

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA

DOTTORATO DI RICERCA IN NEUROSCIENZE

XIX CICLO

**L'organizzazione dell'azione intenzionale e la comprensione
dell'intenzionalità motoria nei circuiti parieto-frontali della scimmia**

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. Vittorio Gallese

Tutor:

Chiar.mo Prof. Leonardo Fogassi

Tesi di Dottorato del dott. Luca Bonini

ANNO ACCADEMICO 2007/2008

INDICE

1. INTRODUZIONE	5
1.1. Movimenti, atti motori, azioni e intenzioni	7
1.2. L'organizzazione e il controllo corticale del movimento volontario	8
1.2.1. Parcellazione anatomica delle cortecce premotoria e parietale posteriore	10
<i>La corteccia premotoria</i>	10
<i>La corteccia parietale posteriore</i>	12
1.2.2. Proprietà anatomo-funzionali dei circuiti parieto-frontali	14
<i>Le connessioni delle aree del LPS</i>	14
<i>Le connessioni delle aree del LPI</i>	15
1.3. Funzioni motorie, percettive e cognitive delle aree F5 e PFG	17
1.3.1. La rappresentazione motoria degli oggetti nel circuito AIP-F5	18
1.3.2. Lo scopo dell'atto motorio	20
<i>I neuroni motori</i>	20
<i>I neuroni "mirror"</i>	21
1.3.3. Organizzare gli atti motori in azioni finalizzate	23
1.3.4. Dall'organizzazione dell'azione alla comprensione delle intenzioni	25
1.4. Obiettivi dello studio	26
2. MATERIALI E METODI	29
2.1. Addestramento delle scimmie e compiti sperimentali	29
2.1.1. Il compito motorio semplice (CmS)	29

2.1.2. Il compito motorio complesso (CmC)	30
<i>Procedura sperimentale per CmS e CmC</i>	32
2.1.3. Il compito visivo semplice (CvS)	32
2.2. Impianto del sistema di fissaggio della testa e della camera di registrazione	33
2.3. Tecniche di registrazione	34
2.3.1. Registrazione della cinematica del movimento	35
2.4. Paradigma di studio dell'attività neuronale preliminare alla registrazione	36
<i>Proprietà somatosensoriali</i>	36
<i>Proprietà visive</i>	36
<i>Proprietà motorie</i>	37
2.5. Analisi statistiche	38
2.5.1. Analisi cinematica del movimento	38
2.5.2. Analisi del singolo neurone	38
<i>Analisi con epoca unica (afferramento) dei neuroni acquisiti nel CmS e nel CvS</i>	39
<i>Analisi a tre epoche dei neuroni di afferramento AGR acquisiti nel CmS</i>	40
<i>Analisi di parametri temporali relativi al picco di scarica</i>	40
<i>Analisi dei neuroni acquisiti nel CmC</i>	41
2.5.3. Analisi di popolazione	42
2.5.4. Calcolo dell'indice di preferenza (IP) per una condizione	44
2.5.5. Calcolo dell'attività netta normalizzata differenziale	44
2.6. Iniezione di WGA: procedure chirurgiche e istologiche	45

3. RISULTATI	47
3.1. Compiti motorio e visivo semplici	47
3.1.1. Compito motorio	47
3.1.2. Compito visivo	54
3.2. Compito motorio complesso	60
3.3. Iniezione di WGA al centro della regione di registrazione di PFG	67
4. DISCUSSIONE	69
4.1. L'organizzazione dell'azione in PFG ed F5	70
4.2. La comprensione dell'intenzionalità motoria	76
4.3. La codifica intenzionale di atti motori in sequenze complesse	78
4.4. Circuiti parieto-frontali per l'organizzazione e il controllo dell'azione intenzionale e la comprensione dell'intenzionalità motoria	82
BIBLIOGRAFIA	87

1. INTRODUZIONE

“Un sistema nervoso è necessario soltanto per creature pluricellulari... che possono orchestrare ed esprimere movimenti attivi...”.

Rodolfo Llinás, 2001

L'ascidia è un urocordato marino simile alle spugne che vive in grandi colonie. Il suo ciclo vitale è però molto particolare: inizia in forma di uovo, poi diventa un girino, e trascorre in questo stato poche ore o giorni durante i quali presenta un primitivo midollo spinale, un cervello, un organo sensibile alla luce e l'abilità di muoversi attivamente. L'ascidia vaga in questa forma fino a quando trova un luogo adeguato in cui stabilirsi, come uno scoglio o una roccia. Dopo l'adesione non si staccherà mai più da quel substrato, quindi non compirà mai più alcun movimento attivo. E come sottolinea il celebre fisiologo Rodolfo Llinas, *“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”* (Llinas, 2001).

Un sistema nervoso sembra essere necessario soltanto per creature pluricellulari che possono organizzare ed esprimere movimenti attivi. E la complessità del sistema nervoso di un organismo è prevedibilmente in relazione con l'ampiezza e la flessibilità del repertorio motorio e comportamentale che l'organismo stesso è in grado di esibire.

Sono trascorsi tra i cinque e gli otto milioni di anni da quando il genere Homo ha iniziato il proprio cammino evolutivo a partire da un progenitore comune, condiviso con le attuali scimmie africane. La complessità e la mutevolezza delle condizioni dell'ambiente, sia fisico sia sociale, sono state verosimilmente la spinta determinante per lo sviluppo, nel corso di questo relativamente breve periodo, di modificazioni impressionanti nelle dimensioni (Stephan et al., 1981), nell'organizzazione anatomica (Preuss, 2000) e biochimica (Preuss, 2004) del cervello delle grandi scimmie, e dell'uomo in particolare, rispetto agli altri primati. In particolare, studi di anatomia comparata hanno rivelato che, a fronte di una generale espansione corticale dalle scimmie fino all'uomo, le aree sensoriali e motorie primarie sono rimaste pressoché invariate (Preuss et al., 1996; Preuss et al., 1997) mentre le regioni classicamente identificate come associative, o di ordine superiore, hanno subito le trasformazioni più marcate (Armstrong, 1982; Preuss, 2004). In altri termini, sembra che l'evoluzione abbia fornito all'ordine dei primati risorse neurali per la detezione di informazioni sensoriali dall'ambiente e per il movimento che sono condivise per lo più equamente dalle diverse specie. Al contrario dell'ascidia però, l'evoluzione biologica e culturale nella nicchia ecologica dei primati ha innescato una reazione circolare per cui alla fortissima pressio-

ne selettiva rappresentata dalla crescente complessità del sistema sociale seguiva uno sviluppo filogenetico delle strutture corticali di ordine superiore, che garantivano migliori capacità di adattamento e un ulteriore incremento della complessità nel sistema. Se la necessità di muoversi attivamente può essere considerata il “primum movens” per l’evoluzione di un sistema nervoso organizzato come quello dei vertebrati, è certamente la complessità dell’ambiente fisico e sociale generata dalla competizione per l’accesso alle risorse vitali ad aver originato, come risposta evolutiva, l’emergere di crescenti potenzialità corticali di elaborazione ed integrazione dell’informazione sensoriale afferente e di pianificazione, organizzazione e controllo delle risposte motorie nei primati (Byrne e Bates, 2007).

Di fatto però, lo sviluppo filogenetico delle aree di ordine superiore non può essere relegato ad un mero incremento nella potenza di elaborazione dei sistemi interposti tra l’input sensoriale, da un lato, e l’output motorio, dall’altro. La dicotomia classica tra “cervello che sa” e “cervello che fa”, tra processi percettivi, cognitivi e funzioni motorie (Hurley, 2001), rappresenta una visione eccessivamente schematica e ormai non più condivisibile alla luce dei recenti progressi delle neuroscienze. *“Uno dei più grandi errori dei nostri giorni consiste nel pensare al movimento di per sé, come qualche cosa di separato dalle funzioni superiori (...). Lo sviluppo mentale deve essere connesso con il movimento e dipendere da esso (...). Se si osserva un bambino appare evidente che lo sviluppo della sua mente deriva dai suoi movimenti (...). Mente e movimento sono parti della stessa entità”*. E se Maria Montessori (1967) poteva esprimersi in questi termini già alla fine degli anni sessanta non è dunque appannaggio delle neuroscienze moderne l’idea, peraltro già presente in nuce nella ancor precedente psicologia piagetiana, che l’inestricabile rapporto tra percezione e azione, processi cognitivi e funzioni motorie, costituisca un prerequisito essenziale per l’instaurarsi delle notevoli potenzialità cognitive del cervello dei primati. *“La distinzione tra funzioni motorie e percettive è legittimata esclusivamente per finalità di analisi, (...) e la classica divisione dei fenomeni in stimoli sensoriali e risposte motorie, introdotta con lo schema dell’arco riflesso, è semplicemente tanto fallace, e relegata a meri prodotti artificiali di laboratorio, quanto lo è l’idea di arco riflesso di per sé, concepito isolatamente”* (Piaget, 1947).

È dunque verosimile ipotizzare che si sia verificata un’evoluzione qualitativa, oltre che quantitativa, dell’organizzazione del sistema nervoso centrale: le connessioni anatomiche e le peculiarità funzionali delle regioni corticali tipicamente considerate di tipo percettivo, associativo o motorio, giustificano al contrario l’emergere di capacità cognitive, percettive e motorie dall’integrazione funzionale di informazioni che solo schematicamente possono essere riconducibili ai singoli domini segregati.

1.1. Movimenti, atti motori, azioni e intenzioni

“Le azioni volontarie sono state inizialmente considerate come una varietà di riflessi, con un certo grado di autonomia rispetto agli stimoli esterni. In effetti, affinché un’azione possa essere generata internamente, è necessario ammettere l’esistenza di uno stato interno nel quale possa essere codificata, conservata e in fine eseguita indipendentemente dall’ambiente esterno: questa necessità di uno stato interno (una rappresentazione) era tutt’altro che chiara agli albori della fisiologia”.

Marc Jeannerod, 2006

Intorno al 1870 Gustav Theodor Fritsch e Julius Eduard Hitzig scoprirono che una stimolazione elettrica erogata in regioni diverse della corteccia cerebrale provocava, nel cane, movimenti dell’emisoma controlaterale. Pochi anni più tardi, David Ferrier (1876) confermò il risultato nella scimmia. In termini neurofisiologici il *movimento* può essere inteso come il risultato dell’attivazione di un limitato distretto muscolare che produce lo spostamento nello spazio di una o più articolazioni, come avviene mediante la stimolazione elettrica della corteccia motoria che si traduce in un movimento semplice, come per esempio la flessione del pollice o della porzione distale delle dita della mano controlaterale al lato stimolato.

Gli *atti motori* possono includere più movimenti semplici, eseguiti in modo fluido, sinergico e coinvolgenti anche diverse articolazioni: ma la loro caratteristica distintiva è che, rispetto ai movimenti semplici, sono contraddistinti da uno specifico scopo motorio. Per esempio, “afferrare” un oggetto piccolo richiede una flessione del pollice e dell’indice fino alla completa presa di possesso dell’oggetto stesso. Ma anche “grattarsi”, o “graffiare” implicano una flessione molto simile degli stessi effettori, pollice e indice: tuttavia, questi ultimi atti sono diversi e distinti rispetto all’afferrare in quanto non ne condividono lo stesso scopo motorio.

Nelle condizioni ecologiche in cui vivono molti animali e tutti i primati, incluso l’uomo, non è sufficiente poter eseguire atti motori finalizzati. È infatti continuamente necessario programmare intere sequenze di atti motori, coordinandone i singoli scopi (come “raggiungere”, “prendere”, “portare”, ecc...) in *azioni* più complesse, contraddistinte da uno scopo finale sovraordinato. *“Sebbene l’azione sia unitaria in termini di scopo finale, dal punto di vista motorio appare formata da vari segmenti, ciascuno dotato del suo specifico scopo. Questi segmenti d’azione sono gli atti motori. Raggiungere, afferrare con la mano, tenere, portare alla bocca, afferrare con la bocca sono i diversi atti motori che insieme formano l’azione il cui scopo finale è ingerire il cibo”* (Rizzolatti et al., 1988; Rizzolatti et al., 2001). Il conseguimento dello scopo motorio di

ciascuno dei singoli atti che compongono la sequenza è indispensabile per poter eseguire il successivo, e per consentire in ultima analisi la realizzazione dello scopo finale dell'azione che, in questo senso, ne identifica la causa funzionale o, in altri termini, "il perché" debba essere messa in atto. Una recente prospettiva neurofisiologica (Fogassi et al., 2005; Iacoboni et al., 2005) riconosce in quest'ultima accezione del termine "scopo" quello "stato interno o rappresentazione" (Jeannerod, 2006), che è alla base dei processi di selezione e organizzazione dell'azione stessa: *l'intenzione motoria*.

1.2. L'organizzazione e il controllo corticale del movimento volontario

"L'affermazione secondo la quale lo studio delle convulsioni dovute a scariche delle circonvoluzioni è di estrema importanza per la fisiologia mentale, sembrerà più che strana a coloro che ritengono che le circonvoluzioni facciano parte dell'"organo della mente", e che siano per le "idee", e che l'unica parte del cervello preposta ai movimenti sia il "tratto motorio" ad esse sottostante".

John Hughlings Jackson (1873)

Già nella seconda metà del diciannovesimo secolo, il neurologo inglese John Hughlings Jackson ricavò dallo studio degli attacchi epilettici ai quali era soggetta la moglie buona parte di quelle informazioni che fornirono poi un notevole contributo alla comprensione e alla diagnosi delle crisi epilettiche in generale, ma soprattutto di quei fenomeni somatomotori oggi noti come "epilessia jacksoniana". Contrariamente a quanto fino ad allora ritenuto, ovvero che l'origine degli accessi convulsivi si trovasse nelle regioni troncoencefaliche bulbari e che la corteccia cerebrale fosse riservata eminentemente a funzioni di ordine superiore, Jackson suggerì che proprio la corteccia potesse rappresentare la sede d'origine dei fenomeni epilettici e che il lobo frontale contenesse regioni con un controllo relativamente diretto della muscolatura somatica (Jackson, 1863). Ma Jackson non condusse mai esperimenti, e spettò quindi ad altri tre ricercatori - Fritsch e Hitzig (1870), prima, e Ferrier (1876) pochi anni dopo - il merito della conferma sperimentale delle sue idee mediante la stimolazione con correnti galvaniche della corteccia cerebrale di animali. Secondo lo schema di Jackson l'organizzazione del sistema motorio sarebbe articolata in modo gerarchico, con una complessità funzionale progressivamente crescente dal midollo spinale alla corteccia cerebrale. In base a questo modello, la corteccia assumerebbe un ruolo cruciale sia nella pianificazione che nel controllo esecutivo dei movimenti.

Quasi quarant'anni più tardi, Alfred Campbell (1905) suggerì una possibile base anatomica dell'organizzazione funzionale del sistema motorio proposta da Jackson. In base alle sue mappe citoarchitettoniche la corteccia motoria precentrale medierebbe funzioni motorie di tipo prettamente esecutivo, mentre il livello delle funzioni motorie di ordine superiore sarebbe rappresentato dalla cosiddetta "corteccia precentrale intermedia": di fatto, questa rappresenta storicamente la prima concettualizzazione di una "corteccia premotoria" (Wise, 1985), sebbene quest'ultimo termine in senso proprio sia stato introdotto soltanto quasi tre decenni più tardi (Hines, 1929). Korbinian Brodmann (1909), studiando l'organizzazione citoarchitettonica della corteccia di cercopiteco, fondamentalmente condivise l'impostazione di Campbell ed enfatizzò l'idea che la corteccia precentrale (o area 4) e il settore rostrale immediatamente adiacente ad essa (area 6), costituissero un gruppo di aree funzionalmente affini, presumibilmente motorie.

Nei decenni successivi del XX secolo proliferarono gli studi citoarchitettonici e di microstimolazione che fornirono molte versioni diverse delle mappe corticali originariamente proposte da Brodmann, condividendo comunque il principio in base al quale funzioni psicologiche distinte devono occupare aree distinte della corteccia cerebrale. Tra questi spiccano Woolsey e Penfield che, negli anni Cinquanta, proposero una suddivisione sostanzialmente bipartita della corteccia motoria di scimmia (Woolsey, 1952) e uomo (Penfield, 1951) comprendente un'area motoria primaria, anteriormente al solco centrale, e un'area motoria supplementare, sulla superficie mesiale dell'emisfero. Entrambe le aree presentavano un'organizzazione somatotopica completa dei movimenti corporei schematizzata sotto forma di due "omuncoli". Questo schema risultava perfettamente coerente con l'idea che sensazione, percezione e azione, in quanto funzioni psicologiche distinte e gerarchicamente ordinate, dovessero occupare aree corticali diverse e segregate nelle quali il flusso di informazioni procederebbe in maniera per lo più seriale, da un "cervello che sa" ad un "cervello che fa". Gli "omuncoli" motori di Woolsey e Penfield sembravano incarnare perfettamente il versante esecutivo di questo modello.

Il "cervello che sa" veniva invece identificato con le regioni associative parietali posteriori. Nella nomenclatura di Brodmann la corteccia parietale posteriore della scimmia comprende due aree distinte e separate da un solco filogeneticamente molto antico - il solco intraparietale. Medialmente ad esso si trova l'area 5, identificabile con il lobulo parietale superiore (LPS), lateralmente l'area 7, che coincide con il lobulo parietale inferiore (LPI - Brodmann, 1909). La corteccia parietale posteriore, in generale, era ritenuta un'ampia regione corticale sede d'integrazione di diverse modalità sensoriali allo scopo di fornire le basi neurali per processi percettivi complessi come quelli relativi a spazio e schema corporeo, considerati indipendenti dalle funzioni motorie.

Questa concezione dicotomica di percezione e azione era già stata dichiarata insoddisfacente da tempo da alcuni autori quali Sperry, secondo il quale “*la percezione è fondamentalmente una implicita preparazione a rispondere*” (Sperry, 1952). Ma è soltanto a partire dalla metà degli anni ‘70, con i primi pionieristici studi di Hyvarinen (1981) e Mountcastle (1975), che inizia a delinearci un ruolo cruciale della corteccia parietale posteriore nelle funzioni di controllo motorio.

Secondo una visione più moderna, un mosaico di aree parietali (Pandya e Selzter, 1982; Gregoriou et al., 2006), ciascuna ricevente specifiche afferenze sensoriali, sarebbe deputato ad operare trasformazioni sensori-motorie appropriate per l’azione (Rizzolatti et al., 1997; 1998), ma anche a fornire le basi sensori-motorie per funzioni cognitive di ordine superiore quali la percezione dello spazio (Andersen et al., 1997; Rizzolatti et al., 1997; Sakata et al., 1997; Colby, 1998), la comprensione dell’azione (Gallese et al., 2002; Rizzolatti e Matelli, 2003), e persino la previsione delle intenzioni motorie degli altri (Fogassi et al., 2005; Fogassi e Luppino, 2005).

1.2.1. Parcellazione anatomica delle cortecce premotoria e parietale posteriore

Le rappresentazioni bipartite delle cortecce precentrale e parietale posteriore proposte da Brodmann sono state recentemente sostituite da parcellazioni più complesse e articolate che associano a ciascuna area non solo caratteristiche anatomiche e odologiche peculiari, bensì anche ruoli funzionali che vanno ben oltre il semplice controllo motorio del comportamento (Rizzolatti et al., 2001; Rizzolatti e Luppino, 2001; Ferrari et al., 2004; Fogassi e Luppino, 2005), tradizionalmente riconosciuto come la funzione precipua ed esclusiva della corteccia agranulare frontale.

La corteccia premotoria

Il lobo frontale dei primati è costituito anatomicamente da due settori fondamentali. Il primo, più rostrale e granulare, coincide con la corteccia prefrontale che assolve a funzioni di codifica della “rilevanza comportamentale degli stimoli” (Sakagami e Watanabe, 2007), di “utilizzo prospettico di informazioni memorizzate per il controllo del comportamento” (Passingham e Sakai, 2004) e di pianificazione (Tanji e Hoshi, 2001). Il secondo, più caudale, risulta caratterizzato da una pressoché totale mancanza del IV strato e identifica dunque quella corteccia agranulare frontale che Brodmann aveva suddiviso nelle aree 4 e 6, dotate di evidenti funzioni motorie.

Studi anatomici condotti a partire dalla metà degli anni '80 fino ad oggi (Matelli et al., 1985; Barbas e Pandya, 1987; Matelli et al., 1991; Petrides e Pandya, 1994) hanno rivelato che le corteccie motoria e premotoria, identificabili rispettivamente con le aree 4 e 6 di Brodmann, sono citoarchitettonicamente disomogenee e suddivisibili in un mosaico di almeno 7 aree distinte, denominate da F1 a F7, tra le quali F1 corrisponde all'area motrice primaria (area 1), mentre le aree da F2 a F7 identificano le porzioni ventrale (F4 ed F5), dorsale (F2 ed F7) e mesiale (F3 ed F6) della corteccia premotoria, o area 6 di Brodmann.

Il ruolo eminentemente motorio della corteccia precentrale è sempre stato tradizionalmente inferito dalla relativa facilità con cui la microstimolazione elettrica intracorticale di questa regione poteva evocare movimenti osservabili. Ed è ormai assodato che le soglie di stimolabilità dipendono dal coinvolgimento più o meno diretto dei neuroni piramidali che costituiscono l'origine del fascio cortico-spinale. In questo senso, sia i dati odologici che gli studi classici di microstimolazione convergono nel suggerire la possibilità di operare una classificazione delle aree motorie sulla base delle loro proiezioni al midollo spinale, cui si associano marcate variazioni dell'eccitabilità elettrica. Le proiezioni corticospinali del lobo frontale (He et al., 1993; 1995; Dum e Strick, 1996) originano dalle aree premotorie caudali (F2, F3 e parti di F4 ed F5), e dall'area motrice primaria. Tuttavia, un'importante differenza consiste nel fatto che le fibre che originano da F1 terminano non solo sui circuiti interneuronali della regione intermedia del midollo spinale, ma anche nella lamina IX a livello della quale sono localizzati i motoneuroni, mentre le proiezioni corticospinali che originano dalle altre aree motorie frontali terminano prevalentemente nella regione intermedia (Porter e Lemon, 1993). Il più verosimile correlato funzionale ipotizzabile (Luppino e Rizzolatti, 2000) è che le proiezioni di F2, F3, F4 ed F5 sfruttino circuiti spinali preesistenti per il reclutamento di combinazioni diverse di muscoli periferici, determinando la "forma globale del movimento" e mostrando coerentemente soglie di stimolabilità elettrica più elevate (Gentilucci et al., 1988; Luppino et al., 1991; Raos et al., 2003; Coudè et al., 2005); le proiezioni di F1 che terminano direttamente sui motoneuroni spezzerebbero invece sinergie innate o precostituite, determinando una regolazione fine del movimento. Tutte le aree premotorie ad eccezione delle aree F6 ed F7, sarebbero quindi coinvolte nel controllo del movimento, o direttamente tramite le proiezioni corticospinali, o indirettamente, tramite F1.

Rizzolatti e Luppino (2001) propongono un ulteriore criterio di classificazione delle aree citoarchitettoniche della corteccia premotoria basato sulle differenti connessioni anatomiche, in particolare estrinseche, delle aree posteriori (F1-F5) rispetto a quelle anteriori (F6 ed F7). Queste ultime, infatti, non presentano connessioni consistenti né col midollo spinale né con l'area motrice primaria (He et al., 1993; Galea e Darian-

Smith, 1994; He et al., 1995) in quanto le loro proiezioni discendenti terminano a livello di varie regioni troncoencefaliche (Keizer e Kuypers, 1989; Porter e Lemon, 1993) e le loro connessioni intrinseche terminano prevalentemente a livello delle altre aree premotorie (Luppino et al., 1993). Ma il dato più interessante è rappresentato dalle cospicue connessioni di queste aree con la corteccia prefrontale (Luppino et al., 1993) che potrebbero fornire, in particolar modo all'area F6, informazioni motivazionali, mnemoniche e relative alle contingenze contestuali di elevata complessità (Tanji, 2001; Hoshi e Tanji, 2004), configurando le aree anteriori della corteccia premotoria come un sistema "prefronto-dipendente" deputato a controllare "quando" e "in quali circostanze" l'attività delle aree premotorie posteriori debba tradursi nell'esecuzione effettiva di un'azione (Rizzolatti e Luppino, 2001).

Le aree premotorie posteriori, al contrario, sono state considerate dagli stessi autori (Luppino e Rizzolatti, 2000; Rizzolatti e Luppino, 2001) un sistema articolato, parieto-dipendente, che riceve ricche connessioni topograficamente organizzate dal lobo parietale, in particolare dalla corteccia parietale posteriore. Queste connessioni, che veicolano informazioni sensoriali cruciali nelle trasformazioni sensori-motorie per l'esecuzione e il controllo del movimento (Gallese et al., 1994; Matelli e Luppino, 2000; Fogassi et al., 2001) sono state ritenute anche alla base di processi di costruzione di una rappresentazione motoria dello spazio (Fogassi et al., 1992; 1996; Rizzolatti et al., 1997; Matelli e Luppino, 2001) e nel riconoscimento e comprensione dell'azione altrui (Gallese et al., 1996; Fadiga et al., 2000; Rizzolatti et al., 2001; Rizzolatti e Craighero, 2004).

La corteccia parietale posteriore

Il lobo parietale nei primati occupa un vasto territorio corticale posteriormente al solco centrale: la sua porzione più anteriore, immediatamente adiacente al solco, corrisponde alla corteccia somatica primaria (aree 3a, 3b, 1 e 2 di Brodman), mentre la corteccia parietale posteriore è localizzata caudalmente.

Anche la corteccia parietale posteriore, come le regioni premotorie frontali, è stata oggetto di numerosi studi anatomici che hanno contribuito ad articolare una descrizione ben più complessa di quella bipartita originariamente proposta da Brodmann (Vogt e Vogt, 1919; Von Bonin e Bailey, 1947). Una più recente parcellazione basata su criteri citoarchitettonici e odologici è stata proposta da Pandya e Seltzer (1982). I risultati di questo studio indicano che il LPS, procedendo in senso rostro-caudale a partire dall'area 2 di Brodmann, è composto da due settori principali - le aree PE e Pec. Nello stesso lavoro, gli autori suddividono il LPI in senso rostro-caudale in tre aree, PF, PG e

Opt, alle quali aggiungono una regione di transizione tra le aree PF e PG che, non essendo chiaramente identificata come area architettonica a sé stante, indicano con la sigla PFG. In una recente parcellazione citoarchitettonica di Gregoriou e coll. (2006) la suddivisione in tre aree distinte del LPI proposta da Pandya e Seltzer viene confermata ed estesa, conferendo una identità autonoma anche all'area PFG. Le regioni corticali del solco intraparietale che giacciono nel banco dorsale (PEip, MIP), da un lato, e in quello laterale incluso il fondo del solco (AIP, LIP e VIP), dall'altro, appartengono rispettivamente al LPS e al LPI (Rizzolatti e Matelli, 2003).

La presenza di una così complessa e articolata struttura anatomica della corteccia parietale posteriore suggerirebbe un'altrettanto articolata distribuzione di proprietà funzionali diverse ma, classicamente, alla corteccia parietale posteriore veniva attribuita per lo più la funzione di integrare le diverse modalità sensoriali per l'emergere delle capacità percettive. Questa visione, già messa in discussione dai lavori di Hyvarinen (1981) e Mountcastle (1975), può ritenersi definitivamente tramontata dopo la descrizione, da parte di Melvin Goodale e collaboratori (1991), del caso di un paziente affetto da un grave disordine nella percezione di forma, orientamento e dimensione degli oggetti, che era tuttavia in grado di controllare ed eseguire perfettamente movimenti di raggiungimento e prensione diretti a quegli stessi oggetti le cui qualità non poteva percepire. Gli autori suggeriscono che i substrati neurali per la percezione visiva delle qualità degli oggetti siano completamente distinti da quelli soggiacenti l'elaborazione delle stesse informazioni per il controllo delle azioni manuali. Milner e Goodale (1995) accettano l'impostazione funzionale di Ungerleider e Mishkin (1982) che indicava due vie distinte per l'elaborazione dell'informazione visiva – una ventrale che dall'area V4 raggiunge la corteccia inferotemporale, per la percezione delle proprietà degli oggetti - ed una dorsale che da V5 raggiunge il lobo parietale, per la percezione dello spazio. Tuttavia, respingono categoricamente l'idea che la differenza tra le due vie consista nel risultato "percettivo" della loro elaborazione dell'informazione visiva (lo spazio nella via dorsale, l'oggetto in quella ventrale). Milner e Goodale suggeriscono infatti che tale differenza risieda nello scopo funzionale per il quale la stessa informazione verrebbe elaborata in parallelo: le proprietà visive degli oggetti sarebbero elaborate dalla via ventrale - per la percezione, e dalla via dorsale - per il controllo dell'azione. Quest'ultima non avrebbe quindi alcun ruolo di tipo percettivo (Milner e Goodale, 1995; Jeannerod, 1994).

La proposta di Milner e Goodale risulta particolarmente interessante e innovativa poiché prevede che la stessa informazione sensoriale proveniente dal mondo esterno sia elaborata più volte, parallelamente e per scopi diversi. Ma la dicotomia tra una via ventrale del "cosa", per la percezione e il riconoscimento degli oggetti, e una via dorsale del "come", con finalità esclusivamente pragmatiche e completamente scevra di conte-

nuti percettivi, è probabilmente troppo rigida e scotomizza completamente il problema della codifica neurale dello spazio. Recentemente, alcuni autori (Rizzolatti e Matelli, 2003) hanno proposto una biforcazione della via dorsale in una via dorso-dorsale, culminante nel LPS ed identificabile con la componente “pragmatica” descritta da Milner, Goodale e Jeannerod, e un sistema dorso-ventrale, culminante nelle regioni del LPI e ritenuto di importanza cruciale anche per processi di codifica dello spazio e dell’azione.

Sebbene molte di queste teorizzazioni si basino sull’analisi di evidenze cliniche e neuropsicologiche su pazienti con lesioni cerebrali, lo studio del cervello dei primati non umani ha fornito informazioni imprescindibili che hanno consentito di far luce sui meccanismi che governano le trasformazioni sensorimotorie nei circuiti che connettono le aree parietali con quelle frontali enfatizzando, da un lato, il ruolo pragmatico dell’informazione sensoriale, dall’altro, la rilevanza funzionale della conoscenza motoria nell’emergere della percezione.

1.2.2. Proprietà anatomico-funzionali dei circuiti parieto-frontali

Le connessioni delle aree del LPS

Il LPS era classicamente riconosciuto come una regione strettamente legata al sistema somatosensoriale (Mountcastle et al., 1975; Hyvarinen, 1981), sia in termini funzionali che in termini di connessioni dirette con la corteccia somatosensoriale primaria, bilateralmente, e in particolare con l’area 2 (Hyvarinen, 1982). Studi elettrofisiologici sull’animale anestetizzato hanno documentato la presenza di complesse risposte di tipo propriocettivo multiarticolare, spesso associate ad ampi campi tattili in corrispondenza delle articolazioni o degli effettori coinvolti (Sakata et al., 1973): queste proprietà hanno suggerito un ruolo cruciale del LPS nella codifica neurale della posizione e della conformazione del corpo in uno spazio tridimensionale. Ulteriori studi, che hanno valutato il contributo relativo delle afferenze ascendenti rispetto a quelle cortico-corticali di origine presumibilmente premotoria, hanno stabilito che i neuroni dell’area 5 possono essere dipendenti dall’informazione sensoriale afferente, giustificando il ruolo funzionale precedentemente assegnato alla regione, ma hanno evidenziato anche l’esistenza di una consistente sottopopolazione di neuroni con risposte puramente motorie, che rimangono intatte anche dopo deafferentazione e che possono persino anticipare l’inizio effettivo del movimento (Seal et al., 1982). Questi dati suggeriscono che l’elaborazione dell’informazione somatosensoriale in questa regione possa essere particolarmente importante per la guida e la correzione dei movimenti e sono sostenuti dalle cospicue con-

nessioni del LPS con le regioni dorsali della corteccia premotoria (area F2 e, in misura minore F3 ed F4) e motrice primaria (Rizzolatti e Luppino, 2001).

Studi più recenti hanno documentato una massiccia presenza di risposte visive, soprattutto nei settori più caudali del lobulo (area MIP, V6A), a loro volta connessi con i settori rostrali della stessa regione e con le aree premotorie dorsali F2 ed F7 (Colby e Duhamel, 1991; Tanné et al., 1995; Caminiti et al., 1996; Rizzolatti e Matelli, 2003), suggerendo che i correlati funzionali dell'integrazione sensorimotoria operata dai circuiti parietofrontali che fanno capo alle regioni parietali superiori siano il controllo e il monitoraggio on-line dell'azione coordinata di occhio, braccio e mano nello spazio (Marconi et al., 2001; Battaglia-Mayer et al., 2005).

Questa interpretazione del significato funzionale delle connessioni e del ruolo motorio del LPS è coerente con il riscontro clinico che lesioni di questa regione, nell'uomo, provocano una caratteristica sindrome nota come atassia ottica, che produce un'incapacità di raggiungere col braccio dei bersagli collocati nello spazio peripersonale, soprattutto se in posizione periferica, in assenza di significative alterazioni dell'esperienza sensoriale cosciente (Ratcliff e Davies-Jones, 1972; Perenin e Vighetto, 1988), tanto che, in alcuni casi, i pazienti atassici possono persino essere in grado di raggiungere correttamente dei bersagli se sono localizzati sulla superficie corporea (De Renzi, 1982).

Le connessioni delle aree del LPI

Al contrario delle lesioni che interessano il LPS, che causano difficoltà di raggiungimento di oggetti nello spazio senza consistenti alterazioni delle funzioni percettive, lesioni del LPI provocano, nell'uomo, eminegligenza dello spazio controlesionale (Berti e Rizzolatti, 1992; D'Esposito et al., 1993; Bisiach e Vallar, 2000; Halligan et al., 2003) e deficit cognitivo-motori nell'organizzazione e riproduzione di gesti (Geschwind, 1965; De Renzi e Faglioni, 1999) e persino nella comprensione di azioni eseguite da altri (Heilman et al., 1982; Rothi et al., 1985). In generale, queste osservazioni suggeriscono un ruolo non solo sensorimotorio, bensì anche percettivo del LPI, grazie all'integrazione di informazioni mutate dalle reciproche connessioni che i settori di cui si compone intrattengono con aree visive temporali, aree somatosensoriali parietali e aree motorie frontali (Hyvarinen, 1982; Colby et al., 1993; Luppino et al., 1999; Rozzi et al., 2006; Borra et al., 2007).

Particolarmente interessanti in questo senso sono le connessioni di tre settori del lobulo parietale inferiore, ossia le aree VIP, AIP e PFG.

