UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE

CORSO DI LAUREA IN

PSICOBIOLOGIA E NEUROSCIENZE COGNITIVE

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

Caratterizzazione funzionale e connettività dell'area somatosensoriale secondaria (SII) del macaco

Relatore:
Prof. Leonardo Fogassi

Candidato:
Nicolò Fornari

Correlatore:
Dr. Stefano Rozzi

Anno Accademico 2015/2016

INDICE

1. Introduzione

1.1. ***Sensazione Tattile e Movimento***

1.2. ***Sistema somatosensoriale: principi di organizzazione anatomo-funzionale***

1.3. ***Area somatosensoriale secondaria (SII)***

1.3.1. Prime definizioni di SII e caratteristiche architettoniche

1.3.2. Connessioni di SII

1.3.3. Risposte somatosensoriali

1.3.4. Rappresentazione somatotopica

1.3.5. Modulazioni intenzionali e attenzionali

1.3.6. Integrazione sensori-motoria: i neuroni motori di SII

1.3.7. Integrazione multisensoriale in SII: neuroni visivi e uditivi

1.4. ***Ruolo di SII nel riconoscimento tattile***

1.4.1. Lesioni di SII: l'Agnosia Tattile

1.4.2. Tatto aptico e SII

1.5. ***Possibile ruolo di SII nel network dell'afferramento: scopo dello studio***

2. Materiali e Metodi

2.1. *Esperimento di mappatura funzionale dell'area SII*

2.1.1. Impianto della camera di registrazione

2.1.2. Registrazione dell'attività neuronale

2.1.3. Indagine clinica per la caratterizzazione delle proprietà neuronali

2.1.4. Identificazione dell'area SII

2.1.5. Definizione delle risposte neuronali di *SII-mano*

2.2. *Esperimento di iniezione di traccianti neuronali*

2.2.1. Scelta dei siti d'iniezione e iniezione di traccianti neuronali

2.2.2. Processamento istologico

2.2.3 Analisi dei dati

3. Risultati

3.1. *Risultati Esperimento di Mappatura Funzionale dell'area SII*

3.1.1. Identificazione dell'area *SII-mano*

3.1.2. Mappa funzionale dell'area SII

3.2. *Risultati esperimento iniezione di traccianti neuronali*

3.2.1. Posizione del sito di iniezione

3.2.2. Connessioni corticali di *SII-mano*

4. Discussione

4.1. ***Proprietà neurali di SII***

4.2. ***Somatotopia di SII***

4.3. ***Connessioni di SII-mano***

4.4. ***SII come nodo somatosensoriale nel circuito che codifica le azioni manuali***

4.5. ***Possibile ruolo funzionale di SII***

5. Bibliografia

6. Ringraziamenti

1.Introduzione

1.1.*Sensazione tattile e movimento*

Il nostro cervello è un raffinato centro di smistamento ed elaborazione di impulsi atto a comandare movimenti e guidare comportamenti complessi. La cascata di eventi per cui uno stimolo esterno diventa un insieme di scariche neuronali, incomincia dalla trasduzione, un processo che converte l'energia di uno stimolo in scariche elettriche, il linguaggio comune alle cellule del nostro cervello: i neuroni. Biologicamente i nostri sistemi sensoriali hanno alcune finestre di sensibilità in termini di tipo di energia trasdotta (per es. stimoli meccanici, onde elettromagnetiche, stimoli chimici) e di intensità degli stimoli efficaci. Entro questi limiti possiamo ricevere segnali, ed elaborarli in termini di caratteristiche specifiche come la loro posizione, forma, colore, il suono o odore. Ma la nostra sensibilità non è dovuta solamente al nostro trascorso filogenetico, ma anche dal nostro vissuto esperenziale (ontogenetico), oltreché la situazione contestuale in cui lo stimolo è collocato e il nostro stato interiore in quel preciso momento.

Henri Laborit (1990), nei suoi saggi, utilizza il termine *informare* con il significato di "mettere in forma" ed è appropriato utilizzarlo per riferirsi a quello che fanno i nostri sistemi sensoriali: essi permettono cioè di rilevare un "qualcosa" e di *informare, trasformare* questo dato nel linguaggio del nostro cervello. Questi processi sottostanno alla funzione essenziale del sistema nervoso che è dare all'organismo la possibilità di agire, di realizzare la propria autonomia motoria rispetto all'ambiente, allo scopo di conservare la struttura dell'organismo.

Il neurofisiologo Rodolfo Llinas studiando l'*ascidia*, un urocordato marino che nelle prime fasi di vita si trova sotto forma di larva, afferma che la necessità di muoversi è il fattore predisponente allo sviluppo del sistema nervoso. Il piccolo animale, in stato larvale, è in grado di muoversi fintanto che, dopo poco tempo, si ferma sopra un sito stabile (una roccia o il dorso di un animale) in cui crescere, e da quel momento perde la capacità di muoversi. In questa fase, l'ascidia fagocita il suo semplice sistema nervoso e il tubo neurale viene riassorbito dall'organismo. Alla luce di questo fenomeno, Llinas concluse che "la parte più affascinante della storia è che non appena l'ascidia cessa di muoversi, inizia ad ingerire il proprio cervello: senza movimento non c'è alcuna necessità di un cervello" (2001).

In accordo con quest'idea, al momento della nascita l'uomo ha un sistema nervoso ben sviluppato, e un limitato ma efficace repertorio di movimenti. Durante la gravidanza, infatti, il bambino in utero compie movimenti esplorativi sia rivolti verso il proprio corpo sia verso l'ambiente circostante, o, quando c'è, verso il gemello. Interessante come già dalla ventiduesima settimana gestazionale i movimenti diretti verso se stesso o verso il gemello, a differenza di quelli diretti verso il corpo dell'utero (ambiente circostante), presentano già aspetti cinematici caratteristici del movimento maturo (Zoia et al. 2007; Castiello et al. 2010). È ovvio che nella vita intrauterina, il bimbo non può basarsi per la guida del movimento sul senso della vista, ma solo su stimoli propriocettivi e tattili. Sensazione somatica e movimento ci permettono quindi di creare un primo "sé anatomico", definito, per dirlo con Mach, dalla portata dei movimenti possibili (Mach, 1905). Nei primi mesi, con il raffinarsi delle capacità motorie, e l'integrazione di informazioni provenienti da diversi sistemi sensoriali, emergono nuove capacità. Si parla infatti di Sé Emergente (primi 4 mesi) e poi di Sé Nucleare (dai 2-6 mesi) (Stern, 1985), un percorso che porta il bambino ad acquisire importanti abilità sulle quali costruire il sé futuro, come l'essere consapevoli di avere

un'influenza precisa sulle cose, fare previsioni sulla conseguenze di un'azione e il consolidarsi delle prime relazioni affettive con gli adulti. Aspetti simili si possono individuare in Piaget (1968) nello stadio sensomotorio (dalla nascita fino al secondo anno di vita), il bambino in questo periodo è in continua ricerca di un equilibrio tra mondo esterno e interno cercando di definire il sé dall'altro-da-sé. Gli oggetti cominciano ad acquisire significati nuovi, si afferma la permanenza dell'oggetto e il bambino comincia a capire che il mondo esterno esiste anche se non disponibile in quel momento ai propri organi di senso. Queste teorie sottendono aspetti comuni come una caratterizzazione motoria della prima formazione di un senso corporeo di sé sviluppato sulla base delle esperienze comportamentali.

L'importanza che l'informazione visiva assume in ogni aspetto della vita dell'uomo dopo la nascita, sia per la sua capacità informativa, sia per la velocità ed economicità con cui ci permette di acquisire dati dal mondo esterno, può lasciar facilmente dedurre che esso sia il senso principale che aiuta gli esseri viventi, soprattutto i mammiferi e in particolare i primati, a guidare i propri movimenti. Ad un'analisi più attenta, però, è evidente la ancor più profonda e indistricabile associazione tra il sistema somatosensoriale e quello motorio sia a livello non-cosciente che a livello conscio. Questa integrazione permette di padroneggiare il proprio corpo e conoscere il mondo esterno.

Nei paragrafi successivi si descriverà brevemente il sistema somatosensoriale con particolare enfasi su quell'integrazione somatosensoriale-motoria, fondamentale per la strutturazione del senso di sé (vedi sopra), ma anche per lo sviluppo della capacità di riconoscere l'altro da sé ed interagire con esso.

1.2. *Sistema somatosensoriale: principi di organizzazione anatomo-funzionale*

Il sistema somatosensoriale elabora l'informazione statica e dinamica proveniente sia dall'interno del nostro corpo, come lunghezza e tensione dei muscoli o apertura degli angoli articolari, che dal mondo esterno, come il contatto della cute con un oggetto o la pressione che questo esercita sul nostro corpo. Questo sistema di informazioni permette da un lato di programmare e regolare il movimento delle nostre parti corporee, e, dall'altro, di analizzare le caratteristiche degli oggetti che costituiscono il mondo esterno. Svolge quindi un importante ruolo sia nell'utilizzo non-cosciente delle sensazioni interne ed esterne, sia nella percezione.

La trasduzione meccano-elettrica della sensazione tattile avviene a livello dei recettori posti nella cute a differenti livelli di profondità. Questi possono essere a lento adattamento (dischi di Merkel e più in profondità i corpuscoli di Ruffini) caratterizzati da un profilo di scarica continua durante tutto il contatto, e a rapido adattamento (i corpuscoli Meissner, e più in profondità, quelli di Pacini) caratterizzati da una maggior capacità di discriminazione temporale. Altri tipi di recettori, posti nei muscoli o nelle capsule articolari, sono i propriocettori che rispondono alla lunghezza o al livello di tensione dei muscoli e lo stato delle articolazioni. Questi recettori pertanto sono alla base della codifica delle informazioni relative alla posizione degli arti. I principali sono i fusi muscolari e gli organi tendinei del Golgi. Queste informazioni, che partono dalla periferia di tutto il nostro corpo, raggiungono i livelli superiori del sistema nervoso fino al talamo (nuclei ventro-postero-laterale e ventro-postero-mediale) e alla corteccia cerebrale, attraverso le il midollo spinale e il tronco dell'encefalo (Fig.1.1) .

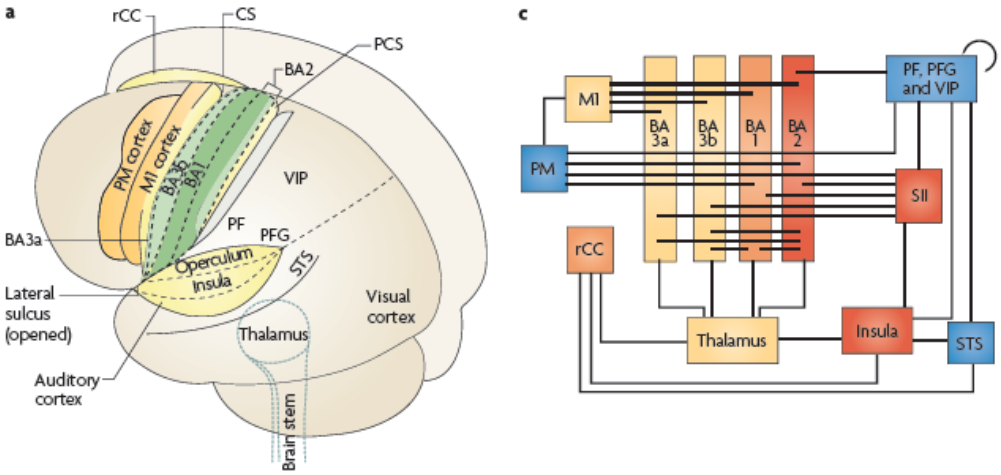


Figura 1.1. Processi corticali e network somatosensoriale.

A sinistra: Visione posterolaterale del cervello umano che mostra le regioni coinvolte nella somatosensazione. Il solco centrale (CS), il solco posteriore centrale (PCS) e solco laterale aperto per mostrare le aree all'interno.

A destra: Schema del network somatomotorio (Keysers et al. 2010).

L'area corticale che riceve direttamente le informazioni tattili è l'area Somatosensoriale Primaria (SI), nella corteccia parietale. Essa è posizionata nel banco posteriore del solco centrale, e nella porzione rostrale del giro post-centrale, e occupa tutta l'estensione dorso-ventrale di questa regione corticale. L'SI contiene una rappresentazione topografica di tutto l'emi-corpo controlaterale (*homunculus* sensoriale). Le porzioni corporee non sono rappresentate in ragione della loro dimensione reale, ma della densità in termini di recettori. Quindi regioni più sensibili, come la mano, sono rappresentate su un'estensione corticale maggiore rispetto ad altre porzioni corporee più grandi ma meno sensibili, come la schiena. La posizione dell'area SI e i principi generali della organizzazione somatotopica sono conservati nella filogenesi. Pertanto, anche nella scimmia esiste una rappresentazione somatotopica, un *simiunculus* somatosensoriale nella corteccia parietale. In questa rappresentazione si trovano disposti in senso ventro-dorsale, la bocca la faccia, le mani, gli avambracci, le braccia, il tronco, e gli arti inferiori. Quest'area è suddivisa in quattro aree

architettoniche, 3a, 3b, 1 e 2, e contiene neuroni che rispondono a stimolazioni tattili passive e attive con campi recettivi di piccole dimensioni (per esempio porzioni del labbro superiore o palmo della mano) e per la maggior parte controlaterali.

Un'altra corteccia che è stata presentata come prettamente dedicata all'elaborazione sensoriale, ma che in anni recenti si è rivelata essere un'area di integrazione multimodale, è l'area somatosensoriale secondaria (SII) che è il focus del presente lavoro, e sarà quindi descritta in dettaglio nel successivo paragrafo.

Nella corteccia parietale vi sono numerose altre aree i cui neuroni si attivano in seguito a stimolazione somatosensoriale. La maggior parte di esse svolge un ruolo di integrazione delle informazioni visive, e somatosensoriali, e di comandi motori. Queste aree, particolarmente studiate nel modello di scimmia, occupano parte del lobulo parietale superiore (area PE, PEip, MIP) e inferiore (area PF, PFG, AIP e VIP) Tali aree sono strettamente collegate all'area SI, ma anche ad aree premotorie, coinvolte nella guida dei movimenti finalizzati. Nel loro insieme le connessioni parieto-premotorie sono considerate la base funzionale della capacità di trasformare le caratteristiche degli oggetti, esplorate attraverso gli organi di senso, in movimenti appropriati per interagire con essi (si veda Rizzolatti et al., 1998; 2001; 2014).

1.3. *L'area Somatosensoriale Secondaria (SII)*

1.3.1. Prime definizioni di SII e caratteristiche architettoniche dell'area

Le prime descrizioni dell'area SII sono state prodotte in seguito a osservazioni funzionali. L'area SII è stata inizialmente descritta nel gatto, negli anni '40, come una

seconda rappresentazione corticale della superficie corporea, adiacente all'area somatosensoriale primaria (SI). Con la tecnica della stimolazione intracorticale, nell'ambito di operazioni neurochirugiche in pazienti epilettici, negli anni '50 Penfield e Jasper (1954) identificarono anche nell'uomo una regione in cui, se stimolata, si potevano evocare sensazioni tattili su varie parti del corpo. Tale regione era posta all'interno della scissura laterale di Silvio. Negli anni '80 Woolsey (Woolsey e Erickson, 1979) confermò questi risultati usando la stimolazione elettrica e registrando i potenziali evocati nella scimmia. In anni più recenti la descrizione di SII si è ampliata con l'attribuzione ad essa di funzioni più raffinate come l'integrazione multisensoriale e la compartecipazione in un ampio network somatomotorio (v. sotto).

Nei primati, incluso l'uomo, l'area somatosensoriale secondaria (SII) è localizzata nel banco superiore della scissura laterale di Silvio (Fig.1.2, Burton et al. 1993), zona che nell'uomo corrisponde all' aree di Broadmann 43 (Disbrow et al. 2000, Fig. 1.3).

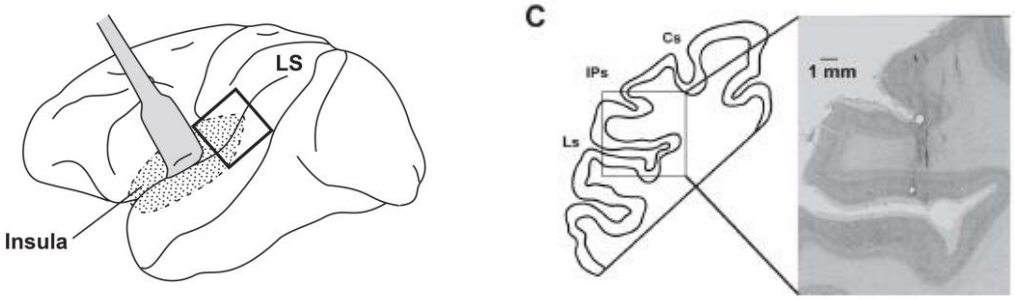


Figura 1.2. Sito di SII.

A sinistra: Visione dell'opercolo silviano, l'area nel quadrato racchiude la posizione di SII (Hihara et al. 2015).

A destra: ricostruzione coronale della sezione e ingrandimento dell'opercolo colorato (Nissl) (Ishida et al. 2013).

I bordi tra l'SII e le aree corticali adiacenti, come per esempio la regione della bocca di SI e dell'area PF, sono stati identificati e definiti su base anatomica. E' noto che la corteccia cerebrale è suddivisa in strati di cellule che si numerano progressivamente a partire dalla superficie esterna della corteccia in direzione della sostanza bianca, e si differenziano per dimensione cellulare, organizzazione e funzionalità. Le cellule di ogni strato stabiliscono connessioni con parti diverse del sistema nervoso centrale: il IV strato riceve afferenze dal talamo specifico, il VI strato proietta al talamo, il II e il III strato proiettano ad altre regioni corticali ed il V strato proietta a formazioni sottocorticali diverse dal talamo. Lo studio della citoarchitettonica, si basa sulla valutazione delle proporzioni tra i vari strati corticali e la descrizione delle popolazioni cellulari che li compongono. Tramite studi di architettonica è stato possibile caratterizzare l'area SII, e distinguerla dalle aree corticali limitrofe. In particolare SII ha un quarto strato molto spesso, ma meno definito di quello dell'area SI, non ha una ben chiara demarcazione tra i vari strati corticali, diversamente dalle aree della porzione rostrale della adiacente convessità del lobulo parietale inferiore (Taoka et al. 2013).

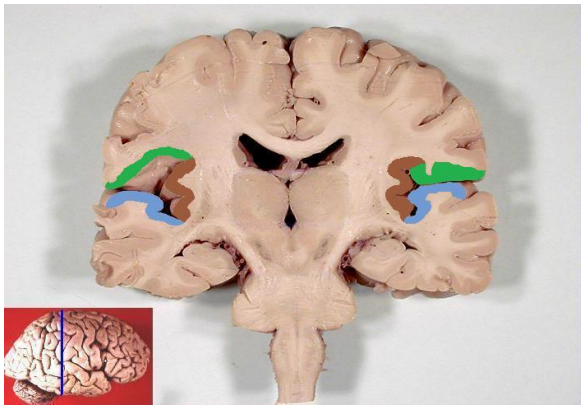


Figura 1.3. Visione coronale solco silviano dell'uomo.

Sezione coronale di cervello umano ad un livello antero-posteriore in cui è visibile il solco silviano.

In Verde è evidenziato il banco dorsale, in marrone la corteccia dell'Insula e in blu il banco ventrale.

