

Estudio ultraestructural de las fibras del Sistema Elástico en el vínculo del *Gallus gallus dom.* l. adult.

Pérez Carrascosa, V. *; Cotta Pereira, G.**; Calvo Marín, J. **; Fila Varela, D.****

RESUMEN

Utilizando la técnica preconizada por Cotta-Pereira y cols. (1976) se pudieron distinguir en los vínculos de animales adultos, los tres tipos de fibras del Sistema Elástico.

De este modo se observaron las fibras elásticas constituidas por material amorfo central envuelto por microfibrillas de 10 a 12 nm. de diámetro. Las fibras oxitalámicas constituidas solamente por haces de microfibrillas de aspecto tubular de 10 a 12 nm. de diámetro. Las fibras elaunínicas de características intermedias, constituidas por haces de microfibrillas con escaso material amorfo electrodenso.

La presencia de fibroblastos con un sistema vacuolar bien desarrollado, así como la íntima relación entre los distintos tipos de fibras del sistema elástico en el vínculo, indicarían que estas células son responsables de sintetizar los componentes de dichas fibras.

La presencia de fibras oxitalámicas y elaunínicas representan fases ontogénicas de la formación de las fibras elásticas, esto indicaría que la elastogénesis es un proceso continuo durante toda la vida del animal.

Palabras Clave: Sistema Elástico, fibras elásticas, fibras elaunínicas, fibras oxitalámicas.

SUMMARY

Using the technique advocated by Cotta-Pereira et al. (1976), it was possible to distinguish in the vincula of adult animals the three types of fibers of the Elastic System.

In this hand, were observed that the elastic fibers made up of central amorphous material enveloped by 10 to 12 nm. diameter microfibrils. The oxitalan fibers consist only of bundles of microfibrils of tubular appearance, also 10 to 12 nm. in diameter. The elaunin fibers, with characteristic intermediate, made up of bundles of microfibrils with scarce intermingled electrodense amorphous material.

The presence of fibroblasts with a well developed vacuolar system, as a close relationship between the different types of fibers of the elastic system in the vinculum, indicated that these cells are responsible for the synthetization of the components of such fibers. The presence of oxytalan and elaunin fibers representing ontogenic phases in the formation of elastic fibers is assumed to indicate that the elastogenesis is a continued process throughout the life of the animal.

Keywords: Elastic Sistem, elastic fibers, elaunin fibers, oxitalan fibers.

INTRODUCCION

Los vínculos son haces de tejido conjuntivo que se localizan sobre la superficie dorsal del tendón flexor

digital profundo. Están constituidos por fibras elásticas y colágenas densamente agrupadas.

Las fibras elásticas han sido reconocidas histológicamente

desde hace muchos años (Unna, 1891; Weigert, 1898; Verhoeff, 1908). Estudios ultraestructurales demuestran que las fibras elásticas están constituidas por dos

*Profesor Adjunto, Dpto. de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.
Dpto. de Morfología, Facultad da Saude, Universidade de Brasilia, Brasil.

**Profesor Titular, Laboratorio de Histología y Embriología, Instituto de Biología, Universidade de Estado de Rio de Janeiro, Brasil.

***Asistente, Dpto. de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

****Ayudante, Depto. de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

sustancias químicas separables (Ross y Bornstein, 1969; Ross, 1973). En las fibras elásticas maduras, el centro está compuesto de material amorfo, homogéneo, que representa cerca del 90 % de las mismas (Geenlee y cols., 1966; Ross y Bornstein, 1971; Kanai y Kaufman, 1972; Ross, 1973; Cotta-Pereira y cols., 1976; Spicker y cols., 1975), en el cual fue identificada la proteína elastina (Ross y Bornstein, 1969). El otro componente circunda el material amorfo central y está formado por haces de microfibrillas.

Junto con las fibras elásticas pueden encontrarse otras, que aunque no poseen elastina o la presentan en pequeña cantidad, constituyen parte de un Sistema Elástico de fibras conjuntivas.

