



**EFFECTES ANTIMITÒTICS
DE LES ESPONGES *CRAMBE*
CRAMBE I *AXINELLA SP.***



ABSTRACT

Aquest projecte se centra en l'estudi de molècules antimitòtiques, les quals, s'utilitzen en la quimioteràpia per tractar el càncer. Aquestes molècules són capaces de frenar la proliferació descontrolada de les cèl·lules i s'obtenen de diverses fonts naturals, la més desconeguda, el fons marí. En el treball, s'investiga la presència de substàncies antimitòtiques de dues esponges marines en concret: l'*Axinella sp.* i la *Crambe crambe*.

Per fer-ho, s'han preparat dissolucions de les esponges amb aigua de mar. En elles s'han afegit gàmetes extrets d'erizons de mar *Paracentrotus lividus* per veure com cursa el seu desenvolupament embrionari.

Després d'analitzar els resultats, s'ha determinat la presència de substàncies que han dificultat les mitosis dels embrions o que fins i tot les han aturades, entre elles, antimitòtics que, probablement, són els que han inhibit les primeres divisions cel·lulars. També, s'ha pogut determinar que l'esponja *Crambe crambe* presenta un major potencial antimitòtic que l'esponja *Axinella sp.*, a causa de les seves respectives formes de creixement. Per tant, estem parlant de noves substàncies antimitòtiques que podrien contribuir en la cura del càncer.

Este proyecto se centra en el estudio de moléculas antimitóticas, las cuales, se utilizan en la quimioterapia para tratar el cáncer. Estas moléculas son capaces de frenar la proliferación descontrolada de las células y se obtienen de varias fuentes naturales, la más desconocida, el fondo marino. En el trabajo, se investiga la presencia de sustancias antimitóticas de dos esponjas marinas en concreto: la *Axinella sp.* y la *Crambe crambe*.

Para ello, se han preparado disoluciones de las esponjas con agua de mar. En ellas se han añadido gametos extraídos de erizos de mar *Paracentrotus lividus* para ver cómo cursa su desarrollo embrionario.

Después de analizar los resultados, se ha determinado la presencia de sustancias que han dificultado las mitosis de los embriones o que incluso las han frenado, entre ellas, antimitóticas que, probablemente, son los que han inhibido las primeras divisiones celulares. También se ha podido determinar que la esponja *Crambe crambe* presenta un mayor

potencial antimitótico que la esponja *Axinella sp.*, a causa de sus respectivas formas de crecimiento. Por tanto, estamos hablando de nuevas sustancias antimitóticas que podrían contribuir en la cura del cáncer.

This project focuses on the study of antimitotic molecules, which are used in chemotherapy to treat cancer. These molecules are able to stop the uncontrolled proliferation of cells and are obtained from several natural sources, the least known, the seabed. The study investigates the presence of antimitotic substances from two marine sponges in particular: *Axinella sp.* and *Crambe crambe*.

To do this, solutions of sponges have been prepared with seawater and gametes extracted from sea urchins *Paracentrotus lividus* have been added to them to see how their embryonic development occurs.

After analyzing the results, it has been determined the presence of substances that have hindered the mitosis of the embryos or that they have even stopped them, including antimitotics that have probably inhibited the first cell divisions. Also, it has been determined that *Crambe crambe* sponge has a greater antimitotic potential than *Axinella sp.*, due to their respective growth forms. Therefore, we are talking about new antimitotic substances that could contribute to the cure of cancer.

ÍNDEX

1. INTRODUCCIÓ.....	6
2. HIPÒTESI.....	7
3. MARC TEÒRIC.....	8
3.1. EL CÀNCER.....	8
3.1.1. INCIDÈNCIA.....	8
3.1.2. EL CICLE CEL·LULAR.....	10
3.1.3. CARCINOGENESI.....	13
3.1.4. SIGNES DISTINTIUS DEL CÀNCER.....	14
3.1.5. LA QUIMIOTERÀPIA.....	16
3.1.6. ELS ANTIMITÒTICS.....	17
3.1.6.1. Principals antimitòtics en el tractament del càncer.....	18
3.1.6.2. Organismes amb molècules antimitòtiques.....	20
3.1.6.3. Els porífers: importància farmacològica i espècies <i>Crambe crambe</i> i <i>Axinella sp.</i>	21
3.2. INVERTEBRATS NO ARTRÒPODES; EQUINODERMS.....	23
3.2.1. FAMÍLIA DELS INVERTEBRATS NO ARTRÒPODES.....	23
3.2.1.1. Classes dels invertebrats no artròpodes.....	23
3.2.2. EQUINODERMS I ERIÇONS DE MAR.....	24
3.2.2.1. Anatomia externa dels eriçons de mar.....	25
3.2.2.2. Anatomia interna dels eriçons de mar.....	25
3.2.2.3. Classes d'eriçons de mar i <i>Paracentrotus lividus</i>	26
3.2.2.3.1. Els equinacis.....	27
3.2.2.3.2. Els arbàcids.....	27
3.2.2.4. <i>Paracentrotus lividus</i>	27
3.2.2.5. Reproducció dels eriçons de mar.....	28
3.2.2.6. Desenvolupament embrionari dels eriçons de mar.....	28
4. METODOLOGIA I DESENVOLUPAMENT PRÀCTIC.....	31
4.1. PROTOCOL 1: OBTENCIÓ DE <i>PARACENTROTUS LIVIDUS</i>	31
4.1.1. MATERIALS.....	31
4.1.2. MÈTODE.....	32
4.2. PROTOCOL 2: OBTENCIÓ DE LES CÈL·LULES SEXUALS.....	32
4.2.1. MATERIALS.....	32
4.2.2. MÈTODE.....	33

4.3. PROTOCOL 3: REALITZACIÓ DE L'EXPERIMENT.....	35
4.3.1. MATERIALS.....	35
4.3.2. MÈTODE.....	35
4.4. PROTOCOL 4: ANÀLISI DE LES MOSTRES D'EMBRIONS IN VIVO.....	38
4.4.1. MATERIALS.....	38
4.4.2. MÈTODE.....	38
5. RESULTATS.....	39
6. ANÀLISI DE RESULTATS.....	42
7. CONCLUSIONS.....	47
8. REFERÈNCIES.....	49
8.1. WEBGRAFIA.....	49
8.2. BIBLIOGRAFIA.....	57
9. ICONOGRAFIA.....	57

1. INTRODUCCIÓ

Les substàncies antimitòtiques són agents claus per frenar la mitosi de les cèl·lules i, per tant, es converteixen en un component essencial en el tractament del càncer, més concretament en la quimioteràpia. L'ecologia dels éssers vius ens demostra que una de les principals fonts d'aquestes substàncies prové de l'activitat biològica d'organismes marins i, en major potencial, dels porífers o esponges, ja que són organismes sèssils i han de competir amb altres espècies per un espai on fixar-se. Tot i això, no tots ho fan de la mateixa manera a causa de les diferents formes de creixement entre les espècies, que determinen el grau de competitivitat per l'espai.

Aleshores ens hem formulat la següent qüestió: Alliberen les esponges *Axinella sp.* i *Crambe crambe* substàncies antimitòtiques efectives per aturar la divisió cel·lular?

Avui en dia, trobar una cura definitiva pel càncer suposa un dels majors reptes científics; no només per la complexitat de la malaltia sinó també per l'elevat nombre d'afectats. Directament o indirectament, el càncer és present en la vida de cadascú de nosaltres, sigui per familiars, amics o coneguts que pateixen o han patit la malaltia. D'aquí el nostre interès per treballar i entendre el funcionament de substàncies anticanceroses tan importants com són els antimitòtics, a més de tenir la possibilitat de contribuir en la recerca de noves substàncies que puguin fer front al càncer.

En aquest treball, ens proposem comprovar l'efecte que tenen aquestes substàncies alliberades per les esponges *Axinella sp.* i *Crambe crambe* sobre un model biològic amb un desenvolupament embrionari semblant al nostre: l'eriçó de mar *Paracentrotus lividus*.

2. HIPÒTESI

D'una banda, donat que les esponges *Crambe crambe* i *Axinella sp.* són organismes sèssils i per tant competeixen per l'espai, alliberaran molècules antimitòtiques. Així doncs, si les posem en contacte amb el *Paracentrotus lividus* durant el seu desenvolupament embrionari, podrem comprovar l'existència i l'efectivitat d'aquestes molècules en la detenció de la divisió cel·lular.

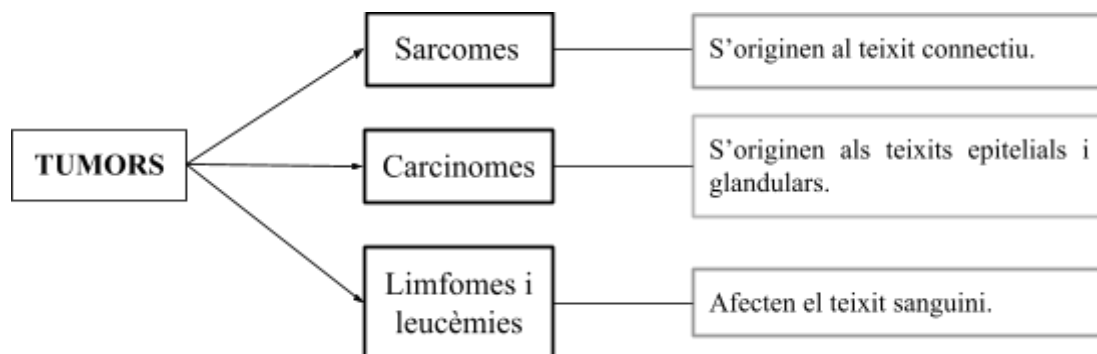
Per una altra banda, donat que l'esponja *Crambe crambe* és un organisme incrustant i per tant necessita més espai on fixar-se, alliberarà més substàncies antimitòtiques que no pas l'esponja *Axinella sp.*, que és erecta i necessita menys espai on fixar-se.

3. MARC TEÒRIC

3.1. EL CÀNCER

Tots els éssers humans estem constituïts per milions de cèl·lules que creixen, es reproduïxen i moren al llarg de la nostra vida. El càncer engloba diversos tipus de malalties totes causades per un creixement descontrolat de cèl·lules dels teixits del cos. Això succeeix quan les cèl·lules pateixen mutacions en el seu ADN i provoquen una divisió cel·lular massa ràpida i una mort anormal. D'aquesta manera, s'acumulen i donen lloc a una massa anomenada **tumor**. Un tumor és **benigne** quan no pot disseminar-se per altres teixits del cos i **maligne** i, per tant, cancerós quan sí que es dissemina.

Hi ha més de cent tipus de càncers, cadascun diferent segons el teixit en què s'origina, de manera que no es comporten igual ni creixen igual ni es tracten de la mateixa manera.



3.1.1. INCIDÈNCIA

El càncer suposa una de les principals causes de mort avui en dia. Trobem nombrosos tipus entre els quals els deu més comuns arreu del món són: el càncer de mama, el de pulmó, el càncer colorectal, el de pròstata, el d'estómac, el càncer de fetge, el de coll uterí, el d'esòfag, el càncer de tiroides i el de bufeta.

Més concretament, els casos diagnosticats d'aquests càncers i la seva mortalitat a Espanya l'any 2021 ha estat la següent:

<i>Tipus de càncer</i>	Casos diagnosticats	Mortalitat homes	Mortalitat dones	Mortalitat ambdós sexes
<i>Mama</i>	33.375	86	6.529	6.614
<i>Pulmó</i>	29.549	16.772	5.666	22.438
<i>Colorectal</i>	43.581	8.968	6.070	15.038
<i>Pròstata</i>	35.764	5.889	0	5.889
<i>Estómac</i>	7.313	2.959	1.879	4.838
<i>Fetge</i>	6.590	3.456	1.610	5.066
<i>Coll uterí</i>	1.942	0	697	697
<i>Esòfag</i>	2.368	1.488	292	1.780
<i>Tiroides</i>	5.431	150	195	345
<i>Bufeta</i>	20.613	3.559	905	4.464

Figura 1. Societat Espanyola d'Oncologia Mèdica. (2021) Número de casos diagnosticats i la seva mortalitat dels càncers. https://seom.org/images/LAS_CIFRAS_DEL_CANCER_EN_ESPANA_2022.pdf

La incidència del càncer varia en funció de l'edat i el sexe: per una banda, a mesura que augmenta l'edat, més propensa és una persona a tenir la malaltia i, a més, incrementen les probabilitats de patir-la si és de sexe masculí. La SEOM proporciona una estimació d'aquesta relació:

	HOMES	DONES	AMBDÓS SEXES
<i>Més petits de 45 anys</i>	5.802	9.667	15.469
<i>Entre 45 i 65 anys</i>	46.802	45.030	91.832
<i>Més grans o igual que 65 anys</i>	106.263	62.675	168.938

Figura 2. Societat Espanyola d'Oncologia Mèdica. (2021) Incidència del càncer segons l'edat i el sexe. https://seom.org/images/LAS_CIFRAS_DEL_CANCER_EN_ESPANA_2022.pdf

3.1.2. EL CICLE CEL·LULAR

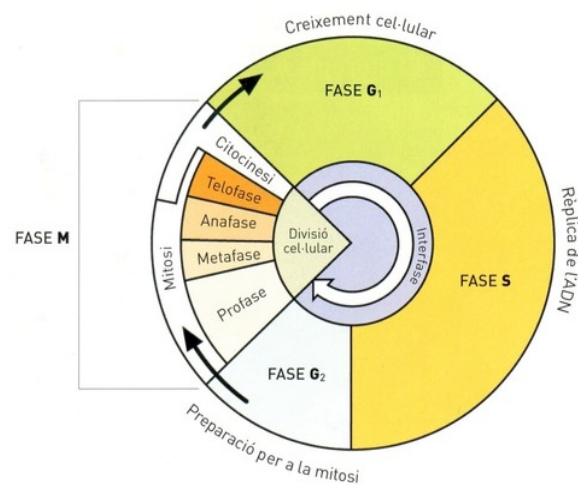
El càncer altera la divisió cel·lular, que té lloc durant el **cicle cel·lular**. Aquest procés el segueix tota cèl·lula eucariota des que es forma fins que es torna a dividir. És un procés exclusiu de les cèl·lules eucariotes, ja que les procariotes no tenen un nucli diferenciat amb membrana ni tampoc les estructures cel·lulars que hi intervenen.

