

**Alma Mater Studiorum – Università di Bologna**

---

SCUOLA DI SCIENZE

Corso di Laurea Magistrale in Biologia Marina

**CARATTERISTICHE ISTOLOGICHE DELLA TONACA  
FIBROSA DELL'OCCHIO DEI CETACEI**

Tesi di Laurea in

Adattamenti degli animali all'ambiente marino

Candidata:

**CHIARA SANDONI**

Relatore:

Prof.ssa **ELENA FABBRI**

Correlatore:

Prof. **CRISTIANO BOMBARDI**

---

**Anno Accademico 2013/2014**

## INDICE

<b>1. CARATTERISTICHE ANATOMICHE DELL'OCCHIO</b>	<b>3</b>
1.1. TONACHE DELL'OCCHIO	3
1.2. MEZZI DIOTTRICI DELL'OCCHIO	9
1.3. ORGANI ACCESSORI DELL'OCCHIO	11
<b>2. ADATTAMENTI MORFOFUNZIONALI ALLA VITA ACQUATICA</b>	<b>14</b>
2.1. INTRODUZIONE	14
2.2. STRUTTURA DELL'OCCHIO E VISIONE NEI CETACEI	14
<b>3. SCOPO DELLA RICERCA</b>	<b>22</b>
<b>4. MATERIALI E METODI</b>	<b>23</b>
4.1. COLORAZIONE CON EMATOSSILINA–EOSINA	23
4.2. ANALISI DELLE SEZIONI	23
<b>5. RISULTATI</b>	<b>25</b>
5.1. CARATTERISTICHE STRUTTURALI E MORFOMETRICHE DELLA CORNEA	25
5.1.1. Struttura della cornea	25
5.1.2. Analisi morfometrica della cornea	26
5.2. CARATTERISTICHE STRUTTURALI E MORFOMETRICHE DELLA SCLEROTICA	27
5.2.1. Struttura della sclerotica	27
5.2.2. Analisi morfometrica della sclerotica	27
<b>6. DISCUSSIONE</b>	<b>34</b>
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>35</b>
<b>8. RINGRAZIAMENTI</b>	<b>41</b>

## 1. CARATTERISTICHE ANATOMICHE DELL'OCCHIO

L'organo adibito alla vista è l'occhio, che è situato nella cavità orbitale del cranio col tessuto adiposo, i legamenti, gli organi oculari accessori (palpebre, congiuntiva e apparato lacrimale), i vasi, i nervi e i muscoli oculari estrinseci.

La sua funzione è quella di trasformare l'energia luminosa ricevuta in energia nervosa, permettendo la percezione e l'elaborazione dell'immagine (Bortolami e Callegari, 2000; Dellmann ed Eurell, 2000).

La forma dell'occhio è più o meno sferica, a seconda della specie analizzata; quest'organo presenta due poli, uno anteriore e uno posteriore, uniti da una linea denominata asse ottico. L'occhio è formato da tre tonache, disposte concentricamente, e dai mezzi diottrici.

### 1.1. TONACHE DELL'OCCHIO

Le tre tonache, dall'esterno verso l'interno, sono denominate: tonaca fibrosa o esterna, tonaca vascolare o media e tonaca neuroepiteliale o interna (Figura 1).

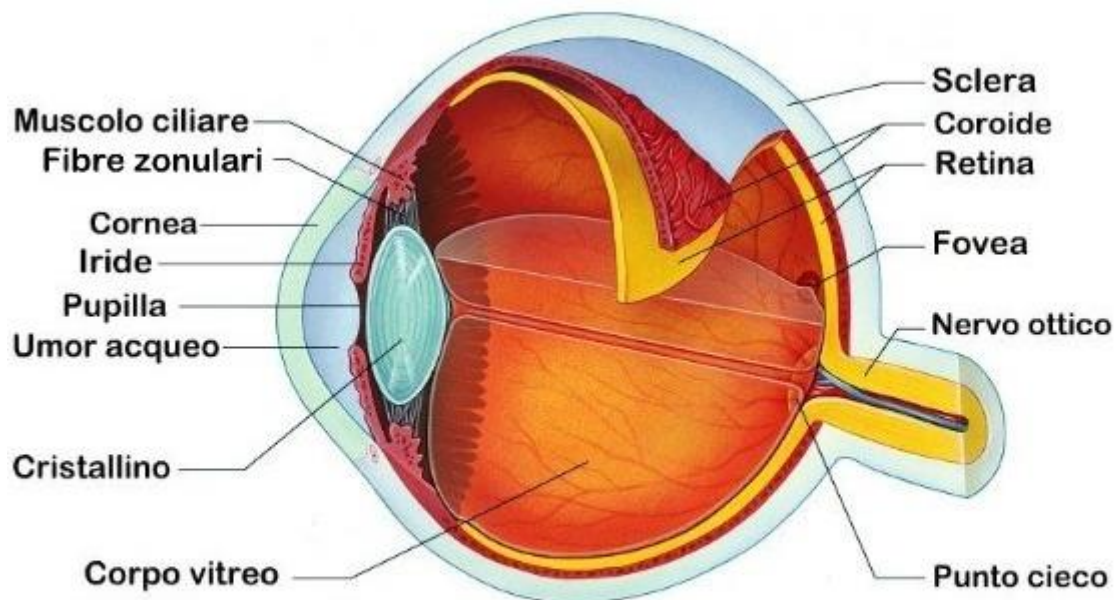


Figura 1. Struttura dell'occhio umano  
(Merck e Porter, 2014)

La **tonaca fibrosa** è composta dalla sclerotica e dalla cornea.

La *sclerotica* o *sclera* è una lamina di connettivo denso irregolare che protegge l'occhio e ne mantiene la forma. Il suo spessore varia nelle diverse parti dell'occhio e da specie a specie. È costituita da fasci di fibre collagene, fibroblasti allungati e melanociti che sono disposti parallelamente alla superficie del bulbo oculare, e inoltre rappresenta i 4/5 della superficie oculare. Questi fasci si intrecciano tra loro e sono disposti circolarmente in prossimità della giunzione sclerocorneale e attorno al nervo ottico (Dellmann ed Eurell, 2000).

A livello della giunzione sclerocorneale (limbo), la sclera sormonta esternamente la cornea per un breve tratto formando una lieve depressione denominata solco della sclera. Nelle vicinanze del limbo si trovano i seni venosi della sclera; essi costituiscono un plesso venoso che svolge un ruolo fondamentale nel drenaggio dell'umore acqueo, passando dalla camera anteriore all'angolo iridocorneale per terminare nel plesso venoso della sclera. Nello strato adiacente alla corioidea fino al punto in cui la retina ottica si interrompe, la sclera è ricca di fibroblasti e fibre elastiche e i melanociti sono più numerosi e viene denominata lamina fusca della sclera. Il nervo ottico abbandona l'occhio attraverso numerosi fori in un'area a forma di disco chiamata lamina cribrosa della sclera (Dellmann ed Eurell, 2000).

La *cornea* è una lente convesso-concava trasparente, più ispessita alla periferia rispetto al centro, con un raggio di curvatura più piccolo al centro che alla periferia. La cornea ha un raggio di curvatura minore di quello della sclera quindi risulta più convessa. Il suo compito è quello di convergere i raggi luminosi verso le strutture interne dell'occhio, in particolare la fovea. Il limbo è fondamentale per la vascolarizzazione della cornea, in quanto quest'ultima è sprovvista di vasi sanguigni e quindi riceve il supporto ematico da quelli presenti nel limbo.

La cornea è costituita da due facce: una interna a contatto con l'umore acqueo e una esterna bagnata dalle secrezioni lacrimali e in rapporto con la congiuntiva quando l'occhio è chiuso.

Analizzando la cornea dall'esterno verso l'interno, si nota che è composta da cinque strati: l'epitelio anteriore o corneale, la membrana basale sottoepiteliale, la sostanza propria o stroma, la membrana limitante posteriore o di Descemet e l'endotelio corneale o epitelio posteriore (Figura 2).

L'epitelio anteriore è pavimentoso, stratificato e non corneificato, ed è formato da un numero di strati variabile da 4 a 12. Le cellule epiteliali sono fittamente interdigtate e connesse tra loro da numerosi desmosomi; tra queste cellule sono presenti abbondanti terminazioni nervose libere. In caso di lesione, questo epitelio mostra elevate capacità rigenerative: le divisioni mitotiche associate allo spostamento delle cellule assicurano un rapido ritorno allo stato normale dell'epitelio

danneggiato. Un epitelio integro è fondamentale per mantenere la trasparenza corneale (Dellmann ed Eurell, 2000).

La membrana basale sottoepiteliale è formata da una lamina basale e da uno strato di fibre reticolari. La membrana basale non deve essere confusa con la lamina limitante anteriore o membrana di Bowman, che è presente solo nei Primati ed è una modificazione dello strato più esterno della sostanza propria della cornea (Bortolami e Callegari, 2000).

La sostanza propria è costituita da un numero variabile di lamelle di fibre collagene. In ogni lamella, le fibre collagene sono parallele alla superficie della cornea e si incrociano ad angolo retto con quello delle lamine adiacenti. Le lamine contigue sono saldamente unite tra loro da fibre che assumono direzione obliqua. I fibrociti sono prevalenti in questo strato della cornea e si trovano maggiormente tra le lamelle piuttosto che nello spessore; sono allungati e ramificati e hanno scarso citoplasma. La sostanza fondamentale amorfa è ricca di glucosamminoglicani che ne permettono la colorazione metacromatica. Questa sostanza è essenziale per mantenere la trasparenza della cornea, conservando un grado ottimale di idratazione, in quanto un eccessivo contenuto di acqua determina l'opacizzazione corneale (Dellmann ed Eurell, 2000).

La membrana limitante posteriore è uno strato di materiale amorfo ispessito e presenta due zone: una anteriore, composta da fibrille collagene disposte esagonalmente, e una posteriore, che è situata adiacentemente all'endotelio corneale ed è formata da materiale tipico della membrana basale (Dellmann ed Eurell, 2000).

L'epitelio posteriore è di tipo pavimentoso e costituito da cellule appiattite ed esagonali, fortemente interdigrate tra loro e contenenti vescicole di pinocitosi e numerosi mitocondri. Il suo compito è quello di mantenere la trasparenza della cornea per evitare edemi e opacizzazione della cornea che, nel caso si verificassero, scompaiono velocemente dopo la rigenerazione dell'epitelio dovuta all'aumento dell'attività mitotica delle cellule situate in prossimità della lesione (Bortolami e Callegari, 2000).

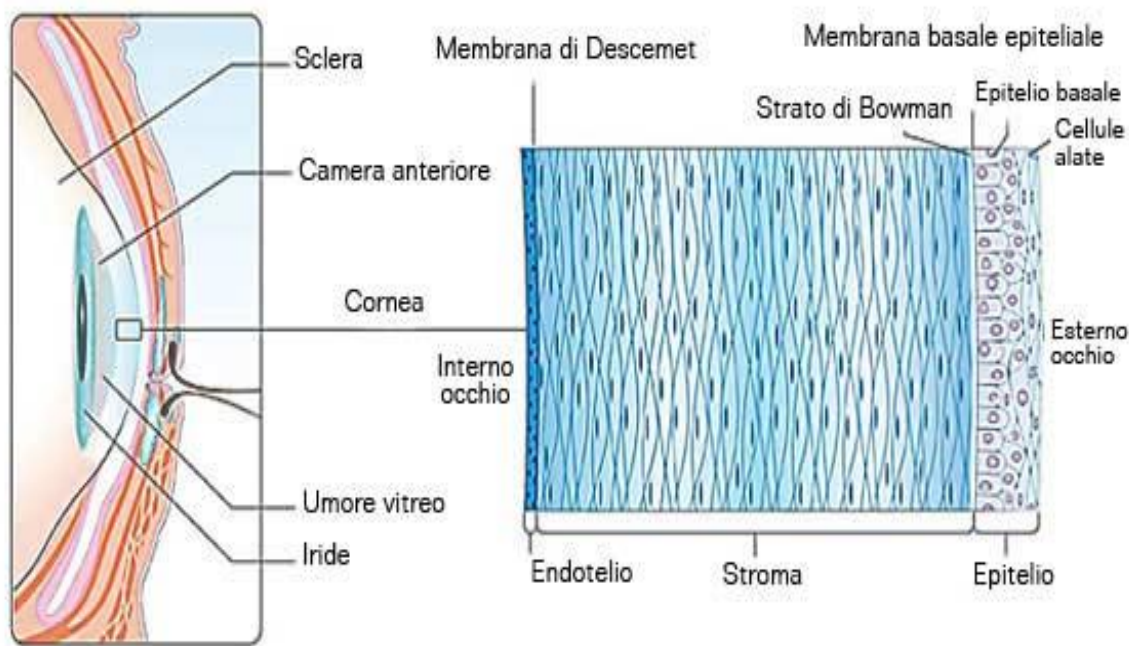


Figura 2. Sezione della cornea dell'occhio umano

(<http://www.microchirurgiaoculare.com/malattie-dell-occhio/malattie-della-cornea.jpg>)

La **tonaca vascolare**, chiamata anche uvea, comprende tre porzioni: la corioidea, il corpo ciliare e l'iride.

La parte posteriore di questa tonaca è la *corioidea*, situata tra la sclera e la retina, che è una membrana connettivale pigmentata e riccamente vascolarizzata terminante a livello dell'ora serrata, cioè nel punto in cui finisce anche la retina ottica. Il suo scopo è quello di fornire supporto ematico alle cellule degli strati più superficiali della retina (Bortolami e Callegari, 2000).

La corioidea è formata da cinque lamine che, partendo dall'esterno verso l'interno, sono: la lamina sopraccorioidea, la lamina vascolare, il tappeto lucido, la lamina coriocalpillare e il complesso basale.

