

## Granulopoyesis en ganglios linfáticos de ratón

P. Sesma

Departamento de Citología e Histología  
Universidad de Navarra  
Pamplona (España)

(Recibido el 18 de enero de 1978)

P. SESMA. *Granulopoiesis in Mouse Lymphatic Nodes*. Rev. esp. Fisiol., 34, 417-422. 1978.

Granulopoiesis in lymph nodes of 4 to 12 days old mice is described. Granulopoietic activity is found mainly in the medullary cords around postcapillary venules, where granuloid cells in various stages of development can be observed.

Son muchos los trabajos existentes acerca de la hemopoyesis en el ratón. No obstante, no ha sido descrita todavía hemopoyesis en ganglios linfáticos, ni en animales normales ni en los sometidos a ciertos tratamientos.

Se ha observado por HOSTETLER y ACKERMAN (5) hemopoyesis en ganglios linfáticos en el conejo, durante los días 24 al 27 del período embrionario, y por YOFFEY y BRUYAN (8) en cobayas.

En el presente trabajo describimos granulopoyesis en ganglios linfáticos de ratones, entre los días 4 al 12 de vida postnatal.

### Material y métodos

Se han utilizado 100 ratones NMRI en edades comprendidas entre 0 horas y 48 días. Se incluyeron los ganglios en Epon 812. En el ratón recién nacido, los ganglios linfáticos son muy pequeños, pre-

sentando un diámetro mayor de unas 200  $\mu\text{m}$ , por lo que resulta muy difícil localizarlos. Para salvar esta dificultad en animales de los cuatro primeros días de vida se hicieron bloques de la grasa axilar e inguinal, y de la zona adyacente a la bifurcación de la tráquea, para conseguir ganglios de estos territorios.

Pequeños fragmentos de 1 mm<sup>3</sup> aproximadamente se fijaron en glutaraldehído al 4 % y se postfijaron en tetróxido de osmio. Tras la deshidratación con alcohol, se aclararon en óxido de propileno y se incluyeron en Epon 812. De los bloques se hicieron cortes semifinos (1  $\mu\text{m}$ ) que se tiñeron con azul de metileno y Giemsa. Observados al microscopio de luz se seleccionaron los campos más idóneos para efectuar los cortes ultrafinos que, después de contrastados con hidróxido de plomo y acetato de uranilo, fueron examinados con un microscopio Siemens Elmiskop 1A.

## Resultados

Se ha examinado un total de 125 ganglios, de los cuales solamente 12 presentan focos hemopoyéticos, es decir, el 10 % aproximadamente. Estos ganglios corresponden a animales de 4, 6 y 12 días.

En los cortes de 1  $\mu\text{m}$  los focos hemopoyéticos destacan como islotes de células muy densas, que se localizan preferentemente en las áreas que posteriormente constituirán la región medular, en los ganglios de 4 y 6 días (fig. 1), y en los cordones medulares, ya organizados, en ganglios de 12 días. Con frecuencia se observan en torno a las vénulas postcapilares

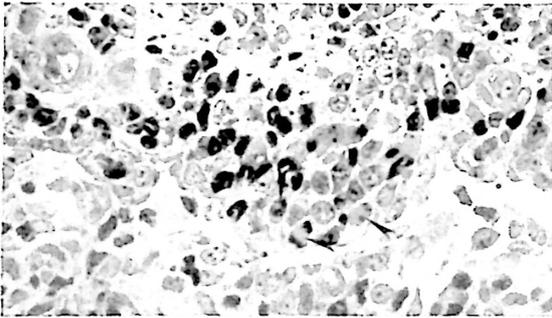


Fig. 1. Granulopoyesis en un ganglio de ratón de 4 días.

Se observan varias mitosis (flechas).  $\times 355$ .

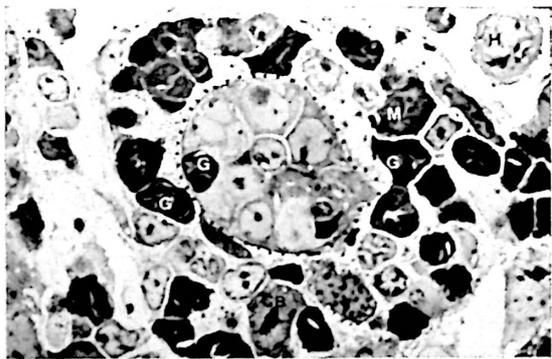


Fig. 2. Islote granulopoyético en torno a una vénula postcapilar (puntos), en un ganglio de 12 días.

CB: célula blástica; M: metamielocito; G: granulocito; H: histiocito.  $\times 830$ .

