

## Mielopoyesis en ganglios linfáticos de ratones tratados con azul de tripano

P. Sesma

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

(Recibido el 18 de enero de 1978)

P. SESMA. *Myelopoiesis in Lymph Nodes of Mice Treated With Trypan Blue*. Rev. esp. Fisiol., 34, 423-428. 1978.

When mice are injected with trypan blue inside the peritoneal cavity immediately after birth, a delay of the lymphocyte colonization and an enhancement of the lymph node myelopoiesis are observed. In normal mice some granulopoiesis takes place in lymph nodes between 4th and 12th days after birth, but after trypan blue treatment granulopoiesis increases and erythroid colonies appear. These findings indicate that the blockade of RES enhances the hemopoiesis in lymph nodes.

La granulopoyesis en ganglios linfáticos de ratones normales se da en un período de tiempo que coincide con el desarrollo del estroma y la colonización de los ganglios (8).

Según FREIDENSTEIN *et al.* (1) el estroma crea el microambiente para la hemopoyesis, y parece que algunas modificaciones en él favorecen este microambiente. Así, MORI *et al.* (5) en ratones irradiados, inducen la formación de focos granulopoyéticos en la cavidad peritoneal, duplicándose aproximadamente en los ratones en los que el sistema reticuloendotelial (SRE) es bloqueado por una inyección intraperitoneal de tinta china, respecto a los ratones no inyectados.

En el presente trabajo estudiamos la mielopoyesis (eritro y granulopoyesis) en

ganglios de ratones a los que se administró azul de tripano al nacer.

### Material y métodos

Se han utilizado ratones NMRI, a los que se administró intraperitonealmente 0,02 ml de una disolución de azul de tripano en agua destilada al 0,5 % en el momento del nacimiento y a los dos días de vida. Dosis superiores a 0.1 ml producen la muerte de los ratones tras la primera inyección. Con dosis de 0,05 ml los animales sobreviven a la primera inyección, pero mueren tras la segunda.

Los ratones fueron sacrificados a los 4, 6, 12 y 24 días. De cada animal se tomaron los ganglios linfáticos que se incluye-

ron en Epon 812. Del material incluido en Epon se hicieron cortes semifinos ( $1 \mu\text{m}$ ), que se estudiaron al microscopio de luz y se seleccionaron los campos para el estudio ultraestructural.

Como controles se estudiaron ganglios de animales pertenecientes a las mismas camadas, y a los mismos intervalos de tiempo.

### Resultados

El tamaño de los ganglios tomados de las axilas, ingles y mediastino de ratones tratados no difiere de los de ratones inyectados. A la inspección con el ojo desnudo se distinguen por presentar una ligera coloración azulada los de 4 y 6 días,

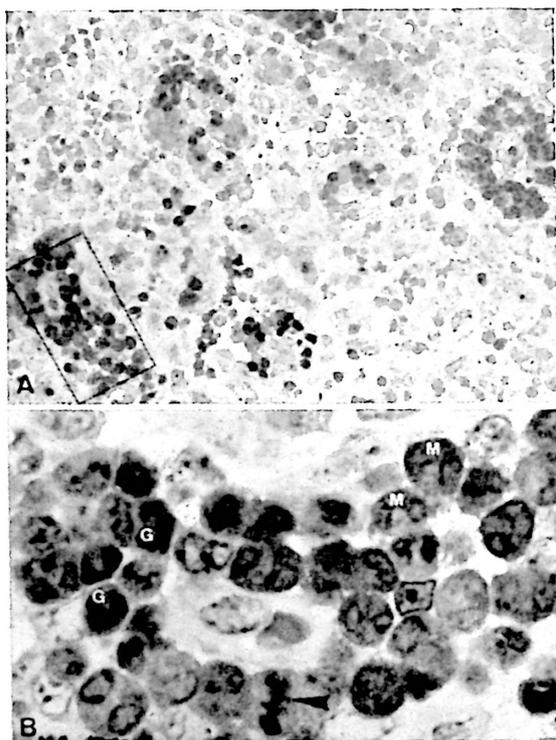


Fig. 1. Panorámica de un ganglio de ratón de 12 días, inyectado con azul de tripano. A: Se observan varios focos mielopoyéticos.  $\times 220$ . B: Ampliación del recuadro de la figura superior. M: metamielocito; G: granulocito. La flecha señala una mitosis.  $\times 830$ .

que los diferencia del tejido aerolar vecino. Pasados los 6 días la tonalidad azulada se atenúa.

