

T

Observació de Preparacions Histològiques

Histologia Animal

Objectius

- Utilitzar el microscopi i el programa *Motic*
- Identificar cèl·lules en preparacions reals
- Identificar l'organització de diferents teixits animals

Context

Una de les característiques de la biologia és que per interpretar fets contínuament necessitem passar del nivell d'organisme, al nivell de teixit, cel·lular i, moltes vegades, també molecular.

Per exemple, si volem comprendre el fonament de les propietats de les estructures del nostre organisme formades per cartílag (com les orelles, que son resistents i elàstiques a la vegada), haurem d'estudiar aquest teixit al microscopi.

Per diagnosticar moltes malalties els metges han de interpretar imatges microscòpiques de l'òrgan afectat i comparar-les amb òrgans sans. Per exemple hi ha diferències molt importants quan es mira al microscopi l'intestí d'una persona sana i el d'una persona amb malaltia celíaca (també coneguda com intolerància al gluten).

Podeu entendre, per tant, que saber interpretar les imatges que es veuen al microscopi òptic, identificant diferents estructures i components d'un teixit, les relacions entre les cèl·lules que el formen, distingir el que és fonamental del que no ho és,... és un procediment rellevant en l'estudi biològic.

Obtenció i anàlisi de dades

Material i Equipament

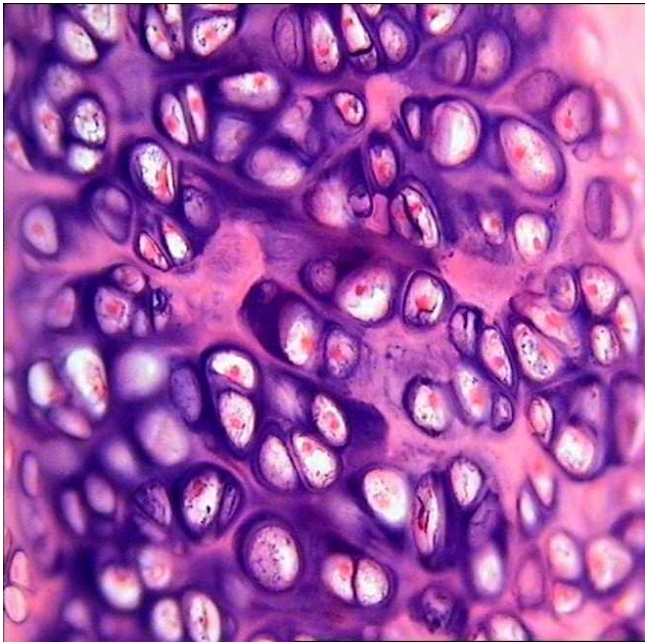
Equipament	Reactius i altres materials
<ul style="list-style-type: none"> – Arxius d'imatges histològiques – Programa Motic plus 	–






No hi ha risc ni generació de residus

Procediment 1

Obriu el programa *Motic i*, a continuació, la imatge 001 que trobareu a la carpeta ***Imatges histologia animal*** . Observeu la imatge i escriviu una descripció del que veieu.

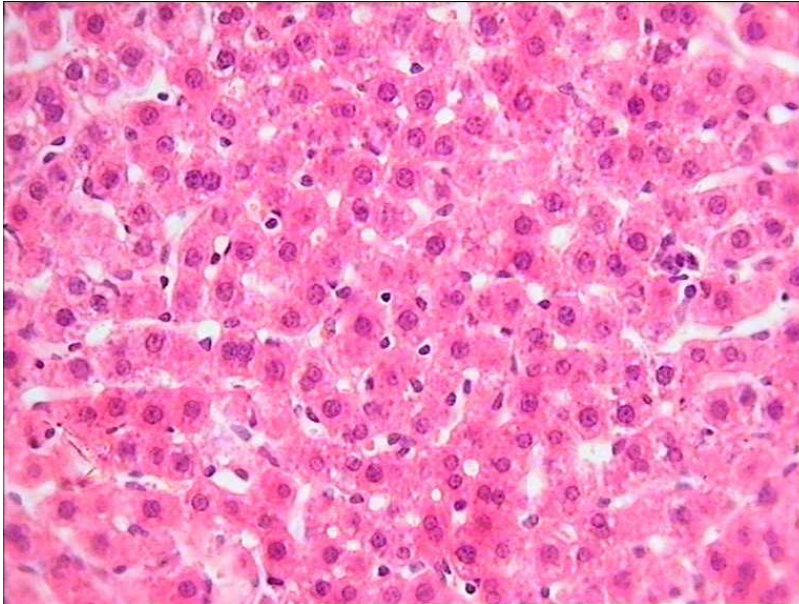









- Aquesta imatge correspon a un teixit esquelètic: **el cartílag hialí**. Descriuiu com estan col·locades les cèl·lules. Mitjançant les eines del programa *Motic*  que ens permeten seleccionar una part de la imatge i  diversos filtres o  que transforma la imatge de color en blanc i negre, ressaltu aquesta col·locació específica de les cèl·lules.
- Observeu algun orgànul cel·lular? Quin?
- Dibuixeu un esquema on s'observi l'organització d'aquest teixit, segons la microfotografia. Després busqueu informació en la pàg. web..... i comproveu si la informació que heu trobat concorda amb el que heu observat a la imatge. Poseu nom a les diferents estructures