Las fibras oxitalámicas fueron observadas inicialmente por Fullmer (1958), su ultraestructura revela que están constituida por haces de microfibrillas (Carmichael y Fullmer, 1966) de 10 a 12 nm. de diámetro, semejante al de las microfibrillas de las fibras elásticas (Rodrigo y Cols., 1973; Cotta-Pereira y cols., 1976 a, 1978, 1979). El otro elemento del Sistema Elástico lo constituyen las fibras elauónicas descritas por Gawlik (1965). La ultraestructura de éstas revela un material amorfo disperso entre las microfibrillas (Cotta-Pereira y cols., 1975, 1976 a; Rodrigo y cols., 1973).

En el presente trabajo, se pretende estudiar los tipos de fibras que presenta el Sistema Elástico en el vínculo del Gallus gallus dom. l. adulto por el método de microscopía electrónica.

MATERIALES Y METODOS

Se sacrificaron por decapitación ocho Gallus gallus dom. adultos de la raza Leghorn, de los

que fueron retirados los dedos. Se obtuvo por disección fragmentos de la región mediana del vínculo, los que fueron fijados durante 2 horas en solución de glutaraldeído al 3 % y ácido tánico al 0,25 % en tampón Millonig 0,1 M, pH 7,3 (Futaesaku y cols., 1972; Cotta-Pereira y cols., 1976 b). Después los fragmentos fueron lavados en solución tampón y postfijados en tetróxido de osmio al 1 % en tampón Millonig 0,1 M Ph 7,3, durante 1 hora. Posteriormente, el material fue deshidratado en soluciones crecientes de etanol, y, después de tres cambios de óxido de propileno, se procedió a la inclusión en Epón 812 a 60 °C durante 48 horas. En la inclusión los fragmentos fueron orientados con el fin de obtener cortes longitudinales y trans-

coloreados con azul de toluidina en carbonato de sodio y examinados al microscopio óptico para la orientación de los cortes ultrafinos (60-90 nm). Estos últimos, fueron recogidos en rejillas con retícula de 200 a 400 cuadrículos, contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo, y examinados en microscopio electrónico ZEISS, E.M. 9B. con posterior obtención de electromicrografías.

RESULTADOS

En los cortes longitudinales de la parte mediana del vínculo se observó la presencia de gran cantidad de fibras elásticas orientadas principalmente en sentido longitudinal, de diferentes diámetros y longitud variable. Cada

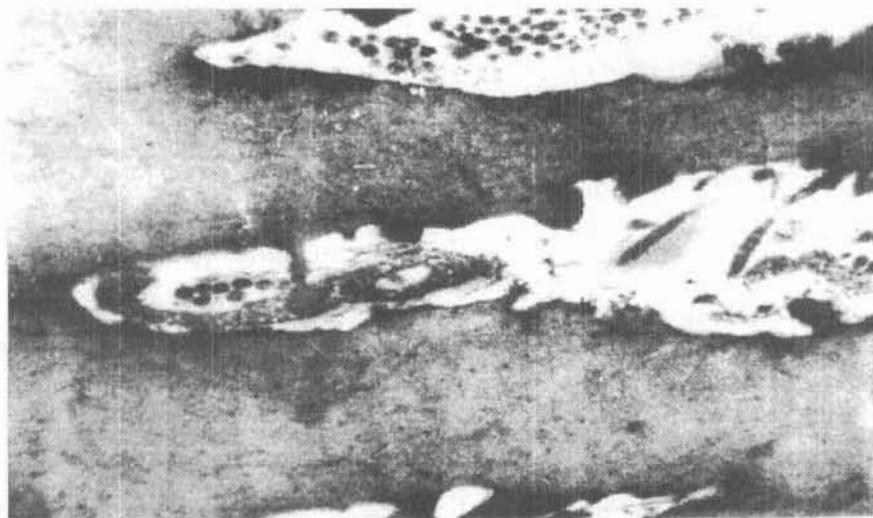


Fig. 1. Electromicrografía de la región mediana del vínculo mostrando fibras elásticas maduras cortadas longitudinalmente. El material amorfo aparece en negro. La fibra se presenta ramificada. Fibrillas de colágeno se observan entre las ramificaciones de la fibra elástica (estrella). Aumento: * 36.000.

versales. En ultramicrotomo SORVALL modelo Parter-Blum MT2-B se obtuvieron cortes semifinos (1 µm), los que fueron colocados en láminas de vidrio,

fibra mostró un constituyente principal central y electrodenso, ocasionalmente se observaron algunas microfibrillas periféricas. Se evidenció la presencia de

