

**ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITA' DI BOLOGNA**

---

SCUOLA DI SCIENZE  
Corso di laurea Magistrale in Biologia Marina  
Campus di Ravenna

**Caratteristiche anatomiche del corpo genicolato  
mediale nel tursiope (*Tursiops truncatus*)**

Tesi di Laurea in Adattamenti degli Animali all'Ambiente Marino

Relatore:  
da:  
Prof.ssa Elena Fabbri

Presentata  
Sara Boero

Correlatore:  
Prof. Cristiano Bombardi

III sessione

Anno Accademico 2012-2013



*“...I remember running to the sea  
Remember falling to my knees  
I remember gliding off the shore  
Until I touched the ocean floor...”*

*...Ai miei nonni,  
ed a Diego e Anna.*



# INDICE

INDICE .....	5
1. INTRODUZIONE .....	7
1.1. CARATTERISTICHE BIOLOGICHE DEL TURSIOPE ( <i>Tursiops truncatus</i> ) .....	9
1.1.1. Morfologia .....	10
1.2. STORIA EVOLUTIVA DEI CETACEI .....	11
1.3. NEURONE .....	12
1.4. SISTEMA NERVOSO .....	15
1.4.1. Sistema nervoso centrale .....	16
1.5. PARTICOLARITÀ DELL'ENCEFALO DEI CETACEI .....	31
1.6. VIA ACUSTICA .....	32
1.7. CARATTERISTICHE DEL SISTEMA Uditivo NEI CETACEI .....	35
1.8. CALBINDINA D-28k .....	38
2. SCOPO DELLA RICERCA .....	41
3. MATERIALI E METODI .....	45
3.1. ANIMALI E FISSAZIONE .....	47
3.2. TECNICHE DI COLORAZIONE .....	47
3.2.1. Tionina .....	47
3.2.2. Immunoperossidasi .....	48
3.3. ANALISI DELLE SEZIONI .....	48
4. RISULTATI .....	51
4.1. TURSIOPE .....	53
4.1.1. Colorazione con la tionina .....	53
4.1.2. Immunoperossidasi: calbindina-d28k .....	56
4.2. MORFOLOGIA DEI NEURONI PRESENTI NEL CORPO GENICOLATO MEDIALE DI TURSIOPE: SIMILITUDINI CON IL BOVINO .....	58
5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI .....	73
6. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA .....	79



# **1. INTRODUZIONE**



## 1.1. CARATTERISTICHE BIOLOGICHE DEL TURSIOPE (*Tursiops truncatus*)

L'ordine dei Cetacei viene suddiviso in tre sottordini: Mysticeti, Odontoceti ed Archeoceti. I Mysticeti comprendono 14 specie dotate di fanoni e raggruppate in 4 famiglie. Gli Odontoceti, invece, dotati di denti, includono circa 74 specie divise in 10 famiglie. Essi sono un gruppo molto eterogeneo per quanto riguarda le dimensioni ed i caratteri morfologici del cranio, delle sacche aeree e del rostrò. Gli Archeoceti sono un sottordine ormai estinto di Cetacei (vissuti nell'Eocene) che si distinguevano dai Cetacei attuali per la presenza di narici in posizione anteriore e per un certo grado di eterodontia. Il tursiope (*Tursiops truncatus*) (Figura 1) è una specie appartenente al genere *Tursiops*, della famiglia dei Delfinidi.



**Figura.1** Esempio di *Tursiops truncatus*.

Attualmente le specie di tursiopi presenti sono tre: *T. australis*, *aduncus* e *truncatus*.

Il *Tursiops truncatus* è diffuso in tutti i mari del mondo, ad eccezione delle zone artiche ed antartiche.

In Italia è presente lungo le coste siciliane, nell'Adriatico ed in alcune porzioni del Santuario dei Cetacei (Scovazzi, 2001). Quest'ultimo, denominato ora Santuario Pelagos, è un tratto di mare compreso tra Liguria, Toscana, Sardegna settentrionale e Francia meridionale, in cui sono presenti dodici specie di Cetacei. In quest'area marina il tursiope risulta soprattutto frequente lungo le coste della Toscana (Nutti et al., 2006), dell'Arcipelago Toscano (Bedocchi et al., 2007) e della Liguria orientale (Gnone et al., 2006).

Alcune popolazioni di tursiope vivono nelle zone costiere, in acque calde che non superano la profondità di 30 m. Questo ecotipo può compiere delle migrazioni che, in alcune aree, sono stagionali e sembrano essere legate ai cambiamenti nella temperatura delle acque ed all'abbondanza delle prede (*Walker, 1981*). È stato osservato come, talvolta, le acque costiere vengano utilizzate proprio come area di nursery (*Barco et al., 1999*). Il secondo ecotipo, invece, vive in ambiente pelagico, soprattutto in prossimità delle isole oceaniche, ed è rappresentato da specie generalmente stanziali.

### **1.1.1. Morfologia**

I tursiopi presentano un corpo fusiforme, simile a quello dei Pesci, e privo di peli (sebbene alcuni siano presenti nei primi mesi di vita), come risultato di una convergenza evolutiva che assicura loro una grande idrodinamicità. Vi sono delle differenze tra i due tipi di popolazioni sopradescritte dovute al fatto che i tursiopi pelagici compiono immersioni più profonde rispetto a quelli costieri: in particolare, i primi hanno il corpo più grande e robusto rispetto a quelli costieri e mostrano una maggiore quantità di emoglobina (*Hersh, Deborah, 1990*). La colorazione non facilita l'identificazione in quanto è pressoché identica in entrambe le popolazioni, ed appare, in mare, di colore grigio con varie sfumature sul dorso, bianco sul ventre e grigio chiaro sui fianchi. La taglia varia da 2 a 4 metri, con un peso medio di circa 300Kg. Il maschio è, in genere, più grande rispetto alla femmina. Sul capo è presente un melone pronunciato, mentre la mascella e la mandibola sono allungate formano un rostro corto e tozzo, lungo circa 8 cm; l'aggettivo *truncatus* (dal latino troncato), infatti, così come il nome comune inglese (Bottlenose dolphin: delfino dal naso a bottiglia) si riferiscono proprio alla conformazione del rostro. Il muso è caratterizzato dalla presenza di una specie di "sorriso" dovuto al fatto che l'animale è impossibilitato a regolare in modo fine l'attività dei muscoli della testa (ad eccezione dei muscoli masticatori). Sulla porzione apicale della testa è presente un unico sfiatatoio, attraverso il quale passa l'aria. Quando l'animale deve immergersi lo sfiatatoio viene chiuso passivamente mediante il cosiddetto "tappo nasale", una struttura di natura fibrosa ad esso adiacente. Per consentire il passaggio dell'aria lo sfiatatoio viene aperto grazie a muscolatura volontaria in grado di spostare il tappo fibroso. Nel momento in cui lo sfiatatoio è aperto risulta possibile osservare il setto nasale. La pinna dorsale, di forma triangolare e ricurva, è alta circa 23 cm, mentre le pinne pettorali sono lunghe circa 30–50 cm. La pinna caudale, suddivisa in due lobi (*flukes*), è larga circa 60 cm. Entrambe

sono costituite da tessuto connettivo assai denso e non presentano né ossa, né muscoli. Le pinne pettorali, essendo gli arti toracici, presentano delle ossa omologhe a quelle dei Mammiferi terrestri, da cui i Cetacei si sono evoluti circa 50 milioni di anni fa.

## 1.2. STORIA EVOLUTIVA DEI CETACEI

I Cetacei si sono evoluti da progenitori terrestri e sono poi ritornati alla vita acquatica dalla fine del periodo cretaceo (circa 55 milioni di anni fa). La teoria tradizionale dell'evoluzione dei Cetacei sosteneva che questi animali fossero correlati con i *Mesonychidae*, un ordine estinto di Ungulati carnivori, simili a lupi ed affini agli Artiodattili. Tali animali, infatti, possedevano degli insoliti denti triangolari, simili a quelli delle balene fossili. Per questo motivo, i Ricercatori hanno per lungo tempo creduto che i Cetacei fossero evoluti da un Mesonichide. Ma dai primi anni novanta le analisi molecolari, condotte su un grande numero di proteine e di sequenze di DNA, hanno messo in dubbio questa teoria, asserendo che i Cetacei fossero più strettamente imparentati con gli Artiodattili, molto probabilmente con gli Ippopotamidi. Questo ha generato la proposta dell'istituzione del taxon *Cetartiodactyla*, che racchiude al suo interno sia gli Artiodattili sia i Cetacei. In aggiunta, la scoperta del *Pakicetus*, la prima protobalena, supporta i risultati ottenuti mediante gli studi sopracitati. Lo scheletro del *Pakicetus* dimostra che tale animale è un Artiodattile, che, quindi, tornò a vivere in acqua, dopo essersi separato dai Mesonichidi. In altre parole, le protobalene erano Artiodattili primitivi che mantennero degli aspetti dei loro antenati Mesonichidi, come i denti triangolari, persi invece dai moderni Artiodattili. Un'interessante conseguenza di ciò è che i primi antenati dei moderni Artiodattili erano probabilmente, almeno parzialmente, carnivori, mentre oggi tutti gli Artiodattili sono erbivori. A causa della notevole disponibilità di prede animali, i Cetacei mantennero la dieta carnivora dei Mesonichidi. Durante il Miocene si costituirono i due sottordini oggi esistenti (36-34 milioni di anni fa): gli Odontoceti, i quali hanno generato un insieme di strutture in grado di consentire l'ecolocazione, ed i Mysticeti, che hanno sviluppato sistemi di filtrazione alimentare (*Liu et al., 2010*).

Il passaggio dalla vita terrestre a quella acquatica ha certamente determinato una serie di adattamenti e modifiche a livello morfofunzionale, quali: l'assunzione di un corpo affusolato, idrodinamico e quasi completamente o totalmente glabro; la modifica degli

arti anteriori e la notevole riduzione di quelli posteriori; l'assenza delle vertebre sacrali e le ridotte dimensioni delle ossa del bacino; lo sviluppo delle pinne dorsale e caudale; l'isolamento termico garantito dal pannicolo adiposo sottocutaneo (*blubber*); lo sviluppo delle reti mirabili in grado di favorire l'irrorazione di specifici organi, quali ad esempio l'encefalo, durante le immersioni; il notevole appiattimento in senso latero-laterale del cuore che, in questo modo, può adattarsi allo schiacciamento latero-laterale della cavità toracica durante le immersioni; lo sviluppo di alcune strutture particolari coinvolte nella ricezione e nell'emissione dei suoni; la profonda modificazione delle vie aeree superiori. Queste sono solo alcune modifiche a cui questi animali sono andati incontro per adattarsi al nuovo habitat (*Cozzi, 2005; Soldevilla et al., 2005; Bagnoli et al., 2011; Butti et al., 2011*).

Nonostante la storia evolutiva dei Cetacei sia ben documentata grazie alla presenza dei fossili, altrettanto non è per quanto riguarda l'evoluzione del sistema nervoso, la cui conoscenza si limita alla morfologia esterna. Il sistema nervoso centrale (CNS), che funziona da interfaccia tra il corpo dell'animale e l'ambiente circostante, integra tutte le informazioni afferenti in una reazione adatta alla sopravvivenza dell'individuo. L'aumento o la diminuzione delle aree cerebrali dipende dall'implicazione funzionale che esse hanno per l'organismo. Nel tursiopo le strutture cerebrali particolarmente sviluppate sono connesse alla trasmissione ed elaborazione delle informazioni acustiche e comprendono le cortecce acustiche (sia le sensitive primarie sia le associative unimodali), il pulvinar, il nucleo genicolato mediale, il collicolo caudale ed alcuni nuclei pontini. Tutte queste aree cerebrali, infatti, sono basilari per la sopravvivenza di questi animali in un ambiente particolare come quello acquatico.

### **1.3. NEURONE**

Il neurone (denominato anche cellula nervosa o neurocita) rappresenta l'unità morfofunzionale del sistema nervoso. In un neurone "tipo" si riconoscono il corpo cellulare e due tipi di prolungamenti: i dendriti e l'assone. Il corpo cellulare, denominato anche soma o pirenoforo, contiene il nucleo e gli organelli deputati alle principali funzioni cellulari (apparato di Golgi, neurofilamenti, neurotubuli, granuli di pigmento, sostanza tigroide, mitocondri, reticolo endoplasmatico liscio e rugoso). I dendriti, estensioni ramificate originanti dal soma, ricevono segnali da neuroni afferenti e lo

propagano in direzione cellulipeta (verso il pirenoforo). La complessità dell'albero dendritico rappresenta uno dei principali determinanti della morfologia neuronale e del numero di segnali ricevuti dal neurone. A differenza dell'assone, i dendriti non sono dei buoni conduttori dei segnali nervosi i quali, viaggiando lungo i dendriti stessi, tendono a diminuire di intensità. I dendriti di calibro maggiore mostrano un corredo in organelli cellulari simile a quello presente nel pirenoforo. I rami dendritici più sottili, invece, contengono al loro interno soprattutto neurotubuli, neurofilamenti, mitocondri e cisterne di reticolo endoplasmatico liscio. L'assone conduce il segnale in direzione centrifuga verso altre cellule. Ha un diametro uniforme ed è un ottimo conduttore soprattutto quando rivestito da guaina mielinica. L'assone, sempre unico, origina da una zona del pirenoforo priva di corpi di Nissl e denominata monticolo assonico o cono di emergenza (alcuni Autori, tuttavia, considerano il monticolo assonico come la parte iniziale dell'assone). Il citoplasma presente all'interno dell'assone contiene soprattutto, neurotubuli, neurofilamenti, reticolo endoplasmatico liscio e mitocondri. Essendo assenti i ribosomi, l'assone dipende troficamente dal corpo cellulare. Nell'assone è possibile riconoscere tre porzioni: il segmento iniziale, l'assone propriamente detto e la parte terminale. Il segmento iniziale, che fa seguito al monticolo assonico, è provvisto, in corrispondenza della sua membrana cellulare, di numerosi canali ionici voltaggio-dipendenti, che rendono questo tratto facilmente eccitabile. Di conseguenza il segmento iniziale viene chiamato anche "zona di innesco". L'assone propriamente detto, che rappresenta la parte più lunga di questo prolungamento, può essere o meno rivestita da guaina mielinica. Nel sistema nervoso centrale la guaina mielinica, fornita dagli oligodendrociti, si forma quando l'assone ha un diametro pari o superiore agli 0,3 micrometri. Nel sistema nervoso periferico la guaina mielinica, generata dalle cellule di Schwann, viene formata quando il diametro dell'assone è pari o superiore ai 2 micrometri. La parte terminale dell'assone si suddivide in numerosi rami ciascuno dei quali termina mediante un'espansione denominata bottone terminale o bottone sinaptico.

Le classificazioni dei neuroni possono seguire un criterio (a) morfologico, (b) funzionale e (c) citochimico.

#### **a) Classificazione morfologica**

Tale classificazione avviene in base a differenti criteri.

1) Numero e modalità di ramificazione dei prolungamenti:

- Neuroni unipolari: presentano un solo prolungamento, rappresentato dall'assone, che origina da un pirenoforo avente valore di sito recettoriale. Esempi di neuroni unipolari sono i neuroni embrionali e i neuroni sensitivi primari (olfattivi e visivi) dell'animale adulto.

- Neuroni bipolari: presentano un assone ed un solo dendrite. I due prolungamenti si dipartono dagli antipodi del soma.

- Neuroni multipolari: presentano un assone e molteplici dendriti; questi ultimi di solito presentano un aspetto arborescente. A questa classe appartengono anche i neuroni di tipo I e II del Golgi.

- Neuroni pseudounipolari: sembrano presentare un solo tipo di prolungamento. Essi derivano da un neurone oppositopolare (bipolare) in cui si è verificato un accrescimento eccentrico del pirenoforo con conseguente confluenza del prolungamento assonico con quello dendritico. In questo modo dal pirenoforo origina un solo prolungamento che si divide a "T" originando una branca centrale ed una periferica. La branca periferica trasporta l'impulso nervoso in direzione cellulipeta, per cui funge da dendrite. La branca centrale, invece, invia l'impulso nervoso in direzione cellulifuga, per cui agisce da assone. E' interessante notare come la branca periferica, pur agendo da dendrite, mostri le caratteristiche ultrastrutturali dell'assone. Esempi di neuroni pseudounipolari sono i neuroni dei gangli sensitivi.

## 2) Comportamento del prolungamento assonico:

- Neuroni di tipo I del Golgi (neuroni di proiezione): il neurite è molto sviluppato in lunghezza e mantiene la propria individualità formale nel groviglio di fibre nervose.

- Neuroni di tipo II del Golgi (neuroni a circuito locale): il neurite è poco sviluppato in lunghezza e perde la propria individualità nel groviglio di fibre nervose.

### **b) Classificazione funzionale**

E' possibile suddividere i neuroni in tre tipi in base alla funzione ed alla direzione di propagazione dell'impulso nervoso.

1) Neuroni sensitivi o afferenti: partecipano all'acquisizione di stimoli, trasportando le informazioni dagli organi sensoriali al sistema nervoso centrale. Le fibre composte dagli assoni dei neuroni di questo tipo di neuroni sono chiamate afferenti. Esempi di questi neuroni sono le cellule gangliari (derivate dalle creste neurali) e le cellule sensitive primarie olfattive e visive (derivate rispettivamente dai placoidi olfattivo e ottico).

- 2) Interneuroni: sono presenti nel sistema nervoso centrale. Tali cellule integrano i dati forniti dai neuroni sensoriali ritrasmettendoli ai neuroni motori.
- 3) Neuroni motori o efferenti (motoneuroni): trasmettono gli impulsi ai muscoli.

### **c) Classificazione citochimica**

I neuroni possono essere classificati in base al loro corredo in neurotrasmettitori e neuropeptidi.

#### 1) Neuroni aminergici:

- monoaminergici: utilizzano come neurotrasmettitori le monoamine biogene (serotonina e catecolamine).
- colinergici: utilizzano come neurotrasmettitore l'acetilcolina.
- aminacidergici: utilizzano come neurotrasmettitori gli aminoacidi o frammenti di essi. Tra questi ricordiamo i neuroni GABAergici, con funzione inibitoria, ed i neuroni glutammatergici, con funzione eccitatoria.

2) Neuroni purinergici: utilizzano come neurotrasmettitori le basi puriniche. Hanno funzione inibitrice.

#### 3) Neuroni peptidergici:

- Neuroni peptidergici del sistema magnocellulare ipotalamo-ipofisario: impegnati nell'elaborazione di ADH e Ossitocina;
- Neuroni peptidergici del sistema parvicellulare ipofisiotropico: impegnati nell'elaborazione di fattori di rilascio e di inibizione degli ormoni adenoipofisari.
- Neuroni peptidergici extraipotalamici centrali e periferici: isolati in territori endocrini del sistema neuroendocrino diffuso.

4) Neuroni nitrossidergici: utilizzano come neurotrasmettitore il nitrossido gassoso. I neuroni in grado di secernere nitrossido possiedono l'enzima Nitrossido-sintetasi.

5) Neuroni anandaminergici: utilizzano come neurotrasmettitori gli endocannabinoidi.

## **1.4. SISTEMA NERVOSO**

Il sistema nervoso si occupa dei rapporti tra l'organismo e l'ambiente esterno e coordina l'attività di tutti gli altri organi presenti nell'organismo.

Il sistema nervoso viene suddiviso in due grandi sezioni:

- sistema nervoso della vita di relazione, che si occupa dei rapporti con l'ambiente e delle reazioni immediate agli stimoli;
- sistema nervoso autonomo o vegetativo che controlla invece il funzionamento dei visceri.

Il sistema della vita di relazione può essere ulteriormente suddiviso nel sistema nervoso centrale, costituito dall'encefalo e dal midollo spinale, e nel sistema nervoso periferico costituito dai nervi cranici e spinali e dai gangli loro annessi. Il sistema nervoso autonomo comprende il simpatico, il parasimpatico ed il sistema nervoso enterico (*Gray, 2008; Barone e Bortolami, 2006*).

#### **1.4.1. Sistema nervoso centrale**

Il sistema nervoso centrale, di cui ci occuperemo più nel dettaglio in quanto comprendente l'amigdala, si divide in due parti ineguali. Una, situata nel canale vertebrale, è rappresentata da un lungo cordone con estremità appuntita, il midollo spinale. L'altra, allocata nella cavità cranica, e che le fa seguito rostralmente, è l'encefalo (*Bortolami e Callegari, 1999*).

##### Midollo spinale

Il midollo spinale occupa circa i due terzi craniali del canale vertebrale e continua nel midollo allungato. Dà impianto da ciascun lato ai nervi spinali, mediante una duplice fila di radici dorsali e ventrali. Questi escono dal canale vertebrale attraverso il foro intervertebrale corrispondente e prendono l'aggettivo ed il numero della vertebra che li precede. Il midollo spinale si assottiglia nella sua estremità caudale in un cono midollare che si allontana dalle vertebre coccigee, con cui tuttavia resta unito mediante uno stretto prolungamento il filum terminale. A causa dell'allungamento di questo durante lo sviluppo, le radici nervose dei nervi coccigei, sacrali e perfino lombari si allungano per raggiungere i rispettivi fori vertebrali, assumendo un andamento obliquo. Formano così, attorno al filum terminale, un fascio allungato, somigliante alla coda di un cavallo, che prende il nome appunto di *cauda equina*. Il midollo spinale trasporta le informazioni sensitive dalla cute, dai muscoli, dalle articolazioni e dai visceri e regola l'attività di arti, tronco e visceri (*Bortolami e Callegari, 1999; Barone e Bortolami, 2006*).

## Encefalo

L'encefalo può essere suddiviso in due parti: tronco encefalico e proencefalo (detto anche prosencefalo).

Il tronco encefalico è costituito in senso caudo-rostrale dal midollo allungato, dal ponte e dal mesencefalo. Al tronco encefalico, dorsalmente, è annessa una superstruttura: il cervelletto.

