

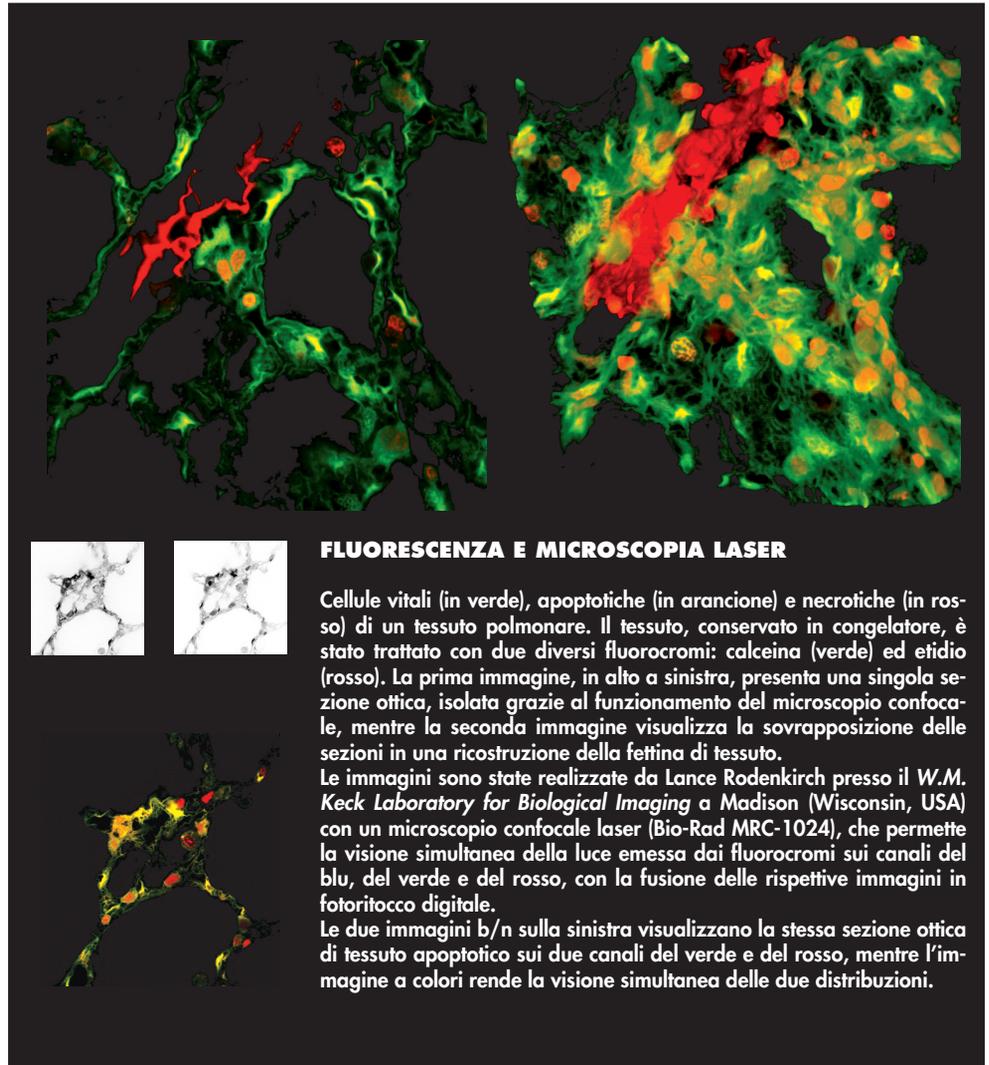


Al buio, per essere visti, basta una minima quantità di luce. Per questo ladri e maghi usano vestirsi di nero e per questo, in tempo di guerra, si sta attenti a non accendere fuochi di notte. Ma questa è anche la ragione del successo della microscopia a fluorescenza e in particolare dei suoi sviluppi nella microscopia confocale laser. Se il colorante emette luce, l'osservazione microscopica può infatti svolgersi al buio e una quantità anche minima di sostanza può rivelare dettagli che difficilmente possono essere evidenziati con le tradizionali tecniche di colorazione.