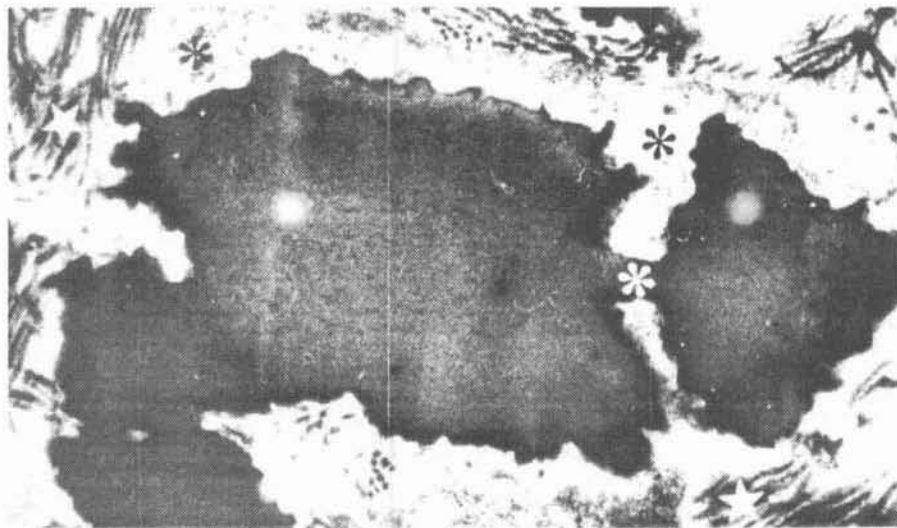


Fig. 2. Electromicrografía de la región mediana del vínculo mostrando fibras elásticas cortadas transversalmente con el material amorfo en negro y su relación con prolongaciones citoplásmicas de fibroblastos (asteriscos negros) y con fibrillas de colágeno (estrella). Se observan 2 fibras elásticas unidas por un puente de material amorfo (asterisco blanco). Aumento: * 18.000.

ramificaciones (Fig. 1).

En las regiones situadas entre las numerosas y espesas fibras elásticas observamos fibrillas de colágeno y prolongaciones celulares pertenecientes a fibroblastos (Fig. 1 y 2).

Además de las fibras elásticas y de las fibrillas de colágeno, se visualizaron haces de microfibrillas que corresponden ultraestructuralmente a las fibras oxitalámicas (Fig 3), las que miden de 10 a 12 nm. de diámetro. En corte transversal presentaban una región central poco densa, rodeada por una región electrodensa, dando apariencia tubular. También fueron observados haces de microfibrillas con material electrodensado entremezclado, de características ultraestructurales similares a las descritas para las fibras elaunínicas (Fig 3).

DISCUSION

La microscopia electrónica

mostró que las fibras que constituyen la mayor parte del vínculo del animal adulto, corresponden al patrón estructural de las fibras elásticas. La identificación se hizo con la técnica

preconizada por Cotta-Pereira y cols. (1976), en el cual se usa glutaraldehído -ácido tánico como fijador. Se observó que esas fibras están constituidas por un material amorfo central electrodensado, envueltas por microfibrillas de 10 a 12 nm. de diámetro.

Se observaron fibras oxitalámicas formadas por haces de microfibrillas, de 10 a 12 nm de diámetro como fueron descritas por Cotta-Pereira y cols. (1976), las que aparecen en corte transversal con una zona central poco coloreada, y otra periférica electrodensa, lo que les da una apariencia tubular. Estos datos concuerdan con los de Fahrenbach y cols. (1966), Greenlee y cols. (1966), Jones y Barson (1971) y Cleary y cols. (1981), no siendo esta la característica observada por Kewley y cols. (1978). Feroze (1982) mencionó que la apariencia tubular en el corte transversal de las microfibrillas se debería al hecho que, en los cortes ultrafinos

