

## **Valutazione dell'apoptosi in *Paracentrotus lividus* ed *Echinometra mathaei* mediante microscopia non lineare.**

Sartori<sup>1,2</sup> D., Pellegrini<sup>1</sup> D., Buttino<sup>1,3</sup> I., Hwang<sup>4</sup> J - S., Liu<sup>5</sup> T – M., Sansone<sup>2</sup> G.

1 Istituto Superiore per la Protezione la Ricerca Ambientale (ISPRA) -STS Livorno, V.le N. Sauro 4, 57128 Livorno, Italia. email: [davide.sartori@isprambiente.it](mailto:davide.sartori@isprambiente.it)

2 Università degli Studi di Napoli Federico II

3 Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli

4 Institute of Marine Biology, National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan

5 Institute of Biomedical Engineering, National Taiwan University, Taipei 10617, Taiwan

E' ormai noto da tempo come l'apoptosi sia un processo regolato, ordinato e fisiologico determinato da precisi segnali genetici e biochimici che portano alla morte cellulare. Tale processo può essere innescato da una serie di stimoli molto diversi tra i quali l'esposizione a sostanze tossiche. L'individuazione di segnali apoptotici richiede, ad oggi, l'impiego di tecniche di colorazione del DNA quali il TUNEL; tuttavia negli ultimi anni le nuove tecniche di microscopia non lineare (multifotonica) si sono dimostrate una valida alternativa per l'individuazione di segnali apoptotici (Chen et al., 2006; Hsieh et al., 2008; Buttino et al., *in press*). In particolare la microscopia di generazione di seconda/terza armonica (SHG/THG microscopy) si configura, ad oggi, come la tecnica di microscopia maggiormente promettente in termini di sensibilità e non invasività per applicazioni di imaging. In questo lavoro le tecniche di microscopia di SHG/THG sono state applicate per valutare gli eventuali effetti apoptotici, in gameti di *Paracentrotus lividus*, generati dalle condizioni di allevamento in un sistema a circuito chiuso. Allo stesso tempo è stata valutata, con le medesime tecniche di microscopia, l'induzione di apoptosi generata dal cloruro di mercurio (HgCl<sub>2</sub>) durante le prime 48- 72h di sviluppo di *P.lividus* ed *Echinometra mathaei*.

I risultati sin qui ottenuti confermano come questa innovativa tecnica di microscopia possa essere considerata un nuovo strumento per la valutazione dei processi di morte cellulare ed essere oltremodo utile per le future applicazioni ecotossicologiche.