# Università degli Studi di Roma "La Sapienza"

Domanda di finanziamento ricerca di Ateneo Anno 2006 - prot. C26A06H3E4

#### 1. Dati Generali

#### 1.1 Durata della ricerca

36 mesi

#### 1.2 Responsabile della ricerca

RENDA (cognome)	Tindaro Giuseppe (nome)
<b>Prof. Ordinario</b> (qualifica)	<b>07/09/1940</b> (data di nascita)
MEDICINA e CHIRURGIA (facoltÃ)	(dip/istit)

(indirizzo)

06/49918067 06/49918081 (telefono) (fax)

> tindaro.renda@uniroma1.it (e-mail)

CENTRO: Centro Ricerca Daniel Bovet (Neurobiologia)

INDIRIZZO: ? - 00100 ROMA RM

### 1.4 Titolo della ricerca

RIVISITAZIONE DELLE MAPPE NEUROCHIMICHE CEREBRALI MEDIANTE L'USO DI NUOVI ANTISIERI PIU' SELETTIVI

## 2. Informazione sull'attività di ricerca

#### 2.1 Parole chiave

- 1. NEUROTRASMETTITORI
- 2. NEUROPEPTIDI
- 3. IMMUNOISTOCHIMICA
- 4. ONTOGENESI
- 5. FILOGENESI

#### 2.2 Ambito della ricerca $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ 2.3 Tipologia

Interuniversità

Nuova ricerca

Interfacoltà

#### 2.4 Componenti il gruppo di ricerca (escluso il responsabile) Personale docente dell'Ateneo

nº	Cognome	Nome	Qualifica	Facoltà	Ist./Dip.
1.	D'ESTE RENDA	Loredana	PA	MEDICINA e CHIRURGIA	DIP. ANATOMIA UMANA
2.	MIELE	Rossella	RU	SCIENZE MATEMATICHE FISICHE e NATURALI	DIP. SCIENZE BIOCHIMICHE
3.	NOVIELLO	Vittoria	RU	MEDICINA e CHIRURGIA	DIP. FISIOLOGIA UMANA E FARMACOLOGIA

#### Altro personale dell'Università di Roma "La Sapienza"

In questo spazio non inserire personale docente e tecnici laureati dell'Ateneo

nº	Cognome	Nome	Qualifica	Facoltà	Ist./Dip.	Note
1.	CASINI	ARIANNA	Contrattista di ric.			
2.	IANNACONE	SIMONE SEBASTIANO	Tecnico			
3.	VIVACQUA	GIORGIO	Altro			TESISTA

#### Personale di altre Università/Istituzioni

nº	Cognome	Nome	Qualifica	Universita'/Istituzione	Ist./Dip.	Note
1.	CETIN	YALCIN	Prof. ordinario	PHILLIPS UNIVMARBURG, GERMANY	iNST.ANATOMY &CELLS BIOLOGY	
2.	KIMURA	HIROSHI	- J	SHIGA UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCE-OTSU, GIAPPONE	MOLECULAR NEUROSCIENCE RESEARCH CENTER	
3.	KIMURA	SHIN	Ricercatore	SHIGA UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCE-OTSU, GIAPPONE	MOLECULAR NEUROSCIENCE RESEARCH CENTER	
4.	TOOYAMA	IKUO	Prof. ordinario	SHIGA UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCE-OTSU, GIAPPONE	MOLECULAR NEUROSCIENCE RESEARCH CENTER	
5.	WENGER	TIBOR	Prof. ordinario	SEMMELWEISS UNIV.SCHOOL MEDICINE, BUDAPEST,HUNGARY	DEPT.HUMAN MORPHOLOGY AND DEV.BIOL	
6.	YU	SHUN	Prof. ordinario	BEJING INSTITUTE OF GERIATRICS-XUANWU HOSPITAL-PECHINO, CINA	DEPARTMENT OF NEUROBIOLOGY	