L'area VIP (Colby et al., 1993) giace nel fondo del solco intraparietale e riceve cospicue proiezioni da una regione visiva (MT) implicata nell'elaborazione di stimoli in movimento. I neuroni dell'area VIP presentano prevedibilmente risposte a stimoli in movimento, ma in particolare quando gli stimoli sono oggetti tridimensionali diretti verso la scimmia. Inoltre, la maggior parte di questi neuroni rispondono non solo alla stimolazione visiva, ma anche alla stimolazione tattile della regione cutanea la cui estensione virtuale nello spazio peripersonale coincide con il campo recettivo visivo del neurone stesso (Duhamel et al., 1998; Avillac et al., 2007). Queste proprietà funzionali sono estremamente simili a quelle dell'area premotoria F4, con la quale l'area VIP stabilisce forti connessioni (Luppino et al., 1999). Il circuito VIP-F4 sembra dunque coinvolto nell'organizzazione dell'azione nello spazio e nella codifica dello spazio stesso in chiave motoria, cioè attraverso l'ancoraggio dei campi recettivi visivi a coordinate corporee che identificano lo spazio d'azione dell'individuo (Fogassi et al., 1996; Rizzolatti et al., 1997).

Un'altra regione localizzata nel banco ventrale del solco intraparietale, l'area AIP, presenta forti connessioni con regioni visive del solco temporale superiore (STS) e del giro temporale medio, nonché con l'area premotoria F5, deputata al controllo dei movimenti della mano (Borra et al., 2007). Questi dati assegnano chiaramente all'area AIP il ruolo di tramite fra le regioni inferotemporali della via ventrale, deputate al riconoscimento degli oggetti, e uno dei principali sistemi di controllo e programmazione dei movimenti manuali diretti agli oggetti, ovvero l'area F5 (Luppino et al., 1999; Rizzolatti e Luppino, 2001). Il ruolo di AIP è ritenuto coerentemente quello di operare una trasformazione delle proprietà visive degli oggetti tridimensionali in programmi d'azione adeguati ad interagire con essi (Murata et al., 2000). Il circuito AIP-F5 potrebbe dunque contribuire a fornire una descrizione motoria degli oggetti la cui rappresentazione pittorica è realizzata dalle regioni inferotemporali: questa descrizione motoria può essere riconducibile, in senso più ampio, ad una forma di comprensione delle caratteristiche pragmatiche dell'oggetto stesso.

Ma il pattern di connessioni di AIP con l'area F5 risulta pressoché indistinguibile rispetto a quello di altre due aree limitrofe localizzate nella convessità del LPI, ovvero PF e PFG. Entrambe queste aree, come AIP, sono fortemente connesse con F5. Tuttavia, mentre PF è caratterizzata da proprietà quasi esclusivamente somato-motorie legate a faccia e bocca (Leinonen e Nyman, 1979; Ferrari et al., 2003), PFG mostra alcune caratteristiche più interessanti.

In primo luogo, a differenza dell'area PF, PFG è coinvolta nella codifica di azioni manuali e presenta numerose caratteristiche funzionali simili a quelle dei settori più mediali di F5: codifica di atti motori finalizzati, risposte somatosensoriali nonché

risposte visive di tipo peripersonale, alla presentazione di oggetti e a movimenti biologici (Hyvarinen, 1981; Gallese et al., 2002; Ferrari et al., 2003). Le principali connessioni estrinseche raggiungono, in primo luogo, l'area F5. Inoltre, sono state riportate connessioni significative con regioni prefrontali, premotorie, insulari e con settori del solco temporale superiore (STS) (Rozzi et al., 2006). Queste ultime risultano di particolare interesse in quanto potrebbero coincidere con quelle regioni del STS in cui sono state descritte risposte selettive all'osservazione di azioni manuali (Perrett et al., 1989). Le proiezioni di PFG all'area F5 potrebbero costituire il meccanismo attraverso il quale una descrizione visiva dell'azione osservata, realizzata dalle aree temporali, viene associata al programma motorio che l'osservatore possiede e utilizza per eseguirla attivamente, consentendo un riconoscimento automatico dello stimolo visivo basato sull'esperienza motoria dell'individuo (Rizzolatti et al., 2001).

1.3. Funzioni motorie, percettive e cognitive delle aree F5 e PFG

“La percezione non è una cosa che accade a noi o in noi. È una cosa che facciamo”.

Alva Noë, 2004

Per quale ragione la percezione del mondo, animato e inanimato, dovrebbe presupporre una conoscenza motoria per assumere quelle caratteristiche che ci permettono di esperirla così come la conosciamo?

James Gibson risponde a questa domanda assumendo una prospettiva ecologica, in base alla quale *“la presenza di informazione in uno stimolo non si può identificare nella causa della percezione. La percezione non è una risposta ad uno stimolo, ma un atto di acquisizione di informazione (...) che può, ma può anche non, avvenire in presenza di informazione”* nell'ambiente. *“Viviamo in un ambiente fatto di sostanze (...), non nello spazio. Invece di punti geometrici e linee, quindi, abbiamo punti di osservazione e linee di locomozione”*. E analogamente la nostra esistenza non si snoda in un tempo astratto, ma in un ambiente nel quale si verificano *“cambiamenti, eventi e sequenze di eventi (...), poiché il fluire di un tempo vuoto e astratto non ha alcuna realtà per gli animali”*, come *“non ha realtà uno spazio astratto fatto di punti”*. In questa prospettiva l'organismo abita attivamente *“uno spazio ecologico che consiste di luoghi, localizzazioni o posizioni”*, in cui conosce e riconosce oggetti estraendo attivamente informazioni il cui significato è dato soltanto in relazione al corpo e alle possibilità d'azione del corpo (Gibson, 1979). Molti anni prima di Gibson, Jules-Henri Poincaré

(1908) aveva già espresso un'idea simile, sostenendo che *“è in rapporto al nostro corpo che situiamo gli oggetti esterni, e le uniche relazioni di questi oggetti che ci possiamo rappresentare sono le relazioni con il nostro corpo”*.

1.3.1. La rappresentazione motoria degli oggetti nel circuito AIP-F5

La corteccia premotoria ventrale di scimmia, e in particolare l'area F5, contiene neuroni che codificano specifici atti motori piuttosto che singoli movimenti (Rizzolatti et al., 1987; Gentilucci et al., 1989). Una prima classe di queste cellule comprende neuroni coinvolti nella codifica di azioni prossimali, come “raggiungere col braccio” o “portare verso il corpo o verso la bocca”. Una seconda classe include invece i neuroni che codificano azioni distali: “afferrare con la mano”, “afferrare con mano e bocca”, “tenere” e “strappare”. Una caratteristica peculiare dei neuroni che codificano azioni distali, in particolare l'afferramento, è che la maggior parte di essi presenta una spiccata selettività per il modo in cui l'atto deve essere eseguito, specificando il tipo di prensione da utilizzare (“presa di precisione con opposizione di pollice e indice”, “presa palmare a mano piena”, “prensione con tutte le dita”). Infine, la metà dei neuroni motori di F5 rispondono anche alla stimolazione somatosensoriale e circa un quinto di essi mostrano interessanti risposte visive (Rizzolatti et al., 1988). Questi risultati sono stati interpretati suggerendo che F5 contenga un repertorio neuronale di atti motori che costituirebbe una sorta di “vocabolario di atti”, le cui caratteristiche sarebbero coerentemente riprodotte dalle risposte somatosensoriali e visive dei singoli neuroni.

Già nel corso dei primi studi sulle proprietà dei neuroni di F5 condotti alla fine degli anni '80, infatti, era stato notato che la scarica di quelle cellule che presentavano risposte visive alla semplice presentazione di oggetti era particolarmente complessa da evocare. In generale, era necessario ricorrere a stimoli salienti per la scimmia e, almeno nel caso dei neuroni che codificavano atti distali, risultava spesso cruciale la dimensione dello stimolo presentato: in particolare, esisteva chiaramente una relazione tra le dimensioni dell'oggetto capace di evocare la risposta del neurone e la selettività motoria del neurone stesso per il tipo di prensione. Studi più recenti (Murata et al., 1997; Raos et al., 2005) hanno verificato queste ipotesi mediante paradigmi sperimentalmente più controllati, confermando che i neuroni visuo-motori di F5 che presentano una selettività motoria per il tipo di prensione, esprimono la stessa selettività anche quando la scimmia semplicemente osserva l'oggetto, senza eseguire alcun movimento diretto ad esso (neuroni “canonici”).

Risultati analoghi erano stati già riportati studiando, con lo stesso paradigma sperimentale, l'area AIP, nella quale si trovano neuroni che scaricano durante movimenti della mano (Sakata et al., 1995; Murata et al., 2000). La congruenza nella selettività visuo-motoria riscontrata nei neuroni di F5 è infatti marcatamente presente anche in AIP. In quest'ultima area si trovano persino neuroni che non rispondono quando la scimmia esegue l'atto di afferramento "al buio", ossia in assenza di controllo visivo (neuroni a dominanza visiva). Quest'ultima classe di cellule è assente in F5. Nel complesso, i dati elettrofisiologici e anatomici convergono nell'indicare che il circuito parieto-frontale che connette le aree AIP ed F5 riveste un'importanza cruciale nelle trasformazioni visuo-motorie che consentono di afferrare correttamente gli oggetti, trasformando la rappresentazione visiva di tipo pittorico delle caratteristiche tridimensionali dell'oggetto nel programma motorio adeguato al suo afferramento o manipolazione (Jeannerod et al., 1995).

Quest'ultimo aspetto dell'interpretazione dei dati elettrofisiologici è stato inoltre confermato da studi in cui una sostanza GABA-agonista ad azione reversibile veniva iniettata in corteccia, inattivando transitoriamente l'attività neuronale di quei settori di F5 (Fogassi et al., 2001) ed AIP (Gallese et al., 1994) in cui i neuroni con risposte visive e visuomotorie erano stati registrati. Applicando lo stesso paradigma utilizzato per lo studio dell'attività neuronale, è stato possibile dimostrare che sia l'inattivazione di F5 che quella di AIP provocano profonde alterazioni nel processo di conformazione della mano alle caratteristiche strutturali degli oggetti da afferrare. La scimmia fallisce drasticamente la presa di precisione con la mano controlaterale al sito d'iniezione e riesce a concludere l'afferramento soltanto mediante ripetute correzioni basate sul feed-back somatosensoriale. Inoltre, l'inattivazione di ampie regioni di F5 ha consentito di evidenziare anche una compromissione delle fasi di conformazione della mano ipsilaterale, per il resto risparmiata da effetti puramente esecutivi. Questi risultati suggeriscono, da un lato, che il ruolo funzionale del circuito parieto-frontale AIP-F5 è effettivamente cruciale nelle trasformazioni sensorimotorie per l'afferramento, dall'altro, che il risultato di queste trasformazioni sensorimotorie assume, almeno in F5, una valenza non esclusivamente motoria (Gallese et al., 1997; Fogassi et al., 2001).

L'interpretazione più plausibile di questo gruppo di studi assegna al sistema motorio un ruolo non prettamente esecutivo, e riconosce ad F5 la capacità di rappresentare in un formato "motorio" l'informazione strutturale intrinseca all'immagine sensoriale degli oggetti. In altri termini, mentre nelle aree inferotemporali è codificata e permane la rappresentazione puramente visiva dell'oggetto, nei circuiti parieto-premotori questa "immagine" viene tradotta nelle diverse possibilità d'azione e d'interazione con quell'oggetto, che Gibson definisce *affordances*. "*Nascondigli con forme diverse sugge-*

riscono (afford) possibilità diverse di abitarli. E solidi con forme diverse suggeriscono diverse possibilità per interagire con essi e manipolarli. L'uomo, il più grande manipolatore, esprime queste ultime possibilità al massimo livello” (Gibson, 1979).

1.3.2. Lo scopo dell'atto motorio

I neuroni motori

Sin dai primi studi sui neuroni motori dell'area F5 della scimmia si è posto il problema di identificare quale fosse il significato funzionale della risposta di cellule che scaricavano in relazione ad un particolare atto motorio, come “afferrare”, specificando anche il modo in cui tale atto doveva essere realizzato (per esempio una “presa di precisione” o una “presa palmare”), ma prescindendo molto spesso dal tipo di effettore utilizzato per compierlo (Rizzolatti et al., 1987; Rizzolatti et al., 1988; Gentilucci et al., 1989). La codifica di questi neuroni sembrava legata ad una proprietà astratta dell'atto motorio che lo caratterizzava in quanto tale, sia che fosse eseguito con la mano destra, la sinistra, oppure con la bocca. E tale proprietà è stata identificata nello scopo dell'atto motorio stesso.

Studi più recenti (Escola et al., 2004), hanno valutato sperimentalmente la consistenza di questa ipotesi registrando neuroni motori dell'area F5 mentre la scimmia afferrava pezzetti di cibo con la mano, oppure utilizzando due diversi tipi di strumento: una pinza normale, il cui uso richiedeva gli stessi movimenti di flessione delle dita utilizzati per afferrare con la mano, ed una pinza invertita, il cui uso richiedeva un pattern temporale di movimenti delle dita opposto rispetto a quello necessario per afferrare con la mano o la pinza normale. I risultati di questo studio indicano che la maggior parte dei neuroni di F5 che codificano azioni di afferramento con la mano rispondono ugualmente bene anche quando la scimmia afferra il cibo utilizzando i due diversi tipi di strumento anche se, nel caso della pinza invertita, i movimenti sono caratterizzati da un pattern opposto a quello necessario per afferrare con la mano o la pinza normale. Questi risultati corroborano dunque l'ipotesi suggerita da Rizzolatti e collaboratori (1987), indicando che i neuroni di F5 codificano una rappresentazione astratta dell'atto che può essere identificabile con il suo scopo o significato motorio (Rizzolatti e Fadiga, 1998).

Neuroni motori con proprietà apparentemente analoghe a quelle dei neuroni studiati nei primi lavori sull'area F5 erano già stati descritti a metà degli anni '70 nelle porzioni rostrali della convessità del LPI da Hyvarinen e Poranen (1974) e Leinonen e collaboratori (1979), sebbene il ruolo degli aspetti più astratti della codifica dello scopo

motorio di questi neuroni non sia emerso che recentemente (Fogassi et al., 1998; Gallese et al., 2002; Ferrari et al., 2003).

I neuroni “mirror”

La presenza di neuroni “canonici” nell’area F5 testimonia la possibilità di evocare la rappresentazione motoria di un atto non solo quando è necessario eseguirlo attivamente, ma anche quando la scimmia osserva un oggetto la cui descrizione motoria, in termini di “modalità di interazione con esso”, è contenuta nel suo “vocabolario motorio”. Ma l’ambiente ecologico è popolato non solo dagli oggetti inanimati del mondo fisico, bensì anche dagli oggetti animati del mondo sociale “*che possono essere spinti e spostati da forze esterne (...), ma che possono anche muoversi attivamente sotto l’influenza di forze interne. E gli animali sono senz’altro gli oggetti di percezione più complessi che l’ambiente possa presentare ad un osservatore*” (Gibson, 1979). Alcuni neuroni visuo-motori di F5 sono caratterizzati dall’interessante proprietà di codificare un atto motorio, dotato del suo specifico scopo immediato (come per esempio “afferrare”), sia quando la scimmia esegue attivamente il movimento diretto ad un oggetto, sia quando semplicemente osserva un’altra scimmia o un attore umano compiere lo stesso atto (di Pellegrino et al., 1992; Gallese et al., 1996). Analogamente ai neuroni “canonici”, la cui attivazione rappresenta un meccanismo di identificazione e preattivazione delle potenzialità pragmatiche di un oggetto osservato, anche in questo caso l’informazione visiva è in grado di attivare una rappresentazione nel repertorio motorio dell’osservatore, che “rispecchia” però il movimento osservato: questa peculiare proprietà suggerì di denominare questi neuroni “mirror” (Gallese et al., 1996; Rizzolatti et al., 1996). Sembra quindi plausibile ritenere che l’informazione convogliata dalla risposta di un neurone “mirror”, sia durante l’esecuzione sia durante l’osservazione di un certo atto effettuato da altri, corrisponda alla rievocazione di una “rappresentazione interna dell’azione” in chiave motoria (Jeannerod, 1994; Rizzolatti et al., 1996) o, in altri termini, di una “idea” di movimento (Fadiga et al., 2000).

Diversi lavori negli ultimi anni hanno contribuito a confermare sperimentalmente che l’informazione codificata dai neuroni “mirror” identifica lo scopo motorio dell’atto osservato. A differenza dell’immagine sensoriale dell’atto in sé, il suo scopo motorio può essere inferito anche quando le fasi finali del movimento, che implicano l’interazione della mano con l’oggetto, avvengono dietro uno schermo opaco e sono quindi invisibili. Circa la metà dei neuroni “mirror” di F5, infatti, rispondono con intensità simile quando la scimmia osserva un atto di afferramento anche se la fase terminale del movimento avviene dietro uno schermo. Il dato più interessante di questo studio è

che lo stesso neurone non risponde ad uno stimolo percettivamente identico (l'atto di afferramento parzialmente nascosto) se la scimmia *sa* che non c'è alcun oggetto dietro lo schermo e l'azione viene dunque semplicemente mimata (Umiltà et al., 2001). Ulteriori esperimenti hanno dimostrato che il livello di astrazione della rappresentazione motoria dell'azione che può essere raggiunto dai neuroni "mirror" di F5 è tale che alcuni di essi, codificanti azioni come "rompere" o "strappare", che producono come conseguenza sensoriale un suono caratteristico e riconoscibile, si attivano in modo simile a prescindere dal fatto che l'atto (come per esempio "rompere" una nocciolina), sia eseguito, osservato o "ascoltato" (Kohler et al., 2002; Keysers et al., 2003).

Un recente studio (Ferrari et al., 2005) ha dimostrato inoltre che lo scopo dell'atto motorio è apparentemente l'unico elemento effettivamente necessario, e in alcuni casi persino sufficiente, per evocare la risposta visiva di un neurone "mirror". Nelle porzioni più laterali dell'area F5 sono stati infatti registrati neuroni "mirror" che rispondono quando la scimmia esegue azioni di afferramento con la mano e la bocca, ma anche quando l'animale osserva uno sperimentatore "prendere" un pezzetto di cibo con uno strumento artificiale, come una bacchetta appuntita o una pinza. La peculiarità di queste cellule è che in alcuni casi la risposta visiva è persino selettiva per l'azione eseguita con lo strumento anziché con la mano. La congruenza delle risposte visiva e motoria di questi neuroni risiede dunque nel condividere lo stesso "scopo motorio", ossia "prendere possesso" del bersaglio dell'azione.

Cellule che rispondono durante l'osservazione di atti motori come quelli in grado di evocare la risposta visiva dei neuroni "mirror" di F5 sono state descritte anche a livello delle porzioni rostrali della corteccia del STS, ma in questa regione i neuroni non si attivano durante l'esecuzione del movimento da parte dell'animale (Perrett et al., 1989). Inoltre, studi odologici hanno dimostrato la pressoché totale assenza di connessioni tra STS ed F5 (Matelli et al., 1986), mentre quest'ultima risulta connessa con la porzione rostrale del LPI (area PFG), che è a sua volta bersaglio di proiezioni dal STS (Rizzolatti et al., 1998; Rozzi et al., 2006). Studi elettrofisiologici di registrazione da singole cellule della porzione rostrale del LPI, verosimilmente coincidente con l'area PFG, hanno documentato la presenza, anche in questa regione, di neuroni con proprietà "mirror" (neuroni "mirror" parietali) del tutto analoghe a quelle mostrate dai neuroni di F5 (Gallese et al., 2002; Ferrari et al., 2003; Tanaka et al., 2004), suggerendo che il circuito parieto-premotorio che connette la convessità rostrale del LPI con l'area F5 potrebbe rappresentare un sistema corticale per la rappresentazione e la comprensione automatica dello scopo dell'azione.

1.3.3. Organizzare gli atti motori in azioni finalizzate

Gli studi sui primati hanno quindi evidenziato che nella corteccia cerebrale esistono diverse rappresentazioni astratte del movimento, identificabili nella scarica dei neuroni parietali e premotori che codificano atti motori in termini di scopo immediato al servizio dell'esecuzione, della percezione e di alcune forme automatiche di comprensione dell'azione (Rizzolatti et al., 2001). Ma quali sono i meccanismi corticali che consentono di organizzare e articolare nel tempo in modo coerente i singoli atti motori per dare origine a più complesse azioni finalizzate?

I progressi nelle tecniche di visualizzazione ultrasonografica hanno consentito di studiare i movimenti fetali sin dalle prime settimane di vita intrauterina, fornendo interessanti indicazioni sullo sviluppo e l'organizzazione del movimento nel periodo prenatale. Osservazioni riportate mediante l'impiego dell'ultrasonografia su donne in gravidanza, tra la dodicesima e la quindicesima settimana di gestazione, hanno rivelato che il contatto mano bocca si verifica già nel feto, con una frequenza che va dalle 50 alle 100 occorrenze ogni ora (De Vries et al., 1984). Sparling e Wilhelm (1993) osservano che i movimenti della mano non sembrano causali, ma diretti a specifici bersagli. Queste osservazioni hanno trovato recentemente crescenti conferme sperimentali (Takeshita et al., 2006) attraverso lo studio della cinematica dei movimenti coordinati mano-occhio e mano-bocca. Videoregistrazioni ultrasonografiche dei movimenti fetali sono state effettuate in periodi successivi di età gestazionale, tra le 14 e le 22 settimane, e i filmati analizzati off-line. I risultati indicano che i movimenti fetali tendono ad assumere profili più uniformi, regolari e coordinati, quando sono diretti verso il corpo ma non quando sono rivolti altrove: se inizialmente i pattern motori diretti verso il corpo si articolano in numerosi segmenti di accelerazione-decelerazione, intorno alla 22esima settimana risultano più coordinati e fluidi quando diretti ad un bersaglio corporeo (Zoia et al., 2007).

Osservazioni sui neonati indicano che comportamenti di interazione mano-bocca, come il succhiamento della mano, sono più frequenti prima dell'allattamento (Feldman e Brody, 1978). Butterworth ed Hopkins (1988) riportano anche la presenza di pattern specifici di movimenti coordinati mano-bocca nei quali *“la bocca sembra anticipare l'arrivo della mano”*, aprendosi preventivamente durante la flessione del braccio. Ulteriori studi dimostrano inoltre che la stretta relazione tra i movimenti diretti alla bocca e la precoce apertura della bocca stessa sussiste unicamente quando il neonato è affamato, suggerendo che queste precocissime sinergie oro-manuali costituiscano una sorta di *“raggiungimento diretto alla bocca”*, collegato allo sviluppo del controllo dei coordinamenti motori relativi ai comportamenti ingestivi (Lew e Butterworth, 1995).

Esistono dunque evidenze di una precoce, se non addirittura innata, predisposizione del sistema motorio ad implementare movimenti, inizialmente frantumati in moduli di accelerazione e decelerazione distinti, che presentano però fin dalla vita intrauterina un certo livello di organizzazione, apparentemente finalizzato, che si coordina rapidamente in sinergie oro-manuali.

Nella porzione rostrale del lobulo parietale inferiore del macaco sono stati descritti neuroni con campi recettivi particolarmente complessi, che rappresentano la combinazione di zone di cute localizzate sulla faccia e sulla mano (neuroni “face-hand”). Ma il dato più interessante di questi studi è che alcuni dei neuroni “face-hand” rispondevano più intensamente quando la scimmia eseguiva comportamenti implicanti l’interazione attiva di faccia e mano rispetto a quando la stimolazione delle due superfici veniva effettuata passivamente o quando i movimenti della faccia e della mano erano eseguiti separatamente (Yokochi et al., 2003), suggerendo l’esistenza nel LPI rostrale di una rappresentazione delle coordinazioni sensorimotorie oro-manuali. È dunque interessante ricordare che già nel 1982 Hyvarinen scriveva che *“nell’area 7 potrebbero esistere catene di neuroni che conducono gradualmente da proprietà puramente sensoriali a proprietà motorie”*, e che i neuroni descritti da Yokochi e collaboratori potrebbero quindi facilitare altri neuroni che controllano l’apertura della bocca quando un oggetto viene toccato o afferrato con la mano.

Un’organizzazione neurale analoga a quella ipotizzata per la prima volta da Hyvarinen potrebbe però condurre anche, dalla codifica di singoli atti motori, alla coordinazione dei singoli atti in una catena d’azione finalizzata controllata da una “rappresentazione” internamente generata di quello scopo d’azione che coinciderebbe con l’intenzione motoria del soggetto che agisce.

Fogassi e collaboratori (2005) hanno documentato, nei settori rostrali del LPI identificabili con l’area PFG, la presenza di neuroni motori che codificano l’atto di afferramento mostrando un’attivazione marcatamente diversa quando questo stesso atto era incluso in azioni dirette a fini diversi. I neuroni registrati venivano studiati formalmente con un paradigma comprendente due condizioni principali. Nella prima condizione, la scimmia doveva raggiungere e afferrare un pezzetto di cibo e portarlo alla bocca; nella seconda, doveva raggiungere e afferrare un oggetto e piazzarlo in un contenitore. Va notato che l’atto di afferramento studiato in questo esperimento era lo stesso in entrambe le condizioni, ma era seguito da due atti diversi: portare il cibo alla bocca, nella prima, piazzare l’oggetto lateralmente, nella seconda. I risultati confermano che i neuroni di PFG registrati durante l’esperimento codificano tutti l’atto motorio di afferramento, in alcuni casi con la stessa intensità di scarica indipendentemente dalla condizione sperimentale. Ma il dato più interessante consiste nella dimostrazione che la maggior parte

dei neuroni registrati presentavano un'intensità di scarica differente durante l'afferramento in relazione al successivo atto motorio: "portare alla bocca" oppure "piazzare" l'oggetto afferrato. Una serie di esperimenti di controllo ha consentito di dimostrare che la forza, la cinematica del movimento di raggiungimento e della configurazione della mano, il tipo di stimolo afferrato o la localizzazione del contenitore in cui piazzare non sono in grado di spiegare le differenze di scarica riscontrate. Gli autori hanno suggerito pertanto che i neuroni del LPI che codificano singoli atti motori siano inclusi in catene neuronali precostituite, ciascuna dedicata alla codifica di una specifica azione: in ogni azione, la codifica di ciascun atto motorio sarebbe facilitata da quella dell'atto precedente e faciliterebbe quella del successivo.

Presupponendo che la scimmia decida ciò che *intende* fare prima di iniziare l'atto di afferramento, l'intenzione dell'azione si rifletterebbe nell'intensità di scarica con cui viene codificato l'atto di afferramento stesso. Questo fenomeno di riflessione dell'intenzione motoria su un sistema di neuroni organizzati in catene avrebbe profonde conseguenze su una fondamentale capacità cognitiva, ossia quella di comprendere le intenzioni degli altri.

1.3.4. Dall'organizzazione dell'azione alla comprensione delle intenzioni

Una parte dei neuroni dell'afferramento del LPI presentano proprietà "mirror" (Gallese et al., 2002; Ferrari et al., 2003). Nel corso dello stesso studio di Fogassi e collaboratori (2005) la risposta dei "neuroni mirror parietali" è stata valutata nelle stesse due condizioni del compito motorio. In questo caso però, la scimmia si limitava ad *osservare* uno sperimentatore che raggiungeva e afferrava un pezzetto di cibo e lo portava alla bocca (Condizione 1) oppure raggiungeva e afferrava un oggetto e lo piazzava in un contenitore collocato di fianco all'oggetto (Condizione 2). I risultati indicano che la risposta visiva della maggior parte dei neuroni "mirror" è diversa se l'atto di afferramento osservato è seguito dagli atti di "portare alla bocca" oppure "piazzare" l'oggetto afferrato.

Il ruolo generalmente attribuito e riconosciuto ai neuroni "mirror" consiste nel permettere all'individuo che osserva di capire lo scopo motorio di un atto osservato in quanto quest'ultimo attiva lo stesso insieme di neuroni che sono attivi durante l'esecuzione dello stesso atto finalizzato da parte del soggetto. Gli autori suggeriscono che quando l'atto codificato è incluso in una catena che conduce alla realizzazione motoria dello scopo finale dell'azione, questa proprietà neuronale consente alla scimmia di predire lo scopo dell'azione osservata, riconoscendo dunque l'intenzione dell'individuo

che agisce (Fogassi et al., 2005; Rizzolatti et al., 2005). “*In relazione a quale catena motoria è attivata, l’osservatore avrà una rappresentazione di ciò che, più probabilmente, l’agente sta per fare*” (Fogassi et al., 2005).

Ciò che si rivela più complicato risulta essere la specificazione di *come* la selezione di una particolare catena potrebbe avvenire: quello che l’osservatore vede è in ultima analisi semplicemente una mano che afferra un pezzo di cibo o un oggetto. In questo senso esistono almeno due fattori che, pur non essendo stati studiati esplicitamente, gli autori indicano come probabilmente cruciali nel determinare la selezione della catena. Il primo risulta essere il contesto in cui viene eseguita l’azione (la presenza o l’assenza del contenitore in cui piazzare l’oggetto, per esempio), il secondo il tipo di oggetto bersaglio dell’azione (il cibo suggerirebbe più immediatamente l’esecuzione di un’azione di “prendere-per-mangiare”), ma è evidente che i due elementi potrebbero verosimilmente interagire e la selezione più o meno netta di una catena tra quelle possibili costituisce un risultato probabilistico come, d’altronde, probabilistico è il risultato dell’inferenza che ne deriverebbe: la comprensione dell’intenzionalità motoria dell’altro.

1.4. Obiettivi dello studio

Le cospicue connessioni anatomiche (Rozzi et al., 2006) e le notevoli analogie funzionali tra PFG ed F5, non ultima la presenza in entrambi i settori di neuroni “mirror”, suggeriscono che l’area PFG potrebbe non essere l’unica regione implicata nella codifica di atti motori condizionale allo scopo dell’azione globale. Un *primo obiettivo* di questo studio è consistito dunque nella valutazione della risposta di singoli neuroni dell’afferramento, localizzati nella regione di rappresentazione funzionale della mano dell’area F5, durante l’esecuzione di un compito motorio semplice (CmS) analogo a quello impiegato da Fogassi e collaboratori (2005) e, nel caso dei neuroni “mirror”, durante l’osservazione dello stesso compito eseguito però da uno sperimentatore di fronte alla scimmia (CvS).

L’organizzazione in catene dei neuroni del LPI ipotizzata richiede di presupporre che le informazioni contestuali e quelle relative al tipo di stimoli-bersaglio disponibili siano elaborate da altre regioni del cervello, come per esempio le aree prefrontali. Queste ultime fornirebbero quella “informazione intenzionale afferente” in grado di selezionare la catena parietale di neuroni che rappresenta l’azione finalizzata più opportuna nelle circostanze attuali. Laddove ciò si realizzi, è quindi lecito ipotizzare la presenza di una scarica differenziale durante la codifica di uno specifico atto motorio (per esempio

l'afferramento) tanto più intensa quanto più è rilevante l'impatto dell'afferenza intenzionale (ad esempio, "per mangiare" o "per piazzare") sulla scarica di *quel* neurone o della catena di cui fa parte. Inoltre, se ogni neurone che risponde in una determinata fase della sequenza d'azione è facilitato da quelli precedentemente attivati e facilita i successivi, è lecito ipotizzare che il risultato funzionale di una simile organizzazione sia una "amplificazione" della discriminazione nel tempo, tanto più pronunciata quanto più la codifica è prossima al conseguimento del fine ultimo, in quanto le afferenze facilitatorie che raggiungono gli elementi successivi della catena potrebbero essere più numerose originando un effetto di sommazione più pronunciato. Un *secondo obiettivo* dello studio è consistito perciò nel verificare, in termini comparativi, l'intensità e il decorso temporale della risposta neuronale di F5 rispetto a PFG durante l'esecuzione delle due condizioni dei compiti sperimentali visivo e motorio.

Nel CmS, l'atto di afferramento prelude all'esecuzione dell'atto successivo, il cui scopo coincide con lo scopo dell'azione intera ("prendere con la bocca" o "piazzare nel contenitore"). L'ipotesi formulata prevede che l'intenzione dell'azione si rifletta nella scarica di neuroni che codificano l'afferramento in quanto questi ultimi prenderebbero parte ad una catena di neuroni che costituisce l'azione globale, selezionata come tale fin dall'inizio. In questo senso però, la differenza di scarica di un neurone dell'afferramento selettivo per "prendere per mangiare" rispetto alla condizione "prendere per piazzare", sarebbe da ricondurre alla necessità di preattivare la codifica dell'atto motorio di bocca nella prima condizione ma non nella seconda: cosa succederebbe allora se l'intenzione globale fosse la stessa ("prendere per mangiare"), ma la scimmia dovesse compiere più di un atto di afferramento prima di poter effettivamente mangiare il cibo afferrato? Per rispondere a questa domanda le condizioni del CmS sono state acquisite alternando due condizioni analoghe di è stato introdotto un compito motorio più complesso (CmC). In tale compito era inserito un atto di afferramento in più (necessario per rimuovere un piccolo coperchio), identico tra le due condizioni, successivamente al quale il compito risultava analogo al CmS, ossia "prendere per mangiare" o "prendere per piazzare". Se la risposta dei neuroni di PFG ed F5 codificasse soltanto lo scopo dell'atto immediatamente successivo nella catena d'azione, nel CmC la codifica del primo atto di afferramento della sequenza dovrebbe essere uguale tra le due condizioni e, verosimilmente, molto più debole rispetto alla codifica del secondo atto. Il *terzo obiettivo* di questo lavoro è stato quindi quello di indagare se, in un compito complesso, la codifica intenzionale nei neuroni dell'afferramento di PFG ed F5 fosse presente solo durante l'esecuzione del secondo ed ultimo atto di afferramento o se potesse comparire già più precocemente, durante la codifica del primo atto della sequenza complessa.

Infine, mediante iniezione di un tracciante retrogrado nel settore di PFG dove sono stati registrati neuroni motori e mirror, è stata verificata la presenza di una eventuale connessione diretta con il settore dell'area F5 nel quale erano stati acquisiti neuroni utilizzando la stessa procedura sperimentale. Il ritrovamento di tale connessione, infatti, è rilevante per una conferma anatomica di un ipotizzato circuito parieto-premotorio per l'organizzazione e la comprensione dell'azione intenzionale.

2. MATERIALI E METODI

Gli esperimenti sono stati condotti su due scimmie (*Macaca nemestrina*). Entrambi gli animali sono stati abituati a sedere su una sedia per primati e ad interagire tranquillamente con gli sperimentatori. Successivamente, sono stati addestrati ad eseguire due diversi compiti motori, denominati semplice (CmS) e complesso (CmC). Al termine della procedura di addestramento, entrambe le scimmie sono state sottoposte ad un intervento chirurgico per l'impianto del sistema di fissaggio della testa e della camera di registrazione.

2.1. Addestramento delle scimmie e compiti sperimentali

Durante un periodo di circa tre mesi, preliminare all'esperimento elettrofisiologico, le due scimmie venivano condotte quotidianamente sulla sedia per primati ed abituate a sedere in posizione confortevole ma in condizioni di parziale restrizione. Qui, ricevevano per l'intera durata del periodo di addestramento la loro razione giornaliera di cibi, liquidi e solidi. In questo modo, potevano abituarsi ad interagire direttamente con gli sperimentatori, afferrando il cibo che veniva loro offerto e ricevendo stimoli tattili e propriocettivi, e imparando così a prestare attenzione alle azioni eseguite intorno a loro dagli sperimentatori stessi.