Nota: La secció de cartílag ha estat processada amb una tinció doble, és a dir s'han utilitzat dos colorants: Hematoxilina i Eosina. Es tracta d'una tinció rutinària als laboratoris de histologia. La diferent afinitat dels colorants per diferents tipus de components biològics ens permet diferenciar les estructures de la preparació segons el color que prenen després de la tinció. En aquest cas, l'hematoxilina és un colorant bàsic i per tant s'unirà, i per tant tenyirà de blau, a les estructures de caràcter més àcid. Contràriament, l'eosina és un colorant de caràcter àcid i per tant s'unirà a les estructures més bàsiques

Procediment 2

- Obriu, des del programa *Motic*, la imatge 002 de la carpeta *arxiu histologia*. Aquesta imatge correspon a una preparació histològica de fetge de rata. Observeu-la i feu una descripció del que hi veieu. Hi ha alguna estructura que es repeteixi? Quina? De què creieu que es tracta?

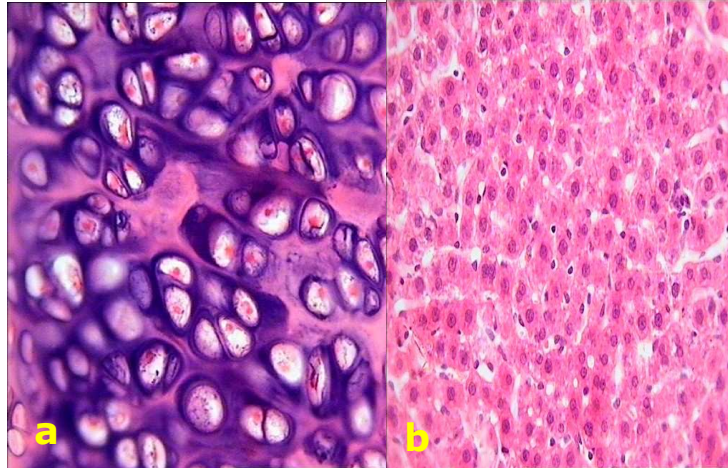



- Creieu que la distribució de les cèl·lules és a l'atzar, o segueix un ordre determinat? En aquest darrer cas, intenteu mitjançant les eines del programa *Motic*  que ens permeten seleccionar una part de la imatge i  diversos filtres o  que transformen la imatge de color en blanc i negre, ressaltar aquesta col·locació específica de les cèl·lules.
- Si us fixeu bé, podreu observar que algunes de les cèl·lules tenen dos nuclis. Podríeu fer una aproximació del percentatge de cèl·lules binucleades sobre el total. Per fer-ho, Seccioneu un quadrat de la imatge amb,  aproximadament una sisena part del total. Un cop feta la selecció, compteu les cèl·lules: per un cantó les binucleades, que podrieu seleccionar i canviar de color amb  i  o  i per l'altre les mononucleades. A partir d'aquí ja podeu calcular el percentatge.

Nota: En principi, es va creure que la presència de cèl·lules binucleades podria estar relacionada amb la gran activitat de síntesi proteica que té lloc al fetge. Però s'ha vist que el fet que algunes de les cèl·lules presentin dos nuclis és conseqüència d'una mala regulació del cicle de mitosi que fa que després d'un cicle en comenci un altre de forma immediata sense la consegüent divisió del citoplasma. El que si s'ha comprovat és que més de la meitat dels nuclis de les cèl·lules hepàtiques tenen doble, o més, dotació cromosòmica. Aquest fet si es relaciona amb d'important activitat de síntesi que té lloc al fetge.

Procediment 3

- Obriu les imatges 001 i 002 Amb el programa *Motic*. Observeu les dues imatges de les fitxes anteriors. La imatge a correspon al cartílag hialí i la imatge b al fetge.



- Les dues imatges són microfotografies de teixits animals, però com podeu veure són molt diferents, tant a nivell d'organització del teixit com en el de tipus de cèl·lules que el constitueixen. Feu un llistat i descriviu aquestes diferències.
- Una manera que tenen els històlegs per caracteritzar les cèl·lules és determinar la relació que hi ha entre el volum del nucli i el volum cel·lular. Tenint en compte que aquestes microfotografies han estat fetes amb l'objectiu de 40x podríeu fer una aproximació d'aquesta relació N/C (nucli/volum cel·lular) dels dos tipus cel·lulars. Penseu que les imatges són en dues dimensions i que per tant, les dades que obtindrem no serien vàlides però si ens pot ajudar a comparar els dos tipus de cèl·lules. Per fer-ho, seleccioneu **Measure** de la barra d'eines inferior. Seleccioneu l'objectiu de 40x i en la finestra d'unitats seleccioneu mm, i a **Accuracy** seleccioneu 4. Aleshores amb  resseguiu el perímetre d'una cèl·lula i el del seu nucli. Heu de fer aquesta operació un mínim de 10 cops. Finalment, obriu **Measure Table** i feu els càlculs necessaris. (Heu de fer el quocient: nucli/cèl·lula per a cada cèl·lula mesurada i després fer la mediana i la mitjana)

