

Ultraestructura y ontogenia de un tendón digital en tres especies de anuros

Miriam Corina Vera¹, Virginia Abdala², J. Sebastián Barrionuevo³, María Laura Ponsa⁴

¹ Instituto de Biología Subtropical (CONICET-UNaM), Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones. Félix de Azara 1552. Misiones, Argentina.

² Instituto de Biodiversidad Neotropical (UNT-CONICET), Cátedra de Biología General. Universidad Nacional de Tucumán. Miguel Lillo 205, 4000, S. M. de Tucumán, Argentina.

³ División Herpetología, Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” CONICET, Ángel Gallardo 470, C1405DJR, Buenos Aires, Argentina.

⁴ Unidad Ejecutora Lillo (Fundación Miguel Lillo-CONICET). Miguel Lillo 251, 4000, S. M. de Tucumán, Argentina.

Recibido: 27 Febrero 2019

Revisado: 20 Mayo 2019

Aceptado: 21 Junio 2019

Editor Asociado: F. Vera Candioti

doi: 10.31017/CdH.2019.(2019-007)

ABSTRACT

Ultrastructure and ontogeny of a digital tendon in three species of anurans. Tendons are biomechanical systems of force transmission and movement of the skeleton. Because of their biomechanical uniqueness, tendons and collagen fibrils have been studied in many groups of vertebrates. Studies on the ultrastructure and ontogeny of the tendon of anurans are practically non-existent. The aim of this study was to analyze the development of collagen fibrils of the flexor tendon of the digit IV of the hand of three anuran species in larval, juvenile and adult stages. In larval and juveniles stages the diameter is homogeneous; in adults, fibrils increment their diameter but also smaller fibrils are observed, consequently it shows a distribution with a bimodal tendency. This developmental pattern was also found in mammals, and was associated to different functions of the tendon. We also found interspecific differences in the fibrils diameter, suggesting an allometric pattern that could be associated to the different mechanical demands acting on the tendons of these species.

Key words: Collagen fibrils; Development; Hand; Amphibians; Locomotion.

RESUMEN

Los tendones son sistemas biomecánicos fundamentales para la transferencia de fuerzas y para el movimiento del esqueleto. Por sus particularidades biomecánicas, éstos y las fibrillas de colágeno que los componen, han sido objeto de interés en muchos grupos de vertebrados. Estudios ultraestructurales del tendón de anuros adultos son escasos, y prácticamente inexistentes los estudios sobre su ontogenia. En este trabajo analizamos la ultraestructura del tendón flexor del dígito IV de la mano de tres especies de anuros en la etapa larval, juvenil y adulta con el fin de evaluar el desarrollo de las fibrillas de colágeno. En los estadios larvales y juveniles el diámetro de las fibrillas de colágeno es homogéneo; en los adultos éstas presentan mayor diámetro y persisten fibrillas de menor diámetro por lo que exhiben una distribución con tendencia bimodal. Este patrón de desarrollo también fue encontrado en mamíferos y se asociaría a las diferentes funciones del tendón. Se encontraron además diferencias interespecíficas en el diámetro de las fibrillas, sugiriendo un patrón alométrico que podría asociarse a las diversas exigencias mecánicas a las que es sometido el tendón en estas especies.

Palabras clave: Fibrillas de colágeno; Desarrollo; Mano; Anfibios; Locomoción.

Introducción

Los tendones constituyen un sistema biomecánico que transfiere la fuerza desde los músculos a los huesos (Zhang *et al.*, 2005; Kjær *et al.*, 2006; Dos Santos *et al.*, 2014; Zelzer *et al.*, 2014). El tejido ten-

dinoso está formado por fibroblastos que segregan una matriz extracelular rica en fibras de colágeno (Zhang *et al.*, 2005). Las fibras de colágeno están formadas a su vez por fibrillas que se conectan unas

a otras por enlaces de tropocolágeno, otorgándole al tendón una configuración en forma de red (Dos Santos *et al.*, 2014; 2017).

El tejido tendinoso normalmente está sujeto a estrés mecánico en las áreas de articulación o cerca de ellas, lo cual le brinda su composición característica (Feitosa *et al.*, 2002), rica en proteoglicanos y colágeno tipo I y II (Van der Rest y Garrone, 1991). Las propiedades biomecánicas del tendón dependen del arreglo de las fibras de colágeno y del diámetro de las fibrillas (Birk *et al.*, 1989; De Campos Vidal y Carvalho, 1990; Abdala *et al.*, 2018). Durante el desarrollo del tejido, las fibrillas de colágeno incrementan diferencialmente su longitud (Provenzano y Vanderby, 2006) y su diámetro y adquieren diferentes propiedades mecánicas (Parry *et al.*, 1978a), e.g. las fibrillas con menor diámetro dan al tendón una mejor conexión debido a que la mayor relación superficie/volumen de las fibrillas asegura una mayor unión interfibrilar y mayor resistencia a la deformación, mientras que fibrillas de mayor diámetro son más resistentes a la ruptura o desgarro (Ottani *et al.*, 2001).