La lamina sopraccorioidea è in rapporto con la lamina fusca della sclera ed è formata da fasci di fibre collagene.

La lamina vascolare è costituita da vene e arterie ed è lo strato più spesso della corioidea.

Il tappeto lucido è uno strato iridescente che non si trova nell'Uomo ed è invece presente in molti Vertebrati, mostrando differenze tra i Carnivori, da un lato, e gli Erbivori e Cetacei, dall'altro: nei primi è di tipo cellulare, formato da uno strato profondo di cellule appiattite parallele tra loro e contenenti numerose strutture bastoncellari disposte parallelamente alla superficie della

retina, mentre nei secondi è di tipo fibroso, molto denso e a fibre collagene serrate (Bortolami e Callegari, 2000).

La lamina coriocalillare è formata da una densa rete di vasi che apportano il nutrimento agli strati più esterni della retina.

La lamina basale dell'epitelio pigmentato si fonde con la membrana basale dei capillari creando il complesso basale, che separa la corioidea dalla tonaca neuroepiteliale.

Il *corpo ciliare* continua anteriormente nell'iride, partecipando alla formazione dell'angolo iridocorneale. È costituito da tre strutture: l'orbicolo ciliare, la corona ciliare e il muscolo ciliare.

L'orbicolo ciliare è una zona appiattita e liscia tra la corioidea e la corona ciliare.

La corona ciliare è ricca di processi ciliari, ognuno costituito da una rete capillare sorretta da un asse connettivale proiettato verso la camera posteriore dell'occhio. La rete capillare presenta un endotelio fenestrato che produce l'umore acqueo, un liquido che nutre il cristallino, aiuta nel dare la forma al bulbo oculare e funge da mezzo diottrico. L'umore acqueo fluisce attraverso la pupilla dalla camera posteriore a quella anteriore, dalla quale sarà poi drenato per mezzo dell'angolo iridocorneale (Dellmann ed Eurell, 2000).

Il muscolo ciliare è poco sviluppato nei Mammiferi domestici, è composto da fasci di cellule lisce muscolari e innervato dal parasimpatico e regola il processo di accomodazione.

L'intero corpo ciliare è circondato da un epitelio bistratificato, formato da uno strato esterno pigmentato, che è considerato la prosecuzione dello strato pigmentato della retina, e uno interno non pigmentato, rivolto verso la camera posteriore, che è ritenuto il proseguimento e la trasformazione dello strato delle cellule bipolari della retina (retina cieca).

L'*iride* è la zona più craniale della tonaca vascolare. Si trova anteriormente al cristallino e permette la comunicazione tra la camera posteriore e quella anteriore dell'occhio. È formata dalla pupilla, un'apertura centrale con forma diversa a seconda della specie analizzata e dalla quale passano i raggi luminosi.

L'iride è costituita da uno stroma di connettivo lasso molto vascolarizzato e ricco di melanociti; il suo colore dipende dall'intensità del numero di cellule pigmentate e dalla tipologia di pigmento. Questa struttura presenta due margini: uno libero che demarca la pupilla e uno fisso, denominato margine ciliare, che è in continuità con il corpo ciliare e si attacca al limbo corneale per mezzo del legamento pettinato (Bortolami e Callegari, 2000).

Nell'iride si trovano due muscoli con la funzione di regolare la dimensione e la forma della pupilla: il muscolo dilatatore determina midriasi, cioè l'aumento del diametro del foro pupillare, e riceve un'innervazione simpatica dai neuroni del ganglio cervicale craniale, mentre il muscolo

sfintere provoca miosi, ovvero il restringimento del foro pupillare dovuto a diversi stimoli, come quelli luminosi, ed è innervato da fibre parasimpatiche del III paio di nervi cranici.

La **tonaca neuroepiteliale** presenta una porzione posteriore od ottica, chiamata retina, che contiene i recettori sensitivi, e una parte anteriore o cieca di natura epiteliale che ricopre il corpo ciliare e la faccia posteriore dell'iride ed è sprovvista di fotocettori.

La *retina* è un sottile tessuto nervoso sensibile alla luce, che riveste la superficie interna dell'occhio. Si distinguono una parte ottica, accostata alla corioidea, una ciliare, addossata al corpo ciliare e una iridea, che ricopre posteriormente l'iride. Quest'ultima porzione è perforata al centro, in corrispondenza della pupilla. Delle tre parti citate, l'unica a essere sensibile alla luce, e quindi ad avere un ruolo significativo nel processo della visione, è la parte ottica (Dellmann ed Eurell, 2000).

La retina è composta da quattro tipi di cellule nervose disposte su una decina di strati. Tale struttura è suddivisa in tre aree: una centrale, chiamata macula lutea, che contiene una piccola depressione centrale, la fovea centralis, ricca di coni (cellule nervose deputate alla percezione e al riconoscimento dei colori e alla visione distinta), una media e una periferica, in cui sono prevalenti i bastoncelli (fotorecettori deputati alla visione con poca luce), importanti nel mediare la visione crepuscolare e notturna (Figura 3).

La papilla del nervo ottico è la zona in cui tutte le fibre nervose retiniche convergono per dare inizio al nervo ottico e appare più o meno incavata nella sua parte centrale.

La retina è mantenuta al suo posto dalla pressione del corpo vitreo, un liquido gelatinoso che riempie il bulbo ed esercita un effetto tampone, spingendo la retina stessa sulla parete interna del bulbo e proteggendola da eventuali traumi provenienti dall'esterno.



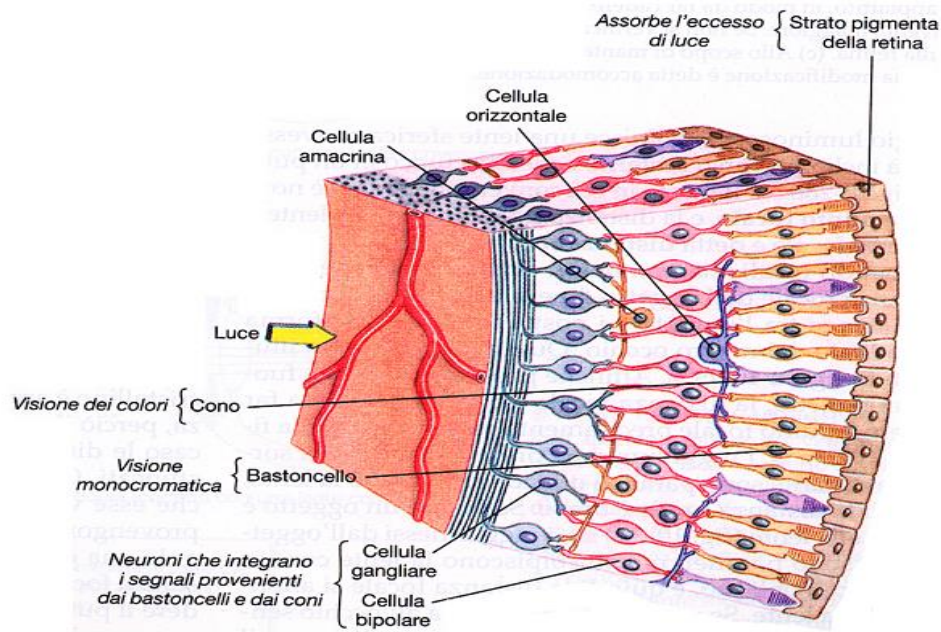


Figura 3. Captazione della luce da parte della retina dell'occhio umano  
(<http://www.benessere.com/salute/atlane/occhio.jpg>)

## 1.2. MEZZI DIOTTRICI DELL'OCCHIO

I mezzi diottrici dell'occhio sono le strutture trasparenti che consentono il passaggio della luce e la conseguente formazione dell'immagine sulla retina. Queste strutture comprendono l'umore vitreo, la cornea, il corpo vitreo e il cristallino.

Il *cristallino* è una lente biconvessa, elastica e trasparente, situata tra la camera anteriore e il corpo vitreo e occupante una depressione di quest'ultimo denominata fossetta ialoidea. L'umore acqueo costituisce l'unica via di apporto di nutrienti, in quanto il cristallino non è vascolarizzato (Dellmann ed Eurell, 2000).

Il cristallino ha la possibilità di modificare la propria convessità grazie all'attività del muscolo ciliare che permette l'accomodazione, cioè l'azione attraverso la quale l'occhio riesce a mettere a fuoco gli oggetti situati a diverse distanze.

Il cristallino è completamente rivestito dalla cristalloide, una capsula di fibrille collagene che ha la funzione di isolarlo da un punto di vista immunologico. Sulla faccia anteriore del cristallino si trova un epitelio sottocapsulare, le cui cellule si allungano e si trasformano nelle fibre del cristallino, mano a mano che si avvicinano all'equatore. Queste fibre sintetizzano le cristalline, particolari proteine responsabili della trasparenza della lente, e formano insieme alle fibre elastiche la sostanza propria del cristallino, cioè la sua massa principale. A livello dell'equatore le fibre della

parte anteriore, che sono in contatto con l'epitelio, si intersecano con quelle della zona posteriore del cristallino, che sono collegate alla capsula (Bortolami e Callegari, 2000).

La parte più interna e rigida della lente è il nucleo cristallinico, che è formato da fibre morte e degenerate della sostanza propria che vengono mandate verso il centro, dato che non è possibile espellerle, essendo il cristallino una struttura chiusa.

La lente è tenuta in situ da fibre zonulari, che formano l'apparato sospenditore del cristallino; queste si originano da piccole depressioni situate tra i processi ciliari e si attaccano sul cristalloide, sia anteriormente che posteriormente all'equatore. Tali fibre riescono a regolare il raggio di curvatura della lente, dando così un contributo all'azione dell'accomodazione che è sostenuta dal muscolo ciliare: nel momento in cui il muscolo si contrae, il corpo ciliare si sposta verso la zona anteriore e centrale dell'occhio e le fibre zonulari si rilassano, permettendo così di aumentare la curvatura della lente, che diventa più sferica e aumenta il suo potere diottrico, cioè la messa a fuoco di immagini vicine; quando, invece, la contrazione del muscolo ciliare termina, la tensione che esso esercita sulle fibre zonulari aumenta, comportando una riduzione della curvatura del cristallino.

Il *corpo vitreo*, una massa gelatinosa e trasparente che occupa la zona posteriore dell'occhio tra il cristallino e la retina, è costituito quasi interamente (98%) da acqua, che è trattenuta da grandi molecole di acido ialuronico, e da fibre collagene disposte a rete nella periferia del corpo vitreo in cui formano la membrana vitrea. La sua funzione è quella di conferire la forma sferica all'occhio e garantire la distensione delle membrane oculari, in particolare modo della retina (Dellmann ed Eurell, 2000).

### 1.3. ORGANI ACCESSORI DELL'OCCHIO

L'occhio comprende anche organi accessori, quali la congiuntiva, le palpebre, l'apparato lacrimale e i muscoli oculari estrinseci (Figura 4).

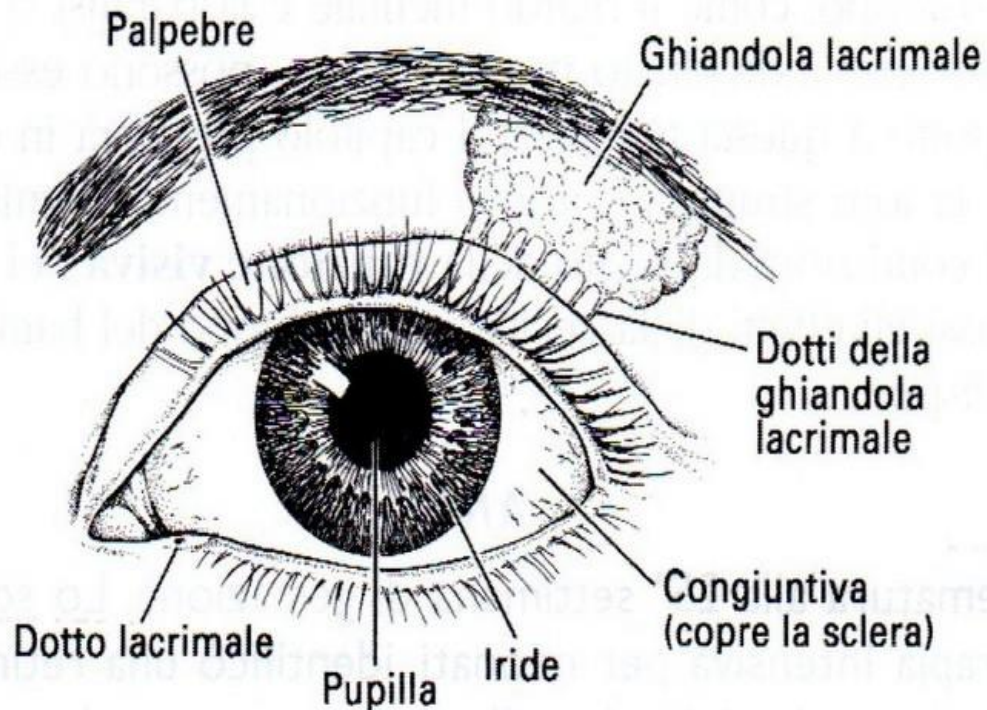


Figura 4. Organi accessori dell'occhio umano

(<http://www.occhioallaretina.it/anatomia-dell-occhio/jpg>)

La *congiuntiva* è una membrana mucosa che ricopre il bulbo oculare e la parte interna delle palpebre; ha la funzione di proteggere il bulbo oculare, soprattutto la cornea (benché la sua faccia anteriore sia sprovvista del rivestimento congiuntivale), e di facilitare il suo scorrimento e di quello delle palpebre nelle fasi di ammiccamento, mediante la secrezione della componente mucinica del film lacrimale (Dellmann ed Eurell, 2000).