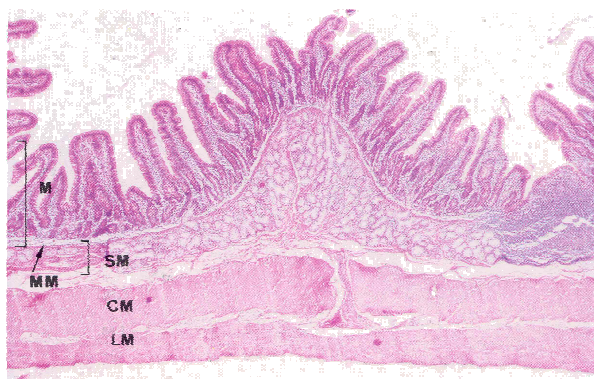
Podeu posar els valors a la taula següent

CARTÍLAG			FETGE		
Nucli	Cèl·lula	N/C	Nucli	Cèl·lula	N/C
	Mitjana			Mitjana	
	Ds			Ds	
	Mediana			Mediana	

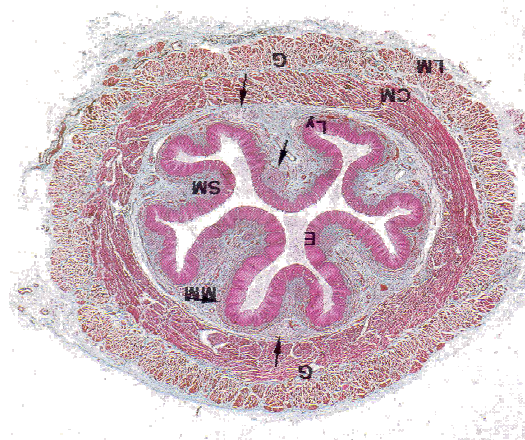
- Descriviu els resultats que heu obtingut i interpreteu-los

Procediment 4

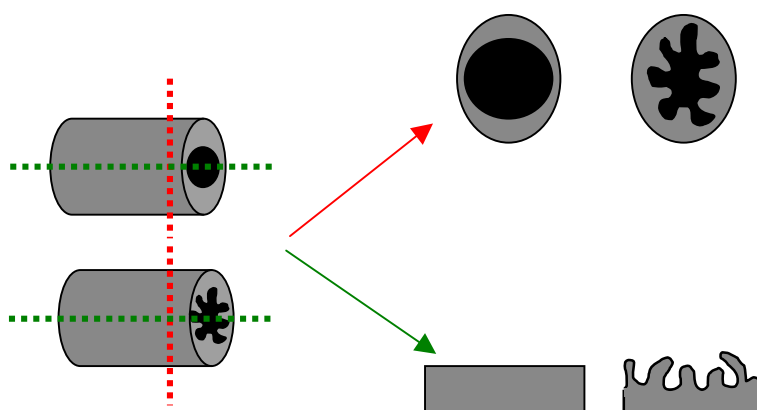
Observeu les següents imatges:



Tall longitudinal de duodè de mico

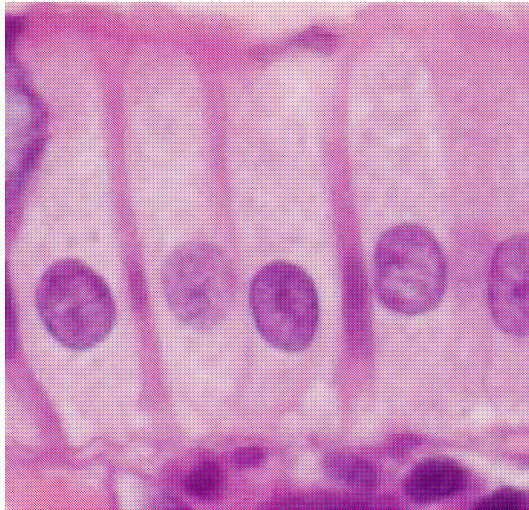


Tall transversal d'esòfag de mico
(seria similar al de duodè)



En el intestí prim és on tenen lloc els passos finals de la digestió dels aliments: l'absorció dels productes finals de la digestió. És un òrgan llarg, prop de 6 m en l'ésser humà Morfològicament, podem comparar l'intestí prim amb un tub per la llum del qual hi circulen els productes finals de la digestió. Aquests productes han de passar a l'interior de les cèl·lules que recobreixen la llum.