#### 2.5 Inquadramento della ricerca proposta (in ambito nazionale ed internazionale)

Il progetto si inquadra nella grande tematica dello studio morfofunzionale dell'organizzazione, distribuzione topografica, qualità e quantità dei neuroni costitutivi dei principali distretti funzionali del sistema nervoso centrale. I dati forniti dalla letteratura provengono da studi di localizzazione immunoistochimica ed estrazioni tissutali spesso saggiati con antisieri del commercio che non sempre si sono rivelati strettamente specifici e altamente sensibili per il fattore ricercato. Ne consegue che le mappe disponibili non sono sempre corrispondenti alla realtà il che costituisce spesso il presupposto per controversie nella corretta interpretazione dei risultati della sperimentazione. Scopo del progetto è di procedere alla caratterizzazione e classificazione dei neuroni sulla base del/dei neurotrasmettitori utilizzati, della loro coespressione di uno o più neuropeptidi e di altre componenti proteiche mediante l'uso di nuovi e più specifici antisieri.

l'fattori coespressi nello stesso neurone vengono utilizzati nella compinenti protectie mediante i uso ai nauvi e più specifici antisteri.

I fattori coespressi nello stesso neurone vengono utilizzati nella comunicazione intercellulare e intersistemica secondo modalità solo in parte note. Il loro numero, le modalità di sintesi, immagazzinamento e secrezione, la gamma dei loro recettori e della cascata innescata dalla attivazione di essi, sono tutte problematiche di cruciale attualità. Importante è anche studiare il modo in cui essi variano quantitativamente e qualitativamente nel corso dello sviluppo embrionale, in particolari situazioni fisiologiche o in condizioni sperimentali. Il progetto si prefigge di rivisitare le mappe distributive note dalla letteratura alla luce di uno studio articolato pluridisciplinare reso possibile dalla disponibilità di nuovi antisieri dotati di più spiccata specificità e sensibilità.

Il proponente fa parte dell'European Neuropeptide Club (ENC) nell'ambito del quale è uno dei referenti italiani.

n proponente ja parte den European Neuropephae Cuib (ENC) neu ambito dei quate è uno dei rejerenti tiditai Il progetto di ricerca sarà svolto anche con la valida collaborazione di illustri colleghi di università straniere.

#### 2.6 Sintesi del programma di ricerca e descrizione dei compiti dei singoli partecipanti

SCOPO: La ricerca intende individuare le sedi di produzione, immagazzinamento e rilascio di neurotrasmettitori (es. acetilcolina, dopamina, serotonina), di diversi neuropeptidi, fra cui alcuni di nuova definizione (es. deltorfine, Neuropeptide FF) e di proteine componenti delle vescicole neurosecretorie (es. cromogranine, calbindine, calretinine, sinucleine) nei principali distretti del sistema nervoso centrale di diverse specie della scala animale con particolare riguardo ai roditori di laboratorio. Ciò allo scopo di rivisitare le mappe note dalla letteratura avendo a disposizione nuovi antisieri dotati di maggiore specificità e sensibilità rispetto a quelli presenti nel commercio. Dopo aver provveduto alla localizzazione nel soggetto in situazioni normali o comunque fisiologiche, di volta in volta saranno presi in considerazione possibili situazioni sperimentali e trattamenti farmacologici che potrebbero determinarne variazioni qualitative e/o quantitative. Dato che trattasi di molecole ad alto impatto fisiologico, la ricerca in questo campo presenta tutti i caratteri della necessità ed i risultati attesi saranno quanto mai apprezzati e producenti.

Anche lo studio della loro storia in termini di organogenesi e filogenesi sarà oggetto di approfondimento per apportare contributi utili alla migliore comprensione del loro complesso e talvolta diversificato ruolo fisiologico nelle varie fasi della vita.

Una volta individutati gli elementi cellulari immunopositivi per i fattori ricercati si cercherà , mediante l'uso delle doppie immunolocalizzazioni, di caratterizzarli ulteriormente per arrivare alla loro classificazione all'interno dei principali circuiti intranevrassiali rivisitando le mappe ad oggi note ed ottenute in passato con l'uso di antisieri meno specifici e sensibili di quelli oggi a noi disponibili.

