



SISTEMI DI DETERMINAZIONE DELL'ETÀ NEI CETACEI

*Stefano Rocca, Andrea Rotta, Serafina Farigu, Yoris Anfossi
Dipartimento di Patologia e Clinica Veterinaria
Facoltà di Medicina Veterinaria di Sassari*



Introduzione

La determinazione dell'età dei delfini è una parte dello studio inerente questi animali di estrema importanza.

Senza una accurata comprensione dell'età dei soggetti esaminati non possiamo comprendere altri aspetti inerenti la biologia comportamentale di questi animali come:

- Età di raggiungimento della maturità sessuale;
- Età della prima fase riproduttiva;
- La naturale longevità;
- Associazione di patologie ricorrenti con particolari fasi della vita di questi mammiferi;
- La dinamica di popolazione.

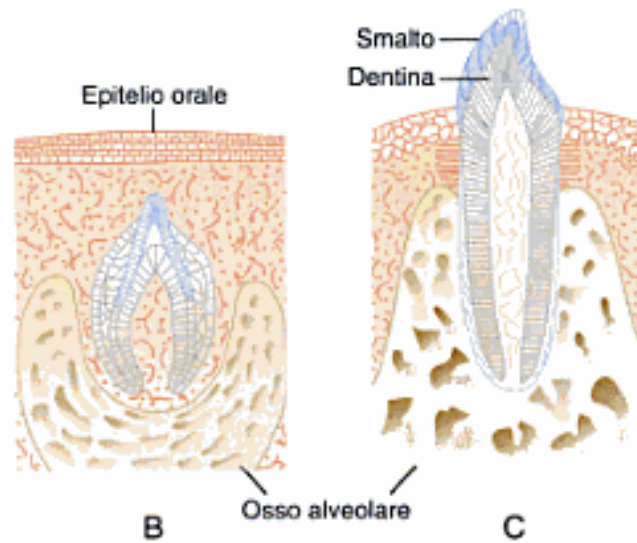
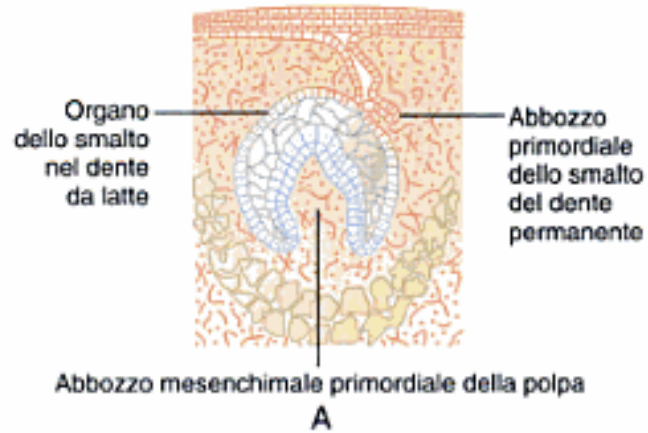
Introduzione

Uno degli strumenti più utilizzati per molti mammiferi terrestri e non, è la stima dei livelli di crescita nei denti e nelle ossa.

I cetacei odontoceti o denticeti non fanno eccezione (a differenza dei misticeti che sono provisti di fanoni).

- È un metodo universalmente riconosciuto dalla comunità scientifica;
- Le linee di crescita si possono identificare facilmente in molte specie di mammiferi;
- Non sempre però i modelli validi per una specie si possono sovrapporre in un'altra;
- Necessità perciò di una «attenta calibratura» in riferimento alla specie presa in esame;

