

El medio interno de la “rana toro” (*Rana catesbeiana*, Shaw 1802). Revisión bibliográfica

Coppo, J.A.

Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE,
Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina, Tel/Fax: 03783-425753,
E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

Resumen

Coppo, J.A.: El medio interno de la “rana toro” (*Rana catesbeiana*, Shaw 1802). Revisión bibliográfica. Tras efectuar una sucinta actualización sobre aspectos fisiológicos de la reproducción, crecimiento, alimentación, respiración, circulación, osmolaridad, termorregulación y controles homeostáticos propios de los anfibios, se abordan temas específicos del medio interno de las ranas. Se realiza una revisión sobre la composición y mecanismos de control de los principales líquidos corporales de *Rana catesbeiana*, incluyendo la sangre y sus elementos figurados, los componentes proteicos, glucídicos, lipídicos y minerales del plasma, así como el nitrógeno no proteico y las actividades enzimáticas. Se describen características y adaptaciones fisiológicas de la orina y las pruebas de la coagulación. Se narran variaciones atribuibles a edad, sexo, peso, época del año y sistemas de manejo y alimentación constatadas en ranas toro criadas con fines productivos en el nordeste argentino. Se reportan similitudes con mecanismos y valores publicados para otros anfibios, aves y mamíferos, destacándose diferencias halladas para la misma especie, criada en distintas latitudes con otras dietas y técnicas de manejo. Se describen aumentos y disminuciones en la concentración de los componentes de los líquidos corporales en animales enfermos. Se destaca la utilidad de los valores del medio interno para detectar trastornos nutricionales, metabólicos y sanitarios, aconsejándose su utilización como instrumento idóneo para optimizar la cría de rana toro con fines productivos.

Palabras clave: *Rana catesbeiana*, medio interno, coagulación, sangre, orina.

Introducción

Medio interno es el líquido que ocupa los espacios extracelulares de un organismo. Tal denominación fue concebida por Claude Bernard en el siglo XIX, al advertir que el “mar interior” que rodeaba a las células (*milieu intérieur*) registraba similitudes con el agua de mar que debió cobijar a las primeras formas de vida unicelular. Tales similitudes consistían en elevadas concentraciones de sodio y cloruro, así como escasez de potasio, a la inversa de lo que acontecía en el líquido intracelular. Acorde al evolucionismo, los primeros seres vivos habrían adaptado su protoplasma al entorno de agua salobre propio de su medio externo. Al emerger a la vida terrestre, para que las células pudieran obtener sus nutrientes y descargar sus desechos, debieron crear un “mar interior” dentro de su tegumento, el cual mantuvo filogenéticamente algunas características del agua de mar. Luego aparecerían mecanismos reguladores para asegurar la constancia de su composición, surgiendo el concepto de *fijeza*, por el cual se asevera que el medio interno es el mismo para todas las células de un organismo^{21,61}.

La fijeza del medio interno es la condición imprescindible para la vida libre, al posibilitar la independencia con el medio externo, constituyendo un formidable avance en el perfeccionamiento evolutivo de las especies. Algunos animales marinos aún son *osmoconformadores*; su medio interno será idéntico al del agua de mar y tendrán pocas posibilidades de supervivencia en otro medio externo. Animales *osmorregulares* son los que se han independizado de su entorno, ya sea siendo hiposmóticos como las especies de agua salada, o hiperosmóticos como las especies de agua dulce, a la que pertenece el anfibio que nos ocupa^{48,92,105}.

Objetivo

El propósito de esta revisión bibliográfica fue compendiar los conocimientos actuales sobre el medio interno de una rana de importancia productiva, así como relacionar tales datos con los de otras especies, comparando aseveraciones de diversos autores con resultados de investigaciones propias. A través de una discusión crítica, se pretendió arribar a conclusiones integradoras que permitan la mejor comprensión del

tema, así como la elaboración de predicciones sobre su potencial utilidad práctica.

La “rana toro”

Los “batracios” existen hace unos 250 millones de años y por su carácter de anfibios alternan su hábitat entre el medio acuático y el terrestre ^{25, 105}. A diferencia de los sapos, de piel seca y rugosa, patas cortas y adaptados a la vida en aridez, las ranas poseen piel fina y lisa, patas largas y musculosas, siendo algunas especies comestibles. En general, los anfibios presentan dimorfismo sexual; los machos muestran mayor rugosidad de la piel, especialmente en el cuello, un gran tímpano, especial vocalización y callos digitales en los pulgares del miembro anterior ^{74, 76, 108}.

Un relevamiento que incluyó 3600 ejemplares de anuros, posibilitó conocer que en el nordeste argentino estarían representados por 5 familias y más de 60 especies, adaptadas para resistir sequías prolongadas y cambios bruscos de temperatura ¹⁵.

La “rana toro” (*bullfrog*) se ubica taxonómicamente en la rama (phylum) *Vertebrados*, clase *Anfibios*, orden *Anuros*, familia *Ranidae*, género *Rana*, especie *catesbeiana* (Shaw, 1802). Su apelativo deviene de la circunstancia que el macho (dimorfismo laríngeo), durante la época reproductiva, emite (croa) un *mugido* semejante al del toro. Es originaria de América del Norte y se caracteriza por su gran tamaño: hasta extremos de 43 cm de longitud y 2,5 kg de peso, aunque habitualmente mide unos 20 cm. Es capaz de saltar distancias de 1,7 m de largo y hasta 1,2 m de alto, nadando ágilmente merced a sus largas patas, provistas de membranas interdigitales. Su carne es comestible; las “ancas” son las piezas más apreciadas para el consumo humano ^{74, 75, 90, 105, 108}.

R. catesbeiana (Figura 1) lleva una vida eminentemente acuática; durante el invierno cae en letargo

(“hibernación”). De apetito voraz, además de atrapar insectos al vuelo es capaz de alimentarse con otras ranas y hasta con aves pequeñas, siendo una implacable predatora. Si bien en etapas juveniles consume larvas de mosquito, lo cual podría resultar benéfico, desde el punto de vista ecológico la rana adulta sería un “huésped indeseable” pues al instalarse en alguna laguna no tardaría en aniquilar al resto de la fauna acuática. El canibalismo no resultaría inusual en esta especie, donde la longevidad puede prolongarse unos 15 años ^{74, 76, 105, 108}.

Reproducción, desarrollo

Los anfibios se han adaptado a la vida terrestre, pero deben volver al agua para reproducirse ¹⁰⁵. El período reproductivo original de *R. catesbeiana* abarca el lapso primavera-verano (adecuadas temperatura, fotoperíodo y lluvias), pero en climas tropicales ocurre durante todo el año ⁷⁴. Ovíparos, la hembra desova de diez mil a veinte mil huevos cuya incubación requiere alrededor de siete días. Como se muestra en la Figura 2, el desove se efectúa en el agua o en tierra con mucha

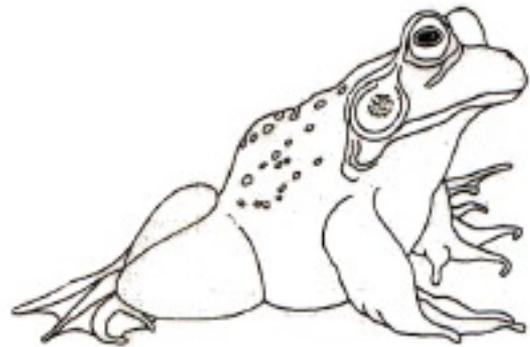


Figura 1. Ejemplar adulto de *Rana catesbeiana*.

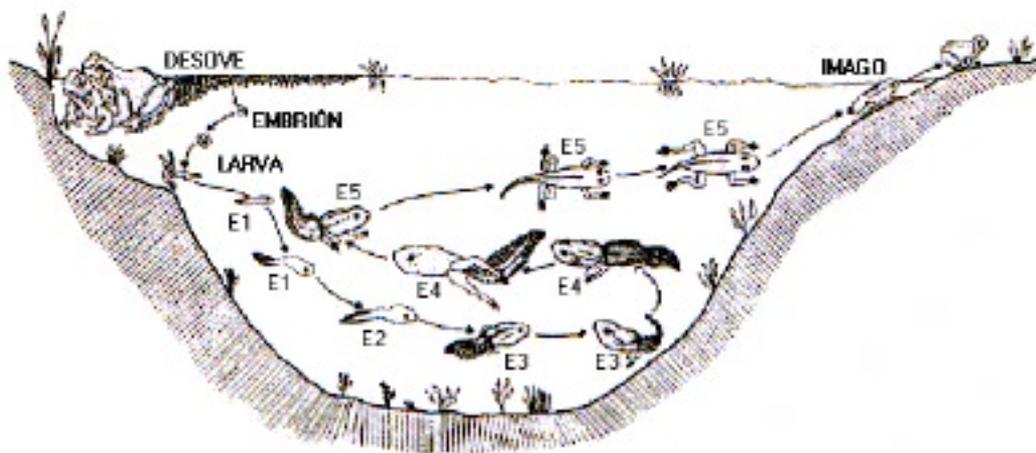


Figura 2: Ciclo reproductivo de los anfibios, ilustrando apareamiento, desove y etapas de embrión, larva, renacuajos (estadios E_1 a E_5) e imago.

Modificado de Lima y Agostinho, 1992.

humedad, debido a que las membranas embrionarias no resisten la desecación⁷⁵; los lugares de oviposición se sitúan estratégicamente para evitar la predación, donde la accesibilidad de los peces es reducida. La masa de huevos de la rana se oxigenaría tanto por difusión como por convección⁵⁰.

Su desarrollo comprende una fase acuática que comienza con la etapa de *larva* (6 mg de peso) y prosigue con la de *renacuajo* (1 g de peso, respiración branquial, corazón de dos cavidades y alimentación a base de plancton, algas y microorganismos). Luego de atravesar varios estadios, por metamorfosis se transforma en *imago* (40 g, respiración pulmonar, corazón de tres cavidades), iniciando la fase terrestre de su ontogénesis y alcanzando la madurez sexual a los ocho meses⁹⁰, cuando las hembras pesan unos 200 g y los machos unos 250 g⁷⁵.

En criaderos del nordeste argentino, los pesos de *R. catesbeiana* correlacionaron significativamente con las edades ($r=0,82$, $p=0,02$), pero fueron más bajos que los obtenidos en igual lapso en establecimientos de alta tecnología, pues el peso de sacrificio (170 g) en lugar de alcanzarse a los 6–7 meses, se logra recién a los 12 meses. En ranas adultas (mayores de 12 meses) los pesos más altos se registraron en aquéllas alimentadas “naturalmente” en laguna, seguidas por las que consumieron pellets balanceados (45% de proteínas) y lombrices suministradas en piso seco. Los pesos más bajos se verificaron en ranas alimentadas con vísceras de bovino (pulmón molido) flotante en el agua. En invierno hubo menores ganancias de peso que en resto de las estaciones³⁶.

La metamorfosis implica cambios como resorción de la cola, aparición de patas delanteras, desaparición de las branquias, desarrollo de párpados y tímpanos, ensanchamiento de la boca y crecimiento de la lengua, que –fija por delante– será desplegada (disparada) para atrapar insectos. No menos importantes serán los cambios conductuales y bioquímicos, necesarios para hacer frente al cambio de vida (acuática por anfibia o terrestre)^{105, 106}. El crecimiento oviductal es estrógeno-dependiente y la metamorfosis parece depender de la tiroxina (T_4)³², con su correspondiente estimulación hipofisaria¹⁰⁵.

El crecimiento radial de los huesos largos estaría bajo el comando del cartílago epifisario; en la superficie perióstica pudo verificarse actividad de fosfatasa alcalina³⁵. En los músculos, el fosfágeno energético es la fosfocreatina, filogenéticamente más avanzada que la fosforil–arginina de especies inferiores⁸⁴. La urea parecería ser necesaria para la normal contractilidad del músculo esquelético de los anuros¹⁰⁸.

Fisiología digestiva, alimentación natural

El tubo digestivo de los anuros es semejante al de los carnívoros; entre sus alimentos se incluyen insectos, anélidos, crustáceos, moluscos y pequeños vertebrados⁵⁰. En el nordeste argentino, la dieta natural de *Bufo sp* estaría principalmente constituida por presas como

coleópteros e himenópteros³¹. En etapa de renacuajos se registra cierto grado de coprofagia, especialmente en criaderos de ranas⁵⁹. En ensayos de semi-cautiverio realizados en el nordeste argentino, las necropsias permitieron verificar que el tubo digestivo de *R. catesbeiana* contenía pasto, renacuajos, pequeños peces y ranas, cangrejos, ciempiés, coleópteros y hemípteros acuáticos³⁶.

Como principal glándula anexa al aparato digestivo poseen un voluminoso hepatopáncreas⁵⁰. Este “hígado” excreta bilis a través de una vesícula biliar; el resto de los órganos digestivos “celómicos” (única cavidad del cuerpo de los anfibios) son esófago, estómago e intestinos delgado y grueso, que terminan en una cloaca¹⁰⁵. En el hígado de *R. catesbeiana* se ha estudiado la estructura de las proteínas capaces de ligar ácidos grasos⁴, así como la función hemocaterética que adopta en la etapa larval⁵³. Al igual que en los mamíferos, estos anuros almacenan hierro en forma de ferritina⁵¹.

