

UNIVERSIDAD DE MURCIA  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR  
FACULTAD DE BIOLOGIA



**IDENTIFICACION Y ORGANIZACION DE LOS COMPONENTES  
CELULARES DEL TIMO DE LUBINA (*Dicentrarchus labrax L.*)**

Memoria que presenta **D. MARCELINO  
AVILES TRIGUEROS** para optar al Grado de  
Doctor en Biología por la Universidad de  
Murcia.

Murcia, Abril 1993

## **IV. RESULTADOS**

## 1. ESTUDIO CON MICROSCOPIA OPTICA.

### 1.1. ANATOMIA DEL TIMO.

El timo de lubina, Dicentrarchus labrax (L.), al igual que en el resto de peces teleósteos, es un órgano par y bilateral, localizado en el ángulo posterior de la comisura dorsal de la cavidad branquial y visible macroscópicamente como un área triangular, de aproximadamente 0,5 cm<sup>2</sup>, opaca y de color blanco amarillento (Fig. 4). Está limitado externamente por un epitelio que es continuación del epitelio faríngeo de la cavidad branquial e internamente por una capa de tejido conectivo, que lo separa de la musculatura epaxial de la cabeza (Fig. 5).

## 1.2. ESTUDIO HISTOLOGICO.

El estudio de cortes seriados, según secciones transversales, frontales y sagitales, nos muestra que el tejido conectivo subyacente al órgano se adentra formando trabéculas conectivas de distinta sección y longitud, diferenciándose dos tipos de trabéculas, primarias y secundarias. Las trabéculas primarias (Figs. 5, 6) son de mayor sección y longitud; lobulan profundamente el timo y delimitan entre ellas lóbulos tímicos, pero sin llegar en ningún caso a individualizar áreas de parénquima tímico. Las trabéculas secundarias (Figs. 5, 6), de menor sección y longitud, son más numerosas que las primarias, no dan aspecto lobulado al timo y aparecen en el parénquima como tabiques incompletos que lo septan parcialmente.

Las trabéculas conectivas primarias aparecen especialmente desarrolladas en la región superficial (Fig. 8), dejando parcialmente aislada una estrecha banda superficial de parénquima tímico revestida por epitelio faríngeo; ya que en esta región tanto las trabéculas primarias que penetran desde los márgenes laterales de la cápsula conectiva que delimita al órgano, como las ramificaciones de las que penetran perpendicularmente desde la base del timo se disponen paralelamente al epitelio tímico (Fig. 6). Secciones sagitales de la región superficial demuestran que estas trabéculas se anastomosan entre sí,

formando una trama trabecular conectiva (Fig. 6) cuyos huecos presentan una mayor luz en la región central (Fig. 10) del timo que en la marginal (Fig. 11). El parénquima de la banda superficial del timo se continua por los huecos de la trama conectiva con el parénquima tímico subyacente a esta región; por lo que la banda superficial del timo se comunica por su límite inferior con el resto de parénquima que forma el órgano (Figs. 5, 6).

Las técnicas de tinción para fibras conectivas, tricrómico de Mallory, impregnación argéntica de Gomori y la técnica de resorcina de Weigert, ponen de manifiesto que las trabéculas contienen fibras de colágeno, reticulina y elastina, respectivamente.

Las técnicas histoquímicas de PAS (Fig. 9) y azul Alcian (Figs. 10, 11) demuestran la existencia de una delgada capa de mucosustancias neutras y ácidas recubriendo externamente el epitelio tímico y, también, la naturaleza polisacáridica neutra de la membrana basal de este epitelio y su continuidad con la membrana basal del epitelio faríngeo.

Generalmente se acepta que, histológicamente, el timo de lubina es un órgano de carácter linfoepitelial que se origina por la infiltración de células linfoides en una región concreta del epitelio de la cavidad branquial; quedando la capa superficial, epitelio tímico, como única estructura delimitante del órgano; mientras que las capas más profundas se diferencian en células epitelio reticulares (CER). El parénquima tímico está formado por una red

tridimensional de CER, ocupada por una densa población de células libres, predominantemente linfocitos.

Según la situación en el órgano y la abundancia relativa de los distintos componentes celulares se diferencian tres zonas parenquimáticas, cápsula epitelial, zona externa y zona interna, sin una clara delimitación entre ellas (Fig. 5).

#### **1.2.1. CAPSULA EPITELIAL.**

La cápsula epitelial (Figs. 7, 8) es la zona superficial del timo que recubre la masa tímica en toda su extensión; se caracteriza por el epitelio faríngeo que la reviste, al que denominamos epitelio tímico, y debajo de éste una banda parenquimática, que denominamos región subepitelial, que se distingue del parénquima de la zona externa subyacente por una menor densidad de CER y por la presencia de numerosas células mucosas y células cloruro.

##### **1.2.1.1. Epitelio tímico.**

El epitelio que delimita externamente al timo es simple de células aplanadas, de tamaño  $3,5(\pm 1,0) \times 6,5(\pm 1,5) \mu\text{m}$ , con cortas prolongaciones

citoplasmáticas laterales, abundante citoplasma perinuclear, ligeramente acidófilo, y núcleo irregular y basófilo de disposición central. El borde apical de estas células es irregular, presentando pequeñas proyecciones citoplasmáticas que le dan un aspecto ondulado al epitelio (Figs. 7, 8).

Entre las células epiteliales aparecen dispersas numerosas células mucosas (Figs. 7, 8) en distintos estadios de secreción. Estas células son caliciformes u ovaladas de  $8(\pm 1) \times 10(\pm 2) \mu\text{m}$  de tamaño, con núcleo basófilo y aplanado de disposición basal o latero-basal. El citoplasma es abundante y está ocupado en casi su totalidad por vacuolas de contenido mucoso quedando un pequeño anillo periférico débilmente basófilo, más abundante en la zona perinuclear, donde se alojan escasos orgánulos citoplasmáticos.

Con técnicas histoquímicas hemos estudiado la composición de los mucopolisacáridos contenidos en las vacuolas. Así, la reacción de PAS (Fig. 9) da una coloración magenta homogénea indicativa de la presencia de mucopolisacáridos neutros, mientras que con azul Alcian a pH 1 (Fig. 10) y pH 2,5 (Fig. 11) resulta un color azul oscuro en ambos casos, como consecuencia de la presencia de mucopolisacáridos fuertemente y débilmente ácidos, respectivamente.

También se observan algunas células de cloruro intercaladas entre las células que constituyen el epitelio, que se caracterizan por su gran tamaño,  $8,5(\pm 1) \times 12(\pm 3) \mu\text{m}$ , aspecto irregular, núcleo redondeado excéntrico y

citoplasma acidófilo de contenido bastoniforme debido a la presencia de mitocondrias (Fig. 8).

Este epitelio posee una estructura similar a la capa luminal del epitelio faríngeo de la cavidad branquial, del que es continuación. Aunque es de destacar la presencia, ocasional, de macrófagos que se disponen entre las células del epitelio tímico y aparentemente están en contacto con el medio externo (Fig. 7).

#### 1.2.1.2. Región subepitelial.

El parénquima de la región subepitelial (Figs. 7, 8) está constituido por CER de aspecto estrellado con prolongaciones citoplasmáticas, que contactan con las células del epitelio tímico, formando una trama cuyos intersticios están ocupados principalmente por linfocitos de tamaño pequeño, que son más abundantes en el área central que en las áreas marginales del timo, siendo por tanto mayor el espesor de esta región en el área central (Fig. 7) que en las áreas marginales (Fig. 8). Además, aparecen células mucosas aisladas con la misma morfología y características tintoriales (Figs. 9, 10, 11) que las células mucosas del epitelio tímico y células de cloruro o ionocitos (Figs. 7, 8) similares a las descritas en el epitelio tímico y localizados a diferentes profundidades. También aparecen macrófagos (Fig. 7) con citoplasma acidófilo de contenido

heterogéneo y algunos granulocitos.

Las amplias áreas de la zona subepitelial del timo que se disponen sobre la trama de trabéculas superficiales están limitadas por una capa continua de CER limitantes (Figs. 7, 8) dispuestas sobre la membrana basal que las separa de las trabéculas conectivas. Mientras que en el área central del timo no existe un límite claro entre esta zona y el resto de parénquima tímico, produciéndose una transición progresiva entre ambas zonas (Fig. 7).

#### 1.2.2. ZONA EXTERNA.

La zona externa del timo de lubina se localiza inmediatamente debajo de la cápsula epitelial tímica. Tiene espesor variable, mayor en las zonas adyacentes a las trabéculas primarias, y es mayor que el de la zona interna, con la que se continua internamente mediante la transición progresiva de los distintos tipos celulares (Fig. 5). El parénquima tímico en esta zona está constituido por abundantes células libres, que se disponen en los intersticios del citorretículo. También aparece un componente extraparenquimático constituido por las trabéculas conectivas primarias y secundarias (Fig. 5).