Fisiologia della dentizione



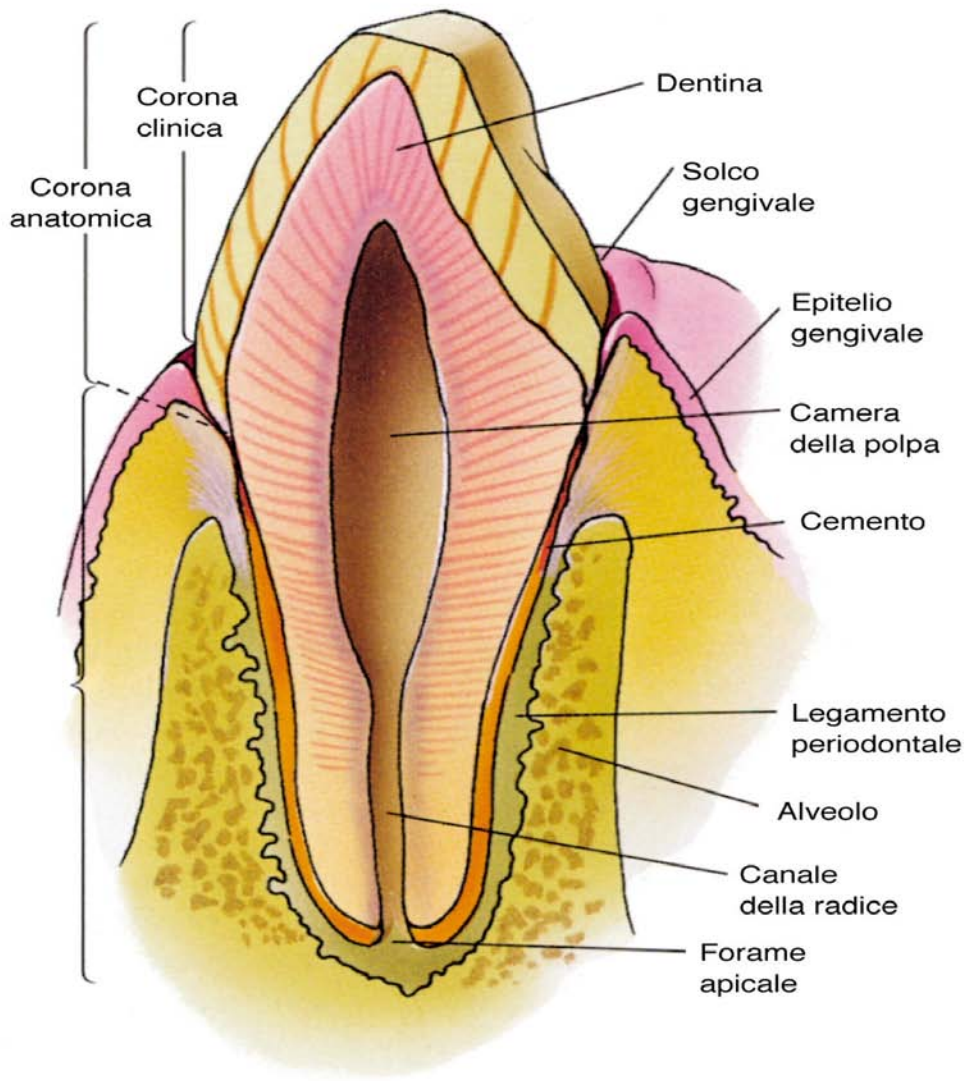
Distribuzione, deposizione e utilità dei tessuti dentali postnatali

I tessuti dentali del delfino hanno distribuzione e deposizione del tutto simili agli altri mammiferi.

Il dente di un giovane delfino sono costituiti da:

1. Un sottile, conico strato di smalto (formato prima della nascita);
2. Uno strato di dentina prenatale;
3. Uno strato di dentina neonatale;

Questa struttura conica va a circondare una cavità detta pulpare formata da nervi e vasi.