Desde el punto de vista alimentario el renacuajo se comportaría como vegetariano (plantas acuáticas)^{48, 105}. El tamaño de los renacuajos variaría en función de la disponibilidad de alimento²⁴. Durante la metamorfosis, los anfibios modifican drásticamente su aparato digestivo, apareciendo enzimas proteolíticas como pepsina, tripsina y quitinasas gástricas⁶⁰. En el adulto, la reserva energética para el invierno se almacenaría en panículos adiposos contiguos a las gonadas, los cuales son grandes en otoño y pequeños en primavera¹⁰⁵.

Los anfibios no beben agua o lo hacen raramente; el agua ingresará con los alimentos, por absorción osmótica a través de la piel, resorción vía vesical o se producirá como *agua metabólica*⁵⁷. Después de la ingestión de alimentos se registran cambios en la concentración plasmática de varios analitos¹⁰.

Fisiología circulatoria, corazón

El miocardio tiene dos aurículas pero un solo ventrículo; la separación de sangres oxigenada y desoxigenada se debería a la presencia de un pliegue espiralado que no las dejaría mezclar³². No obstante, la sangre de la aurícula izquierda (oxigenada) se mezcla en grado considerable con la de aurícula derecha (desoxigenada)^{57, 105}.

La sangre desoxigenada es recogida por una arteria pulmocutánea, en tanto que la sangre que sale de pulmones y piel se distribuye por todo el cuerpo³². Los anfibios poseen una aorta única⁵⁰. El aporte sanguíneo hacia los riñones es doble: uno arterial (como en mamíferos) y otro portal, desde vena porta renal hasta capilares peritubulares⁴⁸.

En la rana, los incrementos plasmáticos de Ca, Na y K activan el funcionamiento cardíaco, que se deprimiría con la disminución de tales iones⁸⁴. La presión sanguínea arterial es de 20 a 30 mmHg^{48, 58}. Medida en vasos mesentéricos, las presiones sistólica y diastólica resultaron de 29 y 16 mmHg en arterias, 10 y 7 mmHg en capilares y 6 mmHg en venas⁷¹. El clima (cambios

estacionales) provoca respuestas de acomodación cardiorrespiratoria en los anfibios ^{8, 87}.

Fisiología respiratoria

Los anfibios adultos utilizan como superficies respiratorias a la piel (principal vía de salida de CO₂), cavidad bucal y pulmones ⁴³. La piel más adaptada para el intercambio de gases (mayor densidad de capilares) es la de dorso y muslos, más expuestos al aire; la humedad cutánea facilita la difusión de O₂ y CO₂ ^{43, 50}. Además de la mucosa bucofaríngea, algunos autores aseveran que hay intercambio respiratorio aún en la cloaca ⁵⁰. El constante movimiento submandibular observable en sapos y ranas corresponde al funcionamiento de la *bomba bucofaríngea*; el descenso del piso de la cavidad bucal provoca penetración forzada de aire, que irá hacia la glotis y los pulmones ^{48, 105}.

En etapas larvianas los renacuajos respiran a través de branquias externas e internas ^{43, 47, 90}; para ello el agua debe contener 7 a 10 mg de O₂ por litro de agua ⁷⁶. Estudios efectuados en *Bufo americanus* indicaron que a temperaturas elevadas, la captación de O₂ por piel es mayor que la efectuada por pulmones, y viceversa; en cambio, para la excreción de CO₂ siempre es más importante la piel, a cualquier temperatura ⁹². Los cambios climáticos estacionales afectan marcadamente el consumo de O₂, así como la tasa de glucosa plasmática ^{8, 87}.

El hábitat condiciona el órgano mediante el cual se obtendrá la mayor cuantía de ingreso de O₂. Así, comparando *Rana temporaria* (predominantemente terrestre) con *Rana esculenta* (predominantemente acuática), surge que los porcentajes de gas ingresado por pulmones son del 75% y por piel 25% para la primera, en tanto que para la segunda son del 50% para cada uno ⁶⁹. En *R. catesbeiana* algunos autores aseveran que el 70% de intercambio de gases se efectuaría por piel y el 30% restante por pulmones ⁷⁶. Algunas ranas hibernan sumergidas, por lo que O₂ y CO₂ se intercambiarían a través de la piel. *Rana esculenta* es capaz de sobrevivir 2–3 semanas sumergida; *R. catesbeiana* tendría poco desarrollado este mecanismo, no sobreviviría mucho tiempo quizás debido a su gran tamaño ⁵⁷.

Termorregulación, piel

Son animales ectotermos ²⁵, su temperatura corporal usualmente se sitúa 1°C por arriba de la ambiental ¹⁰⁵. La temperatura óptima para los renacuajos es de 25°C ¹³, en tanto que para la vida terrestre de la rana adulta sería de 27°C, con fotoperíodos de doce horas ⁵⁷.

A través de la piel, las ranas absorben O₂, Na y Cl; algunos halógenos pueden ingresar vía cutánea (bromo) y otros no (yodo) ⁸⁴. La piel está densamente irrigada en los anfibios ¹⁰⁵. A nivel cutáneo estos animales poseerían *bombas* (transporte activo) de Na y Cl ¹⁰⁸. La piel del sapo posee sensibilidad para captar la osmolaridad del líquido que la contacta; al ser expuestos a soluciones electrolíticas de distinta osmolaridad, tanto sapos normales como deshidratados mostraron aversión

hacia las soluciones hiperosmóticas, disminuyendo el tiempo de permanencia en el líquido y aumentando los intentos de escape ⁷⁷. En piel aislada de batracios, la angiotensina II (a través del AMPc) provocaría aumento de la permeabilidad osmótica y del transporte de sodio, por lo que este órgano sería parangonable al nefrón distal de los mamíferos ²³.

La inyección de adrenalina decolora la piel de la rana, respuesta defensiva a cargo de cromatóforos que también responden a impulsos provenientes del sistema nervioso central ⁸⁴. Las respuestas de la piel a la estimulación adrenérgica ¹⁰⁰ y los cambios fisiológicos de coloración han sido estudiados en *R. catesbeiana* ¹¹; los receptores adrenérgicos cambiarían su distribución cutánea según la temporada, como parte del proceso de aclimatación ⁵, en el que intervendrían eicosanoides del tejido nervioso ⁵⁶. Para mimetizarse con los colores ambientales, la piel de estos animales poseería hasta 300 cromatóforos por mm²; la piel es “mudada” periódicamente ⁷⁶. Para oscurecer la piel, los melanóforos se activarían a través de receptores colinérgicos muscarínicos ². El cambio de coloración está regulado desde la hipófisis por la hormona estimulante de los melanocitos; la piel, cuyas glándulas han sido inmunohistoquímicamente estudiadas ⁹³, posee además una toxina protectora contra predadores ^{27, 105}.

Mecanismos de regulación homeostática

Los anfibios poseen una especie de sistema nervioso visceral o autónomo, incluyendo vagos parasimpáticos y cadenas de nervios y ganglios simpáticos ¹⁰⁵. Recientemente se ha estudiado la regulación de los canales de calcio en las neuronas simpáticas ^{72, 73} y en los ganglios nerviosos ¹⁰⁹, el efecto de la hiposmolaridad a nivel ganglionar ⁹¹, la repercusión de las injurias nerviosas ³³, la activación de neuronas simpáticas a cargo de la muscarina ⁷⁰ y particularidades del cerebelo de estos animales ¹⁰⁴.

Además de hormonas tiroideas, tiroideoestimulante, adrenalina, antidiurética, aldosterona y melanocitoestimulante, los anfibios poseen las correspondientes a las funciones reproductiva (gonadotropinas), crecimiento (STH) y metabólicas (insulina, glucagon) ^{25, 82}. En las ranas se han estudiado los efectos de insulina y glucagon ¹⁰⁷, la secreción de hormonas hipofisarias ¹, prolactina y hormona de crecimiento ⁸⁰, así como la genética de las hormonas tiroideas ⁶⁶.

Las células beta del páncreas de batracio segregan insulina de manera muy similar al mecanismo admitido para mamíferos: reconoce carbohidratos metabolizables como glucosa, manosa y fructosa, pero otros no metabolizables como galactosa y 2–desoxiglucosa no provocan secreción de insulina ⁴⁵. La liberación de insulina también resultaría afectada por la temperatura ambiental, aumentando por debajo de 37°C y viceversa ⁴⁴. La administración de estreptozotocina, si bien no provocaría hiperglucemia en los renacuajos, en adultos de *R. catesbeiana* fue capaz de elevar la glucemia, sin llegar a producir déficit de la secreción de insulina ⁶⁷.

No se conocería a fondo la estructura de la insulina de rana ni sus funciones; no resultaría extraño que fueran semejantes a las de mamíferos, ya que las diferencias entre las de origen humano, bovino, ovino, porcino y equino son mínimas ⁶⁸.

La prolactina aumentaría el transporte activo de sodio a través de la piel de renacuajos de rana toro ⁹⁸ y el mismo efecto se registraría durante su metamorfosis hacia estadios adultos ⁹⁹. El timo de las ranas fluctuaría estacionalmente, hipertrofiándose en primavera y atrofiándose en invierno ⁸¹. Angiotensina II produciría en vasos sanguíneos de sapos los mismos efectos que genera en mamíferos ²⁶.

La calcemia se regularía por acciones de parathormona y calcitonina; el calcio plasmático se intercambiaría a nivel de huesos, intestino y riñón —como en mamíferos— pero también en piel, vejiga y sacos endolinfáticos ⁹⁷. En el intestino de *Rana pipiens*, el calcio se absorbería tanto por difusión como por transporte activo ⁸⁶.

Como en todo animal de sangre fría, las ranas regulan su tasa metabólica (y por ende su ritmo de crecimiento) acorde a la temperatura ambiente ⁸⁹. Cuando la temperatura desciende a menos de 10–15°C, las ranas dejan de alimentarse y entran en vida letárgica, utilizando como fuente de energía los *cuerpos adiposos* periováricos ⁷⁴. En animales poiquiloterms, la baja temperatura provoca que se sintetizen lípidos de bajo índice de saturación, con lo cual se evitaría que los panículos adiposos se endurezcan o solidifiquen; previamente a la hibernación aumenta la síntesis de grasa, a partir de la cual el batracio puede obtener agua (cada gramo de grasa aporta un gramo de agua) ⁵⁷.

Líquidos corporales, osmolaridad

La rana toro poseería, con relación al peso corporal, un 79% de agua total, que se distribuiría en los compartimientos intracelular (57%) y extracelular (22%); el volumen de sangre sería del 5.3% ¹⁰¹. En *Rana pipiens* la volemia sería del 8% del peso corporal según algunos ⁸⁴ y de 9.5% según otros ^{58, 108}, en tanto que la cantidad de plasma sería del 8% del peso corporal ¹⁰⁸.

Otros autores relacionan el contenido de agua corporal con el hábitat al cual se adaptó la especie: en *Bufo sp* (terrestre) sería del 79–80% del peso corporal, en *Rana pipiens* (semiacuática): 78%, en *Rana grylio* (acuática): 77%. En el orden establecido, estos anuros podrían perder como máximo el 55%, 45% y 38% respectivamente de su agua corporal total, sin peligro de vida ⁵⁸.

El líquido intracelular de la rana, medido en fibra muscular de sartorio, poseería concentraciones (expresadas en mM/kg H₂O) de K: 142, Na: 9,2, Cl: 1,5, Ca: 4,9, Mg: 14, CO₃H: 12,4, lactato: 3,9, creatina: 7,4, proteínas: 0,6, ATP: 4,0 y fosfocreatina: 35,2 ¹⁷. En general se admite que las ranas de agua dulce son hiperosmóticas con el medio: tienden a incorporar agua (piel) y disminuir su concentración salina interior. En tal sentido, la piel de anfibios terrestres como *Bufo*

americanus es más permeable al agua que la de los acuáticos como *Rana septentrionalis* ⁴⁸.

En dos anfibios de agua dulce, *Rana esculenta* y *Rana cancrivora*, el líquido extracelular ostentó concentraciones de Na: 92–125, K: 3–9, Ca: 2,3, Mg: 1,6, Cl: 70–98 y urea: 2–40 mOsm/l, con osmolaridad total de 210–290 mOsm/l. Siendo la osmolaridad del agua dulce de unos 50 mOsm/l, estos anuros revelaron ser hiperosmóticos con relación al líquido que los rodea. Ello les provoca una tendencia a la sobrehidratación (ingreso de agua por el alto gradiente osmótico) y a la pérdida de electrolitos (pasan al agua, pobre en sales). La homeostasis se lograría emitiendo abundante orina (diluída, hipotónica) y aumentando la resorción tubular de sales y la absorción cutánea de electrolitos ³².