- Fixeu-vos en les imatges i en l'esquema anteriors. Creieu que el fet que la llum no sigui circular i que el teixit formi aquests replècs té algun avantatge. Expliqueu quin?
- Obriu amb el programa *Motic* la imatge 00?? De la carpeta *Arxius histologia* Observeu- la . Es tracta d'una imatge de l'epiteli que recobreix la llum de l'intestí prim (la fotografia està feta amb l'objectiu ???x). Podeu veure-hi els enteròcits



b

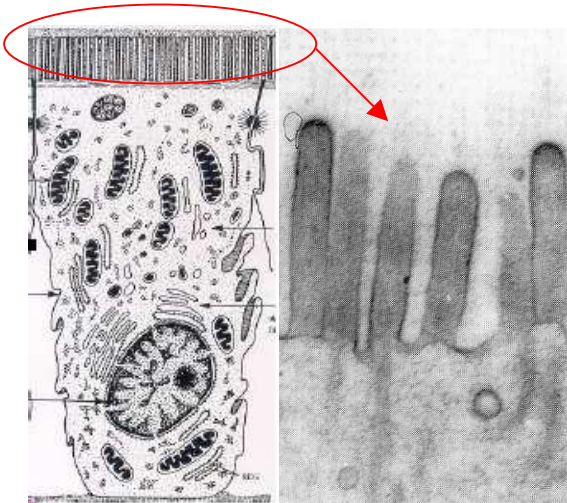
Amb les eines del *Motic*, de seleccionar i canviar de color ,i



o

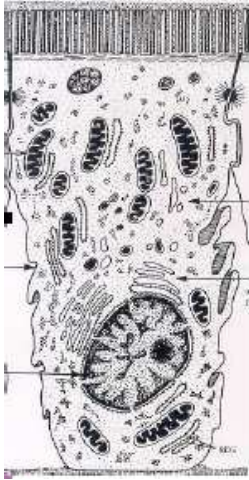


Si us hi fixeu, és bastant fàcil, excepte en la part apical de la cèl·lula, on sembla que la imatge estigui borrosa. No és així, fixeu-se amb el següent esquema de la ultraestructura d'aquest tipus cel·lular



Aquestes interdigitacions de la membrana són els microvilli, que formen una estructura a la membrana apical, anomenada "raspall"

- Creieu que aquesta estructura té alguna funció específica? Quina?
- Per què creieu que els microvilli només s'observen a la part apical de la cèl·lula?
- En el següent esquema d'ultraestructura podeu anomenar els diferents orgànuls que s'hi observen.
- Quins d'aquests, poden veure's en la imatge següent



Conclusions

Escriviu les conclusions generals de tota la pràctica

Observació de Preparacions Histològiques

Histologia Animal

Material per al professorat

Orientacions didàctiques

Temporització

- 1 hora per a cada una de les observacions
- 1 hora per la posada en comú de les conclusions

Alumnes als quals s'adreça l'experiència

Alumnes de Batxillerat

Orientacions metodològiques

És molt habitual presentar l'estructura de la cèl·lula als alumnes a partir del que anomenem *cèl·lula tipus*, és a dir a partir de l'esquema d'una cèl·lula que presenta *tots* els òrgans, què "*ho té tot*". Però, aquesta cèl·lula no existeix, és un model, és una idealització construïda a partir de l'estudi de moltes diferents. Malauradament, molts alumnes es queden amb la idea que totes les cèl·lules són com aquella que se'ls va presentar. Fins i tot, molts d'ells, es deceben quan veuen per primera vegada una cèl·lula al microscopi.

La millor manera d'apropar els alumnes a un estudi realista de la cèl·lula, així com de la forma en la qual s'ha construït el coneixement que ara ells i elles troben als llibres, és presentar-los diferents tipologies de cèl·lules i guiar-los en el procés de comparació, ressaltant les semblances i diferències entre elles.

Però, com passa amb molts altres procediments científics, al microscopi també *cal aprendre a mirar*, les imatges microscòpiques sovint *no es veuen*, sinó que *s'interpreten* i, per interpretar, *cal saber i saber mirar*. Aquesta ha de ser la funció del professor/a en les pràctiques de citologia i histologia: guiar l'alumne per tal que aprengui a mirar les preparacions microscòpiques i, en aquest sentit, les eines del programa *Motic*, poden ser una gran ajuda.

Per exemple, un problema habitual que tenen els alumnes quan comencen a mirar al microscopi és discernir les estructures que interessen del fons que actua com a distractor o fixar-se en només un dels diferents plans que sovint es posen de manifest en la preparació. Pensem que una bona forma d'ajudar-los a millorar aquesta situació pot ser, com es suggereix en el full de l'alumne, demanar-los utilitzar les eines de selecció *Motic* per seleccionar la part de la imatge que indiqui el professor/a i mitjançant els filtres, ressaltar-les en blanc i negre.

Sovint es realitza l'estudi de la cèl·lula considerant aquesta estructura com quelcom aïllat, quan a la realitat això només passa en els cas dels organismes unicel·lulars. La proposta d'aquesta pràctica (i la de les altres de la sèrie) és apropar-se a l'estudi de les cèl·lules en el seu context: el teixit. Així, les preguntes que es van fent a l'alumne tracten de guiar la seva atenció cap a la disposició de les cèl·lules entre elles, la presència o no de matriu cel·lular,...També per aconseguir aquests objectius són útils les eines seleccionar i ressaltar en blanc i negre.

