

UN PETIT TASTET
SOBRE
NEUROCIÈNCIA

IRINA MARTÍN

2n Batxillerat

IES Príncep de Viana

Curs 2017-2018

Tutora: Conchi Zurera

ÍNDEX

1- INTRODUCCIÓ.....	5
2- OBJECTIUS.....	8
BLOC TEÒRIC	9
3- EL SISTEMA NERVIÓS.....	10
4- TIPUS DE CÈL·LULES DEL SISTEMA NERVIÓS	11
4.1 NEURONES.....	11
4.2 GLIA.....	13
4.2.1 Astròcits	13
4.2.2 Mlicròglies	13
4.2.3 Oligodendròcits.....	14
4.3 CÈL·LULES ENDOTELIALS.....	14
4.4 ESQUEMA RESUM	15
5- INTRODUCCIÓ A LA IMMUNOLOGIA.....	15
5.1 ANTICOSSOS.....	16
5.2 TIPUS DE RESPOSTA IMMUNITÀRIA.....	16
5.3 EL CÀNCER I LA RESPOSTA IMMUNOLÒGICA.....	17
6- LA IMMUNOFLUORESCÈNCIA.....	18
7- ELS ENZIMS AL CULTIU	22
7.1 IFN	22
7.2 LPS	22
8- EL GLIOBLASTOMA.....	23
9- EL TUBERCULOMA.....	24
BLOC PRÀCTIC	26
10- HIPÒTESI	27

11- MATERIALS.....	28
11.1 EL LABORATORI	28
11.2 MATERIALS	30
11.2.1 MATERIAL	30
11.2.2 INSTRUMENTS	33
11.2.3 MOSTRES	34
11.2.4 SUBSTÀNCIES QUÍMIQUES	35
11.2.5 MICROSCOPIS	38
11.2.5.1 Microscopi òptic.....	38
11.2.5.2 Microscopi de fluorescència.....	39
11.2.5.3 Microscopi confocal.....	39
11.2.5.4 Microscopi invertit.....	40
11.2.5.5 FIJI	40
12- MÈTODES	42
12.1 TINCIÓ AMB TIONINA.....	43
12.2 TINCIÓ AMB ANTICOSSOS (IMMUNOFLUORESCÈNCIA).....	44
12.3 PREPARACIÓ DEL CULTIU	45
13- RESULTATS	47
13.1 TINCIÓ AMB TIONINA.....	47
13.1.1 Teixit control (sa)	47
13.1.2 Teixit amb glioblastoma	48
13.1.3 Teixit amb tuberculoma.....	51
13.2 TINCIÓ AMB ANTICOSSOS	52
13.2.1 Teixit control (sa)	52
13.2.2 Teixit amb glioblastoma	55
13.2.3 Cultiu rata	56
13.2.4 Teixit rata	57

13.2.5 Microscopi confocal	60
13.3 CULTIU CÈL·LULES MICRÒGLIES	63
13.3.1 Grup control.....	63
13.3.2 Grup tractat amb enzim	64
14- CONCLUSIONS.....	65
15- BIBLIOGRAFIA	67
16- AGRAÏMENTS	74
ANNEXOS	76
17- GLOSSARI	77
18- VALORACIÓ	82

1- INTRODUCCIÓ

Recordo quan vaig començar primer de Batxillerat, tot era nou i en ment tenia la idea de com havia de ser el meu TR. Tenia clar que havia de ser de l'àmbit de ciències i si podia ser de biologia, però quin havia de ser el tema concret? Sempre havia pensat que havia de ser sobre algun tema interessant i que m'agradés perquè sinó faria aquest treball sense ganes, cosa que no volia.

Vaig estar pensant diversos temes que m'interessessin però no em volia precipitar escollint-ne un ja que em semblava una decisió molt important. Llavors va ser quan la nostra professora de biologia, la Sílvia Llahí, ens va presentar el programa Argó.

Vaig presentar la sol·licitud als assessoraments del treball de recerca però no hi va haver sort. Uns mesos després la vaig presentar a les estades Argó i aquí sí que hi va haver més sort. Unes setmanes després d'haver-la presentat vaig rebre la notícia que m'havien acceptat a la meva primera opció: "Immunologia al sistema nerviós central".

La veritat és que el títol de l'estada no em va seduir gaire però quan vaig llegir les tasques a desenvolupar vaig tenir clar que aquesta era la millor proposta per al meu treball de recerca. La idea era aquesta: aprendre tècniques histològiques per a visualitzar les cèl·lules relacionades amb el sistema immune del cervell, distingint la morfologia de les cèl·lules gials i les cèl·lules immunes que s'hi troben.

Això està directament relacionat amb el camp de la neurociència (de fet l'estada es duia a terme a l'Institut de Neurociències de la UAB), un tema que sempre m'ha interessat però mai havia tingut l'oportunitat d'estudiar. A més, era conscient que aquesta estada m'oferia la possibilitat de tenir accés a materials i eines que no trobo a l'institut, oferint-me també aprenentatge sobre el funcionament d'un laboratori professional.

I tot això va ser el que em va portar el 26 de juny del 2017 a l'Auditori del Rectorat de la UAB per a la presentació de les estades Argó.

En aquest treball trobarem una explicació detallada del que ha consistit la meva estada, la meua idea és que tothom trobi interessant el tema i pugui seguir pas a pas tot allò necessari per a fer una observació d'un teixit, en aquest cas teixit nerviós sa i malalt (glioblastoma i tuberculoma).

Tot i que a l'estada no ho vam fer exactament així he decidit utilitzar el mètode científic per a la realització d'aquest treball, crec que d'aquesta manera tot quedarà més clar i serà més fàcil seguir el fil del treball.

Començaré explicant quins seran els meus objectius, que coincidiran amb els proposats pels professors que dirigeixen l'estada. Seguidament faré una explicació teòrica de tot allò necessari que s'ha de saber abans de començar a preparar l'observació. A partir dels objectius i aquesta informació elaboraré una hipòtesi que pot ser o certa o falsa, tot dependrà dels resultats obtinguts al final. Per començar amb la part pràctica enumeraré tots els materials, aparells i substàncies químiques que són necessaris per a la preparació de les mostres a observar. Quan ja tinguem tot el necessari per a la preparació explicaré pas a pas el procediment per a tractar correctament aquestes mostres i poder veure-les al microscopi. Quan això estigui fet als resultats presentaré les imatges fetes amb el microscopi i faré una explicació de cada una d'elles, explicant també per què són així (discussió). Per acabar, sabent quins han sigut els resultats, a les conclusions comprovaré si la hipòtesi formulada al principi és vàlida o no.

Per a poder fer una anàlisi dels resultats de l'experiment realitzava fotografies amb el microscopi dels teixits. Als llibres de biologia que estic acostumada a veure sempre hi ha moltes imatges fetes amb microscopi on es poden veure clarament les estructures que en aquell moment estem estudiant.

Jo sempre havia pensat que el procediment per a obtenir aquestes imatges era més bé senzill i ràpid, però estava molt equivocada. Com veurem al treball, per a fer una única fotografia al microscopi cal molta feina de tractament de mostres al laboratori, cosa que converteix fer una fotografia al microscopi en una feina de gairebé 4 dies. Per tant és molt important realitzar un bon treball al laboratori per a poder acabar fent unes fotografies que siguin útils i on s'observin amb claredat les estructures que vulguem. Dit d'una altra manera, tot i que l'objectiu final és acabar fent aquestes fotografies mai s'ha d'oblidar tot el treball que s'ha de fer abans.

Abans d'endinsar-nos en el meu Treball de Recerca vull remarcar quin és exactament el contingut d'aquest treball.

Primer faré una comparació d'un teixit control, és a dir un teixit d'un pacient sa, amb un teixit amb glioblastoma i un altre amb tuberculoma. El glioblastoma és un tipus de tumor cerebral altament mortífer i el tuberculoma és la forma en que la tuberculosi (malaltia infecciosa) es presenta a l'organisme fora dels pulmons. Per a tractar aquests teixits utilitzaré tècniques histoquímiques, mètodes que permeten la visualització d'aquests teixits al microscopi gràcies a substàncies químiques.

En segon lloc tornaré a fer una comparació del teixit control amb un amb glioblastoma. La diferència és que en aquest cas el tractament de les mostres es farà mitjançant tècniques immunohistoquímiques. És a dir que utilitzaré anticossos units o marcats amb substàncies fluorescents per a poder visualitzar els teixits al microscopi. En aquest punt és on la immunologia entra en el treball.

Per últim observaré dos cultius de cèl·lules micròglies, un tractat amb enzim i l'altre no (control). Un cultiu és una tècnica de laboratori que consisteix en el tractament de quantitats elevades de cèl·lules per a ser estudiades. Les cèl·lules micròglies són un tipus de cèl·lules presents al sistema nerviós que s'encarreguen de la seva defensa i són activades per enzims (per això observaré un cultiu tractat amb enzim). En aquest cas també utilitzaré les tècniques immunohistoquímiques per a la visualització.

La meva intenció és que tothom pugui entendre aquest treball, és per això que al final he afegit un glossari amb totes aquelles paraules que puguin ser de difícil comprensió per a qui no tingui gaires coneixements sobre biologia o ciència en general. Espero que sigui d'ajuda per a tothom.

Per acabar, desitjo transmetre a tothom l'entusiasme amb el qual he fet el treball i el meu interès sobre aquest tema.

2- OBJECTIUS

Abans de començar qualsevol experiment o investigació és necessari marcar uns objectius. Això és important perquè ajuda a tenir clar què és el que volem investigar i com ho volem investigar.

En el cas d'aquest treball els objectius han vingut marcats per investigadors de l'INc (Institut de Neurociències) de la UAB i per tant jo només he hagut de seguir les pautes necessàries per a aconseguir-los. Per a entendre millor quins són aquests objectius ens posarem a la pell d'un neuropatòleg o una neuropatòloga. La seva feina es centra en el diagnòstic de malalties del sistema nerviós a través de, per exemple, mostres de teixit patològic. I això és el que farem nosaltres, observar teixits i cultius de cèl·lules del sistema nerviós. És per això que els objectius marcats són els següents:

- Observació de teixit cerebral sa.
- Observació de teixit cerebral malalt: glioblastoma (tumor cerebral) i tuberculoma (malaltia infecciosa).
- Identificació de les diferències entre els anteriors i la seva explicació corresponent.
- Observació d'un cultiu de cèl·lules micròglies amb i sense enzims.
- Aprenentatge de tècniques histoquímiques i immunohistoquímiques: tinció amb tionina, tinció amb anticossos i preparació de cultius.

A aquests objectius m'agradaria afegir uns altres que em proposo jo mateixa durant la investigació i estada a la universitat. Són els següents:

- Aprenentatge de noves tècniques de laboratori utilitzant materials i aparells nous per a mi.
- Aprenentatge en el camp de la neurociència.
- Tenir una experiència sobre la vida universitària que ajudi en la tria del meu futur.



Porta d'entrada a la Facultat de Medicina de la UAB, lloc on vaig dur a treme l'estada.

Fotografia feta per l'autora.

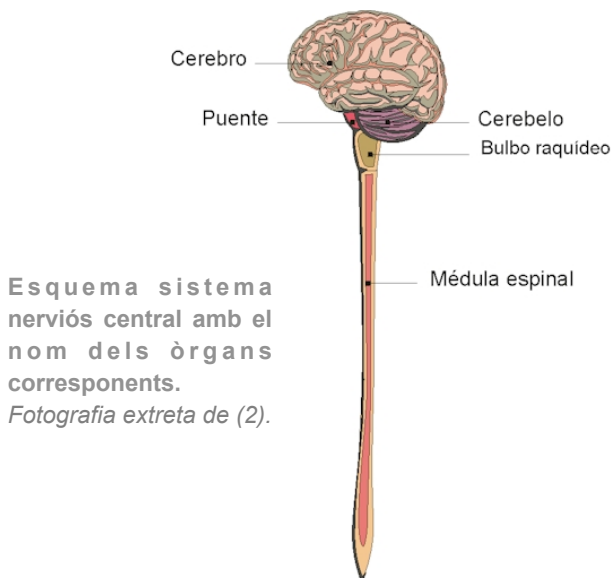
BLOC TEÒRIC

Per a poder seguir avançant en el meu treball és necessari tenir uns mínims coneixements teòrics sobre el sistema nerviós i el sistema immunitari. En aquest apartat faré una breu explicació de tot allò necessari per a poder entendre i fer bé l'observació de les mostres i els cultius i poder així complir els nostres objectius.

3- EL SISTEMA NERVIÓS

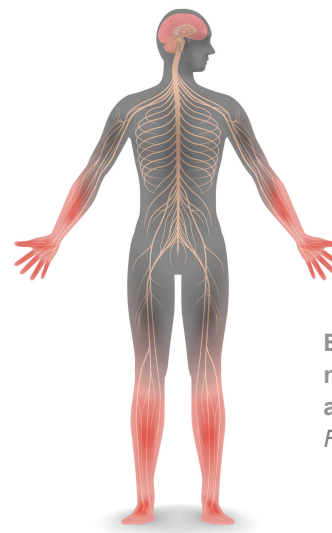
Abans de començar a endinsar-nos en algunes peculiaritats del sistema nerviós m'agradaria fer abans un petit resum del que cal tenir en compte abans de començar la part pràctica del treball.

El **sistema nerviós** és el conjunt d'òrgans i nervis que s'encarreguen de rebre, transmetre i elaborar una resposta a **estímuls** captats tant de l'exterior com de l'interior de l'organisme. Normalment es fa una divisió en dos parts del sistema nerviós: el **sistema nerviós central** (SNC) i el **sistema nerviós perifèric** (SNP).



El SNC inclou els següents òrgans:

- Encèfal (dins del crani):
 - Cervell
 - Cerebel
 - Pont
 - Bulb raquídi
- Mèdula espinal



El SNP inclou tots els nervis que s'extenen des del SNC cap a la resta de l'organisme.

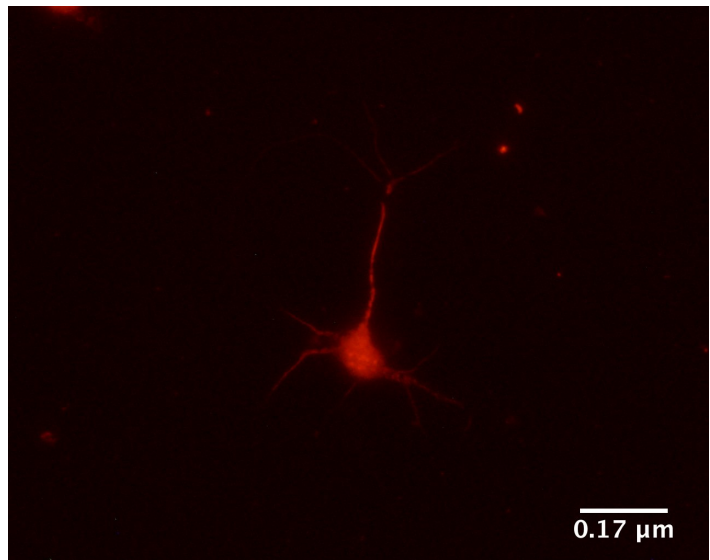
4- TIPUS DE CÈL·LULES DEL SISTEMA NERVIÓS

A l'hora de fer una observació d'un teixit conegut al microscopi (en aquest cas teixit cerebral) és convenient tenir coneixements sobre quines cèl·lules el formen. És per això que ara passaré a parlar sobre els tipus de cèl·lules que formen el cervell i que per tant podem trobar a les nostres mostres.

4.1 NEURONES

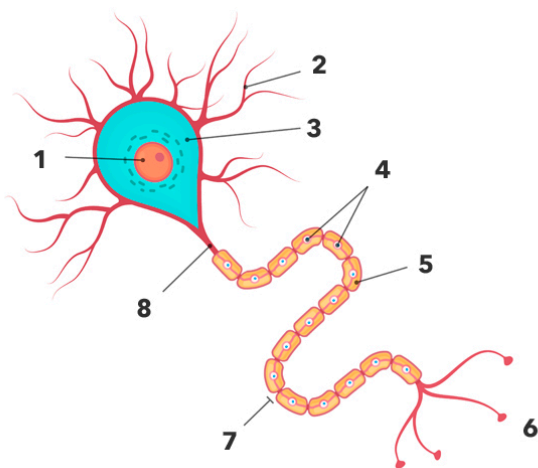
Les **neurones** són les cèl·lules més conegudes del cervell i n'hi ha milions d'elles. La seva funció és rebre, analitzar i elaborar una resposta a un estímul. Aquesta informació es transmet entre els òrgans mitjançant **impulsos nerviosos**, descàrregues elèctriques que travessen la membrana cel·lular modificant la seva distribució de càrrega elèctrica.

A diferència de la majoria de cèl·lules de l'organisme, les neurones no es divideixen però tenen la peculiaritat que poden desplaçar-se.



Imatge neurona tenyida amb la tècnica de la immunofluorescència.

Fotografia feta per l'autora.



Esquema de l'estructura d'una neurona.
Fotografia extreta de (3).

Estructura:

1- **NUCLI**: es troba a la part central del cos neuronal i, com a totes les cèl·lules, s'encarrega del funcionament de la neurona. Una peculiaritat d'aquest tipus de nucli és que té la cromatina molt dispersa, cosa que indica l'alta quantitat de transcripcions que ha de realitzar aquest tipus de cèl·lula.

2- DENDRITES: són prolongacions citoplasmàtiques del cos neuronal, n'hi ha moltes i la seva llargada depèn de la funció i del lloc on estigui situada la neurona.

3- COS CEL·LULAR: també anomenat **soma** o pericarion. És on es troba el nucli i el citoplasma de la cèl·lula i per tant on es realitzen els processos i es fabriquen les proteïnes necessàries per al funcionament de la neurona.

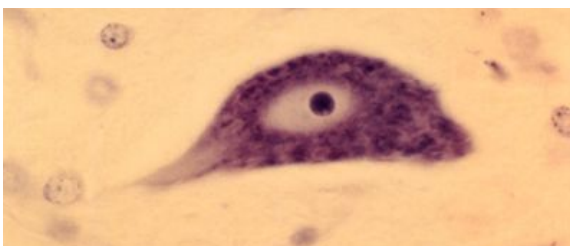
4- CÈL·LULA DE SCHWANN: recobreix l'axó de la neurona i actua com a aïllant. Cal aclarir que les cèl·lules de Schwann només es troben al sistema nerviós perifèric, les cèl·lules encarregades de dur a terme aquesta funció al sistema nerviós central són els oligodendròcits (més endavant parlaré d'ells).

5- MIELINA: material format per proteïnes i lípids que recobreix l'axó. Té la funció d'aïllar la neurona i transmetre els impulsos nerviosos, és fabricada per les cèl·lules anteriors (cèl·lules de Schwann i oligodendròcits). Al conjunt de mielina que envolta l'axó se l'anomena **beina de mielina**.

6- BOTONS TERMINALS: es troben al final de la neurona i s'encarreguen d'unir-se a altres neurones per a formar la **sinapsi**. Emmagatzemen en vesícules els **neurotransmissors**.

7- NÒDULS DE RANVIER: espais situats a la beina de mielina encarregats de facilitar el pas de l'impuls nerviós fent-lo anar més ràpid i evitant errors.

8- ÀXON: prolongació del cos cel·lular recoberta per les beines de mielina que finalitza en els botons terminals i que s'encarrega de transmetre l'impuls nerviós.



Neurona tenyida amb tianina. Es poden observar les granulacions al seu cos neuronal (els cossos de Nissl).
Fotografia extreta de (6).

Al cos neuronal hi ha uns petits grànuls constituïts per un reticle endoplasmàtic i ribosomes lliures envoltant-lo. Aquests grànuls s'anomenen **cossos de Nissl** (o també substància de Nissl o substància basòfila) i es creu que intervenen en la síntesi de proteïnes. S'anomenen així en honor al psiquiatre que els va descobrir al segle XIX, Franz Nissl. Els

coscos de Nissl són molt importants per a aquest treball ja que gràcies a ells podem observar al microscopi el soma de les neurones. Això és perquè la tionina (la substància que utilitzarem en la primera tinció) pot tenyir també aquestes estructures.

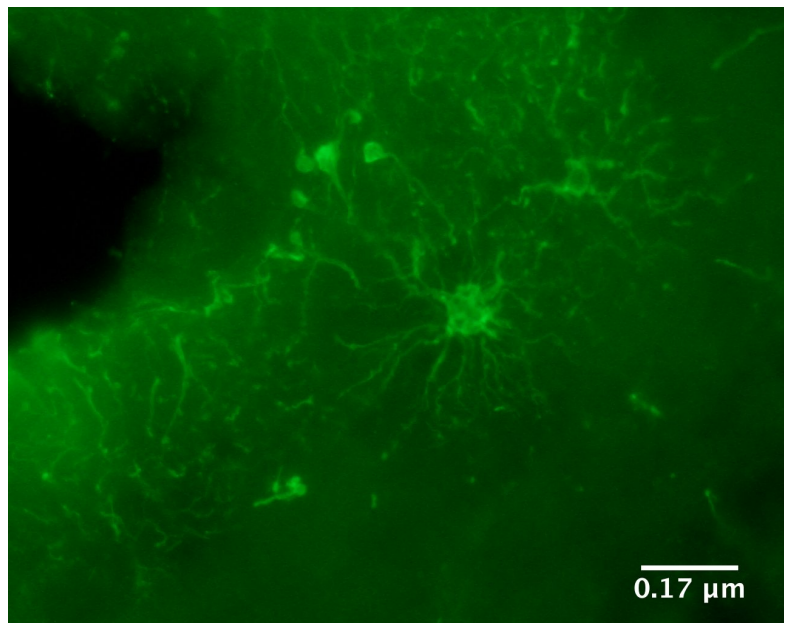
4.2 GLIA

Les **cèl·lules glials** (també anomenades **neuroglia**) són més petites i nombroses que les neurones. La **glia** (així s'anomena el conjunt de cèl·lules glials) s'encarrega d'aïllar, sostenir, defensar i nodrir les neurones, per tant és molt important per a mantenir-les en les condicions òptimes per a la seva supervivència.

Dins d'aquest grup de cèl·lules podem diferenciar tres tipus:

4.2.1 Astròcits

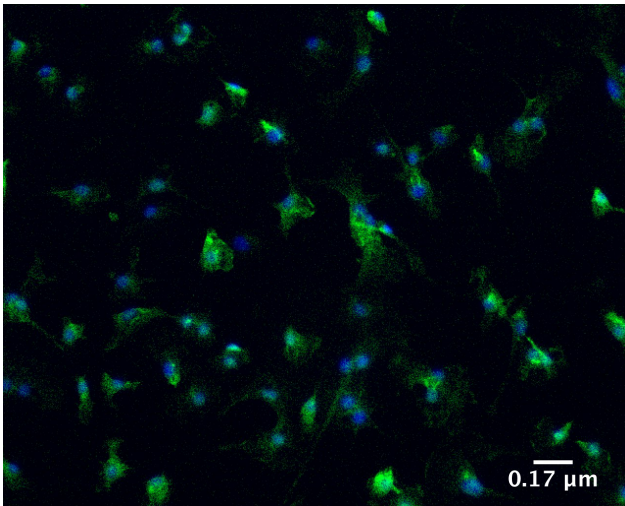
Els **astròcits** són les cèl·lules glials més abundants del sistema nerviós central. Com indica el seu nom tenen forma d'estrella amb nombroses prolongacions. Alguns d'ells estan en contacte amb els vasos sanguinis, per això es creu que participen en la **nutrició** de les neurones, i d'altres envolten les membranes somàtiques i dendrítiques de les neurones per a donar suport i aïllar-les.



Imatge astròcit tenyit amb la tècnica de la immunofluorescència.
Fotografia feta per l'autora.

4.2.2 Mlicròglies

Les **cèl·lules micròglies** són les cèl·lules del teixit nerviós amb **capacitat fagocitària** que formen part del sistema immunitari del sistema nerviós central. Es mouen entre les neurones i els altres tipus de cèl·lules glials. Normalment el nombre d'aquest tipus de cèl·lules és petit però quan es produeix una lesió o inflamació del teixit nerviós proliferen ràpidament i migren cap a aquella zona per a fagocitar restes cel·lulars i productes de rebuig.

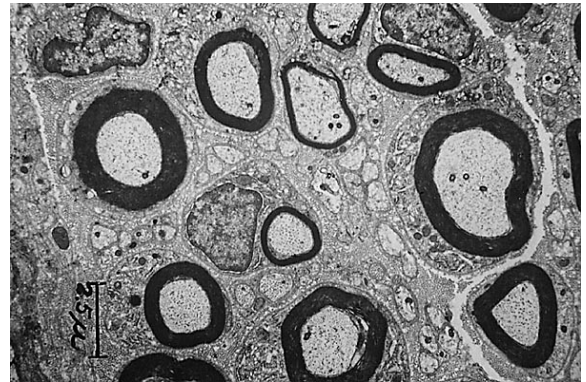


Composite cèl·lules micròglies a 20X tenyides amb immunofluorescència. En blau s'observen es nuclis i en verd els citoplasmes.

Fotografia feta per l'autora.

4.2.3 Oligodendròcits

Els **oligodendròcits** són un tipus de cèl·lules gials que s'encarreguen de recobrir l'àxon formant **beines de mielina**, que s'encarreguen d'aïllar la neurona i transmetre l'impuls nerviós. Com he dit abans, els **oligodendròcits** es troben únicament al sistema nerviós central, les cèl·lules que s'encarreguen de dur a terme aquestes funcions al sistema nerviós perifèric són les **cèl·lules de Schwann**.

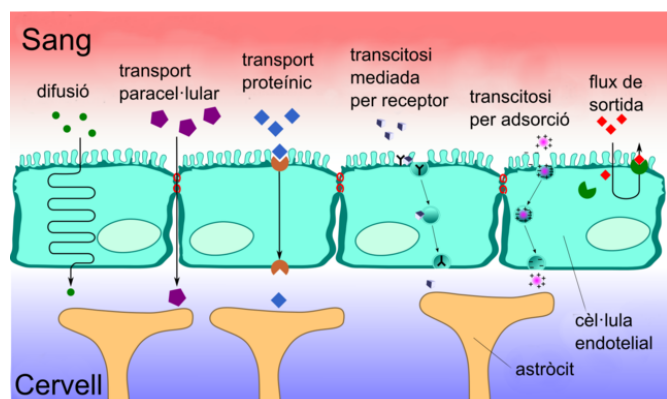


Oligodendròcits envoltant l'àxon i formant beines de mielina.