Quello che normalmente chiamiamo "colore" di una certa sostanza altro non è che la porzione della radiazione visibile che viene riflessa dalle molecole che la compongono. Il fenomeno della fluorescenza si differenzia da quello della riflessione perché nelle sostanze fluorescenti, in risposta a una particolare radiazione luminosa incidente, si produce una vera e propria emissione di luce. Questo, in particolare, accade ad alcune molecole di crescente utilizzo nelle scienze biomediche che vengono per questo chiamate fluorocromi: se opportunamente eccitate da una radiazione luminosa incidente, tornando allo stato di equilibrio emettono energia sotto forma di luce.

La luce emessa dai fluorocromi ha una frequenza tanto più specifica quanto più precisa è la frequenza della radiazione incidente. Siccome la luce laser utilizzata al microscopio confocale è caratterizzata tra l'altro dal fatto di avere un'unica frequenza d'onda, la strumentazione digitale utilizzata in questi microscopi può riconoscere e raccogliere esclusivamente la radiazione emessa da quello specifico fluorocromo, "facendo il buio" su tutte le altre emissioni.

Di microscopia confocale laser



FLUORESCENZA E MICROSCOPIA LASER

Cellule vitali (in verde), apoptotiche (in arancione) e necrotiche (in rosso) di un tessuto polmonare. Il tessuto, conservato in congelatore, è stato trattato con due diversi fluorocromi: calceina (verde) ed etidio (rosso). La prima immagine, in alto a sinistra, presenta una singola sezione ottica, isolata grazie al funzionamento del microscopio confocale, mentre la seconda immagine visualizza la sovrapposizione delle sezioni in una ricostruzione della fettina di tessuto.

Le immagini sono state realizzate da Lance Rodenkirch presso il W.M. Keck Laboratory for Biological Imaging a Madison (Wisconsin, USA) con un microscopio confocale laser (Bio-Rad MRC-1024), che permette la visione simultanea della luce emessa dai fluorocromi sui canali del blu, del verde e del rosso, con la fusione delle rispettive immagini in fotoritocco digitale.

Le due immagini b/n sulla sinistra visualizzano la stessa sezione ottica di tessuto apoptotico sui due canali del verde e del rosso, mentre l'immagine a colori rende la visione simultanea delle due distribuzioni.

abbiamo già parlato nel numero di marzo dello scorso anno. Si era visto come questi moderni microscopi permettano di realizzare delle sezioni ottiche del campione osservato, in modo da metterne a fuoco diversi piani e riguadagnare in post-produzione quella profondità di campo di cui la microscopia ottica tradizionale ha sempre sofferto. L'immagine presentata in quell'occasione era stata però realizzata osservando un campione colorato con un unico colorante (una molecola espressa dallo stesso organismo osservato, che era un topo geneticamente modificato in modo da esprimere quel particolare

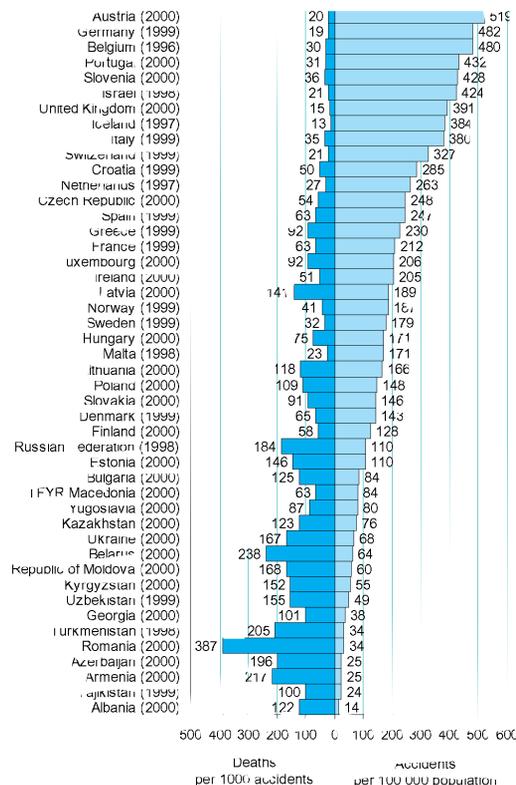
fluorocromo su specifiche cellule nervose). In realtà, come si può vedere sfogliando qualsiasi rivista di biologia cellulare, la microscopia confocale produce bellissime immagini a due o più colori. Questo può accadere perché la luce emessa da diversi fluorocromi viene raccolta separatamente su diversi canali. Da una stessa inquadratura si ottengono cioè varie immagini in toni di grigio, che rappresentano ognuna la distribuzione dell'intensità della luce a una determinata frequenza. L'immagine finale a colori della sezione viene poi ricostruita al computer, fondendo le immagini ottenute sui diversi cana-