Las fibrillas de colágeno incrementan su longitud y diámetro durante la ontogenia en respuesta a estímulos mecánicos (Ingelmark, 1948); debido a ésto el tejido tendinoso es un buen modelo biológico para estudiar las adaptaciones biomecánicas y morfológicas durante el desarrollo (Vilarta y De Campos Vidal, 1989; Feitosa *et al.*, 2002; Esquisatto *et al.*, 2007; Provenzano y Vanderby, 2006). Los anuros son especialmente interesantes, por un lado por su ciclo de vida bifásico, caracterizado por una etapa larval acuática y una etapa postmetamórfica en general terrestre y por otro, por los diferentes usos de hábitats y modos locomotores que presentan. Los estudios de ontogenia de tendones (Manzano *et al.*, 2013) o de ultraestructura de las fibrillas de colágeno (Abdala *et al.*, 2018) son muy escasos en anuros. En este trabajo nos propusimos analizar los cambios ontogenéticos de la ultraestructura del tendón en tres especies de anuros y relacionar los patrones encontrados con los estímulos mecánicos a los que podrían estar sometidos.

Materiales y métodos

El tendón flexor del cuarto dígito de la mano fue extraído de ejemplares en diferentes estadios de desarrollo (Gosner, 1960), en tres especies de anuros: *Rhinella arenarum* (Estadios 41, 46 y adulto),

Telmatobius oxycephalus (Estadios 41, juvenil – LHC: 23,98 mm– y adulto) y *Phyllomedusa sauvagii* (Estadio 46 y adulto). Los juveniles se distinguen de los metamorfos (estadio 46; Gosner, 1960) porque son de mayor tamaño que estos, sin llegar al tamaño adulto ni presentar caracteres sexuales secundarios que indiquen su madurez sexual. Los especímenes fueron colectados en la Garganta del Diablo, departamento Tilcara, Jujuy (22°35'45"S; 65°22'18"W) y en El Cadillal, departamento Tafi Viejo, Tucumán (26°39'23"S; 65°13'47"W) (Res. No.13-16). Los ejemplares fueron llevados al laboratorio del Instituto de Herpetología, Fundación Miguel Lillo, donde fueron anestesiados con lidocaína viscosa antes de la extirpación de la muestra (protocolo aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina UNT, Res. No. 81962-2014). El tendón flexor de la mano fue seleccionado por su importancia en la locomoción (Teixeira-Filho *et al.*, 2001; Tulli *et al.*, 2012; Abdala *et al.*, 2018). Debido a las pequeñas dimensiones del tendón y para facilitar el procesamiento de la muestra, el cuarto dígito fue extraído y fijado en buffer fosfato 0,1-M con glutaraldehído al 2,5% y paraformaldehído al 4%. Luego el tejido fue fijado con tetróxido de osmio 1%, deshidratado gradualmente en acetona, y embebido en Epon plástico 812 (Ernest F Fullam, Inc, Latham, NY), con una orientación en plano transversal. Las secciones obtenidas (85 nm) fueron teñidas con citrato de plomo al 0,25% y acetato de uranilo al 5% en acetona al 50%. Los preparados se observaron y fotografiaron en un microscopio electrónico de transmisión JEOL-100CX (CISME, Universidad Nacional de Tucumán, CONICET, Argentina). Las fibrillas de colágeno fueron contadas y medidas en un área de 1 μm^2 en cada fotografía con el software ImageJ (versión 1.49v, Abramoff *et al.*, 2004).

Resultados

En los estadios 41 y 46, el tendón del cuarto dígito muestra gran cantidad de fibroblastos en las tres especies (Fig. 1A). Estas células tienen forma de estrella, con prolongaciones citoplasmáticas que las conectan con los fibroblastos vecinos, y que envuelven haces de fibrillas de colágeno constituyendo las fibras de tendón (Fig. 1 A, B). Los fibroblastos presentan una gran cantidad de retículo endoplasmático rugoso y de vesículas secretoras de fibrillas de colágeno (Fig. 1C). El número de fibrillas de colágeno por unidad de área decrece durante la ontogenia