1.3.2. Connessioni di SII

L'area SII è inserita in un network che elabora gli stimoli sensoriali sia quando provocati dal contatto con oggetti che toccano il nostro corpo, sia determinati dall'interazione con gli oggetti che ricerchiamo tramite l'azione volontaria. L'area SII riceve afferenze dirette dai nuclei sensoriali del Talamo, come VPi (Ventral posterior nucleus Friedman and Murray 1986), e, in particolare dalla porzione che processa gli input provenienti dai recettori profondi della mano e dell'arto (Qi et al. 2002, Disbrow et al. 2003). Le più cospicue connessioni cortico-corticali di SII si riscontrano con le aree adiacenti: l'area somatosensoriale primaria e l'insula (Robinson And Burton 1980a,b; Friedman and Murray 1986). Le connessioni con SI veicolano probabilmente informazioni tattili all'SII. Le connessioni con l'Insula sono considerate importanti per caratterizzare le sensazioni legate alla stimolazione dolorifica, termica, pruriginosa o di tocco piacevole con il loro distinto valore emozionale (Robinson and Burton, 1980a; Krubitzer et al., 1995), informazioni fondamentali per poter interiorizzare il significato di un contatto cutaneo. L'area SII è fortemente connessa anche con l'adiacente porzione rostrale della corteccia parietale inferiore. Le connessioni fin qui descritte rappresentano il network sensoriale in cui fa parte SII: un fine scambio di informazioni tattili e sensoriali, corticali e sottocorticali, caratterizzanti il tocco, capace fin dal principio di catalogarlo in doloroso, pericoloso o piacevole. Questi risultati di connessione anatomica sono stati ottenuti in una serie di studi in cui venivano iniettati traccianti neuronali in una vasta regione dell'area SII della scimmia.

La conoscenza delle connessioni di SII è arricchita da evidenze indirette, provenienti dallo studio delle connessioni corticali di altre aree. In particolare è noto che SII è connessa con due aree parietali ed intraparietali, l'area AIP e PFG (Rozzi et al 2006, Borra et al., 2008),

e con l'area premotoria ventreale F5 (Gerbella et al., 2011) coinvolte nelle trasformazioni sensori-motorie per l'afferramento con la mano.

Successivamente anche gli studi su cervello umano hanno portato a risultati simili (Hinkley et al. 2007, Eickhoff et al. 2010). E' necessario a questo punto porre alcuni distinguo tra il tipo di informazioni che si possono trarre dagli studi condotti nel modello animale, in particolare sulla scimmia, o nell'uomo. Da un lato nei primati non umani molte delle capacità tipiche dell'uomo non sono ancora sviluppate, e non possono pertanto essere studiate, dall'altro mentre nel modello animale è possibile utilizzare metodiche invasive, nell'uomo questo non è quasi mai possibile. Le metodiche invasive, però permettono di ottenere dati molto più precisi ed accurati sia in campo anatomico che in campo funzionale. Ad esempio la Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI), una tecnica di imaging funzionale che rileva il BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent), e cioè quanto il sangue refluo da un'area corticale è depauperato di ossigeno, fornendo una misura solo indiretta del fatto che quell'area è metabolicamente attiva, ma senza la possibilità di valutare direttamente cosa stiano codificano i suoi singoli neuroni. Inoltre tale tecnica necessita di tempi lunghi di acquisizione del segnale, ed ha pertanto una bassissima capacità di definire il segnale nel tempo. La tecnica di registrazione da singole unità, che si conduce nei primati non umani, ha invece la capacità di studiare le risposte dei singoli neuroni della corteccia, e di poterne definire dettagliatamente le proprietà e la scarica durante tutto il lasso temporale dello svolgimento di un compito. Lo stesso vale per le tecniche anatomiche di neuroimmagine: l'imaging del tensore di diffusione (DTI) misura il movimento direzionale dell'acqua nelle fibre nervose ricostruendo modelli tridimensionali sia dei fasci di sostanza bianca sia della sostanza grigia ed è utilizzato per lo studio delle connessioni nel cervello dell'uomo. Questa tecnica, però ha

un potere di risoluzione circa tre ordini di grandezza minore degli studi condotti tramite iniezioni di traccianti neuronali nella scimmia.

Eickhoff e colleghi (2010), in uno studio condotto con la tecnica della DTI su umano, rapportato ad una meta-analisi di 245 studi di neuroimaging funzionale descrivono le connessioni delle regioni opercolari (OP1 o OP4) corrispondenti a SII della scimmia (Fig. 1.4). Mostrano connettività funzionale e anatomica con il talamo (VPL, VPI), il giro post centrale (PCG), corrispondente a SI, la parte anteriore della corteccia parietale inferiore (aIPC), il solco intraparietale (IPS), le aree premotorie (PMC) e la motoria primaria. SII risulta inoltre connessa anche con l'Area di Broca. Nel loro insieme questo network conferma sostanzialmente i risultati mostrati dagli esperimenti nella scimmia.

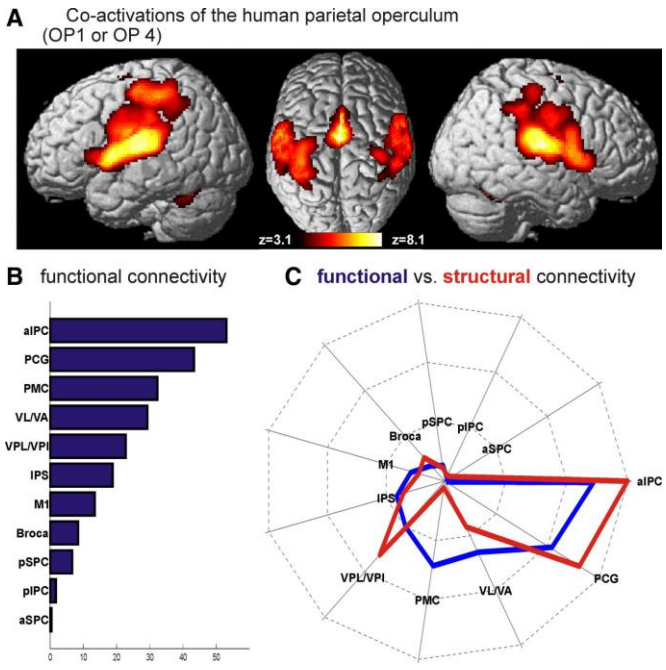


Figura 1.4. **Connessioni con l'opercolo nell'uomo.**

A) Coattivazione simultanea di aree con la zona opercolare in una met-analisi di 245 studi di neuroimaging che attivavano OP1 o OP4. B) principali aree connesse funzionalmente. C) Rappresentazione grafica delle connessioni funzionali e strutturali (Eickhoff et al. 2010).

1.3.3. Risposte somatosensoriali

SII è stata presentata dagli studi neurofisiologici classici come area deputata all'elaborazione di stimolazioni tattili di varia natura, dal tocco lieve, a stimoli vibratori, al tocco profondo (Burton et al. 1990, Krubitzer et al. 1995; Fitzgerald et al. 2004). Applicando infatti un tocco sulla cute, sia glabra che pelosa di varie porzioni del corpo della scimmia, si potevano registrare scariche neuronali correlate. La maggior parte dei neuroni di SII rispondono a stimoli tattili superficiali (come lo sfregamento delicato sulla cute) o profonde (come una pressione circoscritta; Robinson e Burton, 1980a, c, Krubitzer et al 1995, Fitzgerald et al. 2004, 2006, a,b). Alcuni neuroni e si attivano in seguito alla somministrazione di stimoli nocivi, facendo parte, insieme alla corteccia cingolata anteriore (ACC), insula, SI, talamo e corteccia prefrontale di quello che è nominato *Pain-related* network (Duerden and Albanese 2013).

Al di là del tipo di stimolo efficace, l'altra caratteristica fondamentale della risposta dei neuroni somatosensoriali è la definizione dei loro campi recettivi (*receptive fields, RFs)*. Con *campo recettivo* tattile si intende quella porzione di cute in cui, se stimolata, si evoca una variazione della risposta da parte del neurone studiato. Diversamente dall'area somatosensoriale primaria che presenta maggiormente campi piccoli e controlaterali, quelli dei neuroni di SII sono più estesi e generalmente bilaterali (Whitsel et al. 1969, Robinson e Burton, 1980a, c). Per esempio un neurone può rispondere alla stimolazione tattile di tutta la parte superiore del tronco.

1.3.4. Rappresentazione somatotopica

All'interno dell'area SII è stata osservata una distribuzione abbastanza ordinata dei campi recettivi, in un'organizzazione grossolanamente somatotopica con la faccia disposta anteriormente, l'arto superiore centralmente, e il tronco e l'arto inferiore posteriormente (Robinson e Burton, 1980a, c, Krubitzer et al 1995, Fitzgerald et al. 2004, 2006, a,b). L'organizzazione funzionale all'interno di questa somatotopia generale, è però altamente controversa. Fitzgerald e collaboratori (2004) mostrano che l'area di rappresentazione della mano in SII è costituita da tre campi funzionali: una parte anteriore, una posteriore ed una centrale (Fig.1.5).

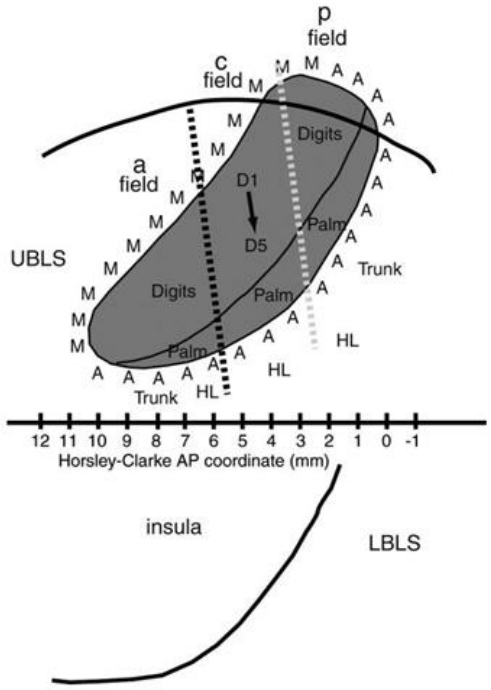


***Figura 1.5. Ripartizione SII**.*

Zona della mano e ripartizione dei tre campi: posteriore (p), centrale (c) e anteriore (a) dell'upper bank (UBLS) (Fitzgerald et al. 2004).

I neuroni nella porzione anteriore (a) e posteriore (p) hanno risposte per proprietà complesse e sono stimolate da input propriocettivi o cutanei. Le risposte sono chiaramente differenti da quelle viste nel campo centrale (c) in cui le risposte sono elicitate prettamente da input cutanei. L'area della mano di SII quindi non contiene una sistematica organizzazione somatotopica prossimo distale muovendosi in direzione medio-laterale, ma è composta da più rappresentazioni dello stesso segmento corporeo con funzioni di poco differenti, e comunicanti tra di loro.

È stata proposta anche un'altra macro-suddivisione ripartendo il banco superiore dell'opercolo silviano in SII (area somatosensoriale secondaria) e PV (Area Parietale Ventrale, Fig.1.6, Krubitzer et al. 1995).

L'area PV è rostrale ed SII caudale. Le due aree contengono rappresentazioni speculari della superficie del corpo (*homunculus invertito*). Non risultano chiare differenze funzionali in termini di proprietà neuronali o campi recettivi o anatomiche tra PV ed SII. La faccia è rappresentata esternamente verso l'opercolo, centralmente l'arto superiore, e in profondità l'arto inferiore.

Disbrow e collaboratori (2000) in un esperimento sull'uomo confermano la distinzione in due aree distinte, e aggiungono che vi sono differenze a livello di connessioni: l'area PV infatti avrebbe più proiezioni verso le aree premotorie, motorie e prefrontali. Questo porterebbe a proporre per PV un ruolo di ordine superiore rispetto a SII nel processamento dell'informazione somatosensoriale. Il dibattito è ancora aperto poiché non vi sono ragioni funzionali chiare per porre una tale distinzione negli studi su scimmia (Agnew et al. 2013), mentre nell'uomo ci sono dati per ipotizzare una differenza.

In questo esperimento di fMRI, Disbrow e colleghi hanno registrato picchi di attivazione sfasati tra le due aree e l'autore ha proposto che un tale risultato sia dovuto a pattern di connessioni differenti che comunicano strettamente tra loro attraverso vie dirette. Nell'uomo queste SII e PV vengono nominate Operculum 1 (OP1) e Operculum 4 (OP4),rispettivamente.

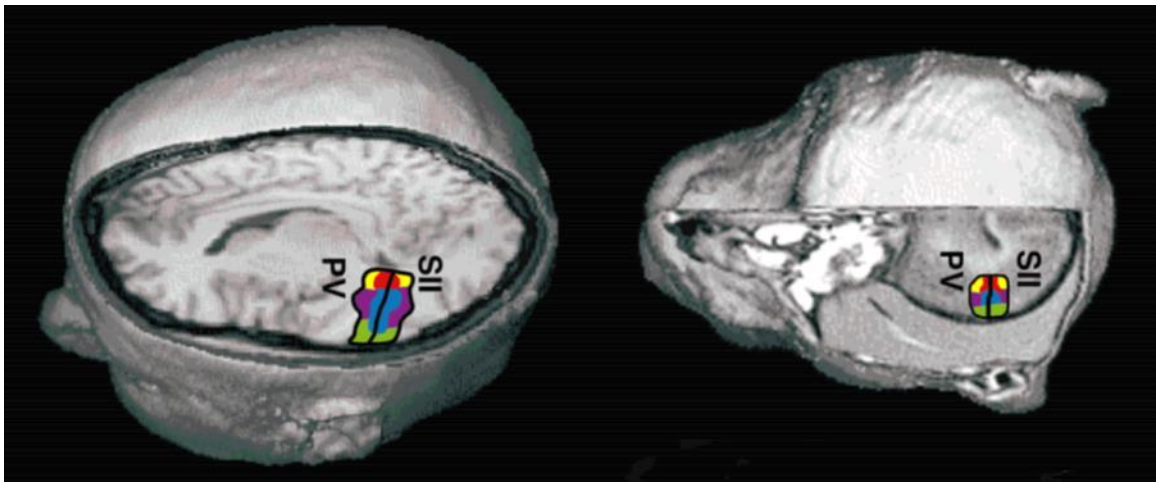


Figura 1.6. Figura 5. SV/PV

Riassunto della organizzazione somatotopica di SII e PV nell'uomo (sotto) e nel macaco (sopra). La rappresentazione della mano è in blu, in rosso quella dei piedi, la faccia in verde, le spalle in viola, anca in giallo. (DIsbrow et al. 2000).

Nello studio anatomico di Eickhoff e collaboratori (2010), descritto nel paragrafo "*Connessioni di SII"*, le due aree mostrano simili connessioni talamiche, ma OP4 ha una connessione più cospicua con l'area di Broca e le premotorie, in accordo con l'idea di Disbrow e collaboratori, che descrive l'area PV posta ad un livello di integrazione somatomotoria e cinestetica superiore rispetto a SII.

Al momento, non sembra ci siano sufficienti prove dirette per giustificare una tale suddivisione, quindi generalmente in letteratura è utilizzato il termine SII che comprende SII e PV. Nella trattazione seguente useremo questa terminologia.

1.3.5 Modulazioni intenzionali e attenzionali

Un ruolo chiave nell'attivazione di SII è giocato dall'attenzione e dall'intenzione di agire attivamente da parte del soggetto manipolando gli oggetti fonte di stimolazione tattile (Burton et al. 1997, Hsiao et al. 2008). Robinson e Burton nel 1980 hanno descritto alcuni

neuroni dell'area SII, che rispondevano a stimolazioni meccaniche lievi solamente "se l'animale sembrava prestare attenzione allo stimolo, o se l'animale si muoveva per entrare in contatto con lo stimolo" (Robinson and Burton, 1980, pag.94). Tale risultato è supportato anche da esperimenti successivi che mostrano che la risposta dei neuroni di SII è maggiore quando l'animale attivamente afferra degli oggetti (Fitzgerald et al., 2004). Un ruolo importante dell'attenzione del soggetto sperimentale al compito tattile è stata indicata come fondamentale per la modulazione di SII anche nell'uomo (Hsiao, 1993, 2008; Hinkley 2007). In studi sull'uomo si è visto come l'attivazione della zona opercolare aumenta in relazione a compiti attentivi di riconoscimento tattile correlata alla complessità dello stimolo target (Hsiao et al. 1993, 2008, Young et al. 2004, Eichoff et al. 2010). Questo è in linea con i risultati di esperimenti di registrazione di singoli neuroni su scimmia che mostrano che molti neuroni di SII modulano la loro risposta in funzione della complessità delle strutture e delle forme degli oggetti, quindi non tanto per il numero maggiore di informazioni tattili, ma per le risorse attentive che si devono impiegare per la manipolazione (Murray e Mishkin 1984).

1.3.6. Integrazione sensori-motoria: i neuroni motori di SII

Quando un soggetto vuole "toccare" il mondo in genere lo fa con le mani o la bocca che sono gli effettori più controllabili e le parti corporee più sensibili. E' noto da studi di fMRI condotti in soggetti umani che l'area SII è principalmente attiva durante la presa e la manipolazione di oggetti per il loro riconoscimento (Reed et al., 1999; Binkofski et al., 1999a, Fitzgerald et al. 2004). L'area SII tramite le informazioni tattili (declinate nelle loro varie sottoclassi), che vengono raccolte tramite il movimento delle mani, può contribuire alla guida dell'*esplorazione manuale attiva* per una discriminazione ottimale delle varie forme

degli oggetti (Reed et al. 2004, Hinkley et al. 2007). Il livello di elaborazione sensoriale che avviene a livello di quest'area non è puramente tattile, ma propriocettivo ed ancor di più cinestesico. L'ipotesi di un coinvolgimento di SII nell'"*active touch*" è fortemente supportato dalla recente descrizione di una popolazione di neuroni che rispondono ad una manipolazione attiva di un oggetto (Ishida et al., 2013). Questi neuroni si attivano durante varie fasi dell'esecuzione dell'atto motorio (avvicinamento, contatto e dopo il contatto) ma sono silenti quando sottoposti a stimolazione tattile passiva, in assenza di movimento volontario della mano. La loro risposta non è quindi ascrivibile a una mera stimolazione passiva. Parte di questi neuroni, inoltre, mostravano una specificità per alcune tipologie di presa (Fig.1.7, Ishida et al. 2013).

Non dimentichiamoci però che in natura noi esploriamo molto spesso con due mani, ed è quindi importante una coordinazione bimanuale, oltreché con il resto del corpo. Un recente studio di fMRI su scimmia mostra che il banco superiore del solco silviano (compresa l'area SII) si attiva per compiti di manipolazione bimanuale (Nelissen and Vanduffel 2011). Questo è anche in linea con la descrizione di neuroni tattili con campi recettivi che comprendono entrambe le mani (Robinson et al. 1980a, b, c, Disbrow et al. 2000). SII contiene anche una popolazione di neuroni motori che scaricano durante azioni manuali di afferramento di cibo e durante la successiva azione di morderlo e mangiarlo (neuroni *hand-mouth*, Taoka et al. 2013). Si attivano quindi per atti motori sia manuali che eseguiti con la bocca. Questi neuroni tipicamente hanno campi recettivi tattili posti su mano e bocca. Nel loro insieme questi dati indicano che SII è coinvolta nell'elaborazione di informazioni somatosensoriali e motorie provenienti dal corpo per guidare l'esplorazione degli oggetti.

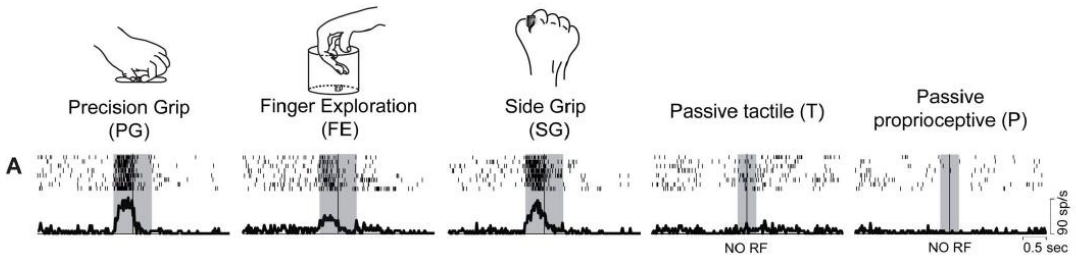


Figura 1.7. Neuroni motori in SII.

Esempio di un neurone "Prec-contact-selective" type. Questo neurone mostra una scarica vigorosa prima del contatto delle diverse prese. Nessuna scarica per la stimolazione tattile passiva e propricettiva. (Ishida et al. 2013).

L' esistenza di forti connessioni tra SII e AIP (Borra et al. 2008) e tra SII e F5 (Gerbella et al. 2011) suggeriscono che SII sia una possibile candidata nel fornire il feedback tattile per la selezione di uno schema di presa appropriato o per il controllo della forza delle dita da impiegare nella presa stessa.

