

Cigarretes i copes, embarassos de risc



Ismael Talbi El Alami Martínez

2n. batxillerat 2013-2014

Departament de Ciències Experimentals

INS CONSELL DE CENT DE BARCELONA

Tutora: Laura Lahoz Herranz

Índex

1. Introducció.....	2-5
1.1.Elecció de la temàtica	2-5
2. Hipòtesis	5
3. Objectius	6
4. Marc teòric.....	7-12
4.1.Nicotina	7-9
4.1.1. Característiques.....	7
4.1.2.Efectes generals	7-8
4.1.3.Efectes sobre el desenvolupament embrionari	8-9
4.2.Etanol.....	10-12
4.2.1.Caraterístiques.....	10
4.2.2. Efectes generals.....	10-11
4.2.3. Efectes sobre el desenvolupament embrionari.....	11-12
5. Metodologia de treball.....	14-30
5.1.El peix zebra com a model biològic.....	14-15
5.1.1 Elecció del peix zebra	13
5.1.2.Característiques.....	13-14
5.1.3.Medi.....	15
5.2.El diari de treball	16-21
5.2.1 El diari de investigació.....	16
5.2.2 Observació, problemes i solucions.....	16-18
5.3.Experimentació.....	19-21
5.4.Resultats.....	22-30
5.4.1. Resultats de la mortalitat.....	22-23
5.4.2. Resultats de les malformacions.....	24-30
6. Conclusions.....	31-33
7. Valoració Personal.....	33-34
8. Agraïments.....	35
9. Bibliografia.....	36-39
Annex.....	40-47

1.INTRODUCCIÓ

1.1.Elecció de la temàtica

Sempre m'he fixat en la salut de les persones, em fixava en els seus hàbits, dietes, conductes, relacions... Em cridava l'atenció una cosa en concret, els avisos que feien les autoritats sanitàries sobre les substàncies perilloses, i l'abús que en feia la societat. Veia a gent fumant, bevent, consumint drogues... Així que ja tenia interès per conèixer millor aquestes substàncies (estructura, dosis, efectes...), i per investigar-ho.

Quan se'm va presentar l'oportunitat d'estudiar i investigar aquestes substàncies, se'm van obrir les portes de la branca de la toxicologia, que abastava un gran nombre d'objectes d'estudi i moltes possibilitats. Entre totes aquestes possibilitats se'm van presentar dues bastant interessants, per a ser l'objecte d'estudi del meu treball de recerca.

La primera possibilitat que em va proposar la meua tutora de recerca, Laura Lahoz Herranz, tocava de ple el tema de la salut pública, era l'estudi de les micotoxines (unes substàncies nocives alliberades per uns determinats tipus de fongs) en especial l'estudi de les fumisinines i les aflatoxines. El treball tenia com a centre la presència d'aquestes toxines als cereals dels preparats per a nadons, que al ser consumits alliberarien aquestes toxines al organisme, generant danys importants. I com demostrar la presència de substàncies de menys de 0,1µg?

Vam trobar un programa per a poder realitzar la part experimental del treball al Parc Científic de Barcelona, de la UB. Vam presentar-nos al concurs, per a poder accedir a tots els aparells de laboratoris que oferien, perquè per a poder detectar les micotoxines calia fer-ho mitjançant la tècnica d'HPCL. Vam preparar durant tot el mes de maig la introducció, la hipòtesi, els objectius, les dades del treball, i ho vam presentar al Parc Científic. Malauradament no hi vam poder accedir a les places per a entrar i participar, així que havent quedat fora del concurs, la proposta de les micotoxines es va esvaïr.

Hi vam apostar fort, malgrat això vam continuar. Durant l'estiu, a una de les reunions, la meua tutora em va proposar diversos temes per al treball, i va sorgir un que abastava el camp de la toxicologia.

El treball tractava sobre la demostració de l'efecte tòxic de diverses substàncies durant el desenvolupament embrionari, per a demostrar la seva perillositat, s'havia d'exposar a embrions a aquests factors tòxics i avaluar-ne els efectes.

Havia d'escollir, els factors tòxics, als que exposaria els embrions així que vaig mirar enrere, a quan era petit i em fixava en que prenia la gent, amb que s'excedien, i ho vaig veure clar. Va ser una elecció complicada, degut a l'extensa varietat de tòxics que hi havia, les raons que em portarien a escollir-los, però de tot el ventall de substàncies que se'm van presentar em vaig decidir per aquests dos: l'etanol i la nicotina.

El tabac, que tant s'està popularitzant en persones que el consumeixen a edats primerenques, incorpora a l'organisme tot un ventall de tòxics molt perillosos i la nicotina és un dels més perjudicials, ja que n'és la responsable de l'addició i la dependència a més dels danys que provoca.

Altres cas és el del etanol (o alcohol etílic), present a begudes alcohòliques, les quals en l'actualitat tenen una important presència als esdeveniments socials, últimament s'ha relacionat fer festa amb beure, des de adolescents i adults; al sortir els joves solen beure, en el ja conegut "botellón", on es consumeixen preocupants quantitats d'alcohol.

Tot aquell interessat en lucrar-se en la distribució i venda d'aquestes substàncies, farà el possible per a tal d'emascarar i ocultar els efectes col·laterals d'aquest productes. N'és ben coneguda la lluita contra el tabac per part d'associacions anti-tabaquisme, i és cert el parcial èxit que han assolit (avui en dia s'adverteix més dels seus efectes) però l'avarícia d'aquells que s'enriqueixen a costa de la salut de les persones, fa que el camí cap al control de la distribució del tabac a la vida pública estigui ple de sots i obstacles.

En quant a l'etanol, en petites dosis, és beneficiós, però en grans dosis n'és un tòxic perillós. Amb els mateixos motius que els de la distribució del tabac, amb el benefici que comporta, l'alcohol s'obté amb molta facilitat, i sense importar la quantitat que s'obtingui, sense importar a qui es ven i quines conseqüències pot tenir a la salut de qui el consumeix com vendre'l a menors sense demanar cap tipus de identificació o d'autenticació de que la persona és major d'edat.

Degut a la dependència que acaba desenvolupant la persona que consumeix alcohol, necessita beure per no trobar-se malament (el Síndromed'Abstinència a l'Alcohol, del qual parlaré més endavant), i això si ho pateix una dona embarassada, no pot evitar beure, i transmetre al nadó l'alcohol a través de la sang. El mateix succeeix amb les persones addictes a la nicotina; quan l'alcohol o la nicotina, arribem al embrió, aquest és troba a les primeres fases del desenvolupament embrionari, sent vulnerable a les substàncies exògenes tals com l'etanol o la nicotina. Si durant les fases primerenques del desenvolupament embrionari, aquestes substàncies interaccionen amb l'embrió, poden causar-li mals o posar en risc la seva integritat, ja sigui tornant inviable a l'embrió o a la llarga un nadó amb deficiències o malformacions morfològiques.

Després d'escollir els tòxics als que exposaria als embrions em faltava decidir a quina espècie pertanyerien els embrions. El treball es decantava per a utilitzar com a objecte de la investigació, els embrions d'una espècie en concret, amb la que es podia experimentar amb els seus embrions, ja que la legislació de protecció d'experimentació amb animals es molt estricte segons amb quines espècies experimentar.

Aquesta espècie ja té cert renom, com a objecte de investigacions farmacològiques i toxicològiques, no és un altre que el peix zebra(*Danio Rerio*). Mitjançant la cria i obtenció d'ous d'aquest peix, podia exposar els seus embrions a aquests factors, i demostrar la seva toxicitat a més d'extrapolar els resultats al ésser humà, degut a la gran homologia genètica amb l'ésser humà, ja que més del 80% dels gens del peix zebra, són els mateixos que els de l'ésser humà així que si alguna substància causa algun dany al peix zebra, aquesta substància també pot afectar a l'ésser humà.

Exposant als embrions de peix zebra, a la nicotina i a l'etanol, i observant si hi ha malformacions o morts, demostraré la perillositat d'aquestes substàncies i els danys causats en cadascuna de les fases del desenvolupament embrionari, i donat que el peix zebra comparteix el 80% dels gens amb els humans, i amb l'ajut de dades bibliogràfiques i de controls i estudis realitats a dones embarassades que consumeixen alcohol o tabac, podré demostrar que l'etanol i la nicotina són perjudicials durant el desenvolupament embrionari de l'espècie humana.

2. HIPÒTESIS

D'entre tots els col·lectius dels quals investigar, les dones embarassades són les que més em criden l'atenció. Tot el que mengen o beuen, acaba parant al nadó que porten al ventre, i sense saber-ho poden estar fent mal al seu fill. Tant la nicotina com l'etanol són candidats a ser substàncies perniciosos per les dones embarassades, però sobretot pels nadons, que sense voler-ho, acaben exposant-se a aquestes substàncies.

La pregunta que realment s'hauria de fer una dona embarassada (i la resta de la societat) és si el consum abusiu de nicotina (al fumar tabac) i d'etanol (al beure begudes alcohòliques) poden ser factors de risc per la integritat de la mare i del nen.

Per a esbrinar si realment el consum abusiu d'aquestes substàncies és perjudicial pels nadons, s'ha d'exposar a aquests suposats tòxics als embrions d'una espècie propera genèticament a l'ésser humà. Aquí apareix el peix zebra, un animal vertebrat, que comparteix amb nosaltres el 80% de la informació genètica, i per tant, si aquests factors li causen algun dany, és molt probable, que també puguin perjudicar als embrions humans.

Hipòtesi:

-L'exposició de nicotina i/o etanol durant el desenvolupament embrionari en els ous de peix zebra, causa malformacions i/o mortalitat als embrions.

3. OBJECTIUS

1-Demostrar la toxicitat de l'etanol i de la nicotina sobre els embrions de peix zebra, durant diverses etapes del seu desenvolupament embrionari.

Exposant als embrions de peix zebra, a nicotina i/o etanol, durant diverses etapes del seu desenvolupament embrionari, i després observant al microscopi, si hi ha o no malformacions o morts demostrarà la toxicitat d'aquests factors.