En secciones frontales y transversales la zona externa del timo presenta trabéculas primarias que penetran perpendicularmente a la superficie

del timo a través del parénquima de la zona externa hasta el límite con la cápsula epitelial; en donde se disponen paralelamente a la superficie, marcando parcialmente los límites laterales y superiores de la zona externa, respectivamente (Fig. 5). Además, también hay trazos de trabéculas secundarias que se disponen perpendicularmente a la superficie tímica, sin septar completamente el parénquima tímico (Fig. 5). En la región más superficial y próxima a la cápsula epitelial de esta zona las trabéculas secundarias se disponen paralelamente a la superficie del timo (Fig. 7). El grosor de las trabéculas se atenúa conforme se aproximan a la superficie.

#### 1.2.2.1. Citorretículo.

En el citorretículo se distinguen tres tipos de CER, limitantes, claras y oscuras, según su localización y características tintoriales y morfológicas.

Las CER limitantes (Fig. 8) se disponen entorno a las trabéculas conectivas formando una capa continua que delimita el parénquima tímico. Con diferentes técnicas de tinción de fibras conectivas y PAS se pone de manifiesto que las CER limitantes están sostenidas por una capa continua de membrana basal subyacente que presenta grosor variable (Fig. 9). Las CER limitantes, con un tamaño de  $3,5(\pm 2) \times 12(\pm 2) \mu\text{m}$ , tienen citoplasma fuertemente basófilo y forma aplanada con largas prolongaciones citoplasmáticas, que las relacionan

entre sí y con otros tipos de CER, y en general presentan un soma perinuclear de sección triangular.

Las CER claras y oscuras son estrelladas y se localizan dispersas a través del parénquima. Existiendo en esta zona una mayor abundancia relativa de CER claras que de CER oscuras.

Las CER claras (Figs. 7, 13) poseen un núcleo grande con poca afinidad por los colorantes básicos y un nucléolo prominente; destacan sobre los otros tipos de CER por su mayor tamaño,  $8(\pm 2) \times 12(\pm 2) \mu\text{m}$ , y abundante citoplasma débilmente acidófilo del cual parten largas y delgadas prolongaciones citoplásmicas que las relaciona entre sí y con otros tipos de CER. Aparecen dispersas por toda la zona externa, aunque predominan en la parte superficial (Fig. 7). Este tipo de CER muestran estrechas interacciones con los linfocitos; apareciendo dos o tres de estas células rodeando un grupo de linfocitos a los que aíslan del resto de células del parénquima e, incluso, algunas de estas CER presentan en el interior de su citoplasma un grupo o más de linfocitos, sin ningún síntoma de degeneración celular; fenómeno que parece ser similar a la emperipolesis (Fig. 14).

Las CER oscuras (Fig. 15), con un tamaño de  $5(\pm 1,5) \times 9(\pm 2) \mu\text{m}$ , se caracterizan por tener núcleo redondeado, de disposición central y citoplasma escaso con largas y delgadas prolongaciones citoplasmáticas. Tanto el núcleo como el citoplasma muestran una gran afinidad por los colorantes básicos.

Algunas de estas células presentan un citoplasma con numerosas vacuolas claras. Este tipo celular predomina en la zona externa profunda.

#### **1.2.2.2. Células libres.**

Entre los componentes celulares de la zona externa destacan las células libres, cuyas características morfológicas describimos a continuación.

##### **1.2.2.2.1. Linfocitos.**

La inmensa mayoría de la población celular de la zona externa está constituida por linfocitos, que contribuyen de forma fundamental a la elevada intensidad tintorial de esta zona (Fig. 5). Los linfocitos son de contorno superficial liso y forma poligonal causada por la deformación mutua; entre los que se encuentran diferentes tamaños, grande, pequeño e intermedio. Los linfocitos mayores (Fig. 8) tienen un núcleo redondeado u oval ligeramente basófilo, de aproximadamente  $5,25(\pm 0,25) \mu\text{m}$  de diámetro. El citoplasma es relativamente abundante y fuertemente basófilo. Los linfocitos pequeños (Fig. 13) tienen un núcleo pequeño redondo y fuertemente basófilo, con un diámetro de  $2,25(\pm 0,25) \mu\text{m}$  aproximadamente. El ribete de citoplasma es muy delgado y ligeramente basófilo.

Entre los linfocitos grandes y pequeños, que representan los

extremos, hay un espectro continuo de células que muestran una graduación intermedia en la organización nuclear y citoplasmática, los linfocitos de tamaño intermedio (Fig. 13), que tienen un núcleo de aproximadamente  $3,5(\pm 0,5) \mu\text{m}$  de diámetro. Los linfocitos grandes constituyen sólo una pequeña proporción de la población de células linfoides y tienden a concentrarse en la periferia de la zona externa (Fig. 8); mientras que formas progresivamente más pequeñas aparecen en número creciente hacia el interior del órgano. La zona externa profunda está formada por linfocitos pequeños densamente empaquetados (Fig. 13).

Las figuras mitóticas entre estas células son escasas (Fig. 8). Es de destacar la presencia de linfocitos, con núcleos en apoptosis, dispersos por toda esta zona, aunque se observan más frecuentemente en la región externa de la misma (Fig. 7).

#### 1.2.2.2.2. Macrófagos.

Los macrófagos (Figs. 8, 14) son numerosos en esta zona del timo y fácilmente reconocibles por su gran tamaño,  $7(\pm 2) \times 10(\pm 3) \mu\text{m}$ , forma irregular, núcleo ligeramente basófilo desplazado a la periferia y citoplasma eosinófilo con inclusiones de material fagocitado en la mayoría de ellos, entre las que se reconocen fácilmente linfocitos de núcleo apoptósico (Figs. 14). Algunos macrófagos emiten prolongaciones citoplasmáticas.

Es de destacar en esta zona la presencia de melanomacrófagos aislados y de agregados de melanomacrófagos (Fig. 9) dispersos por el parénquima. Estos agregados muestran tamaño y forma variables y no tienen ningún tipo de estructura limitante (Fig. 12). En secciones teñidas con hematoxilina-eosina aparecen de color marrón-amarillento. El estudio histoquímico indica que los agregados melanomacrófágicos presentan diversas granulaciones, PAS positivas (Figs. 9, 12a), melanina positivas (Fig. 12b) o lipofucsina positivas (Fig. 12c). Con la técnica de Perls, para la detección de hierro férrico, se pone de manifiesto la ausencia de cationes férricos en estas estructuras (Fig. 12d).

#### 1.2.2.2.3. Células mucosas.

También aparecen algunas células mucosas, similares a las descritas en la cápsula epitelial, dispersas y en número muy bajo (Figs. 9, 10, 11).

#### 1.2.2.2.4. Otros tipos celulares y estructuras.

En el parénquima de algunos de los timo examinados aparece un número relativamente elevado de eritrocitos maduros extravasados (Fig. 13) que se disponen, como las células libres, en los intersticios del citoretículo; aunque son más frecuentes en las proximidades de trabéculas bien vascularizadas, en la

región superficial de esta zona.

Ocasionalmente, también se encuentran en la región superficial de esta zona estructuras limitadas por CER limitantes aplanadas, de aspecto similar a quistes; que se caracterizan por ser acidófilas, tener forma redondeada u ovalada, tamaño variable y estar constituidas por material amorfo dispuesto en capas concéntricas de diferente densidad, que presentan los mismos componentes fibrilares (colágeno, reticulina y elastina) que las trabéculas conectivas y con técnicas histoquímicas son ligeramente PAS positivas y azul Alcian negativas, lo que revela la presencia de polisacáridos neutros en estas estructuras. En el centro de estas estructuras pueden aparecer algunas células redondeadas, ligeramente basófilas, con núcleo escotado y periférico.

### **1.2.3. ZONA INTERNA.**

La zona interna se dispone a modo de una banda subyacente a la zona externa y está delimitado internamente por la cápsula conectiva (Fig. 5). Esta cápsula conectiva emite trabéculas perpendiculares a la superficie tímica para formar el compartimiento extraparenquimático, constituido por trabéculas primarias, que delimitan lateralmente los lóbulos tímicos, y trabéculas secundarias que no definen lóbulos tímicos (Figs. 5, 6) (La descripción de estas

estructuras se hace en el apartado IV.1.2.4).

### **1.2.3.1. Citorretículo.**

El estroma tímico, formado por CER limitantes, claras y oscuras, está más desarrollado en esta zona, presentando un número relativo de CER mayor que en la zona externa, lo que contribuye a la menor intensidad tintorial, con tinciones de rutina, de la zona interna (Fig. 5).

Las CER limitantes están separadas de la capa conectiva y de las trabéculas, que de ella se originan, por una membrana basal continua con la del epitelio de la cavidad branquial (Fig. 9). Las características morfológicas de estas CER limitantes son idénticas a las descritas en la zona externa (Fig. 22).