I punti di riflessione nei quali la porzione palpebrale si trasforma nella parte bulbare originano due fornici, che sono fondi ciechi, uno superiore e uno inferiore.

A livello dell'angolo mediale, la congiuntiva forma il lago lacrimale, un bacino in cui si raccolgono le lacrime, che circonda la caruncola lacrimale, una sporgenza più o meno evidente a seconda della specie. Lateralmente alla caruncola lacrimale si trova la terza palpebra, chiamata anche membrana nittitante, che è una piega della congiuntiva resa resistente dalla presenza di una

lamina cartilaginea interna. Il fusto della lamina è ricoperto dalla ghiandola superficiale della terza palpebra, che collabora alla produzione del film lacrimale che bagna la cornea.

Le *palpebre* sono pliche membranose laminari, più o meno mobili a seconda della specie; ciascuno dei due veli membranosi, avvicinandosi tra loro, copre la parte anteriore del globo oculare. Sono ricoperte esternamente da cute sottile, mentre la loro faccia interna, che si appoggia sul globo oculare, è tappezzata dalla congiuntiva; l'apparato di sostegno della palpebra è costituito da una lamina fibrosa, che si inspessisce in corrispondenza del margine palpebrale, formando il tarso. Sul tarso della palpebra superiore si inserisce il muscolo elevatore della palpebra, mentre sul tarso di quella inferiore si inserisce il prolungamento orbitale del muscolo retto inferiore.

Al di sotto della cute delle palpebre è situato il muscolo orbicolare che, con la sua contrazione, chiude la rima palpebrale. Il margine libero della palpebra è diviso da una piccola sporgenza (papilla lacrimale) in due parti: una porzione lacrimale, occupata dai condotti lacrimali, e una ciliare: sul suo margine anteriore si impiantano le ciglia, alla cui base sboccano ghiandole sudoripare modificate (ghiandole di Moll), mentre in corrispondenza del suo margine posteriore sboccano ghiandole sebacee particolari (ghiandole di Meibomio). Normalmente, con la contrazione del muscolo orbicolare, la palpebra superiore viene a collimare perfettamente con quella inferiore e il globo oculare rimane completamente coperto: quando, a causa di cicatrici o di altri fenomeni morbosi, la chiusura della palpebra non è perfetta, ne derivano fenomeni infiammatori a carico della congiuntiva.

Le palpebre proteggono l'occhio da corpi estranei e dalla luce (nel sonno o in caso di illuminazione troppo intensa); la loro chiusura periodica (ammicciamento) diffonde il secreto delle ghiandole lacrimali sulla congiuntiva, mantenendola sempre umettata (Dellmann ed Eurell, 2000).

L'*apparato lacrimale* è costituito dalle ghiandole lacrimali e dai sistemi di raccolta e deflusso delle lacrime. Le ghiandole lacrimali comprendono le ghiandole tarsali e della terza palpebra e la ghiandola lacrimale, situata dorso-ventralmente nella fossa lacrimale dell'osso frontale e contenuta nella periorbita, un cono fibroso che avvolge il bulbo oculare e le strutture annesse con il vertice in corrispondenza del punto di uscita del nervo ottico. Le caratteristiche e le dimensioni della ghiandola lacrimale differiscono da specie a specie. I suoi dotti escretori sboccano nella parte laterale del fornice superiore, bagnando così la superficie oculare. Il movimento delle palpebre spinge le lacrime in eccesso verso il lago lacrimale, dove vengono indirizzate dalla caruncola verso i punti lacrimali dai quali si dipartono i canalicoli lacrimali e le vie lacrimali. Il secreto passa dai canalicoli al sacco lacrimale, una zona a forma di ampolla nell'osso lacrimale. Lo scopo delle lacrime è quello di mantenere umide la cornea e la congiuntiva (Bortolami e Callegari, 2000).

I *muscoli estrinseci* dell'occhio sono sei muscoli striati adibiti ai movimenti di rotazione del bulbo oculare. Sono presenti due muscoli obliqui (dorsale e ventrale) e quattro retti (dorsale, mediale, ventrale e laterale); quest'ultimi hanno origine sull'anello di Zinn, una struttura tendinea che avvolge il nervo ottico e da cui partono i quattro fasci muscolari che si inseriscono sulla sclera anteriormente all'equatore.

Anche il muscolo obliquo dorsale si diparte dall'anello tendineo e si posiziona tra il muscolo retto mediale e quello dorsale. Dopo essere passato all'interno di un anello fibrocartilagineo aderente all'orbita, passa sotto al tendine del retto dorsale e finisce sulla sclera.

Il muscolo obliquo ventrale è quello di dimensioni minori tra tutti i muscoli estrinseci: ha origine dall'omonima fossetta dell'osso lacrimale e termina lateralmente sulla sclera, dopo aver superato l'inserzione del retto ventrale.

Nei muscoli estrinseci dell'occhio sono compresi anche l'elevatore della palpebra superiore e il retrattore del bulbo oculare. Il muscolo elevatore della palpebra superiore è di forma triangolare e allungata, con il vertice disposto nel fondo della cavità orbitaria e la base posta in corrispondenza della palpebra superiore. Si origina sulla guaina del nervo ottico, vicino all'anello di Zinn, e passa sovrapposto al muscolo retto dorsale con il quale lavora: quando l'elevatore della palpebra la solleva, il muscolo retto dorsale ruota il bulbo verso l'alto permettendo l'ingresso dei raggi luminosi (Dellmann ed Eurell, 2000).

Il muscolo retrattore del bulbo oculare, che non è presente nell'Uomo, consente lievi movimenti antero-posteriori dell'occhio. E' situato più in profondità degli altri muscoli estrinseci e termina sulla faccia posteriore del bulbo.

I muscoli retti dorsale, mediale e ventrale, il muscolo obliquo ventrale e il muscolo elevatore della palpebra superiore sono innervati dal nervo oculomotore; il muscolo retto laterale e quello retrattore del bulbo sono innervati dal nervo abducente; infine il muscolo obliquo dorsale riceve l'innervazione dal nervo trocleare.

## **2. ADATTAMENTI MORFOFUNZIONALI ALLA VITA ACQUATICA**

### **2.1. INTRODUZIONE**

Nel corso della storia evolutiva dei Mammiferi si è verificato uno straordinario ritorno all'ambiente acquatico di un gruppo appartenente a questa classe prettamente terrestre.

I Mammiferi marini si sono adattati in maniera diversa al nuovo ambiente: alcuni animali (Mustelidi, Pinnipedi e Ursidi) hanno mantenuto con esso un rapporto occasionale, soprattutto legato alla ricerca di nutrimento e alla riproduzione, mentre altri (Sirenni e Cetacei) si sono adattati definitivamente a questo habitat, modificando profondamente le loro caratteristiche morfofunzionali.

Le diverse caratteristiche dell'ambiente acquatico rispetto a quello terrestre hanno comportato un adattamento anatomico nei Mammiferi marini: l'acqua ha un coefficiente di conducibilità termica maggiore dell'aria e possiede viscosità e densità superiori, che comportano una maggiore resistenza al movimento; queste caratteristiche hanno, di conseguenza, imposto ai Mammiferi marini la necessità di sviluppare sistemi in grado di contrastare la perdita di calore del corpo (Luria e Kinney, 1970). Questi animali hanno dovuto adattarsi all'ambiente salino regolamentando il proprio equilibrio osmotico, cioè la concentrazione di sali nel corpo, limitando l'ingestione di sali provenienti dall'esterno ed eliminando quelli in eccesso attraverso un efficiente sistema renale. Essi, inoltre, hanno sviluppato meccanismi fisiologici che prolungano l'apnea ed evitano problematiche che possono verificarsi durante immersioni prolungate o profonde.

### **2.2. STRUTTURA DELL'OCCHIO E VISIONE NEI CETACEI**

La struttura dell'occhio, e quindi la vista, hanno subito modifiche per adattarsi all'ambiente acquatico: l'occhio dei Mammiferi marini deve funzionare in un ambiente dove, all'aumento della profondità, si osserva una progressiva attenuazione dei raggi solari. Questo fenomeno è dovuto alla dispersione creata dalle particelle organiche in sospensione e all'assorbimento di luce da parte dell'acqua (Luria e Kinney, 1970).

Nel momento in cui un raggio luminoso incontra la superficie di separazione tra due mezzi a diversa densità, si verificano due fenomeni: la rifrazione e la riflessione (Danilo, 2010).

La rifrazione avviene quando un'onda luminosa passa da un mezzo con un indice di rifrazione a un altro mezzo con indice differente. L'indice di rifrazione quantifica la diminuzione della velocità di propagazione della radiazione elettromagnetica quando attraversa un materiale.

La diminuzione della velocità di propagazione viene accompagnata dalla variazione della sua direzione, secondo il fenomeno della rifrazione. L'occhio umano e quello degli altri Mammiferi terrestri, che sono abituati alla visione in aria, percepiscono le immagini sfuocate nell'ambiente acquatico, perdendo molto del proprio potere rifrattivo in acqua, perché quest'ultima ha lo stesso indice di rifrazione della cornea, eliminando la sua abilità di mettere a fuoco le figure sulla retina (Luria e Kinney, 1970).

La riflessione è un fenomeno che si presenta quando onde elettromagnetiche o elastiche incidono sulla superficie di separazione di due mezzi, per cui una parte della loro energia è deflessa dalla superficie nello stesso mezzo di provenienza secondo una direzione diversa da quella d'incidenza, mentre l'energia restante, escluse le perdite, penetra nel secondo mezzo, peraltro anch'essa secondo una direzione diversa da quella d'incidenza.

Nei Mammiferi marini l'occhio deve essere capace di permettere una buona visione sia in acqua sia in aria, dato che alcune specie passano parte della loro vita sulla terra.

Nei Cetacei non è presente una vera e propria orbita ossea che accolga l'occhio e quest'ultimo ha una struttura diversa rispetto a quella dei Mammiferi terrestri: è appiattito anteriormente con una forma emisferica, mentre nei Sirenni e nei Pinnipedi essa è rotondeggiante (Mass e Supin, 2007) (Figura 5).

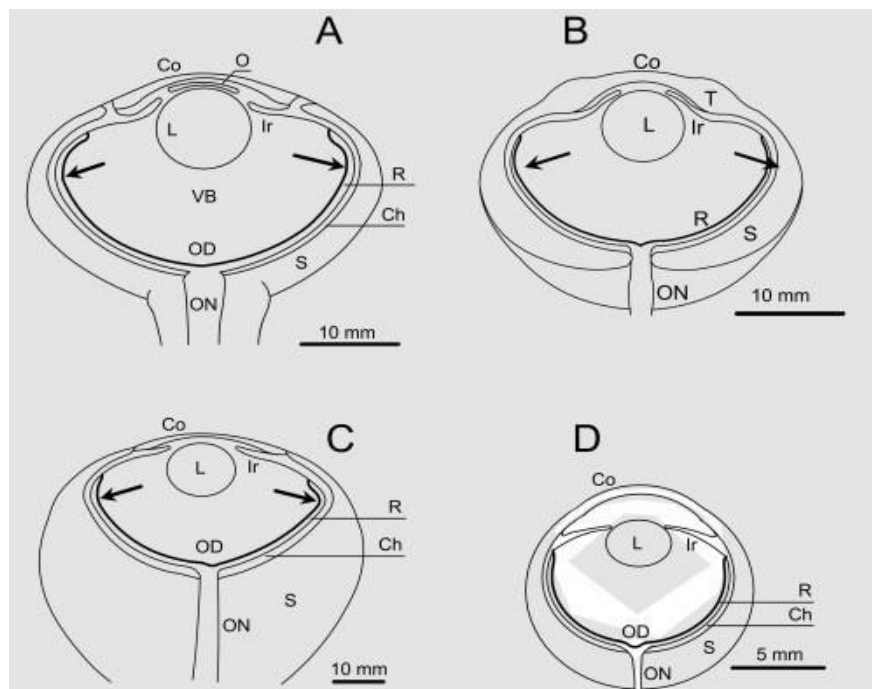


Figura 5. Presentazione schematica dell'occhio di alcuni Cetacei (Mass e Supin, 2007):

A) Tursiopo B) Beluga C) Balena grigia D) Delfino del Rio delle Amazzoni

Co: cornea, L: lente, Ir: iride, O: opercolo, S: sclerotica, Ch: coroide, R: retina, ON: nervo ottico, OD: disco ottico

L'occhio è protetto dalle palpebre, che sono rivestite dalla congiuntiva. I Cetacei sono sprovvisti della membrana nittitante e delle ghiandole lacrimali quindi la cornea è difesa dagli effetti dell'acqua salata per mezzo delle secrezioni viscosse prodotte dalla ghiandola di Harder e da quelle congiuntivali ipertrofiche (Dawson et al., 1972; Waller e Harrison, 1978; Dawson et al., 1987; Berta et al., 2006).

Nei Mammiferi marini la cornea possiede quasi lo stesso indice di rifrazione dell'acqua quindi il suo ruolo nella focalizzazione delle figure sulla retina e nella rifrazione è poco rilevante (Kroger e Kirschfeld, 1994; Mass e Supin, 2007). La cornea è più spessa di quella dei Mammiferi terrestri ma non in maniera uniforme; infatti lo spessore è minore nella parte centrale rispetto alla periferia, che ha un indice di rifrazione superiore alla zona centrale (Kroger e Kirschfeld, 1994; Mass e Supin, 1997; Litwiler e Cronin, 2001; Mass e Supin, 2007; Fulton, 2009).