Dopo un primo periodo variabile di abituazione alla situazione sperimentale, le scimmie sono state sottoposte all'addestramento vero e proprio nei due compiti motori sperimentali, il CmS e il CmC.

Un ulteriore compito sperimentale, che non ha richiesto alcun addestramento specifico degli animali consisteva nell'osservazione, da parte della scimmia, del compito semplice effettuato da uno sperimentatore (CvS).

2.1.1. Il compito motorio semplice (CmS)

Il CmS (vedi figura 2.1.A) richiedeva di afferrare un cubetto di cibo e comprendeva due condizioni. Nella Condizione 1, la scimmia portava *alla* bocca il cibo afferrato e lo mangiava; nella Condizione 2, il cibo afferrato veniva piazzato all'interno di un contenitore collocato lateralmente alla bocca dell'animale.

L'apparato utilizzato per il CmS era costituito da un tavolo in plexiglass quadrato (lato 42 cm), fissato alla sedia per primati. Un cilindro metallico (diametro 28 mm, altezza 25 mm) era fissato al tavolo sul piano sagittale della scimmia, a 16 cm dal corpo. All'inizio di ciascuna prova, la scimmia doveva tenere con la mano il cilindro che fungeva quindi da punto di partenza fisso. Un sottile schermo in plexiglass trasparente (40 x 23 cm) veniva interposto tra la posizione iniziale fissa della mano e il cibo da afferrare durante gli intervalli tra una prova e la successiva. Un contenitore in materiale plastico opaco (diametro interno 5 cm) era fissato al tavolo di plexiglass ad una distanza di 15 cm dal cilindro di partenza ed era provvisto di una fessura (larghezza e profondità 1 cm) di lunghezza uguale al suo diametro interno, per l'alloggiamento del cubetto di cibo. Questo dispositivo aveva la funzione di costringere la scimmia ad afferrare sempre il cibo mediante una presa di precisione ("presa a pinza"), implicante l'opposizione di pollice e indice con la mano in posizione prona. Un secondo recipiente in plastica (diametro interno 5 cm, profondità 4 cm), era fissato 4 cm lateralmente alla bocca della scimmia, inclinato di quasi 90° in modo da agevolare al massimo per l'animale l'introduzione al suo interno del pezzetto di cibo quando era richiesto di "piazzarlo" (Condizione 2).

La scimmia era stata addestrata a tenere la mano sul cilindro di partenza mentre lo schermo trasparente era interposto fra il cilindro e il recipiente contenente il cubetto di cibo. Quando lo schermo veniva rimosso (segnale di partenza), la scimmia poteva raggiungere e afferrare il cibo per portarlo alla bocca e mangiarlo (Condizione 1), oppure per piazzarlo nel contenitore (Condizione 2). Normalmente, nella Condizione 2 la scimmia piazzava un cubetto di cibo identico a quello che mangiava durante l'esecuzione della Condizione 1: per ottenere questo risultato, all'inizio di ciascuna prova della Condizione 2 veniva presentato all'animale un pezzetto di cibo preferito che poteva essere ottenuto soltanto piazzando quello afferrato nel contenitore di fianco alla bocca. In alcuni casi, tuttavia, il cibo da piazzare veniva sostituito con un cubetto metallico.

2.1.2. Il compito motorio complesso (CmC)

Il CmC (vedi figura 2.1.B) era analogo al CmS e comprendeva le stesse due condizioni sperimentali, ma includeva un atto motorio di afferramento in più.

L'apparato utilizzato era lo stesso del CmS. La scimmia teneva la mano sul cilindro di partenza mentre lo schermo trasparente era interposto tra la posizione iniziale fissa della mano e il recipiente contenente il cibo. In questo caso però, dopo che il cibo era stato collocato nella fessura, il contenitore veniva chiuso con un coperchio mentre la

scimmia poteva osservare liberamente l'operazione attraverso lo schermo trasparente. Il coperchio era costituito da un disco di plastica opaco (diametro 4cm, spessore 1 cm) dotato, sulla porzione superiore, di una fessura identica a quella presente all'interno del contenitore. Al centro di questa fessura era fissato un appiglio metallico sferico (diametro 1cm) che la scimmia doveva afferrare per rimuovere il coperchio. Tali accorgimenti avevano la funzione di costringere la scimmia ad effettuare sempre una identica presa di precisione ("presa a pinza"), in tutti gli atti motori della sequenza implicanti un afferramento.

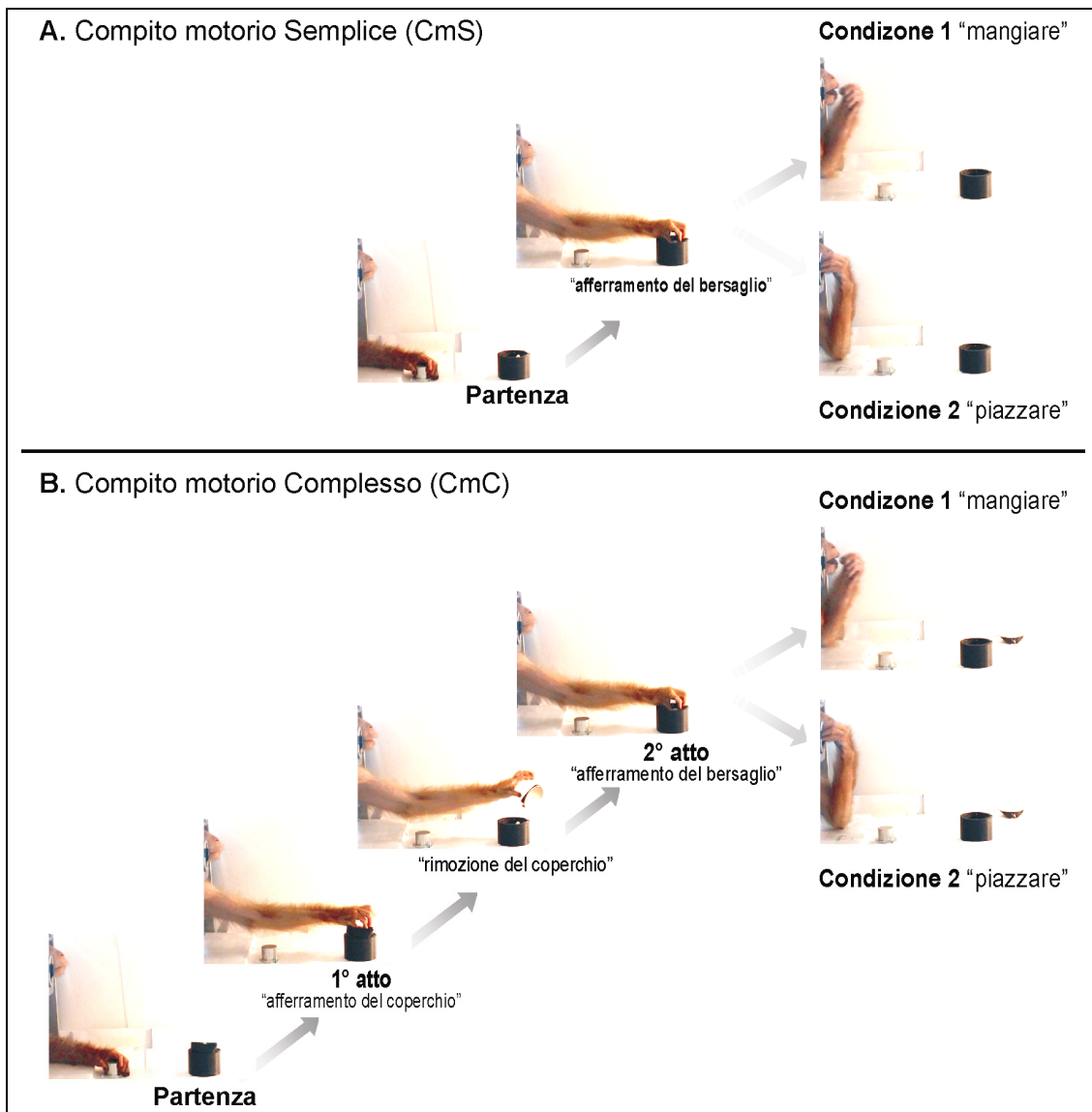


Figura 2.1. I compiti motori semplice (A) e complesso (B).

La scimmia teneva la mano sul cilindro di partenza fino a quando lo schermo trasparente veniva rimosso (segnale di partenza), consentendole di raggiungere e afferrare

rare l'appiglio sul coperchio, rimuoverlo, e quindi raggiungere e afferrare il cibo nel contenitore per portarlo alla bocca e mangiarlo (Condizione 1), oppure per piazzarlo nel recipiente collocato di fianco alla bocca (Condizione 2). Dopo l'afferramento e rimozione del coperchio, identica nelle due condizioni sperimentali, il compito proseguiva di fatto ricalcando esattamente la sequenza del CmS.

Procedura sperimentale per CmS e CmC

Le condizioni sperimentali 1 e 2 venivano acquisite in modo alternato (10 prove per condizione), registrando simultaneamente CmS e CmC. Tuttavia, se la scimmia toglieva la mano dal punto di partenza prima dell'inizio della prova, commetteva errori nell'esecuzione delle condizioni sperimentali o compiva movimenti diversi da quelli per i quali era stata addestrata in precedenza, la prova in questione veniva scartata e ripetuta, e l'animale non riceveva il rinforzo. Le prove relative ai due compiti nelle due condizioni sperimentali risultano perciò acquisite in un ordine "pseudo-randomizzato".

2.1.3. Il compito visivo semplice (CvS)

Nel CvS lo sperimentatore eseguiva, di fronte alla scimmia, la stessa sequenza di atti motori che la scimmia eseguiva nel CmS. L'apparato utilizzato per il compito consisteva di un tavolo in plexiglass (40 x 50 cm) posizionato di fronte allo sperimentatore a 97 cm dalla scimmia. Una superficie metallica (5 x 6 cm) utilizzata come punto di partenza era localizzata all'estremità del piano vicina allo sperimentatore, sullo stesso asse sagittale passante per il cilindro di partenza della scimmia. Il bersaglio che lo sperimentatore afferrava nel corso delle prove previste dal compito era posizionato sul tavolo ad una distanza di 20 cm dal punto di partenza. L'oggetto afferrato poteva essere un cubetto di cibo o un piccolo solido metallico. Un contenitore identico a quello utilizzato per la Condizione 2 del CmS era fissato a 14 cm di distanza dal target, verso lo spazio ipsilaterale all'emisfero dal quale venivano effettuate le registrazioni. Il contenitore era però presente soltanto durante le prove in cui l'oggetto afferrato doveva essere piazzato (Condizione 2), fornendo quindi un'informazione essenziale alla scimmia per poter prevedere l'esito più probabile dell'azione in corso.

Analogamente al CmS, anche il CvS constava di due distinte condizioni sperimentali. Entrambe prevedevano che lo sperimentatore afferrasse un cubetto di cibo o un oggetto metallico nella posizione fissata; dopodiché, il cibo veniva portato alla bocca e mangiato (Condizione 1), mentre il cubetto veniva spostato lateralmente e piazzato nel contenitore (Condizione 2). La scimmia osservava la scena senza dover fare nulla e sal-

tuariamente riceveva un pezzetto di cibo (diverso da quello utilizzato nel CvS dallo sperimentatore) o succo di frutta, per mantenere un buon livello di attenzione sulle azioni dello sperimentatore.

Se durante una prova la scimmia si muoveva attivamente o non prestava attenzione all'azione dello sperimentatore, la prova veniva scartata e ripetuta. Le condizioni venivano effettuate in piccoli blocchi costituiti da un numero compreso tra 2 e 4 prove, mantenendo solamente le informazioni contestuali rilevanti per il tipo di azione da eseguire (ovvero il tipo di bersaglio e la presenza/assenza del contenitore, in relazione alla condizione sperimentale).

2.2. Impianto del sistema di fissaggio della testa e della camera di registrazione

Al termine della fase di addestramento, le scimmie sono state sottoposte ad un primo intervento chirurgico per il posizionamento del sistema di fissaggio della testa, e, successivamente, per l'apertura della breccia ossea sovrastante la regione corticale di interesse. L'intervento chirurgico è stato eseguito in condizioni di asepsi e di anestesia generale indotta mediante iniezioni intramuscolari ripetute di Ketamina (6,4 mg/Kg) e Medetomidina (0,08 mg/Kg).

Il sistema di fissaggio della testa era costituito da quattro cilindri metallici cavi solidali con il cranio dell'animale. I cilindri sono stati posizionati, bilateralmente, in punti simmetrici delle regioni temporale anteriore ed occipitale e il loro ancoraggio alla parete ossea è stato realizzato mediante quattro viti in titanio fissate al cranio in prossimità di ciascun cilindro. Cilindri e viti sono stati poi uniti in un complesso stabile per mezzo di un raccordo di cemento acrilico antibiotico (Antibiotic Simplex©).

I quattro cilindri cavi costituivano l'alloggio, nel corso delle sedute sperimentali, per altrettante barrette metalliche inserite in un reggitesta ancorato alla sedia che consentiva di mantenere fissa e immobile la testa dell'animale durante la registrazione elettrofisiologica.

Dopo aver atteso almeno un mese dopo l'impianto del sistema di fissaggio per consentirne la stabilizzazione e il consolidamento, la scimmia proseguiva l'addestramento ai compiti sperimentali con la testa fissata in modo da abituarsi, prima degli esperimenti, alla nuova condizione di maggiore restrizione. Conseguito il raggiungimento di un livello ottimale di prestazione anche in questa condizione era possibile procedere al secondo intervento chirurgico per l'apertura della breccia ossea sovrastante la regione corticale d'interesse (dalla convessità precentrale della corteccia premotoria

laterale alla convessità post-centrale del lobulo parietale inferiore), individuata utilizzando coordinate stereotassiche provenienti da casistiche precedenti.

La camera di registrazione, costituita da una struttura in titanio, è stata costruita sulla base di un calco della porzione di calotta cranica da rimuovere ottenuto durante l'intervento di impianto del sistema di fissaggio. L'ancoraggio della camera all'osso è stato realizzato per mezzo di viti autofilettanti in titanio e il perimetro è stato sigillato e rinforzato mediante l'applicazione di un raccordo di cemento acrilico antibioticato. Al termine dell'intervento, la camera di registrazione che circondava la superficie durale, veniva riempita a scopo protettivo con olio di vaselina sterile e sigillata temporaneamente mediante un tappo in alluminio avvitato alla camera stessa. Prima della conclusione dell'intervento chirurgico è stata effettuata una misurazione, in coordinate stereotassiche, di un angolo della camera di registrazione che sarebbe poi stato utilizzato come punto di reperi per la griglia di registrazione.

2.3. Tecniche di registrazione

L'attività neuronale è stata registrata mediante elettrodi di tungsteno ricoperti di vetro (impedenza compresa tra 0.5 e 1 M Ω), introdotti singolarmente attraverso la superficie durale integra mediante un micromanipolatore fissato ad un braccio stereotassico. L'avanzamento degli elettrodi era controllato da un sistema meccanico di precisione, gestito da un software computerizzato specifico (EPS, Alpha Omega, Nazareth, Israele) che permetteva di determinare velocità e ampiezza dello spostamento di ogni elettrodo in profondità.

Il segnale rilevato dall'elettrodo veniva filtrato e amplificato da un sistema dedicato (MCP*plus*), poi inviato parallelamente ad un oscilloscopio, per ottenerne il monitoraggio in tempo reale, ad un computer, per la registrazione della traccia analogica multiunitaria, e ad un discriminatore di singole unità (BAK electronics, inc., Germantown, MD, USA), che consentiva di separare dal segnale complessivo le componenti di ampiezza e frequenza riconducibili all'attività elettrica di singoli neuroni. Anche il segnale d'uscita del discriminatore di singole unità, in formato digitale, veniva inviato insieme alla traccia analogica multiunitaria, al computer per la registrazione e, parallelamente, ad un amplificatore audio ed all'oscilloscopio per un ottenerne un monitoraggio in tempo reale.

Sia nei compiti motori (CmS e CmC) che in quello visivo (CvS), sono stati utilizzati circuiti per la detezione di contatto per consentire di registrare, simultaneamente ai

segnali neurali analogico e digitale, anche i segnali relativi ai principali eventi comportamentali: il distacco della mano dal punto di partenza (trigger della prova), il contatto della mano con il bersaglio (cibo o oggetto, nel CmS e durante il secondo atto di afferramento del CmC, oppure il coperchio, nel caso del primo atto del CmC) e il contatto della mano con il bordo del contenitore nella Condizione 2. Questi segnali sono stati utilizzati per allineare le prove registrate sugli eventi di maggior interesse e, successivamente, per costruire gli istogrammi della risposta e selezionare l'attività neuronale da sottoporre ad analisi statistica. L'acquisizione dell'attività neuronale e degli eventi comportamentali associati è stata effettuata mediante un software implementato in LAB-VIEW 7.1.

2.3.1. Registrazione della cinematica del movimento

La cinematica dei movimenti di pollice, indice e polso della scimmia durante l'esecuzione dei compiti sperimentali è stata registrata mediante una videocamera digitale a colori (Sony DCR-TRV30E), con una risoluzione di 720x576 pixel a 25 frame/s. L'elaborazione dei video mediante un programma computerizzato di "tracking" sviluppato in Visual C++ ne ha poi consentito l'analisi in fotogrammi de-interlacciati (50 frame/s). La videocamera è stata collocata a 1.2 m di distanza dall'arto in movimento, perpendicolarmente al piano in cui era contenuta la traiettoria descritta dalla mano durante l'esecuzione del compito. Marcatori bianchi circolari di circa 4mm di diametro sono stati applicati in corrispondenza della punta dell'ultima falange di pollice e indice e a livello dell'apofisi stiloide del polso. Le prove effettuate dalla scimmia – 10 per ogni condizione, in ordine randomizzato – sono state videoregistrate e scaricate su computer per un'analisi fotogramma per fotogramma. I dati relativi alle coordinate cartesiane di ciascun marcatore venivano esportati in un foglio di calcolo di Microsoft Excel per la trasformazione dei valori in distanze spaziali e la rappresentazione grafica delle traiettorie del polso e delle dita.

Infine, sono stati calcolati diversi parametri per la descrizione generale del movimento e l'individuazione delle caratteristiche cinematiche associate alle epoche temporali studiate nei due compiti, semplice e complesso, ovvero: tempo di raggiungimento del target e tempo al picco di apertura delle dita; tempo medio di chiusura delle dita sull'oggetto/cibo e sollevamento dell'oggetto/cibo dal supporto; durata della fase di trasporto dell'oggetto/cibo verso la bocca o verso il contenitore collocato di fianco ad essa. Da questi parametri è stato anche possibile ricavare dati rispetto alla durata complessiva di ciascuna sequenza nelle condizioni sperimentali testate.

2.4. Paradigma di studio dell'attività neuronale preliminare alla registrazione

Ciascun neurone isolato dall'attività multiunitaria veniva preliminarmente studiato singolarmente per identificarne le proprietà funzionali somatosensoriali, visive e motorie: questa procedura assumeva un'importanza cruciale in quanto volta a determinare l'idoneità del neurone ad essere registrato durante l'esecuzione dei compiti sperimentali. Lo scopo degli esperimenti era infatti quello di studiare la risposta motoria di neuroni di afferramento delle aree F5 e PFG durante l'esecuzione di sequenze d'azione, semplici o complesse, ed eventualmente durante l'osservazione delle stesse sequenze eseguite dallo sperimentatore di fronte alla scimmia che osservava (nel caso di neuroni "mirror"). Il ricorso alla valutazione clinica preliminare di ciascuna cellula costituiva una misura di controllo ulteriore rispetto al controllo intrinseco ai paradigmi sperimentali, permettendo di escludere dallo studio quei neuroni con predominanti risposte di tipo visivo aspecifico, tattile o propriocettivo che non erano d'interesse per gli esperimenti e potevano al contrario rappresentare possibili fattori di confusione.

Proprietà somatosensoriali

Le proprietà dei neuroni registrati di tipo tattile, sia superficiale che profondo, sono state esaminate sfiorando o toccando la cute dell'animale con la mano, con un battuffolo di cotone, un pennellino o uno strumento appuntito, oppure esercitando pressioni più intense sulla cute o sui ventri muscolari. Muovendo passivamente le articolazioni è stato possibile verificare anche la presenza di risposte articolari o propriocettive.

Proprietà visive

Le proprietà visive sono state studiate presentando alla scimmia cibo ed oggetti di varia forma e dimensione, con particolare attenzione ai pezzetti di cibo o agli oggetti che sarebbero stati impiegati per i compiti sperimentali. Per valutare le risposte neuronali agli stimoli in movimento, oggetti di varia forma e dimensioni, frutti o pezzetti di cibo venivano mossi a diverse velocità e con movimenti rotatori o rettilinei, a partire da differenti posizioni nello spazio, in direzione orizzontale, verticale o sagittale a differenti distanze dalla scimmia, sia nello spazio extrapersonale che in quello peripersonale. Le risposte neuronali all'osservazione di azioni biologiche sono state valutate presentando alla scimmia una serie di azioni finalizzate eseguite dallo sperimentatore nello spazio extrapersonale dell'animale, per identificare quali e quante azioni fossero efficaci nell'attivare i neuroni e verificarne la specificità per azioni biologiche transitive (cioè dirette ad oggetti e non semplicemente mimate). Le risposte classificate "mirror" dovevano essere selettive per l'osservazione di una o più azioni transitive in assenza di signi-

ficative risposte alla semplice presentazione, sulla mano o su un supporto, dei soli oggetti bersaglio. Inoltre, i neuroni “mirror” dovevano presentare chiare risposte motorie durante azioni attivamente eseguite dalla scimmia, anche “al buio”, cioè in assenza di accesso visivo diretto alla mano in movimento.

Proprietà motorie

Le azioni studiate potevano essere eseguite con la mano (prendere, piazzare, spostare, manipolare con due mani, rompere o strappare) o, analogamente, con la bocca. Dopo una prima valutazione della scarica neuronale in rapporto ai movimenti spontanei, le risposte motorie venivano studiate presentando cibo ed oggetti di varia forma e dimensione in modo da indurre la scimmia ad eseguire vari tipi di azioni. Le azioni oggetto d'interesse erano, evidentemente, quelle eseguite con la mano. In particolare, scartata preliminarmente la possibilità che le proprietà somatosensoriali e visive potessero rendere conto della risposta del neurone anche durante il movimento attivo, veniva valutata soprattutto la correlazione della scarica con gli atti di afferramento testati sia in condizioni naturalistiche, sia bloccando l'avambraccio per valutare la risposta all'afferramento isolata dalla componente di raggiungimento (proiezione del braccio verso il bersaglio). La scarica motoria veniva testata anche “al buio”, cioè precludendo alla scimmia con un piano opaco la visione della propria mano durante l'afferramento. Infine, veniva testata l'eventuale bilateralità della risposta, ripetendo gli stessi test su entrambe le mani. In presenza di risposte motorie di mano e bocca, anche le risposte ad azioni specifiche eseguite con questo effettore (afferrare con la bocca, mordere, masticare, succhiare o leccare) venivano sistematicamente testate, per evitare di acquisire neuroni la cui eventuale scarica sostenuta durante l'afferramento finalizzato a mangiare potesse dipendere da una duplice risposta all'afferramento, prima con la mano poi con la bocca, che sarebbe stata incompatibile con la valutazione delle ipotesi sperimentali di questo studio poiché non avrebbe potuto presentarsi durante le condizioni di “prendere per piazzare” che non includono atti motori di bocca, dando luogo ad un “falso positivo”.

Solo quei neuroni che presentavano risposte motorie durante l'afferramento potevano essere studiati più approfonditamente nel CmS e CmC. Inoltre, i neuroni di afferramento che presentavano proprietà mirror venivano studiati anche nel CvS.

2.5. Analisi statistiche

2.5.1. Analisi cinematica del movimento

Le analisi statistiche della cinematica per verificare la presenza di eventuali differenze sistematiche tra le due condizioni sperimentali di base riguardavano i seguenti parametri, calcolati su dieci prove alternate e correttamente eseguite per ciascuna condizione del CmS e CmC: 1) la media del picco di velocità istantanea del polso; 2) la media della massima apertura delle dita; 3) la latenza nell'inizio del movimento della mano calcolata a partire dall'inizio della rimozione dello schermo di partenza dal piano d'appoggio; 4) la durata totale media della prova. Le analisi sono state condotte applicando t-test per dati dipendenti al fine di valutare la significatività di eventuali differenze dei parametri calcolati tra le due condizioni sperimentali

Infine, sono stati calcolati diversi parametri più specifici per identificare alcune fasi cinematiche del movimento: la fase di conformazione della mano (o *shaping*, corrispondente al periodo temporale compreso tra l'inizio della prova e il picco di massima apertura delle dita); la fase di afferramento effettivo (o *actual grasping*, dalla massima apertura delle dita alla completa presa di possesso del bersaglio coincidente con il suo sollevamento dal piano d'appoggio); la fase di trattenimento (o *holding*, corrispondente al periodo compreso tra il completamento dell'*actual grasping* e la fine dell'atto motorio, escludendo l'atto di afferramento del cibo con la bocca nel caso della Condizione 1). L'individuazione di queste fasi ha consentito di definire altrettante epoche temporali per lo studio dell'attività neuronale che includessero le fasi cinematiche indicate. La significatività delle eventuali differenze nella durata di tali epoche tra le condizioni sperimentali 1 e 2 e tra le due scimmie utilizzate per gli esperimenti è stata valutata applicando t-test per dati dipendenti.

2.5.2. Analisi del singolo neurone

Per verificare se l'attività del neurone differisse significativamente tra le condizioni sperimentali l'attività di ogni cellula, espressa in frequenza di scarica media (spike/secondo), è stata misurata entro diverse Epoche temporali corrispondenti ad eventi comportamentali specifici. L'Epoca 1 corrispondeva sempre ai primi 600ms di ciascuna prova ed iniziava perciò 2 secondi prima del distacco della mano dal punto di partenza (attività basale del neurone a riposo). Le epoche successive venivano stabilite in rela-

zione all'evento comportamentale d'interesse cui doveva essere correlata la risposta neuronale, come sarà illustrato in seguito.

Per il confronto della scarica nelle diverse epoche e condizioni è stata utilizzata sempre un'ANOVA a due vie per misure ripetute (fattori: Condizione ed Epoca), dove i livelli del fattore Condizione erano sempre due (Condizione 1 – “prendere per mangiare”, Condizione 2 – “prendere per piazzare”), mentre quelli del fattore Epoca erano variabili in funzione delle ipotesi sperimentali indagate. I criteri di scelta e definizione temporale specifica di ciascuna epoca, nonché il numero delle epoche considerate, saranno illustrati nei paragrafi successivi poiché diversi in relazione alle ipotesi sperimentali indagate.

Analisi con epoca unica (afferramento) dei neuroni acquisiti nel CmS e nel CvS

I neuroni acquisiti nei CmS e CvS sono stati dapprima sottoposti ad un'analisi generale finalizzata a verificare la significatività della risposta all'afferramento e l'eventuale differenza di scarica tra le condizioni sperimentali indagate, utilizzando una procedura analoga a quella già adottata in un precedente studio (Fogassi et al., 2005). Oltre l'Epoca 1, corrispondente all'attività basale del neurone, è stata individuata una sola ulteriore Epoca della durata di 600 ms, corrispondente all'intervallo temporale compreso tra 280 ms prima e 320 ms dopo il contatto della mano con il bersaglio (afferramento). La scelta di questa epoca è stata motivata dalla necessità di includere nella risposta all'afferramento sia la fase di conformazione della mano rispetto al bersaglio (*shaping*), durante la fase di raggiungimento, sia l'effettiva chiusura delle dita (*actual grasping*) e la presa di possesso del bersaglio (inizio della fase di *holding*).

La risposta di ciascun neurone registrata nel CmS e nel CvS è stata dunque analizzata mediante ANOVA 2x2 per misure ripetute (fattori: Condizione ed Epoca), seguita da un test post-hoc di Newman-Keuls in caso di significatività dell'effetto interattivo Condizione x Epoca al fine di confrontare l'attività neuronale registrata durante l'Epoca 2 (afferramento) tra le due condizioni sperimentali. Tutte le analisi sono state condotte utilizzando come criterio soglia di significatività $p < 0.05$. I neuroni che rispondevano in modo significativo all'afferramento e presentavano una differenza di scarica tra le condizioni sperimentali, in accordo con studi precedenti (Fogassi et al., 2005), sono stati ritenuti “influenzati dallo scopo dell'azione” (AGR o “Action Goal Related”).

Il numero dei neuroni inclusi in ciascuna delle tre diverse categorie individuate (AGR per la Condizione 1, 2 e non-AGR), è stato confrontato tra le categorie mediante test Chi-quadrato applicati sia entro la singola area (PFG o F5), sia tra le due aree.

Analisi a tre epoche dei neuroni di afferramento AGR acquisiti nel CmS

Tutti i neuroni di afferramento risultati AGR sulla base della prima analisi con epoca unica, sia in PFG che nell'area F5, sono stati sottoposti ad una ulteriore analisi basata sulla suddivisione del periodo di afferramento di 600 ms in tre epoche distinte della durata di 200 ms ciascuna (vedi par. 2.5.1). Nella descrizione che segue è riportata la delimitazione in termini temporali delle epoche definite su base cinematica allineate con un tempo "0" coincidente con il momento del contatto della mano con il bersaglio dell'azione.

La prima epoca (*shaping*, da -279 a -80 ms) comprendeva il picco di massima apertura della mano, la seconda (*actual grasping*, da -79 a +120 ms) comprendeva la fase di chiusura della mano e quindi includeva il momento del contatto con il bersaglio (al tempo "0"), la terza (*holding*, da +121 a +320) iniziava dalla conclusione dell'afferramento e si concludeva in coincidenza con l'afferramento del cibo con la bocca nella Condizione 1 o il contatto della mano col contenitore nella Condizione 2, non comprendendo generalmente tali eventi. Quest'ultimo dato trova anche conferma diretta sui singoli neuroni se si considera la distanza temporale tra i segnali di detezione di contatto mano-target (verde) rispetto a mano-contenitore (arancio) che definiscono precisamente la durata della fase di *holding* nella Condizione 2, e che sono mediamente superiori al valore di 320 ms.

Lo scopo di quest'analisi era quello di verificare eventuali differenze tra le due aree nel numero di neuroni attivi durante la fase conclusiva dell'azione di afferramento. Pertanto, è stata considerata la risposta dei neuroni (già dimostrati AGR mediante l'analisi precedentemente descritta) nella sola condizione sperimentale "preferita". L'analisi statistica applicata in questo caso è stata dunque una ANOVA ad una via per misure ripetute, utilizzando come unico fattore l'Epoca (4 livelli: attività basale, "shaping", "actual grasping" e "holding"), seguita da un test post-hoc di Newman-Keuls per verificare in quale, o quali, delle epoche considerate la cellula fosse significativamente attiva rispetto al suo valore di attività basale. I neuroni individuati in ciascuna area sono stati classificati in cinque categorie: "shaping-grasping", "actual grasping", "grasping-holding", "holding" e "intero atto". Il numero di neuroni attivi durante l'ultima epoca (holding) in ciascuna area (ovvero quelli appartenenti alle ultime tre categorie), è stato confrontato mediante test Chi-quadrato per verificare eventuali differenze tra F5 e PFG.

Analisi di parametri temporali relativi al picco di scarica

Per tutti i neuroni di afferramento AGR è stato calcolato il valore temporale corrispondente al picco di attività nella condizione preferita rispetto all'istante del contatto della mano col bersaglio. A tal fine si è fatto riferimento alla risposta neuronale in ter-

mini di attività netta normalizzata media. Per l'intera successione di bin (20 ms ciascuno) corrispondenti alle variazioni di attività della cellula è stata ricavata una media mobile con periodo uguale a 3 (60 ms). Ciascun valore medio così calcolato è stato associato all'intervallo temporale corrispondente al secondo dei tre bin mediati per ottenerlo. L'intervallo temporale corrispondente al maggiore tra tutti i valori di media mobile ottenuti è stato considerato il tempo del picco di scarica (questa procedura riduce l'impatto di possibili artefatti o variazioni casuali dell'attività, assumendo che un picco di scarica fisiologicamente rilevante sia preceduto e seguito da valori di attività similmente elevati).

Rispetto al tempo del picco sono stati calcolati altri due parametri: 1) l'intervallo temporale tra il tempo del picco di scarica e il primo bin *precedente* uguale a 0 (o negativo), corrispondente all'attività di base del neurone (trattandosi di attività netta il neurone ha attività di base uguale a 0), definito come tempo di aumento della scarica ("rising"); 2) l'intervallo temporale tra il tempo del picco di scarica e il primo bin *successivo* uguale a 0 (o negativo), corrispondente al ritorno ad un livello di attività di base del neurone, definito come tempo di caduta della scarica ("falling"). La somma dei tempi di "rising" e "falling" corrisponde alla durata totale della risposta del neurone.

La differenza nel tempo del picco di scarica tra i neuroni di PFG ed F5 è stata valutata confrontando i valori del picco nelle condizioni preferite di tutti i singoli neuroni AGR tra le due aree mediante test t per dati indipendenti. La stessa procedura è stata applicata per confrontare i tempi di "rising", "falling" e la durata totale della risposta.

Analisi dei neuroni acquisiti nel CmC

I neuroni acquisiti nel CmC sono stati analizzati in modo analogo a quelli acquisiti nel CmS, individuando però due distinte epoche oltre quella relativa all'attività basale. L'Epoca 2 corrispondeva all'esecuzione del primo atto di afferramento della sequenza del CmC, ovvero quello diretto all'appiglio sul coperchio da rimuovere. Rispetto all'istante del contatto della mano della scimmia con l'appiglio del contenitore l'epoca 2 veniva considerata a partire da 250 ms prima e fino a 160 ms dopo tale evento. L'Epoca 3 corrispondeva all'esecuzione del secondo atto di afferramento, ovvero quello diretto al bersaglio nel contenitore. Rispetto al contatto della mano della scimmia con il bersaglio l'epoca 3 veniva considerata a partire da 120 ms prima fino a 160 ms dopo tale evento. La differenza nella durata delle epoche dipende dalla diversa durata della fase di shaping che precede il contatto della mano col bersaglio nei due diversi atti: il periodo temporale dopo il contatto è infatti identico tra le due condizioni. L'unità di misura utilizzata per l'attività del neurone (frequenza di scarica in spike/secondo) ha comunque consentito una normalizzazione della risposta rispetto al tempo. I dati relativi alle risposte

dei singoli neuroni nel CmC sono stati analizzati applicando una ANOVA 2x3 per misure ripetute (fattori: Condizioni ed Epoca), seguita da test post-hoc di Newmann-Keuls per identificare quali atti di afferramento fossero codificati in maniera significativa rispetto all'attività basale del neurone ed eventualmente in modo differente nelle due condizioni sperimentali.