2-Analitzar els resultats obtinguts de l'efecte dels tòxics sobre els embrions.

A partir dels resultats, i prenent les mostres de control (els embrions de les quals, no seran exposats a cap factor), fer un anàlisi exhaustiu, i observar si en les mostres exposades a factors tòxics tenen més mortalitat o malformacions.

3-Demostrar la toxicitat de l'etanol i la nicotina en el desenvolupament embrionari de l'espècie humana.

A través de la recerca bibliogràfica, i d'estudis clínics hospitalaris de seguiment de control fetal de dones embarassades que consumeixen alcohol i nicotina, analitzar si els nadons al néixer tenen cap complicació, malaltia, deficiència o anomalia.

4. MARC TEÒRIC

Un cop plantejat tot allò referent a la introducció, la hipòtesi i els objectius, ara cal esmentar i fer una explicació dels factors tòxics que s'utilitzaran durant l'experiment. Amb aquesta intenció, a continuació, exposaré els factors amb una explicació dels seus efectes i altres característiques.

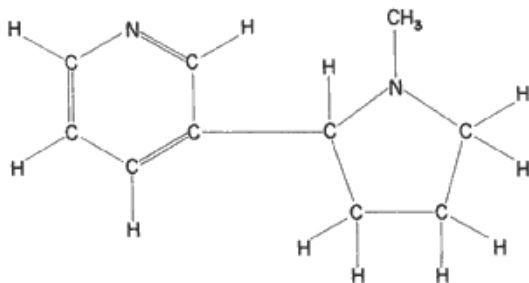
4.1. Nicotina

4.2. Característiques

La nicotina és un alcaloide de la planta del tabac (*Nicotiana tabacum*), és un potent verí, utilitzat com insecticida.

Al tabac és presenta en concentracions baixes actuant com un estimulant, que genera una dependència i una tolerància, que fa que qui consumeix necessiti cada cop més quantitat. A les cigarretes es troba en un 2-8% (és a dir que d'una cigarreta de 2g, 0,04-0,16g són nicotina)

La nicotina es metabolitza al fetge per mitjà del grup d'enzims del citocrom P450, i es converteix en cotinina per ser eliminada per l'orina. En els éssers humans, del 70 al 80% de la nicotina és metabolitzada.



4.1.2. Efectes generals

La nicotina arriba al sistema nerviós i travessa la barrera hematoencefàlica, degut a que és una micromolècula lipòfila. La nicotina intervé en el sistema de sinapsi neuronal, intervenint d'aquesta manera amb els alliberadors de transmissors neuronals, en especial amb el de la dopamina (coneguda com l'hormona del plaer).

El seu efecte perjudica el segment ventral del mesencèfal i en el nucleus accumbens del prosencèfal, en les àrees que formen part del sistema de recompensa. La nicotina es vincula aquí als receptors nicotínics de l'acetilcolina de les neurones. Imita al neurotransmissor acetilcolina, que sol acoblar-se a aquestes proteïna i, d'aquesta manera, fa que les neurones alliberin abundant dopamina, causant dependència a la persona, que necessiti nicotina per sentir-se bé, i provocant tolerància, que la persona necessiti cada cop més nicotina, i entrant en un cicle viciós.

El consum additiu del tabac, degut a la nicotina, fa que entrin al cos un ventall de tòxics molt perillosos (entre d'altres: quitrà, cianur d'hidrogen, monòxid de carboni, diòxid de carboni, òxid de nitrogen, amoníac...) els efectes negatius generals dels quals són el càncer de pulmó, el càncer de laringe, el de pàncrees, el d'estómac i el de bufeta.

4.1.3. Efectes sobre el desenvolupament embrionari

A nivell d'embrions i fetus, els efectes són molt diferents. La placenta és un òrgan que es desenvolupa durant l'embaràs, i que subministra al fetus nutrients i oxigen, a més fa de filtre biològic, recull les substàncies nocives del fetus i les passa a la mare, a més impedeix que es barregin les seves sangs. Però aquest òrgan és molt sensible a la nicotina, que fa que totes les fibres que la uneixen a la mucosa uterina s'entortolliguin, dificultant el pas d'oxigen i generant problemes amb el correcte funcionament de la placenta. *A més contrau els vasos sanguinis del cordó umbilical i en dificulta molt el pas d'oxigen, degut a això l'embrió no es desenvolupa completament; en moltes ocasions, els nadons de mares fumadores neixen amb menys pes que els de mares no fumadores, i en casos poc freqüents, neixen amb el sistema respiratori no desenvolupat del tot, a causa d'això els nadons han d'estar connectats a una màquina de respiració artificial. En els casos més greus, a partir dels 4 mesos de gestació hi ha possibilitats de que hi hagi avortaments espontanis.

Segons Óscar García*⁵, i a partir dels resultats obtinguts, conclou que el consum durant l'embaràs de tabac, cànnabis i alcohol pot induir canvis morfològics en la placenta a nivell dels seus vasos sanguinis, aquests canvis vasculars donen lloc a una baixa aportació de sang a la placenta i al fetus, la qual cosa produeix un ambient pobre en oxigen. Són necessaris nous estudis per a una millor comprensió del mecanisme a través del qual el consum durant l'embaràs de substàncies d'abús dona lloc a nounats amb un pes i una talla en néixer més baixos i un risc augmentat d'avortament.

La nicotina provoca un mal desenvolupament del nadó, fa que tingui problemes de pes i mida; a més, els nadons de mares fumadores tenen problemes respiratoris, de desenvolupament embrionari, i duplica fins i tot triplica el risc de patir el Síndrome de Mort Soltada del Lactant (conjunt de símptomes que porten a la mort sobtada del lactant, sense haver demostrat amb anterioritat cap anomalia, o cap malaltia) . El cervell es pot veure afectat, trastorns d'aprenentatge, problemes de comportament o coeficients mentals baixos...



6

5*Óscar García-Algar

Departament de Pediatria, d'Obstetrícia i Ginecologia i de Medicina Preventiva

Ortigosa S, Friguls B, Joya X, Martínez S, Mariñoso ML, Alameda F, Vall O, García-Algar O. "Feto-placental morphological effects of prenatal exposure to drugs of abuse" *Reprod Toxicol*. 2012 Aug;34(1):73-9.

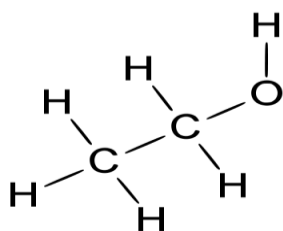
6 Diferències entre nadons de mares fumadores i no-fumadores

(esquerra mare fumadora, dreta mare no-fumadora)

4.2. Etanol

4.2.1. Característiques

L'etanol (o banalment conegut com alcohol), s'obté, com a resultat de la fermentació de grans de diverses classes de cereals o fruites, i és present a les begudes alcohòliques obtingudes després d'aquest procés de fermentació. L'etanol és processat en un 90% pel fetge, transformant-se en substàncies assimilables per l'organisme, el 10% restant és expulsat directament mitjançant l'expiració, la transpiració corporal, l'orina, les llàgrimes i la llet materna.



L'alcohol és metabolitzat més lentament del que s'absorbeix, per això s'ha de controlar la ingesta.

El fetge metabolitza una mitjana de 8-10g d'alcohol per hora, una ingesta excessiva pot desencadenar en un col·lapse hepàtic. Com a tòxic afecta sobretot al fetge, ja que és l'òrgan on més estona està a la seva estança al cos, encara que també afecta a la resta d'òrgans i sistemes.

4.2.2. Efectes generals

En grans quantitats l'alcohol degut al seu pes molecular (46) no cal que sigui digerit i és absorbit en el seu estat original per les parets del intestí prim i per la mucosa estomacal, passant al torrent sanguini, i actuant com una substància depressora del sistema nerviós central, causant desorientació, descoordinació, fallada de les funcions motores, nàusees, vòmits, cefalees entre d'altres. La ingesta abundant i repetitiva d'alcohol donà lloc a desenvolupar cirrosi hepàtica o fins i tot càncer hepàtic.

Segons estudis del institut nacional del càncer dels EE.UU, s'ha trobat que les persones amb malalties de fetge, sobretot cirrosi i hepatitis (degudes a l'abús de l'alcohol) tenen més possibilitats de patir càncer de fetge. Una investigació, suggereix que factors de l'estil de vida, entre ells la ingesta d'alcohol, causen tant la cirrosi com el càncer de fetge.

**Los investigadores han encontrado que las personas con algunas otras enfermedades del hígado tienen una probabilidad más alta que el promedio de desarrollar cáncer primario de hígado. Por ejemplo, del 5 al 10 por ciento de las personas que tienen cirrosis de hígado (un trastorno progresivo que lleva a la cicatrización del hígado) eventualmente desarrollarán cáncer de hígado. Una investigación sugiere que los factores del estilo de vida, como el consumo de alcohol y la desnutrición, causan tanto cirrosis como cáncer de hígado.*

Així mateix l'abús d'alcohol de manera prolongada, seguit d'una aturada sobtada de la seva ingesta, provoca el que es coneix com Síndrome d'Abstinència Alcohòlica, degut a que l'alcohol és una substància exògena a la que el cervell s'acostuma, al deixar de subministra-li l'organisme queda descompensat, i s'ha d'adaptar a la nova situació, causant un augment sobtat de l'excitabilitat de les neurones.

4.2.3. Efectes sobre el desenvolupament embrionari

Qualsevol mare evitaria beure, sabent que bevent, perjudica al seu fill però, degut al síndrome d'abstinència, la mare no pot controlar l'impuls de beure i així no fer mal al seu fill. Si la mare deixes de beure sobtadament les conseqüències per la vida de la mare serien negatives. Una dona embarassada que beu, ha de controlar la ingesta d'alcohol per evitar causar danys a l'embrió, així mateix necessitarà suport medic, i moral per part de la família.

