

# ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESTRUCTURA HISTOLOGICA DEL FEMUR DE ALGUNOS ANFIBIOS

SUSANA MANGIONE DE MOPTY (\*)

LUIS O. CIMAROSTI (\*\*)

## SUMMARY

A similarity between the diaphysis' histology and the weight or activity of the species has been found.

The basic structure modifications are: Havers Systems' presence and distribution, Laminar Systems' zonification and the increase in concentration of celular spaces.

The epiphysis shows an increase cartilage calcification and modification in relation to the diaphysis architecture.

Las características microscópicas de la estructura ósea de los vertebrados adultos han sido utilizadas como elementos para la determinación del sexo y la edad o para efectuar interpretaciones funcionales y correlaciones paleontológicas (1, 2, 3).

Cada Clase, por otra parte, presenta una estructura histológica básica que depende fundamentalmente del sistema de formación ósea. La complejidad de la misma, lógicamente, aumenta a medida que se asciende en la escala zoológica (4).

Al ser el hueso un elemento de resistencia mecánica, resulta factible esperar que en cada Clase existan variaciones de la estructura básica como consecuencia de diferencias de tamaño y peso, habitat, actividad, etc.

En este estudio se analizan comparativamente la histología del fémur de diversos Anfibios Anuros que presentan diferencias marcadas en su peso y actividad.

Se seleccionó este hueso debido a su importancia en el tipo de marcha característica de estos animales.

(\*) Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Tucumán.

(\*\*) Fundación Miguel Lillo.

## MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron fémures de ejemplares adultos de las especies: *Bufo paracnemis*, *Bufo arenarum*, *Hyla pulchella*, *Hyla fuscovaria* y *Pleurodema borelli*.

Se emplearon además como modelos comparativos: un fémur de la salamandra *Dermognathus fuscus*, para la estructura básica de la Clase y un fémur del reptil *Homonota horrida*, para definir los aspectos dependientes de la homomorfía.

El material fresco se fijó directamente en el líquido de Dubosq-Brazil, mientras que el previamente fijado en formol fue refijado por varias horas en esa misma mezcla.

Se efectuó descalcificación en Acido Nítrico al 1 % durante 4-8 hs., de acuerdo al tamaño del hueso, realizándose luego lavado en agua corriente durante 12 hs.

Se tomaron muestras de la parte central de la diáfisis en forma transversal y de la epífisis por cortes longitudinales que abarcaban también el extremo diafisario.

El material fue deshidratado e incluido en parafina, efectuándose posteriormente cortes de 4-5 micras de espesor sobre los que se realizaron las técnicas de Hematoxilina-Eosina y Tricómico de Van Giesson.

## RESULTADOS

### *Estructura Diafisaria*

La estructura básica de la Clase está constituida por un Sistema Laminillar Concéntrico, muy regular, con revestimientos peri y endóstico (fig. 1) en el que se observa un engrosamiento que se distribuye por toda su longitud, provocado por la ausencia del único conducto vascular.

Estas características histológicas fueron halladas en *Dermognathus fuscus* y *Pleurodema borelli*.

En *Hyla pulchella* se encontró a esta estructura básica modificada por la existencia de dos líneas interlaminillares que se destacan por su basofilia, delimitándose de esta manera tres zonas (o sistemas) laminillares concéntricas (Fig. 2).

El externo y el central tienen espesores sensiblemente iguales. En ambos se hallan lagunas celulares cuya disposición sugiere que están ubicadas entre las laminillas circunferenciales. Las lagunas presentan forma globosa excepto en las zonas más extensas e internas donde aparecen de forma aplanada.

Esta estructuración se repite en *Hyla fuscovaria* con la sola diferencia de un franco predominio del grosor de la capa externa.

Los cortes (Fig. 3) transversales de la diáfisis del fémur de *Bufo arenarum* tienen forma arraquetada por la existencia de una cresta ósea de orientación longitudinal.

La imagen histológica muestra una constitución fundamentalmente laminar concéntrica, con tres zonas. La externa, muy definida, constituida por laminillas muy regulares. La zona media es la más gruesa y la más celular y la capa circunferencial interna es la menos celular de las tres y presenta laminillas muy delgadas.

Las cavidades celulares se observan más aplanadas en la zona externa y menos en la zona media.

A esta estructura se suman sistemas haversianos poco desarrollados y sin células entre sus laminillas, que se distribuyen exclusivamente en el sector óseo donde se halla la cresta y en el sector convexo opuesto a ella.

En *Bufo paracnemis* el corte histológico presenta una forma ligeramente triangular con bordes romos. También aquí existen líneas basófilas interlaminillares que delimitan tres zonas concéntricas. La más externa, con un grosor relativo considerable, presenta imagen estratificada por la presencia de delicadas líneas interlaminillares también basófilas. La distribución celular es regular y aparentemente azarosa, aunque las lagunas celulares (muy frecuentes) tienen un eje mayor que sigue el contorno de las laminillas.

La segunda capa, que es la más gruesa, presenta abundantes sistemas haversianos, de escaso desarrollo, prácticamente acelulares, que se disponen siguiendo líneas concéntricas y distribuidos de mayor a menor de adentro hacia afuera (Fig. 4). Esta distribución zonal y regular se modifica a nivel de los ángulos, donde se pueden ver conductos de Havers de diversos calibres en la zona circunferencial externa (Fig. 5).

La capa interna mucho más angosta e irregular, presenta numerosas líneas de estratificación, se engrosa a nivel de los ángulos y es la menos celular.

Las técnicas halocrómicas muestran fibras colágenas dispuestas en círculos concéntricos alrededor de los sistemas de Havers en 4-6 capas, entremezclándose en los aros más periféricos con fibras longitudinales (Fig. 6).

