

# **La colla intelligente**

IFOM per la Scuola  
Lo Studente Ricercatore 2010

**Massa Giacomo**

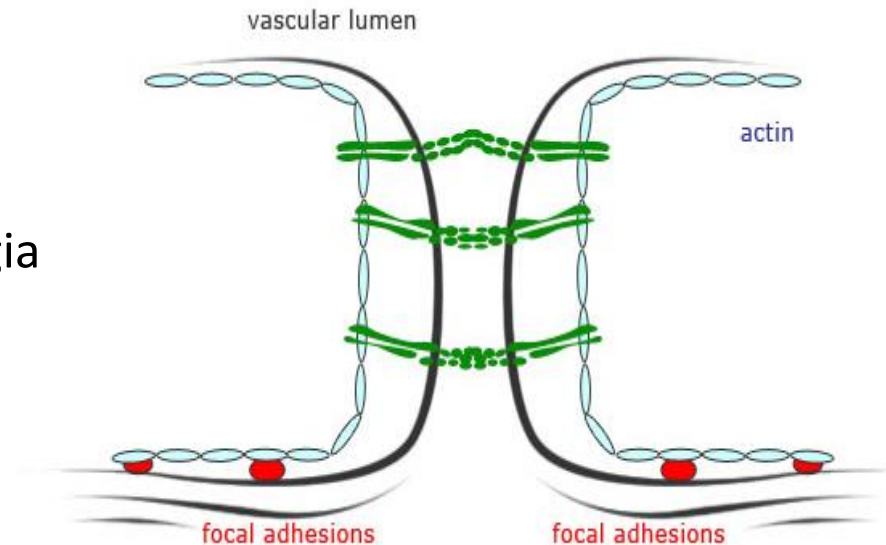
Istituto di Istruzione Superiore  
A. Maserati- Voghera

Gruppo di lavoro: Angiogenesi  
Nome del tutor: Mariagrazia Lampugnani

# La VE-caderina

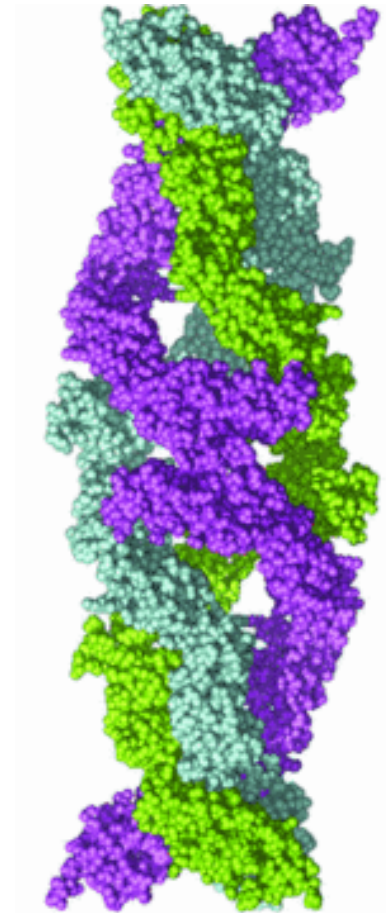
Nei tessuti endoteliali le cellule aderiscono le une alle altre grazie a specifiche proteine: una di queste è la **VE-caderina** che tiene letteralmente incollate tra loro le cellule che foderano la parete interna dei vasi.

VE-caderina nelle  
giunzioni tra cellule  
(dipartimento di dermatologia  
dell'università di Vienna)



# La VE-caderina non è solo colla

La VE-caderina è anche una proteina transmembrana, infatti, all'interno della cellula, media il funzionamento di altre proteine come la  $\beta$ -catenina e l'actina. Queste due proteine in particolare sono molto importanti per lo sviluppo cellulare e istologico. Cosa succederebbe, quindi, se in una cellula venisse a mancare la VE-caderina?