En las ranas, el agua y los solutos ingresan al organismo a través de la piel y por vía digestiva, siendo eliminadas por piel y orina ²⁸. *Rana temporaria* y *Bufo cognatus* perderían hasta el 1,3% de su agua corporal por hora, o sea más del 30% diario, por evaporación a través de la piel ⁵⁷. El agua y los solutos de la orina pueden ser absorbidos desde la vejiga urinaria, que se comportaría como un órgano de almacenamiento, pudiendo suprimir la emisión de orina si las circunstancias lo exigen ⁷. En líneas generales, el agua es controlada por la piel (entrada) y los riñones (salida), en tanto que los solutos ingresan vía cutánea y digestiva, siendo excretados por heces y orina ¹⁰⁸.

La presión osmótica del plasma, en animales de sangre fría, sería equivalente (isotónica) con una solución de NaCl 0,6%, a diferencia de los mamíferos (0,9%) ⁶⁸. Pese a ser ureotélicos, los anfibios retienen urea para regular su presión osmótica: el aumento de la salinidad del medio provoca retención de urea aumentando su síntesis hepática y disminuyendo su excreción renal. Ello pudo comprobarse en ejemplares de *Rana cancrivora* expuestos a agua dulce versus agua de mar, donde se registraron diferencias en la osmolaridad del plasma (290 versus 830 mOsm/l), urea (40 versus 350 mMol/l), Na (125 versus 250 mEq/l) y flujo de orina (100 versus 1 %) ⁴⁸.

Fisiología de la hemostasia

No se hallaron datos bibliográficos sobre el coagulograma de los anfibios. En la Tabla 1 se muestran valores del coagulograma obtenidos sobre 102 ejemplares de *R. catesbeiana* criadas en el nordeste argentino (8 a 13 meses de edad y 200–350 g de peso, 50% de cada sexo) ³⁸. Tanto el tiempo de sangría (5.6±1.1 min) como el tiempo de coagulación (9.5±1.6 min) fueron semejantes a los establecidos para los mamíferos, de 2–6 y 1–15 min respectivamente ^{16, 95}. Tampoco se alejaron del intervalo de referencia reportado para el ser humano, de 1–4 y 5–15 min ⁶², 2–5 y 5–7 min ³ y 1–3 y 5–10 min ⁶⁵ respectivamente. El tiempo de protrombina de las ranas (102 s) resultó sensiblemente más alto que el comunicado para seres humanos, de 12–15 s ⁶² y 11–13 s ³, así como para animales domésticos, de 5–9 s ⁹⁵, 5–25 s ⁶, 18–25 s ⁷⁹ y 10–28 s ⁶⁸. La concentración de fibri-

nógeno en los anfibios estudiados (0,79 g/dl) también resultó más elevada que la publicada para animales domésticos, de 0,10–0,40 g/dl⁹⁵ y de 0,25–0,60 g/dl⁶⁸, como también para el ser humano, de 0,20–0,40 g/dl^{3, 62, 65}. Los trombocitos de los anfibios proporcionarían los factores necesarios para formar tromboplastina, a partir de la cual se activaría el fibrinógeno transformándose en fibrina^{84, 92}.

No hubo diferencias significativas entre los coagulogramas de machos y hembras, al igual que lo que acontece en otras especies^{16, 62}. El avance de la edad se tradujo en disminuciones de los tiempos de sangría, coagulación y protrombina, cambios que se atribuyen a razones ontogénicas. El tiempo de protrombina también disminuye (se optimiza) durante el crecimiento de otros animales. En corderos declina desde 76 s (primer día de vida) a 64 s (2° día), 56 s (3° día) y 53 s (4° día); en cachorros decrece de 49 s (12 horas de vida) a 36 s (18 horas) y 24 s (48 horas)⁶.

Las hemorragias serían más peligrosas en animales de agua dulce, porque el medio externo hipotónico favorecería una más rápida pérdida de líquidos orgánicos^{84, 92}. El conocimiento de los valores del coagulograma de *R. catesbeiana* podría contribuir al esclarecimiento de coagulopatías provocadas por dieta inadecuada, malabsorción intestinal, intoxicaciones o disturbios metabólicos^{29, 46, 55, 74}.

Fisiología renal, orina

Los anfibios no poseen asa de Henle, sino un segmento intermedio de funciones limitadas. Efectúan ultrafiltración (filtrado glomerular isosmótico con el plasma) y resorción de H₂O, Na, Cl, glucosa y aminoácidos en tubo contorneado proximal, así como de iones y agua en túbulos distales, condicionada a la presencia de hormona antidiurética (ADH). Como excepción, sapos del género *Xenopus* carecen de ADH. En los túbulos renales de *R. catesbeiana* parece existir secreción de urea por transporte activo, porque la cantidad que aparece en orina sería mayor a la filtrada por el glomérulo. ADH tendría participación en la resorción de Na y agua por piel y vejiga urinaria⁵⁷.

Para segregar urea y tiourea, los túbulos renales de la rana utilizan mecanismos de transporte activo; ello no habría sido corroborado para metilurea ni acetamida. El sapo terrestre *Bufo sp* elimina NH₃ en proporciones distintas según la edad: 80% en etapa de renacuajo y 15% en adultos⁹².

Bajo influencia de ADH, en épocas de sequía la vejiga urinaria es capaz de resorber agua y solutos¹⁰⁸. A pesar de poder emitir orinas muy diluidas y en grandes cantidades, los anfibios no pueden obviar la pérdida de sal por diuresis. Esta circunstancia es paliada mediante la captación de sal que efectúa la piel, aún contra gradiente de concentración, mecanismo válido para los adultos pues en etapa de renacuajos la sal no

Tabla 1. Composición de la sangre y pruebas de coagulación (n = 302).

parámetro	$\bar{x} \pm DE$	WS	IC±95%	rango
hematocrito (%)	30,1 ± 5,4	0,936	28,6 – 31,6	25 – 39
eritrocitos, concentr. (T/l)	0,42 ± 0,07	0,952	0,40 – 0,44	0,31 – 0,59
eritrocitos, longitud (um)	24,2 ± 1,9	0,942	23,7 – 24,8	20,5 – 27,7
eritrocitos, ancho (um)	16,2 ± 1,3	0,939	15,8 – 16,6	13,2 – 19,5
VCM (fl)	709 ± 136	0,969	686 – 732	505 – 788
hemoglobina (g/dl)	6,80 ± 1,48	0,929	6,41 – 7,20	5,12 – 11,06
HCM (pg)	157 ± 22	0,966	151 – 164	121 – 197
CHCM (%)	23,3 ± 2,7	0,951	22,6 – 24,0	20,2 – 31,4
leucocitos totales (G/l)	20,5 ± 4,6	0,966	18,7 – 22,3	11,6 – 32,7
neutrófilos, proporción (%)	60,9 ± 12,4	0,985	58,4 – 63,4	40,0 – 86,1
neutrófilos, diámetro (um)	15,2 ± 2,1	0,945	14,6 – 15,7	11,3 – 20,5
linfocitos, proporción (%)	26,8 ± 4,9	0,982	23,9 – 29,8	16,3 – 39,8
linfocitos, diámetro (um)	13,6 ± 1,9	0,950	13,2 – 14,1	10,3 – 19,5
monocitos, proporción (%)	2,9 ± 1,1	0,942	2,1 – 3,8	1,0 – 5,0
monocitos, diámetro (um)	15,2 ± 2,1	0,949	14,7 – 15,8	10,2 – 20,5
eosinófilos, proporción (%)	5,8 ± 1,6	0,935	4,6 – 7,0	2,0 – 11,9
eosinófilos, diámetro (um)	16,2 ± 2,5	0,938	15,5 – 16,9	11,3 – 21,5
basófilos, proporción (%)	3,5 ± 1,2	0,929	2,9 – 4,1	0 – 6,0
basófilos, diámetro (um)	16,9 ± 2,8	0,931	16,1 – 17,7	11,3 – 21,5
tiempo de sangría (s)	341 ± 67	0,956	289 – 393	240 – 490
tiempo de coagulación (s)	574 ± 98	0,973	452 – 696	360 – 788
tiempo de protrombina (s)	102 ± 19	0,959	76 – 128	70 – 150
fibrinógeno, concentr. (g/dl)	0,79 ± 0,11	0,941	0,59 – 0,99	0,66 – 0,97

n: número muestral, \bar{x} : media aritmética, DE: desvío estándar, WS: test de normalidad distributiva de Wilk–Shapiro (coeficiente en Tabla W: 0,947, $\alpha = 0,05$), IC±95%: intervalo de confianza, T/l: Tera/litro, um: micrómetro, VCM: volumen corpuscular medio, fl: femtolitro, HCM: hemoglobina corpuscular media, pg: picogramo, CHCM: concentración de HCM, G/l: Giga/litro.

podría atravesar la piel, regulándose por intestino y branquias⁴⁸.

Si bien la resorción de agua por piel y vejiga está regulada por ADH (“vasotocina hipofisaria” o “arginin-vasotocina”)¹⁰³, la resorción de sal está controlada por la aldosterona adrenal, que facilita la captación de NaCl por intestino, piel y vejiga⁴⁸. Varios péptidos natriuréticos ejercerían sus efectos sobre la piel de *R. catesbeiana*¹⁰².

El clearance de creatinina endógena puede ser utilizado para evaluar la intensidad de la filtración glomerular de la rana; cuando la diuresis es escasa (5 ml/kg/hora) adquiere valores de 10 ml/kg/hora, y cuando la emisión es abundante (17 ml/kg/hora), dicho aclaramiento asciende a 22 ml/kg/hora⁸⁴. Los estados de deshidratación provocarían disminución de la presión glomerular y declinación del flujo urinario, tanto en sapos normales como hipofisectomizados; la expansión del volumen plasmático provocaría efectos opuestos, indicando que esta regulación no está circunscripta únicamente a la neurohipófisis¹⁰³.

La vejiga urinaria de la rana es capaz de resorber agua y sal contra gradiente, resultando una orina hiposmótica. En los anuros terrestres, la vejiga es un importante depósito de agua donde pueden reservarse volúmenes de hasta el 30–50% de su peso corporal. La protección contra la pérdida de agua se basa principalmente en la oliguria, concentrando la orina hasta que sea isosmótica con el plasma, pero no más allá⁵⁷. Estudios recientes demostraron que la pared vesical posee una verdadera regulación de su permeabilidad al agua¹².

Ningún anfibio puede producir orina que, con relación a la sangre, sea hiperosmótica¹⁰⁸. Los mecanismos de concentración de orina por resorción de solutos, hasta el punto que sean hipertónicos al plasma, es propio de los mamíferos pero no ocurre en los batracios¹⁰³. La sangre de *Rana cancrivora* es hiperosmótica con respecto al medio; en agua salada su uremia sería de 300 mM/l pero en agua dulce se reduciría a 40 mM/l. Su orina es hiposmótica con respecto al plasma y contiene solo el 10% de los elementos existentes en plasma, así como menores tasas de urea. Esto indica a las claras que la rana utiliza la urea para mantener su hiperosmolaridad con el medio¹⁰⁸.

En 26 ejemplares sanos de *R. catesbeiana* (10–21 meses de edad y 97–290 g de peso), procedentes de criaderos de la Provincia de Misiones³⁷, la densidad urinaria resultó muy baja $1,0075 \pm 0,0034$ g/ml, en tanto que el pH fluctuó desde neutro a ligeramente ácido ($6,68 \pm 0,71$), sobrepasando el score 7,0 solamente en el 4% de los casos. El pH correlacionó significativamente con la dieta, pero no con edad. En todos los casos se constató presencia de urobilinógeno, en concentración de 0,2 mg/dl (92% de los ejemplares) y 1 mg/dl (8%). En el 7,6% de los anfibios estudiados se detectó presencia de proteínas (30 mg/dl) y en el 4% de las muestras hubo vestigios de bilirrubina, que coincidieron con trazas de cuerpos cetónicos. La glucosa fue negativa

en todos los casos. En el sedimento urinario se constataron eritrocitos (57,6%), leucocitos (15,3%), gérmenes (53,8%) y cilindros granulados (8%). En ningún caso se apreció la existencia de cristales en la orina de estos anfibios. Densidad y pH revelaron ligeras tendencias declinantes ante el avance de la edad. Las ranas alimentadas con pellets balanceados registraron la densidad más baja y el pH más alto, en tanto que en los ejemplares mantenidos con vísceras (pulmón molido) se verificaron las densidades más altas y el pH más bajo. Los valores fueron intermedios en la alimentación natural (laguna)³⁷.

Estos resultados ratifican que la orina de *R. catesbeiana* es pronunciadamente hiposmótica. La glucosa debió ser totalmente resorbida a nivel tubular⁵⁷, pues en ningún caso se constató su presencia en orina. En las aves, especies filogenéticamente emparentadas con los anfibios²⁵, normalmente existe proteinuria y la dieta afecta la densidad urinaria¹⁶, como en las ranas. Las aves zambullidoras revelan pH urinario ligeramente ácido, que se interpreta como una compensación renal de la acidosis respiratoria provocada por la inmersión¹⁶. Las características fisicoquímicas de la orina de esta rana se corresponden con las de una especie cuyo hábitat posibilita la excreción de desechos sin necesidad de preservar grandes cantidades de agua²¹.

