

I.E.S. Reguissol  
Santa Maria de Palautordera  
Treball de Recerca  
Primera tutora: Sílvia Sansaloni  
Segona tutora: Marta Sabidó

# **ADMINISTRACIÓ CONTROLADA DE FÀRMACS:**

una possible solució al tractament  
de la diabetis?

Aina Baró Sabé  
2n de Batxillerat  
Curs 2010/2011  
17-1-2011

Primer de tot m'agradaria agrair a la Sílvia Sansaloni, primera tutora, el seguiment que ha portat del meu treball i també a la Marta Sabidó, segona tutora, per l'interès mostrat en la fase final del projecte.

També voldria donar les gràcies als coordinadors del programa *Recerca a Secundària*, que em van donar l'oportunitat de fer unes pràctiques guiades als seus laboratoris, i sobretot a en Miguel Moreno que va ser el meu tutor durant tota l'estada al Parc Científic de Barcelona.

També vull agrair l'atenció de totes les persones amb qui he pogut conversar sobre el tema, i a la meua família pel seu recolzament constant.

*“Mai consideris l'estudi com una obligació, sinó com a una oportunitat per penetrar en la bellesa del món del saber”*

*Albert Einstein*

*“Després d'escalar una muntanya molt alta, vam descobrir que hi ha moltes més muntanyes per escalar”*

*Nelson Mandela*

# ÍNDEX

1. INTRODUCCIÓ .....	3
2. OBJECTIU .....	6
3. PART TEÒRICA .....	7
3.1- LA DIABETIS <i>MELLITUS</i> .....	7
3.1.1-Causes i tipus .....	8
3.1.1.1- La diabetis <i>mellitus</i> primària .....	8
3.1.1.2- La diabetis <i>mellitus</i> secundària .....	11
3.1.2- Manifestacions i evolució .....	11
3.1.3- Complicacions .....	12
3.1.4- Tractament .....	14
3.1.4.1- La insulina .....	15
3.2- L'ADMINISTRACIÓ DE FÀRMACS .....	17
3.2.1- Sistema tradicional d'administració d'insulina .....	18
3.2.2- Sistema ideal d'administració controlada d'insulina .....	20
3.3- RECERCA QUE S'ESTÀ DUENT A TERME PER ACONSEGUIR UN SISTEMA D'ADMINISTRACIÓ CONTROLADA DE LA INSULINA .....	26
4. PART PRÀCTICA .....	28
4.1- OBJECTIU .....	28
4.2- MARC TEÒRIC .....	29
4.3- MATERIAL I PROCEDIMENTS .....	30
4.4- RESULTATS .....	43

5. CONCLUSIONS .....	52
6. VALORACIÓ PERSONAL .....	55
7. BIBLIOGRAFIA .....	56
8. ANNEX .....	59
8.1- Material de laboratori .....	59
8.2- Resultats de l'espectre d'absorbància del rentat de l'hidrogel .....	61
8.3- Graella de resultats .....	62
8.4- Entrevistes .....	63

## 1. INTRODUCCIÓ

L'elecció d'un tema pel treball de recerca és presenta a qualsevol alumne/a com una important decisió. Després del batxillerat m'agradaria molt cursar una carrera relacionada amb la química i la biologia. Així doncs vaig pensar que per dur a terme aquest treball el millor seria escollir un tema que m'interessés, i que alhora em permetés un primer contacte amb el meu possible futur laboral.

Des del primer moment vaig tenir clar que m'agradaria poder fer un treball sobre vida microscòpica o simplement sobre algun aspecte relacionat amb el laboratori, ja que és el que més em crida l'atenció. Podria realitzar una recerca tant a nivell teòric com pràctic.

D'entrada em vaig decantar pel tema del tractament d'aigües. Tinc un tiet que treballa a les Aigües del Montseny i vaig pensar que podria introduir-me en aquest món amb més facilitat.

Pensant en la possible part pràctica se'm va plantejar la següent pregunta: si per algun factor, una aigua potable es contamina, el creixement de microorganismes perjudicials serà menor en una aigua tractada amb clor o tractada amb ozó?

El que vaig fer va ser començar a documentar-me sobre el tema de les aigües. Vaig buscar informació, el meu tiet em va facilitar documents de la seva empresa, i també vaig trobar-me amb en Ramón, un home que havia estat treballant a la depuradora d'aigües de Barcelona i que en sabia molt del tema.

A més a més de buscar informació vaig començar a provar la part pràctica a l'institut. Vaig fer uns experiments seguint un dels protocols que m'havia proporcionat la meva tutora. La idea era veure si el bacteri *E.Coli* creixia més en un tipus d'aigua que a un altre.

Mentre estava treballant en tot això em vaig assabentar, a través de les meves professores de l'I.E.S., que hi havia un programa organitzat per la UB i el Parc Científic

de Barcelona. Aquest acollia quaranta treballs de recerca científics per poder realitzar la part pràctica allà.

*Recerca a secundària* és un programa que t'obre les portes del Parc Científic i allà t'ajuden a fer la part pràctica del teu treball i t'assignen un tutor perquè et faci el seguiment de les pràctiques.

Bé doncs, tan bon punt ho vaig saber no m'ho vaig pensar dos cops i vaig enviar tot el que va fer falta: la proposta que havia pensat de les aigües, juntament amb una carta de motivació, una carta d'aval del tutor, el currículum i les dades personals.

Unes setmanes després d'haver enviat tot això vaig saber que m'havien agafat per realitzar la part pràctica del meu treball al Parc Científic. Al fer la reunió amb el tutor d'allà, en Miguel Moreno, vam decidir entre els dos canviar el tema. El que jo havia pensat era una pràctica factible amb els mitjans que m'oferia el laboratori de l'institut (cultiu de bacteris en les diferents aigües). Ara les coses canviaven i, aprofitant l'oportunitat, podia realitzar un treball més complex.

En Miguel, que havia estat treballant amb els hidrogels i l'administració controlada de fàrmacs, em va proposar encaminar el meu projecte cap aquesta direcció. Jo hi vaig estar totalment d'acord i el primer que vaig fer va ser començar a documentar-me sobre tot aquest món. Vaig realitzar les pràctiques la segona setmana de juliol, del 13 al 16.

El meu treball es centra sobretot en l'administració controlada de fàrmacs. Hi ha una exposició teòrica i una part pràctica.

Quan vaig plantejar el tema, vaig pensar concretar una mica més. La meua idea va ser aplicar aquesta nova investigació a una malaltia específica. D'entrada vaig pensar en la diabetis, ja que conec gent que la pateix i sé els inconvenients que els suposa la medicació. No obstant això, vaig posar-me en contacte amb diferents persones. Les converses mantingudes amb elles em van confirmar que la diabetis era una bona candidata per aplicar-hi el sistema d'administració controlada de fàrmacs. És una

malaltia que està augmentant, que necessita més d'una administració d'insulina diària i que crea una dependència en el malalt, i sovint també als familiars, molt important.

Així doncs començo el meu treball fent una exposició teòrica sobre la diabetis, ja que cal conèixer bé la malaltia i l'actuació de la insulina al cos per poder imitar, a través del nou sistema, una administració semblant i igual d'eficaç. Seguidament exposo la informació sobre el nou sistema d'administració controlada de fàrmacs. Per últim incloc també, dins la part teòrica, una petita ressenya de la investigació que s'està duent a terme en el camp de l'administració controlada de fàrmacs i la diabetis.

La part pràctica consta de tots els experiments realitzats al Parc Científic amb l'ajuda del meu tutor Miguel Moreno. Són pràctiques centrades en la formació d'un hidrogel, un dels mètodes més estudiats en l'àmbit de l'administració controlada de fàrmacs, i en les seves característiques d'actuació. Aquesta pràctica hauria estat molt més lligada a la part teòrica sobre la diabetis si hagués pogut experimentar amb insulina. No va ser possible degut al seu elevat cost i vaig realitzar les pràctiques amb tripsina, un enzim proteolític produït en el pàncrees. Malgrat això he cregut imprescindible incloure l'explicació de la diabetis, ja que seria l'ordre lògic d'una investigació. Si no coneixes la malaltia t'és impossible buscar un sistema alternatiu a l'actuació del cos.

## 2. OBJECTIU

La diabetis és una malaltia crònica que cada vegada s'està fent més present dins la nostra societat. Actualment el nombre de diabètics està augmentant considerablement i el problema del tractament és cada vegada més greu i costós. L'administració d'insulina és complexa, d'aquí que s'estiguin investigant nous sistemes, entre ells els d'administració controlada. Seria una bona manera de facilitar el tractament als diabètics.

A partir d'aquest plantejament, els objectius del meu treball són els següents:

- Aprendre més conceptes sobre l'àmbit estudiat i sobre el món científic, a través de les pràctiques realitzades.
- Conèixer la investigació que s'està duent a terme i la possible incorporació de sistemes d'administració controlada per facilitar el tractament a tots els malalts.
- Saber si l'hidrogel format mitjançant la substància PGA-Cys és un bon candidat com a transportador d'un sistema d'administració controlada de fàrmacs.

La hipòtesi de l'últim i principal objectiu, és la següent:

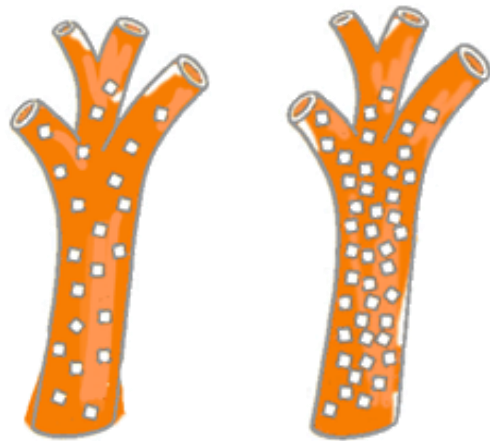
**“L'hidrogel format mitjançant la substància PGA-Cys pot arribar a ser un bon candidat per l'administració controlada de fàrmacs.”**



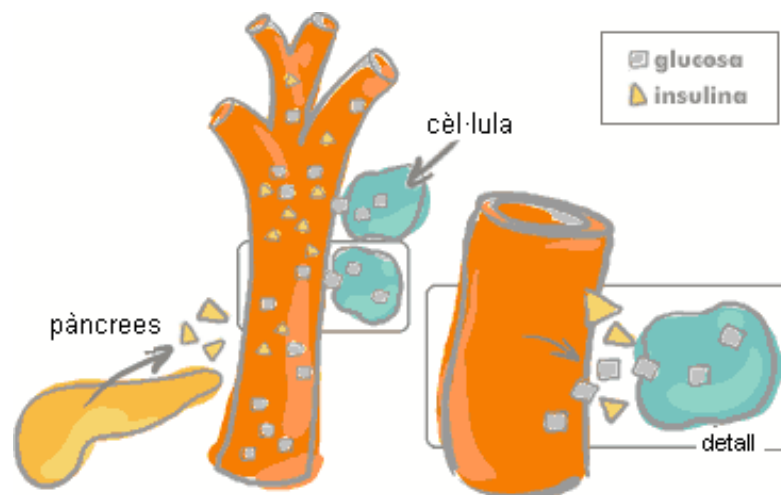
### 3. PART TEÒRICA

#### 3.1- LA DIABETIS MELLITUS

La diabetis *mellitus* és una malaltia crònica deguda a trastorns d'origen divers. Presenta un dèficit en la secreció pancreàtica d'insulina i/o un defecte de l'acció d'aquesta hormona sobre els teixits orgànics. Aquests trastorns originen una sèrie d'afeccions en el metabolisme dels hidrats de carboni, els greixos i les proteïnes. L'indicador més característic d'aquestes afeccions és la hiperglucèmia o el increment dels nivells sanguinis de glucosa.



Durant la digestió, els aliments es descomponen per crear glucosa (entre d'altres substàncies), la major font d'energia del nostre cos. Aquesta glucosa passa a la sang on, gràcies a l'hormona insulina, entra a les cèl·lules que la necessiten per estar en actiu i poder dur a terme totes les funcions bàsiques del nostre cos. Si el pàncrees no fabrica insulina o la que fabrica no és vàlida, el problema recau en que la glucosa no pot passar a les cèl·lules. Això provoca una acumulació de glucosa a la sang i les cèl·lules es queden sense energia per poder realitzar les funcions vitals.



Aquesta malaltia, segons dades de la Federació Internacional de Diabetis (FID), és freqüent; es calcula que afecta a més de 230 milions de persones (setembre del 2008), tot i que en alguns casos no genera simptomatologia evident i passa inadvertida. Es pot presentar en qualsevol moment de la vida, no obstant entre un 10% i un 20% dels casos s'inicia abans de 25 anys. La resta de casos es sol presentar després dels 40 anys d'edat, amb una incidència màxima als 60 anys.

Pel que fa al sexe, globalment no hi ha diferències significatives, ja que entre els afectats més joves hi sol haver un cert predomini del sexe masculí, però la proporció s'inverteix en edats avançades.

En el meu entorn més immediat, he demanat dades sobre la gent diabètica que està atesa en el CAP de Santa Maria de Palautordera. Sobre una població aproximada de 9.000 habitants, hi ha 370 persones que pateixen diabetis (el 4,1% de la població).

### 3.1.1- Causes i tipus

La diabetis pot presentar diverses causes, ja que el paràmetre fonamental de la malaltia, la hiperglucèmia, pot ser deguda a diversos trastorns dels nombrosos mecanismes involucrats en el control de la glucèmia. Així, es diferencien diversos tipus de la malaltia, d'origen i evolució diferent, tot i que en tots els casos les alteracions metabòliques consegüents són similars.

Hi ha, bàsicament, dos tipus de diabetis: la diabetis *mellitus* primària i la diabetis *mellitus* secundària.

**3.1.1.1-** La **diabetis *mellitus* primària** constitueix la major part dels casos de malalts, amb gairebé un 99% del total. La base de la malaltia està en un defecte de la producció pancreàtica d'insulina. De vegades, a aquest procés, s'hi pot afegir un trastorn en la receptivitat dels diversos teixits orgànics a la insulina, és a dir, una resistència perifèrica a la seva acció.

L'origen de l'alteració no ha estat determinat clarament, tot i que s'ha avançat molt en el coneixement de les possibles causes de la malaltia. Així, ha estat possible determinar que la diabetis *mellitus* primària és una afecció multifactorial. Això significa que en el seu desenvolupament incideixen tant factors genètics hereditaris com

factors ambientals, amb un grau de més o menys responsabilitat segons els diversos casos. Bàsicament, doncs, es pensa que hi ha una susceptibilitat especial per patir la malaltia, transmesa hereditàriament. També es creu que determinats factors ambientals podrien ocasionar el desenvolupament del trastorn quan actuen en les persones que hi estan predisposades.

Els estudis realitzats han permès distingir clarament dos tipus de diabetis *mellitus* primària, anomenats tipus I i II, cadascun dels quals presenta un origen i una evolució diferents.

- Diabetis mellitus de tipus I. Correspon entre el 10% i el 20% de tots els casos de diabetis primària, i és la forma més greu de la malaltia. Generalment es diagnostica durant la infància, entre els 10 i els 12 anys, però hi ha pacients que reben el diagnòstic quan tenen entre 20 i 25 anys. És anomenada **diabetis insulíndependent**, ja que el cos no produeix insulina o ho fa amb molt poca quantitat, per tant el pacient necessita administració externa d'aquesta hormona diàriament.

Pel que fa a l'origen d'aquest tipus de diabetis, el més probable és que l'alteració genètica, de base, predisposi al fet que es manifesti un trastorn autoimmunitari, és a dir, una reacció anòmala del sistema immunitari. Aquesta reacció erròniament elabora anticossos capaços d'atacar estructures del mateix organisme com si fossin agents nocius. En aquest cas, els anticossos són capaços d'atacar les cèl·lules  $\beta$  del pàncrees, on es forma la insulina, i aquestes van deteriorant la seva activitat fins originar la malaltia. Aquesta hipòtesi és en part corroborada per la detecció d'anticossos anticèl·lules  $\beta$  dels illots pancreàtics en un percentatge elevat en persones afectades recentment. També perquè al pàncrees d'aquests malalts es poden trobar acumulacions de cèl·lules immunitàries.

Se suposa que, perquè es desenvolupi el trastorn autoimmunitari, han d'actuar alguns factors ambientals, com per exemple una eventual infecció vírica. En aquest sentit, s'han involucrat diversos virus que en podrien ser responsables

quan originen una infecció en una persona predisposada a la diabetis, com ara els que provoquen la rubèola, la parotiditis o l'encefalitis.