Struttura della  
VE-caderina

# Il metodo di lavoro

Le tecniche utilizzate per l'osservazione delle proteine dell'endotelio sono:

- **il western blot**
- **l'immunofluorescenza**

Come marcatori sono state utilizzate la  $\beta$ -catenina e l'actina perché evidenziano anche situazioni anomale nell'angiogenesi.



Cella elettroforetica nella tecnica del western blot (strumentazione cdl)

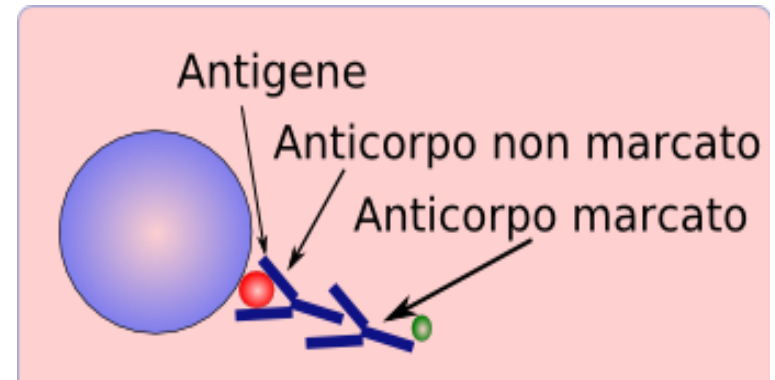


Microscopio a fluorescenza (strumenti cdl)

# Ricercando le proteine...

L'**immunofluorescenza** è una tecnica di reazione sierologica che serve per evidenziare la presenza di un antigene, nel nostro caso

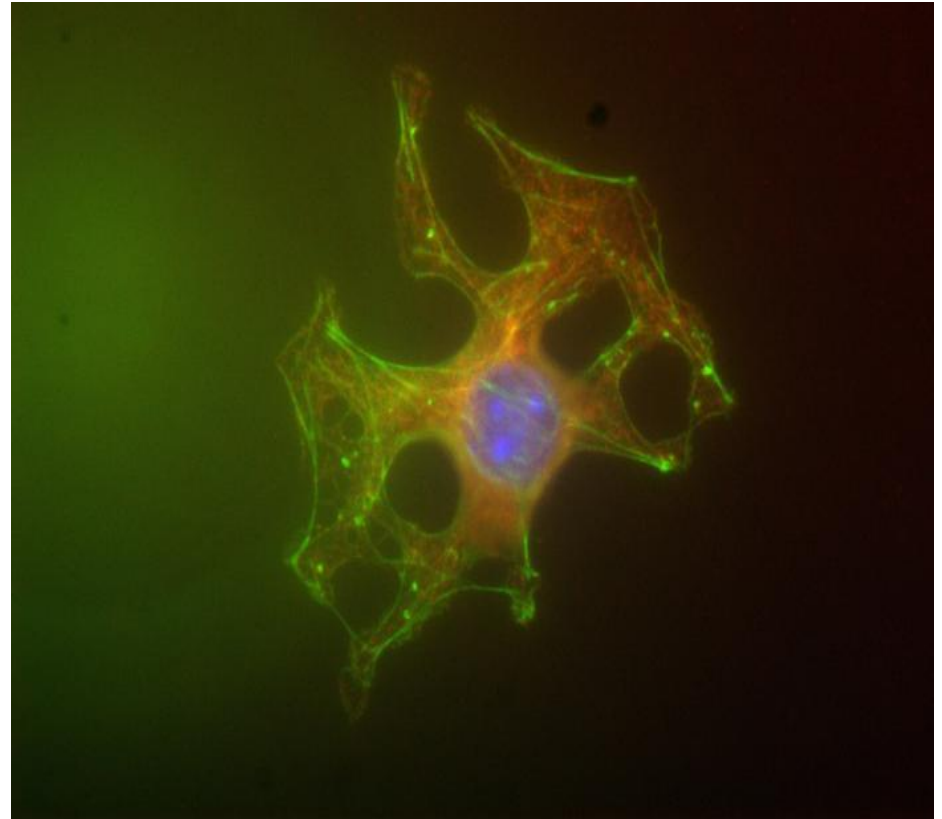
VE-caderina,  $\beta$ -catenina e actina. Se l'antigene è presente si aggancia, mediante l'anticorpo primario, all'anticorpo secondario reso fluorescente.