Al tronco encefalico sono annessi la maggior parte dei nervi cranici (dal XII al III) di cui rappresenta il centro di integrazione. Oltre a questo, il tronco encefalico regola funzioni indispensabili per la vita, quali l'attività respiratoria, l'attività cardiaca, la regolazione del tono vasale, la regolazione del ciclo sonno-veglia (in parte), il mantenimento dello stato di vigilanza, la regolazione dell'attività muscolare e la modulazione delle informazioni nocicettive. Il tronco encefalico, inoltre, interviene anche nell'elaborazione delle informazioni visive ed acustiche e contiene gruppi di neuroni in grado di consentire l'esecuzione di funzioni (anche di natura riflessa) necessarie per la sopravvivenza quali: tosse, starnuto, masticazione, salivazione, deglutizione e vomito (*Barone e Bortolami, 2006*).

Il **midollo allungato** continua rostralmente il midollo spinale da cui è separato da un limite convenzionale, posto nel breve spazio tra le radicole più caudali del nervo ipoglosso (XII nervo cranico) e le radicole craniali del primo nervo spinale cervicale. Questo limite è sempre situato tra i condili dell'osso occipitale a livello di foro occipitale. Rostralmente si continua nel ponte, il cui limite è ben visibile solo sulla faccia ventrale.

Di forma tronco-conica, il midollo allungato presenta oltre alle due estremità, già ricordate, due facce, una dorsale ed una ventrale.

Sulla *faccia ventrale* è possibile osservare un profondo solco, o **fessura mediana**. Questo solco sembra essere un prolungamento di quello presente nel midollo spinale, ma è tuttavia meno profondo e separato da questo da fibre che si incrociano obliquamente e che costituiscono la **decussazione delle piramidi**. La fessura mediana separa due rilievi allungati e convessi da un lato all'altro, le **piramidi**, che si estendono dal ponte alla decussazione, con la quale terminano. Lateralmente ciascuna piramide è delimitata dal **solco laterale ventrale**, dalla cui parte più rostrale, a contatto con il ponte, prendono origine, da ciascun lato, le radici del nervo abducente (VI nervo cranico). Nell'estremità caudale, quasi al limite con il midollo spinale prendono attacco invece le radici del nervo ipoglosso (XII nervo cranico), seguendo una linea obliqua. Lateralmente al solco laterale

ventrale si osservano, in senso rostro- caudale, due formazioni particolari: il corpo trapezoide e l'oliva. Il **corpo trapezoide** è un robusto fascio trasversale situato a ridosso dell'estremità caudale del ponte. Lateralmente e su ciascun lato esso viene attraversato da fibre del nervo facciale (VII nervo cranico) e del nervo vestibolo-cocleare (VIII nervo cranico). Caudalmente al corpo trapezoide e lateralmente alla piramide si trova un rilievo arrotondato, a superficie liscia e convessa, l'**oliva**. Essa è limitata lateralmente dal solco laterale dorsale su cui prendono attacco, procedendo in senso caudo-rostrale, le radici del nervo accessorio (XI nervo cranico), del nervo vago (X nervo cranico) e del nervo glossofaringeo (IX nervo cranico).

La *faccia dorsale* del midollo allungato viene invece divisa in due parti, una caudale, più breve, e una rostrale. La *parte caudale*, o chiusa, presenta un profondo **solco mediano dorsale**, continuazione di quello del midollo spinale. Lateralmente a questo, da ciascun lato è presente il fascio del cordone dorsale del midollo allungato, delimitato medialmente come detto dal solco mediano dorsale e lateralmente dal **solco laterale dorsale**. Ciascun cordone dorsale fa capo a un rigonfiamento, che corrisponde a un nucleo di sostanza grigia, sede della sua terminazione: **tubercolo del fascicolo gracile**, appena accennato, dove termina il **fascicolo gracile** ed il **tubercolo del fascicolo cuneato**, più laterale e di dimensioni maggiori, dove invece termina il **fascicolo cuneato**. I due fascicoli suddetti sono separati a questo livello da un solco profondo, il **solco intermedio dorsale**. La *parte rostrale* molto più estesa della precedente, è detta anche parte aperta e rappresenta la metà caudale del pavimento del IV ventricolo.

Il **ponte** è un voluminoso rilievo a forma di semianello posto cranialmente al midollo allungato. Presenta all'osservazione quattro facce e due estremità.

La *faccia ventrale*, convessa in ogni senso, è rappresentata da un grosso cordone biancastro, più largo nella sua parte centrale e teso trasversalmente. Tale faccia, prende rapporto, tramite le meningi, con l'impronta pontina della parte basilare dell'osso occipitale e presenta sul piano mediano un solco longitudinale, il **solco basilare**, che accoglie l'arteria omonima.

La *faccia dorsale* è pianeggiante e costituisce la parte rostrale del pavimento del IV ventricolo. La *faccia laterale* è, invece, rappresentata da un grosso fascio che si continua dorsalmente restringendosi in un **peduncolo cerebellare medio**. Al limite con questa faccia si osserva l'attacco delle due radici del nervo trigemino (V nervo cranico).

L'*estremità caudale* è in continuità con il midollo allungato, da cui è separata ventralmente per la presenza di un solco trasversale. Dorsalmente il limite, del tutto convenzionale, viene fatto passare per gli angoli laterali del IV ventricolo.

L'*estremità rostrale* è segnata ventralmente dal solco pontino rostrale e dorsalmente dai collicoli caudali e dalla decussazione del nervo trocleare (IV nervo cranico).

Il **cervelletto** è posto dorsalmente al tronco encefalico. Occupa il compartimento caudale della cavità cranica ed è ricoperto rostralmente e per breve tratto dai lobi caudali degli emisferi cerebrali, da cui è separato da una robusta piega della dura madre, il tentorio del cervelletto. Nel suo insieme si presenta come una massa di colore grigio-rosa scuro, leggermente ellissoidale ad asse maggiore trasversale. Si compone di una parte mediana o **verme** o lobo mediano, a cui sono annesse due piccole formazioni, una per lato, i **floculi**. Il verme si continua poi da ciascun lato con due voluminose masse simmetriche, gli **emisferi cerebellari** destro e sinistro. La sua superficie è percorsa da fessure e solchi, ad andamento trasversale. La parte di corteccia cerebellare compresa tra due solchi prende il nome di foglio. Un foglio o gruppi di fogli delimitati da fessure costituiscono i lobuli che, procedendo dall'estremità rostrale del verme, sono: *lingula*, *lobulo centrale*, *culmen*, il *declive*, il *folium vermis*, il *tuber vermis*, la *piramide*, l'*uvula* e il *nodulo*.

Il cervelletto ventralmente e da ciascun lato è unito alla faccia dorsale del midollo allungato, del ponte e mesencefalo mediante tre robusti cordoni di sostanza bianca i **peduncoli cerebellari caudale, medio e rostrale**.

La cavità delimitata dal midollo allungato, dal ponte e dal cervelletto si presenta piuttosto espansa e prende il nome di **quarto ventricolo**. Tale ventricolo è in comunicazione caudalmente con il canale centrale del midollo spinale e rostralmente con l'acquedotto mesencefalico. Si compone di un pavimento, una volta, quattro margini e quattro angoli.

Il *pavimento* è formato dalla parte aperta della faccia dorsale del midollo allungato, caudalmente, e dalla faccia dorsale del ponte, rostralmente. La *volta* è invece rappresentata per la maggior parte dal cervelletto, ed è completata rostralmente e caudalmente dai veli midollari, rispettivamente rostrale, teso tra i peduncoli cerebellari rostrali, e caudale, teso tra i peduncoli cerebellari caudali. I *margini* del IV ventricolo si dividono in *caudali*, formati dai peduncoli cerebellari caudali e *rostrali*, formati dai peduncoli cerebellari rostrali. Gli angoli del IV ventricolo si distinguono invece in laterali, destro e sinistro, dati da uno stretto recesso laterale del ventricolo, caudale dato dal punto in cui il midollo allungato si apre per partecipare alla formazione del IV

ventricolo, rostrale, coperto dal velo midollare rostrale e corrispondente al punto in cui la cavità del IV ventricolo si continua nell'acquedotto mesencefalico.

Il **mesencefalo** è come già ricordato, la parte più breve del tronco encefalico e caudalmente è in rapporto con il ponte mentre rostralmente si continua nel diencefalo. Ha forma cubica e presenta a considerare quattro facce (ventrale, dorsale e due laterali) e due estremità.

*L'estremità caudale* è ben delimitata solo ventralmente grazie al solco trasversale che segna il margine rostrale del ponte.

*L'estremità rostrale* è invece convenzionale e fatta passare ventralmente a livello di corpo mammillare e latero-ventralmente in corrispondenza del margine caudale dei tratti ottici.

La *faccia ventrale* è situata a livello dell'osso basisfenoide ed è incrociata dalle arterie cerebellare rostrale e cerebrale caudale. Appartiene per intero ai **peduncoli cerebrali**, due grossi cordoni cilindroidi di sostanza bianca, striati longitudinalmente, che emergono rostralmente al ponte e si portano fino al margine caudale dei tratti ottici.

Il margine mediale di ciascun peduncolo è segnato da un solco mediale, dalla cui parte centrale emergono le radicole del nervo oculomotore (III nervo cranico). Rostralmente a queste si osserva il **fascio peduncolare trasverso** che incrocia in superficie il peduncolo cerebrale. I margini mediali dei due peduncoli delimitano la **fossa interpeduncolare**, allargata rostralmente dove presenta numerosi fori vascolari, da cui il nome di **sostanza perforata caudale**.

La *faccia dorsale* è caratterizzata dalla presenza di due paia di rilievi rotondeggianti di colore grigiastro, separati da un solco trasversale: i collicoli caudali e rostrali. I **collicoli caudali** sono in genere più piccoli dei rostrali e ciascuno di essi si continua lateralmente mediante un cordone robusto diretto rostro ventralmente, il braccio del collicolo caudale, che si porta al corpo genicolato mediale del diencefalo passando ventralmente al collicolo rostrale. Caudalmente a ciascun collicolo caudale si ha l'emergenza del nervo trocleare (IV nervo cranico), unico nervo cranico ad emergere dorsalmente. I **collicoli rostrali** hanno forma quasi emisferica e sono tra loro separati da un profondo solco longitudinale che rostralmente si allarga e accoglie l'epifisi. I collicoli rostrali sono a diretto contatto con i corpi genicolati laterali corrispondenti e per questo non è possibile apprezzare macroscopicamente un braccio del collicolo rostrale.

Le *facce laterali* presentano nella parte ventrale il margine laterale del peduncolo cerebrale corrispondente, mentre il loro margine dorsale è rappresentato dal braccio del

collicolo caudale. Tra i due margini questa faccia presenta una superficie convessa di forma triangolare: il trigono del lemnisco.

Il mesencefalo è percorso per tutta la sua lunghezza dall'acquedotto del mesencefalo, o **acquedotto di Silvio** che mette in comunicazione il IV ventricolo con il III ventricolo. Questo è rivestito internamente da glia ependimale, ed è circondato da uno spesso strato di sostanza grigia, il grigio periacqueduttale.

Un piano orizzontale passante per il centro dell'acquedotto divide il mesencefalo in due parti ineguali, una dorsale, meno voluminosa e l'altra ventrale. La parte dorsale, o **tetto del mesencefalo**, comprende la faccia dorsale e la parte più dorsale delle facce laterali. La parte ventrale è invece data dalla faccia ventrale e dalla parte ventrale delle facce laterali (*Bortolami e Callegari, 1999*).

Il *proencefalo* rappresenta la parte più sviluppata di tutto l'encefalo e comprende il diencefalo<sup>1</sup> ed il telencefalo.

Il **diencefalo** si trova quasi completamente incuneato nel telencefalo, e racchiude al suo interno una stretta cavità, il terzo ventricolo, che comunica caudalmente con l'acquedotto mesencefalico e rostralmente con i ventricoli laterali mediante il foro interventricolare (*Bortolami e Callegari, 1999*).

Comprende il talamencefalo ed il diencefalo ventrale. Il talamencefalo è costituito a sua volta da talamo, metatalamo, epitalamo; il diencefalo ventrale comprende l'ipotalamo ed il sub talamo (*Parent, 1996*).

Il **talamo**, uno per ciascun lato, si presenta come una voluminosa massa ovoidale di sostanza grigia rivestita da un sottile strato di sostanza bianca che prende il nome di **strato zonale**. Il suo asse maggiore è diretto rostralmente e presenta a considerare tre facce e due estremità.

La *faccia dorsale*, convessa in ogni direzione, è ricoperta dalla tela corioidea, mediante cui prende rapporto con il fornice e l'ippocampo propriamente detto. Il suo margine mediale delimita con quello del talamo controlaterale un **solco intertalamico**, segnato lateralmente da un cordoncino bianco, la **stria abenulare**; quest'ultima si allarga caudalmente ed assume aspetto triangolare prendendo il nome di trigono dell'abenula o semplicemente **abenula**. Le abenule di ciascun lato sono tra loro connesse grazie a un

---

<sup>1</sup> Il diencefalo viene compreso secondo alcuni autori nel tronco encefalico. Non essendo però ad esso connesso da un punto di vista funzionale, abbiamo preferito seguire la classificazione della Nomina Anatomica Veterinaria che lo contempla come parte del prosencefalo.

fascio di fibre, la **commessura delle abenule**. Il solco intertalamico termina rostralmente nei forami interventricolari, che mettono in comunicazione il III ventricolo con i ventricoli laterali, e caudalmente nel recesso-epifisario, diverticolo del terzo ventricolo che si spinge nella base dell'epifisi. Rostralmente la faccia dorsale del talamo presenta un rilievo appena accennato, il tubercolo rostrale del talamo e caudalmente e un po' lateralmente un abbozzo di rilievo, il pulvinar, macroscopicamente fuso nei Mammiferi domestici con il corpo genicolato laterale. Il limite laterale della faccia dorsale è segnato dal solco talamo-caudato che separa ciascun talamo dal nucleo caudato ipsilaterale.

La *faccia laterale* è evidente solo nel tratto caudale dove presenta due rilievi, appartenenti in realtà al metatalamo, i corpi genicolati laterale e mediale.

La *faccia mediale* è caratterizzata dorsalmente dall'aderenza intertalamica, estesa dallo sbocco dell'acquedotto mesencefalico fino ai forami interventricolari. Ventralmente, caudalmente e rostralmente a tale aderenza i due talami si presentano separati e delimitano uno stretto spazio sagittale, **il III ventricolo**.

L'*estremità caudale* è situata rostralmente alla commessura caudale, caudalmente all'inserzione dell'epifisi.

L'*estremità rostrale* corrisponde al limite rostrale del solco talamo-caudato e al bordo caudale del forame interventricolare (*Bortolami e Callegari, 1999*).

Il talamo svolge numerose funzioni: riceve informazioni di natura sensitiva e le ritrasmette alla corteccia cerebrale; ha funzioni motorie in quanto vi sono presenti nuclei specifici che hanno la funzione di integrare le informazioni di natura motoria provenienti da cervelletto e dai nuclei della base prima di ritrasmetterle alle aree della neocorteccia che controllano il movimento; è poi implicato in funzioni cognitive, quali la memoria e, in parte, la modulazione dei comportamenti emotivi.

Da un punto di vista strutturale il talamo è organizzato in otto gruppi nucleari.

Il **gruppo nucleare anteriore** occupa il tubercolo rostrale del talamo; è situato tra la stria abenulare e la stria terminale interviene in processi di natura emotiva, grazie alle connessioni che contrae con amigdala e corteccia prefrontale. E' implicato nell'orientamento e nella memoria spaziale in virtù delle connessioni reciproche che contrae con la formazione ippocampale.

Il **gruppo nucleare mediale** è rappresentato da un solo nucleo, il nucleo dorso-mediale, situato caudalmente al nucleo paraventricolare. Contrae connessioni reciproche con la corteccia prefrontale ed è implicato nella memoria di lavoro, cioè la capacità di ricordare un' informazione per un tempo sufficiente a garantire un'appropriata successione di

azioni. Inoltre, grazie alle connessioni con la corteccia olfattiva e la corteccia orbito-frontale il nucleo dorso-mediale permette, dopo la discriminazione di un determinato odore, un comportamento appropriato.

*Il gruppo nucleare della linea mediana* è situato a livello di aderenza intertalamica. Esso riceve informazioni dal tronco encefalico e le proietta a diverse strutture prosencefaliche quali: la corteccia cerebrale, l'amigdala ed i nuclei della base. In questo modo permette di collegare l'attività viscerale con l'attività emotiva, il movimento e la memoria.

Il *gruppo nucleare intralaminare* che ha la funzione di attivare la corteccia cerebrale rendendola pronta a ricevere stimoli di altra natura. Inoltre è coinvolto nell'elaborazione del movimento e nel processare stimoli nocicettivi.

Il *gruppo nucleare laterale*, di cui prendiamo in considerazione un solo nucleo, il pulvinar, che riceve informazioni di natura visiva dal collicolo rostrale del mesencefalo e proietta alle aree associative occipitale, parietale e temporale della corteccia cerebrale.

Il *gruppo nucleare ventrale* comprende i nuclei ventrale anteriore, ventrale laterale e ventrale posteriore. Il nucleo ventrale anteriore è costituito a sua volta da una porzione parvocellulare, più estesa e alla quale giungono proiezioni dirette e crociate dal globo pallido, e una porzione magno cellulare, a cui arrivano fibre omolaterali provenienti dalla parte reticolare della sostanza nera del mesencefalo. Il nucleo ventrale laterale, a sua volta formato dalle parti orale, caudale e mediale, è importante per l'integrazione delle informazioni motorie. Riceve, infatti, fibre dirette e crociate dal segmento interno del globo pallido, fibre crociate dai nuclei cerebellari e fibre, in prevalenza omolaterali, dalla parte reticolare della sostanza nera. Proietta alla corteccia motoria primaria. Il nucleo ventrale posteriore è formato dal nucleo ventrale posterolaterale e dal nucleo ventrale posteromediale. Il nucleo ventrale posterolaterale è costituito da due porzioni: orale e caudale. La prima riceve fibre dirette e crociate dal segmento interno del globo pallido e fibre crociate dai nuclei cerebellari. Ritrasmette queste informazioni alla corteccia motoria primaria ed è implicata nella modulazione delle informazioni motorie. La porzione caudale del nucleo ventrale postero laterale rappresenta la sede di terminazione delle fibre dei fasci spino-talamico, cervico-talamico e del lemnisco mediale. Tale porzione ritrasmette le informazioni sensitive ricevute alla corteccia sensitiva primaria ed, in parte, associativa unimodale. Il nucleo ventrale posteromediale presenta le suddivisioni principale e parvocellulare. La prima riceve fibre dirette e crociate dai nuclei sensitivi del trigemino per ritrasmetterle alle cortecce sensitive primarie e associativa unimodale,

mentre la suddivisione parvocellulare riceve informazioni gustative dal nucleo del tratto solitario e dal nucleo parabrachiale e le ritrasmette alla corteccia dell'insula.

Il **gruppo nucleare posteriore** tramite i suoi nuclei, posteriore, sopragenicolato e limitans, riceve informazioni di natura nocicettiva.

Il **nucleo reticolare del talamo** è posto in prossimità del margine laterale del talamo. È l'unico dei nuclei talamici che invece di utilizzare il glutammato come neurotrasmettitore (eccitatore), utilizza il GABA (inibitore) ed ha infatti la funzione di modulare la funzione degli altri nuclei.

Il **metatalamo** è costituito dall'insieme dei quattro corpi genicolati laterali e mediali, piccoli ammassi di neuroni situati caudo-lateralmente al rispettivo talamo. Nel loro insieme tali strutture formano il **gruppo nucleare genicolato**. Il **corpo genicolato laterale** è posto più dorsalmente ed è per la maggior parte ricoperto dalle fibre del tratto ottico. Rostralmente si confonde con il pulvinar, mentre caudalmente è a ridosso del collicolo rostrale. Riceve informazioni di natura visiva. Il **corpo genicolato mediale**, meno sviluppato del precedente, è ben delimitato. Si trova caudalmente, medialmente e ventralmente al corpo genicolato laterale ed è unito al collicolo caudale da un braccio ben distinto. Si presenta come un rilievo sferoidale o ovoidale che riceve, in corrispondenza del suo margine caudale, il braccio del collicolo caudale. Il corpo genicolato mediale è un importante centro di integrazione delle vie acustiche. Riceve informazioni di natura acustica (*Parent, 1996*).—Il corpo genicolato mediale è costituito da cellule nervose sostenute da una trama gliovascolare ricca di elementi fibrosi. Il corpo genicolato mediale si compone generalmente di tre nuclei: dorsale, ventrale e mediale (*Morest, 1964, 1965; Oliver and Hall, 1978; Winer et al., 1988; Clerici and Coleman, 1990; Ramón y Cajal, 1995*). Il nucleo dorsale è costituito da cellule di piccole e medie dimensioni distribuite in modo piuttosto lasso. Il nucleo ventrale è formato da cellule di piccole e medie dimensioni più numerose e più vicine rispetto a quelle del nucleo precedente. Il nucleo mediale, infine, è formato da neuroni fusiformi di grandi dimensioni distribuiti tra le fibre appartenenti al lemnisco laterale. I nuclei dorsale e ventrale, in questo modo, formano la parte parvocellulare del corpo genicolato mediale, mentre il nucleo mediale costituisce la parte magnocellulare. Il nucleo ventrale riceve un numero fibre dal lemnisco laterale e, soprattutto, dal collicolo caudale. Le sue fibre efferenti entrano nella radiazione acustica per portarsi alla corteccia acustica sensitiva primaria. Il nucleo dorsale riceve un piccolo contingente di fibre dal collicolo caudale; al contrario numerose fibre provengono dal tegmento mesencefalico e dal collicolo rostrale. Le efferenze che originano dal nucleo

dorsale terminano nella corteccia acustica associativa unimodale. Il nucleo mediale viene raggiunto da fibre che originano dal collicolo caudale, dal tegmento mesencefalico e dal midollo spinale. Le sue efferenze si portano corteccia acustica associativa unimodale. Le cortecce acustiche sensitive primaria e associativa unimodale, a loro volta, invia fibre a ciascuno dei nuclei del corpo genicolato mediale da cui ne hanno ricevute. Mediante tali proiezioni si realizza una modulazione degli impulsi ascendenti diretti alla corteccia cerebrale secondo un meccanismo a feedback.