Es distingeixen tres fases principals dins d'aquest cicle:

1. **Interfase:** és la fase de major durada.

La cèl·lula duu a terme una intensa activitat metabòlica per tal de créixer, obtenir els nutrients necessaris, llegir el seu ADN i realitzar les funcions que tota cèl·lula eucariota ha de realitzar.

Aquesta fase es divideix en unes altres tres fases:



Imatge 1. Cicle cel·lular.

- La fase G1: es dona el creixement inicial de la cèl·lula i el seu desenvolupament. L'ADN duu a terme el procés de transcripció dels gens necessaris per poder obtenir les proteïnes que calen a l'organisme.

Abans d'entrar a la següent fase hi ha un punt de control¹ G1 que regula el funcionament del cicle: comprova que l'ADN no estigui malmès, que la cèl·lula sigui prou gran i que l'entorn sigui favorable. En el cas del càncer, molts d'aquests punts de control es troben mutats o no funcionen, de manera que es provoquen errades que desencadenen l'aparició de la malaltia.

- La fase S: es produeix la replicació de l'ADN necessària per a la divisió cel·lular. Cada molècula d'ADN (cromàtide) ha d'empaquetar-se per formar un **cromosoma**, que en replicar-se l'ADN, consta de dues **cromàtides germanes**, dues molècules d'ADN iguals unides en una regió anomenada **centròmer**.

¹ **Punt de control:** mecanismes moleculars que comproven que no hi hagi errades ni danys en l'ADN, a més a més de comprovar que es compleixin les condicions necessàries per el pas d'una fase del cicle cel·lular a una altra.

- La fase G2: es duen a terme una sèrie de processos per tal que la cèl·lula pugui iniciar la mitosi: es dupliquen els orgànuls, es condensa més la cromatina (l'ADN de la cèl·lula empaquetat amb proteïnes) per formar els cromosomes i se sintetitzen les proteïnes necessàries per a la divisió cel·lular.

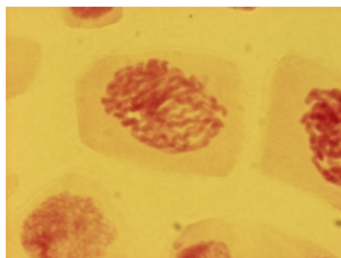
Abans d'entrar en mitosi hi ha un punt de control G2 que controla si tot l'ADN està replicat, si la cèl·lula és prou gran i si l'entorn és favorable.

2. **Fase M, Mitosi**: és la divisió de les cèl·lules. A partir d'una cèl·lula s'obtenen dues cèl·lules filles idèntiques. Durant aquest procés, el cos substitueix les cèl·lules velles que ja no funcionen degudament per cèl·lules noves amb un ADN idèntic.

Cap al final de la mitosi hi ha un punt de control M per tal de comprovar si els cromosomes estan ben alineats.

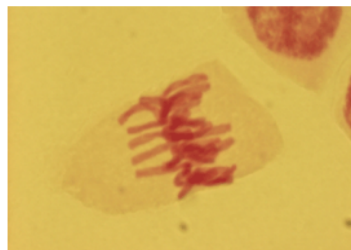
La mitosi consta de cinc fases:

- Profase: en aquesta fase els cromosomes s'acaben de condensar per a facilitar la seva posterior separació. El **fus mitòtic**, una estructura formada per microtúbuls (fibres fortes que són part de l'esquelet de la cèl·lula), comença a formar-se. Els centríols, orgànuls compostos per aquests microtúbuls, se situen a cada pol de la cèl·lula. La funció del fus mitòtic és organitzar els cromosomes i moure'ls durant la mitosi. A més a més, el nuclèol (una part del nucli on es fan els ribosomes) desapareix, senyal que indica que el nucli s'està preparant per descompondre's.



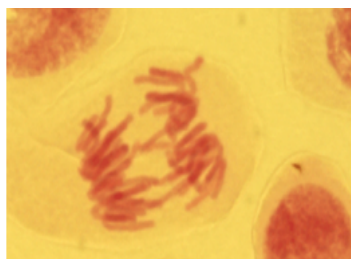
Imatge 2. Profase mitòtica.

- Prometafase: els cromosomes continuen condensant-se i es van ordenant. En aquest moment, els microtúbuls del fus mitòtic s'uneixen als centròmers dels cromosomes. Així, els microtúbuls van des dels centròmers fins als centríols. La membrana nuclear continua desintegrant-se, fins que finalment es desfà el nucli.
- Metafase: els cromosomes es troben en el seu punt màxim de condensació. Aquests cromosomes són arrossegats fins a l'equador, al centre de la cèl·lula, on s'alineen formant l'anomenada **placa equatorial**. La unió dels microtúbuls amb els centròmers dels cromosomes acaba de formar-se. Aquest procés és molt important, ja que si no hi ha els suficients microtúbuls connectats amb els centròmers, es pot produir un repartiment desigual de les cromàtides, que pot portar a un nombre anormal de cromosomes, és a dir, a una anomalia cromosòmica. Per evitar que això succeeixi, durant la metafase hi ha un punt de control que controla el fus mitòtic.



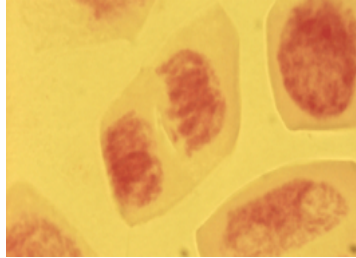
Imatge 3. Metafase mitòtica.

- Anafase: les cromàtides germanes se separen l'una de l'altra, gràcies al fet que la "cola proteica" que les manté juntes es degrada. Seguidament, les cromàtides són arrossegades cap als pols oposats de la cèl·lula gràcies al fus mitòtic. Els microtúbuls que no es troben units als cromosomes s'allarguen i empenyen per a separar els pols i fer la cèl·lula més llarga.



Imatge 4. Anafase mitòtica.

- La telofase: es comencen a restablir totes les estructures: els cromosomes comencen a descompondre's formant de nou la cromatina, es comencen a formar les membranes nuclears que donaran lloc a dos nous nuclis i, finalment, el fus mitòtic es descompon.



Imatge 5. Telofase mitòtica.

3. **Citocinesi**: és l'etapa final de la divisió cel·lular eucariota. En aquesta fase, el citoplasma de la cèl·lula i el seu contingut, es divideix en dues parts envoltades per una membrana plasmàtica que donen lloc a dues cèl·lules filles. En les cèl·lules animals la membrana plasmàtica de la cèl·lula mare es pessiga cap a dins en la zona equatorial de la cèl·lula, fins a formar les dues cèl·lules filles. En el cas de les cèl·lules vegetals, es forma una placa cel·lular a la zona de l'equador de la cèl·lula, una nova membrana plasmàtica i també una nova paret cel·lular que envolta cada costat de la placa cel·lular.

3.1.3. CARCINOGENÈSI

1. **Iniciació**: consisteix en la modificació del genoma a causa de l'acció d'un **agent carcinogen** (tot el material genètic contingut en els cromosomes) en un o diversos gens (seqüències d'ADN) que es transmet a la descendència. La capacitat de generar canvis en l'ADN provoca la pèrdua d'algunes funcions fonamentals de la cèl·lula. Totes les cèl·lules són susceptibles a què el seu ADN es vegi danyat per aquests agents carcinògens, i per això, compten amb mecanismes de reparació i suïcidi cel·lular (**l'apoptosi**). Tot i això, els danys poden afectar a aquests mecanismes, de manera que la cèl·lula aconsegueix dividir-se amb errors genètics. Existeixen dos tipus principals de mutacions determinants per al començament de la carcinogènesi: mutacions que activen indegudament els **protooncogens**² i mutacions que inactiven els **gens supressors de tumors**, que són aquells que actuen com a inhibidors de la proliferació cel·lular i són els encarregats de la mort cel·lular programada.

² **Protooncogens**: són els gens responsables de promoure la proliferació cel·lular.

2. **Promoció:** les cèl·lules adquireixen una major proliferació i divisió cel·lular. També tenen la capacitat d'influir en les cèl·lules normals, obtenint els seus aliments i el seu oxigen. Aquestes cèl·lules continuen creixent i dividint-se, adquireixen la capacitat de moure's i envair altres teixits, és a dir, de fer **metàstasi**.
3. **Progressió:** com que les cèl·lules han adquirit la capacitat de fer metàstasi, se separen dels tumors inicials, viatgen a través de la sang o del sistema limfàtic, arriben a un nou teixit i formen un nou tumor maligne. Aquestes cèl·lules es continuen dividint de manera descontrolada a causa de l'alteració del genoma i de les alteracions funcionals. També presenten alteracions morfològiques respecte a les cèl·lules sanes.

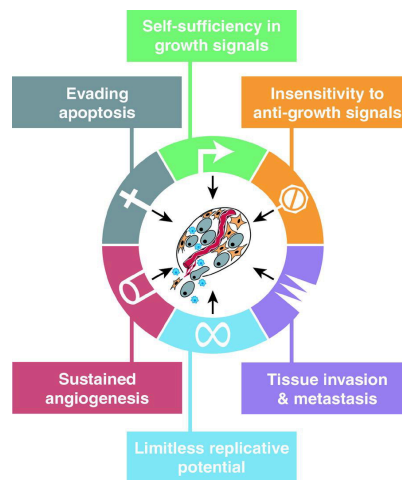
3.1.4. SIGNES DISTINTIUS DEL CÀNCER

Com hem vist en el procés de la carcinogènesi, les cèl·lules canceroses presenten uns **signes distintius** que les fan adquirir unes característiques i capacitats concretes. Tot i que hi ha nous avenços i cada cop es van descobrir més d'aquests signes, trobem sis que són els més característics:

- 1) **Autosuficiència en senyals de creixement:** les cèl·lules normals necessiten senyals estimuladors que activin la seva proliferació. En canvi, les cèl·lules canceroses tenen la capacitat de créixer i multiplicar-se sense aquestes indicacions, són elles mateixes les que produeixen els seus senyals externs. Normalment, poden fer-ho amb l'activació d'un **oncogen** (mutació d'un protooncogen), que provoca un augment desmesurat de la proliferació cel·lular.
- 2) **Insensibilitat als senyals anticreixement:** aquestes cèl·lules són insensibles als senyals inhibidors del creixement, és a dir, als gens supressors de tumors, perquè són eliminats o perquè estan mutats. Així, la cèl·lula continua dividint-se sense control.
- 3) **Invasió de teixits i metàstasi:** és una de les propietats més conegudes de les cèl·lules canceroses. És la capacitat de disseminació al voltant del cos i la invasió dels teixits veïns.
- 4) **Potencial de replicació il·limitat:** les cèl·lules canceroses no presenten cap restricció a l'hora de la proliferació, per la qual cosa no poden evitar els errors que es produeixen durant la mitosi. En les cèl·lules sanes, els **telòmers** (regions a l'extrem

de cada cromàtide d'un cromosoma) es van consumint a mesura que es duen a terme les replicacions fins que la cèl·lula mor. En canvi, les cèl·lules canceroses tenen la capacitat de mantenir la mida dels telòmers, de manera que aconseguen un estat de vida il·limitada.

- 5) **Indueixen l'angiogènesi:** tant les cèl·lules canceroses com les cèl·lules sanes, necessiten oxigen, nutrients i excretar substàncies de rebuig per tal de poder crear nous vasos sanguinis. En el cas del càncer, un tumor en expansió necessita dur a terme l'angiogènesi, és a dir, crear nous vasos sanguinis per proporcionar oxigen adequat a les cèl·lules canceroses, així com explotar aquests processos fisiològics per tal d'obtenir benefici propi.
- 6) **Evitar l'apoptosi:** quan les cèl·lules normals envelleixen o estan danyades, activen el procés d'apoptosi o mort cel·lular programada que permet mantenir el cos en l'equilibri adequat. En canvi, les cèl·lules canceroses tenen la capacitat d'evitar aquest procés i així acumular-se en el cos i continuar dividint-se.



Imatge 6. Signes distintius del càncer.

3.1.5. LA QUIMIOTERÀPIA

Un dels tractaments més utilitzats per a combatre el càncer és la **quimioteràpia**. Es tracta de l'ús de fàrmacs que circulen per tot cos per atacar i eliminar les cèl·lules canceroses. Es poden administrar de diverses maneres dins del cos, depenent del tipus de càncer i d'on estigui situat: per injeccions intramusculars o injeccions subcutànies, en una artèria, en una

vena, amb píndoles de via oral o bé per injeccions en el líquid que envolta la medul·la espinal o el cervell. Els objectius específics de la quimioteràpia són els següents:

- **Curar el càncer:** la quimioteràpia, en alguns casos, es pot utilitzar per a curar el càncer, és a dir, per a destruir-lo i eliminar-lo sense que torni. Tot i això, és possible que passin anys abans de saber si el càncer d'un pacient sotmès a una quimioteràpia s'ha curat o no.
- **Controlar el càncer:** si la cura del càncer no és possible, l'objectiu de la quimioteràpia serà mantenir la malaltia controlada disminuint la mida dels tumors o impedit la seva propagació o creixement.
És per això, que la quimioteràpia és molt usada abans d'altres tractaments com la cirurgia o la radioteràpia o bé després d'aquests per eliminar qualsevol cèl·lula cancerosa restant.
- **Pal·liació:** la quimioteràpia també es pot fer servir per alleugerir els símptomes causats per la malaltia. En aquest cas, s'anomena **quimioteràpia pal·liativa**, i, es duu a terme quan el càncer arriba a una etapa molt avançada i s'ha propagat, de manera que ja no pot ser controlat. Aleshores, l'objectiu és millorar la qualitat de vida del pacient.

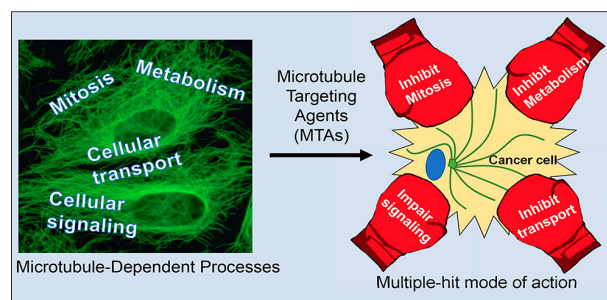
Aquests fàrmacs administrats en la quimioteràpia poden afectar també a les cèl·lules sanes i danyar-les, provocant en el pacient diversos efectes secundaris que depenen de la dosi administrada i dels tipus de fàrmacs, a més a més del tipus de càncer, la seva ubicació i l'estat de salut general del pacient. Els principals efectes secundaris són: fatiga, pèrdua de cabell, mal de cap, dolor muscular, dolor estomacal, úlceres a la gola i a la boca, nàusees i vòmits, trastorns en la sang, pèrdua de l'equilibri i debilitat en les mans i els peus, entre d'altres.