Imatge extreta de (9)

4.3 CÈL·LULES ENDOTELIALS

Les **cèl·lules endotelials** recobreixen tots els vasos sanguínis i sobre tot capil·lars de l'organisme. La peculiaritat que aquestes cèl·lules presenten al cervell és que formen la **barrera hematoencefàlica** (BHE). Aquesta barrera s'encarrega de protegir el cervell i també d'aportar els nutrients i l'oxigen necessari per al correcte funcionament de les neurones. Com mostra l'esquema,

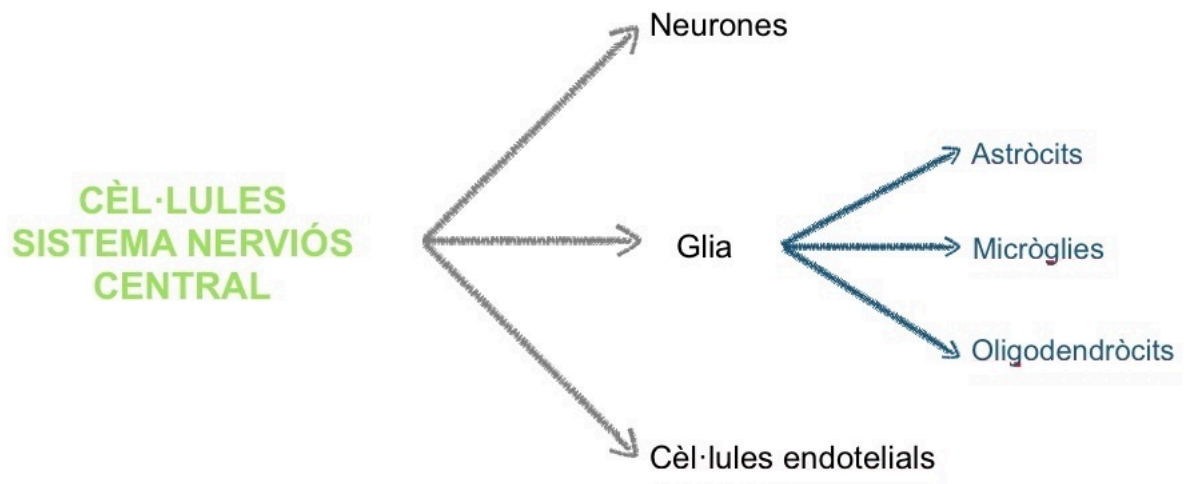


Esquema de la transferència de substàncies entre les cèl·lules endotelials i els astròcits.

Fotografia extreta de (10).

les **cèl·lules endotelials** estan connectades amb els **astròcits**, que s'encarreguen de fer arribar aquestes substàncies a les neurones.

4.4 ESQUEMA RESUM



5- INTRODUCCIÓ A LA IMMUNOLOGIA

La immunologia és un camp de la biologia força extens, és per això que només em centraré en explicar un parell de coses necessàries per a entendre la preparació de les mostres.

Per definició la **immunologia** és una branca de la biomedicina que estudia els mecanismes de l'organisme que s'encarreguen de defensar-lo davant la presència d'**antígens** (per exemple microorganismes o toxines estranyes a l'organisme) que el podrien danyar. Aquest conjunt de mecanismes s'anomena **sistema immunitari**, inclou tot el conjunt de cèl·lules, teixits i molècules implicades en els processos d'immunització.

Conceptes importants (vocabulari):

- ANTIGEN: també anomenat immunogen. És qualsevol substància capaç de desencadenar una resposta immunitària per part de l'organisme.

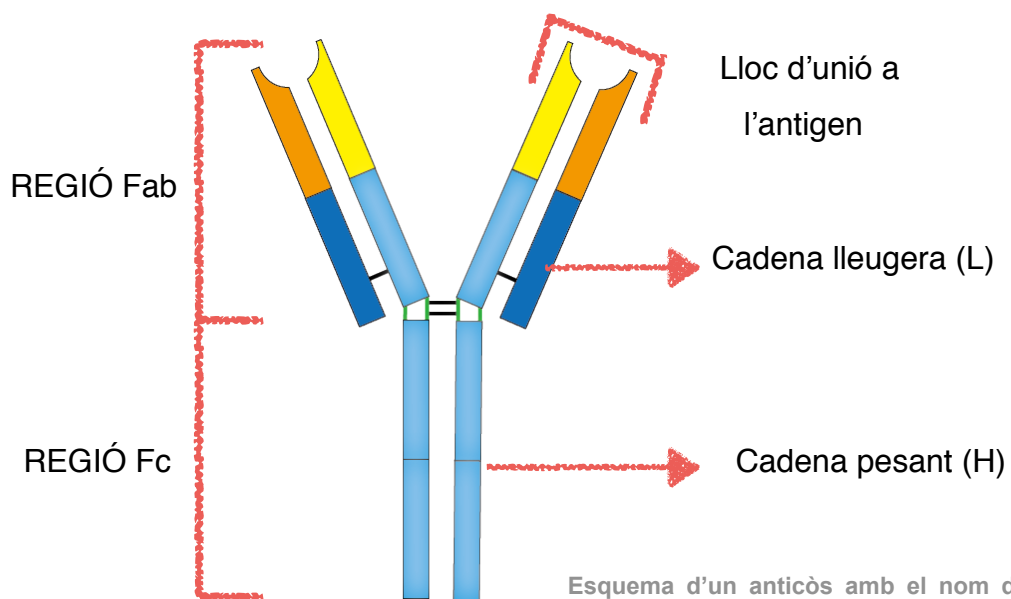
- LIMFÒCIT: també anomenat cèl·lula immunocompetent. És un tipus de glòbul blanc amb un nucli gran i arrodonit. Hi ha dos tipus de limfòcits: els limfòcits B i els limfòcits T.

5.1 ANTICOSSOS

Com veurem més endavant, la part que farem servir de la immunologia per a realitzar aquest treball són els anticossos.

Els **anticossos** són molècules proteiques produïdes pels **limfòcits B** que estan destinades a unir-se específicament als **antígens**. Es troben units a la membrana del limfòcit B o lliures a la sang.

Estructura:



Esquema d'un anticòs amb el nom de les parts més importants.
Imatge anticòs extreta de (12).

5.2 TIPUS DE RESPOSTA IMMUNITÀRIA

TIPUS		FORMA D'ADQUISICIÓ	DURADA
Innata o congènita		Característiques anatòmiques, fisiològiques i químiques innates de l'individu.	Permanentment
Activa	Natural	Per una infecció, on el microorganisme o els seus productes indueixen la resposta immunitària.	Llarga o permanent

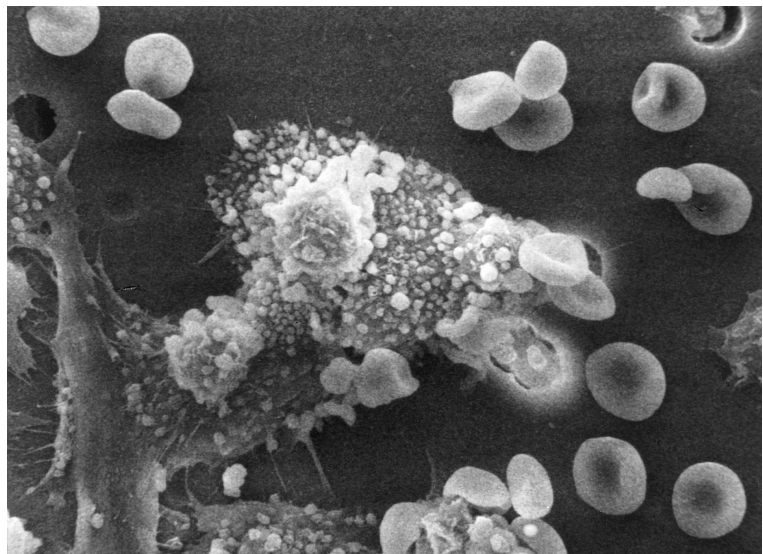
TIPUS		FORMA D'ADQUISICIÓ	DURADA	
Adquirida		Artificial	Per injecció de vaccins, toxines o altres productes bacterians atenuats.	Varis anys o permanent
	Passiva	Natural	Per transferència d'anticossos de la mare al fill a través de la placenta, el calostre o la llet.	Sis mesos a un any
		Artificial	Injecció d'un sèrum que conté anticossos	Dos o tres setmanes o alguns mesos

Com veurem més endavant, el tipus de resposta immunològica que s'estudia en aquest treball és la adquirida passiva artificial. Com indica la taula, aquesta s'adquireix gràcies a la injecció d'un sèrum amb anticossos, que és exactament el que aplicarem nosaltres al teixit.

En el cas dels anticossos que utilitzarem, el tipus d'immunologia és l'adquirida activa artificial. Aquests anticossos han sigut extrets prèviament d'uns altres organismes als quals se'ls va injectar alguna toxina o producte bacterià per a que produís els anticossos, que després van ser extrets de l'organisme.

5.3 EL CÀNCER I LA RESPOSTA IMMUNOLÒGICA

Gràcies al sistema immunitari l'organisme és capaç de defensar-se contra microorganismes o toxines que podrien provocar, per exemple, alguna malaltia. Tot i això, el nostre sistema immunitari no és capaç de frenar totes les malalties. En aquesta observació volem observar un teixit amb glioblastoma, una malaltia (el càncer) que precisament el nostre sistema immunitari no pot aturar. I la meua pregunta és: per què no pot fer-ho?



Els macròfags han identificat una cèl·lula cancerosa (la gran massa amb pèls). En fusionar-se amb la cèl·lula cancerosa, els macròfags (glòbuls blancs, més petits) injecten toxines que maten la cèl·lula tumoral.

Fotografia extreta de (16)

Els antígens tumorals són específics per a cada tipus de cèl·lula cancerosa i determinen la posada en marxa del sistema immunitari, com ara la producció d'anticossos específics o l'activitat dels limfòcits T. Tot i així, la resposta immune a les cèl·lules cancerígenes és, en molts casos, ineficaç.

Els mecanismes pels quals les cèl·lules canceroses escapen a l'acció del sistema immunitari no són gens clars. Es creu que les cèl·lules canceroses tenen capacitat de modular els seus antígens tumorals de manera que aquestes "desapareixen" de la superfície de les cèl·lules en presència d'anticossos sanguinis específics, amb la qual cosa no són reconegudes com a estranyes. També s'ha observat que les cèl·lules canceroses tenen una quantitat molt baixa de molècules MHC a la membrana, fet que pot determinar que els limfòcits T citotòxics no aconseguixin reconèixer-les de manera adequada ja que la funció de les molècules MHC és la de reconèixer les substàncies que són pròpies de l'organisme i les que no ho són.

6- LA IMMUNOFLUORESCÈNCIA

La **immunofluorescència** és una tècnica que permet detectar amb precisió la presència d'un antigen en un teixit o en un conjunt de cèl·lules aïllades. Aquesta metodologia es basa en la utilització d'anticossos units o marcats amb substàncies o marcadors que poden ser detectats amb un microscopi (quan aquestes substàncies estan unides a l'anticòs es diu que estan **conjugats** amb l'anticòs). Els components conjugats o utilitzats com a marcadors dels anticossos poden ser **substàncies fluorescents**, **partícules electrodenses** (ferritina, or col·loidal) o **enzims**. Les substàncies fluorescents es detecten amb **microscopis de fluorescència**.

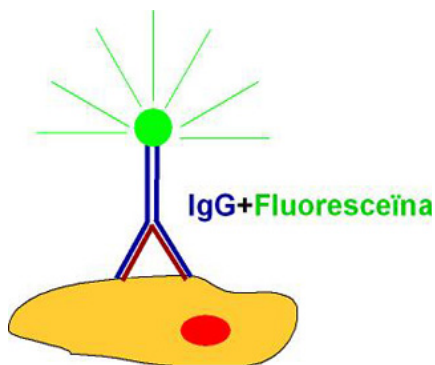
Tipus d'anticossos i substàncies utilitzades en la immunofluorescència:

- Anticòs primari: un **anticòs primari** és aquell que s'uneix a un antigen determinat, és a dir que només pot reconèixer un tipus de substància.
- Anticòs secundari: un **anticòs secundari** és aquell que s'uneix a un anticòs primari. Aquesta unió sol produir-se pel fet que aquest anticòs està conjugat amb algun tipus de marcador, per tant aquesta unió és necessària perquè permet l'observació de la mostra.

- **Fluorocrom (fluoròfor)**: molècules que es caracteritzen per tenir la capacitat d'emetre llum d'un determinat espectre quan són excitades a la longitud d'ona apropiada. Existeix un ampli ventall de **fluorocroms** que tenen diferents propietats d'excitació i emissió i que són utilitzats tant per marcar com per a detectar components i estructures cel·lulars amb l'ajuda del microscopi de fluorescència. La longitud d'ona d'emissió dels fluorocroms és superior a la d'excitació. Per exemple: la fluoreceïna és un fluorocrom que s'excita a una longitud d'ona d'uns 450 a nm (color blau) i emet llum d'uns 530 (llum verda).

Mètodes d'immunofluorescència:

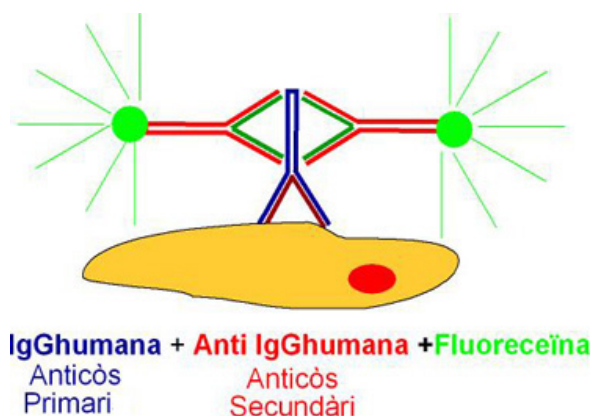
- **Mètode directe**: En aquest mètode solament s'utilitza un l'anticòs (**anticòs primari**) que reconeix específicament l'antigen. L'anticòs primari porta conjugat el marcador corresponent.



Esquema del mètode directe d'immunofluorescència. L'anticòs (blau) porta conjugat el fluoròfor (verd) i s'uneix a l'antigen (groc).

Imatge extreta de (23).

- **Mètode indirecte** : En aquest mètode s'utilitzen com a mínim dos anticossos. Un que és específic per l'antigen que es vol detectar (**anticòs primari**) i un segon anticòs que està conjugat amb un marcador (**anticòs secundari**).



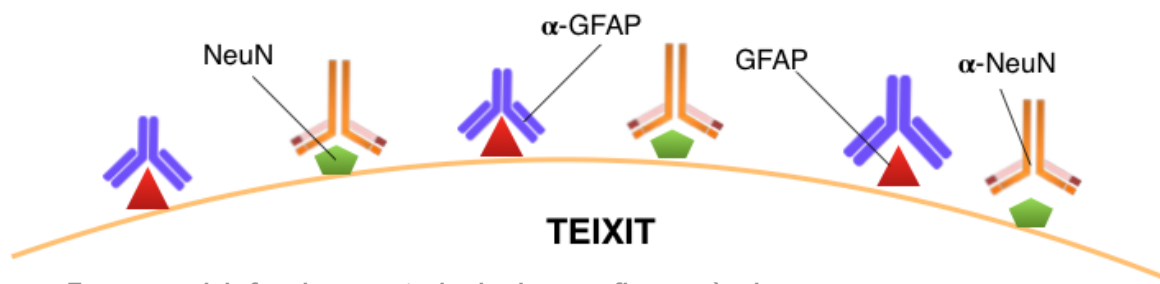
Esquema del mètode indirecte de immunologia. En aquest cas és l'anticòs secundari (vermell) el que porta conjugat el fluoròfor (verd). Aquest s'uneix a l'anticòs primari (blau) que a la vegada s'uneix a l'antigen (groc).

Imatge extreta de (23).

Com ara veurem, el mètode indirecte és la tècnica utilitzada al treball per a l'observació d'un teixit i també per a l'observació d'un cultiu.

Procés al teixit:

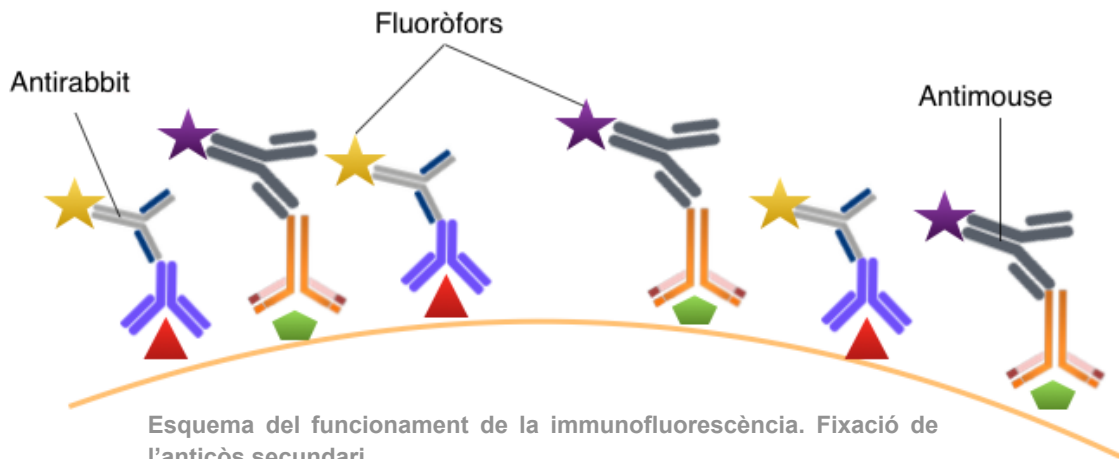
Les cèl·lules que volem observar al teixit són els astròcits i les neurones. Els astròcits contenen una proteïna anomenada **GFAP** i les neurones una altra anomenada **NeuN**. Com estem tractant mostres de pacients humans sobre el teixit aplicarem uns anticossos específics o **anticossos primaris** extrets d'altres animals. En el cas del GFAP s'utilitzarà **α -GFAP** extret de conill i en el cas de la NeuN s'utilitzarà **α -NeuN** extreta de ratolí. A l'aplicar els dos anticossos sobre el teixit aquests s'uniran a les proteïnes determinades com mostra l'esquema.



Esquema del funcionament de la immunofluorescència.
Fixació de l'anticòs primari.
Fotografies dels anticossos extretes de (26) i (27).

És evident que al teixit hi ha presents més proteïnes que les esmentades i moltes d'elles són inespecífiques, el que podria provocar que els anticossos actuessin sobre aquestes proteïnes i no sobre les que volem. Per a evitar això tractem el teixit amb **sèrum de cavall** (Horse Serum), que conté unes globulines que actuen sobre aquestes proteïnes inespecífiques de manera que els anticossos específics no s'hi puguin unir.

Arribat aquest moment s'ha d'aplicar sobre el teixit el que anomenem **anticòs secundari**. Aquest anticòs conté els **fluoròfors** que permetran fer l'observació del teixit. Utilitzarem dos tipus: l'**antimouse** (s'enganxa a α -NeuN) i l'**antirabbit** (s'enganxa a α -GFAP).



Fotografies dels anticòssos extrems de (25), (26), (27) i (28).

Procès al cultiu:

En el cas del cultiu el procediment és exactament el mateix tot i que amb anticòssos diferents. Recordo que les cèl·lules que volem observar són les cèl·lules micròglies. La proteïna que aquestes contenen és l'**Iba1** i per això el cultiu s'haurà de tractar amb anticòssos diferents.

Durant el procés de tinció es dona el **fenòmen Fading**, que és la pèrdua de la fluorescència de la mostra a causa de la llum. Dit d'una altra manera: la llum, sigui natural o artificial, desgasta els fluoròfors provocant que les mostres no siguin fluorescentes i per tant no puguin observar-se al microscopi. Per a evitar que això passi s'ha d'anar amb cura amb les mostres i procurar tapar-les sempre després d'haver-hi introduït l'anticòs secundari (que és el que conté els fluoròfors). Una altra mesura és tractar les mostres amb **productes anti-fading**, que fan que la fluorescència sigui més duradora. També els fabricants d'aquest tipus d'anticòssos s'encarreguen de vendre'ls dins de bosses preparades per a evitar el contacte de l'anticòs amb la llum.

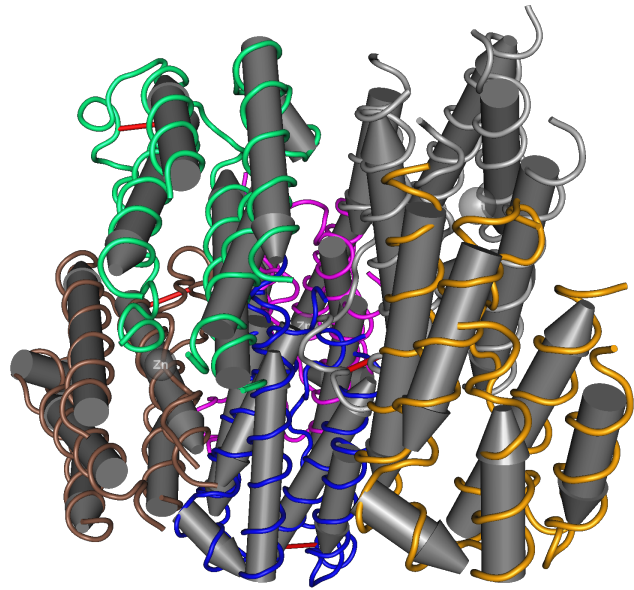
7- ELS ENZIMS AL CULTIU

Com ja he dit abans, per a l'observació de les cèl·lules micròglies utilitzarem un cultiu tractat amb enzim i un altre sense (control). Aquests enzims (escollits pel professorat de l'estada) són dos: IFN i LPS.

7.1 IFN

IFN és l'abreviatura de **interferó**. Els interferons són unes proteïnes que fabriquen determinades cèl·lules dels vertebrats quan són infectades per algun microbi, ja sigui un virus o un bacteri. Gràcies a aquestes proteïnes les cèl·lules del sistema immunitari poden comunicar-se i activar-se per a destruir un patògen o tumor.

Aplicant-ho al treball, els interferons activen les cèl·lules micròglies de manera que aquestes comencen a dur a terme les seves funcions. Quan les cèl·lules micròglies s'activen també ho fan les proteïnes Iba-1, que són les que tenyirem amb els anticossos. Per tant gràcies als interferons podrem observar les cèl·lules micròglies.



Estructura molecular de l'interferó alfa humà (un tipus d'interferó).

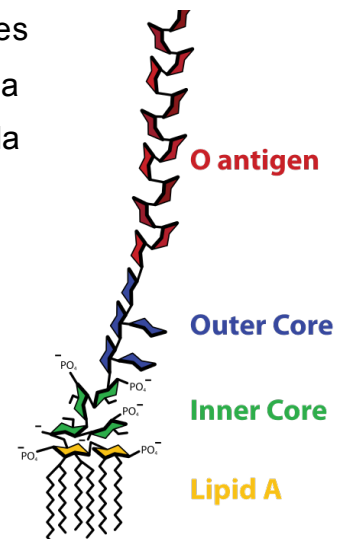
Fotografia extreta de (29)

7.2 LPS

LPS és l'abreviatura de **lipopolisacàrid**, biomolècula formada per la unió d'un lípid i un polisacàrid mitjançant enllaços covalents. LPS és el component majoritari de la paret cel·lular dels bacteris i al igual que IFN provoquen la resposta immunitària de l'organisme. La funció dels lipopolisacàrids en aquest treball serà la mateixa que la dels interferons. Activaran les cèl·lules micròglies i a la vegada les proteïnes Iba-1 per a poder fer l'observació del cultiu al microscopi de fluorescència.

Per al tractament dels cultius s'utilitzaran aquestes dues substàncies (IFN i LPS) a la vegada. Teòricament això no hauria d'influir en els resultats perquè els dos enzims poden actuar a la vegada i no es desactiven entre ells.

Estructura molecular d'un lipopolisacàrid.
Fotografia extreta de (30).



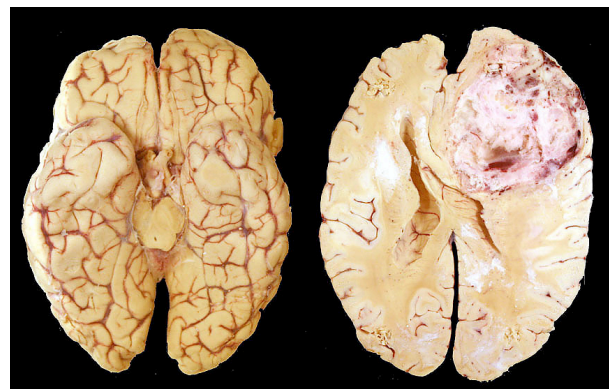
8- EL GLIOBLASTOMA

Abans de centrar-nos en el glioblastoma (un tumor específic) vull parlar dels tumors i del càncer en un caràcter general.

Tots els tipus de **càncer** (n'hi ha uns 200) es caracteritzen per una divisió i un creixement descontrolat de les cèl·lules, que tenen la capacitat de dividir-se dins l'òrgan on s'han originat i, quan el **tumor** es torna maligne, poden viatjar per la sang i el líquid limfàtic fins a d'altres òrgans més allunyats i créixer-hi, amb la qual cosa es produeix el que anomenem **metàstasi**.

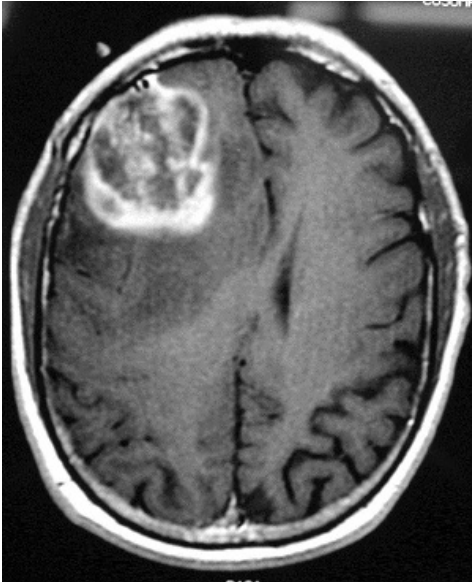
Tots els tipus de càncer són conseqüència d'alteracions en el material genètic de les cèl·lules, que fan que aquestes perdin la seva funció i esdevinguin malignes. Aquestes alteracions poden ser provocades per agents externs perjudicials, com ara les radiacions, els productes químics (per exemple el tabac), agents infecciosos, etc., però també es poden produir a causa d'errors durant la replicació del material genètic que no són corregits.