El resto de los componentes celulares del citorretículo son los mismos que observamos en la zona externa y con las mismas características morfológicas (Fig. 13); aunque aquí las CER claras se encuentran en menor proporción que las CER oscuras. Algunas de las CER oscuras presentan vacuolas de contenido claro (Figs. 20, 21).

### **1.2.3.2. Células libres.**

Los espacios de la red estromática están ocupados por los

diferentes tipos de células libres, que seguidamente describimos.

#### **1.2.3.2.1. Linfocitos.**

Las células linfoides son menos numerosas y se disponen de forma menos apretada que en la zona externa, predominando los linfocitos pequeños, observándose algunas mitosis entre estas células.

En esta zona también se observan linfocitos en apoptosis (**Fig. 16**) que se caracteriza, como en el resto del parénquima tímico, por la condensación de la cromatina en unos pocos grumos periféricos de gran tamaño, quedando el resto del núcleo sin material genético; mientras que el citoplasma permanece con un aspecto normal. Es frecuente observar en la región profunda y próxima al límite interior del órgano linfocitos con claros síntomas involutivos que se caracterizan por presentar núcleos picnóticos con un alto grado de basofilia, al tener la cromatina totalmente condensada; además, estas células muestran forma alargada, aspecto comprimido y aparecen agrupadas formando áreas de necrobiosis (**Fig. 17**).

#### **1.2.3.2.2. Macrófagos.**

Los macrófagos son numerosos y aparecen con un citoplasma que contiene inclusiones heterogéneas (**Figs. 16, 19**). También se observan agregados de melanomacrófos de gran tamaño, que pueden llegar a ocupar

prácticamente un lóbulo y con características similares a los descritos en la zona externa (Fig. 18).

#### 1.2.3.2.3. Células mioides.

Las células mioides (Fig. 20) son redondeadas, de gran tamaño con aproximadamente  $10(\pm 1) \mu\text{m}$  de diámetro, núcleo irregular central y citoplasma acidófilo con numerosas miofibrillas de disposición concéntrica. Estas células son un tipo celular característico de la zona interna; ya que sólo aparecen en ella, aisladas o formando pequeños grupos de dos o tres células.

#### 1.2.3.2.4. Células mucosas.

Las células mucosas (Fig. 21) son morfológicamente similares a las presentes en la cápsula tímica y con las mismas características tintoriales.

#### 1.2.3.2.5. Células cebadas.

Las células cebadas o mastocitos (Fig. 19) están presentes en áreas próximas a las trabéculas y a la cápsula conectiva. Estas células se caracterizan desde un punto de vista morfológico por tener un núcleo redondeado u oval, con poca afinidad por los colorantes básicos y un citoplasma de gran tamaño,  $6(\pm 1) \times 9,5(\pm 2,5) \mu\text{m}$ , e irregular, ocupado por grandes gránulos fusiformes que se tiñen metacromáticamente con el azul de toluidina (Fig. 22). Estas células

también se observan, aunque con forma más redondeada, en el interior de las trabéculas conectivas (Fig. 19) y en la cápsula conectiva (Fig. 22) en zonas adyacentes al parénquima tímico.

#### 1.2.3.2.6. Granulocitos.

Los granulocitos aparecen dispersos en número pequeño entre las células libres de esta zona (Figs. 13, 16, 20).

#### 1.2.3.2.7. Areas mielopoyéticas.

En la región próxima al tejido conectivo limitante aparecen áreas mielopoyéticas (Fig. 23) bien definidas y formadas por varios islotes delimitados por células de carácter macrofágico. En ellos con microscopía óptica se pueden diferenciar las series eritropoyética y granulopoyética.

### 1.2.4. CAPSULA CONECTIVA.

La cápsula conectiva delimita la región basal del timo y se invagina profundamente formando tabiques incompletos que lobulan parcialmente al órgano (Fig. 6). Está separada del parénquima tímico por la capa de CER limitantes (Fig. 22) que descansa sobre la membrana basal (Fig. 9). Las

observaciones con microscopía óptica de secciones teñidas con tricrómico de Mallory, impregnación argéntica de Gomori y la técnica de resorcina de Weigert ponen de manifiesto que la cápsula conectiva está constituida por dos estratos diferentes de tejido conectivo denso. El estrato de la cápsula conectiva que limita con el parénquima tímico está constituido por tejido conectivo denso irregular (**Fig. 5**), bien vascularizado, caracterizado por una densidad moderada de haces de fibras colágenas, fibras reticulares y escasas fibras elásticas, todas ellas orientada al azar. El estrato interno es más grueso y está formado por tejido conectivo denso regular (**Fig. 5**), con las fibras colágenas, reticulares y elásticas dispuestas paralelamente a la superficie del timo y se continua con el epimisio de la musculatura adyacente, limitando totalmente el órgano.

El componente celular del tejido conectivo denso está formado por fibroblastos fusiformes orientados según las direcciones de las fibras en cada uno de los estratos, mastocitos y células linfoides infiltradas, que son más frecuentes en el estrato de tejido conectivo denso irregular (**Figs. 20, 22**).

De la cápsula conectiva parten trabéculas de distinta longitud y sección, según lo cual las clasificamos en primarias y secundarias; cuyo grosor se atenúa progresivamente conforme penetran en el parénquima. Las trabéculas primarias (**Fig. 6**) son de gran sección y parten siempre de la cápsula conectiva, se adentran profundamente en el órgano disponiéndose paralelas a la superficie tímica, en el límite entre la cápsula epitelial y la zona externa, o perpendiculares

a ella, en el resto del parénquima tímico; siendo frecuente observar continuidad entre ellas, causando una profunda lobulación del parénquima tímico. Las trabéculas secundarias (**Fig. 6**) tienen menor sección y, además, pueden proceder de la ramificación de las trabéculas primarias, no contribuyen a dar aspecto lobulado al órgano.

Ambos tipos de trabéculas están compuestas por tejido conectivo denso irregular, bien vascularizado; que además de los componentes característicos de este tejido, presenta células linfoides infiltradas y mastocitos, en mayor proporción que en la cápsula conectiva (**Figs. 19, 22**).

Las trabéculas (**Figs. 19, 22**) poseen la misma estructura limitante con el parénquima tímico que la cápsula conectiva.

#### **1.2.5. VASCULARIZACION.**

La vascularización del timo de lubina, al igual que en otros teleósteos, es continua con el sistema vascular sanguíneo branquial. Esta red vascular se extiende profusamente por la cápsula conectiva (**Fig. 22**) y las trabéculas (**Fig. 19**) hasta adentrarse en el parénquima tímico.

En las trabéculas, los vasos arteriales y venosos están rodeados por un espacio perivascular formado por tejido conectivo denso irregular (**Fig. 8**),

---

similar al de la cápsula conectiva. El espacio perivascular está limitado por una membrana basal, sobre la que se disponen las CER limitantes que forman una capa continua de separación entre el parénquima tímico y el tejido conectivo (Fig. 8). El espacio perivascular disminuye progresivamente hasta quedar reducido a una estrecha banda de fibras colágenas en las trabéculas más finas (Fig. 15). Los vasos intratrabeculares se continúan con capilares de finas paredes endoteliales, dispersos en el parénquima tímico.

Lámina I.

**Figura 4.** Localización del timo de lubina (†).

**Figura 5.** Vista parcial del timo de lubina en sección transversal. El órgano está limitado externamente la cápsula epitelial (CE) e internamente por la cápsula conectiva (CC). Nótese la disposición perpendicular y paralela a la superficie de las trabéculas conectivas (t). Zona externa (ZE). Zona interna (ZI). cavidad branquial (B). Hematoxilina-eosina. x120.

