

LLIÇÓ INAUGURAL
DEL CURS ACADÈMIC
2013-2014



ELS INICIS DE LA MICROSCÒPIA ELECTRÒNICA A CATALUNYA

LLIÇÓ INAUGURAL DE LA
Dra. Mercè Durfort

CATEDRÀTICA
DE LA FACULTAT DE BIOLOGIA
DE LA UNIVERSITAT DE BARCELONA



UNIVERSITAT DE BARCELONA

Magnífic Senyor Rector,
Senyor Degà de la Facultat de Biologia,
personal d'administració i serveis,
estudiants, amigues i amics,

PROEMI

En iniciar aquesta lliçó inaugural del curs 2013-2014 vull deixar constància del meu agraïment al rector i al seu equip de govern, així com al degà de la meva facultat i a tot l'equip deganal, per haver-me honorat amb aquest encàrrec que vindrà a ser el meu acomiadament per la porta gran d'aquest magnífic edifici d'Elies Rogent, per bé que hi haurà sempre un cordó umbilical que em mantindrà unida a la nostra *alma mater*, fins que la inevitable mort neuronal desactivi el meu disc dur.

Aquest auditori el tinc sempre present per haver-hi viscut fets remarcables de la meva vida universitària: per haver-hi fet l'examen d'ingrés a la universitat (experiència que psicològicament marca molt), per haver-hi rebut el premi extraordinari de doctorat i per haver-hi viscut les interminables hores de les sessions claustrals (sobretot, les de votació de les esmenes dels articles de l'Estatut). També hi he presenciat els emotius actes de nomenament de doctors *honoris causa*, dels quals recordaré únicament dos casos per motius ben diferents: l'any 1982, i proposat per la Facultat de Medicina, el rebé el Dr. François Jacob, Premi Nobel de Fisiologia o Medicina (1965), en un acte que va ser precedit per una manifestació reivindicativa, i el de la soprano Victòria dels Àngels (1987), apadrinada per l'inoblidable Oriol Martorell.

També vull recordar la sessió darwiniana protagonitzada pels tres grans mestres de la meva facultat, els professors Ramon Margalef, Ramon

Parés i Antoni Prevosti, i en què el Paranimf es va omplir de gom a gom de professors i estudiants, tots pendents de llurs explicacions. Sessions d'homenatge per motius de jubilació com la que es va fer per al rector Josep Maria Bricall, entre d'altres de molt entranyables. Finalment, dels molts actes inaugurals a què he assistit, vull fer esment al de l'any 1981, principalment per dos motius: per la temàtica que s'hi va tractar —que és i ha estat sempre de màxima actualitat per a tots nosaltres—, *Sobre les formes de l'activitat universitària*, i pels professors que hi van intervenir, Antoni M. Badia i Margarit, Jacint Corbella i Ramon Margalef.

L'elecció del tema d'aquesta lliçó s'ha basat fonamentalment en el fet que l'adquisició dels dos primers microscopis electrònics de la Universitat de Barcelona, l'any 1964, ara farà cinquanta anys, va permetre a joves professors iniciar unes línies de recerca abans impossibles de fer a casa nostra, com ara la redescoberta de la cèl·lula. La meua tesi doctoral va ser la primera, eminentment de caire ultraestructural, que es va presentar a la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona relacionada amb aquesta matèria el 1973. Com veuran, en el decurs del meu parlament es farà palès que aquesta universitat ha estat l'epicentre de la microscòpia electrònica a Catalunya.

INTRODUCCIÓ

UNA PINZELLADA SOBRE ELS ANTECEDENTS DEL MICROSCOPI ELECTRÒNIC: EL MICROSCOPI ÒPTIC O FOTÒNIC

La curiositat és, sens dubte, el motor que impulsa a investigar a tots els científics, tant els humanistes com els de ciències experimentals i de la salut. És la curiositat la que va motivar a l'italià Galileo Galilei a inventar el telescopi (1610), per tal d'apropar-se als cossos celestes i poder contemplar els cràters lunars, els satèl·lits de Júpiter, les fases de Venus, així com els estels de la Via Làctia, entre altres components de l'Univers. Aquesta mateixa curiositat és la que va impulsar l'holandès Hans Janssen i el seu fill Zacharias a inventar, jugant amb lents de vidre com Galileu, el microscopi compost per engrandir els detalls minúsculs (1590). Curiosament no

hi ha unanimitat sobre qui va ser l'inventor de les dues menes d'instruments, per bé que he esmentat els que apareixen més freqüentment en la bibliografia sobre el tema. Malgrat que en aquella època ja existien les patents, l'ambigüitat a l'hora de respectar-les estava a l'ordre del dia. Així, alguns autors consideren que l'invent del telescopi va ser obra de la casualitat, quan el 1608 Lippershey, combinant lents, va apropar objectes llunyans a la seva visió.

