

## Nuevas herramientas microscópicas e informáticas para el estudio de procesos biológicos

### Dr. Enrique Leo Portiansky

*La ignorancia genera confianza más frecuentemente que el conocimiento. Son los que saben poco, y no los que saben más, quienes afirman tan positivamente que este o aquel problema nunca será resuelto por la ciencia. **Charles Darwin***

El término «evolución» engloba el conjunto de transformaciones o cambios a través del tiempo, que dio origen a la diversidad de formas y usos de las cosas. Por su parte, la evolución cultural es el cambio a lo largo del tiempo de todos o algunos de los elementos culturales de una sociedad (o una parte de la misma). La evidencia muestra que la cultura (usos, costumbres, religión, valores, organización social, tecnología, leyes, lenguaje, artefactos, herramientas, transportes), se desarrolla por acumulación y transmisión de conocimientos para la mejor adaptación al medio. La tecnología avanza con el conocimiento de nuevos procesos y el conocimiento se incrementa con la ayuda de la nueva tecnología: un proceso de retroalimentación que ha permitido que, con el correr de los tiempos, las sociedades hayan evolucionado en todos los aspectos de la vida.

Si particularizamos en el mundo de la biología y dentro de este, en el campo de lo microscópico, vemos que en poco más de 400 años de historia hemos pasado del descubrimiento básico de lo que en su momento Robert Hooke (1635-1703) denominó celda o **célula**, hasta el conocimiento de lo ultraestructural, bioquímico y atómico.

La historia formal del microscopio se remonta al año 1595 en el que los holandeses Zaccharias y Hans Janssen fabricaron un tubo de 45 cm de largo y 5 de diámetro con una lente convexa en cada extremo (Fig. 1. Izquierda).



The First Compound Microscope (circa 1595)

Zaccharias y Hans Janssen (1595)

Principio del microscopio compuesto y del telescopio



Antony van Leeuwenhoek (1632-1723)

**Fig. 1. Primeros microscopios.** Izquierda: tubo microscópico de la familia Janssen. Derecha: microscopio de van Leeuwenhoek

En el siglo XVII, Antony Van Leeuwenhoek, un pulidor de lentes holandés, fue quien a través de métodos nunca revelados, creó el primer microscopio con tornillos macro y microscópicos, con la posibilidad de aumentar hasta más de 200 veces los objetos que observaba (Fig. 1. Derecha). A él le debemos las primeras descripciones de los protozoarios, las células sanguíneas, el movimiento de los espermatozoides y muchas otras estructuras vivientes y no vivientes. Podría decirse que, de acuerdo a la minuciosidad de sus descripciones, es el padre de la morfometría celular.

Los microscopios fueron posteriormente evolucionando. Hooke (1670) fabricó un microscopio que surgió de la combinación del de Janssen y el de Van Leeuwenhoek, que estaba compuesto por un ocular, un objetivo y un tornillo de enfocado. A partir de ese momento comenzó una carrera vertiginosa en la fabricación de microscopios, que iban mejorando la calidad de las imágenes y la resolución de los objetos observados. Simultáneamente comenzaron a aparecer las llamadas tinciones histoquímicas que le iban dando identidad particular a las células y los tejidos. Asimismo, la medicina comenzó a hacer uso de las ventajas de la microscopía y fue así como pudo relacionarse la presencia de pequeños organismos, con las causas de las enfermedades. El paradigma de las enfermedades cambió radicalmente a partir de la introducción del microscopio. Antes de poder observar estructuras tan pequeñas, las enfermedades habían sido consideradas como de causa invisible, de generación espontánea y una serie de explicaciones que han sido consideradas como no científicas.