Reazione  
dell'immunofluorescenza(d  
al sito "lacellula.net")

## ...a reazione avvenuta

Quando la reazione è avvenuta, se si sottopone il campione ad una luce di determinata lunghezza d'onda si otterrà una luminescenza di lunghezza d'onda diversa nei punti dove è presente l'antigene.

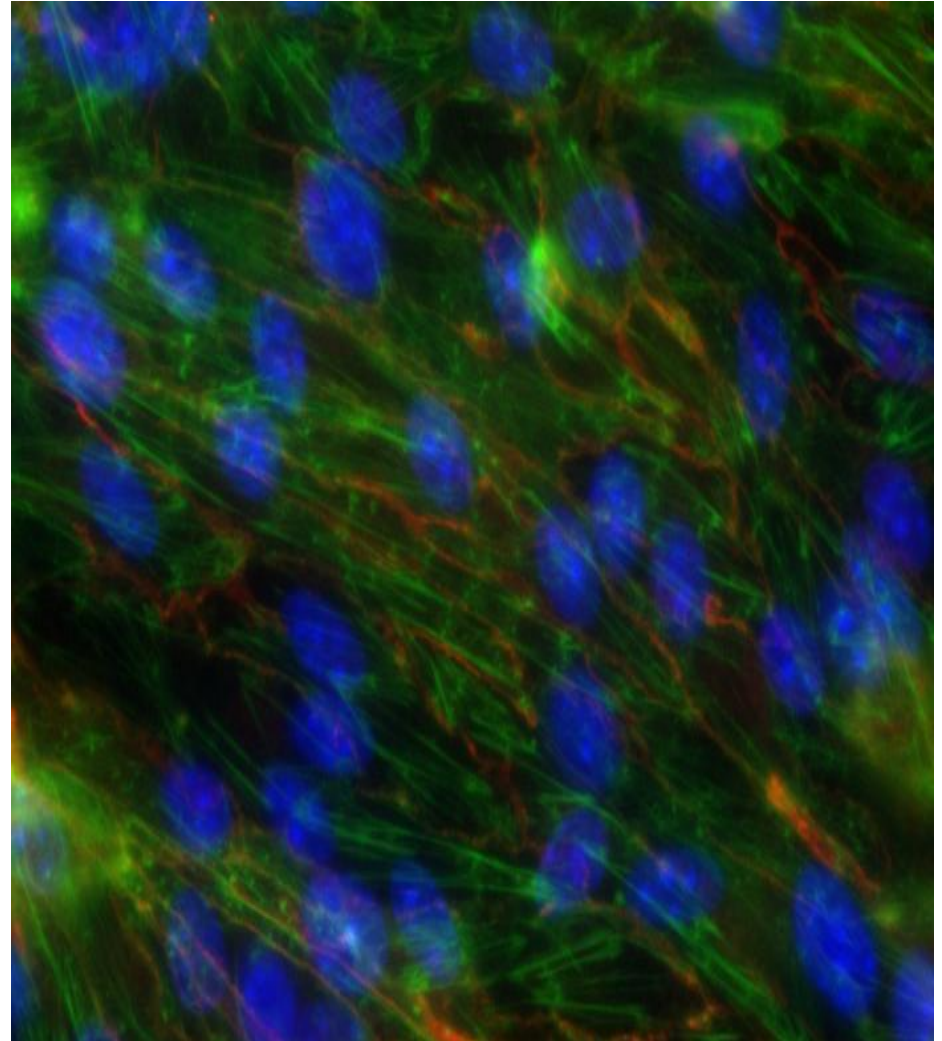


Cellula endoteliale con diverse reazioni immunofluorescenti

# VE-caderina si...

Cosa accade nelle cellule in presenza di VE-caderina?

