

1. ANEXOS

1.1 ANEXO I. Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la agenda 2030

Tabla 1. Grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).

Objetivos de desarrollo sostenibles	Alto	Medio	Bajo	No procede
ODS 1. Fin de la pobreza				X
ODS 2. Hambre cero				X
ODS 3. Salud y bienestar		X		
ODS 4. Educación de calidad				X
ODS 5. Igualdad de género				X
ODS 6. Agua limpia y saneamiento				X
ODS 7. Energía asequible y no contaminante				X
ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico				X
ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras				X
ODS 10. Reducción de las desigualdades				X
ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles				X
ODS 12. Producción y consumo responsables				X
ODS 13. Acción por el clima				X
ODS 14. Vida submarina				X
ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres				X
ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas				X
ODS 17. Alianzas para lograr objetivos				X

El presente proyecto cumple principalmente con una de las metas del ODS 3, Salud y bienestar:

3.4 Para 2030, reducir en un tercio la mortalidad prematura por enfermedades no transmisibles mediante la prevención y el tratamiento y promover la salud mental y el bienestar.

Entender cómo se activan las células madre neurales bajo diferentes condiciones metabólicas podría conducir al desarrollo de terapias innovadoras para enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer o el Parkinson. Por otro lado, los resultados aportados a este estudio podrían contribuir a la creación de tratamientos para la regeneración de tejido cerebral dañado, lo cual es crucial para la recuperación después de accidentes cerebrovasculares o lesiones traumáticas. Además, las NSCs pueden ofrecer nuevas vías para tratar trastornos mentales, como la depresión y la esquizofrenia, mediante la regeneración de neuronas y la restauración de la homeostasis en el cerebro. Asimismo, identificando cómo ciertos cambios metabólicos afectan a la activación de células madre neurales, podría ayudar a desarrollar

estrategias preventivas basadas en la dieta y el estilo de vida que mantengan la salud neurológica a lo largo de la vida. Por tanto, el trabajo realizado no solo podría abrir nuevas vías terapéuticas para enfermedades y trastornos neurológicos, sino que también podría tener un impacto significativo en la prevención, el tratamiento, y el acceso a la salud, contribuyendo directamente al ODS 3 de salud y bienestar.

1.2 ANEXO II. Script para determinar el porcentaje de células positivas para Ki67

```
roiManager("reset");
run("Clear Results");
path = getDirectory("Choose a folder with images");
list = getFileList(path);
run("Set Measurements...", "area mean redirect=None decimal=2");
close("*");

// model path
modelPath = File.openDialog("Select the model file")
pathStrings = split(modelPath, File.separator);
modelPath = "";
for (i = 0; i < pathStrings.length; i++) {
    if (!endsWith(pathStrings[i], ".zip")) {
        modelPath += pathStrings[i] + File.separator + File.separator + File.separator +
File.separator;
    } else {
        modelPath += pathStrings[i];
    }
}

//Output folder
pathres = path +File.separator+ "results_Allslices_colocki67";
File.makeDirectory(pathres);
Table.create("Colocalization analysis");

// list of oif files
oifList = newArray()
```

```

for (i = 0; i < list.length; i++) {
    if (endsWith(list[i], ".oif")) {
        oifList = Array.concat(oifList, list[i]);
    }
}
Array.sort(oifList);

//Start analysis
for (i = 0; i < oifList.length; i++) {
    run("Clear Results");

    run("Bio-Formats Importer", "open=[" + path + File.separator + oifList[i]+" ] autoscale
color_mode=Grayscale rois_import=[ROI manager] view=Hyperstack stack_order=XYCZT");
    //setBatchMode(true);
    run("Clear Results");
    title = File.getName(oifList[i]);
    run("Split Channels");
    selectWindow("C1-"+ title);
    rename("DAPI");
    selectWindow("C2-"+ title);
    run("Close");
    selectWindow("C3-"+ title);
    rename("Ki67");
    selectWindow("C4-"+ title);
    run("Close");
    nsl = nSlices-1;
    Table.create("Ki67_results");

    var thr = 500;
    for (s = 1; s < nsl/3; s++) {
        selectWindow("DAPI");
        setSlice(s*3);
        slice = getSliceNumber();
        run("Duplicate...", "use");
    }
}