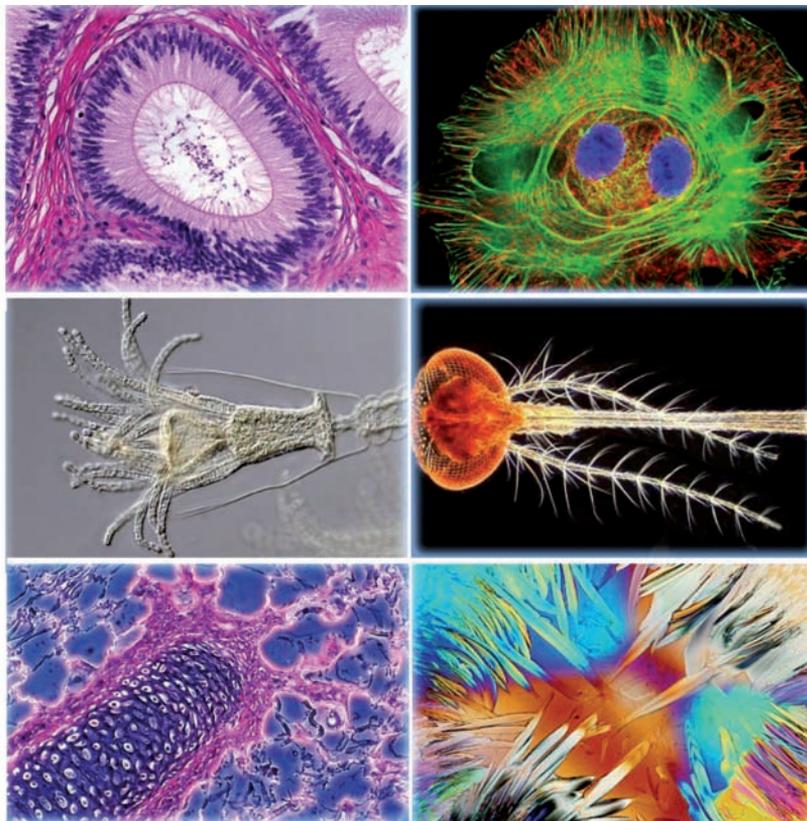
La evolución de la óptica y las ciencias afines ha arrojado sorprendentes resultados en materia de avances en medicina y biología. Los microscopios ópticos han sido modificados una y otra vez hasta dar con variantes según el tipo las sustancias implicadas en la tinción de los cortes. Así es como aparecieron en el mercado las variantes del microscopio de fluorescencia, que al trabajar con una luz generada por un arco voltaico en un vidrio cerrado al vacío conteniendo mercurio o argón, permite eléctricamente estimular moléculas visibles al ojo humano. De esta forma, se consigue una mayor resolución de los objetos observados. A partir del principio de fluorescencia aparecieron otros tipos de microscopios como el pseudoconfocal, el confocal y el confocal multifotónico. En estos últimos dos, la fuente de luz la brinda un haz de rayos láser. En los últimos 10 años comenzó a implementarse la microscopía de fuerza atómica para la obtención de mapas tridimensionales de resolución nanométrica en los tres ejes. La Fig. 2 muestra la diversa variedad de microscopios que se usan en la actualidad.

Variantes de estos mismos microscopios son los que permiten la observación de objetos en campo oscuro, mediante contraste de fase o a través de la polarización de la luz. La invención de los sistemas de contraste de fase, permiten visualizar una cantidad de microorganismos y bacterias vivas, sin la necesidad de que las muestras sean inertes y sin la necesidad de teñir las mismas para su observación. El campo oscuro permite iluminar lateralmente

el espécimen sin afectar su medio. Tanto el fitoplancton marino como los microparásitos pueden ser observados mediante este método. También surgió en este siglo, el contraste diferencial de interferencia (DIC-Nomarski) diseñado para observar relieves de especímenes muy difíciles de manejar. En la actualidad es utilizado con asiduidad en los tratamientos de fertilización in-vitro. La microscopía de luz polarizada es una técnica que mejora el contraste de los objetos y que puede ser utilizada para el análisis cuantitativo y cualitativo de las muestras ópticamente anisótropas (Fig. 3). Dependiendo de la aplicación, surgieron también los diferentes tipos de microscopios hasta llegar a aquellos que no se parecen en nada a los microscopios convencionales, pero que realizan las mismas tareas, y todo de manera automatizada.



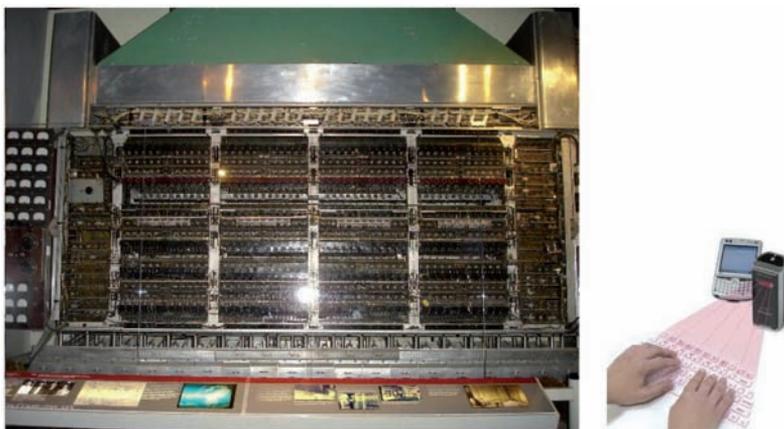
**Fig. 2. Distintos tipos de microscopios utilizados en la actualidad.** Arriba izquierda: Esteriomicroscopio de luz dicróica y luz fluorescente. Arriba derecha: Microscopio directo de luz dicróica y luz fluorescente con comandos automatizados. Medio. Microscopio invertido láser confocal. Abajo izquierda: Microscopio de fuerza atómica. Abajo derecha: Unidad microscópica funcional.