Il presente progetto di ricerca prevede l'aggregazione di diverse competenze, che vengono così assicurate:

1) Università di Roma "La Sapienza".

a) Sezione di Immunoistochimica del Dipartimento di Anatomia Umana (Renda, D'Este, Iannacone, Casini, Vivacqua): per la morfologia e la localizzazione immunoistochimica:

amministorimitat, b)Dipartimento di Fisiologia e Farmacologia(V.Noviello), per i trattamenti farmacologici sperimentali; c) Dipartimento di Scienze Biochimiche(R. Miele), per l'analisi strutturale, l'estrazione e la sintesi delle nuove molecole coinvolte e indagini di biologia molecolare per l'individuazione del cDNA;

2)Istituto di Neurobiologia Molecolare, Univ. Shiga (Otsu, Giappone) (Kimura H. ed S., Tooyama) e

- 3)Dipartimento di Neurobiologia dell'Institute of Geriatry di Pechino (Cina) (Yu) per la produzione di nuovi anticorpi mono- e policlonali; 4) Dipartimento di Anatomia della Semmelweiss University di Budapest (Wenger) per particolari indagini di morfologia ed immunocitochimica;
- 5) Dipartimento di Anatomia e Biologia cellulare dell'Università Phillips di Marburg (Germania)(Cetin) per richerche di ibridizzazione in situ inerenti alcuni nuovi peptidi:

6 Áltri Laboratori italiani e stranieri per collaborazioni saltuarie legate a contingenti necessità, come la fornitura di particolari materiali (invertebrati, pesci, ecc.) o di competenze specifiche particolari (microscopia elettronica, saggi biologici, ecc.).

#### PIANO DI ESECUZIONE: prevede alcune tappe in successione:

- A) Produzione di anticorpi specifici (trattandosi molto spesso di nuove molecole o di particolari nuovi epitopi di molecole note è piuttosto raro il loro reperimento in commercio) e loro caratterizzazione;
- C) Prelievo e trattamento adeguato di frammenti di organi nervosi di vari animali o umani, normali, sperimentali o patologici, al fine di allestirne sezioni istologiche;

D) Trattamento con metodo immunoistochimico (vari protocolli in dipendenza del tipo di localizzazione);

E) Elaborazione dei dati

F) Studio della presenza dei vari fattori in estratti di organo;

G) Studio della loro espressione (isolamento del cDNA, ibridizzazione in situ, ecc.); H) Studio biochimico e morfologico della presenza e distribuzione dei recettori per i fattori oggetto di studio (citomembrane, autoradiografia, ecc.).

Il fabbisogno annuo necessario al funzionamento (Voce B) del progetto si aggira su circa 20000,00 Euro, cui si devono aggiungere i costi per la manutenzione, le missioni e le spese di pubblicazione.

La Sezione di Immunoistochimica, sede di lavoro del coordinatore, ha raggiunto una organizzazione quasi ottimale grazie anche ai contributi degli anni precedenti. La richiesta di finanziamento per materiale inventariabile si riferisce all'acquisto di nuove attrezzature in grado di ulteriormente potenziare le performances del moderno fotomicroscopio (Olimpus AX70 Provis) di cui si è dotato il laboratorio del coordinatore grazie ai pregressi finanziamenti ed il dispositivo di analisi di immagine computerizzata in via di completamento.

La sempre maggiore penuria di possibilità di inserimento nel mondo universitario rende infine necessaria la richiesta di poter disporre di almeno una borsa di collaborazione per cercare di offrire un minimo compenso all'impegno e alla dedizione dei giovani che frequentano con entusiasmo il laboratorio, cui purtroppo le istituzioni non sono in grado di offrire, allo stato attuale, altra prospettiva.