Al microscopio de luz se observa un notable retraso de la colonización por células linfoides en los ganglios de animales tratados con respecto a los normales. El número de linfocitos disminuye en los animales inyectados en un 45 a un 60 %. No obstante, el rasgo más destacado de todos los ganglios de animales inyectados es la presencia de una intensa hemopoyesis de células de la serie mieloide, especialmente de la serie blanca (fig. 1 A), aunque también se observan islotes de eritropoyesis. La granulopoyesis está representada por células, en las que se pueden reconocer los mismos tipos que los descritos para animales no tratados: desde poco diferenciadas del tipo de los promielocitos, hasta leucocitos en banda y otros con núcleo claramente lobulado (figura 1 B). En los ganglios de 4 a 6 días, estos islotes se localizan preferentemente en la zona que más adelante formará la médula del ganglio, ocupando los futuros cordones medulares. En los ganglios de 12 días, existe ya la diferenciación entre corteza y médula y la mielopoyesis ocupa

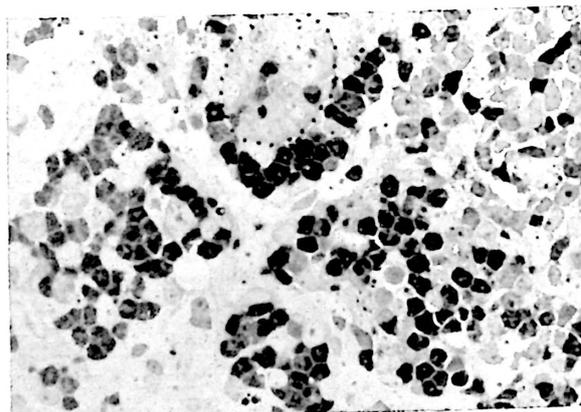


Fig. 2. Granulopoyesis en un ganglio de 6 días.

Con puntos se señala el contorno de una vena postcapilar en desarrollo, en torno a la cual hay células granulocíticas.  $\times 350$ .

los cordones medulares. También se observa una alta incidencia de mielopoyesis en torno a vénulas postcapilares, situadas profundamente en el ganglio, en algunos de los cuales hay figuras de deapédesis de leucocitos en su pared (fig. 2). En la porción periférica — corteza — no se observa mielopoyesis, aunque existen algunos

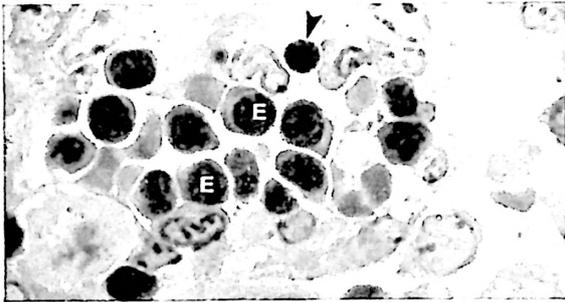


Fig. 3. *Colonia de eritropoyesis.*  
E: eritroblastos basófilos. La flecha indica un núcleo de normoblasto (eritroblasto ortocromático).  $\times 1.060$ .

leucocitos polimorfonucleares procedentes probablemente de la sangre. La corteza es la única área donde se aprecia cierto grado de colonización. Muy ocasionalmente, en ganglios de 12 días, se desarrollan pequeños folículos primarios. En general se mantiene una relación inversa entre el grado de mielopoyesis y el de colonización linfoide.

La eritropoyesis se reconoce por la presencia de eritroblastos y ocasionalmente normoblastos (eritroblastos ortocromáticos).

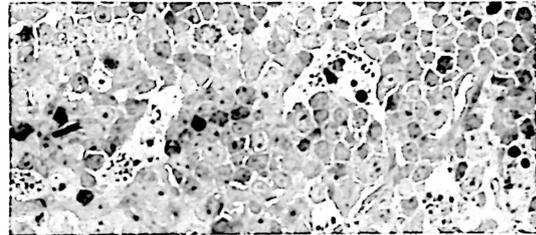


Fig. 5. *Células reticulares con colorante fagacitado.*  $\times 345$ .

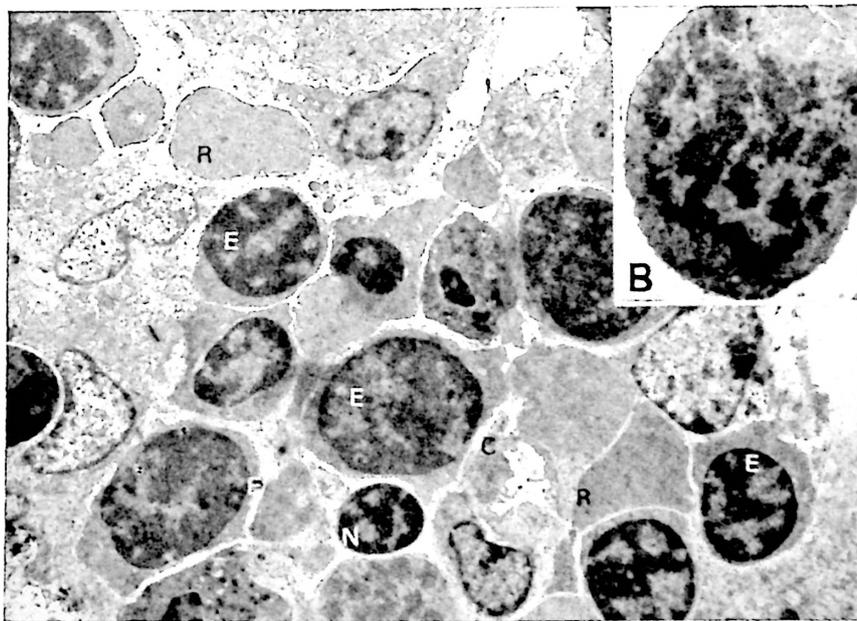


Fig. 4. *Electronografía de eritroblastos (E) en diferentes estadios ( $\times 2.930$ ).*  
N: núcleo de normoblasto eliminado; C: capilar; R: reticulocito. B: Mitosis en un eritroblasto.  $\times 6.640$ .

cos), dispersos por la trama. Son frecuentes las mitosis en los eritroblastos (figuras 3 y 4).