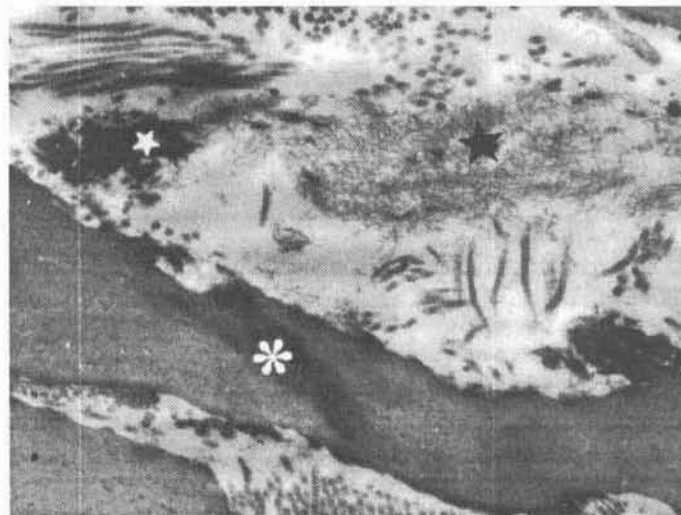


Fig. 3. Electromicrografía de la región mediana del vínculo mostrando un fibra elástica madura constituida principalmente por amorfo que aparece en negro (asterisco). También puede observarse una fibra oxitalámica formada por microfibrillas (estrella negra) y una fibra elaunínica que presenta material amorfo disperso entre las microfibrillas (estrella blanca). Aumento: * 17.000.

contrastados con uranilo y plomo, estos se depositaron en la periferia de la microfibrilla, permaneciendo el centro claro. Ya Cleary y cols. (1981) informaron que las microfibrillas se constituyen, en realidad, de una región central proteica envuelta por varias cadenas de glucoproteínas dispuestas en espiral. Estos dos componentes de las microfibrillas, de características tintoriales diferentes, tratados con uranilo y plomo, mostraron una parte central clara y otra periférica oscura. Mayores informaciones son necesarias para que se afirmen opiniones contrarias.

De acuerdo con lo descrito por Cotta-Pereira y cols (1976), usando la técnica del glutaraldehído y ácido tánico, las fibras elásticas se revelaron como haces de microfibrillas y material amorfo electrodenso entremezclado.

Los fibroblastos presentes en el vínculo son, aparentemente las células capaces de sintetizar los componentes de las fibras elásticas. La presencia de un sistema vacuolar citoplasmático bien desarrollado especialmente el retículo endoplásmico rugoso con fino material en su interior. El aparato de Golgi, evidencia la actividad biosintética de esta célula. A esto podemos agregar la íntima relación entre los diferentes tipos de fibras y estas células, por medio de prolongaciones citoplasmáticas o invaginaciones de la membrana celular, hecho observado por Schwarz (1964) y Fahrenbach y cols. (1966). Debido a que estos tres tipos de fibras presentes en el vínculo del animal adulto, representan las fases ontogénicas en el desarrollo de las fibras elásticas (Fahrenbach y cols., 1966; Jones y Barson, 1971 y Albert, 1972) se podría sugerir que la elastogénesis es un proceso