li. Rendendo diversamente fluorescenti proteine diverse (allo scopo, si possono utilizzare tecniche diverse di immunostochimica, biotecnologia o altro ancora), è possibile ottenere coloratissime immagini in cui vengono evidenziati processi e strutture che si producono nelle cellule e nei tessuti e che non potrebbero essere osservati altrimenti. Come accade, per esempio, nell'esperimento raccontato dalle immagini che presentiamo in questo numero, in cui si è cercato di seguire il fenomeno della morte programmata delle cellule (apoptosi) in un tessuto polmonare conservato in congelatore.



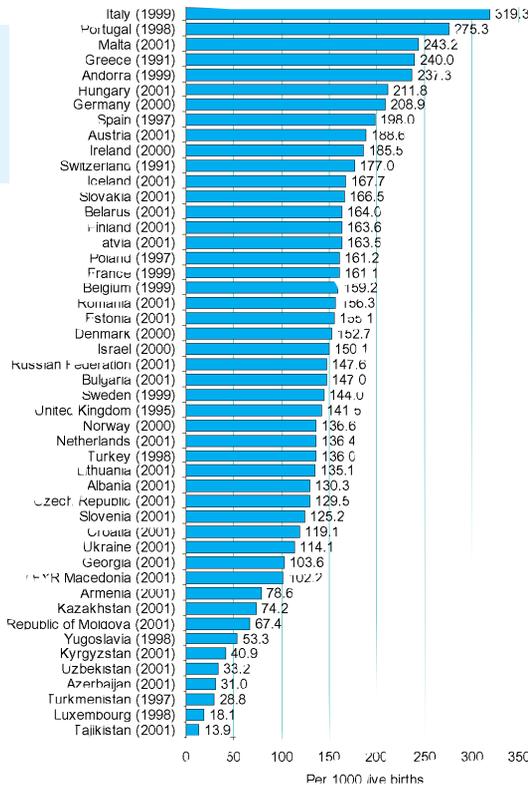
SPUNTI DI RIFLESSIONE DA "ATLANTE DELLA SALUTE IN EUROPA"

Decessi da incidenti stradali

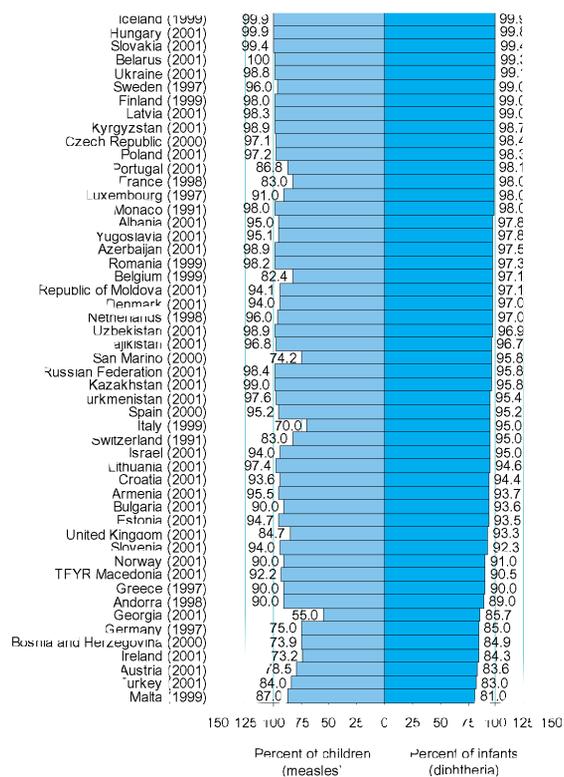


da: Atlas of Health in Europe
www.euro.who.int/document/E79876.pdf

Parti con cesareo



Copertura vaccinale per morbillo e difterite



Numero medici