Cal apuntar la figura del també holandès Anton van Leeuwenhoeck, que entre 1673 i 1723 va construir uns quatre-cents microscopis senzills i va poder observar per primera vegada els espermatozoides de diferents espècies, els glòbuls vermells de la sang i els bacteris. Enviava les seves troballes a Robert Hooke i aquest les estudiava, les hi comentava i finalment les traslladava a la Royal Academy of Microscopy de Londres. Es conserva la correspondència dels dos microscopistes, que és una obra de consulta fonamental per a qualsevol historiador de la ciència.

Els dos instruments, el telescopi i el microscopi, van ser perfeccionats per nombrosos físics: millorant la qualitat dels vidres que feien servir per fabricar les lents i el seu tall, buscant la curvatura més adient, ideant condensadors per concentrar la llum, alhora que també en va evolucionar la part mecànica.

En el camp de la microscòpia arribem al segle XIX amb Carl Abbé, físic que treballava a la casa Zeiss i que aconseguí una qualitat òptica excel·lent. Va formular els paràmetres que intervenien en la formació de la imatge i la manera com combinar-los per obtenir una major resolució de les imatges observades.

Arribats a aquest punt, hom creia que no es podia dotar l'aparell de més millores, però no va ser així. Frederik Zernike, Premi Nobel de Física (1953), va inventar el microscopi de contrast de fases (1932), el qual va permetre fer observacions vitals d'una qualitat i una resolució sorprenents.

En substituir la llum de longitud normal per una de més curta, com és la de la llum ultraviolada, es va obrir un altre camp ple de possibilitats quan en paral·lel es van crear sèries d'anticossos contra proteïnes que permeteren desemascarar òpticament el citoesquelet que totes les cèl·lules tenen més o menys desenvolupat. La immunofluorescència havia nascut i la continuem aplicant en l'estudi de cèl·lules sanes i patològiques, cultivades de manera escaient.

Cal subratllar que l'avenç de la física en el camp de l'òptica i també de la mecànica, junt amb el disseny de nous compostos químics (colorants d'anilina i fluorocroms), van donar una informació molt més àmplia del microcosmos cel·lular que va permetre entendre'n el funcionament de manera parcial. Els físics ens sorprenen constantment amb el disseny d'aparells d'observació cada vegada més perfeccionats i emprant fonts d'il·luminació que donen informacions que no sospitàvem, com ara en el cas del microscopi confocal (Minsk, 1957), que treballa amb làser, per la qual cosa la focalització de la llum és màxima i fa possible obtenir imatges fluorescents de màxima qualitat i contrast.

UNA PINZELLADA SOBRE EL MICROSCOPI ELECTRÒNIC

Aquest panorama, però, va canviar radicalment quan es van aplicar els descobriments de De Broglie (1924) sobre les radiacions electromagnètiques i quan Busch (1926) va aconseguir crear un camp electrostàtic per poder focalitzar un feix d'electrons sobre una mostra. Aquests fets van ser bàsics perquè Knoll, Ruska i Van Borries fabriquessin les primeres lents magnètiques.

El primer microscopi electrònic, anomenat hipermicroscopi, va ser construït per Bruche i Johansson i instal·lat a l'Institut d'Alta Tensió de l'Escola Politècnica de Berlín (1932). D'altra banda, Ruska i Knoll van fer servir el primer prototipus de microscopi electrònic comercialitzat per la casa Siemens i n'obtingueren les primeres imatges (1932).

A partir d'aquest moment, els físics alemanys, canadencs, nord-americans, i molt més endavant els japonesos, van perfeccionar el microscopi electrònic, treballant amb diferències de potencial cada vegada més elevades (80 kV, 100 kV, 200 kV, 300 kV), i així van aconseguir millors resolucions, detalls més contrastats. En les dues darreres dècades la part mecànica ha millorat de manera sorprenent. La incorporació de càmeres digitals i d'ordinadors fan molt més còmoda l'observació i la captació d'imatges.

A part dels microscopis electrònics de transmissió i de rastreig convencionals, se n'han construït altres modalitats com ara el microscopi ambiental i el d'efecte túnel, dissenyat per Binnig i Rohrer (1986), el qual pot treballar al buit, a l'aire, a l'aigua, i ha donat uns resultats excel·lents per a l'estudi, entre d'altres, dels nanotúbuls, i la cursa encara no ha acabat.

Mentre es perfeccionaven els microscopis, es van haver de redissenyar els protocols de preparació de les mostres, particularment complexes quan cal estudiar-les amb el microscopi electrònic de transmissió. Com que es treballa amb electrons, cal que la peça sigui totalment deshidratada, que els talls siguin ultrafins per poder ser travessats pels electrons i que se cerquin uns mitjans adients per imprimir-los contrast (sals de metalls).