Distribuzione, deposizione e utilità dei tessuti dentali postnatali

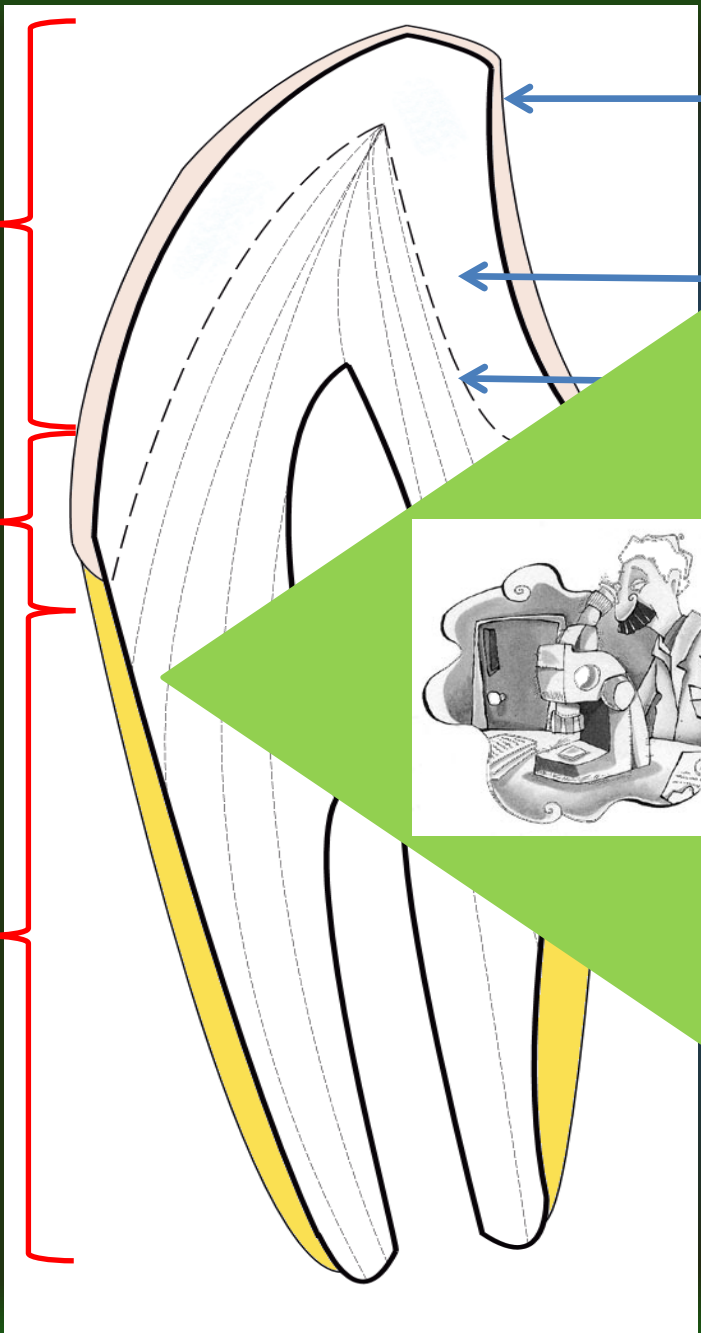
La dentina

1. La linea che separa la dentina prenatale da quella neonatale viene definita linea neonatale.
2. Essa è la prima di una serie di deposizioni che hanno una direzione «centrifuga» a partire dalla cavità pulpare.
3. Le linee di deposizione col tempo appariranno sempre più sottili per la compressione della dentina nuova su quella vecchia e il loro numero dipenderà dalla lunghezza della vita dell'animale.
4. Nei soggetti molto anziani la cavità pulpare si occlude e le linee di crescita diventeranno irregolari e di difficile lettura (in questi casi la stima risulta inattendibile).