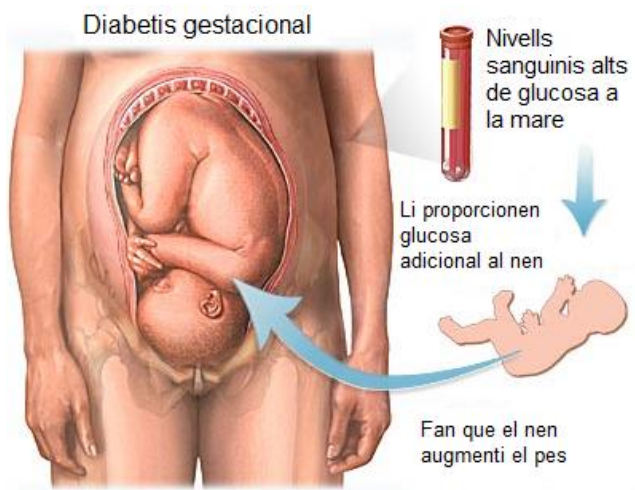
- Diabetis mellitus de tipus II. És més comuna que la de tipus I i correspon entre el 80% i el 90% de tots els casos de diabetis primària. És una forma menys greu de l'afecció a curt termini, ja que no té tendència a desenvolupar complicacions metabòliques agudes greus. Tot i així sense tractament correcte origina nombroses complicacions a llarg termini. Es desenvolupa quan el pàncrees no produeix suficient insulina per mantenir els nivells normals de glucosa a la sang. Generalment es presenta a l'edat adulta entre els 40 i els 60 anys, tot i que es pot diagnosticar a persones més joves, com alguns casos anomenats MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*), en què l'alteració comença abans però amb les mateixes característiques que la malaltia iniciada a l'edat adulta.

Aquest tipus de diabetis també rep el nom de **diabetis no insulíndependent** perquè la malaltia es sol controlar durant algun temps (mesos o anys) amb mesures dietètiques i administració de certs medicaments, sense necessitat d'emprar insulina. Tot i que la seva administració no és necessària, en els casos que no responen adequadament al tractament o que, en determinades situacions, originen complicacions metabòliques agudes sí que es requereix l'administració d'insulina.

Malgrat l'origen no està determinat, hi ha diversos factors ambientals que tenen un pes important. En aquest sentit, l'obesitat té un paper com a factor desencadenant de la diabetis tipus II, si més no en un 70% dels casos; de fet, la diabetis de tipus II que es presentava en persones obesas va arribar a ser anomenada **diabetis grassa**. L'obesitat comporta una sèrie de trastorns metabòlics entre els quals destaca una resistència perifèrica a l'acció insulínica per disminució dels receptors cel·lulars de la insulina, la qual cosa origina un cert grau d'hiperglucèmia. Això a les persones predisposades al cap d'un període de temps comporta un desgast de les cèl·lules  $\beta$ , ja que el pàncrees ha de fer un sobreesforç, i un agreujament de la malaltia.

**3.1.1.2-** La **diabetis mellitus secundària** o **diabetis associada a d'altres trastorns** inclou tots els casos en què el trastorn apareix a conseqüència d'altres processos patològics o bé acompanyant-los. Així, es considera secundària la diabetis que apareix per conseqüència a l'extirpació del pàncrees (per un càncer de pàncrees, per exemple) o bé a la destrucció pancreàtica causada per altres afeccions. També es fa referència en aquest cas a la diabetis que es presenta en el curs d'altres afeccions endocrines o a la diabetis que pot ser una manifestació més de nombroses alteracions congènites, com ara la síndrome de Down.

Un tipus especial de diabetis és l'anomenada **diabetis gestacional**. Consisteix en la presència d'alts nivells de glucosa a la sang que presenta una dona que no té diabetis però en qualsevol moment durant l'embaràs la desencadena. Tanmateix, la major part de les dones que pateixen aquest tipus de diabetis, després del part recuperen l'estat de normalitat. Tot i així hi ha alguns casos en què les dones mantenen una intolerància hidrocarbonada i tenen un alt risc de desenvolupar diabetis *mellitus* tipus II posteriorment, amb els anys.



### 3.1.2- Manifestacions i evolució

La diabetis origina una sèrie de manifestacions característiques conseqüents al defecte en l'ús de la glucosa.

Un signe típic és la polifàgia o increment de la sensació de gana. Això deriva de la pobra utilització de glucosa que suposa l'ús d'altres substàncies nutritives (àcids grassos i proteïnes) per l'obtenció d'energia.

Un segon signe característic és la poliúria o emissió de quantitats d'orina superiors a les normals. Aquesta alteració passa quan hi ha una glucèmia superior als 180mg de

glucosa per 100ml de sang, ja que tota aquesta glucosa filtrada al ronyó no pot ser reabsorbida i, per tant, és expulsada, barrejada amb aigua, en forma d'orina.

Un altre símptoma característic, que acompanya el signe anterior, és la polidípsia, o increment de la set. Això deriva de l'estat de deshidratació que comporta la pèrdua excessiva d'aigua amb l'orina.

La utilització de greixos i proteïnes per a l'obtenció d'energia, afegit a les pèrdues de líquids, provoca un altre signe característic de la diabetis: la pèrdua de pes.

Pel que fa a l'inici de les manifestacions descrites i l'evolució de la malaltia, s'observen diferències notables segons el tipus de diabetis *mellitus* de què es tracta.

La diabetis *mellitus* de tipus I sol començar de manera més o menys aguda, de vegades amb alguna de les complicacions greus, especialment la citoacidosis diabètica (explicada més endavant). L'evolució d'aquesta diabetis depèn molt del tractament que s'efectuï, ja que sense un control adequat és molt desfavorable. Tot i així, actualment, amb el tractament adequat es pot arribar a atenuar el defecte i els malalts poden fer una vida pràcticament normal.

En el cas de la diabetis *mellitus* de tipus II, la malaltia sol començar de manera gradual i insidiosa. No és estrany que passin diversos anys abans que es detectin els símptomes, o, fins i tot, és possible que apareguin algunes complicacions cròniques de l'alteració abans que s'hagin tingut en compte els símptomes generals de la diabetis. A la diabetis de tipus II són poc freqüents les complicacions agudes, però en canvi, és habitual que amb el pas del temps es vagin produint complicacions cròniques.

### 3.1.3- Complicacions

En el curs de la diabetis *mellitus* es poden presentar complicacions de molts tipus. Es diferencien dos tipus de complicacions, les agudes i les cròniques.

Les **complicacions agudes** deriven del dèficit de l'acció insulínica que s'afegeix a un increment de l'acció d'hormones amb efectes oposats. Hi ha dues complicacions rellevants:

- La cetoacidosis diabètica. Deriva del trastorn que es produeix en el metabolisme dels greixos a conseqüència de l'alteració hormonal. L'escassetat d'insulina comporta una major degradació dels greixos i això fa que s'incrementi el nivell d'àcids grassos. Si els nivells d'aquests àcids s'eleven molt, una part d'ells es degradarà al fetge i originaran la formació dels *cossos cetònics*. Aquests cossos cetònics es comporten com àcids forts i la seva concentració provoca la disminució del pH, per tant tendeix a l'acidosis. Aquesta acidosis provoca, primerament, poliúria i polidípsia. També es pot presentar una manca de gana derivada de l'estimulació que exerceixen els cossos cetònics sobre l'hipotàlam, o nàusees, vòmits i dolor abdominal intens. Un altre símptoma que es produeix són les alteracions respiratòries amb sensació de necessitat d'aire. Aquesta situació es pot controlar amb un mecanisme amortidor del pH i amb una eliminació superior de CO<sub>2</sub> pel pulmó.
- La crisi hiperglucèmica hiperosmolar deriva de la deshidratació que comporta la pèrdua de líquids per la orina i de la hiperglucèmia. Això incrementa una osmolaritat sanguínia que per atenuar-la, el líquid intercel·lular tendeix a passar a la sang. Aquest procés produeix una deshidratació de les cèl·lules. Això es manifesta amb cansament, sequedat a la pell i a les mucoses, trastorn circulatori amb hipotensió, pal·lidesa i fredor cutània.

Les **complicacions cròniques** són responsables de la deterioració de la qualitat de vida del diabètic que no segueix el tractament. Afecten el funcionament de diversos òrgans i originen nombroses manifestacions, les més característiques de les quals són:

- La microangiopatia diabètica és un procés que afecta els petits vasos sanguinis de diverses regions i altera la circulació d'aquestes zones. La sang no pot circular adequadament pel seu interior, s'esquincen i provoquen hemorràgies diminutes. No permeten una irrigació adequada dels teixits de les zones afectades que no poden rebre prou substàncies nutritives. Aquesta situació provoca alteracions com la *retinopatia diabètica*, complicacions oculars agudes (despreniment de la retina o hemorràgies intraoculars), o *nefropatia diabètica*, que produeix insuficiència renal amb complicacions.

- La macroangiopatia diabètica és un procés que afecta els vasos sanguinis de diàmetre gran i mitjà. Origina accidents vasculars cerebrals i la malaltia coronària, que provoca angines de pit i infarts de miocardi. També pot aparèixer claudicació intermitent, aparició de dolor agut a les cames en caminar, o gangrena diabètica, quan les vasos s'obstrueixen completament i deixen sense aportació sanguínia l'àrea irrigada.
- La neuropatia diabètica és una alteració funcional del teixit nerviós que produeix afeccions en la conducció dels impulsos nerviosos als àxons neuronals. Aquesta neuropatia és més evident en el sistema nerviós perifèric, on origina polineuritis (afecció conjunta de diversos nervis), i en el sistema nerviós autònom, on causa trastorns a diversos òrgans ja que afecta a les estructures nervioses.

### 3.1.4- Tractament

La finalitat del tractament és aconseguir el benestar de la persona malalta, però només en pocs casos la diabetis es resol completament, i són casos de diabetis secundàries a malalties que poden ser solucionades. A la resta només hi ha la possibilitat de seguir un tractament durant tota la vida. Els objectius d'aquest tractament són normalitzar les alteracions metabòliques existents i prevenir les complicacions agudes i cròniques de la malaltia, sempre que sigui possible.

El tractament de la diabetis comprèn una sèrie de mesures que cal aplicar de manera conjunta: fer una dieta, practicar exercici físic, educar el malalt sobre la seva malaltia i, òbviament, l'administració d'insulina o altres



fàrmacs, com per exemple els denominats *hipoglucemiants orals* o *antidiabètics orals*. Aquests són uns medicaments en forma de pastilles que estimulen el pàncrees perquè produeixi més insulina. Només són viables per la gent que té diabetis de tipus II.



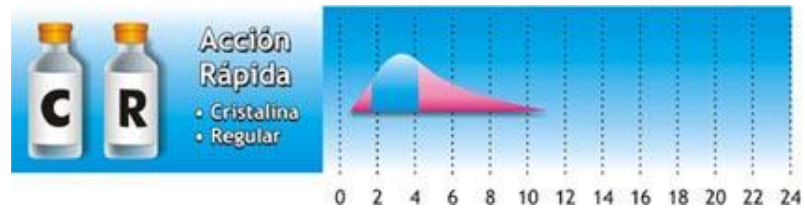
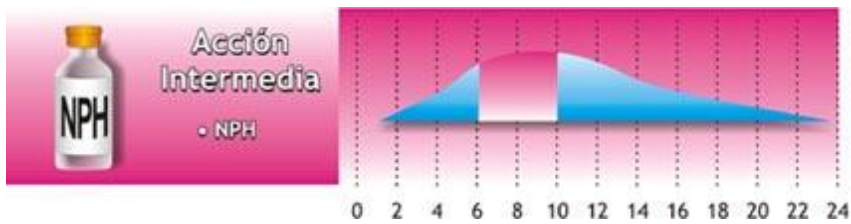
També hi ha un altre tipus d'antidiabètics, anomenats *biguanides*, que fan augmentar el consum de glucosa per part de l'organisme.

Tanmateix, molts diabètics no poden suplir el seu tractament amb aquests medicaments administrats per via oral i s'han d'injectar insulina diàriament.

**3.1.4.1-** La **insulina** és una hormona polipeptídica de l'aparell digestiu produïda per les cèl·lules  $\beta$  del pàncrees. S'encarrega de facilitar que la glucosa circuli per la sang, penetri a les cèl·lules i sigui aprofitada com a energia. Per tant, diem que manté els nivells normals de glucosa a la sang perquè no es produeixi una hiperglucèmia. Perquè aquesta insulina sigui efectiva totes les cèl·lules dels teixits del cos han d'identificar-la i permetre la seva acció.

En els malalts diabètics aquesta insulina se'ls hi ha d'administrar. Actualment aquesta hormona pot provenir de diversos orígens: extreta del pàncrees animal (porcina o vacuna), semisintètica o fins i tot elaborada amb procediments d'enginyeria genètica.

Totes les insulines tenen la mateixa estructura, però hi ha diverses modalitats d'insulina segons les característiques físico-químiques que li aporten les altres substàncies amb les que s'uneix. La diferència que hi ha entre aquests productes és la velocitat amb la que la insulina administrada passa a la sang per exercir la seva funció. D'entrada trobem les insulines d'acció ràpida, que comencen a realitzar la seva acció al cap de trenta minuts d'haver estat aplicades, i els efectes es mantenen entre 2 i 4 hores. Després trobem les insulines d'acció intermèdia, l'acció de les quals comença dues hores després de l'administració i perdura entre 4 i 12 hores. Finalment trobem les insulines d'acció prolongada, les quals comencen l'acció a les quatre hores i es manté durant un període que oscil·la entre les 18 i les 24 hores. També podem aconseguir les insulines mixtes, que són combinacions dels altres tres tipus d'insulina esmentades anteriorment. L'aplicació d'una insulina o una altra sempre ve determinada per les característiques del pacient.



Alguns problemes de la insulina administrada són:

- Al·lèrgies, hi poden haver irritacions i picor als llocs d'injecció quan una persona comença a utilitzar insulina, tot i que acostuma a desaparèixer.
- Al·lèrgies a la pròpia insulina, en aquest cas es va administrant insulina progressivament fins arribar al nivell adequat pel pacient.
- Resistència a la insulina, quan el pacient, normalment insulino-dependent, produeix una gran quantitat d'anticossos a la hormona.
- Atrofia, desgast dels teixits grassos de sota la pell, normalment als llocs on s'injecta la insulina.
- Hipertrofia, inflor del teixit gras, normalment a les zones d'injecció.

Tots aquests efectes secundaris normalment es resolen utilitzant un altre tipus d'insulina o canviant amb freqüència els llocs d'injecció.

### 3.2- L'ADMINISTRACIÓ DE FÀRMACS

El tractament de malalties amb productes farmacèutics implica la introducció d'un fàrmac a l'organisme. Aquest procés l'anomenem administració del fàrmac.

S'entén per via d'administració d'un fàrmac al camí que es tria per incorporar aquest a l'organisme i fer-lo arribar fins al seu punt final de destí o diana cel·lular. Cada fàrmac està preparat per ser administrat per una via determinada i perquè exerceixi la seva acció de la manera més convenient.

Trobem diverses vies d'administració del fàrmac, les més comunes són:

- **Via oral.** El fàrmac s'introdueix a l'organisme a través de la boca i s'absorbeix en el tracte digestiu. Aquesta via és la més antiga de les vies utilitzades, la més segura, econòmica i sovint la més convenient.
- **Via inhalatòria.** Els medicaments s'introdueixen directament als pulmons realitzant una inhalació. L'efecte és molt ràpid i s'empren dosis molt baixes. Tanmateix, moltes vegades, hi ha un desconeixement dels mecanismes per fer les inhalacions i, per tant, el seu efecte queda minvat.
- **Via nasal.** El fàrmac, normalment en estat líquid, s'introdueix directament als conductes nasals. Pretén aconseguir un efecte immediat i local.
- **Via transdèrmica.** El medicament s'introdueix a l'organisme per absorció transdèrmica mitjançant l'aplicació de pegats. La pell permet el pas d'algunes substàncies fins a arribar als capil·lars dèrmics on passa a la circulació general.
- **Via rectal.** El medicament s'introdueix a l'organisme a través de l'orifici rectal directament (supositoris) o amb l'ajuda d'algun mecanisme (lavativa, sonda rectal, entre d'altres). Els supositoris són la forma típica d'aquesta via amb els quals s'aconsegueix la distribució del medicament a tot l'organisme a través de l'absorció rectal.

- **Via parenteral.** És quan la preparació del fàrmac, formulacions estèrils, s'injecta o s'implanta al cos humà. Normalment porta el fàrmac directament a la circulació sanguínia. Dins d'aquesta via també hi ha diferents vies segons el lloc on s'injecti el fàrmac. Les més habituals són:
  - Via subcutània: s'injecta el fàrmac al teixit que hi ha sota la pell mitjançant una agulla.
  - Via intramuscular: s'introdueix el fàrmac, mitjançant una agulla més llarga, dins el múscul.
  - Via intravenosa: s'injecta el fàrmac directament al corrent sanguini, travessant amb una agulla la pell, el teixit subcutani i la paret de la vena. És la via més ràpida d'acció del fàrmac.