Mentre que moltes persones prenen alcohol sent aquest nociu en grans dosis però no en baixes, aquestes baixes dosis ja són suficients per poder ser tòxiques a curt i llarg termini

per als embrions. El consum de l'alcohol durant l'embaràs pot causar problemes seriosos en els nens i adolescents : els infants poden demostrar un creixement lent i un retard en el desenvolupament , característiques facials poc usuals , irritabilitat , desordres del cervell i neurològics , retard mental i problemes amb l'estima cap als pares .

Els Problemes fetals de l'Alcohol (PFA) descriuen els efectes negatius i danys causats pel consum d'alcohol mentre s'està embarassada. La Síndrome Fetal de l' Alcohol (SFA) és un grup més específic de símptomes causats pel beure alcohol durant l'embaràs, uns exemples són creixement deficient mentre el nadó està en l'úter i després de néixer, disminució del to muscular i mala coordinació, retard en el desenvolupament i problemes en tres o més àrees majors: pensament, llenguatge, moviment o habilitats socials, anomalies cardíques com la comunicació interventricular (CIV) o la comunicació interauricular (CIA), ulls petits i ametllats, cap petit, maxil·lar superior petit, solc nasolabial llis, llavi superior llis i prim . Un nen és diagnosticat amb la SFA quan hi ha una exposició prenatal a l'alcohol i té: deformitats facials, desenvolupament lent i retardat, problemes del cervell i neurològics .



11

10

10 Nadó amb Síndrome Fetal de l'Alcohol

11 Nadó sense Síndrome Fetal de l'Alcohol

5. METODOLOGIA DE TREBALL

5.1.1 Elecció del peix zebra

He escollit al peix zebra, per davant d'altres models biològics com ratolí comú (*Mus musculus*) o la mosca del vinagre (*Drosophila melanogaster*) pels avantatges següents:

- La transparència dels embrions durant el desenvolupament embrionari(això permet que els embrions siguin observables microscòpicament, poden observar tots els seus òrgans i poden detectar anomalies o altres).

- Els cicles generacionals curts(els individus passen a ser adults als 3 mesos de néixer, així que permeten tenir individus sexualment madurs molt aviat per poder reproduir-los).

- La fresa setmanal dels ous(quan les femelles son sexualment madures, posen ous setmanalment, hi fresen entre 200-300 ous per posta(proporcionant així molts embrions per a la investigació).

- Són peixos comuns molt estesos per tot el món (això facilita molt la seva obtenció i els coneixements disponibles sobre aquests).

-Són peixos molt fàcils de mantenir(no requereixen de costosos estris per mantenir-los o de tècniques complexes de cria).

5.1.2 Característiques

El peix zebra és un peix petit(d'uns 5-6cm de longitud en estat adult), això fa que es puguin tenir, molts exemplars en poc espai, a més és un peix comú, molt estes pel món, que podem trobar en totes les botigues d'animals. És econòmic de mantenir i és fàcil fer que es reproduïxi. Té un cicle generacional curt, de 2-3 mesos, això vol dir que els alevins, són madurs sexualment als pocs mesos de néixer, la femella posa ous setmanalment (200-300/setmana) , a més els embrions eclosionen en 3 dies.

Etologicament, el peix zebra és un peix amb un marcat comportament social, que tendeix a establir petits grups d'individus. Al observar el comportament aïllat de dos mascles i una femella, per competència a l'hora de reproduir-se o per la jerarquia de comandament, el mascle fort, actua de manera violenta contra el feble. En un grup de 3 mascles i 3 femelles, aquest comportament hostil deixa pas a un comportament més sociable i sense agressions entre membres de l'espècie. A més a més, el peix zebra tolera molt be altres espècies de peix, a l'aquari comunitari, conviu sense problemes, amb peixos escalars (*Pterophyllum scalare*), peixos neons cardenals (*Paracheirodon innesi*), peixos pingüí (*Thayeria boehlkei*), peixos diable (*Hypostomus pleurocomus*) i tot tipus de peixos d'aigua dolça.



12

13

És un peix molt versàtil al medi, pot viure en medis amb pH al voltant de 7, amb una duresa d'aigua entre els 5°-10° dGH (graus de duresa d'aigua 1dGH= 10mg CaO/L). Pot sobreviure amb temperatures entre 20°-30°C. En llibertat és omnívor, s'alimenta de petits insectes i plàncton, i en captivitat s'alimenta de tot, des de escates seques per a peixos fins a artèmia salina.

12) Peixos zebra (esquerra) i peix diable (dreta)

13) Peixos zebra (a dalt) i peix escalar (a baix)

5.1.3. Medi

Per a dur a terme l'experiment he disposat dos aquaris:

-1r aquari:

Un aquari de 32L amb filtre, per a obtenir les condicions òptimes de salubritat de l'aigua per als peixos, i una llum fluorescent, per a imitar la llum del seu medi natural, i per a poder complir el fotoperíode de 12h de llum 12 h de fosc. Hi he integrat un peix diable (*Hypostomus plecostomus*), ja que aquest peix s'encarrega de mantenir les superfícies del aquari netes d'algues i de brutícia, d'aquesta manera ajuda a mantenir unes condicions òptimes de salubritat a l'aquari.

És un aquari comunitari on conviuen 6 peixos zebra (3 mascles/3 femelles) amb 1 peix diable.



14

2n aquari:

L'altre aquari és un aquari petit de 10 L, amb aigua provinent de l'altre aquari, per a evitar una mala aclimatació al canvi d'aigua dels peixos al traslladar-los, i per a no alterar les condicions del medi.

En aquest aquari, quan arribi el moment de traslladar-los estaran en una proporció de 2mascles/1 femella. Aquest aquari té tot el fons ple de bales de vidre, per a quan arribi el moment de la fressa, els progenitors no puguin arribar als ous, i així no se'ls mengin.

14 Peix diable (*Hypostomus plecostomus*) al fons de l'aquari

5.2 El diari de treball

5.2.1 El diari d'investigació

Durant el temps en el que feia aquest treball, he anat escrivint un diari amb entrades, explicant el dia a dia del treball, les novetats, els avenços, els dubtes i tot allò relatiu a la cria dels peixos zebra, la obtenció dels ous, el procés experimental i la recerca bibliogràfica. Aquest diari, degut a la seva extensió, forma part dels annexos del treball.

5.2.2.Observació, problemes i solucions.

En aquest apartat, es reflecteixen les situacions a las que m'he enfrontat, ja que a més de la recerca, del procés experimental, i de la redacció del treball, la cria i cura dels peixos forma part de la feina. A més del plantejament i les observacions que he fet em el moment, exposo la solució que he escollit i els resultats que ha tingut.

1r Problema

``Rivalitat`` entre individus del mateix sexe

-Observacions:

En el meu aquari de 32L(descrit amb anterioritat) on no hi ha cap individu que no pertanyi a l'espècie peix zebra (Danio Rerio), he observat un comportament anòmal en l'espècie. En la població de 2 mascles i 1 femella, el mascle dominant, ataca constantment al mascle dèbil. Aquestes constants agressions, han portat al mascle dèbil a un estat d'estrès i de inanició donant com a resultat la seva mort.

-Solució:

La població del meu aquari està jeraquitzada per femella dominant, mascle dominant, mascle feble, hi ha atacs del mascle fort al feble, incorpore mascles i femelles amb unes característiques similars als dominants, i els conflictes entre individus de la població, haurien de cedir.

-Resultat:

Tots els atacs han cedit, no hi ha dominància per cap mascle o femella, tenen un comportament de grup marcat, es mantenen junts, neden junts, mengen junts. Els mascles mostren interès per les femelles, però encara no hi ha hagut fressa.

2n Problema

Proliferació massiva d'algues a l'aquari

-Observacions:

Degut a unes característiques òptimes de temperatura, lluminositat, i concentració de fosfats/nitrats a l'aigua, ha aparegut una gran quantitat d'algues a l'aquari, aquestes algues en principi no han causat danys als peixos, però per evitar qualsevol contratemps, prefereixo desfer-me'n.

-Solució:

He incorporat un peix "menja-algues", un peix diable (*Hypostomus plecostomus*), perquè s'encarregui de les algues del fons i de les superfícies, i utilitzo un producte anti-algues per a erradicar-les el tot.

-Resultat:

Totes les algues han desaparegut i l'aquari torna a estar en condicions òptimes.
De les poques algues que apareixen s'encarrega el peix diable.

3r Problema

Aparició d'estructures esfèriques d'origen desconegut

-Observacions:

A l'aquari han aparegut unes esferes verdes, que floten i es desplacen. No en se l'origen, ni si són éssers vius o no.

-Solució:

Decideixo fer una extracció manual de totes les esferes que puc (faig recompte i hi recullo 12). A més, faig una observació al microscopi, faig fotografies i vídeos per documentar-ho, busco a internet i a llibres online de microbiologia, per determinar el regne al que pertany els organismes i saber com actuar davant d'una possible aparició, sense resultats satisfactoris.

-Resultat:

No tornen a aparèixer aquestes estructures de moment, però si tornen a aparèixer, faré un anàlisi més exhaustiu per determinar que són.

4t Problema

Inactivitat dels peixos

-Observacions:

Els peixos romanen sota la superfície, mengen i nedan molt poc, per separat, sense el característic moviment al uníson de l'espècie.

-Solució:

Vaig a la botiga i pregunto, em recomanen que compri un escalfador, així ho faig.

-Resultat:

Després d'un temps d'haver instal·lat l'escalfador, els peixos s'han tornat més actius, i es mouen en grup.