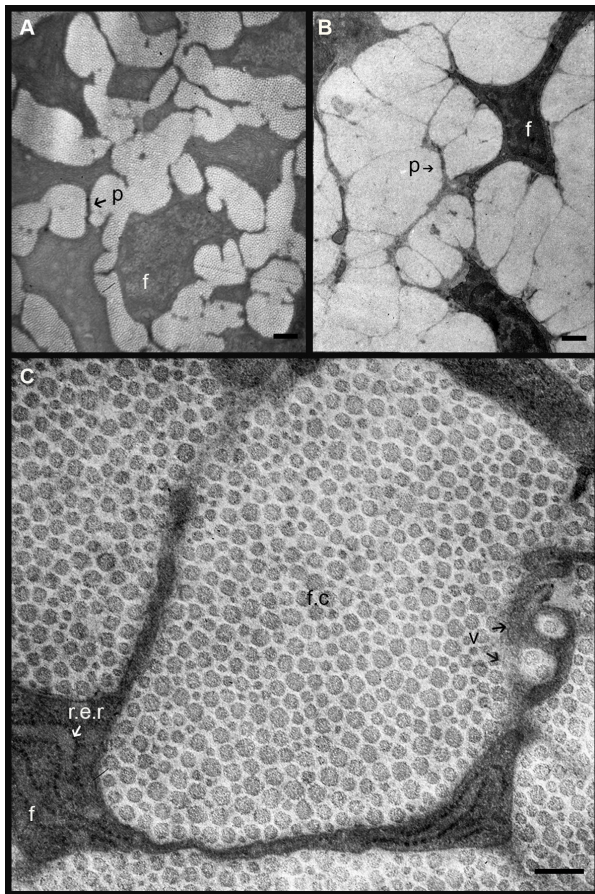


Figura 1. Ultraestructura del tendón del IV dedo. (A) *Rhinella arenarum* (Estadio 41), escala 1 μm . (B) *Phyllomedusa sauvagii* (Estadio 46), escala 1 μm . (C) *Rhinella arenarum* (Estadio 46), escala 200 nm. (f) fibroblastos, (f.c) fibrillas de colágeno, (p) prolongaciones citoplasmáticas, (r.e.r) retículo endoplasmático rugoso (v) vesículas de secreción.

(Tabla 1), mientras que el diámetro de las fibrillas aumenta (Fig. 2, Tabla 1). En los primeros estadios analizados las fibrillas son pequeñas y muestran una tendencia a una distribución unimodal, en los adultos los diámetros incrementan mostrando una tendencia a una distribución bimodal (Fig. 3).

En *Rhinella arenarum*, en los estadios 41 y 46, el diámetro no excede los 90 nm (Fig. 3) y son más abundantes las fibrillas entre 50 y 80 nm (Fig. 3A, B). En los adultos las fibrillas aumentan su tamaño en relación al estadio 41 y al estadio 46, alcanzando un máximo de 150 nm de diámetro. Entre éstas fibrillas hay fibrillas pequeñas (35 nm) (Fig. 3 C).

En *Telmatobius oxycephalus*, en el estadio 41, el diámetro de las fibrillas varía entre 30 y 90 nm, siendo más abundantes las fibrillas de 50 y 60 nm de diámetro (Fig. 3 D). En el estadio juvenil, alcanzan los 140 nm. En este estadio son más abundantes las fibrillas de 100 y 110 nm (Fig. 3 E). En el estadio

adulto, las fibrillas alcanzan un máximo de 220 nm. Las más abundantes son las fibrillas entre 100 y 120 nm, y entre 140 a 200 nm (Fig. 3 F).

En *Phyllomedusa sauvagii*, en el estadio 46, las fibrillas presentan un diámetro entre 30 y 95 nm (Fig. 3 G). En el estadio adulto las fibrillas aumentan su tamaño hasta alcanzar los 450 nm de diámetro. Entre éstas últimas, se encuentran fibrillas más pequeñas con un diámetro de 50 a 100 nm (Fig. 3 H).

Discusión

El aumento de tamaño de las fibrillas de colágeno del tendón fue notable durante el desarrollo postmetamórfico de las tres especies de anuros. Paralelamente se observó una disminución en el número de fibroblastos y de fibrillas de colágeno. En las etapas larvales, el diámetro de las fibrillas es homogéneo, mientras que en los adultos se observa heterogeneidad de diámetros con una tendencia a una distribución bimodal. El incremento de tamaño de las fibrillas de colágeno durante la ontogenia también fue registrado en aves y mamíferos (Parry *et al.*, 1978b; Ezura *et al.*, 2000, Ameye, 2002; Kannus, 2000; Dahners, 2005; Zhang *et al.*, 2005), lo que sugiere que los procesos básicos de generación y crecimiento de las fibrillas de colágeno son comunes a todos los tetrápodos. En todos los casos hay una asociación lateral y un aumento de tamaño de las fibrillas en desarrollo. Las fibrillas se segregan a la matriz extracelular a través de canales y allí se organizan como fibras, constituyendo verdaderos siste-

Tabla 1. Número y diámetro de las fibrillas de colágeno por especie y estadio. (DE) desvío estándar.

Especie	No. fibrillas por μm^2	Promedio diámetro \pm DE
<i>R. arenarum</i>		
Estadio 41	189	53,4 \pm 18,04
Estadio 46	177	58,2 \pm 14,76
Adulto	68	83,06 \pm 28,5
<i>T. oxycephalus</i>		
Estadio 41	138	59,1 \pm 12,9
Juvenil	52	102,2 \pm 13,1
Adulto	27	125,1 \pm 49,5
<i>P. sauvagii</i>		
Estadio 46	108	68,1 \pm 14,9
Adulto	17	174,4 \pm 141,3

