

# ALTERNANZA SCUOLA·LAVORO IN ISS

05-08 e 14-16 febbraio 2018



**Percorso formativo:**

**BC25 La Microglia: scultore e guardiano del cervello**

**Studenti/Liceo:**

F. M. - L.S.S. Labriola

M. B. - I.S. Montessori

A. P. - L.C.S. Orazio

**Tutor/affiliazioni:**

Roberta De Simone - FARVA

Maria Antonietta Ajmone Cat - FARVA

Antonietta Bernardo - FARVA

Chiara De Nuccio - CORI

Anita Greco - FARVA



## L'attività che abbiamo svolto

*La verifica dell'effetto antinfiammatorio dell'acido grasso DHA sulle cellule della microglia*

dalla teoria..... alla pratica

- Metodo scientifico
- Microglia
- Osservazione
- Ricerca dei metaboliti
- Immunofluorescenza
- PCR





## Il Metodo Scientifico

### Osservazione

- L'acido grasso DHA possiede proprietà immunomodulatorie
- Il polisaccaride LPS induce l'attivazione della microglia

### Ipotesi

- L'esposizione di cellule della microglia al DHA potrebbe ridurre la loro attività infiammatoria in risposta all'LPS

### Sperimentazione

- Colture cellulari
- Analisi Metaboliti ( $\text{NO}_x$ )
- Immunofluorescenza
- Quantificazione dell'mRNA responsabile della risposta infiammatoria (Real Time PCR)

### Conclusioni

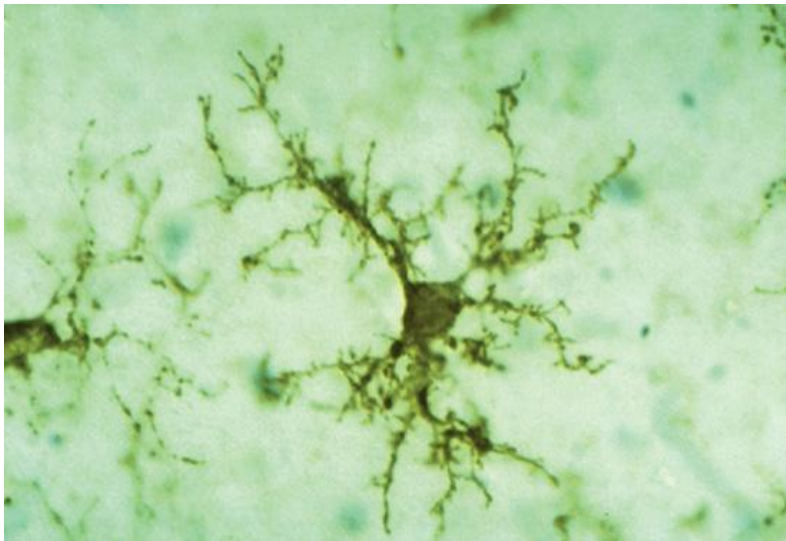
- Dopo aver analizzato i dati, abbiamo verificato l'esattezza dell'ipotesi

## La Microglia

*Le cellule della microglia sono la principale categoria di cellule del sistema immunitario presenti nel sistema nervoso centrale*

La loro funzione è quella di rilevare e fagocitare le minacce per il cervello, come batteri, cellule danneggiate, ecc.

In caso di eccessiva attività essa può causare patologie neurodegenerative, come SLA, Alzheimer, Parkinson, Sclerosi Multipla