5.3.Experimentació

Per tal de demostrar la validesa de la meua hipòtesi he de seguir un procés d'experimentació amb unes pautes, per tal de tenir un control de variables que no interfereixin en els resultats de l'experiment, i un seguit de passos: recollida dels ous, disposició dels ous en flascons, on a un grup els deixaré en condicions normals, només aigua sense cap factor tòxic, per observar el resultat normal (mostres de control o testimoni), a un altre grup els exposaré a etanol, i a un altre els exposaré a nicotina. Per tal de descartar qualsevol resultat degut a l'atzar, disposaré de varies replicues per a cada un dels grups. Després d'obtenir els resultats, els analitzaré i determinaran la validesa de la hipòtesi inicial. A continuació, explicaré més acuradament cadascun dels processos que seguiré:

1-Procés de recollida d'ous

Cal fer èmfasi en el detall de que els peixos zebra(Danio Rerio), son caníbals vers les cries, per tal s'ha de preparar un aquari adequat(amb bales de vidre per fer de barrera) i així evitar que els adults es mengin els ous. En el moment en que la femella fressi, s'han de recollir els ous, però amb les bales de vidre no és poden recollir amb les pipetes Pasteur, per tant mitjançant un tub de silicona amb filtre per aspirar els detritus de la grava del aquari, aspirarem els ous i els traspasarem a un altre recipient on els aspirarem amb la pipeta Pasteur.

2-Exposició de les mostres d'ous a determinats tòxics i fixació de mostres

Una vegada aspirats els ous amb la pipeta Pasteur, es procedeix a dipositar 10 ous en un flascó. Repetim el procés fins a dipositar 10 ous en cadascun dels 30 flascons. Els flascons tenen una capacitat de 60ml, tenen un tap hermètic, i un altre de rosca, els ompliré fins als 20ml amb aigua per a que estigui ben oxigenada i afegiré el factor a les mostres corresponents.

A)10 flascons contindran els ous i aigua, res més, perquè aquest seran els de control, si s'arriba a generar qualsevol malformació, mutació, o mort, seran espontànies, els factors tòxics no hauran intervingut, i s'haurà de afegir a les dades resultants.

Aquestes seran les Mostres de Control[MC](MC1-MC10)

B) 10 flascons tindran els ous i una solució d'aigua i etanol(etanol absolut destil·lat) al 2%(0,4ml etanol), i si arriben a generar-se malformacions, mutacions, o morts, comptant amb la probabilitat de mort espontània obtinguda a les MC, obtindrem la probabilitat de que siguin causades pel etanol.

C) 10 flascons portaran els ous i una solució d'aigua i nicotina a 300ppm(6mg nicotina/mostra en forma de pastilles per deixar de fumar), i si arriben a donar-se malformacions, mutacions, o morts, comptant amb la probabilitat de mort espontània obtinguda a les MC, obtindrem la probabilitat de que siguin causades per la nicotina.

-Procediment de disposició als flascons, d'exposició als tòxics i de fixació de les mostres

1) Al moment de la fresa, és dipositen els ous en els flascons, als MC1/ME1/MC.1 se'ls afegeix la quantitat necessària de formaldehid al 40%, per tal de estigui al 4% de formol, i així fixar la mostra(deixar els embrions en l'estat embrionari en el que estan, deixar-los intactes, aturant el seu cicle vital).

2) Al cap de 45min fins a les 2h15min després de la fresa com a límit(perquè els embrions entraran el següent estat), es repeteix el Procés de fixar la mostra amb els flascons MC2/ME2/MC.2.

3) Passades les 2h15min fins a les 5h15min de la fresa com a límit, es fixen les mostres MC3/ME3/MC.3.

4) Entre les 5h15min fins les 10h límit després de la fresa, fixem les mostres MC4/ME4/MC.4.

5)Dins de les 10h fins les 24h límit després de la fresa, fixem les mostres MC5/ME5/MC.5

6)Passat 1Dia(24h) i fins als 2dies(48h) com a límit de temps després de la fresa, fixem les mostres MC6/ME6/MC.6.

7)Per acabar entre els 2dies(48h) i els 3dies (72h), es fixen les mostres MC7/ME7/MC.7.

He fet 10 mostres, una per cada una de les fases del desenvolupament embrionari dels embrions del peix zebra, per tal de disposar de repliques i assegurar la validesa de l'experiment i els resultat d'aquest

Etapa o estat	Durada de l'estat	Temps transcorregut	Característiques
Fecundació/Zigot	0h-0,75h(45min)	45min	Zigot
Segmentació/Escissió	0,75h- 2,25h(2h15min)	1h30min	256 blastòmers
Morulació	2,25h- 5,25h(5h15min)	3h	Primer solc somàtic
Blastulació	5,25h-10h	4h45min	Cor batec regular, pigmentació dorsal i ventral
Gastrulació	10h-24h(1d)	14h	Divisió cel·lular
Embòlia			
Estat filotòpic	1d-2d	24h	Moviments epibòlics
Neurulació	2d-3d	24h	Etapa filotípica, moviments espontanis, cua, pigmentació
Organogènesi			
Estat Larvari	3d	0h	

4-Observació de les mostres al microscopi

Passat aquest temps, s'agafen els ous de cada un dels flascons, i s'observen els ous de cada flascó per separat amb l'ajuda d'un portaobjectes excavat i un microscopi. Prenem fotos per documentació i iconografia dels ous i observem si hi ha cap anomalia (mutacions, teratogènesis, malformacions, morts o altres).

5.4. Resultats

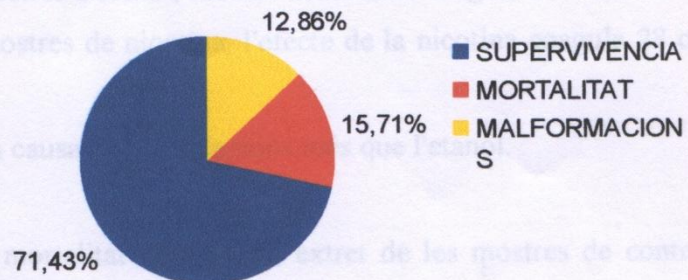
5.4.1. Resultats de la mortalitat

Mostres de control	Morts (coagulacions)	Ous en bon estat
1	0	10
2	0	10
3	0	10
4	0	10
5	3	6
6	1	4
7	7	0
TOTAL	11	50

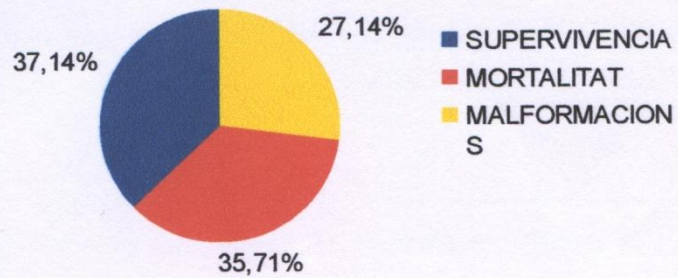
Mostres d'etanol	Morts (coagulacions)	Ous en bon estat
1	0	9
2	0	3
3	0	5
4	1	6
5	4	3
6	10	0
7	10	0
TOTAL	25	26

Mostres de nicotina	Morts (coagulacions)	Ous en bon estat
1	0	2
2	0	5
3	1	3
4	8	2
5	10	0
6	10	0
7	10	0
TOTAL	39	12

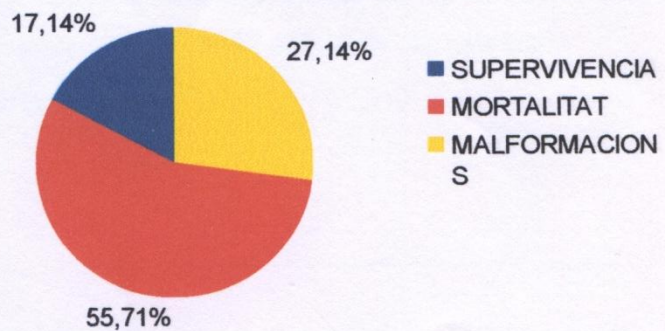
Mostres de Control



Mostres d'etanol



Mostres de Nicotina



Els factors nicotina i etanol, han fet augmentar la mortalitat:

- En les mostres de control 11 ous es coagulen de manera esporàdica.
- En les mostres que portaven el factor etanol en una concentració de 2% (0,4mL/15800ppm)25 ous es coagulen.
- En les mostres que portaven el factor nicotina en una concentració de 300ppm 39 ous es coagulen.
- Comparant mostres de control-mostres d'etanol, l'efecte de l'etanol coagula a 14 ous més.
- Comparant mostres de control-mostres de nicotina, l'efecte de la nicotina coagula 28 ous més.
- Comparant els factors, la nicotina causa 14 coagulacions més que l'etanol.

Encara restant el percentatge de mortalitat esporàdica, extret de les mostres de control, l'etanol, i molt més, la nicotina fan augmentar la mortalitat, a l'etanol respecte la de control augmenta un 20% i a la nicotina respecte la de control augmenta un 40%.

5.4.2. Resultats de les malformacions

Mostres de control	Malformacions	Ous en bon estat	
1	0	10	Taxa de Malformacions: 9 ous malformats de 70 ous totals. El 12,86% dels ous pateixen malformacions
2	0	10	
3	0	10	
4	0	10	
5	1	6	
6	5	4	
7	3	0	
TOTAL	9	50	

Mostres d'etanol	Malformacions	Ous en bon estat	
1	1	9	Taxa de Malformacions: 19 ous malformats de 70 ous en bon estat. El 27,14% dels ous pateixen malformacions.
2	7	3	
3	5	5	
4	3	6	
5	3	3	
6	0	0	
7	0	0	
TOTAL	19	26	

Mostres de nicotina	Malformacions	Ous en bon estat	
1	8	2	Taxa de Malformacions: 19 ous malformats de 70 ous en bon estat. El 27,14% 27,14% dels ous pateixen malformacions.
2	5	5	
3	6	3	
4	0	2	
5	0	0	
6	0	0	
7	0	0	
TOTAL	19	12	

- En les mostres de control 9 ous es coagulen de manera esporàdica.

- En les mostres que portaven el factor etanol en una concentració de 2% (0,4mL/15800ppm) 19 ous pateixen malformacions.

- En les mostres que portaven el factor nicotina en una concentració de 300ppm 19 ous pateixen malformacions.

- Comparant mostres de control-mostres d'etanol, l'efecte de l'etanol coagula 10 ous més.

- Comparant mostres de control-mostres de nicotina, l'efecte de la nicotina coagula 10 ous més.