Patrón de excreción nitrogenada

Son animales ureotélicos (algo amoniotélicos pero no uricotélicos)³². Al contrario de sus parientes cercanos uricotélicos (reptiles y aves), los anfibios excretan nitrógeno no proteico en forma de urea, como los mamíferos^{48, 57}. En estado adulto, *R. catesbeiana* excreta el 84% de su nitrógeno no proteico como urea, el 3,2% como amoníaco y el 0,4% como ácido úrico; el renacuajo lo elimina en un 80% como NH_3 y el 10% como urea⁸⁴. La urea es el residuo nitrogenado más importante de la orina de los anfibios⁵⁷.

En la rana toro, los patrones de excreción de nitrógeno no proteico variarían ontogénicamente: en los estadios X al XVII (renacuajos) serían amoniotélicos, con baja excreción de urea y escasas actividades de carbamilsfosfatintetasa, ornitintrascarbamilasa, argininsintetasa y arginasa. Desde estadios XX a XXIV (metamorfosis) aumentaría la excreción de urea y se elevarían las actividades enzimáticas del ciclo de la ornitina (medidas en hígado). Desde el estadio XXV en adelante (metamorfosis concluída) serían totalmente ureotélicos^{9, 57}.

No obstante, algunas ranas como *Phyllomedusa sauvagii* y *Chiromantis xerampelina* excretan su nitrógeno no proteico en forma de uratos, siendo uricotélicos como excepción. En el mismo sentido, algunos sapos como *Xenopus laevis* son amoniotélicos cuando están en el agua pero se tornan ureotélicos durante su permanencia en la tierra⁵⁷.

La tasa de urea dependerá del grado de hidratación del anfibio: en *Rana pipiens* hay adaptaciones debidas a la temperatura, pero especialmente ocurren por el

estado de hidratación. Ello implica que la actividad de arginasa en hígado y riñón deberá variar para que, en estados de desecación se excrete mucha urea y cuando hay abundante humedad se elimine amoníaco⁵⁸. La urea eleva su concentración plasmática cuando cesa la producción de orina, como mecanismo protector contra la deshidratación; la tolerancia a la desecación es extraordinaria (*sic*) en estos animales. *Rana pipiens* toleraría pérdidas de agua corporal del orden de 36% de su peso corporal, *Bufo terrestris*: 43% y *Scaphiopus holbrookii*: 48%⁵⁷.

En 302 ejemplares sanos de *R. catesbeiana* del nordeste argentino (9 a 21 meses de edad, 50 a 350 g de peso, 50% de cada sexo), se obtuvieron (Tabla 2, *datos inéditos*) valores plasmáticos de creatinina (4.83 ± 1.22 mg/l) urea (84.2 ± 17.5 mg/l) y ácido úrico (13.4 ± 2.89 mg/l). El nivel de creatinina fue considerablemente más bajo que el admitido para la mayoría de los animales domésticos y el de ácido úrico se acercó al de los rumian-

tes, solípedos y carnívoros^{16,21,49,68}. La concentración de urea fue similar a la comunicada para las aves⁴⁹.

Tales valores, propios de ranas adaptadas al clima subtropical, difieren de los obtenidos en 11 ejemplares anestesiados de *R. catesbeiana* de 289 a 468 g de peso en el hemisferio norte, donde urea y ácido úrico fueron más bajos (30 y 0,6 mg/l respectivamente), en tanto que la creatinina resultó más alta (9 mg/l)¹⁴.

La creatinina aumentó al avanzar la edad de los animales, con diferencias altamente significativas; este cambio debería relacionarse al incremento de las masas musculares²¹. El significativo aumento de la urea plasmática registrado entre los 9 y 21 meses de vida se vincularía al cambio ontogénico del patrón de excreción nitrogenada, ratificando que *R. catesbeiana*, amoniotélica en etapa de renacuajo^{9,21,57}, luego se transformaría en ureotélica, pero no en uricotélica⁵⁷.

Fortaleciendo esta hipótesis, el ácido úrico decreció significativamente ante el avance del crecimiento.

Tabla 2. Composición del plasma de *R. catesbeiana* (n = 302).

parámetro	$\bar{x} \pm DE$	WS	IC \pm 95%	rango
proteínas totales (g/dl)	4,34 \pm 0,66	0,987	4,19 – 4,49	3,05 – 5,65
albúminas (g/dl)	1,58 \pm 0,33	0,954	1,49 – 1,67	1,02 – 2,67
alfa-1 globulina (g/dl)	0,22 \pm 0,05	0,939	0,20 – 0,24	0,11 – 0,46
alfa-2 globulina (g/dl)	0,51 \pm 0,09	0,964	0,48 – 0,54	0,30 – 0,65
beta globulina (g/dl)	0,72 \pm 0,16	0,983	0,68 – 0,77	0,31 – 1,14
gamma globulina (g/dl)	1,35 \pm 0,28	0,953	1,28 – 1,42	1,03 – 1,99
relación albúm./globul.	0,54 \pm 0,12	0,981	0,50 – 0,58	0,25 – 0,79
creatinina (mg/l)	4,83 \pm 1,22	0,961	4,09 – 5,56	1,07 – 12,3
urea (mg/l)	84,2 \pm 17,5	0,935	76,1 – 92,4	30,1 – 180
ácido úrico (mg/l)	13,4 \pm 2,89	0,964	11,5 – 15,4	1,3 – 30,2
triglicéridos (g/l)	0,43 \pm 0,10	0,938	0,34 – 0,52	0,02 – 1,26
colesterol total (g/l)	0,62 \pm 0,14	0,927	0,56 – 0,67	0,30 – 1,18
C-HDL (g/l)	0,04 \pm 0,01	0,923	0,03 – 0,05	0,01 – 0,10
C-LDL (g/l)	0,39 \pm 0,09	0,949	0,34 – 0,44	0,18 – 0,83
alfa lipoproteína (%)	7,34 \pm 1,85	0,921	6,01 – 8,67	2,00 – 24,6
beta lipoproteína (%)	92,65 \pm 4,62	0,930	91,3 – 93,9	75,4 – 98,0
glucosa (g/l)	0,50 \pm 0,12	0,982	0,45 – 0,54	0,10 – 0,98
Na (meq/l)	118,6 \pm 11,2	0,943	116 – 121	99 – 144
K (meq/l)	3,62 \pm 0,71	0,974	3,42 – 3,81	1,92 – 5,84
Cl (meq/l)	108,6 \pm 6,3	0,921	100 – 116	103 – 116
Ca (mg/dl)	8,31 \pm 1,42	0,973	7,98 – 8,61	6,0 – 11,2
P (mg/dl)	8,83 \pm 1,80	0,985	8,31 – 9,36	4,1 – 13,7
Mg (mg/dl)	2,41 \pm 0,49	0,972	2,26 – 2,55	1,33 – 4,09
Fe (ug/dl)	142,1 \pm 29,6	0,969	105 – 178	96 – 184
ALP (UI/l)	157 \pm 32	0,959	144 – 170	73 – 248
ALT (UI/l)	12,4 \pm 2,6	0,941	10,0 – 14,8	7 – 20
AST (UI/l)	48,1 \pm 9,3	0,947	42,8 – 53,4	23 – 80
GGT (UI/l)	9,2 \pm 1,6	0,932	7,8 – 10,6	5 – 20
LDH (UI/l)	117 \pm 22	0,940	99 – 135	50 – 260
CHE (UI/l)	168 \pm 32	0,975	151 – 185	45 – 274
CPK (UI/l)	432 \pm 85	0,937	365 – 500	156 – 919

n: número muestral, \bar{x} : media aritmética, DE: desvío estándar, WS: test de normalidad distributiva de Wilk-Shapiro (coeficiente en Tabla W: 0,947, $\alpha = 0,05$), IC \pm 95%: intervalo de confianza, C-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad, C-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad, ALP: fosfatasa alcalina, ALT: alanin aminotransferasa, AST: aspartato aminotransferasa, GGT: gammaglutamil transferasa, LDH: lactato dehidrogenasa, CHE: butiril colinesterasa, CPK: creatin fosfoquinasa.

No hubo diferencias atribuibles al sexo de los animales. El tipo de dieta influyó sobre el nitrógeno no proteico, resultando altos los niveles de urea, creatinina y ácido úrico en las ranas que eligieron su alimento “natural” (laguna); los valores significativamente más bajos se registraron en los ejemplares mantenidos con vísceras, seguidos de cerca por los alimentados con vísceras + pellets balanceados. En cuanto al sistema de manejo, los valores más altos de ácido úrico, urea y creatinina se registraron en las ranas procedentes de piletas donde el agua ocupaba solamente el 25% de la superficie total, en tanto que los más bajos correspondieron a piletas donde el agua ocupaba entre 50 y 90% del piso. Estas diferencias quizás pudieran relacionarse con la cuantía del agua disponible: a menor porcentaje de piso cubierto por agua le correspondieron tasas más altas de nitrógeno no proteico^{21, 57}; el ácido úrico es el desecho nitrogenado que requiere menor cantidad de agua para ser excretado por el emuntorio renal²¹.

En invierno se registraron valores más altos de nitrógeno no proteico, quizás debido a una reducción de los mecanismos de excreción propio de la hibernación²². En ranas enfermas se constataron valores individuales sumamente alejados de los promedios, tanto para urea (10–470 mg/l) como para ácido úrico (0–72 mg/l). Tales cambios sugieren que estos analitos podrían ser eficaces indicadores de trastornos nutricionales y/o metabólicos en los anfibios.

Elementos figurados de la sangre

En la Figura 3 se exhibe la morfología de los glóbulos rojos de *R. catesbeiana*, diferenciando las formas juveniles (elípticas, con restos de retículo endoplásmico) de las adultas (ovales)⁶⁸. Se caracterizan por ser células grandes⁹² y nucleadas^{68, 76, 92}. Los hematíes larvarios de los anfibios registran una vida más corta que la de los adultos; durante la metamorfosis los eritrocitos son captados por macrófagos de hígado y bazo, para ser destruidos⁵³. En dicha etapa, se fragmentaría el DNA genómico de los hematíes⁵².

La hemoglobina está contenida en los glóbulos rojos; en el renacuajo su curva de disociación está desplazada hacia la izquierda (a igual pO_2 capta más oxígeno), adaptación atribuible a su vida acuática⁹². En *Rana esculenta* la P_{50} a 20°C y pH 7,2 es de 13,2 mmHg, con 9,8 ml de O_2 /100 ml de sangre. En renacuajos, a la misma temperatura y con pH 7,3 es de 4,6 mmHg, con 7,8 ml de O_2 /100 ml de sangre^{57, 84}. Cada molécula de hemoglobina posee cuatro grupos hem⁵⁷. Otros autores corroboran que la hemoglobina, en lugar de transportar 20 ml de O_2 por cada 100 ml de sangre –como en especies de sangre caliente– solo lleva 9,8 ml de O_2 /100 ml de sangre^{57, 108}.

El transporte intraglobular del O_2 unido a la hemoglobina implica en los batracios una capacidad de oxigenación de 3–10 volúmenes %, cuando en mamíferos es de 15–30 volúmenes %⁵⁸. *R. catesbeiana* muestra una curva de disociación muy aplanada: presiones de 80 mmHg de pO_2 corresponden a 7 volúmenes de O_2

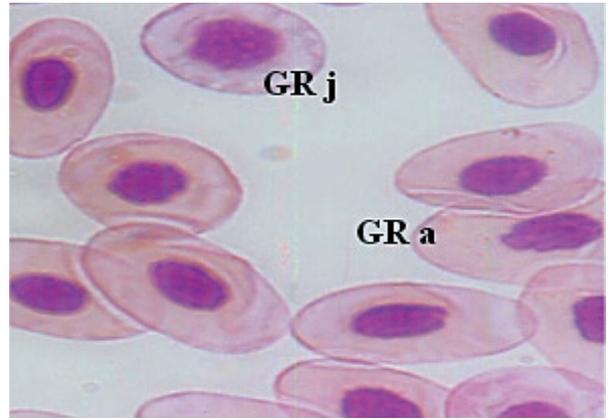


Figura 3. Eritrocitos de *Rana catesbeiana*.

GR a: glóbulos rojos adultos, *GR j*: glóbulos rojos juveniles (Fioranelli, 2003).

transportados (en el hombre: 19 volúmenes). En esta especie (semiterrestre), la hemoglobina tiene menor afinidad por O_2 que en otras como *Necturus sp* (acuática). Las hemoglobinas de los renacuajos en general tienen mayor afinidad por el O_2 que las de los adultos. La pCO_2 de la rana toro es dos veces mayor que la de *Necturus sp*⁵⁷.

No está suficientemente estudiado el volumen sanguíneo (volemia) de los anfibios. Diversas investigaciones han arrojado datos muy disímiles, que reflejan una situación caótica (*sic*), producto quizás de lo inadecuado de las técnicas de valoración. También es posible que las variaciones sean amplias por la pobre regulación y mayor tolerancia a hemodiluciones y hemoconcentraciones. Dicha falta de control, sumada al bajo índice metabólico, hace que la concentración de eritrocitos sea muy variable en estos animales poiquilothermos⁴⁸.