Tutti i neuroni in cui è stato tecnicamente possibile sono stati acquisiti nel CmS e CmC contemporaneamente, utilizzando una batteria unica di 4 condizioni (Condizione 1 e 2 per ogni compito) di dieci prove ciascuna, registrate in modo randomizzato. Una seconda analisi è stata effettuata in tutti questi neuroni per verificare eventuali differenze nell'intensità di scarica tra i due atti di afferramento del CmC e tra il secondo atto del CmC e l'atto singolo del CmS. A tale fine la risposta è stata selezionata in una finestra temporale unica, più ristretta, della durata di 280 ms e identica in tutte le condizioni. Tale finestra include tutta la fase di "actual grasping", in quanto inizia 120 ms prima del contatto della mano della scimmia col bersaglio e termina 160 ms dopo tale evento. La differenza tra la risposta all'afferramento nel CmS e quella durante il secondo atto del CmC nelle due condizioni sperimentali (entrambi preludono immediatamente il conseguimento dello scopo d'azione) è stata testata applicando una ANOVA 2x2 per misure ripetute (fattori: Compito e Condizione). La differenza tra la risposta all'afferramento durante l'esecuzione del primo atto del CmC e quella durante l'esecuzione del secondo atto dello stesso CmC nelle due condizioni sperimentali è stata valutata in modo analogo, applicando una ANOVA 2x2 per misure ripetute (fattori: Atto e Condizione).

2.5.3. Analisi di popolazione

Le analisi di popolazione condotte in questo studio sono state realizzate seguendo sempre la medesima procedura. Le differenze tra le varie analisi riguardano pertanto unicamente la domanda sperimentale di base in funzione della quale sono stati selezionati neuroni diversi da sottoporre ad analisi con la stessa procedura, descritta di seguito.

La durata di ciascuna prova in cui ogni neurone incluso nella popolazione da analizzare era stato acquisito è stata suddivisa in intervalli di 20 ms ciascuno (bin). L'attività neuronale, allineata su un unico evento di interesse (il contatto della mano con il bersaglio di un atto di afferramento), è stata poi ricalcolata in termini di frequenza di scarica media, per bin, tra le dieci prove di ogni condizione da confrontare. Al valore di ciascun bin è stata poi sottratta una costante, diversa per ciascuna condizione, corrispondente alla risposta media del neurone durante il periodo di attività basale. Per ogni condizione è stata così ottenuta una sequenza di 200 valori corrispondente al profilo di

attività neuronale nel tempo (4 secondi) al netto della sua risposta di base. Di ogni condizione è stato poi individuato il valore massimo, e il valore maggiore tra tutti i massimi ricavati dalle condizioni da confrontare è stato utilizzato come riferimento in funzione del quale esprimere il valore di ogni bin. Il risultato è dunque una nuova sequenza di 200 valori per ogni condizione che esprimono l'attività netta del neurone normalizzata rispetto al picco massimo di attività di quel neurone in una delle condizioni confrontate: la risposta ha perciò sempre picco uguale a 1 e linea di base mediamente nulla. In questa forma, l'attività di neuroni diversi può essere mediata e considerata complessivamente in termini di popolazione.

Le analisi statistiche condotte sulla popolazione sono sostanzialmente analoghe a quelle condotte su singole cellule: il contributo di ciascuna cellula inclusa è dato dal valore medio della sua risposta netta normalizzata in ciascuna delle epoche considerate nelle diverse condizioni. L'analisi di popolazione dei neuroni AGR è stata effettuata sottoponendo i dati ad una ANOVA 2x2 per misure ripetute (fattori: Condizione ed Epoca), mantenendo separate le popolazioni selettive per ogni specifico scopo d'azione ("mangiare" oppure "piazzare"). Una ulteriore analisi è poi stata effettuata sugli stessi dati attribuendo la condizione preferita da ciascun neurone alla categoria "preferita", e l'altra condizione alla categoria "non preferita". In questo caso i dati sono stati analizzati mediante ANOVA 2x2 per misure ripetute (fattori: Categoria ed Epoca), seguita da test post-hoc di Newmann-Keuls.

Un'analisi analoga è stata condotta sui dati del CmS relativi a neuroni "mirror". In questo caso sono state condotte due analisi separate, identiche a quelle applicate per l'analisi del CmS, alle risposte motoria e visiva. Una sottopopolazione di neuroni per cui erano disponibili sia la risposta nella modalità motoria che in quella visiva è stata ulteriormente analizzata normalizzando tutte le condizioni (1 e 2 in entrambi i compiti, CmS e CvS) allo stesso valore massimo, rendendo così comparabili anche le due modalità. Anche in questo caso i dati sono stati poi analizzati applicando una ANOVA 2x2 per misure ripetute (fattori: Condizione ed Epoca) alle scariche motoria e visiva separatamente. Un'analisi successiva ha poi consentito di verificare l'entità della differenza tra la risposta motoria e quella visiva, comparando mediante test t per dati dipendenti la risposta media dei neuroni inclusi nella popolazione nelle due modalità.

Il CmC è stato analizzato in maniera analoga al CmS: la procedura di normalizzazione dei dati seguita era identica a quella già illustrata per il CmS. Una ANOVA 2 x 3 (fattori: Condizione ed Epoca) è stata applicata alla risposta media normalizzata netta di ciascun neurone nelle epoche considerate, seguita poi da test post-hoc di Newmann-Keuls per verificare se la risposta nella condizione o categoria "preferita" fosse signifi-

cativamente maggiore rispetto a quella nella condizione “non preferita” nell’epoca di afferramento considerata.

2.5.4. Calcolo dell’indice di preferenza (IP) per una condizione

Per quantificare l’ammontare della preferenza espressa dalla risposta di un neurone per due diverse condizioni sperimentali è stato calcolato un indice di preferenza (IP), modificando una formula di Moody e Zipser (1998) per un numero di condizioni uguale a 2.

$$IP = 1 - \frac{r_n}{r_{pref}}$$

dove r_{pref} rappresenta l’attività espressa dal neurone nella condizione preferita, mentre r_n l’attività del neurone nella condizione non preferita. L’IP può variare tra 0 e +1, e il valore 0 indica la stessa intensità di risposta per le due condizioni, mentre +1 corrisponde al caso in cui la scarica sia assente per la condizione non preferita ($r_n=0$).

2.5.5. Calcolo dell’attività netta normalizzata differenziale

Alcune analisi sono state condotte utilizzando come variabile dipendente la variazione nel tempo dell’attività netta normalizzata differenziale, considerando tre epoche più brevi in cui è suddivisibile il periodo relativo all’atto di afferramento (“shaping”, “actual grasping” e “holding”, vedi par. 2.5.1). I valori di tale variabile sono ricavabili semplicemente mediante la sottrazione dell’attività media nella condizione non preferita dall’attività media nella condizione preferita durante ciascuna delle tre epoche, in ogni neurone. I valori così ottenuti, in ogni cellula, devono poi essere resi confrontabili esprimendo ciascuno in funzione del maggiore dei tre. La stessa procedura applicata ai neuroni delle due aree studiate ha permesso di confrontare ogni epoca con le altre sia entro una singola area che tra PFG ed F5, mediante una ANOVA 3x2 per misure ripetute (fattori: Epoche – a misure ripetute – e Area – come fattore di raggruppamento).

Tutte le analisi statistiche di questo studio sono state condotte considerando significativi valori di $p < .05$.

2.6. Iniezione di WGA: procedure chirurgiche e istologiche

Al termine delle registrazioni elettrofisiologiche su uno dei due animali utilizzati sono state praticate due iniezioni di un tracciante anteretrogrado (WGA) al centro della regione funzionale del LPI destro individuata in base alla maggior concentrazione di neuroni registrati durante i compiti motori e visivo.

I punti per l'iniezione sono stati individuati in coordinate stereotassiche rispetto alla griglia di penetrazioni effettuate durante la registrazione elettrofisiologia. Una limitatissima porzione di corteccia corrispondente al sito in cui sarebbe stata praticata l'iniezione è stata poi esposta mediante rimozione del tessuto connettivo e della dura madre. Le iniezioni sono state eseguite a pressione attraverso una micropipetta di vetro (diametro compreso tra 50 e 150 μm) attaccata ad una siringa di Hamilton (Reno, NV, USA). Il tracciante è stato iniettato approssimativamente 1.4 mm sotto la superficie piaiale in ciascuno dei due siti (vedi figura 3.18C per una ricostruzione dei siti di iniezione in relazione alla griglia di penetrazioni). Dopo l'iniezione la siringa è stata lasciata in situ per 10 minuti per evitare spandimento di tracciante durante la risalita della micropipetta.

Trascorsi due giorni dalle iniezioni, l'animale è stato anestetizzato con un'iniezione di Ketamina cloridrato (15 mg/kg i.m.), seguita da un'iniezione letale e.v. di tiopentale sodico (0.5%) e perfusione attraverso il ventricolo sinistro con soluzione salina 0.9%, paraformaldeide 3.5% ed una soluzione di glicerolo 5%. Tutte le soluzioni sono state preparate in tampone fosfato 0.1M, pH 7.4. Aperto il cranio e rimossa la dura madre, il cervello è stato poi squadrato secondo un sistema di riferimento stereotassico, rimosso e fotografato. Infine, è stato posto in soluzioni crioprotettive di glicerolo al 10% e 20%, con dimetilsulfossido 2% e tamponate a pH 7.4, quindi congelato (-80°C) e tagliato al microtomo congelatore nel piano coronale in sezioni dello spessore di 60 μm .

La distribuzione della marcatura nella regione di interesse (area F5 ipsilaterale) è stata analizzata e plottata in una sezione ogni 600 μm , insieme con i bordi corticali interno ed esterno mediante un sistema computerizzato per evidenziare la localizzazione della marcatura sulle singole sezioni corticali corrispondenti alle coordinate stereotassiche della regione di registrazione in F5.

3. RISULTATI

3.1. Compiti motorio e visivo semplici

Sono stati acquisiti 285 neuroni dell'afferramento da quattro emisferi di due scimmie (M1 ed M2) durante l'esecuzione del Compito motorio Semplice (CmS). In particolare, sono stati registrati 128 neuroni dalla porzione rostrale del lobulo parietale inferiore (area PFG) di entrambi gli emisferi delle due scimmie e 157 neuroni dal banco posteriore del solco arcuato inferiore e dall'adiacente convessità (area F5) dell'emisfero destro di entrambi gli animali.

Inoltre, sono stati registrati anche 63 neuroni "mirror" (NM) dalle aree PFG (N=27) ed F5 (N=36) di entrambe le scimmie durante l'osservazione del compito semplice eseguito da uno sperimentatore (CvS).

3.1.1. Compito motorio

I neuroni dell'afferramento che hanno mostrato un'attività significativamente maggiore durante l'esecuzione di una delle due condizioni del CmS (Condizione 1 "prendere per mangiare" e Condizione 2 "prendere per piazzare"), in accordo con i risultati del lavoro precedentemente citato (Fogassi et al., 2005), sono stati considerati influenzati dallo scopo finale dell'azione in cui l'atto di afferramento codificato era incluso (o *action goal related*, AGR).

I risultati indicano che neuroni AGR sono presenti non solo in PFG, come già riportato in precedenza, ma anche in F5 (vedi tabelle 3.1 e 3.2).

Tabella 3.1. Neuroni dell'afferramento registrati in PFG mediante il CmS.

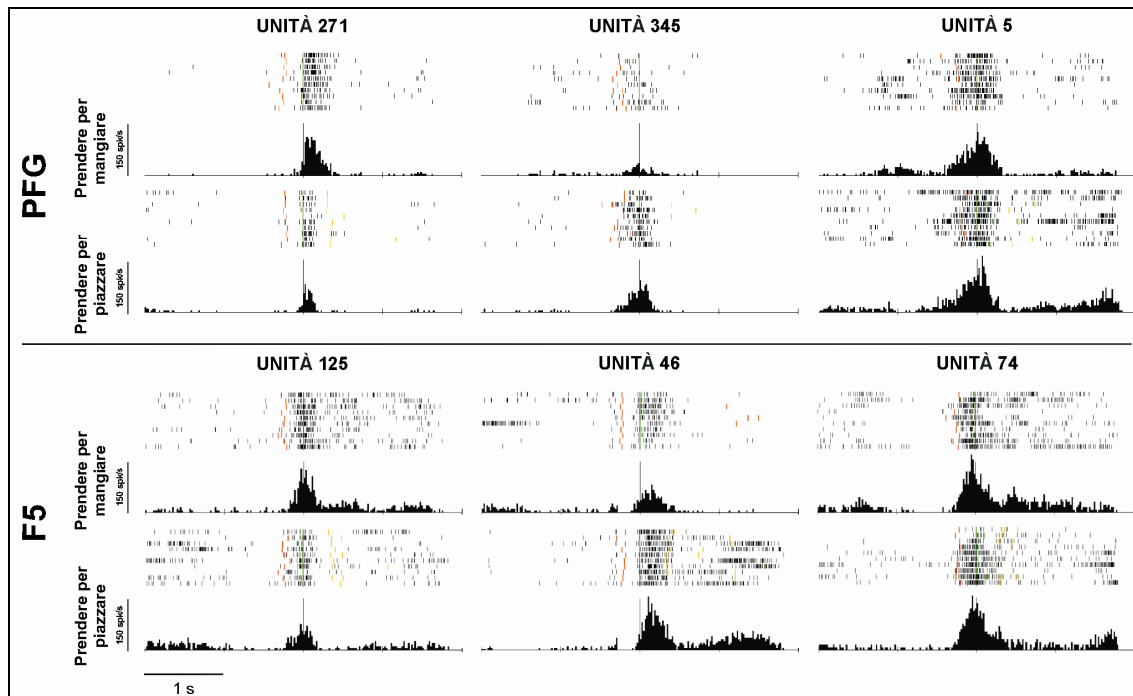
Correlati allo scopo finale (AGR)		Non correlati allo scopo finale	Totale
Mangiare > Piazzare	Piazzare > Mangiare	Mangiare = Piazzare	
53 (75.7%)	17 (24.3%)		
70 (54.7%)		58 (45.3%)	128 (100%)

Tabella 3.2. Neuroni dell'afferramento registrati in F5 mediante il CmS.

Correlati allo scopo finale (AGR)		Non correlati allo scopo finale	Totale
Mangiare > Piazzare	Piazzare > Mangiare	Mangiare = Piazzare	
31 (50.0%)	31 (50.0%)		
62 (39.5%)		95 (60.5%)	157 (100%)

Esempi di neuroni di PFG ed F5 studiati mediante il CmS sono mostrati in Figura 3.1. Le unità 271 e 125 rispondono entrambe durante l'esecuzione di un atto di afferramento, ma scaricano più energicamente durante la Condizione 1 (“prendere per mangiare”) rispetto alla Condizione 2 (“prendere per piazzare il cibo di fianco alla bocca”). Le unità 345 e 46 esemplificano il comportamento opposto: questi neuroni sono infatti maggiormente attivati durante l'esecuzione dell'afferramento quando l'azione è finalizzata a piazzare il cibo di fianco alla bocca (Condizione 2). Infine, le unità 5 e 74 scaricano durante l'esecuzione di un atto di afferramento senza differenze apprezzabili tra le condizioni.

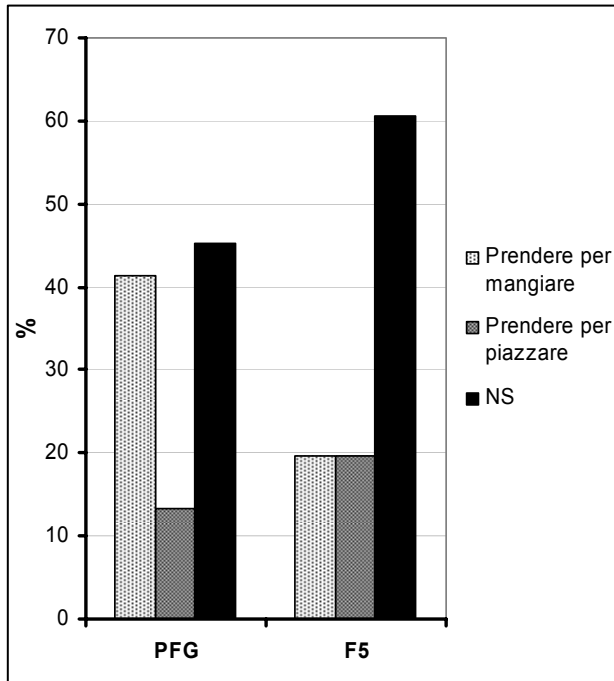
Figura 3.1. Esempi di neuroni di PFG ed F5 registrati durante l'esecuzione del CmS. La porzione superiore di ciascun grafico (raster) evidenzia la successione temporale dei potenziali d'azione registrati dal neurone in ciascuna delle dieci prove. L'istogramma riporta la frequenza di scarica istantanea del neurone calcolata in intervalli (bin) di 20 ms ciascuno. Raster e istogrammi sono allineati al momento del contatto della mano della scimmia con il bersaglio.



La figura 3.2 riassume i risultati dell'analisi condotta su tutti i singoli neuroni registrati in PFG ed F5. Più della metà (54.7%) dei neuroni di afferramento di PFG sono influenzati dallo scopo dell'azione (AGR), coerentemente con quanto riportato in precedenza (Fogassi et al., 2005). Anche nell'area F5 sono presenti neuroni AGR (39.5%), ma la loro percentuale rispetto al totale dei neuroni acquisiti è significativamente inferiore rispetto a quella riscontrata in PFG ($\chi^2=6.55$, $p<.05$). Questa differenza sembra essere attribuibile ad una maggiore proporzione di neuroni che esprimono una preferenza per la Condizione 1 in PFG rispetto ad F5 ($\chi^2=15.92$, $p<.001$), in quanto quelli che pre-

feriscono la Condizione 2 sono equamente rappresentati nelle due aree ($\chi^2=2.10$, *ns*). Inoltre, mentre in PFG il numero dei neuroni AGR che preferiscono la Condizione 1 è

Figura 3.2. Percentuale di neuroni AGR selettivi per la Condizione 1 o 2 e neuroni non AGR nelle aree PFG ed F5.



significativamente maggiore rispetto a quello dei neuroni che preferiscono la Condizione 2 ($\chi^2=25.48$, $p<.001$), nell'area F5 non ci sono differenze tra le due Condizioni.

La figura 3.3 mostra l'intensità e il decorso temporale della risposta delle popolazioni neuronali selettive per "prendere per mangiare" (3.3A) e "prendere per piazzare" (3.3B) di PFG ed F5 durante l'esecuzione del CmS nelle due condizioni. Nel caso delle popolazioni selettive per la Condizione 1 il risultato dell'ANOVA ha rivelato, in entrambe le aree, effetti principali significativi sia per il fattore Condizione [PFG: $F(1,52)=127.26$, $p<.001$; F5: $F(1,30)=149.34$, $p<.001$], sia per

il fattore Epoca [PFG: $F(1,52)=284.87$, $p<.001$; F5: $F(1,30)=318.61$, $p<.001$], oltre ad una interazione significativa tra i due fattori [PFG: $F(1,52)=131.77$, $p<.001$; F5: $F(1,30)=169.95$, $p<.001$]. L'applicazione del test post-hoc di Newman-Keuls ha rivelato che nelle popolazioni neuronali di entrambe le aree la risposta è maggiore nella Condizione 1 rispetto alla Condizione 2 durante la seconda epoca (PFG: $p<.001$; F5: $p<.001$), corrispondente all'afferramento, ma non durante la prima (attività basale). Lo stesso risultato emerge nel caso di entrambe le popolazioni di PFG ed F5 selettive per la Condizione 2, che mostrano effetti principali significativi dei fattori Condizione [PFG: $F(1,16)=69.43$, $p<.001$; F5: $F(1,30)=129.42$, $p<.001$], Epoca [PFG: $F(1,16)=253.13$, $p<.001$; F5: $F(1,30)=302.07$, $p<.001$] ed Interazione tra i due fattori [PFG: $F(1,16)=61.04$, $p<.001$; F5: $F(1,30)=172.77$, $p<.001$]. L'applicazione del test post-hoc di Newman-Keuls ha rivelato che nelle popolazioni neuronali di entrambe le aree la risposta è maggiore nella Condizione 2 rispetto alla Condizione 1 durante la seconda epoca (PFG: $p<.001$; F5: $p<.001$) ma non durante la prima. Per ciascun neurone nelle popolazioni riportate in figura 3.3A e 3.3B la condizione caratterizzata dalla risposta più intensa è stata inclusa nella categoria "preferita", quella caratterizzata dalla risposta più debole nella categoria "non preferita": la figura 3.3C mostra dunque il decorso temporale dell'attività delle popolazioni AGR di PFG ed F5.

Figura 3.3. Intensità e decorso temporale dell'attività delle popolazioni neuronali AGR di PFG ed F5

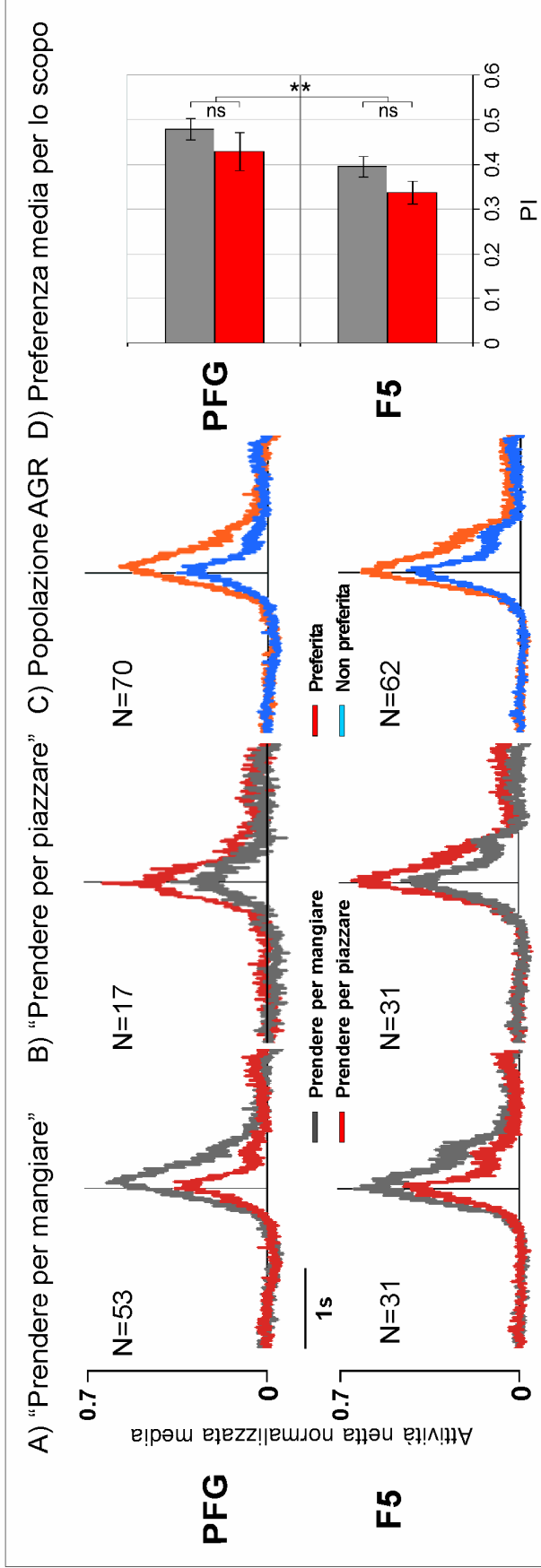
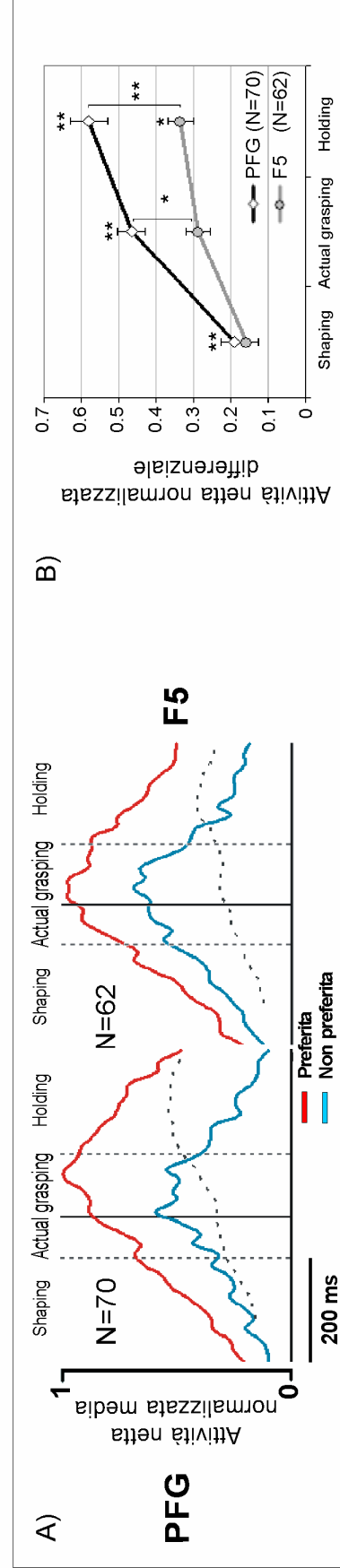


Figura 3.4. A) Decorso temporale dell'attività delle popolazioni neuronali AGR di PFG ed F5 durante l'afferramento; B) risposta differenziale tra le condizioni sperimentali delle stesse popolazioni neuronali durante le tre fasi cinematiche dell'afferramento: "shaping", "actual grasping", "holding".



Per ciascun neurone AGR di PFG ed F5 è stato poi calcolato un indice di preferenza (vedi “materiali e metodi”) per quantificare l’entità della differenza di scarica registrata tra le Condizioni 1 e 2 durante l’esecuzione del CmS. I dati sono stati analizzati mediante ANOVA fattoriale 2x2 (fattori: Area e Condizione). È evidente dall’istogramma riportato in figura 3.3D che la preferenza media per lo scopo d’azione (espressa in termini di Indice di Preferenza medio), è maggiore nelle popolazioni neuronali di PFG rispetto alle stesse di F5 (effetto principale Area $F(1,128)=8.77$, $p<.005$), a prescindere dal tipo di Condizione preferita dai neuroni (effetto principale Condizione ed effetti d’interazione non significativi).

Il periodo temporale corrispondente all’esecuzione dell’afferramento nella figura 3.3C (600 ms) è stato ingrandito in figura 3.4A. La linea curva tratteggiata rappresenta la media mobile (periodo=5) della risposta differenziale dei neuroni nelle categorie preferita e non preferita e mostra una tendenza incrementale della pendenza più pronunciata nella popolazione neuronale di PFG rispetto a quella di F5. Per analizzare formalmente la significatività di tale effetto, il decorso temporale dell’attività neuronale è stato suddiviso in tre epoche (200 ms ciascuna) definite su basi cinematiche e corrispondenti alle fasi motorie di “shaping”, “actual grasping” e “holding” indicate in figura (vedi “materiali e metodi” per la definizione e la delimitazione temporale delle fasi considerate). L’attività netta normalizzata differenziale è stata poi confrontata tra le popolazioni PFG ed F5 nelle tre distinte epoche per mezzo di una ANOVA 3x2 per misure ripetute (fattori: Epoca e Area). I risultati (figura 3.4B) rivelano la presenza di effetti principali dei fattori Area [$F(1,130)=27.77$, $p<.001$], Epoca [$F(2,260)=29.52$, $p<.001$] e dell’interazione tra i due [$F(2,260)=4.01$, $p<.05$]. Mediante test post-hoc di Newman-Keuls è stato possibile precisare che la risposta differenziale di PFG durante l’epoca di “actual grasping” è maggiore rispetto a quella durante la precedente epoca di “shaping” ($p<.001$), e la risposta differenziale durante l’epoca di holding è maggiore rispetto sia a quella durante l’“actual grasping” ($p<.001$) sia a quella durante lo “shaping” ($p<.001$). La risposta differenziale di F5 invece risulta significativamente maggiore soltanto durante l’epoca di “holding” rispetto a quella di “shaping” ($p<.01$). Infine, la differenza tra le due aree nell’entità della discriminazione è inizialmente assente nell’epoca di “shaping”, compare nell’epoca di “actual grasping” ($p<.005$) e permane, aumentando ulteriormente, nell’epoca di “holding” ($p<.001$).

La popolazione dei neuroni di PFG che riflettono lo scopo dell’azione presenta dunque un incremento costante della risposta differenziale tra le due condizioni nel tempo che non è presente nella popolazione analoga dei neuroni di F5. Questa differenza nel comportamento delle due popolazioni neuronali potrebbe derivare da fattori spuri quali, in particolare: 1) un maggior numero di neuroni di PFG rispetto ad F5 che riman-

gono attivi fino all'ultima fase dell'atto di afferramento (holding); 2) una maggiore durata media della scarica dei neuroni di PFG rispetto a quelli di F5 durante l'esecuzione della condizione preferita.

Per verificare la prima ipotesi, la risposta di tutti i neuroni AGR in entrambe le aree è stata sottoposta ad una ANOVA ad una via per misure ripetute (fattore: Epoca a 4 livelli: attività basale, "shaping", "actual grasping", "holding") per definire precisamente in quale epoca (o epoche) mostrassero una risposta significativa rispetto all'attività basale (vedi materiali e metodi). I risultati sono riportati nella tabella 3.3. La maggior parte dei neuroni di afferramento sia di PFG (82.9%) sia di F5 (88.7%) sono attivi durante due o persino 3 delle epoche definite ($\chi^2=0.91$, ns). Si noti inoltre che il numero dei neuroni che nell'epoca di "holding" sono significativamente attivi (ovvero quelli di "grasping-holding", "holding", e "whole act"), non è diverso tra PFG ed F5 ($\chi^2=1.40$, ns).

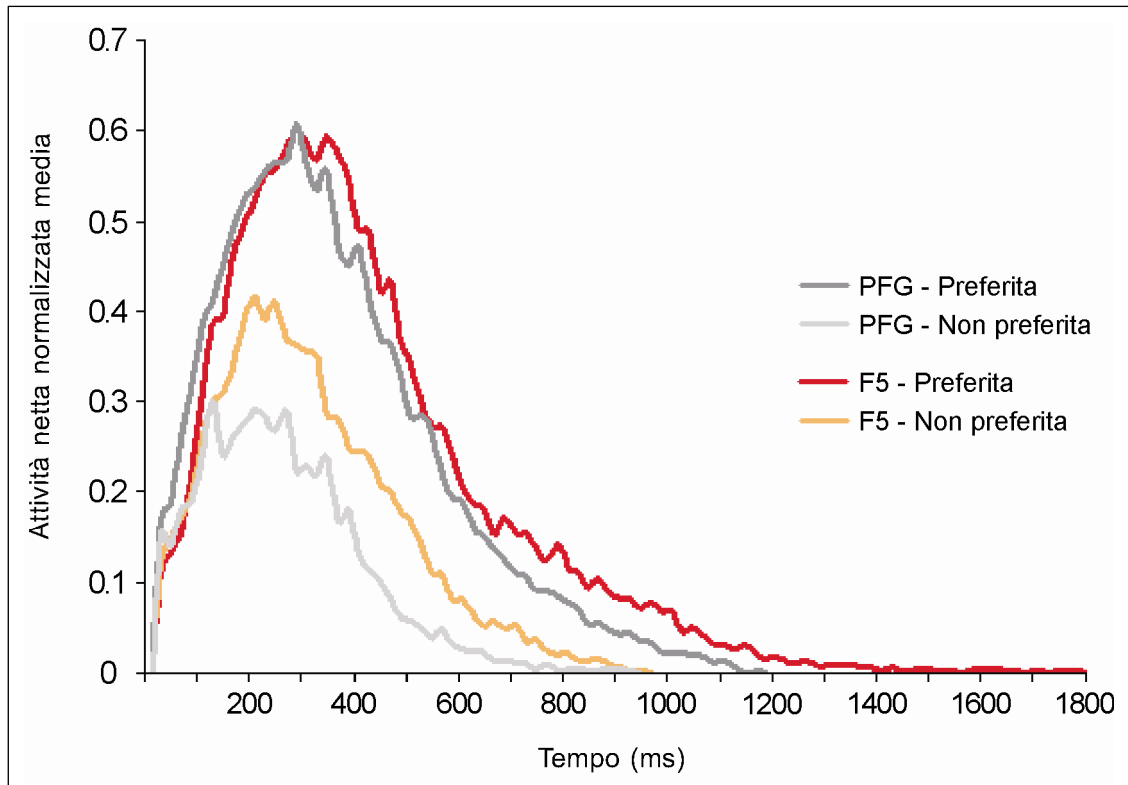
Tabella 3.3. Neuroni dell'afferramento AGR di PFG ed F5 sottoposti ad analisi in tre epoche.

EPOCHE	Shaping-grasping	Actual grasping	Grasping-holding	Holding	Whole act
PFG	17 (24.3%)	4 (5.7%)	23 (32.9%)	8 (11.4%)	18 (25.7%)
F5	9 (14.5%)	4 (6.5%)	18 (29.0%)	3 (4.8%)	28 (45.2%)

Per verificare la seconda ipotesi, di tutti i neuroni AGR di PFG ed F5 è stato individuato il picco di attività durante la condizione preferita e utilizzato come riferimento per ricavare due parametri fondamentali, ovvero il tempo di ascesa dell'attività di base al valore corrispondente al picco ("rising") e il tempo di discesa dell'attività dal picco al valore corrispondente all'attività basale del neurone ("falling"). Questi due intervalli temporali, se sommati identificano la durata totale della risposta neuronale (vedi materiali e metodi). La figura 3.5 mostra il decorso temporale dell'attività netta normalizzata delle popolazioni neuronali di PFG ed F5 allineate sul momento in cui l'intensità di scarica supera il livello di base per poi aumentare fino a raggiungere il picco. Le analisi statistiche indicano l'assenza di differenze significative tra i tempi di "rising" ($t=1.89$, ns), "falling" ($t=0.51$, ns) o durata totale ($t=1.35$, ns), tra PFG ed F5. Dunque, la durata della scarica e i parametri temporali della risposta considerati non differiscono tra le due aree durante l'esecuzione dell'afferramento nella condizione preferita. Un ulteriore confronto effettuato tra la frequenza media di scarica assoluta (spk/sec) durante l'esecuzione dell'afferramento tra i neuroni di PFG ed F5 non ha dato risultati significativi ($t=-1.82$, ns). Inoltre, l'analisi statistica della risposta dei neuroni nella loro condizione non prefe-

rita ha evidenziato che i tempi di “rising” ($t=3.39$, $p<.001$), “falling” ($t=2.73$, $p<.01$) e durata totale ($t=3.98$ $p<.001$) sono maggiori in F5 rispetto a PFG.

Figura 3.5. Decorso temporale della risposta neuronale delle popolazioni di neuroni AGR di PFG ed F5 allineate sul momento in cui l'intensità di scarica supera il livello di base per poi aumentare fino a raggiungere il picco.