Un altre problema força comú entre els estudiants és el seu absolut desconeixement sobre les dimensions de les cèl·lules i els seus òrgans. És freqüent, fins i tot en alumnes de nivells alts (i no necessàriament d'alumnes "dolents"), que s'estranyin de no veure mitocondris a les cèl·lules que observen al microscopi òptic, o... ribosomes!. També en aquest sentit, la facilitat amb la qual es poden prendre mesures amb el programa *Motic* pot convertir-se en una bona forma de ajudar a construir l'aprenentatge significatiu de les dimensions cel·lulars.

Diferents estudis posen de manifest la importància de la interacció de la imatge i el coneixement per aconseguir un aprenentatge significatiu, això es el que pretenem amb

preguntes com aquelles que fan referència a la disposició de les cèl·lules en les preparacions de fetge, La finalitat d'aquest tipus de preguntes és cridar l'atenció sobre quines són les necessitats de les cèl·lules i remarcar la posició d'aquestes sempre a prop de vasos sanguinis. Un altre aspecte que és important ressaltar en aquesta sèrie de pràctiques és la relació entre forma i funció, és important que els alumnes relacionin la forma de diferents estructures cel·lulars amb la funció que realitza aquell tipus cel·lular en concret, de manera que quedi palesa la adaptació morfològica. Per exemple, una bona situació és la que proporciona la relació de la presència de microvilli amb l'absorció que té lloc a nivell de les cèl·lules intestinals.

Tots els alumnes poden fer totes les observacions o també es poden dividir en grups i posteriorment explicar una als altres les observacions realitzades en cada procediment. Es poden intercanviar les imatges manipulades per cada grup.



No hi ha risc ni generació de residus

Conclusions

Respostes al qüestionari

Procediment 1.

Obriu el programa *Motic i*, a continuació, la imatge 001 que trobareu a la carpeta **Imatges histologia animal**. Observeu la imatge i escriviu una descripció del que observeu

La descripció pot variar depenent de la capacitat d'observació i la imaginació de cada alumne. L'objectiu, però, és que siguin capaços de veure que no es tracta d'un teixit homogeni sinó que, a la imatge es diferencien dues estructures ben diferenciades: Per una part, hi ha un fons homogeni en el qual s'hi distribueixen, sense un ordre aparent, grups de rodones que segurament identificaran com a cèl·lules.


També podrien dir que aquestes cèl·lules no són totes iguals de grans i que el nombre de cèl·lules que forma cada grup és variable.

- Aquesta imatge correspon a un teixit esquelètic: **el cartílag hialí**. Descriviu com estan col·locades les cèl·lules. Mitjançant les eines del programa *Motic*

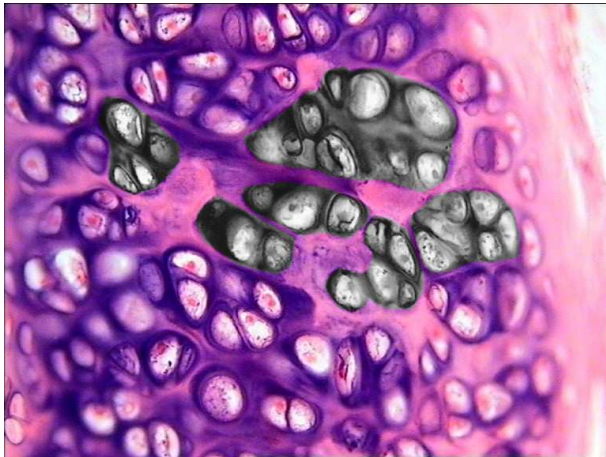


que ens permeten seleccionar una part de la imatge i



diversos filtres o  *que transforma la imatge de color en blanc i negre,*

ressalteu aquesta col·locació específica de les cèl·lules.



Caldria que utilitzant les eines que se'ls hi ha indicat ressaltessin els grups de condriocits.

- Observeu algun orgànul cel·lular? Quin?

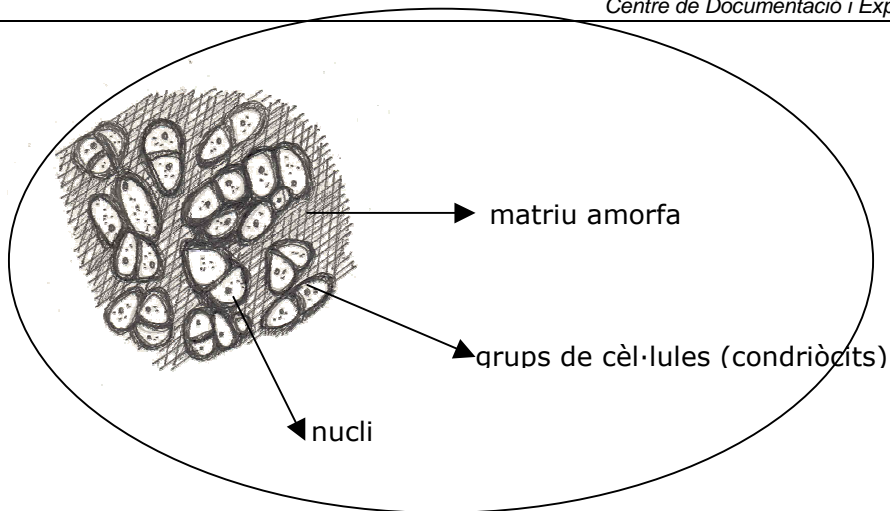
*A la majoria de les cèl·lules s'observa un punt vermell, es tracta del nucli. També es pot veure que el citoplasma de la majoria de les cèl·lules no es veu net, sinó que s'hi observa una mena de puntejat, es tracta del reticle endoplasmàtic rugós RER. Tant interessant com el que s'observa és el que **no** s'observa, es tracta que els i les alumnes tinguin clar que l'estructura de la major part dels components cel·lulars només pot ser observada amb el microscopi electrònic.*