### 3.2.1- Sistema tradicional d'administració d'insulina

L'administració d'insulina, actualment, només es pot realitzar a través de la via parenteral. No pot ser ingerida per via oral com a càpsula, ja que els àcids i sucus gàstrics de l'estómac i dels intestins la destruirien abans que pogués fer la seva feina. L'any 2006 també es va aprovar la primera versió d'insulina inhalada pel tractament de la diabetis I i II. Es va plantejar com a alternativa per als pacients que no toleraven un tractament mitjançant injeccions o pastilles (en el cas de la diabetis tipus II). Des de la seva introducció no va resultar tan eficaç com la via subcutània ja que no se sabia del cert la quantitat absorbida. A més a més encara calia combinar la inhalació amb algunes injeccions. L'octubre del 2007, a Espanya, es va deixar de comercialitzar perquè no havia complert les expectatives econòmiques de l'empresa farmacèutica.

L'administració d'aquesta hormona difereix segons el tipus de diabetis que es presenta, i actualment es pot administrar mitjançant diversos sistemes. Tanmateix la manera més habitual d'administració de la insulina és mitjançant injeccions subcutànies a diverses zones del cos, com ara l'abdomen, els braços o les cuixes. Es

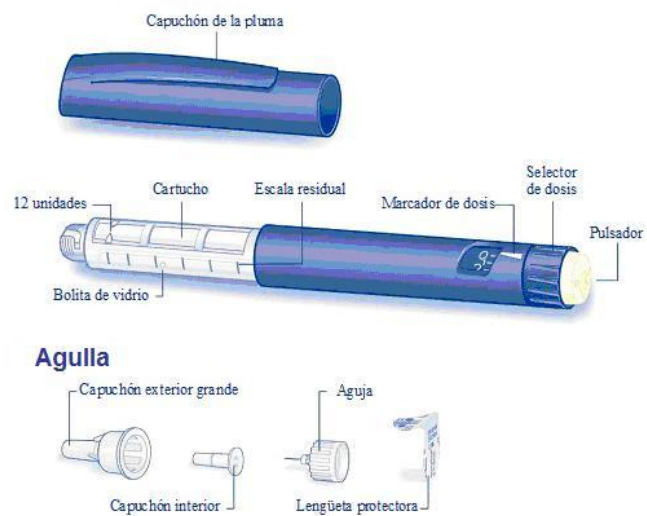
tracta d'injeccions de fàcil ús, utilitzant xeringues o uns injectors especials, anomenats *pens*, que aconseguen administrar una quantitat determinada de fàrmac. L'aplicació pot ser realitzada pel mateix pacient.

Els *pens* són uns dispositius, d'estructura i aspecte semblant al d'una ploma d'escriure, que tenen una mena de cartutxos carregats d'insulina i van proveïts d'una agulla que, en ser descoberta és apta per a la injecció. Els cartutxos tenen capacitat per a nombroses dosis d'insulina, les qual es poden ajustar amb precisió fàcilment.

Els inconvenients d'aquest tipus d'administració recauen en les molèsties i la incomoditat que presenta haver-se d'injectar dosis diàries d'insulina, a més del dolor que pot causar això. Aquesta via d'administració també porta efectes adversos com la *lipotrofia* o la *lipohipertròfia* del teixit cel·lular subcutani. Són trastorns del greix subcutani que se solen manifestar

amb un enfonsament a la cara anterior i lateral on s'injecta la insulina, i a vegades poden anar acompanyats de picors, alteracions a la sensibilitat de la zona afectada i de dolor.

Mitjançant aquest sistema, a més a més de l'administració de la insulina, el pacient cada dia s'ha de fer uns quants controls, una mitjana aproximadament de 7, per saber el nivell de glucosa a la sang que té. D'aquesta manera sap si pot fer esport o si pot menjar més o menys. Aquests controls es realitzen amb uns aparells semblant els *pens* que contenen una agulla, la qual normalment es posa a la punta del dit i punxa. Després analitza la sang i el malalt pot saber el nivell de glucosa que té a la sang en aquell mateix moment.





L'administració d'insulina també es pot realitzar de manera continuada emprant un aparell anomenat **bomba d'infusió d'insulina**. Aquest tipus d'aparell es pot mantenir aplicat sobre la pell de l'abdomen, amb un cinturó. Consta d'un dipòsit d'insulina proveït d'una agulla que es manté dins la pell i que constantment administra una quantitat mínima d'insulina. L'inconvenient és que aquesta quantitat mínima no és suficient en el moment en què s'ingereixen aliments, ja que el nivell de glucosa augmenta. Per tant quan es menja, s'ha d'injectar una dosi suplementària amb la que s'intenta suplir la funció del pàncrees completament.

Hi ha un altre aparell més sofisticat, anomenat **pàncrees artificial**, que es connecta directament a la circulació del malalt i disposa de diversos dispositius: un analitzador de glucèmia, un dipòsit d'insulina i un dipòsit de glucosa. L'aparell analitza constantment el nivell de glucèmia i, segons les necessitats del moment, administra insulina o glucosa per a mantenir la glucèmia dins uns límits normals. El pàncrees artificial aconsegueix imitar el funcionament del pàncrees humà, però té l'inconvenient de ser un aparell molt voluminós que no es pot utilitzar constantment. Per això la seva utilització es redueix al tractament d'algunes complicacions agudes de la diabetis o al control exacte de la glucèmia.

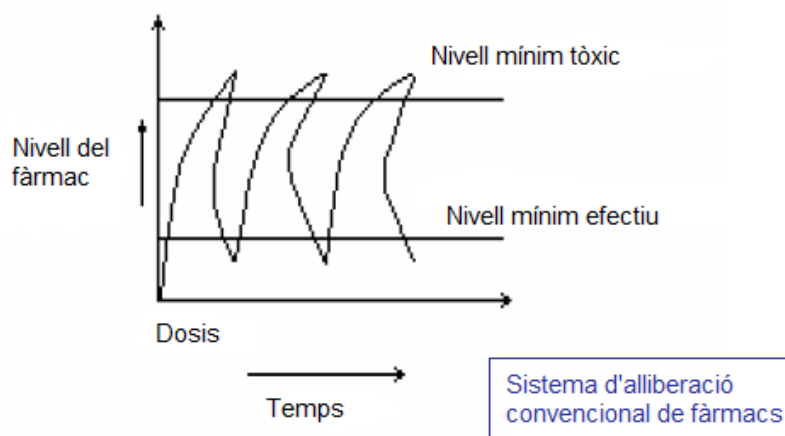
### 3.2.2- Sistema ideal d'administració controlada d'insulina

Un sistema ideal d'administració controlada d'insulina entraria dins dels anomenats sistemes d'alliberació controlada de fàrmacs. Aquests pretenen crear un medi en el qual s'obtingui una resposta òptima, amb els efectes secundaris mínims i una eficàcia prolongada a l'organisme. Pretenen mantenir una concentració adequada del fàrmac a l'àrea que s'ha de tractar. A la majoria dels sistemes, el fàrmac s'introdueix a l'interior

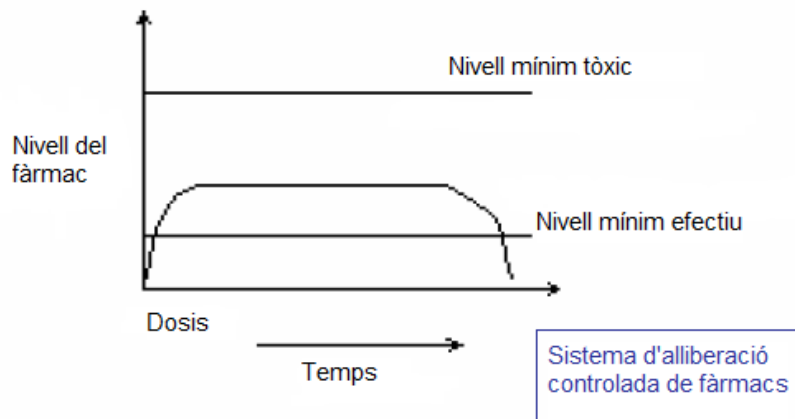
del que anomenem transportador, que normalment és un material polímer<sup>1</sup> biodegradable, i aquest s'introdueix al cos. Al ser un material biocompatible no hi ha cap resposta adversa significativa del medi fisiològic que malmeti el biomaterial. Després de la interacció amb els teixits i els fluids corporals específics i d'alliberar controladament el fàrmac, els materials transportadors han de biodegradar-se en components no tòxics. La velocitat d'alliberació de la substància desitjada està pràcticament controlada per les propietats del polímer, tot i que existeixen altres factors de menor influència com el pH del medi en el que es realitza l'alliberació.

La utilització d'aquests materials ha suposat un gran avenç per l'administració de fàrmacs, ja que tenen uns perfils d'actuació molt diferents als mecanismes coneguts fins ara. Amb la majoria de sistemes convencionals per l'administració d'un fàrmac, el nivell d'aquesta substància a l'organisme arriba a un valor màxim i després cau fins a un valor mínim. Aquests màxims i mínims de concentració del fàrmac en el medi es situen normalment més amunt del nivell de toxicitat o per sota del nivell mínim efectiu. Per tant diem que es produeixen períodes de toxicitat i d'ineficàcia. Aquesta situació pot ser problemàtica si els dos nivells (de toxicitat i d'ineficàcia) estan molt pròxims.

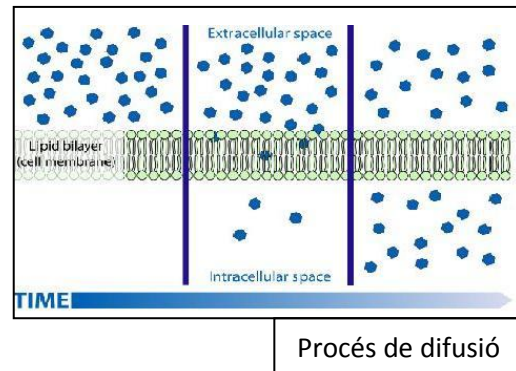
En aquest sentit, els sistemes polimèrics presenten avantatges, ja que són capaços de mantenir la concentració del fàrmac entre els dos nivells i alliberar-lo d'una forma continua en un temps determinat.



<sup>1</sup> Macromolècules formades per la unió de monòmers, molècules més petites que s'uneixen mitjançant enllaços químics, normalment covalents.



Perquè la substància que s'allibera arribi al lloc desitjat, en primer lloc s'ha de produir la difusió<sup>2</sup> d'aquesta des de la superfície del seu transportador fins el medi que la rodeja. A partir d'aquí, mitjançant un marcador, arriba al lloc sobre el qual ha de produir el seu efecte.



Existeixen tres mecanismes generals mitjançant els quals es possible classificar els sistemes d'alliberació controlada:

- **Sistemes controlats per difusió.** La quantitat de fàrmac que arriba a la zona determinada de l'aplicació es controla mitjançant un fenomen de difusió dels compostos.
- **Sistemes controlats químicament.** Sistemes on la dosificació del fàrmac està controlada per via química, l'alliberació del fàrmac es produeix mitjançant una reacció química.
- **Sistemes activats per un dissolvent.** Són matrius polimèriques o sistemes amb dipòsits on l'alliberació es controlada per la penetració d'un dissolvent (normalment aigua), via osmosis<sup>3</sup> o inflament.

<sup>2</sup> Procés físic en què les partícules materials s'introdueixen en un medi on inicialment no n'hi havia.

<sup>3</sup> Fenomen relacionat amb la difusió. Equilibra el grau de concentració d'una substància.



Dins d'aquest últim sistema d'activació per un dissolvent trobem:

- Sistemes osmòtics – són sistemes compostos per un nucli de fàrmac rodejat per una membrana polimèrica selectiva a l'aigua. La membrana permet el pas de l'aigua però no del fàrmac. Aquesta membrana presenta una petita obertura a través de la qual s'allibera el fàrmac com a conseqüència de l'augment de la pressió hidrostàtica.
- Sistemes controlats per inflament – són sistemes monolítics<sup>4</sup> en els que el compost actiu (fàrmac) es troba dissolt o dispers en el suport del polímer hidròfil<sup>5</sup>, entrecreuat o no, el qual s'infla sense dissoldre's quan es posa en contacte amb un medi aquós. Aquests sistemes polímers s'anomenen *hidrogels* i han despertat un gran interès dins el món de la recerca biomèdica. Són importants perquè han mostrat bones característiques de biocompatibilitat, degut a les propietats físiques que els fan semblants als teixits vius, i també perquè amb ells és possible, almenys teòricament, aconseguir una velocitat d'alliberació constant.

En aquests sistemes el grau d'inflament, i per tant, la quantitat de fàrmac alliberat, depèn del balanç hidròfil/hidròfob<sup>6</sup> de la matriu polimèrica i del grau d'entrecreuament.

La migració del fàrmac al medi aquós des d'un sistema d'aquest tipus implica un procés d'absorció de l'aigua i un altre simultani de desorció<sup>7</sup> del fàrmac per un mecanisme de difusió controlat per l'inflament que pateix el polímer. Quan l'aigua penetra a la matriu hidròfila, el polímer, que presenta inicialment un estat vitri, xerogel<sup>8</sup>, s'infla i passa a un estat més elàstic. En aquestes condicions, el solut es difon des de les regions inflades al medi extern.

---

<sup>4</sup> Sistemes en els quals el seu centre és un grup d'estructures fixes, les quals funcionen entre si.

<sup>5</sup> Comportament d'una molècula que té afinitat amb l'aigua.

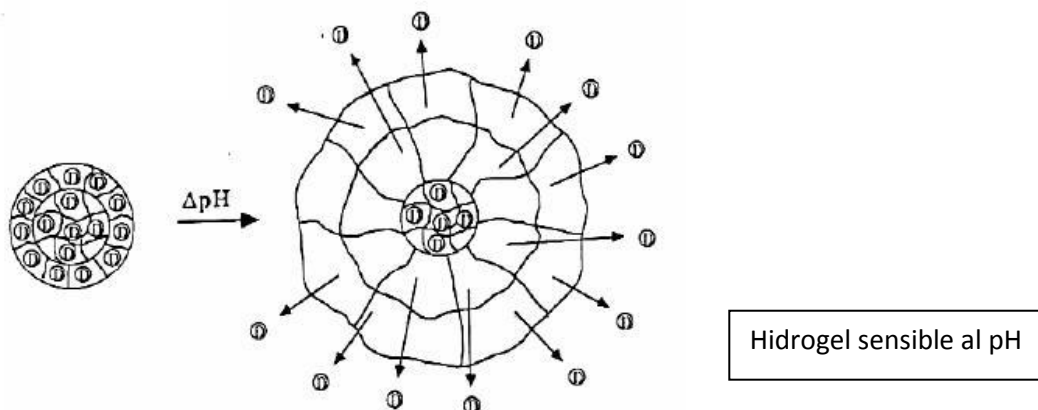
<sup>6</sup> Comportament d'una molècula que no té afinitat amb l'aigua.

<sup>7</sup> El contrari de adsorció, procés d'equilibri que consisteix en l'adhesió dels àtoms o molècules d'un material (*adsorbat*) damunt la superfície d'un altre (*adsorbent*).

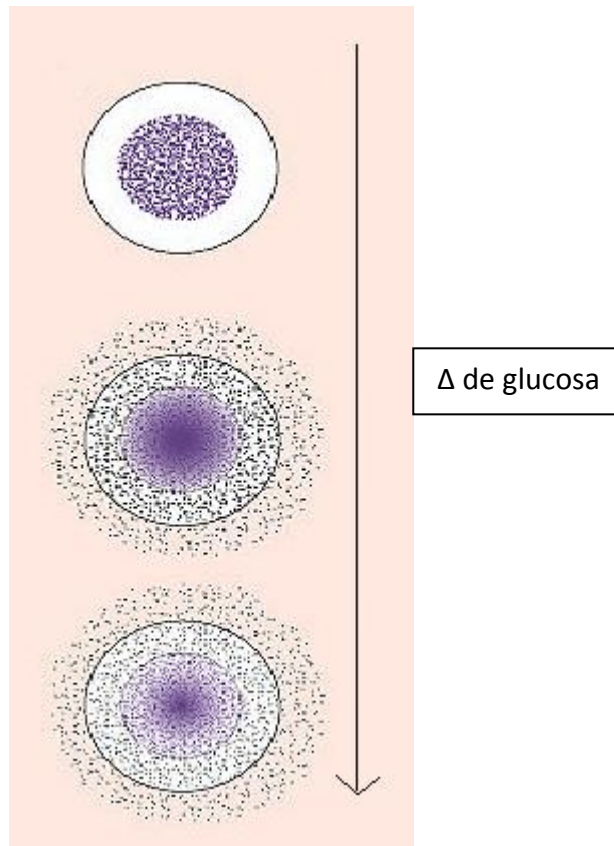
<sup>8</sup> Hidrogel deshidratat, sense haver entrat en contacte amb l'aigua.