En 302 ejemplares sanos de *R. catesbeiana* criados en el nordeste argentino (Tabla 1), se registraron intervalos de referencia para hematocrito (28,6–31,6%), eritrocitos (0,40–0,44 T/l), hemoglobina (6,41–7,20 g/dl), VCM (686–732 fl), HCM (151–164 pg) y CHCM (22,6–24,0%)⁴¹. Con relación a otras especies, resaltaron las bajas concentraciones obtenidas para eritrocitos y hemoglobina, así como los altos valores de VCM y HCM. Al avanzar el crecimiento (aumentos de edad y peso), se elevaron significativamente ($p < 0,05$) los valores de hematocrito, eritrocitos y hemoglobina, disminuyendo HCM. Entre sexos no se registraron diferencias significativas para los parámetros del hemograma, aunque las hembras obtuvieron niveles ligeramente más altos que los machos. En invierno se constataron valores hemáticos más bajos que en el resto de las estaciones del año. En ranas enfermas se detectaron disminuciones de eritrocitos y hemoglobina, sugiriendo que el eritrograma puede llegar a convertirse en un instrumento útil para diagnosticar enfermedades y optimizar la producción de carne de rana.

En dicho estudio⁴¹, las dimensiones de los eritrocitos (largo: $24 \pm 1,9$ μm y ancho: $16,2 \pm 1,2$ μm) resultaron similares a las halladas en *R. catesbeiana* por otros

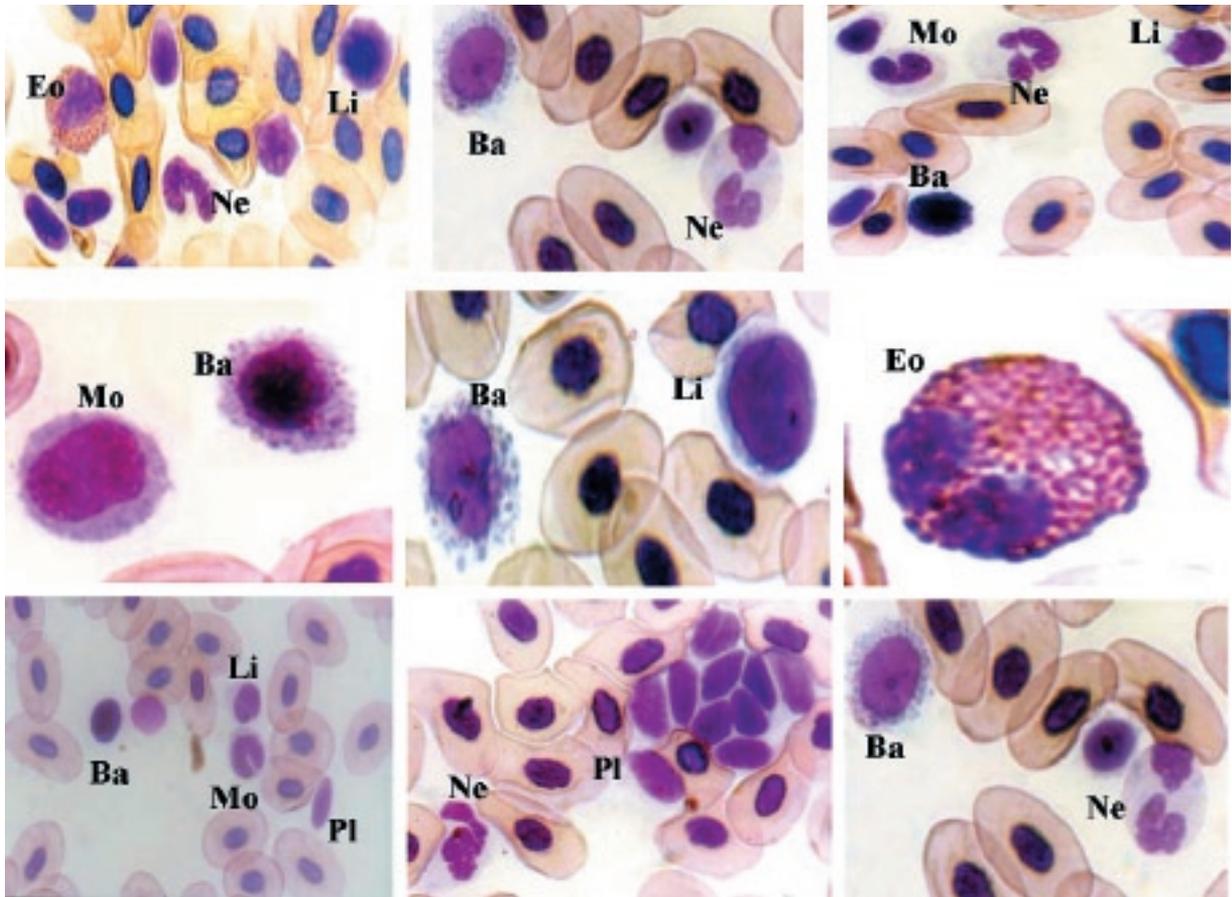


Figura 4. Leucocitos de *Rana catesbeiana*. Ne: neutrófilos, Li: linfocitos, Mo: monocitos, Eo: eosinófilos, Ba: basófilos, Pl: plaquetas (Fioranelli, 2003).

autores, de $24 \times 14 \mu\text{m}$ ⁸⁵. Pese a que los anfibios estarían filogenéticamente más emparentados con las aves que con los mamíferos^{25,48}, las dimensiones de sus eritrocitos fueron mayores a las reportadas para aves, de $12 \times 7 \mu\text{m}$ ^{63,68}. También fueron mayores que las publicadas para mamíferos domésticos, de $3,2\text{--}9,6 \mu\text{m}$ ¹⁶, $3,2\text{--}7 \mu\text{m}$ ⁶³ y $3,9\text{--}7,2 \mu\text{m}$ ⁶⁸. El hematocrito resultó más alto que el reportado en otros trabajos realizados sobre *R. catesbeiana* ($22 \pm 5\%$)¹⁴, pero encuadra en el intervalo de referencia publicado para *Rana tigrina* ($19,5\text{--}31,8\%$)⁹⁴. Sapos terrestres (*Bufo sp*) registrarían valores de $36\text{--}44\%$ ²¹.

El valor hematocrito de la rana toro no estaría muy alejado de los encontrados en las aves, de $25\text{--}35\%$ ²¹ y $22\text{--}35\%$ ⁶³, pero sería más bajo que los reportados para mamíferos domésticos, de $32\text{--}45\%$ ⁶⁸ y $37\text{--}47\%$ ²¹. La concentración de eritrocitos hallada en estas ranas fue sensiblemente más baja que la reportada para gallinas, de $2,5\text{--}3 \text{ T/l}$ ²¹, 3 T/l ⁶⁸, $2,2\text{--}5,1 \text{ T/l}$ ¹⁶ y $2,5\text{--}3,5 \text{ T/l}$ ⁶³. El valor de hemoglobina de las ranas estudiadas fue más alto que el encontrado en *R. catesbeiana*, de $4,7 \pm 0,9 \text{ g/dl}$ ¹⁴ y *Rana tigrina*, de $3,87\text{--}6,22 \text{ g/dl}$ ⁹⁴. Dicho pigmento respiratorio sería más alto en sapos, de $10\text{--}13 \text{ g/dl}$ ²¹ y aves, de $8\text{--}12 \text{ g/dl}$ ⁶⁸, $7\text{--}13 \text{ g/dl}$ ⁶³ y $7,2\text{--}9,6 \text{ g/dl}$ ²¹. Post-ingestión de alimentos, *R. catesbeiana* registra cambios plasmáticos tales como elevación del hematocrito (liberación de eritrocitos por el bazo), aumentos de bicarbonato (“alcalosis metabólica”) con ascenso

del pH arterial (de $7,86$ pasa a $7,94$) y disminución de $p\text{O}_2$ arterial (aumento del consumo de O_2), sin afectarse la saturación de O_2 de la hemoglobina ni el nivel plasmático de ácido láctico, pero reduciéndose el fosfato de creatina en los músculos¹⁰.

En la Figura 4 se muestran los glóbulos blancos de *R. catesbeiana*. Los leucocitos de los batracios poseen la morfología característica de su género y quizás propiedades diferentes a las de los mamíferos; en recuentos se comprobó que en el foco inflamatorio habría participación de agranulocitos mononucleares (linfocitos y macrófagos), pero no de granulocitos¹¹⁰.

En *R. catesbeiana* (Tabla 1) los leucocitos totales revelaron concentraciones semejantes a las de las aves, pero en la fórmula leucocitaria predominaron los neutrófilos sobre los linfocitos³⁸, al contrario de lo que sucede en aquéllas²¹. El recuento diferencial se asemejaría en cierto modo al de los carnívoros⁶³, a excepción de los basófilos, que resultarían más abundantes en anfibios. La concentración de glóbulos blancos y la proporción de linfocitos tendieron a disminuir con el avance de la edad, en tanto que el porcentaje de neutrófilos mostró una propensión incrementativa. Este comportamiento no resultaría distinto al observado en varias especies de mamíferos en crecimiento, incluyendo al ser humano²¹.

Con excepción de los eosinófilos (mayores en machos que en hembras), no hubo diferencias signifi-

ficativas entre sexos. En el mismo sentido, los leucocitos de los animales domésticos serían escasamente influenciados por el sexo^{21,63}. No se detectaron grandes diferencias atribuibles al tipo de alimentación, salvo el caso de los eosinófilos, significativamente más bajos en la dieta a base de vísceras. Para dicha dieta también se verificaron los valores más altos de leucocitos totales y neutrófilos, así como las proporciones más bajas de linfocitos.

Examinadas bajo la óptica de los mamíferos, estas variaciones se compadecerían con un *leucograma de estrés*^{20,63}. El rudimentario sistema de manejo imperante en uno de los criaderos estudiados produjo diferencias en los porcentajes de linfocitos y eosinófilos, los cuales se inscribieron significativamente más bajos que los del resto de los ranarios. Si a ello adicionamos que en tal establecimiento también se registraron las tasas más altas de glóbulos blancos y neutrófilos, se fortalece la presunción que en las ranas existirían cambios compatibles con el leucograma de estrés²⁰.

La concentración total de glóbulos blancos y el porcentaje de linfocitos fueron significativamente más bajos en invierno que en el resto de las estaciones del año. Estas diferencias deberían ser atribuidas al proceso de aletargamiento que las ranas sufren durante la temporada invernal, en la cual todos los procesos orgánicos se restringen con el objeto de ahorrar energía^{48,74}. El timo, órgano que en los anfibios interviene activamente para la maduración de los linfocitos, se atrofiaría durante el invierno⁸¹. En estos animales, la respuesta inflamatoria a cargo de los leucocitos resultaría afectada por la temperatura ambiental³⁰.

Composición del plasma

Debido a su gran volumen y fácil accesibilidad, el plasma sanguíneo es a todas luces el compartimiento más estudiado del medio interno. A partir de determinaciones hemáticas pueden establecerse relaciones filogenéticas entre especies, conocer el estado nutricional, investigar la existencia de enfermedades y lograr respuesta a muchos interrogantes de la fisiología animal²¹.

En los textos clásicos de hematología veterinaria no se consignan datos referentes a valores plasmáticos en anfibios. La sangre de las ranas sería hiperosmótica respecto del medio acuático donde viven (agua dulce); la orina sería hiposmótica con relación a la sangre, y más copiosa cuando están expuestas a líquidos diluidos en lugar de concentrados⁸⁴.

El plasma sanguíneo de la rana poseería concentraciones (expresadas en mM/kg de H₂O) de K: 2,2, Na: 120, Cl: 77,5, CO₃H: 26,6, Ca: 2,1, Mg: 1,2, lactato: 3,5, proteínas 2,2 y creatina: 2,2¹⁷. Otros autores, utilizando la misma unidad de expresión, reportan para el plasma de anfibios niveles de K: 2,6, Na: 109, Cl: 78, CO₃H: 27, Ca: 2,1 y Mg: 1,3⁸³. En otras investigaciones se hallaron valores de Na: 103,8, K: 2,5, Ca: 2,0, Mg: 1,2 y Cl: 74,3 mM/kg de H₂O⁸⁴. Existen reportes que indican concentraciones plasmáticas de Na: 109, K: 2,6,

Ca: 2,1, Mg: 1,3, Cl: 78 y CO₃H: 36,6 mMol/kg de H₂O¹⁰⁸. Grandes diferencias fueron halladas entre ranas de lagunas (agua dulce) y ranas cangrejas (agua de mar), en sus concentraciones de Na (92 versus 252 mMol/l), K (3 versus 14 mMol/l) y urea (1 versus 350 mMol/l); en las ranas adaptadas al agua de mar la osmolaridad plasmática resultó de 830 mOsm/l⁷⁸.