L'**epitalamo** comprende a sua volta le stria abenulari, i trigoni delle abenule, la commessura abenulare e l'epifisi o ghiandola pineale; quest'ultima è una ghiandola endocrina di forma cilindroide ad estremità appuntita, paragonabile a quella di un pinolo (da cui il nome) che raggiunge il massimo sviluppo nel Bovino. E' connessa ai trigoni delle abenule mediante il peduncolo epifisario e si adagia tra i collicoli rostrali (*Barone e Bortolami, 2006*).

L'**ipotalamo** è posto ventralmente al solco ipotalamico e va a formare le pareti e il pavimento del terzo ventricolo. E' detto anche cervello viscerale, in quanto presiede al controllo centrale di funzioni endocrine, viscerali e comportamentali. Si estende dal margine caudale del corpo mammillare, fino alla lamina terminale grigia, che appartiene al telencefalo e chiude rostralmente il terzo ventricolo. Presenta due facce, una ventrale e una dorsale.

La *faccia ventrale*, visibile dopo aver asportato l'ipofisi, presenta varie formazioni che sono in senso caudo-rostrale: il corpo mammillare, un rilievo appena bilobato posto rostralmente alla sostanza perforata caudale; rostralmente a questo un altro rilievo appena accennato di colore grigiastro, il *tuber cinereum*; rostralmente al *tuber cinereum* si trova il chiasma ottico, una spessa lamina trasversale di sostanza bianca da cui prendono origine caudalmente i tratti ottici che si portano ai corpi genicolati laterale e mediale; infine, rostralmente al chiasma ottico è presente una laminetta di sostanza grigia, la lamina terminale grigia, già ricordata (*Bortolami e Callegari, 1999*).

L'ipotalamo coordina le attività del sistema nervoso autonomo, il comportamento e il sistema endocrino garantendo la sopravvivenza e la conservazione della specie. Regola, infatti, la pressione arteriosa controllando l'assunzione di liquidi e sali minerali e controllando il tono della muscolatura vasale; regola la temperatura corporea, favorendo o meno la dispersione del calore e facendo in modo che l'animale adotti un comportamento adeguato alla situazione; interviene nel regolare il metabolismo sia agendo sulle ghiandole endocrine sia controllando l'ingestione, la digestione e l'assorbimento degli

alimenti; regola il ritmo sonno/veglia; controlla i processi riproduttivi regolando sia l'accoppiamento che la gravidanza, il parto e l'allattamento. Per poter svolgere queste funzioni l'ipotalamo riceve informazioni di diversa natura, le confronta con i parametri fisiologici specie-specifici ed instaura risposte adattative agendo sul sistema neuroendocrino, autonomo e sul comportamento.

Da un punto di vista morfo-funzionale l'ipotalamo è suddivisibile in tre zone che si estendono longitudinalmente in senso rostro-caudale. Queste sono in senso medio-laterale: la zona periventricolare (posta in prossimità del III ventricolo), la zona mediale e la zona laterale. Ognuna di queste zone è a sua volta divisa in quattro aree che in senso rostro-caudale sono: la preottica, l'anteriore o rostrale o sopraottica, la tuberale e la mammillare.

La **zona periventricolare** è costituita da diversi nuclei a loro volta formati da neuroni coinvolti nella produzione di *releasing factor* che agiscono a livello di adenoipofisi per la secrezione di ormoni. Tra questi ricordiamo il *nucleo paraventricolare*, il *nucleo arcuato* ed il *nucleo soprachiasmatico*.

Il *nucleo paraventricolare* posto nella regione anteriore e costituito da una porzione parvocellulare (con cellule di piccole dimensioni che proiettano all'eminenza mediana dell'ipofisi e rilasciano CRH e TRH) e da una porzione magnocellulare (con neuroni di grandi dimensioni che proiettano alla neuroipofisi e rilasciano VASOPRESSINA e OSSITOCINA).

Il *nucleo arcuato*, si trova a livello di parte tuberale, ed è costituito da neuroni che proiettano a livello di eminenza mediana dove liberano GHRH, LHRH e dopamina.

Il *nucleo soprachiasmatico* è posto al di sopra del chiasma ottico e riceve fibre provenienti direttamente dalla retina regolando, in questo modo, i ritmi circadiani.

La **zona mediale** comprende a sua volta numerosi nuclei che regolano la genesi dei comportamenti motivati come l'alimentazione, l'aggressione e l'accoppiamento. E' inoltre coinvolta nella regolazione della temperatura corporea e nel ritmo sonno-veglia.

La **zona laterale** regola l'assunzione di alimento ed acqua, il comportamento aggressivo e i comportamenti legati alla sfera riproduttiva. Nella parte anteriore è presente il nucleo sopraottico che proietta a neuroipofisi e produce OSSITOCINA e VASOPRESSINA (Parent, 1996).

Il **subtalamo**, è la porzione compresa tra il talamo e la sostanza nera.

Il **terzo ventricolo** è una cavità appiattita ed assai irregolare che comunica caudalmente con l'acquedotto mesencefalico e rostralmente, mediante i forami interventricolari, con i ventricoli laterali. Presenta un pavimento, una volta e due pareti laterali.

Il *pavimento* è assai irregolare ad eccezione di un breve tratto rostrale dato dalla lamina terminale grigia che prende attacco sul chiasma ottico, delimitando con questo un solco, il recesso ottico. Caudalmente al chiasma è presente un altro recesso, scavato nel *tuber cinereum*, il recesso infundibolare. Caudalmente a questo il pavimento si presenta liscio e un po' convesso e corrisponde esternamente al corpo mammillare e alla parte rostrale della fossa interpeduncolare.

Le *pareti laterali*, lisce e leggermente concave, corrispondono alla parte dorsale dell'ipotalamo.

La *volta* si compone di una parte rostrale, corrispondente alla porzione ventrale dell'aderenza intertalamica, e di una parte caudale, costituita dalla tela corioidea, la quale si invagina da ciascun lato del piano mediano in un rudimentale plesso corioideo del terzo ventricolo. Quest'ultimo si continua sul margine laterale del forame interventricolare, nel plesso corioideo del ventricolo laterale corrispondente.

Rostralmente all'epifisi si osserva uno stretto diverticolo, il **recesso soprappineale**. Caudalmente a quest'ultimo si osserva un altro diverticolo, il **recesso pineale** (*Bortolami e Callegari, 1999*).

Il **telencefalo** costituisce la parte più evoluta del sistema nervoso. Esso è suddiviso dorsalmente da una profonda fessura longitudinale mediana in due emisferi cerebrali, la cui faccia dorsale presenta una superficie irregolare per la presenza di rilievi, detti giri, separati da lievi depressioni, denominate solchi.

Gli emisferi sono connessi tramite fibre commessurali, che nel loro insieme formano il **corpo calloso**, la **commessura bianca rostrale**, il **fornice** ed il **setto del telencefalo**.

In veduta laterale ciascun emisfero ha la forma di un semiovoide e presenta tre facce: una dorso-laterale, una mediale ed una ventrale o basale. In ciascun emisfero riconosciamo, inoltre, due estremità, rostrale (denominata anche o polo rostrale) e caudale (detta anche polo caudale), ed un margine dorso-mediale.

La *faccia dorso-laterale* è convessa e costituita da neocorteccia che si ripiega a formare numerose circonvoluzioni. Entra in rapporto con le ossa che delimitano la cavità cranica ed è separata dalla faccia mediale dal margine dorso mediale.

La *faccia ventrale* riposa sullo sfenoide. Tale faccia è separata da quella dorsale per la presenza del **solco rinale laterale** (che segna il passaggio tra cortecce antiche, presenti

nella faccia ventrale, e neocorteccia, presente nella faccia dorso-laterale). La faccia basale, dove troviamo le cortecce filogeneticamente più antiche rispetto alla neocorteccia, ha aspetto assai irregolare e può essere divisa in due parti, una rostrale e l'altra caudale, da una depressione, la fossa laterale del cervello. Nella parte rostrale si osserva il **bulbo olfattivo**, che continua caudalmente nel **peduncolo olfattivo** il quale immediatamente si biforca nelle **strie olfattive mediale e laterale**. Le strie olfattive delimitano un'area triangolare che prende il nome di **area perforata rostrale** (per la presenza di forellini vascolari) in cui troviamo un rilievo, il **tubercolo olfattivo**. A livello di fossa laterale troviamo invece un fascio di sostanza bianca, la **bendelletta diagonale**, che si porta dal polo rostrale del lobo piriforme all'area settale. Il **lobo piriforme** è l'area compresa tra il tubercolo olfattivo e il tubercolo dell'ippocampo e caudalmente si continua nel giro ippocampale.

La *faccia mediale* è in gran parte occupata dalle formazioni commessurali. Attorno a queste ultime è presente una parte di neocorteccia denominata corteccia del cingolo.

All'interno di ciascun emisfero è presente un'ampia cavità, il **ventricolo laterale**, che comunica caudalmente con il terzo ventricolo mediante il foro interventricolare. Ogni ventricolo laterale ha la forma di C aperta in direzione rostro-ventrale e può essere suddiviso in tre porzioni: corno rostrale, parte centrale e corno temporale.

Il *corno rostrale* è in comunicazione mediante il foro interventricolare con il III ventricolo. Esso si prolunga in un dotto che attraversa il peduncolo olfattivo e giunge nella cavità del bulbo olfattivo.

La *parte centrale* è delimitata dorsalmente da un tetto, o volta, dato dalla parte ventrale del corpo calloso, e ventralmente da un pavimento, costituito rostralmente dal nucleo caudato e caudalmente dalla formazione ippocampale. Queste ultime strutture sono tra loro separate da una fessura nella quale si pone il plesso corioideo del ventricolo.

Il *corno temporale* è l'estensione del ventricolo nel lobo piriforme ed il suo pavimento è formato dalla formazione ippocampale (*Bortolami e Callegari, 1999*).

Ogni emisfero è costituito superficialmente da sostanza grigia, la corteccia cerebrale, al di sotto della quale è presente un ammasso di sostanza bianca, il centro semiovale. Nella costituzione di ciascun emisfero rientrano anche le seguenti strutture: nuclei della base, amigdala, regione ippocampale e regione settale.

I **nuclei della base** o sottocorticali sono voluminosi ammassi di sostanza grigia immersi nella parte profonda del centro semiovale. Questi nuclei intervengono nel regolare l'attività motoria ed i processi emotivi e cognitivi (*Paxinos, 2004*).

La **regione ippocampale** è costituita da due principali suddivisioni: la formazione ippocampale e la regione paraippocampale.

La *formazione ippocampale* ha la forma di C ed entra nella costituzione del pavimento della parte centrale e del corno temporale del ventricolo laterale. Tale struttura è costituita da tre parti: il giro dentato, la formazione ippocampale propriamente detta ed il subicolo (*Paxinos, 2004*).

La *regione paraippocampale*, costituita da un insieme di cortecce filogeneticamente antiche disposte attorno alla formazione ippocampale, si divide in: presubicolo, parasubicolo, corteccia entorinale, corteccia peririnale e postrinale. La regione ippocampale interviene soprattutto nel consentire la genesi della memoria esplicita (*Parent, 1996; Paxinos, 2004*).

Il **complesso amigdaloideo o amigdala** macroscopicamente si presenta come un rilievo a forma di mandorla di colore rosa pallido situato in corrispondenza dell'estremità rostrale del corno temporale del ventricolo laterale. Come indicato in seguito l'amigdala interviene nel regolare numerose funzioni legate al comportamento animale, soprattutto quelle di natura emotiva (*Parent, 1996; Gray, 2008; Paxinos, 2004*).

La **regione settale** si trova in corrispondenza della parete mediale del ventricolo laterale. In questa regione sono presenti nuclei molto importanti nel regolare sia l'attività della formazione ippocampale (memoria esplicita), sia differenti comportamenti integrati quali la cura della prole, l'assunzione di cibo ed acqua, il comportamento sessuale, andando ad intervenire sia sul sistema nervoso autonomo che su quello neuroendocrino (*Parent, 1996; Paxinos, 2004*).

La **neocorteccia**, che riveste le facce dorso-laterale e mediale di ciascun emisfero, da un punto di vista topografico può essere suddivisa in: frontale, parietale, temporale, dell'insula e del cingolo. Come detto precedentemente, la corteccia del cingolo è l'unica parte di neocorteccia che si trova sulla faccia mediale degli emisferi.

La neocorteccia mostra a considerare sei strati che dall'esterno all'interno sono denominati: strato I (molecolare o plessiforme), caratterizzato da poche cellule; strato II (granulare esterno), che mostra come neurone più diffuso il granulo; strato III (piramidale esterno), la cui popolazione cellulare è data per la maggior parte da neuroni piramidali; strato IV (granulare interno), dove i granuli rappresentano i neuroni più numerosi; strato V (piramidale interno), formato soprattutto da neuroni piramidali di grandi dimensioni; strato VI (multiforme o polimorfo), che mostra neuroni con morfologia varia.

Come accennato precedentemente, in corrispondenza e ventromedialmente al solco rinale laterale sono presenti le cortecce filogeneticamente meno evolute che sono distinte in allocorteccia, periallocorteccia e proisocorteccia.

L'**allocorteccia**, formata da soli tre strati, è presente a livello di formazione ippocampale e di alcuni nuclei amigdaloidei.

La **periallocorteccia**, formata da sei strati, è presente in alcune zone della regione paraippocampale (presubicolo, parasubicolo e corteccia entorinale). Gli strati sono meno definiti che nella neocorteccia; inoltre, lo strato IV è praticamente privo di cellule e denominato *lamina dissecans*.

La **proisocorteccia**, presente nelle cortecce peririnale e post rinale (a cavallo cioè del solco rinale laterale) è formata da sei strati di cellule ma lo strato IV è poco sviluppato (*Parent, 1996; Paxinos, 2004*).

## **1.5. PARTICOLARITÀ DELL'ENCEFALO DEI CETACEI**

Il peso dell'encefalo in un tursiope può variare tra i 1530 e i 2030 g. L'encefalo dei Cetacei, anche se costituito in linea generale dalle medesime porzioni presenti nei Mammiferi terrestri, mostra caratteristiche di forma e sviluppo delle singole parti assai caratteristiche.

La forma del cranio, modificata per adattarsi alla vita acquatica, ha fatto sì che l'encefalo si sia sviluppato maggiormente nei diametri trasversale e dorsoventrale che in quello rostro-caudale. Inoltre, nei Cetacei l'encefalo si presenta anche ripiegato rispetto al suo asse trasversale.

Per quanto riguarda lo sviluppo relativo delle diverse parti, è opportuno sottolineare come il tronco encefalico ed il cervelletto siano maggiormente sviluppati rispetto a quanto si osserva in altre specie.

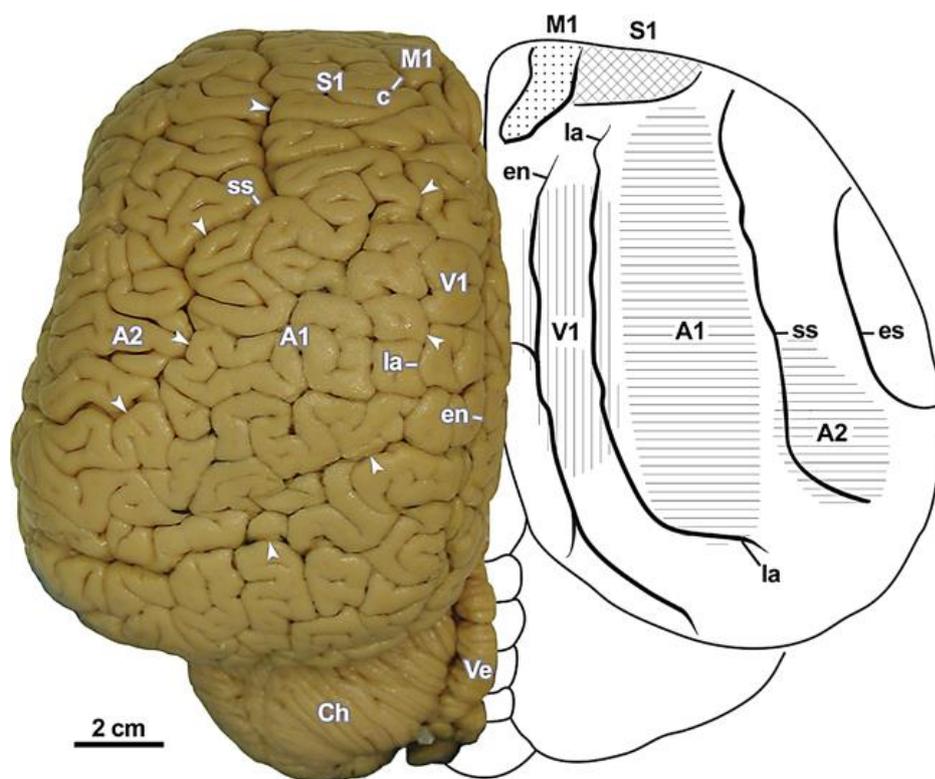
Nel tronco encefalico il ponte è molto grande mentre sia il midollo allungato che il mesencefalo sono corti, ripiegati ed ispessiti. Nel midollo allungato si osserva un notevole sviluppo del complesso olivare che, macroscopicamente, è situato da ciascun lato, lateralmente alla piramide e medialmente al solco laterale-dorsale. Il mesencefalo è molto sviluppato, per il notevole sviluppo delle strutture uditive in esso presenti. Nel mesencefalo è, inoltre, presente il nucleo ellittico, che sembra avere la funzione di controllare i sacchi aerei. Tale nucleo è presente anche nell'elefante dove ha la funzione di controllare la proboscide.

Il cervelletto mostra un notevole sviluppo del suo diametro trasversale. Gli emisferi cerebellari circondano e sovrastano il verme che, di conseguenza, si trova in posizione più profonda che in altre specie.

Nel diencefalo della maggior parte dei Cetacei non è presente l'epifisi. Il talamo di questi animali mostra un buon sviluppo.

Gli emisferi cerebrali sono connessi da un corpo calloso di dimensioni ridotte, a causa sia dello scarso numero di fibre che lo compongono sia del ridotto spessore della guaina mielinica che lo riveste. La corteccia cerebrale si presenta molto estesa, con un elevato numero di circonvoluzioni e solchi (maggiore che negli altri Mammiferi). Essa è tuttavia più sottile che negli altri Mammiferi, con un valore massimo di 1,8 mm. La neocorteccia mostra un citoarchitettura molto complessa che si mantiene costante per tutta la sua estensione. La corteccia uditiva è molto sviluppata ed è localizzata, non nel lobo temporale come negli altri Mammiferi, ma nella porzione laterodorsale della corteccia

parietale (Figura 2). La corteccia visiva, invece, si trova localizzata nella porzione dorso-mediale dei lobi parietale, e non a livello occipitotemporale come negli altri Mammiferi. Le aree associative della corteccia sono, in questi animali, molto sviluppate. Nei Cetacei è assente il bulbo olfattivo essendo questi animali anosmatici, privi cioè del senso dell'olfatto. Gli Odontoceti, pur non avendo un ippocampo molto sviluppato, hanno grandi capacità di memorizzare ed apprendere, probabilmente per la presenza di un lobo limbico ben sviluppato (Marino *et al.*, 2004; Cozzi, 2005).



**Figura 2.** Encefalo di *Tursiops truncatus*, vista dorsale. Si può vedere un considerevole sviluppo dell'area acustica (A1, A2, neocorteccia uditiva primaria e secondaria. Scale bar = 2 cm.

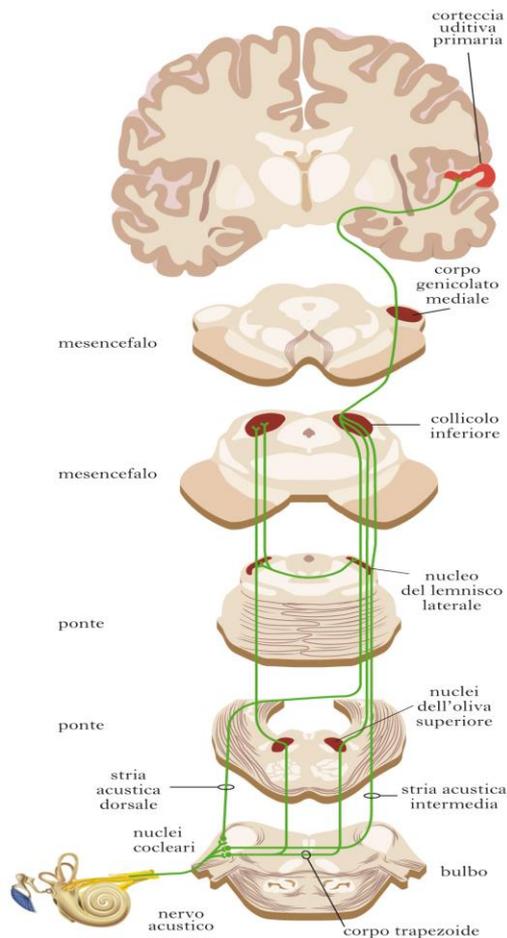
## 1.6. VIA ACUSTICA

La via acustica trasporta gli stimoli sonori dalle cellule acustiche dell'organo del Corti fino alla corteccia uditiva primaria.