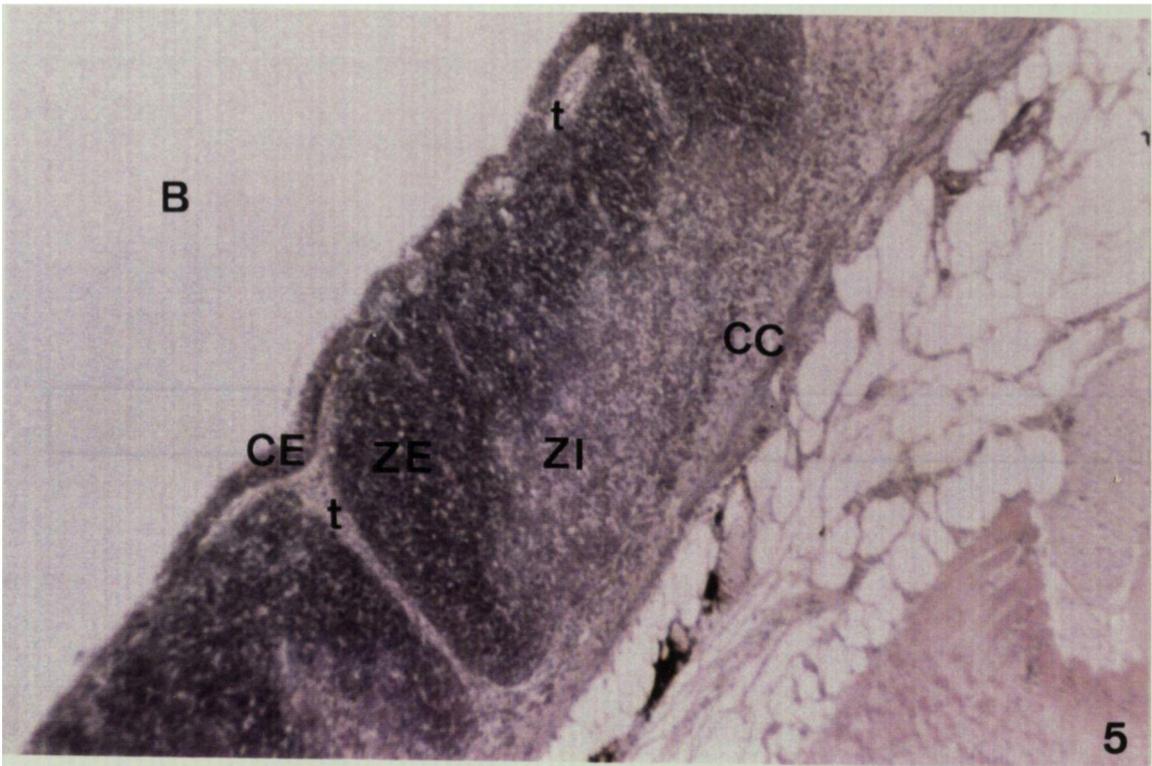
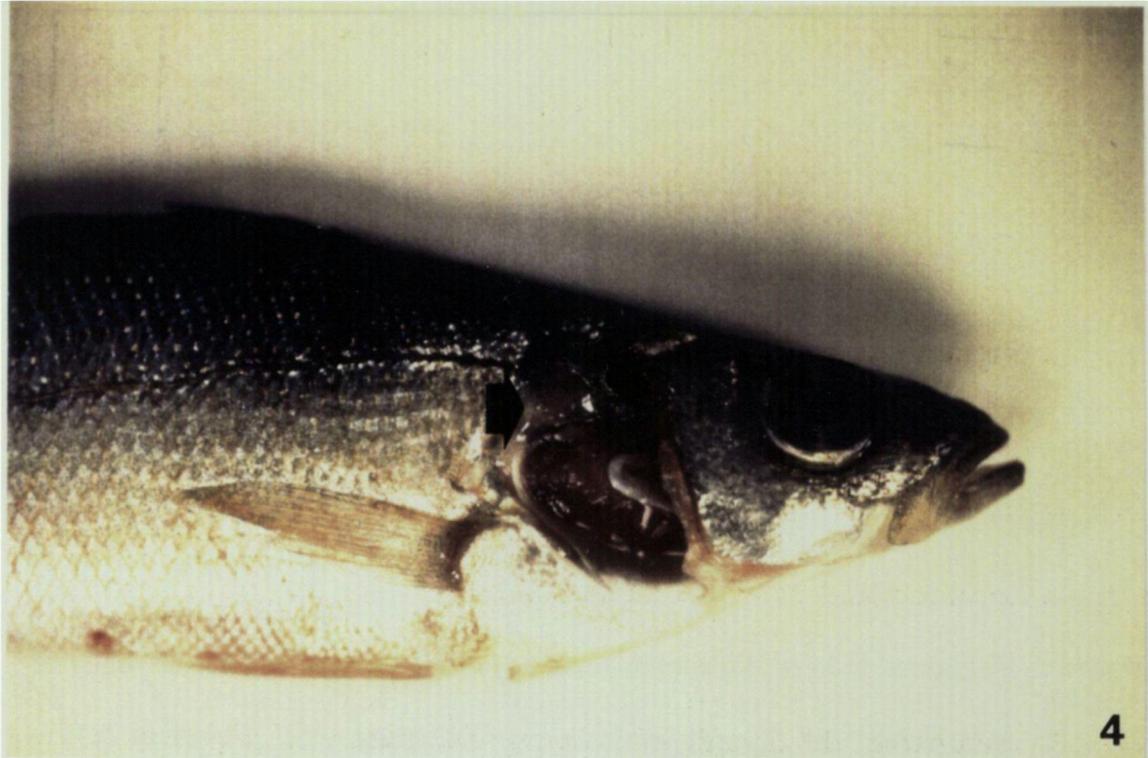


Lámina II.

**Figura 6.** Esquema de la organización histológica del timo de lubina. Se muestra la lobulación del órgano causada por las trabéculas primarias (t1) y secundarias (t2). Obsérvese la trama trabecular paralela al epitelio tímico (ET) que aísla parcialmente el parénquima tímico (T) de la cápsula epitelial (CE). Cápsula conectiva. Musculatura (Mus).

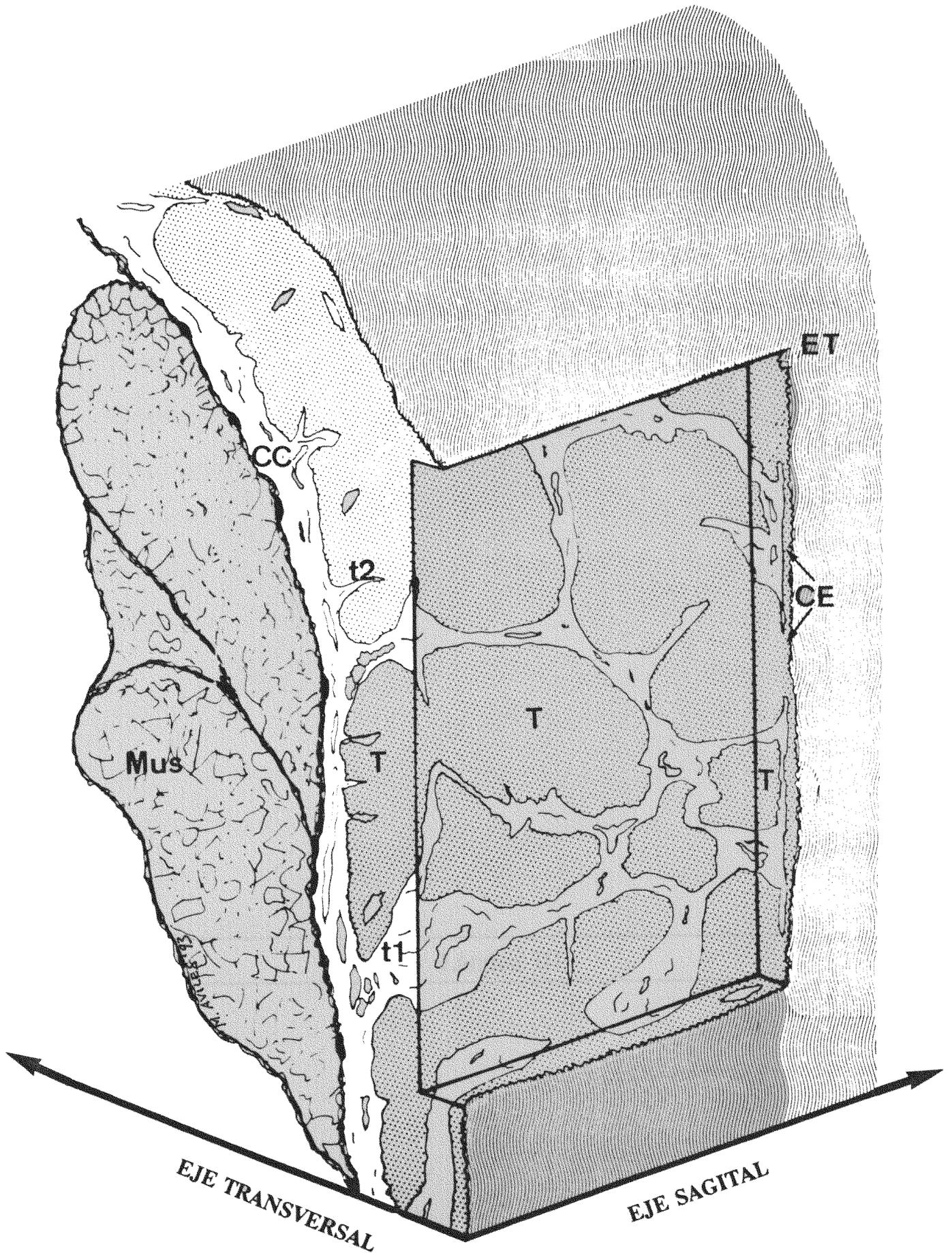


Lámina III.