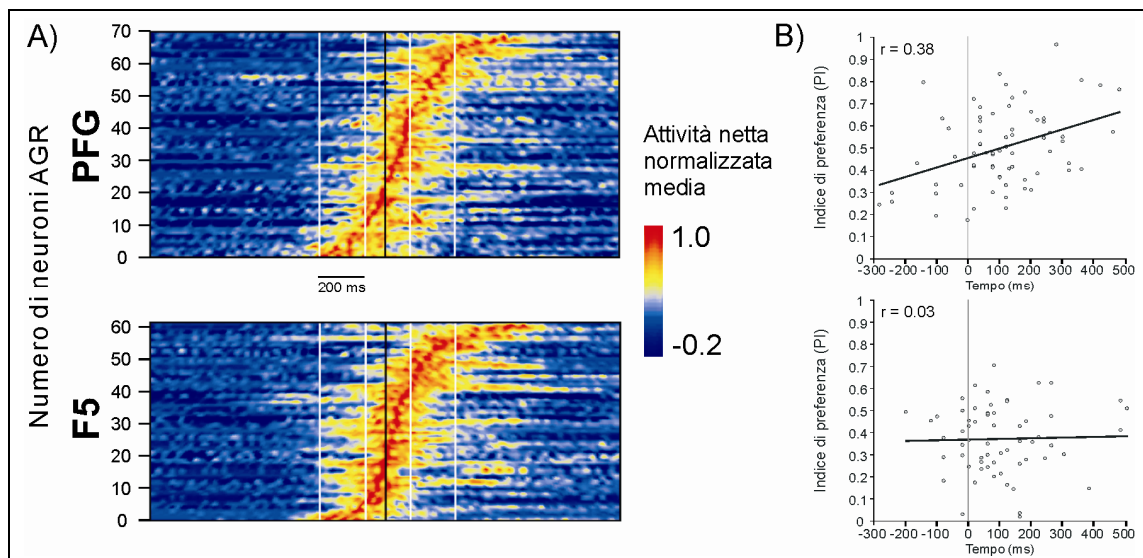


In conclusione, sia l'ipotesi in base alle quale un maggior numero di neuroni di PFG rispetto ad F5 rimangono attivi fino all'ultima fase dell'atto di afferramento (holding), sia l'ipotesi secondo la quale la scarica dei neuroni di PFG potrebbe avere una durata media maggiore rispetto a quella dei neuroni di F5, non risultano verificate. Dunque, non possono spiegare la tendenza all'incremento nel tempo della differenza di scarica tra le condizioni preferita e non preferita presente in PFG ma non in F5.

Questo risultato ha suggerito una ulteriore analisi volta a verificare, anche a livello di singola cellula, l'esistenza di una analoga relazione tra entità della preferenza per lo scopo d'azione (vedi metodi per il calcolo dell'indice di preferenza) e temporizzazione del picco di attività neuronale rispetto al momento del contatto della mano col cibo (vedi metodi per il calcolo del picco di attività dei singoli neuroni). La figura 3.6A mostra una rappresentazione del decorso temporale dell'attività di ciascun neurone di PFG ed F5 nella sua condizione preferita, allineato con il momento del contatto della mano della scimmia con il target. I neuroni sono stati ordinati in base alla temporizza-

zione del loro picco di attività per mostrare la variabilità intrinseca delle popolazioni neuronali in ciascuna delle aree studiate. Per valutare la relazione tra le temporizzazioni del picco di attività e l'entità della preferenza (PI) di ciascun neurone, è stato applicato un test di correlazione di Pearson ai valori di tempo e PI dei neuroni delle due aree, separatamente. I risultati, evidenziati dalla figura 3.6B, indicano che esiste una correlazione positiva e statisticamente significativa tra il tempo del picco di attività e il valore di PI nella popolazione neuronale di PFG ($r=0.38$, $p<.005$), ma non di F5 ($r=0.03$, ns). Dunque, più tardivamente l'attività di un neurone raggiunge il suo picco d'intensità, maggiore è l'entità della preferenza (PI) espressa da quel neurone per lo scopo d'azione: tuttavia, ciò vale per PFG ma non per F5.

Figura 3.6. A) Rappresentazione per dati grezzi del decorso temporale dell'intensità di scarica dei singoli neuroni AGR di PFG ed F5 nella loro condizione preferita, allineati al contatto della mano della scimmia con il bersaglio; B) relazione tra il tempo corrispondente al picco di attività di ciascun neurone rispetto al contatto della mano della scimmia col bersaglio (0) e il PI dello stesso neurone nelle popolazioni neuronali di PFG ed F5.



3.1.2. Compito visivo

Analogamente a quanto descritto riguardo il CmS, i risultati dell'analisi statistica effettuata su ciascun NM (vedi materiali e metodi) registrato durante il CvS in entrambe le aree indicano che sono presenti NM AGR non solo in PFG, ma anche in F5 (vedi tabella 3.4).

Tabella 3.4. Neuroni mirror di PFG la cui risposta visiva è stata acquisita nel CvS.

Correlati allo scopo finale (AGR)		Non correlati allo scopo finale	Totale
Mangiare > Piazzare 17 (81.0%)	Piazzare > Mangiare 4 (19.0%)	Mangiare = Piazzare	
21 (77.8%)		6 (22.2%)	27 (100%)

Tabella 3.5. Neuroni mirror di F5 la cui risposta visiva è stata acquisita nel CvS.

Correlati allo scopo finale (AGR)		Non correlati allo scopo finale	Totale
Mangiare > Piazzare 23 (92.0%)	Piazzare > Mangiare 2 (8.0%)	Mangiare = Piazzare	
25 (69.5%)		11 (30.5%)	36 (100%)

Esempi di risposte visive di NM di PFG ed F5 acquisiti mediante il CvS sono mostrati in figura 3.7. Le unità 43 e 59 scaricavano più intensamente quando la scimmia osservava uno sperimentatore afferrare un pezzo di cibo per mangiarlo. Al contrario, la scarica dei neuroni era più debole quando, dopo aver afferrato lo stesso pezzo di cibo, lo sperimentatore lo piazzava nel contenitore collocato lateralmente. Le unità 79 e 126 esemplificano il comportamento opposto. Infine, le unità 174 e 77 non mostrano alcuna differenza significativa nell'intensità di scarica tra le due condizioni.

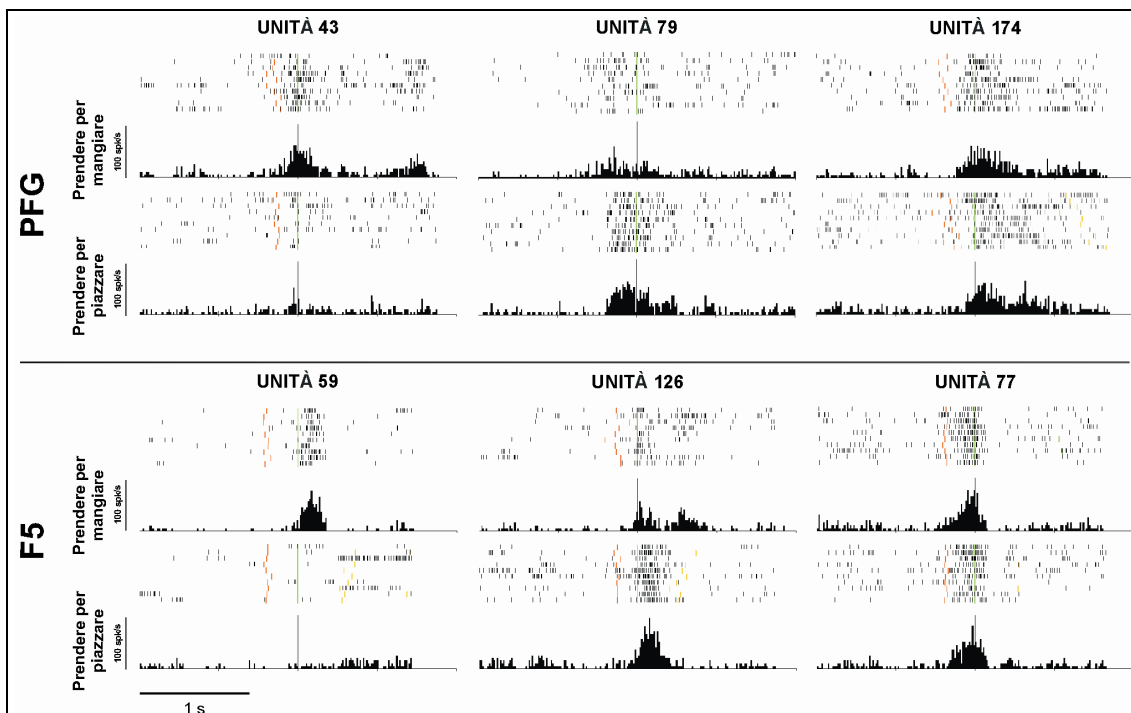
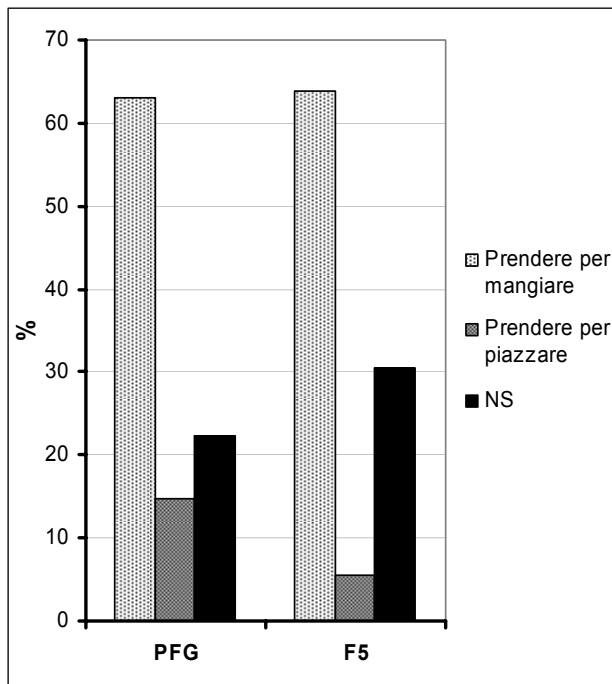
Figura 3.7. Esempi delle risposte visive di neuroni di PFG ed F5 registrati durante l'osservazione del CvS. Convenzioni come in figura 3.1.

Figura 3.8. Percentuale di neuroni AGR selettivi per la Condizione 1 o 2 e neuroni non AGR nelle aree PFG ed F5.



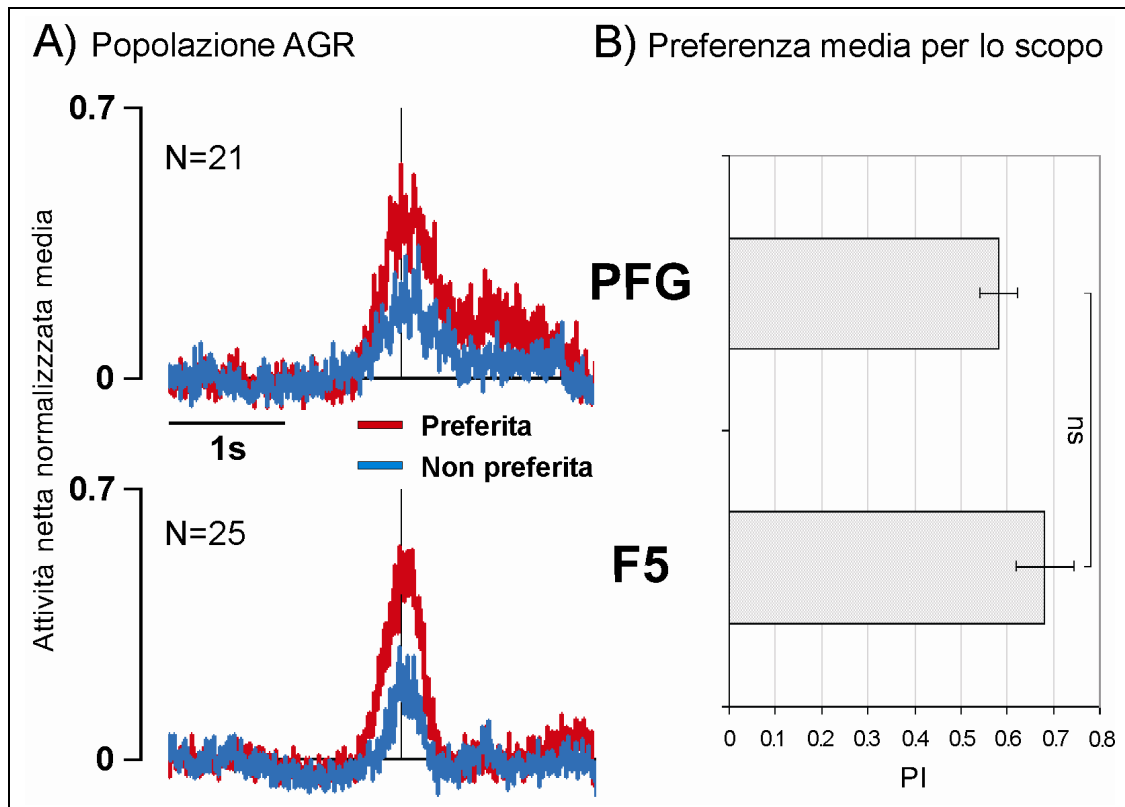
($\chi^2=13.17$, $p<.001$) sia in F5 ($\chi^2=27.01$, $p<.001$). Un ulteriore confronto ha rivelato che la percentuale di NM la cui risposta visiva era risultata AGR nel CvS è maggiore della percentuale di neuroni AGR puramente motori acquisiti nel CmS, sia in PFG ($\chi^2=4.90$, $p<.05$) sia in F5 ($\chi^2=10.61$, $p<.005$).

La condizione caratterizzata dalla risposta visiva più intensa durante il CvS in ciascun neurone delle popolazioni di PFG ed F5 è stata inclusa nella categoria “preferita”, mentre la condizione caratterizzata dalla risposta più debole è stata inclusa nella categoria “non preferita”: la figura 3.9A mostra dunque il decorso temporale della risposta visiva delle intere popolazioni di NM AGR di PFG ed F5. L’analisi di popolazione è stata condotta mediante una ANOVA 2x2 per misure ripetute (fattori: Categoria ed Epoca), applicata separatamente alle popolazioni neuronali di ciascuna area. I risultati hanno mostrato effetti principali significativi sia del fattore Categoria [PFG: $F(1,20)=47.47$, $p<.001$; F5: $F(1,24)=39.99$, $p<.001$], sia del fattore Epoca [PFG: $F(1,20)=117.40$, $p<.001$; F5: $F(1,24)=84.69$, $p<.001$]. Inoltre, anche l’effetto di interazione Categoria x Epoca è risultato significativo [PFG: $F(1,20)=41.50$, $p<.001$; F5: $F(1,24)=57.87$, $p<.001$]. Test post-hoc di Newman-Keuls hanno poi rivelato che nelle popolazioni neuronali di PFG ed F5 esiste una differenza significativa tra le due categorie nell’attività legata all’osservazione dell’afferramento eseguito da uno sperimentatore (epoch 2, $p<.001$), ma non durante un periodo di attività basale della cellula. Per valutare se l’entità della preferenza espressa in favore di una specifica condizione sperimentale dai NM AGR fosse diversa tra le due aree, è stato

La figura 3.8 riassume i risultati dell’analisi condotta sulle risposte visive di tutti i singoli neuroni registrati in PFG ed F5 con il CvS. Il numero di NM AGR rispetto ai non AGR in PFG ed F5 è simile ($\chi^2=.54$, ns). Confrontando tra le due aree le singole Condizioni sperimentali, la percentuale di neuroni che preferiscono la Condizione 1 o la Condizione 2 è simile (Condition 1, $\chi^2=0.1$, ns ; Condition 2, $\chi^2=1.54$, ns). All’interno delle popolazioni neuronali delle singole aree, tuttavia, la percentuale dei NM che preferiscono la Condizione 1 è maggiore di quella dei NM che preferiscono la Condizione 2 sia in PFG

calcolato per ciascun neurone un indice di preferenza (PI – vedi materiali e metodi). I valori di PI dei NM AGR delle due aree sono stati confrontati utilizzando test “t” per dati indipendenti, evidenziando l’assenza di differenze significative ($t=-1.29$, ns) tra l’entità della preferenza espressa dai NM di PFG ed F5.

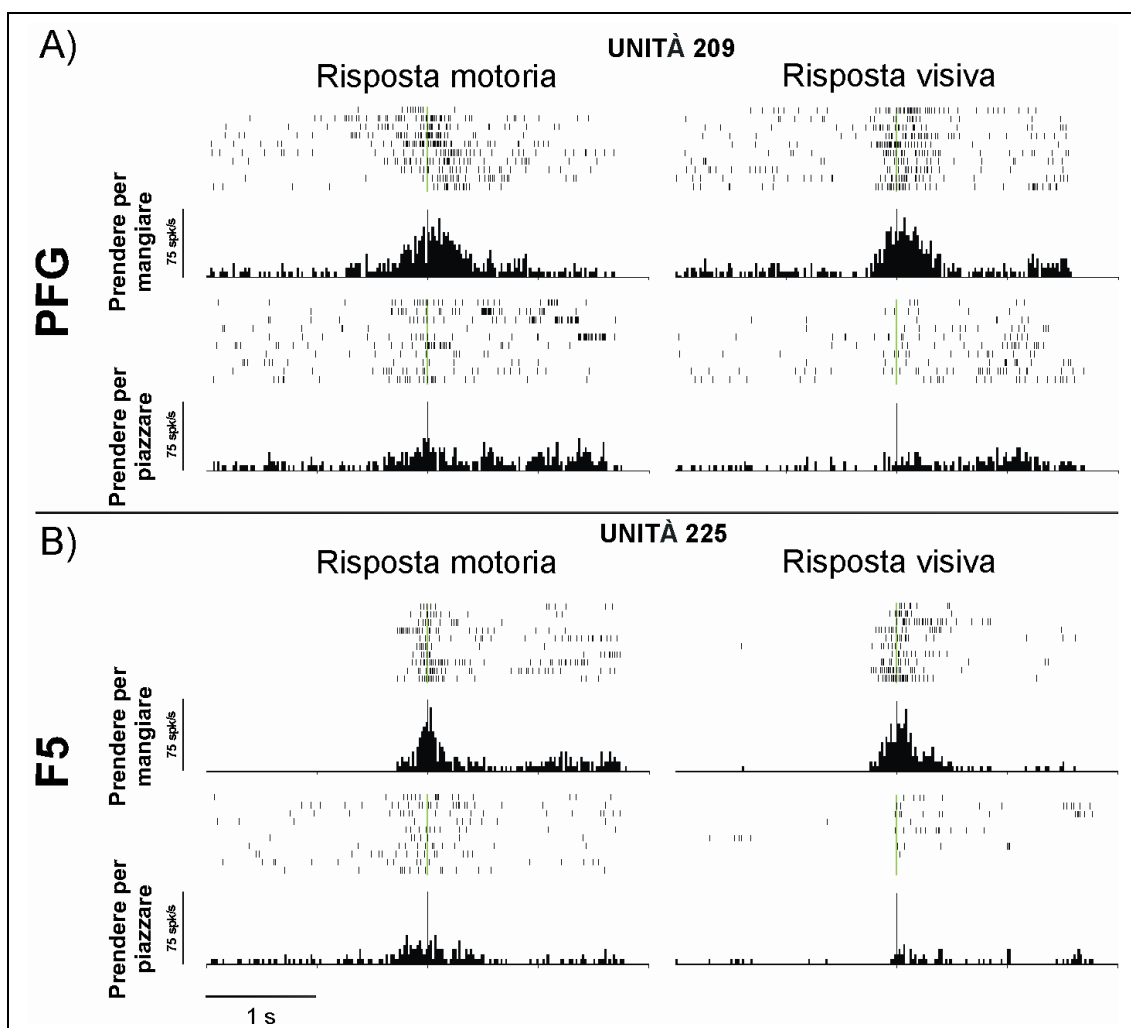
Figura 3.9. A) Decorso temporale dell’intensità di scarica dei NM AGR di PFG ed F5 acquisiti durante l’osservazione del CvS; B) preferenza media per lo scopo d’azione delle stesse popolazioni neuronali AGR di NM di PFG ed F5.



Tutti i NM testati con il CvS e inclusi in questo studio scaricavano sia durante l’osservazione che durante l’esecuzione di un atto di afferramento. Su 27 NM di PFG, 18 sono stati studiati per valutare la congruenza visuomotoria mediante la comparazione della loro selettività motoria e visiva durante le condizioni di “prendere per mangiare” e “prendere per piazzare” nel CmS e nel CvS, rispettivamente. L’analisi dei singoli NM effettuata sulle risposte visiva e motoria (vedi materiali e metodi per l’analisi dell’attività di singole cellule), ha rivelato che 14 di essi risultavano AGR nel CmS e tutti preferiscono la stessa condizione anche durante il CvS. I restanti 4 neuroni non erano AGR nel CmS. Di questi, considerando la specificità nel compito visivo, due preferivano la Condizione 1, uno la Condizione 2 mentre uno risultava non AGR sia nel CmS che nel CvS. Nell’area F5 la congruenza visuomotoria è stata studiata in 25 su 36 NM, rivelando che 13 di essi erano AGR nel CmS e tutti eccetto tre (che sono risultati

non AGR nel CvS), mostravano la stessa specificità anche durante il CvS. I restanti 12 neuroni non erano selettivi per alcuna condizione nel CmS. Di questi, considerando la specificità nel CvS, 4 erano selettivi per la Condizione 1, due per la Condizione 2 mentre 6 non erano selettivi. La figura 3.10 mostra un esempio di NM AGR di PFG ed uno di F5 con risposte visiva e motoria congruenti. Entrambe le unità, 209 e 225, scaricano più intensamente quando la scimmia afferra un pezzo di cibo per mangiarlo piuttosto che per piazzarlo, ma anche quando la scimmia osserva un atto di afferramento compiuto da uno sperimentatore per mangiare piuttosto che per piazzare.

Figura 3.10. Esempi della congruenza tra le risposte motoria e visiva di due diversi neuroni di PFG (A) ed F5 (B). Convenzioni come in figura 3.1.



I 14 NM di PFG e i 13 di F5 classificati come AGR sulla base del compito motorio sono stati inclusi in una analisi di popolazione (vedi materiali e metodi) al fine di verificare se la preferenza nel CmS per una delle condizioni sperimentali (inclusa nella categoria “preferita”), fosse coerente con quella espressa nel CvS. La figura 3.11 mostra il decorso temporale e l’intensità dell’attività delle popolazioni di NM di PFG ed F5 ac-

quisiti sia durante l'osservazione sia durante l'esecuzione del CvS e del CmS, rispettivamente. In ciascuna delle due aree studiate, separatamente, è stata poi applicata ai valori di attività netta normalizzata media una ANOVA 2x2 per misure ripetute (fattori: Categoria ed Epoca), seguita da test post-hoc di Newman-Keuls. I risultati hanno indicato, per le risposte motorie, effetti principali significativi dei fattori Categoria [PFG: $F(1,13)=71.88$, $p<0.001$; F5: $F(1,12)=35.14$, $p<0.001$] ed Epoca [PFG: $F(1,13)=115.29$, $p<0.001$; F5: $F(1,12)=149.33$, $p<0.001$], nonché un effetto significativo dell'interazione Categoria x Epoca [PFG: $F(1,13)=94.50$, $p<0.001$; F5: $F(1,12)=31.58$, $p<0.001$]. Test post-hoc di Newman-Keuls hanno poi rivelato che la scarica netta media della popolazione è maggiore nella condizione preferita rispetto alla non preferita durante l'epoca di afferramento (PFG: $p<0.001$; F5: $p<0.001$) ma non durante l'attività di base. Rispetto alle risposte visive sono emersi effetti principali dei fattori Categoria [PFG: $F(1,13)=116.43$, $p<0.001$; F5: $F(1,12)=11.11$, $p<0.01$] ed Epoca [PFG: $F(1,13)=71.82$, $p<0.001$; F5: $F(1,12)=47.20$, $p<0.001$], e una interazione significativa dei due fattori [PFG: $F(1,13)=60.88$, $p<0.001$; F5: $F(1,12)=15.86$, $p<0.005$]. Test post-hoc di Newman-Keuls hanno poi rivelato che la scarica netta media della popolazione è maggiore nella condizione preferita rispetto alla non preferita durante l'epoca di afferramento (PFG: $p<0.001$; F5: $p<0.001$) ma non durante l'attività di base.

Figura 3.11. Decorso temporale dell'intensità di risposta motoria e visiva dei NM di PFG ed F5 risultati AGR nel CmS: la condizione preferita nel CmS risulta coerentemente preferita anche durante il CvS.

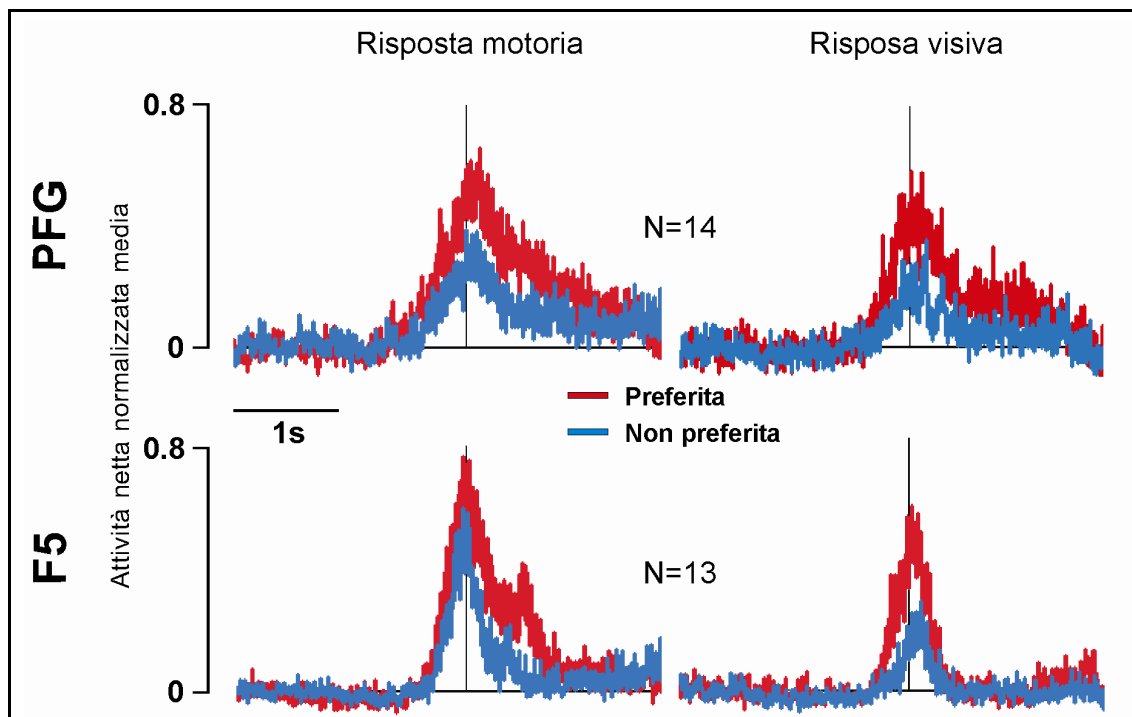
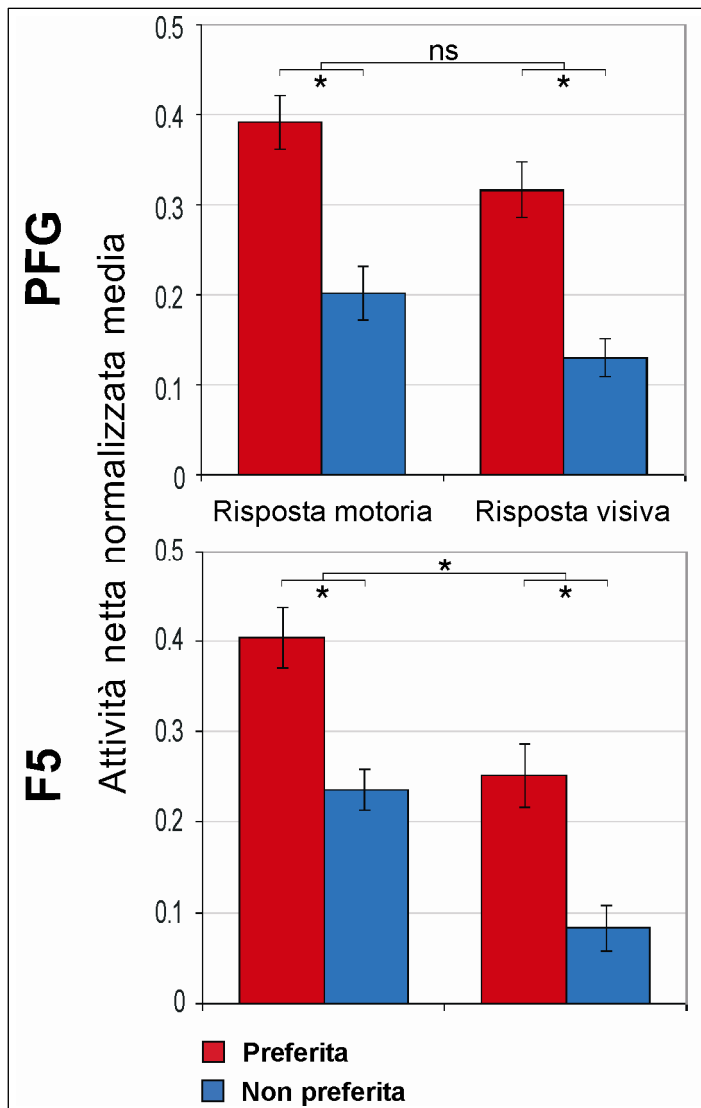


Figura 3.12. Confronto tra le risposte motoria e visiva nelle categorie preferita e non preferita delle popolazioni neurali AGR di PFG ed F5



La figura 3.12 mostra la differenza tra le risposte nella modalità motoria e visiva nelle categorie preferita e non preferita delle popolazioni di neuroni AGR di PFG ed F5. Una ANOVA 2x2 per misure ripetute (fattori: Categoria e Modalità) è stata applicata ai valori media di risposta dei neuroni di ciascuna area, separatamente. I risultati mostrano chiaramente che la categoria preferita presenta un'attività media maggiore rispetto a quella non preferita in entrambe le aree [PFG: $F(1,13)=197.29$, $p<0.001$; F5($1,12$)= 39.12 , $p<0.001$], e che in PFG le risposte motoria e visiva non sono significativamente diverse, mentre in F5 la risposta motoria è maggiore rispetto a quella visiva [$F(1,12)=28.86$, $p<0.001$]. Tutti gli effetti d'interazione sono risultati non significativi.

3.2. Compito motorio complesso

Sono stati acquisiti 211 neuroni dell'afferramento con il Compito motorio Complesso (CmC) da quattro emisferi delle stesse due scimmie impiegate per gli esperimenti con i compiti semplici (M1 ed M2). In particolare, sono stati registrati 122 neuroni dalla porzione rostrale del lobulo parietale inferiore (area PFG) di entrambi gli emisferi delle due scimmie e 89 neuroni dal banco posteriore del solco arcuato inferiore e dall'adiacente convessità (area F5) dell'emisfero destro di entrambi gli animali.

Tabella 3.4. Neuroni dell'afferramento registrati in PFG mediante il CmC.

	Correlati allo scopo finale (AGR)			Non correlati allo scopo finale	Totale
	Mangiare > Piazzare	Piazzare > Mangiare	TOT AGR	Mangiare = Piazzare	
2° atto	42 (65.6%)	5 (7.8%)	47 (73.4%)		
1° e 2° atto	11 (17.2%)	6 (9.4%)	17 (26.6%)		
TOT	53 (82.8%)	11 (17.2%)	64 (53.3%)	58 (46.7%)	122 (100%)

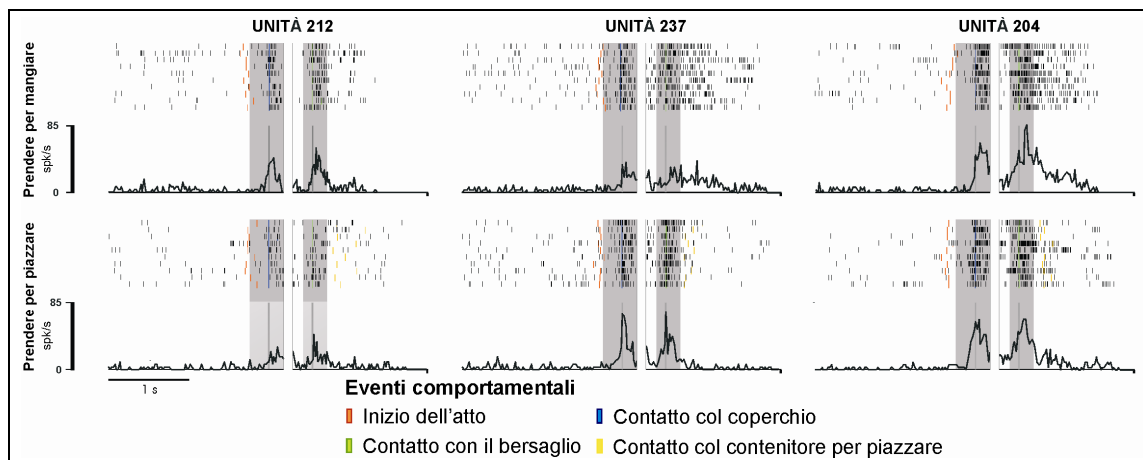
Tabella 3.5. Neuroni dell'afferramento registrati in PFG mediante il CmC.

	Correlati allo scopo finale (AGR)			Non correlati allo scopo finale	Totale
	Mangiare > Piazzare	Piazzare > Mangiare	TOT AGR	Mangiare = Piazzare	
2° atto	16 (51.6%)	12 (38.7%)	28 (90.3%)		
1° e 2° atto	2 (6.5%)	1 (3.2%)	3 (9.7%)		
TOT	18 (58.1%)	13 (41.9%)	31 (34.8%)	58 (65.2%)	89 (100.0%)

I risultati (vedi tabelle 3.4 e 3.5) indicano che oltre la metà dei neuroni registrati in PFG sono AGR, scaricando con intensità significativamente diversa durante l'afferramento in relazione alla condizione sperimentale (“prendere per mangiare” o “prendere per piazzare”) almeno durante il secondo atto della sequenza (si noti che nessun neurone, né in PFG né in F5, è significativamente più attivo in una delle condizioni sperimentali *soltanto* durante il primo atto della sequenza). La percentuale di neuroni AGR di PFG (53.3%) risulta significativamente maggiore ($\chi^2=6.46$, $p<.05$) rispetto a quella dei neuroni AGR registrati in F5 con lo stesso CmC (34.8%), confermando i risultati ottenuti applicando il CmS. Questa differenza sembra riconducibile ad una maggiore proporzione di neuroni che esprimono una preferenza per la Condizione 1 sul totale di quelli acquisiti, in PFG rispetto ad F5 ($\chi^2=12.42$, $p<.001$): infatti, quelli che preferiscono la Condizione 2 sul totale dei neuroni acquisiti sono equamente rappresentati nelle due aree ($\chi^2=1.60$, ns). Inoltre, mentre in PFG il numero dei neuroni AGR che preferiscono la Condizione 1 è significativamente maggiore rispetto a quello dei neuroni che preferiscono la Condizione 2 ($\chi^2=37.36$, $p<.001$), in F5 le percentuali di neuroni che preferiscono ciascuna delle due condizioni non sono diverse ($\chi^2=0.98$, ns). Un dato particolarmente interessante riguarda la localizzazione della discriminazione: sia in PFG (73.4%) che in F5 (90.3%), infatti, la maggior parte dei neuroni AGR scaricano in maniera differente in relazione alla condizione sperimentale soltanto durante l'esecuzione del secondo atto di afferramento. Tuttavia, quasi il 27% dei neuroni AGR di PFG (N=17) presenta una differenza significativa nella risposta all'afferramento tra le condizioni sperimentali anche durante l'esecuzione del primo atto della sequenza, mentre solo 3 dei neuroni AGR di F5 mostrano tale comportamento ($\chi^2=3.58$, $p=.05$).

