

---

ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

# RENDICONTI

---

ERNESTO CAPANNA, SILVIA CARAVITA

## Osservazioni ultrastrutturali sul nervo olfattorio degli Anfi anuri

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,  
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 41 (1966), n.1-2, p.  
139-146.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<[http://www.bdim.eu/item?id=RLINA\\_1966\\_8\\_41\\_1-2\\_139\\_0](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_41_1-2_139_0)>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

---

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma  
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)  
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>



**Biologia.** — *Osservazioni ultrastrutturali sul nervo olfattorio degli Anfibi anuri* (\*). Nota (\*\*) di ERNESTO CAPANNA e SILVIA CARAVITA, presentata dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The amount of afferent fibres to the Telencephalon of Amphibians has been estimated in three species of Anurans (*Bufo bufo*, *Rana esculenta* and *Xenopus laevis*) to verify if the differences in cytoarchitecture of the pallial primordia of Anurans could be due to the different amount of the entering olfactory fibres. The present results show that the primary olfactory afferent to the telencephalon is more prominent in *Bufo* than in *Rana* and *Xenopus*.

Our observations have also made it evident that the ultrastructure of the unmyelinated olfactory nerves of Anurans is very nearly comparable to that of the fila olfactoria of Mammals. Nevertheless the ultra structure of Anurans' olfactory nerve shows some peculiarities: *i*) the basement membrane does not entirely enclose the Schwann cell; *ii*) neurotuboli and neurofilaments are present together in the olfactory fibres; *iii*) glial-like cells, provided with fibrils, and desmosomes are also interposed between the Schwann cells.

In una serie di Note comparse su questi « Rendiconti »<sup>(1)</sup>, uno di noi ha messo in evidenza una differente complicazione nell'istologia dei primordi palliali di Anfibi anuri con differente adattamento per l'ecologia terrestre; tale differenza si manifesta principalmente come differenza nell'entità della corticalizzazione<sup>(2)</sup> nei primordi palliali piriforme, dorsale e ippocampale. Nell'intento di individuare i fattori di tale corticalizzazione, ci siamo proposti di studiare l'entità delle vie olfattorie primarie e secondarie nelle diverse specie per le quali abbiamo descritto salienti differenze nella citoarchitettura.

Nella presente Nota riferiamo i risultati relativi alle osservazioni sull'entità delle fibre olfattorie primarie in tre specie di Anuri: *Xenopus* con peculiare adattamento acquicolo, *Rana* con comportamento orientato alla vita terrestre e *Bufo* con ecologia decisamente terricola.

Come è noto<sup>(3)</sup> le fibre olfattorie primarie nascono dalla mucosa olfattoria come neuriti delle cellule sensitive di primo tipo dell'organo olfattorio e dell'organo di Jacobson e si riuniscono in piccoli fasci amielinici (*fila olfac-*

(\*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata « G. B. Grassi » dell'Università di Roma e nel Centro di Neuroembriologia del C.N.R.

(\*\*) Pervenuta all'Accademia il 28 luglio 1966.

(1) E. CAPANNA, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 31, 498-503 (1961); ID., « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 32, 258-263 (1962); E. CAPANNA e M. AITA, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 33, 340-346 (1962); E. CAPANNA, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. VIII), 35, 621-625 (1963).

(2) A. KUHLENBECK, « Anat. Anz. », 54, 280-285 (1921); ID., « Anat. Anz. », 54, 304-316 (1921).

(3) S. RAMON Y CAJAL, *Origen y terminación de las fibras olfactorias*, Barcelona 1890; G. RETZIUS, « Biol. Untersuch. » (N. F.), 3, 25-28 (1892).