És possible crear hidrogels sensibles al medi ambient, és a dir, sistemes controlats que no alliberen el fàrmac fins que hi ha un ambient biològic apropiat. Depenent del polímer el canvi d'estructura pot ser producte de la variació de diferents factors com el pH, la temperatura... i per la majoria d'aquests polímers els canvis estructurals són reversibles.

Factors	Hidrogels	Mecanisme
Temperatura	Hidrogels termosensibles	Quan hi ha canvis amb la temperatura del medi, es produeixen variacions en l'inflament de l'hidrogel i, per tant, en l'alliberació del fàrmac
pH	Hidrogels àcids o bàsics	Quan hi ha canvis al pH del medi es produeixen variacions en l'inflament de l'hidrogel i, per tant, en l'alliberació del fàrmac
Força iònica	Hidrogels iònics	Quan hi ha canvis a la força iònica es produeixen canvis en la concentració d'ions dins de l'hidrogel, en el seu inflament i en l'alliberació del fàrmac



El sistema ideal d'alliberació controlada d'insulina seria un hidrogel que pogués ser sensible als nivells de glucosa a la sang. Un hidrogel que quan hi hagués molta glucosa s'inflés més per poder alliberar la insulina cap al medi exterior, i pel contrari, quan no hi hagués tanta glucosa tancar-se i alliberar la quantitat mínima necessària.



### 3.3- RECERCA QUE S'ESTÀ DUENT A TERME PER ACONSEGUIR UN SISTEMA D'ADMINISTRACIÓ CONTROLADA DE LA INSULINA

El desenvolupament dels hidrogels va començar el 1960, quan Wichterle i Lim, dos químics txecs, van publicar els resultats obtinguts en les aplicacions biomèdiques amb hidrogels de *poli(metacrilat de 2-hidroxietil)* i els seus derivats.

Actualment, els hidrogels són àmpliament estudiats gràcies a la seva biocompatibilitat, biodegradabilitat, bones propietats mecàniques, resistència química i tèrmica. Són anomenats materials intel·ligents ja que poden ser sensibles a diferents factors ambientals i fisiològics.

La doctora Irma Yolanda Sánchez Chávez<sup>9</sup>, juntament amb Sergio Omar Martínez i el doctor Nicholas A. Peppas, estan duent a terme una recerca per aconseguir hidrogels iònics, és a dir, materials que puguin absorbir grans quantitats d'aigua sense disoldre's, amb un augment



reversible del volum degut a l'acció de forces electrostàtiques internes que depenen del pH de l'ambient. El canvi d'aquest pH està provocat per l'enzim "*glucosa oxidasa*" que s'implanta a les parets de l'hidrogel. Aquest quan entra en contacte amb la glucosa produeix un canvi en el pH.

La dosificació d'insulina es duu a terme a través del fenomen de difusió alterat per la presència de glucosa: quan el nivell de glucosa és elevat, l'hidrogel s'expandeix a causa del canvi de pH i allibera insulina; al disminuir la concentració de glucosa, l'hidrogel es contrau i la insulina queda atrapada.

---

<sup>9</sup> Irma té la carrera d'enginyeria química i de sistemes, la maestria en ciències amb especialitat en enginyeria de control, i és doctora de ciències d'enginyeria. És professora adscrita a la Càtedra d'Investigació BioMEMS (sistemes Bio i Micro Electromecànics) i professora del departament de mecatrònica i automatització al Tecnològic de Monterrey, campus Monterrey.

La doctora planteja que l'hidrogel es col·loqui al peritoneo, una zona prop del pàncrees, tot i que explica que no és la única opció. També es pot implantar via subcutània, subministrar-se oralment o injectar les partícules perquè flueixin pel corrent sanguini.



Paral·lelament també hi ha companyies farmacèutiques que col·laboren en la investigació d'aquest tipus d'administració. Sanofi-Aventis, una companyia farmacèutica situada a tot el món, juntament amb Ascendis Pharma, una altra companyia, signen els drets mundials d'una tecnologia d'alliberació de medicaments per a diabètics. És un acord global de llicència i transferència de patent de la tecnologia *TransCon Linker and Hydrogel carrier* de la companyia Ascendis. Aquesta tecnologia ha mostrat resultats prometedors envers l'alliberació precisa i controlada de la insulina en els estudis pre-clínic realitzats.



John Pickup<sup>10</sup>, professor de diabetis i metabolisme a *King's Collage London*, també té els seus objectius de recerca centrats en la diabetis. Des de fa temps té interès en el desenvolupament d'una nova tecnologia per millorar la gestió de la insulina als pacients diabètics. Ho vol fer a partir del desenvolupament de la infusió contínua d'insulina subcutània, a través de sensors de glucosa en viu.

La seva investigació actual es centra en l'aplicació clínica de la teràpia amb bomba d'insulina i motorització contínua de glucosa en sang, utilitzant els mètodes de fluorescència per detectar glucosa i l'aplicacions de la nanomedicina amb la investigació.

---

<sup>10</sup> John és el co-editor del premiat "Textbook of Diabetes" (Llibre de text de la diabetis) i del "Handbook of Diabetes" (Manual de la diabetis), ara en la seva tercera edició.

## 4. PART PRÀCTICA

### 4.1- OBJECTIU:

L'objectiu de la meva pràctica realitzada al Parc Científic de Barcelona té com a origen l'administració controlada de fàrmacs, un sistema que, actualment, està en fase d'investigació. L'objectiu general és veure si les dues parts importats perquè un sistema d'alliberació controlada funcioni tenen un resultat correcte i satisfactori mitjançant un hidrogel com a mitjà per administrar proteïnes. En aquest cas la tripsina<sup>11</sup>. La tripsina no és un fàrmac, però he realitzat la pràctica amb ella perquè:

- És fàcil de manipular.
- No té un cost elevat.
- És una proteïna igual que la insulina.
- Abans de provar-ho amb fàrmacs s'ha d'assegurar que l'hidrogel pot arribar a funcionar com a mitjà per dur a terme l'alliberació controlada; principalment veure si reté bé la substància desitjada, si és sensible al medi establert i si allibera correctament la substància dins els períodes de temps determinats.

Degut al canvi de la insulina per la tripsina a l'hora de fer les pràctiques (ja que el cost de la insulina és elevat), el resultat de l'activitat sempre és respecte a la tripsina, per tant no tinc el coneixement per saber si la insulina tindria la mateixa resposta.

Per tant, l'objectiu en concret és poder observar que:

- L'hidrogel reté bé la substància, en aquest cas la tripsina.
- S'aconsegueix una bona cinètica d'alliberació de la tripsina amb el temps. Amb això ens referim a si la tripsina es va alliberant de l'hidrogel poc a poc a mida que passa el temps.
- La tripsina alliberada durant aquest període de temps té la mateixa activitat que la tripsina que no ha estat atrapada per l'hidrogel, la qual no ha pogut experimentar cap modificació en la seva estructura causada per l'hidrogel.

---

<sup>11</sup> Enzim proteolític, format per aminoàcids, produït en el pàncrees. És vital per dur a terme la digestió de les proteïnes. El seu pH òptim és de 8 i la seva temperatura d'uns 37°C.

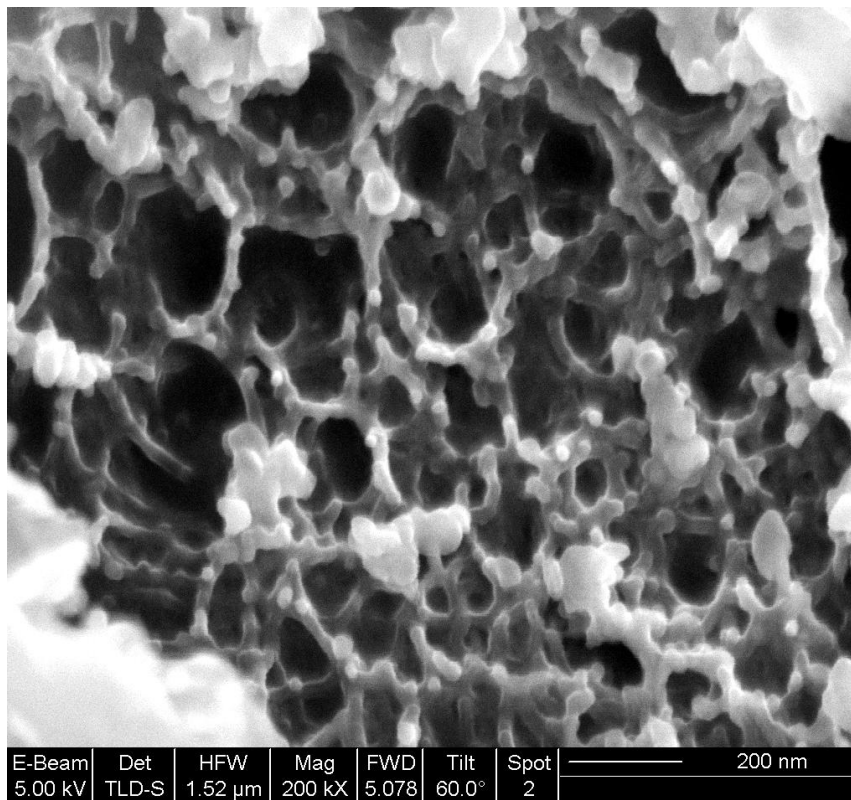
## 4.2. MARC TEÒRIC:

El terme hidrogel s'utilitza per denominar el material de base polimèrica caracteritzat per la seva gran capacitat per absorbir aigua i altres fluids. Aquesta propietat els converteix en materials d'enorme interès, sobretot en medicina.

Els hidrogels s'obtenen mitjançant la polimerització i l'encreuament simultani d'un o diversos monòmers, monofuncionals o polifuncionals. Les característiques dels monòmers i el grau d'entrecruament entre ells determina les propietats d'augment de volum de l'hidrogel sec, i per tant, el seu grau d'aplicació.

Tots els hidrogels són sistemes polimèrics biodegradables, biomaterials. El terme biomaterial engloba els materials introduïts en els teixits corporals amb propòsits terapèutics específics, de diagnòstic o amb propòsits preventius.

El nostre hidrogel està format amb el polímer PGA-Cys<sup>12</sup>, estudiat àmpliament i proposat per moltes aplicacions com a biomaterial.



1- Vista de l'hidrogel mitjançant un microscopi electrònic de rastreig

<sup>12</sup> L'àcid poliglutàmic és un polímer aniònic, soluble en aigua i que s'ha estudiat àmpliament i ha estat proposat per moltes aplicacions.

### 4.3. MATERIAL I PROCEDIMENT:

Les pràctiques estan redactades per sessions diàries en format de llibreta de laboratori. A l'annex hi ha un petit glossari del material utilitzat.

#### Objectius del primer dia:

- Preparació dels tampons<sup>13</sup> i de les dissolucions necessàries per a la investigació.
- Formació de l'hidrogel amb la tripsina atrapada en un medi oxidant (DMSO).
- Preparació del tampó de trizma<sup>14</sup> 20mM a pH=8 pels assaigs de la quantificació de l'activitat de la tripsina.

#### Material:

- 605,7mg de trizma 20mM
- 250ml H<sub>2</sub>O miliQ<sup>15</sup>
- HCl per baixar el pH, ja que el volem a 8.
- Espàtula
- Balança
- Pot i proveta

#### Procediment

- 1.- Mesurar els 605,7mg de trizma.
- 2.- Posar-ho en un pot.
- 3.- Mesurar 250ml H<sub>2</sub>O miliQ amb una proveta.
- 4.- Abocar-ho amb la trizma en el pot.
- 5.- Barrejar-ho tot amb un nucli magnètic.
- 6.- Afegir-hi HCl per obtenir el pH desitjat, que és 8.

---

<sup>13</sup> Són dissolucions que contenen quantitats moderades d'àcids o bases fortes combinades amb l'àcid o la base conjugada. La seva funció és mantenir estable el pH d'una dissolució.

<sup>14</sup> Compost orgànic que s'utilitza molt en bioquímica i en biologia molecular, en particular per preparar dissolucions tampó.

<sup>15</sup> Aigua pura i desionitzada en un alt grau.



2- Preparant el tampó de trizma -



- Preparació del tampó d'acetat d'amoni<sup>16</sup> 1M a ~pH4 pels assaigs de la quantificació de l'activitat de la tripsina.

Material:

- 19,27g d'acetat d'amoni
- 250ml H<sub>2</sub>O miliQ
- HCl per baixar el pH, ja que el volem a ~4.
- Espàtula
- Balança
- Pot i proveta

Procediment:

- 1.- Mesurar els 19,27g d'acetat d'amoni.
- 2.- Posar-ho a un pot.
- 3.- Mesurar 250ml H<sub>2</sub>O amb una proveta.
- 4.- Abocar-ho amb l'acetat d'amoni en el pot.
- 5.- Barrejar-ho tot amb un nucli magnètic.
- 6.- Afegir-hi HCl per obtenir el pH desitjat, que és ~4.

---

<sup>16</sup> Compost químic orgànic que normalment també s'utilitza per crear dissolucions tampó.

- Formació de l'hidrogel amb la tripsina atrapada i en un medi oxidant (DMSO)

Material:

- 20mg tripsina
- 113mg PGA-Cys
- 20% DMSO<sup>17</sup>
- H<sub>2</sub>O miliQ
- Espàtula
- Pipeta micromètrica i puntes
- Balança
- Eppendorf
- Centrifugadora i sonicadora

Procediment:

- 1.- Pesar la tripsina.
- 2.- Barrejar la tripsina amb 226µl H<sub>2</sub>O miliQ.
- 3.- Posar els 226µl de tripsina+H<sub>2</sub>O miliQ amb els 113mg de PGA-Cys.
- 4.- Afegir 56,5µl DMSO a la mescla\*.
- 5.- Donar-li un *spin* (una volta amb la centrifugadora) i sonicar-ho (amb la sonicadora).

\*Ha de quedar un pH aproximadament de 6.

3- Preparació de l'hidrogel



<sup>17</sup> Compost químic anomenat dimetil sulfòxid, amb fórmula CH<sub>3</sub>SOCH<sub>3</sub>. És un líquid incolor que conté sulfur.



4- Hidrogel a punt per formar-se

Objectius del segon dia:

- Rentat de l'hidrogel amb la proteïna ja atrapada per treure el DMSO (substància tòxica).
- Recuperació de l'hidrogel, congelació i liofilització<sup>18</sup>.
- Quantificació de la proteïna no atrapada per l'hidrogel mitjançant l'aigua restant del rentat. Utilitzar l'espectroscopi d'absorbància.
- Formació del tampó de BAPNA<sup>19</sup>.

6- Hidrogel format amb la tripsina atrapada

● Rentat de l'hidrogel

Material:

- Hidrogel ja format
- H<sub>2</sub>O miliQ
- Sistema de filtració al buit
- Espàtula
- Tub d'assaig
- Proveta i ampolla

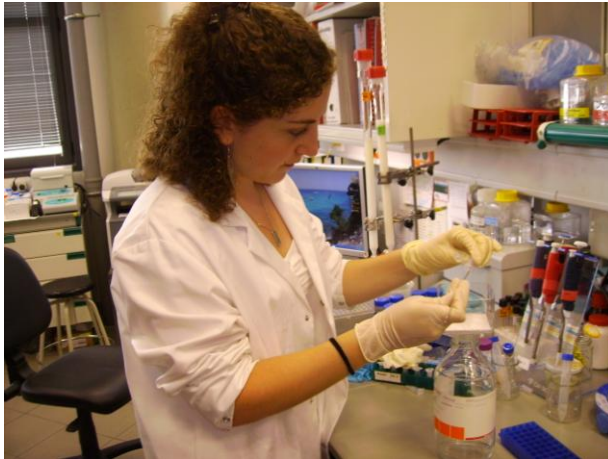


<sup>18</sup> És un procés utilitzat per eliminar l'aigua mitjançant la dessecació al buit i a molt baixes temperatures. Aquest procés redueix molt la possible contaminació microbiològica i la possible degradació química del producte utilitzat.

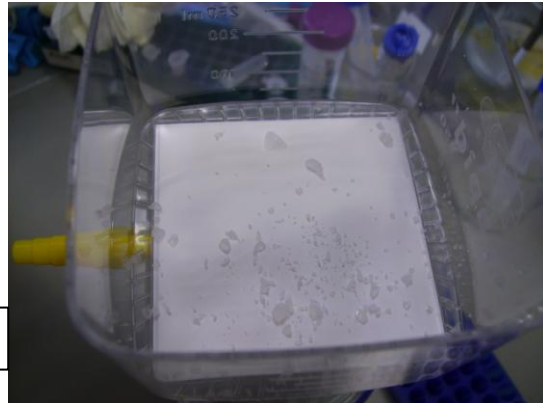
<sup>19</sup> Substrat orgànic que s'utilitza per calcular l'activitat proteolítica d'alguns enzims com la tripsina, l'amidasa...