- Dibuixeu un esquema on s'observi l'organització d'aquest teixit, segons la microfotografia. Després busqueu informació en la pàg. web..... i comproveu si la informació que heu trobat concorda amb el que heu observat a la imatge. Poseu nom a les diferents estructures

L'esquema no ha de ser un dibuix exacte de la imatge però si que hi ha de quedar clar:

- La distribució de les cèl·lules en grups
- La presència de la matriu amorfa
- El nucli de les cèl·lules
- S'ha de posar nom a les diferents estructures

Ex: Cartílag De Rata



Procediment 2

Respostes al qüestionari




- Obriu, des del programa *Motic*, la imatge 00? de la carpeta *arxiu histologia*. Aquesta imatge correspon a una preparació histològica de fetge de rata. Observeu-la i feu una descripció del que hi veieu. Hi ha alguna estructura que es repeteixi? Quina? De què creieu que es tracta?

Igual que a la fitxa anterior, la descripció pot variar depenent de la capacitat d'observació i la imaginació de cada alumne. En aquest cas, però cal que se n'adonin que el teixit és homogeni. L'estructura que es repeteix és la principal cèl·lula hepàtica, hepatòcit. Es tracta d'una cèl·lula que, en dos dimensions, es veu pràcticament quadrada amb un nucli esfèric prominent que ocupa, quasi bé tot el citoplasma.

Es pot observar que la col·locació dels hepatòcits en el teixit no és a l'atzar sinó que estan ordenades en fileres més o menys regulars.

Entre fileres l'espai entre les cèl·lules és més gran que no pas entre cèl·lula i cèl·lula, on és pràcticament inexistent. En el cas dels hepatòcits també és remarcable la presència d'un 25% aproximadament de cèl·lules binucleades.





Un altre punt que pot ser observable, és la presència d'unes cèl·lules diferents, més petites que els hepatòcits, allargades i de les quals s'observa el nucli molt blau, mentre que el citoplasma pràcticament no és veu. Es tracta de cèl·lules endotelials que revesteixen els vasos sanguinis hepàtics o sinusoids.

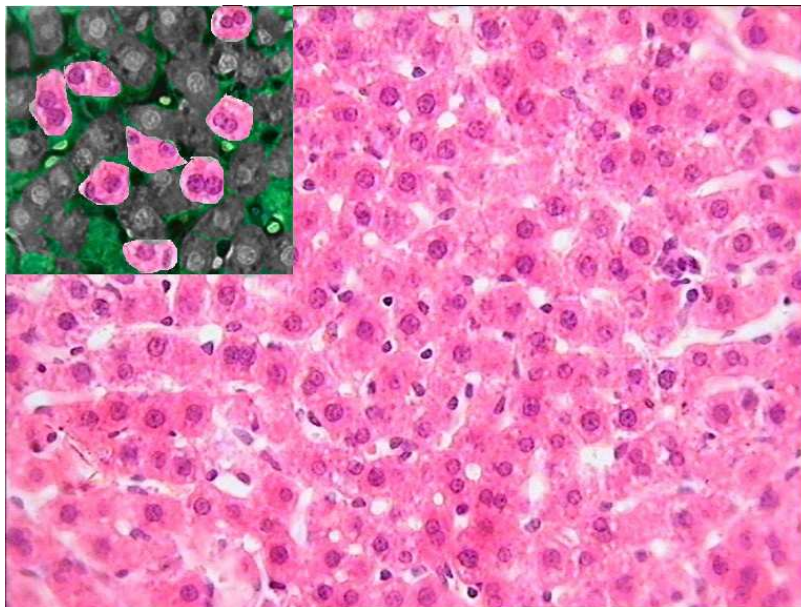
- Creieu que la distribució de les cèl·lules és a l'atzar, o segueix un ordre determinat? En aquest darrer cas, intenteu mitjançant les eines del programa *Motic*  que ens permeten seleccionar una part de la imatge i  diversos filtres o  que transformen la imatge de color en blanc i negre, ressaltar aquesta col·locació específica de les cèl·lules.