Stato di riposo



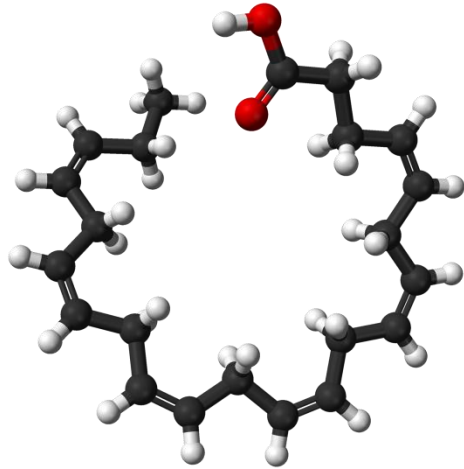
Stato di allerta



Stato reattivo

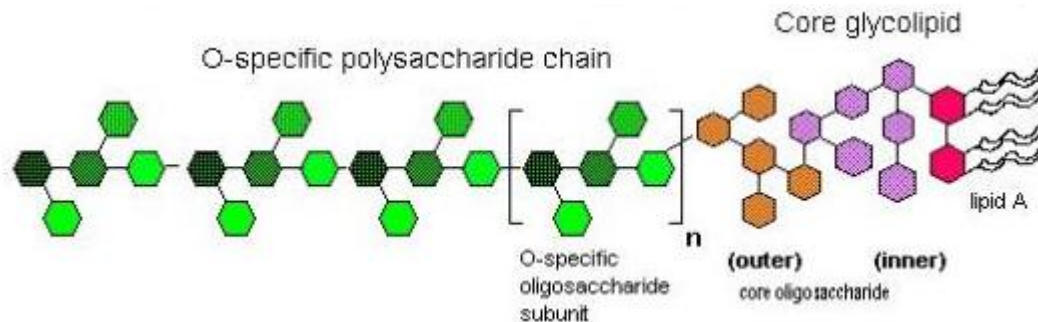
# BC25: La Microglia: scultore e guardiano del cervello

## DHA



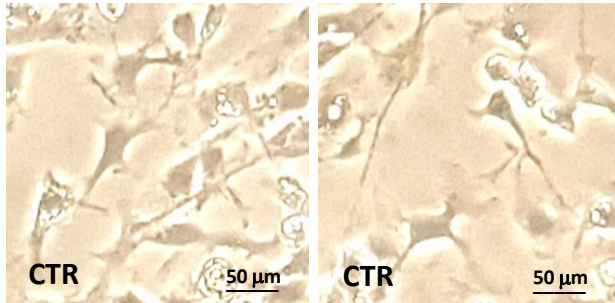
Il **DHA**, o **acido docosaesaenoico** è un acido grasso omega-3 che presenta proprietà immunomodulatorie

## LPS

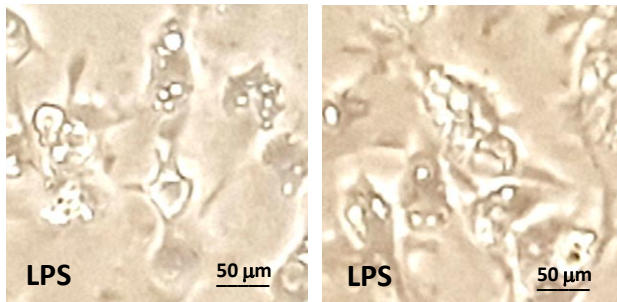


**LPS**, o **lipopolisaccaride**, è un componente della membrana esterna di una famiglia di batteri, con effetto immuno-attivante

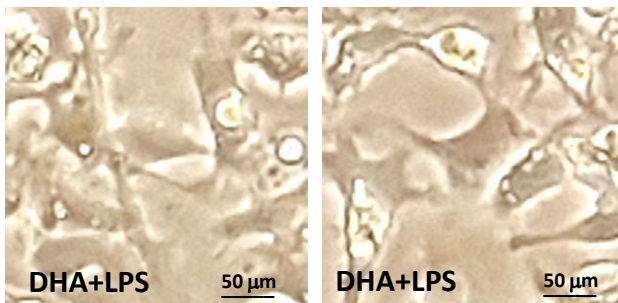
## Osservazione



**CTR:** cellule in terreno di coltura senza nessun trattamento, dunque in stato di quiescenza



**LPS:** cellule in terreno di coltura che reagiscono alla presenza dell'LPS. Si nota il cambiamento morfologico delle cellule