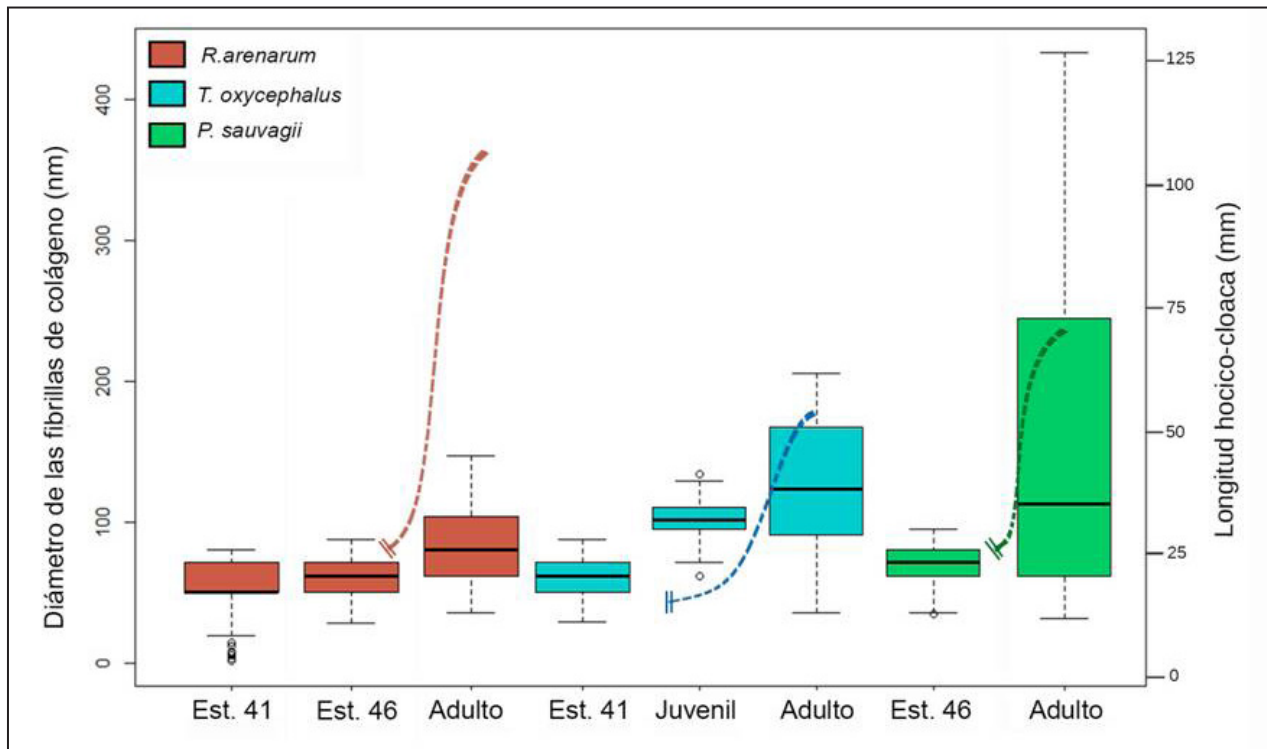


Figura 2. Boxplots del diámetro de las fibrillas de colágeno (nm) (eje izquierdo) y curvas de crecimiento (eje derecho) de los ejemplares en los diferentes estadios.

mas jerárquicos (Franchi *et al.*, 2007). Las fibrillas de tamaño intermedio crecen por ensamble lateral con otras fibrillas hasta alcanzar el tamaño máximo de la especie (Zhang *et al.*, 2005). Asimismo, en la configuración final persisten fibrillas de colágeno de menor tamaño entre las más grandes, como se observó en nuestras muestras, así como también en el tendón plantar y en el tendón de la cola de *Mus musculus* (Ezura *et al.*, 2000, Goh *et al.*, 2012), en el tendón de los m. gastrocnemius y soleus de conejos (Nakagawa *et al.*, 1994) y en el tendón extensor digital en caballos (Parry *et al.*, 1978b). La distribución unimodal de los diámetros de las fibrillas observada en las primeras etapas del desarrollo está asociada a tendones que aún no son funcionales (Dos Santos *et al.*, 2014). Esto se debe a que las propiedades físicas de los tendones dependerían de los patrones de conexión que existe entre las fibrillas, para los cuales su distribución y tamaño resultan fundamentales (Dos Santos *et al.*, 2014). Es interesante que el estado *fully functional* descrito por Muntz (1975) para el miembro posterior de *Xenopus* se adquiriera en los estadios 60 – 63 de Nieuwkoop-Faber (1994), lo que podría ser equivalente a los estadios entre 42 – 45 de Gosner (1960). Durante estos estadios, de acuerdo a nuestros datos, las fibrillas del tendón mostrarían

una distribución unimodal. Esto indica que si bien el metamorfo (Estadios 42 – 46) usa sus miembros, los tejidos y estructuras anatómicas requieren todavía de maduración. En otras palabras, el rendimiento locomotor sería óptimo en la etapa adulta, cuando el sistema músculo-esquelético-tendinoso está totalmente desarrollado (Emerson, 1978). Aunque el individuo juvenil sea capaz de saltar, la capacidad plena de movimiento estará condicionada por la progresión de la madurez tisular, lo cual podría explicar, entre otros factores, la mayor vulnerabilidad a los predadores de los metamorfos respecto a los adultos (Arnold y Wassersug, 1978; Wassersug, 1989). El patrón bimodal es alcanzado a medida que las fibrillas de colágeno aumentan de tamaño (diámetro), lo cual estaría inducido tanto por el crecimiento del individuo como por el incremento de las fuerzas mecánicas a la que están sometidas durante la ontogenia (Franchi *et al.*, 2007). El diámetro de las fibrillas de colágeno ha sido asociado a diferentes funciones, i.e., las fibrillas de menor diámetro aseguran mejor conexión y resistencia contra el deslizamiento interfibrilar, mientras que fibrillas más grandes son resistentes a la fuerza (Ottani *et al.*, 2001). Además, la asociación de fibrillas de colágeno de distinto diámetro presente en los adultos

