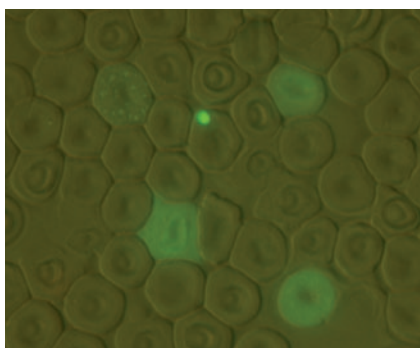


# TEST MICRONUCLIS (MNT) - *In vivo*



## DEFINICIÓ

Test de genotoxicitat *in vivo* per l'avaluació de l'activitat clastogènica i aneugènica d'un agent per mitjà de la formació de micronuclis (MN) en eritròcits policromatòfils (immadurs).

## END-POINT

Freqüència d'eritròcits policromatòfils (immadurs) micronucleats.

## MOSTRA

Moll d'ós o sang perifèrica.

## INTRODUCCIÓ

El Test de Micronuclis (MNT) és un test de mutagenicitat utilitzat per a la detecció del dany citogenètic induït per un agent als cromosomes o a l'aparell mitòtic durant la divisió cel·lular.

La finalitat del test és identificar els agents amb activitat tant clastogènica com aneugènica per mitjà de la detecció de la formació de micronuclis (MN).

Els micronuclis són fragments de DNA que de manera natural es poden observar esporàdicament (en proporció inferior al 3 per mil) en els eritròcits després de l'extrusió del nucli, degut a una lesió en el DNA o en el mecanisme de segregació cromosòmica durant la mitosis.

Aquests poden ser fragments acèntrics (fragments de cromosoma sense centròmer) o cromosomes sencers incapaços de migrar amb la resta de cromosomes durant l'anafase de la divisió cel·lular.

## TÈCNICA

### MNT *In vivo*

El test de MN *in vivo* en mamífers és usat per a la detecció del dany induït per l'agent a testar als cromosomes o a l'aparell mitòtic d'eritroblasts, mitjançant l'anàlisi d'eritròcits de cèl·lules de moll d'ós i/o de sang perifèrica d'animals, normalment rosegadors.

El pas d'eritroblast (immadur) a eritròcit policromatòfil (fase intermitja prèvia a l'eritròcit madur o hematia) implica l'expulsió del nucli. Aquest fet permet una visualització perfecta dels MN que hagin pogut quedar en el citoplasma anucleat.

Per tant, un augment en la freqüència d'eritròcits policromatòfils micronucleats en animals tractats amb l'agent a testar és un indicador del dany cromosòmic induït per aquest.

Si els animals són tractats contínuament amb l'agent durant un període suficient (i sempre que el producte no causi depressió medul·lar), el "nombre d'eritròcits normocromatòfils (madurs) amb micronuclis" en relació al "nombre total d'eritròcits madurs" en sang perifèrica és també un bon indicador del dany. Aquest tipus de mesura és particularment indicat en el cas dels estudis mediambientals (exposició a terme de vida).

L'estudi s'inicia amb l'exposició dels animals a l'agent a testar per mitjà de la via més adient.

Si s'utilitza moll d'ós, les espècies més utilitzades són rata i ratolí; els animals es sacrifiquen en els temps donats, es duu a terme l'extracció de la mostra de moll d'ós i es realitzen les preparacions i tincions corresponents per a la posterior anàlisi de presència de MN. Si s'utilitza sang perifèrica, l'espècie emprada és normalment el ratolí.

Existeixen diferents criteris per determinar si un resultat és positiu, com ara l'increment dosi-depenent en el nombre de

cèl·lules micronucleades o un clar augment en el nombre de cèl·lules micronucleades en un grup de dosi única en un mostreig puntual donat. Els mètodes estadístics poden ser utilitzats com ajuda per avaluar els resultats del test, però no han de ser considerats com a únic factor determinant d'una resposta positiva.

Els resultats positius indiquen que l'agent produeix MN, que són el resultat de fragmentació dels cromosomes o de dany a l'aparell de divisió cel·lular. Els resultats negatius indiquen que, sota les condicions del test, l'agent testat no resulta clastogènic ni tòxic per a l'aparell mitòtic.

#### APLICACIONS

El test de MN *in vivo* en mamífers és especialment rellevant per avaluar el risc mutagènic, ja que permet tenir en consideració factors del metabolisme, farmacocinètica i processos de reparació de l'ADN, malgrat que aquests puguin variar segons les espècies, els teixits i els endpoints genètics.

L'assaig *in vivo* es pot requerir també com a confirmació dels efectes mutagènics detectats a partir d'un sistema *in vitro*.

Com a test de Genotoxicitat *in vivo*, pot ser aplicat en diferents àmbits:

- Avaluació del potencial genotòxic de candidats a medicaments.
- Avaluació del potencial genotòxic d'altres productes químics (REACH).
- Avaluació de la capacitat protectora (antigenotòxica).
- Ecotoxicologia.

#### NORMATIVES I BIBLIOGRAFIA

1. Mammalian Erythrocyte Mycronucleus Test, OECD 474.
2. ASHBY, J, TINWELL, H, GULATI, D, HEDDLE, JA, 1990, "Overview on the study in relation to protocol design for the rodent bone-marrow micronucleus test Mutation Research", 234(3-4): 233-248.
3. BORRÀS, M, 1986, "Formol-saline as a cell conserving medium in the micronucleus test Stain Technology", 57(4):59-60.
4. SCHMID, W, 1973, "Chemical mutagen testing on *in vivo* somatic mammalian cells Agents and Actions", 3(2):77-85.
5. TUCKER, JD, PRESTON, RJ, 1996, "Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges and cancer risk assessment Mutation Research", 365:147-159.
6. von LEDEBUR, M, SCHMID, W, 1973, "The micronucleus test: methodological aspects Mutation Research", 19:109-117.