Cal que ressaltin diferents cordons de cèl·lules hepàtiques

Estaria bé explicar una mica més la *gràcia* que té la disposició aquesta de les cèl·lules (al menys en la guia del profe, per tal que ell/a ho comentí en la posada en comú)

- Si us fixeu bé, podreu observar que algunes de les cèl·lules tenen dos nuclis. Podríeu fer una aproximació del percentatge de cèl·lules binucleades sobre el total. Per fer-ho, Seleccioneu un quadrat de la imatge amb,  aproximadament una sisena part del total. Un cop feta la selecció, compteu les cèl·lules: per un cantó les binucleades, que podríeu seleccionar i canviar de color amb  i  o  i per l'altre les mononucleades . A partir d'aquí ja podeu calcular el percentatge.



Aproximadament, en la selecció hi ha unes 32 cèl·lules, de les quals 8 són binucleades, és a dir un 25% .

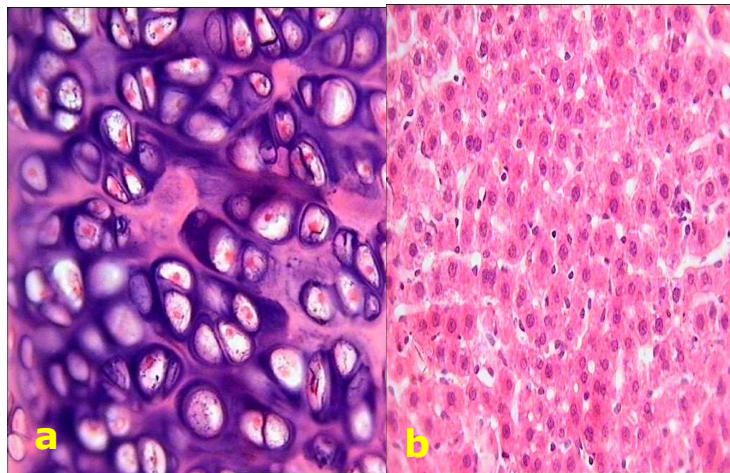
Estaria bé, fer diferents seleccions i fer una mitjana.

També, és probable que hi hagi cèl·lules on no es vegi el nucli, degut a que el pla del tall ha estat per sobre o per sota. En aquest cas, considerarem que la cèl·lula és mononucleada.

Procediment 3

Respostes al qüestionari

- Obriu les imatges 00? i 00?? Amb el programa *Motic*. Observa les dues imatges de les fitxes anteriors. La imatge a correspon al cartílag hialí i la imatge b al fetge.



Les dues imatges són microfotografies de teixits animals, però com podeu veure són molt diferents, tant a nivell d'organització del teixit com en el de tipus de cèl·lules que el constitueixen. Feu un llistat i descriu aquestes diferències.

1.- Organització del teixit

a- cartílag

- *distribució heterogènia*
- *les cèl·lules estan incloses en una matriu amorfa*
- *les cèl·lules es troben en grups de dos o més*
- *Al voltant de cada cèl·lula s'observa la matriu extra-cel·lular*

b- fetge

- *distribució homogènia*
- *no hi ha una matriu amorfa tota la imatge està plena de cèl·lules*
- *les cèl·lules es disposen en fileres o cordons*
- *les cèl·lules estan molt juntes, no hi ha matriu*


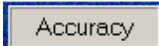


2.- Cèl·lules

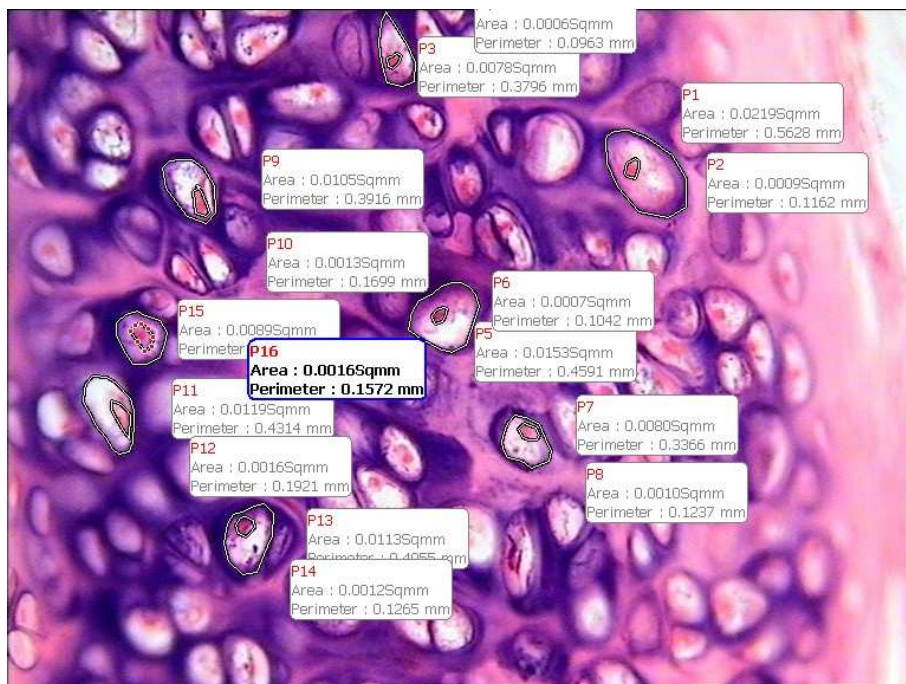
a- cartílag (condriòcit)