En relación con el colorante inyectado, los ganglios presentan gránulos densos en el citoplasma de las células reticulares, predominantemente en el área cortical y en histiocitos de los senos, especialmente en aquellos alojados en el seno subcapsular (fig. 5).

### Discusión

La administración de azul de tripano perinatalmente al ratón determina un retraso en el desarrollo de los ganglios linfáticos, a la vez que se retrasa también la colonización linfoide. Con este tratamiento, a los 12 días de vida se observa un desarrollo comparable con el de los ganglios normales a los 6 días. Paralelamente al retraso en la colonización linfoide se observa un incremento en la granulopoyesis y la aparición de eritropoyesis. La mielopoyesis es normal en los ganglios del ratón de 4 a 12 días de vida (7, 8). Con la administración del colorante se potencia este hecho fisiológico y aparece el nuevo fenómeno de la eritropoyesis que no se observa en los ganglios de ratones no tratados. En cambio, la eritropoyesis es un fenómeno normal en el desarrollo de los ganglios linfáticos del conejo (2).

La potenciación de la mielopoyesis y la aparición de eritropoyesis podría ser interpretada como secundaria al retraso del proceso de colonización y desarrollo del tejido linfoide; se trataría de un efecto competitivo entre ambos fenómenos. Cabe pensar más bien que no sólo el retraso en el desarrollo linfoide, sino también la potenciación de la mielopoyesis sean debidas primariamente al bloqueo del SRE por el azul de tripano. En este sentido se pueden entender las observaciones de MORI *et al.* (5), quienes valiéndose de una membrana de acetato de celulosa coloca-

da intraperitonealmente según la técnica de SEKI (6), observan que las células hemopoyéticas tronco, irradiadas *in vitro*, inyectadas intraperitonealmente, se recuperan más eficazmente en ratones a los que se les ha bloqueado el SRE con carbón, que en ratones normales.

Se ha observado que el bloqueo del SRE con carbón ejerce una acción hiperplásica del tejido linfoide (3, 4, 9), que, según MORI *et al.* (5), también podría estimular la formación de colonias hemopoyéticas. Esta acción no puede ser invocada en el presente trabajo, ya que se trata de animales en los que aún no se ha desarrollado totalmente el tejido linfoide de los ganglios y, más aún, la administración de azul de tripano la retrasa.

El número de macrófagos que contienen el colorante es bajo en los esbros ganglionares, y se hallan preferentemente en la futura corteza, por lo que es poco probable que sean los macrófagos estimulados por el azul de tripano los que favorecen la hemopoyesis por contacto con las células tronco (5).

La explicación más plausible es la de la inducción de un factor hormonal. El bloqueo del SRE con azul de tripano o con partículas de carbón (5) induciría la liberación o producción de un factor humoral. MORI *et al.* (5) señalan haber conseguido potenciar la formación de colonias endógenas en bazo de ratones radiados, tras la administración de suero de ratones tratados con carbón.

### Resumen

En ratones recién nacidos inyectados con azul de tripano en la cavidad peritoneal se observa un retraso en la colonización linfocítica y un incremento de la mielopoyesis en los ganglios linfáticos. En los ganglios de ratones normales hay alguna granulopoyesis entre los días 4 y 12 después del nacimiento, pero después del tratamiento con azul de tripano la granulopoyesis aumenta y aparecen colonias eritropoyéticas. Estos resultados indican que el

bloqueo del SRE aumenta la hemopoyesis en los ganglios linfáticos. Podría ser debido a un incremento en la liberación o la producción de algún factor humoral.

### Bibliografía

1. FREIDENSTEIN, A. J., CHAILAKHYAN, R. K., LATSINIK, N. V., PANASYUK, A. F. y KEILIS-BOROK, I. V.: *Transplantation*, 17, 331-340, 1974.
2. HOSTETLER, J. A. y ACKERMAN, G. A.: *Am. J. Anat.*, 124, 57-76, 1969.
3. MORI, K. J. y NAKAMURA, S.: *Experientia*, 26, 1386-1387, 1970.
4. MORI, K. J.: *Radiat. Res.*, 56, 494-502, 1973.
5. MORI, K. J., SETO, A. e ITO, Y.: *Experientia*, 30, 1467-1468, 1974.
6. SEKI, M.: *Transplantation*, 16, 544-549, 1973.
7. SESMA, P.: Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Navarra, 1976.
8. SESMA, P.: *Rev. esp. Fisiol.*, 34, 44-49, 1978.
9. STRAUCH, D., STENDER, H. S. y WINTER, H.: *J. Immun.*, 82, 298-304, 1959.