Procediment:

- 1.- Aixafar una mica l'hidrogel i abocar-lo en el sistema de filtració.
  - 2.- Agafar aigua amb una proveta i tirar-la sobre l'hidrogel.
  - 3.- Recollir l'aigua del rentat amb una ampolla.
  - 4.- Recollir l'hidrogel rentat i posar-lo en un tub d'assaig.
  - 5.- Amb l'aigua que hem recollit del rentat, agafar una mostra per quantificar, més endavant, la quantitat de tripsina que no ha quedat atrapada per l'hidrogel.
- Utilitzar l'espectroscopi d'absorbància.



6- Posant l'hidrogel al sistema de filtració



7- Hidrogel preparat per ser rentat



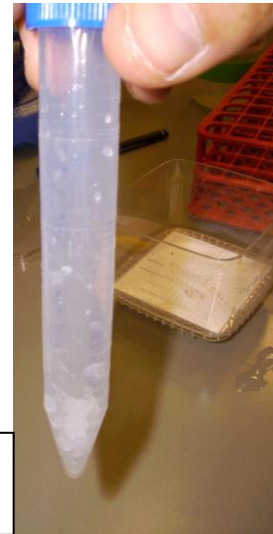
8- Rentant l'hidrogel

- Recuperació de l'hidrogel ja rentat, congelació i liofilització d'aquest.

Material:

- Hidrogel ja rentat
- Tub d'assaig
- Espàtula
- Nitrogen líquid<sup>20</sup>
- Aparell per liofilitzar

*9- Hidrogel rentat i preparat per ser congelat -*



Procediment:

- 1.- Agafar tot l'hidrogel ja rentat amb l'espàtula i posar-lo al tub d'assaig.
- 2.- Congelar l'hidrogel amb nitrogen líquid.
- 3.- Agafar el tub d'assaig amb l'hidrogel congelat i posar-lo dins d'un recipient al buit on es durà a terme la liofilització.



*10- Congelant l'hidrogel amb el nitrogen líquid*

*11- Tub d'assaig amb l'hidrogel dins del recipient al buit, preparat per la liofilització*



<sup>20</sup> Nitrogen pur en estat líquid que està a una temperatura igual o menor a la seva temperatura d'ebullició, uns  $-195^{\circ}\text{C}$ , i a una pressió d'una atmosfera.

- Quantificació de la tripsina no atrapada per l'hidrogel mitjançant l'aigua restant del rentat. Utilitzar l'espectroscopi d'absorbància.

Material:

- Mostra d'H<sub>2</sub>O restant
- Espectroscopi d'absorbància
- Cubeta de quars
- Pipeta micromètrica i puntes
- H<sub>2</sub>O miliQ

Procediment:

1.- Posar una mica d'H<sub>2</sub>O miliQ al prisma i fer un blanc a l'espectroscopi. Consisteix en restar, a la mostra que volem analitzar a continuació, les longituds d'ona que absorbeix l'H<sub>2</sub>O miliQ per poder quantificar la quantitat de tripsina que hi ha a la mostra sense que les longituds d'ona que absorbeix l'H<sub>2</sub>O afectin.

2.- Llençar l'H<sub>2</sub>O i posar una petita quantitat de l'H<sub>2</sub>O restant del rentat.

3.- Analitzar el gràfic i observar els resultats.

4.- No hi ha tripsina, tot i que podem observar que hi ha una petita quantitat d'hidrogel, ja que hi ha un màxim a la longitud d'ona d'entre 200 i 220nm. Això és a causa dels enllaços peptídics del polímer.

- Formació del tampó de BAPNA 1.6mM

Material:

- 7,1mg BAPNA
- 10ml H<sub>2</sub>O miliQ
- Tub d'assaig
- Espàtula
- Balança
- Proveta

Procediment:

- 1.- Mesurar els mg de BAPNA.
- 2.- Posar-ho a un tub d'assaig.
- 3.- Mesurar 10ml H<sub>2</sub>O amb una proveta.
- 4.- Abocar-ho amb el BAPNA en el tub.
- 5.- Sonicar la mescla.
- 6.- Posar-la a la nevera.



12- Sonicant la mescla per homogenitzar-la.

Objectius del tercer dia:

- Alliberació de la tripsina en diferents intervals de temps.
  - Quantificació del total de tripsina alliberada.
  - Amb aquests resultats es durà a terme la formació de la cinètica d'alliberació de la tripsina.
- 
- Extreure mostres per fer els càlculs de la quantitat de tripsina alliberada en els diferents intervals de temps (0' - 5' - 15' - 30' - 45' - 60')

Material:

- Hidrogel ja format
- Tampó de trizma

- Eppendorfs
- Pipeta micromètrica i puntes
- Centrifugadora
- Espàtula
- Tub d'assaig
- Xeringa amb sistema de filtració
- Rellotge
- Espectroscopi d'absorbància
- Cubeta de quars

Preparació:

1.- Agafar 16mg d'hidrogel i 1,5ml del tampó de trizma. Posar-ho tot en un eppendorf. Agafar un altre eppendorf i posar-hi 1,5ml de tampó per poder equilibrar més endavant la centrifugadora.

2.- Posar els dos eppendorfs en punts contraris dins la centrifugadora i centrifugar-los durant 1 minut a 10.000 revolucions/min.

3.- Treure la mostra de la centrifugadora i extreure'n 1ml amb la pipeta mil·limetrada, sense agafar hidrogel. Posar la mostra en un eppendorf i deixar-la a la nevera.

4.- Afegir el ml de tampó de trizma que hem extret anteriorment de l'eppendorf amb l'hidrogel i deixar-lo a la incubadora a 37°C, fins el següent interval de temps.

5.- Quan es tenen tots els eppendorfs amb 1ml de mostra de cada interval de temps, filtrar-les amb una xeringa per evitar possibles partícules d'hidrogel restants, ja que podrien interferir a l'espectre d'absorbància.

6.- Agafar cada mostra, posar-ne una petita quantitat a la cubeta de quars amb la pipeta i posar la cubeta a l'espectroscopi.

7.- Analitzar l'absorbància de la mostra del primer interval de temps a la longitud d'ona entre 200 i 400nm.

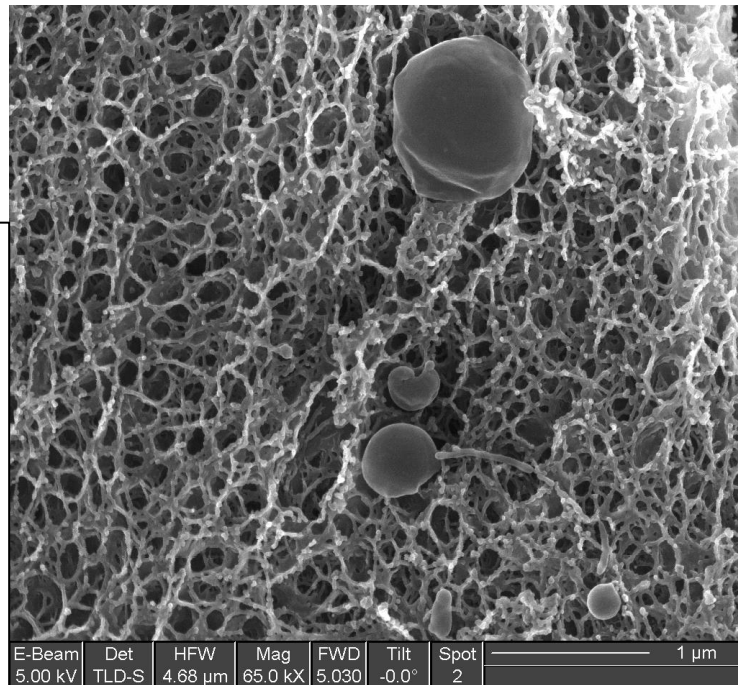
8.- Treure la mostra de la cubeta i tornar-la a posar a l'eppendorf corresponent per poder-la utilitzar altre cop per la quantificació de l'activitat.

9.- Rentar la cubeta i fer el mateix procediment amb les altres mostres.





13- Incubant les mescles a 37°C entre cada interval de temps.



14- Vista de l'hidrogel amb liposomes atrapats.  
Foto feta amb un microscopi electrònic de rastreig.

E-Beam	Det	HFW	Mag	FWD	Tilt	Spot	1 µm
5.00 kV	TLD-S	4.68 µm	65.0 kX	5.030	-0.0°	2	

- Quantificació total de la tripsina alliberada sense intervals de temps. Fer el mateix procediment dues vegades però amb substàncies diferents.

Material:

- H<sub>2</sub>O
- H<sub>2</sub>O miliQ
- NaOH

- Espectroscopi d'absorbància
- Cubeta de quars
- Pipeta micromètrica i puntes

Procediment:

- 1.- Barrejar en un tub d'assaig d'H<sub>2</sub>O i NaOH.
- 2.- Agafar 3,5ml de la mescla i posar-los amb 3,9mg d'hidrogel.
- 3.- Agafar una mostra amb la pipeta i posar-la a la cubeta de quars. Posar-la dins l'espectroscopi i analitzar l'absorbància a la longitud d'ona d'entre 200 i 400nm.
- 4.- Fer els càlculs corresponents i extreure'n el resultat.

Material:

- H<sub>2</sub>O
- H<sub>2</sub>O miliQ
- NaBH<sub>4</sub>
- Espectroscopi d'absorbància
- Cubeta de quars
- Pipeta micromètrica i puntes

Procediment:

- 1.- Barrejar en un tub d'assaig d'H<sub>2</sub>O i NaBH<sub>4</sub>.
- 2.- Agafar 3ml de la mescla i posar-los amb 3,2mg d'hidrogel.
- 3.- Agafar una mostra amb la pipeta i posar-la a la cubeta de quars. Posar-la dins l'espectroscopi i analitzar l'absorbància a la longitud d'ona d'entre 200 i 400nm.
- 4.- Fer els càlculs corresponents i extreure'n el resultat.
- 5.- Agafar el resultat dels dos procediments i fer una mitjana entre els dos sistemes per obtenir només un resultat sobre la quantitat total de tripsina alliberada per l'hidrogel.

Objectius del quart dia:

- Quantificar l'activitat in Vitro<sup>21</sup> de la tripsina alliberada per l'hidrogel.
- Quantificar l'activitat in Vitro de la tripsina no atrapada.
- Comparar els dos resultats i valorar-los per poder treure conclusions.

- Quantificació de l'activitat de tripsina alliberada per l'hidrogel i de la tripsina no atrapada.

Material:

- 20 µl mostra de tripsina alliberada
- 20 µl de substrat BAPNA
- 120 µl del tampó de trizma 20mM a pH=8
- 150 µl d'acetat d'amoni a pH=4,5

per a cada pou

- 20 µl mostra de tripsina no atrapada
- 20 µl de substrat BAPNA
- 120 µl del tampó de trizma 20mM a pH=8
- 150 µl d'acetat d'amoni a pH=4,5

per a cada pou

- H<sub>2</sub>O miliQ
- Placa d'Elisa
- Pipeta micromètrica i puntes
- Espectroscopi d'absorbància
- Incubadora

Procediment:

- 1.- Col·locar a la placa d'Elisa totes les mescleres corresponents amb la pipeta micromètrica.
- 2.- Incubar-les entre 45 minuts i 1 hora a 37°C.

<sup>21</sup> Tècnica per realitzar un determinat experiment dins un tub d'assaig, o generalment en un ambient controlat fora d'un organisme viu.

- 3.- Afegir a tots els pous els 150  $\mu$ l d'acetat d'amoni per aturar l'activitat de la tripsina.
- 4.- Posar la placa d'Elisa al lector de plaques de l'espectroscopi i mesurar l'absorbància a la longitud d'ona de 405nm.
- 5.- Amb els resultats obtinguts, calcular l'activitat de la tripsina alliberada i de la tripsina no atrapada per l'hidrogel i comparar-los.

#### 4.4. RESULTATS:

Després d'haver dut a terme totes les pràctiques, el que vam fer el darrer dia va ser recollir tots els resultats dels espectres, tant els de quantitat com els d'activitat de la tripsina. Vam ordenar-los i plasmar-los en taules. D'allà vam poder treure els resultats que ens interessaven i vam poder realitzar els gràfics corresponents. En ells podem veure clarament el resultat obtingut respecte l'hidrogel com a candidat per l'administració controlada de tripsina.

- Resultats 1 (gràfic 1):

Espectres d'absorbància de l'aigua restant del rentat de l'hidrogel. Utilitzats per assegurar-nos que no havia quedat tripsina sense atrapar.

- Resultats 2 (gràfic 1):

Espectres d'absorbància de la proteïna coneguda amb el nom de BSA. Espectres utilitzats per saber com és el típic gràfic d'absorbància d'una proteïna amb triptòfan<sup>22</sup> i poder-lo comparar amb el de l'aigua del rentat.

- Resultats 3 (gràfics 2, 3 i 4):

Espectres d'absorbància de la tripsina atrapada anteriorment i alliberada en diferents períodes de temps. Espectres entre les longituds d'ona de 200 i 400nm a temps 0, 5, 15, 30, 45 i 60 (minuts). Espectres utilitzats per realitzar la cinètica d'alliberació controlada de la tripsina durant el període d'una hora i per calcular el % de tripsina activa que s'ha alliberat de l'hidrogel. Espectres també utilitzats per calcular l'activitat de la tripsina un cop alliberada.

- Resultats 4 (gràfic 4):

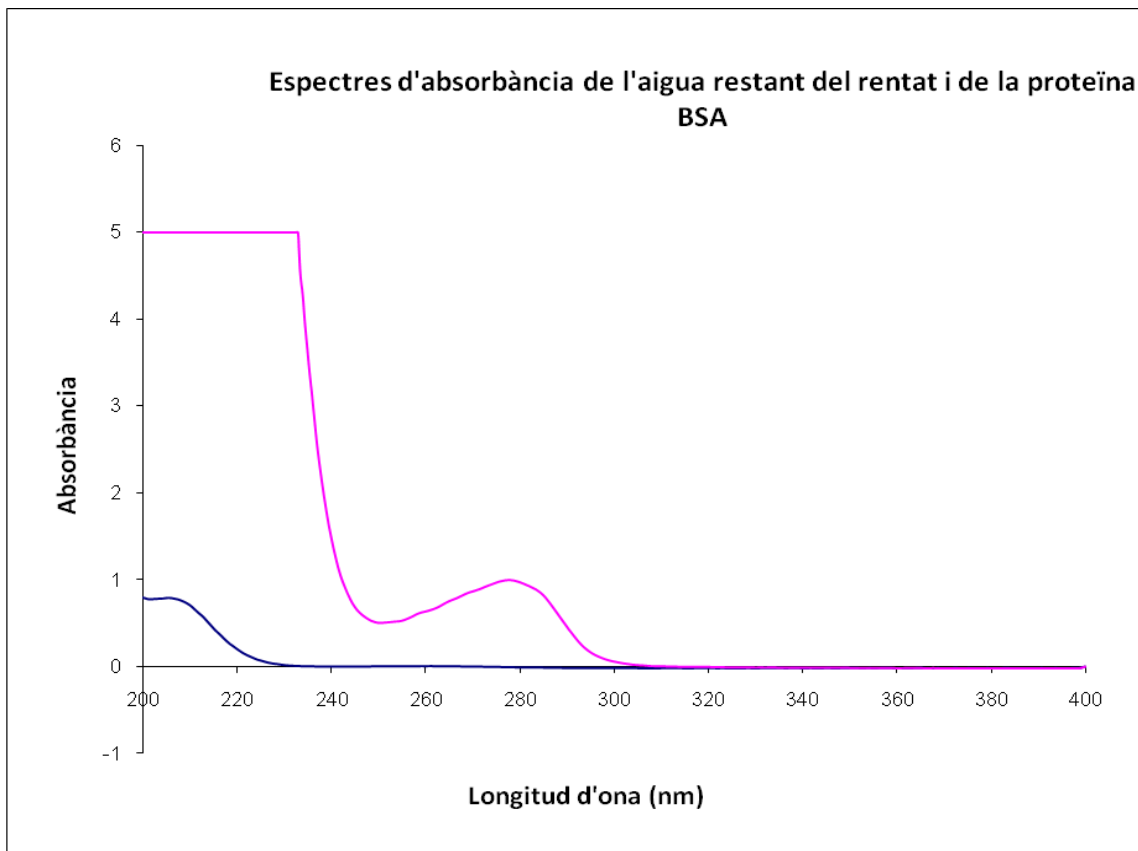
Espectres d'absorbància de la tripsina no atrapada per l'hidrogel entre les longituds d'ona de 200 i 400nm. Espectres utilitzats per comparar l'activitat de la tripsina atrapada i que s'ha alliberat, amb la que no s'ha atrapat.

---

<sup>22</sup> Aminoàcid que absorbeix molt la llum i que també està present en la tripsina.