1.3.7. Integrazione multisensoriale in SII: neuroni visivi e uditivi

In un recente studio elettrofisiologico, il gruppo di Iriki (Hihara et al. 2015) ha registrato l'attività di una popolazione di neuroni di SII e mostrato che circa un quarto di essi rispondeva a stimoli visivi. Circa il 40% si attivava alla presentazione di stimoli posti nello spazio peripersonale della scimmia, mentre il 30% all'osservazione di azioni eseguite dallo sperimentatore, e il 24% quando stimoli venivano mossi al di fuori dello spazio peripersonale della scimmia. Gli stessi autori hanno anche descritto sporadiche risposte a stimoli biologici uditivi. Alcuni di questi neuroni sono stati nominati neuroni trimodali poiché rispondevano alla stimolazione somatosensoriale, visiva e uditiva. Dei neuroni visivi riscontrati, pochi rispondevano alla presentazione di oggetti statici, ma la grande maggioranza scaricava a

stimoli in movimento. Questo studio mostra che i neuroni di SII rispondono non solo a stimoli somestetici, ma elaborano anche input provenienti da altri canali sensoriali delineandosi sempre più come un'area integrativa e multisensoriale.

Anche nell'uomo SII è attivata da stimoli visivi. In un esperimento del 2004 Keysers e colleghi hanno mostrato come in soggetti posti in fMRI si registrava un'attivazione della regione corrispondente all'SII sia quando venivano toccati sulla gamba sia quando osservavano una video che mostrava la gamba di un individuo che veniva toccata nello stesso modo. Da notare che SI non si attivava per quest'ultimo tipo di stimolazione. Inoltre, in un esperimento di fMRI Carlsson et al. (2000) hanno dimostrato che SII risponde ad uno stimolo somatosensoriale atteso, anche se non si attua concretamente: infatti lo stesso movimento biologico, ma che non sembra avere intenzione di toccare il soggetto, non attiva il banco dorsale del solco silviano. La capacità di rappresentazione di un tocco tramite informazioni di natura differente indica una capacità di SII di un livello superiore rispetto a quello che si era ipotizzato inizialmente. È importante il tocco in sé, ma parallelamente anche la sua rappresentazione.

1.4. Ruolo di SII nel riconoscimento tattile

1.4.1. Lesioni di SII: l'Agnosia Tattile

I fattori necessari per il riconoscimento degli oggetti sono fondamentalmente due: 1) la percezione delle informazioni somatosensoriali raccolti tramite il movimento delle dita di una mano che si muovono sulla superficie di un oggetto, informazioni provenienti da diversi canali sensoriali periferici e relative a tatto superficiale, pressione, propriocezione, velocità

del movimento ecc.; 2) la capacità di associare queste informazioni tra loro e combinarle con quelle semantiche depositate in memoria.

Studi di lesione condotti nella scimmia hanno mostrato che una lesione di SII provoca deficit nel riconoscimento tattile (Mishkin and Murray 1984). Questo non chiarisce però se quest'area sia coinvolta nella semplice percezione sensoriale o piuttosto nell'associazione semantica (Burton et al. 1990, Krubitzer 1995, Reed et al. 1996). Anche nell'uomo, lo studio degli esiti di lezioni dell'area SII ha mostrato un coinvolgimento di quest'area nel riconoscimento degli oggetti (Caselli, 1991, Reed et al. 1996, Reed et al. 2004). La sindrome che implica difficoltà nel riconoscere manualmente gli oggetti è generalmente definita come Agnosia Tattile o Astereoagnosia.

Vi sono due tipi di Agnosia Tattile: Appercettiva e Associativa. L'Agnosia Tattile Appercettiva è caratterizzata da un'incapacità di percepire piccole o grandi forme tramite il tatto, a causa della mancanza di informazione sensoriale, generalmente causata da lesioni delle vie sensitive, dei recettori periferici, da lesioni midollari o parietali. Nell'Agnosia Tattile Associativa è invece conservata la capacità percettiva finalizzata all'estrazione di informazioni per il riconoscimento della forma, ma il paziente fallisce nell'associarlo alle conoscenze semantiche dell'oggetto stesso. Spesso questa forma di agnosia è associata a ampie lesioni che si estendono sul lobo parietale e/o temporale, coinvolgendo quindi anche l'opercolo (Damasio, 1992). Molti studi clinici hanno dimostrato che quando vi è Agnosia vi è un danno parietale ad entrambe le cortecce somatosensoriali (Roland, 1976, Reed et al. 1996) e alla parte posteriore del lobo parietale (Binkofski et al. 2001). La lesione di SII sembra specificatamente coinvolta nella mancata capacità di percezione delle proprietà intrinseche e nell'associare le forme microgeometriche (Binkofski et al. 1999a, Bohlhalter et

al. 2002): con una sua lesione quindi vengono a mancare sia le informazioni tattili basilari (che potrebbero comunque essere elaborate da SI), ma anche la conoscenza somatomotoria dell'oggetto e l'accesso alle sue *memorie tattili*. Questi autori, quindi propongono che la lesione di SII svolga un ruolo causale nell'emergere dei sintomi agnosici, ma la lesione di quest'area potrebbe determinare anche sintomi di tipo diverso. In questo caso, però, la proposta deriva da studi di correlazione tra la posizione della lesione e i sintomi, che non possono definire il ruolo causale di un'area nella sintomatologia studiata.

Tra le patologie correlate con lesioni del lobo parietale, comprendenti SII, vi è l'Aprassia Tattile, sindrome caratterizzata da un disturbo del movimento della mano in relazione ad un oggetto, con la conservazione della riuscita dello stesso movimento in assenza dell'oggetto. Può essere descritta come un deficit nella programmazione di movimenti di esplorazione delle dita (Binkofski et al. 2001). Questo sembra dipendere dal mancato riconoscimento motorio degli oggetti esplorati. A differenza dell'Aprassia Ideomotoria (Liepmann 1920), i pazienti con Aprassia Tattile sono abili nel compiere con le mani azioni intransitive inquadrando il disturbo come una diminuzione della destrezza nella capacità di manipolazione degli oggetti. Questa patologia è spesso associata all'Agnosia Tattile (Binkofski et al. 2001), e alcune osservazioni cliniche mostrano che i soggetti con Aprassia Tattile esplorano molto di più l'ambiente, sia temporalmente che spazialmente. La lentezza e l'irregolarità con cui sono portati avanti i movimenti di raggiungimento verso l'oggetto suggeriscono un deficit nella programmazione del movimento, funzione che è stata addebitata a una sindrome da disconnessione all'interno del network in cui fa parte anche SII (Valenza 2001). In questa patologia vengono a mancare le abilità, che caratterizzano SII, di distinzione delle forme, di guida dell'esplorazione e l'utilizzazione ottimale di informazioni provenienti dai polpastrelli. In riferimento ad SII non si parla solamente di riconoscimento

tattile degli oggetti, ma piuttosto di riconoscimento aptico, che è strettamente legato all'aspetto motorio.

1.4.2. Tatto aptico e SII

Jannerod (1995) descrisse la manipolazione di un oggetto come basata su tre proprietà fondamentali del sistema motorio: la capacità di generare movimenti isolati delle dita, l'abilità di trasformare le informazioni sensoriali riguardanti l'oggetto in un'appropriata configurazione della mano per afferrare, un sofisticato sistema somatosensoriale di controllo sul movimento delle dita. Durante l'esplorazione aptica, ossia la modalità in cui noi percepiamo il mondo attivamente esplorandolo tramite il corpo, riconfiguriamo continuamente la posizione delle nostre mani e del nostro corpo per conseguire un'efficace e precisa manipolazione che raccolga rapidamente il maggior numero di informazioni e permetta di incrociare quelle provenienti dagli organi di senso con quelle generate dai programmi motori. Toccare con la mano, o essere toccati sulla mano, non è quindi una semplice ed elementare esperienza tattile, ma è una miccia che attiva un network ampio di cui fanno parte aree sensoriali e motorie.

In uno studio (Binkofski et al. 1999a) i soggetti sperimentali, posti al buio in fMRI, dovevano inizialmente manipolare una sfera, in una seconda fase invece un oggetto più complesso: i risultati mostrano un'attivazione di SII in entrambi i compiti, ma l'attivazione è significativamente maggiore per la manipolazione dell'oggetto dalla superficie irregolare. Tale differenza non emerge invece a livello dell'area SI. L'aumento di attività di SII non è quindi dovuta ad un aumentare della quantità di informazione sensoriale, ma dipende dal fatto che, durante l'esplorazione manuale di un oggetto complesso, è necessario un

continuo aggiornamento delle informazioni sensoriali per poter guidare la mano e le dita in maniera efficace. Più l'oggetto è complesso, più le aree motorie hanno bisogno di indizi per sapere come agire. La visione quindi proposta da Binkofski e collaboratori è quella che SII codifichi questo indispensabile input tattile e lo condivida con aree motorie coinvolte nella guida dei movimenti manuali. Questa ipotesi è fortemente supportata dai risultati di studi di fMRI condotti su scimmia (Nelissen e Vanduffel, 2011). In questo studio le scimmie dovevano svolgere un compito di afferramento al buio. Da una sottrazione delle attivazioni osservate nella condizione di raggiungimento da quella di raggiungimento-afferramento emerge, oltre all'attivazione delle aree parietali e premotorie coinvolte nell'afferramento (AIP, PFG, F5), un'attivazione bilaterale di SII. Questo risultato indica che SII è anche coinvolta nella codifica di un feedback tattile necessario per la selezione dello schema appropriato di afferramento o per il controllo della forza delle dita durante il movimento. (Nelissen and Vanduffel 2011).

In un altro studio di fMRI condotto su soggetti umani, Reed et al. (2004) hanno trovato che nell' SII vi è un'attivazione specifica per la *naturalistic tactile object recognition* (TOR), un processamento di alto livello che coinvolge anche le aree premotorie (Fig.1.8). I partecipanti dovevano manipolare, con una mano, oggetti di uso quotidiano di diversa dimensione (dalle dimensioni di un cotton fioc a quelle di un libro o un'arancia) oppure oggetti *no sense,* creati apposta per l'esperimento. I soggetti, posti nello scanner, dovevano manipolare le due classi di oggetti, senza poterli vedere, o dovevano rimanere in una situazione di riposo in cui non dovevano compiere alcun movimento (*rest*). La consegna era di concentrarsi sulla sequenza motoria e su come "sentivano" l'oggetto, ma non di riconoscerlo esplicitamente o fornire risposte. Sottraendo le attivazioni nel compito di attesa (*rest*) da quelle del compito (TOR) emerge una chiara attivazione di SI, SII, giro infero-temporale e alcune aree prefrontali e motorie. Sottraendo le risposte ottenute nella

manipolazione di oggetti *no sense* da quella effettuata con oggetti conosciuti si nota un aumento di attività di SII, delle aree prefrontali e dell'area supplementare motoria (SMA), ma non delle aree motorie. Questo, secondo gli autori, configura un pattern di attivazione per la TOR di alto livello, che richiede processi di attenzione motoria ed è coinvolto nel riconoscimento aptico e semantico degli oggetti.

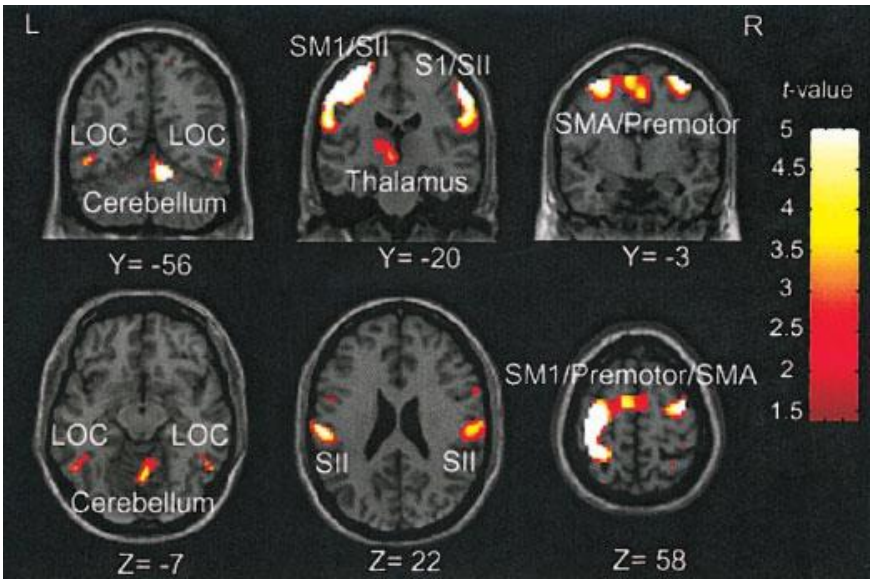


***Figura 1.8. Attivazione dell'area SII in compiti di tatto aptico. TOR vs NOP**.*

La Figura riporta immagini del cervello dei soggetti sottoposti al compito in fMRI. Nelle sezioni coronali è visibile l'attivazione differenziale tra TOR e NOP mostra un'attivazione di SII, ma non di SMI. Le regioni attivate sono SII, LOC, aree prefrontali e SMA associate ad una TOR di alto livello. In particolare nella seconda sezione in basso si può notare l'attivazione bilaterale, differenziale, di SII (Reed et al 2004).

L'SII sembra essere il ponte tra le aree sensoriali e motorie durante un'azione di raggiungimento e presa di un oggetto e proprio in anni recenti si cerca di approfondire il ruolo attivo di SII durante questo tipo di azione. In quest'area non è importante solo il tatto "subìto", ma soprattutto, quello attivo, che ci permette di riconoscere gli oggetti e ricevere informazioni su di essi tramite la loro manipolazione. Questa tipologia di tatto, che prende il

nome appunto di tatto aptico, è fortemente connesso con la componente motoria, infatti toccare un oggetto significa solo muovere gli arti ma anche esplorare l'oggetto tramite il controllo fine delle dita per portare a termine un suo riconoscimento.

1.5. Possibile ruolo di SII nel network dell'afferramento: scopo dello studio

L'afferramento è un processo composto da varie parti, non è un semplice adattamento on-line dei comandi motori verso un oggetto, vi sono infatti fasi anticipatorie che necessitano di una rappresentazione dell'azione. Per prima cosa, la mano quando si avvicina ad un oggetto ha già una pre-conformazione dipendente dalla forma e dimensione dell'oggetto bersaglio, basata su informazioni visive, ma anche sui "ricordi tattili" delle interazioni precedenti con l'oggetto. Non solo la forma, ma anche la forza utilizzata nell'atto varia dipendentemente dal peso che ci aspettiamo di trovare. Successivamente la mano si adatta velocemente all'oggetto-target e lo manipola in rapporto all'obbiettivo che ci si era prefissati.

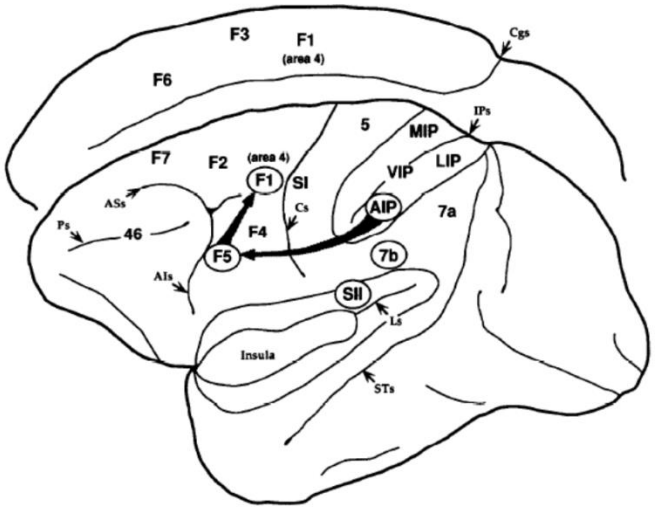


Figura 1.9. Grasping Motor Network.

Network visuomotorio per l'afferramento è indicato dalle frecce. F5 riceve inoltre input somatosensoriali da SII, e input visivi e somatosensoriali da 7b (PFG). (Jannerod et al. 1995).

Il circuito coinvolto nelle trasformazioni sensori-motorie per l'afferramento nella scimmia (Fig. 1.9) coinvolge le aree parietali AIP e PFG e l'area premotoria ventrale F5.

Il circuito AIP-F5, in particolare, è stato proposto come quello dedicato all'estrazione delle proprietà dell'oggetto necessarie per eseguire azioni di mano appropriate alla sua forma e dimensione. Permetterebbe in altri termini di estrarre dalla rappresentazione visiva dell'oggetto le sue affordances (Gibson, 1979), e cioè le possibilità di presa. Queste verrebbero poi trasformate in movimenti reali grazie alle connessioni di F5 con l'area motoria primaria F1.

Studi funzionali più recenti hanno mostrato che altre aree partecipano alla guida dei movimenti di afferramento. Tra di esse vi sono le aree parietali PFG e V6a, le aree premotorie F2vr e F6 e una porzione delle aree 46v e 12r della corteccia prefrontale ventrolaterale (Galletti et al. 1999, Fogassi et al., 2005; Raos et al., 2006; Rozzi et al., 2008; Simone et al., 2015, Lanzillotto et al. 2016). Evidenze indirette provenienti da studi anatomici volti a tracciare le connessioni cortico-corticali delle aree sopra descritte hanno mostrato che queste sono anche connesse con una parte dell'opercolo parietale, probabilmente a livello dell'area SII. Non vi sono però evidenze dirette che queste connessioni coinvolgano la regione di SII in cui è contenuta una rappresentazione della mano (*SII-mano*).

Lo scopo di questo studio è di descrivere le proprietà funzionali di *SII-mano* e descriverne il pattern di connesioni cortico-corticali. A tale scopo sono stati eseguiti due esperimenti, uno con tecnica elettrofisiologica, uno di neuroanatomia. L'esperimento elettrofisiologico aveva lo scopo di identificare funzionalmente il settore di SII contenente la rappresentazione somatosensoriale della mano e di delimitarlo rispetto ai settori circostanti, contenenti rappresentazioni di altre regioni corporee. Un ulteriore scopo dello studio

elettrofisiologico era quello di descrivere le risposte dei neuroni di SII-mano, in termini di campi recettivi e proprietà funzionali. Lo studio neuroanatomico era volto a tracciare le connessioni cortico-corticali di SII-mano, attraverso l'iniezione di traccianti neuronali.

2.MATERIALI E METODI

Gli esperimenti sono stati condotti su due scimmie (M1 e M2) della specie *Macaca mulatta*, del peso di circa 4 kg.

Il progetto sperimentale generale è composto da due esperimenti distinti e concatenati tra loro. Il primo esperimento consiste in una definizione funzionale, con tecnica elettrofisiologica, dei campi recettivi dei neuroni dell'area SII, e in particolare all'identificazione del settore di quest'area in cui sia rappresentata la mano (*SII-mano*). Il secondo esperimento consiste nell'iniezione di traccianti neuronali nella regione codificante la mano dell'area SII (identificata nell' esperimento precedente) e nella tracciatura delle sue connessioni con altre aree corticali.

Entrambi gli esperimenti sono stati condotti su due scimmie. Il presente lavoro di tesi, si basa sui risultati ottenuti nell'esperimento elettrofisiologico condotto su M2 e nell'esperimento anatomico condotto su M1. Al momento il processamento istologico del cervello di M2 non è ancora avvenuto, quindi l'analisi dei risultati anatomici di questo caso non è ancora stata effettuata.

Tutti i protocolli di sperimentazione e stabulazione sono stati confacenti alle leggi europee sul benessere animale e approvati dal Servizio Veterinario dell'Università di Parma ed autorizzati dal Ministero della Sanità (legge italiana D. Lgs. n. 116 del 1992, *European Communities Council Directive* of 24th November 1986 (86/609/EEC)), e direttiva del 22 settembre 2010 (2010/63/EU).