Els instruments necessaris per a l'obtenció de seccions ultrafines que puguin ser observades pels microscopis electrònics de transmissió també van perfeccionar-se a partir dels assajos de Von Ardenne, de Claude i Blum (1947), de Servall i Porter (1953). L'ultramicrotòtom dissenyat per Porter-Blum (1953) va permetre avançar, per primera vegada, la peça que calia tallar per dilatació tèrmica, cosa que fins aleshores es feia per un avenç mecànic i, per tant, els talls obtinguts tenien un gruix més irregular.

El perfeccionament de l'aparell avançava en paral·lel al disseny de protocols cada vegada més eficients per conservar les característiques fisicoquímiques de les cèl·lules i els teixits que es volien estudiar. Palade i Sjöstrand van tenir un paper cabdal en la trobada de solucions fixadores i també d'agents contrastants —normalment, sals metàl·liques—, les quals van permetre redescobrir la cèl·lula i el seu microcosmos, és a dir: els seus compartiments vesiculomembranosos i les relacions que mantenen entre ells.

Claude, De Duve i Palade, que van obtenir el Premi Nobel de Fisiologia o Medicina l'any 1974, van anar un pas més enllà. Per a determinats estudis, van veure la necessitat de fragmentar les cèl·lules a fi de poder-ne aïllar cada un dels diferents compartiments. D'aquesta manera va néixer la ultracentrifugació diferencial, mercès a la qual es van descobrir, entre d'altres, els lisosomes i els peroxisomes (De Duve, 1949 i 1965, respectivament). Així, la microscòpia electrònica va permetre redescobrir els diferents compartiments cel·lulars que havien estat molt ben descrits amb el microscopi òptic.

Ara bé, convé recalcar que el microscopi òptic no serà mai un instrument obsolet. L'observació vital és imprescindible en molts estudis i cal fer-la amb el microscopi fotònic. Pensem un moment en el procés de fecundació assistida en què mitjançant una micropipeta s'introdueix un espermatozoide dins d'un oòcit i s'esdevé la fusió dels nuclis, femení i masculí, i la cèl·lula resultant, el zigot, inicia la seqüència de divisions cel·lulars que donaran lloc a un blastòcit que podrà ser implantat a l'úter. Cal observar aquesta pel·lícula en viu, amb el microscopi òptic.

També podem pensar en l'estudi del comportament de cèl·lules en cultiu, amb presència de diferents reactius, partícules o microorganismes, o en una observació més senzilla com és la de mirar una gota d'aigua procedent d'un llac o un estany, visió que ens permetrà gaudir de «l'encís del món dels lilliputencs», com el batejà Marcel Roland (1930) en una obra senzilla, encantadora i apassionant que de ben segur que faria les delícies de qualsevol estudiant de primària i secundària i fins i tot dels primers cursos de Biologia, si tinguessin temps de deixar una estoneta l'ordinador per veure imatges reals, no virtuals.

ELS INICIS DE LA MICROSCÒPIA ELECTRÒNICA A CATALUNYA

El primer microscopi electrònic instal·lat a Catalunya va ser al passeig de Sant Joan de Barcelona, a l'Institut Antituberculós Francesc Moragas, conegut popularment com Dispensaris Blancs i creat per la Caixa de Pensions de Barcelona. L'any 1932 van nomenar director del centre el Dr. Conrad Xalabarder (1899-1979), eminent microbiòleg interessat en totes les novetats tecnològiques, que va aconseguir que es comprés un microscopi electrònic de transmissió AEG-Zeiss EM-8 per estudiar els bacteris (1952), principalment el bacil de Koch. L'instrument treballava a 50 kV, tenia una resolució de 30Å i arribava a donar 100.000 augments.

En aquell moment les imatges quedaven impressionades en plaques fotogràfiques i, si bé el revelatge era feixuc, el Dr. Xalabarder en va aconseguir una col·lecció remarcable. Dels resultats obtinguts van sortir-ne vint-i-cinc publicacions, van aparèixer en les Publicacions de l'Institut Antituberculós (fundades el 1934) i en revistes estrangeres, i també en van derivar dues tesis doctorals.

Els Dispensaris Blancs es van tancar l'any 1978 i el microscopi electrònic de transmissió Jeol 1000 B que hi havia va ser cedit a l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

Vull destacar que el Dr. Xalabarder també forma part de la història de la Societat Catalana de Biologia per diversos motius, com ara el fet que deixà l'auditori del centre que dirigia per les reunions semiclandestines que es van reprendre el 1962.