#### 3. Elenco delle migliori pubblicazioni negli ultimi 5 anni

#### A) Pubblicazioni su riviste scientifiche

- 1. D'ESTE L; CASINI A; PONTIERI FE; RENDA T. (2006). Changes in neuropeptide FF and NPY immunohistochemical patterns in rat brain under heroin treatment.BRAIN RESEARCH vol. 1083(1) pp. 151-158 ISSN: 0006-8993
- 2. PARONETTO MP MP, MIELE R., MAUGLIANI A, BORRO M, BONACCORSI DI PATTI MC. (2001). Cloning of Pichia pastoris Fet3: insights into the high affinity iron uptake system. ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS. vol. 392, pp. 162-67 ISSN: 0003-9861.
- 3. CASINI A.; PINNA A.; TOOYAMA I.; KIMURA H.; DI CHIARA G.; RENDA T. (2004). Fate of (D-Ala2)-Deltorphin-I-like Immunoreactive Neurons in 6-Hydroxydopamine Lesioned Rat Brain.EUROPEAN JOURNAL OF HISTOCHEMISTRY vol. 48 pp. 135-140 ISSN: 1121-760X 1000991
- 4. PARISI SALVI E.; VACCARO R.; BARGLAJ S.M.; RENDA T. (2004). Nervous system development in normal and atresic chick embryo intestine: an immunohistochemical studyANATOMY AND EMBRYOLOGY vol. 209 pp. 143-151 ISSN: 0340-2061
- 5. VACCARO R.; CETIN Y.; RENDA T. (2004). Ontogeny of guanylin-immunoreactive cells in rat salivary glandsANATOMY AND EMBRYOLOGY vol. 208 pp. 65-73 ISSN: 0340-2061 I000254 (AY)
- 6. MASTRANGELI R.; DONINI S.; KELTON C.A.; HE C.; BRESSAN A.; MILAZZO F.; CIOLLI V.; BORRELLI F.; MARTELLI F.; BIFFONI M., SERLUPICRESCENZI O.; SERANI S.; MICANGELI E.; EL TAYAR Ń.; VACCARO R.; RENDA T.; LISCIANI R.; ROSSI M.; PAPOIAN R. (2003). ARS Component B: structural characterization, tissue exxpression and regulation of the gene and protein (SLURP-1) associated with Mal de MeledaÉUROPEAN JOURNAL OF DERMATOLOGY vol. 13/6 pp. 560-570 ISSN: 1167-1122 (I.F. = 0,807)1001873 (
- 7. BADIANI A.; VACCARO R.; BURDINO R.; CASINI A.; VALERI P.; RENDA T.; NENCINI P. (2002). Dissociation in the effects of the D2/D3 dopaminergic agonist quinpirole on drinking and on vasopressin levels in the ratNEUROSCIENCE LETTERS vol. 325 pp. 79-82 ISSN: 0304-3940 (I.F. =2.100)1004159 (RU)
- 8. D'ESTE L.; CASINI A.; PUGLISIALLEGRA S.; CABIB S.; TOOYAMA I.; KIMURA H.; RENDA T. (2002). Immunoreactive neurons in the brain of two mouse strains after incubation with an antiserum recognizing Asp-Val-Val-Gly.NH2 (DVVG), the C-terminal fragment of (D-ala2)-deltophin I.JOURNAL OF CHEMICAL NEUROANATOMY vol. 24/3 pp. 189-198 ISSN: 0891-0618 (I.F.= 2,696)I000570 (RU)
- 9. D'ESTE L.; SCONTRINI A.; CASINI A.; PONTIERI F.E.; RENDA T. (2002). Heroin sensitization as mapped by c-Fos immunoreactivity in the rat striatum. BRAIN RESEARCH vol. 933/2 pp. 144-149 ISSN: 0006-8993 (I.F.= 2,409)I004083 (RU)