2.1. *Esperimento di mappatura funzionale dell'area SII*

2.1.1. Impianto della camera di registrazione

Prima dell'inizio degli esperimenti è stata eseguita una risonanza magnetica del cranio per identificare la zona di interesse del banco dorsale di tale solco, dove è sita l'area SII (Krubitzer et al 1995, Fitzgerald et al. 2004). In particolare si è identificata la posizione della scissura silviana e ne sono state valutate le coordinate stereotassiche. Considerando che l'area SII è posta in profondità nell'encefalo, si è programmato di accedere con gli elettrodi penetrando dalla convessità corticale con un angolo di 30° dalla verticale. A questo punto sono state identificate le coordinate della proiezione a 30° di SII sulla convessità e, queste ultime, sono state utilizzate in sede chirurgica per il posizionamento della camera di registrazione.

La camera di registrazione è stata impiantata durante un intervento chirurgico in condizioni di anestesia generale (medetomidina 0.1 mg/kg/h, i.m. o ketamina, 5 mg/kg i.m.) e di asepsi (Fogassi et al. 1996, 2005). In particolare, l'animale è stato posto in un apparato stereotassico, è stata incisa la cute dello scalpo e praticata una craniotomia, lasciando la dura madre intatta, in modo da esporre la porzione di convessità corticale attraverso cui penetrare per raggiungere l'area SII. Una camera di registrazione in titanio (18x32mm) è stata posizionata attorno alla craniotomia e assicurata alla teca cranica per mezzo di viti autofilettanti in titanio (diametro 1.2 mm) inserite a tutto spessore nella calotta cranica. Queste ultime fungono da ponte tra la camera e la resina acrilica antibioticata con tobramicina di uso chirurgico (Antibiotic Simplex) utilizzata per ancorare la camera all'osso.

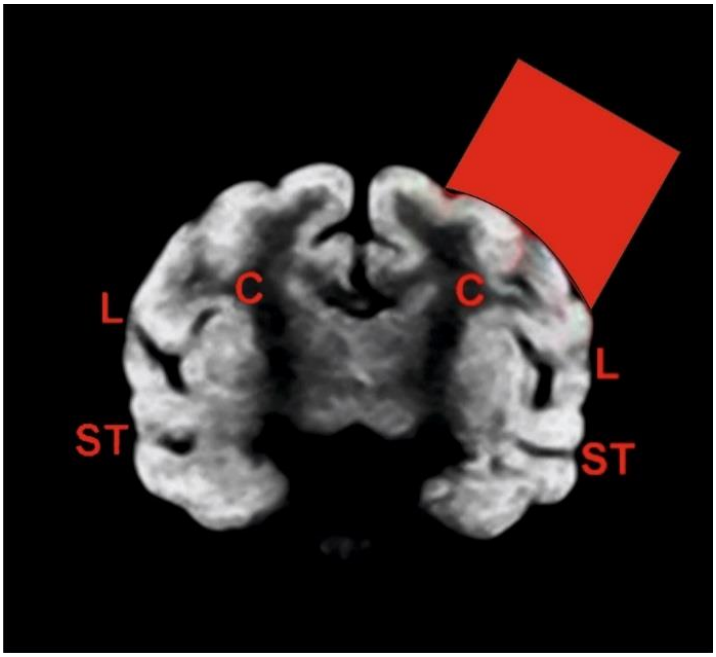


Figura 2.1. Visione coronale del cervello di scimmia posto in fMRI.

In rosso la posizione, inclinata di 30°, della camera di registrazione applicata.

Durante le chirurgie l'idratazione dell'animale è stata mantenuta costante mediante somministrazione endovenosa di una soluzione salina (circa 10ml/h, i.v.) e la temperatura corporea è stata continuamente controllata e mantenuta costante tramite l'utilizzo di un cuscinetto riscaldante. Sono stati regolarmente monitorati il battito cardiaco, la pressione arteriosa, l'ossigenazione del sangue ed il ritmo respiratorio. Dopo il recupero dall'anestesia l'animale è stato riportato in gabbia e monitorato fino alla completa ripresa. Sono stati somministrati farmaci per prevenire l'insorgere di edema cerebrale (desametasone 1g i.m., 2volte/die) antibiotici ad ampio spettro per impedire infezioni batteriche (rifampicina, 60 mg/kg/die i.m) ed analgesici (ketoprofene, 10 mg/kg/die i.m) sia durante il periodo preoperatorio che in quello postoperatorio.

2.1.2. Registrazione dell'attività neuronale

Prima di ogni registrazione la scimmia veniva anestetizzata (ketamina, 15 mg/kg i.m.) e posta sopra un apparato stereotassico per il fissaggio della testa. Tra una sessione di registrazione e l'altra, la camera, prima di essere sigillata con l'apposito tappo, veniva riempita con una soluzione densa (volume 16ml) costituita da agar (4,5g/100ml), desametasone (0,05g/100ml), rifampicina (0,06g/100ml), gentamicina (0,02g/100ml) e soluzione fisiologica (8ml). Mentre gli antibiotici e il cortisone hanno rispettivamente un'azione battericida e antinfiammatoria, l'agar una volta addensato crea una pressione sulla dura madre simile a quella prodotta dall'osso in condizioni fisiologiche ed inibisce la crescita di tessuto connettivale il quale, per la sua natura e consistenza, costituisce un ostacolo all'ingresso degli elettrodi in corteccia, oltre che un ottimo pabulum per la crescita di batteri potenzialmente patogeni.

La registrazione neuronale è stata condotta utilizzando un dispositivo multi-elettrodo (Alpha Omega Eng. Nazareth, Israel) composto da un manipolatore capace di alloggiare 8 microelettrodi in 2 linee da 4 elettrodi. Ogni linea e colonna di questa disposizione è spaziata di 2mm. Ogni elettrodo è costituito di tungsteno, isolato per mezzo di una pellicola di vetro su tutta la loro lunghezza esclusa la punta (impedenza 0.1-1 MΩ), di diametro complessivo di 0.15 mm. Gli elettrodi venivano inseriti con un inclinazione di 30° dalla verticale come calcolato su base della RMI (come detto sopra).

Un sistema elettronico di motori controllava il movimento dei singoli elettrodi permettendo spostamenti in profondità (durante la fase di discesa) e in superficie (durante la risalita). Il blocco dei motori era controllato da un pacchetto software dedicato (EPS o Electrode Position System, Alfa Omega). La definizione dei parametri di registrazione è stata

eseguita per mezzo di un software apposito (Multi Channel Processor o MPC-Plus; Alpha Omega) che filtrava il segnale proveniente da ogni elettrodo (filtro passa-alto: 500 Hz, filtro passa-basso 7,5 KHz, e notch filter), lo amplificava (amplificazione totale: 12000) e lo inviava ad un computer (Alpha Lab, Alpha Omega) per l'acquisizione e l'analisi dei segnali. Lo stesso segnale era parallelamente monitorato anche attraverso un amplificatore audio. Attraverso un'interfaccia grafica era possibile osservare, sul monitor del computer, l'attività multi-unitaria in uscita in tempo reale da ciascun elettrodo.

Durante ogni sessione di registrazione gli elettrodi venivano inseriti in successione attraverso la dura intatta fino a rilevare la prima attività neuronale (profondità=0). A questo punto iniziava lo studio delle proprietà dell'attività multiunitaria e dei singoli neuroni. Le proprietà identificate venivano annotate su un protocollo. Una volta completato lo studio delle proprietà, l'elettrodo veniva spinto più in profondità in passaggi di 500 µm l'uno, e ad ogni punto l'attività veniva nuovamente caratterizzata. Ad ogni profondità veniva inoltre descritta l'intensità del segnale per valutare lo strato corticale in cui ci si trovasse. Particolare importanza in questo processo aveva l'identificazione di periodi di "silenzio" in concomitanza del passaggio attraverso la sostanza bianca.

2.1.3. Indagine clinica per la caratterizzazione delle proprietà neuronali

Le proprietà funzionali dei singoli neuroni e dell'attività multiunitaria sono stati studiati principalmente attraverso la somministrazione di stimoli passivi. La scelta di condurre l'esperimento in animale anestetizzato aveva lo scopo di studiare le proprietà passive dei neuroni in assenza di risposte attive che la stimolazione cutanea inevitabilmente evoca.

Questo aspetto metodologico, però ha precluso la possibilità di studiare le risposte neuronali durante il movimento volontario.

In particolare abbiamo applicato sistematicamente le seguenti modalità di stimolazione:

- *Tatto leggero*: è stato valutato toccando lievemente la pelle della scimmia oppure sfiorando il pelo con un batuffolo di cotone o soffiando in direzione dell'area interessata.
- *Tatto profondo*: consisteva nel applicare una pressione su di un campo cutaneo abbastanza ristretto toccando con le dita o con un bastoncino, picchiettando delicatamente diverse regioni corporee, o palpando i ventri muscolari.
- *Risposte articolari*: si sono testate anche le articolazioni tramite la mobilizzazione passiva degli arti con diverse velocità e angolazioni
- *Stimoli cinestesici*: sono stati applicati anche stimoli che prevedevano una vibrazione del tavolo su cui era appoggiata la scimmia e lo spostamento, inclinazione, del corpo.

Tutti gli stimoli venivano testati su parti differenti del corpo, sia sull'emicorpo ipsilaterale che su quello controlaterale. Inoltre in caso di risposte tattili superficiali o profonde, veniva sempre valutata l'eventuale presenza di una specificità della risposta per diverse direzioni e velocità dello stimolo. Oltre agli stimoli somatosensoriali sono stati utilizzati anche stimoli uditivi con lo scopo di definire con precisione il passaggio dal banco dorsale al banco ventrale del solco silviano, dove sono state descritte risposte acustiche (Kaas and Hackett 1998, Kaas et al. 1999). A questo scopo venivano prodotti suoni di altezza diversa, producendo vocalizzazioni e percuotendo oggetti metallici.

2.1.4. Identificazione dell'area SII

La registrazione delle proprietà neuronali consente da un lato di distinguere le diverse cortecce attraversate in base alle proprietà funzionali, alla profondità e ai tratti di sostanza bianca incontrata, dall'altro di descrivere la distribuzione dei campi recettivi dell'area SII. In particolare le proprietà funzionali che hanno permesso di caratterizzare le diverse aree funzionali incontrate durante la discesa degli elettrodi sono descritte brevemente di seguito.

Area SI. Risposte alla stimolazione tattile di una sola modalità: tatto superficiale o profondo. La maggior parte dei campi recettivi sono ristretti, e localizzati sull'emicorpo controlaterale (per es. pochi millimetri di labbro, una porzione del polpastrello di una falange di un dito, …).

Area SII. Campi recettivi molto più ampi di SI (per es. parte inferiore o superiore della faccia, tutta la parte superiore del corpo, l'intero arto superiore, …). I campi recettivi sono generalmente bilaterali.

Insula. Risposte tattili superficiali, profonde, propriocettive e articolari spesso miste, con campi recettivi che si estendono su una porzione molto ampia del corpo (per es. tutto il corpo tranne le mani, dal capo alle cosce). Presenza di risposte in seguito a stimolazioni cinetiche, applicate tramite il movimento della base di appoggio, o alla torsione del busto. In questa corteccia spesse volte si incontrava un'attività neuronale molto buona, ma non dipendente dalla stimolazione tattile a causa di neuroni insulari con risposte complesse le quali necessitano il più delle volte uno stato di vigilanza e altri tipi di stimolazioni.

2.1.5. Definizione delle risposte neuronali di *SII-mano*

Per definire le caratteristiche funzionali di *SII-mano* si sono valutate le risposte dei singoli neuroni e i l'attività multiunitaria, ossia l'attività di popolazione utile per indagare la tipologia di risposte di una porzione più estesa di corteccia. Le risposte registrate sono state annotate in un protocollo, e descritte per ogni profondità registrata in ogni penetrazione. In questo modo è stato possibile quantificare i diversi tipi di risposte in rapporto al numero totale di siti/profondità registrati in tutto il campo di rappresentazione della mano di SII (*SII-mano*).

2.2. *Esperimento di iniezione di traccianti neuronali*

2.2.1. Scelta dei siti d'iniezione e iniezione di traccianti neuronali

Lo studio elettrofisiologico condotto sia su M1 che M2 ha consentito di delimitare la porzione di SII contenente la rappresentazione della mano (*SII-mano*). Le coordinate corrispondenti a questa regione sono state utilizzate per i successivi esperimenti neuroanatomici. In particolare si è scelto come bersaglio per l'iniezione di tracciante neuronale il centro di *SII-mano*.

Nelle coordinate scelte su questa base per l'iniezione, immediatamente prima della iniezione di tracciante nella medesima sessione sperimentale, è stata condotta una sessione di registrazione ulteriore, secondo i parametri descritti sopra. Questa ha permesso 1) di confermare la presenza di risposte neuronali tipiche di *SII-mano*; 2) di identificare con estrema precisione le profondità a cui inizia e finisce il nastro di corteccia di pertinenza di SII penetrando in quelle coordinate con quell'angolo di inclinazione.

Per quanto riguarda M2 il processamento istologico non è ancora avvenuto, quindi l'analisi dei risultati anatomici di questo caso non è ancora stata effettuata. Qui saranno quindi riportate le procedure utilizzate per le iniezioni effettuate in M1.

Un ago da iniezione (diametro 250 µm) collegato a una microsiringa Hamilton (Reno, NV, USA) è stato fatto scendere alla profondità desiderata. A questo punto sono stati iniettati lentamente 2µl di tracciante neuronale Biotibnilated Dextyran Amine (BDA, 10% in tampone fosfato 0.1M, pH 7.4, Molecular probes, Eugeen Oregon) in due siti spaziati in profondità di 0,5 mm. Tale volume e distanza spaziale è stata scelta in maniera da permettere un'iniezione a tutto spessore nella corteccia, evitando però di invadere la sostanza bianca o il solco. Per evitare che il tracciante potesse risalire verso la superficie lungo la traccia dell'ago, prima di rimuovere la siringa si è atteso un tempo di dieci minuti con l'ago inserito nel sito di iniezione. Questa molecola viene assorbita tramite metabolismo cellulare dai neuroni e trasportata sia in via retrograda, e cioè dai terminali al soma, sia in via anterograda, dai dendriti e dal soma lungo l'assone fino ai terminali. Tali traccianti permettono quindi lo studio sia delle efferenze -dove proietta- sia delle afferenze -da dove riceve- dell'area iniettata.

Con metodica simile a quella appena descritta, è stata eseguita un'iniezione di controllo in un sito posto in SII 3 mm più rostralmente, dove erano presenti neuroni responsivi alla stimolazione tattile della bocca, ma non della mano. In questa sede è stato iniettato un altro tracciante retro anterogrado Lucifer Yellow Dextrane (1,2 µl LYD, 10% phosphate buffer 0.1 M, pH 7.4; Invitrogen-Molecular Probes, Eugene, OR, USA). I dati di

questa iniezione non sono ancora stati analizzati, ma forniranno un importante controllo apportando dati sulla differenziazione della diversa connettività delle due regioni.

L'animale, decorsi i 28 giorni di sopravvivenza necessari per il trasporto assonale dei traccianti, è stato anestetizzato con ketamina idrocloruro (15 mg/kg i.m.), quindi è stata effettuata l'eutanasia per mezzo di un'iniezione letale i.v. di sodio tiopentale (60 mg/Kg). Successivamente è stato perfuso attraverso il ventricolo sinistro con soluzioni tamponate di salina, 3.5% di paraformaldeide ed infine 5% glicerolo. Le soluzioni di fissativo (paraformaldeide) e crioprotettore (glicerolo) sono state preparate in tampone fosfato 0.1M, pH 7.4 così da garantire il mantenimento dell'osmolarità tissutale. Sul cervello, dopo fissazione del cranio in un apparato stereotassico, è stata fatta una squadratura nel lobo occipitale secondo il piano coronale.

2.2.2. Processamento istologico

Il cervello è stato poi estratto dalla teca cranica, fotografato ed immerso per 3 giorni in una soluzione tamponata di glicerolo al 10% e per quattro giorni in una soluzione al 20%; successivamente è stato quindi congelato. Il taglio del cervello, mantenuto congelato con ghiaccio secco, è stato eseguito al microtomo in modo tale da ottenere sezioni coronali di 60 µm di spessore.

Una sezione ogni 5 (campionamento a 300 µm) è stata processata per la visualizzazione della BDA utilizzando il kit Vectastain ABC (Vector Laboratories, Burlingame, California) and la 3,39-diaminobenzidine (DAB) come cromogeno. La reazione è stata intensificata usando Cloruro di cobalto e Nikel ammonio solfato.

Una sezione ogni 5 (campionamento a 300 µm) è stata processata per la visualizzazione del LYD. Dopo l'inattivazione della periossidasi endogena (metanolo: perossido di idrogeno = 4:1), le sezioni selezionate sono state incubate per 72 ore a 4°C in una soluzione di anticorpo anti-LYD (1:3000; Invitrogens) in 0,3% Triton, 5% normal goat serum in PBS, e poi incubate in un secondo anticorpo biotinilato (1:200, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) in 0,3% Triton, 5% di *normal goat serum* in PBS. Per ultima cosa, la marcatura di LYD è stata visualizzata usando il Vectasian ABC kit (Vector) e il kit Vector SG peroxidase substrate (SK – 4700, Vector) come cromogeno.

Una serie di ogni 5 sezioni è stata colorata tramite il metodo Nissl (tionina, 0.1% in tampone acetato 0.1M pH 3.7) per permettere la ricostruzione della posizione delle penetrazioni. In particolare la posizione delle penetrazioni è stata ricostruita sulla base delle coordinate stereotassiche, della profondità delle penetrazioni e delle proprietà funzionali.

2.2.3. Analisi dei dati

Il materiale processato per la visualizzazione della BDA è stato esaminato a ingrandimenti di 63X, 100X e 200X con un microscopio Zeiss Universal epi-fluorescence. Il materiale è stato osservato in campo chiaro. I siti di iniezione sono stati definiti identificando due zone concentriche: una zona centrale, definite *core* e una periferica, denominate *halo*, secondo i criteri definiti in Luppino et al. (2003). Il *core* delle iniezioni di DBA e LYD è costituito da una regione densamente colorata attorno alla traccia dell'ago. L'*halo* è quella regione con una colorazione del background meno intensa del *core*, in cui, però, praticamente tutti i neuroni sono marcati.

La distribuzione dei traccianti corticali retrogradi e anterogradi è stata analizzata in sezioni campionate ogni 300 µm e acquisite digitalmente in sezioni spaziate di 600 µm, insieme ai bordi corticali. Tale digitalizzazione è stata eseguita usando un programma apposito sviluppato nel laboratorio (Brain Tracer). Questo programma permette di leggere le misure di trasduttori di lunghezza ancorati al tavolino traslatore di un microscopio, e quindi di acquisire, attraverso la pressione su un pedale, le coordinate X-Y di ciò che si osserva attraverso il microscopio stesso (per esempio neuroni, terminali, fibre marcati, o contorno del bordo della fetta di cervello).

I dati provenienti da ogni sezione sono stati poi importati in un software per la ricostruzione 3D (Brain, CRS4, Cagliari, Italia, Bettio et al., 2001), che permette di ottenere una ricostruzione volumetrica del cervello, includendo i dati di connessione. La distribuzione dei neuroni e delle fibre marcate sulla superficie corticale esposta sono poi visualizzati in visione dorsolaterale e laterale nella ricostruzione 3D dell'emisfero. Tramite un altro software sviluppato presso il laboratorio (Inside) è stato possibile aprire virtualmente il solco e mostrare la regione opercolare in esteso, con una visione *flattened* del solco silviano.

