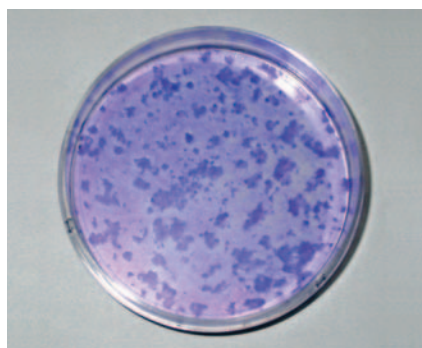


# CELL TRANSFORMATION ASSAY (CTA)



## DEFINICIÓ

Test *in vitro* per a l'avaluació del potencial carcinogènic d'un agent, mitjançant l'estudi de la transformació cel·lular maligna manifestada en la proliferació "independent a l'anclatge" en agar tou.

## END-POINT

Eficiència de formació de colònies i formació de foci tipus III.

## MOSTRA

Fibroblasts 3T3 clon A31.1.1 de la soca de ratolí Balb/c.

## INTRODUCCIÓ

La transformació cel·lular neoplàsica és, en un percentatge elevat de casos, el resultat d'un o més cicles d'iniciació/promoció, al llarg dels quals es desenvolupa la anomenada progressió tumoral. Els canvis induïts en les cèl·lules durant aquest procés es manifesten en que les cèl·lules queden fora de l'abast dels mecanismes de control normalment establerts a través de la comunicació metabòlica intercel·lular, adquireixen un potencial de creixement incrementat, alteracions de la superfície cel·lular, anormalitats en el cariotip, desviacions bioquímiques i morfològiques i altres atributs que confereixen l'habilitat d'envair altres territoris tissulars.

La carcinogènesi experimental pretén simular aquest procés patològic, idealment distingint entre les mencionades etapes per tal de poder verificar si l'agent d'interès actua com un iniciador o com un promotor.

### 1. Fase d'Iniciació

El carcinogen interactua i produeix un efecte genotòxic sobre les cèl·lules diana.

### 2. Fase de Promoció

Aquesta fase és de caràcter mitogènic, i consisteix en l'expansió clonal de les cèl·lules iniciades.

### 3. Fase de Progressió

Consisteix en la selecció dels clons cel·lulars més competitius des del punt de vista metabòlic, incloent la capacitat de formar metàstasis.

En general es considera que el procés pel qual aquests canvis fenotípics es produeixen en el model experimental (transformació *in vitro*) té una bona correlació amb el procés de carcinogènesi *in vivo*, malgrat aquesta correlació pugui variar segons el sistema estudiat.

## TÈCNICA

El Cell Transformation Assay (CTA) és una valuosa eina per a la detecció quantitativa *in vitro* de la transformació maligna de colònies cel·lulars, induïda per l'agent a testar. Aquesta transformació, com ja s'ha explicat prèviament, està associada a alguns canvis fenotípics que inclouen la disminució o desaparició de la cooperació metabòlica, com ara la pèrdua d'inhibició per contacte (les cèl·lules poden créixer apilades), i la independència d'anclatge (les cèl·lules poden formar colònies en agar tou).

En el cas dels fibroblasts 3T3 clon A31.1.1 de Balb/c, els quals necessiten unir-se a una superfície sòlida per tal de dividir-se, aquestes cèl·lules adquireixen la capacitat de proliferar en un gel o fluid viscos quan són transformades per un agent carcinogènic i esdevenen, per tant, "independents a l'anclatge".

Les cèl·lules del clon mencionat, pretractades amb el presumpte carcinogen i posteriorment amb un promotor (tetradecanoil forbol

acetat, TPA), són cultivades en medi d'agar tou durant 21-28 dies, amb els corresponents controls. Transcorregut aquest període d'incubació, les colònies formades són analitzades morfològicament (prèvia tinció específica) i comptabilitzades amb la solució de quantificació.

La Freqüència de Transformació Cel·lular (FT) es calcula en base al nombre de Foci tipus III (els quals es caracteritzen per tenir els marges en zig-zag, propietats d'apilament i d'invasivitat) observats per placa, dividit pel nombre de cèl·lules supervivents després de l'exposició a l'agent suposadament carcinogènic.

A més, es determina l'eficiència de formació de colònies per cèl·lula sembrada, comparant tractats i controls.

#### APLICACIONS

- Avaluació del potencial cancerigen de candidats a medicaments en la fase de *screening*.
- Avaluació del potencial cancerigen d'altres productes químics (REACH).
- Avaluació del potencial cancerigen de matrius mediambientals.

#### NORMATIVES I BIBLIOGRAFIA

- CHEMICON International catalog N<sup>o</sup> ECM570, "Cell Transformation Detection Assay".
- OECD, "Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment", No.31 Draft; Detailed Review Paper on Cell Transformation Assays for Detection of Chemical Carcinogens.
- 2000 Feb 14;447(2):281-6. "Tumorigenicity of morphologically distinct transformed foci induced by 3-methylcholanthrene in BALB/c-3T3 cells".