El **glioblastoma**, com indica el seu nom, és un tumor que neix a les cèl·lules glials del cervell. Normalment es presenta a l'**escorça cerebral** (a la superfície dels hemisferis) tot i que hi ha casos puntuals en que es localitza al cerebel. Aquest tipus de tumor representa el 60% dels tumors cerebrals primaris en adults. Existeixen 4 graus diferents d'aquest



Cervell afectat pel glioblastoma, a la part superior del segon tall es veu tota la part afectada.

Fotografia extreta de (32).



Resonància magnètica pacient amb glioblastoma.
Fotografia extreta de (33).

tumor, sent el grau IV el que més ràpid creix i per tant el més difícil de tractar.

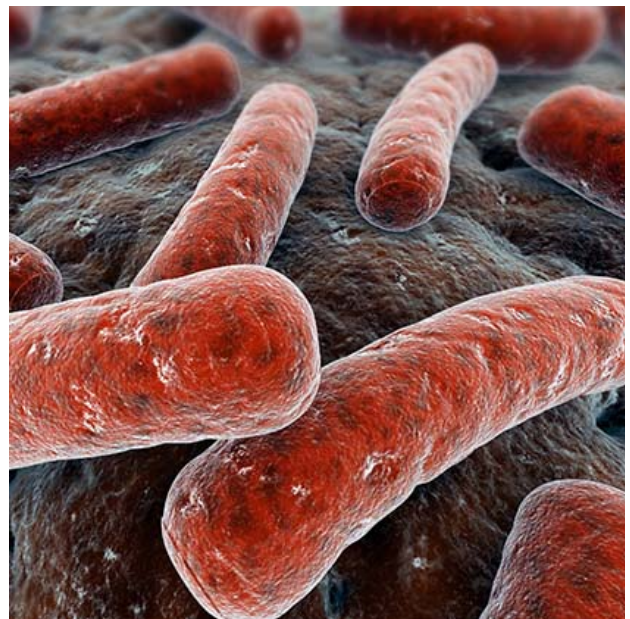
El glioblastoma és el tumor cerebral més mortífer. El seu pronòstic depèn de l'edat del pacient i les seves condicions de salut. Normalment una edat superior als 60 anys comporta el pitjor pronòstic mentre que una edat inferior als 50 anys comporta una major supervivència. I és que l'esperança de vida d'aquells pacients que pateixin aquesta malaltia oscil·la entre un parell de mesos i uns 9 anys després del diagnòstic.

9- EL TUBERCULOMA

La **tuberculosi** (TB en anglès) és una malaltia infecciosa causada pel bacteri *Mycobacterium tuberculosis*. Normalment aquests bacteris ataquen els pulmons però hi ha casos en que també poden afectar òrgans com els ronyons i el cervell.

El **tuberculoma** és la forma més comú en que la tuberculosi es presenta fora dels pulmons. Normalment els bacteris arriben al cervell a través dels vasos sanguinis procedents dels pulmons, on solen infectar l'escorça cerebral provocant-hi una inflamació. Es considera el tuberculoma com una malaltia altament mortífera.

Cal esmentar que el diagnòstic d'aquesta malaltia és complicat ja que es pot confondre amb una altra malaltia cerebral com el glioblastoma. Una de les tècniques de diagnòstic que utilitzen els neuropatòlegs per a identificar una malaltia és l'anàlisi de teixits



Imatge bacteris *Mycobacterium tuberculosis*.
Fotografia extreta de (34)



TC pacient amb tuberculoma.
Imatge extreta de (20).

patològics a través d'imatges obtingudes amb microscopi. El problema és que les imatges d'un teixit amb tuberculoma i un teixit amb glioblastoma són gairebé idèntiques, cosa que va provocar que en l'antiguitat no sapiguessin distingir-los. Actualment també s'utilitzen altres tècniques com el TC per a evitar errors d'aquest tipus. Aquesta tècnica, abans coneguda com TAC, consisteix en l'obtenció d'imatges a partir de raigs X.

BLOC PRÀCTIC

10- HIPÒTESI

Ara que sabem la teoria necessària per a l'observació i tenim clars quins són els objectius hem de formular una hipòtesi per a la nostra investigació. Aquesta hipòtesi pot ser certa o falsa, la manera de saber-ho és arribar fins al final de l'observació, on a les conclusions es reflexionarà sobre la seva validesa en funció dels resultats obtinguts.

Volem observar un teixit sa i comparar-lo amb un teixit amb glioblastoma i tuberculoma (que com he dit segons la teoria són força semblants) i també volem fer el mateix amb un cultiu de cèl·lules micròglies amb i sense enzim. Tenint això en compte podem formular la següent hipòtesi, separada en dues parts:

- El teixit malalt (glioblastoma i tuberculoma) tindrà moltes més cèl·lules que el teixit sa i també presentarà zones necròtiques.
- Pel que fa als cultius, el cultiu no tractat amb enzim tindrà menys cèl·lules que el cultiu tractat amb enzim.



11- MATERIALS

11.1 EL LABORATORI

Com és evident el lloc de treball ideal per a dur a terme una investigació d'aquest tipus és un laboratori equipat amb tots els estris, aparells i materials necessaris.



Laboratori on es van dur a terme totes les tècniques per al tractament de les mostres.
Fotografia feta per l'autora.

Però al laboratori hi ha unes normes de seguretat i també de neteja que s'han de complir per a evitar complicacions en la recerca. Aquí presento algunes d'aquestes normes que els investigadors d'aquest laboratori insistien molt en que s'havien de complir:

NETEJA DEL MATERIAL:

Tot el material que s'utilitzi en la investigació ha de ser netejat amb cura. A més de netejar-lo amb aigua de l'aixeta i sabó és recomanable mullar-lo amb aigua destil·lada. Això és perquè l'aigua de l'aixeta conté sals que poden reaccionar amb les substàncies que utilitzem i això pot causar que el nostre experiment surti malament.



Aigüera del laboratori amb un bidó d'aigua destil·lada al costat.
Fotografia feta per l'autora.

RESIDUS:

A l'hora de fer un experiment és normal que quedin restes de substàncies o altres materials que no es puguin tornar a aprofitar i s'hagin de llençar. Al tractar-se d'una brossa que en alguns casos pot ser perillosa s'ha d'anar amb compte a on es llença. A tots els laboratoris hi ha diferents contenidors o pots on es llencen aquestes substàncies, que posteriorment seran tractades. És important assegurar-se de llençar la brossa al contenidor adequat.



Pot per a llençar les puntes de la pipeta.

Fotografia feta per l'autora.

Contenidors del laboratori.

Fotografia feta per l'autora.

VESTIMENTA:

La vestimenta al laboratori també és important. Tot i que no és el cas, hi ha productes que poden provocar danys a la pell i per tant és necessari anar protegit per a evitar aquests danys.

Bata: És obligatori portar bata per a entrar al laboratori, alhora que també és obligatori treure-la per a entrar a la zona "neta" del laboratori (on es treballa amb portàtils, etc.). La bata és necessària per a protegir la pell i també la roba, per a no tacar-se.



Bata de laboratori.

Fotografia extreta de (37).



Sabates amb cordons.

Fotografia extreta de (38).

Sabates: Com he dit abans les substàncies que s'utilitzen al laboratori poden ser perilloses per a la pell. És per això que una de les normes necessàries al laboratori és portar sabates que no deixin visibles els peus. Si un producte cau de la taula sobre els peus podria provocar alguns danys.



Guants de làtex.

Fotografia extreta de (39).

Guants: Per a manipular qualsevol producte al laboratori és imprescindible portar guants. També cal tenir en compte que portant-los no podem obrir la porta pel pany, ja que podríem deixar restes d'alguna substància danyosa per a una altra persona que toqués aquest pany sense guants. També és important no tocar-se la cara mentre es porten ja que podríem contaminar les mostres.

11.2 MATERIALS

A continuació parlaré de tot allò necessari per a fer l'experiment, ja sigui per la part del tractament de les mostres com per a la seva observació final.

11.2.1 MATERIAL

Per a la preparació de les mostres vam haver d'utilitzar molts materials diferents. Són els següents:

MATERIAL VOLUMÈTRIC:



Proveta (diferents mides).

Fotografia extreta de (40).



Matràs aforat.

Fotografia extreta de (41).



Matràs Erlenmeyer.

Fotografia feta per l'autora.

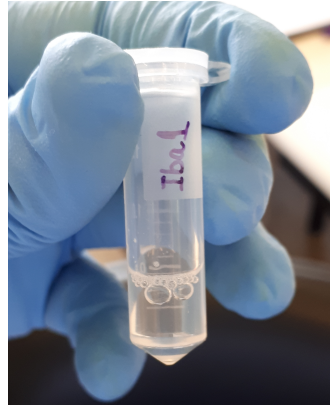


Vas de precipitats.

Fotografia feta per l'autora.

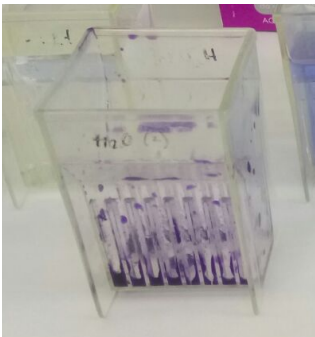


Pipeta.
Fotografia extreta de (42).

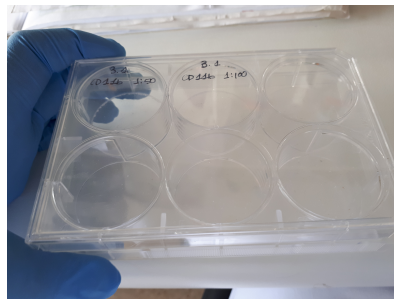


Eppendorf.
Fotografia feta per l'autora.

RECIPIENTS:



Vas Coplin.
Fotografia feta per l'autora.



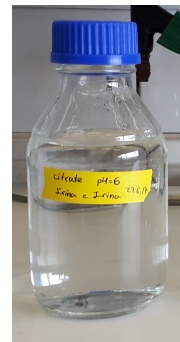
Microplaca (diferents mides).
Fotografia feta per l'autora.



Tub de plàstic.
Fotografia feta per l'autora.



Flascó rentador (aigua destil·lada).
Fotografia feta per l'autora.



Flascó de vidre (diferents mides).
Fotografia feta per l'autora.

ÚS GENERAL:



Pinzells.
Fotografia feta per l'autora.



Puntes pipeta.
Fotografia feta per l'autora.



Placa de Petri.
Imatge extreta de (43).



Parafilm.
Fotografia feta per l'autora.

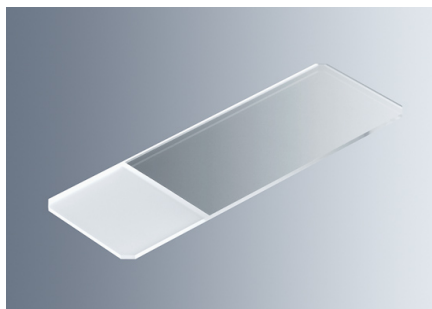


Gradeta.
Fotografia feta per l'autora.

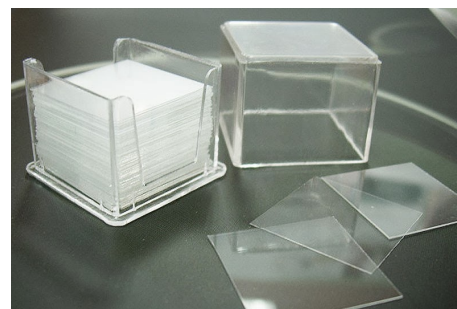


Comptagotes.
Fotografia feta per l'autora.

Per al muntatge de les mostres:

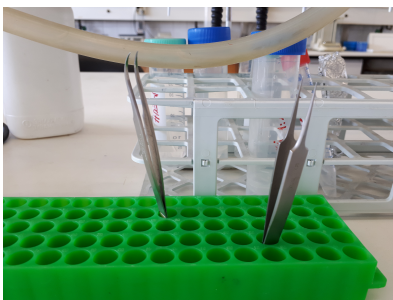


Portaobjectes.
Fotografia extreta de (44).



Cobreobjectes.
Fotografia extreta de (45).

Materials de metall:



Pinces.
Fotografia feta per l'autora.



Paper d'alumini.
Fotografia extreta de (46).



Imant.
Fotografia extreta de (47).

11.2.2 INSTRUMENTS

Juntament amb tot el material anterior, per al tractament i preparació de les mostres vam haver d'utilitzar molts aparells diferents. Són els següents:

MESURA:



pH-metre.
Fotografia feta per l'autora.



Cronòmetre.
Fotografia feta per l'autora.



Termòmetre.
Fotografia extreta de (48).

AGITACIÓ:



Agitador magnètic.
Fotografia extreta de (49).



Rotador.
Fotografia feta per l'autora.



Centrifugadora.
Fotografia feta per l'autora.

ALTRES:



Escalfador.
Fotografia feta per l'autora.

11.2.3 MOSTRES

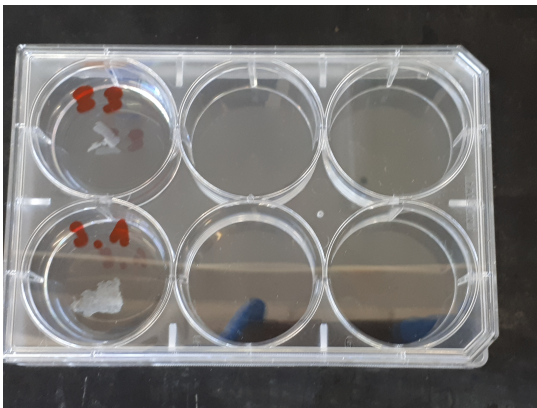
Com és evident per a la preparació de les mostres necessitem les mostres. Per a la tinció amb tionina van ser les següents:

- Teixit escorça cerebral frontal (CONTROL)
- Teixit escorça cerebral frontotemporal (GLIOBLASTOMA)
- Teixit tuberculoma



Mostres ja tenyides amb la tionina i al portaobjectes.

Fotografia feta per l'autora.



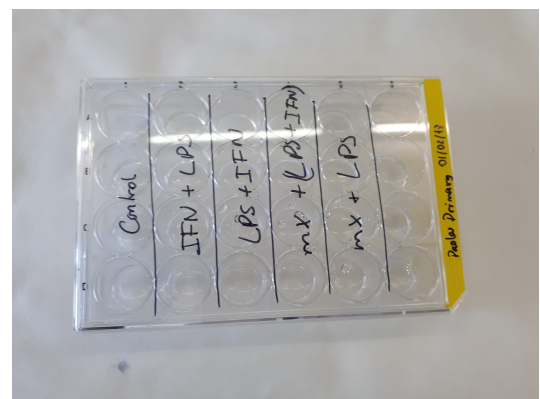
Mostres a la microplaca durant el seu tractament.

Fotografia feta per l'autora.

Per a la tinció amb anticossos o immunofluorescència les mostres van ser les següents:

- Teixit escorça cerebral frontal (CONTROL)
- Teixit escorça cerebral frontotemporal (GLIOBLASTOMA)

Finalment per al cultiu vam utilitzar cèl·lules micròglies cultivades al departament de cultius de l'INc, restringit per a nosaltres. Algunes d'elles havien estat tractades amb enzims i d'altres no (CONTROL).



Cultiu de cèl·lules durant el seu tractament.

Fotografia feta per l'autora.

Vull aclarir que les mostres de teixit van ser obtingudes de pacients anònims d'un hospital de València i que aquestes van ser tallades a un altre departament de la universitat. Nosaltres ja les vam rebre tallades i només havíem de tractar-les per a poder veure-les al microscopi.

11.2.4 SUBSTÀNCIES QUÍMIQUES

Durant la preparació de les mostres vam haver d'utilitzar moltes substàncies per a tractar-les. De fet, el primer dia al laboratori vam dedicar tota la sessió a preparar aquests productes, tot i que alguns d'ells (anticossos, buffers, etc.) ja estaven preparats.

Ara explicaré la preparació i l'ús d'aquestes substàncies:

PREPARACIÓ

La preparació d'aquestes substàncies és força senzilla. Al tractar-se de dissolucions només s'han de dissoldre els soluts amb el dissolvent fins a aconseguir una mescla homogènia, aquest pas es fa amb l'agitador magnètic per a anar més ràpid. La quantitat de solut i dissolvent necessària per a cada substància ve determinada per la seva concentració, és a dir que hi ha uns valors establerts (que a continuació indicaré). Per a algunes d'aquestes substàncies també era necessari ajustar el pH (que es mesura amb el pH-metre). Si la substància és massa àcida s'afegeix una base (en el nostre cas NaOH) i si és massa bàsica s'afegeix un àcid (en el nostre cas HCl).



Substàncies químiques que vam preparar per al tractament de les mostres.

Fotografia feta per l'autora.

Etanol:

Vam preparar 500mL d'etanol en 3 concentracions diferents. La taula mostra la quantitat de solut i dissolvent per a cada una d'elles:

	Etanol 70%	Etanol 80%	Etanol 90%
EtOH (mL)	350	400	450
H2O destil·lada (mL)	150	100	50

L'etanol serveix per a deshidratar el teixit, cosa que ajuda a que s'adapti millor al líquid de fixació (xilol) que manté la tinció.

PBS:

Per a preparar 800mL de PBS són necessaris 8g de NaCl, 1,44g de Na₂HPO₄ i 0,24g de NaH₂PO₄. S'enrasa amb aigua destil·lada i ha de tenir un pH de 7,4.

El PBS serveix per a mantenir el nivell osmòtic del teixit i evitar que aquest es trenqui. També s'utilitza per a netejar el teixit, com veurem més endavant.

TBS-tritó 0,5%:

Per a preparar 500mL de TBS es necessiten 3,5g de tris base, 4,5g de NaCl i 2,5mL de tritó. S'enrasa amb aigua destil·lada i també ha de tenir un pH de 7,4.

El TBS també serveix per a mantenir el nivell osmòtic del teixit tot i que és més potent que el PBS. També serveix per a netejar el teixit però també amb més intensitat.

HS (horse serum/ sèrum de cavall)

Vam preparar 30mL de sèrum de cavall en dues concentracions diferents:

- HS10%: es necessiten 3mL de sèrum de cavall (ja preparat) i 27mL de TBS.
- HS1%: es necessiten 3mL de sèrum de HS10% i 0,3g de NaN₃. S'enrasa amb TBS.

Com ja he explicat abans el sèrum de cavall serveix per a desactivar proteïnes inespecífiques del teixit per a que no s'hi uneixin els anticossos.

Àcid cítric

Per a preparar 500mL d'àcid cítric es necessiten 1,05g de citrat. S'enrasa amb aigua destil·lada i ha de tenir un pH de 6.

L'àcid cítric (citrat) trenca els enllaços químics entre les molècules que formen el teixit i això permet l'entrada dels anticossos. A una temperatura més alta el citrat té més eficàcia, com veurem més endavant.

Aquestes substàncies són les que més vam utilitzar per al tractament de les mostres però n'hi ha d'altres que, tot i que no vam utilitzar tant, també són molt importants i cal mencionar. Són les següents:

- Tionina: colorant que s'uneix al DNA i permet l'observació dels nuclis cel·lulars i les vesícules de Nissl (presentes al citoplasma de les neurones).

- Xilol: líquid de fixació, permet l'observació de les mostres amb claredat.
- Entellan (medi de muntatge): s'utilitza a l'últim pas de la preparació de la mostra i permet acabar de fixar el teixit col·locant el cobreobjectes.
- Anticossos
- DAPI: permet la tinció del DNA amb fluorescència.
- PBS 1X: aquest PBS no es tan corrosiu per a les cèl·lules com l'altre.
- Buffers: vam utilitzar 4 buffers diferents.
 - Buffer 1: Permeabilitza la membrana cel·lular per a que l'anticòs la travessi més ràpidament.
 - Buffer 2: També permeabilitza la membrana.
 - Buffer 3: Bloqueja proteïnes inespecífiques, com fa el sèrum de cavall.
 - Buffer 4: Manté el bloqueig i la permeabilitat de la membrana.



Anticossos als seus Eppendorfs.
Fotografia feta per l'autora.

Moltes d'aquestes substàncies havien de ser conservades a unes condicions de temperatura baixes. Aquest és el cas dels anticossos, els sèrums de cavall o els buffers entre d'altres. Això explica que tant al laboratori com a tot el departament hi hagi moltes neveres i cambres frigorífiques per a conservar les mostres i les substàncies.



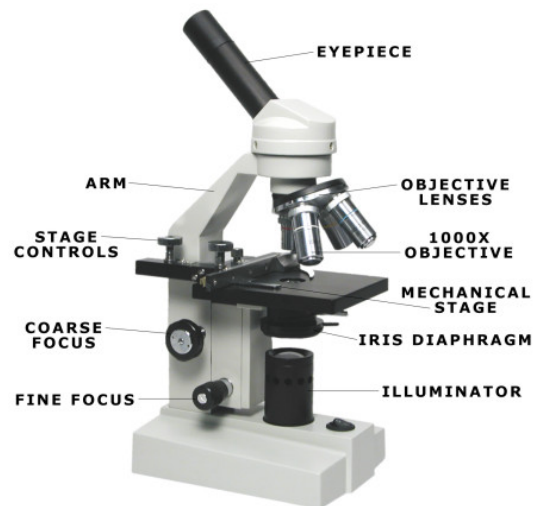
Neveres i congeladors del laboratori.
Fotografia feta per l'autora.

11.2.5 MICROSCOPIS

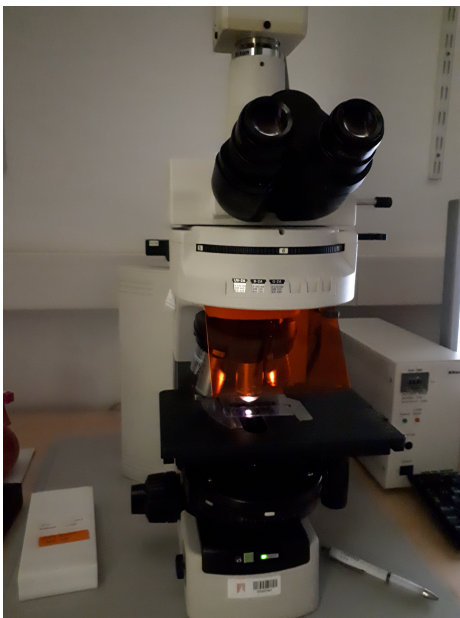
L'eina essencial per a poder fer una observació d'un teixit o un cultiu és el microscopi. Hi ha molts tipus de microscopis i cadascun d'ells permet una observació diferent. Ara parlaré dels microscopis que vaig utilitzar per a fer l'observació al Servei de Microscòpia de l'INc.

11.2.5.1 Microscopi òptic

El microscopi òptic és un sistema constituït per dues lents d'augment anomenades ocular i objectiu que fa servir els fotons de la llum visible per a fer observacions. Els rajos lluminosos, que procedeixen d'una font d'il·luminació, travessen l'aire, incideixen sobre la preparació i després tornen a travessar l'aire fins a arribar a la lent frontal de l'objectiu del microscopi. Aquesta recull els rajos lluminosos i en projectar-los cap a l'ocular augmenta la imatge rebuda, que després tornarà a ser augmentada.



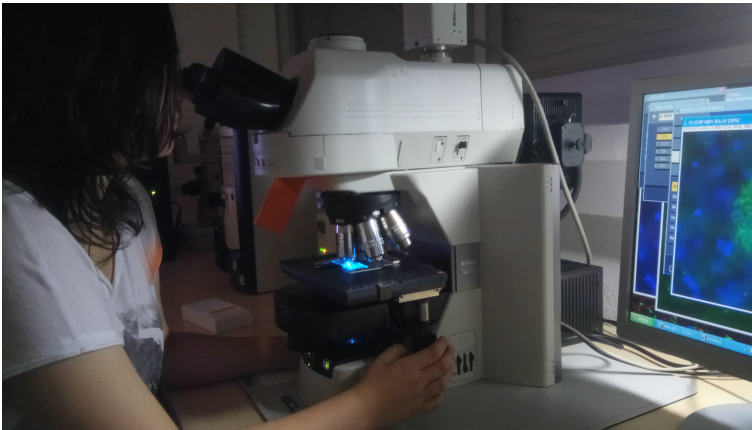
Esquema del microscopi òptic amb el nom de les seves parts.
Fotografia extreta de (50).



Microscopi òptic del Servei de microscòpia de l'INc.
Fotografia feta per l'autora.

En aquesta observació el microscopi òptic ha estat utilitzat per a fer l'observació de les mostres tenyides amb tionina. Gràcies a una càmera connectada al microscopi es poden obtenir imatges des de l'ordinador a través d'un programa informàtic, que més endavant explicaré.

11.2.5.2 Microscopi de fluorescència

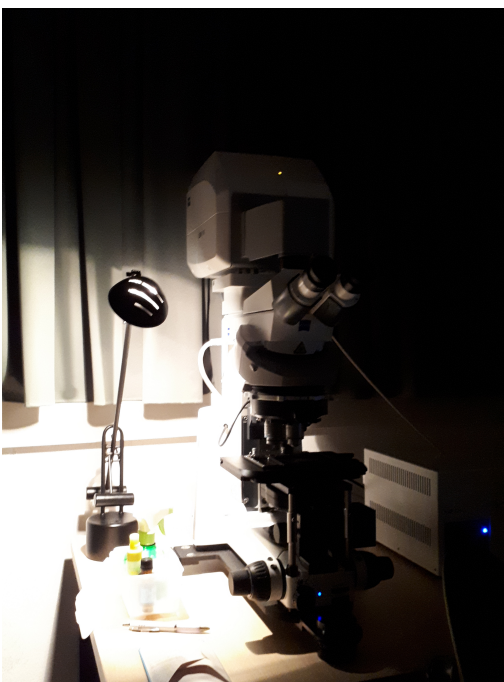


Microscopi de fluorescència del Servei de microscòpia de l'INc.
Fotografia feta per l'autora.

El microscopi de fluorescència és molt semblant al microscopi òptic. La seva diferència és que aquest permet l'observació de teixits tenyits amb fluoròfors (com és el cas) ja que pot emetre llum a diferents freqüències que permeten l'observació de les estructures tenyides.

El microscopi de fluorescència no permet obtenir imatges directament, és a dir que no és possible obtenir una imatge on s'observi el nucli i el citoplasma d'una cèl·lula a la vegada. Això és conseqüència de la diferència de freqüència de la llum, que no excita tots els fluoròfors a la vegada. Tot i això és possible obtenir imatges amb totes les estructures a la vegada gràcies a un programa informàtic.

11.2.5.3 Microscopi confocal



Microscopi confocal del Servei de microscòpia de l'INc.
Fotografia feta per l'autora.