3.Risultati

3.1. *Risultati Esperimento di Mappatura Funzionale dell'area SII*

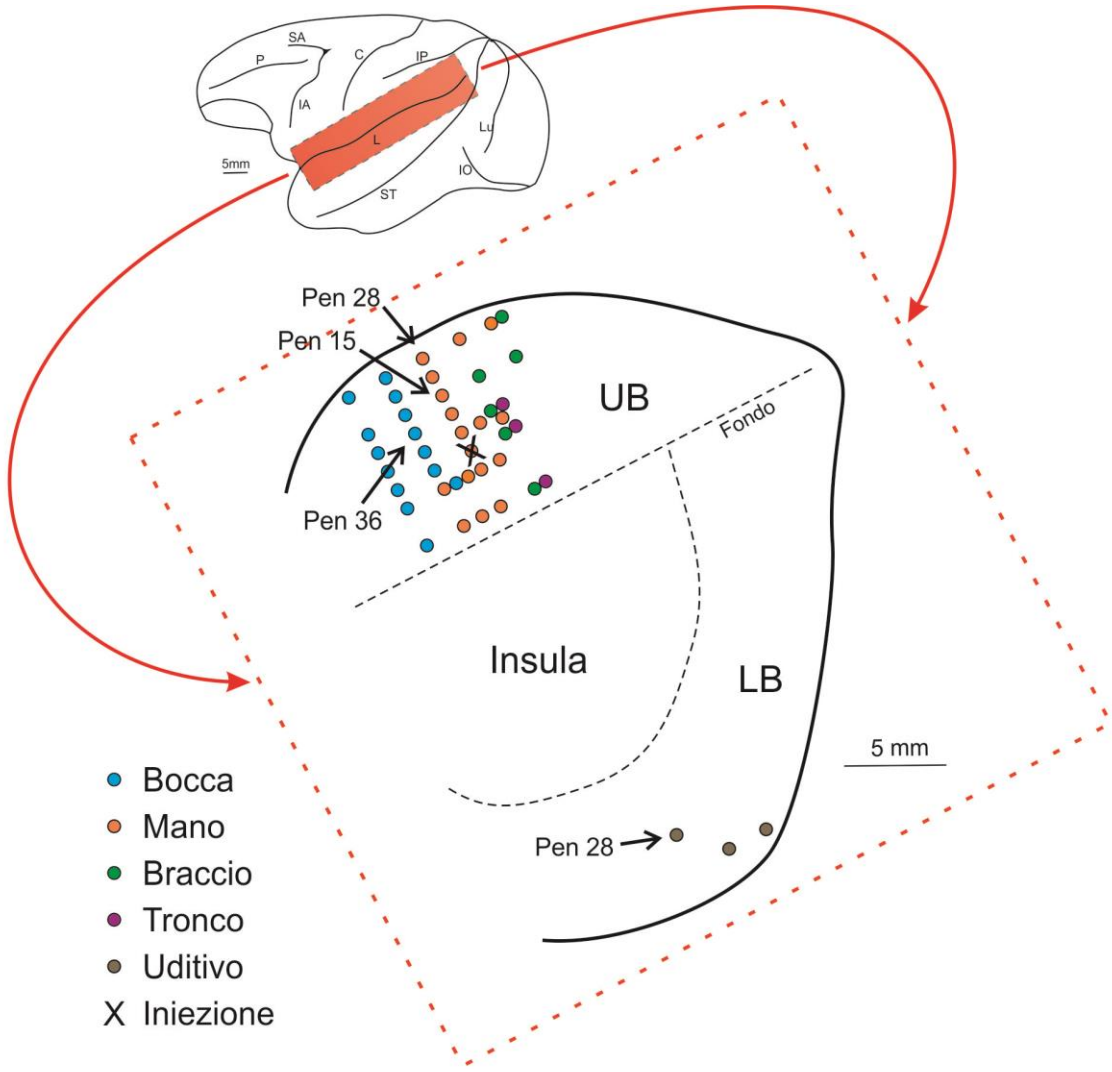
L'esperimento funzionale aveva lo scopo di descrivere le proprietà funzionali dei neuroni dell'area Somatosensoriale Secondaria, e, in particolare, di identificarne la regione in cui è rappresentata la mano (*SII-mano*). A tale scopo nella scimmia M2 sono state eseguite 58 penetrazioni in una vasta regione corticale, estesa 11 mm in senso antero-posteriore e 10 mm in senso medio-laterale. Per poter identificare con precisione in maniera funzionale la corteccia opercolare di cui SII fa parte, è stato necessario descrivere anche lo spessore e le proprietà funzionali della convessità corticale, lo spessore della sostanza bianca eventualmente incontrata, e il passaggio attraverso i solchi. Prima di descrivere nel dettaglio la mappatura di SII, descriveremo brevemente alcune penetrazioni a titolo esemplificativo.

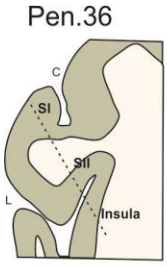
3.1.1. Identificazione dell'area *SII-mano*

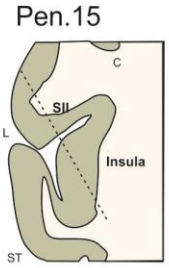
La figura 3.1 mostra la ricostruzione funzionale di alcune penetrazioni condotte durante l'esperimento di registrazione. Visto che il cervello di M2 non è ancora stato processato istologicamente, tale ricostruzione è basata sulla risonanza magnetica funzionale e sulle caratteristiche funzionali delle cortecce incontrate (v. Materiali e Metodi). Le registrazioni sono state affrontate, penetrando con gli elettrodi posti ad un angolo di 30° dalla verticale (v. Materiali e Metodi). Tale angolo ha permesso di penetrare la corteccia di SII perpendicolarmente e di caratterizzare le proprietà funzionali anche delle cortecce poste più superficialmente. La prima traccia mostrata (Pen.36) penetra per circa 3,5 mm il banco posteriore del solco centrale, corrispondente all'area Somatosensoriale Primaria, attraversando in maniera obliqua diverse colonne corticali ognuna di esse coinvolta

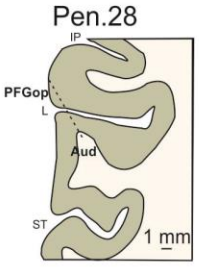
nell'elaborazione di specifici tipi di informazione sensoriale. Infatti dorsalmente sono state registrate chiare risposte multiunitarie e neuronali correlate alla stimolazione tattile, superficiale, dell'interno della bocca, a livello della guancia controlaterale, con campi recettivi molto piccoli. Scendendo in profondità si è incontrata una transizione nelle proprietà funzionali, la scarica dei neuroni presenti in questa regione sono evocati dalla stimolazione passiva e profonda dello stiramento del labbro controlaterale. Dopo un periodo di silenzio di circa 4 mm, alla ripresa di attività si sono trovate risposte tipiche dell'area SII, con neuroni che rispondono al tatto superficiale con un campo recettivo vasto che comincia dalle spalle e arrivava fino alle guance. Dopo un altro breve periodo di silenzio dovuto all'attraversamento del solco, i neuroni insulari mostrano una preferenza alla stimolazione tattile passiva delle gambe o del tronco.

La Pen.15 (Fig.3.1) rappresenta la ricostruzione funzionale di una penetrazione nella quale l'elettrodo attraversa la convessità (2,5 mm di attività dall'ingresso) registrando attività multiunitaria, e di singoli neuroni, evocata dalla somministrazione di stimoli passivi superficiali e profondi in una regione piuttosto ampia della bocca, comprendente labbro inferiore e denti. Le risposte erano più forti stimolando la parte controlaterale, ma presenti anche nel lato della bocca ipsilaterale alla registrazione. L'elettrodo, quindi, attraversa una zona di sostanza bianca caratterizzata dall'assenza di attività neuronale e da sporadici segnali nervosi provenienti da fibre di passaggio. Successivamente si incontra una seconda zona di attività, corrispondente alla area SII, contenente neuroni attivati da stimoli tattili superficiali somministrati sulle falangi di entrambe le mani. Le risposte sono più forti per stimolazione della mano controlaterale e la risposta ottimale sembra lo sfregamento delicato in direzione prossimo-distale.









Profondità	Campi recettivi
0	Interno bocca
4000	Silenzio
8500	Faccia
10000	Silenzio
10500	Tronco-gambe

Profondità	Campi recettivi
0	Bocca
2500	Silenzio
4000	Mano
6000	Silenzio
6500	tronco/ arti superiori

Profondità	Campi recettivi
0	Mano
2500	Silenzio
5500	risposte uditive

Figura 3.1. Mappa delle risposte funzionali di SII ed esempi di penetrazioni.

Nella porzione superiore della figura in alto è rappresentata una visione laterale del cervello (ottenuta dalla risonanza magnetica) sul quale è evidenziata la posizione del solco silviano (rettangolo rosso). Tale solco è mostrato aperto e appiattito nell'ingrandimento sottostante. In tale visione i cerchi colorati indicano la posizione approssimativa delle penetrazioni condotte e le loro proprietà funzionali. Nel banco superiore si può identificare la posizione di penetrazioni contenenti neuroni attivati dalla stimolazione somatosensoriale della bocca in blu, della mano in arancione, del braccio in verde, e del tronco in viola. Nel banco inferiore sono mostrate, in marrone, alcune penetrazioni contenenti neuroni eccitati da stimoli uditivi. La croce (X) indica il punto della griglia in cui si è eseguita l'iniezione del tracciante neuronale in SII-mano. Nella parte inferiore dell'immagine è rappresentata la ricostruzione di tre penetrazioni riportate su tre sezioni coronali ottenute dalla risonanza magnetica sulle quali è riportata la traccia percorsa dall'elettrodo e le proprietà funzionali incontrate alle diverse profondità. Aud= corteccia uditiva, C= solco centrale, IA= solco arcuato inferiore, IO= solco occipitale inferiore, IP= solco intraparietale, L= solco laterale, LB= banco ventrale, Lu= solco lunato, P= solco principale, PFGop= area PFG opercolare, SA= solco arcuato superiore, ST= solco temporale, UB= banco dorsale.

Approfondendo l'elettrodo si registra un breve silenzio in concomitanza del solco silviano. Attraversata la scissura si incontra nuovamente attività, di tipo insulare, causata dalla stimolazione passiva superficiale e profonda di una vastissima regione somatica che si estende su tutto il corpo esclusa la faccia e le mani. Tali risposte sono più forti sul tronco (torace, addome e schiena), e calano sugli arti.

La penetrazione numero 28 (Fig.3.1) entrava molto lateralmente nella camera di registrazione, entrando da una regione molto prossima all'opercolo parietale (probabilmente PFG Opercolare), dove sono state registrate risposte neuronali evocate dalla stimolazione passiva superficiale e profonda delle mani. Dopo un silenzio senza fibre, dovuto all'attraversamento del solco silviano, si è rientrati nel banco ventrale del solco stesso, dove

sono state registrate chiare risposte neuronali evocate dalla somministrazione di stimoli acustici di vario tipo.

3.1.2. Mappa funzionale dell'area SII

La Figura 3.1 mostra inoltre la griglia di penetrazioni condotte e le proprietà funzionali identificati nella corteccia opercolare, mappate su una visione appiattita del solco silviano. I cerchi arancioni indicano la posizione in cui sono state registrate risposte neuronali legate alla stimolazione tattile della mano. *SII-mano* occupa una regione che si estende da rostrale e mediale a ventrale e laterale, occupando circa 4 mm in direzione antero-posteriore, e 8 mm lungo tutta la larghezza medio-laterale del banco dorsale del solco silviano, dal rivolgimento insulare, medialmente, al margine esterno dell'opercolo, lateralmente. Questa regione è delimitata anteriormente da un settore in cui i neuroni tipicamente rispondono alla stimolazione tattile della faccia o della bocca (cerchi blu), e posteriormente da un settore in cui i campi recettivi sono prevalentemente posti a livello dell'arto superiore (cerchi verdi) e del tronco (cerchi viola).

Delle 58 penetrazioni eseguite, 11 hanno raggiunto *SII-mano*. In queste penetrazioni sono state registrate le proprietà funzionali in un totale di 33 siti in profondità spaziati di 500 μm (v. Materiali e Metodi). I campi recettivi incontrati nella *SII-mano* sono tipicamente piuttosto estesi, molto più ampi di quelli registrati nell'area SI. Circa metà dei campi recettivi (54% dei siti registrati) si estendono dalla mano all'avambraccio, arrivando, in vari casi a comprendere anche il braccio e la spalla.

L'altra metà dei siti (46%) mostra campi recettivi più ristretti al palmo della mano e alle dita. Anche in questo caso campi recettivi sono più ampi di quelli di SI, incorporando più dita. In questi casi la risposta ottimale si ottiene per stimolazione contemporanea di più dita.

Inoltre, i campi recettivi sono frequentemente estesi su entrambe le mani (66%), anche se la risposta evocata dalla stimolazione dell'arto controlaterale all'emisfero registrato è generalmente più forte. Il restante 34% delle risposte era evocata dalla stimolazione della mano controlaterale, mentre non sono state registrate risposte neuronali selettive per l'arto ipsilaterale.

Per quanto riguarda le tipologie di stimolazione si sono registrati più frequentemente risposte legate a stimoli tattili sia superficiali che profondi (48%), e meno frequentemente risposte a stimolazione esclusivamente profonda (21%) o superficiale (16%). A questo riguardo, bisogna però ricordare che questo risultato si basa non solo sull'analisi delle risposte dei singoli neuroni, ma anche dell'attività multiunitaria (v. Materiali e Metodi), quindi è un ottimo indice del tipo di codice usato dalla popolazione neuronale di *SII-mano*, ma non ci permette di valutare se questo comportamento dipenda dalla presenza di neuroni che codificano entrambi i tipi di stimolo, o da popolazioni distinte che elaborano separatamente l'informazione tattile superficiale e pressoria profonda.

Più della metà delle risposte registrate (58%) è maggiore o presente solo se lo stimolo tattile è mosso dinamicamente attraverso il campo recettivo, in alcuni casi anche con specificità direzionale. Solo in due siti sono state registrate risposte di tipo articolare. Generalmente all'interno di *SII-mano* non sono state riscontrate rilevanti differenze nelle proprietà funzionali tra la porzione dorsale e ventrale.

3.2. *Risultati esperimento iniezione traccianti neuronali*

3.2.1. Posizione del sito di iniezione

L'iniezione di BDA è stata eseguita al centro della *SII-mano* di M1 identificata mediante precedente caratterizzazione fisiologica. Il sito di iniezione, è mostrato nella figura 3.2. Esso è localizzato circa a metà dell'estensione medio-laterale del banco dorsale del solco silviano, e si estende a tutto spessore, dagli strati più superficiali, lungo tutta la corteccia fino al confine con la sostanza bianca, senza però invaderla (Fig.3.2, a-b).

Nella parte bassa della figura (Fig.3.2) è mostrata una visione distesa del solco silviano ottenuta a partire dalle sezioni istologiche in cui è visibile la posizione del sito di iniezione. All'interno dello stesso sito è identificabile una parte centrale in blu scuro che delimita il core ed una circostante in colore più chiaro che mostra l'estensione dell'halo.

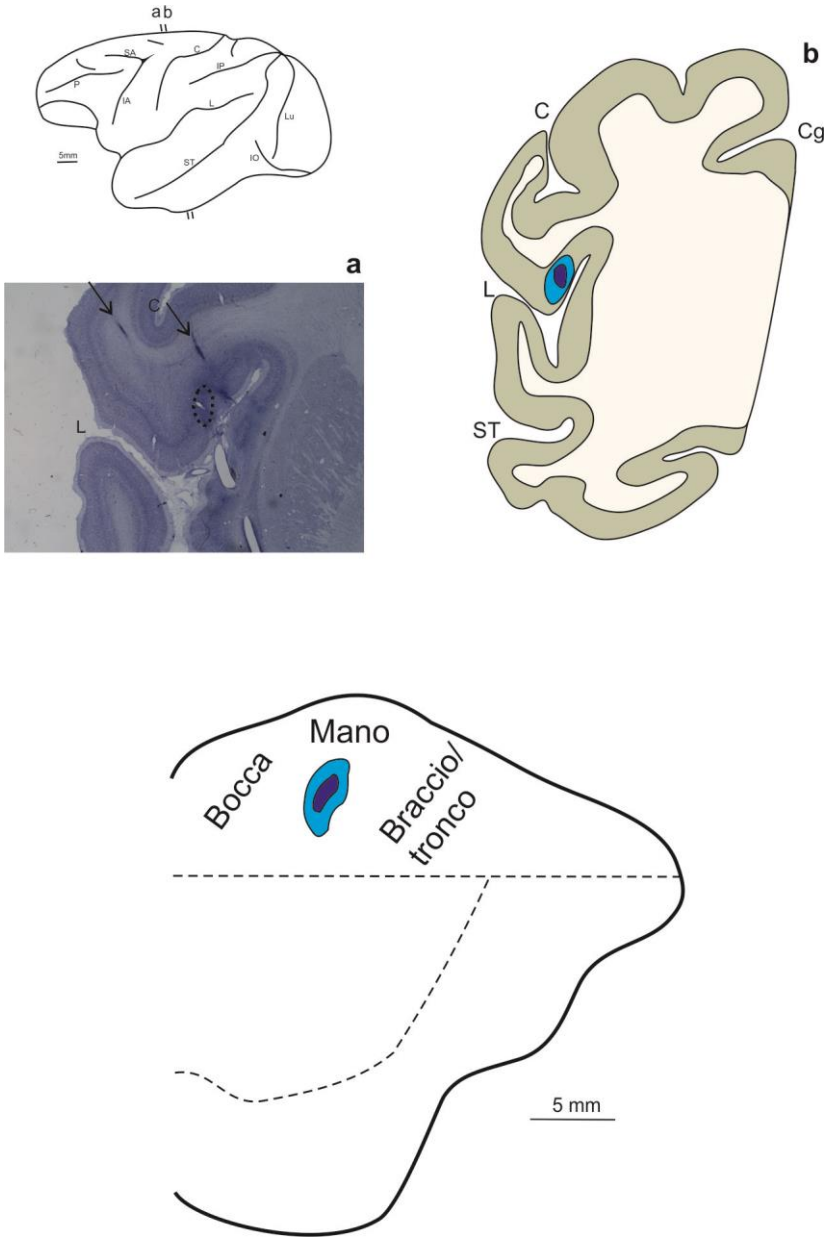


Figura 3.2.

La figura mostra nel pannello in alto a sinistra una visione laterale dell'emisfero del cervello della scimmia M1. Le due immagini (a,b) rappresentano due sezioni prese ai livelli indicati sulla visione laterale del cervello in cui è individuabile il sito di iniezione e le tracce degli elettrodi. Sotto una visione aperta del solco silviano con riportato il sito di ineizione (core in blu, halo in azzurro) e la suddivisione funzionale del banco superiore dell'opercolo emersa dallo studio funzionale. Cg= corteccia cingolata. Altre convenzioni come in fig. 3.1.

3.2.2. Connessioni corticali di *SII-mano*

Il tracciante neuronale BDA ha prodotto simili pattern di marcatura sia per quanto riguarda le connessioni anterograde che retrograde, indicando una reciprocità di connessioni nelle aree che mandano efferenze o ricevono afferenze da *SII-mano* (Fig.3.5). La regione con maggior densità di marcatura sia retrograda che anterograda è rappresentata dagli altri campi funzionali dell'area SII e dai settori di corteccia circostanti dell'opercolo parietale (Fig.3.3, a; Fig.3.4, e-f-g-h-i; Fig.3.6). La marcatura si estende su una vasta regione dell'opercolo parietale, fino alla retroinsula, caudalmente, e all'opercolo frontale, rostralmente (Fig.3.3, b; Fig.3.4, f). Al di fuori dell'opercolo parietale, le aree più marcate sono quelle della corteccia parietale. In particolare la porzione ventrale dell'area somatosensoriale primaria (SI), a livello della rappresentazione somatotopica di mano e bocca (Fig.3.3, a; Fig.3.4, e-f; Fig.3.6). La marcatura anterograda è presente sia negli strati sovra che infragranulari (Fig.3.5). La marcatura retrograda in area SI rappresenta la componente quantitativamente maggiore (34 %), una volta esclusa la regione dell'opercolo parietale (vedi Materiali e Metodi), della marcatura retrograda osservata in tutto l'emisfero (Fig.3.6). Sempre nella corteccia parietale, dense connessioni retrograde (21,6%) sono presenti a livello della corteccia parietale inferiore, in particolare sulla convessità corticale, e nel banco ventrale del solco intraparietale (Fig.3.3, a; Fig.3.4, g-h-i-j-k). Tale marcatura interessa principalmente le aree PFG ed AIP, coinvolte nelle trasformazioni sensori-motorie per l'afferramento con le mani, e, in parte si estende anteriormente all'area PF e posteriormente all'area PG.