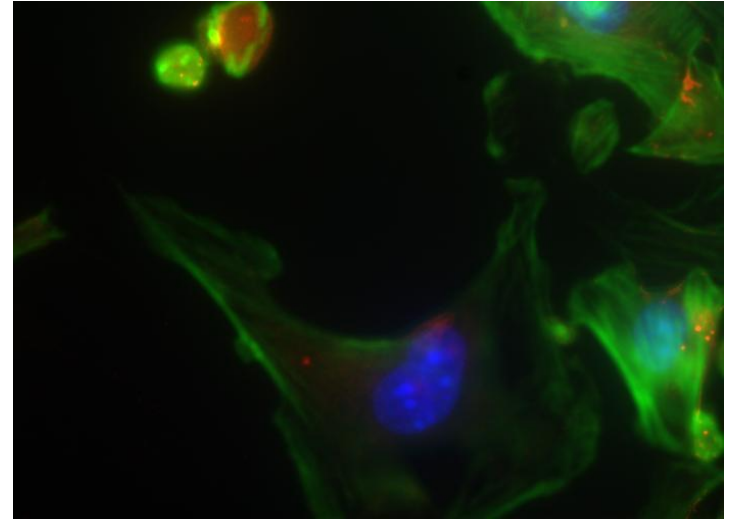
La foto di un monostrato di cellule epiteliali evidenzia che in presenza di VE-caderina (colorata in rosso) le cellule hanno avuto un'ordinata citoscheletrizzazione di actina (colorata in verde).



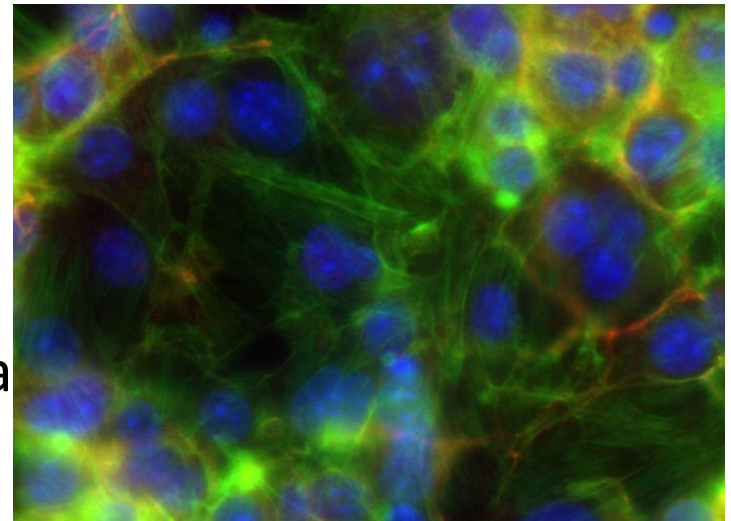
# VE-caderina no...

In assenza di VE-caderina le cellule hanno avuto una crescita rapida, poco regolamentata e caotica.

La  $\beta$ -catenina non legandosi più alla VE-caderina all'interno della cellula non si riesce a distinguere.