toria) che negli Anfibî si riuniscono a formare un unico vero nervo, più o meno lungo e ben definito a seconda delle specie. Poiché al microscopio ottico non è possibile valutare quantitativamente l'entità delle fibre del nervo olfattorio, essendo il diametro delle fibre (che nostre osservazioni hanno valutato attorno  $0,2 \mu$ ) al disotto delle possibilità di risoluzione dello strumento, ci siamo serviti del microscopio elettronico. Avendo quindi l'opportunità di osservare chiari preparati per il microscopio elettronico, ci è parso utile ed interessante estendere le nostre osservazioni all'aspetto morfologico dell'organizzazione ultrastrutturale dei nervi amielinici degli Anfibî. Infatti le notizie a riguardo dell'ultrastruttura delle fibre amieliniche ci vengono da osservazioni condotte su Mammiferi e riguardanti o sottili fascicoli (*fila olfactoria* di coniglio e di maiale - de Lorenzo <sup>(4)</sup>, Gasser <sup>(5)</sup> -) o porzioni amieliniche in compagini di nervi mielinici (radici dorsali del ratto - Nathaniel e Paese <sup>(6)</sup> -; nervo sciatico umano - Cravioto <sup>(7)</sup>) o su sottili fibre viscerali (nervo splenico del gatto - Elfvin <sup>(8)</sup>; fibre del simpatico intramurale - Thaemert <sup>(9)</sup>). Le uniche osservazioni condotte su materiale differente da Mammiferi sono quelle di Peters <sup>(10)</sup> riguardanti le radici dorsali dell'Anfiosso ed i nervi periferici dei Ciclostomi (Peters <sup>(11)</sup>; Peters e Mackey <sup>(12)</sup>).

Le osservazioni che il materiale a disposizione ci rendeva possibili si presentavano interessanti sotto due punti di vista, sia perché condotte su Anfibî per i quali non esistevano notizie a proposito della struttura dei nervi amielinici, sia perché il nervo olfattorio degli Anuri è una consistente compagine di fibre, un grosso nervo totalmente amielinico, e raramente nervi di questa natura sono di cospicue dimensioni.

A tale scopo sono stati fissati più nervi per ciascuna specie di Anuro: *Xenopus laevis* Daud., *Rana esculenta* L. e *Bufo bufo* (L.). I nervi sono stati prelevati ad animale ancora vivente, al quale erano stati rimossi i fronto-parietali; dopo aver prefissato con qualche goccia di fissativo sulla porzione più rostrale del rinencefalo, si è proceduto, nel minor tempo possibile, alla rimozione ed alla fissazione dei nervi. Il fissativo usato è stato Os O<sub>4</sub> al 2% in tampone fosfato <sup>(13)</sup> 0,13 M. Dopo disidratazione in alcool il tessuto è stato incluso in Vestopal W secondo il metodo di Kurtz <sup>(14)</sup>. Il blocco è stato orientato in modo da ottenere sezioni trasversali. Sezioni semifine ( $1 \mu$ ) sono state

(4) A. J. DE LORENZO, « J. Biophys. Bioch. Cytol. », 3, 839-850 (1957).

(5) H. S. GASSER, « Exp. Cell. Res. », *Suppl.* 5, 3-17 (1958).

(6) E. J. H. NATHANIEL e D. C. PEASE, « J. Ultrastruct. Res. », 9, 511-532 (1963); *ivi*, 533-549 (1963).

(7) H. CRAVIOTO, « Bull. Los Angeles Neurol. Soc. », 43, 169-190 (1965).

(8) L. G. ELFVIN, « J. Ultrastruct. Res. », 1, 428-454 (1958); *ID.*, « J. Ultrastruct. Res. », 5, 51-64 (1961).

(9) J. C. THAEMERT, « J. Cell. Biol. », 16, 361-377 (1963).

(10) A. PETERS, « J. Comp. Neurol. », 121, 287-304 (1963).

(11) A. PETERS, « J. Ultrastruct. Res. », 4, 349-359 (1960).

(12) A. PETERS e B. MACKAY, « J. of Anat. », 95, 575-585 (1961).

(13) G. I. MILLONIG, « Riv. Istoch. Norm. Patol. », 9, 229 (1963).

(14) K. S. M. KURTZ, « J. Ultrastruct. Res. », 5, 468-469 (1961).

colorate con l'ematossilina ferrica sec. Schwalbach <sup>(15)</sup> ed utilizzate per la misura della superficie totale dei nervi; allo stesso livello sono state poi eseguite sezioni ultrasottili per il conteggio delle fibre. Le sezioni ultrasottili sono state colorate con idrossido di Pb sec. Karnovsky <sup>(16)</sup> ed osservati ad un microscopio Hitachi HU-11. Per la conta delle fibre sono stati fatti montaggi di 4-6 fotografie di campi adiacenti in modo da poter disporre di un'area sufficientemente estesa di nervo. Le fotografie sono state eseguite per tutti i nervi ad ingrandimenti fissi ed alla fine, allo stesso ingrandimento è stato fotografato un reticolo di dimensioni note, per la taratura dell'ingrandimento.