En el **gràfic 1** s'hi reflecteixen els resultats 1 i 2. Podem observar un gràfic lineal amb dues informacions. Cada una correspon a l'espectre d'absorbància entre les longituds d'ona de 200 i 400nm. La línia de color blau ens indica l'espectre de l'aigua restant del rentat de l'hidrogel, i la rosa l'espectre de la proteïna BSA.

Nosaltres ens centrarem en veure si hi ha variació a la longitud d'ona de 280nm, ja que és on el triptòfan present a la tripsina absorbeix llum. Ens interessa aquesta longitud d'ona per saber si a l'aigua hi ha tripsina o no.



L'espectre de l'aigua és estable i es manté a absorbància 0 quasi tot el tram de longituds d'ona, menys quan arriba a la longitud d'ona de 220nm que forma una petita pujada.

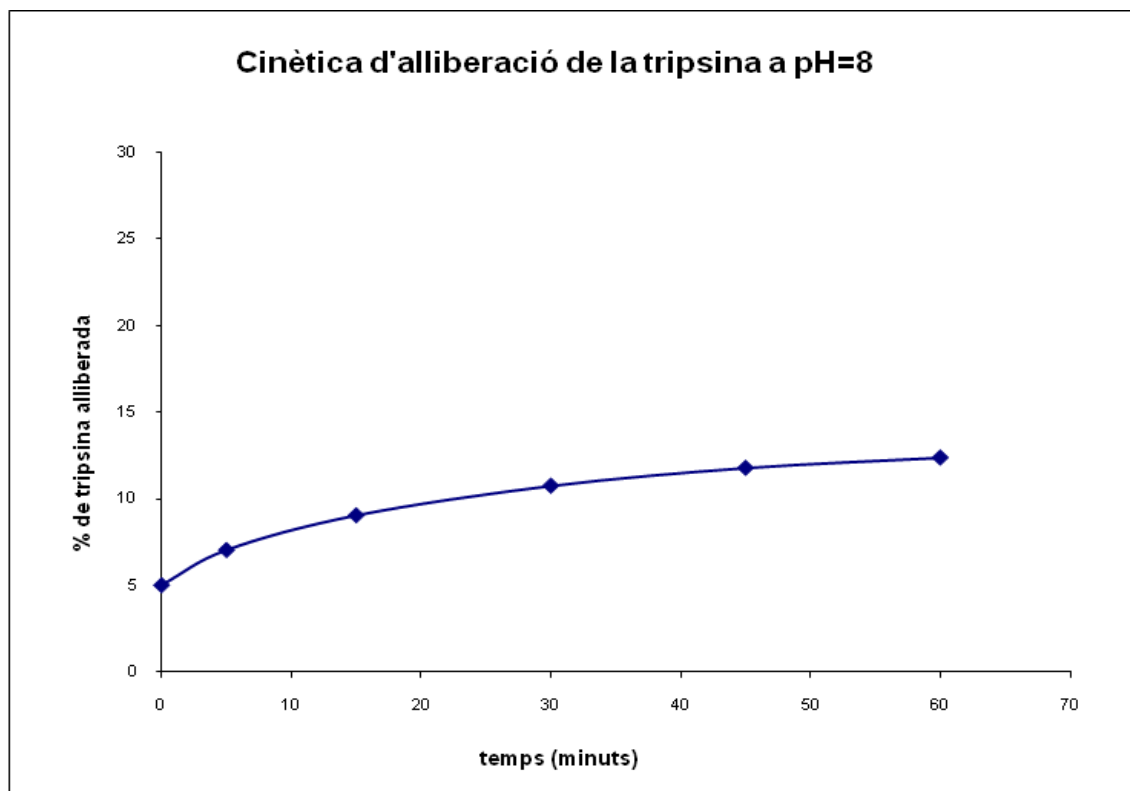
L'espectre de la proteïna BSA ja és més variat i té dues variacions importants, una a la longitud d'ona de 280nm i l'altra a la de 240nm.

Com ja he dit, el valor que ens interessa observar és si a l'espectre de l'aigua del rentat hi ha una pujada de l'absorbància a la longitud d'ona de 280nm. En aquest cas ens ha sortit que no, per tant, podem afirmar que l'aigua del rentat no conté tripsina. Ho comparem amb l'espectre de la proteïna BSA, ja que ens dóna un espectre típic d'una proteïna amb triptòfan que absorbeix llum a 280nm. És molt més visual per veure què passaria si a l'aigua hi hagués quedat tripsina. Així doncs, en l'espectre de la proteïna BSA podem observar que a 280nm hi ha un màxim. Això és causat, com ja he dit, pel triptòfan que conté la proteïna. Si haguéssim tingut presència de tripsina a l'aigua, el triptòfan d'aquesta proteïna hagués absorbit a 280nm i també tindríem un màxim en aquesta longitud d'ona.

L'altre pic que veiem, en els dos casos, és causat, per una banda, pels enllaços peptídics de la proteïna BSA, i per l'altra, pels enllaços peptídics de la poca quantitat de polímer PGA-Cys que ha pogut quedar a l'aigua restant del rentat. Els enllaços peptídics absorbeixen a un màxim de 220nm, i com més gran és la proteïna, l'absorbància d'aquests enllaços es va sumant i, òbviament, augmenta. Tot i així, a nosaltres aquesta informació no ens és útil, per tant, no es preocuparem d'analitzar-la detalladament.

En el **gràfic 2**, on s'hi plasmen els resultats 3, podem observar un gràfic lineal amb la informació del % de tripsina alliberada en cada període de temps marcat (0, 5, 15, 30, 45, 60 minuts).

Temps real (min)	Quantitat µg en 1ml	Quantitat acumulativa µg en 1ml	% tripsina alliberada
0	176,0208	176,0208333	5,000591856
5	71,27604	247,296875	7,025479403
15	70,34635	317,6432292	9,023955374
30	59,8099	377,453125	10,72310014
45	36,25781	413,7109375	11,75315163
60	20,76302	434,4739583	12,34301018



En el gràfic observem una correcta cinètica d'alliberació, on cada vegada s'allibera una mica més de tripsina però ho fa d'una manera controlada i regulada. Això és el que



volíem obtenir i un dels principals objectius a tenir en compte a l'hora de valorar si un material polímer és adequat o no per a un sistema d'alliberació controlada.

Totes les dades estan extretes a partir dels espectres d'absorbància realitzats i dels posteriors càlculs utilitzant la fórmula de la Llei de *Lambert-Beer*.

$$\text{Abs} = \text{Concentració} \cdot l \cdot \epsilon$$

Abs - absorbància a una determinada longitud d'ona. Donada per l'espectroscopi.

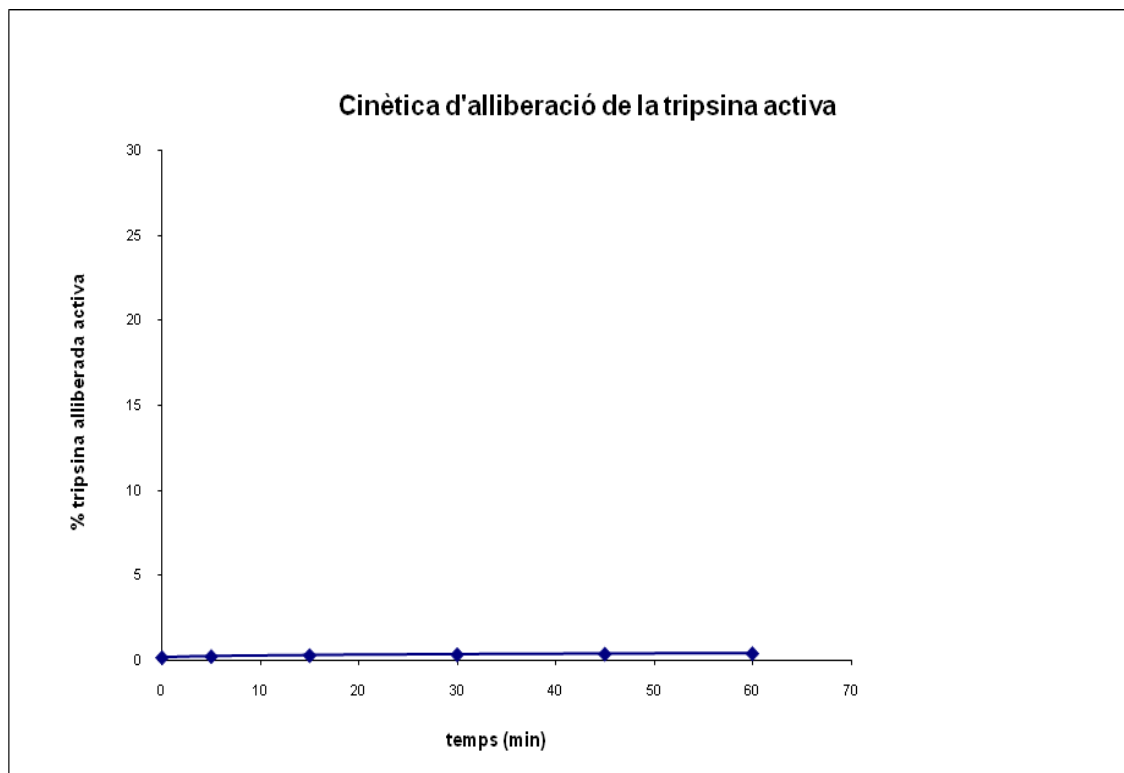
l - mida de la cubeta

$\epsilon$  - coeficient d'extinció molar (capacitat que té una molècula o proteïna per absorbir llum a una determinada longitud d'ona)

El % de tripsina alliberada l'hem obtingut dividint la quantitat en  $\mu\text{g}$  de tripsina acumulativa en un 1ml, entre els  $\mu\text{g}$  totals de tripsina que hi havia a l'hidrogel (3520  $\mu\text{g}$ ) i tot això multiplicat per 100.

En el **gràfic 3** s'hi reflecteixen altre cop els resultats 3. Observem també un gràfic lineal que ens indica el % de tripsina alliberada en cada període de temps marcat (0, 5, 15, 30, 45, 60 minuts), però en aquest cas és el % de tripsina activa.

Temps (min)	% tripsina alliberada acumulativa	% tripsina alliberada activa acumulativa
0	5,00059	0,167513623
5	7,02548	0,235588841
15	9,02396	0,298447629
30	10,7231	0,350654394
45	11,75315	0,385738517
60	12,34301	0,415783287



Com podem observar la cinètica d'alliberació és correcta i la tripsina es va administrant controladament i regularment, però el % de tripsina activa és molt baix. Aquest problema recau en el fet que el sistema no és tant adequat com ens pensàvem per l'administració de tripsina. Tot i així, amb el següent gràfic parlarem de l'activitat i dels possibles problemes.

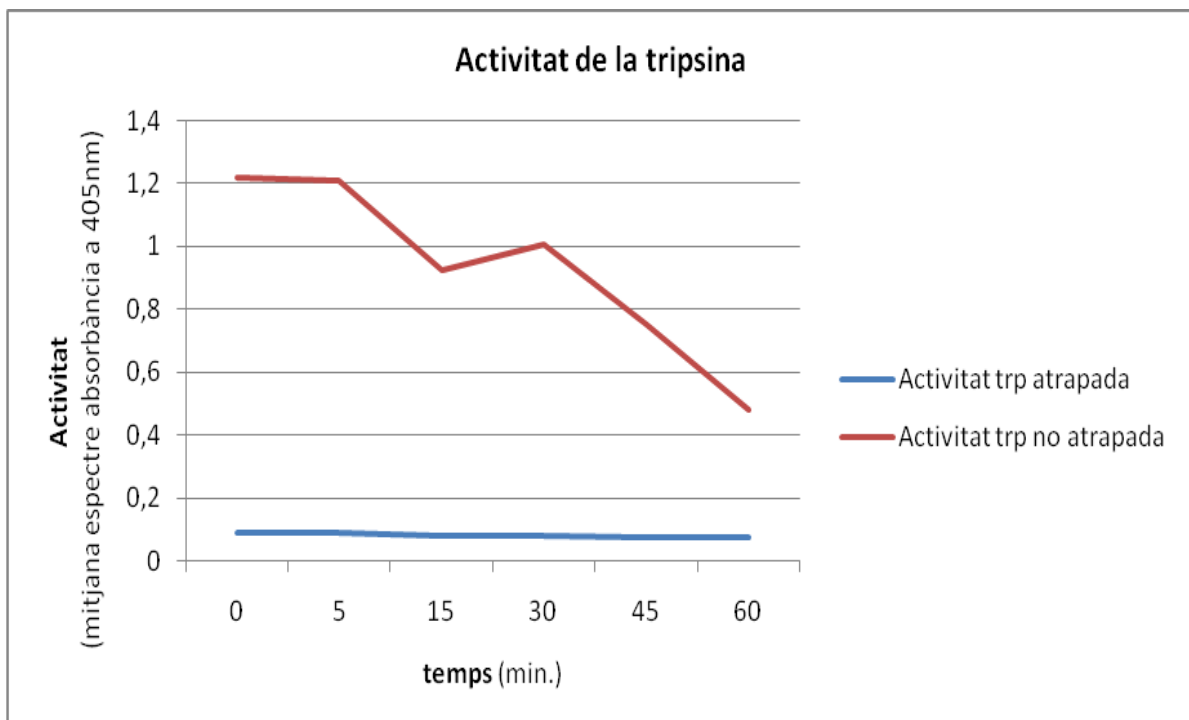
Centrant-nos amb la cinètica observem que l'hidrogel, de moment, si que seria un bon candidat per l'administració controlada de la tripsina, ja que la cinètica que es forma és correcta, adequada i regulada. A cada interval de temps se'n desprèn una mica més i això és el primer requisit que es busca per donar com a apte un material.

El % de tripsina alliberada activa surt de dividir la tripsina activa acumulativa entre els  $\mu\text{g}$  totals de tripsina que contenia l'hidrogel (3520  $\mu\text{g}$ ) i tot això multiplicat per 100.

La quantitat de tripsina activa acumulativa surt de multiplicar la quantitat en  $\mu\text{g}$  de tripsina en 1ml, pel % de l'activitat residual després de la posterior alliberació (quantitat de tripsina que té activitat). Finalment el resultat es divideix entre 100.  
*(Graella amb tots els resultats a l'annex)*

En el **gràfic 4**, on s'hi plasmen els resultats 4, veiem un gràfic lineal amb dues informacions. Una d'elles, la línia blava, correspon a l'activitat de la tripsina atrapada per l'hidrogel i posteriorment alliberada. L'altra informació, la línia vermella, pertany a l'activitat de la tripsina que no ha estat atrapada per l'hidrogel.

Activitat de la tripsina atrapada i alliberada				Mitjana	Activitat de la tripsina sense atrapar			Mitjana
0,094	0,087	0,087	0,0893333	1,188	1,219	1,22	1,209	
0,094	0,087	0,088	0,0896667	1,193	1,22	1,201	1,2046667	
0,081	0,077	0,081	0,0796667	0,915	0,892	0,959	0,922	
0,08	0,081	0,08	0,0803333	0,968	1,042	0,968	0,9926667	
0,077	0,074	0,076	0,0756667	0,742	0,768	0,736	0,7486667	
0,076	0,073	0,078	0,0756667	0,484	0,482	0,477	0,481	



La taula ja ens reflecteix la baixa activitat de la tripsina atrapada i posteriorment alliberada en comparació amb l'activitat de la tripsina sense atrapar. El gràfic ens ho representa clarament. Podem observar una pèrdua molt important de l'activitat de la proteïna.

Per tant, en comparació amb l'activitat que hauria de tenir, podem dir que la tripsina, al passar primer per tot el procés de captura i alliberació a l'hidrogel, ha perdut part de la seva activitat.

L'activitat l'obtenim fent la mitjana de l'espectre d'absorbància a 405nm de la tripsina atrapada i de la tripsina no atrapada mesclades amb el substrat BAPNA. El substrat serveix per quantificar aquesta activitat, ja que la tripsina que és activa actua amb ell trencant-li enllaços que absorbeixen a la longitud d'ona de 405nm.

## 5. CONCLUSIONS

Des de sempre hi ha hagut malalties que no s'han pogut solucionar i han estat presents durant tota la vida en algunes persones. En els darrers anys s'han fet avenços en la investigació per tal de poder oferir un tractament més còmode i per millorar la qualitat de vida dels malalts.

En algunes malalties l'administració convencional del tractament és adequada i no cal utilitzar un altre camí. Tot i això moltes vegades els sistemes d'administració convencional dels fàrmacs tenen períodes de màxims i mínims que coincideixen amb períodes de toxicitat o d'ineficàcia del fàrmac. Per solucionar aquests problemes s'estan estudiant i provant sistemes d'administració controlada. Hi ha malalties que tenen un tractament difícil de controlar i que solen ser un problema en la vida del malalt.