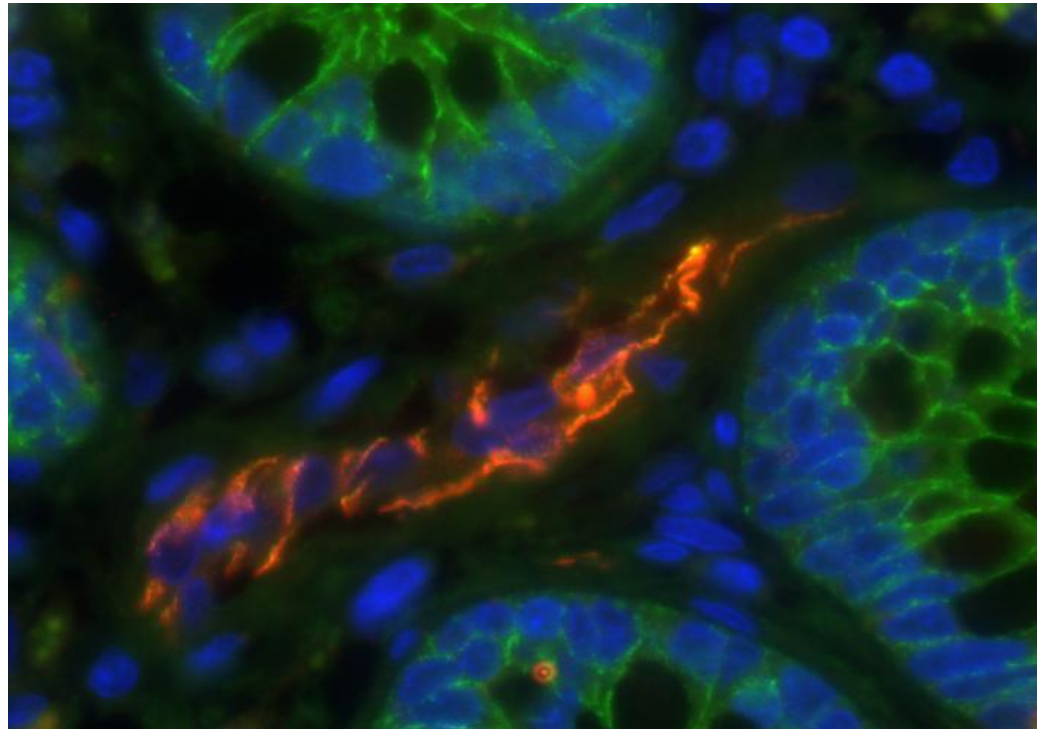
Nuclei colorati in blu, actina colorata in verde



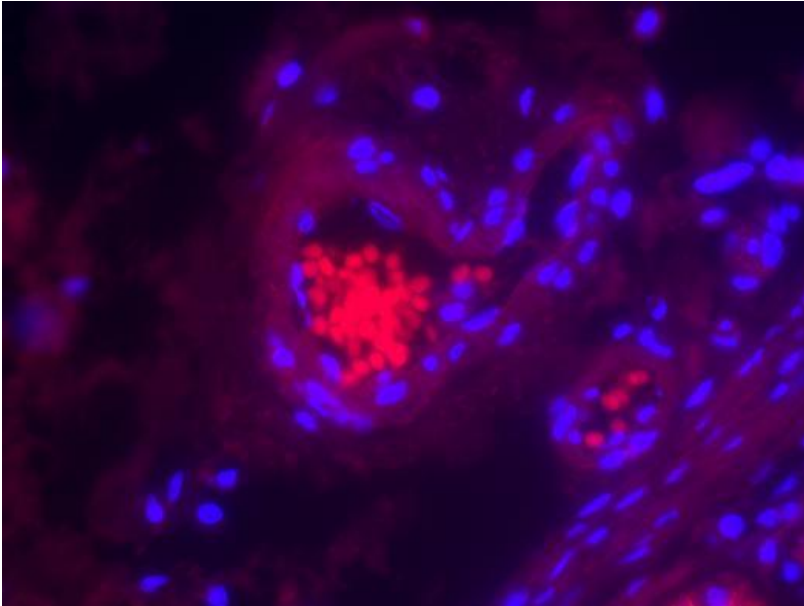
# Guardando i tessuti

I tessuti trattati con la tecnica dell'immunofluorescenza e visti al microscopio evidenziano cellule colorate solo nel monostrato interno dei vasi sanguigni. Questo dimostra che la VE-caderina è una proteina collante delle cellule endoteliali.