3.1.6. ELS ANTIMITÒTICS

Com bé ens diu el National Institute of Health: «La mitosi representa una diana prometedora per bloquejar la proliferació de cèl·lules canceroses»³. Al llarg dels anys s'han anat desenvolupant diversos fàrmacs per inhibir les diferents fases del cicle cel·lular. Entre ells destaquen els fàrmacs que contenen **substàncies antimitòtiques**, utilitzats en tractaments

³ «Mitosis represents a promising target to block cancer cell proliferation.» Frase traduïda amb el traductor de Cambridge.

com la quimioteràpia per combatre el càncer. Aquests fàrmacs disminueixen el nombre de mitosis d'una població cel·lular i es poden classificar en: antimitòtics clàssics i antimitòtics de segona generació. Per una banda, els **antimitòtics clàssics**, que són principalment els taxans i els alcaloides de vinca (ambdós d'origen vegetal), es troben entre els medicaments anticancerosos més exitosos. Aquests fàrmacs actuen inhibint la polimerització dels microtúbuls. Per fer-ho, activen el punt de control de muntatge de l'eix (Spindle Assembly Checkpoint, SAC), un punt de control del cicle cel·lular que bloqueja la separació dels cromosomes duplicats. Aquest procés té lloc durant la metafase de la mitosi o de la meiosi. Posteriorment, les cèl·lules experimenten una **aturada mitòtica** i com que el compost interromp la formació del fus i la separació de cromosomes, les cèl·lules romanen en un estat d'aturada prolongat. Més tard, entren en apoptosi o en un estat G1 semblant a la senescència⁴. Per l'altra, els **antimitòtics de segona generació** apareixen com a possibles remeis per superar la toxicitat dels antimitòtics clàssics vers les cèl·lules sanes i la resistència que oposen les cèl·lules canceroses a la seva eficàcia. Aquests fàrmacs són independents dels microtúbuls i tenen com a objectiu els factors de la mitosi i el SAC per tal de millorar l'eficàcia dels fàrmacs. No obstant això, molts d'aquests antimitòtics de segona generació, no han passat de la fase II dels assajos clínics. Tanmateix, des de l'aparició de les teràpies combinades, se'ls està donant una segona oportunitat centrant-se principalment en els components inhibidors del punt de control del muntatge de l'eix per tal d'aconseguir uns millors resultats i eficàcia.

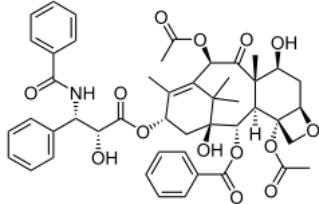
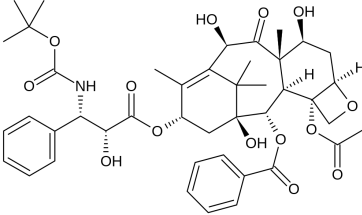
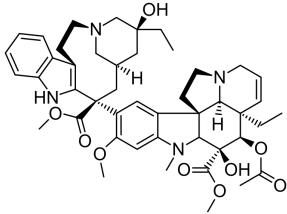


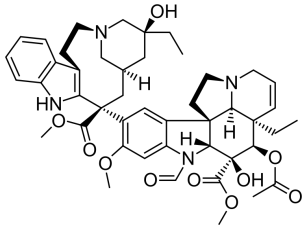
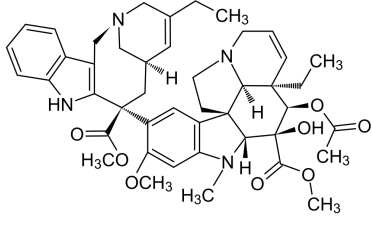
Imatge 7. Com actuen els antimitòtics.

3.1.6.1. Principals antimitòtics en el tractament del càncer

Els antimitòtics usats per combatre el càncer són principalment d'origen vegetal, de substàncies naturals com ara els **alcaloides de vinca** i els **taxans**. Alguns d'aquests fàrmacs que s'utilitzen més sovint en el tractament del càncer i en concret en la quimioteràpia, són els següents:

⁴ **Senescència**: estat en què les cèl·lules no es reproduïxen, però tampoc moren. És vital per suprimir la formació de cèl·lules canceroses.

<u>Fàrmac antimitòtic</u>	<u>Descripció i ús</u>	<u>Estructura química</u>
<i>Paclitaxel</i>	<p>Agent antitumoral d'origen vegetal que pertany als antimitòtics clàssics, als taxans.</p> <p>S'utilitza per al tractament del càncer de mama metastàtic, pel càncer d'ovari, pel càncer de pulmó no microcític i pel sarcoma de Kaposi vinculat a la SIDA.</p>	 <p>Imatge 8. Estructura química del Paclitaxel.</p>
<i>Docetaxel</i>	<p>Agent antitumoral d'origen vegetal que pertany als antimitòtics clàssics, als taxans.</p> <p>S'utilitza per al tractament del càncer de mama, de pròstata, de cap i de coll, de pulmó no microcític i per l'adenocarcinoma gàstric.</p>	 <p>Imatge 9. Estructura química del Docetaxel.</p>
<i>Vinblastina</i>	<p>Agent antitumoral d'origen vegetal que pertany als antimitòtics clàssics, però a diferència dels dos fàrmacs anteriors, pertany als alcaloides de vinca.</p> <p>S'utilitza per al tractament de diversos càncers, entre ells, el limfoma de Hodgkin, el càncer de pulmó de cèl·lules no petites, el càncer de cap i coll, el càncer de mama o el càncer de testicles.</p>	 <p>Imatge 10. Estructura química de la Vinblastina.</p>

<p>Vincristina</p>	<p>Agent antitumoral d'origen vegetal que pertany als antimitòtics clàssics, als alcaloides de vinca.</p> <p>S'utilitza principalment per al tractament de la leucèmia aguda, però també és utilitzat per a altres càncers com: el neuroblastoma, el sarcoma d'Ewing, els limfomes malignes i el càncer de mama, entre d'altres.</p>	 <p>Imatge 11. Estructura química de la Vincristina</p>
<p>Vinorelbina</p>	<p>Agent antitumoral d'origen vegetal que pertany als antimitòtics clàssics, als alcaloides de vinca.</p> <p>S'utilitza per tractar el càncer de mama metastàtic, el càncer de pulmó no microcític.</p>	 <p>Imatge 12. Estructura química de la Vinorelbina.</p>

3.1.6.2. Organismes amb molècules antimitòtiques

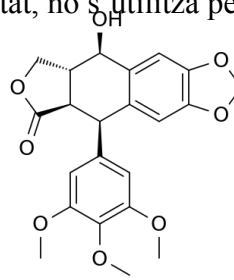
Durant les últimes dècades s'ha fet recerca per trobar substàncies que permetin desenvolupar fàrmacs antitumorals, entre ells, antimitòtics. La majoria dels agents antimitòtics utilitzats avui en dia provenen de fonts naturals, principalment de plantes, microorganismes i organismes marins.

Les **plantes** han estat durant molt de temps usades en el sector mèdic i, actualment, són la base de la medicina moderna. En el cas del tractament del càncer, com hem vist prèviament, molts dels fàrmacs fets provenen de molècules de plantes o dels seus derivats sintètics. Les plantes consten sovint d'uns mecanismes de defensa que consisteixen a generar substàncies químiques amb efectes **citotòxics** per tal de sobreviure i evitar els depredadors. Aquesta defensa química fa que es converteixin en una font de substàncies antitumorals que inclouen agents antimitòtics. Un exemple de planta que conté substàncies antimitòtiques és la *Podophyllum peltatum* i *Podophyllum emodi*. De les arrels d'aquesta planta se'n deriva una

substància anomenada resina de podofil que s'uneix als microtúbuls per impedir la divisió cel·lular. Avui en dia, però a causa de la seva alta toxicitat, no s'utilitza per tractar el càncer.

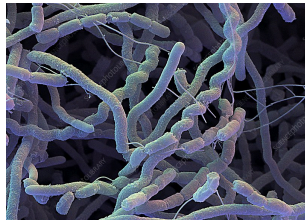


Imatge 13. Podofil.

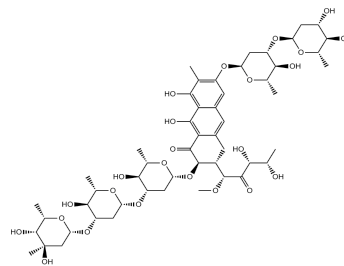


Imatge 14. Estructura química de la podofilotoxina.

Tot i que en menor nombre, també es poden trobar alguns **microorganismes** amb molècules antimitòtiques. Aquest és el cas de l'eubacteri *Streptomyces*. D'ell en deriva un producte natural anomenat Mitramicina A amb importants característiques antitumorals. Actualment, però no es pot utilitzar a causa de la seva toxicitat, tot i que encara s'intenten desenvolupar nous mètodes per tal de poder fer-ne ús de manera responsable, millorant les seves propietats i prevenint l'aparició de toxicitats secundàries.



Imatge 15. *Streptomyces* bacteria.

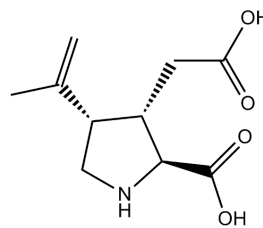


Imatge 16. Estructura química de la Mitramicina A.

Un altre camp que s'ha explorat per trobar molècules antimitòtiques ha estat la vida marina. Els **organismes marins**, igual que les plantes, desenvolupen substàncies químiques per defensar-se de depredadors i competidors, de manera que és possible que sintetitzin substàncies antimitòtiques. Un exemple d'organisme marí és l'alga marina *Digenea simplex*. Aquesta alga conté un compost anomenat àcid kaínic, el qual té un gran potencial antimitòtic i citotòxic.



Imatge 17. *Digenea simplex*.



Imatge 18. Estructura química de l'àcid kaínic.

Cal destacar els resultats que va realitzar l'Institut Nacional del Càncer (Estats Units d'Amèrica). Aquests indiquen que al voltant d'un 1,8% dels extractes d'organismes marins presenten algun tipus d'agent antitumoral, mentre que en els microorganismes i les plantes terrestres només un 0,4% dels extractes presenten activitat antitumoral. Per tant, són els organismes del medi marí els que tenen principalment molècules antimetabòliques que poden ser utilitzades pel tractament del càncer. En aquest estudi, Van Soest i Braekman (1999) esmenten que entre els organismes marins, els porífers són en l'actualitat els més productius quant a compostos bioactius: 12 vegades més que els cnidaris i les algues, 7 vegades més que els ascidis (classe de cordats) i 5 vegades més que els musclos i els equinoderms.

3.1.6.3. Els porífers: importància farmacològica i espècies *Crambe crambe* i *Axinella sp.*

Els porífers o esponges són un tipus d'invertebrats no artròpodes. Es tracta dels metazous més primitius coneguts que compten amb unes 10.000 espècies. Són aquàtics, bentònics i sèssils que es troben a totes les aigües salades del món i en alguns rius i llacs. Es considera que els porífers són animals prou simples quant a organització: no tenen òrgans o teixits, sinó que utilitzen un mecanisme de filtració de l'aigua en el qual diverses cèl·lules actuen d'acord amb les necessitats de l'organisme.

Les esponges són un dels organismes marins amb importància en el món de la farmacèutica. Sintetitzen substàncies molt diferents químicament a les que produeixen els organismes terrestres per defensar-se de depredadors i per aconseguir i mantenir un espai on fixar-se. Aquestes substàncies que alliberen són tòxiques, antiinflamatòries o antibiòtiques, de les quals en poden derivar agents antivírics o **agents antimetabòliques**. Així, impedeixen que les larves s'adhereixin a un substrat o bé eliminen a altres individus.

En el nostre projecte, treballarem amb dues espècies diferents d'esponges: la *Crambe crambe* i l'*Axinella sp.*: per una banda, l'esponja *Crambe crambe* o més coneguda com a esponja ostra, és un organisme incrustant, és a dir, presenta la capacitat de cobrir la superfície formant plaques planes i perforades. Pot arribar a cobrir un metre quadrat de superfície. És una espècie de demosponges⁵ que pertany a la família Crambeidae. Presenta un color vermellós

⁵ **Demosponja**: classe d'esponges amb representants tant en aigua dolça com en aigua salada i es poden trobar tant en la zona del litoral com en les zones més profundes. Solen ser de tipus lèucon, el sistema aquífer més complex.

ataronjat que la caracteritza. Normalment, la trobem en el mar Mediterrani, però també és present a les costes portugueses i espanyoles de l'oceà Atlàntic. Generalment, viu a profunditats d'entre els cinc i els trenta metres sobre una superfície rocosa que pot ser de roques verticals o en sortints de roques. Per una altra banda, la segona esponja amb la qual treballarem és del gènere *Axinella*, però d'una espècie no coneguda: *Axinella sp.* Aquesta esponja és erecta, creix cap amunt. Pot arribar a mesurar cinquanta centímetres d'alçada i presenta un color ataronjat. Sol habitar en zones infralitorals amb fons rocosos i ombrívols i es troba en el mar Mediterrani i en l'oceà Atlàntic. Pertany a la família Axinellidae i a la classe de les demosponges.



Imatge 19. Esponja *Crambe crambe*.



Imatge 20. Esponja *Axinella sp.*

3.2. INVERTEBRATS NO ARTRÒPODES: EQUINODERMS


3.2.1. FAMÍLIA DELS INVERTEBRATS NO ARTRÒPODES

El regne animal es divideix en dos grans grups: els vertebrats i els invertebrats. Els organismes invertebrats són aquells que no tenen un esquelet intern articulats que protegeixi el cordó nerviós. No obstant això, cal fer una diferenciació dins d'aquest grup en: invertebrats artròpodes i **invertebrats no artròpodes**. Els invertebrats no artròpodes a diferència dels artròpodes que presenten un esquelet extern articulats, no tenen potes articulades que els permetin moure's. La gran majoria dels invertebrats no artròpodes viuen sota l'aigua o bé en medis terrestres humits.