continuo y que se produce durante toda la vida del animal, aunque con diferentes ritmos. Este hecho también fue observado por Braverman y Foferko (1982) en la dermis humana.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Albert, E.N. (1972). Developing elastic tissue: an electron microscopic study. *Am. J. Path.*, 69: 89-94.
2. Braverman, I.M. y Foferko, E. (1982). Studies in cutaneous aging: I: The elastic fiber network. *J. Invest. Dermat.*, 78: 434-443.
3. Carmichael, G.G. y Fullmer, H.M. (1966). The fine structure of oxytalan fiber. *J. Cell. Biol.*, 28: 33-36.
4. Cleary, E.G.; Fanning, J.C. y Prosaer, I. (1981). Possible roles of microfibrils in elastogenesis. *Connec. Tissue Res.*, 8: 161-166.
5. Cotta-Pereira, G.; Kattembach, W.M. y Rodrigo, F.G. (1979). Elastic-related fibers in basement membranes. *Front. Matrix Biol.*, 7: 90-100.
6. Cotta-Pereira, G.; Rodrigo, F.G. y Bittencourt-Sampaio, S. (1975). Ultrastructural study of elaunin fibers in the secretory coil of human eccrine sweat glands. *Brit. J. Dermat.*, 93: 623-629.
7. Cotta-Pereira, G.; Rodrigo, F.G. y Bittencourt-Sampaio, S. (1976a). Oxytalan, elaunin and elastic fibers in the human skin. *J. Invest. Dermat.*, 66: 143-148.
8. Cotta-Pereira, G.; Rodrigo, F.G. y David-Ferreira, J.F. (1976b). The use of tannic acid-glutaraldehyde in the study of elastic fibers. *Stain Technol.*, 51: 7-11.
9. Cotta-Pereira, G.; Rodrigo, F.G. y David-Ferreira, J.F. (1978). Comparative study between the elastic system fibers in the human thin and thick skin. *Biol. Cellulaire*, 31: 297-302.
10. Fahrenbach, W.H.; Sandberg, L.B. y Cleary, E.G. (1966). Ultrastructural studies on early elastogenesis. *Anat. Rec.*, 155: 563-575.
11. Feroze, N.G. (1982). Ultrastructural pathology of the cell and matrix. 2nd. p. 908. Butterwords London.
12. Fullmer, H.M. (1958). Differential staining of connective tissue fibers of stress. *Science*, 127: 1240.
13. Futaesaku, Y.; Mizuhira, V. y Nakamura, H. (1972). The new fixation method using tannic acid for electron microscopy and some observation of biological specimens. *Proceedings of International Congress of Histochemistry and Citochemidtry*, 4: 155-156.
14. Gawlik, K. (1965). Morphological and morphochemical properties of the elastic system in the motor organ of man. *Folia Histochem.*

- Cytoch., 3: 233-251.
15. **Greenlee, T.K.; Ross, R. y Hartman, J.L.** (1966). The fine structure of elastic fibers. *J. Cell Biol.*, 30: 59-71.
 16. **Jones, A.W. y Barson, A.J.** (1971). Elastogenic in the developing chick lung: a light and electron microscopic study. *J. Anat.*, 110: 1-15.
 17. **Kanai, A. y Kaufman, H.E.** (1972). Electron microscopic studies of the elastic fiber in human sclera. *Invest. Ophthal.*, 11: 816-820.
 18. **Kewley, M.A.; Williams, G. y Steven, F.S.** (1978). Studies of elastic tissue formation in the developing bovine ligamentum nuchae. *J. Path.*, 124: 95-101.
 19. **Rodrigo, F.G.; Cotta-Pereira, G. y Riches, D.J.** (1973). Ultrastructural observations on uninvolved skin in dermatitis. "Elastic" versus "reticular" fibrils. *Brit. J. Dermat.*, 89: 543-545.
 20. **Ross, R.** (1973). The elastic fiber. A review. *J. Histochem. Cytochem.*, 21: 199-208.
 21. **Ross, R. y Bornstein, P.** (1969). The elastic fibers. I: The separation and partial characterization of its macromolecular components. *J. Cell Biol.*, 40: 366-381.
 22. **Ross, R. y Bornstein, P.** (1971). Elastic fiber in the body. *Sci. Amer.*, 224: 44-52.
 23. **Schwarz, W.** (1964). Elektronenmikroskopische untersuchungen uber die bildung elastischer fasern in der gewebekultur. *Z. Zellforsch.*, 63: 636-643.
 24. **Spicker, S.S.; Brissie, R.M. y Thompson, N.T.** (1975). Variability of dermal elastin visualized ultrastructurally with iron hematoxylin. *Am. J. Path.*, 79: 481-498.
 25. **Unna, P.G.** (1891). Notiz betreffend die tanzersche orcein farbung des elastischen gewebes. *Prakt. Dermat.*, 12: 394-396.
 26. **Verhoeff, F.H.** (1908). Some new staining of wide applicability. Including a rapid differential stain for elastic tissue. *J. Am. Med. Assoc.*, 50: 876-877.
 27. **Weigert, C.** (1898). Uber eine methode zur farbung elastischer fasern. *Zentralbl. Allgem Path.*, 54: 289-292.

Aprobado para su publicación:
10/10/95.

**USE LA
CABEZA.**



USE IVOMEC

MSD AGVET
División de Merck Sharp & Dohme



cibeles

12 de Diciembre 767
Tels.: 201278 - 291001 - 206231