- forma elíptica
- grandària >>
- nucli petit en relació a la mida de la cèl·lula
- citoplasma poc tenyit
- les cèl·lules, una a una, estan rodejades per la matriu extracel·lular que forma una mena de càpsula al seu voltant

b- fetge (hepatòcit)

- forma polièdrica
- grandària
- nucli gran
- citoplasma tenyit amb l'eosina
- les cèl·lules estan en contacte directe com a mínim per dos cantons, a la resta s'observa un espai que és on es situen els vasos. Però en cap cas, es veuen encapsulades.

- Una manera que tenen els històlegs per caracteritzar les cèl·lules és determinar la relació que hi ha entre el volum del nucli i el volum cel·lular. Tenint en compte que aquestes microfotografies han estat fetes amb l'objectiu de 40x podríeu fer una aproximació d'aquesta relació N/C (nucli/volum cel·lular) dels dos tipus cel·lulars. Penseu que les imatges són en dues dimensions i que per tant, les dades que obtindrem no serien vàlides però si ens pot ajudar a comparar els dos tipus de cèl·lules. Per fer-ho, seleccioneu  de la barra d'eines inferior. Seleccioneu l'objectiu de 40x i en la finestra d'unitats seleccioneu mm, i a  seleccioneu 4. Aleshores amb  resseguiu el perímetre d'una cèl·lula i el del seu nucli. Heu de fer aquesta operació un mínim de 10 cops. Finalment, obriu  i feu els càlculs necessaris. (Heu de fer el quocient: nucli/cèl·lula per a cada cèl·lula mesurada i després fer la mitjana i la mitjana)
- Podeu posar els valors a la taula següent

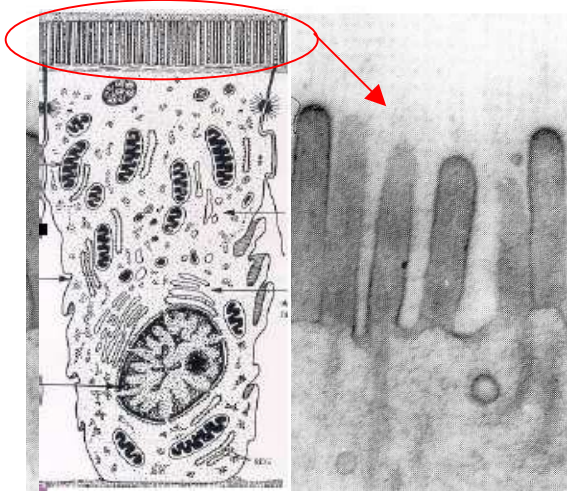


-
- Obriu amb el programa *Motic* la imatge 00?? De la carpeta *Arxius histologia*. Observeu-la. Es tracta d'una imatge de l'epiteli que recobreix la llum de l'intestí prim (la fotografia està feta amb l'objectiu ???x). Podeu veure-hi els enteròcits

Amb les eines del *Motic*, de seleccionar i canviar de color, podeu resseguir el perímetre d'una cèl·lula i del nucli.



Amb les eines del *Motic*, de seleccionar i canviar de color, podeu resseguir el perímetre d'una cèl·lula i del nucli.

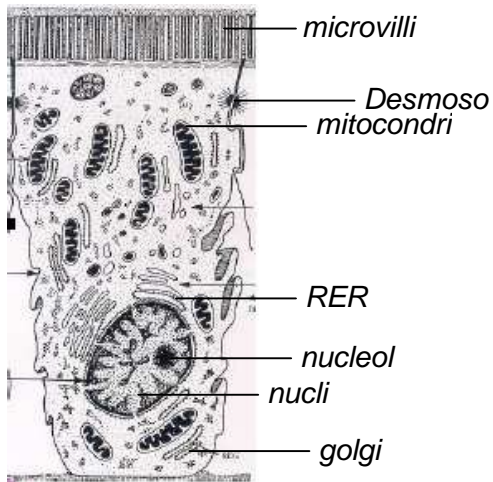


imatge al microscopi electrònic (augments???, estaria bé que siguin conscients de quantes vegades més gran que la realitat ho estan veient)

Aquestes interdigitacions de la membrana són els microvilli, que formen una estructura a la membrana apical, anomenada "raspall"

- Creieu que aquesta estructura té alguna funció específica? Quina?
- Per què creieu que els microvilli només s'observen a la part apical de la cèl·lula?

- En el següent esquema d'ultraestructura podeu anomenar els diferents orgànuls que s'hi observen.
- Quins d'aquests, poden veure's en la imatge 00???
-



Malgrat la nitidesa de la imatge, és una fotografia feta amb el microscopi òptic i per tant l'únic orgànul que podem veure, és el nucli. Com ja hem dit abans, a vegades és tant important pensar en el que es veu com en el que no es veu