- 10. D' ESTE L.; WIMALAWANSA S.J.; RENDA T. (2001). Distribution of amylin-imunoreactive neurons in the monkey hypothalamus and their relationships with the histaminergic system. ARCHIVES OF HISTOLOGY AND CYTOLOGY vol. 64 pp. 295-303 ISSN: 0914-9465 (I.F. = 0,878)1000968 (DR)
- 11. KULAKSIZ H.; RAUSCH U.; VACCARO R.; RENDA T.; CETIN Y. (2001). Guanylin and uroguanylin in the parotid and submandibular glands: potential intrinsic regulators of electrolyte secretion in salivary glands.HISTOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY vol. 115 pp. 527-533. IF: 2.157 1000995 (RA)
- 12. MANGONI M.L.; MIELE R.; RENDA T.; BARRA D.; SIMMACO M. (2001). The synthesis of antimicrobial peptides in the skin of Rana esculenta is stimulated by microorganismsFASEB JOURNAL vol. 10.1096/fj. pp. 00-0695fje. IF: 9.249 ISSN: 0892-6638 I000530 (CU)
- 13. PARISI SALVI E.; VACCARO R.; RENDA T. (2001). Ontogeny of galanin-immunoreactive elements in chicken embryo automonic nervous systemANATOMICAL RECORD vol. 262 pp. 266-278 ISSN: 0003-276X (I.F. = 1,587)1000253 (AY)
- 14. SUNDAY M.E.; HALEY K.J.; EMANUEL R.L.; TORDAY J.S.; ASOKANANTHAN N.; SIKORSKI K.A.; TOOYAMA I.; KIMURA H.; RENDA T.; ERSPAMER V. (2001). Fetal alveolar epithelial cells contain (D-Ala2)-Deltorphin I-like immunoreactivity. Delta and mu-opiate receptors mediate opposite effects in developing lung ÁMERICAN JOURNAL OF RESPIRATORY CELL AND MOLECULAR BIOLOGY vol. 25 pp. 447-456. IF: 4.353 ISSN: 1044-1549 1000424 (DR)
- 15. D'ESTE L.; CASINI A.; CETIN Y.; WENGER T.; RENDA T. (2005). Guanylin-immunoreactive cells in the female and male rat adenohypophysis and their changes under various physiological and experimental conditionsHISTOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY vol. 123 pp. 303-313
- 16. MIELE R., BORRO M, MANGONI ML, SIMMACO M, BARRA D. (2003). A peptidylprolyl cis/trans isomerase from Xenopus laevis skin: cloning, biochemical characterization and putative role in the secretion. PEPTIDES. vol. 24, pp. 1713-1721 ISSN: 0196-9781.
- 17. MIELE R., BJORKLUND G G, BARRA D, SIMMACO M, ENGSTROM Y. (2001). Involvement of Rel factors in the expression of antimicrobial peptide genes in amphibia. EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY. vol. 268, pp. 443-9 ISSN: 0014-2956.
- 18. VACCARO R; PARISI SALVI E; RENDA T. (2006). Early development of chick embryo respiratory nervous system: an immunohistochemical study. ANATOMY