La figura 3.13 mostra alcuni esempi dei neuroni registrati in PFG mediante il CmC: le prime due unità mostrate scaricano in modo diverso durante l'afferramento sia del coperchio sia dell'oggetto all'interno del contenitore, in relazione alla condizione sperimentale “prendere per mangiare” (unità 212) o “prendere per piazzare” (unità 237); l'unità 204 costituisce invece un esempio di neurone di PFG attivo durante entrambi gli atti di afferramento ma senza alcuna selettività per la condizione sperimentale.

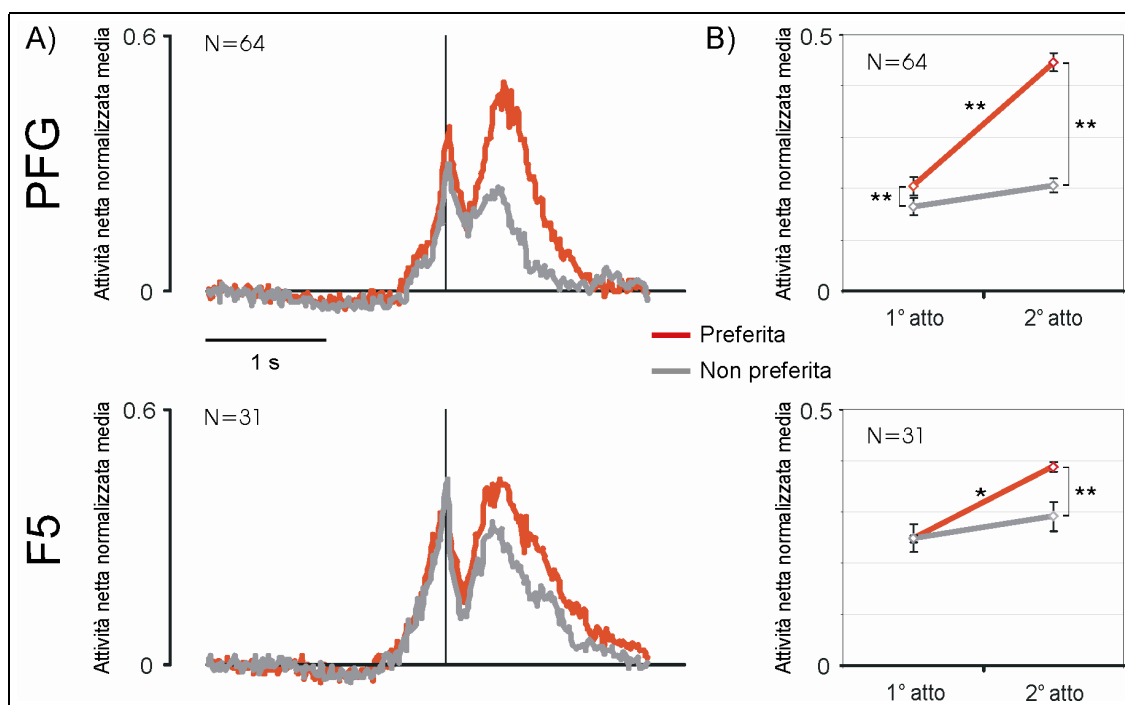
Figura 3.13. Esempi di neuroni di PFG attivi durante l'esecuzione di entrambi gli atti di afferramento del CmC. Convenzioni come in figura 3.1. Le fasce grigie individuano le finestre temporali corrispondenti all'attività neuronale allineata al primo (a sinistra) e secondo (a destra) atto di afferramento del CmC.



Per valutare la risposta complessiva delle popolazioni di neuroni AGR delle aree studiate, la condizione caratterizzata dalla risposta più intensa di ciascun neurone AGR di PFG e di F5 acquisito mediante il CmC è stata inclusa nella categoria “preferita”, mentre la condizione caratterizzata dalla risposta più debole è stata inclusa nella categoria “non preferita”. La figura 3.14A mostra il decorso temporale dell'attività delle popolazioni neuronali AGR di PFG ed F5, allineato sull'istante del contatto della mano della scimmia con l'appiglio del coperchio (1° atto di afferramento). La figura 3.14B evidenzia la risposta media delle popolazioni neuronali di PFG (in alto) ed F5 (in basso) nelle categorie preferita (rosso) e non preferita (grigio) durante l'esecuzione del primo e del secondo atto del CmC (vedi materiali e metodi). I dati relativi alle popolazioni di ciascuna delle due aree, trattate separatamente, sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante ANOVA per misure ripetute 2x3 (fattori: Categoria ed Epoca – dove i tre livelli del fattore Epoca dipendono dal fatto che nell'analisi è stata considerata anche la finestra temporale corrispondente al periodo di attività basale, non rappresentato in figura poiché approssimativamente nullo e identico in tutte le condizioni). I risultati indicano la presenza di effetti principali significativi di entrambi i fattori Categoria [PFG: $F(1,63)=128.74$, $p<.001$; F5: $F(1,30)=8.79$, $p<.01$] ed Epoca [PFG: $F(2, 126)=181.75$, $p<.001$; F5: $F(2, 60)=197.4$, $p<.001$]. In particolare, test post-hoc di Newman-Keuls sul fatto-

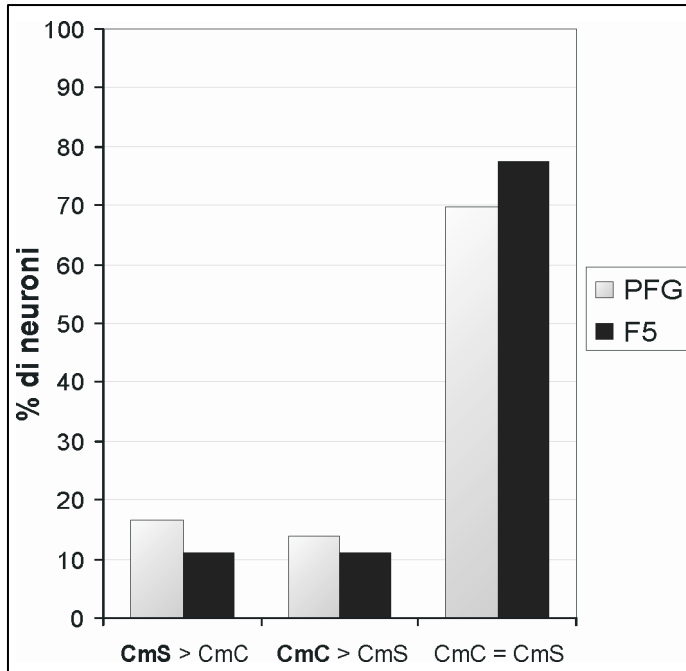
re Epoca hanno evidenziato che, sia in PFG sia in F5, i neuroni sono significativamente attivi rispetto al livello di attività di base durante entrambi gli atti di afferramento ($p < .001$ per entrambe le aree), ma la risposta è più intensa durante l'esecuzione del secondo atto rispetto al primo ($p < .001$ per entrambe le aree). Anche l'effetto d'interazione Categoria x Epoca è significativo per entrambe le aree [PFG: $F(2,126)=102.81$, $p < .001$; F5(2,60)=6.64, $p < .005$]. Test post-hoc di Newman-Keuls evidenziano, in particolare, che la risposta della popolazione neuronale di PFG è più intensa nella condizione preferita non solo durante l'esecuzione del secondo atto di afferramento ($p < .001$), ma anche durante l'esecuzione del primo ($p < .001$). Al contrario, nella popolazione neuronale di F5 la risposta è significativamente maggiore nella condizione preferita rispetto alla non preferita soltanto durante l'esecuzione del secondo atto ($p < .001$), ma non durante il primo (vedi figura 3.14B).

Figura 3.14. A) Decorso temporale e intensità della risposta delle popolazioni neuronali AGR di PFG ed F5 durante l'esecuzione dei due atti di afferramento del CmC; B) intensità media della risposta netta normalizzata delle stesse popolazioni nei periodi corrispondenti al primo e secondo atto di afferramento del CmC nelle categorie preferita e non preferita.



Tutti i neuroni di F5 (N=89) e la maggior parte di quelli di PFG (N=109) studiati mediante il CmC sono stati valutati contemporaneamente anche mediante il CmS, alternando alle prove del CmC quelle del CmS al fine di valutare direttamente la consistenza del comportamento dei neuroni durante la codifica di un atto di afferramento all'interno di una sequenza d'azione con identica finalità ("mangiare" o "piazzare"), ma di differente lunghezza. L'analisi comparativa delle risposte dei singoli neuroni nelle due condizioni ("prendere per mangiare" e "prendere per piazzare") e nei due compiti è stata

Figura 3.15. Percentuale dei neuroni di PFG (N=109) ed F5 (N=89) registrati contemporaneamente mediante CmS e CmC: la risposta dei singoli neuroni all'afferramento del bersaglio nel CmS è stata confrontata con la risposta allo stesso atto nel CmC.



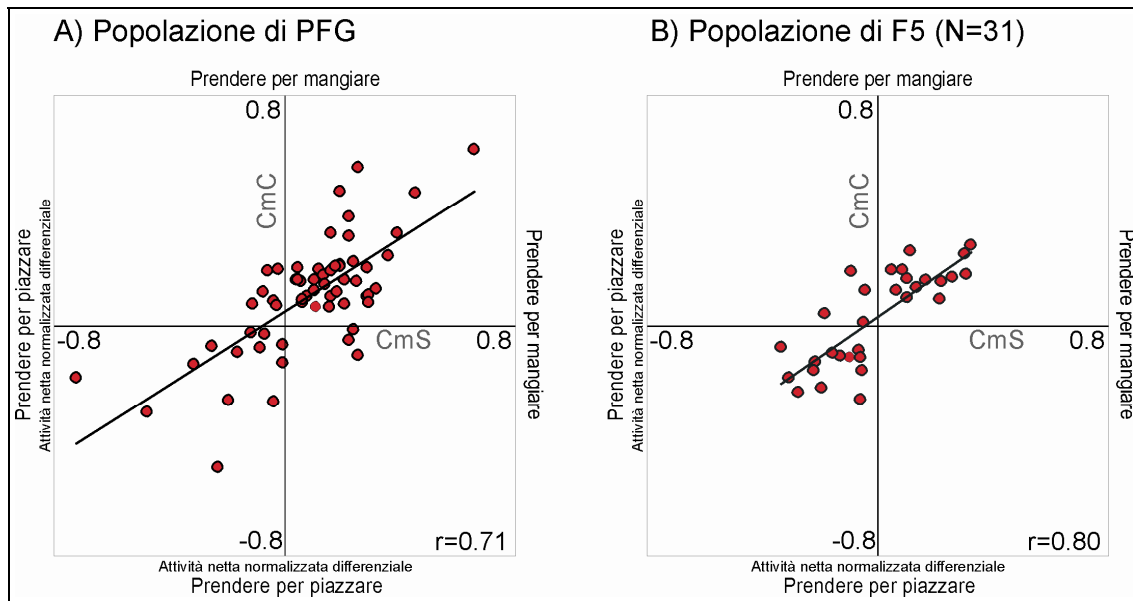
condotta mediante ANOVA a misure ripetute 2x2 (fattori: Condizione e Compito). I risul-

tati sono riassunti nella figura 3.15. La maggior parte dei neuroni sia di PFG (69.7%) sia di F5 (77.5%) risponde in modo simile quando la scimmia afferra un pezzetto di cibo per mangiarlo o per piazzarlo in un contenitore, a prescindere dalla lunghezza o dalla posizione nella sequenza in cui l'atto codificato è inserito ($\chi^2=1.52$, ns).

Un ulteriore dato interessante rispetto al confronto della risposta all'afferramento tra il CmC e il CmS da parte dei neu-

roni delle due aree studiate riguarda la costanza della risposta discriminativa tra le due condizioni sperimentali. Si potrebbe ipotizzare, per esempio, che la lunghezza della sequenza da eseguire influenzi l'entità della discriminazione tra le condizioni sperimentali. In altri termini, un neurone selettivo per una condizione nel CmS potrebbe essere meno specifico per la stessa condizione quando un atto di afferramento analogo debba essere eseguito all'interno di una sequenza d'azione più lunga, preceduto da un altro atto di afferramento (ovvero quello diretto al coperchio nel CmC). Per valutare questa possibilità, per ciascun neurone AGR di PFG ed F5 acquisito in entrambi i compiti sperimentali, semplice e complesso, è stato calcolato un punteggio relativo all'attività netta normalizzata differenziale (vedi materiali e metodi) espressa da quel neurone in ciascun compito (CmS e CmC). Sottraendo sempre la risposta media della Condizione 2 ("prendere per piazzare") a quella della Condizione 1 ("prendere per mangiare") è stato possibile ottenere, per ciascun compito sperimentale, una misura dell'entità della discriminazione variabile tra -1 e +1: in virtù della procedura di calcolo adottata, i valori positivi forniranno una quantificazione della preferenza espressa per la Condizione 1 ("prendere per mangiare"), mentre i valori negativi quantificheranno la preferenza espressa per la Condizione 2 ("prendere per piazzare"). Successivamente, è stata valutata la correlazione tra i punteggi ricavati sugli stessi neuroni studiati nel CmS e nel CmC mediante il test di Pearson. I risultati sono riportati in figura 3.16.

Figura 3.16. Correlazione tra la risposta differenziale durante l'esecuzione del CmS (in ascissa) e del CmC (in ordinata) dei neuroni AGR di PFG (A) ed F5 (B). La risposta differenziale è calcolata sottraendo alla risposta del neurone durante la condizione “prendere per mangiare” quella durante la condizione “prendere per piazzare”. In ciascun compito, semplice o complesso, valori positivi indicano dunque una preferenza per la Condizione 1, valori negativi una preferenza per la Condizione 2: i valori contenuti nel 1° e 3° quadrante corrispondono a neuroni che mostrano lo stesso tipo di preferenza nei due compiti (“prendere per mangiare”, 1° quadrante; “prendere per piazzare”, 3° quadrante). La minor dispersione dei valori in F5 è indicativa della minore entità della risposta differenziale in questa regione rispetto a PFG.

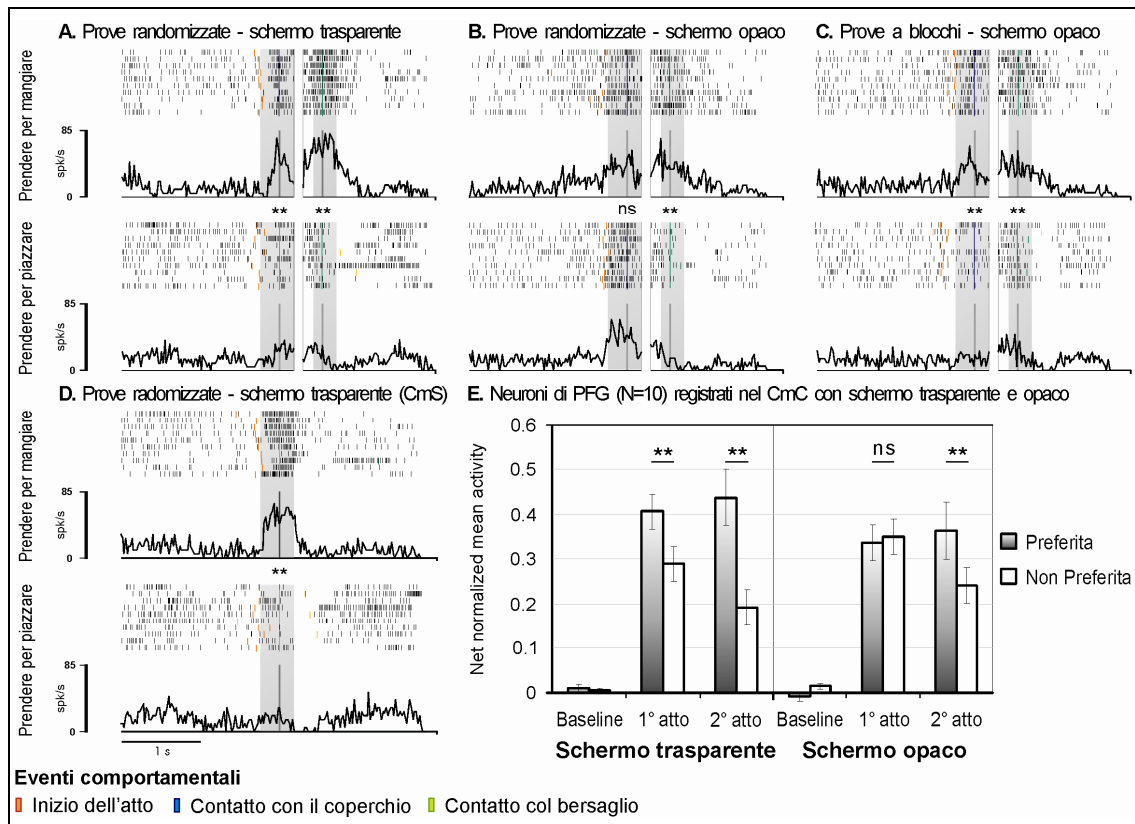


Al fine di identificare e tentare di chiarire il ruolo che variabili contestuali potrebbero verosimilmente giocare nel consentire la formulazione di un piano d'azione intenzionale, la risposta di neuroni di PFG già acquisiti nel CmC, e apparentemente AGR durante l'esecuzione di entrambi gli atti della sequenza, veniva studiata in una seconda versione del CmC. Il paradigma di acquisizione di base prevedeva prove randomizzate delle Condizioni 1 e 2: in questi casi, la scimmia poteva selezionare il piano d'azione adeguato in quanto uno schermo trasparente, interposto tra l'animale e il contenitore, permetteva di vedere se all'interno del contenitore stesso venisse collocato un pezzetto di cibo (da “prendere per mangiare”) o un cubetto metallico (da “prendere per piazzare”). Nella seconda versione, lo schermo trasparente veniva sostituito con uno opaco, e un fondo di rumore bianco impediva di rilevare qualunque suono in grado di suggerire quale oggetto venisse collocato nel contenitore: in queste condizioni, la randomizzazione delle prove impediva completamente alla scimmia di poter prevedere quale sarebbe stata la successiva azione da eseguire, almeno fin dopo la rimozione del coperchio che consentiva all'animale di vedere l'oggetto bersaglio effettivamente contenuto. Un esempio di uno di questi neuroni è riportato in figura 3.17. Come evidenziato in A), l'unità acquisita scarica più intensamente nella Condizione 1 rispetto alla Condizione 2

sia durante l'afferramento del coperchio sia durante l'afferramento del bersaglio all'interno del contenitore. Si noti inoltre che durante e dopo il secondo atto di afferramento nella Condizione 2 la risposta subisce una netta inibizione. Quando si applica lo schermo opaco (B), la risposta del neurone durante l'esecuzione del primo atto della sequenza (afferramento del coperchio) non è diversa tra le due condizioni, mentre continua a risultare maggiore durante l'afferramento del bersaglio all'interno del contenitore nella Condizione 1 rispetto alla Condizione 2. Ancor più interessante è il fatto che, in questo particolare caso, è stato possibile studiare ulteriormente la risposta dello stesso neurone ripetendo il CmC con lo schermo oscurato ma sostituendo il paradigma di acquisizione a prove randomizzate con un paradigma a blocchi (cfr. Fogassi et al., 2005), permettendo così alla scimmia di prevedere l'azione da compiere in base alla serie di prove precedentemente effettuate (C). I risultati indicano che, anche in questo caso, è presente lo stesso tipo di comportamento già riscontrato con le prove randomizzate e lo schermo trasparente (cfr. A): la risposta è più intensa nella Condizione 1 sia durante l'esecuzione del primo sia durante l'esecuzione del secondo atto della sequenza. Infine, la stessa unità è stata registrata anche nel CmS (D), confermando un profilo di risposta analogo a quello del secondo atto di afferramento del CmC ed una scarica nettamente maggiore durante l'esecuzione dell'afferramento nella Condizione 1 rispetto alla Condizione 2.

Dieci neuroni AGR di PFG sono stati mantenuti sufficientemente a lungo da consentire di completarne lo studio in entrambe le versioni del CmC (con schermo trasparente e oscurato, vedi figura 3.17E). La popolazione è stata quindi sottoposta ad analisi statistica mediante una ANOVA 2x2x3 per misure ripetute (fattori: Schermo, Categoria ed Epoca). I risultati indicano la presenza di effetti principali significativi per i fattori Categoria [$F(1,9)=23.85$, $p<.001$] ed Epoca [$F(2,18)=32.74$, $p<.001$], e di un effetto di interazione tra tutti e tre i fattori considerati [$F(2,18)=3.5$, $p<.05$]. Test post-hoc di Newman-Keuls hanno consentito di evidenziare che la risposta neuronale è maggiore nella condizione preferita rispetto alla non preferita durante l'esecuzione sia del primo ($p<.001$) sia del secondo ($p<.001$) degli atti di afferramento con lo schermo trasparente. Al contrario, lo schermo oscurato si associa ad una assenza di differenza durante l'esecuzione del primo atto: la differenza è però presente durante l'esecuzione del secondo atto di afferramento ($p<.001$). Lo schermo oscurato, rispetto a quello trasparente, sembra produrre una significativa riduzione della risposta durante sia il primo ($p<.05$) sia il secondo ($p<.05$) degli atti di afferramento nella categoria "preferita", ed un concomitante, significativo incremento della risposta durante sia il primo ($p<.05$) sia il secondo ($p<.05$) degli atti di afferramento nella categoria "non preferita".

Figura 3.17. Esempio di un neurone di PFG acquisito nel CmC con prove alternate e schermo trasparente (A) e opaco (B), con prove a blocchi e schermo opaco (C), e nel CmS (D). E) Analisi di popolazione di 10 neuroni di PFG acquisiti con prove alternate e schermo trasparente e oscurato. Convenzioni come in figura 3.13.



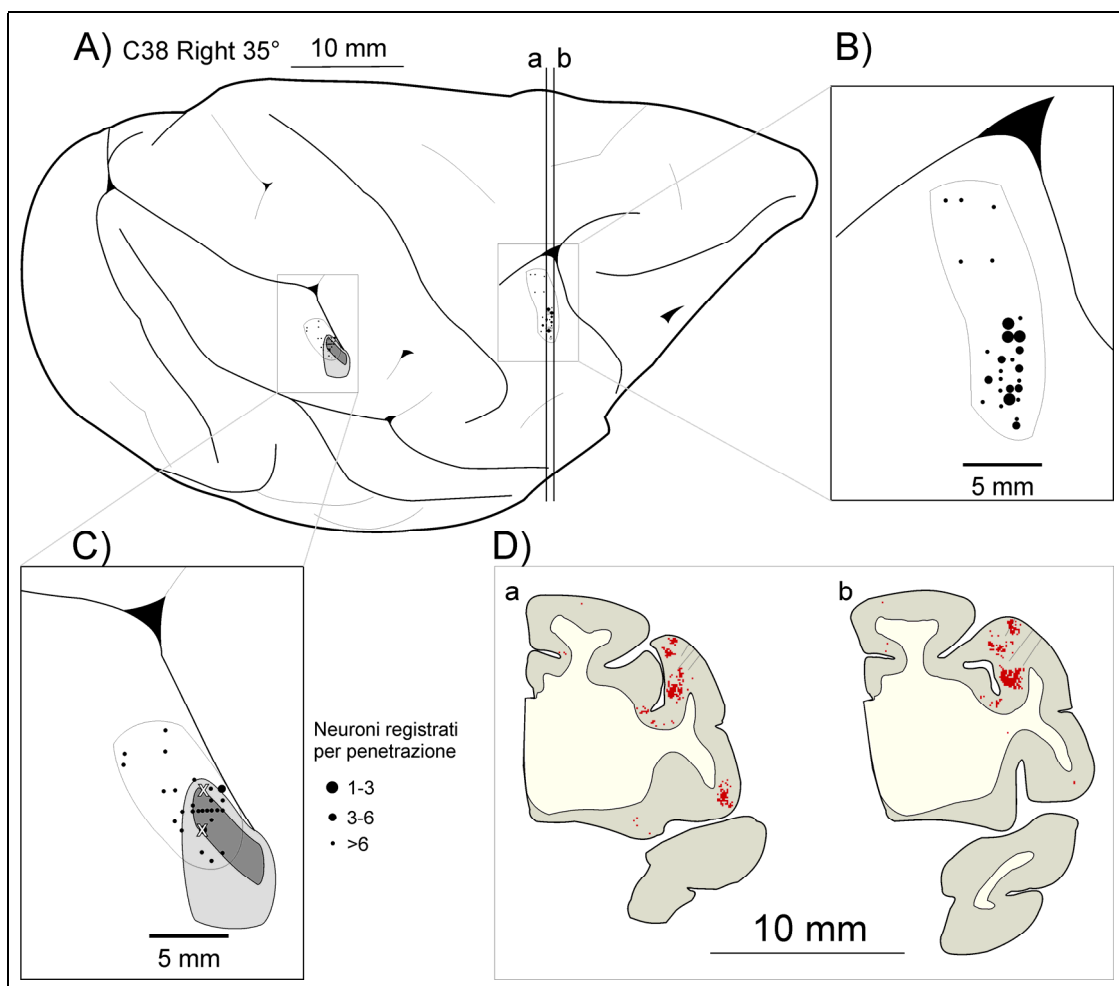
3.3. Iniezione di WGA al centro della regione di registrazione di PFG

Al termine delle registrazioni, su una delle due scimmie sono state praticate due iniezioni di WGA (agglutinina del germe di grano), un tracciante retro-anterogrado, al centro della regione dell'area PFG destra in cui erano stati acquisiti neuroni sia motori che "mirror" median- te il CmS, il CvS e il CmC (vedi materiali e metodi).

I risultati sono evidenziati nella figura 3.18. In A) sono riportate le regioni di F5 (in grandita in B) e PFG (ingrandita in C) interessate dalle penetrazioni in cui sono stati acquisiti neuroni. Ciascun sito di iniezione è indicato in C) da una "x" bianca: in base ad una ricostruzione su singole fette è stato possibile identificare la regione centrale, sede dell'effettivo deposito del tracciante, evidenziata dall'area scura, e l'alone circostante, evidenziato dall'area grigio chiaro. In figura A) sono riportati due piani di taglio coronali ("a" e "b") passanti per il centro della regione di F5 maggiormente interessata dalle registrazioni: le corrispondenti fette sono riportate in figura 3.18D. Sia in "a" che in "b" è possibile distinguere alcune tracce del passaggio

dei microelettrodi, che confermano la corrispondenza delle fette con la regione registrata e mostrano un certo grado di colocalizzazione con i neuroni marcati (in rosso) a seguito dell'iniezione in PFG.

Figura 3.18. A) Regioni registrate nelle aree F5 (B) e PFG (C) dell'emisfero destro di una delle due scimmie utilizzate negli esperimenti elettrofisiologici. I cerchi neri identificano penetrazioni in cui sono state effettuate acquisizioni di neuroni. In C) è possibile distinguere i due siti d'iniezione del tracciante retro-anterogrado WGA, la zona "core" dell'iniezione (in grigio scuro) e l'alone (in grigio chiaro), ricostruite da singole fette. La figura D) mostra due sezioni coronali localizzate ad 1mm l'una dall'altra passanti per il centro della regione di F5 maggiormente interessata dalle acquisizioni. In rosso sono riportati i neuroni marcati, in F5, a seguito dell'iniezione di WGA in PFG. Le linee perpendicolari alla superficie corticale rappresentano la ricostruzione di alcune penetrazioni eseguite nella stessa regione in cui si trova la marcatura.



4. DISCUSSIONE

I risultati degli esperimenti di registrazione dell'attività di singoli neuroni dell'area PFG mediante il CmS replicano e confermano, utilizzando un paradigma maggiormente controllato, quelli precedentemente riportati da Fogassi e collaboratori (2005).

In questo studio, i singoli neuroni sono stati infatti studiati facendo afferrare alla scimmia sempre il medesimo pezzetto di cibo in entrambe le Condizioni, 1 e 2 (tranne in alcune delle prove del CmC in cui è stata acquisita, o tentata l'acquisizione, della versione con schermo opaco), riducendo il possibile impatto delle differenze legate al tipo di oggetto afferrato, sia a livello di feedback somatosensoriale, sia a livello motivazionale. Inoltre, nella Condizione 2 la scimmia doveva piazzare il cibo all'interno di un contenitore collocato sempre di fianco alla bocca, rendendo la cinematica del movimento il più simile possibile tra le due condizioni. Il ricorso alle prove alternate ha permesso di ridurre il rischio che le differenze di risposta tra le due condizioni sperimentali potessero essere attribuibili a variazioni nel tempo dell'attività neuronale dovute alla eventuale instabilità che può caratterizzare la registrazione elettrofisiologica negli esperimenti in acuto. Infine, per poter confrontare la risposta tra i due atti di afferramento del CmC, acquisito insieme al CmS, la scimmia veniva forzata dal dispositivo sperimentale ad utilizzare sempre lo stesso tipo di presa di precisione: neuroni fortemente selettivi per la manipolazione (Mountcastle et al., 1975; Hyvarinen, 1981; Ferrari et al., 2003) o per specifici tipi di prensione diversi da quella di precisione (Gardner et al., 2007) sono stati quindi esclusi da questo studio.

Queste misure di controllo possono giustificare la percentuale leggermente più bassa di neuroni correlati allo scopo d'azione (AGR) in PFG riportata in questo studio (54.7%) rispetto a quella (64.2%) indicata da Fogassi e collaboratori (2005) nel precedente lavoro. Tuttavia, i risultati confermano che oltre la metà dei neuroni motori dell'afferramento di PFG si attivano in modo diverso in relazione allo scopo ultimo dell'azione nella quale l'atto codificato è incluso e dimostrano, con lo stesso paradigma, che neuroni motori AGR sono presenti anche nell'area F5. Tuttavia, analisi più approfondite sull'evoluzione temporale della risposta delle popolazioni di neuroni motori delle due aree suggeriscono ruoli funzionali distinti dei settori parietale e premotorio nell'organizzazione e controllo dell'azione intenzionale.

Inoltre, una sottopopolazione di neuroni, sia in PFG sia in F5, risponde anche quando la scimmia semplicemente osserva uno sperimentatore compiere un atto di afferramento diretto ad un oggetto (neuroni "mirror"): la maggior parte di questi neuroni si attiva in modo diverso durante l'osservazione di un afferramento in relazione allo

scopo dell'azione nella quale l'atto è incluso. Questa proprietà, già descritta in PFG (Fogassi et al., 2005), è quindi presente anche in F5, e potrebbe rappresentare un possibile meccanismo neuronale per una comprensione automatica dell'intenzionalità motoria degli altri (Fogassi et al., 2005).

Se lo scopo finale dell'azione, che può essere identificabile con una specifica accezione del concetto di "intenzione" motoria (il "perché" dell'azione), è effettivamente la variabile cruciale che si riflette nell'attività differenziale dei neuroni durante la codifica di specifici atti motori, come l'afferramento, allora tale risposta differenziale dovrebbe essere presente ogni volta che un atto viene eseguito nel contesto di un'azione specificamente finalizzata, a prescindere dal suo scopo motorio immediato e dalla sua posizione all'interno della sequenza d'azione. I risultati degli esperimenti condotti con il CmC indicano precisamente che una percentuale consistente dei neuroni di PFG, ma non di F5, presentano una scarica diversa in relazione alla condizione sperimentale sia durante l'afferramento del coperchio (per rimuoverlo), sia durante l'afferramento dell'oggetto localizzato all'interno del contenitore, sebbene la rimozione del coperchio sia identica tra le due condizioni sperimentali e caratterizzata dallo stesso scopo motorio immediato ("afferrare" per rimuovere). Un'ulteriore conferma all'ipotesi che tali differenze riflettano l'intenzione motoria dell'agente proviene dai risultati degli esperimenti condotti applicando il CmC con uno schermo opaco, impedendo alla scimmia di prevedere lo scopo ultimo dell'azione per mancanza di informazioni: la risposta durante il primo atto della sequenza, in questo caso, è ugualmente intensa nelle due condizioni, mentre la discriminazione in favore della condizione preferita ricompare durante il secondo atto di afferramento, quando l'accesso visivo al contenuto del recipiente fornisce le informazioni per codificare lo scopo finale dell'azione da compiere.

L'iniezione di un tracciante neuronale (WGA) nella regione di PFG studiata con i compiti motori semplice, complesso e con il compito visivo, indica inoltre che tale regione è connessa con il settore dell'area F5 ipsilaterale corrispondente alla regione registrata durante l'esecuzione degli stessi compiti.

4.1. L'organizzazione dell'azione in PFG ed F5

Eseguire un'azione apparentemente semplice, come raggiungere e afferrare una mela per mangiarla, implica una complessa programmazione, organizzazione e controllo dei movimenti adeguati. Raggiungere, afferrare, tenere, portare alla bocca e mordere, sono i diversi atti motori di cui si compone l'azione finalizzata "prendere per mangiare", ma ciascun atto è dotato di un proprio specifico scopo motorio (per esempio, lo scopo

dell'afferramento si identifica con la presa di possesso del cibo). I singoli atti motori devono quindi essere concatenati in una sequenza organizzata in un ordine ben preciso, cosicché il conseguimento dello scopo motorio di ciascun atto consenta l'esecuzione del successivo. Il controllo dei diversi effettori (braccio, mano e bocca, per esempio), richiede inoltre un notevole livello di parallelismo: per esempio, durante la proiezione del braccio la mano deve conformarsi alle caratteristiche tridimensionali dell'oggetto da afferrare, e la muscolatura che controlla l'apertura della bocca si attiverà già durante la fase di raggiungimento e prensione (v. Cattaneo et al., 2007). Questa sequenza di atti motori costituisce un'azione globale, finalizzata al conseguimento di un unico, specifico scopo finale: mangiare il cibo afferrato. Lo scopo finale dell'azione può essere (e generalmente è) stabilito prima dell'inizio del movimento, ed è quindi in senso lato condiviso da ciascuno degli atti motori di cui l'azione si compone, nonostante la loro specificità in termini di scopo motorio.

I neuroni di PFG, codificando lo stesso atto motorio in maniera diversa in relazione allo scopo dell'azione globale in cui l'atto stesso è inserito, costituiscono un substrato potenzialmente idoneo a costruire azioni concatenando singoli atti motori: i neuroni codificanti ciascun atto sarebbero facilitati da quelli attivati durante gli atti precedentemente eseguiti e faciliterebbero quelli deputati alla codifica dei successivi (Fogassi et al., 2005). Apparentemente, i risultati degli esperimenti condotti mediante il CmS sui neuroni motori di F5 sembrerebbero suggerire che un'organizzazione simile potrebbe esistere anche in questa regione, in quanto anche i neuroni premotori sono in grado di codificare l'afferramento con un'intensità di scarica diversa in relazione allo scopo finale dell'azione.