3.2.1.1. Classes dels invertebrats no artòpodes


Els invertebrats no artròpodes es classifiquen en cinc classes diferents: anèl·lids, mol·luscs, cnidaris, porífers i equinoderms:

Anèl·lids → Organismes aquàtics o terrestres. El seu cos té forma cilíndrica, és tou i allargat i està compost d'anells. No disposen de potes.




Imatge 21. *Sabellaria alveolata*.

Mol·luscs → Poden ser o aquàtics o terrestres. Tenen el cos tou i sense segmentacions, generalment, dividit en tres parts: el cap, la massa visceral i el peu. Solen comptar amb una clòsca calcària.

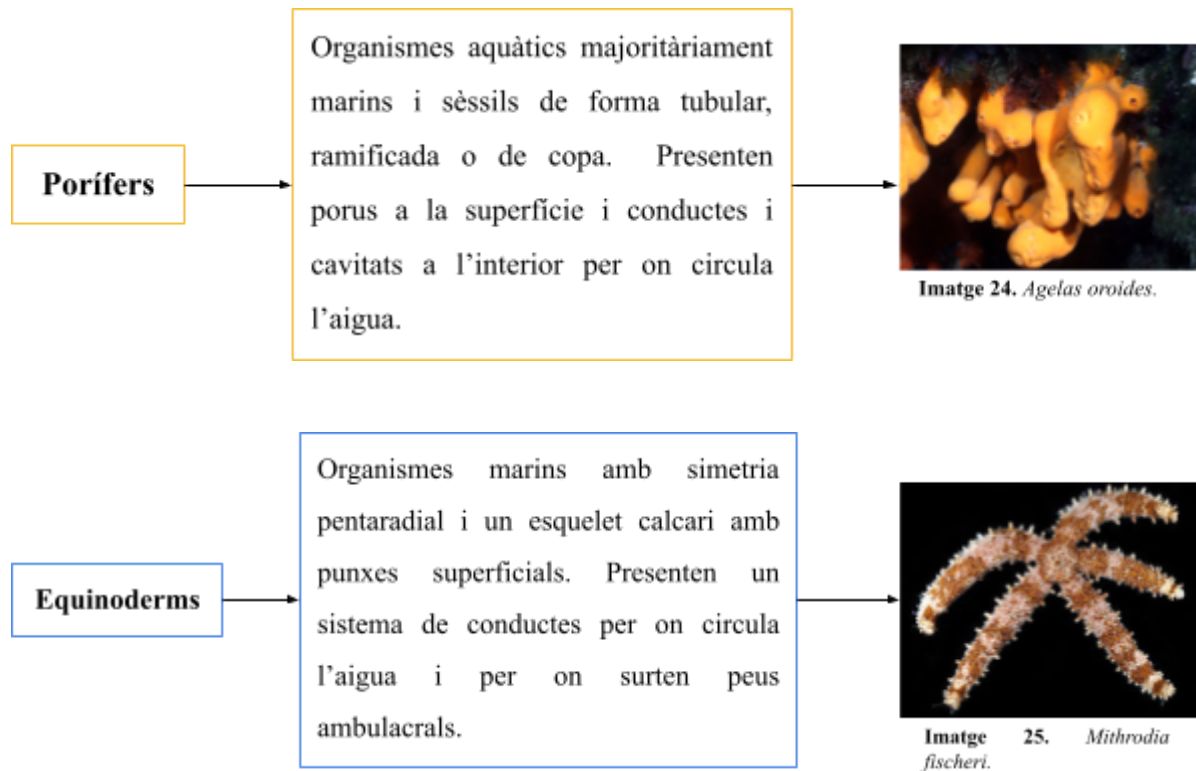


Imatge 22. *Allonautilus scrobiculatus*.

Cnidaris → Organismes aquàtics, majoritàriament marins. Tenen un cos amb simetria radial de forma de sac cilíndric que envolta una cavitat interna. En un extrem tenen una obertura envoltada de tentacles urticants.



Imatge 23. *Chrysaora hysoscella*.



3.2.2. EQUINODERMS I ERIÇONS DE MAR

Els equinoderms són un filum exclusivament marí. Aquests organismes formen una part important de la fauna bentònica de qualsevol mena de fons i de qualsevol classe de fondària. Hi ha diferents classes d'equinoderms que viuen als esculls marins com ara les clavellines de mar, els cogombres de mar, les estrelles de mar, les ofiures i les garotes o eriçons de mar. Ens centrem principalment en els eriçons de mar, ja que són el nostre model biològic per dur a terme bioassaig.

3.2.2.1. Anatomia externa dels eriçons de mar

Els eriçons de mar o garotes presenten un cos globós i una mica aplanat protegit per **espines** o pues mòbils que distingeixen cada espècie segons el seu gruix i la seva llargària. Aquesta forma corporal permet diferenciar una cara inferior (**oral**), on es troba la boca, i una cara superior (**aboral**), on es troba l'anús.

Els colors del cos poden variar depenent de la tonalitat de les espines o bé del seu tegument. Generalment són colors foscos verds o violetes.

Un cop esdevenen adults, els eriçons de mar mostren un pla corporal que es basa en la simetria radial i sovint pentàmera, és a dir, el seu cos està dividit en cinc zones radials. En canvi, quan encara són larves, presenten una simetria bilateral.

Compten amb un esquelet sota l'epidermis que consisteix en una closca formada per la unió de deu plaques calcàries. A cinc d'elles se'ls anomena **plaques ambulacrals** o radials i les altres cinc són les **plaques interambulacrals**. Les plaques ambulacrals són les que tenen tubercles per sobre dels quals s'hi articulen espines superficials i les que tenen **porus ambulacrals**, els orificis per on surten els **peus ambulacrals**. En canvi, les plaques interambulacrals, que separen les ambulacrals, només presenten tubercles.

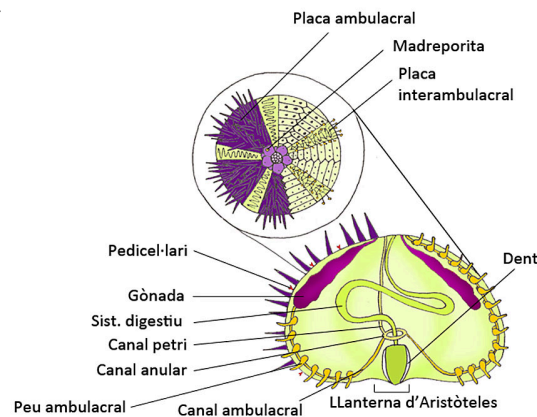
Els peus ambulacrals tenen aspecte de petits tentacles amb una ventosa al final. Permeten la locomoció dels eriçons de mar, la capacitat d'agafar-se a les superfícies i de capturar partícules d'aliments i estan involucrats en l'intercanvi de gasos.

Els eriçons de mar no només tenen espines, sinó que a vegades també poden presentar uns apèndixs especials anomenats **pedicel·laris**. Es tracta d'unes pinces microscòpiques formades per tres dents articulades. Alguns pedicel·laris són verinosos i també poden tenir funcions de neteja. Majoritàriament, aquestes pinces es troben fixades al cos pel seu extrem.

3.2.2.2. Anatomia interna dels eriçons de mar

- a) **Sistema digestiu**: la **boca** està situada a la cara inferior o oral, seguida de l'**esòfag**. Ambdues parts estan envoltades per la **llanterna d'Aristòtil**. Aquest òrgan mastegador, amb l'ajut de les cinc dents que es troben a la boca, és el que els permet rascar una superfície viva. A continuació de l'esòfag hi ha el **tub digestiu**, que acaba a l'**anus**, situat a la cara superior o aboral de l'erició.
- b) **Sistema ambulacral**: El sistema ambulacral realitza les funcions de l'aparell circulatori i de l'aparell respiratori per un sistema circulatori tancat. Es tracta d'un sistema intern format per sèrie de conductes plens d'aigua comunicats entre si i amb els peus ambulacrals. Per cada placa ambulacral passa un **tub o conducte ambulacral** que parteix de l'**anell ambulacral** (o canal anular). Aquest anell envolta l'esòfag per sobre de la llanterna d'Aristòtil i comunica amb l'exterior gràcies a un altre conducte que desemboca en la **placa madreporica**, una placa perforada que es troba en la cara aboral.

- c) **Sistema nerviós:** es tracta d'un sistema prou simple. No presenten cervell, però sí que tenen nervis que es ramifiquen en els cinc radis: els **nervis radials**.
- d) **Sistema reproductor:** els òrgans reproductors són semblants en ambdós sexes, presenten cinc **gònades** col·locades interradialment. Aquestes gònades són sacs adherits al seu esquelet, situats a les zones properes al pol aboral. Els òrgans reproductors només es poden diferenciar quan les seves gònades estan prou madures i presenten un color ataronjat en el cas de les femelles i més blanquinós o groguenc en el cas dels mascles.



Imatge 26. Anatomia d'un eriçó de mar.

3.2.2.3. Classes d'eriçons de mar i *Paracentrotus lividus*

D'aquest grup d'organismes marins, se'n coneixen aproximadament unes 800 espècies en l'actualitat. Són classificats en dues subclasses: la dels periscoequinoïdeus (*Perischoechinoidea*) i la dels euequinoïdeus (*Euechinoidea*).

D'una banda, els periscoequinoïdeus comprenen els grups més primitius i són formats únicament per l'ordre dels cidaroïdeus (*Cidaroida*). Tenen un nombre irregular de les plaques ambulacrals i interambulacrals i presenten una closca rígida amb plaques nombroses i petites. D'altra banda, els euequinoïdeus comprenen els exocílics i els endocílics. Els exocílics presenten un model de les plaques més desenvolupat i els endocílics desenvolupen plaques ambulacrals compostes. Hi ha nombrosos ordres, però es poden reunir en quatre superordres: els diadematacits (*Diadematacea*), els equinacis (*Echinacea*), els atelostòmats (*Atelostomata*) i els gnatostòmats (*Gnathostomata*).

3.2.2.3.1. Els equinacis

Els equinacis pertanyen a l'ordre dels eriçons de mar endocílics, és a dir, es caracteritzen per contenir una closca rígida i subesfèrica, i poden presentar diferents tipus de pedicel·liaris, com ara globífers o glàndules verinoses. Dins d'aquest superordre, trobem set ordres i deu famílies, de les quals a la nostra mar només en podem trobar de quatre que són: els arbàcids (*Arbaciae*), els toxopnèustids (*Toxopneustidae*), els temnoplèurids (*Temnopleuridae*) i els equíndis (*Echinidae*).

3.2.2.3.2. Els arbàcids

Els arbàcids els podem trobar en zones litorals i consten només de dues espècies que són: la garota negra (*Arbacia lixula*) i la garota de roca (*Paracentrotus lividus*).

La garota negra té una closca d'uns 60 mil·límetres de diàmetre i és molt representativa dels Països catalans. Presenta un exterior de color negre, a diferència del seu dermoesquelet que té un color rosat.

La garota de roca (*Paracentrotus lividus*) és l'espècie que utilitzarem per realitzar el bioassaig i l'explicarem a continuació.

3.2.2.4. *Paracentrotus lividus*

La garota de roca, de nom científic *Paracentrotus lividus*, és una espècie que es troba al Mediterrani i a l'Atlàntic nord-oriental. Habita en els fons rocosos marins, en roques sòlides i en prats d'herbes marines, que poden arribar fins a una fondària de 40 metres aproximadament.

Es tracta d'un equinoderm de mida petita/mitjana, la seva closca fa de sis a set centímetres de diàmetre. Les seves espines són llargues i dures i poden arribar fins als 3 centímetres de llargada. Aquesta espècie acostuma a tenir un color fosc, tot i que pot presentar una gran varietat de tonalitats que van des del verd oliva fins a tons més foscos com ara el violeta, el marró, etc.

3.2.2.5. Reproducció dels eriçons de mar

Els eriçons de mar es reproduïxen de manera sexual, a partir de la unió dels gàmetes masculins i femenins, i no presenten cap mena de dimorfisme sexual. Tot i això, s'ha documentat algun cas d'hermafroditisme.

El cicle reproductiu dels eriçons de mar consta de 3 fases: la fase de creixement, la fase de maduració i la fase de regeneració. En la fase de **creixement** les gònades acumulen material de reserves. En la fase de **maduració** té lloc la gametogènesi i l'aerodinamització de l'espermatozoide. Per una banda, durant la gametogènesi hi ha un creixement notable del gàmeta femení, ja que ha d'emmagatzemar substàncies nutritives pel seu llarg viatge. Per una altra banda, el gàmeta masculí desenvolupa la cua i és capaç de moure's. Finalment, es dona la fase de **regeneració** quan les gònades ja estan desproveïdes de gàmetes sexuals.

La fecundació dels eriçons de mar és externa, ja que es produeix fora del cos dels organismes. Les cèl·lules sexuals són alliberades al medi aquàtic a través d'un orifici anomenat gonoporus i, per trobar-se espècie-específicament, utilitzen un procés de quimioatracció: els òvuls, que són les cèl·lules passives, emeten unes substàncies químiques que són reconegudes pel receptor de membrana dels espermatozoides. Així, aquest procés de fecundació no es dona a l'atzar.

3.2.2.6. Desenvolupament embrionari dels eriçons de mar

Són organismes aquàtics ovípars i tenen un desenvolupament embrionari indirecte: un cop surten dels ous, són larves i han d'experimentar una sèrie de canvis i transformacions fins a arribar al que coneixem com a eriçó de mar. El seu desenvolupament embrionari consta de tres processos: la segmentació, la blastulació i la gastrulació.

1. Segmentació

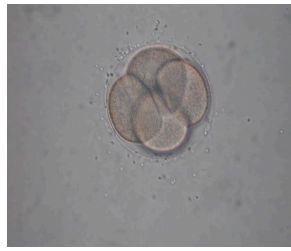
Després de la fecundació, té lloc la segmentació o clivellament, una sèrie de divisions mitòtiques per tal de continuar amb el desenvolupament de l'organisme. En els eriçons de mar aquesta segmentació és **holoblàstica radial** (en cada divisió participa tot el zigot i les divisions són simètriques al voltant de l'eix central d'aquest). Les set primeres divisions són estereotípiques, els individus d'una mateixa espècie segueixen el mateix patró. Les tres primeres divisions del zigot (dues cèl·lules, quatre cèl·lules i vuit cèl·lules) són simètriques, sincròniques i donen lloc a cèl·lules cada cop més petites anomenades **blastòmers**. Les dues primeres divisions són meridionals (del pol animal al pol vegetal) i donen lloc a cèl·lules totipotents⁶. En canvi, la tercera és equatorial i dona lloc a cèl·lules pluripotents⁷.