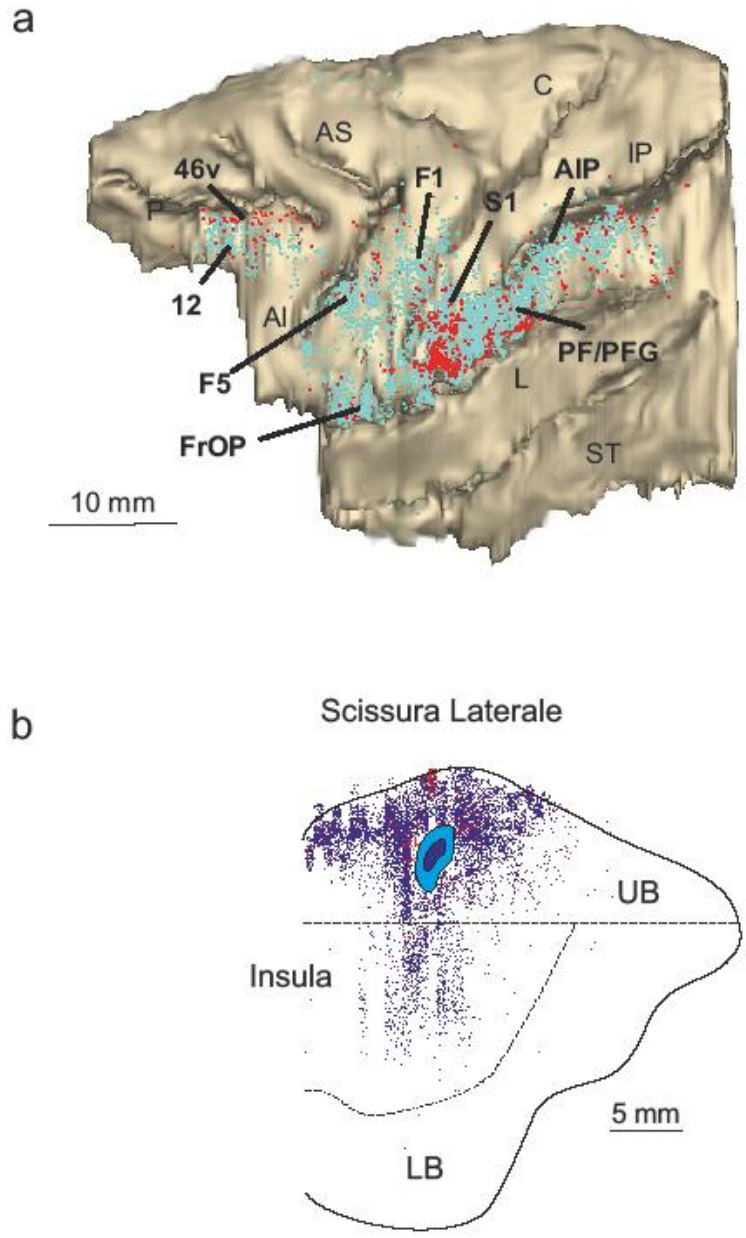


Figura 3.3. a: visione laterale della ricostruzione 3D dell'emisfero studiato.

I punti rossi indicano la posizione dei neuroni marcati, quelli blu le fibre e i terminali marcati. Altre convenzioni come in fig.3.1 e fig.3.2. ***b:*** *rappresentazione estesa della scissura laterale di Silvio. La posizione del sito di iniezione è mostrata dalle aree colorate: Core= blu scuro; Halo= azzurro. La linea continua delimita la riflessione della corteccia dal solco alla convessità parietale e temporale. Le linee tratteggiate indicano il fondo del solco e la corteccia dell'Insula. Convenzioni come in Fig.3.1 e Fig.3.2.*

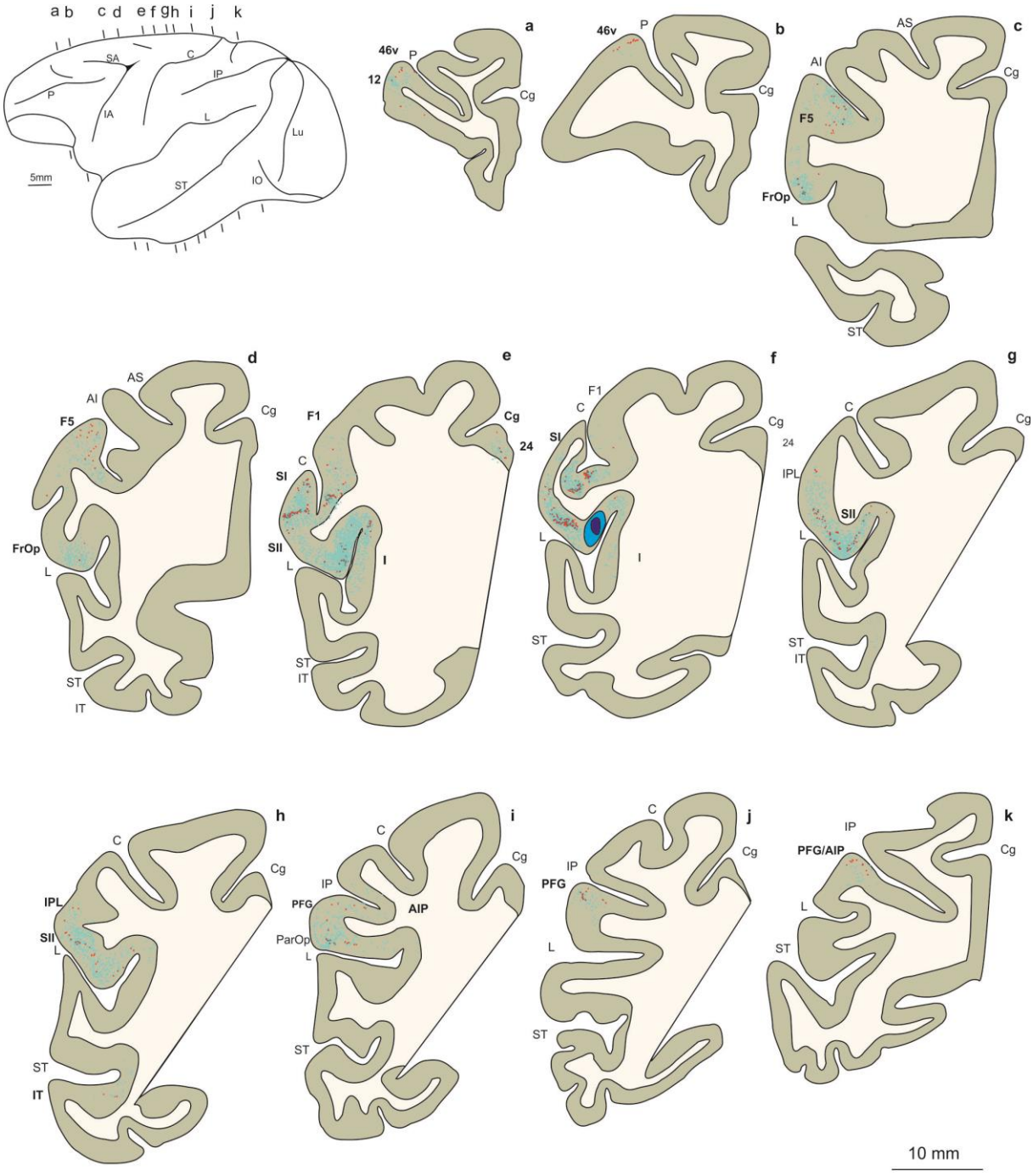


Figura 3.4. Distribuzione della marcatura retrograda e anterograda, mostrata in sezioni coronali rappresentative.

Le sezioni sono mostrate in ordine rostro-caudale (a-k). Ogni punto rosso corrisponde ad un neurone marcato, le fibre in colo azzurro e il sito di iniezione è mostrato in blu (core) e azzurro (halo) nella sezione f. 46v =area 46 ventrale, 12= area 12, FrOP= opercolo frontale, IPL= intra-parietale laterale, ParOp= Opercolo parietale. Altre convenzioni come in Fig. 3.1 e Fig. 3.2.

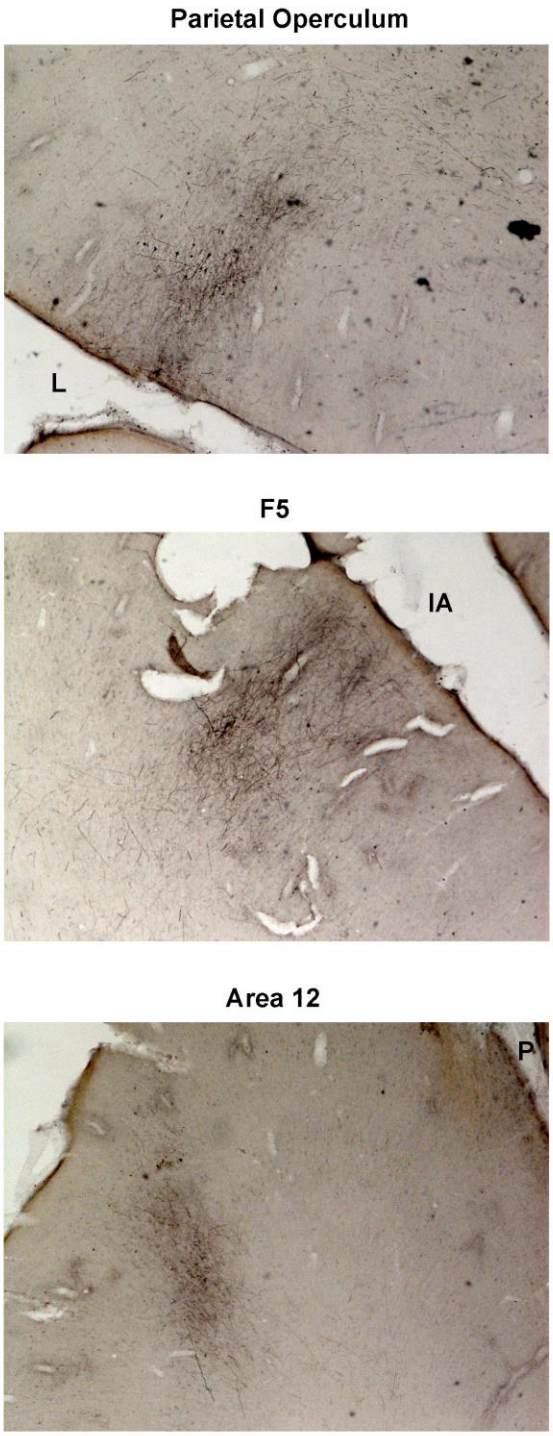


Figura 3.5. Microfotografie marcatura anterograda e retrograda

Esempi di marcatura retro-anterograda con tracciante neuronale BDA. Le sezioni istologiche processate per la visualizzazione del tracciante neuronale sono state fotografate con una fotocamera digitale collegata al microscopio. Nei pannelli sono presenti le seguenti aree: Area 12, F5, SI, Parietal Operculum, nelle quali è possibile visualizzare una marcatura colonnare per quanto riguarda l'anterograda, mentre quella retrograda è presente sia negli strati sovra che infragranulari. Convenzioni come in Fig. 3.3 e 3.4.

Al di fuori della corteccia parietale, una connettività relativamente densa (15,3% della marcatura retrograda, Fig.3.6) interessa la regione Premotoria Ventrale, in una vasta regione che si estende dal solco arcuato fino al solco centrale. Tale marcatura è prevalentemente localizzata a livello dell'area F5 (Fig.3.3, a; Fig.3.4, c-d, Fig.3.5), un'area premotoria coinvolta nella guida delle azioni di afferramento con la mano, ma si estende fino all'area motoria primaria (F1) (Fig.3.4, e). I neuroni e le fibre marcate di F5 sono presenti sia a livello del banco che della convessità corticale. I neuroni marcati sono sempre co-presenti con fibre e terminali marcati (Fig. 3.5). Debole marcatura è stata osservata anche a livello del cingolo motorio (area 24) (Fig.3.4, e). Altra regione connessa in maniera piuttosto densa con *SII-mano* è la corteccia prefrontale ventrolaterale (15,3% della marcatura retrograda). A questo livello si osservano neuroni e fibre marcati nelle aree 46v e 12 (Fig.3.3, a; Fig.3.4, a-b, Fig.3.5), e in minor misura nella corteccia orbitale. Deboli connessioni sono state trovate anche con il banco ventrale del solco temporale superiore (Fig.3.4, c) e nella parte centrale dell'insula dorsale (Fig.3.4, e). Un dettaglio delle proporzioni delle proiezioni verso *SII-mano* (marcatura retrograda) è fornito nella figura 3.6.

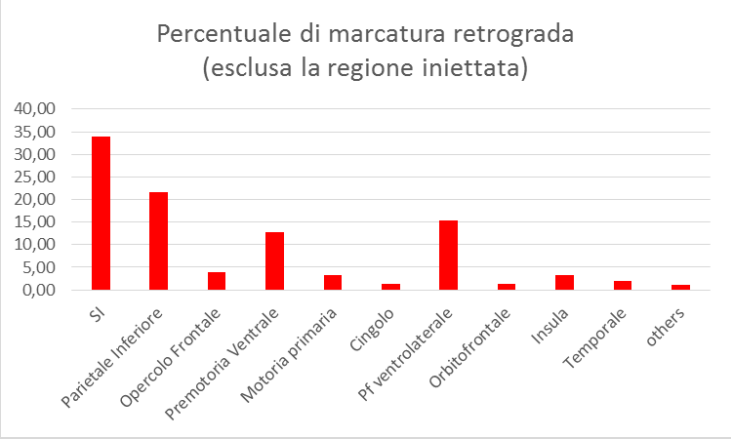


Figura 3.6. Rappresentazione grafica della distribuzione della marcatura retrograda in percentuale.

Sull'asse delle ordinate ci sono i punti percentuali e su quello delle ascisse le aree interessate.

Others= aree con bassa percentuale di marcatura.

4.Discussione

I risultati dei due esperimenti condotti sono in linea con la letteratura di riferimento ed ampliano e definiscono meglio le conoscenze riguardanti l'area *SII-mano*.

L'esperimento di fisiologia ha permesso di compiere una mappatura della somatotopia presente in SII confermando gli studi classici. In particolare la zona in cui sono presenti neuroni che rispondono alla stimolazione tattile della mano è ben distinta e individuabile, confinante con una regione codificante la bocca, ad un livello più rostrale, ed una codificante quella del braccio/tronco, ad uno più caudale. Lo studio non ha solo permesso di analizzare le caratteristiche somatotopiche di quest'area, ma anche le proprietà funzionali dei neuroni registrati nei vari strati della corteccia di *SII-mano*. Anche qui ci sono alcuni dati rilevanti, come l'evidenza che una grande maggioranza di questi neuroni codifica stimoli in movimento, come già descritto largamente in letteratura.

L'esperimento di anatomia e l'analisi delle marcature susseguenti all'iniezione del tracciante neuronale BDA nella zona di mano di SII, ha permesso l'identificazione di un ampio pattern di connessioni bidirezionali. Non sono presenti molti studi in letteratura di tale genere, ossia che hanno compiuto un'iniezione in SII, ancor meno in una regione di SII. Le evidenze indirette però hanno portato, durante gli anni, ad ipotizzare connessioni di SII, specificatamente di *SII-mano*, con varie aree: i nostri risultati li hanno definiti ed identificati tramite una metodica diretta.

In particolare quest'area è connessa in maniera cospicua con l'opercolo parietale e le rappresentazioni sensoriali della mano di SI, scambia informazioni sensori-motorie con le aree parietali inferiori ed F5, e inoltre possiede dense connessioni con l'area VLPF. In modo minore anche con la corteccia dell'Insula e l'STS.

4.1. *Proprietà neurali di SII*

Le proprietà dei neuroni registrati e descritti nella regione *SII-mano* sono in accordo con quelle descritte nella letteratura classica ed hanno confermato la caratterizzazione descritta nei loro studi. I campi recettivi dei neuroni registrati in questa regione sono prevalentemente bilaterali (67%) con scariche maggiori per le stimolazioni che avvengono nella porzione di cute controlaterale alla registrazione (anche i gruppi di Burton e Fitzgerald hanno descritto nei loro lavori risposte maggiori per le stimolazioni applicate nel campo controlaterale). Il restante dei neuroni codifica la mano controlaterale, mentre nessun neurone è risultato specifico per la mano ipsilaterale.

Le dimensioni dei campi recettivi sono piuttosto ampi e spesso sono estesi su mano e braccio (54%), i restanti (46%) invece codificano solamente la mano. Anche questi risultati sono in accordo con le osservazioni poste da Robinson in cui, trattando dei neuroni registrati in SII, descrive campi recettivi difficili da definire poiché molto ampi e sovrapposti, che raggiungono i 10 cm (Robinson e Burton 1980), e, analogamente Krubitzer, li amplia fino ad un'estensione massima di circa 15 cm. Ricordiamo che nel nostro studio si andavano a valutare i singoli neuroni, ma anche l'attività multiunitaria, quindi, utilizzando la nostra metodica, è possibile che si siano descritte le proprietà di più neuroni vicini tra loro e adiacenti all'elettrodo. È per questa motivazione che i nostri risultati non ci permettono un'analisi precisa dei campi recettivi, ma la loro descrizione rimane largamente in linea con quelle fornite dagli altri gruppi.

All'interno della regione *SII-mano* alcuni autori, come descritto nel capitolo introduttivo, hanno trovato differenze funzionali. In particolare Fitzgerald (2006a) mostra la presenza di tre campi estesi in cui vi è la rappresentazione della mano con differenze

funzionali tra loro (vedi Introduzione). Le nostre analisi confermano la somatotopia e le distinzioni funzionali applicate da Fitzgerald (2006a) nella *SII-mano*. In particolare le penetrazioni affrontate nella zona centrale hanno mostrato neuroni con una preferenza per la stimolazione superficiale o profonda (zona, per Fitzgerald, dedicata alla codifica delle stimolazioni cutanee), mentre nelle zone laterali un buon numero di neuroni ha mostrato una preferenza per la stimolazione tattile profonda (per Fitzgerald codificanti sia le informazioni cutanee, ma anche propriocettive). L'apparente differenza in orientamento dipende esclusivamente da una presentazione grafica del solco, ma ruotate e sovrapposte, le proprietà sono estese sulla stessa superficie e le proprietà corrispondono.

4.2. *Somatotopia di SII*

Come riportato più volte, la nostra mappatura della SII non aveva lo scopo di studiare nel dettaglio le proprietà dei neuroni di questa corteccia, ma di identificare la regione della mano. Per compiere analisi precise e sistematiche sarebbe stato necessario un campionamento più ampio, ma nonostante il numero ristretto, i nostri dati hanno permesso di identificare una chiara rappresentazione somatotopica all'interno di SII. Ancora una volta in accordo con gli studi di Burton e Fitzgerald la corteccia SII presenta rappresentazioni delle diverse regioni del corpo in strisce successive antero-posteriori confinanti tra loro. In particolare, dai nostri dati emerge, ad un livello anteriore, la rappresentazione della bocca, adiacente a quella della mano e, più posteriormente, quella del braccio/tronco.

I nostri dati non supportano, invece, la distinzione proposta dal gruppo di Leah Krubitzer e collaboratori (1995). Questi autori identificano nel banco dorsale del solco silviano due mappe somatotopiche complete con rappresentazioni speculari del corpo: PV,

rostralmente, e SII, caudalmente (vedi Introduzione). Questa discrepanza potrebbe essere dovuta da una differenza metodologica. In primo luogo il campionamento spaziale del nostro studio è molto inferiore rispetto a quello nei lavori della Krubitzer, inoltre il nostro lavoro è mirato a identificare la regione della codifica della mano, di conseguenza le rappresentazioni limitrofe sono state identificate solo marginalmente e funzionalmente allo scopo.