- Comparant els factors, tant la nicotina com l'etanol causen malformacions al mateix número d'embrions, 19 ous ,malformats respecte de 70 exposats per cada substància. Si tenim en compte les malformacions de les mostres de control, que no estan influenciades per l'exposició a les substàncies, a les mostres d'etanol i nicotina, respectivament, 10 ous han patit malformacions.

Amb això podem apreciar el risc que comporta abusar de l'etanol i lo perjudicial que és fumar. Si poden fer això a un embrions, en molt baixes concentracions, podem fer-nos a la idea, del mal que pot arribar a fer a un fetus si la mare s'excedeix massa, i abusa de l'alcohol o del tabac

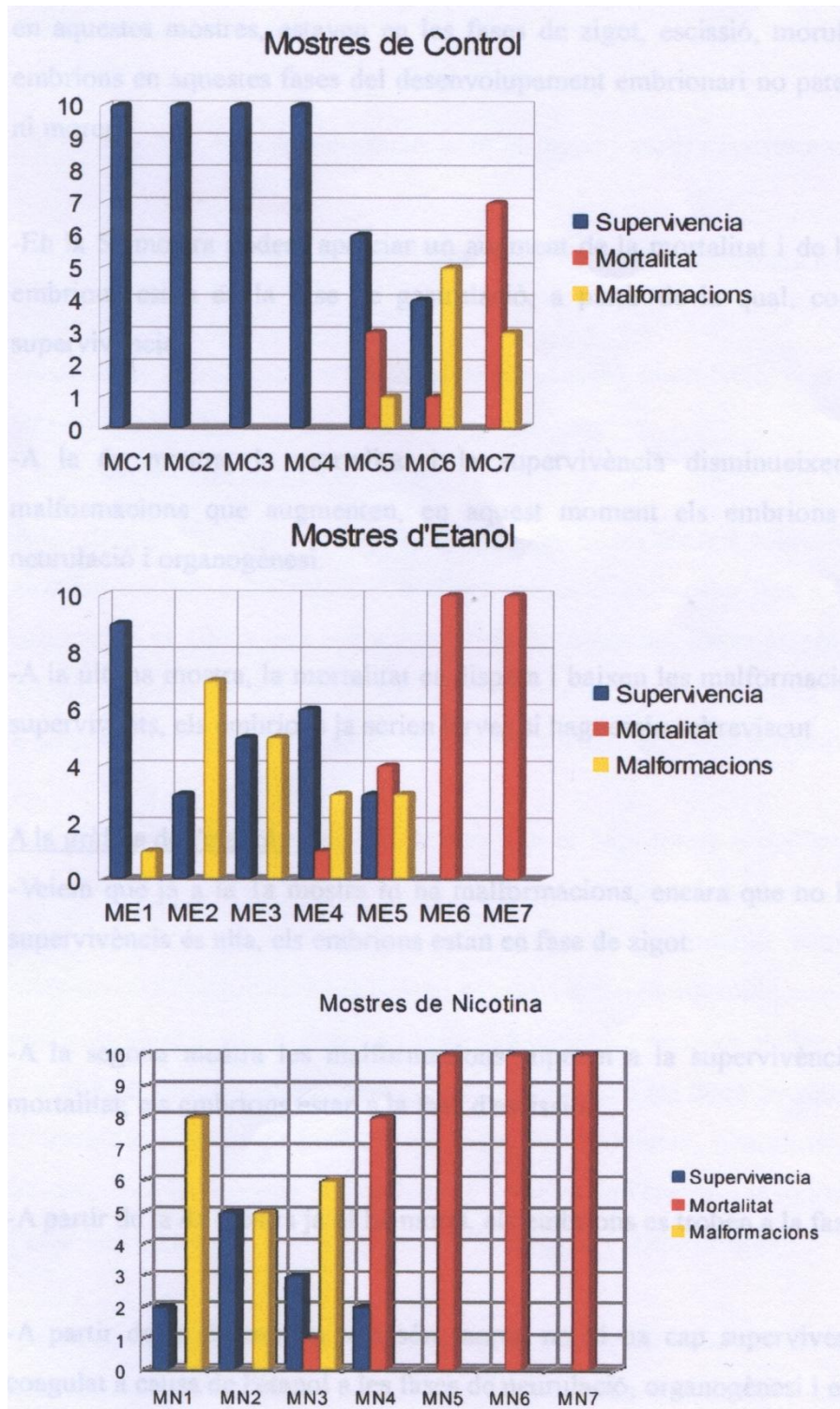
Taules de temps

Amb l'ajut d'aquestes taules de dades, i comparant el temps de vida dels embrions amb la taula de les fases del desenvolupament embrionari, puc determinar en quina fase del desenvolupament embrionari es troben els embrions de les mostres, per tal d'esbrinar en quina fase són més vulnerables els embrions.

Els ous van ser fressats aproximadament a les 08:00:00 del dia 22/11/13

Mostres de control	Temps preparació	Temps Fixació	Dia	Fase del desenvolupament embrionari
1	14:46:00	15:38:47	(22/11/13)	Zigot
2	14:48:00	15:39:55	(22/11/13)	Escissió
3	14:50:00	15:40:51	(22/11/13)	Morulació
4	14:56:50	22:06:51	(22/11/13)	Blastulació
5	14:57:48	08:19:45	(23/11/13)	Gastrulació
6	14:59:34	08:15:30	(24/11/13)	Neurulació/Organogènesi
7	14:59:57	08:03:30	(25/11/13)	Estat larvari
Mostres etanol	Temps preparació	Temps Fixació	Dia	Fase del desenvolupament embrionari
1	14:50:15	15:41:22	(22/11/13)	Zigot
2	14:52:10	15:42:35	(22/11/13)	Escissió
3	14:53:13	15:43:33	(22/11/13)	Morulació
4	15:05:07	22:07:37	(22/11/13)	Blastulació
5	15:07:50	08:22:08	(23/11/13)	Gastrulació
6	15:08:14	08:17:23	(24/11/13)	Neurulació/Organogènesi
7	15:09:30	08:02:13	(25/11/13)	Estat larvari
Mostres Nicotina	Temps preparació	Temps Fixació	Dia	Fase del desenvolupament embrionari
1	14:54:31	15:44:27	(22/11/13)	Zigot
2	14:55:30	15:45:00	(22/11/13)	Escissió
3	14:55:55	15:45:55	(22/11/13)	Morulació
4	15:13:02	22:08:46	(22/11/13)	Blastulació
5	15:14:10	08:20:41	(23/11/13)	Gastrulació
6	15:15:10	08:19:50	(24/11/13)	Neurulació/Organogènesi
7	15:16:34	08:01:30	(25/11/1)	Estat larvari

Gràfiques de supervivència, malformacions i mortalitat de les mostres de control, etanol i nicotina



A la gràfica de control:

-Podem observar com no n'hi ha malformacions, ni morts fins a la 5a mostra, els embrions en aquestes mostres, estaven en les fases de zigot, escissió, morulació i blastulació, els embrions en aquestes fases del desenvolupament embrionari no pateixen cap malformació ni moren.

-En la 5a mostra podem apreciar un augment de la mortalitat i de les malformacions, els embrions estan en la fase de gastrulació, a partir de la qual, comença a disminuir la supervivència.

-A la 6a mostra, la mortalitat i la supervivència disminueixen, al contrari de les malformacions que augmenten, en aquest moment els embrions estan en la fase de neurulació i organogènesi.

-A la última mostra, la mortalitat es dispara i baixen les malformacions, fent que no hi ha supervivents, els embrions ja serien larves si haguessin sobreviscut.

A la gràfica de l'etanol:

-Veiem que ja a la 1a mostra hi ha malformacions, encara que no hi ha coagulacions, la supervivència és alta, els embrions estan en fase de zigot.

-A la segona mostra les malformacions superen a la supervivència, i encara no hi ha mortalitat, els embrions estan a la fase d'escissió.

-A partir de la 4a mostra ja hi ha morts, els embrions es troben a la fase de blastulació.

-A partir de la 6a mostra tots són morts, no hi ha cap supervivent, tots els ous s'han coagulat a causa de l'etanol a les fases de neurulació, organogènesi i estat larvari.

A la gràfica de la nicotina:

-Des de la 1a mostra, la fase de zigot, i a la 2a mostra, fase d'escissió hi ha moltes malformacions i cap mort.

-A la 3a mostra, fase de morulació, ja ni ha morts i moltes malformacions.

-A partir de la 4a mostra, fase de blastulació, les morts augmenten exponencialment.

-A partir de la 5a mostra, a les fases de gastrulació, neurulació, organogènesi i estat larvari tots els ous moren.

Comparativa entre les tres gràfiques:

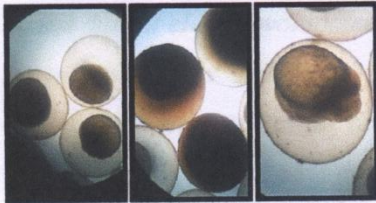
A les mostres de control, veiem que sense cap factor els ous sobreviuen, fins que arriba un moment en que o be pateixen malformacions o be moren fins a la fase de gastrulació, sobreviuen el 100% dels individus, a les de tòxics no. Entre etanol i nicotina, la nicotina supera en toxicitat a l'etanol de lluny, ja que a l'etanol fins a la neurulació, sobreviuen alguns embrions, però a la nicotina, des de la blastulació tots són morts.

Probablement a les mostres de control, que hi hagi morts o malformacions sigui degut a una dolenta oxigenació de l'aigua, o a una inviabilitat dels embrions que es manifesta a les fases superiors del desenvolupament embrionari (gastrulació, neurulació, organogènesi, estat larvari). Encara no havent estat exposats a cap factor tòxic, esporàdicament, es donen malformacions i morts, degut a l'atzar o a variables no controlades. El factor etanol causa que hi hagi malformacions a les primeres mostres, a les fases de zigot, escissió, morulació, i mortalitat a partir de la 4a, a les fases de blastulació, neurulació, organogènesi i estat larvari. Amb això queda demostrada la toxicitat de l'etanol, i la mortalitat que causa des de l'estat de blastulació, a partir d'aquesta fase les morts augmenten.