Durant les seves observacions, el Dr. Xalabarder sovint era acompanyat del Dr. Lluís Vallmitjana, catedràtic d'Histologia Vegetal i Animal de la Facultat de Ciències de la Universitat de Barcelona, el qual, a part d'aprendre, inventava estris de tota mena per intentar millorar el rendiment de la màquina.

No és estrany que, d'aquesta relació amb el Dr. Xalabarder, el professor Vallmitjana volgués que la nostra universitat tingués un microscopi electrònic. El Dr. Lluís Bru, catedràtic de Física de la Universitat Complutense de Madrid, havia aconseguit un microscopi electrònic que es va instal·lar sota la seva direcció a la Facultat de Ciències de Madrid (1963), el qual era per a totes les disciplines de ciències de la salut i de ciències experimentals que el necessitaven.

El professor Lluís Vallmitjana, prenent la idea del Dr. Bru, va promoure una aliança entre els quatre catedràtics de la Facultat de Ciències. Es va crear una comissió (1956) per estudiar la possible compra d'un microscopi electrònic formada pels catedràtics: els doctors Lluís Vallmitjana (Naturals), Mariano Velasco (Física), José Ibarz (Química) i Alfredo San Miguel (Geologia). Posteriorment s'hi afegirien els doctors Josep Maria Codina (Física) i Manuel Font Altaba (Geologia).

Es van fer múltiples gestions fins que l'any 1964 la Universitat de Barcelona obtingué, a través del FIU, un crèdit del Ministeri del Govern espanyol de tres milions cinc-cents mil pessetes per posar en marxa un Gabinet de Microscòpia Electrònica.

El 17 de gener de 1964 el rector Santiago Alcobé i Noguer nomenà la comissió que endegà el Servicio Universitario de Microscopia. Era formada pels doctors Josep Maria Codina (Física), Manuel Font Altaba (Geologia), Jaume Gállego (Farmàcia), Julio García Sánchez-Lucas (Medicina), Josep M. García Marquina (Farmàcia), Francisco García Valdecasas (Medicina) i Lluís Vallmitjana (Biologia).

El desembre d'aquell mateix any es compraren dos microscopis electrònics de transmissió Philips EM-200 i Tesla BS-242-D, que van romandre embalats mentre s'adequaven unes dependències al pati de Ciències de l'Edifici Històric. La instal·lació i posada en funcionament del Philips EM-200 va durar des de l'abril del 1965 fins al juliol del 1966.

Va ser justament el 27 de juliol de 1966 quan es va inaugurar el Servei de Microscòpia Electrònica en presència del ministre d'Educació i Ciència,

Dr. Manuel Lora Tamayo, catedràtic de Química Orgànica de la Facultat de Ciències de la Universitat Complutense de Madrid. En aquella època el rector de la nostra universitat era Francisco García Valdecasas, catedràtic de la Facultat de Medicina. Actualment aquest servei forma part dels Centres Científics i Tecnològics de la Universitat de Barcelona (CCiTUB).

Les primeres imatges obtingudes amb el microscopi electrònic Philips EM-200 daten del 14 d'octubre de 1966. El desembre d'aquell any el professor Lluís Vallmitjana va ser nomenat director del servei (1966-1984). En jubilar-se, el càrrec de director fou confiat al Dr. Robert Bargalló (1984-2001), biòleg i enginyer tècnic electrònic que es va fer càrrec, des dels inicis, del maneig i manteniment de l'aparell. La doble titulació de Bargalló va ser provincial.

Robert Bargalló ensenyà el que sabia al biòleg Ramon Fontarnau, que més endavant s'encarregà del primer microscopi de rastreig Cambridge Stereoscan S4, a Espanya. Poc més tard s'hi incorporà un altre biòleg, Jordi Camps i López. La ultramicrotomista Almudena Garcia hi entrà el 1970 i és l'única d'aquesta etapa inicial que encara roman al Servei de Microscòpia Electrònica. Del 1966 al 1968 la doctora en Física Immaculada Herrera, de tornada del Japó (hi havia estat per fer un aprenentatge exhaustiu del microscopi electrònic), va formar part de l'equip inicial. Hi va treballar fins que es traslladà a Madrid, on va centrar la seva recerca en malalties víriques. Va ser cap del Servicio de Microscopia Electrónica del Centro Nacional de Microbiología a Mahadahonda i presidenta de la Sociedad Española de Microscopia Electrónica del 1980 al 1994.

L'any 1987 es crearen el Serveis Científico-Tècnics (SCT) per la Junta de Govern de la UB, que integraren les infraestructures i el funcionament del Servei de Microscòpia Electrònica i el d'Espectroscòpia, tots dos sota la direcció de la Dra. Montserrat Baucells.

Com veurem a continuació, la Universitat de Barcelona ha estat l'epicentre de la microscòpia electrònica de la majoria dels campus universitaris de Catalunya.