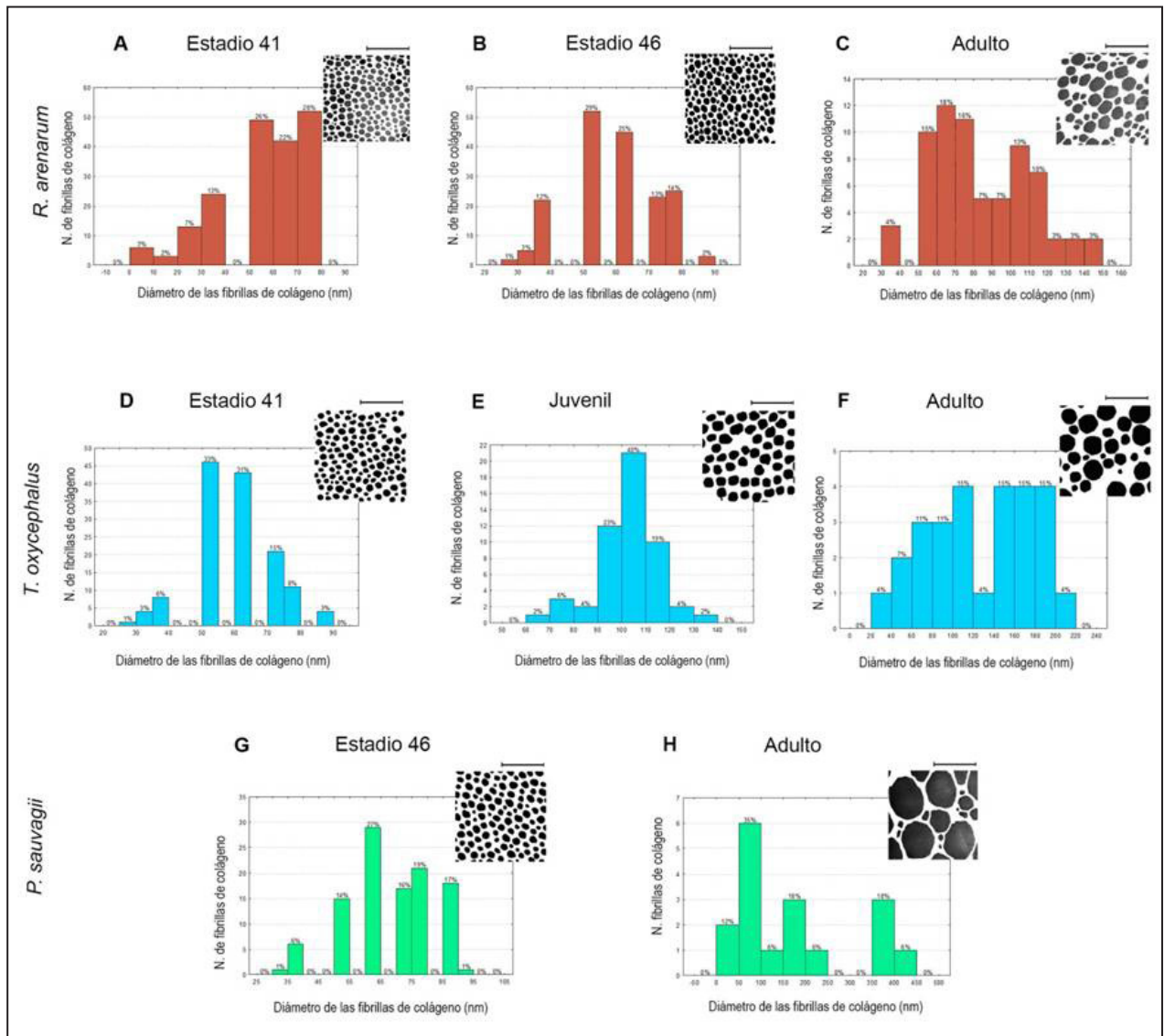


Figura 3. Histograma de frecuencias de las fibrillas de colágeno en los diferentes estadios de las especies analizadas. En el eje Y, el número de fibrillas y en el eje X el diámetro de las fibrillas en intervalos de 10 nm. Escalas 0,5 μ m.

permitiría mejorar su empaquetamiento, ya que las fibrillas más pequeñas se acuñan en los espacios que quedan entre las más grandes (Ottani *et al.*, 2001) y brindarían mayor fuerza y elasticidad a los tendones (Edwards *et al.*, 2005).