Queda demostrada amb escreix la perillositat de la nicotina i la seva toxicitat. Cal recordar que està en una concentració 52,7 vegades inferior a l'etanol, i encara així el seu poder tòxic és molt superior. Torna a repetir-se el patró de l'aparició de morts, entre les fases de morulació, blastulació i gastrulació, tot i que tots els embrions moren més

aviat, des de la gastrulació, que els embrions exposats a etanol, que moren tots a partir de la fase de neurulació.

Fotografies fetes al microscopi durant el procés d'observació



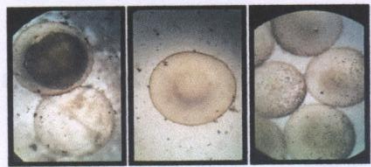
Mostres de control, en les que s'aprecien els estats en els que es poden trobar els ous

15 16 17



Mostres d'etanol, en les que s'aprecien els estats en els que es poden trobar els ous

18 19 20



Mostres de nicotina, en les que s'aprecien els estats en els que es poden trobar els ous

21 22 23



Comparació d'ous coagulats a les 3 mostres

24 25 26

- 15 Ous en bon estat, mostres de control
- 16 Ous coagulats esporàdicament, mostres de control
- 17 Ou amb malformació esporàdica, mostres de control
- 18 Ous en bon estat i ou coagulat, mostres d'etanol
- 19 Ous coagulats, mostres d'etanol
- 20 Ou coagulat, mostres d'etanol
- 21 Ou en bon estat i ou coagulat, mostres de nicotina
- 22 Ou coagulat, mostres de nicotina
- 23 Ous coagulats, mostres de nicotina
- 24 Ou coagulat esporàdicament, mostres de control
- 25 Ou coagulat, mostres d'etanol
- 26 Ou coagulat, mostres de nicotina

6.Conclusions

Els resultats constaten que els factors nicotina i etanol, causen danys als embrions, des de malformacions i anomalies morfològiques fins a la total coagulació, durant diverses fases del seu desenvolupament embrionari(zigot, escissió, morulació, blastulació, gastrulació, neurulació, organogènesi i estat larvari). La meua hipòtesi ``*l'exposició de nicotina i/o etanol durant el desenvolupament embrionari en els ous de peix zebra, causa malformació i/o mortalitat als embrions*'' ha quedat corroborada. L'exposició d'aquests tòxics als embrions de peix zebra, els ha causat danys, des de malformacions fins a la mort i són quantitativament superiors a les de les mostres de control.

I al mateix temps ha complert els objectius:

1-Demostrar la toxicitat de l'etanol i de la nicotina sobre els embrions de peix zebra, durant diverses etapes del seu desenvolupament embrionari.

Ha quedat demostrada, per l'augment de les malformacions i l'augment de les morts a les mostres amb nicotina i a les mostres d'etanol , respecte les mostres de control.

2-Analitzar els resultats obtinguts de l'efecte dels tòxics sobre els embrions.

Després d'observar els embrions al microscopi després d'haver-los exposat a nicotina o a etanol, he pogut analitzar els resultats, i demostrar la seva toxicitat.

3-Demostrar la toxicitat de l'etanol i la nicotina en el desenvolupament embrionari de l'espècie humana.

Segons diversos estudis publicats pel Dr Òscar García, els fetus de dones embarassades que consumeixen nicotina, tenen problemes de desenvolupament, degut a que durant l'embaràs, aquesta substància, fa que els vasos sanguinis de la placenta es deteriorin, dificultant el pas d'oxigen al nadó, i la manca d'aquest, ralenteix el desenvolupament del nadó, i fa que neixi amb deficiències respiratòries, i de desenvolupament neurològic. I en aquesta línia, també s'ha demostrat, amb l'estudi publicats del seguiment de dones embarassades que consumien etanol durant el seu embaràs , que el consum excessiu d'alcohol, provoca complicacions durant el

desenvolupament embrionari, manifestant-se al néixer, provocant el Síndrome Alcohòlic Fetal.

Aquest experiment, ha demostrat la toxicitat tant de la nicotina com de l'etanol durant diferents fases del desenvolupament embrionari del peix zebra, i amb la recerca bibliogràfica sobre els estudis clínics a dones embarassades que consumien alcohol i nicotina, també ha demostrat la toxicitat d'aquests tòxics durant el desenvolupament embrionari de l'espècie humana.

Tot això deixa clar que el consum de tabac i l'abús d'alcohol és perjudicial pels embrions.

Si un alumne de batxillerat, sense subvencions, ni medis, ha pogut demostrar la toxicitat i el perill que representen, uns científics, titulats, amb medis i capital, podrien transmetre un missatge encara més clar, que la societat sàpiga que està consumint, que no passi dels consells, que no visquin en la ignorància.

Es aquí on el estat ha d'actuar; la obligació de l'estat és vetllar per la seguretat i la salut de les persones, mitjançant totes les vies possibles. Fer campanyes on s'informi a la gent dels efectes de l'alcohol i el tabac, de que comporta el seu abús, que els hi pot passar als fetus de les embarassades que consumeixen aquestes substàncies, arribar a conscienciar a tota la societat de les dimensions del problema de l'addicció a l'alcohol i al tabac, però no quan ja està fet el mal, sinó començar ja a les escoles, a educar als nens sobre lo nociu que es fumar o beure alcohol i procurar als nens tota la informació necessària per a evitar que consumeixin aquestes substàncies. Per acabar, l'estat hauria de fomentar els hàbits saludables, com l'esport, i les activitats socials, per evitar que la gent acabi consumint.

Però, si es vol guanyar la lluita contra el tabaquisme i l'alcoholisme, tots nosaltres hem de col·laborar, tots hem de tenir més criteri, ningú ens obliga a beure o fumar, som nosaltres mateixos al començar-ho que ens tornem addictes. Però com podem acabant sent addictes, també podem decidir demanar ajuda a l'entorn per superar l'addicció, i el mateix per les embarassades, ja que si pateixen addicció a aquestes substàncies no poden evitar fer mal als seus fills consumint-les, però si demanen ajuda, si intenta deixar-ho, té suport del seu entorn i suport mèdic, i força de voluntat pel bé del seu fill, serà capaç de deixar aquest abús, i procurar una millor vida al nadó.

7. Valoració Personal

Aquest treball de recerca m'ha permès viure i adquirir experiències que de cap altre manera hagués pogut arribar a assimilar. En primer lloc, després de que el parc científic decidís no acceptar la primera proposta de treball, la de les fumisines, vaig decebre'm, però gràcies a la meva tutora, a les seves propostes, i al seu constant suport, vaig poder continuar endavant, i com que el treball seguia anant sobre la toxicitat, em va agradar continuar.

Duent a terme el treball, vaig poder adonar-me de que el món de la investigació, de la recerca científica, de l'anàlisi, el món de la ciència a grans trets, és el meu món, gràcies a això he canviat de parer, i m'estic plantejant fer un cicle formatiu de grau superior de caràcter científic de química o sanitat, per a poder treballar en un laboratori d'anàlisi, de química ambiental, de citologia, o de qualsevol de les àrees de la ciència.

Aquest treball a més, m'ha fet obtenir uns valors, m'ha fet una persona més perseverant, a no tirar la tovallola a la mínima; m'ha ensenyat a donar el meu tot, el seguir endavant tot i les dificultats i a afrontar nous reptes i a no tenir por a allò nou o estrany. Crec que aquestes vivències, m'han enriquit tant com persona, com a investigador científic, i me'n alegro d'haver escollit aquest treball, estic molt content d'haver seguit endavant i d'haver acabat el treball, a més de complir els objectius.

He passat de llegir procediments, d'adquirir coneixements sobre el peix zebra, sobre el desenvolupament embrionari, sobre toxicologia, a posar-ho en pràctica, he après entre d'altres coses a fixar mostres, a fer-ne ús del microscopi, a seguir la rutina d'un investigador, a escriure i mantenir un diari de treball on he anotat dubtes, avenços i tot el que em passava mentre anava fent el treball i la part experimental, a fer disseny experimental, he après a criar peixos zebra, he après coses que de cap altre manera no hagués pogut aprendre.

8. Agraïments

En primer lloc vull donar les gràcies a la meva tutora de recerca, Laura Lahoz Herranz, sense la qual, m'hagués quedat estancat i no hagués pogut seguir, qui em va donar la proposta del treball quan el parc científic ens va tancar les portes, qui em va donar suport, ajuda tècnica, qui em va facilitar els medis, estris i aparells per a dur a terme els experiments, qui va tenir una paciència infinita quan em quedava enrederit, qui em va aconseguir els ous per a poder realitzar la fase experimental, i qui va motivar-me i fer-me seguir endavant.

Vull donar especial agraïment a la professora de matemàtiques Laia Miró Manasanch i a la professora de llengua i literatura catalana Rosa Maria Pèrez Albors, que quan les coses se'm van posar crues, em van fer costat i em van guiar, i les quals han sigut unes de les professores més importants durant el meu pas pel centre, a més de ser unes grans persones, que ajuden a tothom de manera altruista, i sense les quals hagués perdut la motivació per continuar endavant.

També vull agrair a la cap del Departament d'Experimentals, Eva Corrons Riba, per haver cedit els materials i estris.

Així mateix, vull agrair a la Cap d'estudis i professora de Biologia del centre, M^a Cinta Llop Macia, per haver-me respost molts de dels dubtes que m'anaven sorgint, i per suportar a aquest alumne tan pesat.

Agraeixo a tots els professors que s'han amoïnat per mi quan estava sobresaturat, i que han estat darrere meu per a que torni a agafar el camí.

Gràcies a Eva Prats, que va proporcionar-me els ous de peix zebra per a poder dur a terme l'experiment.