**Figura 7.** Sección semifina de la región central de un lóbulo tímico. El epitelio tímico (ET) está constituido por células epiteliales (e), mucosas (Mu) y macrófagos superficiales (Ms). La región subepitelial (SE) está integrada por células epitelio reticulares (ER), mucosas (Mu), de cloruro (Cl), macrófagos (M) y linfocitos (L). Nótese la continuidad del parénquima tímico de la región subepitelial con la zona externa (ZE). Trabéculas secundarias (t2). CER claras (ERc). Figuras de apoptosis (ap). Cavityad branquial (B). Azul de toluidina. x1.200.

**Figura 8.** Sección semifina de la región marginal de un lóbulo tímico. Los componentes celulares del epitelio tímico (ET) y de la región subepitelial (SE) son los mismos que los indicados en la figura 7. Trabéculas primarias (t1) con vasos sanguíneos (V). CER limitantes (ERl). Zona externa (ZE). CER claras (ERc). Linfoblastos (Lb). Linfocitos (L). Mitosis (mi). Cavityad branquial (B). Azul de toluidina. x1.200.

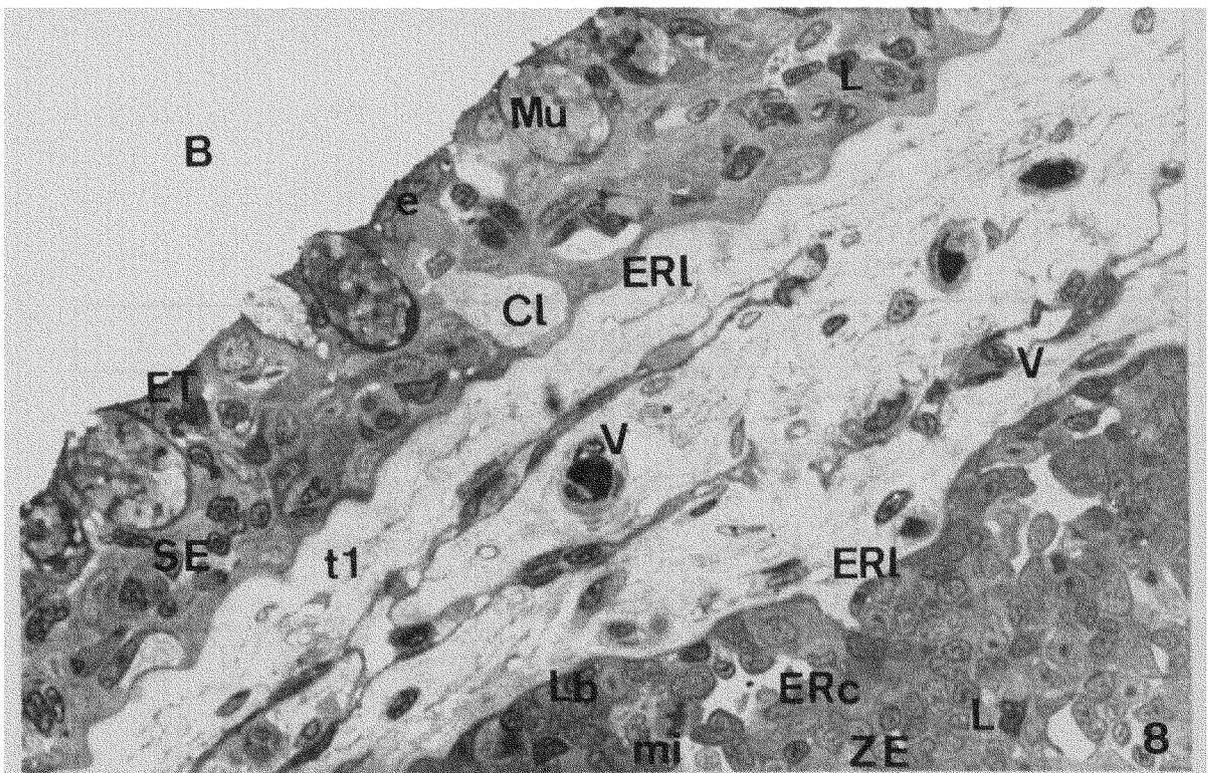
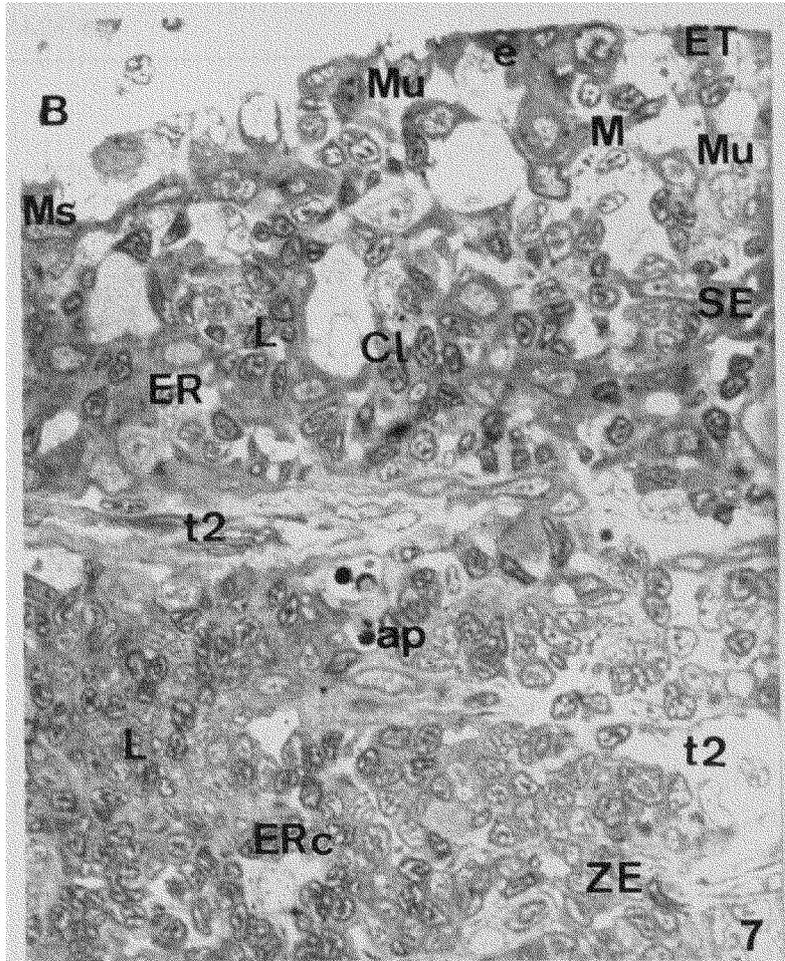


Lámina IV.

**Figura 9.** Sección transversal del timo de lubina teñida con PAS. Se observa reacción positiva en las células mucosas (Mu) del epitelio y del parénquima tímico. Nótese la positividad del agregado melanomacrofágico (AMM) y de la membrana basal (†) a nivel de las trabéculas (t) y de la cápsula conectiva (CC). x400.

**Figura 10.** Sección transversal del timo teñida con Azul Alcian (pH 1). Obsérvese la reacción positiva de las células mucosas (Mu) del epitelio y parénquima. x400.

**Figura 11.** Sección transversal del área marginal de un lóbulo tímico teñida con Azul Alcian (pH 2,5). Obsérvese la reacción positiva de las células mucosas (Mu). x400.

**Figura 12.** Sección semifina de la zona externa del timo de lubina. Se observa un agregado melanomacrofágico sin cápsula limitante. Azul de toluidina. x1.200. En los detalles de la figura 12 resaltamos las características citoquímicas de los agregados melanomacrofágicos. En las figuras 12a, b y c se evidencia la positividad a la tinción de PAS, técnica para las melaninas y técnica de azul de Turnbull, respectivamente. En la figura 12d se muestra la reacción negativa con el azul de Prusia de PERLS. x640.