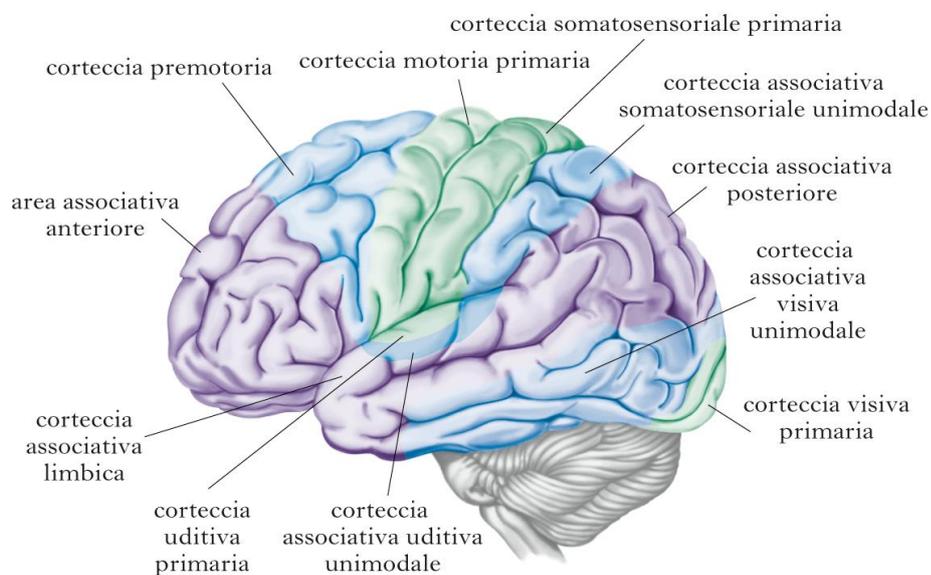
Il corpo del primo neurone della via acustica risiede nel ganglio del Corti o ganglio spirale che è posto all'interno della coclea, nel canale spirale. I neuroni del ganglio del Corti sono neuroni bipolari nei quali si riconoscono un pirenoforo e due processi (o prolungamenti): il prolungamento dendritico, con andamento centrifugo, è diretto

all'organo del Corti, dove stabilisce contatti sinaptici con le cellule acustiche, le quali costituiscono l'entità di trasduzione dallo stimolo meccanico (suono) allo stimolo elettrico (onde di depolarizzazione e ripolarizzazione). Il prolungamento assonico ha, invece, un andamento centripeto e si porta verso i nuclei cocleari che risiedono del ponte e del midollo allungato.

L'insieme degli assoni delle cellule del ganglio del Corti formano la componente acustica del nervo vestibolococleare o ottavo nervo cranico. Questo nervo attraversa il meato acustico interno e decorre nella cavità cranica fino ad arrivare all'estremità rostrale del midollo allungato. Una volta entrato nel tronco encefalico, le sue fibre si biforcano in branche dorsali e ventrali le quali stabiliscono contatti sinaptici con i neuroni posti rispettivamente nei nuclei cocleari dorsale e ventrale. Le fibre che originano dai nuclei cocleari si portano ai nuclei dorsale e ventrali del corpo trapezoide dei due lati. Le fibre che originano dal nucleo dorsale formano la stria acustica dorsale, la quale si porta a quasi tutti i nuclei del corpo trapezoide del lato opposto. Le fibre che prendono origine dai nuclei ventrali costituiscono la stria acustica ventrale. Tali fibre, incrociandosi sul piano mediano con quelle del lato opposto, formano la maggior parte del corpo trapezoide e terminano in differenti sedi: nuclei dorsale e, in parte, ventrali del corpo trapezoide controlaterali; nuclei del corpo trapezoide ipsilaterali; nucleo del lemnisco laterale. Dalla parte caudale del nucleo ventrale origina un gruppo di fibre denominato "stria acustica intermedia" che attraversa il nucleo dorsale e termina su gruppi di neuroni distribuiti attorno al nucleo dorsale del corpo trapezoide ipsilaterale. Alcune fibre non si arrestano a questo livello e raggiungono il lemnisco laterale controlaterale. Il lemnisco laterale, in questo modo, è formato da fibre provenienti dalle due orecchie. Esso è formato in massima parte da fibre provenienti dai nuclei del corpo trapezoide ed, in minima parte, dai nuclei cocleari. Il lemnisco laterale si porta al collicolo caudale del mesencefalo, nella cui parte centrale termina il suo contingente principale. Tuttavia, un contingente esiguo di fibre si porta nel braccio del collicolo caudale per raggiungere il corpo genicolato mediale del metatalamo. Dai neuroni del collicolo caudale originano fibre che, sempre attraverso il braccio del collicolo caudale, giungono al corpo genicolato mediale. Quest'ultimo costituisce quindi l'ultima stazione della via uditiva, della quale rappresenta il più importante settore di integrazione. Le fibre che originano dal corpo genicolato mediale costituiscono la radiazione acustica che si porta alle cortecce acustiche primaria e associativa unimodale (Figura 3 e 4).



**Figura 3.** Percorso delle vie uditive dall'Organo del Corti alla corteccia uditiva.



**Figura 4.** Rappresentazione schematica delle aree corticali associative nei mammiferi.

## **1.7. CARATTERISTICHE DEL SISTEMA Uditivo NEI CETACEI**

Si ritiene che per i Mammiferi marini l'udito sia il sistema sensoriale più importante e più sviluppato. Probabilmente quest'importanza è correlata alle condizioni fisiche del mezzo acquoso, la cui elevata viscosità, scarsa luminosità ed elevata propagazione dei suoni, hanno favorito l'evoluzione di strutture che consentono sia di ridurre la soglia di attivazione dei recettori delle onde sonore sia di ampliare la gamma delle frequenze percepibili. Mentre alcuni adattamenti, come la riduzione delle dimensioni dell'orecchio esterno, sono comuni a tutti i Mammiferi marini, altri mostrano differenze specie-specifiche dovute allo stile di vita imposto dall'ambiente. Infatti, l'ambiente in cui vivono i Mammiferi marini facoltativi risulta piuttosto diverso da quello frequentato dagli animali marini obbligati, come i cetacei.

I Cetacei sono in grado di capire sott'acqua da quale direzione provenga il suono: una capacità assente nei Mammiferi terrestri. Ciò è reso possibile dal fatto che le ossa dell'orecchio interno di questi animali sono ben separate dal resto del cranio; quest'ultimo, infatti, potrebbe interferire con la ricezione degli stimoli acustici. Questa separazione è, tuttavia, più evidente negli Odontoceti che nei Mysticeti.

I suoni emessi dai Cetacei servono per comunicare, per orientarsi e per individuare le prede. Tuttavia, solo gli Odontoceti emettono ultrasuoni (superiori a 20.000 Hz) usati per l'ecolocalizzazione. Tali suoni vengono distinti nel tipo 1 e nel tipo 2. Il tipo 1 rileva picchi di frequenze maggiori ai 10.000 Hz e viene emesso, soprattutto, da individui solitari che vivono in prossimità della costa (focena, platanista del Gange). Il suono di tipo 2, invece, rileva picchi al di sotto degli 80.000 Hz e viene prodotto dagli esemplari che vivono in grandi gruppi sociali (delfini). I Mysticeti producono suoni udibili e, in alcuni casi, infrasuoni (inferiori ai 20 Hz).

La diversa gamma di suoni emessi da Odontoceti e Mysticeti è stata associata a differenze morfo-funzionali delle strutture deputate alla loro ricezione.

Nonostante le modifiche legate all'ambiente, nei Cetacei osserviamo, come nei Mammiferi terrestri, l'orecchio esterno, l'orecchio medio e l'orecchio interno. Nel corso dell'evoluzione, per avere una maggiore idrodinamicità, ogni sporgenza della testa è andata persa, motivo per cui gli Odontoceti sono privi di orecchio esterno (Figura 5 e 6). La porzione esterna dell'orecchio è, pertanto, costituita solo da un foro, posto caudalmente all'occhio, e dal meato acustico esterno. Quest'ultimo, assai ridotto e sottile, termina con un tappo di cera e cellule cornificate ammassate, senza stabilire nessuna

connessione né con la membrana timpanica, né con l'osso temporale. L'orecchio medio e quello interno sono formati dalla bolla timpanica e dalla bolla periotica, cioè da due cavità ossee saldate tra loro a formare il complesso timpano-periotico. Quest'ultimo, quindi, si trova fuori dal cranio, nella cavità peribollare. Quest'ultima, che consiste in una cavità estesa e piena di un'emulsione di muco, olio ed aria, è delimitata dal plesso peribollare, il quale si trova sospeso al centro della cavità attraverso legamenti connettivali.

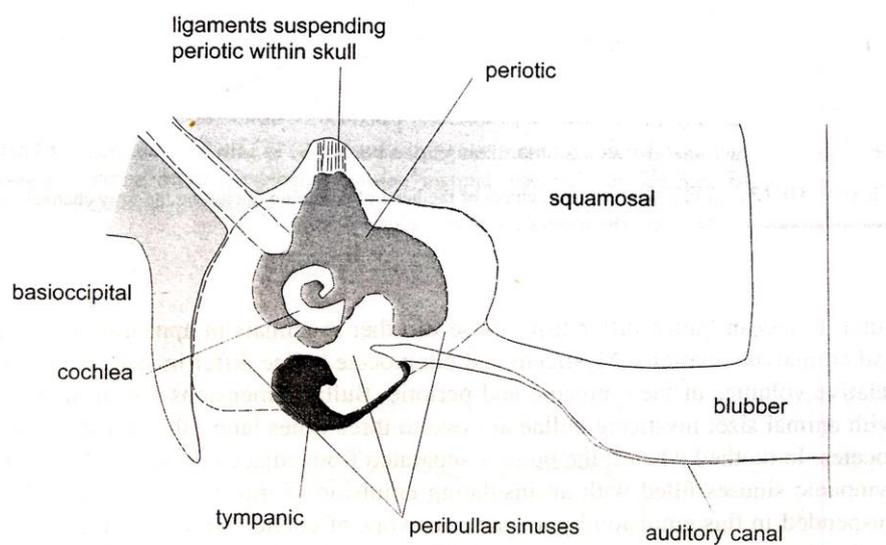
Il plesso peribollare ed i legamenti connettivali consentono un notevole isolamento acustico delle cavità dell'orecchio medio dal cranio. Di conseguenza, i Cetacei, anche se immersi a grandi profondità, hanno la possibilità di riconoscere la provenienza di un suono; infatti, non solo le due strutture funzionano una indipendentemente dall'altra, ma l'isolamento limita anche le interferenze prodotte dai suoni che si propagano per via ossea.

La cavità dell'orecchio medio è delimitata da un corpo cavernoso sottile, estensibile e riccamente irrorato. Tale cavità attraverso la tromba di Eustachio, rigida e pervia, resta collegata direttamente alla faringe. Durante le immersioni e le emersioni il riempimento del corpo cavernoso regola il volume di aria nell'orecchio medio, equilibrando le variazioni della pressione esterna. Nella cavità dell'orecchio medio è contenuto il complesso degli ossicini, che risultano piuttosto massicci. Tuttavia, il martello, saldato alla parete timpanica attraverso il processo gracile (cresta ossea), ha una scarsa influenza nella trasmissione delle onde sonore. I legamenti tra gli ossicini sono rigidi e la staffa comprime il liquido all'interno della coclea. Quindi le caratteristiche che concorrono effettivamente alla trasmissione di una vasta gamma di frequenze, compresi gli ultrasuoni, sono l'inerzia e la rigidità della catena degli ossicini e della parete della cavità in cui essi sono alloggiati.

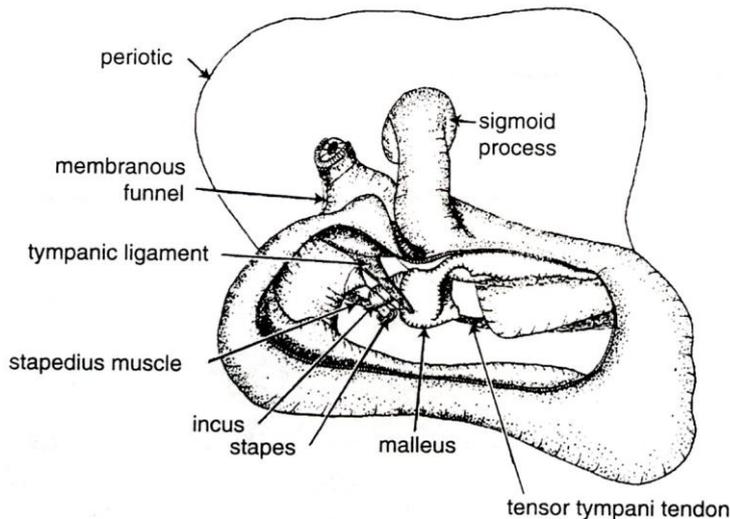
L'orecchio interno, ricavato dal periotico, comprende il labirinto membranoso, il quale è pieno di liquido ed ospita due strutture sensoriali: quella vestibolare, (poco sviluppata) necessaria per l'equilibrio, e quella acustica, rappresentata dalla coclea. Quest'ultima ha forme e dimensioni più o meno simili a quelle degli altri mammiferi. Tuttavia, il numero di cellule gangliari che confluiscono a formare il nervo acustico è particolarmente elevato, suggerendo come l'elaborazione delle informazioni acustiche sia particolarmente complessa. L'elevato grado di discriminazione delle frequenze e l'ampio intervallo di percezione tonale sono dovute anche alle caratteristiche che si riscontrano a livello di membrana basilare, su cui poggiano le cellule acustiche. Infatti, in prossimità

dell'estremità basale della coclea, la membrana basilare è sospesa tramite ancoraggi formati da tessuto osseo. Tali ancoraggi, procedendo verso l'apice della coclea, diventano progressivamente di natura connettivale. La larghezza della membrana basilare varia tra un minimo di 25  $\mu\text{m}$  alla base della coclea fino ad un massimo di 350  $\mu\text{m}$  in prossimità dell'apice. La differenza che si riscontra alle due estremità è di circa 14 volte, e quindi molto superiore a quella che si osserva negli altri mammiferi (nei mammiferi terrestri è di circa 6 volte). Procedendo verso l'apice anche lo spessore della membrana diminuisce di 5 volte, da 25 a 5  $\mu\text{m}$ . Si ritiene che l'elevata rigidità della sospensione e la ridotta larghezza della membrana basilare che si osservano alla base della coclea, garantiscano un'alta sensibilità ai suoni ad elevata frequenza, consentendo di rilevare un ambito di frequenze compreso fra 20 e i 230.000 Hz.

Grazie alle caratteristiche dell'orecchio medio ed interno, gli Odontoceti riescono a percepire una gamma di frequenze superiore di tre ottave rispetto alla maggior parte dei Mammiferi terrestri (*Poli e Fabbri, 2012*).



**Figura 5.** Struttura dell'orecchio degli Odontoceti.



**Figura 6.** Struttura dell'orecchio di tursiope.

## 1.8. CALBINDINA D-28k

Un grande numero di funzioni neuronali tra le quali il rilascio dei neurotrasmettitori, la permeabilità dei canali ionici, l'attività enzimatica e la trascrizione dei geni vengono regolate dal calcio. Ciò comporta che la sua concentrazione endocellulare sia strettamente controllata (*Gall et al., 2005*). Attraverso tre meccanismi i neuroni hanno la possibilità di ridurre l'accumulo di calcio: il trasporto attraverso la membrana, il sequestro da parte di organuli come il reticolo endoplasmatico liscio ed il legame con specifiche proteine citoplasmatiche leganti il calcio, quali la parvalbumina e la calbindina-D28k.

Per quanto riguarda le proteine leganti il calcio, gli effetti del tamponamento del calcio dovuto alla loro azione dipende dalla loro affinità per il calcio stesso e dalla velocità con cui lo legano e lo rilasciano. La parvalbumina presenta bassa velocità di legame e di dissociazione e viene, quindi, considerata un tampone lento degli ioni calcio. Questo potrebbe influenzare l'ampiezza e la durata dell'ingresso del calcio a livello di terminali assonici dopo il potenziale d'azione e quindi regolare la plasticità sinaptica a breve termine (*Caillard et al., 2000*). La calbindina-D28k, oltre che regolare la concentrazione endocellulare di calcio, protegge la cellula dall'apoptosi calcio indotta: infatti, inibisce gli effetti avversi del calcio sul trasporto mitocondriale degli elettroni e sulle alterazioni apoptotiche mitocondriali. Un brusco incremento del calcio endocellulare comporta neurodegenerazione a causa dell'attivazione di specifici enzimi (proteasi, fosfolipasi ed

endonucleasi), della produzione di specie reattive dell'ossigeno, dell'inibizione della sintesi proteica e della destrutturazione del citoscheletro, quindi può essere dedotto un effetto protettivo da parte delle proteine leganti il calcio. Il controllo del livello di calcio intracellulare è importante soprattutto nei neuroni immaturi, i quali risultano particolarmente sensibili alle sue variazioni (*Litwinowicz et al., 2003*).



## **2. SCOPO DELLA RICERCA**



Le caratteristiche morfofunzionali del corpo genicolato mediale sono state studiate soprattutto nei Roditori, nei Carnivori (volpe e gatto) e nei Primati. Dai lavori precedenti è emerso come nel corpo genicolato mediale siano presenti tre aree citoarchitettoniche denominate: nucleo dorsale (MGd), nucleo ventrale (MGv) e nucleo mediale (MGm). Tali nuclei mostrano uno sviluppo differente a seconda della specie considerata. Nonostante l'importanza di questa struttura nella trasmissione delle informazioni acustiche, assai ridotti sono i dati relativi alla citoarchitettura e le caratteristiche neurochimiche del corpo genicolato mediale nei Cetacei. Per questo motivo, è stata condotta la presente ricerca utilizzando come specie di riferimento il tursiope (*Tursiops truncatus*). In particolare, nel corpo genicolato mediale di questa specie sono state studiate le caratteristiche citoarchitettoniche (con particolare riferimento alla morfologia ed alle dimensioni dei neuroni) e l'espressione della calbindina-D28k.



# **3. MATERIALI E METODI**



### **3.1. ANIMALI E FISSAZIONE**

Per questo lavoro sono stati utilizzati i corpi genicolati mediali di tre esemplari di tursiope (*Tursiops truncatus*). Tale materiale è stato fornito dalla Banca dei Tessuti per i Mammiferi Marini del Mediterraneo del Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione dell'Università degli Studi di Padova. Da ciascun soggetto sono stati prelevati i corpi genicolati che, inseguito, sono stati fissati per immersione in parformaldeide al 4% tamponata (pH 7,4), per almeno settantadue ore. Tale materiale, dopo opportuno lavaggio in tampone fosfato (PBS pH 7,4), è stato crioprotetto in saccarosio al 30% in PBS (pH 7,4) ed, infine, tagliato al microtomo congelatore in sezioni coronali dello spessore medio di 80 µm. Le sezioni ottenute sono state in parte colorate mediante tecniche di istologia classica (colorazione con la tionina) ed in parte sottoposte a specifiche reazioni di immunoperossidasi.

### **3.2. TECNICHE DI COLORAZIONE**

#### **3.2.1. Tionina**

Con l'utilizzo di questa tecnica si ottiene una colorazione dei corpi di Nissl o sostanza tigroide, ovvero quella sostanza formata da piccole masserelle di reticolo endoplasmatico rugoso presente all'interno del citoplasma del neurone. Il metodo che "macchia" i corpi di Nissl risulta molto efficace come tecnica quantitativa per misurare le cellule, poiché colora tutti i somi aspecificamente (Najdzion J., et al., 2011).

Dopo aver raccolto le sezioni su vetrini gelatinizzati, il tessuto è stato progressivamente idratato mediante la serie decrescente degli alcoli (1 ora in una soluzione 1:1 alcol 100°/cloroformio, 2× 2 minuti in alcol 100°, 2 minuti in alcol 95°, 2 minuti in alcol 90°, 2 minuti in alcol 80°, 2 minuti in alcol 70° e 2 minuti in alcol 50°), fino all'acqua distillata (per 2 minuti). In seguito le sezioni sono state colorate per 20 minuti con tionina (0.125% thionin; Fisher Scientific). Dopo opportuno lavaggio in acqua distillata, le sezioni sono state disidratate mediante la serie crescente degli alcoli (50°, 75°, 80°, 90°, 95° e 100°) e quindi chiarificate in xilolo. In seguito è stata eseguita la chiusura dei vetrini impiegando come montante l'entellan (Merk, Darmstadt, Germany).

### 3.2.2. Immunoperossidasi

Tale procedura è stata eseguita su sezioni *free-floating*. Al fine di eliminare l'attività delle perossidasi endogene le sezioni sono state trattate con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> all'1% in PBS per 15 minuti a temperatura ambiente e quindi risciacquate in PBS (3 x 10 minuti). Dopo opportuni lavaggi in PBS (6 lavaggi da 5 minuti ciascuno), le sezioni sono state incubate per due ore a temperatura ambiente in una soluzione contenente il 10% di normal goat serum (Colorado Serum, Denver, CO, #CS 0922) e il 0.5% di Triton X-100 (Merck, Darmstadt), al fine di bloccare i legami non specifici. Per evidenziare i neuroni calbindina-D28k immunoreattivi, le sezioni sono state incubate per 48 ore a 4°C con l'anticorpo primario rabbit anti-calbindina-D28k (diluizione 1:1000; Swant, codice CB 38A) per due notti. Dopo lavaggio in PBS (3 x 10 minuti), le sezioni sono state incubate per 2 ore a temperatura ambiente con l'anticorpo secondario biotinilato goat anti-rabbit (diluizione 1:200; codice BA-9200, Vector Laboratories, Burlingame, CA). E' seguito l'opportuno lavaggio in PBS (3 x 10 minuti). Le sezioni sono state, quindi, trasferite nel complesso avidina-biotina (ABC kit Vectastain, PK-6100, Vector, Laboratories, Burlingame, CA) per 45 minuti e rilavate in PBS. Infine la reazione dell'immunoperossidasi è stata sviluppata impiegando la 3,3'-diaminobenzidina (DAB kit, SK-4100, Vector, Laboratories, Burlingame, CA). Le sezioni, quindi, sono state, disidratate in alcool (50°, 75°, 80°, 90°, 95° e 100°), chiarificate in xilolo e montate utilizzando Entellan (Merck, Darmstadt, Germany).