El microscopi confocal és el de més qualitat de tots els que parlaré. Permet obtenir imatges de molta més qualitat que els altres microscopis i a més aquestes permeten moltes més modificacions que les anteriors. De fet, la utilització d'aquest microscopi no estava prevista ja que donada la seva qualitat estava molt sol·licitat pels investigadors.

Un microscopi confocal és capaç d'obtenir imatges tridimensionals d'un objecte com, per exemple, una cèl·lula. S'utilitza un làser com a font lluminosa, i amb la seva llum es va escanrant la mostra en tots els punts del volum de l'objecte, pla a pla. Es van crear moltes imatges bidimensionals que un ordinador interpreta i, posteriorment, acaba generant una imatge tridimensional completa.

Per a entendre-ho millor ho compararé amb un bloc de notes adhesives. La imatge obtinguda pel microscopi seria el bloc de notes i totes les seves pàgines serien els plans del teixit que a l'ajuntar-se permeten veure la mostra en 3D. També existeix la possibilitat d'observar únicament un pla del teixit.



Bloc de notes.
Fotografia extreta de (51).

11.2.5.4 Microscopi invertit

Per a l'observació d'un cultiu normalment s'utilitza un microscopi invertit. Aquest microscopi és molt semblant al microscopi òptic, la diferència és que la seva estructura està totalment invertida. En un microscopi òptic convencional la font lluminosa estaria a la part baixa mentre que a un microscopi invertit es trobaria a la part alta.

En el nostre cas aquest microscopi també permetia l'observació de tincions amb fluorescència, ja que com veurem més endavant així va ser com vam tenyir el cultiu.

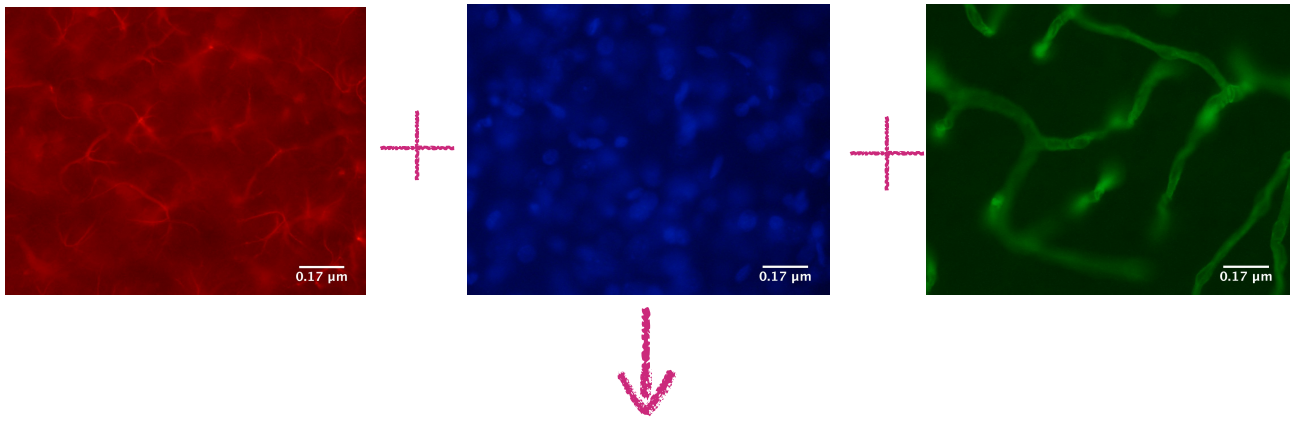


Microscopi invertit.
Fotografia extreta de (52).

11.2.5.5 FIJI

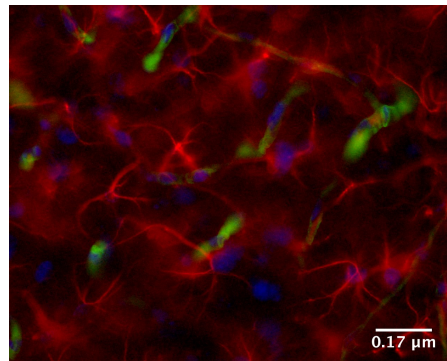
Fiji no és el nom d'un tipus de microscopi sinó del programa informàtic que vam utilitzar per a la modificació de les imatges. Com he comentat abans els microscopis tenien connectada una càmera que permetia obtenir imatges a l'ordinador. Gràcies a aquest programa es podien visualitzar i modificar aquestes imatges.

El Fiji és especialment útil per a les imatges de teixits amb fluorescència. Com he dit abans, la llum no permet obtenir imatges on es puguin veure totes les estructures tenyides a la vegada. Aquest programa permet elaborar composites, una única imatge on s'observi un pla fotografiat a diferents freqüències de llum i on per tant es puguin observar totes les estructures. Les imatges mostren un mateix pla de la mostra fotografiat a diferents freqüències lluminoses i el seu composite:

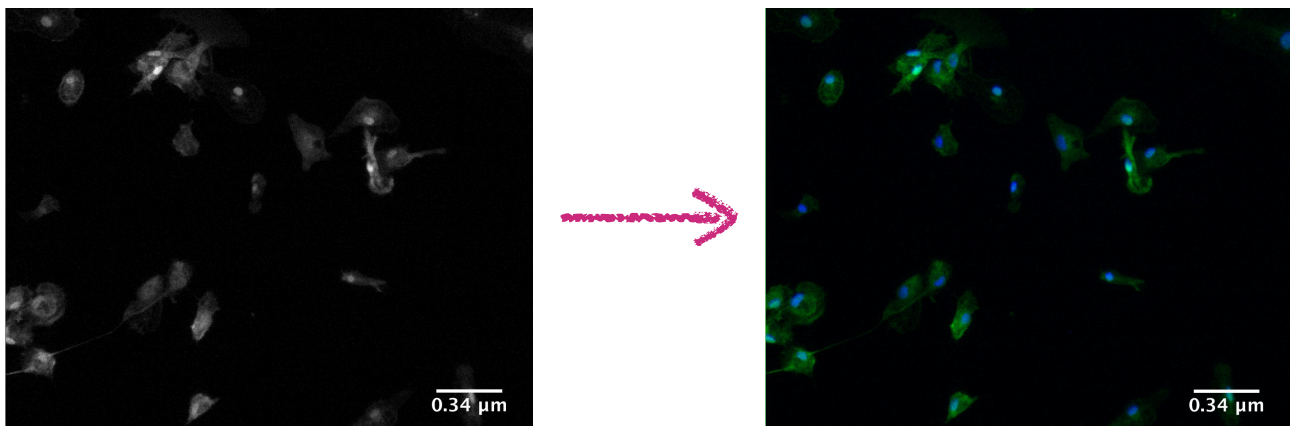


Teixit de rata tenyit amb immunofluorescència. A dalt les imatges per separat i sota el seu composite.

Imatges fetes per l'autora.



Aquest programa també permet donar color a aquelles imatges que han sigut obtingudes en banc i negre o també modificar el contrast o la lluminositat.

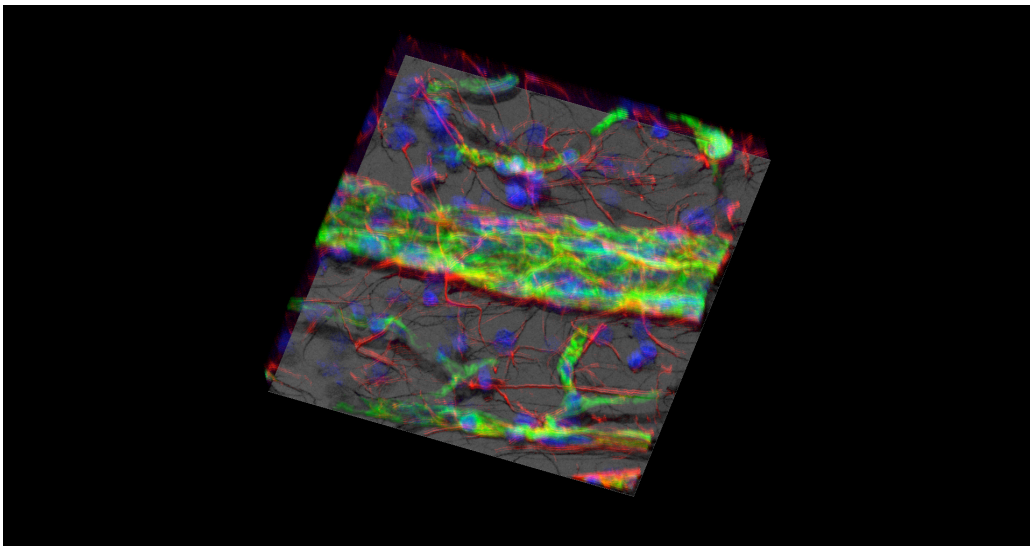


Cultiu de cèl·lules micròglies tenyides amb immunofluorescència. A l'esquerra sense color i a la dreta amb color.

Fotografies fetes per l'autora.

El Fiji també és el programa encarregat de modificar i processar les imatges obtingudes amb el microscopi confocal i també ofereix una funció molt important: permet generar una escala per a cada imatge en funció dels augments amb els quals ha estat presa.

Aquest no és l'únic programa que pot modificar imatges obtingudes per microscopi, hi ha altres com l'ImageJ o fins i tot existeix un que s'està desenvolupant que permet elaborar vídeos amb les imatges del microscopi confocal.



Imatge tridimensional obtinguda amb el microscopi confocal i modificada amb un programa en desenvolupament de la companyia Leica.

Fotografia feta per l'autora.

12- MÈTODES

Arribats a aquest punt els nostres objectius ja són clars, hem formulat una hipòtesi, hem estudiat tota la teoria necessària i sabem tot el material necessari per a fer l'experiment. Abans de poder arribar als resultats definiré alguns termes importants que han d'aparèixer a qualsevol investigació científica.

- Problema que s'investiga: Quines diferències hi ha entre un teixit sa i un altre malalt (amb glioblastoma i tuberculoma)? I entre un cultiu de cèl·lules micròglies tractades amb enzim i un altre no tractat?
- Variable independent: És aquella que determina l'experimentador. En aquest cas seria el teixit sa o patològic i el cultiu tractat i no tractat.
- Variable dependent: Són aquelles que varien en funció de la variable independent. En aquest cas serien totes les diferències entre els cultius i els teixits (nombre de cèl·lules, forma de les cèl·lules, tipus de cèl·lules, etc.).

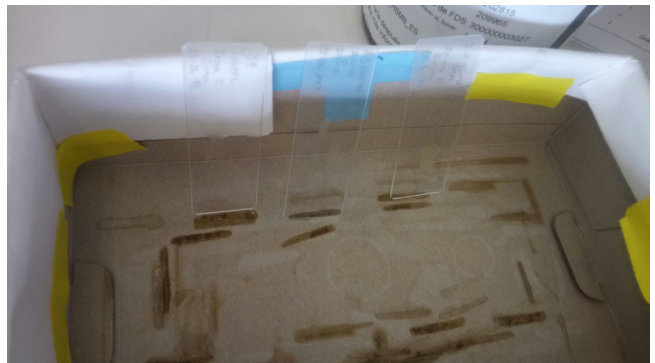
- **Control de l'experiment:** El control d'un experiment és aquell grup que no ha patit cap modificació. En el cas del teixit, com ja dit abans, el control seria el teixit sa i en el cas del cultiu el grup sense tractar.
- **Rèpliques:** Tot i que les rèpliques són molt importants en un experiment, en aquest cas no en farem. Cal tenir en compte que a l'estar treballant en un laboratori universitari ja hi ha mostres preparades semblants a les que estudiarem, per tant si hi hagués algun problema amb alguna d'elles sempre podríem fer servir alguna de la universitat.

Ara que ja sabem tot el necessari per a dur a terme aquesta observació hem de començar el tractament dels teixits per a poder-los estudiar correctament.

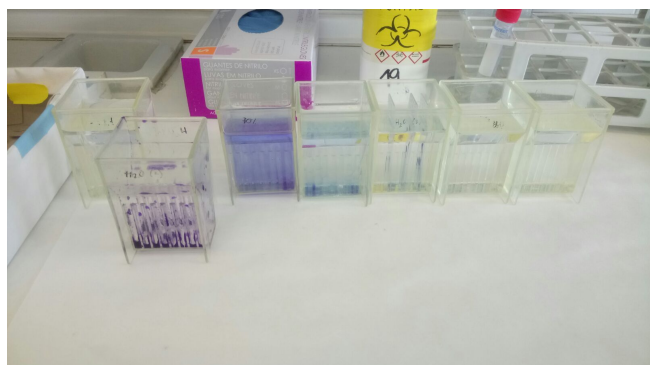
Cal aclarir que tots aquests procediments han estat modificats pel professorat de l'estada tenint en compte que el nombre d'hores de treball al laboratori era limitat.

12.1 TINCIÓ AMB TIONINA

1. Posar la mostra sobre un portaobjectes gelatinitzat amb l'ajuda d'una placa de Petri amb PBS i un pinzell. Es submergeix el teixit al PBS i amb el pinzell es col·loca a la part central del porta. Quan això estigui fet també cal retolar els portes per a evitar confondre els teixits.
2. Es deixa assecar durant 30 o 40 minuts.
3. Agafar 7 vasos Coplin i emplenar 2 amb aigua destil·lada, 1 amb tionina, 1 amb etanol 70%, 1 amb etanol 80%, 1 amb etanol 90% i 1 amb etanol 100%.
4. Submergir la mostra en el vas Coplin amb aigua durant 1 minut.
5. Submergir la mostra en la tionina durant 1 minut.
6. Tornar a submergir la mostra en aigua durant 1 minut.
7. Deshidratar la mostra submergint-la en etanol 70% durant 1 minut.
8. Submergir-la en etanol 80% durant 1 minut.

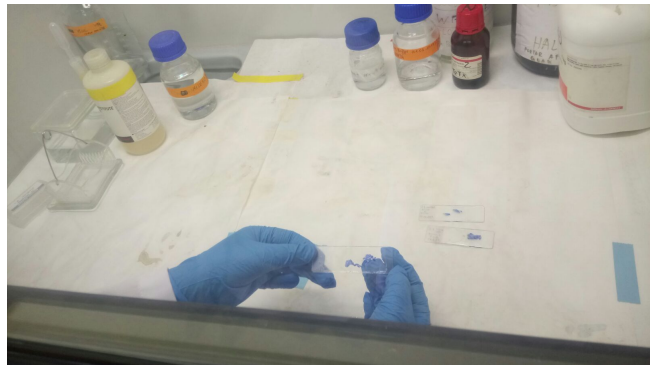


Els 3 portaobjectes amb les mostres assecant-se.
Imatge feta per l'autora.



Els vasos Coplin després d'haver-hi introduït les mostres.
Imatge feta per l'autora.

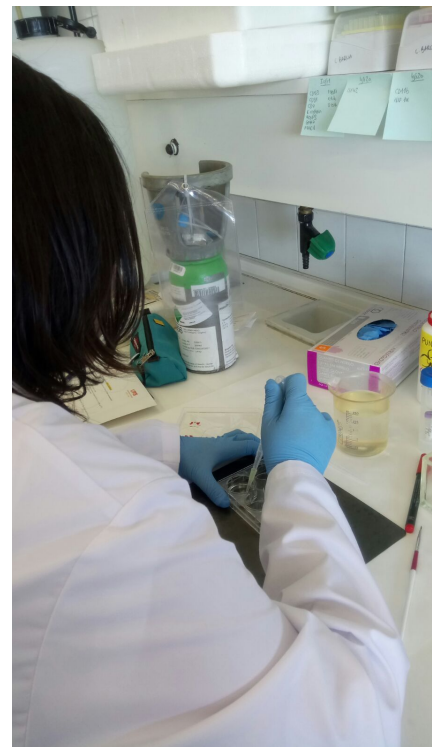
9. Submergir-la en etanol 90% durant 1 minut.
10. Submergir-la en etanol 100% durant 1 minut.
11. Dins de la campana extractora de gasos del laboratori submergir la mostra en xilol durant 5 minuts. Es fa dins de la campana perquè aquesta substància emet uns gasos perjudicials per a l'organisme.
12. Acabar de muntar la mostra amb Entellan. Amb el comptagotes es posa una mica d'Entellan sobre el teixit i es col·loca el cobreobjectes a sobre.
13. Deixar assecar fins a l'endemà, quan ja es podrà portar a observar al microscopi.



Tractament de les mostres dins de la campana extractora.
Imatge feta per l'autora.

12.2 TINCIÓ AMB ANTICOSSOS (IMMUNOFLUORESCÈNCIA)

1. Hi ha diferents mètodes per a tractar les mostres: el tractament amb tripsina, el tractament amb citrat i el tractament amb acetona. En aquest cas ens decantarem pel tractament amb citrat, que consta dels següents passos:
 - 1) Netejar 6 vegades les mostres amb PBS. Aquesta neteja (que es repetirà moltes vegades) es fa agafant el PBS amb un comptagotes i introduint-lo als forats de la microplaca on estiguin els teixits. Aquesta microplaca es deixarà a l'agitador 5 minuts.
 - 2) Submergir les mostres en citrat (prèviament escalfat fins a 60°C) durant 20 minuts.
 - 3) Tornar a netejar les mostres amb PBS.
2. Incubar les mostres durant 45 minuts en sèrum de cavall del 10% (HS10%)
3. Netejar les mostres amb TBS.
4. Preparar una dissolució de 1000 μ L amb 2 μ L de α -



Procès de neteja de les mostres amb PBS. Concretament en aquesta imatge introducció del PBS amb el comptagotes a la microplaca.
Imatge feta per l'autora.

GFAP (rabbit) i $1\mu\text{L}$ de $\alpha\text{-NeuN}$ (mouse) diluïts en sèrum de cavall de l'1% (HS1%).

Repartir la dissolució entre les dues mostres ($500\mu\text{L}$ a cada una) i deixar incubar fins a l'endemà a l'agitador.

5. Netejar 3 vegades les mostres amb TBS.
6. Preparar una altra dissolució de $1000\mu\text{L}$ amb $2\mu\text{L}$ d'antirabbit i $1\mu\text{L}$ d'antimouse diluïts en sèrum de cavall de l'1% (HS1%). Repartir la dissolució entre les dues mostres ($500\mu\text{L}$ a cada una) i deixar incubar 2 hores a l'agitador.
7. Netejar les mostres 3 vegades amb PBS.
8. Preparar una dissolució amb $1\mu\text{L}$ de DAPI en 1mL de PBS. Repartir-la entre les dues mostres i incubar-les a l'agitador durant 15 minuts.
9. Netejar les mostres 3 vegades amb PBS.
10. Col·locar les mostres sobre un porta no gelatinitzat (prèviament retolat) i cobrir-les amb el cobreobjectes.

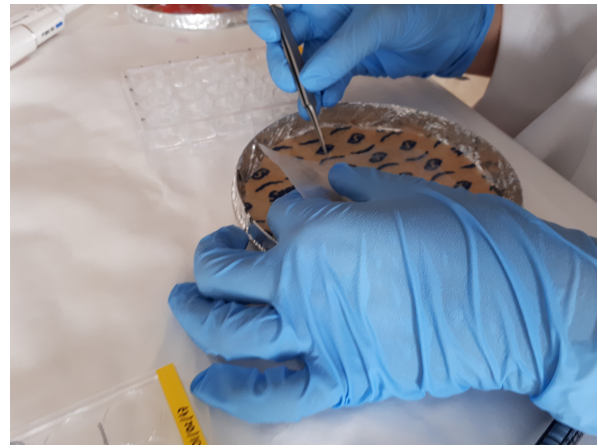
12.3 PREPARACIÓ DEL CULTIU

1. Netejar amb PBS 1X cada grup de cèl·lules introduint $500\mu\text{L}$ a cada forat de la microplaca. Aquestes cèl·lules es troben enganxades a un petit cristall circular transparent que cal tractar amb molta cura per a evitar que es desenganxin.
2. Introduir $450\mu\text{L}$ de Buffer 1 a cada forat i deixar reposar exactament 7 minuts.
3. Netejar amb PBS 1X.
4. Introduir $450\mu\text{L}$ de Buffer 2 a cada forat i deixar reposar 15 minuts.
5. Introduir $450\mu\text{L}$ de Buffer 3 a cada forat i deixar reposar 1 hora.
6. Preparar una dissolució de $500\mu\text{L}$ de Buffer 4 amb $1\mu\text{L}$ de $\alpha\text{-IBA1}$. Pipetejar $12\mu\text{L}$ per cada grup de cèl·lules i deixar-ho sobre el parafilm. Treure amb molta cura els cristalls de la microplaca i posar-los sobre cada gota de dissolució. Deixar reposar fins a l'endemà.



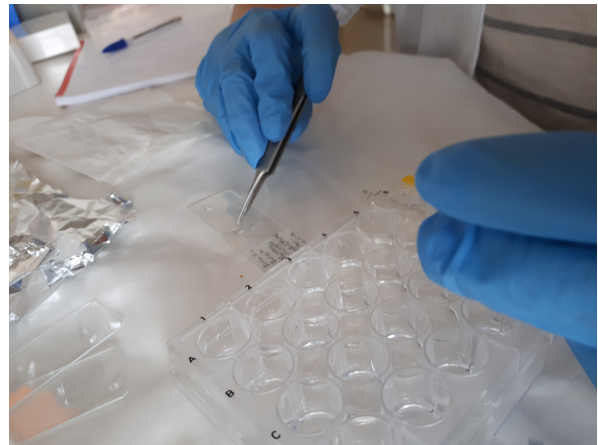
Parafilm amb gotes de la dissolució del Buffer 4.
Imatge feta per l'autora.

7. Tornar a posar els cristalls a la microplaca (introduir prèviament el PBS 1X a cada forat).
8. Netejar 3 vegades amb PBS 1X.
9. Preparar una dissolució de $1000\mu\text{L}$ de Buffer 4 amb $1\mu\text{L}$ d'Alexa 488 (anticòs secundari). Pipetejar $12\mu\text{L}$ per cada grup de cèl·lules i deixar-ho sobre el parafilm. Treure amb molta cura els cristalls de la microplaca i posar-los sobre cada gota de dissolució. Deixar el parafilm en un lloc on no toqui la llum durant 1 hora.
10. Netejar 3 vegades amb PBS 1X evitant el contacte amb la llum.
11. Preparar una dissolució de $15\mu\text{L}$ de DAPI en $15000\mu\text{L}$ de PBS 1X. Pipetejar $500\mu\text{L}$ per cada grup de cèl·lules. Deixar reposar 15 minuts.
12. Netejar 3 vegades amb PBS 1X.
13. Col·locar tots els cristalls tractats de la mateixa manera sobre el mateix porta i retolar-lo. Deixar assecar 2 hores.



Col·locació dels cristalls als portes, prèviament retolats.

Imatge feta per l'autora.



Introducció dels cristalls del parafilm a la microplaca.

Imatge feta per l'autora.

13- RESULTATS

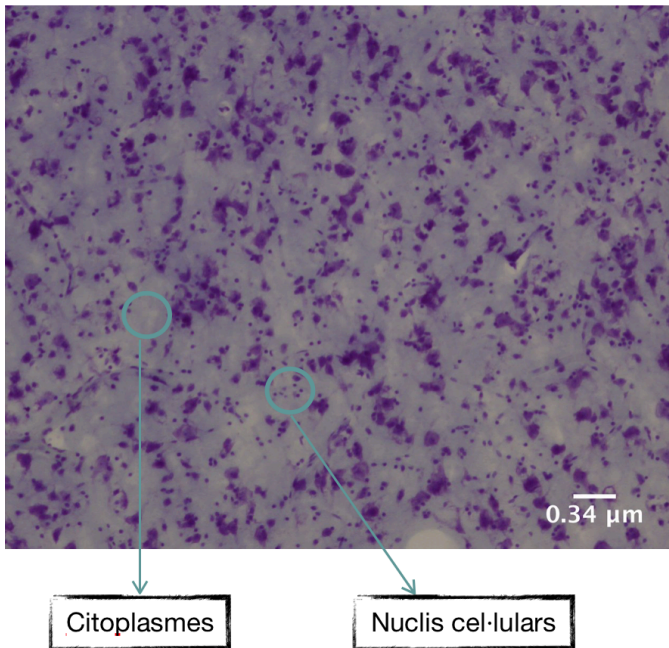
Després de preparar les mostres per a l'observació finalment les podem observar al microscopi. A continuació faré una explicació (i discussió) de les imatges obtingudes a les sessions de microscòpia.

13.1 TINCIÓ AMB TIONINA

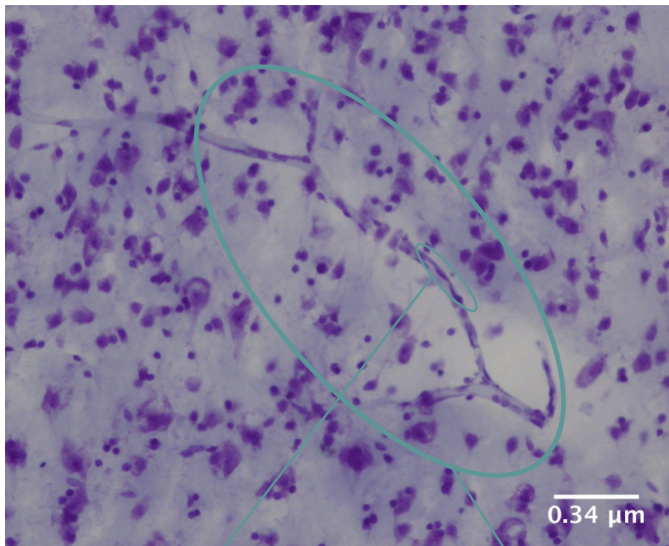
Per començar observarem les imatges dels teixits tenyits amb tionina. Aquest tipus de tinció sol observar-se amb el microscopi òptic, com és el cas, per tant totes les fotografies següents han estat preses amb una càmera connectada al microscopi òptic.

13.1.1 Teixit control (sa)

Comencem l'observació analitzant el teixit control a diferents augments i distingint les diferents estructures que el formen.