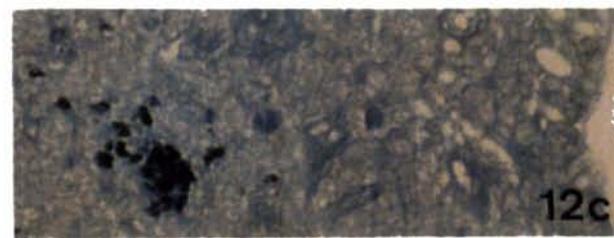
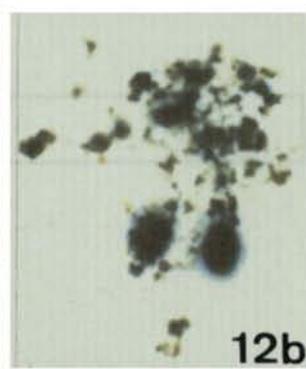
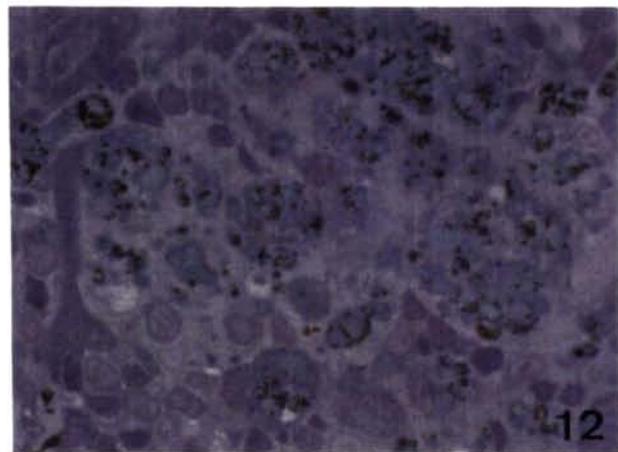
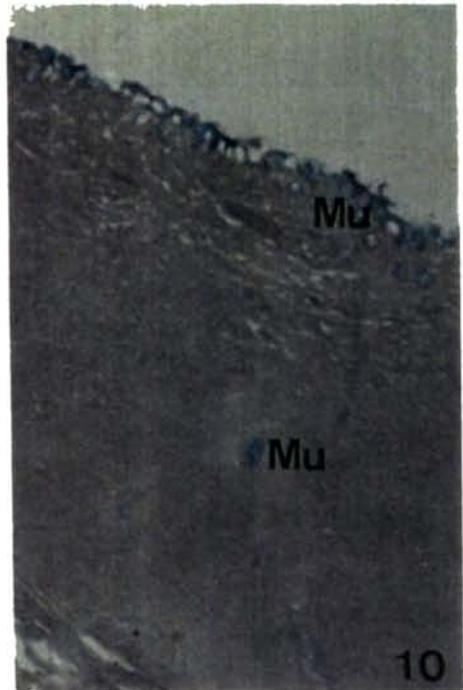
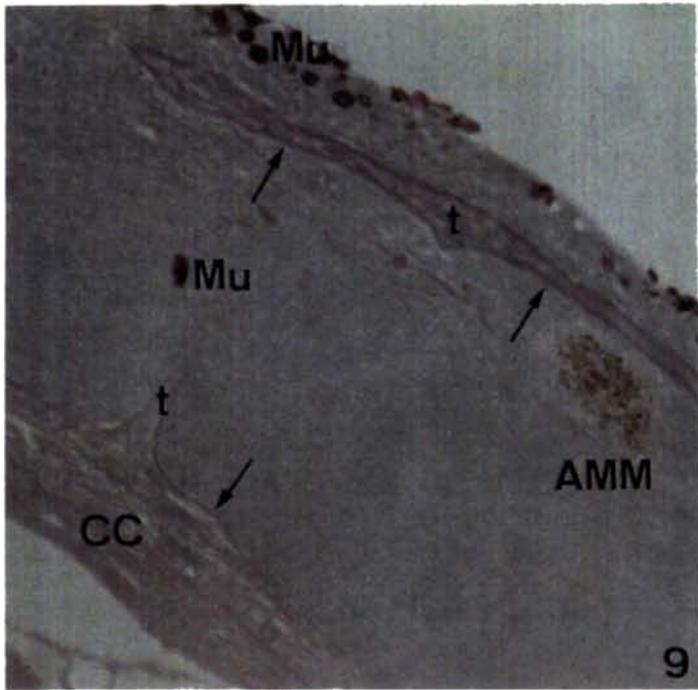


Lámina V.

**Figura 13.** Sección semifina de la región de transición entre la zona externa (ZE) e interna (ZI) del parénquima tímico. CER claras (ERc). Linfocitos (L). Eritrocitos (Er) extravasados. Granulocito heterófilo (H). Azul de toluidina. x1.200.

**Figura 14.** Sección semifina de la zona externa. Nótese la presencia de emperipolesis de linfocitos (†) por CER claras (ERc). Macrófago con un linfocito apoptótico fagocitado (M). Azul de toluidina. x1.200.

**Figura 15.** Sección semifina de la zona externa profunda. Obsérvese la presencia de CER oscuras con vacuolas claras (ERo). Trabéculas (t) con vasos sanguíneos (†). Azul de toluidina. x1.200.

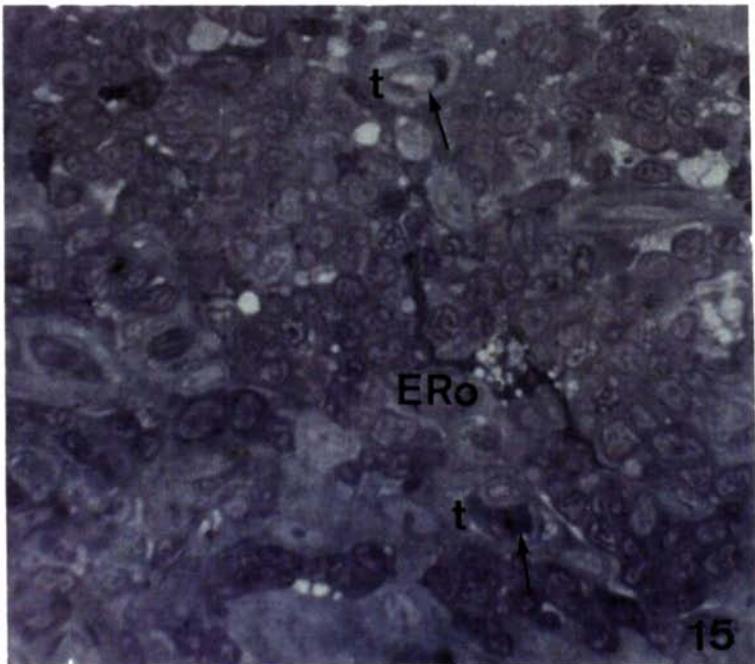
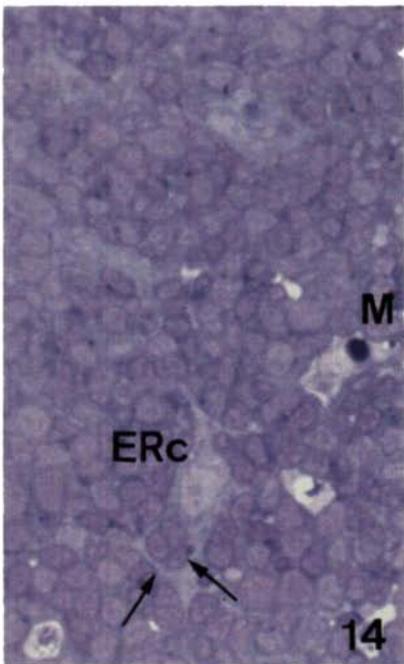
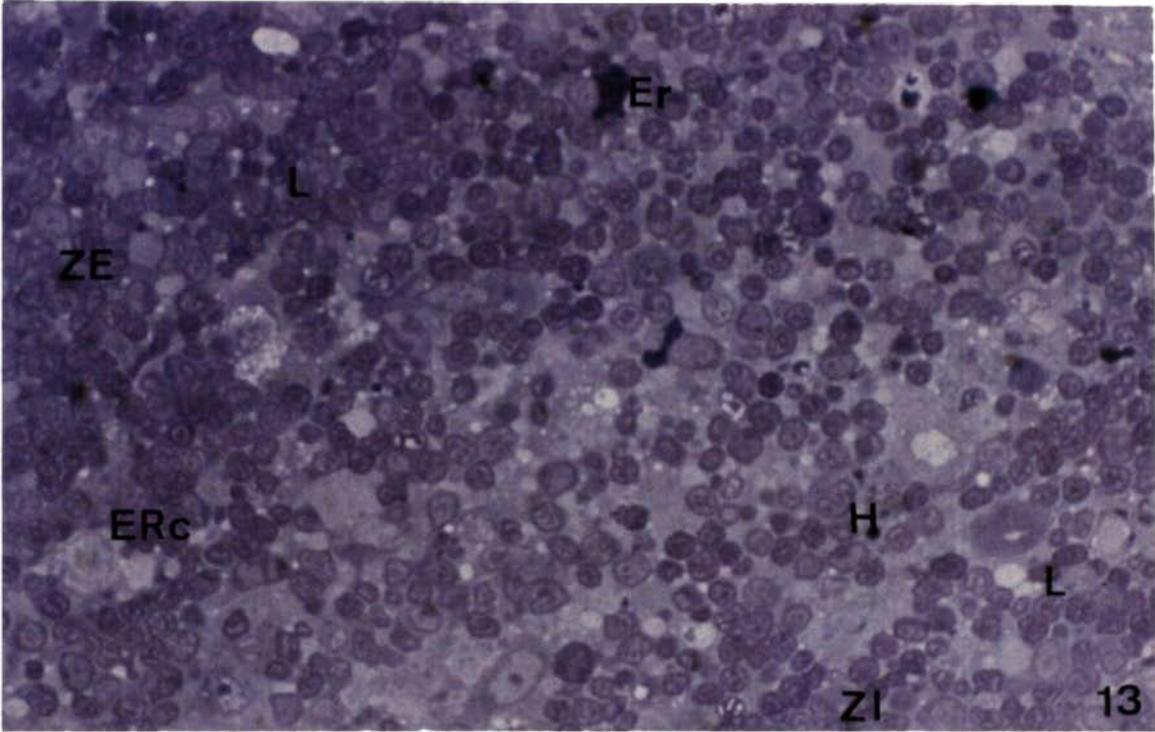


Lámina VI.