Las fibrillas de colágeno encontradas en el estadio 41 son similares en diámetro en las tres especies analizadas. En el estadio 46, el tendón de *Phyllomedusa sauvagii* presenta fibrillas con mayor diámetro que *Rhinella arenarum*. Las diferencias encontradas en este estadio y entre los adultos de las tres especies analizadas, sugieren que estas podrían estar relacionadas al modo locomotor de cada especie (Abdala *et al.* 2018) y, especialmente, al diferente uso de las manos. *Telmatobius oxycephalus* utiliza las manos para empujar a las presas acuáticas hacia la boca y

acomodarlas cuando son capturadas (Barrionuevo, 2016) mientras que *Rhinella arenarum*, utiliza sus manos durante la fase de aterrizaje del salto y para sujetar a las presas (Gray *et al.*, 1997). En estas especies, no hay diferencia funcional entre cada dedo y la mano trabaja como un todo. En contraposición en *Phyllomedusa sauvagii*, los dedos están especialmente modificados para flexionarse independientemente uno de otro, lo que les confiere la capacidad de prensión de precisión (Manzano *et al.*, 2017). Esta capacidad prensil les permite acicalarse, sujetarse a pequeñas ramas durante la locomoción, agarrar las presas con la mano y construir nidos con hojas de árboles (Blaylock *et al.*, 1976; Gray *et al.*, 1997; Manzano *et al.*, 2008, 2017). *Phyllomedusa boliviana*, una especie con hábitos ecológicos similares a

P. sauvagii, es capaz de generar una gran fuerza de abducción con los dedos II, IV y V (Manzano *et al.*, 2017) e inclusive puede ejercer diferentes tipos de presión al caminar por ramas de diferentes diámetros (Herrel *et al.*, 2013). Esta diversidad de movimientos generaría considerable estrés mecánico, lo cual podría relacionarse a las fibrillas de colágeno de gran diámetro encontradas en la especie aquí estudiada de este género (Abdala *et al.*, 2018; este trabajo). Hasta el momento no existen registros sobre la variación de estos comportamientos a lo largo de la ontogenia, que permitan inferir una relación entre la adquisición de estas capacidades especiales y la variación en el diámetro de las fibrillas.

Un punto interesante a considerar es que los histogramas de frecuencia muestran rangos de diámetro inexplorados en los estadios de las tres especies. Por ejemplo, *Rhinella arenarum* y *Telmatobius oxycephalus* no presentan fibrillas de colágeno entre 40 y 50 nm. Este rango está ausente en todos los estadios de *R. arenarum*, pero aparece en el adulto de *T. oxycephalus*. En *Phyllomedusa sauvagii* adulta no se reportan fibrillas entre 250 y 350 nm.

Durante la ontogenia, la musculatura y los tendones aumentan su sección transversal (Carrier, 1983), y este crecimiento está asociado directamente con la fuerza que realizan para cumplir su rol en la locomoción (Carrier, 1983). Un patrón alométrico en el crecimiento de tendones se observó en los pies y manos de elefantes en relación a un incremento en la masa corporal, mejorando sus propiedades biomecánicas (Pollock y Shadwick, 1994; Miller *et al.*, 2008). De la misma manera, el crecimiento en diámetro de las fibrillas en las tres especies de anuros aquí estudiadas podría responder a un patrón de alometría ontogenética. Sin embargo, durante el crecimiento postmetamórfico de cada una de las especies estudiadas el incremento máximo de tamaño corporal no guarda una relación directa con el incremento en el diámetro de las fibrillas. *Rhinella arenarum* es la especie que presenta el mayor porcentaje de crecimiento postmetamórfico (345%; LHC: 24,6-109,6 mm; Vera *et al.*, 2018), mientras que éste es considerablemente menor en *P. sauvagii* (174%; LHC: 25,8-70,8 mm; Vera *et al.*, 2018) y en *T. oxycephalus* (145%; LHC: 21,9-53,8 mm; Barrionuevo, 2018). Estos valores nos permiten descartar la existencia de un efecto alométrico claro en relación al aumento del diámetro de las fibrillas y el tamaño corporal. *Rhinella arenarum*, la especie de mayor tamaño y la que experimenta

un crecimiento postmetamórfico mayor, presenta el menor diámetro y coalescencia de las fibrillas, mientras que *T. oxycephalus*, la especie de menor tamaño y de menor crecimiento postmetamórfico, presenta un diámetro y coalescencia intermedias. El diámetro mayor de las fibrillas de colágeno en *P. sauvagii*, una especie de tamaño corporal intermedio y crecimiento postmetamórfico moderado, parecería estar más relacionado a efectos del uso y la función, como se encontró en roedores sigmodontinos en los cuales los patrones de alometría del sistema músculo-tendinoso parecen representar adaptaciones a los requerimientos específicos del hábitat que los organismos explotan (Carrizo *et al.*, 2018). Son necesarios estudios alométricos considerando la masa corporal durante la ontogenia para entender la tasa de desarrollo de las fibrillas de colágeno del tendón de estos animales.

Los datos presentados aquí son los primeros en relación a la ontogenia de las fibrillas de colágenos en anuros y plantean un punto de partida interesante para indagar más profundamente las relaciones eco-morfológicas entre los diámetros de las fibrillas de colágeno, modos locomotores y ontogenia.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Manuel Siñeriz del CISME, Universidad Nacional de Tucumán y a Patricia Pons del CME, Universidad Nacional de Córdoba, por su asistencia técnica. Los autores agradecen el apoyo económico de CONICET (PIP N° 389) y FONCYT (Préstamo BID PICT 2015/1618, y PICT 2016-2772). Los autores agradecen a un revisor anónimo cuyas sugerencias ayudaron a mejorar notablemente este trabajo.