Gràcies al personal de Dauer Acuarios, per guiar-me en el món de l'aquariofilia, i haver-me donat un cop de mà i molts bons consell a l'hora de cuidar i criar als peixos zebra.

Gràcies a les noies de CIAJ per haver-me ajudat en la recerca bibliogràfica, així com per haver-me suportat en aquelles llargues tardes d'estudi i treball.

Gràcies a la meva mare per haver-se quedat al meu costat en aquelles llargues hores d'estudi, per haver-me fet costat, per la seva preocupació al veure'm sense dormir després d'una nit de recerca, per haver-me aconsellat i ajudat i per haver-se buidat la cartera comprant-me la peixera, els peixos i el material que em faltava a més de col·laborar en les atencions dels peixos; també a la meva germana petita, alumne del centre, que va ser la meva ajudant durant la fase experimental, fent fotos, prenent dates i fent-me l'activitat més amena.

No vull oblidar d'agrair als meus amics, als que han estat suportant-me, els que s'han interessat pel meu treball, i, els que sense ells no estaria on estic ara. Moltes gràcies, de tot cor als meus companys i amics de classe: a Andreu Carbonell Colomè, Nataly Fernández Restrepo, Paul Adam Gonzalez Zegaoula i a la meva ex-companya de classe Itxiar Alvaréz Mosqueda, moltes gràcies per tot el que heu fet per mi. Aprofito per reconèixer l'ajut dels meus amics de fora del centre, sense els que m'hagués vingut a baix durant els moments en que el treball em sobresaturava, moltes gràcies a: Maria Rosa Boleko Daniel Warren, Anna Tubert, Eva Tubert, Alicia Casado, Cristina Puigcerver Sara Caritg i Udita Jabin, , nois i noies, companys del centre i de fora, us dec una gran, us heu guanyat una plaça permanent al meu cor i als meus pensaments.

I per acabar, vull agrair profundament a una ex-docent del centre, una professora molt especial, que va fer que m'interessés pel món de la investigació, dels experiments i em va ajudar a forjar la meva aptitud científica. Moltes gràcies M^o Teresa Salamanca Cubero per haver-me iniciat en el món de la recerca científica i per haver estat una persona i una part important del meu recorregut acadèmic.

9. Bibliografía

Webs de consulta:

1) *El Tomar Alcohol Durante el Embarazo (Los Efectos del Alcohol en el Feto)*

http://www.aacap.org/AACAP/Families_and_Youth/Facts_for_Families/Facts_for_Families_Pages/Spanish/El_Tomar_Alcohol_Durante_el_Embarazo_Los_Efectos_del_Alcohol_en_el_Feto_93.aspx

2) *EMBARAZO Y PARTO: La placenta: un completo suministro para tu bebé*

<http://www.serpadres.es/embarazo/tu-bebe/placenta-alimento-bebe.html>

3) *Saludalia, TABAQUISMO, Tabaco y embarazo: efectos sobre el niño*

<http://www.saludalia.com/tabaquismo/tabaco-nino>

4) *Neuroreceptores y La Adicción a La Nicotina (Para Laboratorio)*

<http://es.scribd.com/doc/66487954/Neuroreceptores-y-La-Adiccion-a-La-Nicotina-Para-Lab-Oratorio>

5) *Rev Panam Salud Publica vol.4 n.6 Washington Dec. 1998: La nicotina actúa en el cerebro como las drogas adictivas*

http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49891998001200015

6) *NICOTINA: composición y estructura de la nicotina*

http://quimicanicotina.blogspot.com.es/2010/11/estructura-y-propiedades-de-la-nicotina_11.html

7) *Estudi efecte de substancies d'abús durant l'embaràs*

http://www.uab.es/PDF/PDF_1345644617457_ca.pdf

8) *Efectos perinatales de la nicotina*

<http://www.medigraphic.com/pdfs/inper/ip-2002/ip024f.pdf>

9) *Els fetus pateixen els efectes de la nicotina*

http://www.uab.es/PDF/PDF_1177396246034_ca.pdf

10) *Revista Cubana de Medicina General Integral versión On-line ISSN 1561-3038
Rev Cubana Med Gen Integr v.25 n.2 Ciudad de La Habana jul.-sep. 2009 Síndrome de
muerte súbita del lactante*

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-21252009000200017&script=sci_arttext

11) *SSM Health Care ST. Louis Síndrome de muerte súbita del lactante*

<http://ssmhealth.adam.com/content.aspx?pid=5&gid=001566>

12) *Toxicitat en el desenvolupament embrionari del peix zebra*

http://prezi.com/gsllqp_rzov2/toxicitat-en-el-desenvolupament-embrionari-del-peix-zebra/

13) *Instituto Nacional del Cáncer, de los Institutos de Salud de los EE.UU
Càncer hepàtic*

<http://www.cancer.gov/espanol/recursos/hojas-informativas/tipos/higado-respuestas>

14) *EN PROFUNDIDAD: MUJER Y TABACO Epidemiología del tabaquismo
femenino. Factores determinantes de la iniciación y del mantenimiento*

<http://www.documentacion.edex.es/docs/1107AREpre5.pdf#page=35>

15) *Llibre Digital(alemay) Ethanol [MAK Value Documentation in German language, 1998]*

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb6417d0026/full>

16) *Llista de revistes mèdiques on-line*

<http://www.infodoctor.org/rafabravo/hojear.htm>

17) *IV Sesión del Seminario Salud y Medio Ambiente en Aragón Estudi de Óscar García-Algar*

http://www.ecodes.org/boletin_SP/docs/Presentacion_proyecto_AMICS.pdf

18) *AECC (Asociación Española Contra el Cáncer) Cáncer de pulmón*

<https://www.aecc.es/sobreealcancer/cancerporlocalizacion/cancerdepulmon/Paginas/cancerdepulmon.aspx>

19) *Wikipedia Cáncer de pulmón*

http://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%A1ncer_de_pulm%C3%B3n

20) *DMedicina, Enfermedades: el cáncer de pulmón*

<http://www.dmedicina.com/enfermedades/cancer/cancer-pulmon>

21) *AECC(Asociación Española Contra el Cáncer) Cáncer de laringe*

<https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/cancerdelaringe/Paginas/Cancerdelaringe.aspx>

22) *Instituto Nacional del Cáncer, de los Institutos de Salud de los EE.UU Información general sobre el cáncer de laringe*

<http://www.cancer.gov/espanol/pdq/tratamiento/laringe/patient>

23) *MedLine Plus El cáncer de garganta o laringe*

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001042.htm>

24) *Wikipedia Cirrosi hepática*

http://es.wikipedia.org/wiki/Cirrosis_hep%C3%A1tica

Annex

Diari de treball de recerca

Per a poder prendre nota de totes les observacions que he fet, els problemes que m'han sorgit, les investigacions que he realitzat i de tot allò rellevant del treball, he fet un diari de recerca, on ho he anotat tot.

Entrada 0

A l'estiu, vaig anar a Torrero i Mas, el distribuïdor de material de laboratori de l'escola, per comprar el material i productes que necessito per fer el treball. A més em vaig passar per Dauer Aquaris, a informar-me de tot el que necessito per a mantenir un aquari en condicions, i dels cuidats bàsics per a peixos. Degut a que el distribuïdor no tenia un producte, i a la falta de fons, vaig haver de retardar l'adquisició de tots els estris, i de l'aquari fins a començat el curs escolar.

Ja que no vaig poder començar la part pràctica del treball, em vaig passar la resta de les vacances, familiaritzant-me amb els factors que als que exposaria als ous i els efectes d'aquests, també vaig investigar sobre la cria dels peixos zebra, procediments, característiques...

Entrada 1

Dilluns 9/9/13

Avui he anat a comprar la peixera, els peixos i tot el necessari per cuidar-los i criar-los. Al demanar els peixos, la dependenta m'ha preguntat si era la meva primera vegada, si alguna vegada havia tingut un aquari. El perquè? Doncs, degut al clima tropical del sud-est asiàtic d'on prové l'espècie del peix zebra, aquest tipus de peix necessita un aquari adaptat, que requereix d'un escalfador que estabilitzi la temperatura de l'aigua al voltant dels 28,5°C. Per tal de que els peixos puguin viure a la peixera, l'aigua d'aquesta s'ha de deixar passar durant un filtre, durant 5 dies o una setmana. A més s'han de fer cicles de llum de 12h de llum/ 12 h de fosc, per això serà necessària una llum amb 2 fluorescents de 18W. Per acabar-ho d'adobar, el peix zebra practica el canibalisme vers els ous i les cries. Per tal d'evitar que arribin i es mengin als ous una vegada fresats i fecundats, s'ha d'omplir tot el terra de l'aquari amb una capa de bales de vidre. Són peixos amb necessitats i mètodes de cuida i cria específics, però fàcils de dur a terme. No puc esperar a que arribi el moment de tenir els peixos darrere el vidre, nedant, posant ous i si ho fan aviat millor.

Entrada 2

Divendres 13/09/13

Ja he comprat els peixos, 2 mascles i una femella de peix zebra i les escates seques per a peixos.

Per diferenciar-ne el sexe, el dependent m'ha explicat que els mascles es diferencien de les femelles, perquè les femelles quan arriben a la maduresa, els hi desenvolupen els ovaris i els hi apareix una protuberància blanca. Com els espècimens de peix zebra que vaig comprar encara son joves, per diferenciar-los, es va fixar en altres trets, ja que els mascles tenen ratlles daurades i blaves fosques, i són més actius, i les femelles tenen ratlles platejades i blaves, el cos més allargat i son més lentes.

Al portar-los a casa i traslladar-los al aquari, s'han posat neguitosos i estressats, els mascles no paraven d'anar d'aquí cap allà, i la femella s'havia quedat al fons en un racó; així que vaig decidir no fer fotos o vídeo, apagar el llum i deixar-los descansar. Demà ja els hi faré fotografies i els hi donaré de menjar.