**Figura 16.** Sección semifina del parénquima de la zona interna del timo. Linfocitos en apoptosis (ap). CER oscuras (ERo). Granulocito heterófilo (H). Macrófagos (M). Trabécula (t). Azul de toluidina. x1.200.

**Figura 17.** Sección semifina de la zona interna profunda del timo de lubina mostrando un área de necrobiosis de células linfoides. CER limitantes (ERl). Trabécula (t). Vasos sanguíneos (V). Cápsula conectiva (CC). Azul de toluidina. x1.200.

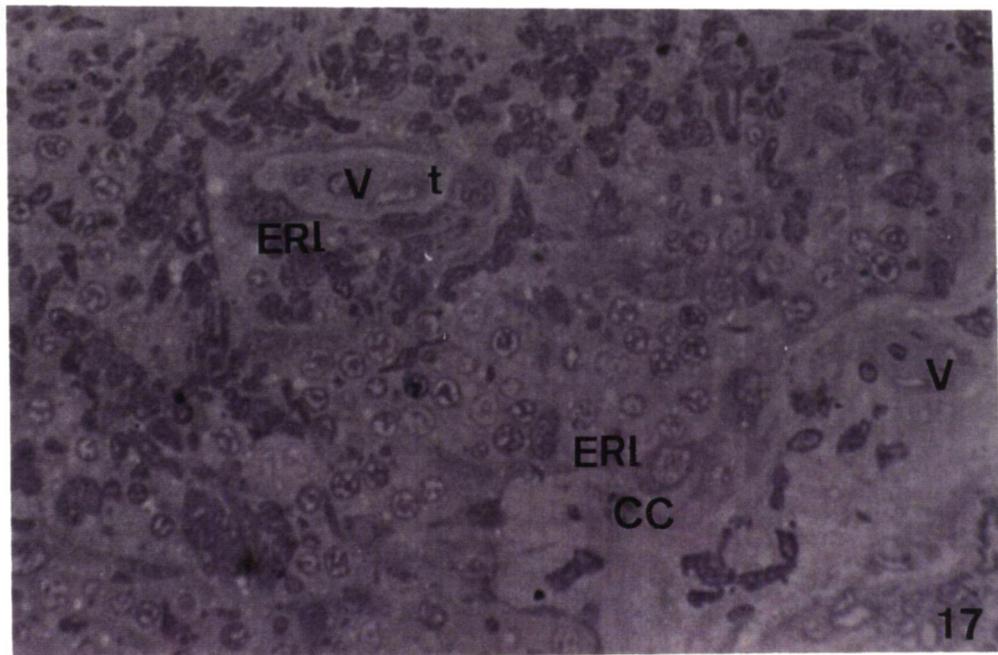
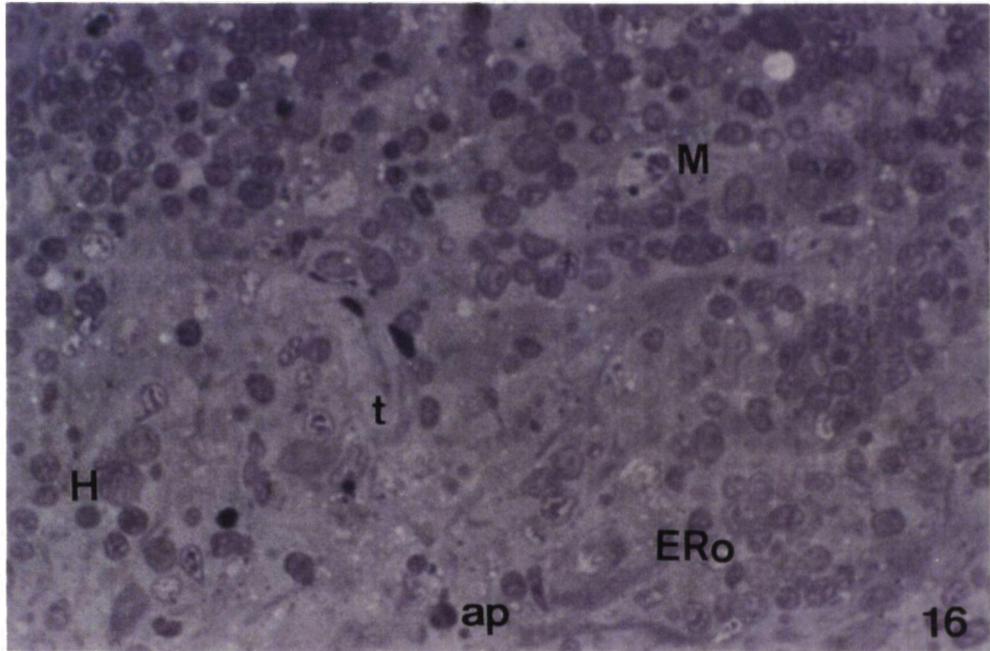


Lámina VII.

**Figura 18.** Detalle de la zona interna del timo mostrando la presencia de un agregado melanomacrofágico que ocupa la casi totalidad de un lobulillo (▲). PAS. x250.

**Figura 19.** Sección semifina del parénquima de la zona interna del timo de lubina. Macrófagos (M). Células cebadas (Cc). Linfocitos (L). Linfoblastos (Lb). CER limitantes (ERl). Trabécula (t). Vaso (V). Cápsula conectiva (CC). Azul de toluidina. x1.400.

**Figura 20.** Sección semifina del parénquima de la zona interna profunda del timo. Célula mioide (Cm). Granulocito heterófilo (H). CER claras (ERc). CER oscuras (ERo) con vacuolas claras. Macrófagos (M). Cápsula conectiva (CC) con abundante infiltración de linfocitos (L). Azul de toluidina. x1.200.