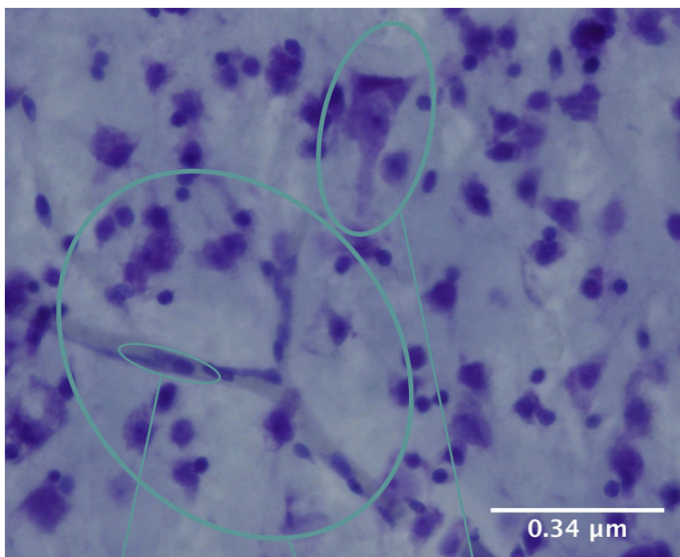
En aquesta primera imatge podem observar en un color més fosc els nuclis de les cèl·lules (en aquest cas neurones). En un color més clar també podem observar el seu citoplasma i si ens fixem en alguna d'elles podem diferenciar la forma típica de les neurones.



Nuclis cèl·lules endotelials

Capil·lar

A l'observar el teixit a més augments podem arribar a diferenciar alguns capil·lars com aquest. Les seves parets estan recobertes de cèl·lules endotelials (que són allargades) i per tant podem veure com els nuclis són més allargats que els de les neurones que observem al costat.



Nuclis cèl·lules endotelials

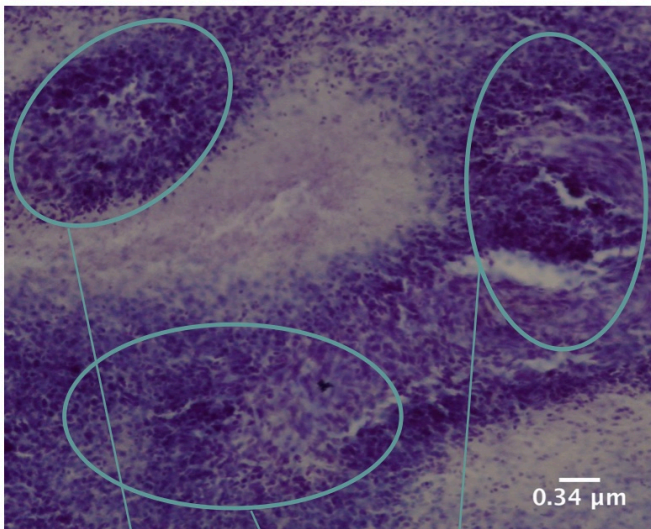
Capil·lar

Neurona

Finalment quan observem el teixit als màxims augments que permet el microscopi podem veure més clarament tot el que he comentat abans. Els nuclis de les cèl·lules endotelials són molt més allargats que els de les neurones. Si ens fixem en la neurona del centre de la part superior (d'un color més fosc que les altres) podem veure la forma típica de les neurones amb el seu àxon i les dendrites.

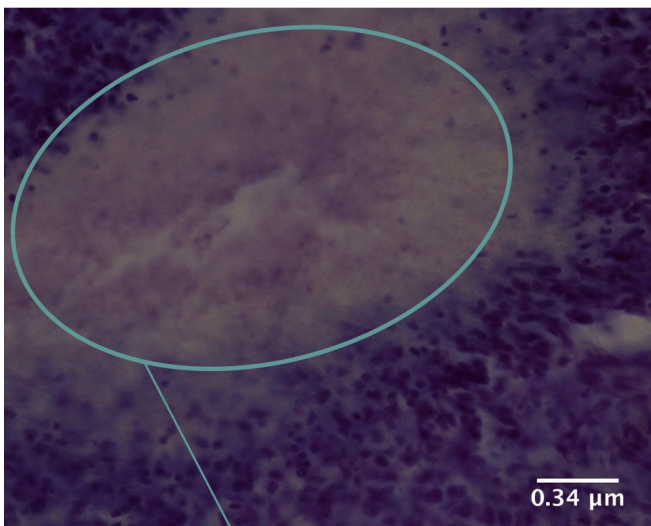
13.1.2 Teixit amb glioblastoma

Ara que sabem com és el teixit sa passem a observar el teixit amb glioblastoma. Compararem a diversos augments les imatges dels dos teixits per a observar-ne les diferències.



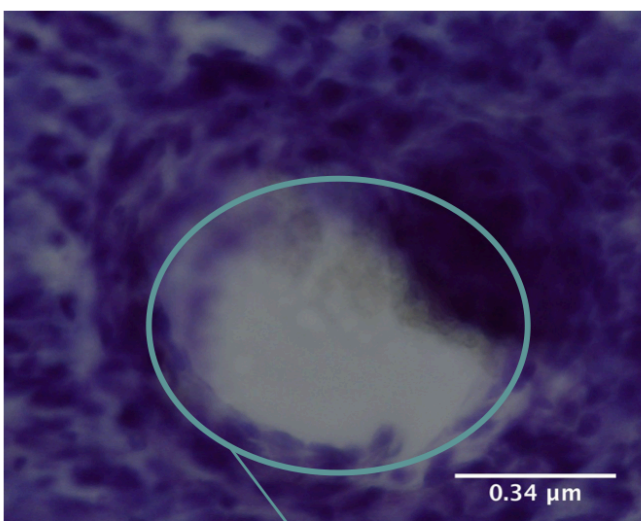
Altes concentracions de cèl·lules

Només observant la primera imatge ja veiem clarament que el número de cèl·lules del teixit amb glioblastoma és molt més gran que el del teixit control. Això es deu a que el càncer es una malaltia que provoca que les cèl·lules comencin a dividir-se amb una freqüència molt alta.



Necrosi en palissada

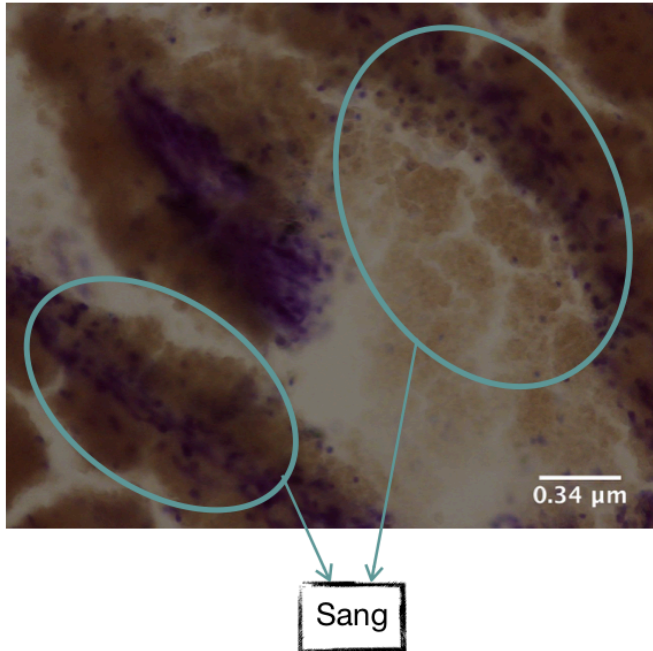
Augmentant la mateixa zona del teixit podem observar que hi ha zones on no hi ha gairebé cèl·lules, cosa que contrasta amb el seu voltant. Això es tracta d'una necrosi (mort cel·lular) en palissada, una característica del glioblastoma multiforme que fa que les cèl·lules fugin de la zona en qüestió.



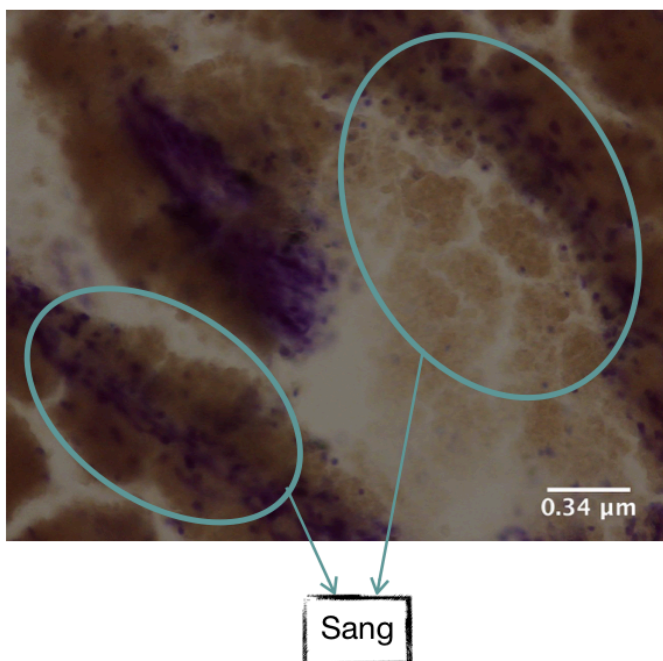
Necrosi en palissada

Augmentant encara més la mateixa zona de teixit podem trobar més zones necròtiques en palissades com aquesta, on s'observa que es crea un espai arrodonit on no hi ha gairebé cap cèl·lula mentre que al seu voltant hi ha una acumulació.

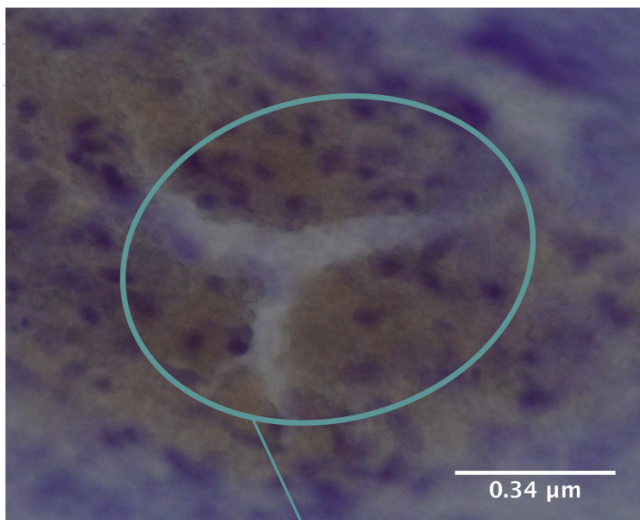
A continuació passem a observar una altra zona del teixit on encara es pot veure millor quines són les conseqüències del glioblastoma i de la necrosi en palissada sobre les cèl·lules del cervell.



Aquí podem observar una altra zona necròtica. Tota la zona marró que l'envolta és sang procedent d'un capil·lar que s'ha trencat a causa de l'acumulació de cèl·lules. Aquestes comencen a apretar-se tant que provoquen que les parets dels capil·lars es trenquin expulsant tota la sang que contenien.



Augmentant la zona tornem a trobar els espais sense cèl·lules provocats per la necrosi i les acumulacions al voltant. Per una banda hi ha massa cèl·lules en poc espai mentre que per l'altra no n'hi ha cap. Això fa que es trenquin els capil·lars i que el pacient amb glioblastoma es trobi en un estat greu de salut.

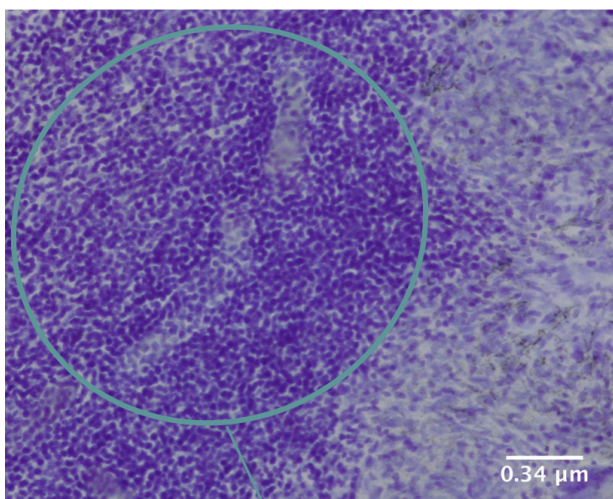


Possible capil·lar

Per acabar trobem zones necròtiques com aquestes també envoltades de sang. Tot i que no ho sabem segur, per la forma podríem dir que la imatge mostra un capil·lar. Com que el tumor ha trencat tots els altres i necessita energia per a continuar creixent necessita formar nous capil·lars. Això es produeix gràcies als factors de creixement vascular (proteïnes del tumor).

13.1.3 Teixit amb tuberculoma

Per acabar l'observació dels teixits tenyits amb tionina passem a observar el teixit amb tuberculoma.



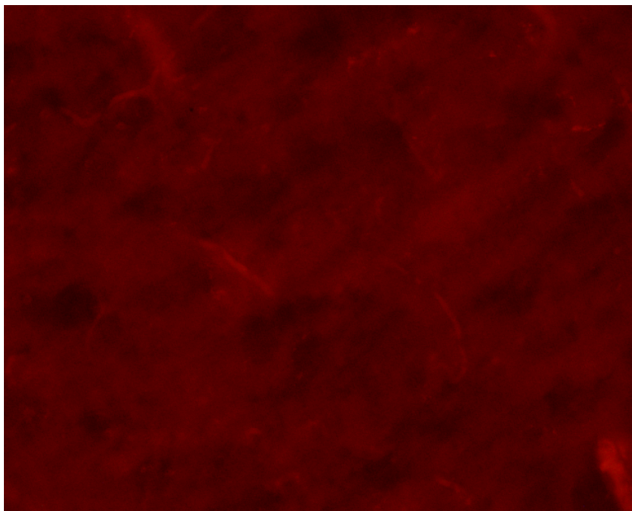
Cèl·lules del sistema immunitari

A diferència del teixit amb glioblastoma aquest teixit no presenta zones necròtiques com les abans observades, és per això que només vaig agafar una imatge d'aquest teixit.

Podem observar que el nombre de cèl·lules és molt superior al del teixit control. També podem veure que aquestes cèl·lules presenten una forma diferent a les de les neurones vistes anteriorment. Això es deu a que la tuberculosi és produïda per un bacteri i les cèl·lules de l'organisme encarregades de combatre'l són les del sistema immunitari (limfòcits).

13.2 TINCIÓ AMB ANTICOSSOS

A continuació observarem les fotografies dels teixits tenyits amb anticossos (immunofluorescència). En aquest cas les fotografies han sigut preses amb el microscopi de fluorescència. Com ja he explicat abans, aquesta tinció no permet obtenir directament imatges on es puguin veure totes les estructures del teixit i per tant haurem de fer composites amb el Fiji per a poder obtenir-les.

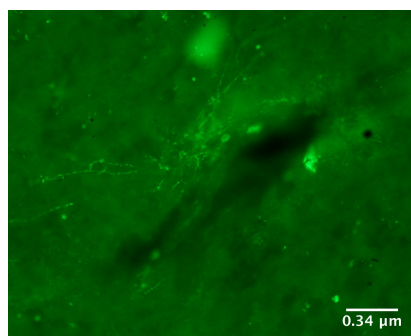
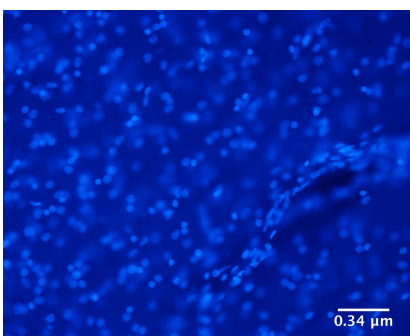


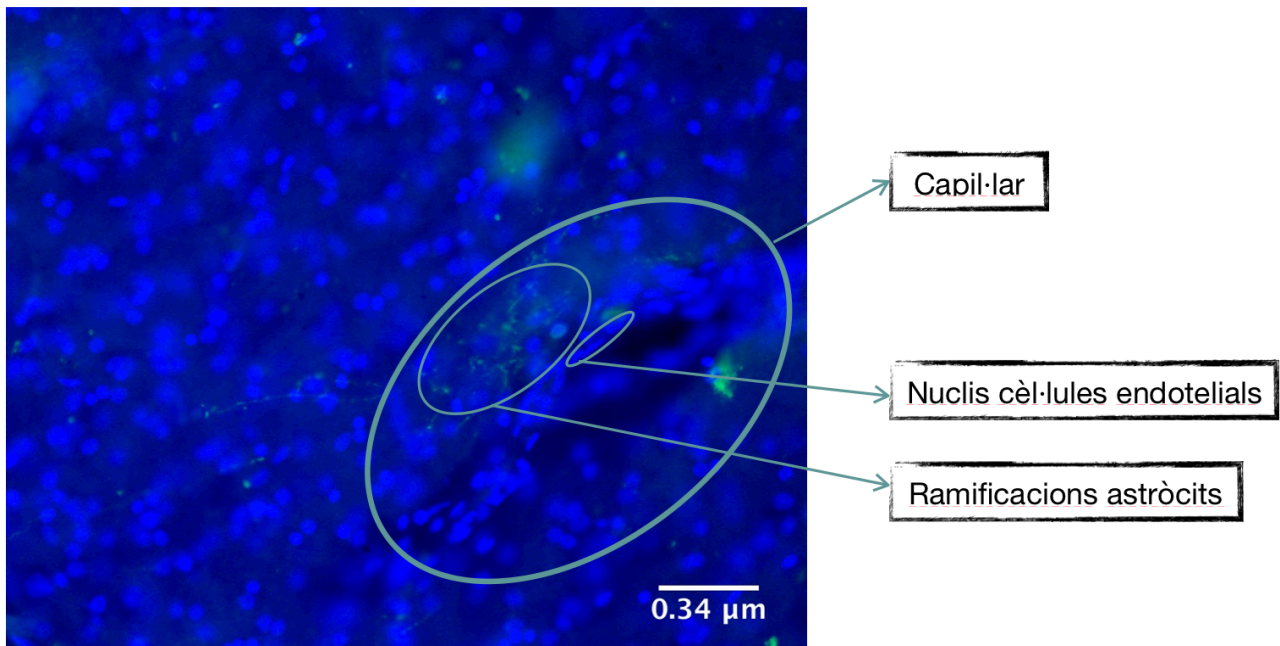
Per desgràcia hi ha hagut un error en la tinció. En vermell s'haurien de poder veure les neurones però com mostra la imatge això no és possible. Aquest error pot haver estat produït per la manca de temps (com he dit abans el procediment estava modificat per la limitació d'horari). També és possible que l'anticòs no estigués en bon estat ja que una investigadora que va utilitzar el mateix tampoc va poder fer la seva observació. Per tant en els composites només podrem observar astròcits i nuclis.

13.2.1 Teixit control (sa)

Com hem fet a l'apartat anterior, començarem l'observació amb el teixit control. Per a cada part del teixit faré un composite i també indicaré a partir de quines imatges l'he fet.

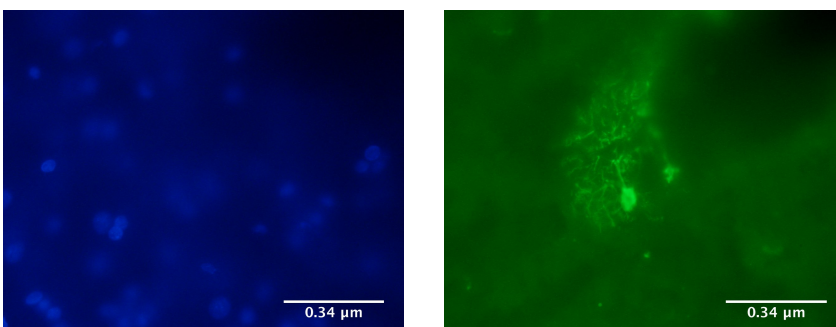
COMPOSITE 1:



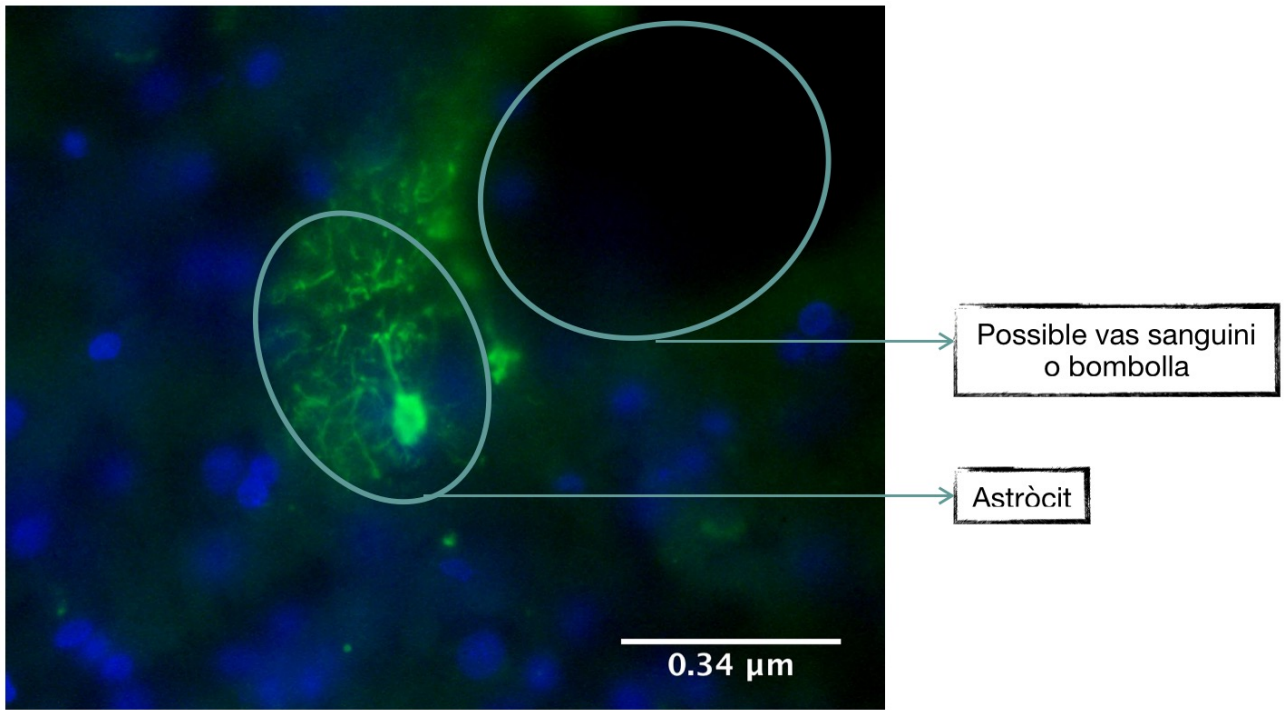


Aquesta imatge mostra un capil·lar envoltat d'astròcits. En blau podem tornar a comprovar que les parets del capil·lar estan recobertes de cèl·lules endotelials ja que podem veure el seus nuclis allargats. En verd veiem les ramificacions dels astròcits. Per tant podem confirmar que els capil·lars cerebrals estan envoltats d'astròcits.

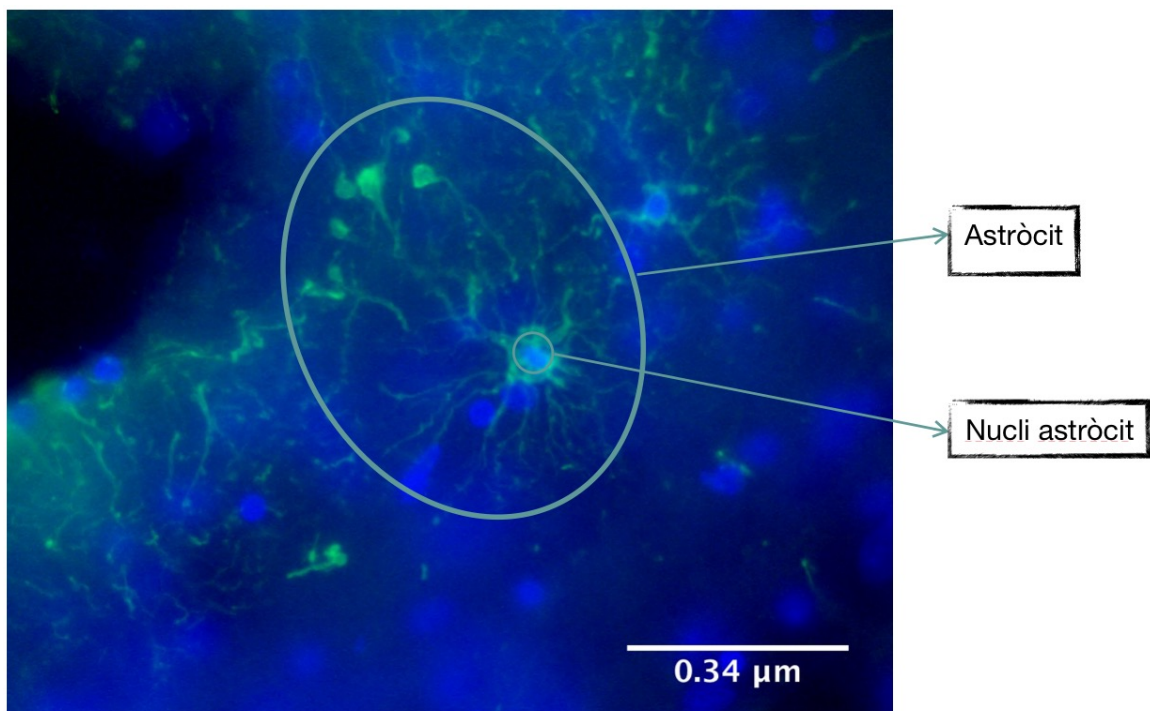
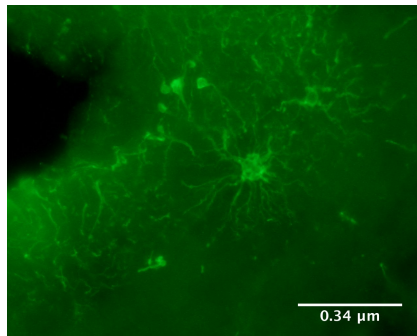
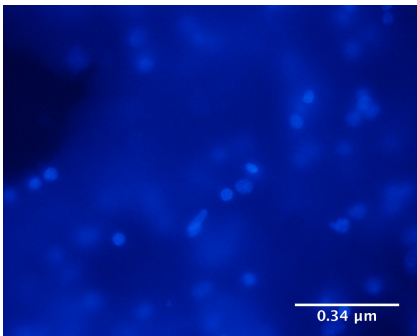
COMPOSITE 2:



A més augments ja podem distingir la forma característica dels astròcits i les seves ramificacions. També podem veure que el nucli de l'astròcit es veu tenyit de blau pel DAPI. A la part superior dreta de la imatge trobem una zona on no hi ha cap cèl·lula. Veient que està envoltada d'astròcits suposarem que és un vas sanguini, tot i que també podria ser una bombolla d'aire. Els altres nuclis tenyits poden ser més astròcits que no han pogut ser fotografiats o neurones que no han pogut ser tenyides.