La parte posteriore della cornea è più curva di quella anteriore (Kroger e Kirschfeld, 1994); quindi questa struttura si comporta da lente divergente capace di compensare il sovrabbondante potere rifrattivo del cristallino. La cornea, inoltre, aiuta a rendere l'occhio emmetrope in acqua (Litwiler e Cronin, 2001; Mass e Supin, 2007; Fulton, 2009).

La sclerotica è particolarmente ispessita al fine di proteggere l'occhio dalle alterazioni della pressione e per conservarne la forma (Mass e Supin, 1997; Berta et al., 2006; Mass e Supin, 2007).

Il cristallino è il maggiore responsabile della capacità rifrattiva dell'occhio e ha una forma ellissoide o sferica (Sivak, 1980; Mass e Supin, 2007). La sua morfologia contribuisce ad apportare un potere rifrattivo sufficiente per compensare la scarsa capacità della cornea nella visione subacquea e per permettere la messa a fuoco delle figure sulla retina (Mass e Supin, 2007).

Nei Cetacei il muscolo ciliare è poco sviluppato o assente (West et al., 1991; Berta et al., 2006; Mass e Supin, 2007; Buono et al., 2012), quindi non è dimostrata la sua capacità di accomodazione (Litwiler e Cronin, 2001). Alcuni Autori sostenitori di quest'ipotesi affermano che probabilmente la vista subacquea non è fondamentale in questi animali, dal momento che usano l'ecolocalizzazione per orientarsi nell'ambiente circostante (Litwiler e Cronin, 2001). Altri invece suppongono che ci sia un processo di accomodazione che coinvolge spostamenti assiali del cristallino, causati da sbalzi nella pressione intraoculare (Mass e Supin, 2007).

Il muscolo retrattore del bulbo oculare è capace di muovere l'occhio dentro e fuori l'orbita e questi spostamenti causano rispettivamente un aumento e una riduzione della pressione intraoculare con lo scorrimento del cristallino lungo il suo asse (Kroger e Kirschfeld, 1989; Zhu et al., 2000; Mass e Supin, 2007).

L'occhio dei Cetacei è sottoposto a veloci cambiamenti d'intensità luminosa, perché passa dalle profondità marine, in cui la luce è scarsa, all'intensa illuminazione della superficie, quando



questi animali riemergono per respirare (Supin et al., 2001; Mass e Supin, 2007). Di conseguenza, l'iride e la pupilla possiedono notevole plasticità, in modo da permettere all'occhio di riuscire ad adattarsi alle mutevoli condizioni di luminosità.

L'iride è provvista dell'opercolo, una protuberanza capace di mutare la forma e le dimensioni della pupilla. In condizioni di scarsità luminosa l'opercolo si contrae e quindi si solleva, permettendo alla pupilla di mantenere la forma sferica o leggermente ovale; quando, invece, si verifica un aumento di luce, l'opercolo si sposta verso il basso, trasformando la pupilla in una fessura a forma di U fino a che non restano due piccole fenditure sui versanti nasale e temporale dell'iride (Herman et al., 1975; Dawson et al., 1979; Supin et al., 2001; Mass e Supin, 2007; Mass et al., 2011) (Figura 6).

Questa conformazione della pupilla è comune a moltissimi Cetacei, sia Odontoceti (Supin et al., 2001; Bjerager et al., 2003; Mass e Supin, 2007) sia Mysticeti (Mass e Supin, 1997; Zhu et al., 2000).

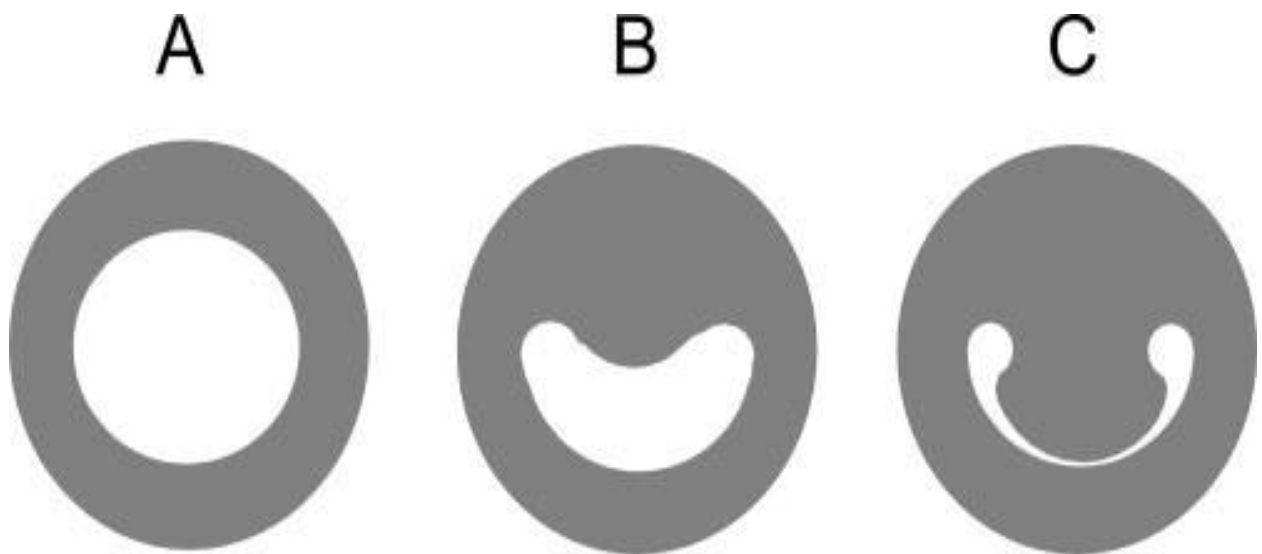


Figura 6. Forma della pupilla di un Tursiope a diversi livelli di illuminazione

- A) Bassa illuminazione → pupilla a forma di ovale non ristretto
- B) Moderata illuminazione → pupilla a forma di U parzialmente ristretta
- C) Alta illuminazione → pupilla fortemente ristretta e ridotta a due fori

Un'altra strategia adattativa, utile nei momenti in cui la luce è scarsa, è la presenza di un tappeto lucido (Berta et al., 2006; Mass e Supin, 2007) che riveste la maggior parte della superficie interna oculare (Mass e Supin, 2007). Differenti sono le opinioni circa la struttura del tappeto lucido dei Cetacei. Alcuni Autori asseriscono che sia cellulare, come nei Carnivori (Ollivier et al., 2004), mentre altri dichiarano che sia fibroso, cioè composto da fibre collagene, come negli Erbivori (Mass e Supin, 2007).

La retina dei Cetacei è formata dallo stesso numero di strati di quella dei Mammiferi terrestri (Perez et al., 1972; Mass e Supin, 2007; Fulton, 2009; Buono et al., 2012). Le differenze principali riguardano lo spessore di questa tonaca, che è maggiore nei Cetacei (Dral, 1977; Dawson et al., 1982; Murayama et al., 1995; Mass e Supin, 2007), e le caratteristiche morfofunzionali dello strato delle cellule gangliari e dei fotocettori.

Nei Cetacei lo strato gangliare della retina è formato da una sola fila di neuroni (Dawson et al., 1982; Mass e Supin, 2007), in cui le cellule gangliari sono disposte su diversi livelli (Bjerager et al., 2003; Mass e Supin, 2007). Le caratteristiche fondamentali di questo strato sono la distribuzione, la densità e la dimensione dei neuroni.

Nella retina si trovano numerose cellule gangliari grandi (oltre 30  $\mu\text{m}$  di diametro) e giganti (oltre 80  $\mu\text{m}$  di diametro) (Perez et al., 1972; Dawson et al., 1982; Murayama et al., 1992; Mass e Supin, 1995; Murayama et al., 1995; Mass e Supin, 1997, 2007; Berta et al., 2006; Mass et al., 2011); nei Mysticeti sono state addirittura trovate delle cellule gangliari giganti di 160  $\mu\text{m}$  di diametro (Pilleri e Wandeler, 1964; Mass e Supin, 1997). La densità cellulare è minore rispetto a quella della retina di altri Mammiferi (Mass e Supin, 1995; Murayama et al., 1995; Mass e Supin, 2007; Mass et al., 2011); le cellule gangliari dei Cetacei sono molto disseminate ma non sono distribuite uniformemente in tutte le aree della tonaca nervosa. Sono presenti zone a maggiore densità, in cui predominano neuroni di medie dimensioni, ed aree a minore densità, nelle quali si trovano cellule gangliari giganti (Mass e Supin, 1995, 1997, 2007).

Nei Cetacei, a differenza di quanto si osserva nei Mammiferi terrestri, esistono due zone ad alta densità in prossimità dell'equatore, una sul versante temporale e l'altra su quello nasale; queste due aree sono collegate tra loro da un'area intermedia, dove la densità cellulare è abbastanza elevata ma comunque inferiore a quella riscontrata nei due poli (Murayama et al., 1992, 1995; Mass e Supin, 1997, 2007; Berta et al., 2006; Mass et al., 2011). Queste due zone possono essere utilizzate dall'animale per la visione fuori dall'acqua o subacquea: quando un Cetaceo osserva un oggetto fuori dall'acqua lo pone nel comparto ventronasale del suo campo visivo e quindi l'immagine viene proiettata sul versante temporale della retina; invece, quando osserva in acqua un oggetto, si pone lateralmente a esso e l'immagine viene trasmessa sul versante nasale della

retina (Dral, 1972, 1977; Dawson, 1980; Supin et al., 2001; Mass e Supin, 2007). La presenza di queste due aree ad alta risoluzione probabilmente permette una visuale più panoramica a questi animali, che sono provvisti di una testa poco mobile (Mass e Supin, 2007).

Queste due zone ad alta densità cellulare corrispondono a due fori pupillari che si creano fuori dall'acqua quando la luce è molto potente e l'opercolo dell'iride si sposta verso il basso; tali aree corrispondono anche alle zone laterale e mediale della cornea, che sono meno ridotte rispetto alle restanti parti della lente. Queste peculiarità della pupilla e della cornea servono a prevenire la miopia, alla quale l'occhio acquatico dei Cetacei sarebbe sottoposto fuori dall'acqua a causa sia dell'eccessivo potere rifrattivo del cristallino sferico che della curvatura della cornea (Mass e Supin, 2007).

Nei momenti in cui la luce è molto potente, la pupilla permette il passaggio dei raggi luminosi solo attraverso i due fori e quindi la luce transita nelle due aree corneali in cui la curvatura è minore; in questo modo le immagini sono focalizzate sulle due aree della retina a elevata risoluzione con bassi effetti di distorsione (Mass e Supin, 2007).

Nei Cetacei lo strato dei fotorecettori è composto sia da coni sia da bastoncelli, quest'ultimi presenti in maggiore quantità (Perez et al., 1972; Dawson, 1980). I Cetacei e i Pinnipedi possiedono solo i coni di tipo L. Nei Cetacei è stato identificato il gene codificante per l'opsina dei coni, anche se ne è stata localizzata una mutazione che impedisce la sua espressione (Fasick et al., 1998; Peichl et al., 2001; Griebel, 2002; Levenson e Dizon, 2003; Berta et al., 2006). L'opsina dei coni è sensibile alle basse frequenze d'onda; quindi l'assenza di questo pigmento riduce la capacità dei Mammiferi marini di percepire stimoli luminosi a bassa lunghezza d'onda e impedisce la discriminazione dei colori, che richiede la presenza di almeno due tipi di coni con differenti pigmenti visivi (Peichl et al., 2001; Levenson e Dizon, 2003).

Alcuni studi comportamentali hanno dimostrato che non tutti i Mammiferi marini hanno una visione monocromatica, legata all'esclusiva presenza dei coni-L.

Il Tursiopo (*Tursiops truncatus*) non ha la capacità di distinguere i colori (Madsen e Herman, 1980; Griebel e Schmid, 2002) e invece ciò accade nei Pinnipedi, come la Foca maculata (*Phoca largha*) (Wartzok e McCormick, 1978), la Foca della Groenlandia (*Pagophilus groenlandicus*) (Lavigne e Ronald, 1972), l'Otaria della California (*Zalophus californianus*) (Griebel e Schmid, 1992), l'Otaria orsina del Capo (*Arctocephalus pusillus*) (Busch e Duker, 1987) e l'Otaria orsina sudamericana (*Arctocephalus australis*).

Da alcuni studi è emersa una differenza nel picco di assorbimento della rodopsina dei Cetacei e dei Pinnipedi rispetto a quello dei Mammiferi terrestri: quello dei primi due è compreso tra 480 e 505 nm, shiftando verso il blu (Lythgoe e Dartnall, 1970; McFarland, 1971; Lavigne e Ronald,

1975; Piggins et al., 1983; Fasick et al., 1998; Fasick e Robinson, 1998, 2000; Newman e Robinson, 2005; Bischoff et al., 2012), mentre quello dei secondi raggiunge i 500 nm.

Probabilmente in condizioni di luce intermedia, che permette l'attività dei coni e dei bastoncelli, può esserci una percezione del colore che utilizza le differenze tra i segnali dei bastoncelli e dei coni di tipo L (Griebel e Peichl, 2003; Mass e Supin, 2007).

Il nervo ottico è composto da assoni con un grande diametro (Dawson et al., 1982, Gao e Zhou, 1991; Mazzatenta et al., 2001). Nei Cetacei è stata evidenziata la completa decussazione delle fibre del nervo ottico a livello del chiasma; di conseguenza alla corteccia visiva di destra arrivano solo le immagini del campo visivo di sinistra e viceversa (Jacobs et al., 1975; Supin et al., 1978; Ridgway, 1990; Tarpley et al., 1994). Questa caratteristica, unita alla posizione laterale degli occhi, (che non permette un'alta sovrapposizione dei campi visivi) rendono ridotta o impossibile la visione stereoscopica nei Cetacei. La corteccia visiva dei Cetacei è situata probabilmente nella parte dorsomediale dei lobi parietali invece che nel lobo occipitale come negli altri Mammiferi.