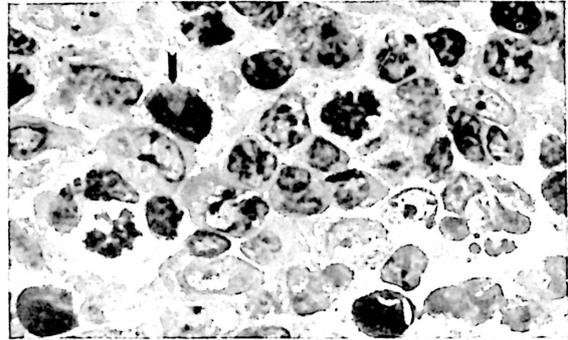


Fig. 3. Células granulocíticas en diferentes estadios de diferenciación.

Las flechas señalan células con gránulos en el citoplasma.  $\times 830$ .

en diferenciación o bien desarrolladas. En estos casos hay leucocitos en diapédesis en la pared de estos vasos (fig. 2).

Los focos de hemopoyesis están formados por células de la serie granulocítica. Se observan células indiferenciadas, con variable densidad del citoplasma, y todos los estadios de maduración: mielocitos, metamielocitos y formas maduras (figuras 2 y 3).

Al microscopio de luz se advierte que la mayoría de los leucocitos que se forman tienen un citoplasma muy denso, de manera que no destaca el núcleo, fenómeno que se intensifica con la maduración (fig. 2). Dada la gran densidad del citoplasma, en muchas de estas células no se aprecian gránulos (fig. 2). No obstante, existen otras células en las que el citoplasma, menos denso, exhibe pequeños gránulos. Con frecuencia se observan mitosis en células menos diferenciadas (figura 3).

Al microscopio electrónico se han identificado los siguientes tipos celulares: *Neutrófilos*. Constituyen la mayoría de las células observadas. Destacan por la gran densidad del citoplasma fundamental. El núcleo tiene la cromatina muy densa, especialmente en relación con la membrana nuclear. El nucleoplasma es igualmente

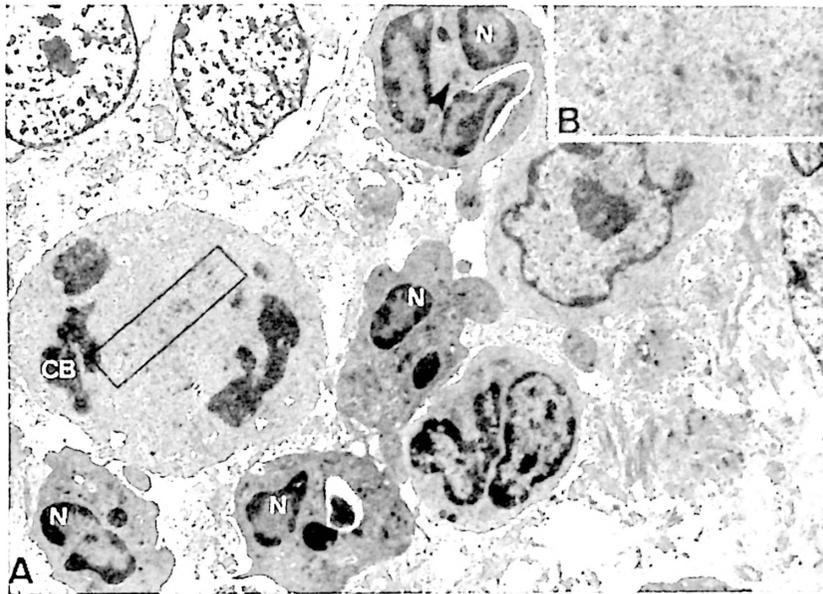


Fig. 4. *Electronografía de un ganglio de 4 días (A).*

CB: promielocito en mitosis; N granulocitos neutrófilos. En uno se aprecia el centriolo dentro de la zona Golgi (flecha).  $\times 2.910$ . B: Detalle del recuadro de A. Se observan gránulos.  $\times 5.760$ .

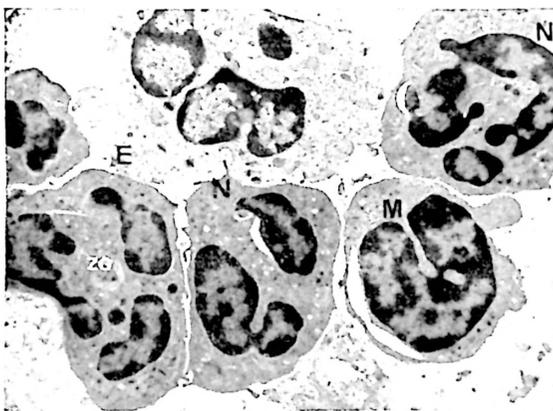


Fig. 5. *Ganglio de 6 días.*

E: eosinófilo; M: metamielocito neutrófilo; N: granulocito neutrófilos; ZG: zona Golgi.  $\times 3.750$ .

denso a los electrones. El espacio circunuclear es muy amplio en todo el contorno del núcleo. Con frecuencia presenta dilataciones amplias por artefacto. En las células maduras el número de lóbulos del

núcleo puede ser superior a seis (fig. 5).