Gli anticorpi primari utilizzati sono stati diluiti in *antibody diluent* (1.8% NaCl in PBS 0.01 M contenente lo 0.1% di sodium azide) contenente l'1% di *normal goat serum* e lo 0.5% di Triton-X100. Gli anticorpi secondari impiegati sono stati diluiti in PBS contenente l'1% di *normal goat serum* e lo 0,5% di Triton X-100.

### 3.3. ANALISI DELLE SEZIONI

Le sezioni colorate con la tionina e processate con la tecnica dell'immunoperossidasi sono state analizzate usando un microscopio Zeiss Axioplan (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany). L'analisi morfometrica sia dei neuroni colorati con la tionina sia di quelli immunoreattivi per la calbindina-D28k è stata eseguita impiegando il software KS 300 Zeiss (KontronElektronik, Germany). Le aree dei corpi cellulari, espresse come media ± deviazione standard (DS), sono state misurate dopo averne tracciato manualmente il

profilo. Le immagini, acquisite in formato digitale usando la fotocamera digitale Polaroid DMC (Polaroid Corporation, Cambridge, MA) ed il software DMC2, sono state, in seguito, processate usando il software Adobe Photoshop (Adobe System 10, San Jose, CA).



# 4. RISULTATI



## 4.1. TURSIOPE

### 4.1.1. Colorazione con la tionina

#### *Corpo genicolato mediale*

Il corpo genicolato mediale si presenta come un rilievo rotondeggiante situato bilateralmente ai margini laterali del terzo ventricolo del diencefalo. Tale struttura, più precisamente, si presenta situata ventro-lateralmente al talamo, in prossimità del pulvinar.

Nel corpo genicolato mediale di tursiope, in base alla densità di distribuzione dei neuroni, si possono evidenziare due nuclei principali, il ventro-laterale ed il dorso-mediale, tra loro separati mediante fasci di fibre. Nel nucleo ventro-laterale i neuroni presenti appaiono più densamente stipati che in quello dorso-mediale. Entrambi i nuclei, in particolare quello ventro-laterale, possono essere attraversati da fasci di fibre.

Nel complesso il corpo genicolato mediale contiene neuroni che hanno un'area media del pirenoforo di  $239,04 \pm 42,80 \mu\text{m}^2$  (Tabella 1). Da un punto di vista morfologico tali cellule possono essere suddivise in fusiformi, a fiasco, sferoidali e poligonali.

I *neuroni fusiformi* sono riconoscibili in quanto mostrano un corpo cellulare decisamente affusato (Figure 1, 2 e 3). Essi costituiscono circa il 2% dei neuroni presenti (numero neuroni fusiformi/numero totale neuroni =  $370/16.626$ ) e mostrano un'area media del corpo cellulare di  $180,27 \pm 74,77 \mu\text{m}^2$  (area minima di  $64,64 \mu\text{m}^2$ ; area massima di  $492,23 \mu\text{m}^2$ ).

I *neuroni a fiasco* presentano un pirenoforo che, come dice il nome stesso, mostra la forma di fiasco (Figura 4); questa tipologia rappresenta solo lo 0,77% dei neuroni presenti (numero neuroni a fiasco/numero totale neuroni =  $128/16.626$ ) e mostra un'area media del corpo cellulare di  $204,58 \pm 58,67 \mu\text{m}^2$  (area minima di  $71,69 \mu\text{m}^2$ ; area massima di  $347,01 \mu\text{m}^2$ ).

I *neuroni sferoidali*, invece, rappresentano l'1,34% dei neuroni totali (numero neuroni sferoidali/numero totale neuroni =  $223/16.626$ ) e mostrano un pirenoforo rotondeggiante, facilmente riconoscibile (Figure 5 e 6). L'area media del soma di tali cellule risulta essere di  $156,89 \pm 46,38 \mu\text{m}^2$  (area minima di  $74,22 \mu\text{m}^2$ ; area massima di  $311,94 \mu\text{m}^2$ ).

I *neuroni poligonali*, infine, sono distinguibili in quanto possiedono un corpo cellulare provvisto di almeno tre lati (Figure 7 e 8). Tali cellule rappresentano la quasi totalità dei neuroni presenti nel corpo genicolato mediale, ovvero più del 95% (numero neuroni poligonali/numero totale neuroni =  $15.830/16.626$ ), e mostrano un'area media del

corpo cellulare di  $235,42 \pm 101,38 \mu\text{m}^2$  (area minima di  $64,15 \mu\text{m}^2$ ; area massima di  $755,13 \mu\text{m}^2$ ).

I dati relativi alla distribuzione ed alla morfologia dei neuroni presenti nel corpo genicolato mediale sono riassunti nella Tabella 1.

**Tabella 1.** Distribuzione e caratteristiche morfologiche dei neuroni presenti nel corpo genicolato mediale del tursiope (*n*: numero dei neuroni misurati).

<b>Tipo cellulare</b>	<b>Distribuzione percentuale</b>	<b>Area media (<math>\mu\text{m}^2</math>) <math>\pm</math> DS</b>	<b>Area minima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Area massima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
Poligonali	95,21%	$235.42 \pm 101.38$ <i>n</i> = 300	64.15	755.13
Sferoidali	1,34%	$156.89 \pm 46.38$ <i>n</i> = 140	74.22	311.94
Fusiformi	2,23%	$180.27 \pm 74.77$ <i>n</i> = 150	64.64	492.23
A fiasco	0,77%	$204.58 \pm 58.67$ <i>n</i> = 150	71.69	347.01

In ciascun nucleo i neuroni poligonali rappresentano sempre la quasi totalità delle cellule presenti; infatti, tali neuroni costituiscono circa il 95% ed il 96% della popolazione neuronale rispettivamente nei nuclei ventro-laterale (Tabella 2) e dorso-mediale (Tabella 3). Anche i neuroni a fiasco mostrano una distribuzione percentuale (inferiore all'1%) simile nei due nuclei. I neuroni sferoidali e fusiformi, come riportato nelle Tabelle 2 e 3, sono leggermente più rappresentati nel nucleo ventro-laterale che in quello dorso-mediale.

Tra i due nuclei esistono differenze circa l'area media delle differenti tipologie neuronali. Nel nucleo ventro-laterale i neuroni che presentano l'area media del corpo cellulare più elevata corrispondono alla tipologia poligonale (Tabella 2). Nel nucleo dorso-mediale, invece, i neuroni con l'area media del pirenoforo più elevata corrispondono alla tipologia a fiasco i quali, rispetto agli omologhi presenti nel nucleo ventro-laterale, risultano essere di dimensioni decisamente maggiori (Tabelle 2 e 3). Un'altra differenza degna di nota riguarda le dimensioni del corpo cellulare dei neuroni fusiformi, le quali sono più elevate nel nucleo ventro-laterale che in quello dorso-mediale (Tabelle 2 e 3).

**Tabella 2.** Distribuzione e caratteristiche morfologiche dei neuroni presenti nel nucleo ventro-laterale del corpo genicolato mediale di tursiope (*n*: numero dei neuroni misurati).

<b>Tipo cellulare</b>	<b>Distribuzione percentuale</b>	<b>Area media (<math>\mu\text{m}^2</math>) <math>\pm</math> DS</b>	<b>Area minima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Area massima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
Poligonali	94.80%	257.43 $\pm$ 112.23 <i>n</i> = 150	79.86	755.13
Sferoidali	1.40%	155.50 $\pm$ 48.26 <i>n</i> = 65	77.71	311.94
Fusiforimi	2.53%	207.08 $\pm$ 85.20 <i>n</i> = 75	68.36	492.23
A fiasco	0.66%	203.67 $\pm$ 58.51 <i>n</i> = 75	80.37	347.01

**Tabella 3.** Distribuzione e caratteristiche morfologiche dei neuroni presenti nel nucleo dorso-mediale del corpo genicolato mediale di tursiope (*n*: numero dei neuroni misurati).

<b>Tipo cellulare</b>	<b>Distribuzione percentuale</b>	<b>Area media (<math>\mu\text{m}^2</math>) <math>\pm</math> DS</b>	<b>Area minima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Area massima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
Poligonali	95.69%	213.42 $\pm$ 83.98 <i>n</i> = 150	64.15	562.2
Sferoidali	1.28%	158.08 $\pm$ 44.99 <i>n</i> = 75	74.22	288.17
Fusiforimi	1.87%	153.46 $\pm$ 50.40 <i>n</i> = 75	64.64	302.81
A fiasco	0.89%	339.14 $\pm$ 59.20 <i>n</i> = 75	71.69	339.14

#### 4.1.2. Immunoperossidasi: calbindina-d28k

Il corpo genicolato mediale di tursiope mostra una moderata densità di neuroni immunoreattivi per la calbindina-D28k. Queste cellule possono essere suddivise nelle quattro principali tipologie morfologiche osservate nelle sezioni colorate con la tionina: fusiformi, a fiasco, sferoidali e poligonali.

I *neuroni fusiformi*, che mostrano il soma affusato, rappresentano quasi l'1% dei neuroni presenti (numero neuroni piriformi/numero totale neuroni = 20/2.346) e sono caratterizzati da un'area media del corpo cellulare di  $209,21 \pm 55,53 \mu\text{m}^2$  (area minima di  $105,43 \mu\text{m}^2$ ; area massima di  $367,2 \mu\text{m}^2$ ). Dai poli opposti del pirenoforo, in genere, emerge un dendrite primario piuttosto evidente (Figura 9).

I *neuroni a fiasco*, che rappresentano lo 0,89% della popolazione neuronale (numero neuroni ovoidali/numero totale neuroni = 21/2.371), mostrano un soma con la forma di fiasco avente un'area media di  $299,91 \pm 81,25 \mu\text{m}^2$  (area minima di  $121,83 \mu\text{m}^2$ ; area massima di  $504,33 \mu\text{m}^2$ ). Tali cellule mostrano in genere 1 o 2 dendriti primari visibili (Figura 10).

I *neuroni sferoidali*, che rappresentano l'1,18% dei neuroni presenti (numero neuroni sferoidali/numero totale neuroni = 28/2.371), hanno un corpo cellulare rotondeggiante con un'area media di  $198,46 \pm 58,02 \mu\text{m}^2$  (area minima di  $95,98 \mu\text{m}^2$ ; area massima di  $318,64 \mu\text{m}^2$ ). Il numero di dendriti primari visibili è pari a 1 o 2, anche se, in qualche caso, se ne osservano 3 o 4, soprattutto nel nucleo dorso-mediale (Figura 11).

I *neuroni poligonali* sono le cellule più numerose, rappresentando il 97% (numero neuroni poligonali/numero totale neuroni = 2.290/2.371) dei neuroni presenti. Essi mostrano un corpo cellulare provvisto di almeno tre lati, con un'area media di  $251,29 \pm 79,02 \mu\text{m}^2$  (area minima di  $68,37 \mu\text{m}^2$ ; area massima di  $473,48 \mu\text{m}^2$ ) e dal quale originano da 3 a 5 (in qualche caso 6) dendriti primari di calibro simile (Figure 12, 13 e 14).

I dati relativi alla distribuzione ed alla morfologia dei neuroni calbindina-D28k-immunoreattivi presenti nel corpo genicolato mediale sono riassunti nella Tabella 4.

**Tabella 4.** Distribuzione e caratteristiche morfologiche dei neuroni calbindina-D28k-immunoreattivi presenti nel corpo genicolato mediale di tursiope (*n*: numero dei neuroni misurati).

<b>Tipo cellulare</b>	<b>Distribuzione percentuale</b>	<b>Area media (<math>\mu\text{m}^2</math>) <math>\pm</math> DS</b>	<b>Area minima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Area massima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
Poligonali	96.58%	251.29 $\pm$ 79.02 <i>n</i> = 270	68.37	473.48
Sferoidali	1.18%	198.46 $\pm$ 58.02 <i>n</i> = 105	95.98	318.64
Fusiforimi	0.84%	209.21 $\pm$ 55.53 <i>n</i> = 100	105.43	367.2
A fiasco	0.89%	299.91 $\pm$ 81.25 <i>n</i> = 95	121.83	504.33

La distribuzione percentuale delle differenti tipologie neuronali è del tutto simile nei due nuclei del corpo genicolato mediale (Tabelle 5 e 6). I neuroni poligonali, sferoidali e fusiformi presenti nel nucleo ventro-laterale hanno dimensioni assai simili a quelli della tipologia corrispondente presenti nel nucleo dorso-mediale. Solo i neuroni a fiasco mostrano dimensioni del loro pirenoforo più elevate nel nucleo dorso-mediale che in quello ventro-laterale (Tabelle 5 e 6).

**Tabella 5.** Distribuzione e caratteristiche morfologiche dei neuroni calbindina-D28k-immunoreattivi presenti nel nucleo ventro-laterale del corpo genicolato mediale di tursiope (*n*: numero dei neuroni misurati).

<b>Tipo cellulare</b>	<b>Distribuzione percentuale</b>	<b>Area media (<math>\mu\text{m}^2</math>) <math>\pm</math> DS</b>	<b>Area minima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Area massima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
Poligonali	93.32%	257.96 $\pm$ 73.48 <i>n</i> = 120	106.9	445.66
Sferoidali	1.35%	201.39 $\pm$ 52.53 <i>n</i> = 45	95.98	318.64
Fusiforimi	0.81%	204.63 $\pm$ 52.60 <i>n</i> = 40	105.43	350.4
A fiasco	0.81%	280.13 $\pm$ 77.25 <i>n</i> = 35	121.83	418.1

**Tabella 6.** Distribuzione e caratteristiche morfologiche dei neuroni calbindina-D28k-immunoreattivi presenti nel nucleo dorso-mediale del corpo genicolato mediale di tursiope (*n*: numero dei neuroni misurati).

<b>Tipo cellulare</b>	<b>Distribuzione percentuale</b>	<b>Area media (<math>\mu\text{m}^2</math>) <math>\pm</math> DS</b>	<b>Area minima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Area massima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
Poligonali	96.82%	245.96 $\pm$ 83.05 <i>n</i> = 150	68.37	473.48
Sferoidali	1.03%	196.26 $\pm$ 62.16 <i>n</i> = 60	96.61	312.05
Fusiformi	0.87%	212.26 $\pm$ 57.63 <i>n</i> = 60	105.5	367.2
A fiasco	0.95%	313.75 $\pm$ 81.05 <i>n</i> = 60	139.78	504.33

#### **4.2. MORFOLOGIA DEI NEURONI PRESENTI NEL CORPO GENICOLATO MEDIALE DI TURSIOPE: SIMILITUDINI CON IL BOVINO**

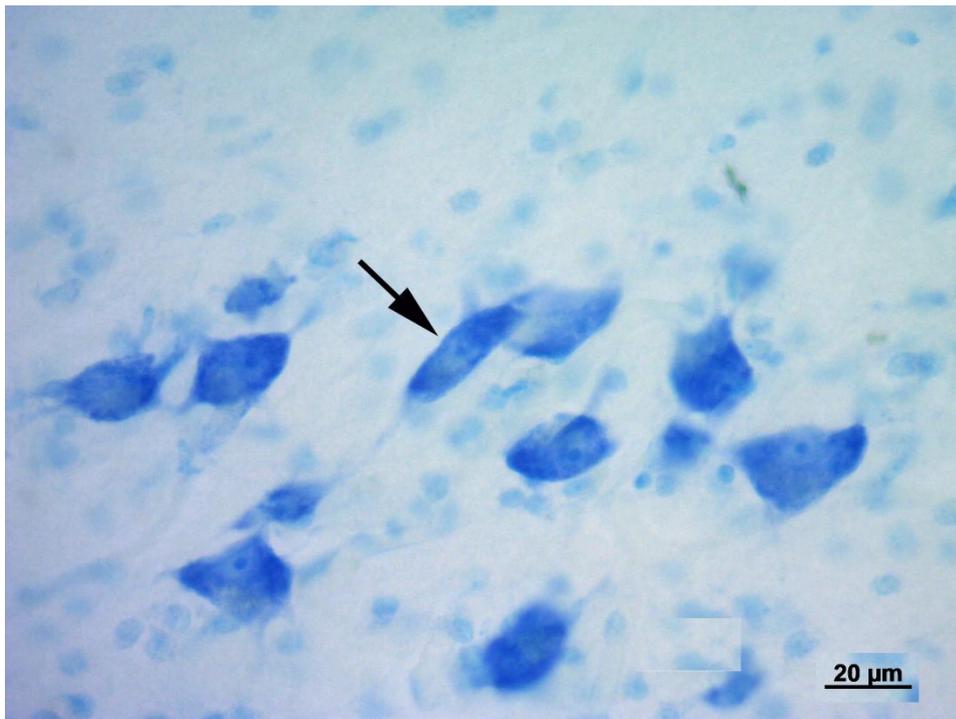
Nel tursiope, la morfologia dei neuroni presenti nel corpo genicolato mediale evidenziata sia mediante la colorazione con la tionina sia tramite l'immunoperossidasi (immunoreattività per la calbindina-D28k) è corrispondente a quella presente nel bovino. Infatti, anche in quest'ultima specie, con entrambe le tecniche di colorazione, potevano essere osservati neuroni fusiformi, a fiasco, sferoidali e poligonali (Figure da 15 a 26; Tabelle 7 e 8). Lo scopo della presente tesi non era quello di analizzare in modo dettagliato la citoarchitettura e le caratteristiche neurochimiche del corpo genicolato mediale di bovino, di conseguenza, i dati morfologici ottenuti (mediante materiali e metodi del tutto identici a quelli descritti per il tursiope) in questa specie hanno avuto solo lo scopo di dimostrare come nel corpo genicolato mediale di in un Mammifero terrestre siano presenti tipologie di neuroni identiche a quelle descritte nel tursiope.

**Tabella 7.** Distribuzione e caratteristiche morfologiche dei neuroni presenti nel corpo genicolato mediale di bovino (*n*: numero dei neuroni misurati).

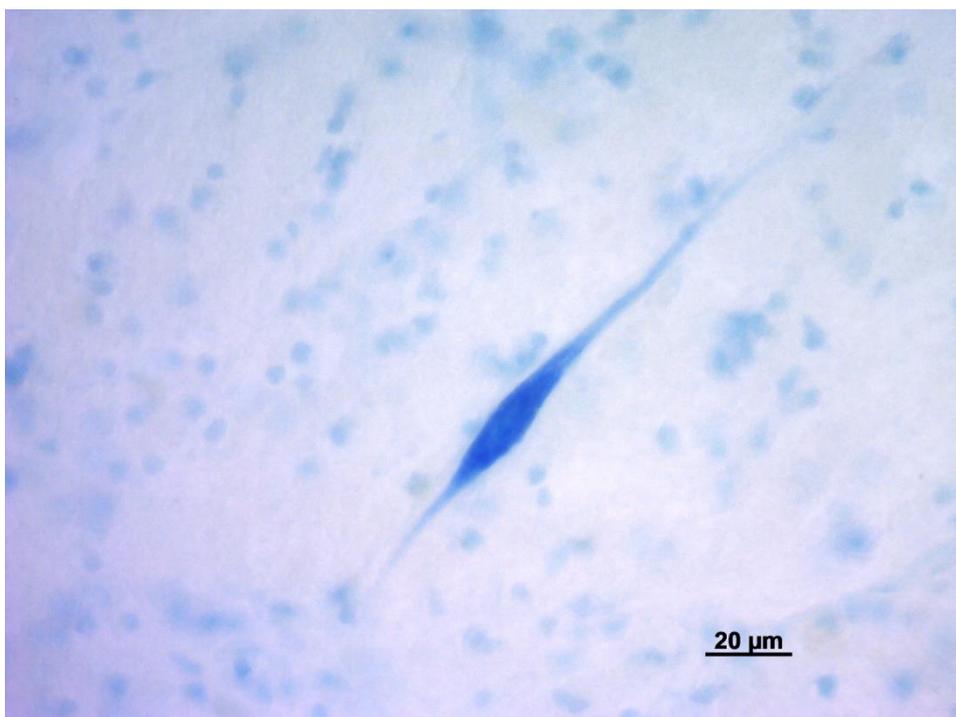
<b>Tipo cellulare</b>	<b>Distribuzione percentuale</b>	<b>Area media (<math>\mu\text{m}^2</math>) <math>\pm</math> DS</b>	<b>Area minima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Area massima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
Poligonali	90.98%	266.22 $\pm$ 64.23 <i>n</i> = 100	139.77	540.8
Sferoidali	2.46%	172.67 $\pm$ 42.82 <i>n</i> = 40	100.87	256.68
Fusiforimi	4.10%	216.06 $\pm$ 66.50 <i>n</i> = 40	95.01	394.72
A fiasco	2.46%	254.45 $\pm$ 55.18 <i>n</i> = 40	145.58	396.76

**Tabella 8.** Distribuzione e caratteristiche morfologiche dei neuroni calbindina-D28k-immunoreattivi presenti nel corpo genicolato mediale di bovino (*n*: numero dei neuroni misurati).