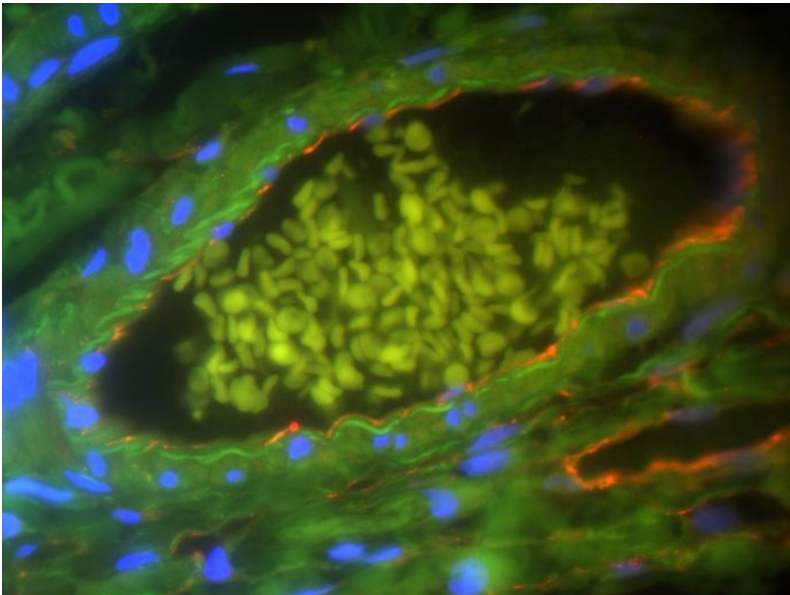
Colon umano con vaso sanguigno in sezione trasversale fra le cripte



# Stomaco e colon



Colorazione di stomaco umano con particolare di vaso sanguigno positivo per VE-caderina (macchie rosse nell'endotelio del vaso) ed eritrociti in movimento.

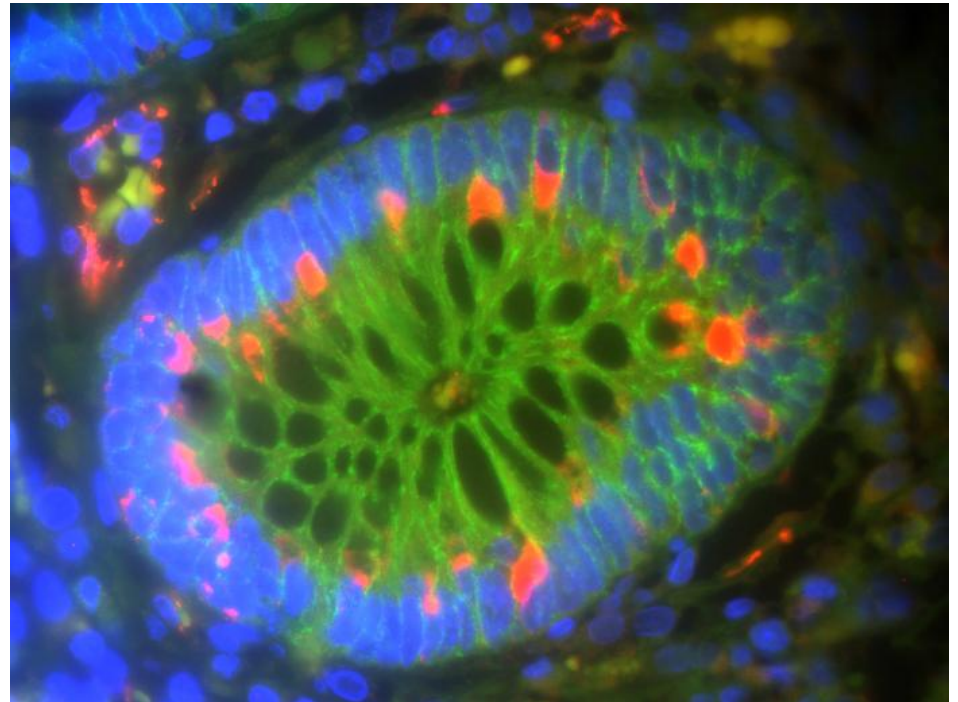


Sezione di vaso sanguigno del colon con  $\beta$ -catenina nel monostrato endoteliale (giallo arancio).