Il nervo olfattorio si presenta nelle tre specie con una forma generale ed una organizzazione della sezione differente (fig. 1); a minuti fascicoli di fibre amieliniche riunite in una unica compagine nello *Xenopus*, nella *Rana* i fasci sono più grossi, ma la forma generale è ancora quella di un unico insieme ed infine nel Rospo la sezione del nervo appare formata da quattro grossi fasci di fibre amieliniche ai quali si accompagnano fascicoli minori. Nei preparati ottenuti dalle sezioni semifine e colorati con l'ematossilina ferrica non è possibile distinguere la porzione di fibre spettante al nervo vomeronasale da quella spettante al nervo olfattorio vero e proprio. Infatti le leptomeningi avvolgono in un unico insieme il nervo, continuandosi poi con quelle del rinencefalo.

I dati metrici relativi alla stima del numero delle fibre sono riportati nella tabella seguente.

Specie	Fibre contate	Superficie osservata	Densità	Superficie totale media del nervo	Fibre totali
	N°	mm <sup>2</sup>	N°/mm <sup>2</sup>	mm <sup>2</sup>	N°
<i>Bufo</i> . . . .	72236	3855,66 · 10 <sup>-6</sup>	18,73 · 10 <sup>6</sup>	0,153	2,87 · 10 <sup>6</sup>
<i>Rana</i> . . . .	35346	1652,16 · 10 <sup>-6</sup>	21,39 · 10 <sup>6</sup>	0,095	2,03 · 10 <sup>6</sup>
<i>Xenopus</i> . .	60017	3398,57 · 10 <sup>-6</sup>	17,65 · 10 <sup>6</sup>	0,121	2,14 · 10 <sup>6</sup>

Da questi dati risulta che il Rospo ha la quantità più rilevante di fibre olfattorie, mentre i valori inferiori ottenuti per *Rana* e *Xenopus* non diversificano in modo significativo poiché i limiti di variazione dei valori del numero delle fibre ottenuti per le due specie si sovrappongono in larga misura. Si può quindi affermare che per il Rospo è stata trovata rispondenza tra numero di fibre olfattorie primarie e grado di complessità nella citoarchitettura

(15) G. SCHWALBACH, K. G. LICKFELD e H. HOFFMEISTER, «Stain Technol.», 38, 15-22 (1963).

(16) M. J. KARNOVSKY, «J. Biophys. Biochem. Cytol.», 11, 729-732 (1961).

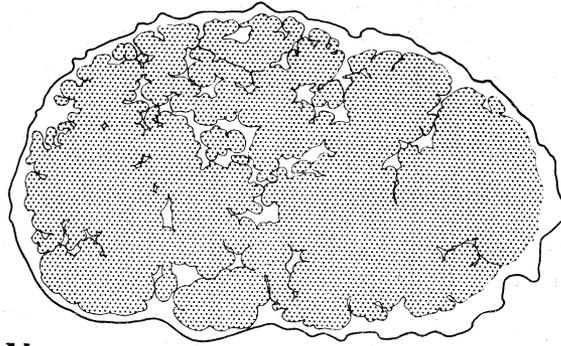
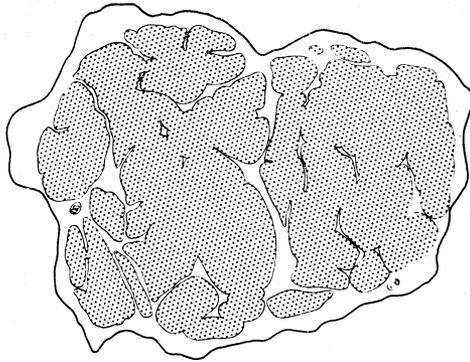
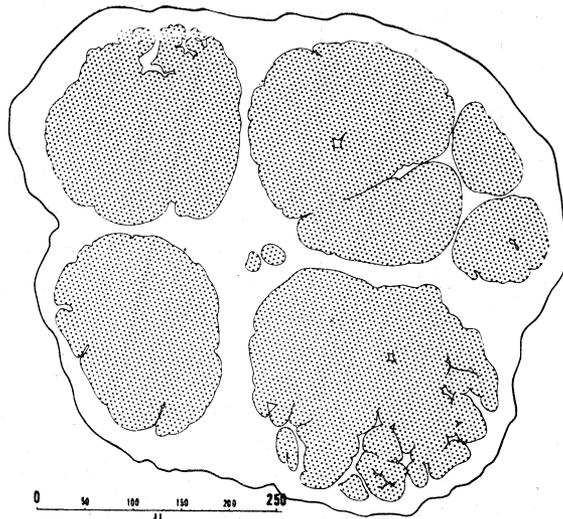
**Xenopus****Rana****Bufo**