En el citoplasma destacan las zonas Golgi, en cuyo interior se alojan los centriolos (figs. 4 y 5). Tienen gránulos muy abundantes de dos tipos: unos presentan un contenido denso a los electrones, en cambio, otros, son a modo de vesículas y pequeñas vacuolas con contenido muy claro. La membrana plasmática presenta finas expansiones y pseudopodos (figuras 4 y 5).

*Eosinófilos.* Se encuentran con una frecuencia aproximada del 2%. En ellos se aprecian gránulos característicos que se observan incluso en estadios precoces. El citoplasma fundamental es poco denso a los electrones y el aparato de Golgi está bien desarrollado (fig. 5).

Además de estos tipos celulares, se observan células grandes basófilas (fig. 6), en las que son frecuentes las figuras de división mitótica.



Fig. 6. *Electronografía de células grandes basófilas.*  
Ce: centriolos.  $\times 8.000$ .

### Discusión

En los ganglios normales del ratón se observan focos de mielopoyesis, de la serie granulocítica, en los días 4 y 12 de vida postnatal. La colonización tiene lugar a partir del día 2 (7), de manera que en el día 4 los ganglios se hallan ya colonizados (2, 7). La mielopoyesis se inicia cuando los ganglios tienen ya naturaleza de órganos linfoides, hecho similar observado por HOSTETLER y ACKERMAN (5) en los ganglios linfáticos de conejo antes del nacimiento.

No se ha observado mielopoyesis en el día 24 de vida, lo que parece indicar que regresa cuando se establece el pleno desarrollo linfoide del órgano. En el ratón normal, los folículos linfoides inician su desarrollo a partir del día 12 y se hallan ya bien desarrollados en el día 24. Los resultados sugieren que el estroma del

ganglio linfático es inespecífico en los primeros días del desarrollo, siendo colonizado en un principio por células de la serie linfoide y otras de la serie granulocítica. Cuando progresa la diferenciación en el sentido linfoide, en los días ulteriores, los linfocitos desplazan competitivamente a las células de la serie mieloide. En el conejo, en el que el desarrollo ganglionar y la colonización se producen en un período prenatal, también la mielopoyesis se observa antes del nacimiento (entre los días 24 y 27 de la gestación) (5). En el cobaya, YOFFEY y BRUYAN (8) no especifican la edad en la que observan la mielopoyesis en ganglios.

Las células que originan los focos de mielopoyesis, lo mismo que las linfoides, proceden del torrente sanguíneo. Es bien conocida la existencia de células tronco en la circulación sanguínea del ratón, sobre las que se discute la posibilidad de

que se trate de células multipotentes (1, 6) o unipotentes (4). Las células tronco alcanzan el estroma de los ganglios donde inician el desarrollo. El responsable de la polarización linfoide ulterior es probablemente el estroma, que crea el microambiente apropiado (3).

### Resumen

Se describe granulopoyesis en ganglios linfáticos de ratón entre los días 4 y 12 de vida postnatal. La actividad granulopoyética se localiza predominantemente en los cordones medulares, alrededor de las vénulas postcapilares, donde se observan células granulocíticas en varios estadios de desarrollo.

### Bibliografía

1. BENNETT, M. y CUDKOWICZ, G.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **129**, 99-104, 1968.
2. DEURS, B. y RÖPKE, C.: *Anat. Rec.*, **181**, 659-678, 1975.
3. FRIEDENSTEIN, A. J., CHAILAKHYAN, R. K., LATSINIK, N. V., PANASYUK, A. F. y KEILISS-BOROK, I. V.: *Transplantation*, **17**, 331-340, 1974.
4. GIDALI, J., FEHER, I. y ANTAL, S.: *Blood*, **43**, 573-580, 1974.
5. HOSTETLER, J. R. y ACKERMAN, G. A.: *Am. J. Anat.*, **124**, 57-75, 1969.
6. MCCARTHY, K. F. y MACVITTIE, T. J.: *Acta Haemat.*, **53**, 226-229, 1975.
7. SESMA, P.: Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Navarra, 1976.
8. YOFFEY, J. M. y BRUYAN, R. K.: *J. Anat.*, **98**, 681, 1964.