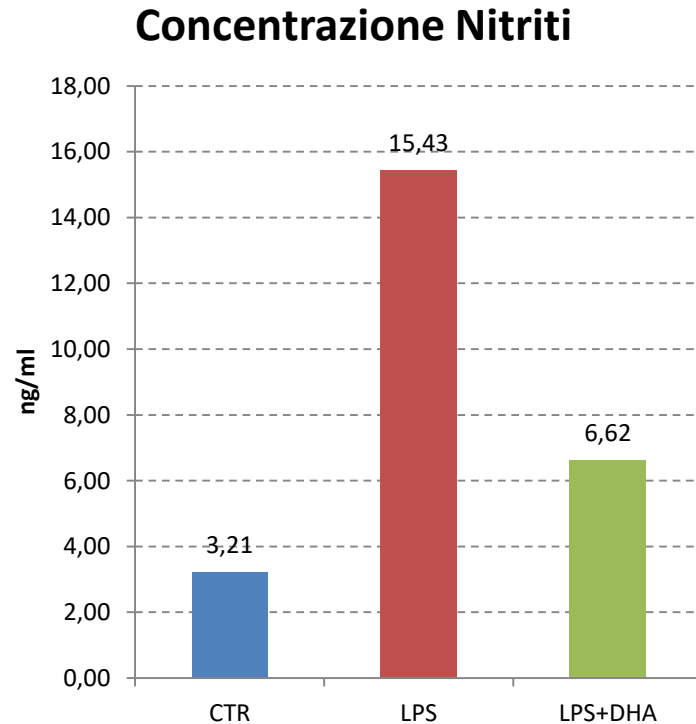
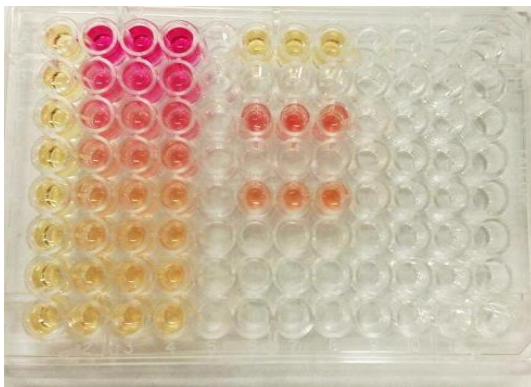
**LPS+DHA:** cellule in terreno di coltura trattate con LPS e DHA. La morfologia richiama quella del campione di controllo indicando una minore attività infiammatoria

# BC25: La Microglia: scultore e guardiano del cervello

## Analisi dei metaboliti (NO)

*Le cellule della microglia in stato attivo rilasciano ossido di azoto (NO).  
Attraverso la reazione di Griess abbiamo ricavato le concentrazioni di nitriti  
nelle colture cellulari*

La reazione di Griess, sfrutta la presenza di  $\text{HNO}_2$  libero (prodotto dall'ossidazione dell' $\text{NO}$ ) per formare un composto rilevabile attraverso la spettrofotometria



# BC25: La Microglia: scultore e guardiano del cervello

## Immunofluorescenza

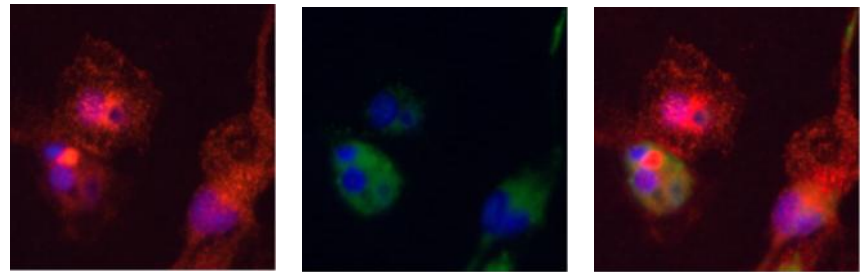
*Tecnica attraverso la quale si rileva lo stato attivato della cellula, sfruttando composti fluorescenti (fluorocromi) legati ad anticorpi (anti-IBA1, anti-ED1) che a loro volta riconoscono le proteine IBA1, ED1*

**HOECHST:** colorante vitale nucleare che si lega al DNA

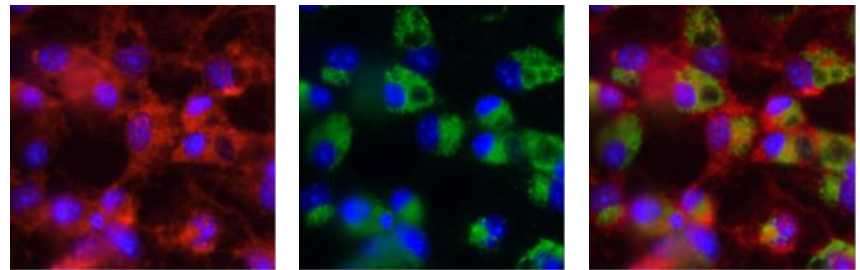
**IBA1:** proteina espressa dalla microglia