Fig. 1. - Disegno alla camera lucida della sezione semifina dei nervi delle tre specie osservate: in alto *Xenopus*, in mezzo *Rana* ed in basso *Bufo*.

L'area punteggiata è quella spettante alle fibre olfattorie ed è quella valutata ai fini della determinazione del numero delle fibre.

palliale; tuttavia una notevole differenza nella tessitura istologica era stata rilevata anche tra *Rana* e *Xenopus*, tra le quali non è stata messa in evidenza diversità numerica nell'apporto di fibre primarie olfattorie. Si deve però tener presente, nella valutazione dei presenti risultati, che *Rana* e *Xenopus* differiscono per mole somatica, più cospicua nello *Xenopus*, inferiore nella *Rana*, e che non è possibile, come già accennato, con la tecnica attuata, riconoscere nel numero totale di fibre quelle spettanti al nervo olfattorio vero e proprio, da quelle relative al nervo vomeronasale.

Per quanto riguarda il primo punto, sono già in corso osservazioni con le quali intendiamo riferire l'entità dell'afferente olfattoria a valori di riferimento che riteniamo validamente scelti nel volume del bulbo olfattorio (e bulbo olfattorio accessorio per le fibre del nervo naso-vomeriano) e nel numero delle cellule mitrali (cellule giganti del bulbo).

Anche per quanto riguarda il secondo punto sono in corso esperienze nelle quali viene valutata separatamente l'entità dell'afferente olfattoria propriamente detta e quella vomeronasale.

Per quanto riguarda la fine struttura del nervo olfattorio le nostre osservazioni hanno dimostrato anzitutto una simile organizzazione nei nervi provenienti dalle tre specie di Anuri prese in esame.

Le osservazioni di sezioni trasversali a vari livelli hanno mostrato come il nervo sia uniformemente costituito da fasci paralleli di piccole fibre amieliniche del diametro di circa  $0,2 \mu$ , comprese entro cellule di Schwann. Ogni singola cellula di Schwann racchiude un numero elevato di fibre; queste non sono separate singolarmente una dall'altra dal citoplasma della cellula, ma sono a diretto contatto con una distanza media di  $160 \text{ \AA}$  tra le membrane. Sottili lamine citoplasmatiche delle cellule di Schwann si insinuano tra le fibre suddividendole in fascetti e circondandoli in parte. Il citoplasma perinucleare è molto scarso e difficilmente vi si trovano elementi del reticolo endoplasmico, mitocondri ed altri organelli cellulari; nei prolungamenti laminari, tra le fibre sono talvolta presenti inclusi intensamente osmiofilii (vedi Tav. I, fig. 2).

I nuclei delle cellule di Schwann sono estremamente polimorfi, presentano contorni con profonde introflessioni e strozzature; inoltre il materiale nucleare granulare è particolarmente addensato lungo la membrana nucleare, sulla quale appare un allineamento regolare di granuli.

La membrana di ogni cellula di Schwann può trovarsi per alcuni tratti a diretto contatto con quella della cellula vicina ma in gran parte ne è separata dalle sottili membrane basali che accompagnano le cellule (ved. Tav. II, fig. 5).