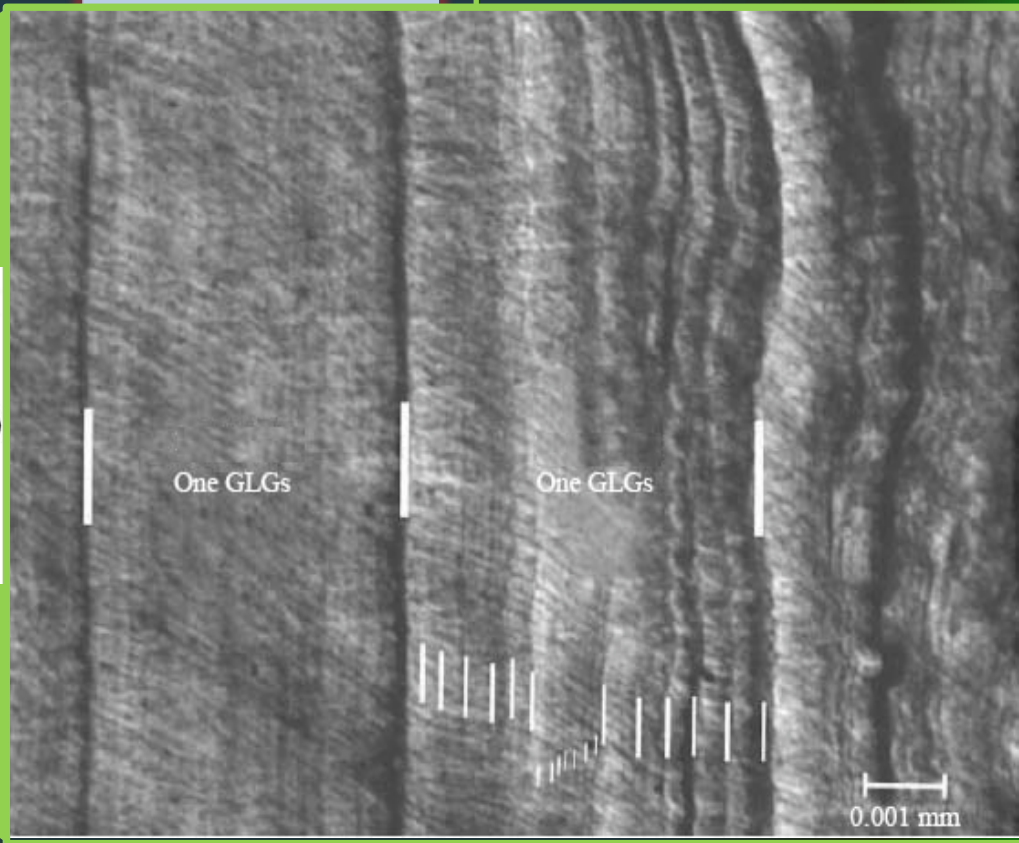
Corona

Colletto

Radice



Smalto



Distribuzione, deposizione e utilità dei tessuti dentali postnatali

Il cemento

1. Viene deposto esclusivamente dopo la nascita.
2. Si distribuisce esternamente alla radice in faci concentriche partendo dal colletto.
3. Il cemento può essere utilizzato per stimare la vita nei soggetti molto anziani laddove non è possibile leggere la dentina.

Allestimento di sezioni sottili

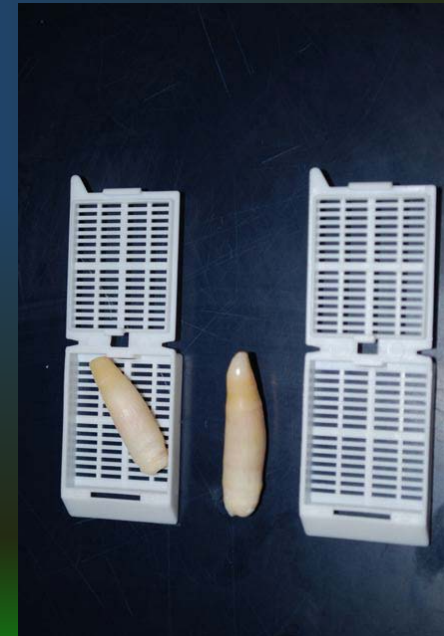
Selezione dei denti

1. La selezione dei denti può essere fatta nella regione centrale della mandibola o della mascella (possibilmente il terzo medio o posteriore, mai quelli anteriori).
2. La dentina dei denti mascellari a volte tende a deporsi più velocemente i quelli mandibolari.
3. Si preleva un frammento di mandibola sx con almeno 8-10 denti.
4. Per la rimozione dei denti bisogna fratturare l'osso alveolare senza rompere i denti.
5. L'esame della dentina va eseguito su tutti i denti prelevati.

Allestimento di sezioni sottili

Trattamento dei denti

1. Eliminazione dei tessuti molli residui.
2. Identificazione appropriata dei denti in sequenza, mediante targhetta o penna indelebile.
3. Deposizione dei denti con scatole forate in modo da permettere ai liquidi di trattamento di penetrare a dovere.
4. Per la rimozione dei denti bisogna fratturare l'osso alveolare senza rompere i denti.
5. L'esame della dentina va eseguito su tutti i denti prelevati.