La diabetis és una malaltia crònica de la qual encara no s'han determinat concretament les seves causes. La diabetis més difícil de tractar és la de tipus I i el seu tractament consisteix en el control dels nivells de glucosa en sang i de l'administració d'insulina sempre que és necessari. Els diabètics cada dia s'han de controlar el que mengen, quan mengen, l'esport que practiquen, i a més a més uns 7 cops el dia fer-se un control per saber el seu nivell de glucosa a la sang. Depenent d'aquest nivell s'han d'injectar insulina amb uns *pens*.

Una de les investigacions que recentment s'està duent a terme en l'àmbit de l'administració controlada de fàrmacs és trobar sistemes efectius per poder tractar algunes malalties cròniques amb tractament difícil, entre elles la diabetis. S'estan investigant i analitzant sistemes polimèrics que facin la funció de transportador i controlador del fàrmac dins el cos. Aquests sistemes són anomenats hidrogels.

Els hidrogels estan sent molt estudiats per les comunitats científiques perquè han mostrat unes bones característiques de biocompatibilitat, degut a les propietats

físiques que els fan semblants als teixits vius, i també perquè amb ells és possible, almenys teòricament, aconseguir una velocitat d'alliberació constant.

La meua línia d'investigació pràctica va estar dirigida, com ja s'ha vist, en la creació d'un hidrogel. L'hidrogel creat mitjançant la substància PGA-Cys va experimentar unes bones qualitats ja que va atrapar tota la tripsina correctament i la va alliberar progressivament durant tot el temps establert. Va respondre adequadament als canvis de pH aplicats mitjançant les dissolucions tampó, per tant, també podem dir que va respondre tal i com esperàvem a les condicions del medi que l'envoltava.

El problema es va presentar quan vam calcular l'activitat de la tripsina i vam veure que l'havia perdut gairebé tota. Mitjançant el substrat BAPNA vam poder observar que la tripsina no trencava els enllaços d'aquest substrat correctament. Vam arribar a la conclusió que l'hidrogel havia modificat l'estructura de la tripsina i li havia fet perdre part de la seva activitat.

Per aquest motiu la conclusió de la nostra investigació va ser que l'hidrogel creat amb PGA-Cys no servia per administrar tripsina, ja que li modificava l'estructura. Tanmateix no deixa de ser un bon candidat per l'administració d'altres possibles substàncies, ja que la captura, la cinètica d'alliberació i la resposta respecte el medi que l'envoltava van ser les correctes.

La investigació d'aquest sistema d'administració controlada seria a una bona solució pel tractament de la diabetis. Amb la pràctica que jo he realitzat hem vist que per la tripsina l'hidrogel no seria vàlid, ja que li modifica l'estructura i li fa perdre l'activitat. Caldria fer el mateix procediment amb la insulina per veure si seria del tot eficaç, ja que la captura de la substància, l'alliberació d'aquesta i la resposta de l'hidrogel envers el medi aplicat van ser adequats. Si no fos així seria necessari dirigir la investigació cap a la modificació de l'hidrogel perquè pogués mantenir tota l'activitat del fàrmac (insulina).

Parlant amb la gent que tenia vinculació amb la malaltia (familiars, malats i metges) em vaig adonar que és una malaltia crònica difícil de portar, tant en els països desenvolupats com en els subdesenvolupats. La persona diabètica sempre ha d'estar pendent del que fa o deixa de fer, perquè pot tenir atacs d'hipoglucèmia o d'hiperglucèmia. Degut a això també crea lligams en els familiars de la persones dependents (infants i persones grans). Fer les entrevistes em va ajudar a poder entendre tota la complicació i el patiment, tan físic com psicològic, que hi ha darrera d'aquesta malaltia.

És necessari continuar investigant, i no només en aquesta direcció. Actualment també hi ha altres camins d'experimentació per tal de resoldre la diabetis, com per exemple el transplantament de cèl·lules mare, o la formació d'un sistema biològic mitjançant la computació de grups de cèl·lules que actuen com un ordinador. En el cas de la diabetis funcionaria com un pàncrees artificial detectant el nivell de glucosa a la sang i administrant, o no, insulina.

Segons dades de l'IDF (Federació Internacional de Diabetis) es calcula que en menys de 20 anys el número de persones diabètiques augmentarà uns 100 milions. Les prediccions són que el 2025 quasi el 80% dels casos de diabetis es trobaran en països d'ingressos mitjos i baixos. Si no es prenen mesures, tan a nivell de prevenció com a nivell d'investigació, la diabetis suposarà en pocs anys una greu càrrega econòmica, social i sanitària.



## 6. VALORACIÓ PERSONAL

En acabar aquest treball he de dir en primer lloc que em sento satisfeta de la feina feta. Considero que he complert els objectius del meu treball a nivell d'organització, a l'hora de buscar fonts d'informació, de parlar amb persones relacionades amb el tema i sobretot he après molts conceptes relacionats amb la ciència i he descobert tot el món de la investigació gràcies a l'estada al Parc Científic.

Al començament estava una mica amoïnada perquè, després d'haver fet algun experiment amb les aigües i els bacteris, no ho vaig veure clar ja que no tenia prous recursos per poder-ho fer bé. Saber que m'havien agafat per participar en el projecte de *Recerca a secundària* va ser el que em va motivar més per fer el treball.

Després d'haver acabat el meu projecte m'he adonat que hi ha una part, potser, de difícil comprensió si no tens una mínima noció dels conceptes i processos científics. No obstant crec que és imprescindible utilitzar aquests termes i aquest tractament de l'estructura.

El millor que m'emporto d'haver fet aquest treball és l'estada al Parc, tot el que vaig aprendre amb l'ajuda d'en Miguel, i l'experiència tan enriquidora que vaig tenir l'oportunitat a viure.

El contacte amb persones afectades per aquesta malaltia m'ha fet adonar més de la importància de treballar per ajudar als altres i la satisfacció i motivació que pot arribar a aportar.

Tot aquest món de la investigació m'atrau i espero poder arribar a formar-ne part algun dia.

*“L'investigador pateix decepcions, els llargs mesos passats en una direcció equivocada, els fracassos. Però el fracàs és també útil, perquè, ben analitzat, pot conduir a l'èxit”*

*Alexander Fleming*

## 7. BIBLIOGRAFIA

### Llibres:

- COROMINA, CASACUBERTA, QUINTANA. *El treball de recerca*. 2a edició 2008. Eumo Editorial.
- DEL HOYO CALDUCH, Josep. *La diabetis*. Col·lecció: Curar-se en salut. Edicions proa.
- VARIS. *Enciclopèdia de medicina i salut*. Volum 6. Edita Enciclopèdia Catalana.

### Articles:

- DIARI AVUI. *Els casos de diabetis infantil augmenten un 3% cada any*. Publicat el 13.11.2010, pàgina 30.
- EL PERIÓDICO. *Acord per atendre escolars diabètics*. Publicat el 15.11.2010, pàgina 21.
- LA VANGUARDIA. *Creando un páncreas artificial para diabéticos*. Publicat el 15.4.2010, pàgina 28.
- ROJAS CORTÉS, Manuel Guillermo; VALLEJO DÍAZ, Bibiana Margarita; ERNESTO PERILLA, Jairo. *Los biopolímeros como materiales para el desarrollo de productos en aplicaciones farmacéuticas y de uso biomédico*. Revista ingeniería e investigación vol. 28 No.1, Abril de 2008 (57-71)  
<http://www.scielo.org.co/pdf/iei/v28n1/v28n1a07.pdf>
- SÁNCHEZ CHÁVEZ, Irma Yolanda; MARTÍNEZ-CHAPAS, Sergio O.; PEPPAS, Nicholas A. *Computer Evaluation of Hydrogel-Based Systems for Diabetes Closed Loop Treatment*. American Institute of Chemical Engineers (AIChE Journal), volum 54, pàgines 1901-1911. Publicació el juliol del 2008.  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/aic.11501/abstract>
- SÀEZ, Virginia; HERNÁNDEZ, Estíbaliz; LÓPEZ, Leyre. *Liberación controlada de fármacos. Aplicaciones biomédicas*. Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 4(2), Abril 2003.  
<http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/ABR03/Virginia3.pdf>

- SÀEZ, Virginia; HERNÁEZ, Estíbaliz; SANZ ANGULO, Lucio. *Mecanismo de liberación de fármacos desde materiales polímeros*. Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 5(1), Març 2004.  
<http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/MAR04/Virginia2004.pdf>
- ESCOBAR, J.L.; GARCÍA, D.M.; ZALDIVAR, D.; KATIME, Issa. *Hidrogeles. Principales características en el diseño de sistemas de liberación controlada de fármaco*. Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 3(3), Juliol 2002.  
<http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/publicados/escobar2.pdf>
- SÀEZ, Virginia; HERNÁEZ, Estíbaliz; SANZ ANGULO, Lucio. *Liberación controlada de fármacos. Hidrogeles*. Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 4(1), Gener 2003.  
<http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/ENE03/Virginia2003.PDF>
- VARIS. *Insulina inhalada: ¿Una nueva opción terapéutica?*. Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina - N° 140 – Diciembre 2004. Pág. 16-17.  
[http://www.med.unne.edu.ar/revista/revista140/5\\_140.htm](http://www.med.unne.edu.ar/revista/revista140/5_140.htm)
- PINZÓN, Nelson; ESPINOSA, Armando; KATIME, Issa; PERILLA, Jairo; HERNÁEZ, Estíbaliz. *Modelamiento del hinchamiento y difusión de solutos en hidrogeles*. Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 3(2), Maig 2002.  
<http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/publicados/pinzon.pdf>
- CORBELLA, Josep. *La primera computadora biológica*. La Vanguardia, 8 de desembre del 2010.  
<http://www.lavanguardia.es/ciencia/20101208/54085081004/la-primera-computadora-biologica.html>
- NOTICIAS MÉDICAS. *Sanofi-Aventis adquiere los derechos mundiales de una tecnología de liberación de medicamentos para diabetes*. Publicat el 22 de desembre de 2010. <http://www.noticias-medicas.com/tag/diabetes>
- THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE. *Obesity and Diabetes in the Developing World — A Growing Challenge*. Publicat el gener de 2007.  
<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMp068177#t=article>

Pàgines web:

- MERCK SHARP & DOHME (companyia global farmacèutica)  
[http://www.msd.es/publicaciones/mmerck\\_hogar/seccion\\_02/seccion\\_02\\_006.html](http://www.msd.es/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_02/seccion_02_006.html)
- UNIVERSITAT DE BARCELONA  
<http://www.ub.edu/oblq/oblq%20catala/index1.html>
- VIQUIPÈDIA  
<http://ca.wikipedia.org/wiki/Portada>
- LOS POLÍMEROS EN MEDICINA  
<http://www.eis.uva.es/~macromol/curso05-06/medicina/contactenos.htm>
- TODO SOBRE LA DIABETES  
<http://tododiabetes.blogspot.com/2007/09/diabetes-mundial.html>
- DEPARTAMENT D'ENGINYERIA QUÍMICA DE LA UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA  
<http://www.giglobal.net/portal/recweb4/061017-Pon04-Bioglutamic.pdf>
- DIABETES AND HORMON CENTER OF THE PACIFIC  
<http://www.endocrinologist.com/Espanol/diabetes.htm>
- FUNDACIÓN PARA LA DIABETES  
<http://www.fundaciondiabetes.org/diabetes/box01.htm>
- MEDLINE PLUS  
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001214.htm>
- THE MEDICAL BIOCHEMISTRY PAGE  
<http://themedicalbiochemistrypage.org/spanish/insulin-sp.html>
- ISPAD (INTERNATIONAL SOCIETY FOR PEDIATRIC AND ADOLESCENT DIABETES)  
[http://www.diabetesguidelines.com/health/dwk/pro/guidelines/ispad/09\\_08.asp](http://www.diabetesguidelines.com/health/dwk/pro/guidelines/ispad/09_08.asp)
- TEENS HEALTH FROM NEMOURS  
[http://kidshealth.org/teen/diabetes\\_center/treatment/medicines\\_diabetes.html#](http://kidshealth.org/teen/diabetes_center/treatment/medicines_diabetes.html#)
- EN JAN ÉS DIABÈTIC  
<http://enjanediabetic.blogspot.com>

## 8. ANNEX

### 8.1- Material de laboratori

- Nucli magnètic: peça de metall formada per un imant en forma d'hèlix que gira. S'utilitza per mesclar les substàncies per fer dissolucions.

- Centrifugadora: màquina que posa en rotació una mescla i separa els seus components, o fases, segons la seva densitat.



- Sonicadora: és l'aparell que s'utilitza en l'acció d'aplicar sons (normalment ultrasons) per produir energia i poder mesclar les partícules d'una barreja. Es pot utilitzar per mesclar més ràpid les dissolucions o per trencar interaccions moleculars.



- Sistema de filtració al buit: sistema utilitzat per separar un sòlid d'un líquid, quan el que es vol recuperar és el sòlid.



- Espectroscopi d'absorbància: aparell que mesura l'absorció de la radiació en funció de la freqüència o longitud d'ona, degut a la seva interacció amb la mostra. La mostra absorbeix energia i aquesta varia en funció de la freqüència. Aquesta tècnica s'utilitza per determinar la presència d'una determinada substància a una mostra i, en molts casos, per quantificar la seva concentració.



- Pipeta micromètrica: aparell en forma de tub, graduat per micròmetres i que és utilitzat per transvasar líquids.



- Puntes: són per a les pipetes. Es canvien per evitar el perill de contaminar substàncies, cultius... Són d'un sol ús.



- Eppendorf: petit recipient cilíndric de plàstic utilitzat normalment en biologia molecular i en bioquímica.



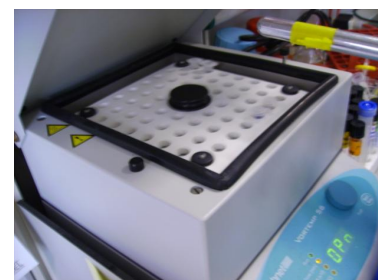
- Cubeta: petit tub de secció rodona o quadrada, tancat per un extrem i fet de plàstic vidre o quars. S'utilitza per mantenir les mostres durant els experiments amb l'espectroscopi.



- Xeringa amb sistema de filtració: xeringa que incorpora una membrana amb uns porus d'una determinada mida els quals no deixen passar les partícules més grans que aquesta. S'utilitza per separar les partícules més grans que no ens interessin.



- Incubadora: equip tancat que permet controlar la temperatura, humitat i altres factors necessaris pel desenvolupament correcte d'un cultiu o d'una mostra determinada.