Gruppi di più cellule sono poi separate tra loro da spazi più ampi ove si trovano cellule connettivali, fasci di fibre collagene e talvolta capillari. Rispetto ai nuclei delle cellule di Schwann, quelli delle cellule connettivali sono riconoscibili per essere più piccoli, tondeggianti e con granuli elettron-opachi intranucleari distribuiti più uniformemente (vedi Tav. I, fig. 1). Le fibre

amieliniche hanno, come si è detto, diametro abbastanza costante di circa  $0,2 \mu$ ; in sezione trasversale si possono osservare nel loro assoplasma diversi profili circolari, regolari, del diametro di  $220-240 \text{ \AA}$  (ved. Tav. II, fig. 4). In sezione longitudinale questi sono riconoscibili come tuboli a decorso parallelo all'asse della fibra. Altri elementi vescicolari, limitati da membrana, ma di forma e dimensioni incostanti si trovano nell'assoplasma e sono identificabili come elementi del reticolo endoplasmico liscio.

Oltre a neurotuboli sono presenti neurofilamenti (vedi Tav. II, fig. 4), granuli di glicogeno e mitocondri (vedi Tav. II, figg. 4 e 3). Sono state osservate anche alcune rare fibre amieliniche di diametro superiore alla norma (circa  $0,8 \mu$ ), in cui i neurofilamenti sono più numerosi dei neurotuboli (vedi Tav. II, fig. 3).

I piccoli capillari che si possono trovare negli spazi connettivali, sono limitati da cellule endoteliali, molto appiattite; lungo le loro membrane si osservano molte vescicole pinocitotiche; altre cellule del tipo dei periciti, anch'esse con vescicole pinocitotiche, si trovano attorno alle cellule endoteliali, separate però dalle lamine basali che accompagnano le membrane cellulari (vedi Tav. III, fig. 7).

Infine sono stati osservati, interposti tra i fasci delle fibre nervose, più strati di cellule molto piatte, con decorso sinuoso e che probabilmente rappresentano delle profonde introflessioni delle leptomeningi, nella compagine del nervo. Sottili filamenti disposti a fasci paralleli occupano quasi completamente il citoplasma di queste cellule. Desmosomi sono molto frequenti tra le membrane delle cellule (vedi Tav. III, fig. 6) che compongono questi strati. Sono stati anche trovati « desmosomi intracitoplasmatici » che uniscono cioè la membrana profondamente introflessa di una stessa cellula (Bertolini <sup>(17)</sup>). Vescicole di pinocitosi sono presenti lungo le membrane; scarsi gli organelli cellulari; si riconoscono granuli di glicogeno; il nucleo è di forma allungata.

Questi strati di cellule sono separati dai fasci di fibre nervose dalla membrana basale che accompagna la membrana della cellula di Schwann e dalle sottili lamine di citoplasma di queste.

Le presenti osservazioni pertanto hanno messo in evidenza che la struttura del nervo olfattorio degli Anfibi anuri, pur nel piano strutturale simile alle *fila olfattoria* dei Mammiferi, quale descrittaci da Gasser <sup>(5)</sup> e da de Lorenzo <sup>(6)</sup>, da questo tuttavia differisce per qualche interessante particolarità.

Come nelle *fila olfattoria* dei Mammiferi, infatti, si possono osservare nel nervo olfattorio degli Anfibi fibre nervose amieliniche di calibro piccolo ed uniformi, riunite in fasci di numerosi elementi in una unica invaginazione della cellula di Schwann, e non singolarmente comprese come accade per le fibre amieliniche di grosso calibro descritte da Peters <sup>(10)</sup> <sup>(11)</sup> nell'Anfiosso e nei Ciclostomi. Le nostre osservazioni, per contro, hanno messo in evidenza che nel nervo olfattorio degli Anuri, a differenza di ogni altro nervo amielinico fin

(17) B. BERTOLINI, « Rend. Acc. Naz. Lincei » (ser. (VIII), 49, 367-371 (1966).

ora descritto, le cellule di Schwann non sono sempre separate le une dalle altre completamente dalle membrane basali che accompagnano le membrane, ma in alcuni casi larghi tratti sono a diretto contatto tra di loro.