Allestimento di sezioni sottili

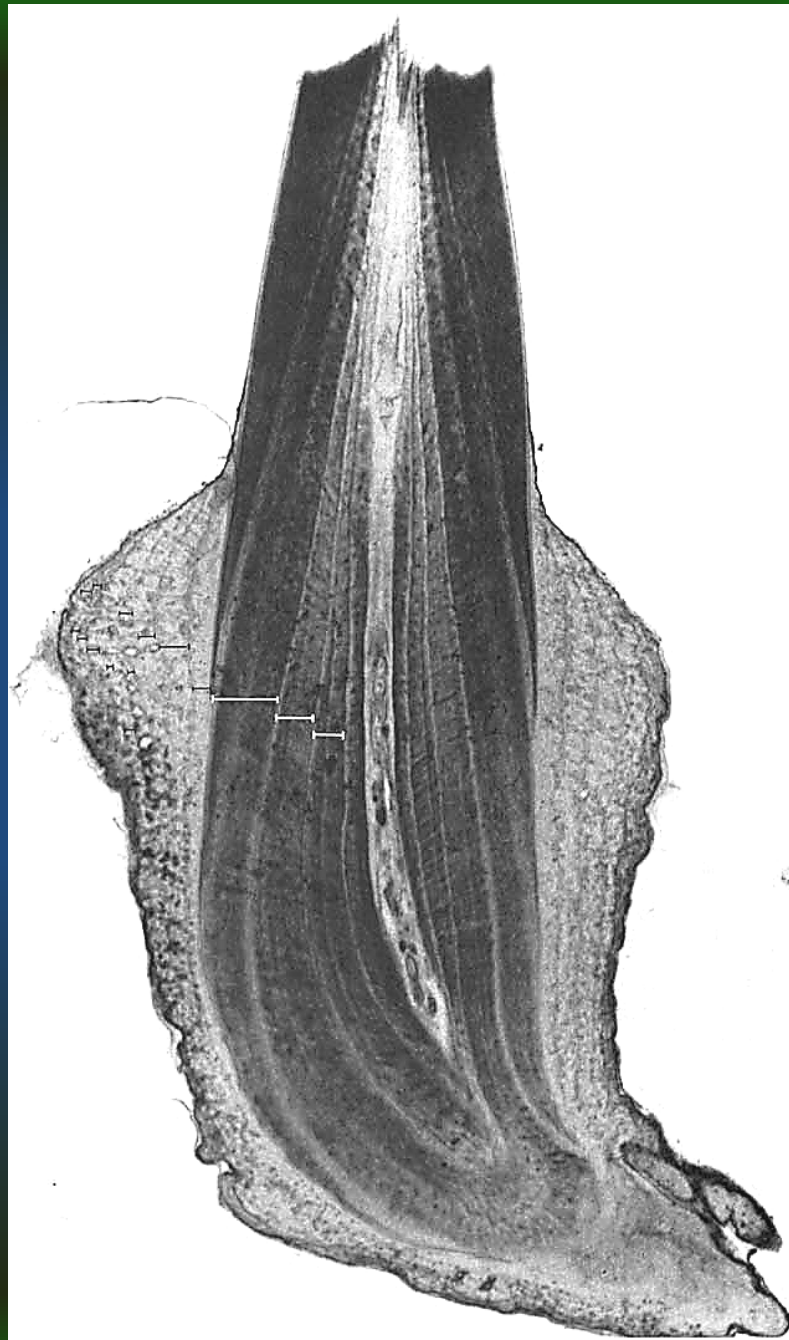
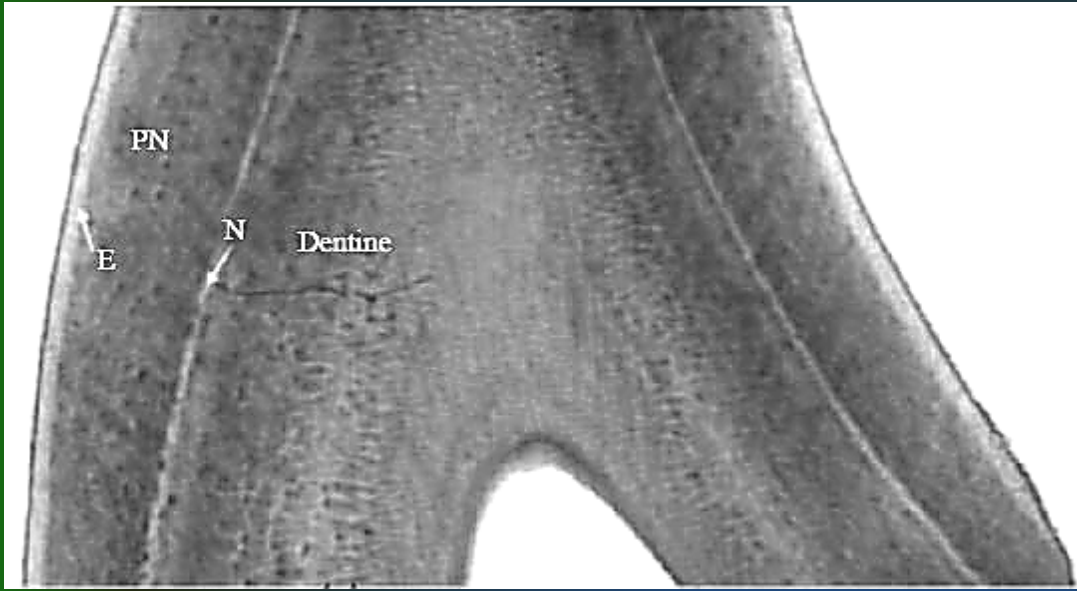
Decalcificazione e taglio

1. So possono utilizzare soluzioni commerciali che però sono molto aggressive.
2. Oppure soluzioni a base di acido formico e sodio citrato meno aggressive, più lente ma preserva maggiormente l'architettura dei tessuti.
3. I tempi variano dalla dimensione del dente e quindi dall'età dell'animale e possono variare da 3h fino a 13 o + h.
4. Se la decalcificazione è avvenuta in maniera completa il dente risulta flessibile e può essere sezionato al microtomo.
5. Bisogna rimuovere l'acido con lavaggi in acqua corrente per alcune ore.
6. Le sezioni possono essere fatte al criotomo oppure, previa inclusione in paraffina, al microtomo ad uno spessore di 24µm