L'occhio dei Cetacei è estremamente vascolarizzato. Nella fossa orbitale è presente la rete mirabile infraorbitale, un plesso vascolare situato nella zona anteriore orbitale, all'interno della quale scorre il nervo ottico (Ninomiya e Yoshida, 2007). Questa plesso si origina dalla rete basilare, che deriva dalle reti cervicale e spinale, a loro volta provenienti dall'arteria toracica posteriore (Ninomiya e Yoshida, 2007). I vasi della rete mirabile sono in rapporto con il sangue venoso che esce dall'orbita, creando un circolo di scambio di calore controcorrente. La rete mirabile svolge un ruolo di termoregolazione, che permette il giusto funzionamento dei fotocettori della retina, indipendentemente dalla temperatura esterna dell'acqua (Ninomiya e Yoshida, 2007; Buono et al., 2011). Si pensa che la grande capacità di accumulo del sangue da parte dei vasi orbitali possa essere importante non solo per garantire l'apporto di ossigeno e metaboliti durante le immersioni (Nagel et al., 1968; Geisler e Luo, 1998; Buono et al., 2011), ma anche per ammortizzare gli effetti che le variazioni di pressione possono provocare sulla circolazione oculare (Ninomiya e Yoshida, 2007; Buono et al., 2012).

I muscoli estrinseci dell'occhio sono i quattro retti (dorsale, ventrale, laterale e mediale), i due obliqui (dorsale e ventrale), il retrattore del bulbo (molto sviluppato) e l'elevatore della palpebra superiore (Zhu et al., 2000).

Nella Balena della Groenlandia (*Balaena mysticetus*) (Zhu et al., 2000) i quattro muscoli retti e i due obliqui prendono attacco sulla sclera e mandano tendini che si inseriscono sulla palpebra. La parte dei muscoli che si inserisce sulla sclera è rappresentata da un largo cordone tendineo che si innesta a ventaglio sulla tonaca fibrosa (Zhu et al., 2000). Queste inserzioni a

ventaglio formano un anello di fibre tendinee intersecate tra di loro che circondano il bulbo oculare (Zhu et al., 2000). Si ipotizza che questa disposizione dei muscoli, come la loro diversa larghezza, possano permettere all'occhio di svolgere movimenti molto complessi (Zhu et al., 2000).

Una caratteristica peculiare dei Cetacei è la capacità di muovere gli occhi in maniera indipendente l'uno dall'altro; questa abilità è consentita dall'elevato grado d'indipendenza dei due emisferi cerebrali (Ridgway, 1990; Tarpley e Ridgway, 1994; Marino, 2004). Infatti, i Cetacei presentano un corpo calloso di dimensioni ridotte in relazione a quelle degli emisferi (Ridgway, 1990, Tarpley e Ridgway, 1994; Marino, 2004).

### **3. SCOPO DELLA RICERCA**

Gli occhi dei Cetacei presentano delle caratteristiche morfofunzionali necessarie per la vita in ambiente acquatico (Luria e Kinney, 1970). Sebbene le caratteristiche strutturali dell'occhio dei Cetacei siano state in passato oggetto di studio, i dati relativi alle caratteristiche istologiche e morfometriche della tonaca fibrosa appaiono, allo stato attuale, poco numerosi e non chiaramente noti per tutti i Delfinifi. Per questo motivo è stato condotto il presente studio che, mediante l'uso della microscopia ottica e di opportuni software di analisi immagine, ha studiato le caratteristiche strutturali e morfometriche della cornea e della sclerotica nel Tursiope (*Tursiops truncatus*) e nella Stenella striata (*Stenella coeruleoalba*).

## 4. MATERIALI E METODI

La presente ricerca è stata condotta su due Delfinidi, il Tursiope (*Tursiops truncatus*) (2 soggetti) e la Stenella striata (*Stenella coeruleoalba*) (1 soggetto). Tale materiale è stato fornito dalla Banca dei Tessuti per i Mammiferi Marini del Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione dell'Università degli Studi di Padova. Da ciascun soggetto sono stati prelevati gli occhi che sono stati fissati per immersione in paraformaldeide al 4% tamponata (pH 7,4) per almeno settantadue ore. Il materiale è stato processato mediante inclusione in paraffina e tagliato al microtomo rotativo in sezioni sagittali dello spessore di 5-10 µm. Le sezioni ottenute sono quindi state sottoposte alla colorazione con ematossilina-eosina.

### 4.1. COLORAZIONE CON EMATOSSILINA–EOSINA

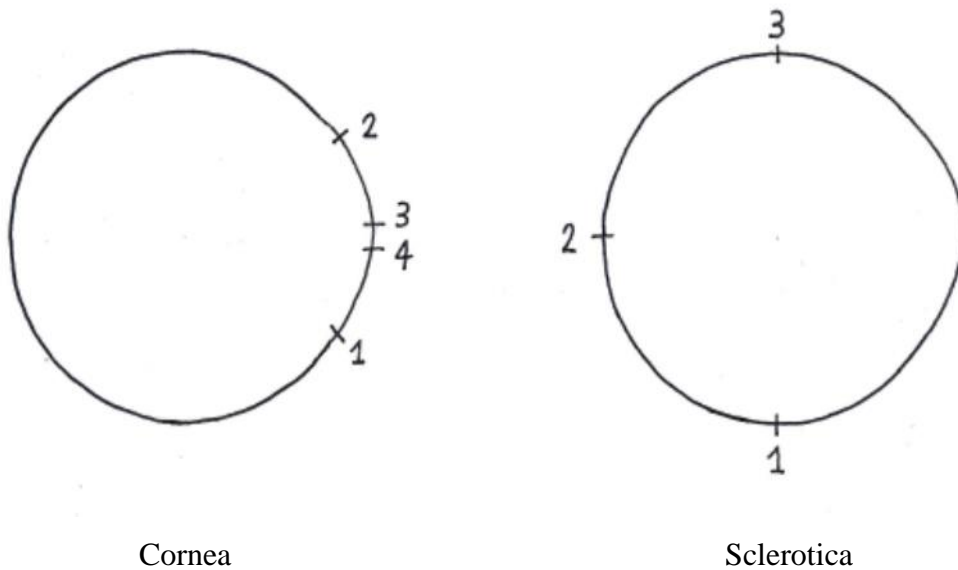
Mediante questa colorazione il nucleo viene evidenziato in viola, il citoplasma in rosa e le aree di citoplasma ricche in reticolo endoplasmatico rugoso in viola. Le sezioni sono state sparaffinate in xilolo per un arco di tempo compreso tra 30 minuti e 1 ora. Successivamente le sezioni sono state idratate attraverso una serie di alcoli a gradazione decrescente (3 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°) e un passaggio finale in acqua distillata (2 minuti). Il tessuto, successivamente, è stato colorato con ematossilina per 20 minuti, a cui è seguito un differenziamento in acqua di fonte per altri 20 minuti. Le sezioni sono state colorate con l'eosina per 30 secondi e, dopo lavaggio con acqua distillata, sono state disidratate mediante una serie di alcoli a gradazione crescente (2 minuti in alcol 50°, 2 minuti in alcol 75°, 2 minuti in alcol 80°, 2 minuti in alcol 90°, 2 minuti in alcol 95° e 3 minuti in alcol 100°). Infine le sezioni sono state chiarificate in xilolo e chiuse con vetrino coprioggetto, utilizzando entellan (Merk, Darmstadt, Germany).

### 4.2. ANALISI DELLE SEZIONI

Le sezioni colorate con l'ematossilina-eosina sono state osservate al microscopio Zeiss Axioplan (Carl Zeiss, Oberkochen, Germany). Lo spessore della cornea e della sclerotica è stato misurato impiegando il software Axiovision Rel 4.8.2. Tali analisi sono state fatte in sezioni per ciascun soggetto. In ciascuna sezione sagittale esaminata lo spessore della cornea è stato misurato in 4 differenti punti, 2 (1+1) in corrispondenza di ciascuna estremità della cornea (ovvero vicino alla sclerotica, ma non in corrispondenza del lembo sclerocorneale), 2 in corrispondenza della

parte centrale della cornea. In ciascuna sezione sagittale lo spessore della sclerotica è stato misurato in 3 differenti punti, uno dorsale, uno posteriore e uno ventrale. I punti in corrispondenza dei quali sono stati misurati gli spessori della cornea e della sclerotica sono riportati nello schema 1.

**Schema 1: Rappresentazione dei punti in corrispondenza dei quali sono stati misurati gli spessori di cornea e sclerotica**



Punti 1 e 2: periferici  
Punti 3 e 4: centrali

Punto 1: ventrale  
Punto 2: posteriore  
Punto 3: dorsale

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



## 5. RISULTATI

### 5.1. CARATTERISTICHE STRUTTURALI E MORFOMETRICHE DELLA CORNEA

#### 5.1.1. Struttura della cornea

Sia nel Tursiope che nella *Stenella striata* la cornea mostra i cinque tipici strati che, dall'esterno verso l'interno, sono i seguenti:

- epitelio corneale
- membrana basale
- sostanza propria
- membrana di Descemet
- endotelio

L'**epitelio corneale** si presenta pavimentoso, stratificato, non cheratinizzato e formato da un numero di strati variabile. Le cellule dello strato basale mostrano un aspetto cubico e un citoplasma lievemente basofilo, probabilmente per la presenza di reticolo endoplasmatico rugoso e ribosomi liberi. Le cellule degli strati più superficiali diventano progressivamente ellittiche fino a diventare appiattite nello strato più esterno. I nuclei cellulari, sempre bene evidenti, sono rotondeggianti nello strato basale ma diventano progressivamente più schiacciati negli strati più superficiali (Figure 1 e 2).

La **membrana basale** sottoepiteliale non è stata evidenziata con la colorazione utilizzata.

La **sostanza propria**, o stroma, mostra numerose fibre collagene eosinofile, disposte in lamelle parallele rispetto alla superficie della cornea. I fibrociti, presenti tra le lamelle di collagene, mostrano un nucleo allungato fortemente colorato con l'ematossilina (Figure 3 e 4).

La **membrana di Descemet** (denominata anche membrana limitante posteriore) si mostra come uno strato ispessito di materiale amorfo eosinofilo (Figure 5 e 6).

L'**endotelio** (chiamato anche epitelio posteriore) è un classico epitelio pavimentoso semplice, caratterizzato dalla presenza di cellule estremamente appiattite (Figure 5 e 6).

### 5.1.2. Analisi morfometrica della cornea

Nel Tursiope la cornea mostra, in sezione sagittale, uno spessore medio che corrisponde a  $1416.28 \mu\text{m} \pm 237.33$  nella parte centrale (valore massimo  $1748.14 \mu\text{m}$ ; valore minimo  $692.94 \mu\text{m}$ ) e a  $1281.53 \mu\text{m} \pm 169.12$  nella parte periferica (valore massimo  $1452.74 \mu\text{m}$ ; valore minimo  $752.96 \mu\text{m}$ ).

Nella Stenella striata la cornea, in sezione sagittale, presenta uno spessore medio che corrisponde a  $802.25 \mu\text{m} \pm 174.63$  nella parte centrale (valore massimo  $1303.64 \mu\text{m}$ ; valore minimo  $554.93 \mu\text{m}$ ) e a  $1453.61 \mu\text{m} \pm 146.72$  nella parte periferica (valore massimo  $1662.96 \mu\text{m}$ ; valore minimo  $1086.22 \mu\text{m}$ ). Gli spessori medi di ogni strato corneale di Tursiope e Stenella striata sono riportati nelle tabelle 1 e 2.

**Tabella 1: Spessore degli strati corneali nel Tursiope**

<b>Strato</b>	<b>Spessore medio <math>\pm</math> SD</b>	<b>Spessore minimo</b>	<b>Spessore massimo</b>
Epitelio	$19.09 \pm 11.38$	3.85	37.12
Stroma	$1250.03 \pm 293.77$	707.60	1631.54
Endotelio e membrana di Descemet	$9.27 \pm 7.97$	1.65	27.45

**Tabella 2: Spessore degli strati corneali nella Stenella striata**

<b>Strato</b>	<b>Spessore medio <math>\pm</math> SD</b>	<b>Spessore minimo</b>	<b>Spessore massimo</b>
Epitelio	$83.30 \pm 21.71$	46.67	114.99
Stroma	$781.85 \pm 191.51$	528.19	1260.19
Endotelio e membrana di Descemet	$5.47 \pm 2.02$	3.53	10.29

Come indicato nelle tabelle 1 e 2 sia nel Tursiope sia nella Stenella striata lo strato corneale più ispessito è rappresentato dallo stroma.

## 5.2. CARATTERISTICHE STRUTTURALI E MORFOMETRICHE DELLA SCLEROTICA

### 5.2.1. Struttura della sclerotica

Nel Tursiope e nella *Stenella striata* la sclerotica appare costituita da tessuto connettivo denso irregolare (Figura 7). Le abbondanti fibre collagene si mostrano eosinofile e costituiscono dei fasci tra loro intrecciati (Figura 7). Tra i fasci di fibre collagene è possibile evidenziare i nuclei dei fibrociti, che si mostrano stretti, allungati e colorati con l'ematossilina, e numerosi melanociti di colore bruno (Figure 7, 8 e 9). I melanociti appaiono molto numerosi in corrispondenza della giunzione sclero-corneale (Figura 10). In corrispondenza del punto di inserzione dei muscoli estrinseci dell'occhio, i fasci di fibre collagene assumono una disposizione quasi circolare (Figura 11).