⁶ **Totipotència:** capacitat d'una cèl·lula per generar un organisme complet.

⁷ **Pluripotència:** cèl·lula mare que té el potencial de donar lloc als diferents tipus de cèl·lules i teixits del cos.



Imatge 27. Font Escola del Mar.
Primera divisió mitòtica, 2 cèl·lules.



Imatge 28. Font Escola del Mar.
Segona divisió mitòtica, 4 cèl·lules.



Imatge 29. Font Escola del Mar.
Tercera divisió mitòtica, 8 cèl·lules.

La quarta divisió és asimètrica perquè origina blastòmers de diferent mida: vuit **mesòmers** a la meitat animal mitjançant una divisió meridional, i quatre **macròmers** i quatre **micròmers** a la meitat vegetal mitjançant una divisió equatorial.

A continuació, en la següent divisió, els vuit mesòmers de la meitat animal es divideixen de manera equatorial formant dos nivells (de vuit mesòmers cadascun) superposats entre si. En la meitat vegetal, en canvi, els macròmers es divideixen meridionalment, assolint-ne 8. El mateix succeeix amb els micròmers, tot i que una mica més tard. Es repeteix aquest procés en la sisena i setena divisió, tot i que, en la sisena, la meitat animal es divideix meridionalment i la vegetal equatorialment, a la inversa. Per tant, finalment s'aconsegueix una **blàstula**, que en el cas dels eriçons és de 128 cèl·lules.



Imatge 27. Font Escola del Mar.
Quarta divisió mitòtica, 16 cèl·lules.

2. Blastulació

La blastulació comença des de la fase de les 128 cèl·lules. Aquestes formen una corona que envolta una cavitat anomenada **blastocel** i que ha estat creada gràcies a un líquid aquós i proteic que ha permès el moviment dels blastòmers. En aquest moment, totes les cèl·lules són de la mateixa mida i estan en contacte amb el líquid blastocèlic.

Les cèl·lules continuen dividint-se fins a arribar a la novena o desena divisió, on s'especifiquen i desenvolupen els cilis en el pol animal. Les cèl·lules que es troben al pol vegetal comencen a engrandir formant una placa vegetal i les cèl·lules del pol animal sintetitzen i secreten enzims que permeten l'eclosió de la membrana de fecundació. Finalment, s'acaba obtenint la blàstula avançada o gàstrula inicial.

3. Gastrulació

La blàstula avançada consta d'una única capa d'unes mil cèl·lules aproximadament. Poc després de l'eclosió de la membrana de fecundació la blàstula, que era esfèrica, comença a aplanar-se i a engrandir-se.

En la placa vegetal, un grup de cèl·lules petites comença a canviar i ingressa al blastocel. Aquestes cèl·lules, que deriven dels micròmers, formen l'esquelet larvari i s'anomenen cèl·lules mesenquimàtiques primàries. Un cop comença el procés anomenat **invaginació**, deixen la meitat vegetal del blastocel, mentre que les cèl·lules que es mantenen a la placa vegetal es mouen fins al pol animal, formant una cavitat nova, l'arquènteron, que originarà el tub digestiu i una obertura en el pol vegetal que donarà lloc a l'anus de l'erició, el blastòpor. Al pol oposat es forma la boca de l'animal. El procés de gastrulació donarà lloc a tres capes embrionàries que són les següents: l'**endoderm**, el **mesoderm** i l'**ectoderm**.



Imatge 30. Font Escola del Mar.
Gàstrula fent el procés d'invaginació.

4. METODOLOGIA I DESENVOLUPAMENT PRÀCTIC

La part pràctica d'aquest treball de recerca té com a finalitat veure si les esponges *Crambe crambe* i *Axinella sp.* presenten molècules antimitòtiques, de manera que s'aturi el desenvolupament embrionari del *Paracentrotus lividus*.

Ho farem a partir de 3 solucions diferents que continguin els gàmetes de l'eriçó: una sense presència de cap esponja (grup control), una amb presència de l'esponja *Crambe crambe* i una amb presència de l'*Axinella sp.*

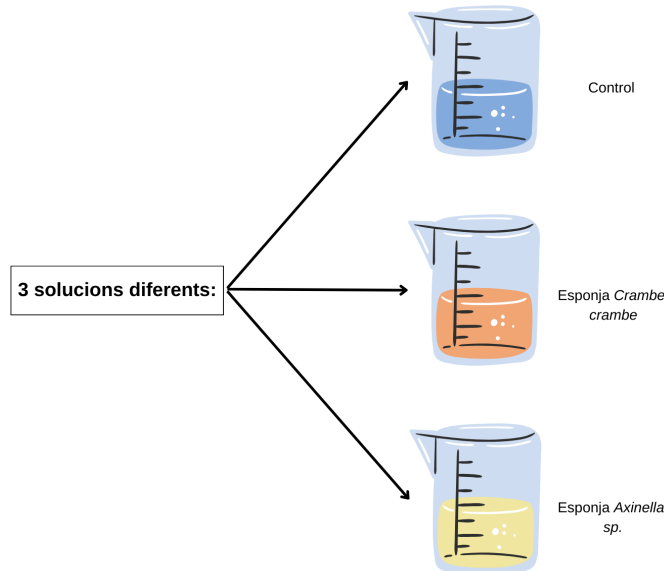


Figura 3. Esquema dels tres tipus de solucions de l'experiment.

Per tal de obtenir aquestes tres solucions cal realitzar prèviament tres protocols.

4.1. PROTOCOL 1: OBTENCIÓ DE PARACENTROTUS LIVIDUS

El *Paracentrotus lividus* té una etapa de maduració sexual que va des del mes de novembre fins al mes d'abril. La maduresa dels eriçons és molt important per poder dur a terme l'experiment, ja que és necessari que les gònades d'aquests organismes estiguin carregades de cèl·lules sexuals.

4.1.1. MATERIALS

- Tovallola de platja (xopa amb aigua de mar)
- Capsa de plàstic

4.1.2. MÈTODE

1. Primer de tot, encarregar de 10 a 15 eriçons. D'aquesta manera, s'assegura l'obtenció tant de mascles com de femelles.

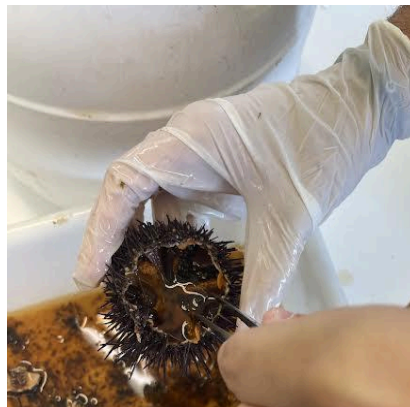
4.2.2. MÈTODE

1. En primer lloc, preparar una taula de treball que contingui: una galleda amb 5 L d'aigua de mar i una safata amb els eriçons embolicats amb la tovallola dins la capsa.
2. En segon lloc, col·locar-se el guant en una mà i les ulleres de precaució. Amb la mà que tingui el guant, aguantar l'eriçó i amb l'altra, agafar les tisores. Clavar la part punxeguda de les tisores a la part subequatorial de la closca de l'eriçó i anar tallant el perímetre de la boca. Així s'extreu aquesta part i es deixen, únicament, les gònades i l'aparell digestiu.



Imatges 32. Font pròpia. Procés d'obrir l'eriçó de mar.

3. Tot seguit, amb la mà sense el guant, ficar l'eriçó sota l'aigua de la galleda i remenar-lo mecànicament per tal que quedi el més net possible.
4. Amb l'ajut d'una pinça, acabar de netejar-lo i treure les restes de l'aparell digestiu de l'eriçó, de manera que només quedin les gònades.



Imatge 33. Font pròpia. Procés de netejar l'eriçó.

5. Seguidament, mirar si és mascle o femella: si les gònades són de color taronja cap a groc, és mascle, i si són de color taronja cap a vermell, és femella. Si no se sap segur el seu sexe, cal trencar una gònada perquè surti el líquid: si és blanc, és mascle, si és taronja és femella.



Imatge 34. Font pròpia. Eriçó femella.



Imatges 35. Font pròpia. Eriçó mascle.

6. Deixar l'eriçó boca avall.
7. Sempre començant per les femelles, agafar la cullera i treure les gònades, que dipositarem a la placa de petri.



Imatges 36. Font pròpia. Extracció de les gònades.

8. Repetir el mateix procediment però ara amb els mascles.
9. Tot seguit, agafar amb el vas de precipitats aigua de mar dels altres 5 L i evocar-la a la placa de petri.

10. Ara, amb l'ajut de les pinces, estripar les gònades de les femelles.
11. Col·locar la placa de petri amb certa inclinació i deixar la part del teixit cap amunt.
12. Amb l'ajut de la pipeta agafar el líquid que ha quedat a la part de baix.
13. Repetir aquest procediment, amb els mascles per tal d'obtenir, finalment, dues pipetes amb el líquid o solució de gàmetes. Una contindrà els espermatozoides i l'altra contindrà els òvuls.

(Aquest procediment sempre es fa primer amb les femelles i després amb els mascles, ja que a diferència dels òvuls que no tenen la capacitat de desplaçar-se, els espermatozoides es mouen gastant energia i amb velocitat. Per tant, si no posem en contacte els gàmetes masculins amb l'aigua, aquests es mouran més lentament.)

4.3. PROTOCOL 3: REALITZACIÓ DE L'EXPERIMENT

Tan bon punt hem aconseguit extreure les cèl·lules sexuals dels eriçons i les tenim en dues pipetes diferents, passem a preparar les solucions on es desenvoluparan els embrions.

4.3.1. MATERIALS

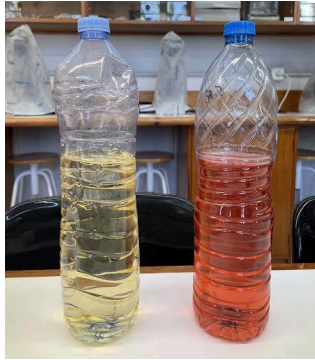
- Solució dels gàmetes (del segon protocol)
- Aigua de mar
- Material biològic (solucions de les esponges de mar)
- 6 vasos de precipitats de 250 ml
- 3 ampolles de plàstic
- Retolador de vidre
- Provena de 1000 ml
- Embut

4.3.2. MÈTODE

1. En primer lloc, a partir d'una solució concentrada amb aigua de mar i esponja *Crambe crambe* ja proporcionada per l'Escola de Mar, diluir la solució agafant 900 ml d'aigua

de mar amb la proveta i 100 ml de la solució concentrada de l'esponja en una ampolla de plàstic.

2. Fer exactament el mateix procediment amb l'esponja *Axinella sp.*



Imatges 37. Font pròpia. Solució concentrada.



Imatges 38. Font pròpia. Solució diluïda.

3. Tot seguit, omplir una ampolla de 1000 ml amb aigua de mar que servirà de grup control. Així, tenim tres ampolles: una amb la dissolució de *Crambe crambe*, una amb la d'*Axinella sp.* i, finalment, una amb aigua de mar sola.
4. Aleshores, marcar amb el retolador sis vasos de precipitats: dos amb una **C** pel grup control (aigua de mar), dos amb **Cr** per la solució de *Crambe Crambe* i dos amb **Ax** per la solució d'*Axinella sp.*
5. Després de remenar mecànicament les tres ampolles preparades, omplir fins a 125 ml cadascun dels sis vasos de precipitats amb la solució pertinent.



Imatges 39. Font pròpia. Els sis vasos de precipitats amb les solucions corresponents.

6. Ara, agafar la pipeta que conté els gàmetes femenins i tirar 5 gotes a cada vas de precipitats.



Imatges 40. Font pròpia. Procés d'afegir els òvuls.

7. Seguidament, agafar la pipeta que conté els gàmetes masculins i tirar 3 gotes a cada vas.



Imatges 41. Font pròpia. Procés d'afegir els espermatozoides.

8. Remenar suaument cada vas.
9. Mirar el rellotge i apuntar l'hora i el dia. Aquest serà el temps 0.
10. A partir d'aquesta hora, apuntar els diferents temps post fecundació que observarem: temps 1 (1h després), temps 2 (2h després), temps 3 (3h després), temps 4 (6h després), temps 5 (12h després), temps 6 (24h després) i temps 7 (48h després).

En veure que els eriçons mascles no estaven prou madurs sexualment i que, per tant, presentaven pocs espermatozoides, en el temps 1 hem afegit 3 gotes més de la pipeta que

contenia els gàmetes sexuals masculins (a cada vas de precipitats). Mirem el rellotge i indiquem l'hora i dia en què hem afegit les 3 gotes de més.

4.4. PROTOCOL 4: ANÀLISI DE LES MOSTRES D'EMBRIONS *IN VIVO*

Un cop ho hem preparat tot, és el moment d'observar els resultats de les tres mostres en cadascun dels temps.

4.4.1.MATERIALS

- Vasos de precipitats amb els embrions
- Microscopi
- Portaobjectes
- 3 pipetes, una per cada tipus de solució

4.4.2. MÈTODE

1. En primer lloc, agafar unes gotes d'una de les solucions amb la pipeta i posar-les a un portaobjectes.
2. Seguidament, posar el portaobjectes al microscopi i apuntar el nombre d'embrions fecundats, de 2 cèl·lules, de 4 cèl·lules, de 8, de 16 i el nombre de mòrules, de blàstules i de gàstrules que veiem. També cal contar si hi ha alguna larva i alguna aberració.
3. Repetir aquest procediment per cadascuna de les solucions en cadascun dels temps post fecundació.

La idea inicial per dur a terme aquest procés experimental era utilitzar formol per fixar les mostres en cadascun dels temps. Per no fer ús d'aquest compost, que presenta alts nivells de toxicitat i inflamabilitat, vam realitzar una primera part experimental emprant una petita quantitat d'alcohol com a fixador. Malauradament, en veure els resultats, vam observar que l'alcohol havia destrossat els embrions. És per això que, finalment, hem fet l'experiment *in vivo*.