Literatura citada

- Abdala, V.; Ponsa, M.L.; Tulli, M.J.; Fabre, A.C. & Herrel, A. 2018. Frog tendon structure and its relationship with locomotor modes. *Journal of Morphology* 279: 895-903.
- Abramoff, M.D.; Magalhaes, P.J. & Ram, S.J. 2004. Image processing with ImageJ. *Biophotonics International* 11: 36-42.
- Ameye, L.; Aria, D.; Jepsen, K.; Oldberg, A.K.E.; XU, T. & Young, M.F. 2002. Abnormal collagen fibrils in tendons of biglycan/fibromodulin-deficient mice lead to gait impairment, ectopic ossification, and osteoarthritis. *The FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 16: 673-680.
- Arnold, S.J. & Wassersug, R.J. 1978. Differential predation on metamorphic anurans by garter snakes (*Thamnophis*): Social behavior as a possible defense. *Ecology* 59: 1014-1022.
- Barrionuevo, J.S. 2016. Independent evolution of suction feeding in Neobatrachia: Feeding mechanisms in two species of *Telmatobius* (Anura: Telmatobiidae). *The Anatomical Record*

- 196: 181-196.
- Barrionuevo, J.S. 2018. Growth and cranial development in the Andean frogs of the genus *Telmatobius* (Anura: Telmatobiidae): exploring the relation of heterochrony and skeletal diversity. *Journal of Morphology* 279: 1269-1281.
- Birk, D.E.; Southern, J.F.; Zycband, E.I.; Fallon, J.T. & Trelstad, R.L. 1989. Collagen fibril bundles: a branching assembly unit in tendon morphogenesis. *Development* 443: 437-443.
- Blaylock, L.; Ruibal, R. & Platt-Aloia, K. 1976. Skin structure and wiping behavior of Phyllomedusinae frogs. *Copeia* 1976: 283-295.
- Carrier, R. 1983. Postnatal ontogeny of the musculo-skeletal system in the Black-tailed Jack rabbit. *Journal of Zoology of London* 201: 27-55.
- Carrizo, L.V.; Tulli, M.J. & Abdala, V. 2018. Postnatal growth of forelimb musculo-tendinous systems in Sigmodontine rats (Rodentia: Cricetidae). *Journal of Mammalogy* 99: 1217-28.
- Dahners, L.E. 2005. Growth and development of tendons. 22-24. *En: Maffuli, N.; Renström, P.; Leadbetter, W.B. (eds.), Tendon Injuries. Basic Science and Clinical Medicine. Springer. London.*
- De Campos Vidal, B. & Carvalho, H.F. 1990. Aggregational state and molecular order of tendons as function of age. *Matrix* 10: 48-57.
- Dos Santos, D.; Ponssa, M.L.; Tulli, M.J. & Abdala, V. 2014. Fibrillar organization in tendons: A pattern revealed by percolation characteristics of the respective geometric network. *Network Biology* 4: 31-46.
- Dos Santos, D.; Fratani, J.; Ponssa, M.L. & Abdala, V. 2017. Network architecture associated with the highly specialized hindlimb of frogs. *Plos One* 12: 1-17.
- Edwards, L.J.; Goodship, A. E.; Birch, H.L. & Patterson-Kane, J.C. 2005. Effect of exercise on age-related changes in collagen fibril diameter distributions in the common digital extensor tendons of young horses. *American Journal of Veterinary Research* 66: 564-568.
- Esquisatto, M.A.M.; Joazeiro, P. P.; Pimentel, E.R. & Gomes, L. 2007. The effect of age on the structure and composition of rat tendon fibrocartilage. *Cell Biology International* 31: 570-577.
- Emerson, S.B. 1978. Allometry and jumping in frogs: helping the twain to meet. *Evolution* 32: 551-64.
- Ezura, Y.; Chakravarti, S.; Oldberg, Å.; Chervoneva, I. & Birk, D.E. 2000. Differential expression of lumican and fibromodulin regulate collagen fibrillogenesis in developing mouse tendons. *The Journal of Cell Biology* 151: 779-787.
- Feitosa, V.; Vidal, B.C. & Pimentel, E.R. 2002. Optical anisotropy of a pig tendon under compression. *Journal of Anatomy* 200: 105-111.
- Franchi, M.; Trirè, A.; Quaranta, M.; Orsini, E. & Ottani, V. 2007. Collagen structure of tendon relates to function. *The Scientific World Journal* 7: 404-20.
- Goh, K.L.; Holmes, D.F.; Lu, Y.; Purslow, P.P.; Kadler, K.E.; Bechet, D. & Wess, T. J. 2012. Bimodal collagen fibril diameter distributions direct age-related variations in tendon resilience and resistance to rupture. *Journal of Applied Physiology* 113: 878-88.
- Gosner, K.L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica* 16: 183-190.
- Gray, L.A.; O'Reilly, J.C. & Nishikawa, K.C. 1997. Evolution of forelimb movement patterns for prey manipulation in anurans. *The Journal of Experimental Biology* 277: 417-424.
- Herrel, A.; Perrenoud, M.; Decamps, T.; Abdala, V.; Manzano, A. & Pouydebat, E. 2013. The effect of substrate diameter and incline on locomotion in an arboreal frog. *Journal of Experimental Biology* 216: 3599-3605.
- Ingelmark, B.E. 1948. The structure of tendons at various ages and under different functional conditions. II. *Acta Anatomica* 4: 13-15.
- Kannus, P. 2000. Structure of the tendon connective tissue. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports* 10: 312-320.
- Kjær, M.; Magnusson, P.; Krogsgaard, M.; Møller, J.B.; Olesen, J.; Heinemeier, K. & Esmarck, B. 2006. Extracellular matrix adaptation of tendon and skeletal muscle to exercise. *Journal of Anatomy* 20: 445-450.
- Manzano, A.S.; Abdala, V. & Herrel, A. 2008. Morphology and function of the forelimb in arboreal frogs: specializations for grasping ability? *Journal of Anatomy* 213: 296-307.
- Manzano, A.; Abdala, V.; Ponssa, M.L. & Soliz, M. 2013. Ontogeny and tissue differentiation of the pelvic girdle and hind limbs of anurans. *Acta Zoologica* 94: 420-436.
- Manzano, A.; Fontanarrosa, G.; Prieto, Y. & Abdala, V. 2017. La prensilidad en anfibios y reptiles: perspectivas evolutivas basadas en la anatomía y la función. 59-81. *En: Abdala, V.; Manzano, A. & Vasallo, A. (coord.), Morfología de Vertebrados: Conceptos, Métodos y Grupos de Investigación en la Argentina. Eudem. Mar del Plata.*
- Miller, C.E.; Basu, C.; Fritsch, G.; Hildebrandt, T. & Hutchinson, J.R. 2008. Ontogenetic scaling of foot musculoskeletal anatomy in elephants. *Journal of the Royal Society*, 5: 465-475.
- Muntz, L. 1975. Myogenesis in the trunk and leg during development of the tadpole of *Xenopus laevis* (Daudin 1802). *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 33: 757-774.
- Nakagawa, Y.; Majima, T. & Nagashima, K. 1994. Effect of ageing on ultrastructure of slow and fast skeletal muscle tendon in rabbit Achilles tendons. *Acta Physiologica Scandinava* 152: 307-313.
- Nieuwkoop, P.D. & Faber, J. 1994. Normal Table of *Xenopus laevis* (Daudin). Garland Publishing, New York.
- Ottani, V.; Raspanti, M. & Ruggeri, A. 2001. Collagen structure and functional implications. *Micron* 32: 251-260.
- Parry, D.A.D.; Barnes, G.R.G. & Craig, A.S. 1978a. A comparison of the size distribution of collagen fibrils in connective tissues as a function of age and a possible relation between fibril size distribution and mechanical properties. *Proceeding of the Royal Society B* 203: 305-321.
- Parry, D.A.D.; Craig, A.S. & Barnes, G.R.G. 1978b. Tendon and ligament from the horse: An ultrastructural study of collagen fibrils and elastic fibers as a function of age. *Proceeding of the Royal Society B* 203: 293-303.
- Pollock, C.M. & Shadwick, R.E. 1994. Relationship between body mass and biomechanical properties of limb tendons in adult mammals. *American Physiological Society* 266: 1016-1021.
- Provenzano, P.P. & Vanderby, R.J. 2006. Collagen fibril morphology and organization: Implications for force transmission in ligament and tendon. *Matrix Biology* 25: 71-84.
- Teixeira-Filho, P.F.; Rocha-Barbosa, O.; Paes, V.; Ribas, C.S. & de Almeida, J.R. 2001. Ecomorphological relationships in six