Un'altra caratteristica del nervo olfattorio degli Anuri è, come già accennato, quella di essere rivestito dalle leptomeningi e non da perineurio; questa guaina, che si può anche introflettere per un lungo tratto tra i fascicoli di fibre olfattorie, non è costituita da fibrociti, come risulta da osservazioni condotte su altro materiale (Cravioto <sup>(7)</sup>), ma da cellule che ricordano elementi gliali, sia per la presenza di gliofibrille, sia per i numerosi desmosomi che ne uniscono le membrane, sia per la presenza di « desmosomi intracitoplasmatici », come quelli descritti da Bertolini <sup>(17)</sup> in cellule gliali di Lampreda.

Infine è caratteristico delle fibre amieliniche di questo particolare nervo la presenza nell'assoplasma di neurotubuli associati a neurofilamenti. I neurotubuli, infatti, di norma si osservano in assoni e dendriti nel sistema nervoso centrale (Elfvin <sup>(18)</sup>; Grey <sup>(18)</sup>; Ross <sup>(19)</sup>); più spesso, nelle fibre amieliniche, si riscontrano solo neurofilamenti (Thaemert <sup>(9)</sup>).

CONCLUSIONI. — In base alle presenti osservazioni possiamo affermare che nel Rospo l'entità dell'afferente olfattoria al telencefalo è più rilevante di quanto si osserva in *Rana* e *Xenopus*; ciò bene si accorda sia con l'elevata corticalizzazione sia con la complessità della tessitura istologica dei Primordi palliali di quell'Anuro.

Le osservazioni al M. E. hanno inoltre dimostrato che, sia pure nel modello generale la struttura del nervo olfattorio degli Anfibi si possa riferire a quella delle *fila olfattorie* dei Mammiferi, essa se ne discosta però per qualche peculiarità che così riassumiamo: *a*) le membrane basali non separano completamente le cellule di Schwann tra di loro; *b*) nelle fibre olfattorie sono presenti tanto neurofilamenti tanto neurotubuli; *c*) si osservano lamine, in continuità con le leptomeningi che si approfondano nella compagine del nervo tra le cellule di Schwann. Queste lamine sono formate da cellule nastriformi, unite tra loro da desmosomi, aventi caratteristiche del citoplasma che richiama quello dei gliociti (gliofilamenti, desmosomi intracitoplasmatici.).

(18) E. G. GRAY, in S. M. KURTZ, *Electron Microscopic Anatomy*, cap. 15, 369-417 (1964).

(19) L. L. ROSS, in S. M. KURTZ, *Electron Microscopic Anatomy*, cap. 14, 341-367 (1964).

## SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

## TAVOLA I.

- Fig. 1. - Nervo olfattorio di *Bufo bufo*; NS = Nucleo di una cellula di Schwann; N.F. = Nucleo di una cellula connettivale dell'endoneurio.  $\times 12.000$ .
- Fig. 2. - Nervo olfattorio di *Bufo*; si noti tra le fibre prolungamenti delle cellule di Schwann contenenti inclusi intensamente osmiofili.  $\times 9450$ .

## TAVOLA II.

- Fig. 3. - Nervo olfattorio di *Bufo*; si noti, tra le fibre di normale calibro, alcune di diametro eccezionale.  $\times 38.500$ .
- Fig. 4. - Nervo olfattorio di *Bufo*, notare nell'assoplasma la sezione di neurofilamenti e neurotuboli.  $\times 67.000$ .
- Fig. 5. - Zona di contatto tra due cellule di Schwann nel nervo olfattorio di *Bufo*; le frecce a sinistra, distinte con le lettere mb, indicano il tratto ove sono separate da membrane basali, a destra le frecce con asterisco, indicano la zona ove le membrane delle cellule di Schwann sono a diretto contatto tra loro.  $\times 35.000$ .

## TAVOLA III.

- Fig. 6. - Cellule gliali-simili introflesse tra le fibre del nervo olfattorio di *Bufo*; si notino i desmosomi (d), le vescicole di pinocitosi (vp) ed il citoplasma con gliofibrille.
- Fig. 7. - Nervo olfattorio di *Bufo*: rapporti tra un piccolo vaso e le fibre del nervo. Da sinistra a destra: cellula endoteliale (ce); pericita (pc); fibrociti (fb); fibrille collagene (fc) e fibre del nervo olfattorio (fo).