5. RESULTATS

La falta de sincronia en la maduresa sexual dels mascles i les femelles que hem observat anteriorment, ha dificultat la fecundació dels embrions durant tot l'experiment. Aquest contratemps ha fet que per poder obtenir resultats clars a partir dels embrions fecundats i les seves divisions, hàgim de comptar un nombre total d'embrions molt elevat. Per tant, a l'hora de calcular el tant per cent d'embrions fecundats i les seves divisions, hem utilitzat el logaritme neperià. Això ens ha permès reduir el denominador (el total d'embrions comptats) i no treballar amb resultats excessivament petits.

El procediment que hem seguit per obtenir les taules de resultats és el següent:

$$\frac{\text{embrions obtinguts de cada fase embrionària}}{\ln(\text{embrions totals comptats})} \cdot 100 = \% \text{ embrions de cada fase embrionària}$$

Temps 1	Grup control	<i>Axinella sp.</i>	<i>Crambe crambe</i>
Fecundats	27	27	0
2 cèl·lules	0	0	0
4 cèl·lules	0	0	0
8 cèl·lules	0	0	0
16 cèl·lules	0	0	0
Mòrula	0	0	0
Blàstula	0	0	0
Gàstrula	0	0	0
Larva	0	0	0
Aberracions	0	0	0

Figura 4. Resultats en % de l'estudi antimitòtic dels embrions en el temps 1.

Temps 2	Grup control	<i>Axinella sp.</i>	<i>Crambe crambe</i>
Fecundats	41	42	0
2 cèl·lules	41	63	0
4 cèl·lules	21	0	0
8 cèl·lules	0	0	0
16 cèl·lules	0	0	0
Mòrula	0	0	0
Blàstula	0	0	0
Gàstrula	0	0	0
Larva	0	0	0
Aberracions	0	0	0

Figura 5. Resultats en % de l'estudi antimitòtic dels embrions en el temps 2.

Temps 3	Grup control	<i>Axinella sp.</i>	<i>Crambe crambe</i>
Fecundats	39	20	0
2 cèl·lules	97	0	0
4 cèl·lules	0	0	0
8 cèl·lules	39	0	0
16 cèl·lules	0	20	0
Mòrula	0	0	0
Blàstula	0	0	0
Gàstrula	0	0	0
Larva	0	0	0
Aberracions	0	60	0

Figura 6. Resultats % de l'estudi antimitòtic dels embrions en el temps 3.

Temps 4	Grup control	<i>Axinella sp.</i>	<i>Crambe crambe</i>
Fecundats	43	44	79
2 cèl·lules	43	66	0
4 cèl·lules	22	0	0
8 cèl·lules	86	0	0
16 cèl·lules	86	0	0
Mòrula	0	0	0
Blàstula	0	0	0
Gàstrula	0	0	0
Larva	0	0	0
Aberracions	0	88	20

Figura 7. Resultats en % de l'estudi antimitòtic dels embrions en el temps 4.

Temps 5	Grup control	<i>Axinella sp.</i>	<i>Crambe crambe</i>
Fecundats	38	95	0
2 cèl·lules	0	57	0
4 cèl·lules	0	19	0
8 cèl·lules	38	0	0
16 cèl·lules	38	0	0
Mòrula	77	19	0
Blàstula	96	0	0
Gàstrula	0	0	0
Larva	0	0	0
Aberracions	0	76	0

Figura 8. Resultats en % de l'estudi antimitòtic dels embrions en el temps 5.

Els resultats dels temps sis i set han estat descartats perquè el volum de la solució era molt petit comparat amb la quantitat d'embrions morts, que han acabat per contaminar el medi.

6. ANÀLISI DE RESULTATS

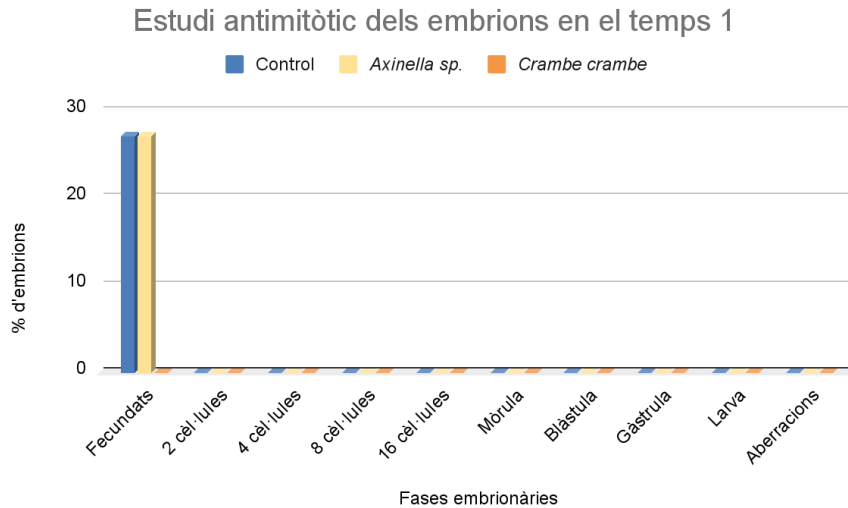


Figura 9. Gràfica estudi antimitòtic dels embrions en el temps 1

Com podem observar en el **temps 1**, en el grup control només s'ha fecundat 27% d'embrions de *Paracentrotus lividus*. El mateix ha succeït en la solució amb l'esponja *Axinella sp.* A més a més, en ambdós casos, els embrions no han realitzat encara les primeres divisions.

Pel que fa a la solució que conté l'esponja *Crambe crambe*, en el temps 1 encara no s'ha fecundat cap embrió contràriament al grup control i a l'altra solució. En ser encara el temps 1, podem pensar que això ve degut a la falta de maduresa dels eriçons mascles o d'algun altre factor que alenteixi la capacitat de fecundació.

Per tant, en aquest temps no hi ha cap indicatiu que ens permeti determinar l'existència d'antimitòtics i el seu efecte.

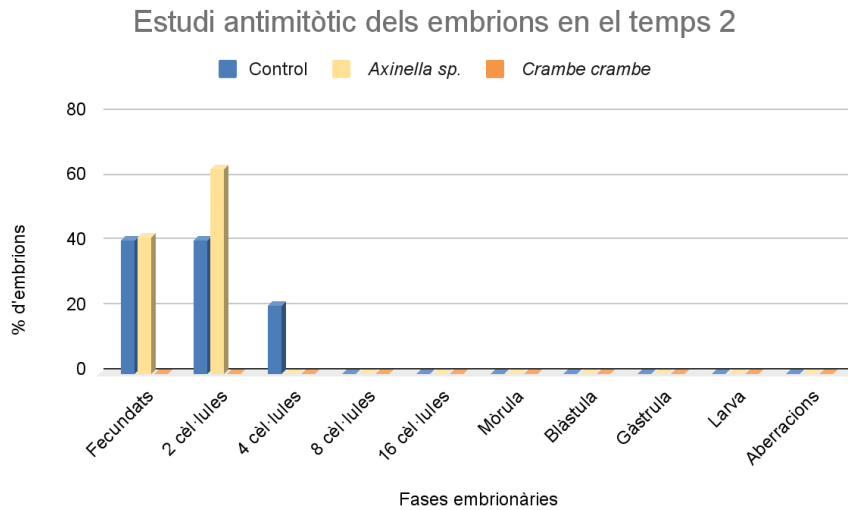


Figura 10. Gràfica estudi antimitòtic dels embrions en el temps 2.

Pel que fa al **temps 2**, el tant per cent d'embrions fecundats del grup control ha augmentat fins a 41. A més a més, alguns embrions han realitzat les dues primeres divisions, ja que podem observar un 41% de dues cèl·lules i un 21% de 4 cèl·lules.

En analitzar la solució d'*Axinella sp.*, hem vist un augment dels embrions fecundats, amb un total de 42%. També hem pogut reconèixer la primera divisió, amb un total del 63% d'embrions de dues cèl·lules. En comparació amb el grup control, veiem, doncs, que en la primera divisió s'ha obtingut un percentatge més elevat d'embrions en el mateix temps. És possible que això sigui resultat d'una major salinitat en la solució, causada per la presència de l'*Axinella sp.* En haver-hi una salinitat més elevada, els òvuls poden entendre que han estat fecundats i començar a fer les primeres divisions tot i que cap espermatozoide els hagi fecundat. A més a més, hem pogut observar que s'ha aturat en la segona divisió, a diferència del grup control que ha continuat dividint-se fins a la tercera divisió. Això podria significar un primer senyal de l'acció d'antimitòtics que podrien estar començant a alentir les mitosis.

Ara bé, els gàmetes presents en la solució amb l'esponja *Crambe crambe* han continuat sense fecundar-se, i, per tant, sense donar lloc a embrions. En aquest cas, és possible que aquesta esponja alliberi substàncies com ara espermicides per tal d'evitar, directament, la reproducció d'organismes que li suposin una competència. No podem parlar de substàncies antimitòtiques perquè aquestes actuen durant la mitosi i encara no s'ha fecundat cap embrió.

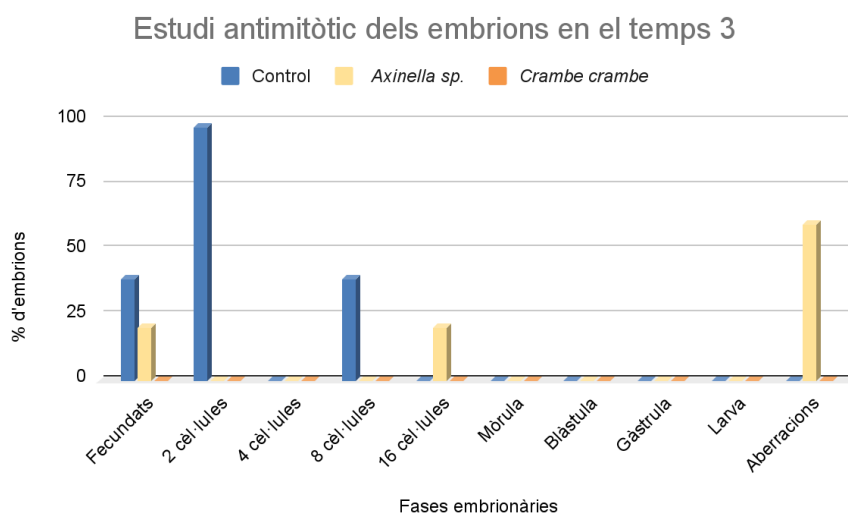


Figura 11. Gràfica estudi antimitòtic dels embrions en el temps 3.

Quant al **tercer temps**, en el grup control, els embrions han continuat dividint-se: s'aprecia un 39% d'embrions fecundats, un 97% de dues cèl·lules i un 39% de vuit cèl·lules.

En comparació, la solució que conté l'esponja *Axinella sp.* ha obtingut uns números bastant menors: 20% d'embrions fecundats, cap de dues cèl·lules, ni de quatre, ni de vuit i 20% de setze cèl·lules. Per tant, trobem una aturada en les primeres divisions. Això ens pot indicar que hi ha alguna possible acció dels antimitòtics. No obstant això, hi ha alguns embrions que han continuat cursant i han arribat a 16 cèl·lules. Així doncs, en el cas que hi hagi presència d'antimitòtics, no ha estat suficient per aturar totes les divisions. En aquest temps han aparegut també les primeres aberracions, és a dir, totes aquelles formes embrionàries que no responen a la normalitat del procés amb independència de les causes que les generin. Aquest fet reforça la teoria que hagin actuat antimitòtics, tot i que també obre la possibilitat que hagin pogut actuar altres substàncies de l'esponja capaces d'alterar les divisions cel·lulars. Tanmateix, com que no treballem a escala molecular, no podem conèixer quines altres substàncies poden estar actuant.

La solució amb l'esponja *Crambe crambe* ha continuat sense fecundar cap embrió, per tant, en aquest temps encara no podem afirmar ni desmentir l'existència d'antimitòtics en l'esponja.

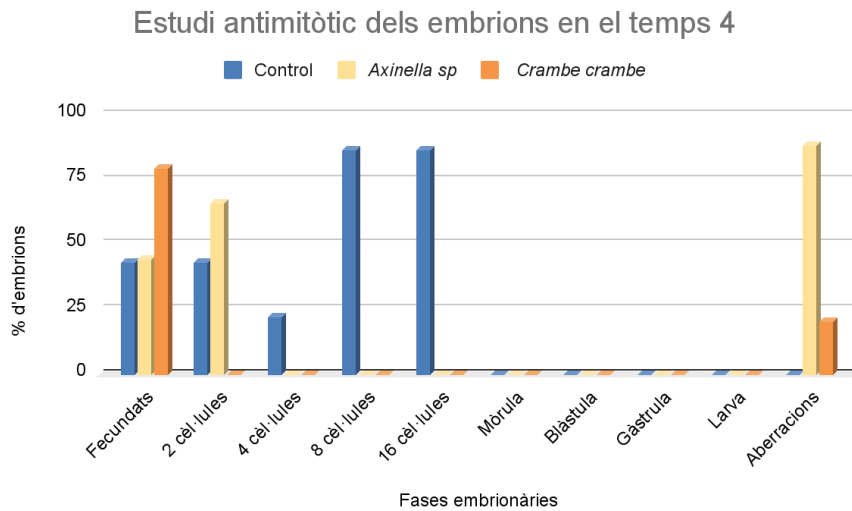


Figura 12. Gràfica estudi antimitòtic dels embrions en el temps 4.

Respecte al **quart temps**, en el grup control hem observat embrions de fins a 16 cèl·lules. Per tant, veiem que han continuat dividint-se, cursant amb normalitat.

En canvi, en analitzar els embrions de la segona solució (*Axinella sp.*), hem vist que no han passat de la primera divisió. A més a més, hem trobat més aberracions, de manera que l'aturada de les divisions en les dues cèl·lules pot venir causada per l'acció de substàncies antimitòtiques junt amb altres substàncies que hagin pogut alterar les cèl·lules en divisió i el seu entorn fisicoquímic. És més probable que els antimitòtics siguin els que hagin actuat inhibint les primeres mitosis. Aquests tenen un efecte més destacable en les primeres divisions, ja que resulta més senzill inhibir les mitosis de dues cèl·lules que no pas de 128 cèl·lules, per exemple. Per tant, a mesura que la complexitat de les divisions augmenta, és més difícil que els antimitòtics sols tinguin un efecte destacat. Aleshores, és a partir de les fases embrionàries més complexes on han pogut actuar altres substàncies de l'esponja que dificultin la divisió de l'embrió.