**ED1:** proteina specifica delle cellule della microglia attivate

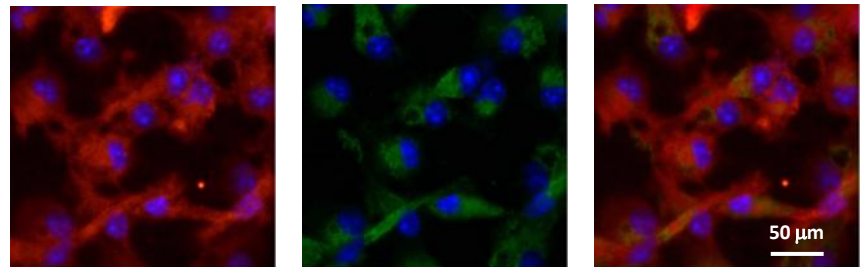
CTR



LPS



LPS+  
DHA

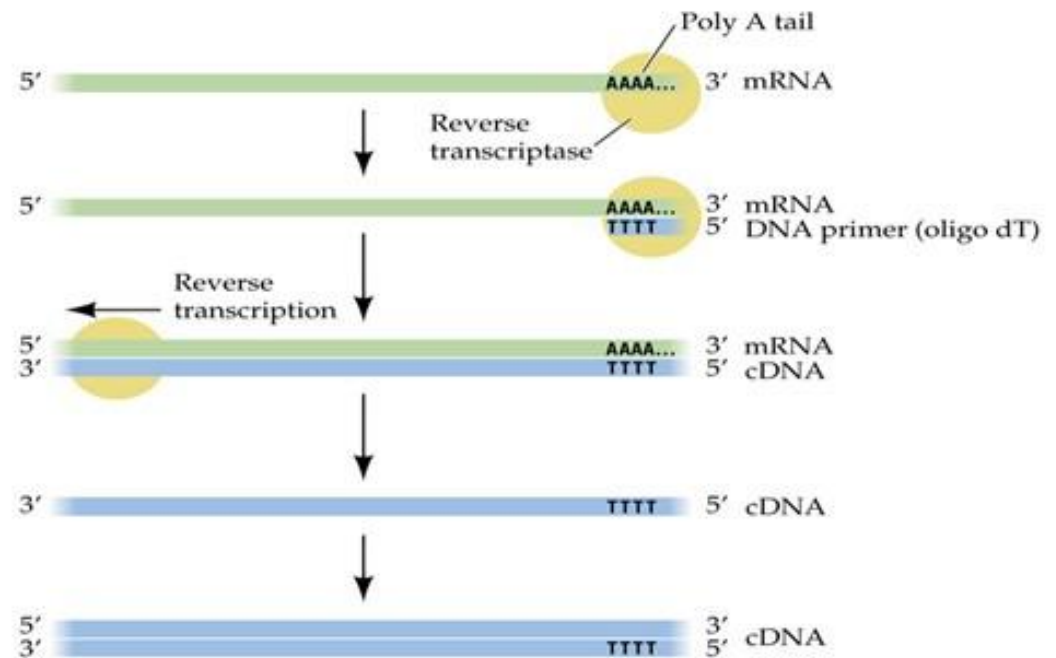
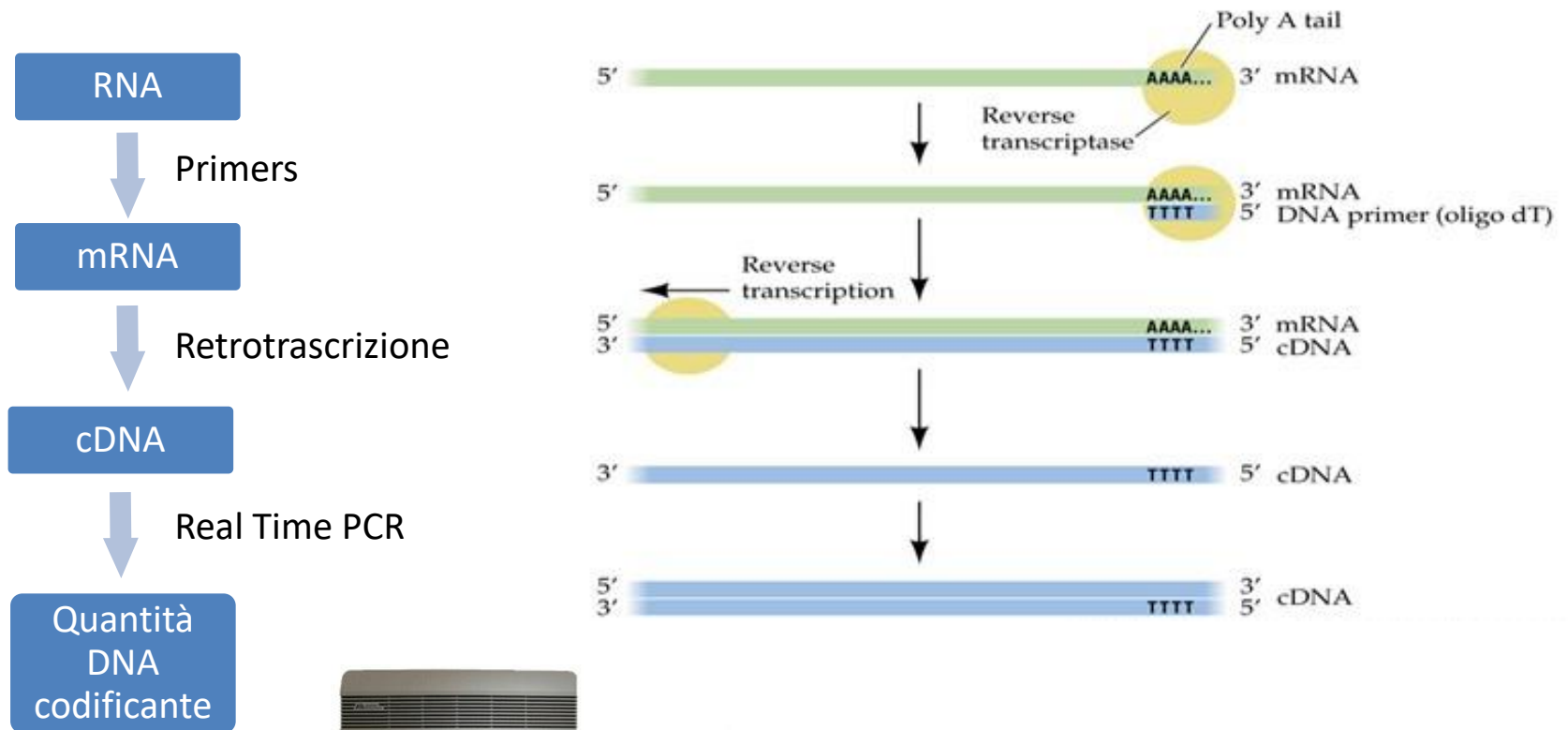




# BC25: La Microglia: scultore e guardiano del cervello

## PCR (*Reazione a catena della polimerasi*)

*Tecnica utilizzata per amplificare sequenze note di acidi nucleici, partendo dall'estrazione dell'RNA dalle cellule*