```

```

        rename("DAPI_prova");
        selectWindow("Ki67");
        setSlice(s*3);
        run("Duplicate...", "use");
        rename("Ki67_prova");
        roiManager("reset");
        ki67_analysis();
    }
selectWindow("DAPI");
close();
selectWindow("Ki67");
close();

selectWindow("Ki67_results");
A = Table.getColumn("Colocalizing");
    totalA = 0;
    for (a = 0; a < A.length; a++){
        totalA = totalA + A[a];
    }
B = Table.getColumn("Total nuclei");
    totalB = 0;
    for (b = 0; b < B.length; b++){
        totalB = totalB + B[b];
    }

selectWindow("Colocalization analysis");
Table.set("Image", i, title);
Table.set("Tot nuclei", i, totalB);
Table.set("KI67+ coloc", i, totalA);
Table.set("Colocalizing/total nuclei", i, totalA/totalB);
Table.update;
//selectWindow("Ki67_results");
//run("Close");
Table.reset("Ki67_results");

```

```

}
selectWindow("Colocalization analysis");
saveAs("results", pathres + File.separator+ "TotResults_" + File.getNameWithoutExtension(path) +
".csv");

function ki67_analysis() {
    // Analyze Ki67 positive cells
    selectWindow("DAPI_prova");
    roiManager("reset");

    run("Command From Macro", "command=[de.csbdresden.stardist.StarDist2D],
args=['input':'DAPI_prova', 'modelChoice':'Model (.zip) from File', 'normalizeInput':'true',
'percentileBottom':'1.2000000000000002', 'percentileTop':'100.0', 'probThresh':'0.5',
'nmsThresh':'0.4', 'outputType':'Both', 'modelFile':''+ modelPath +'', 'nTiles':'1',
'excludeBoundary':'2', 'roiPosition':'Automatic', 'verbose':'false', 'showCsdeepProgress':'false',
'showProbAndDist':'false'], process=[false]");

    n = roiManager("count");
    roiManager("show none");
    selectWindow("Ki67_prova");
    run("Subtract Background...", "rolling=50");
    roiManager("show none");
    roiManager("show all");
    run("Clear Results");
    roiManager("measure");
    selectWindow("Results");
    n = roiManager("count");
    for (r = 1; r < n; r++) {
        roiManager("select", r-1);
        roiManager("rename", r);
    }
    if (s==1){
        waitForUser("check the mean intensities of the nuclei and choose the best
threshold");
        thr= getNumber("Threshold", 500);
    }

    for (j = 0; j < nResults; j++) {
        if (getResult("Mean", j) > thr) {

```

```

        roiManager("select", j);
        roiManager("rename", j+1 + "_coloc");
    }
    if (getResult("Mean", j) < thr) {
        roiManager("select", j);
        roiManager("rename", j+1 + "_Nocoloc");
    }
}

//Nuclei colocalizing with Ki67
nRois = roiManager("count");
nColoc = 0;
tag = "_coloc";
for (j = 0; j < nRois; j++) {
    roiManager("select", j);
    name = Roi.getName;
    index = indexOf(name, tag);
    if (index != -1) {
        nColoc++;
    }
}

selectWindow("Ki67_results");
Table.set("Image name", s-1, title);
Table.set("Slice", s-1, s);
Table.set("Total nuclei", s-1, n);
Table.set("Colocalizing", s-1, nColoc);
Table.update;
roiManager("reset");
selectWindow("Ki67_prova");
close();
selectWindow("DAPI_prova");
close();
selectWindow("Label Image");
close();
}

```