Allestimento di sezioni sottili

Colorazione

1. Viene eseguita con ematossilina di Mayer's;
2. Le sezioni andrebbero montate in glicerina per evitare la disidratazione dei tessuti e il coartamento delle GLGs;
3. Le linee di dentina appaiono colorate in blu con maggiore evidenza della linea neonatale, lo smalto scompare a seguito della decalcificazione;



Definizione delle GLGs

Per un corretto esame dobbiamo rispettare 4 condizioni:

1. Familiarità con il tempo di deposizione e la distribuzione della dentina.

Infatti senza una precisa conoscenza dove il tessuto prenatale finisce ed inizia quello postnatale, la conta delle GLGs partirà da una posizione errata e quindi anche la stima sarà sbagliata.

2. Un buon sistema di processazione e trattamento dei denti per ottenere delle GLG di facile lettura.

Tale condizione dovrà trovare un buon compromesso con i costi e i tempi di trattamento che devono essere compatibili con le esigenze della struttura.

Definizione delle GLGs

3. Definizione e descrizione in dettaglio della struttura delle GLGs dei preparati nella specie che si esamina.

A volte questo passaggio viene trascurato nei lavori che si leggono

4. Infine, mettere in relazione le GLGs contate con l'età dell'animale ovvero il numero di strati corrisponde agli anni effettivi.

Quando ciò non avviene correttamente spesso la causa è da imputare a un preparato mal allestito o ad una anomalia intrinseca del dente.

Definizione delle GLGs

L'esame si svolge nell'analisi delle **growth layer groups (GLGs)**

Ogni GLG corrisponde ad un anno di età

Una GLG è formata da:

1. una linea sottile chiara o non colorata ben delimitata (a ridosso della NL nel caso della prima GLG)
2. Una linea spessa ben colorata;
3. Un'altra linea sottile chiara o non colorata;
4. E infine una linea spessa colorata.

In tutto una GLG è formata sempre da 4 linee di crescita

la deposizione dei 4 fogli varia da mese in mese in base a molti fattori

- Salinità;
- Temperatura;
- Nutrizione;
- Area marina (oceano pacifico piuttosto che oceano atlantico)

Definizione delle GLGs

La crescita avviene in direzione centrifuga a partire dalla cavità pulpare;

La lettura invece va fatta partire dalla prima GLG ovvero quella a contatto della linea neonatale;

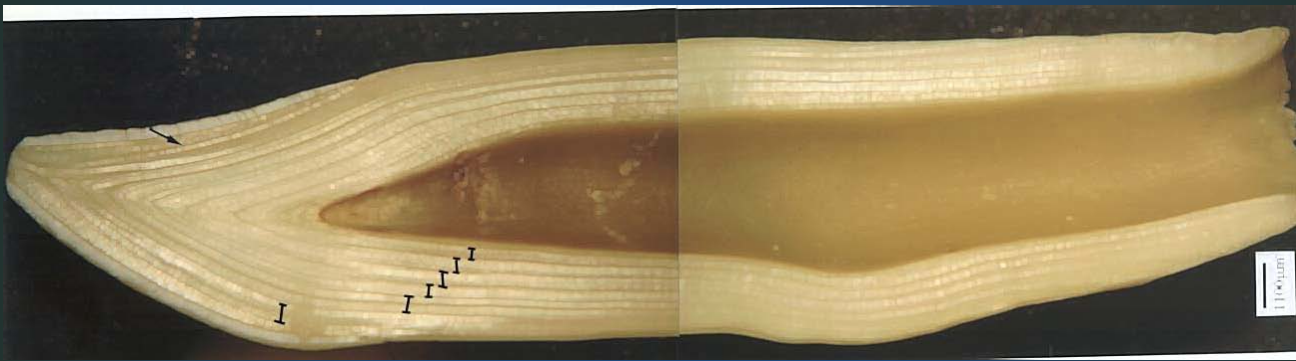
I sistemi di determinazione sono 2:

1. AAH (*Aleta A. Hohn*) identifica le prime due GLG a partire dalla NL e poi le altre a seguire (sistema utile quando le linee sono ben evidenti);
2. ACM (*Albert C. Myrick*) si aiuta per l'identificazione delle prime GLGs utilizzando delle tabelle di misurazione calibrate su *S. longirostris* trattata con tetraciclina e la cui crescita dentinale è stata monitorata periodicamente.