# Errore?

Osservando i tessuti in lungo e in largo ci sono apparse cellule epiteliali delle cripte del colon contenenti VE-caderina (rossa) che non ci aspettavamo di vedere.

Le cellule osservate, oltre ad essere positive per la VE-caderina, sono più grosse delle altre e con una regione nucleare meno sviluppata.

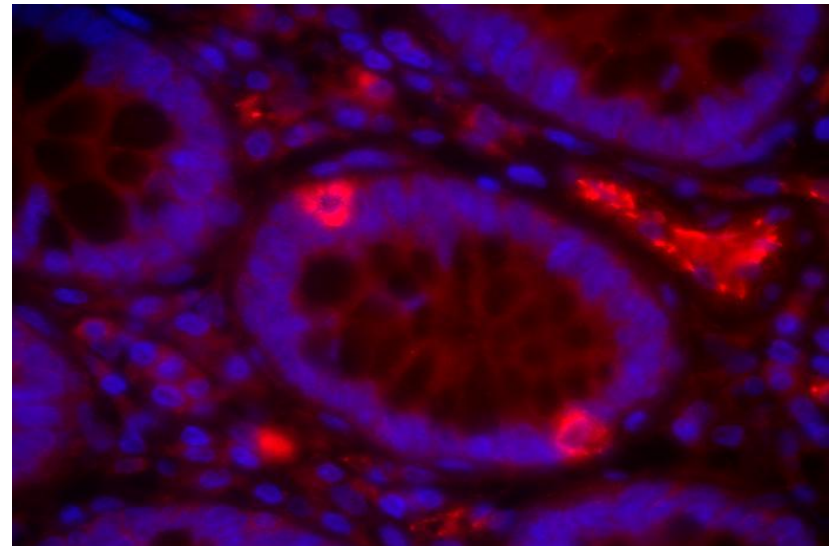


# E se non lo fosse...

Le ipotesi possibili sono tre:

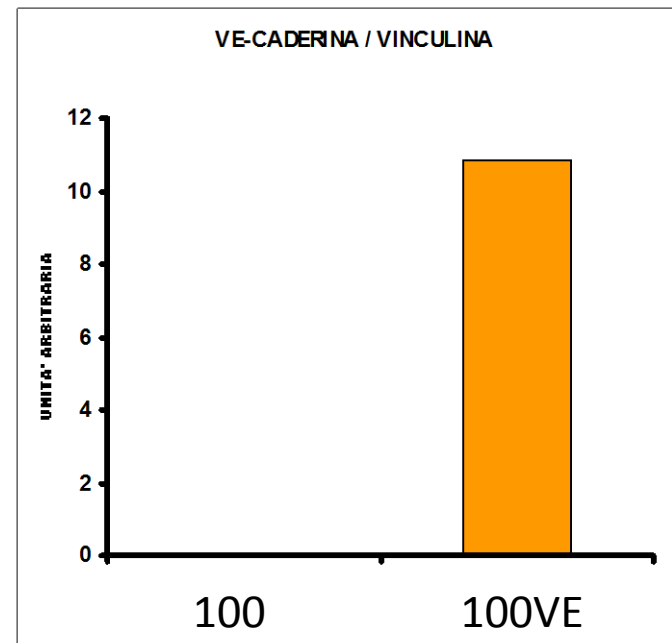
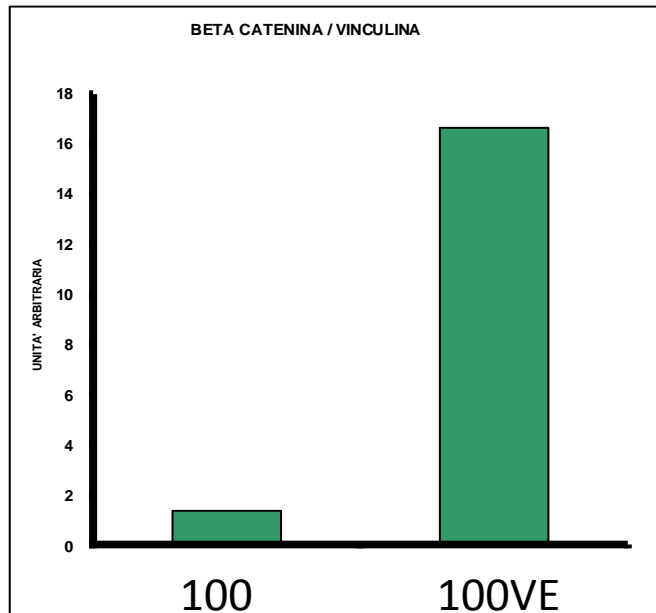
- risposta immunologica sbagliata della tecnica dell'immunofluorescenza
- individuo con cellule atipiche nel colon
- nuova osservazione riguardante i rapporti di alcune cellule delle cripte del colon e la VE-caderina