La mayoría de las células están por fuera del sistema circunferencial haversiano.

En los espacios interhaversianos hay un franco predominio de fibras cortadas transversalmente y muy pocas siguen un recorrido circunferencial.

En los cortes longitudinales de la zona diafisaria se observa una franca disposición en esa misma dirección de las fibras colágenas y las celdillas celulares están aplanadas en el mismo sentido.

### *Estructura epifisaria*

En las cinco especies de Anuros estudiadas la epífisis es de estructura cartilaginosa con diverso grado de calcificación (Fig. 7).

El engarce con la diáfisis es semejante en todos los casos estudiados y está caracterizado por una profunda penetración del tubo óseo diafisario en la cabeza cartilaginosa. Por dentro de la diáfisis el límite cartilaginoso es neto y transversal, y en los animales de mayor tamaño se apoya en un puente de trabéculas óseas.

Los rebordes cartilaginosos están separados de la cara externa del tubo diafisario por un cojín de tejido conectivo laxo.

Las diferencias entre especies están determinadas por variaciones en el grosor y la densidad de fibras del cojín fibroso y en el grado y distribución del depósito cálcico en la matriz cartilaginosa. La mínima intensidad de calcificación corresponde a los animales de menor tamaño, en los que se observa una zona delgada por debajo de la superficie articular y otra de la misma densidad enfrentando el encaje diafisario.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

La estructura básica de la diáfisis del fémur de los Anfibios, está constituida por un sistema circunferencial concéntrico de laminillas óseas; esta imagen se observa en salamandra y en *Pleurodema* en forma pura.

La primera modificación observada de estructura consiste en la "zonificación" por la aparición de líneas que se destacan por su intensa basofilia constituyendo la variación más importante en las especies de *Hyla* estudiadas, pero hallándose presentes también en el caso de los *Bufo*.

Esta variación se acompaña de otras menos conspicuas, consistentes en diferencias en el grosor relativo de las zonas, característicos de cada especie, acompañándose por lo general la capa de mayor grosor de un aumento de la concentración de las lagunas celulares.

Se hallaron sistemas haversianos exclusivamente en *Bufo arenarum* y *Bufo paracnemis*, existiendo entre ambas especies una diferencia de distribución sumamente significativa: mientras en *Bufo paracnemis* ocupan toda la zona media en forma regularmente ordenada, extendiéndose a la zona externa solamente a nivel de los ángulos, en *Bufo arenarum* sólo existen en dos sectores de la zona media, a nivel de la cresta ósea y en el ángulo romo que se le opone.

Estas diferencias tan destacadas entre ambas especies y con el resto de las que hemos estudiado sugieren una íntima relación con el peso o el tamaño del animal.

Sin embargo las restantes modificaciones de la estructura básica de la Clase, también son atribuibles a diferencias de tamaño o más bien de actividad. Por ejemplo, las celdillas óseas en *Pleurodema borelli* son regularmente globosas en todo el espesor de la diáfisis. Esto indicaría que la trama intercelular no es suficientemente compacta como para aplanar al componente celular. Este aplanamiento comienza a observarse en las zonas externas e internas de *Hyla* mientras que en *Bufo*, las celdillas de todas las zonas son aplanadas en forma concéntrica. Concomitantemente con ello, en las especies estudiadas de estos dos géneros la orientación de la trama fibrilar del hueso es fácilmente discernible en los cortes histológicos, dado el grosor de las fibras colágenas.

También la concentración de celdillas celulares puede indicar indirectamente un aumento de resistencia de la estructura ósea. En efecto, una dismi-

nución del área pericelular puede estar provocada por un aumento de la densidad de las sustancias extracelulares que disminuye la velocidad de difusión de las sustancias metabólicas, o por un aumento del metabolismo del tejido como consecuencia de una mayor actividad mecánica.

Por el momento no tenemos explicación para la zonificación observada en los géneros *Hyla* y *Bufo*, pudiendo interpretarse como líneas de crecimiento solamente a la estratificación que aparece en la zona interna como consecuencia de la existencia de delicadas líneas basófilas.

Si bien es verdad que las características estructurales y de apetencia tinteal de las bandas interzonales concuerdan con las que presentan las zonas de detención de crecimiento (ya sea cronobiológicas o patológicas), es posible que la transformación de un sistema laminillar concéntrico en tres superpuestos con variaciones estructurales entre sí de diversa magnitud, constituya o resulte una consecuencia del aumento de resistencia de la estructura ósea.

La estructura de la epífisis de todos los Anuros estudiados difiere de la observada en salamandra en cuanto a la prominencia del componente cartilaginoso por sobre y hacia los costados del tubo diafisario.

Por el contrario existe una estrecha correlación en todas las especies con el propio tamaño relativo, destacándose la concordancia con el aumento de extensión y densidad de las zonas de calcificación del cartílago.

Paradojalmente la estructura del fémur en el Reptil usado como comparación es más grácil y sus componentes laminillar, haversianos y celulares de forma y distribución muy irregulares.

Agradecemos la colaboración del Técnico Histólogo Pedro Bulacios.

#### BIBLIOGRAFIA

1. SMIRINA, E.; ROCEK, Z., 1976. On the possibility of using annual bone layers of alpine newts, *Triturus alpestris* (Amphibia: Urodela), for their age determination. Vest. Cs. spol. zool. 40 (3): 232-237. U.S.S.R. Moscú.
2. GRASSE, P., 1965. Zoologie, tomo 2, Vertébrés. pág. 1075. Paris.
3. RIGLES, A., 1974. Evolution of Endothermy: Histological Evidence. Evol. Theory 1: 51-80. Paris.
4. GAVRILOV, K., 1959. Curso de Anatomía y Fisiología Comparadas. 4º Esqueleto 2º. UNT. Tucumán. Argentina.