| GLG | μm | GLG | μm |
|---------|-------|------------|------|
| First | 240.0 | Ninth | 61.3 |
| Second | 238.6 | Tenth | 58.1 |
| Third | 171.0 | Eleventh | 55.0 |
| Fourth | 145.0 | Twelfth | 65.0 |
| Fifth | 119.6 | Thirteenth | 55.0 |
| Sixth | 95.4 | Fourteenth | 40.0 |
| Seventh | 87.0 | Fifteenth | 40.0 |
| Eighth | 71.3 | | |

S. longirostris age-specific thickness of GLGs





Il cemento

Anche il cemento può essere usato per la definizione dell'età ma...

A differenza della dentina la sua deposizione non è regolare

È formato da 2 linee di deposizione annuale e non 4

Può non esserci corrispondenza tra il numero di GLG della dentina e quelle del cemento

È un ausilio valido quando la dentina è poco leggibile o in soggetti molto anziani nei quali la dentina non viene più deposta o con la cavità pulpare occlusa.

Riassumendo....

1. Se la cavità pulpare è aperta

a. con dentina stratificata regolarmente il conteggio delle GLGs rimane il sistema più attendibile, il cemento dovrebbe avere la metà o il doppio o il triplo degli strati di dentina

b. con dentina stratificata irregolarmente, si procede con il conteggio delle GLGs fin dove è possibile, procedere poi con il conteggio delle GLGs del cemento e usare il numero degli strati del cemento come età probabile solo se sono meno o superiori del multiplo esatto degli strati della dentina. Se sono uguali al multiplo degli strati dentinali usare il numero delle GLGs come età.

2. Se la cavità pulpare è chiusa

a. con dentina stratificata regolarmente usare il sistema 1a

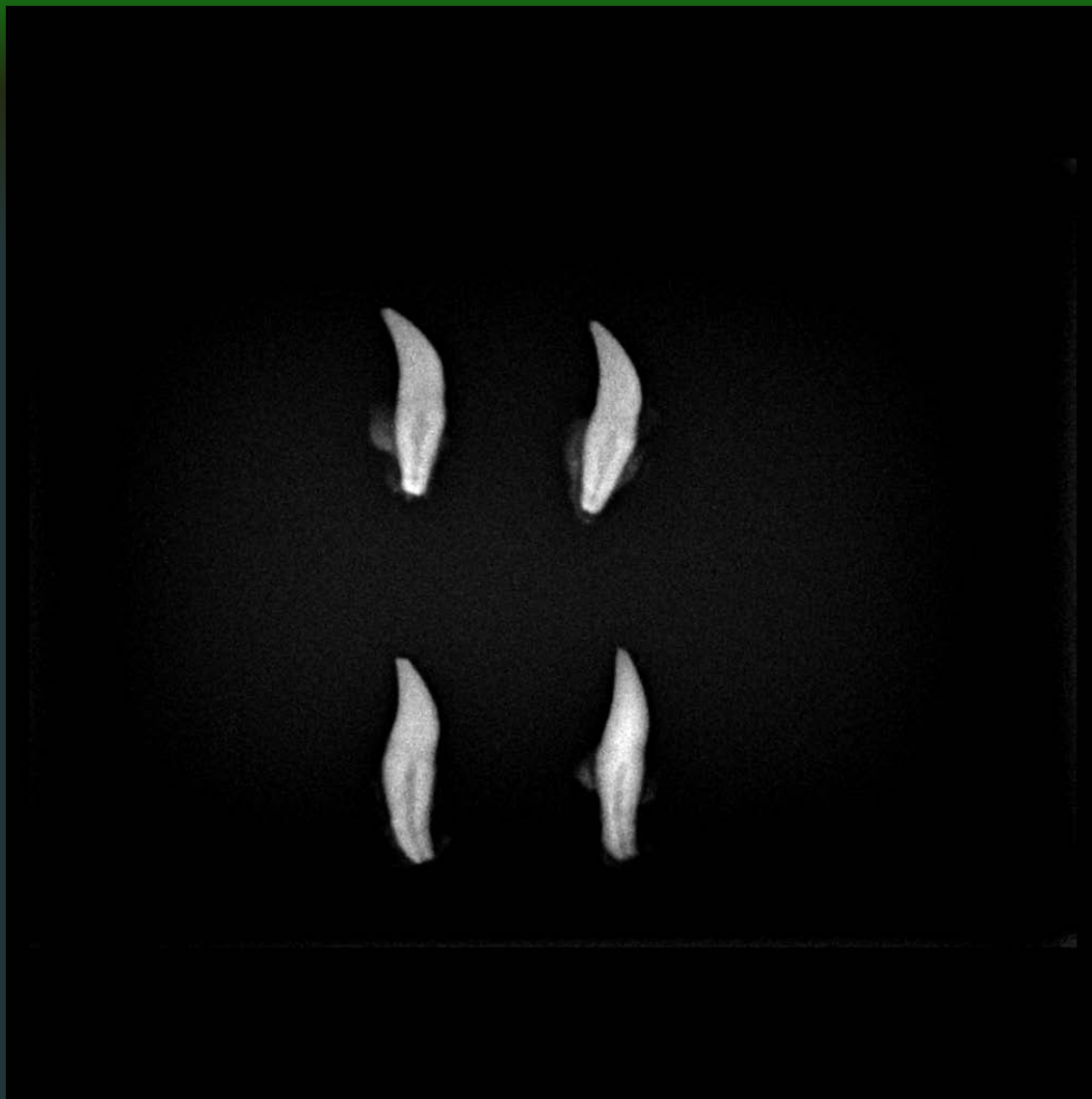
b. con dentina stratificata irregolarmente usare il sistema 1b