#### B) Pubblicazioni di volumi o saggi in volume

- 1. SIMMACO M, MANGONI ML, MIELE R., BORRO M, BARRA D. (2003). Defence peptides in the amphibian immune system. In ASCENZI P, POLTICELLI F, VISCA P. Bacterial, plant and animal toxins. (pp. 155-167). KERALA: Research Signpost (INDIA).
- 2. D'ESTE L.; CASINI A.; PONTIERI F.E.; RENDA T. (2005). Heroin sensitization induces circumventricular organ activation in the rat brainIn HEYN R.; BARBERINI F.; CAGGIATI A.; FAMILIARI G.; MACCHIARELLI G.; NOTTOLA S.A.; CORRER S. EDS Morphodynamics of cells and tissues. A book in memory of Pietro M. Motta. Special issue of the It. J. Anat. Embryol. vol. 110-Suppl. 1 pp. 31-35 9th Volume of the Marcello Malpighi seriesFIRENZE: Tipografia La Giuntina (ITALY)

#### C) Pubblicazioni su atti di convegni e congressi

#### D) Altro (pubblicazioni non previste nei punti precedenti)

#### 4. Richiesta di finanziamento del progetto

#### Note (specificare in dettaglio le spese)

4.1 A) Totale spese per l'acquisto di apparecchiature scientifiche	€ 48.000	SISTEMA DI ACQUISIZIONE IMMAGINI MOTORIZZATO + SOFTWARE DEDICATO PER FOTOMICROSCOPIO OLYMPUS PROVIS A70
4.2 B) Spese generali per la ricerca $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ 4.2.1 Materiali di consumo e manutenzione strumenti $\hat{A}$ is pecificare il tipo di materiale e la strumentazione utilizzata)	€ 20.000	reagentario, antisieri primari e secondari, kit di rilevazione, manuntezione apparecchiature, materiale d'uso per computer e stampante, acquisto animali
$\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ 4.2.2 Missioni - Seminari	€ 2.500	partecipazione a congressi
$\hat{A}~\hat{A}~\hat{A}~\hat{A}~\hat{A}~\hat{A}~\hat{A}~\hat{A}~$	€	
$\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ $\hat{A}$ 4.2.4 Altre voci: $\hat{A}$ $\hat{A}$ pubblicazioni	€ 2.500	pubblicazione dei risultati

TOTALE A+B 73.000

## 4.3 C) Collaborazioni di ricerca (l'importo fisso $\tilde{A}^{\cdot \cdot}$ di 1.550 â,¬ lorde al mese, per un max di 12 mesi)

€ N.1 contratto di collaborazione 18.600 scientifica

#### 4.4 Ultimi tre anni di finanziamenti ottenuti sulla quota 60% di Ateneo

	Anno	Fondo assegnato	Fondo non ancora utilizzato
4.4.1	2002	Voce AÂÂ 0	Voce $A\hat{A}~\hat{A}~0$
Â		Voce BÂ Â 15.000	Voce $B\hat{A}~\hat{A}~0$
Â		Voce CÂ Â 0	Voce CÂ Â 0

	Anno	Fondo assegnato	Fondo non ancora utilizzato
4.4.2	2003	Voce AÂÂ 0	$Voce~A\hat{A}~\hat{A}~0$
Â		Voce BÂ Â 10.000	$Voce\ B\hat{A}\ \hat{A}\ 0$
Â		Voce CÂ Â 18.600	Voce CÂ Â 0

Il contributo di cui alla voce C ottenuto per l'esercizio 2003 e non ottenuto per quello successivo del 2004, è stato impegnato con un certo ritardo rispetto all'epoca della sua assegnazione per motivi personali (gravidanza) del beneficiario. La scelta sulla Dott.ssa Arianna Casini è stata motivata dal fatto che essa frequenta da diversi anni il nostro laboratorio. Ha iniziato come allieva interna, ha elaborato la sua tesi di laurea nel nostro laboratorio,ha frequentato il dottorato di ricerca in Anatomia, Dermatologia e Chirurgia Plastica, senza usufruire di una borsa, ha elaborato la sua tesi di dottorato (discussa con successo il 4 aprile 2006). Essa ha in tutto questo tempo maturato notevole esperienza nel tipo di lavoro del cui supporto necessitava il nostro tema di ricerca al cui svolgimento ha sempre con passione e senza retribuzione fattivamente collaborato.

La collaborazione retribuita con quel contributo della voce C (2003)ha avuto inizio il 1 febbraio 2005 e termine il 31 gennaio 2006.

#### Curriculum della Dott.ssa Arianna Casini:

Laureata in Scienze Biologiche con voti 105/110(23 maggio 2001) discutendo una tesi dal titolo: "Localizzazione immunoistochimica di un nuovo peptide

(D-Ala2)-deltorfina-I nell'encefalo di roditore in condizioni normali e sperimentali".

Dottore di Ricerca in Anatomia - Dermatologia - Chirurgia plastica, XVII ciclo, sede amministrativa: Università "La Sapienza" di Roma discutendo una tesi dal titolo: "STUDIO COMPARATIVO DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE DI DUE CEPPI DI TOPI (C57/BL/6J E DBA/2J)".