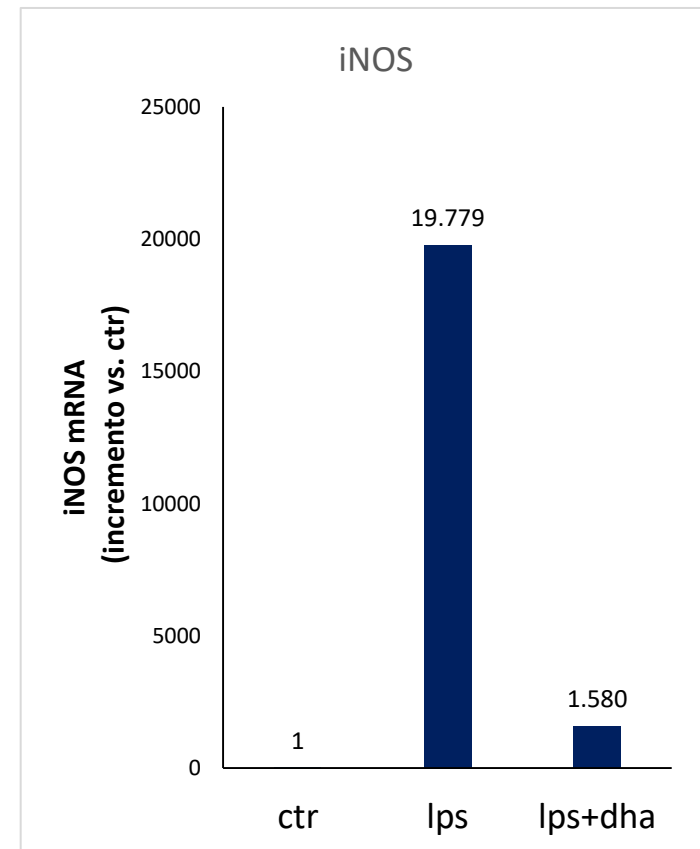
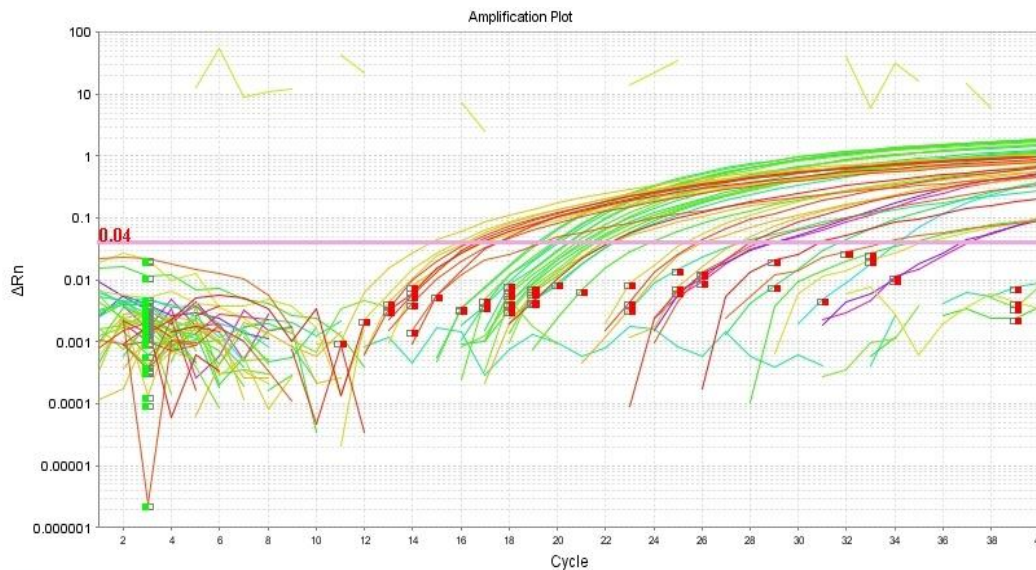


# BC25: La Microglia: scultore e guardiano del cervello

## Real Time PCR

*Tecnica utilizzata per quantificare la sintesi dell'enzima iNOS, a partire dal cDNA, per mezzo di primers specifici dell'iNOS*

**iNOS:** enzima sintetizzato dalla microglia attivata che produce NO





## Conclusioni

Ipotesi

- L'esposizione di cellule della microglia al DHA potrebbe ridurre la loro attività infiammatoria in risposta all'LPS

Conclusioni

- Il DHA riduce l'attività infiammatoria della microglia, riducendo la sintesi dell'enzima iNOS ed il rilascio dell'ossido di azoto (NO)



# BC25: La Microglia: scultore e guardiano del cervello

Il nostro percorso in ISS.....lo abbiamo vissuto così



Ringraziamo tutti per l'attenzione, in modo particolare le nostre tutor, che sono sempre state gentili, disponibili e generose nei nostri confronti