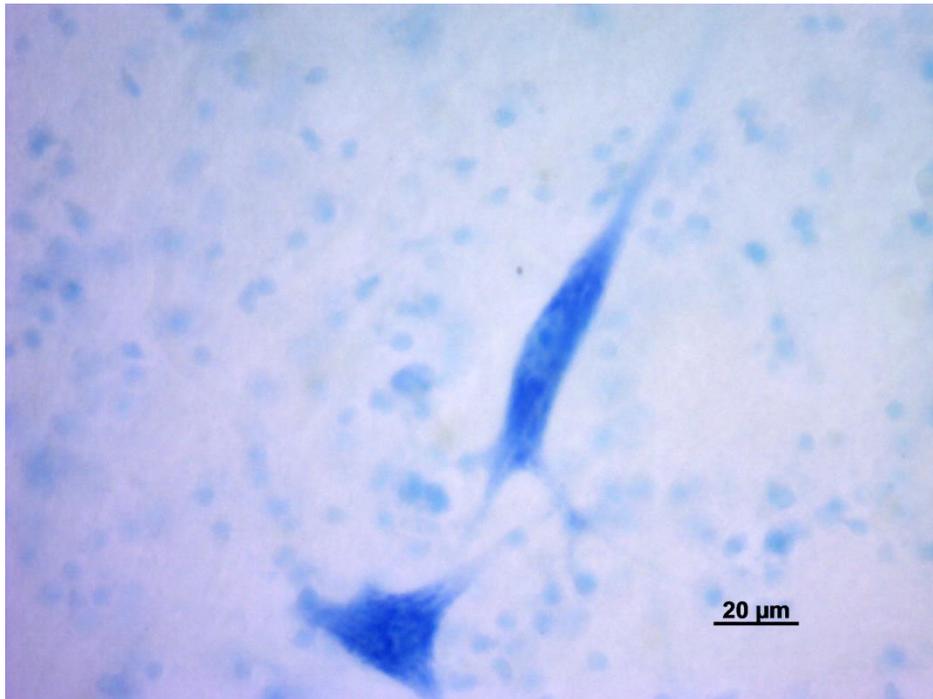
<b>Tipo cellulare</b>	<b>Distribuzione percentuale</b>	<b>Area media (<math>\mu\text{m}^2</math>) <math>\pm</math> DS</b>	<b>Area minima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>Area massima (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>
Poligonali	93.60%	202.48 $\pm$ 67.96 <i>n</i> = 100	72.6	365.98
Sferoidali	1.06%	173.86 $\pm$ 38.30 <i>n</i> = 40	109.77	310.15
Fusiforimi	3.19%	198.60 $\pm$ 52.11 <i>n</i> = 40	134.61	368.77
A fiasco	2.13%	234.15 $\pm$ 50.02 <i>n</i> = 40	144.33	368.64



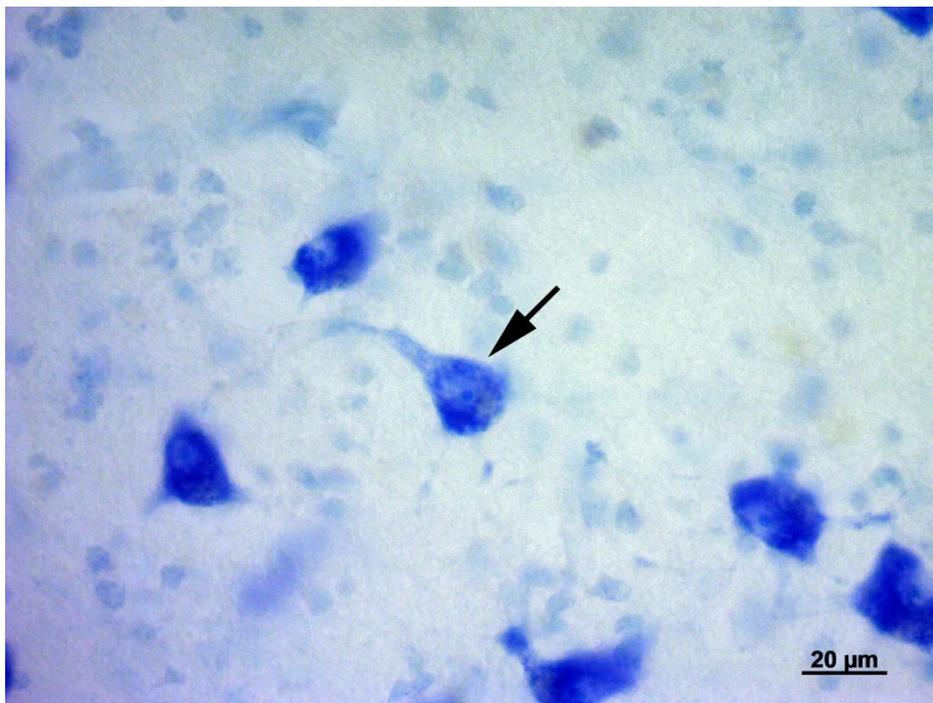
**Figura 1.** Neurone fusiforme (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: tionina.



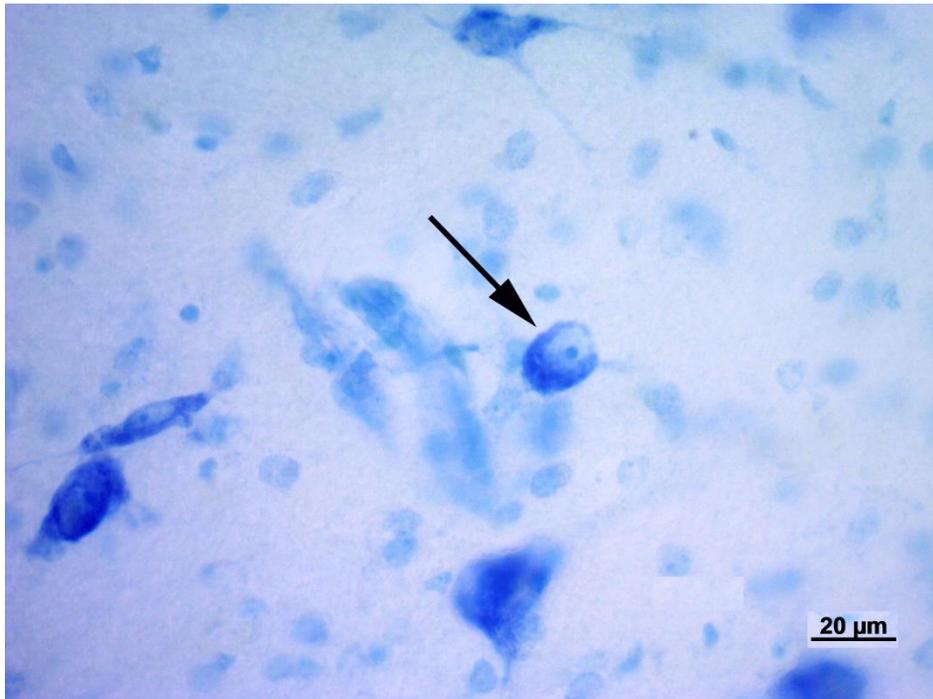
**Figura 2.** Neurone fusiforme (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: tionina.



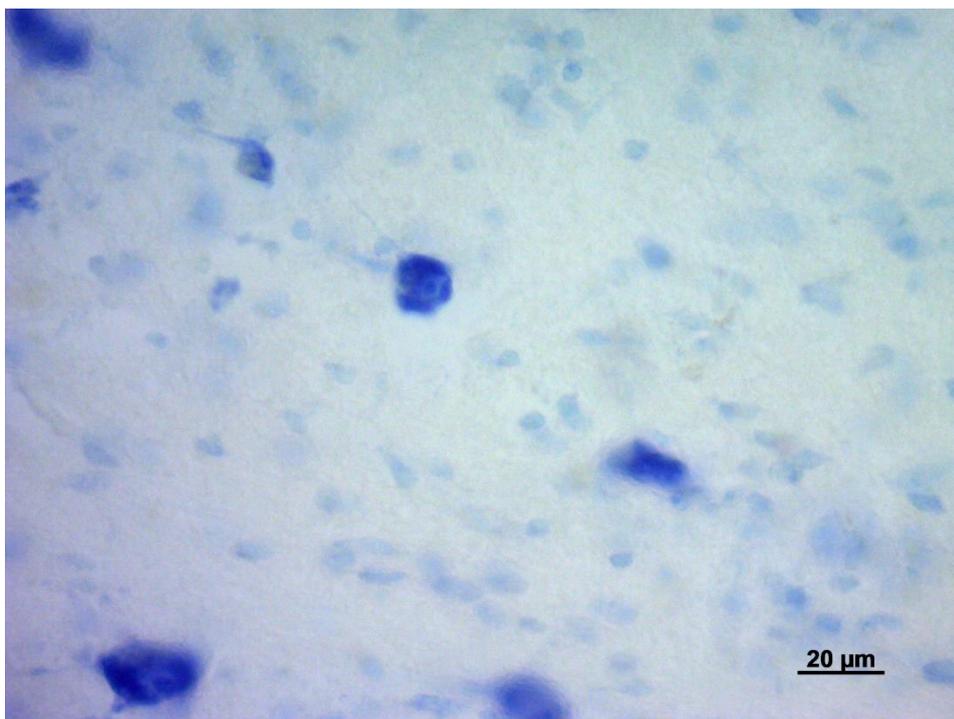
**Figura 3.** Neurone fusiforme presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: tionina.



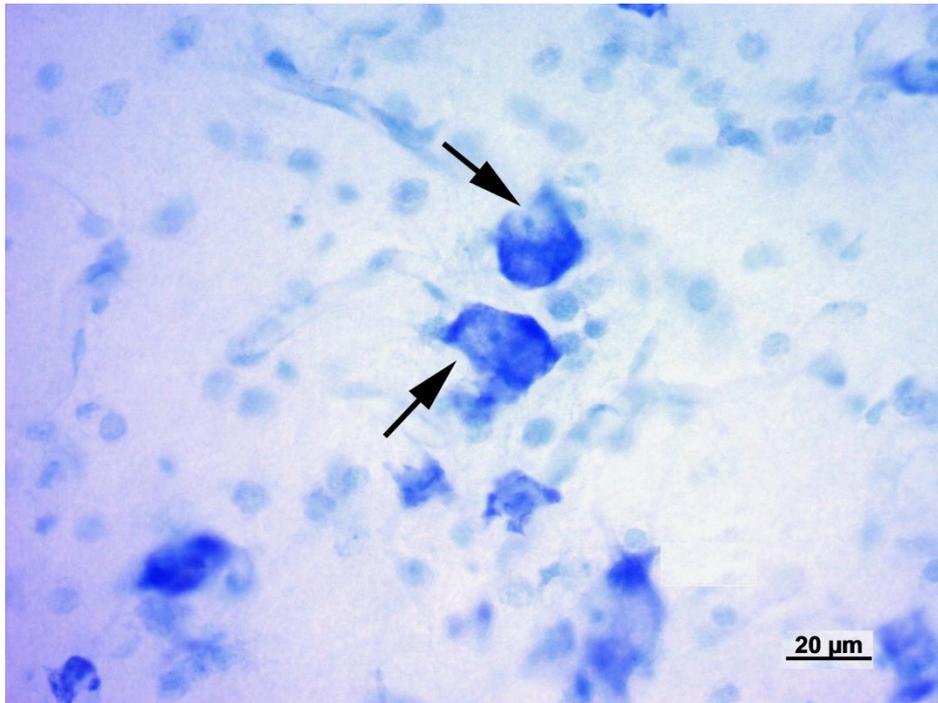
**Figura 4.** Neurone a fiasco (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: tionina.



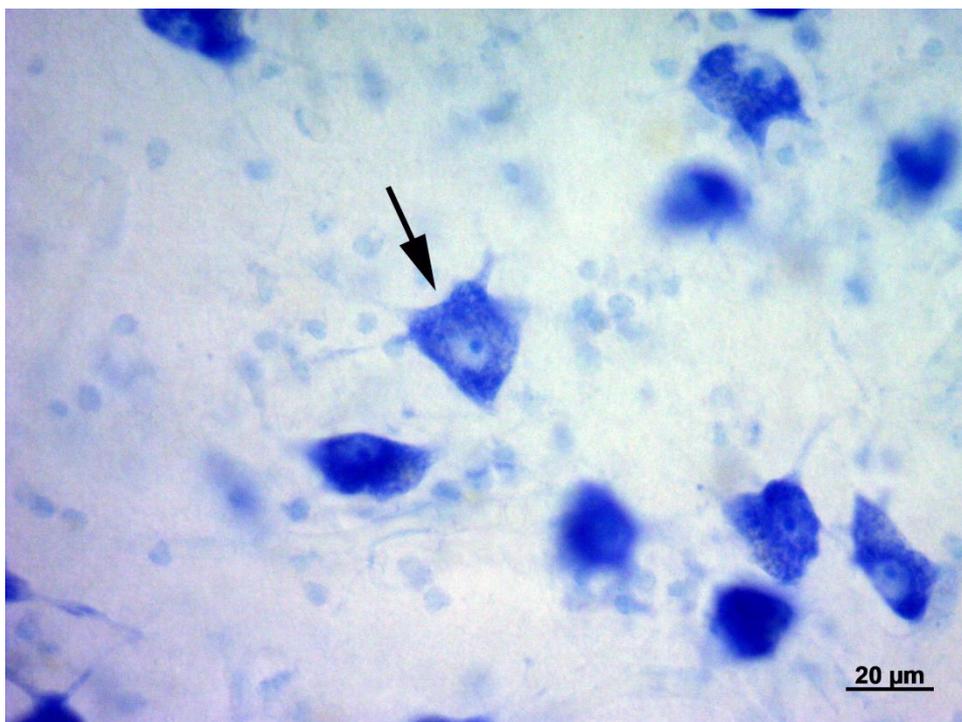
**Figura 5.** Neurone sferoidale (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: tionina.



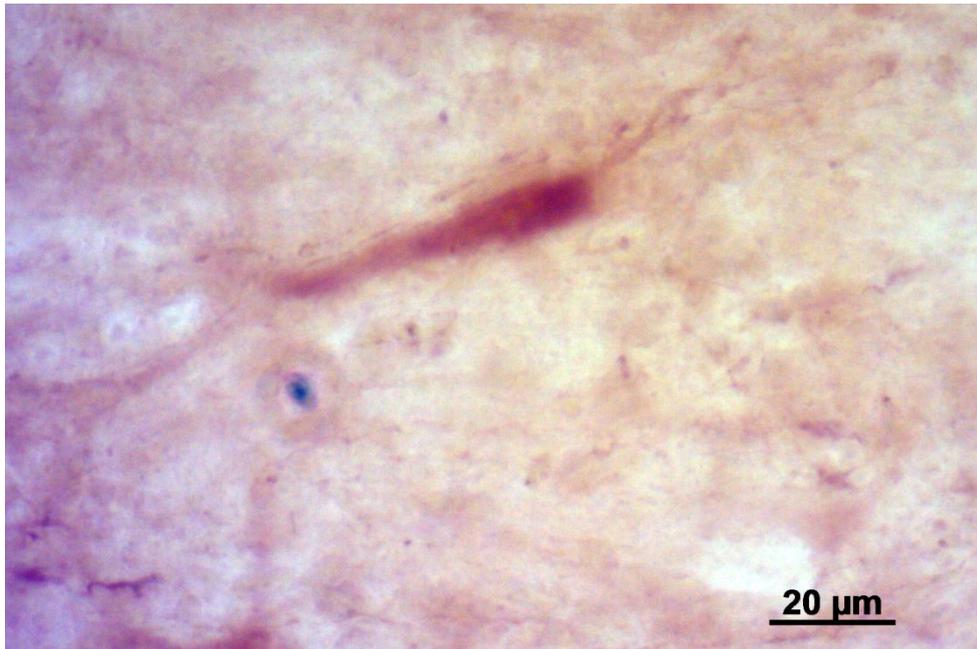
**Figura 6.** Neurone sferoidale presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: tionina.



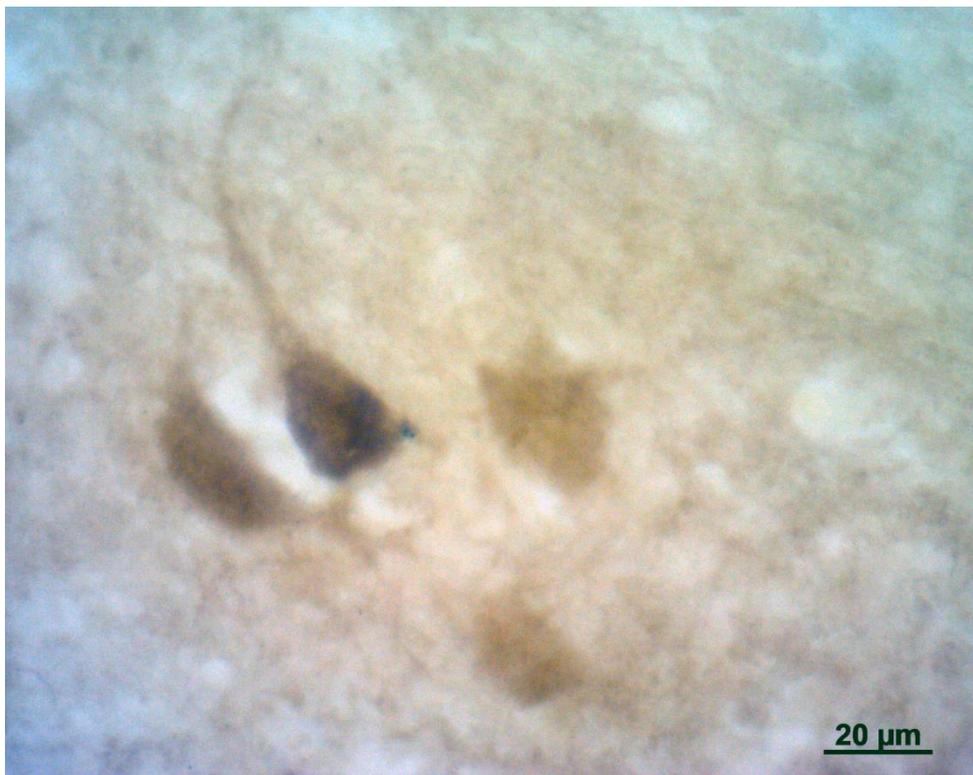
**Figura 7.** Neuroni poligonali (frecce) presenti nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: tionina.



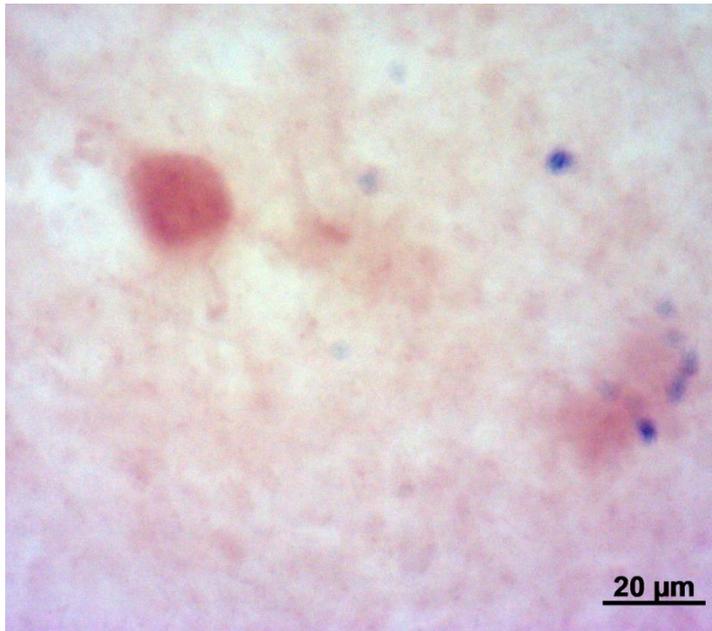
**Figura 8.** Neurone poligonale (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: tionina.



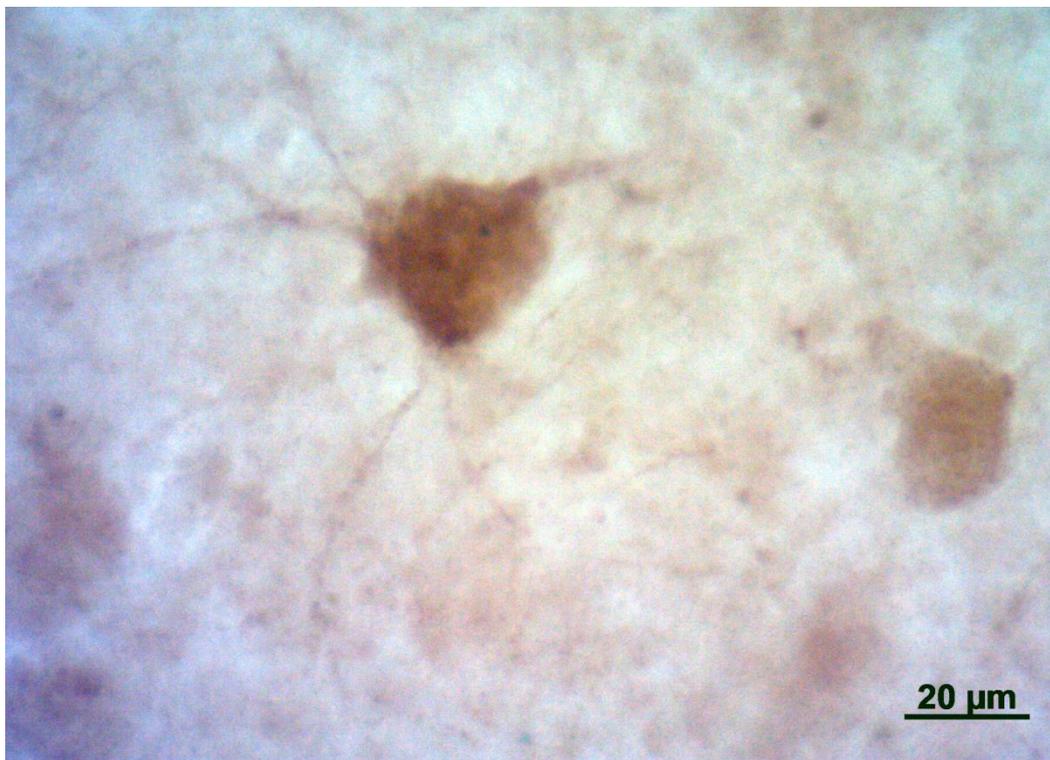
**Figura 9.** Neurone fusiforme immunoreattivo per la calbindina-D28k presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: immunoperossidasi.