## 8.2- Resultats de l'espectre d'absorbància del rentat de l'hidrogel (exemple)

	Rentats	BSA
200	0,795	5,00E+00
200,5	0,789	5
201	7,80E-01	5
201,5	7,75E-01	5
202	7,76E-01	5
202,5	7,80E-01	5
203	0,78	5
203,5	0,783	5
204	7,84E-01	5
204,5	7,86E-01	5
205	0,79	5
205,5	0,793	5,00E+00
206	0,791	5,00E+00
206,5	0,786	5
207	0,781	5,00E+00
207,5	0,775	5,00E+00
208	0,765	5,00E+00
208,5	0,754	5,00E+00
209	0,742	5,00E+00
209,5	0,727	5,00E+00
210	0,71	5,00E+00
210,5	0,688	5,00E+00
211	0,663	5,00E+00
211,5	0,638	5,00E+00
212	0,613	5,00E+00
212,5	0,591	5,00E+00
213	0,565	5,00E+00
213,5	0,535	5,00E+00
214	0,504	5
214,5	0,474	5
215	0,443	5,00E+00
215,5	0,414	5,00E+00
216	3,89E-01	5
216,5	0,364	5,00E+00
217	0,336	5,00E+00
217,5	3,10E-01	5
218	0,284	5
218,5	0,26	5
219	2,41E-01	5
219,5	2,21E-01	5
220	2,01E-01	5
220,5	1,82E-01	5
221	1,64E-01	5
221,5	1,47E-01	5
222	1,32E-01	5,00E+00
222,5	1,19E-01	5,00E+00
223	1,07E-01	5
223,5	9,50E-02	5
224	8,30E-02	5
224,5	7,30E-02	5

	Rentats	BSA
225	6,60E-02	5
225,5	5,90E-02	5
226	5,10E-02	5
226,5	4,30E-02	5
227	3,70E-02	5
227,5	3,20E-02	5
228	2,80E-02	5
228,5	2,50E-02	5,00E+00
229	2,10E-02	5
229,5	1,70E-02	5
230	0,013	5
230,5	0,01	5
231	0,008	5,00E+00
231,5	6,00E-03	5
232	5,00E-03	5
232,5	3,00E-03	5
233	1,00E-03	5
233,5	0,00E+00	4,516
234	-1,00E-03	4,28E+00
234,5	-1,00E-03	3,928
235	-1,00E-03	3,646
235,5	-2,00E-03	3,356
236	-3,00E-03	3,111
236,5	-3,00E-03	2,836
237	-4,00E-03	2,573
237,5	-5,00E-03	2,355
238	-5,00E-03	2,154
238,5	-4,00E-03	1,969
239	-5,00E-03	1,80E+00
239,5	-6,00E-03	1,637
240	-6,00E-03	1,498
240,5	-6,00E-03	1,371
241	-6,00E-03	1,253
241,5	-5,00E-03	1,145
242	-5,00E-03	1,052
242,5	-5,00E-03	0,976
243	-5,00E-03	0,908
243,5	-5,00E-03	0,844
244	-5,00E-03	0,786
244,5	-6,00E-03	0,734
245	-5,00E-03	0,691
245,5	-5,00E-03	0,655
246	-4,00E-03	0,626
246,5	-4,00E-03	0,601
247	-4,00E-03	0,58
247,5	-4,00E-03	0,561
248	-0,004	0,544
248,5	-3,00E-03	0,529
249	-3,00E-03	0,519
249,5	-2,00E-03	0,511

### 8.3- Graella de resultats

Mostres	TEMPS REAL (min)	Abs a 280nm després del filtrat	[Tripsina] (µM) mesurada	[Tripsina] (µg/µl) mesurada a 280nm	Quantitat µg en 1ml	Quantitat acumulativa µg en 1ml	%tripsina alliberada	Total de tripsina que contenia l'hidrogel = 3520 µg
1	0	0,284	7,3958	0,1760	176,0208333	176,0208333	5,0005919	
2	5	0,23	5,9896	0,1426	71,27604167	247,296875	7,0254794	
3	15	0,227	5,9115	0,1407	70,34635417	317,6432292	9,0239554	
4	30	0,193	5,0260	0,1196	59,80989583	377,453125	10,7231	
5	45	0,117	3,0469	0,0725	36,2578125	413,7109375	11,753152	
6	60	0,067	1,7448	0,0415	20,76302083	434,4739583	12,34301	
					434,4739583			

Abs 405nm Activitat 1	Abs 405nm Activitat 2	Abs 405nm Activitat 3	ACTIVITAT (mitjana act. 1,2 i 3)	Blanc	ACTIVITAT REAL
0,094	0,087	0,087	0,0905	0,05	0,0405
0,094	0,087	0,088	0,0905	0,05	0,0405
0,081	0,077	0,081	0,079	0,05	0,0290
0,08	0,081	0,08	0,0805	0,05	0,0305
0,077	0,074	0,076	0,0755	0,05	0,0255
0,076	0,073	0,078	0,0745	0,05	0,0245

Activitat tripsina sense atrapar	% Activitat residual després de l'alliberació	%Activitat utilitzada per representar la tripsina activa	(Ratio Activitat/Quantitat tripsina) x 1000
1,20900	3,35	3,35	0,02300864
1,20467	3,36	3,36	0,028410669
0,92200	3,15	3,15	0,020612298
0,99267	3,07	3,07	0,025497453
0,74867	3,41	3,41	0,035164835
0,48100	5,09	5,09	0,058999122

TRIPSINA ACTIVA	TRIPSINA ACTIVA Acumulativa	%Tripsina activa alliberada
5,896479529	5,896479529	0,167513623
2,396247665	8,292727194	0,235588841
2,212629361	10,50535655	0,298447629
1,837678129	12,34303468	0,350654394
1,234961111	13,5779958	0,385738517
1,057575905	14,6355717	0,415783287



## 8.4- Entrevistes

En aquest apartat de l'annex hi he inclòs tres de les entrevistes que he cregut més il·lustratives per recolzar la necessitat d'una important tasca d'investigació. Els malats diabètics tenen un important handicap en la seva vida. Deixant a part la malaltia en sí i les possibles complicacions i conseqüències en altres funcionaments de l'organisme, hi ha tot el vessant de qualitat de vida que n'és afectat molt directament. Cal un control en l'alimentació, en el ritme d'activitat física (les persones que practiquen esport es troben molt més condicionades), en el control de la glucèmia i en l'administració de la insulina (i no sempre aquestes activitats poden ser efectuades pel propi malalt, nens i persones grans). Hi ha un patiment físic i psicològic important, tant en els pacients com en les persones que els envolten. En el cas dels països pobres en recursos econòmics tot està molt més agreujat.

Entrevista a M<sup>a</sup> Teresa Rius, missionera.

Entrevista realitzada a M<sup>a</sup> Teresa Riu, missionera especialista en medicina tropical. Als 30 anys se'n va anar al Congo i fa més de 40 anys que hi viu. Porta 30 anys treballant incansablement a l'hospital de Kole, un hospital que dona atenció sanitària a 120.000 persones de tota la regió, coordina 23 centres de salut i una escola d'infermeria amb 90 alumnes.

L'equip mèdic de l'hospital i centres de salut està format per 5 metges (una de les quals és la M<sup>a</sup> Teresa), 55 infermers i 4 auxiliars.

- Tracteu molts casos de diabetis a Kole? Bastants, hem tractat 124 casos de diabetis tipus I i 18 casos de diabetis tipus II.

- Com diagnostiqueu la diabetis? Normalment els diabètics vénen a l'hospital amb els símptomes més generals (polifàgia, poliúria, polidípsia) bastant agreujats i quan pensem que poden patir aquesta malaltia els fem un anàlisi de sang per veure si tenen hiperglucèmia. Molta gent per arribar a l'hospital ha de fer més de 100km, i moltes vegades arriben amb estat crític o, fins i tot, no arriben.

- La de tipus II com la tracteu? Normalment la de tipus II es tracta amb fàrmacs administrats per via oral. No se'ls pot fer un seguiment de la dieta perquè acostumen a menjar només un cop al dia i acostumen a menjar molts hidrats de carboni i poques proteïnes. Els fem classes d'educació per una dieta equilibrada, però sempre fan el que poden dins dels mitjans assequibles per a ells.

- Des d'on arriba la insulina? Nosaltres la comprem a Kinshasa (la capital), però la insulina procedeix d'Holanda.

- Com ho feu per transportar-la fins l'hospital? La insulina es transporta amb avions des de Kinshasa fins a Kole dins de les neveres. Normalment hi ha avions cada dues setmanes, més o menys.

- Com dueu a terme tot el tractament? Tots els pacients que vénen i pateixen diabetis, primer de tot se'ls fa una xerrada i se'ls explica la seva malaltia. Després se'ls explica com s'han d'administrar la insulina i quan, i normalment s'emporten un flascó d'insulina i se l'administren ells a casa. A l'hospital cada dia se'ls fa un control d'orina per seguir un control, i cada setmana se'ls fa un control de sang per veure si s'ha de modificar la dosi per la setmana següent. Tot i això, molts dels pacients no arriben a adults. Actualment un fet curiós és que a vegades ens trobem diabètics que, tan bon punt tenen hiperglucèmia com estan bé i no els cal insulina per poder tenir un nivell normal de glucosa a la sang.

- Se l'administren sols, tots els pacients? Els que vénen en estat greu els hi administrem nosaltres ja que se'ls ha de proporcionar més sovint perquè puguin recuperar el nivell normal de glucosa a la sang, però un cop recuperats se'ls explica com ho han de fer i, o ells o algun membre de la seva família, s'encarrega d'administrar la insulina normalment després de l'àpat que fan al dia.

- Sorgeixen altres complicacions importants en els pacients? Quines són més freqüents? Sí, normalment el que sorgeix més són les gangrenes i les infeccions. A vegades hem d'amputar peus, cames i braços.

- Els diabètics utilitzen altres recursos per intentar tractar la seva malaltia? Sí, ells creuen molt amb els "curanderos", i a vegades van a que els tractin. Tot i així, nosaltres ens hem trobat amb pacients diabètics, tant nens com adults, que pateixen hipoglucèmies perquè han anat a un d'aquests "curanderos". Aquest els hi ha donat una dosi elevada d'algun remei a base d'herbes que els ha causat una intoxicació i els ha produït aquesta disminució de glucèmia.

Normalment el que tracten més els "curanderos" són les fractures.

- Quins són els inconvenients afegits més importants que hi ha envers la gent d'aquí amb l'administració de la insulina? La pobresa, la higiene, el menjar, les infeccions... tots aquests factors agreugen molt la malaltia. Cada vegada hi ha més casos de

diabetis i, a part de tots els factors hereditaris i factors ambientals i externs, sembla ser que el més important sobretot és l'alimentació.

Quan hi va haver la primera guerra del Congo, vam passar tot el període de guerra sense poder-nos comunicar amb Kinshasa, per tant sense poder rebre insulina. Durant aquell període hi va haver molts diabètics que van morir.

- Creus que si hi hagués un sistema d'administració controlada per la insulina facilitaria molt les coses? De quina manera? Sí, se'ns dubte. Seria una cosa que ajudaria molt. El fet de guanyar autonomia tranquil·litzaria tant al malalt com a la persona que els ha de tractar.

### Entrevista a Xavi Casas, fill d'una pacient diabètica.

Entrevista realitzada a Xavi Casas, fill d'una pacient diabètica des de fa 44 anys, Carme Benito. Ell, juntament amb els seus germans, s'encarreguen d'administrar la insulina a la seva mare.

- Quants anys té la teva mare? 87 anys.

- Quin tipus de diabetis té? Diabetis tipus 2.

- Quan la va començar a patir? Fa 44 anys, un parell d'anys després del seu darrer part.

- Com és l'administració d'insulina per a ella? Primer va començar amb pastilles que estimulaven el pàncrees a fabricar insulina. Així es va passar força anys i quan ja no va ser suficient va començar amb l'administració d'insulina injectada. Abans no va arribar a un equilibri es va haver de fer proves. Finalment se li va assignar l'administració d'insulina lenta, 16 unitats, perquè li faci efecte les 24 hores i també dosis d'insulina ràpida.

- Se l'administra ella sola? No, sempre li administrem algun dels tres fills.

- Com li ha afectat ser diabètica durant seva vida? Al principi va tenir complicacions amb el fetge, que van deixar en segon terme la diabetis. Feia règim, que no li costava gaire doncs li agraden les verdures, i prenia la pastilla. Ara, de més gran, la condiciona més. Sobretot la diabetis li ha afectat a la vista, un ull ha perdut 100% de visió perquè la malaltia li ha "assecat" la irrigació sanguínia i en l'altre té molt poca visió. Li han fet tractament làser a l'ull bo diverses vegades.

- Quins són els principals inconvenients amb els que s'ha trobat? A partir d'una certa edat no ha pogut fer vida autònoma degut als problemes de visió i mobilitat.

- Ha tingut molts problemes relacionats amb l'administració de la insulina? **Més aviat han estat problemes amb la diabetis. L'administració és molesta perquè cada dia són una mitjana de 3 punxades: un anàlisi i dos bolígrafs d'insulina.**

- Ha provat altres mecanismes d'administrar-se la insulina? **No, el metge endocrí mai ens n'ha parlat.**

- En quin sentit creus que milloraria la vida de la teva mare, i en general de tota la gent diabètica, si s'aconsegueix una administració de la insulina controlada? **Sempre hem tingut la preocupació de saber com està el seu nivell d'insulina durant les 24 hores del dia. Li administrem insulina només al migdia i alguna vegada cap a la matinada té una davallada que la deixa molt debilitada, i l'obliga a ingerir dolç, com llet amb galetes. Si hi hagués un sistema que regulés el nivell de glucosa a la sang seria tot molt més fàcil i tranquil·litzador.**

- Creus que s'està duent a terme suficient recerca per intentar donar una millor qualitat de vida a la gent que pateix diabetis? **Crec que sí. He vist documentals científics on es veu com s'està avançant en aquest camp, però hem de tenir en compte que hi ha molts tipus diferents de diabetis que suposo que complica encara més la recerca.**

Entrevista a Magalí Miracle, mare d'una nena diabètica.

Entrevista realitzada a Magalí Miracle, mare d'una nena diabètica des de l'any i mig, membre de l'Associació de Diabètics de Catalunya i promotora del primer protocol sobre els nens diabètics a l'escola, que es va legalitzar a Catalunya fa uns dos anys.

- Quants anys té la teva filla? 9 anys

- Quin tipus de diabetis té la teva filla? La té des que era ben petita? Té diabetis de tipus I des que tenia un any i mig.

- Com és l'administració d'insulina per a ella? Se l'administra ella sola? Ella ara ja se l'administra tota sola després de cada àpat: esmorzar, dinar, berenar i sopar. També es fa entre 7 i 9 controls diaris per saber el seu nivell de glucosa a la sang. Moltes vegades se'ls fa quan fa esport, abans o després, o també quan porten un pastís a l'escola, per saber a quan està i decidir si en pot menjar o no.

- De més petita com ho fèieu? El primer que jo vaig haver de fer va ser deixar la meua feina, ja que implicava viatjar per molts països. Em vaig fer càrrec de fer-li jo mateixa els controls i d'administrar-li la insulina que necessitava. Mentre que era un bebè no hi havia massa problemes perquè no es queixava, però quan ja va començar a tenir una mica de consciència de tot el que li estava passant moltes vegades em deia: Mare, per què em punxes? No m'has demanat permís per fer-ho.

Aquests petits detalls et fan pensar que has de lluitar perquè la teva filla pugui tenir una vida més còmoda i millor, pel que fa a la seva malaltia, la diabetis.

- Com li està afectant ser diabètica, ara que encara és una nena, a la seva vida diària? És molt dur haver de conviure amb aquesta malaltia. És una nena que ha rebut una educació sobre la seva malaltia des que era petita i la porta bastant bé, tot i així ha hagut de viure coses que l'han fet més forta i una mica més madura i conscient que, potser, altres nens i nenes de la seva edat.

A més a més, quan s'és diabètic surten més sovint altres patologies que fan que l'hagis de portar més sovint al metge. Jo l'haig de portar a l'oculista i al dentista bastant sovint.

- Has tingut algun problema relacionat amb l'administració de la insulina? Sí, una vegada, per exemple, ella es va despistar i no es va recordar d'injectar-se-la, i quan va arribar a casa estava bastant per sobre del nivell normal. O moltes vegades li han baixat els nivells de sucre i s'ha quedat inconscient, ja que a un nen petit no li pots prohibir que corri i jugui amb els seus amics. Però això són petites coses que t'han de passar perquè ella també s'adoni de la situació i prengui una mica més de consciència cada vegada.

- Has tingut problemes a l'escola? Durant l'escola bressol no vaig tenir problemes, ja que hi havia una noia que es va fer càrrec de vigilar-la i d'administrar-li insulina o glucagó si feia falta. Va ser a l'arribar a l'escola quan van començar els problemes. L'inspector de la zona no va permetre que els professors es fessin càrrec de fer els controls i administrar la inulina, ja que a nivell legal el Departament d'Educació no tenia cap protocol d'actuació en cas de nens diabètics a l'escola. A partir d'aquest moment va ser quan em vaig començar a moure per reclamar un protocol per a tots els nens diabètics. Vaig anar al Síndic de Greuges, al Departament d'Educació, vaig entrevistar-me amb el president de la Generalitat, en aquells moments Pascual Maragall. També va ser quan vaig entrar a formar part de l'Associació de Diabètics de Catalunya. Després de molta moguda i moltes queixes, vaig aconseguir que es redactés un primer protocol, i actualment n'hi ha un d'oficial.

- Creus que hi ha poca atenció per part dels professors en aquests casos? No, en el meu cas la desatenció va ser a nivell legal. Els professors i els directors de les escoles sempre havien estat d'acord en tenir la meva filla més controlada i administrar-li la insulina o el glucagó. Amb el protocol queda coberta la responsabilitat del personal que col·labora en el control de la meva filla.



- Què feu des de l'associació on estàs involucrada? L'associació és un lloc on es poden compartir vivències amb altres famílies que tenen el mateix problema que tu i on lluites contra impediments o injustícies que et puguis trobar relacionats amb la malaltia. A més ens ajuda a estar al dia de les noves investigacions.

- En quin sentit creus que milloraria la vida de la teva filla, i en general de tota la gent diabètica, si s'aconsegueix una administració de la insulina controlada? Seria un gran avenç, ja que darrera d'una malaltia d'aquest tipus hi ha molta feina i molta complicació, molt patiment tant pel malalt com per la família. Jo també he sentit a parlar sobre mètodes que s'estan investigant, però darrera de tot això vés a saber el què hi ha.

- Creus que s'està duent a terme suficient recerca per intentar donar una vida millor a la gent que pateix diabetis? Jo penso que actualment s'estan investigant diverses coses relacionades amb la diabetis. Tinc l'esperança que en un futur es portin a terme. A més a més penso que al govern li interessa poder solucionar-ho, ja que el nombre de diabètics cada vegada és més elevat i, per exemple, una tira per fer-se el control costa 1€. Doncs imaginat, cada dia només amb els controls de la meva filla els costa uns 9€, i això ho paga la Generalitat.