M. C. Vera *et al.* — Ultraestructura y ontogenia de un tendón digital en anuros

- lizard species of Restinga da Barra de Maricá, Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Chilena de Anatomía* 19: 45-50.
- Tulli, M.J.; Abdala, V. & Cruz, F.B. 2012. Effects of different substrates on the sprint performance of lizards. *Journal of Experimental Biology* 215: 774-784.
- Van der Rest, M. & Garrone, R. 1991. Collagen family of proteins. *The FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 5: 2814-2823.
- Vera, M.C.; Abdala, V.; Aráoz, E. & Ponssa, M.L. 2018. Movement and joints: effects of overuse on anuran knee tissues. *PeerJ* 6: e5546
- Vilarta, R. & De Campos Vidal, B. 1989. Anisotropic and biomechanical properties of tendons modified by exercise and denervation: aggregation and macromolecular order in collagen bundles. *Matrix* 9: 55-61.
- Wassersug, R.J. 1989. Locomotion in amphibian larvae (or 'Why aren't tadpoles built like fishes?'). *American Zoologist* 29: 65-84.
- Zelzer, E.; Blitz, E.; Killian, M. L. & Thomopoulos, S. 2014. Tendon-to-bone attachment: from development to maturity. *Birth Defects Research. Part C, Embryo Today: Reviews* 102: 101-112.
- Zhang, G.; Young, B.B.; Ezura, Y.; Favata, M.; Soslowsky, L. J., Chakravarti, S. & Birk, D.E. 2005. Development of tendon structure and function: Regulation of collagen fibrillogenesis. *Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions* 5: 5-21.

© 2019 por los autores, licencia otorgada a la Asociación Herpetológica Argentina. Este artículo es de acceso abierto y distribuido bajo los términos y condiciones de una licencia Atribución-No Comercial 2.5 Argentina de Creative Commons. Para ver una copia de esta licencia, visite <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/ar/>