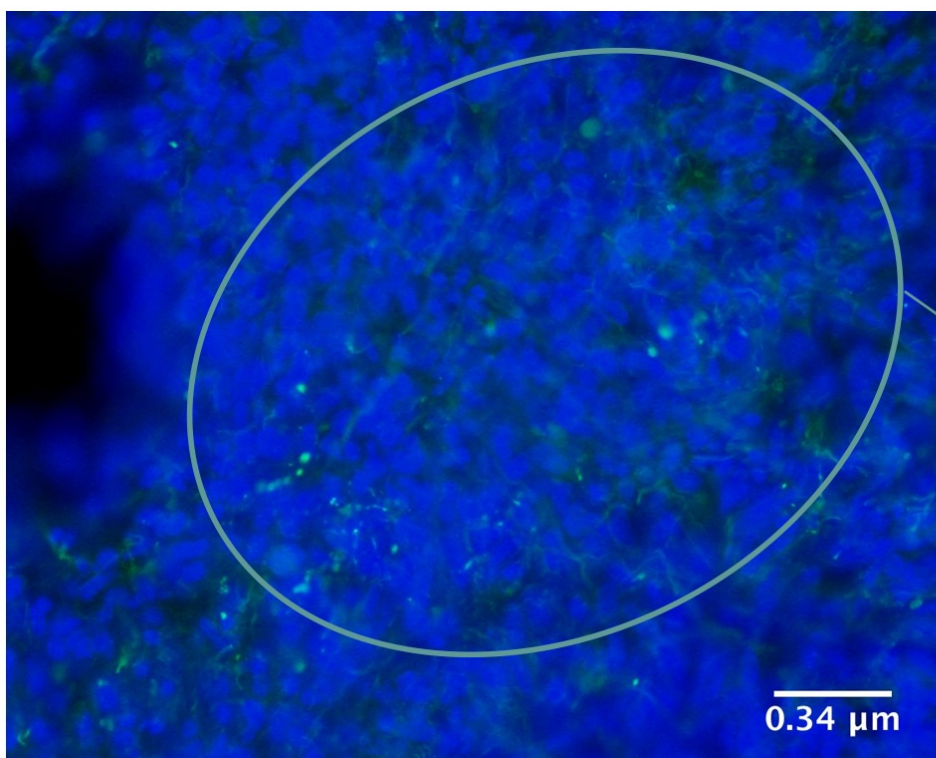
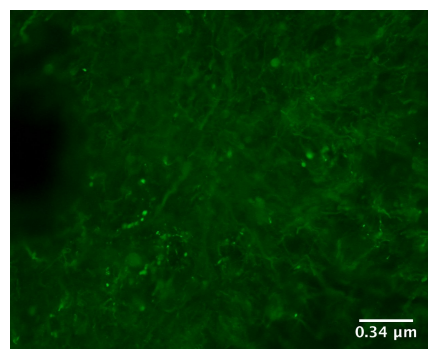
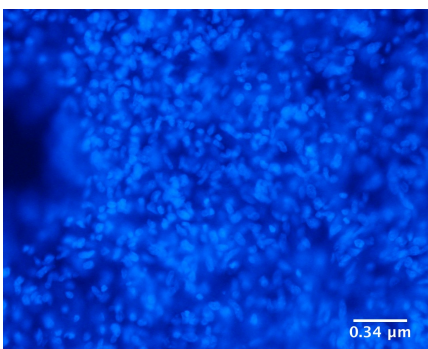
COMPOSITE 3:



En aquest últim composite del teixit control tornem a observar un astròcit i el seu nucli. En aquest cas podem veure amb més claredat el gran nombre de ramificacions que aquest té i com s'ajunten a les parets del capil·lar per a obtenir l'energia necessària. Si la tinció de les neurones hagués funcionat potser hauríem pogut observar com aquestes ramificacions acabaven ajuntant-se a una neurona. D'aquesta manera també hauríem pogut confirmar el que deia la teoria sobre els astròcits com a font d'energia per a les neurones.

13.2.2 Teixit amb glioblastoma

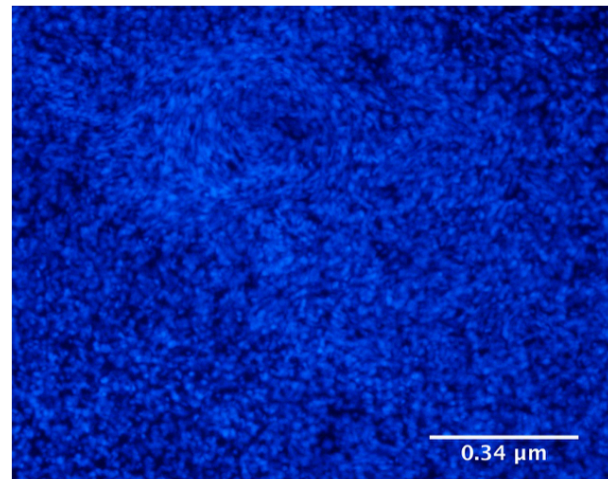
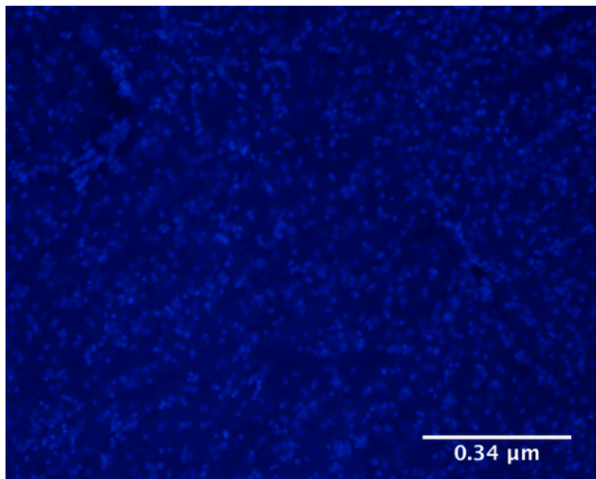
Ara que ja hem observat el teixit control passem a observar el teixit amb glioblastoma. En teoria esperem observar unes diferències molt semblants a les observades als teixits tenyits amb tionina.



Alta concentració
d'astròcits i de
ramificacions

20X

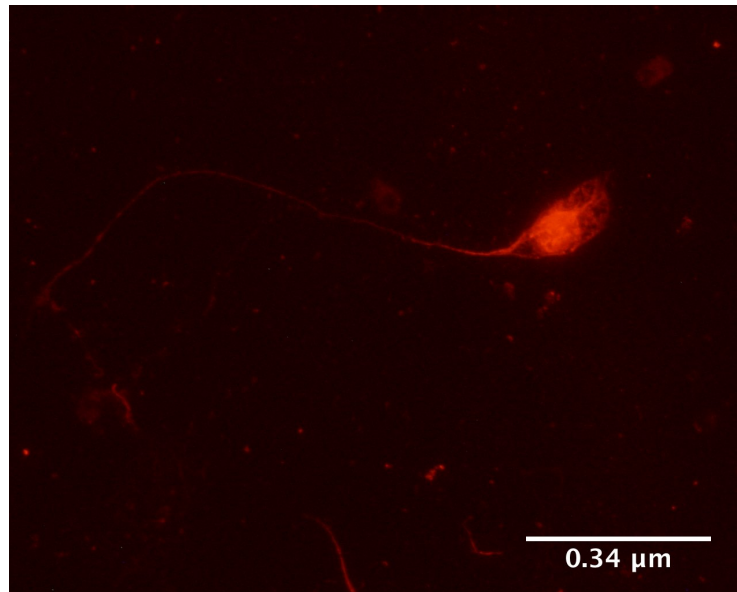
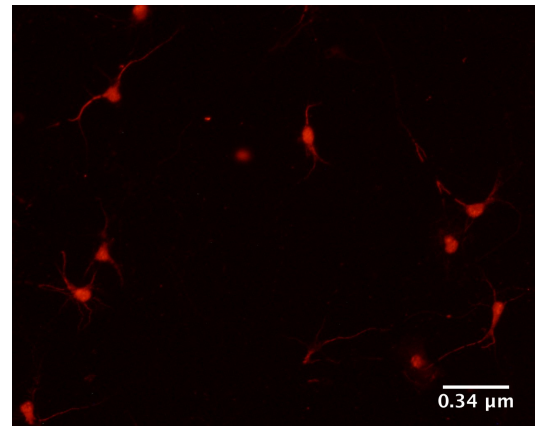
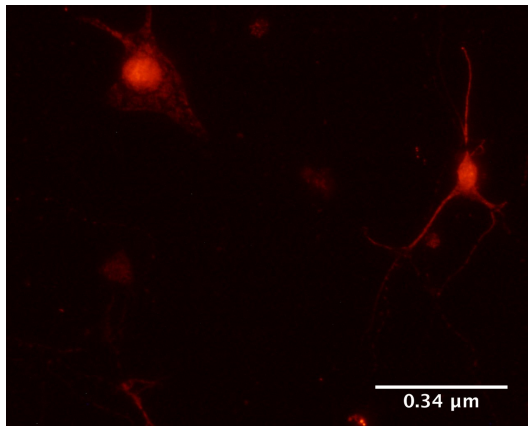
Només amb un composite del teixit ja podem veure que les diferències són molt grans. Com vam observar amb la tinció de tionina el nombre de cèl·lules del teixit amb glioblastoma és molt més gran que el del teixit sa. A diferència de l'altre glioblastoma observat, en aquest podem veure clarament que es tracta d'un astrocitoma. Aquest tipus de tumor té la peculiaritat de que les cèl·lules que es divideixen amb molta freqüència són els astròcits.



En aquestes dues imatges podem veure millor la diferència. La imatge de l'esquerra és del teixit control mentre que la de la dreta és la del glioblastoma. En aquesta podem observar clarament com la quantitat de cèl·lules és molt major que en l'altra.

13.2.3 Cultiu rata

Per a poder acabar d'arrodonir la nostra observació el professor ens va oferir la possibilitat d'observar neurones d'un cultiu de rata. Aquestes havien estat tenyides amb l'anticòs que detecta la proteïna MAP2. D'aquesta manera també vam poder obtenir les fotografies que ens faltaven.

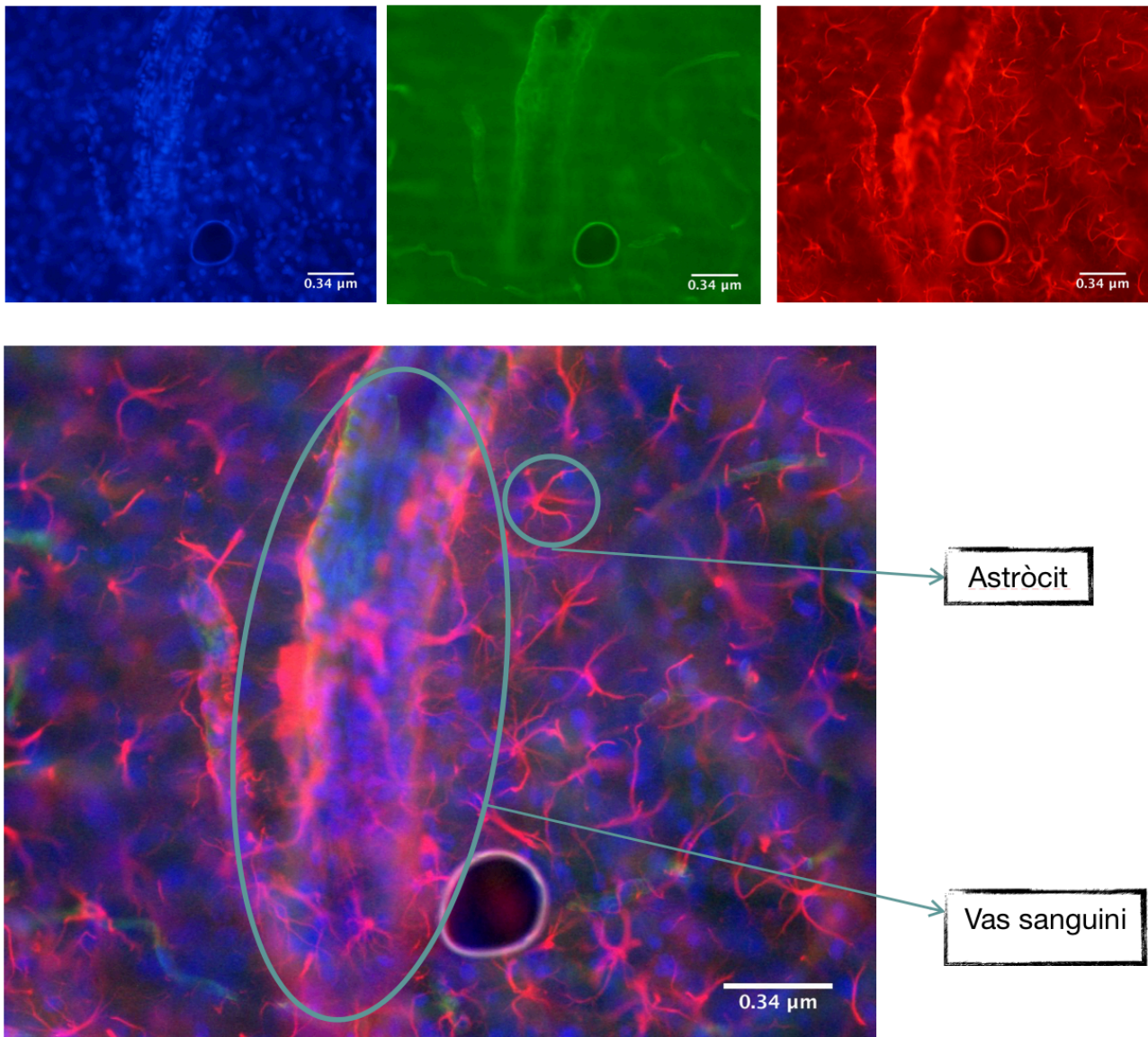


Gràcies a l'observació d'aquest cultiu podem comprovar que no totes les neurones tenen la mateixa forma. Totes presenten moltes ramificacions procedents del seu cos neuronal i són de mides diferents. Fins i tot en la primera imatge (20X) podem veure com algunes d'elles s'uneixen gràcies a aquestes ramificacions.

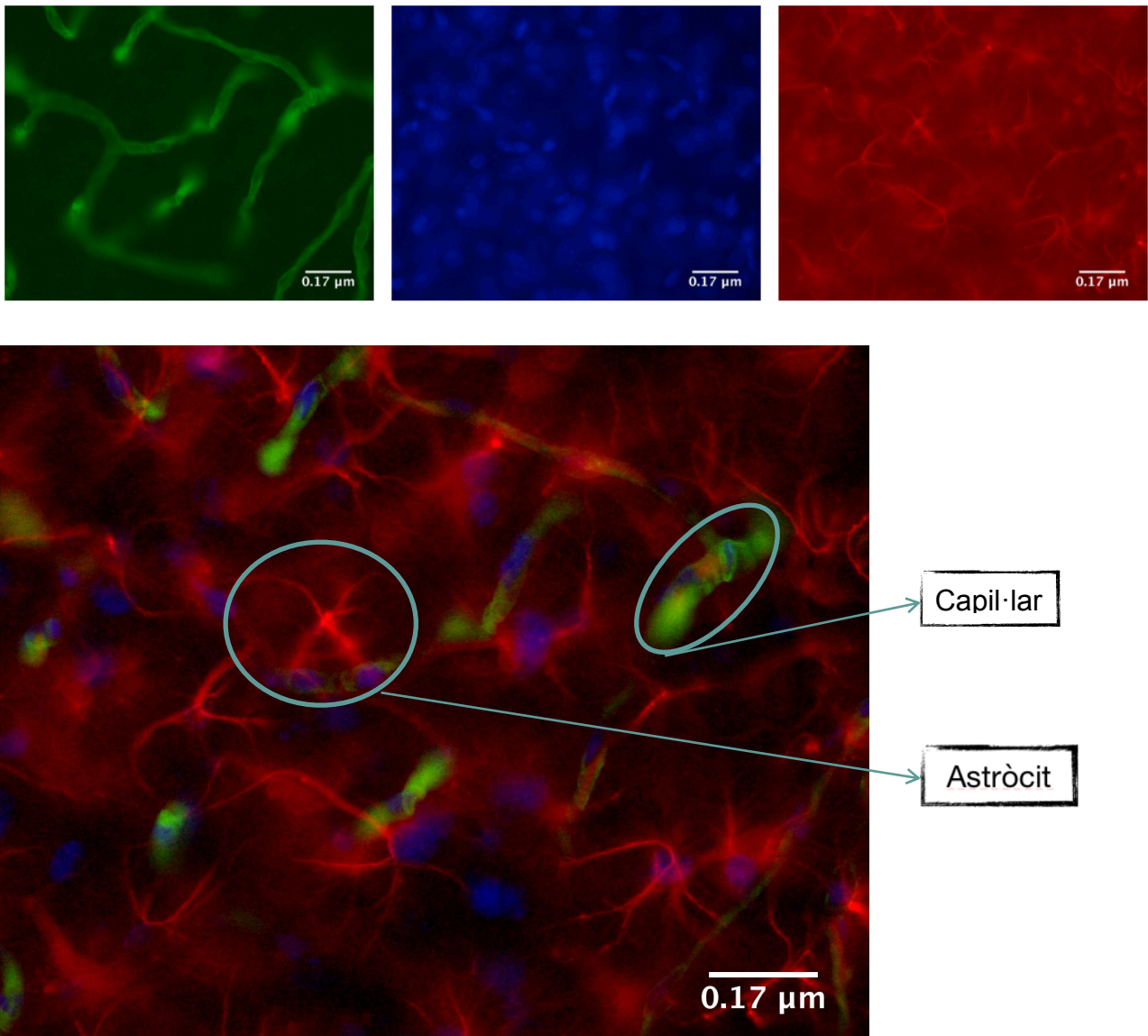
La neurona de la imatge de sota m'ha sorprès molt. Primer per la seva mida, que és molt més gran que per exemple el de les neurones de la segona imatge, però sobretot per la seva forma. I és que sembla molt més un espermatozoide que una neurona.

13.2.4 Teixit rata

Ja que els teixits cerebrals no oferien la possibilitat de crear composites (ja que la tinció de les neurones no va funcionar i no vam poder fer composites amb el color vermell), el professor ens va proposar observar un teixit de rata on sí era possible fer els composites amb els tres colors a la vegada. Són els següents:

COMPOSITE 1:

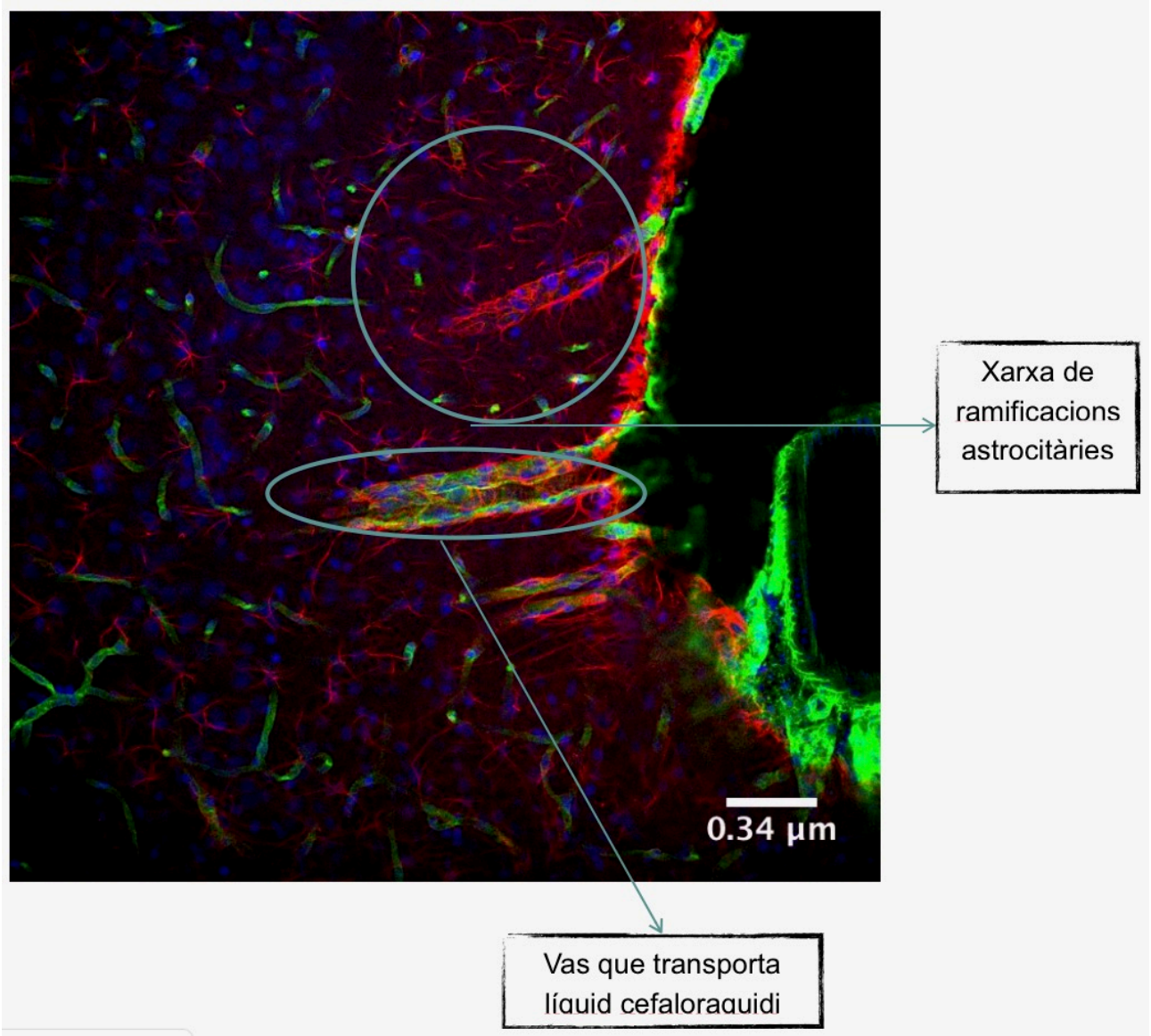
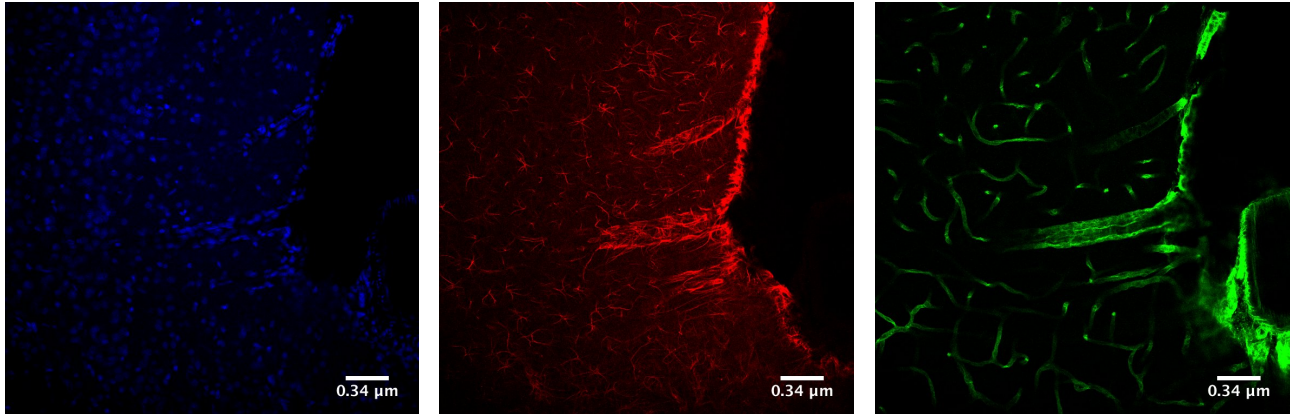
Aquest composite és una mica diferent als anteriors. En els altres havíem tenyit amb anticossos els astròcits i les neurones i amb DAPI els nuclis. En aquest cas el DAPI segueix tenyint els nuclis però ara en verd observem vasos sanguinis tenyits amb col·lagen IV i en vermell astròcits, que també han estat tenyits amb anticossos. Gràcies a aquest composite podem veure com les ramificacions dels astròcits s'uneixen als vasos i formen una xarxa de cèl·lules al seu voltant. Amb la tinció del DAPI també podem tornar a observar com el nucli de les cèl·lules endotelials és molt més allargat que el de les neurones o els astròcits, degut a la forma també allargada d'aquestes que han de recobrir les parets dels vasos. Per desgràcia en aquesta zona del teixit ha quedat una bombolla a la part central inferior, tot i que no dificulta l'observació.