En el nordeste argentino, tres centenares de ejemplares sanos de *R. catesbeiana*, de ambos sexos y edades de 9 a 21 meses (Tabla 2), registraron intervalos de confianza para sodio (116–121 meq/l), potasio (3,42–3,81 meq/l), cloro (100–116 meq/l), calcio (7,98–8,61 mg/dl), fósforo inorgánico (8,31–9,36 mg/dl), hierro (105–178 ug/dl) y magnesio (2,26–2,55 mg/dl)⁴². No se verificaron variaciones fisiológicas debidas al sexo, pero los avances de edad y peso correlacionaron con aumentos de potasio y disminuciones de calcio y fósforo inorgánico ($p < 0,05$). Los valores de magnesio, potasio, fósforo inorgánico y calcio fueron más bajos en invierno que en el resto de las temporadas del año. La técnica de manejo repercutió significativamente en el ionograma, cuyos valores fueron en general altos cuando el piso de los tanques poseía menor superficie cubierta por agua y viceversa. Los electrolitos plasmáticos fueron bajos en ranas mantenidas con vísceras, intermedios en la alimentación a base de pellets balanceados más larvas o lombrices, y altos en la alimentación “natural” en laguna. En ranas enfermas se detectaron alteraciones en la concentración de iones plasmáticos, consistentes en disminuciones de calcio (5,7 mg/dl) y aumentos de sodio (185 meq/l), potasio (7 meq/l), cloro (151 meq/l), fósforo inorgánico (23 mg/dl), hierro (240 ug/dl) y magnesio (6,08 mg/dl), destacando la utilidad del ionograma para evaluar los estados nutricional y sanitario de los anfibios.

El pH sanguíneo de los batracios varía en función de la temperatura corporal: a 5–10°C es de 8,1, a 15°C es de 7,9, a 20°C es de 7,8 y a 30°C desciende a 7,7; como en todos los poiquiloterms, el pH es muy oscilante⁵⁸. El intercambio de Na entre el medio interno y la célula estaría influenciado por el pH⁶⁴. El ácido láctico se elevaría en las hipoxias; en normoxemia se constataron concentraciones de lactato de 1 mMol/g en renacuajos y de 12 mMol/g en ranas adultas (*Xenopus laevis*)⁵⁴.

La glucemia y el glucógeno hepático de las ranas resultarían afectados por la temperatura ambiental⁵⁷. La hipoglucemia, al igual que la hipoxia, induciría hipotermia, al parecer como mecanismo de defensa; la administración de insulina en *R. catesbeiana* provocaría disminuciones de glucemia y temperatura corporal (ésta descendería de 25 a 17°C), así como del consumo de O₂. Por el contrario, a temperaturas elevadas se incrementaría el consumo de O₂ y habría hiperglucemia^{87,88}.

La glucemia de ranas toro del nordeste argentino (Tabla 2, *datos inéditos*) fue de 0,50±0,12 g/l. Comparativamente, fue más baja que la reportada para el ser humano, carnívoros y aves^{16,21,62,65,68,95}. Disminuyó

paulatina pero significativamente con el aumento de la edad, en oposición a los cambios que ocurren en el ser humano^{3, 62, 65} y en algunos animales domésticos^{18, 21}. Los machos revelaron mayores niveles de glucosa que las hembras, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. En el ser humano es habitual que los varones registren concentraciones más elevadas de glucosa que las mujeres, debido a acciones hormonales^{19, 21, 62, 65}. Valores significativamente bajos de glucosa se registraron en ranas alimentadas con vísceras (pulmón bovino molido), seguidos de cerca por los ejemplares mantenidos con vísceras + pellets balanceados. Los valores más altos del monosacárido ocurrieron en los animales que seleccionaron su alimento a libre albedrío (laguna).

Teniendo en cuenta que en el hombre y los animales domésticos la glucemia es un indicador nutricional que varía según la ingesta^{21, 49, 63, 65, 68, 95}, es probable que los cambios verificados se deban a la calidad y/o cantidad de alimento consumido. También hubo diferencias significativas según el sistema de manejo de los criaderos, resultando significativamente bajos los niveles de glucosa en las ranas procedentes de criaderos donde el alimento se ofertó flotando en el agua, y altos en aquéllos donde se suministró *a piso*. Durante el invierno las ranas registraron valores significativamente más bajos de glucosa, seguramente porque en la temporada de frío riguroso los anfibios se aletargan y dejan de alimentarse^{57, 74, 105}. Las ranas regularían su tasa metabólica acorde a la temperatura ambiental^{34, 89}, disminuyendo la glucemia durante la hibernación^{8, 34, 57, 87}. La liberación de insulina aumentaría ante el descenso de la temperatura, conduciendo a estados de hipoglucemia⁴⁴.

No se hallaron datos sobre los lípidos plasmáticos de *R. catesbeiana*. En ejemplares sanos del nordeste argentino (Tabla 2) se obtuvieron intervalos de referencia para triglicéridos (0.34–0.52 g/l), colesterol total (0.56–0.67 g/l), C–HDL (0.03–0.05 g/l), C–LDL (0.34–0.44 g/l), lipoproteína alfa (6.01–8.67 %) y lipoproteína beta (91.3–93.9 %)⁴⁰. No se verificaron diferencias significativas entre sexos ($p < 0.05$). El avance de la edad produjo disminuciones de triglicéridos (9 meses = 0.62 g/l versus 21 meses = 0.24 g/l), colesterol (0.76 versus 0.54 g/l), C–HDL (0.06 versus 0.03 g/l) y lipoproteína alfa (9 versus 5%), así como aumentos de lipoproteína beta (91 versus 95%). Los triglicéridos fueron significativamente más bajos (0.23 g/l) en el sistema de crianza donde el agua ocupó el 90% del piso de las piletas y el alimento se administró flotante, con relación a aquéllos donde el agua ocupó solo el 50% (0.47 g/l) y el 25% (0.58 g/l), siendo el alimento suministrado a piso en el último caso. Según el tipo de alimento consumido, los cambios extremos se constataron entre los altos niveles registrados con dieta natural (laguna) y las bajas concentraciones verificadas en la dieta a base de vísceras (pulmón bovino), tanto para triglicéridos (0.57 versus 0.26 g/l), colesterol (0.71 versus 0.52 g/l) y C–LDL (0.46 versus 0.29 g/l). Con relación al resto

de las estaciones del año, en invierno declinaron significativamente los valores de triglicéridos (0.25 versus 0.59 g/l) y colesterol (0.59 versus 0.66 g/l). En base a estos datos, el lipidograma surge como un instrumento idóneo para evaluar estados metabólico, nutricional y sanitario de este animal⁴⁰.

La bilis de *Bufo arenarum* solo contendría biliverdina, estando ausente la bilirrubina. Cuando aquélla elevare su concentración en sangre, el plasma adquiriría una coloración “verde aceituna” (*cloricia* en lugar de *ictericia*)⁶¹.

Con relación a las proteínas plasmáticas, los renacuajos poseerían globulinas pero poca o ninguna albúmina. La metamorfosis conlleva el aumento de las proteínas totales y la aparición de albúminas, que llegarán a representar el 50% de la proteinemia. Este fenómeno guarda relación con la evolución filogenética pues el pasaje de vida acuática a terrestre originó el problema de retener líquidos dentro de los vasos (los peces tienen menos proteínas, especialmente escasas albúminas)⁵⁸.

En Tabla 2 se exponen niveles de proteínas totales y fracciones electroforéticas halladas para *R. catesbeiana* en el nordeste argentino³⁹. Dichos valores se alejaron bastante de los reportados para el ser humano y los mamíferos domésticos²¹, asemejándose –en cambio– a los de las aves, aunque éstas poseerían tasas ligeramente más elevadas de albúminas y por ende una relación albúmina/globulinas (RAG) más alta¹⁶. El avance del crecimiento se tradujo en significativas elevaciones de proteínas totales, a expensas del aumento de albúminas y globulinas beta y gamma. No hubo diferencias debidas al sexo pero sí por el tipo de alimento consumido (bajos en dietas a base de vísceras y altos en alimentación natural y balanceada). También se registraron variaciones atribuibles al sistema de manejo de los criaderos y al clima (valores bajos en invierno).

En ranas con presumible deterioro del estado de salud, se registraron valores individuales sumamente alejados de las medias. En animales deshidratados, con pérdida de peso, adinamia y anormal coloración de la piel, se verificaron aumentos de proteínas totales (hasta 8.31 g/dl), albúminas (3.35 g/dl), globulinas alfa–1 (0.55 g/dl), globulinas alfa–2 (1.27 g/dl), globulinas beta (1.35 g/dl), globulinas gamma (2.79 g/dl) y RAG (1.03). En ranas sometidas a ayuno prolongado, con peso disminuido y debilidad (probable desnutrición) se constataron disminuciones de proteínas totales (hasta 1.89 g/dl), albúminas (0.50 g/dl), globulinas alfa–1 (0.10 g/dl), globulinas alfa–2 (0.14 g/dl), globulinas beta (0.23 g/dl), globulinas gamma (0.44 g/dl) y RAG (0.20)³⁹.

Estas variaciones sugieren que el proteinograma podría ser un eficaz indicador de trastornos nutricionales, inmunológicos y/o metabólicos en los anfibios. También podrían constituir referentes idóneos para valorar distintas composiciones de alimentos balanceados, en búsqueda de los verdaderos requerimientos nutricionales de este animal, aún poco esclarecidos^{13, 74}.

No se hallaron para la rana valores de actividades enzimáticas con interés diagnóstico. Quizás sea menester estudiarlos bajo distintas condiciones fisiológicas, pues sabido es que los animales ectotermos se adaptan al frío aumentando su actividad enzimática o disminuyendo su afinidad por los sustratos⁹⁶. En los animales de sangre fría, las principales enzimas que se incrementan por bajas temperaturas son las correspondientes a la vía glicolítica, ciclo de Krebs y cadena respiratoria; la acetilcolinesterasa –en cambio– modificaría su afinidad por el sustrato⁵⁷. Existiendo fosfatasa alcalina en los huesos³⁵, es dable esperar que esta enzima aumente su actividad plasmática durante el crecimiento y las osteopatías, como en mamíferos^{16,95}.

En 302 ejemplares sanos de *R. catesbeiana* del nordeste argentino (Tabla 2) se obtuvieron valores de referencia para fosfatasa alcalina, ALP (157±32 UI/L), alanin aminotransferasa, ALT (12,4±2,6 UI/L), aspartato aminotransferasa, AST (48,1±9,3 UI/L), gammaglutamil transferasa, GGT (9,2±1,6 UI/L), lactato dehidrogenasa, LDH (117±22 UI/L), butiril colinesterasa, CHE (168±32 UI/L) y creatin fosfoquinasa, CPK (432±85 UI/L)²². Se registró asociación lineal significativa entre el avance de la edad y la disminución de ALP (9 meses = 196 versus 21 meses = 102 UI/L), así como con los aumentos de CHE (126 versus 226 UI/L) y CPK (280 versus 572 UI/L). ALP y CPK resultaron más elevadas en machos que en hembras ($p < 0,05$). Con excepción de GGT, las actividades enzimáticas fueron mayores en invierno que en las restantes estaciones del año. ALP, AST, GGT y LDH fueron significativamente más altas en el sistema de crianza donde el agua ocupó el 90% del piso de las piletas y el alimento se administró flotante, con relación a aquéllos donde el agua ocupó solo el 25% y alimento fue suministrado en el piso. Las enzimas indicadoras de sobrecarga hepática (ALP, ALT, AST, GGT y LDH) registraron los valores más altos en ranas alimentadas con vísceras (pulmón bovino, con y sin adición de pellets balanceados) y los más bajos en animales alimentados naturalmente en una laguna. El enzimograma se reveló potencialmente útil para evaluar los estados metabólico, nutricional y sanitario de este anfibio²².

Conclusiones

Integrando datos bibliográficos con resultados de investigaciones propias surge que el medio interno de *R. catesbeiana*, así como sus mecanismos de control y regulación, están adaptados a un entorno de agua dulce. Sus líquidos corporales son hiperosmóticos con el medio externo, existiendo tendencia a incorporar agua y perder electrolitos, circunstancias que se contrarrestan emitiendo abundante cantidad de orina hiposmótica con el plasma. En animales aclimatados al ambiente subtropical (nordeste argentino), la orina posee muy baja densidad, pH neutro (con variaciones atribuibles al tipo de alimentación) y vestigios de proteínas, tal como sucede en las aves, especies filogenéticamente

emparentadas con los anfibios. La ausencia de glucosa en orina implica que este soluto sería totalmente resorbido a nivel tubular renal.

En general, los valores de sangre total y plasma fluctúan con rangos amplios, ratificando que los anfibios poseen escasa capacidad de regulación y gran tolerancia a las hemodiluciones y hemoconcentraciones. Las diferencias entre sexos serían poco significativas, no así aquéllas atribuibles a la edad, dieta y manejo, así como al clima, dado que en invierno las ranas dejan de alimentarse, manteniéndose con reservas lipídicas previamente acumuladas. La tasa metabólica y el ritmo de crecimiento dependen de la temperatura ambiental. El frío disminuye el metabolismo basal, la temperatura corporal y la glucemia, aumentando en plasma las actividades enzimáticas y las tasas de nitrógeno no proteico, a la par que descienden prótidos, lípidos, electrolitos y valores del eritrograma, con retraso del crecimiento (menor ganancia de peso).