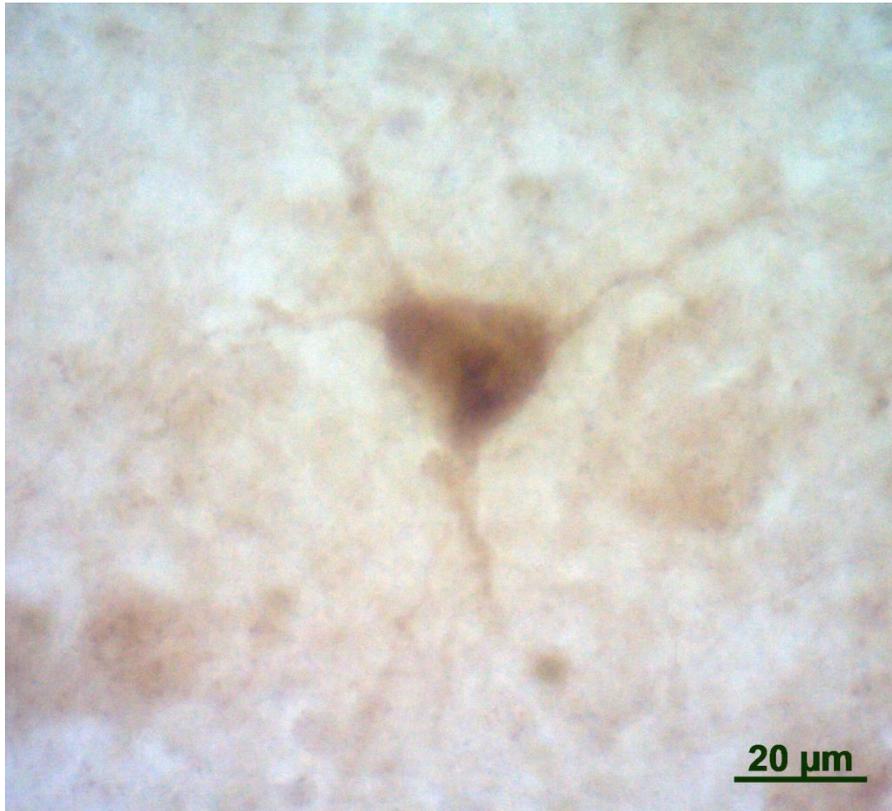
**Figura 10.** Neurone a fiasco immunoreattivo per la calbindina-D28k presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: immunoperossidasi.



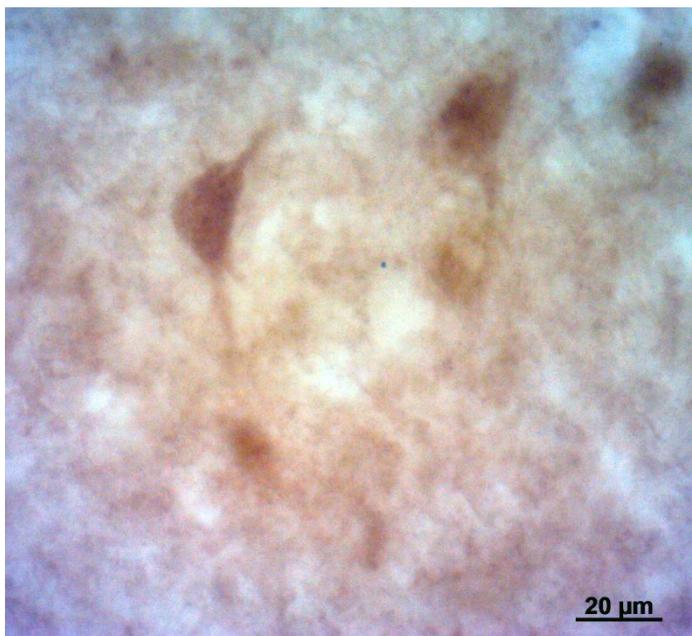
**Figura 11.** Neurone sferoidale immunoreattivo per la calbindina-D28k presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: immunoperossidasi.



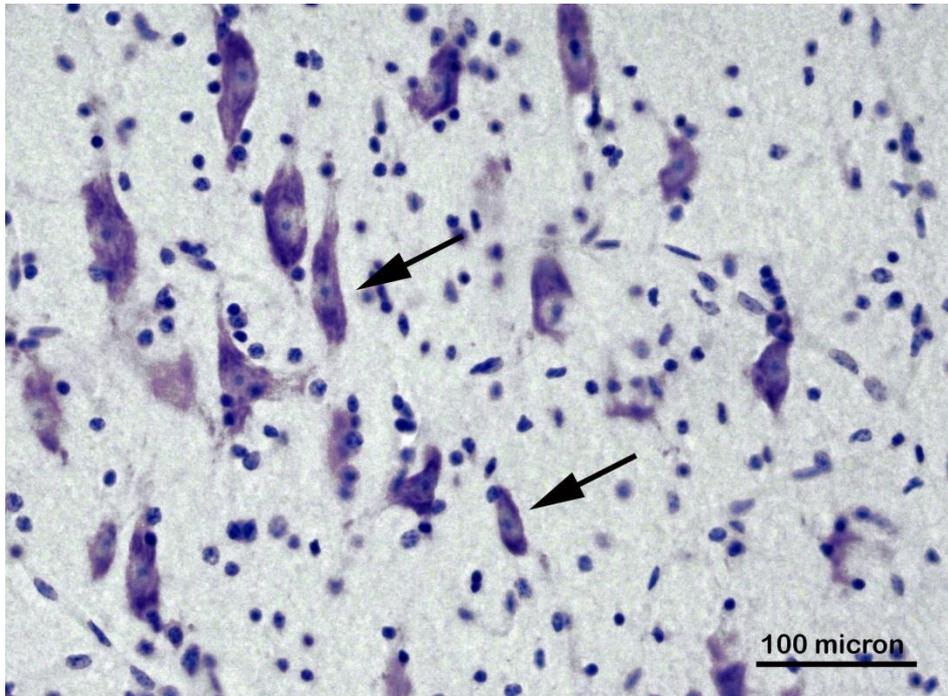
**Figura 12.** Neurone poligonale immunoreattivo per la calbindina-D28k presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: immunoperossidasi.



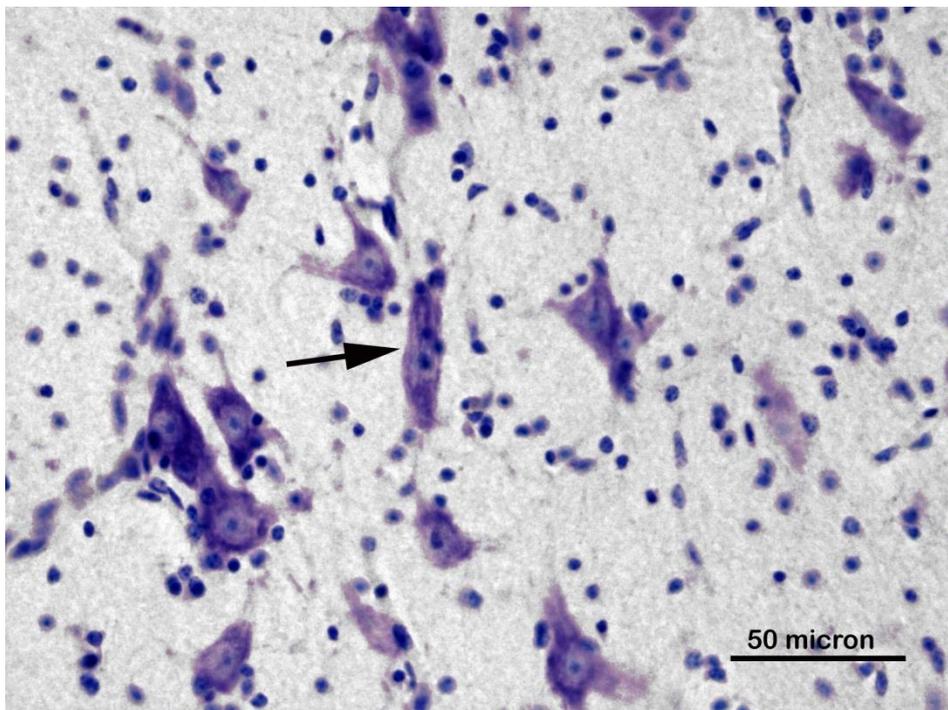
**Figura 13.** Neurone poligonale immunoreattivo per la calbindina-D28k presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: immunoperossidasi.



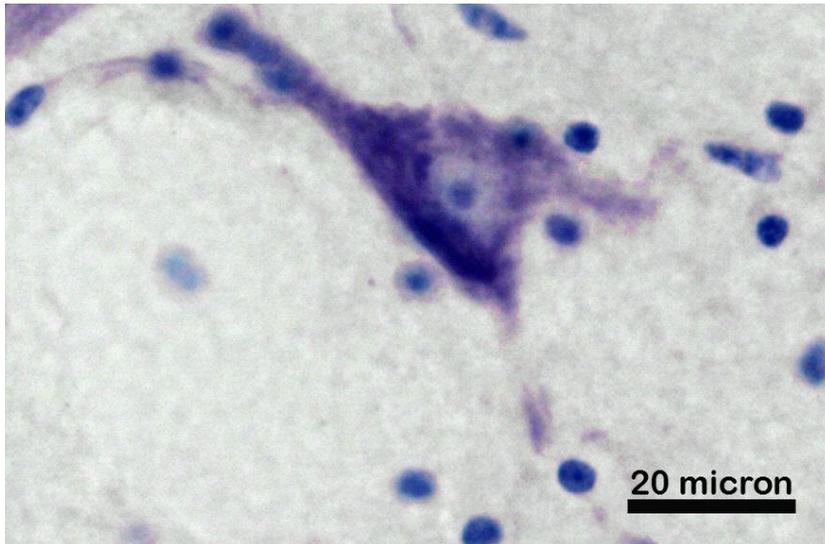
**Figura 14.** Neurone poligonale immunoreattivo per la calbindina-D28k presente nel corpo genicolato mediale di tursiope. Colorazione: immunoperossidasi.



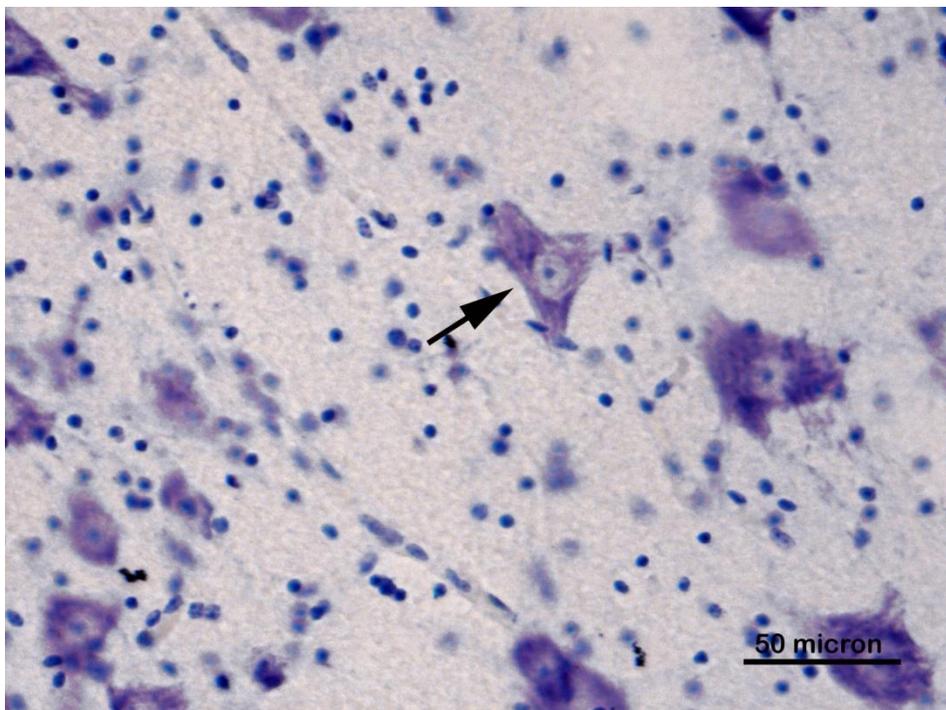
**Figura 15.** Neuroni fusiformi (freccie) presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: tionina.



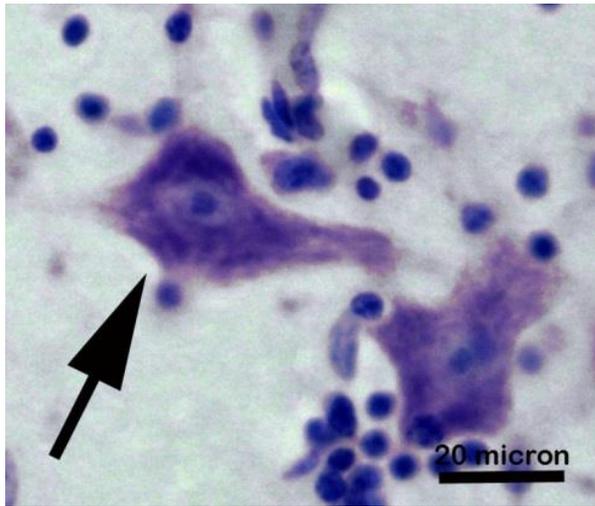
**Figura 16.** Neurone fusiforme (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: tionina.



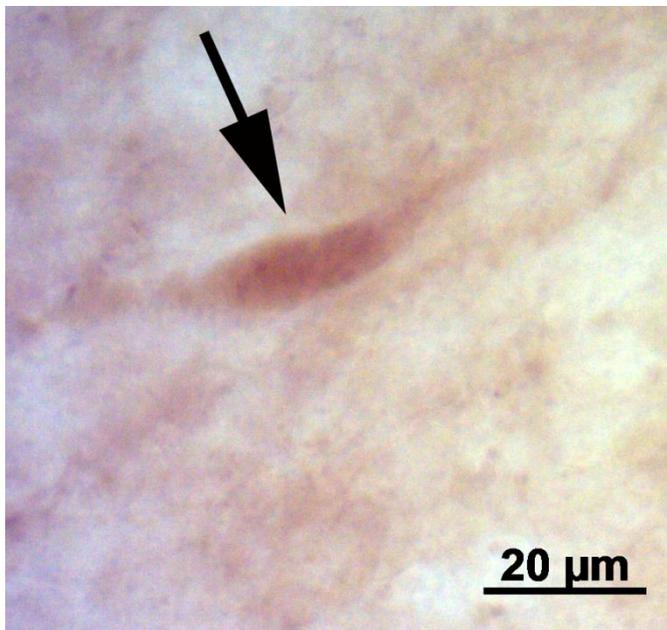
**Figura 17.** Neurone a fiasco presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: tionina.



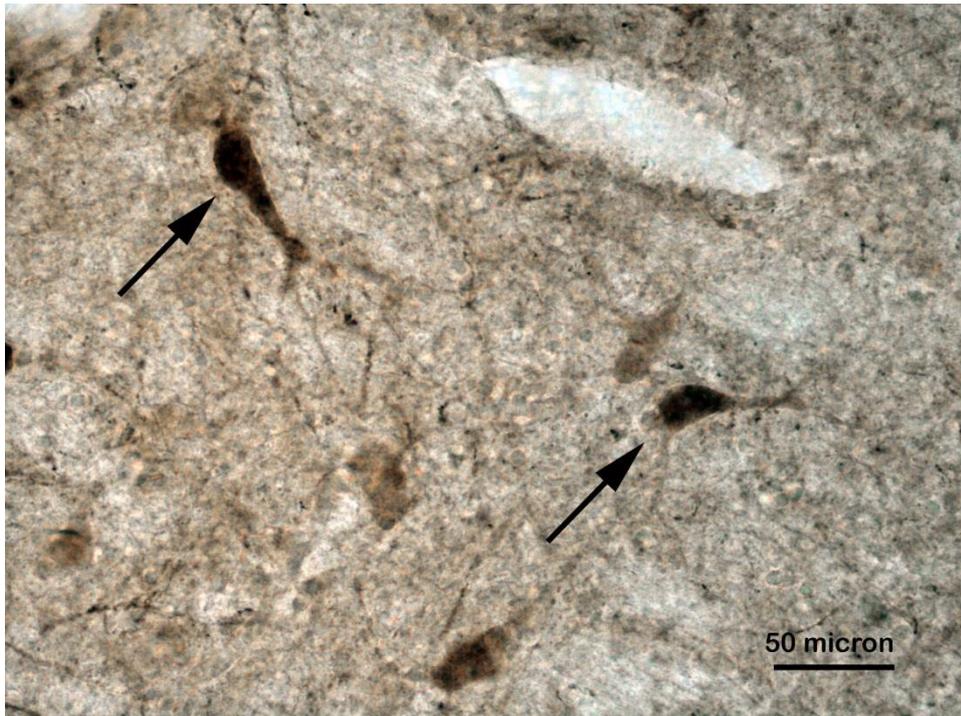
**Figura 18.** Neurone poligonale (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: tionina.



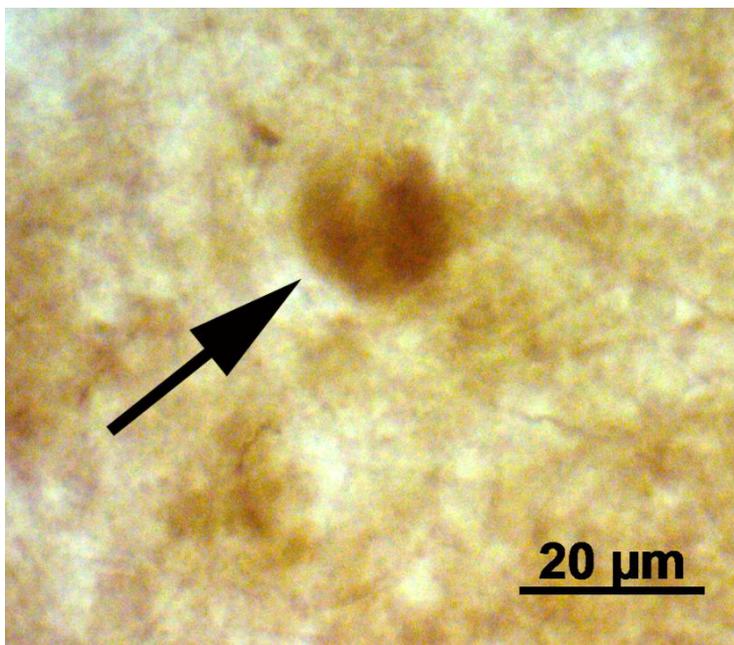
**Figura 19.** Neurone poligonale (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: tionina.



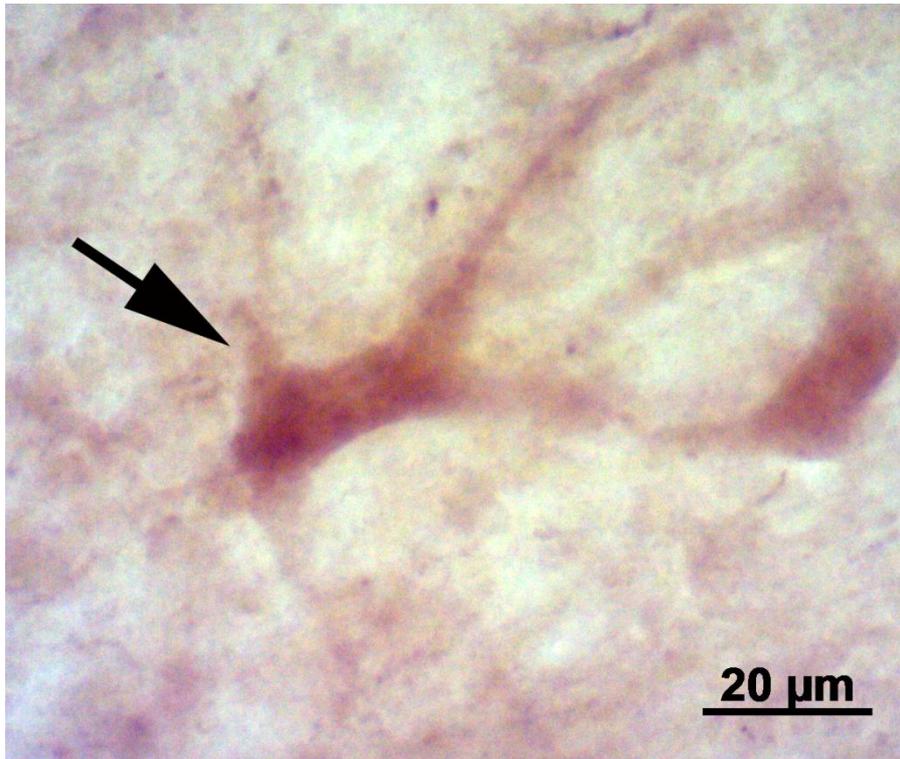
**Figura 20.** Neurone fusiforme immunoreattivo per la calbindina-D28k (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: immunoperossidasi.