- 1) D'Este L., Casini A., Wimalawansa S.J., Renda T.G.: Immunohistochemical localization of amylin in rat brainstem. Peptides 21; 1743-1749, 2000.
  2) D'Este L., Scontrini A., Casini A., Pontieri F.E. and Renda T.G.: Heroin sensitization as mapped by c-Fos immunoreactivity in the rat striatum. Brain Res.
- 933:144-149, 2002.
- 3) Badiani A., Vaccaro R., Casini A., Burdino R., Valeri P., Renda T.G, Nencini P.: Dissociation in the effects of the D2 dopaminergic agonist quinpirole on drinking and on plasma AVP. Neurosci. Lett: 325:79-82, 2002.
- 4) D'Este L, Casini A, Puglisi-Allegra S, Cabib S, Tooyama I, Kimura H, Renda TG: Immunoreactive neurons in the brain of two mouse strains after incubation with an antiserum recognizing Asp-Val-Val-Gly.NH2 (DVVG), the C-terminal fragment of (D-Ala2)-deltorphin I. J. Chem. Neuroanat. 24:189-198, 2002.
- 5) Casini A, Pinna A, Tooyama I, Kimura H, Di Chiara G, Renda TG.: Fate of (D-Ala2)-deltorphin-I-like immunoreactive neurons in 6-hydroxydopamine lesioned rat brain. Eur J Histochem 48:135-140, 2004
- 6) D'Este L, Casini A, Cetin Y., Wenger T., Renda T.G.: Guanylin-immunoreactive cells in the female and male adenohypophysis and their changes under various b) Deste L, Casini A, Pontieri F.E.,Renda T.G.: Gull Siol. 123:303-313, 2005

  7)D'Este L, Casini A., Pontieri F.E.,Renda T.G.: Heroin sensitization induces circumventricular organ activation in the rat brain. In: Morphodynamics of cells and
- tissues. A book in memory of Pietro M. Motta, by Heyn R., Barberini F., Caggiati A., Familiari G., Macchiarelli G., Nottola S.R., Correr S. (Eds). It. J. Anat. Embryol. 110 (Suppl-1)n.1:31-35,2005
- (8)D'Este L, Casini A, Pontieri FE, Renda TG.:Heroin sensitization induces circumventricular organ activation in the rat brain. Ital J Anat Embryol. 110:31-35, 2005 (9)D'Este L, Casini A, Pontieri FE, Renda T.G.:Changes in neuropeptide FF and NPY immunohistochemical patterns in rat brain under heroin treatment. Brain Res. 1083:151-158, 2006

Resoconto dell'attività svolta dalla Dott.ssa Arianna Casini nell'anno di retribuzione con la voce C, esercizio 2003:

La Dott.ssa Casini ha espletato una notevole mole di lavoro allestendo migliaia di sezioni seriate e numerate al criostato di encefali di topo e di ratto, normali e sperimentali e di altri organi tra cui l'ipofisi. Ciascuna sezione è stata sottoposta al protocollo immunoistochimico mediante l'uso di vari anticorpi mono- e policlonali, e quasi sempre, successivamente, a doppia e, talvolta, tripla immunolocalizzazione allo scopo di ben caratterizzare le strutture evidenziate. Ha personalmente eseguito rilievi alla camera lucida e al computer allo scopo di: (a) ricostruire nuclei e tragititi di fibre; (b) rilevare differenze densitometriche ed eseguire conte cellulari. Ha sottoposto ad analisi statistica tutti i risultati ottenuti per confermarne la significatività trattandosi di comparazioni tra specie diverse o, nell'ambito della stessa specie, di varie situazioni fisiologiche o sperimentali versus controlli normali.

Grazie al contributo la ricerca in quell'anno ha subito una considerevole accelerazione e si sono ottenuti risultati che sono stati oggetto di pubblicazioni (D'Este et al. It.J.Anat.Embryol. 110/S1:31-35, 2005; D'Este et al. Histochem. Cell Biol. 123: 303-313,2005; D'Este et al. Brain Res. 1083:151-158,2006).