Entrada 3

Dissabte 14/09/13

He matinat sense quasi dormir, pels nervis de cuidar els peixos. Donat el seu cicle vital, se'ls ha d'alimentar 3 cops pel dia, i proporcionar llum 12h al dia, per tant els hi he fet un "pla" d'alimentació i de il·luminació. Els alimentaré cada dia 2 cops pel dia i 1 per la nit. A les 08:00 els hi encendre el llum i els hi donaré la primera menja diürna, a les 16:00 els hi donaré la segona menja diürna, a les 20:00 els hi apagaré el llum, i els hi donaré una ultima menja nocturna. Amb el temps s'estabilitzaran i adaptaran al nou aquari, creixeran, maduraran i posaran ous. Em queda un llarg camí per davant, però ja que el tema m'interessa i gràcies a escollir el tema m'he tornat un aquariófil, doncs m'esforçaré de valent per treure endavant aquest treball.

*Els peixos m'han sortit escrupolosos amb el menjar tots ells, així que dilluns em passaré per la botiga a demanar altre tipus de menjar.

Entrada 4

Diumenge 15/09/13

Avui, m'he adonat massa tard, de que, Ooskar, el mascle petit, no era escrupolós. Sempre estava al fons, li costava pujar, i per donar-li menjar, s'ho havia de mullar i

donar quasi a la boca amb una palleta de les de refrescos. Ahir, em vaig fixar que quasi no es movia del fons. Em vaig amoïnar i vaig estar una estona observant detingudament, però, com va començar a pujar a dalt i a menjar normal, vaig apagar el llum, i em vaig anar al llit pensant que ja s'havia adaptat als companys i l'aquari. La meva desgraciada sorpresa, ha estat trobar-me'l al fons, panxa enlaire i immòbil. Per evitar que el seu cadàver alliberés agents patògens que posarien en perill a la resta de peixos, l'he agafat de l'aquari, i l'he posat en un bol, he estat una estona observant-lo, sense trobar cap símptoma de malalties greus, només les aletes una mica gastades, però devien estar atrofiades de estar en contacte amb el fons tanta estona. Dels errors s'aprèn, a partir d'ara tindrè molta més cura, compraré diferents tipus de menjar, a més compraré peixos de fons, perquè es mengin el menjar que cau. Com a última mesura, compraré 4 mascles i 4 femelles més, ja que el peix zebra té un comportament gregari molt marcat, i per recollir els ous, compraré una paridora, i traspasaré els peixos allà quan arribi el moment de la fresa. A més faré un apartat del cicle vital de l'aigua, les plantes, els peixos i els bacteris depuradors.

Entrada 5

Dimecres 18/09/13

Avui he anat a comprar més peixos, a la botiga ja em coneixen com el noi-zebra.

Aquest cop he comprat 1 mascle i 3 femelles de zebra, 2 peixos neons cardenals, 2 peixos escalars, 3 peixos pingüins, 1 beta batalladora femella i 2 peixos diables.

Els peixos zebra poden conviure amb molts tipus de peixos, i això ho volia veure amb els meus propis ulls, i així ha sigut. No hi ha hagut cap comportament anòmal o violent vers cap peix. A més, s'han implantats diferents grups socials, els zebra amb els pingüins, els escalars amb els neons, i la beta amb els diables. Ha sigut una experiència enriquidora, tant per mi com pels zebra, ja que ara semblen més alegres, ja que estan més actius i receptius.

Entrada 6

Divendres 20/09/13

Avui un veïna m'ha preguntat que era tant de rebombori amb els peixos, ja que sempre que parlava amb ma mare dels peixos, de com cuidar-los, alimentar-los... aquesta veïna ho escoltava tot per la finestra. Em va dir, que si volia, em podia deixar una peixera més

per la cria dels zebra, per suposat vaig acceptar, però em va dir que me la portaria de Sabadell quan hi tornès. A veure si hi va per la setmana que ve i em poso mans a l'obra amb la cria, que estan creixent però no posen ous.

Entrada 7

Dijous 26/09/13

Avui fent l'observació rutinària, m'he adonat, de que els peixos zebra, ja han madurat del tot, ja que quan els vaig comprar el dimorfisme sexual era quasi inapreciable, però ara és poden diferenciar les femelles i els mascles a simple vista. Les femelles tenen una protuberància blanca molt prominent i els mascles són més allargats.

Entrada 8

Dimecres 16/10/13

Avui la veïna m'ha portat la peixera que em va prometre. És idònia per a traspasar els peixos allà i que fressin els ous, l'he aclimatant traspasant aigua del aquari gran, per que tingui les mateixes propietats, i els peixos no vegin el seu ,medi alterat.

Entrada 9

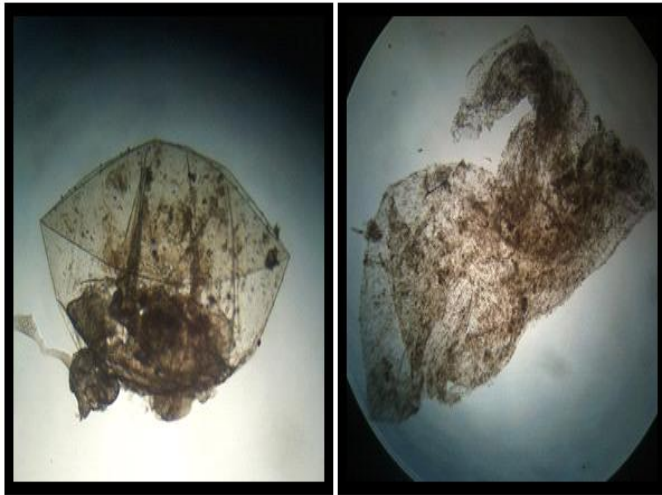
Dijous 31/10/13

Avui m'hauré de dedicar a fer treball pràctic, ja que han aparegut unes esferes per tot l'aquari, i no se si són ous o no, així que les haure d'observar amb el microscopi per determinar el que són.

Entrada 10

Divendres 1/11/13

Les observacions no han sigut concloents, no se que poden ser, he buscat a internet, a fòrums, a pàgines de divulgació científica, a llibres digitals i res. He documentat amb fotos i vídeos la troballa, seguiré buscant el que queda de dia a veure si hi trobo res concloent.



Entrada 11

Dimecres 6/11/13

Els peixos segueixen sense col·laborar i posar ous. He provat de tot, des de canviar el material del filtre i l'aliment fins a canviar l'aigua de l'aquari, però no hi ha manera, no posen ous de cap manera. Demà aniré a la botiga a demanar consell a veure si tenen cap solució.

Entrada 12

Dijous 7/11/13

A la botiga m'han recomanat comprar un escalfador per l'aigua. Ja que en el seu medi tenen una temperatura al voltant dels 28° m'han recomanat imitar les condicions del medi. Per demà ja el tindran a la botiga, així que em tocarà fer un altre viatge.

Entrada 13

Divendres 8/11/13

Ja he comprat l'escalfador, i ja l'he instal·lat. Els peixos encara no han reaccionat al canvi, ben mirat encara és massa d'hora per veure resultats. He tornat a aspirar les deposicions del fons i les restes de menjar, i he rentat els material del filtre i el filtre en si. A veure si amb tantes atencions s'animen a posar ous.

Entrada 14

Divendres 15/11/13

Estic pensant que aquests peixos són estèrils o bé no son compatibles entre ells. Perquè no hi ha manera humana de fer que posin ous. Seguiré amb les atencions i tota la parafernalia a veure si hi ha resultats, que va sent hora de que els posin ja, que en un mes he de tenir tots els resultats de l'experiment, i a aquest pas em quedaré sense.

Entrada 15

Dimarts 18/11/13

Aquesta nit, abans d'anar-me'n a dormir, he rebut una grata sorpresa. He rebut un missatge de la meva tutora de recerca, dient-me que ja ha aconseguit ous. Per fi! Demà em donarà les dades i el lloc per anar a recollir-los i poder començar així la fase experimental.

Entrada 16

Dijous 20/11/13

Avui la meva tutora ha tornat a ajudar-me amb el treball. M'ha aconseguit el formaldehid necessari per a fixar les mostres de l'experiment, a més de diversos estris del laboratori del institut. Ja falta poc per començar l'experiment, i estic una mica nerviós, però ara no em puc fer enrere.

Entrada 17

Dijous 21/11/13

Avui he anat a Torrero i Mas, a per els últims estris per a dur a terme l'experiment, no tenien oli de immersió, però he pogut aconseguir els portaobjectes excavats. També he comprat mascaretes i guants per a manipular els productes químics.

Entrada 18

Divendres 22/11/13

Ja he aconseguit els tan volguts ous, i ja puc començar l'experiment. He etiquetat les mostres, he preparat la solució de nicotina, he disposat tot per a poder fer l'experiment sense retards ni imprevistos. He fet un registre de temps per saber el moment exacte en el que he dipositat els ous als flascons i en quan els he fixat. Pel moment he fixat 4 mostres i l'experiment va vent en popa.

Entrada 19

Dissabte 23/11/13

L'experiment en si no comporta massa dificultat, s'ha de ser minuciós i precís al màxim per no alterar els resultats, i s'ha d'anar amb compte amb els productes químics, però el procediment es simple i fàcil de portar. Avui he fixat les mostres n.5

Entrada 20

Diumenge 24/11/13

Avui he fixat les mostres n.6, i he començat a establir els paràmetres de les gràfiques i com es representaran. Demà ja haure fixat totes les mostres i poder començar les observacions. Per fi puc treure resultats.

Entrada 21

Dilluns 25/11/13

Avui he fixat les mostres que quedaven. He fet les observacions dels 300 ous, i ha sigut una experiència enriquidora. He vist ous normals, coagulats, amb malformacions fins i tot el que semblaven espermatozoides. Ja he extret resultats i m'he passat tot el dia pesant els resultats que anava anotant a l'ordinador. Estic content perquè els resultats han sigut favorables, corroboren la meva hipòtesi i la validen sense lloc a dubte. Per fi puc començar a fer les conclusions, la valoració personal i acabar el treball de recerca, millor em poso les piles i començo, que la setmana que ve hi ha trimestrals i no tindrè temps pel treball.