A questo proposito sono necessarie però alcune ulteriori considerazioni. In primo luogo, la percentuale di neuroni di F5 che scaricano in modo diverso in relazione allo scopo dell'azione (neuroni AGR), è significativamente inferiore rispetto a quella riportata in PFG con lo stesso paradigma sperimentale: tale differenza sembra riconducibile ad una maggior rappresentazione, in PFG, dello scopo "prendere per mangiare", essendo la condizione "prendere per piazzare" ugualmente rappresentata nelle due aree. A ciò va aggiunto che l'entità della preferenza espressa per la condizione sperimentale associata alla risposta maggiore ("preferita") è inferiore nelle popolazioni neuronali AGR di F5 rispetto a quella delle analoghe popolazioni neuronali di PFG. Riassumendo, meno neuroni di F5 sono AGR e, quando lo sono, la preferenza espressa per uno specifico scopo d'azione è inferiore rispetto a quella dei neuroni AGR di PFG.

Già queste considerazioni suggeriscono un ruolo più periferico del settore premotorio nella codifica dell'intenzionalità motoria, rendendo maggiormente opinabile l'idea di una "organizzazione in catene degli atti motori" anche di questa regione. Tale

ipotesi (Fogassi et al., 2005) si basa su un'idea concettualmente diversa da quella alla base di molti lavori precedenti sulla "organizzazione sequenziale di movimenti multipli" (per una rassegna di questi studi si veda Tanji, 2001). In questi ultimi lavori, infatti, l'oggetto di studio è l'apprendimento o il controllo di sequenze di movimenti organizzate in maniera arbitraria e definite in termini di ordine e successione temporale da precisi segnali cui l'animale è stato addestrato a rispondere. L'organizzazione in catene è invece applicabile ad atti motori naturalmente concatenati tra loro a formare azioni precodificate e biologicamente rilevanti come, per esempio, le coordinazioni mano-bocca che sono già presenti in epoca prenatale (Takeshita et al., 2006). La netta prevalenza di neuroni che codificano l'afferramento quando lo scopo dell'azione consiste nel mangiare il cibo afferrato, in PFG rispetto ad F5, è coerente con questa ipotesi. E in linea con la stessa ipotesi sono anche i risultati degli esperimenti di Yokochi e collaboratori (2003) che hanno descritto, nella porzione rostrale del lobulo parietale inferiore, neuroni dotati di campi recettivi complessi localizzati sulla mano e sulla faccia, e caratterizzati dalla peculiarità di rispondere più intensamente quando la scimmia portava attivamente a contatto le due superfici mediante un movimento attivo. Un'organizzazione analoga potrebbe esistere, sulla base degli studi menzionati (Yokochi et al., 2003; Fogassi et al., 2005) e dei risultati del presente lavoro, anche entro la sola modalità motoria, suggerendo un ruolo della convessità del lobulo parietale inferiore nell'organizzazione dell'azione mediante la concatenazione di singoli atti in funzione dello scopo finale da raggiungere. Da un recente studio sulle connessioni delle aree del lobulo parietale inferiore (PF, PFG e PG, vedi Gregoriou et al., 2006), emerge chiaramente che le connessioni intrinseche, coinvolgenti aree limitrofe dello stesso lobulo, sono drasticamente più forti di qualunque altro pattern (Rozzi et al., 2006). Inoltre, a livello qualitativo, è possibile osservare che in tutti i casi studiati nel lavoro citato la marcatura retrograda a seguito di una iniezione in una delle aree della convessità (PF, PFG o PG) è sempre molto più abbondante nell'area immediatamente caudale. Ciò suggerisce la possibilità che l'informazione tenda a fluire in senso prevalentemente caudo-rostrale nel lobulo parietale inferiore, dalle regioni di rappresentazione funzionale di occhio e braccio a quelle di mano e bocca (Hyvarinen, 1982; Ferrari et al., 2003), fornendo un possibile fondamento anatomico al concetto di "catena di neuroni" nella modalità motoria.

L'organizzazione in catene ipotizzata richiede però di presupporre l'esistenza di afferenze in grado di *selezionare* il repertorio neuronale idoneo nelle contingenze contestuali attuali. Una cospicua mole di dati funzionali converge nel suggerire un settore della corteccia prefrontale ventrolaterale (area 46v) come possibile fonte di queste afferenze (Tanji e Hoshi, 2001; Hoshi e Tanji, 2004; Passingham e Sakai, 2004; Sakagami e Watanabe, 2007; Shima et al., 2007), e l'ipotesi risulta supportata anche dai dati anatomi-

mici relativi alle connessioni tra l'area 46v e la convessità rostrale del lobulo parietale inferiore (Preuss e Goldman-Rakic, 1989; Petrides e Pandya, 2006; Rozzi et al., 2006).

Potrebbero esistere *almeno* due modalità, peraltro non mutuamente escludentisi, attraverso le quali le catene parietali potrebbero essere selezionate da un'ipotetico sistema di proiezioni afferenti: queste ultime, infatti, potrebbero terminare prevalentemente sugli elementi iniziali di una specifica catena d'azione, che poi procederebbe in maniera per lo più autonoma e automatizzata, oppure facilitare l'intero repertorio neuronale dedicato alla catena stessa. In entrambi i casi, è certamente lecito ipotizzare la presenza di una scarica differenziale durante la codifica di uno specifico atto motorio (per esempio l'afferramento) tanto più intensa quanto più rilevante è l'impatto dell'informazione afferente sulla scarica di *quel* neurone (o della catena di cui fa parte). Inoltre, se ogni neurone che risponde in una determinata fase della sequenza d'azione è facilitato da quelli precedentemente attivati e facilita i successivi, è lecito ipotizzare che il risultato funzionale di una simile organizzazione sia una "amplificazione" della discriminazione nel tempo tanto più pronunciata quanto più la codifica è prossima al conseguimento del fine ultimo: le afferenze facilitatorie che raggiungono gli elementi successivi della catena, via via più numerose poiché provenienti da un numero crescente di neuroni, potrebbero originare un effetto di sommazione sempre più pronunciato (vedi figura 4.1).

La situazione prefigurata corrisponde a quella riscontrata negli esperimenti con il CmS in PFG, sebbene anziché considerare diversi atti motori in sequenza (raggiungimento, prensione, portare alla bocca), l'analisi sia stata centrata sull'evoluzione temporale della risposta di neuroni legati a movimenti manuali nel corso dell'atto di afferramento. Anche l'atto di afferramento, considerato in senso ampio, è infatti caratterizzato da un decorso temporale prolungato che include una fase di configurazione della mano alle caratteristiche tridimensionali dell'oggetto ("shaping"), una fase di chiusura delle dita sul bersaglio ("actual grasping") ed una fase di trattenimento dell'oggetto mentre viene trasportato verso la sua destinazione finale ("holding"). La popolazione dei neuroni dell'afferramento AGR di PFG risponde in maniera sempre più selettiva ad una delle due condizioni sperimentali ("prendere per mangiare" o "prendere per piazzare") quanto più l'atto motorio volge al termine, approssimandosi al conseguimento del suo scopo. Durante la fase di "shaping" la differenza di scarica nella codifica motoria dei neuroni tra la loro condizione preferita e quella non preferita è significativa ma modesta. Aumenta poi significativamente durante l'"actual grasping" e raggiunge il massimo durante la fase di "holding". Questo fenomeno non si riscontra in F5 sebbene la durata media, i parametri di incremento e discesa della risposta neuronale nonché il numero di unità attive nell'ultima fase dell'azione ("holding") nella condizione preferita non dif-

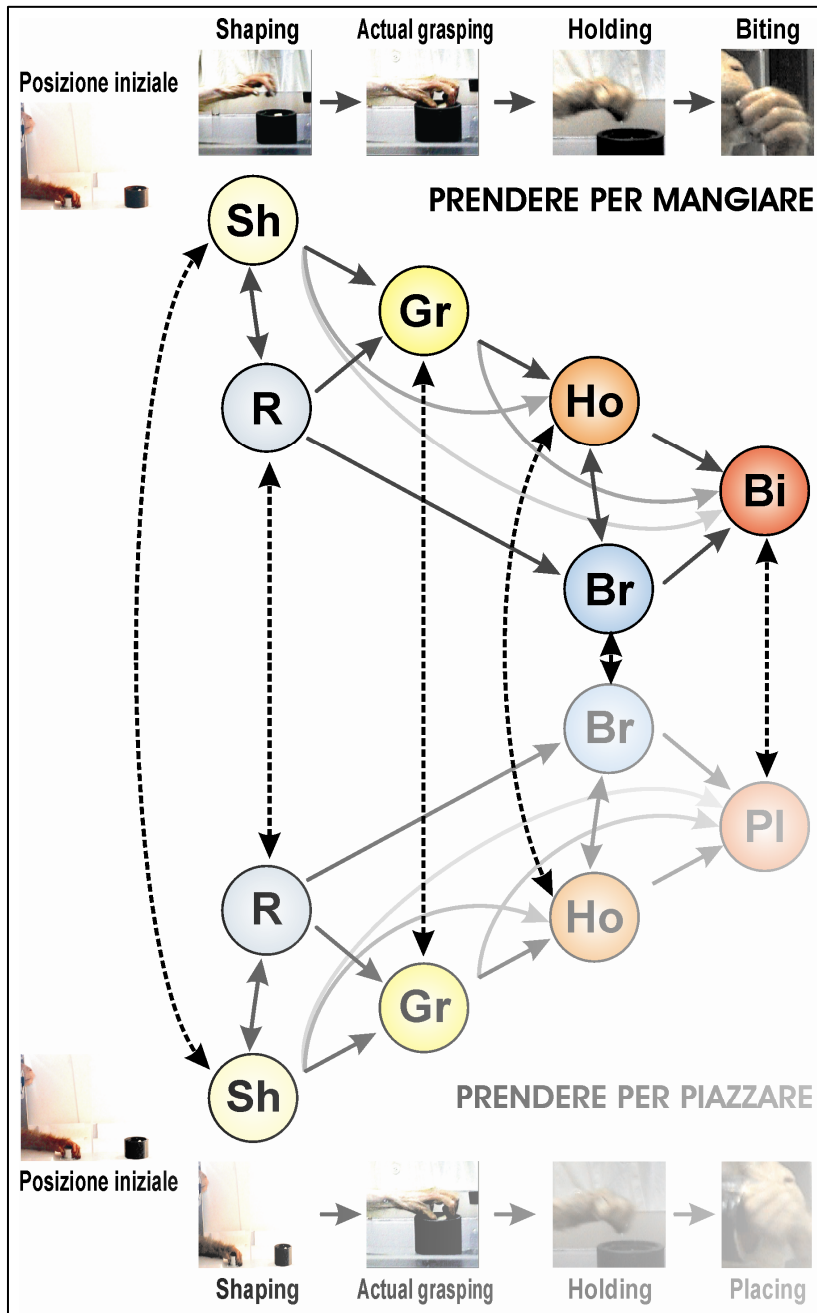


Figura 4.1. Schema di una ipotetica catena di neuroni di PFG. La porzione superiore raffigura una catena “prendere per mangiare”, la porzione inferiore una analoga catena “prendere per piazzare”. Le linee continue indicano proiezioni facilitatorie, il cui effetto può essere più (nero) o meno (gradazioni di grigio) intenso. Le linee tratteggiate indicano proiezioni inibitorie (solo le principali). Quando una “afferenza intenzionale” attiva una catena specifica, per esempio la catena “prendere per mangiare”, l’attività si propaga agli elementi neuronali successivi che ricevono una facilitazione via via maggiore dai precedenti, mentre le proiezioni inibitorie collaterali, che potrebbero essere mediate da interneuroni locali, producono l’effetto opposto sulla catena antagonista “prendere per piazzare”.

Sh, *shaping*; *Gr*, *actual grasping*; *Ho*, *holding*; *Bi*, *biting*; *R*, *reaching*; *Br*, *bringing*.

feriscano significativamente tra le due aree e non possano quindi essere invocate come possibili spiegazioni della differenza osservata. Va notato, inoltre, che la risposta differenziale non è diversa tra PFG ed F5 all’inizio dell’azione, cioè nell’epoca di “shaping”, ma aumenta progressivamente nel corso delle fasi successive in PFG ma non in F5.

Anche a livello di singole cellule è possibile ricavare indicazioni su un ruolo radicalmente diverso della codifica intenzionale di PFG ed F5. Si può infatti assumere che la temporizzazione del picco di scarica delle unità di una ristretta regione corticale correli con la fase comportamentale in cui il contributo della risposta di ciascun neurone è più rilevante. Identificando la temporizzazione del picco di scarica di ciascun neurone AGR

di PFG ed F5 rispetto al momento del contatto tra la mano della scimmia e il bersaglio, è stato possibile valutare la correlazione tra il tempo corrispondente al picco e l'entità della preferenza espressa dal neurone per lo scopo finale. I risultati hanno indicato la presenza di una correlazione positiva e significativa tra le due variabili in PFG ma non in F5, confermando che nel settore parietale quanto più tardivamente un neurone raggiunge il massimo della sua intensità di scarica, e dunque il massimo della sua "rilevanza funzionale", tanto più netta sarà la sua preferenza per lo scopo finale. I neuroni di PFG, ma non quelli di F5, sembrano dunque in grado di amplificare l'informazione intenzionale in misura incrementale man mano ci si approssima alla conclusione dell'azione.

Questi risultati, insieme a quelli precedentemente discussi riguardo al minor numero di neuroni AGR di F5 e la ridotta selettività per lo scopo d'azione di questi ultimi rispetto a quelli di PFG, sono coerenti con l'ipotizzata organizzazione in catene dei neuroni parietali ma appaiono, almeno in egual misura, in contrasto con l'idea che una simile organizzazione possa trovarsi, o sia altrettanto rilevante, nell'area F5.

La *risposta differenziale* di neuroni codificanti un singolo atto motorio riflette dunque l'intenzionalità *dell'azione* globale in cui l'atto è incluso e risulta essere rappresentata, seppure in misura molto diversa, sia dai neuroni di PFG, verosimilmente organizzati in catene, sia da quelli di F5, per i quali non esistono prove convincenti di una organizzazione analoga. In relazione alle analogie e alle differenze rilevate tra le due aree, si potrebbe dunque ipotizzare che un'azione intenzionale sia il risultato dell'organizzazione in catene dei neuroni dell'area PFG codificanti singoli atti motori, selezionate grazie all'intervento di afferenze provenienti dalla corteccia prefrontale, in particolare dall'area 46v, fortemente connessa con PFG (Rozzi et al., 2006). Il processo di selezione operato da questa regione sfrutterebbe l'integrazione di informazioni contestuali e motivazionali contingenti (Tanji e Hoshi, 2001; Hoshi e Tanji, 2004; Passingham e Sakai, 2004; Sakagami e Watanabe, 2007; Shima et al., 2007). L'azione organizzata dalle catene parietali potrebbe trovare in F5 il "vocabolario motorio" per l'articolazione del movimento intenzionale: la ridotta discriminazione per lo scopo d'azione evidenziata nei neuroni di quest'ultima area potrebbe verosimilmente dipendere da connessioni preferenziali di alcuni di questi con neuroni AGR di PFG appartenenti a specifiche catene d'azione.

4.2. La comprensione dell'intenzionalità motoria

Una parte dei neuroni acquisiti nel CmS mostravano proprietà “mirror” (NM). Pur presentando tutti una chiara risposta durante l'esecuzione attiva di un atto di afferramento da parte della scimmia, questi neuroni si attivavano anche quando lo sperimentatore eseguiva un atto di afferramento analogo di fronte all'animale, che osservava senza dover fare nulla (Compito visivo Semplice – CvS).

Sin dal lavoro di Fogassi e collaboratori (2005) è noto che la maggior parte dei NM parietali è in grado di rispondere durante l'osservazione di un atto motorio (l'afferramento), con un'intensità di scarica diversa in relazione allo scopo ultimo dell'azione in cui l'atto codificato è incluso. Questa risposta discriminativa rispetto allo scopo dell'intera azione, durante l'*osservazione* di un singolo atto, risulta congruente con quella mostrata dagli stessi neuroni durante l'*esecuzione* attiva di un atto di afferramento da parte della scimmia: in altri termini, la risposta di un NM dell'afferramento che si attiva di più quando la scimmia “prende per mangiare” rispetto a quando “prende per piazzare”, è maggiore anche quando la scimmia osserva uno sperimentatore che “prende per mangiare” rispetto a quando “prende per piazzare”. Questo meccanismo è stato ritenuto una possibile base neurale per una comprensione dell'intenzionalità motoria dell'altro fondata sulla propria “conoscenza motoria”: in relazione a quale catena motoria è attivata, l'osservatore avrà una rappresentazione di ciò che, più probabilmente, l'agente sta per fare (Fogassi et al., 2005).

Analogamente all'ipotesi formulata per spiegare la selezione dell'azione intenzionale nel compito motorio, nel compito visivo si può supporre che lo stesso meccanismo consenta di attivare la rappresentazione dell'azione intenzionale eseguita dall'altro reclutando le stesse catene parietali che entrerebbero in gioco se fosse l'osservatore ad agire nello stesso contesto. In questo caso, l'osservatore non conosce fin dall'inizio lo scopo finale dell'azione dell'altro, come invece accade quando deve eseguirla attivamente: sarebbe perciò la convergenza dei fattori contestuali e mnemonici verosimilmente integrati nella corteccia prefrontale che, insieme alle informazioni visive sull'azione biologica, potrebbe consentire ai NM di PFG di rappresentare l'azione intenzionale dell'altro *più probabile* nelle circostanze attuali.

Se l'interpretazione dei differenti risultati riportati in PFG ed F5 mediante il CmS è corretta, ovvero se le informazioni sull'intenzionalità motoria investono prevalentemente PFG dove sono amplificate ed utilizzate per organizzare gli atti motori in azioni finalizzate mentre F5 avrebbe un ruolo più rilevante nella codifica dello scopo motorio dei singoli atti, i risultati comparativi tra le due aree ottenuti con il CvS assumono un notevole interesse.

In primo luogo, anche F5 come PFG, presenta NM che rispondono con intensità di scarica differente durante l'osservazione di un atto motorio in relazione allo scopo dell'azione in cui l'atto è incluso. Ma l'aspetto più interessante è che a fronte delle cospicue differenze osservate nel comportamento motorio dei neuroni di PFG ed F5, si riscontra una sostanziale analogia a livello delle risposte, sia visive sia motorie, dei NM delle due aree. In particolare, come rilevato per i neuroni motori di PFG nel CmS, la maggior parte dei NM sia di PFG che di F5 risultano AGR, e tale percentuale è, in entrambi i casi, significativamente maggiore di quella degli stessi neuroni motori AGR di PFG. Inoltre, in entrambe le aree prevalgono drasticamente le risposte visive selettive per la condizione "prendere per mangiare" e l'analisi delle risposte delle stesse popolazioni di neuroni di PFG e di F5 acquisiti sia nel CvS che nel CmS rivela che in entrambe esiste una sostanziale analogia tra la selettività visiva e la selettività motoria della risposta all'afferramento in relazione allo scopo dell'azione in cui l'atto è incluso. L'unica differenza che si riscontra tra le popolazioni neuronali parietale e premotoria riguarda l'intensità relativa delle risposte visiva e motoria degli stessi NM: in PFG, infatti, la risposta motoria non è significativamente maggiore rispetto a quella visiva mentre risulta tale in F5, suggerendo un livello di maggiore astrazione dell'informazione veicolata dai neuroni parietali.

In generale, da questi dati emerge una spiccata similarità funzionale tra le popolazioni di NM di PFG ed F5 che contrasta con le marcate differenze riscontrate tra le popolazioni di neuroni puramente motori delle stesse aree. I NM in questo senso sembrano costituire una popolazione con caratteristiche diverse da quelle dei neuroni puramente motori, soprattutto in F5. I NM di entrambe le aree sembrano infatti in grado di fornire una rappresentazione degli atti motori fortemente condizionale allo scopo dell'azione in cui tali atti sono inseriti, in particolar modo quando l'azione stessa è immediatamente comprensibile e naturale come "prendere per mangiare".

Ma che cosa determina la scarica dei neuroni mirror, ovvero come questa popolazione di cellule può essere selezionata in maniera differenziale? È possibile che il meccanismo di reclutamento sia lo stesso che opera sui neuroni puramente motori, al quale si sommano però, nei NM, informazioni di tipo visivo che determinano la risposta anche alla semplice osservazione dell'afferramento. Questa ipotesi però richiederebbe di ammettere che tale meccanismo agisca in PFG, dove il comportamento dei neuroni motori e mirror è simile, ma riguardi la sola popolazione di NM di F5, e non quelli puramente motori. Tuttavia, non esistono informazioni anatomiche dirimenti al riguardo e sarebbero necessari più approfonditi esperimenti per verificare le connessioni anatomiche su controllo fisiologico delle due regioni mirror di PFG ed F5 sullo stesso animale. Ancora una volta, dati che solo parzialmente corrispondono a questi criteri suggeriscono

che alcune regioni dell'area 46v potrebbero costituire una fonte comune di afferenze ad entrambe le aree in grado di rendere conto delle analogie funzionali tra le popolazioni di NM (Preuss e Goldman-Rakic, 1989; Petrides e Pandya, 2006; Rozzi et al., 2006; Belmalih et al., 2007). In alternativa, la somiglianza tra le popolazioni di NM di PFG ed F5 potrebbe dipendere da una connessione, anche anatomica, particolarmente stretta tra le due. È evidentemente prematuro e al di là delle possibilità offerte dai dati ad oggi a disposizione indicare uno o più sistemi anatomici in grado di selezionare le popolazioni di neuroni motori e mirror. Ma la risposta a questa domanda riveste un'importanza cruciale per comprendere se, e in che modo, questi sistemi anatomici possano contribuire alla comprensione dell'intenzionalità motoria degli altri che i sistemi mirror parieto-premotori evidentemente possono rappresentare.

Sebbene non esistano ulteriori dati per articolare in modo più preciso il problema del meccanismo di selezione dei neuroni mirror durante i compiti motorio e visivo semplici, esistono tuttavia indicazioni interessanti che provengono dai risultati ottenuti in questo stesso lavoro mediante l'applicazione del Compito Complesso (CmC). Le conclusioni che sarà possibile trarre dalla discussione di questi risultati, nella sezione successiva, potranno essere riprese anche per proporre una interpretazione del meccanismo di selezione dei neuroni mirror.

4.3. La codifica intenzionale di atti motori in sequenze complesse

I fattori contestuali e il riconoscimento della rilevanza comportamentale degli oggetti costituiscono informazioni cruciali per definire quali siano le possibilità d'azione, proprie o altrui, in determinate circostanze. Al di fuori di un contesto o in situazioni di ambiguità, un'azione finalizzata può essere rappresentata soltanto nei termini della successione di atti motori che la compongono, e non già alla luce del suo scopo ultimo. Gli elementi contestuali sono quindi indispensabili per definire cosa sia possibile fare e per quali scopi. D'altra parte, non sono sufficienti per fornire una rappresentazione predittiva, per quanto automatica e immediata, di ciò che il soggetto o una terza persona "stanno per fare". Ciò che manca è precisamente il contenuto di tale rappresentazione, ossia il movimento.

Occorre un meccanismo che traduca le informazioni contestuali (ma anche emotive e motivazionali), in un'azione intenzionale articolata in una sequenza ordinata di atti motori (raggiungere, afferrare, tenere, ecc.), ciascuno dotato del suo specifico scopo motorio, ma finalizzata ad un unico obiettivo finale (p.es. "mangiare" o "piazzare"). Il CmS ha suggerito che l'organizzazione degli atti in azioni finalizzate potrebbe dipende-

re dalla corteccia parietale posteriore, e in particolare dall'area PFG, sfruttando probabilmente connessioni locali specifiche tra neuroni che codificano atti motori o fasi successive del movimento. Il risultato di questa organizzazione, a livello funzionale, è una codifica del movimento che diviene sempre più "sintonizzata" motoricamente sullo scopo finale dell'azione globale, man mano l'azione stessa volge al termine. Ciò dipenderebbe dalla necessità di sfruttare l'attività di un neurone legato alla codifica di un atto, per esempio l'afferramento, per preattivare i neuroni legati alla codifica degli atti successivi coinvolti nella catena d'azione: tenere, portare e, infine, afferrare con la bocca nella catena d'azione "prender per mangiare" o rilasciare il cibo nella catena "prendere per piazzare". È evidente qui che il contenuto dell'"intenzione motoria" (mangiare o piazzare) è di fatto un atto motorio in senso lato, che si identifica precisamente con l'ultimo atto della catena d'azione. Se esiste un'organizzazione in catene di neuroni che conferisce un preciso significato funzionale alla proprietà, mostrata da questi neuroni, di riflettere lo scopo ultimo dell'azione nella quale l'atto motorio codificato è inserito, non è forse possibile che la scarica rifletta (e preattivi) in realtà semplicemente lo scopo dell'atto successivo? Cosa succederebbe, in altri termini, se l'intenzione globale fosse la stessa ("prendere per mangiare", ad esempio), ma la scimmia dovesse compiere più atti di afferramento, temporalmente separati, prima di poter effettivamente mangiare il cibo afferrato? Lo scopo motorio immediato del primo atto (prendere per rimuovere), coinciderebbe così tra le condizioni ma risulterebbe completamente dissociato dallo scopo ultimo (prendere per mangiare oppure per piazzare).

I risultati riportati applicando il CmC indicano chiaramente che una porzione consistente dei neuroni di PFG e solo poche unità di F5 presentano una codifica dell'afferramento diversa tra le condizioni sperimentali durante l'esecuzione di *entrambi* gli atti di afferramento. Tale comportamento risulta significativo, in PFG ma non in F5, a livello dell'intera popolazione di neuroni AGR, includendo anche quelli che statisticamente non presentano una discriminazione significativa durante l'esecuzione del primo atto. Inoltre, l'intensità della discriminazione operata dalla scarica dei neuroni di PFG durante il secondo atto di afferramento è nettamente maggiore rispetto a quella dei neuroni di F5, confermando i risultati riportati applicando, sulle stesse cellule, il CmS: la condizione preferita e l'entità della preferenza manifestata dalle singole cellule nei compiti semplice e complesso sono peraltro positivamente e significativamente correlate, in entrambe le aree, dimostrando una notevole consistenza dei risultati ottenuti con i due compiti.

La presenza di una discriminazione significativa anche durante l'esecuzione del primo atto di afferramento, in PFG, suggerisce l'esistenza di un meccanismo di reclutamento dei neuroni più complesso di quello che si poteva ipotizzare sulla base dei ri-

sultati riportati con il CmS. Gli atti successivi all'afferramento del coperchio (rilascio, raggiungimento del target e afferramento), sono infatti identici nelle due condizioni: tuttavia, molti neuroni scaricano in modo differenziale già durante l'esecuzione del primo atto della sequenza riflettendo quindi la finalità *ultima* dell'azione in cui l'atto codificato è incluso, e non semplicemente lo scopo motorio di quello successivo. Non ci sono dati che possano suggerire l'esistenza di un'organizzazione delle connessioni tra i neuroni più complessa di quella "in catene" già ipotizzata, ed è forse più probabile che una simile organizzazione sia valida, di fatto, soltanto per catene piuttosto brevi nelle quali i singoli atti motori siano sequenzialmente legati l'un l'altro da relazioni funzionali pre-determinate ed ecologicamente rilevanti per l'animale, come quelle studiate nel CmS. In effetti, l'entità della risposta neuronale durante l'esecuzione del primo atto, che non realizza e non prelude direttamente al conseguimento dello scopo finale, è in genere notevolmente inferiore rispetto a quella osservata durante l'esecuzione del secondo atto, in particolare nei neuroni di PFG. La notevole somiglianza nell'intensità della risposta all'afferramento durante il primo e il secondo atto del CmC nei neuroni di F5, d'altra parte, conferma il ruolo di questa regione nella codifica del singolo atto motorio *in quanto tale*, a prescindere cioè dallo scopo dell'azione in cui l'atto stesso è inserito o dalla prossimità al conseguimento del fine ultimo.

I risultati ottenuti con il CmC evidenziano la presenza di una discriminazione già sul primo atto di afferramento, confermando che lo scopo ultimo dell'azione, ossia l'intenzione motoria dell'animale, è effettivamente la variabile che influenza la scarica dei neuroni parietali e che risulta molto meno rilevante nel settore premotorio.

L'applicazione del CmC in condizioni di incertezza, inoltre, provoca la perdita di una preesistente discriminazione in relazione alla condizione sperimentale durante l'esecuzione del primo dei due atti della sequenza. In una prima serie di prove (con uno schermo trasparente a segnalare l'inizio della prova), la scimmia eseguiva il compito sapendo fin dall'inizio quale oggetto fosse contenuto nel recipiente. Nella seconda serie, le stesse condizioni (prendere per mangiare o piazzare) venivano effettuate impedendo alla scimmia di vedere quale oggetto venisse inserito nel contenitore (frapponendo uno schermo opaco). La scimmia doveva quindi afferrare l'appiglio sul coperchio, in entrambe le condizioni, senza sapere cosa il recipiente avrebbe contenuto, e la risposta dei neuroni codificanti l'afferramento risultava di uguale intensità a prescindere dalla condizione. Invece, la discriminazione presente durante il secondo atto con lo schermo trasparente rimaneva immutata: l'accesso visivo al contenuto del recipiente ormai aperto consentiva l'esecuzione del secondo atto di afferramento con la "consapevolezza" dello scopo ultimo dell'azione attuale.

Uno di questi neuroni, studiato nelle stesse condizioni con lo schermo oscurato ma senza una randomizzazione delle prove, ha consentito di dimostrare che anche le informazioni mnemoniche convogliate da un paradigma di prove a blocchi - che permette di prevedere la condizione successiva sulla base di quelle precedentemente effettuate, sempre uguali - possono essere sufficienti per produrre lo stesso risultato osservato nello stesso compito con lo schermo trasparente e con prove randomizzate: in queste condizioni, il neurone era in grado di discriminare in favore di una condizione sperimentale durante l'esecuzione di entrambi gli atti della sequenza.

Questi risultati, oltre a dimostrare che l'informazione riflessa dall'attività differenziale dei neuroni studiati coincide effettivamente con lo scopo dell'azione, ovvero con una intenzione motoria dell'individuo agente, indicano anche che l'impossibilità di definire o prevedere lo scopo dell'azione in corso non preclude la possibilità di selezionare l'intero repertorio neuronale potenzialmente utile, mantenendo il sistema di selezione in una sorta di "stand-by". La mancanza di informazioni determina infatti una perdita di differenziazione della risposta tra le condizioni sperimentali, ma non una significativa riduzione dell'intensità assoluta della risposta stessa: l'intensità di scarica in quella che era la condizione preferita diminuisce, mentre la risposta in quella che era la condizione non preferita aumenta. Questo dato suggerisce anche che la differenza tra le condizioni, in entrambi i compiti semplice e complesso, e forse anche nel CVS, potrebbe essere promossa non solo da fenomeni facilitatori, ma anche da processi di inibizione laterale dei neuroni codificanti atti appartenenti a catene "concorrenti" rispetto a quella preselezionata nelle circostanze attuali.

La dimostrazione, in ambito motorio, che l'ambiguità del contesto annulla la discriminazione ma non la risposta neuronale, fa supporre che tale fenomeno potrebbe applicarsi anche ai neuroni mirror, sebbene non esistano dati a supporto di questa ipotesi. In altri termini, al di fuori di un contesto specifico in grado di suggerire uno scopo d'azione ben preciso, un ipotetico neurone mirror di "prendere per mangiare" - così come i neuroni motori studiati nel CmC con lo schermo opaco - probabilmente risponderebbe all'atto di afferramento in quanto tale, codificandone lo scopo motorio indipendentemente da quello dell'azione globale in cui l'atto osservato è incluso. In questo caso, le catene motorie corrispondenti alle diverse condizioni sarebbero tutte ugualmente attivate. Nel momento in cui, come nel CmC, le informazioni contestuali consentissero una risoluzione dell'ambiguità, una sola delle catene rimarrebbe attiva consentendo l'emergere di una rappresentazione dell'azione intenzionale in corso.

4.4. Circuiti parieto-frontali per l'organizzazione e il controllo dell'azione intenzionale e la comprensione dell'intenzionalità motoria

L'iniezione di WGA, un tracciante neuronale, nella zona di registrazione in PFG destra di una delle scimmie utilizzate in questi esperimenti, ha rivelato la presenza di connessioni con la regione dell'area F5 in cui sono state eseguite le registrazioni neurali durante gli stessi compiti motori e visivo. La maggior densità di marcatura, tuttavia, è localizzata per lo più nella profondità immediatamente adiacente la convessità corticale più densamente registrata. Studi anatomici precedenti indicano che le connessioni di PFG con F5 riguardano l'intero banco posteriore del solco arcuato e si estendono fino alla convessità corticale, tendendo ad essere distribuite in modo relativamente uniforme attraverso i vari strati (Rozzi et al., 2006). È dunque estremamente verosimile che la marcatura nella regione di convessità più intensamente coinvolta dalle registrazioni elettrofisiologiche non sia più rilevabile a causa di gliosi e processi di degenerazione neuronale conseguenti alle numerose penetrazioni con i microelettrodi. Alla luce della letteratura esistente, tuttavia, il dato risulta comunque estremamente interessante in quanto fornisce indicazioni dirette sulla presenza di connessioni tra le due regioni che sono state studiate usando gli stessi compiti sperimentali. Si può dunque tracciare uno schema approssimativo dei reciproci ruoli funzionali delle aree PFG ed F5 nell'organizzazione e controllo dell'azione intenzionale nonché nei processi di rappresentazione dell'azione degli altri che potrebbero essere alla base della comprensione dell'intenzionalità motoria.

I neuroni di PFG potrebbero essere verosimilmente organizzati in catene, ciascuna comprendente neuroni che, per quanto dotati ciascuno del proprio specifico scopo motorio, consentirebbero la costruzione di più complesse azioni intenzionali caratterizzate da uno specifico scopo finale (per esempio, mangiare o piazzare).

Un'organizzazione in catene del movimento come quella ipotizzata in parietale richiede però l'accesso ad un "vocabolario di atti" che potrebbe essere fornito dall'area F5 (Rizzolatti et al., 1988). In questa regione, infatti, la codifica dei neuroni risulta scarsamente influenzata dallo scopo ultimo dell'azione, ma decisamente selettiva per lo scopo motorio immediato dei singoli atti codificati (Umiltà et al., 2008).

Come già ampiamente discusso, è necessario ammettere l'esistenza di un meccanismo in grado di selezionare, o pre-selezionare, i neuroni che appartengono all'una o l'altra catena: tale meccanismo potrebbe essere rappresentato da neuroni dell'area 46v, le cui proprietà funzionali (Tanji e Hoshi, 2001; Hoshi e Tanji, 2004; Passingham e Sakai, 2004; Sakagami e Watanabe, 2007; Shima et al., 2007) e connessioni anatomiche

con il lobulo parietale inferiore (Preuss e Goldman-Rakic, 1989; Petrides e Pandya, 2006; Rozzi et al., 2006) giustificano un ruolo rilevante in questo senso.