Sezione di colon con  
vaso sanguigno e cripta  
con cellule atipiche



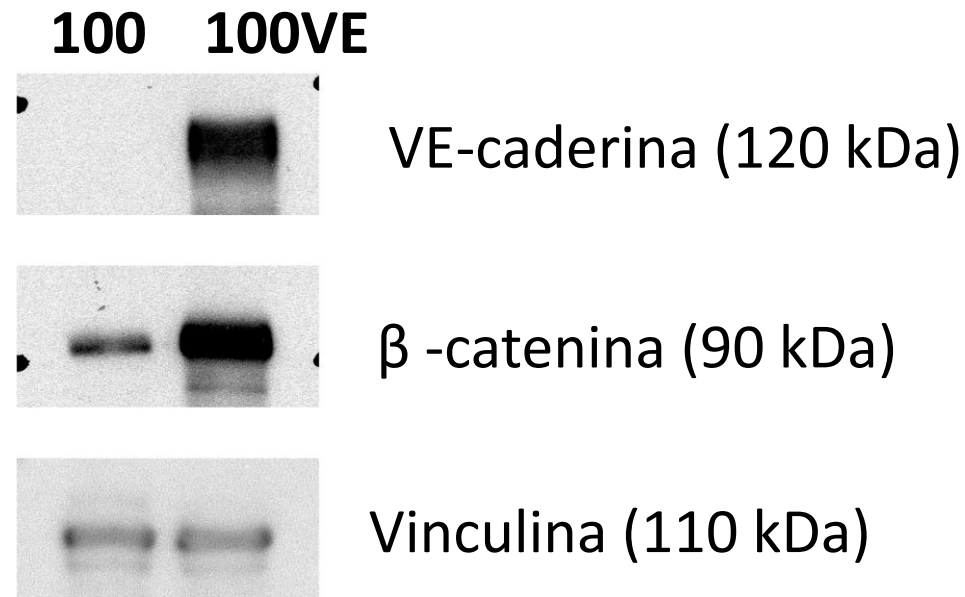
# La prova del nove

Con la tecnica del **western blot** abbiamo quantificato la VE-caderina e la  $\beta$ -catenina usando come controllo la vinculina in quanto non cambia la sua concentrazione nella cellula in mancanza della VE-caderina.



# Proiezione su lastra

I risultati ottenuti dimostrano che in assenza della VE-caderina anche la  $\beta$ -catenina viene sintetizzata in minore quantità.



# Angiogenesi e ricerca

Gli organi e i tessuti ricevono l'ossigeno e le sostanze nutrienti attraverso le arterie del sistema vascolare, così anche il tumore richiede la formazione di nuovi vasi sanguigni. Lo studio dell'angiogenesi ci aiuta a capire come si sviluppa e come può crescere una neoplasia.

# Prospettive future

Lo studio dell'angiogenesi potrebbe:

- bloccare o far regredire il tumore inibendo i meccanismi di formazione del sistema vascolare
- individuare nuovi “ bersagli ” molecolari per gli interventi farmacologici
- monitorare il grado di sviluppo vascolare del tumore in vivo
- elaborare nuovi test diagnostici.