R. catesbeiana podría definirse como un animal omnívoro; en ejemplares criados en lagunas las necropsias revelan que el tubo digestivo contiene alimentos provenientes tanto del reino animal como vegetal. En etapa de renacuajo su patrón de excreción nitrogenada es amoniotélico, pero los adultos son ureotélicos, a diferencia de aves y reptiles (uricotélicos). Ello indica que esta rana no necesita ahorrar agua para la excreción de nitrógeno no proteico. Parte de la urea es retenida para lograr hiperosmolaridad en el medio interno, a pesar de lo cual el nivel de urea plasmática es comparativamente más bajo que el de los mamíferos. La concentración de ácido úrico es semejante a la de los carnívoros, pero la creatinina es más baja que la admitida para la mayoría de los animales domésticos. Las tasas de nitrógeno no proteico, además de cambios ontogénicos, revelan diferencias atribuibles a la alimentación y manejo, relacionadas con la cantidad de agua disponible en las piletas de crianza.

Los valores del eritrograma son inusualmente bajos, menores que los hallados en sapos terrestres. Como en aves y reptiles, los glóbulos rojos son escasos, nucleados y de gran tamaño, aumentando su concentración a medida que avanza el crecimiento. Los leucocitos son más abundantes que los reportados para mamíferos; su tasa es semejante a la encontrada en aves, pero a diferencia de éstas, en *R. catesbeiana* predominan neutrófilos en lugar de linfocitos, siendo más alto el porcentaje de basófilos. Debido a fallas de manejo, las ranas ostentarían un *leucograma de estrés* semejante al de los mamíferos (linfopenia y eosinopenia). Los niveles de electrolitos son semejantes a los de animales domésticos, sobresaliendo los altos valores de fósforo inorgánico, en tasas semejantes a los de mamíferos en crecimiento. Minerales y oligoelementos revelan oscilaciones debidas a ontogenia, alimentación y sistema de crianza.

La carne de *R. catesbeiana* es comestible, contando entre sus ventajas poseer escaso porcentaje de grasa y estar casi exenta de colesterol. Concordantemente, la

coesterolemia es baja, siendo C-LDL mayor que C-HDL y lipoproteína alfa menor que lipoproteína beta, tasas que fluctúan según edad, dieta y manejo. La proteinemia es baja, semejante a la de las aves, pero con menor proporción de albúminas, las cuales no existen en etapa de renacuajo. Entre las enzimas, ALP disminuye su actividad con el crecimiento (durante el cual declina la deposición ósea) y CPK aumenta (al incrementarse la magnitud de las masas musculares), tal como sucede en animales domésticos. Desde el punto de vista de la homeostasia, los lapsos en que se desarrollan el trombo plaquetario (tiempo de sangría) y la vía intrínseca (tiempo de coagulación) no difieren esencialmente de aquéllos descritos para mamíferos, pero la vía extrínseca (tiempo de protrombina) es más lenta y el fibrinógeno más abundante.

En su gran mayoría, los componentes del medio interno modifican considerablemente sus concentraciones en animales enfermos y desnutridos, revelando utilidad para perfeccionar el diagnóstico y controlar la evolución de las enfermedades de esta rana. Los indicadores nutricionales del plasma vaticinan ser capaces de contribuir a establecer los verdaderos requerimientos alimentarios de este anfibio, generalmente mantenido en cautiverio con dietas concebidas para peces, conocimientos que podrían optimizar su crianza y brindar mayores ventajas productivas.

Agradecimientos

A Santiago A. Fioranelli y Norma B. Mussart por su valiosa colaboración en los trabajos de laboratorio. Al Prof. Juan Pablo Roux por efectuar la lectura crítica del manuscrito. A la empresa Wiener Lab por suministrar los reactivos utilizados en el estudio.

Abstract

Coppo, J.A.: *The internal environment of "bullfrog" (Rana catesbeiana, Shaw 1802). Bibliographical review.* A concise updating of the physiological aspects of reproduction, growing, feeding, breathing, circulation, osmolarity, thermoregulation, and homeostatic amphibian controls, as well as a revision on frog internal environment specific topics, are presented. A revision on control mechanisms and composition of *Rana catesbeiana* corporal fluids, including blood and their cellular elements, as well as plasma protein, non protein nitrogen, enzymatic activities, glucide, lipid, and mineral components, is made. Urine and clotting characteristics and physiological adaptations, are also described. Variation attributable to age, sex, weight, season, feeding, and handling systems of frogs reared in northeastern Argentinean farms, are detailed. Similarities in mechanisms and values published for other amphibians, birds and mammals, are reported; differences found in the same species, reared in different latitudes with different diets and handling techniques, are emphasized. Increases and decreases on body fluid component concentrations in sick animals, are described. The usefulness of internal environment

values to evaluate nutritional, metabolic and sanitary dysfunctions, is stated. Such data could be used as a suitable instrument to optimize the breeding systems of bullfrogs for productive purposes.

Key words: *Rana catesbeiana*, internal environment, coagulation, blood, urine.

REFERENCIAS

1. **Aida T, Yamamoto K, Kikuyama S.** 1999. Enhancement by proopiomelanocortin-derived peptides of growth hormone and prolactin secretion by bullfrog pituitary cells. *Gen. Comp. Endocrinol.* 115: 101-109.
2. **Ali AS, Peter J, Ali SA.** 1995. Role of cholinergic receptors in melanophore responses of amphibians. *Acta Biol. Hung.* 46: 61-73.
3. **Angel M, Angel R.** 2000. *Interpretación Clínica del Laboratorio*, 6° ed., Panamericana, Bogotá.
4. **Baba K, Abe TK, Tsunawasa S, Odani S.** 1999. Characterization and primary structure of a fatty acid-binding protein and its isoforms from the liver of the Amphibia, *Rana catesbeiana*. *J. Biochem.* 125: 115-122.
5. **Bachman GL, Uhlen S, Herman CA.** 1998. Localization and changes in distribution of brain alpha 2 and beta-adrenoceptors in response to acclimation state in american bullfrog (*Rana catesbeiana*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 110: 166-174.
6. **Benjamin MM.** 1967. *Patología Clínica Veterinaria*, 2° ed., Cecsca, México.
7. **Bentley PJ.** 1966. The physiology of the urinary bladder of amphibia. *Biol. Rev.* 41: 275-316.
8. **Bicego KC, Branco LG.** 1999. Seasonal changes in the cardiorespiratory responses to hypercarbia and temperature in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Comp. Biochem. Physiol.* 124: 221-229.
9. **Brown GW, Cohen PP.** 1958. Biosynthesis of urea in metamorphosing tadpoles. In: *A Symposium on the Chemical Basis of Development* (McElroy WD & Glass B Ed.), J. Hopkins Univ. Press, Baltimore.
10. **Busk M, Jensen FB, Wang T.** 2000. Effects of feeding on metabolism, gas transport, and acid-base balance in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Am. J. Physiol.* 278: 185-195.
11. **Camargo CR, Visconti MA, Castrucci AM.** 1999. Physiological color change in the bullfrog *Rana catesbeiana*. *J. Exp. Zool.* 283: 160-169.
12. **Candia OA, Mia A, Yorrio T.** 1997. Evidence of basolateral water permeability regulation in amphibian urinary bladder. *Biol. Cell.* 89: 331-339.
13. **Carnevia D.** 1995. Ranicultura, estado actual de la explotación y comercialización de ranas para consumo. *VIII Jornadas Veterinarias de Corrientes*, Argentina.
14. **Cathers T.** 1997. Serum chemistry and hematology for anesthetized american bullfrogs. *J. Zoo & Wildlife Med.* 28: 171-174.
15. **Céspedes JA, Alvarez BB.** 1999. Biodiversidad de anfibios del nordeste argentino. Estado actual. *Actas Ciencia & Técn. UNNE* 6: 73-76.

16. **Coles EH.** 1989. *Veterinary Clinical Pathology*, 4° ed., Saunders, Philadelphia.
17. **Conway EJ.** 1957. Nature and significance of concentration relations of potassium and sodium ions in skeletal muscle. *Physiol. Rev.* 37: 84–132.
18. **Coppo JA, Coppo NB, López JJ, Jovanovics L.** 1998. Modificaciones de los analitos sanguíneos en el perro ovejero alemán provocadas por la edad avanzada. *Selecc. Vet.* 6: 540–544.
19. **Coppo JA, Coppo NB.** 2000. Evolución de valores de la bioquímica clínica conforme avanza el envejecimiento. Estudio en población del nordeste argentino. *Prensa Méd. Arg.* 87: 717–727.
20. **Coppo JA.** 2001. Estrés o Alarma Simpática? – Actualización bioquímico-clínica. *Selecc. Vet.* 9: 336–342.
21. **Coppo JA.** 2001. *Fisiología Comparada del Medio Interno*, Ed. Dunken, Buenos Aires.
22. **Coppo JA, Mussart NB, Fioranelli SA.** 2003. Physiological variation of enzymatic activities in blood of bullfrog, *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802). *Rev. Vet.* 12/13: 22–27.
23. **Coviello A, Raisman R, Elso C, Orce C, Aranda-Zamudio S.** 1977. Receptores y papel del AMPc en el efecto de la AT II en la piel del sapo. *Rev. Soc. Arg. Biol.* 53: 98–99.
24. **Cummins CP, Swan MJ.** 1995. Variation in reproductive characteristics of the stream frog *Colostethus trinitatis* on the island of Trinidad. *J. Trop. Ecol.* 11: 603–618.
25. **Curtis H, Barnes MS.** 1992. *Biology*, 6th ed., Freeman, New York.
26. **Debruno MP, Coviello A.** 1996. Effects of angiotensin II antagonists on the contractile and hydrosmotic effect of AT II and AT III in the toad (*Bufo arenarum*). *J. Comp. Physiol.* 165: 565–570.
27. **Delfino G, Brizzi R, Feri L.** 1995. Chemical skin defence in *Bufo bufo*: an ultrastructural study during ontogenesis. *Zool. Anzeig.* 234: 101–111.
28. **Deyrup IJ.** 1964. Water balance and kidney. In: *Physiology of the Amphibia* (Moore JA Ed.), Academic Press, New York.
29. **Dias JL, Coutinho SD, Costa EO, Carvalho VM, Matsumura ER, Senhorini IL, Gaviolle MC.** 1988. Outbreak of saprolegniosis in tadpoles (*Rana catesbeiana*). *Rev. Microbiol.* 19: 432–437.
30. **Dias JL, Catao-Dias JC.** 1989. Influence of temperature on the inflammatory cell response induced experimentally with a foreign body in the tail of giant bullfrog tadpoles, *Rana catesbeiana*. Tesis, Universidad de São Paulo, Brasil.
31. **Duré MI, Kehr AI.** 1999. Explotación diferencial de los recursos tróficos en cuatro especies de bufonidos del nordeste argentino. *Actas Ciencia & Técn. UNNE* 6: 17–20.
32. **Eckert R, Randall D, Augustine G.** 1992. *Fisiología Animal*, 3° ed., Interamericana, Madrid.
33. **Farel PB, Boyer A.** 1999. Transient effects of nerve injury on estimates of sensory neuron number in juvenile bullfrog. *J. Comp. Neurol.* 410: 171–177.
34. **Farrar ES, Dupre RK.** 1983. The role of diet in glycogen storage by juvenile bullfrogs prior to overwintering. *Comp. Biochem. Physiol.* 75: 255–60.
35. **Felisbino SL, Carvalho HF.** 1999. The epiphyseal cartilage and growth of long bones in *Rana catesbeiana*. *Tissue Cell* 31: 301–307.
36. **Fioranelli SA, Coppo NB, Coppo JA.** 2002. Diversificación de la empresa agropecuaria: ventajas y desventajas de la cría de ranas en el nordeste argentino. *XIII Reunión de Comunicaciones Científicas y Técnicas de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE*, Corrientes, Argentina. Anales, p. 2.
37. **Fioranelli SA, Coppo NB, Coppo JA.** 2002. Caracterización fisicoquímica de la orina de “rana toro” (*Rana catesbeiana*) en condiciones de cautiverio. *Com. Cientif. & Tecnol.* 1: 5, 1–4, <http://www.unne.edu.ar/cyt/2002/cyt.htm>.
38. **Fioranelli SA, Mussart NB, Coppo JA.** 2003. Valores del leucograma y pruebas coagulativas de rana toro (*Rana catesbeiana*) en cautiverio. *XXIV Sesión de Comunicaciones Científicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE*, Corrientes, Argentina. Anales, p. 3.
39. **Fioranelli SA, Mussart NB, Coppo JA.** 2003. Intervalo de referencia para proteínas plasmáticas de *Rana catesbeiana*, Shaw 1802 (Anfibia: Ranidae). *XXIV Sesión de Comunicaciones Científicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE*, Corrientes, Argentina. Anales, p. 1.
40. **Fioranelli SA, Coppo NB, Coppo JA.** 2003. Valores de referencia y variaciones fisiológicas de lípidos séricos en “rana toro” (*Rana catesbeiana*). *VII Reunión Latinoamericana de Fisiología Veterinaria*, Río Cuarto, Argentina. Anales, p. 9.
41. **Fioranelli SA, Coppo NB, Coppo JA.** 2003. El eritrograma como instrumento útil para evaluar estados nutricional y sanitario de la “rana toro”. *XIV Reunión de Comunicaciones Científicas y Técnicas de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE*, Corrientes, Argentina. Anales, p. 41.
42. **Fioranelli SA, Coppo NB, Coppo JA.** 2003. Influencia del sexo, edad, peso, clima y sistemas de manejo y alimentación sobre el ionograma sérico de “rana toro”. *XIV Reunión de Comunicaciones Científicas y Técnicas de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE*, Corrientes, Argentina. Anales, p. 42.
43. **Foxon GE.** 1964. Blood and respiration. In: *Physiology of Amphibia* (Moore JA Ed.), Academic Press, New York.
44. **Francini F, Gagliardino JJ.** 1997. Efecto de la temperatura sobre la secreción de insulina *in vitro* en *Bufo arenarum*. *III Congr. Arg. Herpet.*, Corrientes, Argentina. Anales, p. 38.
45. **Francini F, Gagliardino JJ.** 1997. Carbohidratos y secreción de insulina *in vitro* en el páncreas de *Bufo arenarum*. *III Congr. Arg. Herpet.*, Corrientes, Argentina. Anales, p. 37.
46. **Fraser CM.** 1986. *The Merck Veterinary Manual*, 6° ed., Publ. Merck Inc., Rahway New Jersey.
47. **Gans C, De Jongh HJ, Farber J.** 1969. Bullfrog (*Rana catesbeiana*) ventilation: how does the frog breathe? *Science* 163: 1223–1225.
48. **Goldstein L.** 1982. *Fisiología Comparada*, Interamericana, México.