Lo stesso meccanismo di selezione, che opererebbe mediante l'integrazione di diverse informazioni contestuali, mnemoniche e motivazionali, potrebbe contribuire alla costruzione del contesto che consente ai neuroni mirror di fornire una rappresentazione dell'atto motorio dell'altro condizionale al più probabile scopo finale dell'azione in quel contesto. Ciò consente di sfruttare l'organizzazione del proprio repertorio motorio per una comprensione immediata dell'intenzionalità.

Le numerose analogie esistenti tra le proprietà di risposta dei neuroni mirror parietali e promotori e le cospicue connessioni anatomiche esistenti tra i due nodi del circuito suggeriscono un ruolo affine dei due sistemi nella rappresentazione dell'azione intenzionale dell'altro in un formato motorio astratto, ossia non immediatamente riconducibile ad un controllo esecutivo. Tali analogie potrebbero dipendere sia da connessioni particolarmente consistenti tra i neuroni mirror parietali e promotori, sia da una fonte di afferenze comune ad entrambi che dovrebbe essere comunque dimostrata.

I risultati di diversi studi lesionali sulla scimmia e sull'uomo sono coerenti con le peculiarità funzionali del lobulo parietale inferiore e della corteccia premotoria ventrale nell'organizzazione e controllo del movimento evidenziate in questo studio.

Ablazioni della corteccia parietale inferiore nella scimmia provocano tipicamente una marcata riluttanza ad utilizzare l'arto controlesionale cui si associano deficit nell'organizzazione dei movimenti nello spazio (Faugier-Grimaud et al., 1978; Matelli et al., 1984). Nell'uomo, i deficit conseguenti a lesioni del lobulo parietale inferiore sinistro o destro producono, rispettivamente, aprassia (De Renzi et al., 1983; Leiguarda e Marsden, 2000) e neglect (Vallar e Ronchi, 2006; Kinsbourne, 2006). Entrambi questi disturbi rappresentano alterazioni di ordine superiore delle capacità di tradurre una sequenza motoria in un gesto correttamente eseguito in assenza di deficit puramente motori (aprassia ideomotoria), e di rappresentare e utilizzare esplicitamente lo spazio controlesionale per l'azione in assenza di deficit puramente visivi (neglect). Nel complesso, questi dati supportano l'idea che il lobulo parietale inferiore possa costruire rappresentazioni interne dell'azione per diversi fini, organizzando singoli atti dotati ciascuno del proprio scopo motorio in più complesse e articolate azioni nello spazio.

L'osservazione di un'azione eseguita da altri viene rappresentata visivamente da neuroni del solco temporale superiore (Perrett et al., 1989) e potrebbe accedere ad una forma di rappresentazione motoria attivando popolazioni distinte di neuroni parietali e premotori (Rizzolatti et al., 2001). Ma la possibilità di accedere ad una rappresentazione dell'azione dell'altro predittiva del suo scopo finale, come già ampiamente discusso, di-

pende in maniera cruciale dalle informazioni convogliate dal contesto in cui avviene l'azione. Così come per chi agisce la conoscenza delle possibilità d'azione offerte dagli elementi contestuali consente di scegliere lo scopo motorio più coerente con quel contesto, è probabilmente lo stesso meccanismo che consente di selezionare, tra quei neuroni di PFG ed F5 che ricevono informazioni visive sull'azione dell'altro, quelli che cooperano alla costruzione della rappresentazione motoria predittiva dell'azione più coerente con il contesto in cui si sta svolgendo. I NM parietali e premotori descritti in questo studio potrebbero costituire il substrato per una *rappresentazione* e un *riconoscimento* dell'azione intenzionale in quanto sarebbe lo stesso substrato attivato durante l'esecuzione attiva di quella stessa azione in quel contesto. Studi comportamentali hanno dimostrato che la presenza di una rappresentazione predittiva dell'azione può essere utilizzata esplicitamente per guidare il comportamento oculare durante l'osservazione di un'azione manuale compiuta da altri, anticipando le posizioni successivamente assunte dalla mano dell'altro nello spazio in modo del tutto simile a quando l'osservatore eseguiva attivamente lo stesso compito (Flanagan e Johansson, 2003): ma tale possibilità dipende dal riconoscimento e dall'effettiva prevedibilità dell'azione osservata (Rotman et al., 2006). Recenti studi su pazienti aprassici in seguito a lesioni del lobulo parietale inferiore di sinistra (Buxbaum et al., 2005) o afasici a causa di lesioni della corteccia frontale inferiore sinistra (Saygin et al., 2004), dimostrano che alterazioni a carico delle principali aree del sistema mirror nell'uomo provocano gravi difficoltà nel riconoscimento di azioni manuali suggerendo, in relazione ai dati riportati in questo studio sulla scimmia, che proprio queste strutture potrebbero giocare un ruolo cruciale nella costruzione della rappresentazione predittiva dell'azione intenzionale dell'altro. L'analogia nel comportamento dei neuroni mirror parietali e premotori suggerisce perciò che questa peculiare popolazione di neuroni, presente in entrambi i settori del circuito, condivide proprietà funzionali che la caratterizzano come un sistema neurale dedicato ad una rappresentazione astratta dell'azione, sia in una modalità "contingente", in quanto scopo dell'atto motorio, sia in una "predittiva" in quanto coordinazione di atti motori in un'azione globale finalizzata.

BIBLIOGRAFIA

- Andersen, R.A., Snyder, L.H., Bradley, D.C. e Xing, J. (1997). Multimodal representation of space in the posterior parietal cortex and its use in planning movements. *Annu Rev Neurosci* 20: 303-30.
- Armstrong, E. (1982). A look at relative brain size in mammals. *Neurosci Lett* 34(2): 101-4.
- Avillac, M., Ben Hamed, S. e Duhamel, J.R. (2007). Multisensory integration in the ventral intraparietal area of the macaque monkey. *J Neurosci* 27(8): 1922-32.
- Barbas, H. e Pandya, D.N. (1987). Architecture and frontal cortical connections of the premotor cortex (area 6) in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 196: 65-113.
- Barbas, H. e Pandya, D.N. (1989). Architecture and intrinsic connections of the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 286(3): 353-75.
- Battaglia-Mayer, A., Mascaro, M., Brunamonti, E. e Caminiti, R. (2005). The over-representation of contralateral space in parietal cortex: a positive image of directional motor components of neglect? *Cereb Cortex* 15(5): 514-25.
- Belmalih, A., Borra, E., Gerbella, M., Rozzi, S. e Luppino, G. (2007). Connections of architectonically distinct subdivisions of the ventral premotor area F5 of the macaque. *Soc Neurosci Abs* 636.5.
- Berti, A. e Rizzolatti, G. (1992). Visual processing without awareness: evidence from unilateral neglect. *J Cogn Neurosci* 4: 345-351.
- Bisiach, E. e Vallar, G. (2000). Unilateral neglect in humans. *Handbook of neuropsychology*, vol. I, 2nd ed. F. Boller, J. Grafman e G. Rizzolatti, Elsevier Science, Amsterdam: 450-459.
- Borra, E., Belmalih, A., Calzavara, R., Gerbella, M., Murata, A., Rozzi, S. e Luppino, G. (2007). Cortical Connections of the Macaque Anterior Intraparietal (AIP) Area. *Cereb Cortex*.
- Brodmann, K. (1909). *Vergleichende Lokalisationlehre der grosshirnrinde in ihren Prinzipien dargestellt auf Grund des Zellenbaues*. Leipzig: Barth.
- Butterworth, G. E. e Hopkins, B. (1988). Hand-mouth coordination in the newborn human infant. *British J Dev Psychol* 25: 963-975.
- Buxbaum, L.J., Kyle, K.M. e Menon, R. (2005). On beyond mirror neurons: internal representations subserving imitation and recognition of skilled object-related actions in humans. *Brain Res Cogn Brain Res* 25(1): 226-39.
- Byrne, R.W. e Bates, L.A. (2007). Sociality, evolution and cognition. *Curr Biol* 17(16): R714-23.
- Caminiti, R., Ferraina, S. e Johnson, P. B. (1996). The sources of visual information to the primate frontal lobe: a novel role for the superior parietal lobule. *Cereb Cortex* 6(3): 319-28.
- Campbell, A.W. (1905). *Histological studies on the Localization of Cerebral Function*. New York, Cambridge Univ. Press.

-
- Cattaneo, L., Fabbri-Destro, M., Boria, S., Pieraccini, C., Monti, A., Cossu, G. e Rizzolatti, G. (2007). Impairment of actions chains in autism and its possible role in intention understanding. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(45): 17825-30.
- Colby, C.L. (1998). Action-oriented spatial reference frames in cortex. *Neuron* 20(1): 15-24.
- Colby, C.L. e Duhamel, J. R. (1991). Heterogeneity of extrastriate visual areas and multiple parietal areas in the macaque monkey. *Neuropsychologia* 29(6): 517-37.
- Colby, C.L., Duhamel, J.R. e Goldberg, M.E. (1993). Ventral intraparietal area of the macaque: anatomic location and visual response properties. *J Neurophysiol* 69(3): 902-14.
- Coude, G., Ferrari, P.F., Rozzi, S., Borelli, E., Bonini, L., Rizzolatti, G. e Fogassi, L. (2005). Motor control, sensorimotor integration, and cognitive functions of the cortical ventral motor areas of macaque monkey: a mapping study. *Soc Neurosc Abs* 194.2.
- D'Esposito, M., McGlinchey-Berroth, R., Alexander, M. P., Verfaellie, M. e Milberg, W.P. (1993). Dissociable cognitive and neural mechanisms of unilateral visual neglect. *Neurology* 43(12): 2638-44.
- De Renzi, E. (1982). Disorders of space exploration and cognition. John Wiley, Chichester, UK.
- De Renzi, E. e Faglioni, P. (1999). Apraxia. In: Clinical and experimental neuropsychology. G. Denes e L. Pizzamiglio, Psychology Press, East Sussex, UK.
- De Renzi, E., Faglioni, P., Lodesani, M. e Vecchi, A. (1983). Performance of left brain-damaged patients on imitation of single movements and motor sequences. Frontal and parietal-injured patients compared. *Cortex* 19(3): 333-43.
- De Vries, J.I.P., Visser, G.H.A. e Prechtl, H.F.R. (1984). Fetal motility in the first half of pregnancy. Continuity of neural functions from prenatal to postnatal life. H. F. R. Prechtl, Spastics International Medical Publications.
- Duhamel, J.R., Colby, C.L. e Goldberg, M.E. (1998). Ventral intraparietal area of the macaque: congruent visual and somatic response properties. *J Neurophysiol* 79(1): 126-36.
- Dum, R. P. e Strick, P. L. (1996). Spinal cord terminations of the medial wall motor areas in macaque monkeys. *J Neurosci* 16(20): 6513-25.
- Fadiga, L., Fogassi, L., Gallese, V. e Rizzolatti, G. (2000). Visuomotor neurons: ambiguity of the discharge or 'motor' perception? *Int J Psychophysiol* 35(2-3): 165-77.
- Faugier-Grimaud, S., Frenois, C. e Stein, D.G. (1978). Effects of posterior parietal lesions on visually guided behavior in monkeys. *Neuropsychologia* 16(2): 151-68.
- Feldman, J.F. e Brody, N. (1978). Nonelicited newborn behaviours in relation to state and prandial condition. *Merrill-Palmer Quarterly* 24: 79-84.
- Ferrari, P.F., Gregoriou, G., Rozzi, S., Pagliara, S., Rizzolatti, G. e Fogassi, L. (2003). Functional organization of the inferior parietal lobule of the macaque monkey. *Soc Neurosc Abs* 917.7.
-

- Ferrari, P.F., Rozzi, S. e Fogassi, L. (2005). Mirror neurons responding to observation of actions made with tools in monkey ventral premotor cortex. *J Cogn Neurosci* 17(2): 212-26.
- Ferrier, D. (1876). *The functions of the brain*. London: Smith, Elder.
- Flanagan, J.R. e Johansson, R.S. (2003). Action plans used in action observation. *Nature* 424(6950): 769-71.
- Fogassi, L., Ferrari, P. F., Gesierich, B., Rozzi, S., Chersi, F. e Rizzolatti, G. (2005). Parietal lobe: from action organization to intention understanding. *Science* 308(5722): 662-7.
- Fogassi, L., Gallese, V., Buccino, G., Craighero, L., Fadiga, L. e Rizzolatti, G. (2001). Cortical mechanism for the visual guidance of hand grasping movements in the monkey: A reversible inactivation study. *Brain* 124(Pt 3): 571-86.
- Fogassi, L., Gallese, V., di Pellegrino, G., Fadiga, L., Gentilucci, M., Luppino, G., Matelli, M., Pedotti, A. e Rizzolatti, G. (1992). Space coding by premotor cortex. *Exp Brain Res* 89(3): 686-90.
- Fogassi, L., Gallese, V., Fadiga, L., Luppino, G., Matelli, M. e Rizzolatti, G. (1996). Coding of peripersonal space in inferior premotor cortex (area F4). *J Neurophysiol* 76(1): 141-57.
- Fogassi, L., Gallese, V., Fadiga, L. e Rizzolatti, G. (1998). Neurons responding to the sight of goal-directed hand/arm actions in the parietal area PF(7b) of the macaque monkey. *Soc Neurosc Abs* 24: 257.5.
- Fogassi, L. e Luppino, G. (2005). Motor functions of the parietal lobe. *Curr Opin Neurobiol* 15(6): 626-31.
- Fritsch, G. e Hitzig, E. (1870). Ueber die elektrische Erregbarkeit des Grosshirns. *Archiv fur Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin*: 330-33.
- Galea, M.P. e Darian-Smith, I. (1994). Multiple corticospinal neuron populations in the macaque monkey are specified by their unique cortical origins, spinal terminations, and connections. *Cereb Cortex* 4(2): 166-94.
- Gallese, V., Fadiga, L., Fogassi, L., Luppino, G. e Murata, A. (1997). A parietal-frontal circuit for hand grasping movements in the monkey: evidence from reversible inactivation experiments. Parietal lobe contribution to orientation in 3D space. P. Thier e H. O. Karnath. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Gallese, V., Fadiga, L., Fogassi, L. e Rizzolatti, G. (1996). Action recognition in the premotor cortex. *Brain* 119 (Pt 2): 593-609.
- Gallese, V., Fadiga, L., Fogassi, L. e Rizzolatti, G. (2002). Action representation and the inferior parietal lobule. *Common Mechanisms in Perception and Action: Attention and Performance*. W. Prinz e B. Hommel, Oxford University Press. 19: 334-355.
- Gallese, V., Murata, A., Kaseda, M., Niki, N. e Sakata, H. (1994). Deficit of hand preshaping after muscimol injection in monkey parietal cortex. *Neuroreport* 5(12): 1525-9.
- Gardner, E. P., Babu, K. S., *et al.* (2007). Neurophysiology of prehension. I. Posterior parietal cortex and object-oriented hand behaviors. *J Neurophysiol* 97(1): 387-406.

- Gentilucci, M., Fogassi, L., Luppino, G., Matelli, M., Camarda, R. e Rizzolatti, G. (1988). Functional organization of inferior area 6 in the macaque monkey: I. Somatotopy and the control of proximal movements. *Exp Brain Res* 71: 475-90.
- Gentilucci, M., Fogassi, L., Luppino, G., Matelli, M., Camarda, R. e Rizzolatti, G. (1989). Somatotopic representation in inferior area 6 of the macaque monkey. *Brain Behav Evol* 33(2-3): 118-21.
- Geschwind, N. (1965). Disconnexion syndromes in animals and man. I. *Brain* 88(2): 237-94.
- Gibson, J. (1979). *The ecological approach to visual perception*. Boston, Houghton Mifflin Company.
- Goodale, M.A., Milner, A.D., Jakobson, L.S. e Carey, D.P. (1991). A neurological dissociation between perceiving objects and grasping them. *Nature* 349(6305): 154-6.
- Gregoriou, G.G., Borra, E., Matelli, M. e Luppino, G. (2006). Architectonic organization of the inferior parietal convexity of the macaque monkey. *J Comp Neurol* 496(3): 422-51.
- Halligan, P.W., Fink, G.R., Marshall, J.C. e Vallar, G. (2003). Spatial cognition: evidence from visual neglect. *Trends Cogn Sci* 7(3): 125-133.
- He, S.Q., Dum, R.P. e Strick, P.L. (1993). Topographic organization of corticospinal projections from the frontal lobe: motor areas on the lateral surface of the hemisphere. *J Neurosci* 13(3): 952-80.
- He, S.Q., Dum, R.P. e Strick, P.L. (1995). Topographic organization of corticospinal projections from the frontal lobe: motor areas on the medial surface of the hemisphere. *J Neurosci* 15(5 Pt 1): 3284-306.
- Heilman, K.M., Rothi, L.J. e Valenstein, E. (1982). Two forms of ideomotor apraxia. *Neurology* 32(4): 342-6.
- Hines, M. (1929). On cerebral localization. *Physiol. Rev.* 9: 462-574.
- Hoshi, E. e Tanji, J. (2004). Area-selective neuronal activity in the dorsolateral prefrontal cortex for information retrieval and action planning. *J Neurophysiol* 91(6): 2707-22.
- Hoshi, E. e Tanji, J. (2004). Differential roles of neuronal activity in the supplementary and pre-supplementary motor areas: from information retrieval to motor planning and execution. *J Neurophysiol* 92(6): 3482-99.
- Hurley, S.R. (2001). *Perception and Action*. Synthese 129: 3-40.
- Hyvarinen, J. (1981). Regional distribution of functions in parietal association area 7 of the monkey. *Brain Res* 206(2): 287-303.
- Hyvarinen, J. (1982). Posterior parietal lobe of the primate brain. *Physiol Rev* 62(3): 1060-129.
- Hyvarinen, J. e Poranen, A. (1974). Function of the parietal associative area 7 as revealed from cellular discharges in alert monkeys. *Brain* 97: 673-692.

-
- Iacoboni, M., Molnar-Szakacs, I., Gallese, V., Buccino, G., Mazziotta, J. C. e Rizzolatti, G. (2005). Grasping the intentions of others with one's own mirror neuron system. *PLoS Biol* 3(3): e79.
- Jackson, J.H. (1863). Convulsive spasm of the right hand and arm preceding epileptic seizures. *Med. Times Gaz* 1: 589.
- Jackson, J.H. (1873). Osservazioni sulla localizzazione dei movimenti negli emisferi cerebrali alla luce di casi di convulsione, corea e "afasia". *Modelli della mente, modelli del cervello* (1998). C. Morabito. Milano, Franco Angeli.
- Jeannerod, M. (1994). The representing brain: neural correlates of motor intention and imagery. *Behav Brain Sci* 17: 187-245.
- Jeannerod, M. (2006). The origin of voluntary action. History of a physiological concept. *C.R. Biologies* 329: 354-362.
- Jeannerod, M., Arbib, M.A., Rizzolatti, G. e Sakata, H. (1995). Grasping objects: the cortical mechanisms of visuomotor transformation. *Trends Neurosci* 18(7): 314-20.
- Keizer, K. e Kuypers, H.G. (1989). Distribution of corticospinal neurons with collaterals to the lower brain stem reticular formation in monkey (*Macaca fascicularis*). *Exp Brain Res* 74(2): 311-8.
- Keysers, C., Kohler, E., Umiltà, M. A., Nanetti, L., Fogassi, L. e Gallese, V. (2003). Audiovisual mirror neurons and action recognition. *Exp Brain Res* 153(4): 628-36.
- Kinsbourne, M. (2006). From unilateral neglect to the brain basis of consciousness. *Cortex* 42(6): 869-74.
- Kohler, E., Keysers, C., Umiltà, M. A., Fogassi, L., Gallese, V. e Rizzolatti, G. (2002). Hearing sounds, understanding actions: action representation in mirror neurons. *Science* 297(5582): 846-8.
- Leiguarda, R.C. e Marsden, C.D. (2000). Limb apraxias: higher-order disorders of sensorimotor integration. *Brain* 123 (Pt 5): 860-79.
- Leinonen, L., Hyvarinen, J., Nyman, G. e Linnankoski, I. (1979). Functional properties of neurons in lateral part of associative area 7 in awake monkey. *Exp Brain Res* 34: 299-320.
- Leinonen, L. e Nyman, G. (1979). II. Functional properties of cells in anterolateral part of area 7 associative face area of awake monkeys. *Exp Brain Res* 34(2): 321-33.
- Lew, A. e Butterworth, G.E. (1995). Hand-mouth contact in newborn babies before and after feeding. *Developmental Psychology* 31: 456-463.
- Llinas, R. (2001). *The i of the vortex*. Cambridge, MA, MIT Press.
- Luppino, G., Matelli, M., Camarda, R. e Rizzolatti, G. (1993). Corticocortical connections of area F3 (SMA-proper) and area F6 (pre-SMA) in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 338(1): 114-40.
-

- Luppino, G., Matelli, M., Camarda, R.M., Gallese, V. e Rizzolatti, G. (1991). Multiple representations of body movements in mesial area 6 and the adjacent cingulate cortex: an intracortical microstimulation study in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 311(4): 463-82.
- Luppino, G., Murata, A., Govoni, P. e Matelli, M. (1999). Largely segregated parietofrontal connections linking rostral intraparietal cortex (areas AIP and VIP) and the ventral premotor cortex (areas F5 and F4). *Exp Brain Res* 128(1-2): 181-7.
- Luppino, G. e Rizzolatti, G. (2000). The Organization of the Frontal Motor Cortex. *News Physiol Sci* 15: 219-224.
- Marconi, B., Genovesio, A., Battaglia-Mayer, A., Ferraina, S., Squatrito, S., Molinari, M., Lacquaniti, F. e Caminiti, R. (2001). Eye-hand coordination during reaching. I. Anatomical relationships between parietal and frontal cortex. *Cereb Cortex* 11(6): 513-27.
- Matelli, M., Camarda, R., Glickstein, M. e Rizzolatti, G. (1986). Afferent and efferent projections of the inferior area 6 in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 251(3): 281-98.
- Matelli, M., Gallese, V. e Rizzolatti, G. (1984). [Neurological deficit following a lesion in the parietal area 7b in the monkey]. *Boll Soc Ital Biol Sper* 60(4): 839-44.
- Matelli, M. e Luppino, G. (2000). Parietofrontal circuits: parallel channels for sensory-motor integrations. *Adv Neurol* 84: 51-61.
- Matelli, M. e Luppino, G. (2001). Parietofrontal circuits for action and space perception in the macaque monkey. *Neuroimage* 14(1 Pt 2): S27-32.
- Matelli, M., Luppino, G. e Rizzolatti, G. (1985). Patterns of cytochrome oxidase activity in the frontal agranular cortex of the macaque monkey. *Behav Brain Res* 18(2): 125-36.
- Matelli, M., Luppino, G. e Rizzolatti, G. (1991). Architecture of superior and mesial area 6 and the adjacent cingulate cortex in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 311(4): 445-62.
- Milner, A.D. e Goodale, M.A. (1995). *The visual brain in action*. Oxford, Oxford University Press.
- Montessori, M. (1952). *La mente del bambino: mente assorbente*. Milano: Garzanti.
- Moody, S.L. e Zipser, D. (1998). A model of reaching dynamics in primary motor cortex. *J Cogn Neurosci* 10(1): 35-45.
- Mountcastle, V.B., Lynch, J.C., Georgopoulos, A., Sakata, H. e Acuna, C. (1975). Posterior parietal association cortex of the monkey: command functions for operations within extrapersonal space. *J Neurophysiol* 38(4): 871-908.
- Murata, A., Fadiga, L., Fogassi, L., Gallese, V., Raos, V. e Rizzolatti, G. (1997). Object representation in the ventral premotor cortex (area F5) of the monkey. *J Neurophysiol* 78(4): 2226-30.
- Murata, A., Gallese, V., Luppino, G., Kaseda, M. e Sakata, H. (2000). Selectivity for the shape, size, and orientation of objects for grasping in neurons of monkey parietal area AIP. *J Neurophysiol* 83(5): 2580-601.

-
- Noë, A. (2004). *Action in perception*. Cambridge, MA, MIT Press.
- Pandya, D.N. e Seltzer, B. (1982). Intrinsic connections and architectonics of posterior parietal cortex in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 204(2): 196-210.
- Passingham, D. e Sakai, K. (2004). The prefrontal cortex and working memory: physiology and brain imaging. *Curr Opin Neurobiol* 14(2): 163-8.
- Penfield, W. e Welch, K. (1951). The supplementary motor area of the cerebral cortex; a clinical and experimental study. *AMA Arch Neurol Psychiatry* 66(3): 289-317.
- Perenin, M.T. e Vighetto, A. (1988). Optic ataxia: a specific disruption in visuomotor mechanisms. I. Different aspects of the deficit in reaching for objects. *Brain* 111 (Pt 3): 643-74.
- Perrett, D.I., Harries, M. H., Bevan, R., Thomas, S., Benson, P.J., Mistlin, A.J., Chitty, A.J., Hietanen, J.K. e Ortega, J.E. (1989). Frameworks of analysis for the neural representation of animate objects and actions. *J Exp Biol* 146: 87-113.
- Petrides, M. e Pandya, D.N. (1994). Comparative architectonic analysis of the human and the macaque frontal cortex. In: *Handbook of neuropsychology*, Vol. IX. F. Boller e J. Grafman. New York, Elsevier.
- Petrides, M. e Pandya, D.N. (2006). Efferent association pathways originating in the caudal prefrontal cortex in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 498(2): 227-51.
- Piaget, J. (1947). *La psychologie de l'intelligence*. Paris, Armand Colin.
- Poincaré, J.H. (1908). *Scienza e metodo*. Tr. it. a cura di C. Bartocci, Einaudi, Torino 1997.
- Porter, R. e Lemon, R. (1993). *Corticospinal function and voluntary movement*. Oxford, Clarendon Press.
- Preuss, T.M. (2000). Taking the measure of diversity: comparative alternatives to the model-animal paradigm in cortical neuroscience. *Brain Behav Evol* 55(6): 287-99.
- Preuss, T.M. (2004). What is it like to be a human? In: *The cognitive neuroscience III*. M. S. Gazzaniga. London, MIT Press.
- Preuss, T.M. e Goldman-Rakic, P. S. (1989). Connections of the ventral granular frontal cortex of macaques with perisylvian premotor and somatosensory areas: anatomical evidence for somatic representation in primate frontal association cortex. *J Comp Neurol* 282(2): 293-316.
- Preuss, T.M. e Kaas, J.H. (1996). Cytochrome oxidase 'blobs' and other characteristics of primary visual cortex in a lemuroid primate, *Cheirogaleus medius*. *Brain Behav Evol* 47(2): 103-12.
- Preuss, T.M., Stepniewska, I., Jain, N. e Kaas, J.H. (1997). Multiple divisions of macaque precentral motor cortex identified with neurofilament antibody SMI-32. *Brain Res* 767(1): 148-53.
- Raos, V., Franchi, G., Gallese, V. e Fogassi, L. (2003). Somatotopic organization of the lateral part of area F2 (dorsal premotor cortex) of the macaque monkey. *J Neurophysiol* 89(3): 1503-18.
-

-
- Raos, V., Umiltà, M. A., Murata, A., Fogassi, L. e Gallese, V. (2006). Functional properties of grasping-related neurons in the ventral premotor area F5 of the macaque monkey. *J Neurophysiol* 95(2): 709-29.
- Ratcliff, G. e Davies-Jones, G.A. (1972). Defective visual localization in focal brain wounds. *Brain* 95(1): 49-60.
- Rizzolatti, G., Camarda, R., Fogassi, L., Gentilucci, M., Luppino, G. e 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(3): 491-507.
- Rizzolatti, G. e Craighero, L. (2004). The mirror-neuron system. *Annu Rev Neurosci* 27: 169-92.
- Rizzolatti, G. e Fadiga, L. (1998). Grasping objects and grasping action meanings: the dual role of monkey rostroventral premotor cortex (area F5). *Novartis Found Symp* 218: 81-95; discussion 95-103.
- Rizzolatti, G., Fadiga, L., Fogassi, L. e Gallese, V. (1997). The space around us. *Science* 277(5323): 190-1.
- Rizzolatti, G., Fadiga, L., Gallese, V. e Fogassi, L. (1996). Premotor cortex and the recognition of motor actions. *Brain Res Cogn Brain Res* 3(2): 131-41.
- Rizzolatti, G., Fogassi, L. e Gallese, V. (1997). Parietal cortex: from sight to action. *Curr Opin Neurobiol* 7(4): 562-7.
- Rizzolatti, G., Fogassi, L. e Gallese, V. (2001). Neurophysiological mechanisms underlying the understanding and imitation of action. *Nat Rev Neurosci* 2(9): 661-70.
- Rizzolatti, G., Gentilucci, M., Fogassi, L., Luppino, G., Matelli, M. e Ponzoni-Maggi, S. (1987). Neurons related to goal-directed motor acts in inferior area 6 of the macaque monkey. *Exp Brain Res* 67(1): 220-4.
- Rizzolatti, G. e Luppino, G. (2001). The cortical motor system. *Neuron* 31(6): 889-901.
- Rizzolatti, G., Luppino, G. e Matelli, M. (1998). The organization of the cortical motor system: new concepts. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 106(4): 283-96.
- Rizzolatti, G. e Matelli, M. (2003). Two different streams form the dorsal visual system: anatomy and functions. *Exp Brain Res* 153(2): 146-57.
- Rothi, L.J., Heilman, K.M. e Watson, R.T. (1985). Pantomime comprehension and ideomotor apraxia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 48(3): 207-10.
- Rotman, G., Troje, N.F., Johansson, R.S. e Flanagan, J.R. (2006). Eye movements when observing predictable and unpredictable actions. *J Neurophysiol* 96(3): 1358-69.
- Rozzi, S., Calzavara, R., Belmalih, A., Borra, E., Gregoriou, G.G., Matelli, M. e Luppino, G. (2006). Cortical connections of the inferior parietal cortical convexity of the macaque monkey. *Cereb Cortex* 16(10): 1389-417.
-

- Sakagami, M. e Watanabe, M. (2007). Integration of cognitive and motivational information in the primate lateral prefrontal cortex. *Ann N Y Acad Sci* 1104: 89-107.
- Sakata, H., Taira, M., Kusunoki, M., Murata, A. e Tanaka, Y. (1997). The TINS Lecture. The parietal association cortex in depth perception and visual control of hand action. *Trends Neurosci* 20(8): 350-7.
- Sakata, H., Taira, M., Murata, A. e Mine, S. (1995). Neural mechanisms of visual guidance of hand action in the parietal cortex of the monkey. *Cereb Cortex* 5(5): 429-38.
- Sakata, H., Takaoka, Y., Kawarasaki, A. e Shibutani, H. (1973). Somatosensory properties of neurons in the superior parietal cortex (area 5) of the rhesus monkey. *Brain Res* 64: 85-102.
- Saygin, A.P., Wilson, S.M., Dronkers, N.F. e Bates, E. (2004). Action comprehension in aphasia: linguistic and non-linguistic deficits and their lesion correlates. *Neuropsychologia* 42(13): 1788-804.
- Seal, J., Gross, C. e Bioulac, B. (1982). Activity of neurons in area 5 during a simple arm movement in monkeys before and after deafferentation of the trained limb. *Brain Res* 250(2): 229-43.
- Shima, K., Isoda, M., Mushiake, H. e Tanji, J. (2007). Categorization of behavioural sequences in the prefrontal cortex. *Nature* 445(7125): 315-8.
- Sparling, J.W. e Wilhelm, J. (1993). Concepts in fetal movement research. *Concepts in fetal movement research*. J. W. Sparling. Binghamton, NY, Haworth Press: 97-114.
- Sperry, R. (1952). Neurology and the mind-brain problem. *Am Sci* 40: 291-312.
- Stephan, H., Frahm, H. e Baron, G. (1981). New and revised data on volumes of brain structures in insectivores and primates. *Folia Primatol (Basel)* 35(1): 1-29.
- Takeshita, H., Myowa-Yamakoshi, M. e Hirata, S. (2006). A new comparative perspective on prenatal motor behaviors: preliminary research with four-dimensional ultrasonography. Cognitive development in chimpanzees. T. Matsuzawa, M. Tomonaga e M. Tanaka.
- Tanaka, M., Yokochi, H. e Iriki, A. (2004). Macaque parietal neurons coding the meaningful action of self and others. *Soc Neurosc Abs* 82.14.
- Tanji, J. (2001). Sequential organization of multiple movements: involvement of cortical motor areas. *Annu Rev Neurosci* 24: 631-51.
- Tanji, J. e Hoshi, E. (2001). Behavioral planning in the prefrontal cortex. *Curr Opin Neurobiol* 11(2): 164-70.
- Tanji, J., Shima, K. e Mushiake, H. (2007). Concept-based behavioral planning and the lateral prefrontal cortex. *Trends Cogn Sci* 11(12): 528-34.
- Tanne, J., Boussaoud, D., Boyer-Zeller, N. e Rouiller, E. M. (1995). Direct visual pathways for reaching movements in the macaque monkey. *Neuroreport* 7(1): 267-72.

- Umiltà, M.A., Escola, L., Intskirveli, I., Grammont, F., Rochat, M., Caruana, F., Jezzini, A., Gallese, V. e Rizzolatti, G. (2008). When pliers become fingers in the monkey motor system. *PNAS*, *in press*.
- Umiltà, M. A., Kohler, E., Gallese, V., Fogassi, L., Fadiga, L., Keysers, C. e Rizzolatti, G. (2001). I know what you are doing. a neurophysiological study. *Neuron* 31(1): 155-65.
- Ungerleider, L.G. e Mishkin, M. (1982). Two visual system. In: *Analysis of visual behavior*. D.J. Ingle, M. A. Goodale e R. J. W. Mansfield. Cambridge, MA, MIT Press: 549-586.
- Vallar, G. e Ronchi, R. (2006). Anosognosia for motor and sensory deficits after unilateral brain damage: a review. *Restor Neurol Neurosci* 24(4-6): 247-57.
- Vogt, C. e Vogt, O. (1919). *Allgemeinere Ergebnisse unserer Hirnforschung*. *J Psychol Neurol*: 279-461.
- Von Bonin, G. e Bailey, P. (1947). *The neocortex of Macaca mulatta*, University of Illinois Press, Urbana IL.
- Wise, S. P. (1985). The primate premotor cortex fifty years after Fulton. *Behav Brain Res* 18(2): 79-88.
- Woolsey, C.N., Settlage, P.H., Meyer, D.R., Sencer, W., Pinto Hamuy, T. e Travis, A.M. (1952). Patterns of localization in precentral and "supplementary" motor areas and their relation to the concept of a premotor area. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis* 30: 238-64.
- Yokochi, H., Tanaka, M., Kumashiro, M. e Iriki, A. (2003). Inferior parietal somatosensory neurons coding face-hand coordination in Japanese macaques. *Somatosens Mot Res* 20(2): 115-25.
- Zoia, S., Blason, L., D'Ottavio, G., Bulgheroni, M., Pezzetta, E., Scabar, A. e Castiello, U. (2007). Evidence of early development of action planning in the human foetus: a kinematic study. *Exp Brain Res* 176(2): 217-26.