Da notare però che questi sono gli unici autori ad identificare due rappresentazioni somatotopiche separate (in studi di neurofisiologia), mentre altri gruppi, come anche il nostro studio, identificano un'unica mappa funzionale (Burton 1980; Fitzgerald et al. 2006a). Mentre nel nostro studio, e gli altri due citati sopra, le mappe funzionali si estendono secondo un andamento caudo-laterale verso rostro-mediale, le rappresentazioni di SII e PV si svilupperebbero ortogonalmente a questa direzione (Fig.4.1). La somatotopia invertita descritta da Krubitzer e collaboratori (1995) riguarda prevalentemente la rappresentazione dell'arto inferiore e del tronco. La più rostrale di queste rappresentazioni, però, cade a ridosso del rivolgimento della corteccia opercolare in quella insulare, e potrebbe quindi non essere parte di PV, ma della corteccia insulare. Se si trascura questa porzione, la mappa proposta dal gruppo di Krubitzer è in gran parte sovrapponibile a quella descritta da Burton e collaboratori (1980), Fitzgerald e collaboratori (2006a) e identificata nel nostro studio funzionale. La possibilità di una rappresentazione somatotopica più complessa e a maglia più fine, comunqie merita di essere studiata più in dettaglio nell'ambito di studi dedicati, anche alla luce del fatto che studi anatomici e funzionali sull'uomo hanno identificato due campi nel banco dorsale di SII potenzialmente omologhi di SII e PV, OP1 e OP4 (Disbrow et al. 2000, Eckhoff et al. 2010, vedi Introduzione).

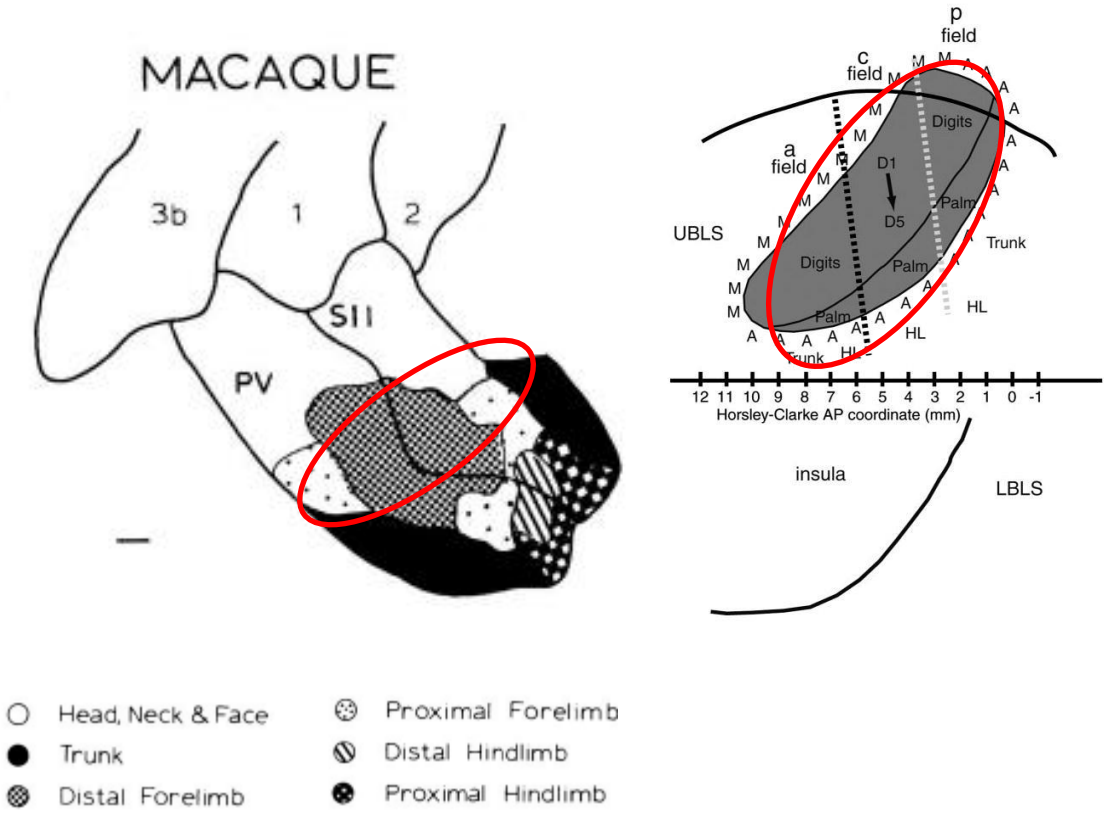


Figura 4.1. Confronto mappature di SII.

A sinistra è mostrata la mappatura del solco silviano, mostrato in visione appiattita, secondo Krubitzer et al. (1995). A destra quella compiuta invece da Fitgerald et al. (2004). Il cerchio rosso mostra la SII-mano in entrambi gli studi. Da notare che la rappresentazione somatotopica invertita di SII e PV è presente solo a livello del tronco e dell'arto inferiore.

4.3. *Connessioni di SII-mano*

Mentre i dati in letteratura riguardanti le proprietà funzionali dei neuroni di SII sono molto numerosi, quelli che riguardano evidenze dirette delle connessioni di quest'area sono molto pochi. A nostra conoscenza solo due studi hanno descritto le connessioni di SII nel macaco (Friedman and Murray 1986; Cipolloni e Pandya, 1999). In questi studi, gli autori hanno iniettato grandi quantità di tracciante neuronale a diverse coordinate antero-posteriori del solco. Questa metodica ha prodotto iniezioni di grandissima dimensione che,

non solo si estendono attraverso le varie rappresentazioni somatotopiche di SII, ma che addirittura coprono più aree architettoniche, includendo in alcuni casi l'Insula, in altri la retroinsula, in altri la convessità corticale (PF, PFG, PG). Inoltre le iniezioni in questi studi non sono mai state condotte sotto controllo fisiologico, e, di conseguenza, è possibile solo inferire sulla base della posizione anatomica quali siano le rappresentazioni somatotopiche coinvolte. Alcune delle iniezioni di questi autori includono anche la porzione di solco laterale corrispondente alla *SII-mano* funzionalmente identificata. Il nostro studio è il primo tentativo di descrivere specificamente le connessioni anatomiche del campo funzionale di SII di codifica della mano. I risultati del nostro esperimento anatomico confermano ed estendono le conoscenze prodotte da questi lavori.

Innanzi tutto le connessioni più forti della *SII-mano*, evidenziate dal nostro esperimento anatomico, sono quelle con le aree sensoriali limitrofe all'interno dell'Opercolo Parietale e con l'area SI. Questo dato è in linea con quanto descritto da Friedman e Murray (1986), il cui lavoro era principalmente concentrato appunto sulle connessioni intrinseche e quelle con il lobo limbico. In particolare la marcatura si concentra nelle rappresentazioni somatosensoriali codificanti la mano, in accordo con quanto descritto da Friedman e Murray (si confronti la posizione della marcatura nella nostra sezione f della nostra figura 3.5 con la sezione c della figura 3 di Friedman and Murray 1986).

Questo supporta fortemente l'idea anatomo-funzionale di SII come parte fondamentale del network dedicato all'associazione di diversi aspetti della sensibilità somatica legate alla mano. La marcatura si estende alla corteccia del lobulo parietale inferiore e del solco intraparietale in PFG, AIP, e in quantità minori anche in PF. Queste connessioni confermano dati indiretti ottenuti in seguito a iniezioni di queste specifiche

regioni (Pandya e Seltzer, 1982; Rozzi et al., 2006; Borra et al., 2008). Questo dato, indica che *SII-mano* non elabora esclusivamente l'informazione somatosensoriale, ma riceve anche informazioni relative ai programmi motori. Infatti queste aree non contengono solo neuroni che rispondono a stimolazione tattile, ma sono anche coinvolte nella codifica di movimenti volontari (Hyvarinen, 1982; Rozzi et al., 2008) e, in particolare contengono neuroni che si attivano durante l'esecuzione di atti motori finalizzati eseguiti con la mano (PFG, AIP), o con la bocca (PF) (Fogassi et al., 2005; Rozzi et al., 2008; Bonini et al., 2010). L'idea che SII partecipi in qualche modo alla codifica dei movimenti manuali è fortemente supportata dall'evidenza che la connessione di *SII-mano* quantitativamente più cospicua, al di fuori del lobo parietale, è quella con l'area premotoria ventrale F5. Quest'area è fortemente coinvolta nella codifica di movimenti eseguiti con la mano e/o la bocca, e della codifica dello scopo degli atti motori (Kurata et al., 1986; Gentilucci et al., 1988; Rizzolatti et al., 1988; Hepp-Reymond, 1994; Ferrari et al., 2003; Raos et a., 2006; Maranesi et al., 2012).

Nella corteccia agranulare frontale, *SII-mano* è anche connessa in maniera diretta con l'area motoria primaria (F1). Quindi *SII-mano*, proietta alle aree motorie e riceve da esse. Le connessioni con SI e F1 non sembrano dipendere da una possibile diffusione del tracciante lungo la penetrazione condotta durante l'iniezione, che attraversa queste due aree corticali. Infatti, in primo luogo il sito di iniezione risulta ben confinato nella corteccia di SII, inoltre la marcatura risulta localizzata in una regione di F1 più dorsale rispetto all'ingresso dell'ago. Infine le regioni di SI e F1 marcate non sono solo quelle strettamente adiacenti al sito sottostante, ma riguardano campi funzionali di rappresentazione della mano. Questo dato, inoltre, è in linea con i risultati mostrati dai gruppi di Friedman e Pandya.

Le connessioni descritte con le aree motorie e parietali nel loro insieme indicano che SII, oltre ad inviare alle aree del sistema motorio informazioni somatosensoriali necessarie per la guida e il controllo del movimento, riceve anche copie efferenti dei comandi inviati dalla corteccia ai muscoli attraverso le vie discendenti, e scambia con le aree parietali e premotorie informazioni relative ad aspetti di "alto livello" del movimento.

L'altra regione extra-parietale di connessioni relativamente dense con SII è rappresentata dalla corteccia prefrontale ventro-laterale (VLPF), e in particolare dalla porzione ventrale dell'area 46 e dall'area 12. Questo risultato conferma quanto osservato in studi anatomici precedenti mirati alla definizione delle connessioni della corteccia prefrontale (Borra et al., 2011; Gerbella et al., 2013). La corteccia prefrontale ventrolaterale è classicamente descritta come implicata nell'elaborazione degli aspetti non-spaziali dell'informazione sensoriale, in compiti di memoria di lavoro e nella selezione su base contestuale della risposta comportamentale appropriata (Goldman-Rakic 1987; Fuster; Funahashi et al., 1993; Hoshi et al., 1998; si veda Miller e Cohen 2001; Tanji e Hoshi, 2008). Uno studio elettrofisiologico recente ha però mostrato che una porzione di queste aree, posta ad un livello anatomico compatibile con quello in cui è stata osservata marcatura nel presente lavoro, contiene anche neuroni che si attivano durante l'esecuzione di movimenti finalizzati di afferramento con la mano (Simone et al., 2015).

Altre connessioni importanti sono quelle di *SII-mano* con la porzione medio dorsale della corteccia dell'insula. Studi funzionali hanno mostrato che la stimolazione elettrica di questa porzione dell'insula evoca movimenti complessi della mano (Jezzini et al., 2012).

Infine i nostri risultati mostrano una debole, ma interessante, marcatura a livello del solco temporale superiore. Questa marcatura è posta in piccoli spot a diversi livelli

anteroposteriori, principalmente nel banco ventrale, in prossimità del fondo. Questa corteccia è considerata parte della via visiva ventrale, dove sono codificati gli aspetti pittorici relativi agli oggetti. Questo indica che esiste una, seppure tenue, connessione diretta tra aree visive somatosensoriali di ordine superiore.

4.4. *SII come nodo somatosensoriale nel circuito che codifica le azioni manuali*

Nel corso degli anni è stato descritto un network di aree connesse reciprocamente tra loro e coinvolte nella codifica dei movimenti di afferramento su base volontaria (Rizzolatti e Luppino 2001). Questo network (*lateral grasping network*, Luppino et al. 1999) è centrato sulle aree coinvolte nelle trasformazioni visuo-motorie per l'afferramento: F5, PFG e AIP. In queste aree, infatti vi sono neuroni visuo-motori che si attivando quando la scimmia osserva degli oggetti e quando esegue movimenti per afferrarli (Gallese et al. 1994, Sakata et al. 1995, Murata et al. 1997). I neuroni di queste aree, inoltre, non sembrano codificare movimenti semplici, ma lo scopo degli atti motori (Rizzolatti, 1988; Fogassi, 2005; Rozzi 2008). Queste aree sono anche connesse con la parte di VLPF contenente neuroni motori e viusomotori di tipo simile (Borra et al. 2011, Gerbella et al. 2013, Simone et al. 2015) che probabilmente regola l'attivazione delle rappresentazione motorie di queste aree sulla base del contesto. L'uscita motoria di questo circuito avverrebbe tramite l'area motoria primaria (F1). L'inattivazione reversibile di AIP e F5 produce un deficit nella capacità di conformare la mano all'oggetto durante il movimento, ma l'afferramento può avvenire comunque sulla base dell'informazione tattile (Gallese et al., 1994; Fogassi et al., 2001). Questo indica che tale informazione deve in qualche modo arrivare al network. È stato proposto sulla base di evidenze anatomiche indirette (Rozzi et al., 2006; Borra et al., 2008; 2011; Gerbella et al.,

2011; 2013) che questa informazione provenga dall'area SII. I risultati di questo studio confermano pienamente la validità di questa ipotesi.

Inoltre, in diversi nodi del lateral grasping network (F5, PFG e AIP) sono stati registrati neuroni specchio (Di Pellegrino et al., 1992; Gallese et al., 1996; Rizzolatti et al., 1996; Fogassi et al., 2005; Rozzi et al., 2008; Maeda et al., 2015). Questi neuroni si attivano durante l'esecuzione e l'osservazione di atti motori finalizzati. E' stato proposto che la loro risposta permetta di mappare le azioni altrui su una rappresentazione "scopo-centrica" del proprio repertorio motorio, e, in questo modo, di comprenderne il significato (Gallese et al., 1996; Rizzolatti et al., 1996; Rizzolatti e Sinigaglia 2010; Rizzolatti et al., 2014). Neuroni che rispondono all'osservazione di azioni sono stati registrati anche nelle aree prefrontali del circuito (Simone et al., articolo sotto revisione) e in SII (Hihara et al., 2015). Quest'ultima osservazione indica che SII potrebbe avere un ruolo rilevante anche in questo processo.

4.5. *Possibile ruolo funzionale di SII*

Questo studio dimostra che *SII-mano* è effettivamente parte del lateral grasping network. Risulta evidente che SII possa fornire un feed-back sensoriale utile per il controllo del movimento, ma resta aperto quale possa essere il suo ruolo nella codifica degli stimoli sensoriali. A questo fine saranno necessari ulteriori esperimenti funzionali. Sulla base delle connessioni evidenziate in questo lavoro, però, si possono avanzare delle proposte. Durante la vita di tutti i giorni esploriamo il mondo che ci circonda tramite gli organi di senso. Questo processo però non è certo un fenomeno puramente passivo. Il termine stesso esplorare richiama questo concetto. Sia che ci serviamo di informazioni visive sia che indaghiamo gli oggetti tramite il tatto, una componente fondamentale è la capacità di muovere l'occhio o la

mano per poter riconoscere gli oggetti che ci circondano. Soprattutto per quanto riguarda i processi percettivi su base tattile è quindi necessario che la rappresentazione tattile e propriocettiva, di ciò che sta accadendo, si incontri con la rappresentazione motoria del comando efferente in esecuzione. La *SII-mano* sembra un ottimo candidato per questa funzione, e potrebbe avere un ruolo importante nella percezione degli oggetti e nella loro codifica in termini semantici. Il confronto della rappresentazione somatosensoriale di un oggetto con la sua "prendibilità" ed "utilizzabilità", potrebbe essere alla base della codifica di cosa quell'oggetto è in termini pragmatici, di conoscenza incarnata: un oggetto metallico è un coltello perché si prende e si utilizza in un certo modo, non solo per la sua conformazione. Questa proposta è in linea con i risultati di un esperimento di fMRI che mostra un'attivazione di SII maggiore per gli oggetti noti che per oggetti "no-sense" (Reed et al., 2004). A questo riguardo è interessante che, anche se deboli, esistono connessioni tra SII e la corteccia inferotemporale, dove la descrizione pittorica degli oggetti è codificata (Gross, 2008). Questa connessione cross modale potrebbe essere estremamente plastica e svilupparsi diversamente in soggetti non vedenti, come dimostrato dall'attivazione delle aree visive in soggetti non vedenti dalla nascita durante compiti di manipolazione (Amedi et al., 2010). Le connessioni con la corteccia prefrontale potrebbero indicare come questo tipo di informazione possa essere memorizzata e contestualizzata in modo da poter esercitare una modulazione, sulle aree sensoriali e motorie, basata sulla difficoltà strutturale dell'oggetto. In questo modo è possibile anche regolare l'attenzione necessaria nella manipolazione dell'oggetto finalizzata al suo riconoscimento. Questo sembra confermato da studi di fMRI che mostrano che la manipolazione di oggetti complessi attiva SII in maniera più forte rispetto a quella di oggetti geometrici a simmetria banale. Le connessioni con la corteccia dell'insula, infine, potrebbero fornire la "coloritura" emozionale che completa la

caratterizzazione di uno stimolo. Quest'ultimo aspetto è in linea con esperimenti funzionali condotti nell'uomo che mostrano che il complesso di SII si attiva anche per stimolazioni dolorifiche in atto, o predette (Carlsson et al., 2000). Fin ora si è trattata la condizione in cui si esplora un oggetto con i propri effettori, ma nel caso in cui si osservi qualcun altro che utilizza un oggetto, oltre al proprio sistema dei neuroni specchio, si attiva anche *SII-mano*. Questo risulta evidente da studi di fMRI sull'uomo e da studi elettrofisiologici nella scimmia (Keysers et al., 2004; Hihara et al., 2015) ed indica che la visione di un'azione attiva, in maniera globale, la nostra rappresentazione interna di quell'azione. Tale rappresentazione è costituita dal programma motorio necessario per raggiungere quello scopo (rappresentata nei circuiti parieto-premotori), dalla descrizione propriocettiva e tattile dell'atto stesso (SII), dalla rappresentazione delle emozioni che la possono sottendere (Insula) e dalla previsione degli effetti a lungo termine che può produrre nel contesto (corteccia Prefrontale). Questa rappresentazione complessa si innesca con l'attivazione dell'intero network e permette la lettura del significato dell'azione nel suo contesto fisico e sociale. La comprensione delle intenzioni altrui consente, inoltre, di preparare azioni consone e appropriate in risposta al comportamento osservato.

In conclusione, la rappresentazione della mano dell'area SII si attiva quando manipoliamo attivamente un oggetto, quando un oggetto tocca la nostra mano ferma, quando ci aspettiamo un contatto imminente e quando osserviamo qualcun altro che utilizza la mano per agire. Esperimenti funzionali ulteriori saranno necessari per chiarire se il network delle aree connesse con SII si attivi diversamente in queste condizioni. Questo potrebbe indicare un meccanismo attraverso il quale siamo in grado di determinare se la stimolazione origini da me o da qualcosa di altro da me, e contribuire così alla costituzione del senso di agency.

5. Bibliografia

Agnew Z, Wise RJ. (2008). Separate areas for mirror responses and agency within the parietal operculum. J Neurosci. 28: 12268–12273.

Amedi A. , Raz N. , Azulay H. , Malach R. , & Zohary E. . (2010). Cortical activity during tactile exploration of objects in blind and sighted humans. Restorative Neurology and Neuroscience, 28: (2), 143–156.

Bettio F, Demelio S, Gobbetti E, Luppino G, Matelli M. (2001). Interactive 3-D reconstruction and visualization of primates cerebral cortex. Soc Neurosci Abstr, Program No 728.724.

Binkofski F, Buccino G, Posse S, Seitz RJ, Rizzolatti G, Freund H (1999a): Fronto-parietal circuit for object manipulation in man: evidence from an fMRI study. Eur J Neurosci 11:3276 –3286.

Binkofski F, Buccino G, Stephan KM, Rizzolatti G, Seitz RJ, Freund HJ (1999b): A parieto-premotor network for object manipulation: evidence from neuroimaging. Exp Brain Res 128:210 –213.

Binkofski F, Kunesch E, Classen J, Seitz RJ, Freund H-J (2001). Tactile apraxia: an unimodal disorder of tactile object exploration associated with parietal lesions. Brain 124: 132-144.

Bohlhalter, S., Fretz, C., & Weder, B. (2002). Hierarchical versus parallel processing in tactile object recognition: a behavioural-neuroanatomical study of aperceptive tactile agnosia. Brain, 125, 2537-2548.