### 5.2.2. Analisi morfometrica della sclerotica

Nel Tursiope la sclerotica mostra, in sezione sagittale, uno spessore medio che corrisponde a  $1522.22 \mu\text{m} \pm 224.45$  nella parte posteriore (valore massimo  $2127.74 \mu\text{m}$ ; valore minimo  $1200.56 \mu\text{m}$ ), a  $1387.42 \mu\text{m} \pm 152.98$  nella parte dorsale (valore massimo  $1658.78 \mu\text{m}$ ; valore minimo  $1118.38 \mu\text{m}$ ) e a  $1017.46 \mu\text{m} \pm 202.26$  nella parte ventrale (valore massimo  $1575.72 \mu\text{m}$ ; valore minimo  $658.62 \mu\text{m}$ ).

Nella *Stenella striata* la cornea, in sezione sagittale, presenta uno spessore medio che corrisponde a  $1516.71 \mu\text{m} \pm 313.70$  nella parte posteriore (valore massimo  $1969.66 \mu\text{m}$ ; valore minimo  $1163.50 \mu\text{m}$ ), a  $1276.92 \mu\text{m} \pm$  nella parte dorsale (valore massimo  $1561.50 \mu\text{m}$ ; valore minimo  $1080.36 \mu\text{m}$ ) e a  $1306.14 \mu\text{m} \pm$  nella parte ventrale (valore massimo  $1377.44 \mu\text{m}$ ; valore minimo  $1233.98 \mu\text{m}$ ).

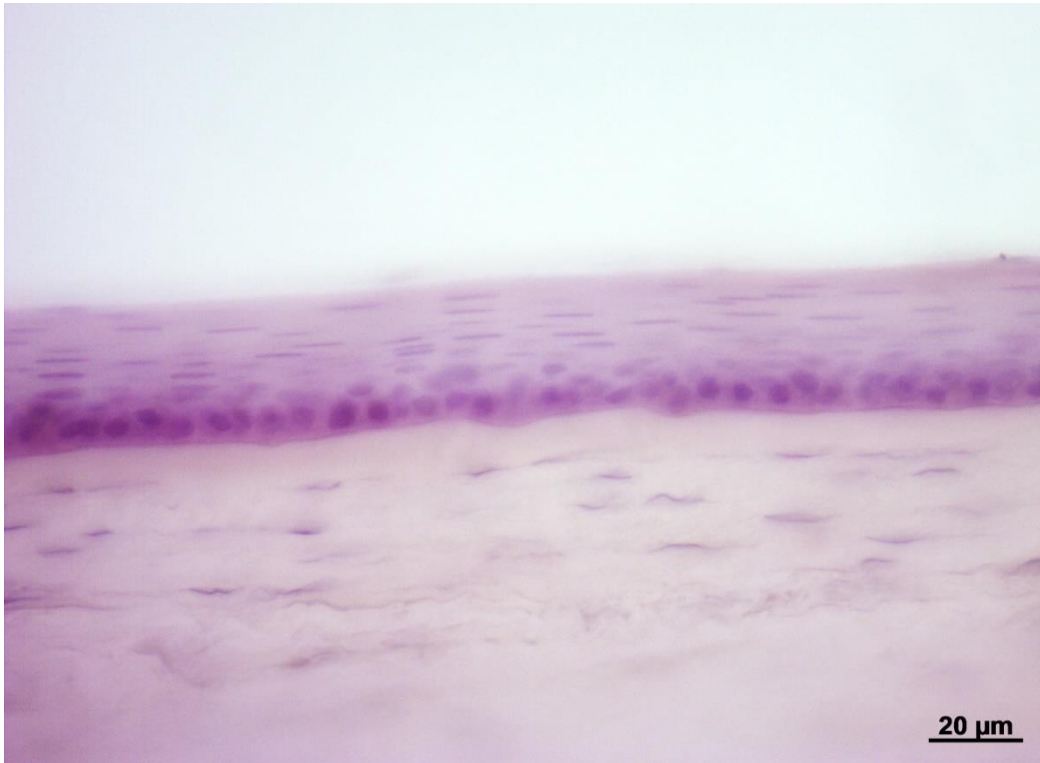


Figura 1. Epitelio corneale di Tursiope. Notare la disposizione stratificata delle cellule.  
Colorazione: Ematossilina-eosina.

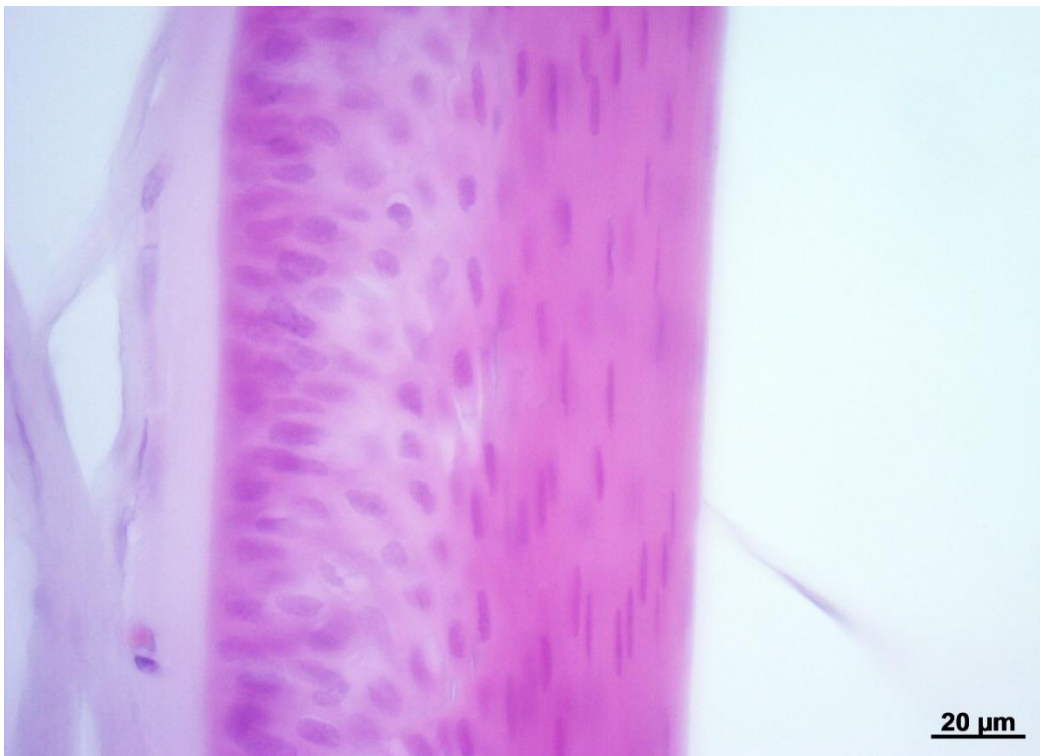


Figura 2. Epitelio corneale di Stenella striata. Le cellule degli strati profondi mostrano un nucleo rotondeggiante mentre quelle degli strati superficiali un nucleo appiattito.  
Colorazione: Ematossilina-eosina.

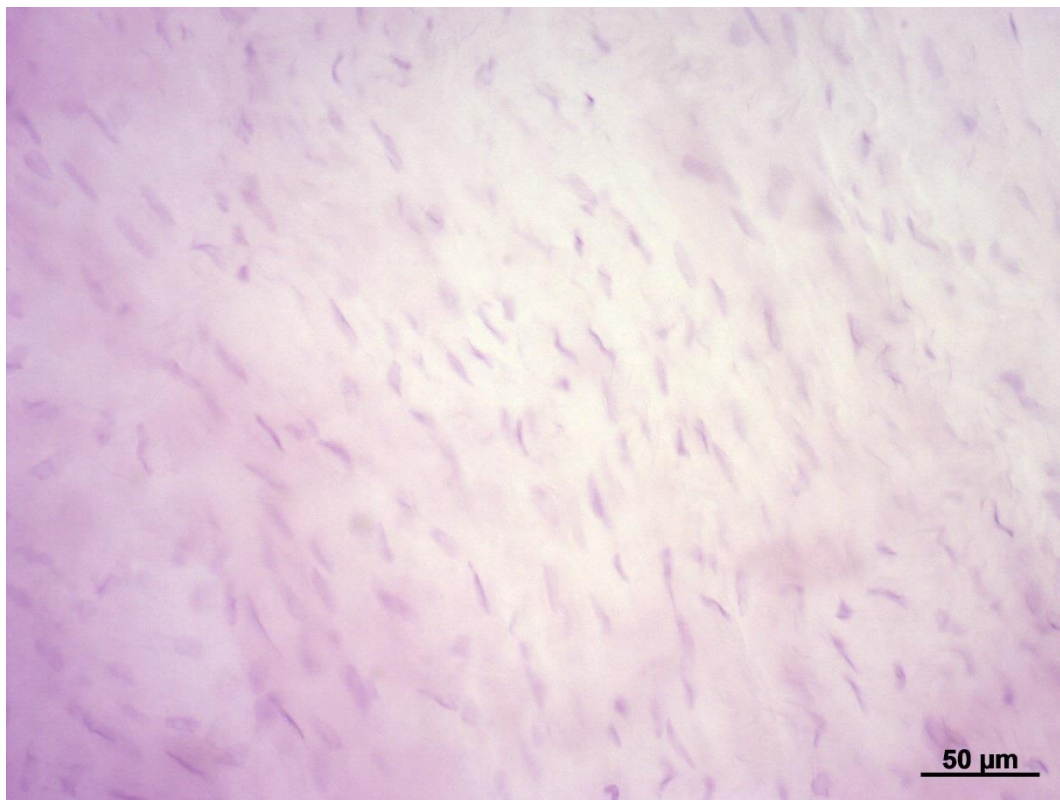


Figura 3. Stroma corneale di Tursiope. Notare la forma allungata dei fibroblasti.  
Colorazione: Ematossilina-eosina.



Figura 4. Stroma corneale di Stenella striata. Le fibre collagene sono colorate in rosa.  
Colorazione: Ematossilina-eosina.

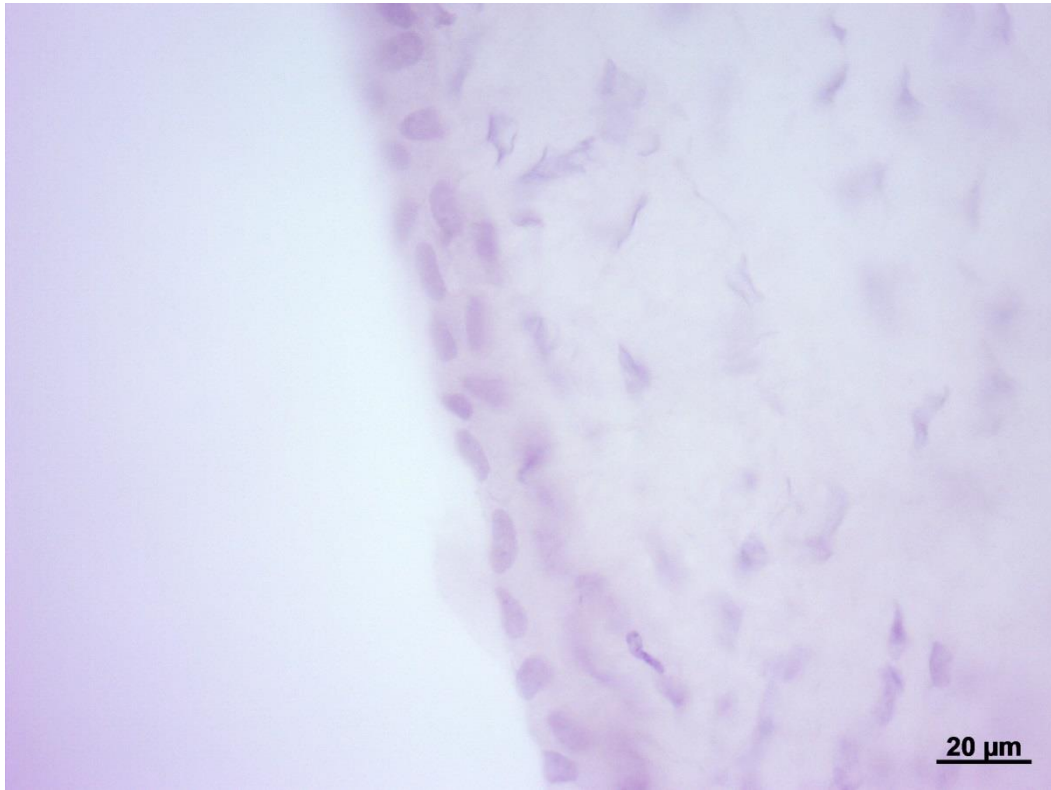


Figura 5. Endotelio e membrana di Descemet di Tursiope.  
Colorazione: Ematossilina-eosina.

