiu.

És ràpid, econòmic, extrapolable a altres espècies (mamífers inclosos) i el seu protocol ha estat revisat i estandaritzat per la ICCVAM (*Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods*) i normalitzat per l'ASTM (*American Society for Testing and Materials*).

TÈCNICA

En aquest assaig s'utilitzen *Xenopus laevis* mascles d'un mínim de 2 anys i femelles d'un mínim de 3 anys, per a la cria en parelles monògames, induint l'aparellament mitjançant la injecció de gonodotropina coriònica humana.

Es seleccionen únicament els embrions normals en els estadis compresos entre el 8 i l'11 del desenvolupament embrionari.

El test consisteix en sotmetre els embrions (provinents de parelles diferents) a diverses concentracions de l'agent a testar, amb i sense sistema d'activació metabòlica. Transcorregudes 96 hores (o quan el 90% dels embrions del grup control hagin arribat a l'estadi 46), es calcula la LC₅₀ (concentració letal cinquanta) i la EC₅₀ (concentració efectiva cinquanta), per tal de calcular l'Índex de Teratogènia (TI: LC₅₀/EC₅₀). Per al cas de les matrius mediambientals, al nostre laboratori hem desenvolupat un mètode de càlcul alternatiu, adaptat a les característiques d'aquest tipus de mostres.

La inhibició del creixement es determina mitjançant la longitud cap/cua de cada embrió, comparant amb el grup control.

Les malformacions poden ser tant externes com internes i fan referència principalment a: cara, cua, ulls, brànquies, intestí, cor, cervell i notocorda. Totes les anomalies dels fetus són observades per mitjà d'un microscopi estereoscòpic.

Altres observacions (referents a la pigmentació, locomoció, eclosió dels ous o altres) poden servir per ampliar la informació.

És important mesurar la toxicitat durant el desenvolupament embrionari, ja que la mortalitat, malformació i inhibició del creixement dels embrions poden produir-se a vegades a concentracions molt més baixes del que seria necessari en organismes adults.

APLICACIONS

- Prova complementària en estudis de reprotoxicitat per a la fase de *screening* de fàrmacs. La introducció d'aquest test en les rutines de screening comporta una disminució en el nombre de mamífers emprats en la toxicologia experimental.
- Especialment idoni per a estudis de toxicitat ambiental, en l'entorn REACH o en d'altres escenaris, com ara l'avaluació de l'impacte tòxic de focus concrets de pol·lució.

NORMATIVES I BIBLIOGRAFIA

- ASTM (American Society For Testing And Materials). 1998. "Standard Guide for Conducting the Frog Embryo Teratogenesis Assay-*Xenopus* (FETAX)". ASTM E1439-98. In: Annual Book of ASTM Standards, Philadelphia.
- Bantle, J.A., D.J. Fort, and B.L. James. 1989. "Identification of developmental toxicants using the Frog Embryo Teratogenesis Assay-*Xenopus* (FETAX)". Hydrobiologia 188/189:577-585.
- Bantle, J.A. 1995. "FETAX - A Developmental Toxicity Assay Using Frog Embryos". In: Fundamentals of Aquatic Toxicology, 2 nd ed., G. M. Rand (Ed.), Taylor and Francis, Washington, D.C., pp. 207-230.