**Fig. 3.** Diferentes técnicas microscópicas de acuerdo a la iluminación o sistemas ópticos. Arriba izquierda: Campo claro. Arriba derecha: Fluorescencia. Medio izquierda: DIC-Nomarski. Medio derecha: Campo oscuro. Abajo izquierda: Contraste de fase. Abajo derecha: Luz polarizada.

De la misma manera que fueron evolucionando los microscopios, la tecnología logró crear y luego avanzar en la construcción de equipos capaces de realizar cálculos, de forma en principio, analógica y posteriormente digital. Si bien desde tiempos milenarios existen sistemas de cálculo como el ábaco chino, la Pascalina - sistema mecánico de sumas inventado por Blas Pascal a mediados del siglo XVII - y la máquina diferencial de Charles Babbage - una calculadora mecánica diseñada para tabular funciones polinómicas (principios del siglo XIX) -, no fue hasta 1946, cuando se diseñó el ENIAC (Electronic Numerical Integrator And Computer - Computador e Integrador Numérico Electrónico), que el mundo de la informática comenzó a tomar la relevancia que presenta en nuestros días (Fig. 4. Izquierda). A partir de ese momento los avances fueron trepidantes. De la perfoverificación se pasó a la programación en red de los sistemas digitales; del almacenamiento en papel se pasó al

almacenamiento digital en cintas magnéticas, que luego se convirtieron en discos duros mecánicos, diskettes, discos (CD-DVD) hasta llegar a nuestros días con la memoria USB (Universal Serial Bus), dispositivo de almacenamiento masivo que utiliza memoria flash (que permite que múltiples posiciones de memoria sean escritas o borradas en una misma operación de programación mediante impulsos eléctricos), para guardar la información que se puede requerir en el futuro. Y los sistemas de cómputo también fueron cambiando de tamaño: del ENIAC que ocupaba una habitación entera, a las calculadoras programables de bolsillo; de prestación: sistemas en red centralizados con terminales conectadas a través de cables, hasta las computadoras personales; de conectividad: de las conexiones por cable transoceánico, hasta redes inalámbricas con conexión satelital. Y finalmente, computadoras virtuales, con una central inteligente que se transporta como un libro bajo el brazo (Fig. 4. Derecha).



**Fig. 4. Desarrollo de los sistemas de cómputo.** Izquierda: sistema ENIAC con programación por perforación y sistema de cómputos que podía calcular la potencia 5000 de un número de 5 cifras en términos de 1,5 segundos. Derecha: computadora virtual basada en una central inteligente con proyección de teclado y otros periféricos.

Afortunadamente, las diferentes tecnologías avanzan en sus propios carriles pero a lo largo de su camino se van entrelazando con otras, de donde surgen nuevas posibilidades para cada una de ellas.

Las cámaras fotográficas fueron utilizadas no solo para retratar paisajes o personas, sino que, con el avance de los sistemas microscópicos, se pudieron incorporar al sistema óptico de los mismos y permitieron capturar imágenes estáticas de cortes fijos. Estas cámaras fotográficas fueron posteriormente reemplazadas por cámaras de video digital que permiten transportar la imagen microscópica fija o animada a una computadora. Ese fue el eslabón perdido que le dio un impulso astronómico al avance de las tres tecnologías: microscopio-cámara-computadora. Los microscopios se fueron actualizando, las cámaras mejoraron su sensibilidad y sistemas de captura y las computadoras se volvieron más veloces.

Y a todo esto se suma el avance de las comunicaciones, principalmente aquellas de tipo digital a través de las computadoras, como es el caso de INTERNET. Esta herramienta ha permitido que las imágenes microscópicas capturadas por la cámara de video y almacenadas en la computadora, puedan ser transportadas a través de la red a cualquier parte del mundo, en tan solo segundos. Fue así como nació el concepto de microscopía virtual, donde el operador del microscopio muestra la imagen del corte a todos aquellos que estén conectados al sistema a través de INTERNET, en tiempo real.

El nuevo milenio nos depara nuevos retos como investigadores del mundo microscópico. En nosotros está el aprovechar la tecnología existente y generar nuevos requerimientos, para que esta también se desarrolle. Todo por el avance del conocimiento.

*No puedes depender de tus ojos,  
cuando tu imaginación está fuera de  
foco. **Charles Darwin***