



MICROSCOPIA CONFOCAL

Hoy en día el concepto de célula biológica está ampliamente extendido en nuestra sociedad, es utilizado por los profesionales de la salud, la prensa, etc., sobre todo en lo que tiene que ver con la salud humana. A pesar de eso, nadie puede verla a simple vista porque las células son microscópicas.

¿Por qué que hay tanto interés en comprender una estructura que nos es invisible?

La explicación está en su definición: “la célula es la unidad de estructura, de origen y de funcionamiento de los seres vivos” Por tanto nuestra propia existencia como seres humanos depende de su correcto funcionamiento, y las terapias dirigidas a corregir las diversas enfermedades, tienen como blanco a las células.

¿Sabías que se descubrieron sin verlas en realidad?

Veamos algo de la paradoja de su descubrimiento. La palabra cell (celda), fue usada por primera vez por el físico inglés Robert Hooke en el siglo XVII (1665), para describir unas pequeñas cavidades que observó en una lámina de corcho, (el tejido de revestimiento, hoy llamado súber), del alcornoque, “*Quercus suber*”

Curiosamente lo que Hooke observó no fueron células intactas, sino los restos de un tejido vegetal muerto (solo quedan las paredes celulares en el súber que se observa en los troncos de los árboles). Así, que la primera vez que se describió la estructura fundamental de la vida...NO ESTABA VIVA!!!

El hallazgo fue posible gracias a la utilización de los primeros microscopios, desarrollados por él mismo. Alrededor de la misma época, en Holanda, Antoni van Leeuwenhoek, desarrolló otro microscopio que le permitió describir protozoarios, espermatozoides y bacterias, que no volvieron a ser vistas hasta 200 años después. A partir de entonces, los microscopios se han ido perfeccionando otorgando a los investigadores cada vez más datos de esa esencial y maravillosa estructura llamada célula.

A partir de ese momento surgió una nueva rama de la biología (la citología). Los investigadores de esta área tuvieron siempre muy claro que la célula es una estructura tridimensional, sin embargo no fue hasta la utilización de la microscopía electrónica y la utilización de cortes seriados que fue posible documentar su tridimensionalidad.

¿Cómo es esto? Se realizan cortes de 100nm de espesor¹ (0,1µm). en el plano de cada corte se aprecia una imagen plana, de dos dimensiones, luego, si se tienen en cuenta todos los cortes y se apilan en forma ordenada se puede reconstruir la tercera dimensión, una reconstrucción tridimensional, una imagen con volumen de la célula y de todos sus componentes subcelulares

Los métodos desarrollados con los microscopios electrónicos seguían manteniendo una dificultad para los biólogos celulares: poder observar los procesos biológicos en forma vital, es decir, tal como ocurren en la célula sin necesidad de destruirla. Las observaciones al MO con coloraciones no tóxicas, permitían parcialmente este objetivo pero, la resolución que se puede alcanzar con el MO era la principal limitante en estos casos. La innovación que cambió completamente la manera de observar los elementos subcelulares fue la microscopía de fluorescencia. El principio básico de esta técnica consiste en que las moléculas fluorescentes (llamadas fluoro-cromos) son capaces de excitarse cuando absorben luz de un determinado rango de longitudes de onda, liberando energía inmediatamente en forma de luz de mayor longitud de onda)

Los fluoro-cromos se pueden asociar a componentes subcelulares de manera específica por afinidad química. Una proteína fluorescente verde (GFP) a partir de una medusa es la más usada actualmente en la **Microscopía de barrido láser confocal**. Dado que se ha logrado clonar el gen que la produce y producirla artificialmente es una técnica usada desde la década de los años 90.

¹ Nm=Nanómetro: unidad de medida, un nanómetro equivale a un milésimo de micrómetro)



TEMA: Microscopios

Funcionamiento del microscopio óptico confocal (MOC)

Es un microscopio óptico que utiliza luz láser de longitud de onda requerida para excitar un fluoro-cromo (natural o artificial). Se toman imágenes planas (2D) a distintas profundidades de la célula sin romperla, (cortes ópticos), que luego son seriados, e integrados mediante un programa de análisis de imagen de un computador, obteniéndose una imagen tridimensional (3D). Esa reconstrucción se puede rotar y observar entera o capa por capa en cualquier orientación que se desee.

Ahora si podemos observar los procesos biológicos vitales mientras ocurren, dentro de una célula viva y a lo largo del lapso en el que ocurren (duración del proceso en el tiempo) a lo que se denomina: **cuarta dimensión**. Por eso se le denomina “microscopía 4D”



Imagen 1. tomada de www.logismarket.com.mx

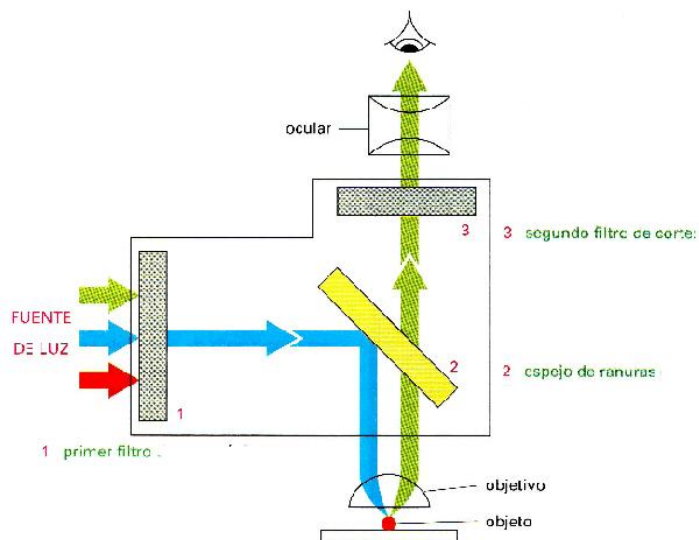


Imagen 2. Tomada de www.artigoo.com

Referencias de la imagen2:

1. Primer filtro únicamente deja pasar la luz de longitud de onda entre 450 y 490nm

2. Espejo de ranuras, refleja la luz de longitud de onda inferior a 510 nm y transmite únicamente la luz de long de onda superior a 510nm

3. Segundo filtro. Elimina las longitudes de onda no deseadas, en el ejemplo deja pasar únicamente las longitudes entre 520 y560 nm



TEMA: Microscopios

ACTIVIDAD

Subraya las palabras que no comprendas, busca su significado en el diccionario y anótalo en la hoja de respuestas.

A partir de la lectura responde las siguientes preguntas:

1. ¿Por qué se dice que el descubrimiento de la célula es una paradoja?
2. ¿Cuánto tiempo ha transcurrido desde el paradójico descubrimiento y la visión en 4D de la célula?
3. ¿En qué se diferencian las observaciones de células obtenidas con MET y las observaciones que brinda el microscopio confocal?
4. Explica las diferencias en el funcionamiento del Microscopio electrónico y el microscopio confocal.