En aquest temps, en la solució de l'esponja *Crambe crambe* s'ha fecundat un 79% d'embrions. No obstant això, encara no sabem si han actuat els antimitòtics, hem de comprovar com evolucionen els embrions.

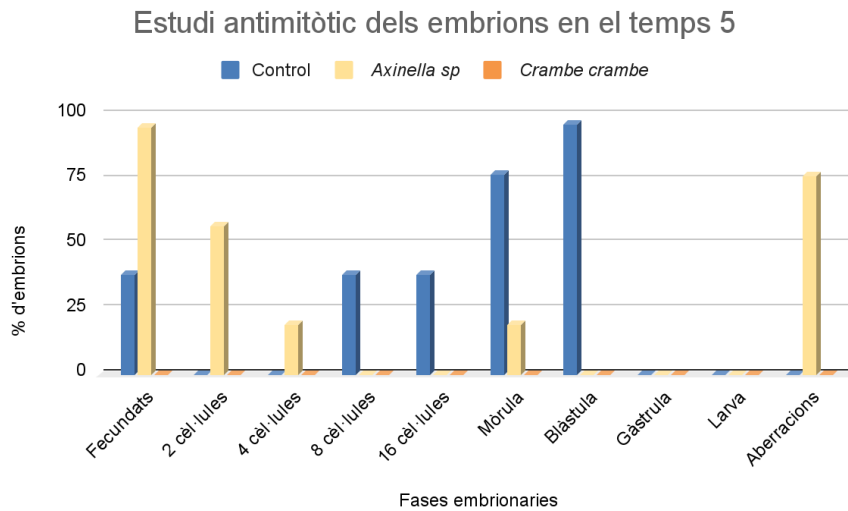


Figura 13. Gràfica estudi antimitòtic dels embrions en el temps 5.

Finalment, pel que fa al **cinquè temps**, el percentatge d'embrions fecundats en el grup control ha estat del 38%. Tot seguit hem trobat un 0% d'embrions de dues i de quatre cèl·lules, un 38% de vuit i de setze cèl·lules i alguns que han aconseguit arribar fins a mòrula i blàstula, amb un total de 77% i de 96% d'embrions, respectivament.

Per tant, com hem pogut veure al llarg de l'experiment, els embrions del grup control han anat dividint-se a mesura que ha anat passant el temps, sense cap alteració.

En la segona solució (amb *Axinella sp.*), hem observat que la tendència és la contrària a la del grup control: un percentatge molt elevat de fecundacions (un 95%), un percentatge menor de les dues primeres divisions, cap de la tercera ni de la quarta divisió i alguns embrions que han arribat a mòrula. Això ens demostra que tot i la presència de substàncies que dificulten les divisions o fins i tot que les aturen, tal com ens indiquen les aberracions, hi ha alguns embrions que han aconseguit continuar la seva divisió.

En la tercera solució (amb l'esponja *Crambe crambe*) no hem vist cap embrió. Així doncs, és coherent pensar que han actuat substàncies antimitòtiques, que han pogut aturar la divisió dels embrions del temps 4.

7. CONCLUSIONS

Després de realitzar la part experimental del nostre projecte i analitzar els resultats obtinguts, tot ens indica que les nostres hipòtesis han estat corroborades. Tal com ens mostren els resultats, ambdues esponges, *Crambe crambe* i *Axinella sp.*, alliberen molècules antimitòtiques efectives, ja que els embrions de *Paracentrotus Lividus* que s'han desenvolupat en les solucions amb les esponges, no han cursat igual que el control i han tingut més dificultats per dur a terme les primeres divisions cel·lulars. De tota manera, hem de tenir en compte que els antimitòtics no són les úniques substàncies que han actuat, sinó que el gran percentatge d'aberracions, ens permet deduir que les esponges també contenen altres substàncies que han dificultat el desenvolupament embrionari en les fases més complexes. En canvi, en el grup control, que tenia únicament els gàmetes dels eriçons, els embrions s'han anat dividint a mesura que ha anat passant el temps fins a arribar a blàstules, per tant, podem afirmar que no hi havia presència de cap substància que frenés el seu proliferament, a diferència de les altres dues solucions.

A més a més, els resultats ens donen a entendre que, en comparació amb l'esponja *Axinella sp.*, l'esponja *Crambe crambe* allibera més substàncies antimitòtiques, ja que és un organisme incrustant. En requerir una major superfície per créixer, aquesta esponja necessita més substàncies químiques, entre elles antimitòtiques, que li permetin eliminar la competència per aconseguir i mantenir l'espai on fixar-se. Tal com podem observar en els resultats, en el quart temps de la solució amb l'esponja *Crambe crambe*, han aparegut els primers embrions fecundats, els quals no han passat ni a la primera divisió cel·lular, com hem vist posteriorment en el cinquè temps. En canvi, pel que fa a la solució amb l'esponja *Axinella sp.*, els embrions sí que han anat dividint-se, però amb menor proliferació que el grup control i, a més han arribat a desenvolupar una tendència contrària a aquest en el cinquè temps. D'aquesta manera podem deduir que l'esponja *Axinella sp.* conté certa concentració de molècules antimitòtiques, però menor que l'esponja *Crambe crambe* la qual ha actuat inhibint per complet la divisió dels embrions. Com que l'*Axinella sp.* creix de manera erecta i, per tant, no requereix tanta competència com la *Crambe crambe*, és comprensible que tingui un menor potencial antimitòtic.

En confirmar l'efectivitat d'aquestes molècules antimitòtiques, les esponges treballades es converteixen en una nova font de possibles substàncies anticanceroses que puguin ser útils a l'hora de crear nous fàrmacs per la quimioteràpia o per altres tractaments per combatre el càncer. De les dues esponges treballades, seria la *Crambe crambe* la més efectiva. Com hem explicat anteriorment, els fàrmacs emprats en la quimioteràpia no només afecten les cèl·lules canceroses sinó que també poden ser nocius per les sanes, de manera que el pacient sovint experimenta diversos efectes secundaris. És per això que la recerca de noves substàncies capaces de fer front a aquesta malaltia, incrementa les possibilitats de trobar-ne de millors que no en causin tants. D'aquesta manera, preservar els ecosistemes tant marins com terrestres, no només és crucial per la salut del planeta, sinó que també ho és per trobar substàncies d'interès farmacològic.

Finalment, si tornéssim a repetir aquest projecte experimental, ens agradaria poder extreure de les esponges les substàncies antimitòtiques per analitzar únicament la seva acció i determinar amb seguretat que són efectives i no massa nocives en els éssers humans a l'hora de tractar el càncer. Per això, hauríem d'identificar prèviament a quin grup de biomolècules pertanyen i fer una extracció d'aquestes.

També fixaríem les mostres, si no és amb formol, amb alcohol, però amb una quantitat més petita que la que vam utilitzar en un principi, de manera que els embrions no quedin destrossats.

8. REFERÈNCIES

8.1. WEBGRAFIA

Puente, Javier; De Velasco, Guillermo (2019), «¿Qué es el cáncer y cómo se desarrolla?», Sociedad Española de Oncología Médica, <https://seom.org/informacion-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer-y-como-se-desarrolla> Data de consulta 8/06/2023.

Personal de Mayo Clinic, (2022), «Cáncer», Mayo Clinic, <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/cancer/symptoms-causes/syc-20370588> Data de consulta 8/06/2023.

Sánchez, Samuel, «Los 10 tipos de cáncer más comunes», VIVO Labs, <https://vivolabs.es/los-10-tipos-de-cancer-mas-comunes/> Data de consulta 9 de juny de 2023. Data de consulta 12/06/2023.

Sociedad Española de Oncología Médica, (2022), «Las cifras del cáncer en España, 2022», SEOM, https://seom.org/images/LAS_CIFRAS_DEL_CANCER_EN_ESPANA_2022.pdf Data de consulta 12/06/2023.

Personal CIBER, (2021), «Mortalidad por cáncer en España, hombres», Center for Biomedical Research Network, <https://www.isciii.es/QueHacemos/Servicios/VigilanciaSaludPublicaRENAVE/EnfermedadesCronicas/Documents/mortalidad/mort2021.pdf> Data de consulta 13/06/2023.

Sociedad Española de Oncología Médica, (2021), «Las cifras del cáncer en España, 2021», SEOM, https://seom.org/images/Cifras_del_cancer_en_Espnaha_2021.pdf Data de consulta 13/06/2023.

Wakin, Suzanne, «Fase mitótica», LibreTexts, [https://espanol.libretexts.org/Biologia/Biolog%C3%ADa_Humana/Biolog%C3%ADa_Humana_\(Wakim_y_Grewal\)/07%3A_Reproducci%C3%B3n_celular/7.3%3A_Fase_Mit%C3%B3tica_-_Mitosis_y_Citocinesis](https://espanol.libretexts.org/Biologia/Biolog%C3%ADa_Humana/Biolog%C3%ADa_Humana_(Wakim_y_Grewal)/07%3A_Reproducci%C3%B3n_celular/7.3%3A_Fase_Mit%C3%B3tica_-_Mitosis_y_Citocinesis) Data de consulta 13/06/2023.

Megía, Rubén, (2020), «La mitosis: ¿cómo se dividen tus células?», Genotipia, <https://genotipia.com/mitosis/> Data de consulta 20/06/2023.

M, Megías; P, Molist; MA, Pombal, (2019), «Fase M: mitosis y citocinesis», Atlas de histología vegetal y animal, <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/cita-celula.php> Data de consulta 20/06/2023.

(2023), «Fases de la mitosis», Khan Academy, <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/cell-communication-and-cell-cycle/cell-cycle/a/phases-of-mitosis> Data de consulta 20/06/2023.

National Institute of Health, (2021), «¿Qué es el cáncer?», NIH, <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es> Data de consulta 21/06/2023.

Gonzalo, Victoria; Castellví-Biel, Sergi; Balaguer, Francesc; Pellisé, Maria; Ocaña, Teresa; Castells, Antoni, (2008), «Epigenética del cáncer», Elsevier, <https://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-articulo-epigenetica-del-cancer-S0210570508712585> Data de consulta 28/06/2023.

Díaz-Rivavelarde, María Soledad, (2016), «Avances sobre epigenética en cáncer», Universidad de Cantabria, <https://digital.csic.es/bitstream/10261/164964/1/RivavelardeTFG.pdf> Data de consulta 28/06/2023.

Pagés, Aina, (2018), «L'apoptosi, l'inici d'un final», Universitat de Vic, https://premisrecerca.uvic.cat/sites/default/files/webform/apoptosi_linici_dun_final.pdf Data de consulta 1/07/2023.

Badia, Aina, (2016), «La mitosi i el seu descontrol», Universitat de Vic, https://premisrecerca.uvic.cat/sites/default/files/webform/f011b8ed7c814c5dda2b90917a8b31c664e72c76_TREBALL%20DE%20RECERCA%20BLUES.pdf Data de consulta 1/07/2023.

Pifarré, Carme, (2022), «Step by Step, understanding the background of cancer», Universitat de Vic, https://premisrecerca.uvic.cat/sites/default/files/webform/webform_1/3103/UVic.pdf Data de consulta 1/07/2023.

Muñoz, Alberto, «El proceso de la carcinogénesis», Instituto de Investigaciones Biológicas, <https://digital.csic.es/bitstream/10261/190485/1/procescarcin.pdf> Data de consulta 8/07/2023.

(2010), «Iniciación», BioCancer research journal, <https://www.biocancer.com/journal/806/21-iniciacion> Data de consulta 8/07/2023.

Membres de JuntosXTuSalud, «Carcinogénesis», JuntosXTuSalud, <https://juntosxtusalud.com/carcinogenesis> Data de consulta 8/07/2023.

Equip de redactors i editors de l'American Society of Clinical Oncology, «Quimioteràpia», Cancer.Net, <https://www.cancer.net/es/desplazarse-por-atencion-del-cancer/c%C3%B3mo-se-trata-el-c%C3%A1ncer/quimioterapia/qu%C3%A9-es-la-quimioterapia> Data de consulta 25/07/2023.

Universidad Complutense de Madrid, «La Mitosis», UCM, <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-56185/05-La%20Mitosis.pdf> Data de consulta 28/07/2023.

Equip de redactors i editors de l'American Society of Clinical Oncology, (2019) «Cómo se usa la quimioterapia para tratar el cáncer», American Cancer Society, <https://www.cancer.org/es/cancer/como-sobrellevar-el-cancer/tipos-de-tratamiento/quimioterapia/como-la-quimioterapia-es-usada-para-tratar-el-cancer.html> Data de consulta 28/07/2023.

Equip de redactors i editors de l'American Society of Clinical Oncology, «Efectos secundarios de la quimioterapia», Cancer.Net, <https://www.cancer.net/es/desplazarse-por-atenci%C3%B3n-del-c%C3%A1ncer/c%C3%B3mo-se-trata-el-c%C3%A1ncer/quimioterapia/efectos-secundarios-de-la-quimioterapia> Data de consulta 1/09/2023.

Siqueira, Larissa; Pêgas, João Antonio; Bonatto, Diego, (2017), «Anti-mitotic agents: Are they emerging molecules for cancer treatment?», Elsevier, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163725817300219> Data de consulta 2/09/2023.

Visagie, Michelle; Theron, Anne; Joubert, Anne; Janse van Vuuren, Rustelle, (2015), «Antimitotic drugs in the treatment of cancer», Springer Link, <https://link.springer.com/article/10.1007/s00280-015-2903-8> Data de consulta 2/09/2023.

Novais, Pedro; Silva, Patrícia; Amorim, Isabel; Bousbaa, Hassan, (2021), «Second-Generation Antimitotics in Cancer Clinical Trials», Multidisciplinary Digital Publishing Institute, <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/7/1011> Data de consulta 2/09/2023.

Robertson, Sally, «History of Chemotherapy», News Medical Life Sciences, <https://www.news-medical.net/health/History-of-Chemotherapy.aspx> Data de consulta 19/09/2023.

Equip de redactors i editors de l'American Society of Clinical Oncology, (2019), «Cómo funcionan los medicamentos de quimioterapia», American Cancer Society <https://www.cancer.org/es/cancer/como-sobrellevar-el-cancer/tipos-de-tratamiento/quimioterapia/como-funcionan-los-medicamentos-de-quimioterapia.html> Data de consulta 19/09/2023.