Bonini, L., Rozzi, S., Serventi, F. U., Simone, L., Ferrari, P. F., & Fogassi, L. (2010). Ventral premotor and inferior parietal cortices make distinct contribution to action organization and intention understanding. Cerebral Cortex , 20 , 1372–1385.

Borra E, Belmalih A, Calzavara R, Gerbella M, Murata A, Rozzi S, Luppino G. (2008). Cortical connections of the macaque anterior intraparietal (AIP) area. Cereb Cortex. 18:1094–1111.

Borra E, Gerbella M, Rozzi S, Luppino G. (2011). Anatomical evidence for the involvement of the macaque ventrolateral prefrontal area 12r in controlling goal-directed actions. J Neurosci. 31:12351–12363.

Burton H, Videen TO, Raichle ME. (1993). Tactile-vibration-activated foci in insular and parietal opercular cortex with positron emission tomography: mapping the second somatosensory area in humans. Somatosens Motor Res 10:297–308.

Burton R, Sinclair RJ, Hong SAY, Pruett JR, Whang KC. (1997). Tactile spatial and cross-modal attention effects in the second somatosensoryand 7b cortical areas of rhesus monkeys. Somatosens Motor Res 14:237–267.

Burton H, Sathian K, Dian-Hua S (1990). Altered responses to cutaneous stimuli in the second somatosensory cortex following lesions of the postcentral gyrus in infant and juvenile macaques. J Comp Neurol 291:395414.

Carlsson, K., Petrovic, P., Skare, S., Petersson, K.M., and Ingvar M. (2000). Tickling expectations: neural processing in anticipation of a sensory stimulus. J. Cogn. Neurosci. 12, 691–703.

Caselli, R.J., (1991). Rediscovering tactile agnosia. Mayo Clin. Proc. 66, 129– 142.

Castiello U, Becchio C, Zoia S, Nelini C, Sartori L, et al. (2010). Wired to Be Social: The Ontogeny of Human Interaction. PLoS ONE, 5.

Damasio AR, Tranel D, Eslinger P. (1992). The agnosias. In: Asbury AK, McKhann GM, McDonald WI, editors. Diseases of the nervous system: clinical neurobiology, Vol. 1. 2nd ed. Philadelphia (PA): W.B. Saunders; p. 741±50.

Di Pellegrino G, Fadiga L, Fogassi L, Gallese V, Rizzolatti G. (1992). Understanding motor events: a neurophysiological study. Exp. Brain Res. 91, 176–180

Disbrow E, Roberts T, Krubitzer L. (2000). Somatotopic organization of cortical fields in the lateral sulcus of Homo sapiens: evidence for SII and PV. J Comp Neurol 418: 1–21.

Disbrow E, Litinas E, Recanzone GH, Padberg J, Krubitzer L. (2003). Cortical connections of the second somatosensory area and the parietal ventral area in macaque monkeys. J Comp Neurol. 462:382–399.

Duerden EG, Albanese MC (2013). Localization of pain-related brain activation: a meta-analysis of neuroimaging data. Hum Brain Mapp 34:109–149.

Eickhoff, S. B., Jbabdi, S., Caspers, S., Laird, A. R., Fox, P. T., Zilles, K., & Behrens, T. E. (2010). Anatomical and Functional Connectivity of Cytoarchitectonic Areas within the Human Parietal Operculum. Journal of Neuroscience, 30(18), 6409-6421.

Ferrari PF, Gallese V, Rizzolatti G, Fogassi L., (2003). Mirror neurons responding to the observation of ingestive and communicative mouth actions in the monkey ventral premotor cortex. Eur J Neurosci 17: 1703–1714.

Fitzgerald PJ, Lane JW, Thankur PH, Hsiao SS. (2004). Receptive field properties of the macaque second somatosensory cortex: evidence for multiple functional representations. J Neurosci. 24: 11193–11204.

Fitzgerald PJ, Lane JW, Thakur PH, Hsiao SS (2006a) Receptive field properties of the macaque second somatosensory cortex: representation of orientation on different finger pads. J Neurosci 26:6473– 6484.

Fitzgerald PJ, Lane JW, Thakur PH, Hsiao SS (2006b) Receptive field (RF) properties of the macaque second somatosensory cortex: RF size, shape, and somatotopic organization. J Neurosci 26:6485– 6495.

Fogassi, L., Gallese, V., Fadiga, L., Luppino, G., Matelli, M. & Rizzolatti, G. (1996). Coding of peripersonal space in inferior premotor cortex (area F4). J. Neurophysiol., 76, 141–157.

Fogassi L, Gallese V, Buccino G, Craighero L, Fadiga L, Rizzolatti G. (2001). Cortical mechanism for the visual guidance of hand grasping movements in the monkey—a reversible inactivation study. Brain. 124:571--586.

Fogassi, L., Ferrari, P.F., Gesierich, B., Rozzi, S., Chersi, F. & Rizzolatti, G. (2005). Parietal lobe: from action organization to intention understanding. Science, 308, 662–667.

Friedman DP, Murray EA (1986). Thalamic connectivity of the second somatosensory area and neighboring somatosensory fields of the lateral sulcus of the macaque. J Comp Neurol 252:348 –373.

Funahashi, S., Inoue, M. & Kubota, K. (1993). Delay-related activity in the primate prefrontal cortex during sequential reaching tasks with delay. Neu- rosci. Res., 18, 171–175

Fuster, J.M. (1997). Network memory. Trends Neurosci., 20, 451–459

Galletti C, Fattori P, Kutz DF, Gamberini M. (1999). Brain location and visual topography of cortical area V6A in the macaque monkey. Eur J Neurosci. 11:575--582.

Gallese V, Murata A, Kaseda M, Niki N, Sakata H. (1994). Deficit of hand preshaping after muscimol injection in monkey parietal cortex. Neuroreport. 5:1525--1529.

Gallese V, Fadiga L, Fogassi L, Rizzolatti G. (1996). Action recognition in the premotor cortex. Brain 119, 593–609

Gentilucci, M., Fogassi, L., Luppino, G., Matelli, M., Camarda, R., & Rizzolatti, G. (1988). Functional organization of inferior area 6 in the macaque monkey. I. Somatotopy and control of proximal move- ments. Experimental Brain Research, 71, 475–490.

Gerbella M, Belmalih A, Borra E, Rozzi S, Luppino G. (2011). Cortical connections of the anterior (F5a) subdivision of the macaque ventral premotor area F5. Brain Struct Funct. 216:43–65.

Gerbella, M., Borra, E., Tonelli, S., Rozzi, S. & Luppino, G. (2013). Connectional heterogeneity of the ventral part of the macaque area 46. Cereb. Cortex, 23, 967–987.

Gerbella, M., Borra, E., Mangiaracina, C., Rozzi, S., & Luppino, G. (2015). Corticostriate Projections from Areas of the "Lateral Grasping Network": Evidence for Multiple Hand-Related Input Channels. Cereb. Cortex Cerebral Cortex, 26(7), 3096-3115.

Goldman-Rakic PS (1987). Circuitry of primate prefrontal cortex and regulation of behavior by representational memory. In: Handbook of physiology, vol. 5: The nervous system (Plum F, ed.), pp. 373–417. American Physiological Society.

Gross, C. G. (2008). Single neuron studies of inferior temporal cortex. Neuropsychologia, 46(3), 841-852.

James Jerome Gibson. (1979). The ecological approach to visual perception. Houghton Mifflin, Boston.

Hepp-Reymond MC, Husler EJ, Maier MA, Ql HX. (1994). Force-related neuronal activity in two regions of the primate ventral premotor cortex. Can J Physiol Pharmacol 72: 571–579,.

Hinkley, L. B., Krubitzer, L. A., Nagarajan, S. S., & Disbrow, E. A. (2007). Sensorimotor Integration in S2, PV, and Parietal Rostroventral Areas of the Human Sylvian Fissure. Journal of Neurophysiology, 97(2), 1288–1297.

Hihara, S., Taoka, M., Tanaka, M., & Iriki, A. (2015). Visual Responsiveness of Neurons in the Secondary Somatosensory Area and its Surrounding Parietal Operculum Regions in Awake Macaque Monkeys. Cereb. Cortex Cerebral Cortex, 25(11), 4535-4550.

Hoshi, E., Shima, K. & Tanji, J. (1998). Task-dependent selectivity of move- ment-related neuronal activity in the primate prefrontal cortex. J. Neuro- physiol., 80, 3392–3397.

Hsiao S, O'Shaughnessy DM, Johnson KO. (1993). Effects of selective attention on spatial form processing in monkey primary and secondary somatosensory cortex. J Neurophysiol 70:444–447.

Hsiao S. (2008). Central mechanisms of tactile shape perception. Curr Opin Neurobiol. 18:418–424.

Hyvarinen, J. (1982). Posterior parietal lobe of the primate brain. Physiological Reviews, 62, 1060–1129.

Ishida H, Fornia L, Grandi LC, Umilta` MA, Gallese V (2013). Somato-Motor Haptic Processing in Posterior Inner Perisylvian Region (SII/pIC) of the Macaque Monkey. PLoS ONE 8(7).

Jeannerod M, Arbib MA, Rizzolatti G, Sakata H. (1995). Grasping objects: The cortical mechanisms of visuomotor transformation. Trends Neurosci 18:314–320.

Jeannerod M. (2003). Consciousness of action and self-consciousness. A cognitive neuroscience approach. In Agency and self-awareness. Issues in philosophy and psychology (ed. J. Roessler and N. Eilan), pp. 128–49. Oxford University Press, New York.

Jezzini A., Caruana F., Stoianov I.,Gallese V. and Rizzolatti G.(2012). Functional organization of the insula and inner perisylvian regions. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* 109, 10077–10082.

Kaas JH, Hackett TA, (1998). Subdivisions of auditory cortex and levels of processing in primates, in Audiol. Neurootol., vol. 3, 2-3, 1998, pp. 73–85,

Kaas JH, Hackett TA, Tramo MJ, (1999). Auditory processing in primate cerebral cortex, in Curr. Opin. Neurobiol., vol. 9, nº 2, pp. 164–70,

Keysers C; Wicker B; Gazzola V.; Anton J.L.; Fogassi L.; Gallese V (2004). "A touching sight: SII/PV activation during the observation and experience of touch". Neuron. 42 (2): 335–46.

Keysers, C., Kaas, J. H., & Gazzola, V. (2010). Somatosensation in social perception. Nature reviews neuroscience, 11(6), 417-428.

Krubitzer L, Clarey J, Tweedale R, Elston G, Calford M. (1995). A redefinition of somatosensory areas in the lateral sulcus of macaque monkeys. J Neurosci 348:55–72.

Kurata K, Tanji J. (1986). Premotor cortex neurons in macaques: activity before distal and proximal forelimb movements. J Neurosci 6: 403–411.

Laborit H, (1990). *Elogio della fuga*, traduzione di Leonella Prato Caruso, Mondadori.

Lanzilotto M, Livi A, Maranesi M, Gerbella M, Barz F, Ruther P, Fogassi L, Rizzolatti G, Bonini L. (2016). Extending the Cortical Grasping Network: Pre-supplementary Motor Neuron Activity During Vision and Grasping of Objects. Cereb Cortex Oct 12.

Liepmann H. (1920). Apraxie. Erebn ges Med; 1: 516–43.

Llinás, R. (2001). I of the Vortex: From Neurons to Self (MIT Press, Cambridge, MA).

Luppino, G., Murata, A., Govoni, P., & Matelli, M. (1999). Largely segregated parietofrontal connections linking rostral intraparietal cortex (areas AIP and VIP) and the ventral premotor cortex (areas F5 and F4). Experimental Brain Research, 128(1-2), 181-187.

Luppino G.,Rozzi S., Calzavara R., and Matelli,M.(2003). Prefrontal and agranular cingulate projections to the dorsal premotor areas F2 and F7 in the macaque monkey. *Eur. J.Neurosci.* 17, 559–578.

Mach E. (1905). Conoscenza ed errore. Abbozzi per una psicologia della ricerca. Torino, Einaudi, 1982.

Maeda, K., Ishida, H., Nakajima, K., Inase, M., & Murata, A. (2015). Functional Properties of Parietal Hand Manipulation–related Neurons and Mirror Neurons Responding to Vision of Own Hand Action. *Journal of Cognitive Neuroscience, 27*(3), 560-572.

Maranesi M, Roda` F, Bonini L, Rozzi S, Ferrari PF, Fogassi L, Coude´ G (2012). Anatomo-functional organization of the ventral primary motor and pre- motor cortex in the macaque monkey. Eur J Neurosci 36:3376–3387.

Miller, E.K. & Cohen, J.D. (2001). An integrative theory of prefrontal cortex function. Annu. Rev. Neurosci., 24, 167–202.

Murata A, Fadiga L, Fogassi L, Gallese V, Raos V, Rizzolatti G. (1997). Object representation in the ventral premotor cortex (area F5) of the monkey. J Neurophysiol 78: 2226– 2230.

Murray EA, Mishkin M. (1984). Relative contributions of SII and area 5 to tactile discriminations in monkeys. Behav Brain Res 32:181–195.

Nelissen, K., Vanduffel, W. (2011). Grasping-related functional magnetic resonance imaging brain responses in the macaque monkey. Journal of Neuroscience, 31 (22), 8220-8229.

Pandya, D.N. & Seltzer, B. (1982). Intrinsic connections and architec- tonics of posterior parietal cortex in the rhesus monkey. J Comp Neurol , 204, 196–210.

Penfield W, Jasper H. (1954) Epilepsy and the functional anatomy of the human brain. Little, Brown, Boston.

Petrides, M., & Pandya, D. N. (1984). Projections to the frontal cortex from the posterior parietal region in the rhesus monkey. The Journal of Comparative Neurology J. Comp. Neurol., 228(1), 105-116.

Piaget J., Inhelder B. (1968). Memoria e intelligenza. Firenze, La Nuova Italia, 1976.

Qi H, Lyon D, Kaas JH. (2002). Cortical and thalamic connections of the parietal ventral somatosensory area in marmoset monkeys (Callithrix jacchus). J Comp Neurol 443:168–182.

Raos V, Umiltá MA, Murata A, Fogassi L, Gallese V. (2006). Functional properties of grasping-related neurons in the ventral premotor area F5 of the macaque monkey. J Neurophysiol. 95:709–729.

Reed, C.L., Caselli, R.J., Farah, M.J., (1996). Tactile agnosia: underlying impairment and implications for normal tactile object recognition. Brain 119, 875– 888.

Reed CL, Shahom S, Halgren E, Normann R. (1999). Tactile object recognition activates the secondary somatosensory area (SII): an fMRI study. Soc Neurosci Abstr 25:1894.

Reed, C.L., Shoham, S., Halgren, E., (2004). Neural substrates of tactile object recognition: a fMRI study. Hum. Brain Mapp. 21, 236– 246.

Rizzolatti, G., Camarda, R., Fogassi, L., Gentilucci, M., Luppino, G. & Matelli, M. (1988) Functional organization of inferior area 6 in the macaque monkey. II: area F5 and the control of distal movements. Exp Brain Res., 71, 491±507.

Rizzolatti G, Fadiga L, Gallese V, Fogassi L. (1996). Premotor cortex and the recognition of motor actions. Brain Res. Cogn. Brain Res. 3, 131–141

Rizzolatti G, Luppino G, Matelli M. (1998). The organization of the cortical motor system: new concepts. Electroencephalogr Clin Neurophysiol 106:283--296.

Rizzolatti G, Luppino G. (2001). The cortical motor system. Neuron 31(6):889--901.

Rizzolatti G, Sinigaglia C. (2010). The functional role of the parieto-frontal mirror circuit: interpretations and misinterpretations. Nat. Rev. Neurosci. 11, 264–274.

Rizzolatti, G., Cattaneo, L., Fabbri-Destro, M., & Rozzi, S. (2014). Cortical Mechanisms Underlying the Organization of Goal-Directed Actions and Mirror Neuron-Based Action Understanding. *Physiological Reviews, 94*(2), 655-706.

Robinson. C. J. and H. Burton (1980a). Somatotopographic organization in the second somatosensory area of M. fascicularis. J Comp Neurol 192: 43–67.

Robinson, C. J., and H. Burton (1980b). Organization of somatosensory receptive fields in cortical areas 7b, retroinsula, postauditory and granular insula of M. fascicularis. J. Comp. Neurol. 192: 69-92.

Robinson, C. J., and H. Burton (1980c). Somatic submodality distribution within the second somatosensory (SII), 7b, retroinsular, postauditory, and granular insular cortical areas of M. fascicularis. J. Comp. Neurol. 192: 93-108.

Roland PE (1976). Astereognosis. Tactile discrimination after localized hemispheric lesions in man. Arch Neurol; 33: 543±50.

Rozzi S, Calzavara R, Belmalih A, Borra E, Gregoriou GG, Matelli M, Luppino G. (2006). Cortical connections of the inferior parietal cortical convexity of the macaque monkey. Cereb Cortex. 16:1389–1417.

Rozzi S, Ferrari PF, Bonini L, Rizzolatti G, Fogassi L. (2008). Functional organization of inferior parietal lobule convexity in the macaque monkey: electrophysiological characterization of motor, sensory and mirror responses and their correlation with cytoarchitectonic areas. Eur J Neurosci. 28:1569–1588.

Sakata H, Taira M, Murata A, Mine S. (1995). Neural mechanisms of visual guidance of hand action in the parietal cortex of the monkey. Cereb Cortex 5: 429–438.

Simone, L., Rozzi, S., Bimbi, M. & Fogassi, L. (2015). Movement-related activity during goal-directed hand actions in the monkey ventrolateral prefrontal cortex. Eur. J. Neurosci.

Stern D. (1985) The Interpersonal World of the Infant. New York: Basic Books.

Taoka M, Tanaka M, Hihara S, Ojima H, Iriki A. (2013). Neural response to movement of the hand and mouth in the secondary somatosensory cortex of Japanese monkeys during a simple feeding task. Somatosens Mot Res. 30:140–152.

Tanji, J. & Hoshi, E. (2008). Role of the lateral prefrontal cortex in executive behavioral control. Physiol. Rev., 88,37–57.

Valenza, N. (2001). Dissociated active and passive tactile shape recognition: A case study of pure tactile apraxia. Brain, 124(11), 2287-2298.

Whitsel, B. L., L. M. Petrucelli, and G. Werner (1969). Symmetry and connectivity in the map of the body surface in somatosensory area II of primates. J. Neurophysiol. 32: 170-183.

Woolsey CN, Erickson TC (1979). Localization in somatic sensory and motor areas of human cerebral cortex as determined by direct recording of evoked potentials and electrical stimulation. J Neurosurg 51: 476–506.

Young JP, Herath P, Eickhoff S, Choi J, Grefkes C, Zilles K, Roland PE (2004). Somatotopy and attentional modulation of the human parietal and opercular regions. J Neurosci 24:5391–5399.

Zoia, S., Blason, L., D'ottavio, G., Bulgheroni, M., Pezzetta, E., Scabar, A., et al. (2007). Evidence of early development of action planning in the human foetus: a kinematic study. Exp Brain Res, 176, 217-26.

6. Ringraziamenti

Ringrazio il Prof. L. Fogassi per avermi concesso questa opportunità, per la bellissima esperienza, e per il supporto nello svolgimento del tirocinio e della Tesi.

Un ringraziamento speciale al Dott. S. Rozzi per l'impagabile sostegno, per la passione e le conoscenze che mi ha trasmesso con preziosa genuinità.

Grazie ai miei genitori per avermi fatto - e continuano a farmi - dono del più grande dono che un genitore possa fare dono se deve fare un dono: la libertà di poter scegliere cosa si voglia essere da grandi. Grazie a Mattia per il supporto grafico e per allenare costantemente la mia *pietas*.

Grazie all'Anna per avermi permesso di aiutarla nel reggere lo stress dovuto alla preparazione della sua Tesi, cosicché riuscire a portare a termine la mia, di Tesi, mi fosse risultato una passeggiata di piacere.

Poi mi tocca ringraziare, che se no si offendono, Andy Kaufman, Albert Camus, Emil Cioran, Diogene di Sinope, Jean-Paul Sartre, John Fante, Henri Miller e le caramelle Frisk.