COMPOSITE 2:

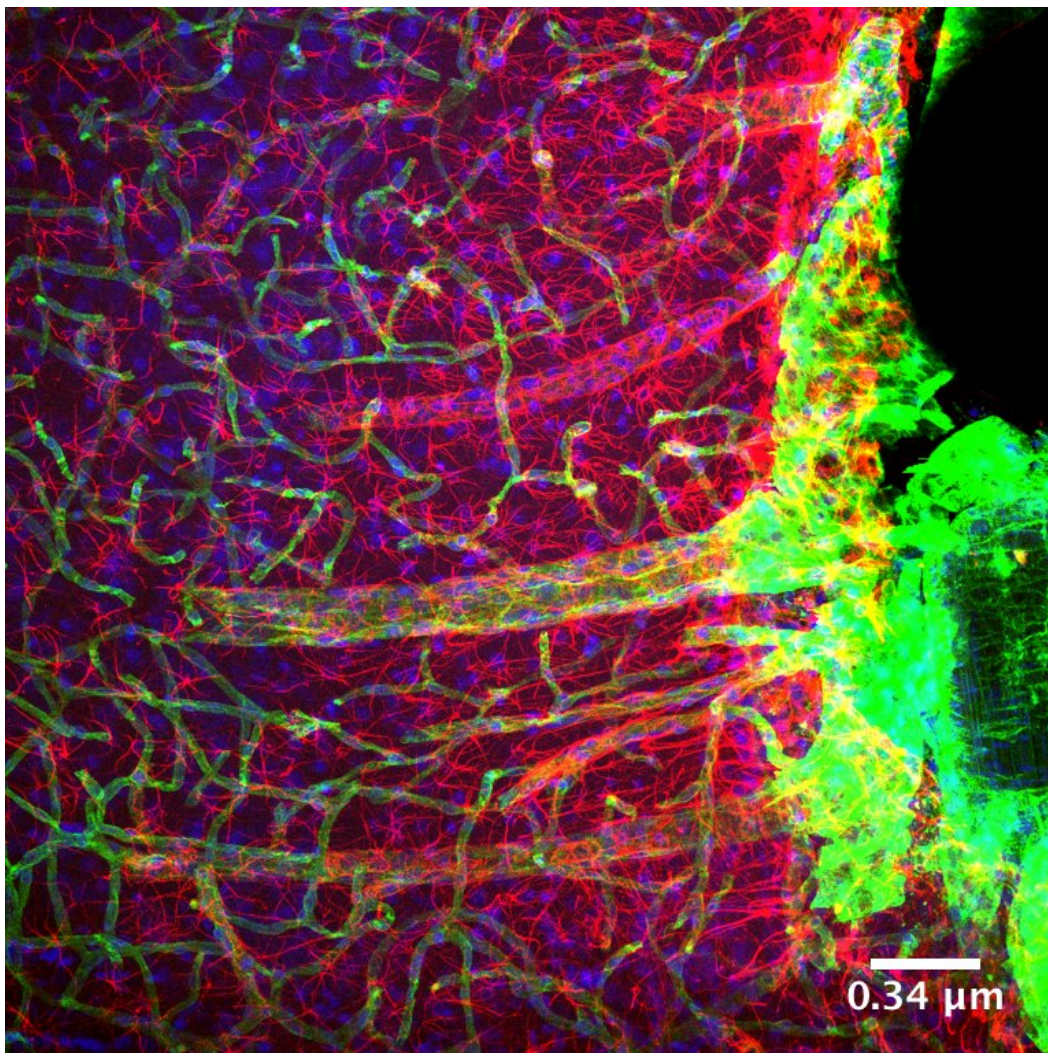
En aquest segon composite a més augments ja podem distingir millor la forma característica dels astròcits, cosa que a l'anterior era més difícil donat el seu tamany (més petit que el de les neurones). Abans també observàvem que en aquella part del teixit hi havia un vas sanguini molt més gruixut i per tant amb més volum de sang que els capil·lars que trobem en aquesta part del teixit. Aquesta és segurament la causa de que en aquest composite la presència d'astròcits sigui més baixa que a l'anterior. Aquestes cèl·lules s'encarreguen d'aportar energia a les neurones i per tant és lògic que es concentrin en les zones on és més probable captar aquesta energia. Si es concentrassin al voltant d'un capil·lar petit no aconseguirien l'energia necessària, fet que seria perjudicial per al funcionament del cervell i l'organisme en general.

13.2.5 Microscopi confocal

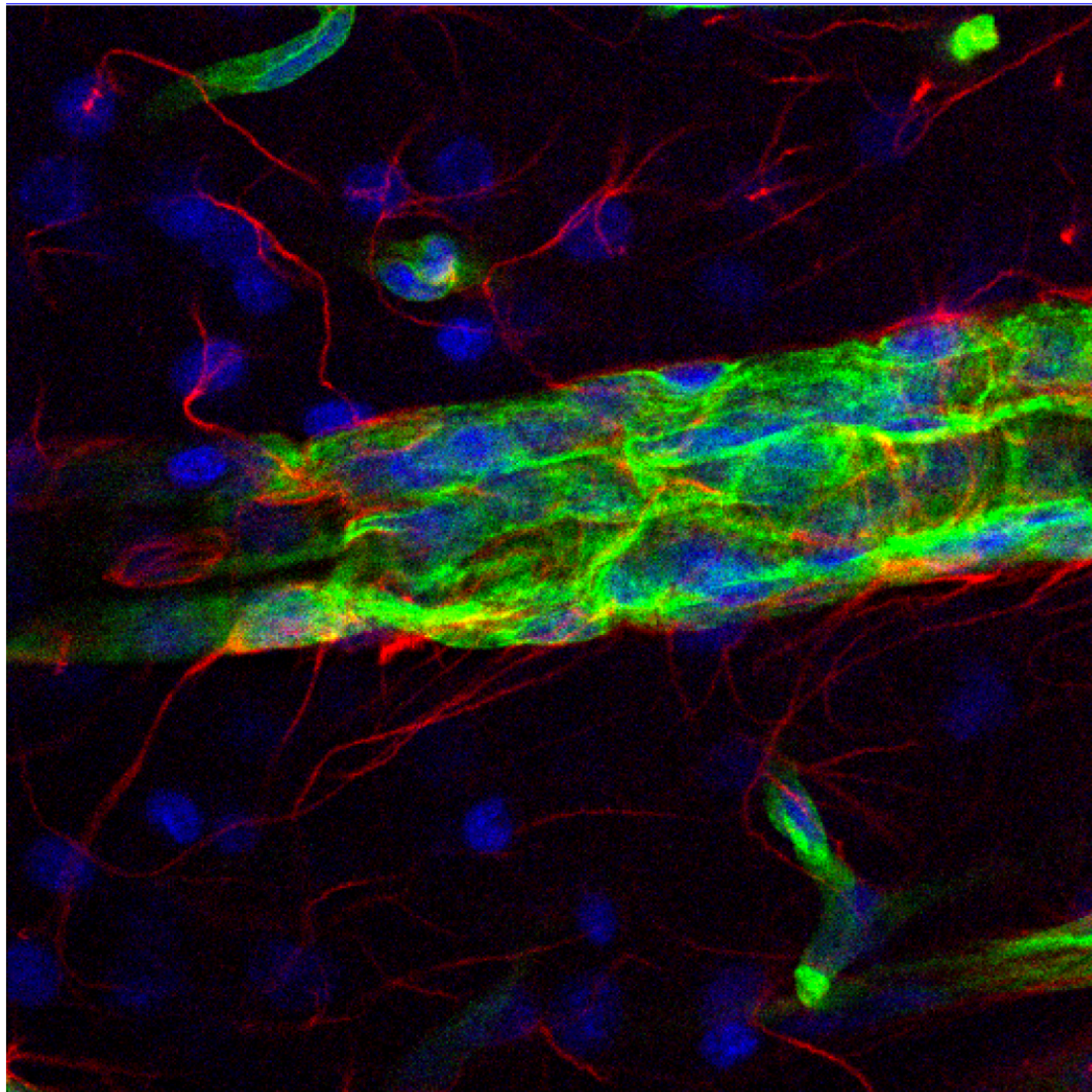
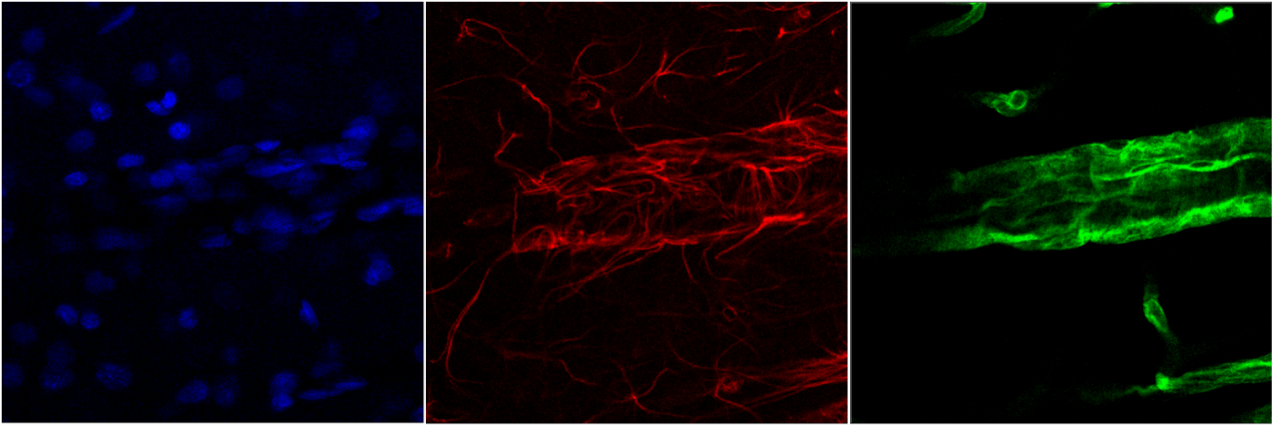
Per acabar d'arrodonir la jornada al servei de microscòpia vam tenir la sort de poder utilitzar el microscopi confocal. Gràcies a això vam poder obtenir les següents imatges de teixit de rata, de molta més qualitat que les anteriors.



Aquest composite representa la superposició de les tres imatges d'un mateix pla del teixit. Aquí observem una part del cervell que encara no havíem vist, vasos que transporten líquid cefaloraquidi. Aquest líquid omple totes les cavitats buides de l'encèfal i s'encarrega de protegir, nodrir els òrgans i eliminar-ne substàncies. Gràcies a vasos com els que s'observen en aquesta imatge el líquid cefaloraquidi s'infiltra al cervell. Com porta substàncies necessàries per al funcionament de les neurones els astròcits es troben units a les seves parets. Gràcies a la qualitat de la imatge podem observar de forma més clara que abans la llarga xarxa que formen els astròcits per al transport d'aquestes substàncies fins a les neurones.



Aquest altre composite mostra la mateixa part de teixit que l'anterior. Com podem veure la quantitat de nuclis, vasos i astròcits és molt més gran que abans, això és perquè aquesta imatge mostra tots els plans del teixit fotografiats. Ara podem veure tots els vasos i el recorregut que fan a través del teixit, cosa que és impossible amb un microscopi de fluorescència normal com el d'abans.



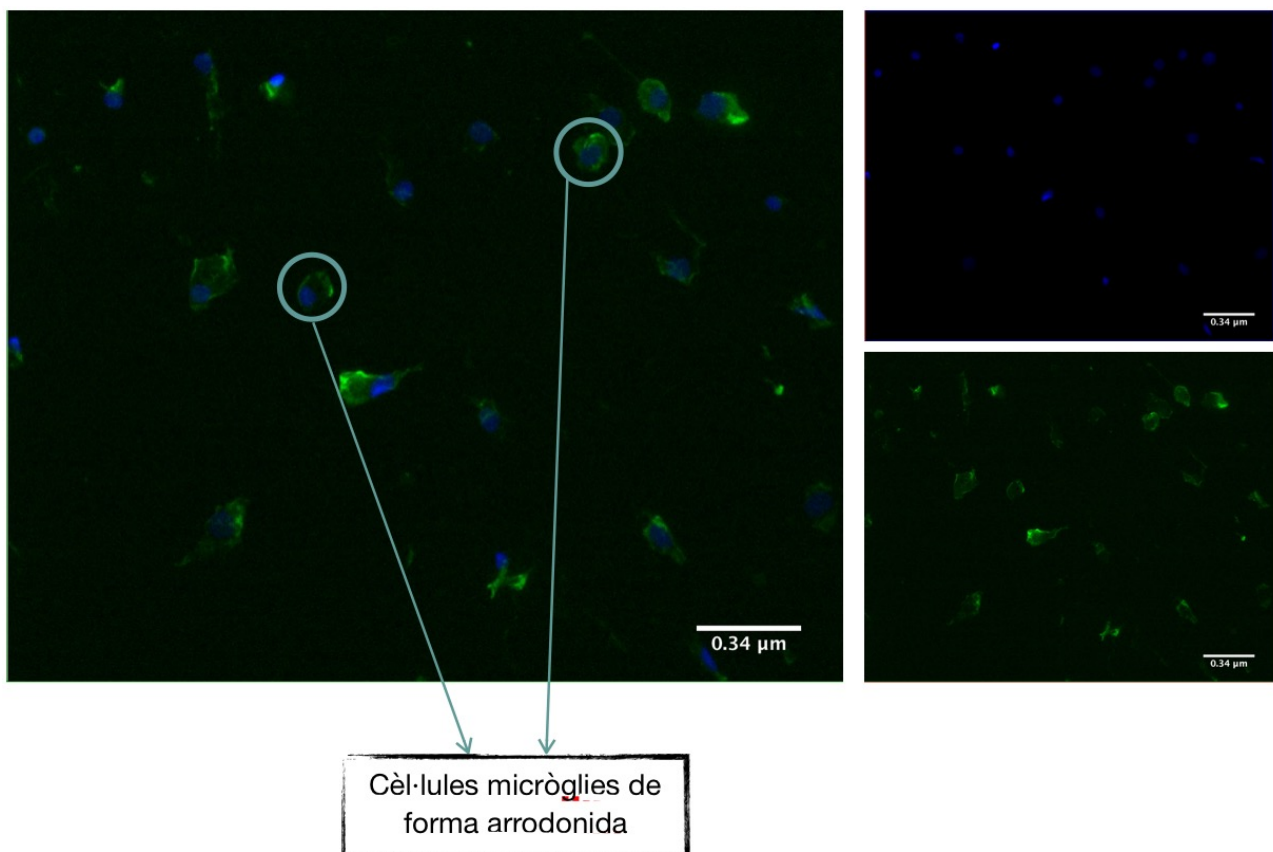
Una de les altres eines que ofereix el microscopi és la possibilitat d'augmentar les imatges del teixit sense modificar els augments. Si aquest teixit hagués estat fotografiat amb el microscopi òptic, per a poder observar el capil·lar de la imatge haguéssim hagut de fer servir més augments. En aquest microscopi, en canvi, això no és necessari perquè pot fer-se mitjançant un programa informàtic. Això és útil per a detectar anomalies en un teixit que poden derivar en alguna malaltia.

13.3 CULTIU CÈL·LULES MICRÒGLIES

Per acabar amb l'observació falta encara veure al microscopi el cultiu de cèl·lules micròglies que havíem tenyit. Recordo que havíem deixat algunes sense cap tipus de tractament (control) mentre que altres havien estat tractades amb enzims. Per falta de temps, ja que aquesta observació es va dur a terme l'últim dia de l'estada, el número de fotografies és limitat però suficient per a comprovar la validesa de la hipòtesi. En aquest cas les fotografies han estat preses amb el microscopi invertit utilitzant la funció de microscopi de fluorescència.

13.3.1 Grup control

Com ja hem fet amb els altres teixits, començarem l'observació pel grup control, és a dir el grup que no ha estat tractat amb enzim.

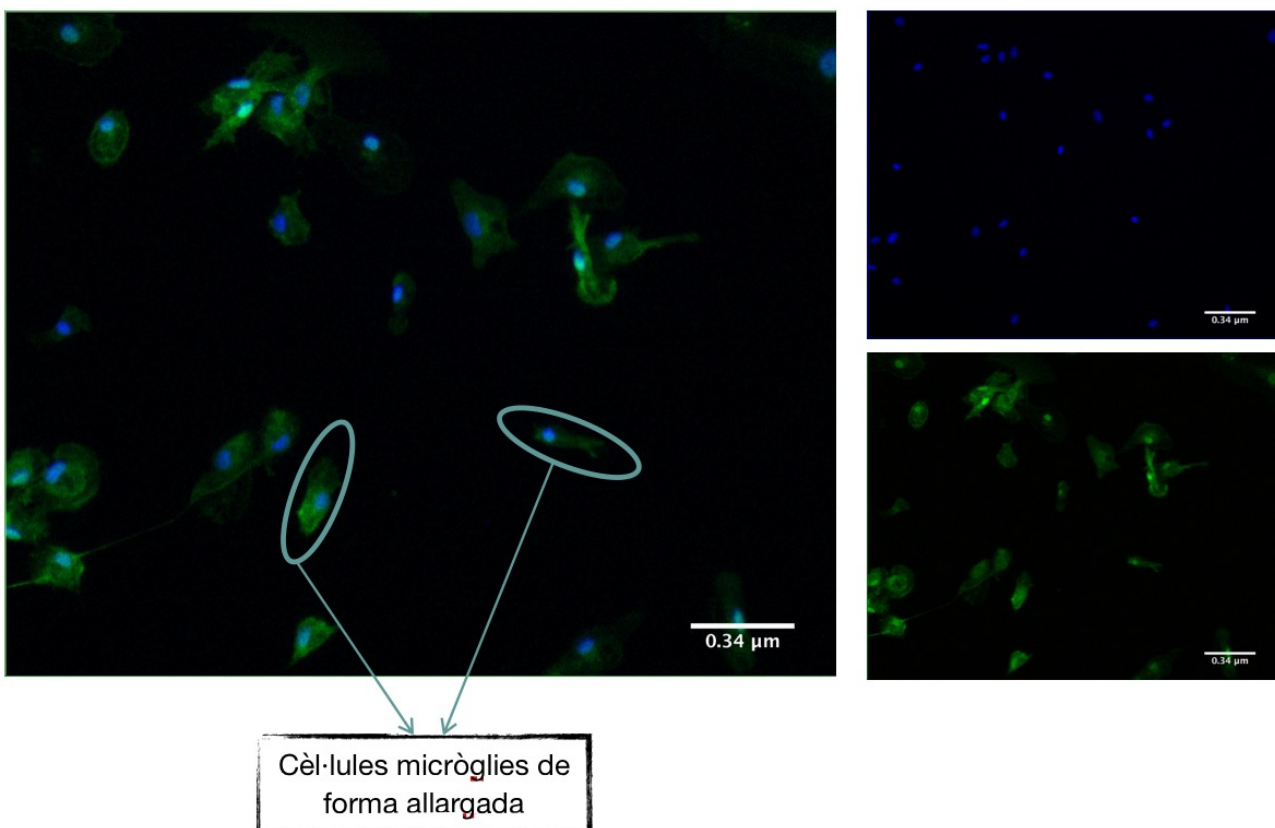


En aquest composite observem com la forma de les cèl·lules micròglies és arrodonida i que la major part del seu citoplasma està ocupada pel nucli. Però el que realment estem observant en aquestes imatges és la tinció amb anticossos que actuen sobre la proteïna Iba1. Quan aquesta proteïna es troba inactiva, és a dir que no és necessari que les cèl·lules facin la seva funció, es concentra al nucli i per això quan les tenyim sembla que siguin de forma arrodonida.

Per tant només observant el grup control no podem assegurar quina és la forma de les cèl·lules micròglies, només podem assegurar que si no són estimulades per alguna substància no s'activen i no duen a terme la seva funció. I que quan això passa la proteïna Iba1 es concentra al nucli cel·lular.

13.3.2 Grup tractat amb enzim

Per acabar l'observació passem a analitzar el grup tractat amb enzim per a comparar les diferències amb el grup control.



Com podem observar en aquest composite la forma de les cèl·lules micròglies ja no és la mateixa que abans. Ara el nucli ocupa una posició més o menys centrada al citoplasma, que presenta una forma més allargada ja que les proteïnes s'hi han traslladat des del nucli. El cas de les cèl·lules micròglies és semblant al de les neurones abans observades, no totes tenen ni la mateixa forma ni la mateixa mida. Si abans havíem afirmat que sense cap estimulació les cèl·lules no s'activaven ara podem afirmar que aquesta estimulació, que en aquest cas és un enzim, provoca la seva activació i la presència de la proteïna Iba1 al seu citoplasma.

14- CONCLUSIONS

Ara que ja hem fet l'observació de les mostres ja podem comprovar si la hipòtesi inicial era certa.

Recordo quina era aquesta hipòtesi:

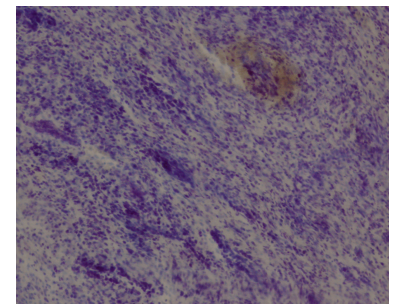
El teixit malalt (glioblastoma i tuberculoma) tindrà moltes més cèl·lules que el teixit sa i també presentarà zones necròtiques.

Pel que fa als cultius, el cultiu no tractat amb enzim tindrà menys cèl·lules que el cultiu tractat amb enzim.

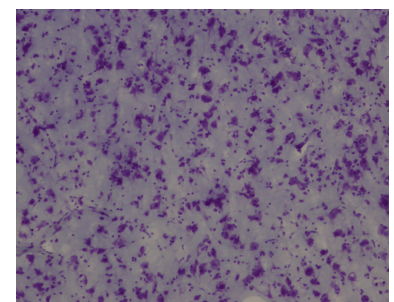
La dividim en dues parts: la hipòtesi sobre els teixits (sa i patològic) i la hipòtesi sobre els cultius (amb enzim i sense enzim).

Pel que fa als teixits hem pogut comprovar que aquesta hipòtesi era certa. Al teixit control podíem observar totes les neurones i fins i tot alguns vasos sanguinis amb les cèl·lules endotelials. Al teixit amb glioblastoma hem vist una cosa totalment diferent, el nombre de cèl·lules era molt més gran i això provocava la presència de zones necròtiques, on les cèl·lules marxaven de la zona. En aquest teixit tampoc hem pogut observar vasos sanguinis perquè la majoria estaven trencats (hem observat la sang que portaven), tot i que hem pogut veure algun creat pel propi tumor per a poder seguir amb el seu creixement. Al teixit amb tuberculoma ens hem trobat una situació semblant a la del glioblastoma, el nombre de cèl·lules era més gran que al teixit control però no presentava zones necròtiques. Tot i això encara no descarto que en uns altres teixits d'altres pacients infectats sí que hi hagi zones necròtiques degudes a l'alta quantitat de cèl·lules

a la mateixa zona del teixit (cal destacar que teníem un número de mostres limitades). La diferència entre el glioblastoma i el tuberculoma és que les cèl·lules del primer són cèl·lules gials que a causa d'una modificació es divideixen anòmalament mentre que les del segon són cèl·lules del sistema immunitari com per exemple limfòcits o macròfags que combaten el bacteri de la tuberculosi.



Teixit glioblastoma
+CÈL·LULES

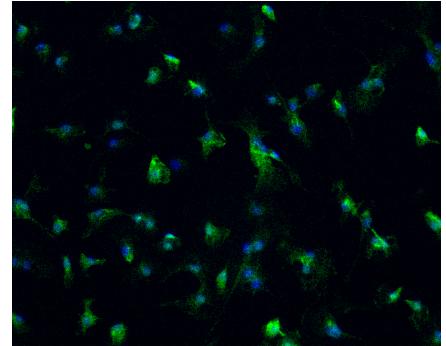


Teixit control
-CÈL·LULES

Per tant la hipòtesi sobre el teixit era vàlida i el teixit patològic té moltes més cèl·lules que el teixit sa. L'afirmació que diu que el teixit patològic presenta zones necròtiques no és tan vàlida ja que només un dels teixits patològics (el glioblastoma) en presenta.

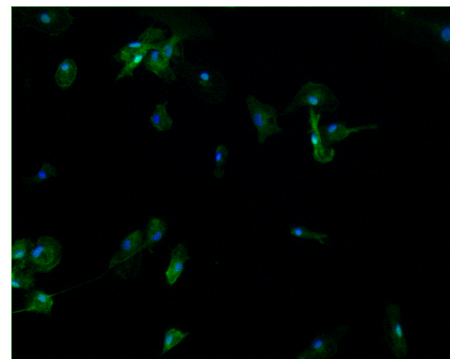
Pel que fa als cultius la hipòtesi no era certa, de fet estava mal plantejada. En comptes d'haver preguntat per la quantitat de cèl·lules hauria sigut millor preguntar-se pel nombre de cèl·lules actives. Al tractar-se d'un cultiu el nombre de cèl·lules no variarà amb o sense tractament, el que canviarà són les característiques d'aquestes cèl·lules. Al cultiu sense tractament hem observat que les cèl·lules no estaven actives i per tant la proteïna Iba1 es concentrava al nucli, de manera que semblava que les cèl·lules microglies siguessin arrodonides. En canvi, al cultiu amb tractament les cèl·lules sí que estaven actives i aquesta proteïna es trobava al citoplasma, de manera que s'observava una forma més allargada.

Per tant una hipòtesi correcta sobre els cultius hagués estat la següent i no la formulada anteriorment: potser el cultiu sense enzims (control) no té les cèl·lules actives mentre que el cultiu amb enzim sí que les té.



Cultiu control

CÈL·LULES INACTIVES



Cultiu amb enzim

CÈL·LULES ACTIVES



Porta d'accès als laboratoris de la Facultat de Medicina de la UAB, on he dut a terme l'estada.

Fotografia feta per l'autora.

Els objectius inicials donats pels professors de l'estada s'han pogut complir, amb l'excepció abans comentada de la tinció amb anticossos de les neurones que per alguna raó "incontrolable" no va sortir bé. Els objectius marcats per mi també els he pogut complir, he après molt tant teòricament com pràcticament d'aquesta experiència i sense cap dubte

la tornaria a repetir. A més també m'ha ajudat molt a aclarir el meu futur i m'ha fet plantejar algunes idees que fins ara no m'havia plantejat mai.