Falzone, Luca; Salomone, Salvatore; Libra, Massimo, (2018), «Evolution of Cancer Pharmacological Treatments at the Turn of the Third Millennium», National Library of Medicine <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6243123/> Data de consulta 20/09/2023.

Marzo, Isabel; Ortiz de Solórzano, Blanca, (2016), «Mecanismos de muerte celular inducida por compuestos antimitóticos en la línea de cáncer colorrectal HCT116», Universidad Zaragoza, <https://zaguan.unizar.es/record/59140#> Data de consulta 28/09/2023.

Imperial, Santiago; Centelles, Josep J., (2010), «Paclitaxel. Descubrimiento, propiedades y uso clínico», Elsevier, <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-paclitaxel-descubrimiento-propiedades-uso-clinico-X0212047X10540737> Data de consulta 28/09/2023.

OncoLink Team, «Docetaxel (Taxotere)», OncoLink, <https://es.oncolink.org/tratamiento-del-cancer/oncolink-rx/docetaxel-taxotere> Data de consulta 28/09/2023.

Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría, (2015), «Vinblastina», Asociación Española de Pediatría, <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/vinblastina> Data de consulta 28/09/2023.

Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría, (2015), «Vincristina», Asociación Española de Pediatría, <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/vincristina> Data de consulta 28/09/2023.

Healy, Marisa, «Vinorelbine (Navelbine®)», OncoLink, <https://es.oncolink.org/tratamiento-del-cancer/oncolink-rx/vinorelbine-navelbine-r> Data de consulta 28/09/2023.

García, Manuel, «Antimitótico», Medicopedia, https://www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/index.php?title=Antimitotico Data de consulta 28/09/2023.

Dall'Acqua, Stefano, (2014), «Natural products as antimitotic agents», National Library of Medicine, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25434355/> Data de consulta 30/09/2023.

Ruoli, Bai; Zbigniew, Cichacz; Cherry, Herald; Pettit, George; Hamel, Ernest, (1993) «Spongistatin 1 , a Highly Cytotoxic, Sponge-Derived, Marine Natural Product that Inhibits Mitosis, Microtubule Assembly, and the Binding of Vinblastine to Tubulin», American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=04b1c27b905f81cf83430b2b0281bcc354fb6c93> Data de consulta 30/09/2023.

Llopart, Natalia, (2016), «Las plantas medicinales como fuente de compuestos antineoplásicos», Universidad Complutense de Madrid, <https://docta.ucm.es/entities/publication/73a665c3-e64f-4e34-9e62-dfd295ed70f0> Data de consulta 9/10/2023.

Carballo, Jose Luis, (2002), «Los organismos marinos y las moléculas bioactivas. Perspectiva actual.», ResearchGate, https://www.researchgate.net/publication/322685934_Los_organismos_marinos_y_las_moleculas_bioactivas_Perspectiva_actual Data de consulta 9/10/2023.

Grup d'investigadors de l'ISPA, (2021), «La encapsulación de mitramicina mejora la eficacia y seguridad de su uso en el tratamiento de sarcomas», Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias, <https://ispa-finba.es/la-encapsulacion-de-mitramicina-mejora-la-eficacia-y-seguridad-de-su-uso-en-el-tratamiento-de-sarcomas/> Data de consulta 9/10/2023.

Grup d'investigadors de l'ISPA, (2021), «Desarrollan nuevos fármacos encapsulados más eficaces contra los sarcomas», CIBER (Centro de Investigación Biomédica en Red), <https://www.ciberonc.es/noticias/desarrollan-nuevos-farmacos-encapsulados-mas-eficaces-contra-los-sarcomas> Data de consulta 12/10/2023.

Braekman, Jean-Claude; van Soest, Rob, (1999), «Chemosystematics of Porifera: a review», ResearchGate, https://www.researchgate.net/publication/254770512_Chemosystematics_of_Porifera_a_review Data de consulta 12/10/2023.

(2022), «Podophyllum . Podophyllum Rhizome. Podophyllum Resin. Indian Podophyllum», E-lactancia, <https://e-lactancia.org/breastfeeding/podophyllum-podophyllum-rhizome-podophyllum-resin-indian-podophyllum/synonym/> Data de consulta 29/10/2023.

Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría, (2021), «Podofilotoxina», AEP, <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/podofilotoxina> Data de consulta 29/10/2023.

D. John Faulkner, (2001), «Marine natural products», Royal Society of Chemistry, <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2001/np/b006897g#sect721> Data de consulta 29/10/2023.

Spirlet, Christine; Grosjean, Philippe; Jangoux Michel, (2010), «Reproductive cycle of the echinoid *Paracentrotus lividus*: analysis by means of the maturity index», Taylor and Francis Online, <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07924259.1998.9652355> Data de consulta 29/10/2023.

F. Boudouresque, Charles; Verlaque, Marc, (2013), «Developments in Aquaculture and Fisheries Science», ScienceDirect, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123964915000216> Data de consulta 30/10/2023.

Menéndez, Juan Luis, (2005), «Ecología de las esponjas», Asturnatura, https://www.asturnatura.com/temarios/biologia/poriferos/ecologia#google_vignette Data de consulta 30/10/2023.

Pérez, Julián; Gardey, Ana, (2022), «Poríferos», Definición, <https://definicion.de/poriferos/> Data de consulta 31/10/2023.

Encina, Juan, «Las esponjas marinas: biología, importancia y sorpresas», Hidden Nature, <https://www.hidden-nature.com/revista/numero-3-revista-hidden-nature/las-esponjas-marinas-biologia-importancia-sorpresas/> Data de consulta 31/10/2023

Figueras, Antonio, (2009), «Esponjas marinas», Blogs Madrid, https://www.madrimasd.org/blogs/ciencia_marina/2009/03/31/115600 Data de consulta 31/10/2023.

Juámas, (2023), «Anatomía de una esponja marina», La BioZona, <https://www.labiozona.com/anatomia-esponja/> Data de consulta 31/10/2023.

González, Manuel, (2016), «Què són les esponges?», Buscando el azul, <https://www.bioimatge.com/que-es-una-esponja/> Data de consulta 31/10/2023.

Arjona, Sara, (2018), «Productos naturales marinos en el tratamiento del cáncer», Universidad de Sevilla, <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/81940/ARJONA%20HERN%20C3%81NDEZ%20SARA.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Data de consulta 3/11/2023.

Torres, Yolimarian, (2022), «Reconozca los principales síntomas para la detección y tratamiento del cáncer de pulmón», Medicina y Salud Pública, <https://medicinaysaludpublica.com/noticias/oncologia-hematologia/reconozca-los-principales-sintomas-para-la-deteccion-y-tratamiento-del-cancer-de-pulmon/7250> Data de consulta 3/11/2023.

Club d'immersió biologia, (2023), «*Chondrosia reniformis*», Universitat de Barcelona, https://www.cibsub.cat/bioespecie_es-chondrosia_reniformis-27991 Data de consulta 3/11/2023.

Hernando, Ana, (2015), «Antitumorales nacidos del mar, a la conquista de Estados Unidos», SINC, Ciencia contada en español, <https://www.agenciasinc.es/Reportajes/Antitumorales-nacidos-del-mar-a-la-conquista-de-Estados-Unidos> Data de consulta 11/11/2023.

(2010), «Sea sponge drug «increases breast cancer survival'», BBC News, <https://www.bbc.com/news/10262403> Data de consulta 13/11/2023.

Kaul, Roma; Risinger, April; Mooberry, Susan, (2019), «Microtubule-Targeting Drugs: More than Antimitotics», ACS Publications, <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jnatprod.9b00105> Data de consulta 13/11/2023.

(2018), «Estudi d'un equinoderm: eriçó de mar», El Racó de Calpúrnia, <https://elracodecalpurnia.blogspot.com/2018/12/estudi-dun-equinoderm-erico-de-mar.html> Data de consulta 13/11/2023.

Club d'immersió biologia, (2023), «*Paracentrotus lividus*», Universitat de Barcelona, https://www.cibsub.cat/bioespecie-paracentrotus_lividus-1625 Data de consulta 17/11/2023.

Brunetti, Aldo, (2014), «Los erizos de mar o equinoideos», Ciencia y biologia, <https://cienciaybiologia.com/los-erizos-de-mar-o-equinoideos-echinoidea/> Data de consulta 17/11/2023.

Departament de zoologia, «*Crambe crambe*», Universitat de Granada, <https://litoraldegranada.ugr.es/el-litoral/el-litoral-sumergido/fauna/esponjas/crambe-crambe/> Data de consulta 17/11/2023.

Club d'immersió biologia, (2023), «*Crambe crambe*», Universitat de Barcelona, https://www.cibsub.cat/bioespecie-crambe_crambe-1626 Data de consulta 17/11/2023.

Maldonado, Manuel; Cervià, Sònia, «La esponja incrustante roja», Mare Nostrum, <http://marenostrum.org/vidamarina/animalia/invertebrados/esponjas/ccrambe/index.htm> Data de consulta 17/11/2023.

8.2. BIBLIOGRAFIA

Gilbert, Scott (ed.) (2005), *Biología del Desarrollo*, Buenos Aires, Bogotá, Caracas, Madrid, México, São Paulo, Panamericana.

Folch, Ramon (ed.) (1994), *Biosfera (Volum 10): Litorals i oceans*, Barcelona, Enciclopèdia Catalana.

Migueluez, Fernanda (ed.) (2010), *Los otros usos del mar*, La Coruña, Netbiblo.

Hoppe, Heinz (ed.) (1982), *Marine Algae in Pharmaceutical Science (Vol. 2)*, Berlin, New York, de Gruyter.

Miller, John (ed.) (2001), *Edible Sea Urchins: Biology and Ecology*, Amsterdam, London, New York, Oxford, Paris, Shannon, Tokyo, Elsevier.

Costa, Marcel; Grau, Ramon; Llord, Josep Maria; Barrabín, Jordi de Manuel (ed.) (2023), *Biologia en context*, Barcelona, Teide.

9. ICONOGRAFIA

Imatge 1. Cicle cel·lular. Anrimabio. (2021). Quizlet. <https://quizlet.com/es/655397437/t12-1-a-reproduccio-cellular-flash-cards/>

Imatge 2. Profase mitòtica. Universidad Complutense de Madrid. UCM. <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-56185/05-La%20Mitosis.pdf>

Imatge 3. Metafase mitòtica. Universidad Complutense de Madrid. UCM. <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-56185/05-La%20Mitosis.pdf>

Imatge 4. Anafase mitòtica. Universidad Complutense de Madrid. UCM. <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-56185/05-La%20Mitosis.pdf>

Imatge 5. Telofase mitòtica. Universidad Complutense de Madrid. UCM. <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-56185/05-La%20Mitosis.pdf>

Imatge 6. Acquired Capabilities of Cancer. Douglas Hanahan and Robert A Weinberg. (2000). Cell Press. <https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674%2800%2981683-9#%20>

Imatge 7. More than Antimitotics. Kaul Roma, April L. Risinger and Susan L. Mooberry. (2019). ACS. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jnatprod.9b00105>

Imatge 8. Chemical structure of paclitaxel. Calvero. (2007) Wikipedia. <https://ca.wikipedia.org/wiki/Paclitaxel#/media/File:Taxol.svg>

Imatge 9. Structural diagram of docetaxel. Fvasconcellos. (2006). Wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Docetaxel#/media/File:Docetaxel.svg>

Imatge 10. The skeletal structure of vinblastine. Fuse809. (2018). Wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Vinblastine#/media/File:Vinblastine2DCSD.svg>

Imatge 11. Skeletal formula of vincristine. Fvasconcellos. (2009). Wikipedia. <https://ca.wikipedia.org/wiki/Vincristina#/media/File:Vincristine.svg>

Imatge 12. Struktur des Vinorelbine. Roland Mattern. (2010). Wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Vinorelbine#/media/File:Vinorelbine.svg>

Imatge 13. Podofil. Walther Otto Müller. (1887). Wikipedia. https://ca.wikipedia.org/wiki/Podofil#/media/File:Podophyllum_peltatum_-_K%C3%B6hler%E2%80%93s_Medizinal-Pflanzen-246.jpg

Imatge 14. Estructura química de la podofilotoxina. Fuse809. (2014). Wikipedia. <https://es.wikipedia.org/wiki/Podofilotoxina#/media/Archivo:Podophyllotoxin2DCSD.svg>

Imatge 15. *Streptomyces* bacteria. David Scharf. Science. Photo Library. <https://www.sciencephoto.com/media/13160/view/streptomyces-bacteria-sem>

Imatge 16. Estructura química de la Mitramicina A. GLPBIO. <https://www.glpbio.com/sp/mitramycin-a.html>

Imatge 17. *Digenea simplex*. Golfopolikayak. EOL. <https://eol.org/pages/966477/media>

Imatge 18. Skeletal formula of kainic acid. Edgar181. (2007). Wikipedia. https://en.wikipedia.org/wiki/Kainic_acid#/media/File:Kainic_acid.png

Imatge 19. *Crambe crambe*. Jordi Regàs. (2005). Club d'Immersió Biologia. https://www.cibsub.cat/bioespecie-crambe_crambe-1626

Imatge 20. Esponja *Axinella sp.* Gobierno de España. Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico. <https://www.miteco.gob.es/red-parques-nacionales/fauna/esponja-axinella.html>

Imatge 21. *Sabellaria alveolata*. Generalitat de Catalunya. Xtec.cat. <http://www.xtec.cat/~ccosta25/anellids.html>

Imatge 22. *Allonauutilus scrobiculatus*. Mgiganteus1. (2006) Wikipedia. https://ca.wikipedia.org/wiki/Allonauutilus_scrobiculatus

Imatge 23. *Chrysaora hysoscella*. Anthony Leydet. (2020). Foto video sub. <https://fotovideosub.es/chrysaora-hysoscella-anthony-leydet/>

Imatge 24. *Agelas oroides*. Sylvain Le Bris. Naturalista CO. <https://colombia.inaturalist.org/taxa/359238-Agelas-oroides>

Imatge 25. *Mithrodia fischeri*. François Michonneau. (2013) Wikipedia. <https://en.wikipedia.org/wiki/Mithrodia>

Imatge 26. Anatomia d'un eriçó de mar. Facultat de Biologia UB. (2023). Club d'Immersió Biologia. <https://www.cibsub.cat/bioespecie-erico-55679>