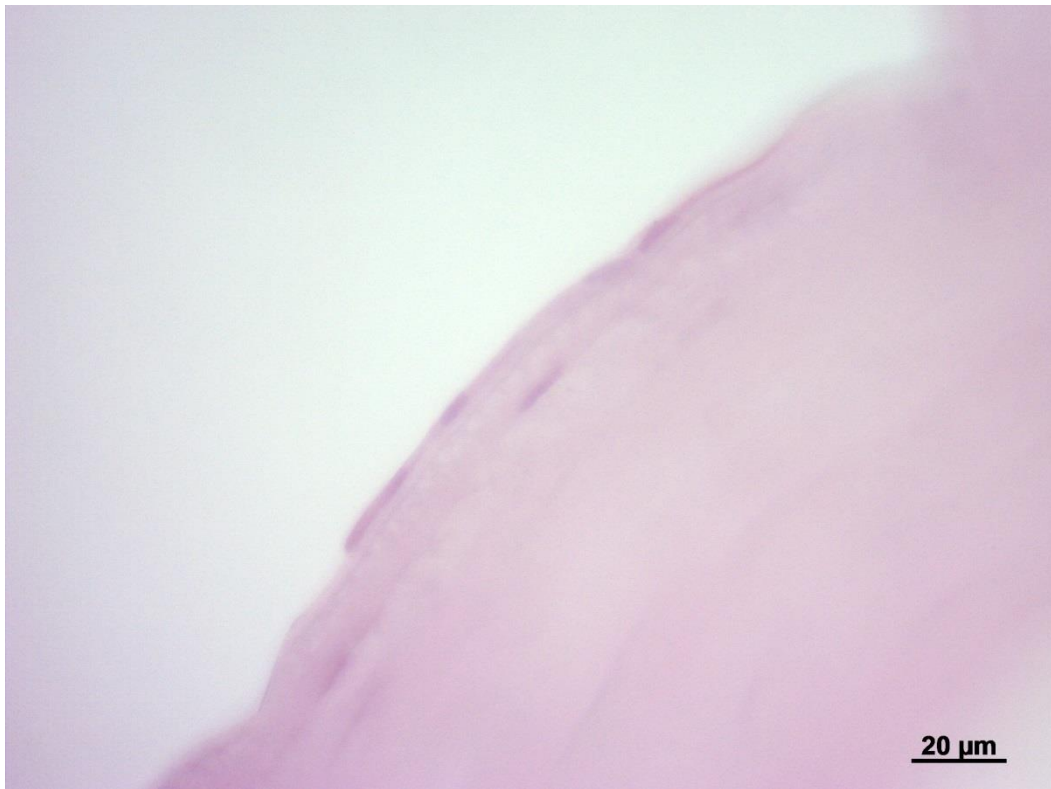


Figura 6. Endotelio e membrana di Descemet di Stenella striata.  
Colorazione: Ematossilina-eosina.

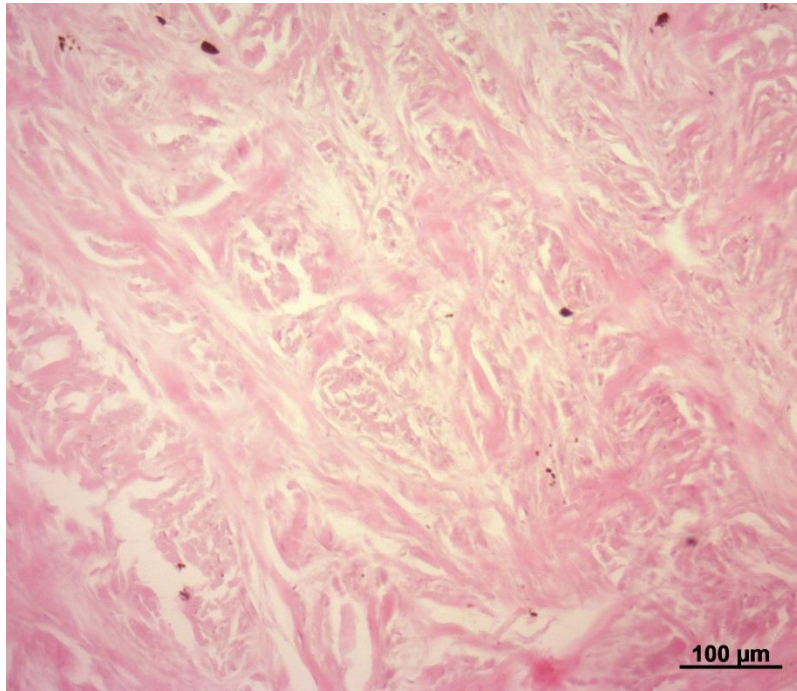


Figura 7. Sclerotica di Tursiope.  
Notare le fibre collagene disposte in fasci tra loro orientati.  
Colorazione: Ematossilina-eosina.

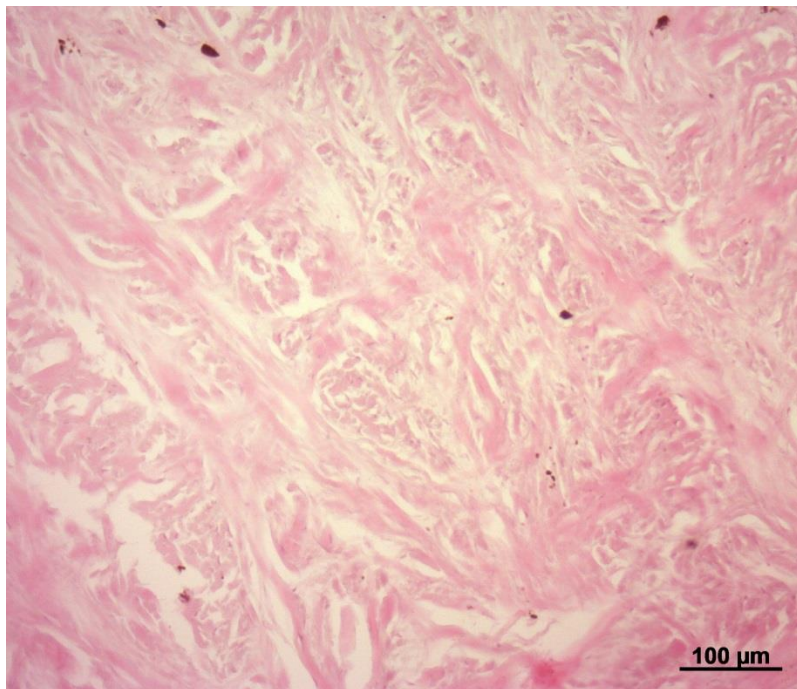


Figura 8. Melanociti presenti nella sclerotica di Tursiope.  
Colorazione: Ematossilina-eosina.

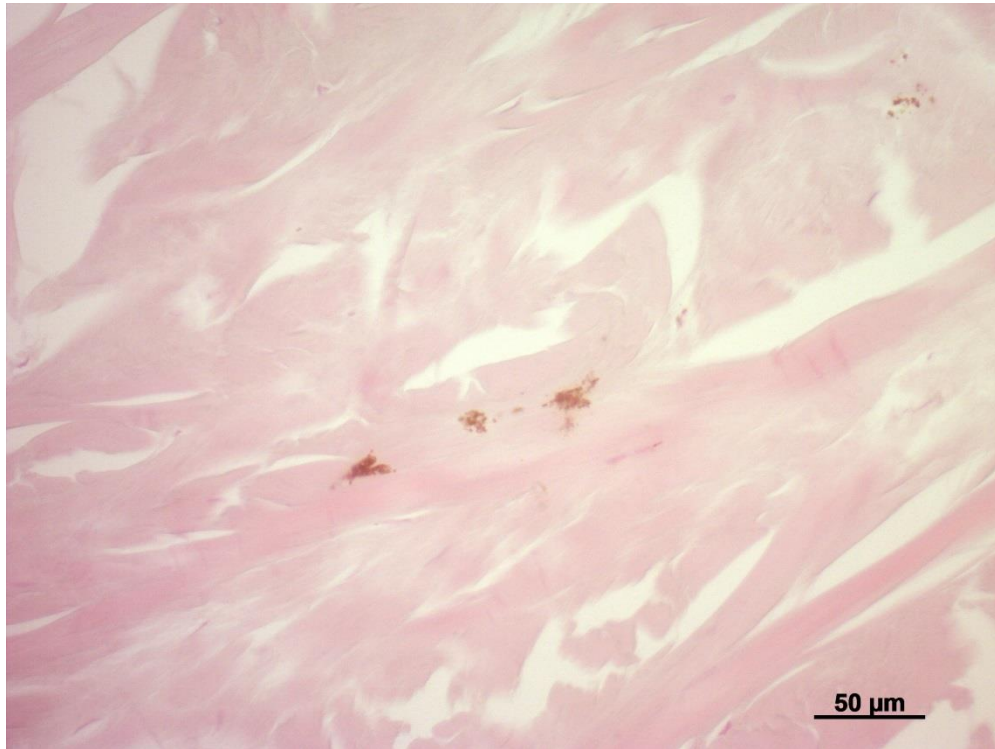


Figura 9. Melanociti presenti nella sclerotica di *Stenella striata*.

Colorazione: Ematossilina-eosina.

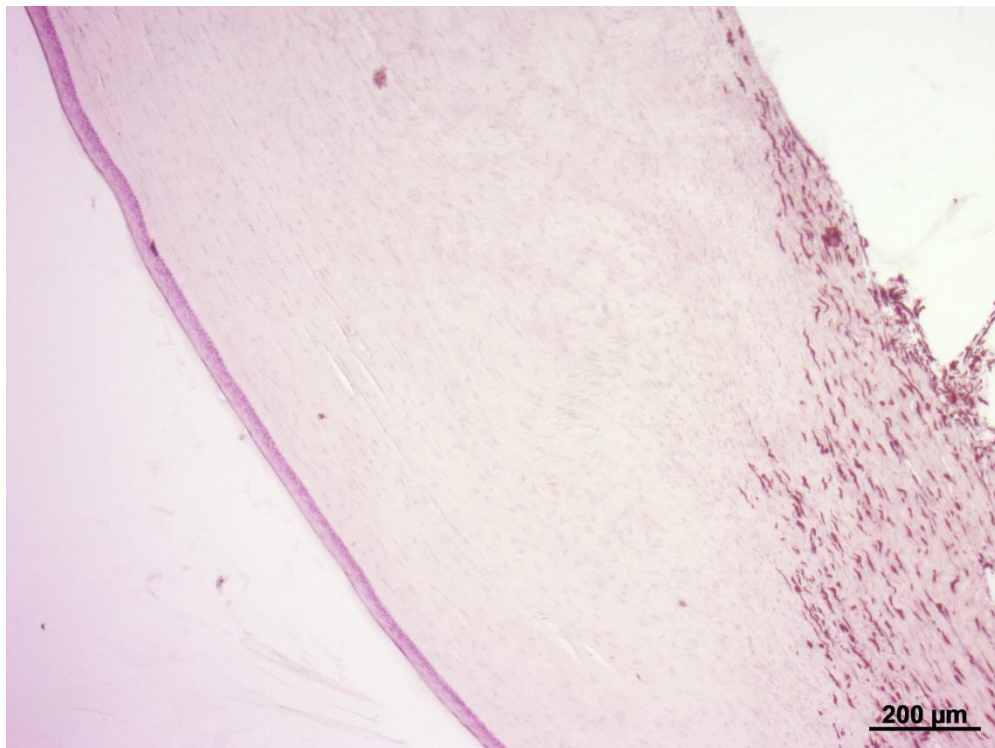


Figura 10. Melanociti presenti nella giunzione sclero-corneale di *Tursiops*.

Colorazione: Ematossilina-eosina.



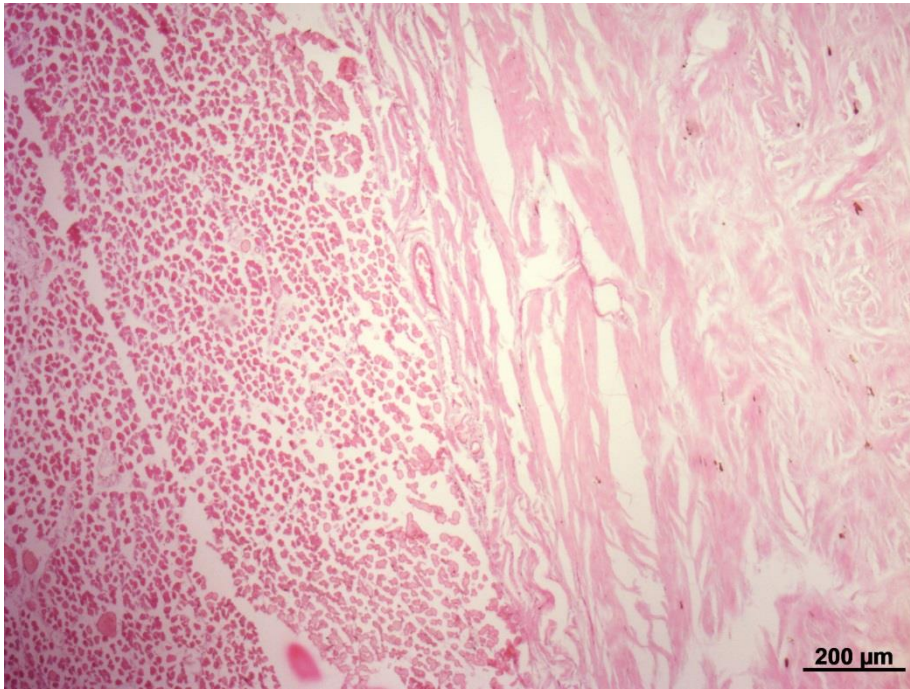


Figura 11. Inserzione dei muscoli oculari estrinseci (a sinistra)  
nella sclerotica (a destra) di Tursiope.  
Colorazione: Ematossilina-eosina.

## 6. DISCUSSIONE

I risultati ottenuti nella presente ricerca indicano come la tonaca fibrosa dell'occhio di Tursiope e *Stenella striata* mostri alcune caratteristiche che la contraddistinguono da quella presente nei Mammiferi terrestri.