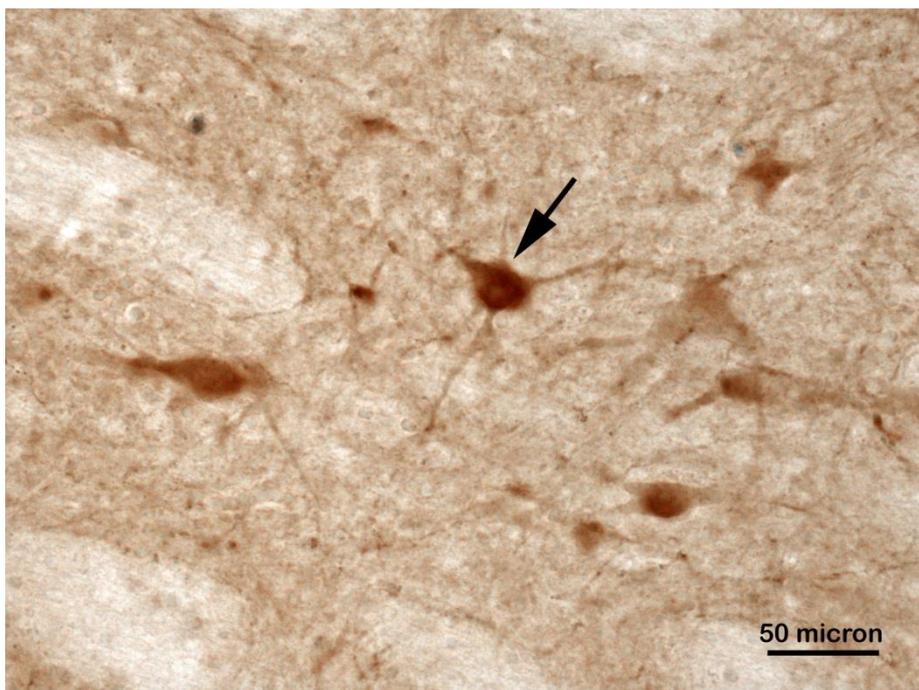
**Figura 21.** Neuroni a fiasco immunoreattivo per la calbindina-D28k (frece) presenti nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: immunoperossidasi.



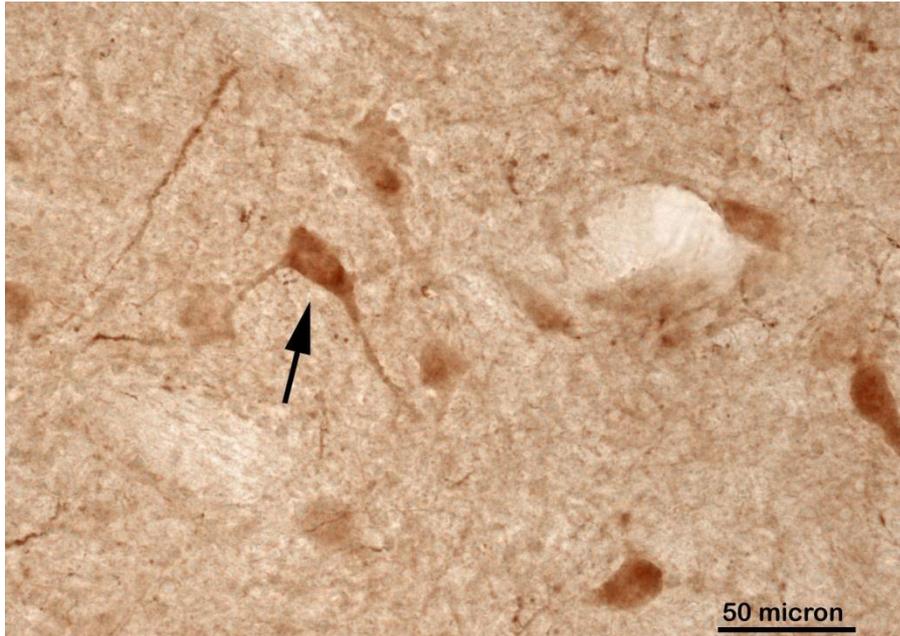
**Figura 22.** Neurone sferoidale immunoreattivo per la calbindina-D28k (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: immunoperossidasi.



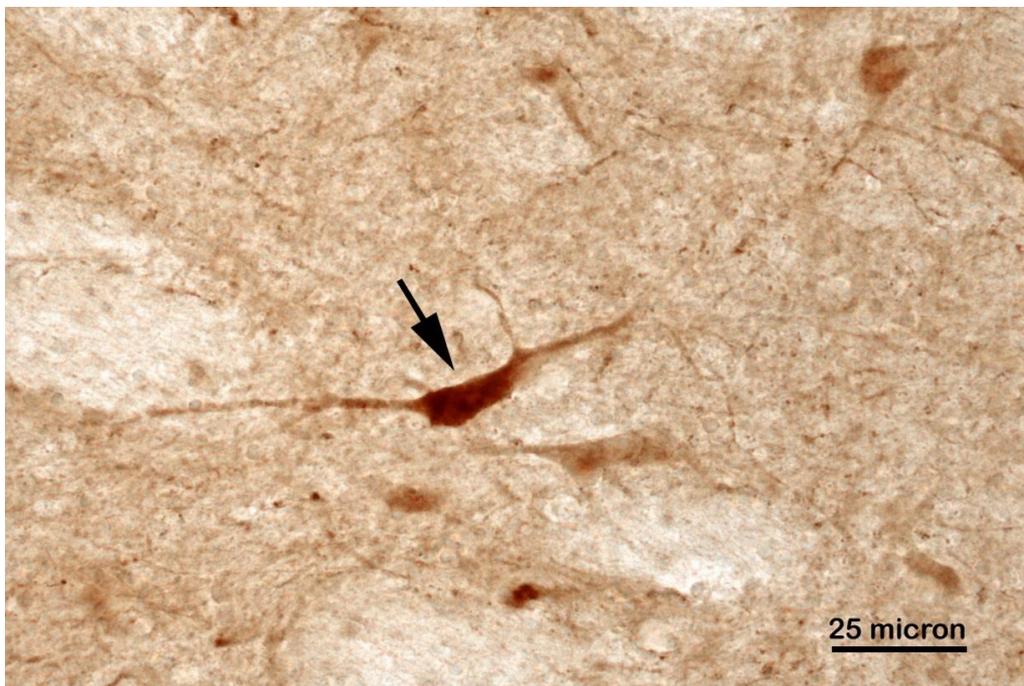
**Figura 23.** Neurone poligonale immunoreattivo per la calbindina-D28k (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: immunoperossidasi.



**Figura 24.** Neurone poligonale immunoreattivo per la calbindina-D28k (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: immunoperossidasi.



**Figura 25.** Neurone poligonale immunoreattivo per la calbindina-D28k (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: immunoperossidasi.



**Figura 26.** Neurone poligonale immunoreattivo per la calbindina-D28k (freccia) presente nel corpo genicolato mediale di bovino. Colorazione: immunoperossidasi.

# **5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI**



Il corpo genicolato mediale in numerosi Mammiferi terrestri è costituito da tre nuclei principali: mediale, ventrale e dorsale (*Malmierca e Merchán, 2004*). Nel corpo genicolato mediale di tursiope la presente ricerca non ha evidenziato tre, bensì due nuclei, quello ventro-laterale e quello dorso-mediale. Questi due nuclei appaiono tra loro separati dal fascio mediogenicolato derivante principalmente dal collicolo caudale. I due nuclei ventro-laterale e dorso-mediale potrebbero corrispondere, rispettivamente, ai nuclei ventrale e dorsale del corpo genicolato mediale dei Mammiferi terrestri. Infatti, come accade in questi ultimi, i neuroni fusiformi sono più rappresentati nella suddivisione ventro-laterale e quelli poligonali nella suddivisione dorso-mediale. In aggiunta, come si osserva nel nucleo ventrale dei Mammiferi terrestri, il nucleo ventro-laterale di tursiope mostra al suo interno numerosi fasci di fibre. Il nucleo mediale dei Mammiferi terrestri è di piccole dimensioni e viene denominato magnocellulare per la presenza di neuroni di grandi dimensioni (*Malmierca e Merchán, 2004*). Nel tursiope tale nucleo non è stato evidenziato distintamente, ma potrebbe corrispondere all'insieme dei neuroni di grandi dimensioni presenti nei nuclei ventro-laterale e dorso-mediale. Tali cellule, infatti, tendono ad essere più concentrate nella parte mediale dei due suddetti nuclei.

Facendo un'analisi comparativa è possibile evidenziare come i neuroni presenti nel corpo genicolato mediale di tursiope mostrino dimensioni medie maggiori rispetto a quelle evidenziate nel coniglio e nella volpe (*Najdzion et al., 2011*).

La morfologia dei neuroni calbindina-D28k nel complesso si presenta simile a quella evidenziata in altri Mammiferi (*Friauf, 1994; Lu et al., 2009; Ouda et al., 2102*). Nella presente ricerca, la comparazione eseguita con i risultati ottenuti dal bovino ha, inoltre, confermato questo dato.

La distribuzione, la morfologia e le dimensioni dei neuroni immunoreattivi per la calbindina-D28k non mostrano differenze particolari nei due nuclei presenti nel corpo genicolato mediale di tursiope. L'unico dato significativo è quello relativo al fatto che i neuroni a fiasco mostrano dimensioni del loro corpo cellulare più elevate nel nucleo dorso-mediale che in quello ventro-laterale. La presenza di una certa omogeneità nella distribuzione dell'immunoreattività per la calbindina-D28k nel corpo genicolato mediale è stata osservata anche in uno studio comparativo tra il tursiope (*Tursiops truncatus*) ed il macaco cinomolgo (*Macaca fascicularis*); infatti, mentre nel macaco i neuroni immunoreattivi per la calbindina-D28k sono concentrati maggiormente nella suddivisione laterale, nel tursiope tali cellule sono distribuite in modo piuttosto omogeneo (*Glezer et al., 1998*).

La distribuzione dei neuroni calbindina-D28k-immunoreattivi presenti nel corpo genicolato mediale di tursiope si discosta da quella presente nei Roditori e nel coniglio, ma mostra caratteristiche comuni con quella che si osserva in alcuni Chiroteri (*Rhinolophus mehelyi*, pipistrello a ferro di cavallo e *Pteronotus parnellii*, pipistrello baffuto di Parnell) (Del Campo et al., 2014). Nel corpo genicolato mediale dei Roditori e del coniglio, infatti, i neuroni immunoreattivi per la calbindina-D28k sono decisamente più numerosi nella parte dorsale che in quella ventrale. Nel corpo genicolato mediale di tursiope, come in quello dei Chiroteri, le cellule calbindina-D28k-immunoreattive sono, invece, distribuite in maniera più diffusa ed uniforme (Del Campo et al., 2014).

In base quanto esposto, nei Mammiferi non sembra esserci un modello comune di espressione dei neuroni calbindina-D28k-immunoreattivi nel corpo genicolato mediale. Infatti, solo negli animali in grado di eseguire l'ecolocazione i neuroni positivi per la calbindina-D28k sembrano essere distribuiti uniformemente all'interno del corpo genicolato mediale. L'intimo significato funzionale di questo dato neurochimico non è al momento noto. Esso, tuttavia, potrebbe essere correlato alle specifiche connessioni che i neuroni calbindina-D28k sono in grado di stabilire. A tal proposito, infatti, è opportuno evidenziare come in differenti Mammiferi terrestri (ad eccezione dei Chiroteri) sia stato dimostrato come i neuroni contenenti calbindina-D28k presenti nel corpo genicolato mediale ricevano informazioni modulatorie afferenti soprattutto dalla corteccia cerebrale (Guillery, 1995). Nel tursiope, essendo i neuroni contenenti calbindina-D28k distribuiti in per tutta l'estensione dorso-ventrale del corpo genicolato mediale (a differenza di molti Mammiferi terrestri, dove sono localizzati in aree specifiche), è possibile, quindi, ipotizzare come le informazioni modulatorie che dalla corteccia cerebrale si portano al corpo genicolato mediale non terminino in aree specifiche, come accade in molti Mammiferi terrestri, ma si distribuiscano in maniera diffusa a tutto il corpo. Tale caratteristica anatomica potrebbe supportare la presenza, nel tursiope, di un maggior controllo modulatorio operato dalla corteccia cerebrale, che potrebbe essere correlato al fenomeno dell'ecolocazione.

La calbindina-D28k è una proteina in grado di proteggere i neuroni dagli stati patologici che inducono un incremento intracellulare degli ioni  $Ca^{++}$  (Baimbridge et al., 1992; ElstoneGonzález-Albo, 2003). Di conseguenza, la calbindina-D28k presente nei neuroni del corpo genicolato mediale potrebbe svolgere un importante ruolo di neuroprotezione anche nel tursiope.





# **6. BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA**



Bagnoli P, Cozzi B, Zaffora A, Acocella F, Fumero R, Costantino ML. 2011. Experimental and computational biomechanical characterisation of the tracheo-bronchial tree of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) during diving. J Biomech 44: 1040-1045.

Baimbridge KG, Celio, MR, Rogers JH. 1992. Calcium-binding proteins in the nervous system. Trends Neurosci. 15, 303–308.

Barco SG, Swingle WM, Mlellan WA, Harris RN, Pabst DA. 1999. Local Abundance and Distribution of Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*) in the Nearshore Waters of Virginia Beach, Virginia. Marine Mammal Science 15 (2): 394-408. DOI:10.1111/j.1748-7692.1999.tb00809.

Barone R, Bortolami R. 2006. Anatomia Comprata dei Mammiferi Domestici. Vol 6°. Neurologia. Sistema Nervoso Centrale. Ed Agricole.

Bedocchi D, et al. 2007. Distribution of cetacean species in the Tuscan Archipelago as revealed by Gis and fotografics records with special regard to the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*, Montagu 1821). 35th Annual Symposium of European Association for Aquatic Mammals.

Bortolami R, Callegari E. 1999. Neurologia ed estesiologia degli animali domestici. Edagricole, J. Comp. Neurol. 182, 423-458.

Butti C, Raghanti MA, Sherwood CC, Hof PR (2011) The neocortex of Cetaceans: cytoarchitecture and comparison with other aquatic and terrestrial species. Ann NY Acad Sci 1225: 47-58.

Caillard O, Moreno H, Schwaller B, Llano I, Celio MR, Marty A . 2000. Role of the calcium-binding protein parvalbumin in short-term synaptic plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Nov 21;97(24):13372-7.

Clerici WJ, Coleman JR. 1990. Anatomy of the rat medial geniculate body: I. Cytoarchitecture, myeloarchitecture, and neocortical connectivity. *J. Comp. Neurol.* 297, 14-31.

Cozzi B. 2005. Mammiferi marini del Mediterraneo. Storia naturale, biologia, anatomia, patologia, parassitologia. A cura di B Cozzi, The Coffee house art & adv. Milano, Italia.

Del Campo HM, Measor K, Razak KA. 2014. Parvalbumin and calbindin expression in parallel thalamocortical pathways in a gleaning bat, *Antrozous pallidus*. *J Comp Neurol*. Jan 17. doi: 10.1002/cne.23541. [Epub ahead of print]

Elston GN, González-Albo MC. 2003. Parvalbumin-, calbindin-, and calretinin immunoreactive neurons in the prefrontal cortex of the owl monkey (*Aotus trivirgatus*): a standardized quantitative comparison with sensory and motor areas. *Brain Behav. Evol.* 62, 19–30.

Friauf E. 1994. Distribution of calcium-binding protein calbindin-D28k in the auditory system of adult and developing rats. *J Comp Neurol*. Nov 8;349(2):193-211.

Gall D, Roussel C, Nieuwenhuis T, Cheron G, Servais L, D'Angelo E, Schiffmann SN. 2005. Role of calcium binding proteins in the control of cerebellar granule cell neuronal excitability: experimental and modeling studies. *Progress in Brain Research* Volume 148, 2005, Pages 321–328

Glezer II, Hof PR, Morgane PJ. 1998. Comparative analysis of calcium-binding protein-immunoreactive neuronal populations in the auditory and visual systems of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and the macaque monkey (*Macaca fascicularis*). *Journal of Chemical Neuroanatomy* 15 - 203–237.

Gnone G, Nuti S, Bellingeri M, Pannoncini R, Bedocchi D. 2006. Spatial behaviour of *Tursiops truncatus* along the Ligurian sea coast: preliminary results. *Biologia Marina Mediterranea*, 13(2): 272-273.

Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice, Expert Consult - Online and Print, 40e by Susan Standring PhD DSc (Nov 21, 2008)

Guillery RW. 1995. Anatomical evidence concerning the role of the thalamus in corticocortical communication: a brief review. *J Anat.* 1995 Dec;187 ( Pt 3):583-92.

Litwinowicz B, Labuda C, Kowiański P, Spodnik JH, Ludkiewicz B, Wójcik S, Moryś J. 2003..Developmental pattern of calbindin D28k protein expression in the rat striatum and cerebral cortex. *Folia Morphol (Warsz)*. 2003 Nov;62(4):327-9

Liu Y, Rossiter SJ, Han X, Cotton JA, Zhang S. 2010. Cetaceans on a Molecular Fast Track to Ultrasonic Hearing 1School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China 2School of Biological and Chemical Sciences, Queen Mary, University of London, London E1 4NS, UK.

Lu E, Llano DA, Sherman SM. 2009. Different distributions of calbindin and calretinin immunostaining across the medial and dorsal divisions of the mouse medial geniculate body. *Hear Res.* Nov;257(1-2):16-23.

Malmierca e Merchán. 2004. Auditory System In: The Rat, Nervous System. Third Edition. Ed. Paxinos, Elsevier.

Marino L, Mcshea DW, Uhen MD. 2004. Origin and evolution of large brains in toothed whales. *The Anat Rec* 281: 1247-1255.

Morest DK. 1964. The neuronal architecture of the medial geniculate body of the cat. *J. Anat. Lond.* 98, 611-630.

Morest DK. 1965. The laminar structure of the medial geniculate body of the cat. *J. Anat. Lond.* 99, 143-160.

Najdzion J, Wasilewska B, Równiak M, Bogus-Nowakowska K, Szteyn S, Robak A. 2011, A Morphometric Comparative Study of th Medial Geniculate Body of the Rabbit and the Fox, *Journal of Veterinary Medicine (Anatomia Histologia Embryologia)*.

Nuti S, Giorli G, Bedocchi D. 2006. Range analysis of *Tursiops truncatus* along the north-tuscany coast by means of gis system. XXXVII Convention SIBM Italian Society of Marine Biology. *Atti Comitato Necton e Pesca* 281-282.

Oliver DL, Hall WC. 1978. The medial geniculate body of the tree shrew, *Tupaia glis*. I. Cytoarchitecture and midbrain connections.

Ouda L, Burianova J, Syka J. 2012. Age-related changes in calbindin and calretininimmunoreactivity in the central auditory system of the rat. *ExpGerontol.* Jul;47(7):497-506.

Parent A, Carpenter MB. 1996. Carpenter's Human Neuroanatomy.

Paxinos G. 2004. The Rat Nervous System, Third Edition (Paxinos, The Rat Nervous System).

Poli A, Fabbri E. 2012. Fisiologia degli Animali Marini. Ed. Edises, pag. 55-57.

Ramon y Cajal S. 1995. Histology of the Nervous System of Man and Vertebrates, Vol. II (translated by Swanson, N., Swanson, L.W.). Oxford University Press, New York, pp. 232-243.

Hersh SL, Duffield DA. 1990. Distinction Between Northwest Atlantic Offshore and Coastal Bottlenose Dolphins Based on Hemoglobin Profile and Morphometry in Stephen Leatherwood; Randall R. Reeves (a cura di), The Bottlenose Dolphin, San Diego, Academic Press, , pp. 129-139. ISBN 0-12-440280-1.

Scovazzi T. 2001. The Mediterranean Marine Mammals Sanctuary. Plus Appendix Agreement on the Creation of a Mediterranean Sanctuary for Marine Mammals (unofficial translation by F. Spadi), The International Journal of Marine and Coastal Law, Vol 16 (1).

Soldevilla MS, McKenna MF, Wiggins SM, Shadwick RE, Cranford TW, Hildebrand JA 2005. Cuvier's beaked whale (*Ziphius cavirostris*) head tissues: physical properties and CT imaging. J Exp Biol 208: 2319-2332.

Walker W. 1981. Geographical variation in morphology and biology of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the Eastern North Pacific. La Jolla, California, National Marine Fisheries Center.

Winer JA, Morest DK, Diamond IT. 1988. A cytoarchitectonic atlas of the medial geniculate body of the opossum, *Didelphys virginiana*, with a comment on the posterior intralaminar nuclei of the thalamus. J. Comp. Neurol. 274, 422-448.

[http://www.treccani.it/enciclopedia/funzioni-cerebrali-superiori\\_%28Dizionario-di-Medicina%29/](http://www.treccani.it/enciclopedia/funzioni-cerebrali-superiori_%28Dizionario-di-Medicina%29/)

[http://www.treccani.it/enciclopedia/udito\\_%28Dizionario-di-Medicina%29/](http://www.treccani.it/enciclopedia/udito_%28Dizionario-di-Medicina%29/)

[http://de.wikibooks.org/wiki/Topographische Anatomie: Neuroanatomie: Mittelhirn](http://de.wikibooks.org/wiki/Topographische_Anatomie:_Neuroanatomie:_Mittelhirn)

<http://www.nmfs.noaa.gov/>





# Ringraziamenti.

I miei sentiti ringraziamenti vanno al Prof. Cristiano Bombardi per avermi seguita ed aiutata sempre. È stata un'esperienza nuova, curiosa e molto interessante, da cui ho imparato tanto. Il dipartimento di Anatomia è sicuramente uno tra gli ambienti più cordiali, amichevoli e disponibili che io abbia frequentato! Grazie quindi al Prof., per la super-disponibilità, ad Anna e Nadia per il sostegno continuo, ed anche a tutti gli altri collaboratori tra cui Claudia, Fiorella, Franca, Davide, e Rocco.

Vorrei ringraziare, inoltre, la Prof.ssa Elena Fabbri per la disponibilità dimostratami, per l'interesse e per avermi permesso di seguire un progetto esterno alla nostra Facoltà.

Grazie a tutti!