Si fanno voti affinchè il contributo venga concesso per il presente progetto in modo da assicurare al gruppo la continuità del supporto di collaborazione necessario al buon andamento del lavoro.

	Anno	Fondo assegnato	Fondo non ancora utilizzato
4.4.3	2004	Voce AÂÂ 0	Voce $A\hat{A}~\hat{A}~0$
Â		Voce BÂ Â 12.000	Voce BÂ Â 0
Â		Voce CÂ Â 0	Voce CÂ Â 0

#### 4.5 Consuntivo scientifico per l'ultimo anno di finanziamento ottenuto (risultati e pubblicazioni relative)

Nel corso dell' ultimo anno il gruppo di ricerca ha completato una serie di indagini, alcune delle quali sono state pubblicate, altre sono in via di pubblicazione ed altre ancora saranno sottoposte per la pubblicazione su riviste internazionali.

1) Sono stati pubblicati su Histochemistry and Cell Biology (123:303-313, 2005) i risultati sulla individuazione nell'adenoipofisi di ratti maschi e femmine di cellule

- immunopositive per la guanilina identificate come sottopopolazioni delle cellulé gonadotrope e delle cellule follicolo-stellate e sulla loro variazione in diverse condizioni fisiologiche (ciclo estrale, gravidanza, allattamento) e sperimentali (castrazione). (In collaborazione con i colleghi dei dipartimenti di Anatomia di Marburg, Germania e Budapest, Ungheria)
  2) Pubblicati su Brain Research (1083-151-158, 2006) i risultati di uno studio sulla mappatura delle modificazioni della distribuzione della immunoreattività per la
- 2) Publicati su Brain Research (1963-131-136, 2000) i risultati a uno stata mappatara aette motaficazioni della distribuzione della immunoreatività per la proteina c-Fos e per oppioidi endogeni e l'NPFF (neuropeptide FF noto anche come "morphine analgesia-modulating peptide")in ratti sottoposti a varie modalità di trattamento con droghe di abuso (in collaborazione con F. Pontieri, Professore associato presso il Dipartimento di Scienze Neurologiche e docente presso la II Facoltà di Medicina dell'Università "La Sapienza" di Roma).

  4) Pubblicati sull' Italian Journal of Anatomy and Embryology (110/S1:31-35, 2005)i dati sulla localizzazione della proteina c-Fos negli organi circumventricolari del cervello di ratti sottoposti a trattamento acuto e cronico con eroina nel 9° volume della serie Malpighi come contributo del nostro gruppo alla memoria di Pietro
- Motta. (in collaborazione con F. Pontieri).
- Monta, (in Contaborazione Con 17 onter); S)Terminata anche la raccolta ed elaborazione statistica dei dati di uno studio inteso alla evidenziazione di possibili differenze morfologiche ed immunoistochimiche nel sistema dopaminergico nei due ceppi di topi (Dba e C57) che già hanno denotato un diverso atteggiamento per la deltorfina I (D'Este et al.,J. Chem. Neuroanat., 2002). Saranno sottoposti a valutazione per la pubblicazione su rivista internazionale con referee (În collaborazione con il centro di ricerca "Daniel Bovet" del nostro Ateneo).
- 6) Avviata una complessa indagine filogenetica sulla diversa organizzazione del sistema colinergico nei principali rappresentanti della scala zoologica mediante l'uso di due nuovi anticorpi contro due diverse forme di colineacetiltransferasi (cChAT e pChAT). La pChAT è una recentissima scoperta inerente l'esistenza di una nuova forma molecolare, più piccola, della colinacetiltransferasi la cui localizzazione è diversa dalla forma classica (cChAT)per cui si richiede una nuova mappatura dei nuclei colinergici.

### 5. Parere del Dipartimento/Istituto/Centro di appartenenza del responsabile

Contestualmente al IÂ Â	lla domanda di Ateneo, il proponente sta presentando anche dom	aanda di Facoltà ? Â
Â	$\hat{A}$	TITIVO
Firma		Data 05/06/2006 11:11