La cornea di Tursiope e *Stenella striata* mostra la struttura base presente negli altri Mammiferi; essa infatti, dall'esterno verso l'interno, appare costituita dai seguenti cinque strati: epitelio corneale, membrana basale, sostanza propria, membrana di Descemet ed endotelio. Sebbene le caratteristiche istologiche osservabili nei singoli strati non si differenzino da quelle presenti nei Mammiferi terrestri, esistono notevoli differenze per quanto riguarda lo spessore. La cornea di Tursiope e di *Stenella striata*, come accade per altri Cetacei (Mass e Supin, 2007), mostra uno spessore decisamente maggiore rispetto a quella presente nei Mammiferi terrestri. Come in questi ultimi, lo strato che contribuisce maggiormente a fornire spessore alla cornea è quello della sostanza propria. Lo spessore della cornea del Tursiope e della *Stenella striata*, come osservato in generale nei Cetacei (Mass e Supin, 2007), è maggiore alla periferia rispetto al centro. Tale dato è simile a quanto osservato nel Cavallo, ma si differenzia completamente dalla situazione osservabile in altri Mammiferi terrestri, dove lo spessore della cornea è maggiore al centro (Bovino, Maiale e Cane) o si presenta uniforme per tutta la sua estensione (Gatto, Pecora e Coniglio). Nel Tursiope e nella *Stenella striata* la parte periferica della cornea, essendo più ispessita di quella centrale, mostra un indice di rifrazione maggiore. Questa caratteristica, unita al fatto che la faccia posteriore è più curva di quella anteriore, rende la cornea una lente divergente in grado di compensare il potere rifrattivo del cristallino. In questo modo l'occhio diventa emmetrope in ambiente subacqueo (Litwiler e Cronin, 2001; Mass e Supin, 2007; Fulton, 2009).

Nel Tursiope e nella *Stenella striata*, come del resto in molti Cetacei (Mass e Supin, 2007), la sclerotica è particolarmente ispessita. Lo spessore della sclerotica è particolarmente evidente nella sua parte posteriore. Tale adattamento svolge probabilmente il ruolo di proteggere l'occhio dalle variazioni di pressione legate all'immersione, tenuto conto anche dell'assenza di una vera e propria orbita di natura ossea.

## 7. BIBLIOGRAFIA

Berta A., Sumich J. L., Kovacs K. M. (2006). Marine mammals. Evolutionary biology, pp. 152-155.

Bischoff N., Nickle B., Cronin T., Velasquez S., Fasick J. I. (2012). Deep-sea and pelagic rod visual pigments identified in the mysticete whales. *Vis. Neurosci.* 29: 95-103.

Bjerager P., Heegaard S., Tougaard J. (2003). Anatomy of the eye of the sperm whale (*Physeter macrocephalus*). *Aquat. Mam.* 29: 31-36.

Bortolami R., Callegari E. (2000). Anatomia e fisiologia degli animali domestici, pp. 585-600.

Buono M., Fernandez M., Herrera Y. (2012). Morphology of the eye of the southern right whales (*Eubalena australis*). *The Anat. Rec.* 295: 355-368.

Busch H., Duker G. (1987). Das visuelle Leistungsvermogen der Seebaren (*Arctocephalus pusillus und Arctocephalus australis*). *Zool. Anz.* 219: 197-224.

Danilo T. (2010). Fisica. Il cammino della scienza, pp. 49-56.

Dawson W. W., Birndorf L. A., Perez J. M. (1972). Gross anatomy and optics of the dolphin eye. *Cetology.* 10: 1-12.

Dawson W. W., Adams C. K., Barris M. C., Litzkow C. A. (1979). Static and kinetic properties of the dolphin pupil. *Am. J. of Physiol.* 237: 301-305.

Dawson W. W. (1980). The cetacean eye. In: Herman L. M. Cetacean behavior: mechanisms and functions, pp. 53-100.

Dawson W. W., Hawthorne M. N., Jenkins R. L., Goldston R. T. (1982). Giant neural system in the inner retina and optic nerve of small whales. *J. Comp. Neurol.* 205: 1-7.

- Dawson W. W., Schroeder J. P., Sharp S. N. (1987). Corneal surface properties of two marine mammal species. *Mar. Mam. Sci.* 3: 186-197.
- Dellmann H. D., Eurell J. A. (2000). *Istologia e anatomia microscopica veterinaria*, pp. 445-460.
- Dral A. D. G. (1972). Aquatic and aerial vision in the bottle-nosed dolphin. *Neth. J. of Sea Res.* 5: 510-513.
- Dral A. D. G. (1977). On the retinal anatomy of cetacean (mainly *Tursiops truncatus*). In: Harrison R. J. *Functional anatomy of marine mammals.* 3: 81-134.
- Fasick J. I., Cronin T. W., Hunt D. M., Robinson P. R. (1998). The visual pigments of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Vis. Neurosci.* 15: 643-651.
- Fasick J. I., Robinson P. R. (1998). Mechanism of spectral tuning in the dolphin visual pigments. *Biochem.* 37: 433-438.
- Fasick J. I., Robinson P. R. (2000). Spectral-tuning mechanisms of marine mammal rhodopsins and correlations with foraging depth. *Vis. Neurosci.* 17: 781-788.
- Fulton J. T. (2009). The visual system of dolphins: a review. Appendix J – 11.
- Gao G., Zhou K. (1991). Fiber analysis of the optic and cochlear nerves of small cetaceans. *Mar. Mam. Sens. Syst.*, pp. 39-52.
- Griebel U. (2002). Color vision in marine mammals: a review, pp. 73-87.
- Griebel U., Peichl L. (2003). Color vision in aquatic mammals, fact and open questions. *Aquat. Mam.* 29: 18-30.
- Griebel U., Schmid A. (1992). Color vision in the California sea lion (*Zalophus californianus*). *Vis. Res.* 32: 477-482.

- Griebel U., Schmid A. (2002). Spectral sensitivity and color vision in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Mar. Freshwater Behav. Physiol.* 35: 129-137.
- Herman L. M., Peacock M. F., Yunker M. P., Madsen C. J. (1975). Bottlenose dolphin: double-split pupil yields equivalent aerial and underwater diurnal acuity. *Science*. 189: 650-652.
- Jacobs G. H., Morgane P. J., McFarland W. L. (1975). Degeneration of visual pathways in the bottle-nosed dolphin. *Brain Res.* 88: 346-352.
- Kroger R., Kirschfeld K. (1989). Accommodation in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Abstr. Fifth Internat. Theriol. Congr.*, pp. 367-368.
- Kroger R., Kirschfeld K. (1994). Refractive index in the cornea of a harbor porpoise (*Phocoena phocoena*) measured by two-wavelength laser-interferometry. *Aquat. Mam.* 20: 99-107.
- Lavigne D. M., Ronald K. (1972). The harp seal (*Pagophilus groenlandicus*). *Can. J. Zool.* 50: 1197-1206.
- Lavigne D. M., Ronald K. (1975). Pinniped visual pigments. *Comp. Biochem. Physiol.* 52: 325-329.
- Levenson D. H., Dizon A. (2003). Genetic evidence for the ancestral loss of short-wavelength-sensitive cone pigments in mysticete and odontocete cetaceans. *Proc. Biol. Sci.* 270: 673-679.
- Litwiler T., Cronin T. (2001). No evidence of accommodation in the eyes of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Mar. Mam. Sci.* 17: 508-525.
- Luria S. M., Kinney J. A. (1970). Underwater vision. *Science*. 167: 1454-1461.
- Lythgoe J. N., Dartnall H. J. (1970). A "deep sea rhodopsin" in a mammal. *Nature*. 227: 955-956.
- Madsen C. J., Herman L. M. (1980). Social and ecological correlates of cetacean vision and visual appearance. In: Herman L. M. *Cetacean behavior: mechanisms and functions*, pp. 101-147.

- Marino L. (2004). Cetacean brain evolution: multiplication generates complexity. *Int. J. of Comp. Psychol.* 17: 1-16.
- Mass A., Supin A. (1995). Ganglion cells topography of the retina in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Brain Behav. Evol.* 45: 257-265.
- Mass A., Supin A. (1997). Ocular anatomy, retinal ganglion cell distribution and visual resolution in the gray whale (*Eschrichtius gibbosus*). *Aquat. Mam.* 23: 17-28.
- Mass A., Supin A. (2007). Adaptive features of aquatic mammals' eye. *The Anat. Rec.* 290: 702-715.
- Mass A., Supin A., Mukhametov L., Rozanova E., Abramov A. (2011). Morphological estimation of retinal resolution of a killer whale (*Orcinus orca*). *Brain Behav. Evol.* 81: 1-11.
- Mazzatenta A., Caleo M., Baldaccini N. E., Maffei L. (2001). A comparative morphometric analysis of the optic nerve in two cetacean species, the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) and fin whale (*Balaenoptera physalus*). *Vis. Neurosci.* 18: 319-325.
- McFarland W. N. (1971). Cetacean visual pigments. *Vis. Res.* 11: 1065-1076.
- Murayama T., Somiya H., Aoki I., Ishii T. (1992). The distribution of ganglion cells in the retina and visual acuity of minke whale. *Nippon Suissan Gakkaishi.* 58: 1057-1061.
- Murayama T., Somiya H., Aoki I., Ishii T. (1995). Retinal ganglion size and distribution predict visual capabilities of Dall's porpoise. *Mar. Mam. Sci.* 11: 136-149.
- Newman L., Robinson P. (2005). Cone visual pigments of aquatic mammals. *Vis. Neurosci.* 22: 873-879.
- Ninomiya H., Yoshida E. (2007). Functional anatomy of the ocular circulatory system: vascular corrosion casts of the cetacean eye. *Vet. Ophthalmol.* 10: 231-238.

Ollivier F. J., Samuelson D. A., Brooks D. E., Lewis P. A., Kallberg M. E., Komaromy A. M. (2004). Comparative morphology of the tapetum lucidum (among selected species). *Vet. Ophthalmol.* 7: 11-22.

Peichl L., Behrmann G., Kroeger R. (2001). For whales and seals the ocean is not blue: a visual pigment loss in marine mammals. *Europ. J. Neurosci.* 13: 1-10.

Perez J. M., Dawson W. W., Landau D. (1972). Retinal anatomy of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Cetology.* 11: 1-11.

Piggins D., Muntz W. R. A., Best R. C. (1983). Physical and morphological aspects of the eye of the manatee *Trichechus inunguis natterer* (Sirenia: Mammalia). *Mar. Behav. and Physiol.* 9: 111-130.

Pilleri G., Wandeler A. (1964). Ontogenese und funktionelle morphologie des auges des finnwalts *Balaenoptera physalus*. *Acta Anat. Suppl.* 57: 1-74.

Ridgway S. (1990). The central nervous system of the bottlenose dolphin, pp. 69-97.

Sivak J. G. (1980). Accommodation in vertebrates: contemporary survey. *Curr. Top. Eye Res.* 3: 281-330.

Supin A., Mukhametov L. M., Ladygina T. F., Popov V. V., Mass A., Polyakova I. G. (1978). Electrophysiological studies of the dolphin's brain.

Supin A., Popov V. V., Mass A. (2001). The sensory physiology of aquatic mammals.

Tarpley R., Gelderd J., Bauserman S., Ridgway S. (1994). Dolphin peripheral visual pathway in chronic unilateral ocular atrophy: complete decussation apparent. *J. of Morphol.* 222: 91-102.

Waller G. H., Harrison R. J. (1978). The significance of eyelid glans in delphinids. *Aquat. Mam.* 6: 1-9.

Wartzok D., McCormick M. G. (1978). Color discrimination by a Bering Sea spotted seal (*Phoca largha*). *Vis. Res.* 18: 781-784.

West J. A., Sivak J. G., Murphy C. J., Kovacs K. M. (1991). A comparative study of the anatomy of the iris and ciliary body in aquatic mammals. *Can. J. Zool.* 69: 2594-2607.

Zhu Q., Hillmann D. J., Henk W. G. (2000). Observations on the muscles of the eye of the bowhead whale (*Balaena mysticetus*). *The Anat. Rec.* 259: 189-204.



## 8. RINGRAZIAMENTI

Il primo grazie spetta alla mia numerosa famiglia: alla mia mamma, al mio papà, ai miei due fratelli maggiori Davide e Luca e alla mia sorellina Sara.

I miei genitori hanno saputo sostenermi in questi tanti anni di studio, fornendo spesso un appoggio incondizionato alle mie scelte e camminando a fianco a me lungo questo ampio percorso universitario.

Davide, “l’ingegnere di casa”, è stato disponibile nell’insegnarmi a usare i programmi di Excel e Paint e senza di lui probabilmente starei ancora annaspando alla ricerca di qualche soluzione.

Luca, “il grande storico giramondo”, è stato sempre presente, anche se non fisicamente per un certo periodo di tempo, per aiutarmi a revisionare e a impostare correttamente la tesi, come solo un bravo storico sa fare!

*Last but not least*, Sara, “la piccola pestifera”, ha allietato i miei pomeriggi passati alla scrivania a elaborare la mia tesi con barzellette (non sempre divertenti ma che lo sono diventate per il modo in cui me le ha raccontate), scherzi e coccole.

I prossimi ringraziamenti sono per le mie undicennali migliori amiche “B.I.” Gloria, Elisa e Francesca: grazie grazie grazie per esserci sempre state, in qualunque momento della giornata e in qualsiasi stagione, per avermi sostenuta nelle mie decisioni e per avermi consolata nei momenti più bui. Non so proprio come avrei fatto e come farei senza di voi!!!!!!

Un enorme grazie va alle mie fantastiche amiche “cinefile” Beatrice, Silvia e Lucia: abbiamo passato tanti pomeriggi tra tè e biscotti a ridere e a scherzare, molte serate al cinema a condividere la nostra comune passione per i film e ci siamo sostenute nei periodi più difficili, soprattutto universitari!!!

Vorrei inoltre immensamente ringraziare il professore Cristiano Bombardi, il correlatore della tesi, che mi ha aiutato tantissimo nella preparazione del mio elaborato e ha mostrato gentilezza, pazienza, disponibilità e umorismo illimitati, e il personale del laboratorio che mi ha supportato nella preparazione dei campioni.

L’ultimo ringraziamento spetta alla professoressa Elena Fabbri, la relatrice della tesi, che è stata molto cordiale nei miei confronti e ha appoggiato la scelta del mio progetto di tesi.