49. **Gómez Piquer J.** 1992. *Manual Práctico de Análisis Clínicos en Veterinaria*, Ed. Mira, Zaragoza.
50. **Griffin DR, Novick A.** 1976. *Estructura y Función Animal*, 2° ed., Cecca, México.
51. **Ha Y, Shi D, Small GW, Theil EC, Allewell NM.** 1999. Crystal structure of bullfrog M ferritin at 2.8 Å resolution: analysis of subunit–interactions and the binuclear metal center. *J. Biol. Inorg. Chem.* 4: 243–256.
52. **Hasebe T, Kawamura K, Kikuyama S.** 1998. Genomic DNA fragmentation in red blood cells of the bullfrog (*Rana catesbeiana*) during metamorphosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 15: 634–635.
53. **Hasebe T, Oshima H, Kawamura K, Kikuyama, S.** 1999. Rapid and selective removal of larval erythrocytes from systemic circulation during metamorphosis of the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Dev. Growth. Differ.* 41: 639–643.
54. **Hastings D, Burggren W.** 1995. Developmental changes in oxygen consumption regulation in larvae of the South African clawed frog *Xenopus laevis*. *J. Experim. Biol.* 198: 2465–2475.
55. **Hecnar SJ.** 1995. Acute and chronic toxicity of ammonium nitrate fertilizer to amphibians from southern Ontario. *Environ. Toxicol. & Chem.* 14: 2131–2137.
56. **Herman CA, Luczy BG.** 1999. Eicosanoids in the brain of warm and cold–acclimated bullfrogs. *Adv. Exp. Med. Biol.* 469: 669–674.
57. **Hill RW.** 1980. *Fisiología Animal Comparada*, Ed. Reverte, Barcelona.
58. **Hoar WS.** 1978. *Fisiología General y Comparada*, Ed. Omega, Barcelona.
59. **Hoffmann DF, Leboute EM, Souza SM.** 1990. Performance of bullfrogs tadpoles (*Rana catesbeiana* Shaw 1802) at 20°C, with or without free access to own faeces. *Rev. Soc. Bras. Zoot.* 19: 321–325.
60. **Hourdry J, Lhermite A, Ferrand R.** 1996. Changes in the digestive tract and feeding behavior of anuran amphibians during metamorphosis. *Physiol. Zool.* 69: 219–251.
61. **Houssay BA.** 1980. *Fisiología Humana*, 5° ed., El Ateneo, Buenos Aires.
62. **Ióvine E, Selva AA.** 1981. *El Laboratorio en la Clínica*, 2° ed., Panamericana, Buenos Aires.
63. **Jain NC.** 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*, Lea & Febiger, Philadelphia.
64. **Jorgensen NC.** 1995. Amiloride sensitive Na⁺/H⁺ exchange stimulated by cellular acidification or shrinkage in red blood cells of the frog, *Rana temporaria*. *J. Comp. Physiol.* 165: 450–457.
65. **Kalinov A.** 1984. *El Laboratorio y su Interpretación Seriológica*, 2° ed., López Libreros, Buenos Aires.
66. **Kawahara A, Gohda Y, Hikosaka A.** 1999. Role of type III iodothyronine 5–deiodinase gene expression in temporal regulation of *Xenopus* metamorphosis. *Dev. Growth. Differ.* 41: 365–373.
67. **Kerns KC, Farrar ES.** 1986. Streptozotocin treated bullfrogs fail to develop insulin deficiency. *Comp. Biochem. & Physiol.* 85: 765–769.
68. **Kolb E.** 1987. *Fisiología Veterinaria*, 3° ed., Acribia, Zaragoza.
69. **Krogh A.** 1959. *The Comparative Physiology of Respiratory Mechanisms*, Ed. Pensilvania Univ.Press, Pensilvania.
70. **Kurenyi DE, Chen H, Smith PA.** 1997. Low concentrations of muscarine potentiate M–current in bullfrog sympathetic B–neurones. *J. Auton. Nerv. Syst.* 67: 89–96.
71. **Landis EM.** 1962. The capillary pressure in frog mesentery as determined by microinjection. *Amer. J. Physiol.* 75: 548–570.
72. **Lee HK, Elmslie KS.** 1999. Gating of single N–type calcium channels recorded from bullfrog sympathetic neurons. *J. Gen. Physiol.* 113: 111–124.
73. **Lei S, Dryden WF, Smith PA.** 1998. Involvement of Ras/MAP kinase in the regulation of Ca²⁺ channels in adult bullfrog sympathetic neurons by nerve growth factor. *J. Neurophysiol.* 80: 1352–1361.
74. **Lima SL, Agostinho CA.** 1988. *A Criação de Rás*, Ed. Globo, Río de Janeiro.
75. **Lima SL, Agostinho CA.** 1992. *A Tecnologia de Criação de Rás*, Ed. Impr.Univ., Vicosá.
76. **Longo AD.** 1985. *Manual de Ranicultura*, 2° ed., Ed. Icone, São Paulo.
77. **Loza–Coll M, Muzio R.** 1997. Comportamiento de *Bufo arenarum* (*Amphibia*) frente a diferentes soluciones osmóticas del medio externo. *Anales III Congr. Arg. Herpet.*, Corrientes, Argentina, p. 51.
78. **Mayer N.** 1969. Adaptation de *Rana esculenta* a des milieux variés. Etude spéciale de l'excrétion rénale de l'eau et des électrolytes and cours des changements de milieu. *Comp. Biochem. Physiol.* 29: 27–50.
79. **Medway W, Prier JE, Wilkinson JS.** 1980. *Patología Clínica Veterinaria*, Ed. Uteha, México.
80. **Oguchi A, Aida T, Kobayashi T, Tanaka S, Shioda S, Nakajo S, Kikuyama S.** 1998. Cosecretion of prolactin and growth hormone by the pituitary of the bullfrog. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 15: 453–454.
81. **Plytycz B, Mika J, Bigaj J.** 1995. Age–dependent changes in thymuses in the european common frog, *Rana temporaria*. *J. Experim. Zool.* 273: 451–460.
82. **Polzonettimagni A, Carnevali O, Yamamoto K, Kikuyama S.** 1995. Growth hormone and prolactin in amphibian reproduction. *Zool. Sci.* 12: 683–694.
83. **Potts WT, Parry G.** 1964. *Osmotic and Ionic Regulation in Animals*, Ed. McMillan, New York.
84. **Prosser CL, Brown FA.** 1968. *Fisiología Comparada*, 2° ed., Interamericana, México.
85. **Raimon E, Ronci N, Ozzan M, Faryluk R, Borgogno P, González D, Suárez W.** 1996. Caracterización citométrica de elementos formes en sangre de *Rana catesbeiana*. *Monografía*, Biblioteca de la Facultad de Ciencias Exactas, UNAM, Posadas, Argentina, 10 p.
86. **Robertson DR.** 1995. Kinetics of calcium absorption in the small and large intestine of the frog *Rana pipiens*. *Physiol. Zool.* 68: 1093–1117.
87. **Rocha PL, Branco LG.** 1998. Seasonal changes in the cardiovascular, respiratory and metabolic responses to temperature and hypoxia in the bullfrog *Rana catesbeiana*. *J. Exp. Biol.* 201: 761–768.

88. **Rocha PL, Branco LG.** 1998. Physiological significance of behavioral hypothermia in hypoglycemic frogs (*Rana catesbeiana*). *Comp. Biochem. Physiol.* 119: 957–961.
89. **Roman LR.** 1994. Ranicultura. Nueva tecnología de la cría de rana toro. *Anales VII Congreso Arg. de Ciencias Veterinarias*, Buenos Aires, Argentina, p. 37.
90. **Roux P.** 1994. Ranicultura. *Anales del Ciclo de Conferencias* organizadas por la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE, Corrientes, Argentina, p. 5.
91. **Sakai S, Tosaka T.** 1999. Analysis of hyposmolarity-induced taurine efflux pathways in the bullfrog sympathetic ganglia. *Neurochem. Int.* 34: 203–212.
92. **Schmidt-Nielsen K.** 1984. *Fisiología Animal. Adaptación y Medio Ambiente*, Ed. Omega, Barcelona.
93. **Seki T, Kikuyama S, Yanaihara N.** 1995. Morphology of the skin glands of the crab-eating frog (*Rana cancrivora*). *Zool. Sci.* 12: 623–626.
94. **Singh K.** 1978. Hematology of the common Indian frog *Rana tigrina*. III. Hemoglobin and hemaocrit. *Anat. Anz.* 143: 161–166.
95. **Sodikoff CH.** 1996. *Laboratory Profiles of Small Animal Diseases*, 2nd ed., Mosby, Baltimore.
96. **Somero GN, Hochachka PW.** 1971. Biochemical adaptation to the environment. *Amer. Zool.* 11: 159–167.
97. **Stiffler DF.** 1996. Exchanges of calcium with the environment and between body compartments in *Amphibia*. *Physiol. Zool.* 69: 418–434.
98. **Takada M.** 1986. The short-term effect of prolactin on the active Na transport system of the tadpole skin during metamorphosis. *Comp. Biochem & Physiol.* 85: 755–759.
99. **Takada M.** 1989. Effect of prolactin on the active Na transport across *Rana catesbeiana* skin during metamorphosis. *Gen. & Comp. Endocrin.* 73: 318–324.
100. **Tasaki I.** 1998. Repetitive mechanical responses of the amphibian skin to adrenergic stimulation. *Jpn. J. Physiol.* 48: 297–300.
101. **Thorson TB.** 1964. The partitioning of body water in *Amphibia*. *Physiol. Zool.* 37: 395–399.
102. **Uchiyama M, Takeuchi T, Matsuda K.** 1998. Effects of homologous natriuretic peptides in isolated skin of the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Comp. Biochem. Physiol.* 120: 37–42.
103. **Uranga J.** 1977. Glomerulopressin: a review. *Rev. Soc. Arg. Biol.* 53: 1–42.
104. **Uray NJ, Gona AG.** 1999. Calbindin immunoreactivity in the auricular lobe and interauricular granular band of the cerebellum in bullfrogs. *Brain Behav. Evol.* 53: 10–19.
105. **Villee CA.** 1997. *Biología*, 8^o ed., McGraw-Hill, México.
106. **Werner EE, Wellborn GA, McPeck MA.** 1995. Diet composition in postmetamorphic bullfrogs and green frogs: implications for interspecific predation and competition. *J. Herpetol.* 29: 600–607.
107. **White AM, Secor SM, Conlon JM.** 1999. Insulin and proglucagon-derived peptides from the horned frog, *Ceratophrys ornata* (Anura: Leptodactylidae). *Gen. Comp. Endocrinol.* 115: 143–154.
108. **Wilson JA.** 1989. *Fundamentos de Fisiología Animal*, Ed. Limusa, México.
109. **Yuki T, Yamaoka K, Seyama I.** 1999. Regulation of L and N-types of Ca²⁺ channels by intracellular ATP₄ in frog dorsal root ganglion neurons. *Pflugers Arch.* 438: 117–124.
110. **Zablith AC, Catao JL, Sinhorini IL.** 1997. Análise ultra-estrutural da resposta celular inflamatória em girinos de rá touro gigante (*Rana catesbeiana*). *Anales XXV Congr. Bras. Vet.*, Gramado, Brasil, Comunic. ASI 004–P.