15- BIBLIOGRAFIA

A continuació hi ha el llistat de totes les pàgines web, blogs, llibres i documents que vaig consultar a l'hora de fer aquest treball:

- (1) AECC (Asociación Española Contra el Cáncer). *Anatomía del sistema nervioso central* [pàgina web]. [Última revisió: 29 d'abril de 2011]. Disponible a: <https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/Sistemanerviosocentral/Paginas/Anatomia.aspx>
- (2) Instituto de Educación Secundaria Ramón Pignatelli. *Sistema nerviosos central* [pàgina web]. Disponible a: http://agrega.educacion.es/repositorio/14062013/46/es_2013061412_9103939/SistemaNervioso/sistema_nervioso_central.html
- (3) CogniFit. *Las neuronas* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.cognifit.com/es/neuronas>
- (4) Definición ABC. *Sistema nerviosos autónomo* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.definicionabc.com/salud/sistema-nervioso-autonomo.php>
- (5) Wikipedia. *Potencial de acción* [pàgina web]. Disponible a: https://es.wikipedia.org/wiki/Potencial_de_acción
- (6) Instituto Químico Biológico (IQB). *Diccionario: Cuerpos de Nissl* [pàgina web]. Disponible a: http://www.iqb.es/diccio/c/cuerpo.htm#cuerpos_de_nissl
- (7) Instituto de Educación Secundaria Ramón Pignatelli. *La glía* [pàgina web]. Disponible a : http://agrega.educacion.es/repositorio/14062013/46/es_2013061412_9103939/SistemaNervioso/la_glia.html
- (8) Viquipèdia. *Micròglia* [pàgina web]. Disponible a: <https://ca.wikipedia.org/wiki/Micròglia>

- (9) Cassany, Toni. *6-Teixit nerviós* [pàgina web]. Geocities. Disponible a : http://www.geocities.ws/biohumana2002/biohumana_205.html
- (10) Viquipèdia. *Barrera hematoencefàlica* [pàgina web]. Disponible a: https://ca.wikipedia.org/wiki/Barrera_hematoencefàlica
- (11) Termcat. *Diccionari d'immunologia* [pàgina web]. Disponible a: http://www.termcat.cat/es/Diccionaris_En_Linia/189/Cerca/
- (12) Wikimedia commons. *File: antibody* [pàgina web]. Disponible a: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:201603_antibody.png
- (13) Belsa Hernández, Magda et al. *Biologia batxillerat 1*. 1a ed. Barcelona: Grup Promotor/Santillana Educación, 2016. 302 p. ISBN: 978-84-9047-672-7.
- (14) Belsa Hernández, Magda et al. *Biologia batxillerat 2*. 1a ed. Barcelona: Grup Promotor/Santillana Educación, 2016. 327 p. ISBN: 978-84-9047-037-4.
- (15) Termcat. *Terminologia de ciències de la salut* [pàgina web]. Disponible a : http://www.termcat.cat/en/Diccionaris_En_Linia/198
- (16) Viquipèdia. *Sistema immunitari* [pàgina web]. Disponible a: https://ca.wikipedia.org/wiki/Sistema_immunitari
- (17) ICO (Institut Català d'Oncologia). *Conèixer el càncer* [pàgina web]. [Última revisió: 25 d'octubre del 2011]. Disponible a: http://ico.gencat.cat/ca/el-cancer/coneixer_el_cancer/
- (18) Clínica Universidad de Navarra. *Saber más sobre el glioblastoma multiforme* [pàgina web]. Disponible a: <http://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/enfermedades/glioblastoma-multiforme>
- (19) CDC (Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades). *Tuberculosis-TB* [pàgina web]. [Última revisió: 13 de maig del 2016]. Disponible a: <https://www.cdc.gov/tb/esp/>

- (20) Medicina TV. *Tuberculoma cerebral* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.medicinatv.com/enfermedades/tuberculoma-cerebral>
- (21) IEC (Institut d'Estudis Catalans). *Diccionari de les ciències ambientals* [pàgina web]. Disponible a: <http://cit.iec.cat/DCA/default.asp?opcio=0>
- (22) Hospital Universitari Dexeus. *Anatomia patològica* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.quironsalud.es/dexeus-barcelona/ca/cartera-de-serveis/anatomia-patologica>
- (23) Ribera, Joan. *Què és la immunofluorescència* [pàgina web]. El web de la cèl·lula. Disponible a: <http://lcelula.udl.es/aprendre/casos/biocell/tec/immun.htm>
- (24) Viquipèdia. *Cos de Nissl* [pàgina web]. Disponible a: https://ca.wikipedia.org/wiki/Cos_de_Nissl
- (25) Progen shop. *Antibodies* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.progen.com/products/antibodies.html>
- (26) Sepmag. *Blog* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.sepmag.eu/blog/bid/335320/Three-Antibody-Choices-for-Chemiluminescent-Immunoassays>
- (27) GitHub. *Antibody* [pàgina web]. Disponible a: <https://github.com/getantibody>
- (28) Genewiz. *Antibody discovery and immunology* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.genewiz.com/en/Public/Research-Areas/Antibody-Discovery-Immunology>
- (29) Viquipèdia. *Interferó* [pàgina web]. Disponible a: <https://ca.wikipedia.org/wiki/Interferó>
- (30) Wikipedia. *Lypopolysaccharide* [pàgina web]. Disponible a: <https://en.wikipedia.org/wiki/Lipopolysaccharide>

- (31) Viquipèdia. *Microscopi confocal* [pàgina web]. Disponible a: https://ca.wikipedia.org/wiki/Microscopi_confocal
- (32) Bionews Texas. *FDA Grants \$1.6 Million to CTSC Study on Glioblastoma Treatment* [article digital]. Publicat el 7/10/2014. Disponible a: <https://bionews-tx.com/news/2014/10/07/ctsc-study-on-glioblastoma-treatment/>
- (33) Physiopedia. *Glioblastoma Multiforme* [pàgina web]. Disponible a: https://www.physio-pedia.com/Glioblastoma_Multiforme
- (34) Universitats i Recerca. *La primera vacuna terapèutica contra la tuberculosi, a la cerca de socis per comercialitzar-la* [article digital]. Publicat el 21/04/2015. Disponible a: <http://universitatsirecerca.gencat.cat/ca/detalls/noticia/La-primeravacuna-terapeutica-contra-la-tuberculosi-a-la-cerca-de-socis-per-comercialitzar-la>
- (35) DeFelipe, Javier; Viosca, José. *El cerebro*. Barcelona: RBA Coleccionables (National Geographic), 2017. 143p. ISBN: 978-84-473-9072-4.
- (36) Roberts, Alice. *El gran libro del cuerpo humano*. 2a ed. Londres: Dorling Kindersley/Penguin Random House, 2010. 528p. ISBN: 978-0-2413-3196-5.
- (37) Veslab. *Blouse blanche pour homme* [pàgina web]. Disponible a: <http://www.veslab.com/fr/blouses/2049-blousse-homme.html>
- (38) Más que vinilo. *Bambas ii* [pàgina web]. Disponible a: <http://masquevinilo.com/vinilos-decorativos-urbanos/754-vinilo-decorativo-bambas-ii.html>
- (39) Aliexpress. *Gloves laboratory* [pàgina web]. Disponible a: <https://es.aliexpress.com/w/wholesale-gloves-laboratory/2.html>
- (40) Albasblog. Pràctica 2: *Determinación de densidades en líquido y sólido* [pàgina web]. Disponible a: <https://albasblogblog.wordpress.com/2017/01/10/practica-2-determinacion-de-densidades-en-liquido-y-solido/>

- (41) Cultura científica. *Método científico y mediciones* [pàgina web]. Disponible a: <http://grupo2cultcien.blogspot.com.es>
- (42) Bio-equip. *Pipetman Micro-Volume Kit* [pàgina web]. Disponible a: <http://www.bio-equip.com/show1equip.asp?equipid=29490>
- (43) Servovendi. *Placa de Petri en cristal borosilicato para Resina (100mm)* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.servovendi.com/es/placa-de-petri-en-cristal-borosilicato-para-resina-bho-100mm.html>
- (44) Marienfeld. *Láminas portaobjetos* [pàgina web]. Disponible a: <http://www.marienfeld-superior.com/index.php/microscope-slides-328.html>
- (45) Utensilios de laboratorio. *Utensilios de laboratorio* [pàgina web]. Disponible a: <http://utensiliosdelab.blogspot.com.es>
- (46) CatalunyaDiari. *Per a què serveix el paper d'alumini?* [article digital]. Publicat el 30/08/2016. Disponible a: <https://catalunyadiari.com/societat/per-a-que-serveix-el-paper-dalumini>
- (47) Amazon. *Agitatore magnetico* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.amazon.it/Laboratorio-ancorette-laboratorio-Magnetic-frullatore/dp/B01FFNTCVY>
- (48) TP- Laboratorio Químico. *Termómetro* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.tplaboratorioquimico.com/laboratorio-quimico/materiales-e-instrumentos-de-un-laboratorio-quimico/termometro.html>
- (49) Equipos y Laboratorio. *Agitadores magnéticos* [pàgina web]. Disponible a: http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=2969
- (50) Optics & Binoculars. *Names of microscope parts* [pàgina web]. Disponible a: <http://binoculars.net/names-of-microscope-parts/>

- (51) Mercadolibre. *Post It Notas Tacos De Notas Auto Adhesivas Engomado* [pàgina web]. Disponible a: <https://articulo.mercadolibre.com.ve/MLV-465979674-post-it-notas-tacos-de-notas-auto-adhesivas-engomado- JM>
- (52) Microscopios Online. *Microscopio invertido* [pàgina web]. Disponible a: <https://microscopiosonline.com/microscopio-invertido/>
- (53) Universitat Autònoma de Barcelona. *Pàgina d'inici* [pàgina web]. Disponible a: <http://www.uab.cat>
- (54) Institut de Neurociències UAB. *Pàgina d'inici* [pàgina web]. Disponible a: <http://inc.uab.cat/Castellano/index.php#!/home>
- (55) Institut de Ciències de l'Educació. *Pàgina d'inici* [pàgina web]. Disponible a: <http://www.uab.cat/web/institut-de-ciencies-de-l-educacio-de-la-uab-1345711355746.html>
- (56) ARGÓ. *Pàgina d'inici* [pàgina web]. Disponible a: <http://www.uab.cat/web/programa-argo-1345714880943.html>
- (57) Wikipedia. *Phagocytosis* [pàgina web]. Disponible a: <https://en.wikipedia.org/wiki/Phagocytosis>
- (58) Learningaboutcells. *Cytoplasm* [pàgina web]. Disponible a: <https://sites.google.com/site/learningaboutcells/cytoplasm>
- (59) Wikipedia. *Cell nucleus* [pàgina web]. Disponible a: https://en.wikipedia.org/wiki/Cell_nucleus
- (60) Intef (Banco de imágenes y sonidos). *Movimiento reflejo del ser humano* [pàgina web]. Disponible a: <http://recursostic.educacion.es/bancoimagenes/web/>
- (61) Agate technology. *Signal Generator* [pàgina web]. Disponible a: <https://www.agatetechnology.com/signal-generator/>

- (62) Les malalties del cos humà. *Immunitat* [pàgina web]. Disponible a: <http://malalties.blogspot.com.es/2012/02/immunitat.html>
- (63) SlideShare. *El sistema nerviós* [pàgina web]. Disponible a: <https://es.slideshare.net/mredon6/el-sistema-nervis>
- (64) Institut Obert de Catalunya (IOC). *Instal·lacions elèctriques interiors* [pàgina web]. Disponible a: http://ioc.xtec.cat/materials/FP/Materials/0801 IEA/IEA_0801_M02/web/html/WebContent/u7/a1/continguts.html
- (65) Wikipedia. *Replicación de ADN* [pàgina web]. Disponible a: https://es.wikipedia.org/wiki/Replicación_de_ADN
- (66) Xtec. *Reticle endoplasmàtic* [pàgina web]. Disponible a: <http://www.xtec.cat/~jgurrera/rer.htm>
- (67) Wikimedia commons. *Synapse diagram picture* [pàgina web]. Disponible a: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Synapse_diagram_picture.jpg
- (68) Wikimedia commons. *Tac Craneo Hematoma Parietal* [pàgina web]. Disponible a: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Tac_Craneo_Hematoma_Parietal.jpg
- (69) Wikipedia. *Transcripción genética* [pàgina web]. Disponible a: https://es.wikipedia.org/wiki/Transcripción_genética

16- AGRAÏMENTS

Per finalitzar aquest treball m'agradaria agrair a totes aquelles persones que m'han ajudat a realitzar-lo.

Per començar m'agradaria fer una menció especial al Programa Argó. El Programa Argó, emmarcat dins de l'Institut de Ciències de l'Educació, té com a objectiu donar suport a tots aquells alumnes que fan la transició de la secundària a la universitat. Aquest programa organitza diverses activitats, tallers i també ofereix suport als alumnes de Batxillerat per a fer el seu Treball de Recerca. Jo vaig tenir la sort de ser una d'aquestes alumnes i vaig ser seleccionada per a participar en les Estades Argó. Com ja he comentat anteriorment, vaig fer la meva estada a l'Institut de Neurociències de la UAB (INc) ubicat a la facultat de Medicina, on vaig treballar amb



Logo Programa ARGÓ.
Fotografia extreta de (56).



Logo ICE.
Fotografia extreta de (55).



Logo Inc.
Fotografia extreta de (54).

el grup de recerca encapçalat per l'investigador Carlos Barcia. Al mateix laboratori també hi treballaven alumnes de màster o doctorat com la Paola, l'Elena i la Meritxell que també em van ajudar durant l'estada. Tots ells es van encarregar d'ajudar-me en les tasques de laboratori en les quals m'he basat per a fer aquest

treball. Gràcies a les seves explicacions tan clares i al seu gran entusiasme vaig poder veure com és treballar en un laboratori universitari.

A més d'aquest treball al laboratori durant el Programa Argó també vaig assistir a xerrades sobre la universitat que em van semblar molt interessants i útils. De fet gràcies a elles he pogut conèixer una mica més la UAB, on tot i haver-hi estat uns quants cops mai m'havia plantejat



Logo UAB.
Fotografia extreta de (53).

estudiar.

També vull fer un especial agraïment a la meva companya d'estada Irina Gallardo. Ella em va acompanyar durant totes les setmanes i vam realitzar juntes totes les tasques de laboratori, per tant totes les fotografies que he inclòs en aquest treball van ser preses per les dues. Amb ella vaig realitzar una presentació a l'auditori del Rectorat davant de tots els alumnes que participaven al programa, cosa que em va servir per a acabar de tenir clar com havia de ser el meu treball de recerca i la posterior exposició.



Jo acompanyada dels meus professors durant l'estada i la meva companya Irina.

Fotografia feta per l'autora.

En segon lloc, també vull fer un especial agraïment a les meves professores Sílvia Llahí i Conchi Zurera. Gràcies a la Sílvia vaig poder apuntar-me al Programa ARGÓ i fer l'estada durant l'estiu. La Conchi ha estat la meva tutora i sempre que la he necessitat o he tingut dubtes sobre el meu treball ha estat a la meva disposició. Ella m'ha ajudat a orientar el treball i a millorar la meva redacció. Sense cap de les dues no hauria estat possible fer el meu treball de recerca, per la qual cosa estic molt agraïda.

Per últim, també agraeixo profundament l'ajuda i el suport rebut per part dels meus pares, el meu germà i els meus companys i amics. Sense el seu suport i interès hauria estat difícil fer el treball. Moltes gràcies també a ells.

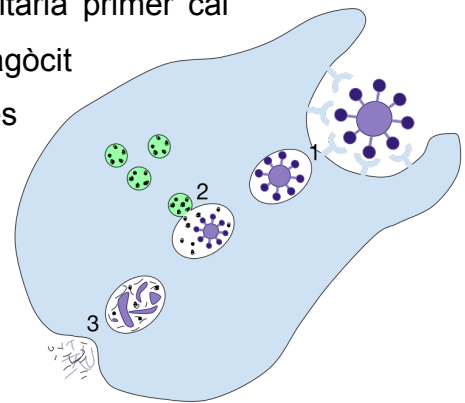
ANNEXOS

17- GLOSSARI

Com ja vaig exposar a la introducció, la meva intenció és que tothom pugui entendre el meu treball, fins i tot aquells que no tinguin gaires coneixements sobre biologia o ciència en general. És per això que per acabar el treball he decidit fer un petit glossari amb totes aquelles paraules que poden ser difícils d'entendre. Espero que serveixi d'ajuda per a entendre millor el treball.

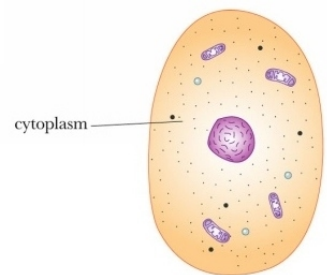
Calostre: Secreció produïda per les glàndules mamàries abans i després del part, que conté grans quantitats d'immunoglobulines, principalment IgA, i és una font d'immunitat passiva per al nadó.

Capacitat fagocitària: Per a definir la capacitat fagocitària primer cal definir la fagocitosi. Fagocitosi: Procés pel qual un fagòcit engloba i digereix material com ara bacteris i altres gèrmens, cossos estranys o deixalles metabòliques. Per tant la capacitat fagocitària és la propietat que tenen les cèl·lules que poden dur a terme la fagocitosi.



Esquema de la fagocitosi.
Fotografia extreta de (57).

Citoplasma: Constituent fonamental de la cèl·lula, delimitat per la membrana plasmàtica i la membrana nuclear, on van inclosos tots els restants elements cel·lulars (òrgans).

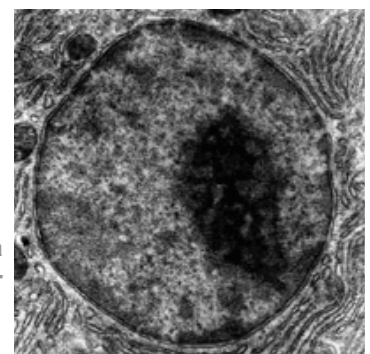


Esquema d'una cèl·lula eucariota amb el citoplasma marcat.
Fotografia extreta de (58).

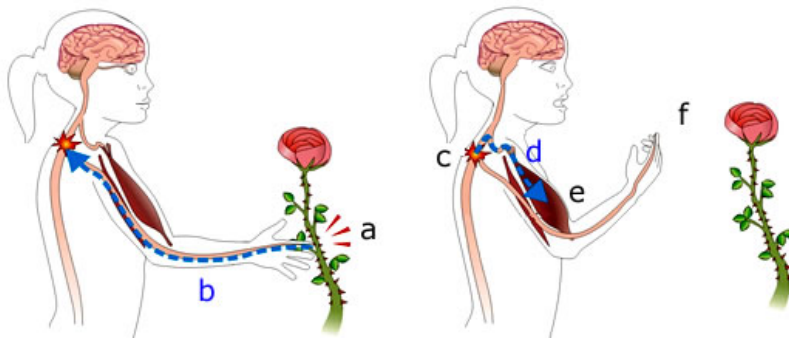
Cromatina: forma en la que es presenta el DNA al nucli cel·lular. Quan la cromatina es compacta forma els cromosomes.

Fotografia del nucli cel·lular feta amb un microscopi electrònic. La cromatina és la massa granulosa de color gris fosc que hi ha delimitada per l'embolcall nuclear.

Fotografia extreta de (59).



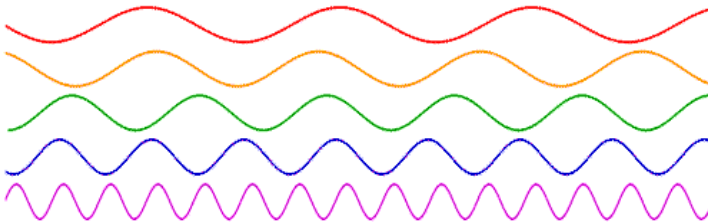
Estímul: Factor, intern o extern, capaç de produir una resposta funcional o conductual en un receptor, un teixit, un òrgan o un organisme sencer.



Punxar-se és un exemple d'estímul que produeix una resposta que fa apartar el dit.

Fotografia extreta de (60).

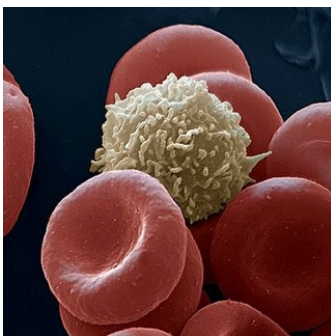
Freqüència lluminosa: Nombre d'oscil·lacions que fa una ona lluminosa per unitat de temps.



La llum es propaga a través d'ones. Cada color té una freqüència diferent i per això el nostre ull pot diferenciar-los.

Fotografia extreta de (61).

Glòbul blanc: Cèl·lula sanguínia de la sèrie blanca dels vertebrats, que intervé en diferents processos de resposta immunitària. També se'l pot anomenar leucòcit.



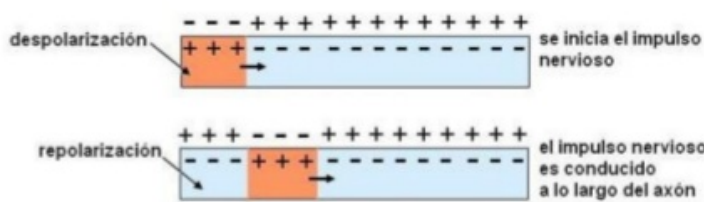
Fotografia d'un leucòcit (en groc) envoltat de glòbuls vermells (en vermell) feta amb el microscopi electrònic.

Fotografia extreta de (62).

Globulines: Proteïna globular insoluble o només lleugerament soluble en aigua que es troba en el plasma sanguini (part líquida de la sang).

Hemisferis cerebrals: Cadascuna de les dues parts laterals del cervell que estan recobertes per l'escorça cerebral.

Impuls nerviós: Senyal elèctric que es propaga per un axó com a resposta de la neurona a un estímul despolaritzador.



Esquema de la transferència de l'impuls nerviós a través de la membrana cel·lular de les neurones. El que provoca l'impuls és un canvi temporal de les càrregues elèctriques de la membrana.

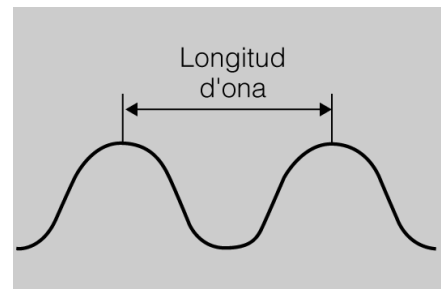
Fotografia extreta de (63).

Lípid: Substància orgànica que es caracteritza perquè és insoluble, o molt poc soluble, en aigua, i és soluble en dissolvents orgànics no polars. Els greixos, les ceres, els esterols o algunes vitamines són alguns exemples de lípids. Les principals funcions dels lípids són l'emmagatzematge d'energia, ser components estructurals de la membrana cel·lular i també són importants senyalitzadors moleculars.

Longitud d'ona: En la propagació d'un moviment ondulatori (com és el cas de la llum), distància mínima entre dos punts que es troben en el mateix estat de variació.

Esquema on es representa la longitud d'ona.

Fotografia extreta de (64).



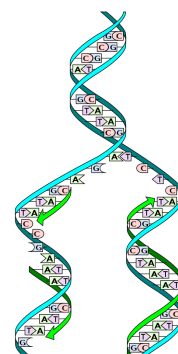
Neurotransmissor: Substància química que té per funció transmetre l'impuls nerviós a través de la sinapsi neuronal (intercanvi de senyals nervioses entre dues neurones).

Proteïna: Compost orgànic fet d'aminoàcids (molècula que conté el grup funcional amino -NH₂) units mitjançant enllaços peptídics. Les proteïnes, també anomenades polipèptids, tenen diverses funcions com per exemple la immunològica, que la duen a terme els anticossos.

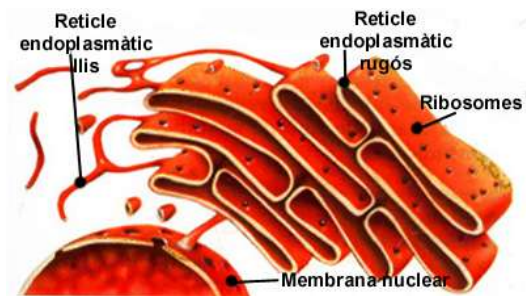
Replicació: Procés que permet al DNA duplicar-se.

Esquema de la replicació d'una cadena d'ADN.

Fotografia extreta de (65).



Reticle endoplasmàtic: Orgàdul cel·lular típic de les cèl·lules eucariotes format per una xarxa de membranes aplanades interconnectades. Intervé en la síntesi de proteïnes (el reticle endoplasmàtic rugós) i comunica el nucli amb l'aparell de Golgi (un altre orgàdul cel·lular).



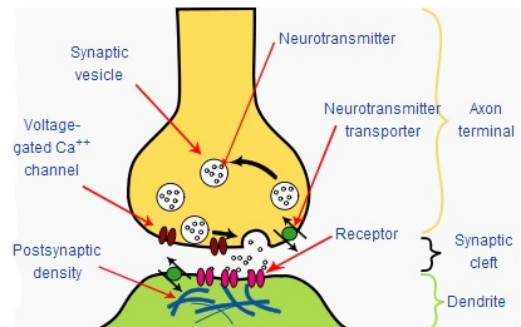
Esquema del reticle endoplasmàtic unit a la membrana nuclear.

Fotografia extreta de (66).

Ribosoma: Orgàdul cel·lular que té per funció la síntesi de proteïnes i es troba abundantment en totes les cèl·lules vives. Es caracteritza per la seva forma arrodonida i la seva mida petita.

Sèrum: Solució que conté anticossos protectors específics, obtinguts a partir d'una persona o d'un animal que ha adquirit immunitat.

Sinapsi: Regió de comunicació i transmissió d'impulsos nerviosos entre l'axó d'una neurona i les dendrites d'una altra neurona, o entre les terminacions nervioses d'una neurona motora i el múscul.

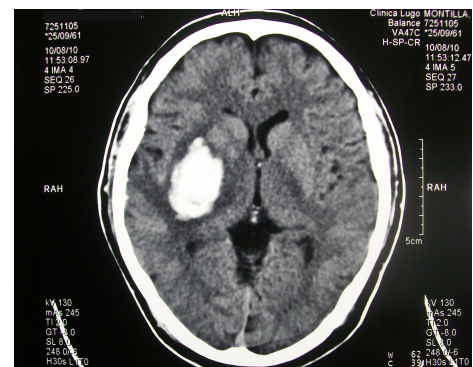


Esquema de la sinapsi.

Fotografia extreta de (67).

Síntesi de proteïnes: Procés mitjançant el qual es formen les proteïnes a partir d'aminoàcids. Es duu a terme als ribosomes.

TC (Tomografia Computada): Tècnica radiològica d'imatgeria molecular basada en la informació obtinguda a partir d'una font de raigs X que efectua una rotació al voltant del pacient i envia emissions successives a un detector. Abans es coneixia com a TAC.

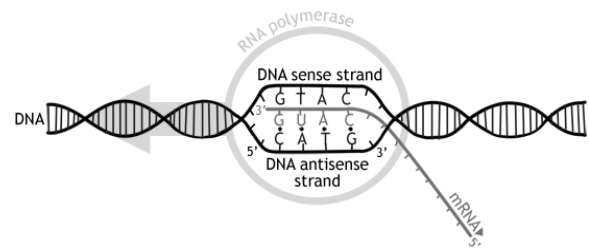


TC del crani d'un pacient amb un hematoma.

Fotografia extreta de (68).

Toxina: Substància d'origen biològic que actua nocivament sobre els organismes vius.

Transcripció: Procés pel qual la informació genètica codificada en una cadena de DNA és copiada en una cadena d'RNA missatger mitjançant la seqüència de nucleòtids que la componen. És el primer pas de la síntesi de proteïnes.



Esquema de la transcripció.

Imatge extreta de (69).

Tritó: Compost químic que s'utilitza com a detergent durant els processos de tinció donada la seva propietat per a dissoldre la brutícia.

Tris: Substància química que s'utilitza en la preparació de dissolucions per a igualar el pH de la mescla amb el pH fisiològic.

Vaccí: Preparat terapèutic que pot contenir microorganismes morts o vius atenuats i que s'administra per a potenciar una resposta immunitària específica concreta.

18- VALORACIÓ

A la presentació que la meva companya Irina i jo vam fer al Rectorat de la UAB per a concloure la nostra Estada vam incloure aquest mapa de paraules. Representa tots aquells sentiments, adjectius i noms que nosaltres vam relacionar amb la nostra experiència, i en el meu cas també en la realització d'aquest treball. És per això que trobo interessant concloure de la mateixa manera aquest treball, expressant tot allò que relaciono amb la seva realització.