Approccio autoradiografico

Come ausilio alla valutazione dello stato del dente e della cavità pulpare è utile l'esame autoradiografico dei denti



Tursiope, La Maddalena, 18/03/2010 (Canuto)
maschio, età adulto, 335 cm



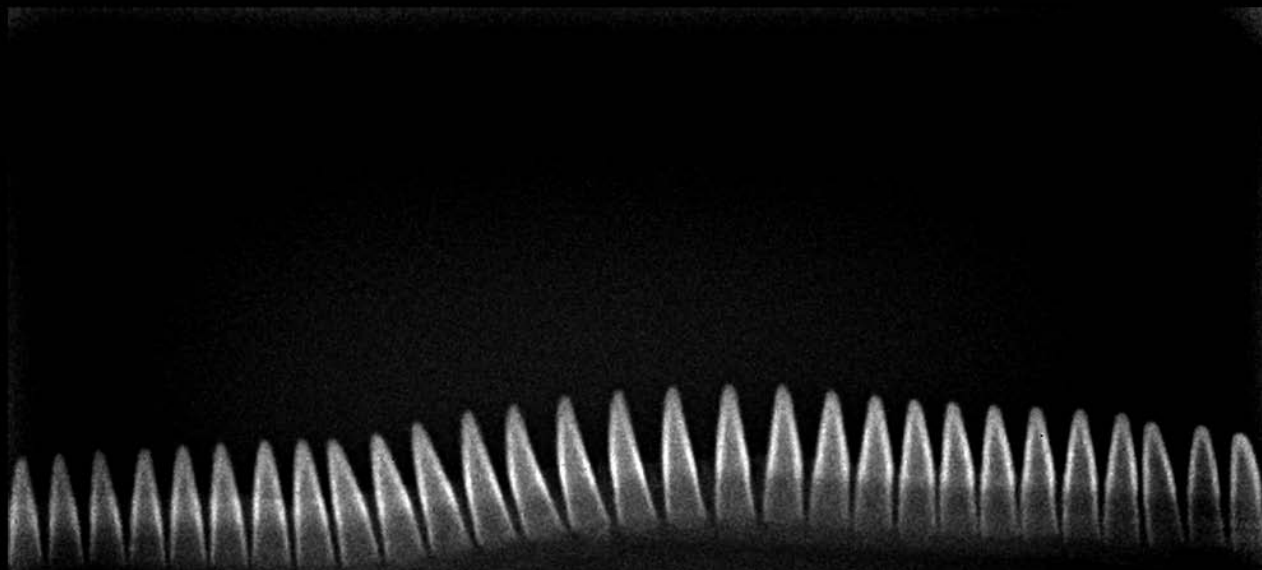
Stenella, Cala Gonone, necropsia 08/10/2010
maschio, adulto, 198 cm



Tursiope, Bosa, necroscopia 07/06/2010
femmina, età: subadulto, 200 cm



Tursiope, Marina Piccola (CA), necropsia 08/03/2011
femmina età: subadulta, 233 cm



Stenella, Porto Massimo (La Maddalena), necropsia
04/02/2011 maschio, età superiore a 1 anno, 106 cm

Grazie