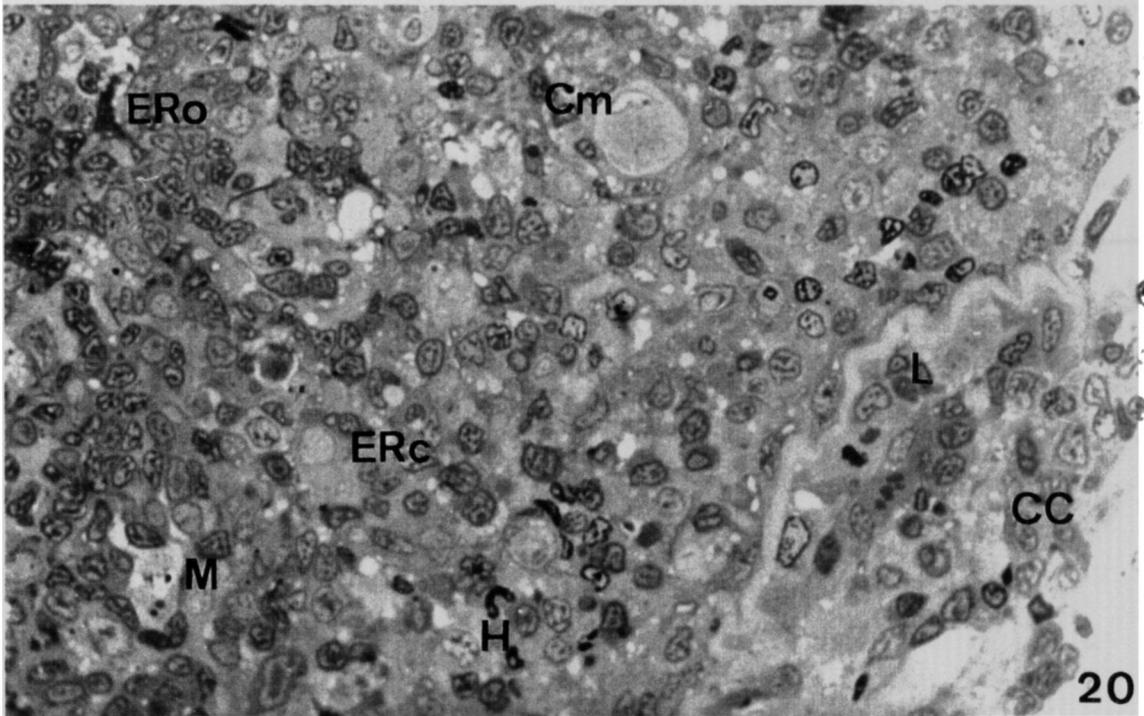
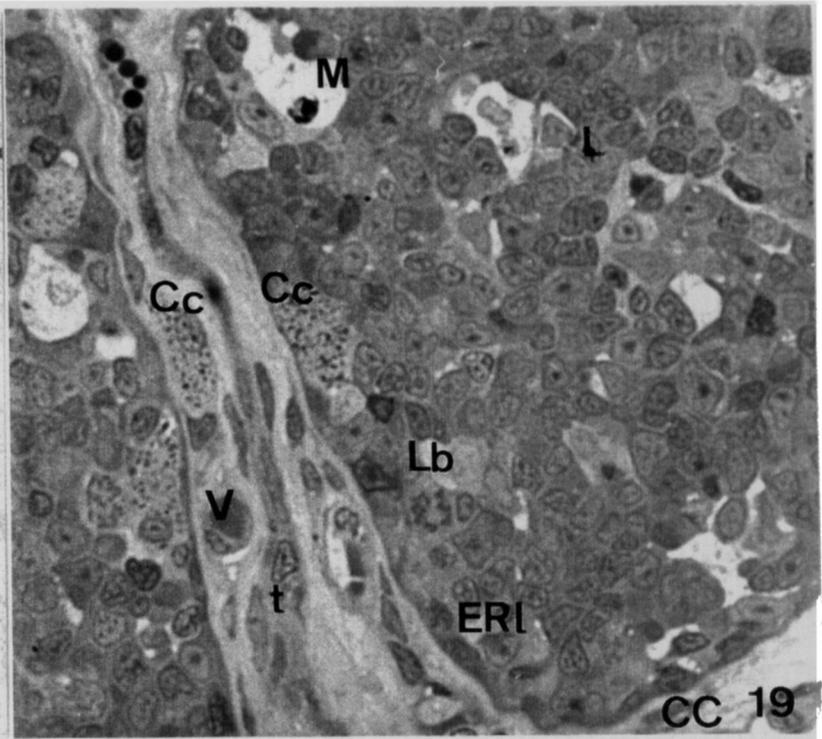
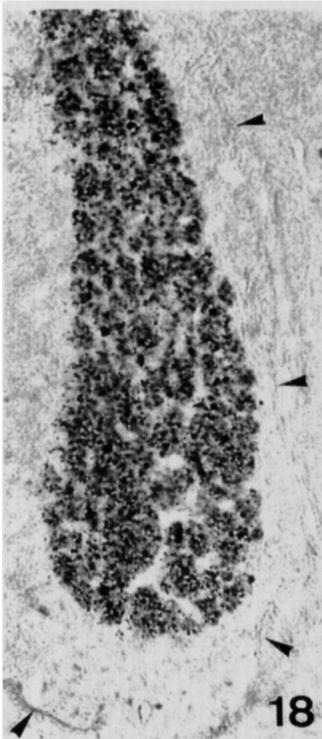


Lámina VIII.

**Figura 21.** Sección semifina del parénquima de la zona interna del timo de lubina. Células mucosas (Mu). CER oscuras (ERo) con vacuolas claras. Trabéculas (t). Azul de toluidina. x1.200.

**Figura 22.** Sección semifina del parénquima de la zona interna profunda del timo de lubina. Células cebadas (Cc). CER limitantes (ERl). Trabécula (t). Cápsula conectiva (CC). Vaso sanguíneo (V). Azul de toluidina. x1.200.

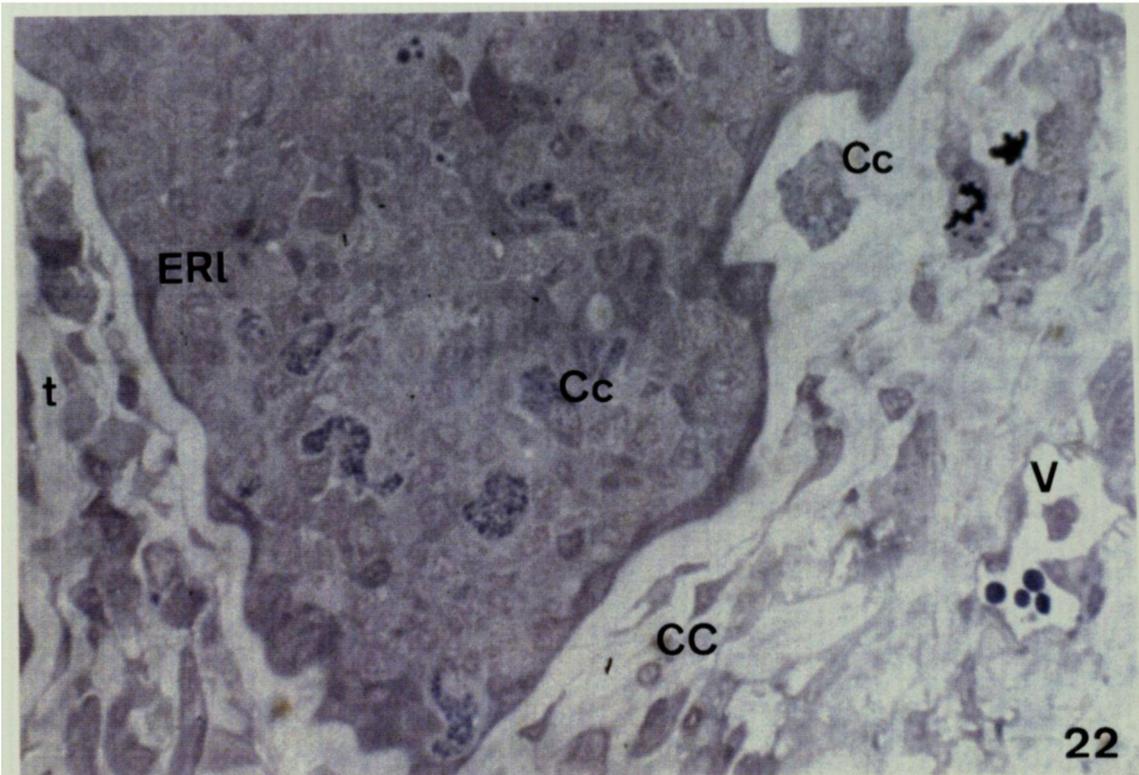
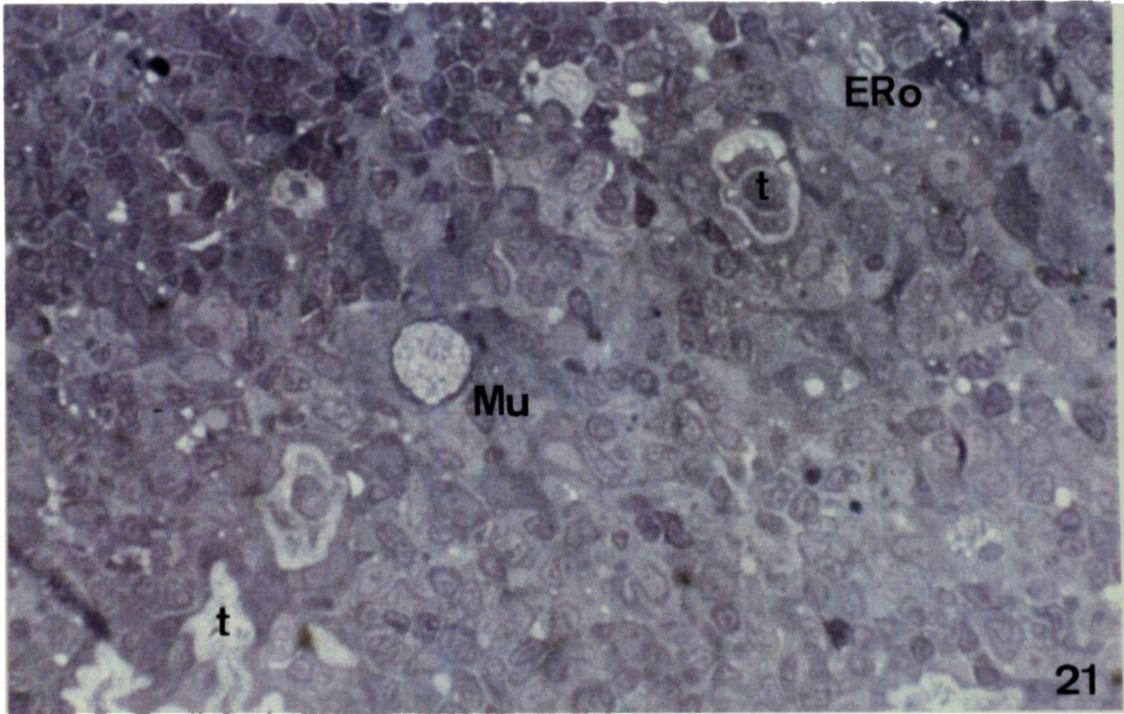
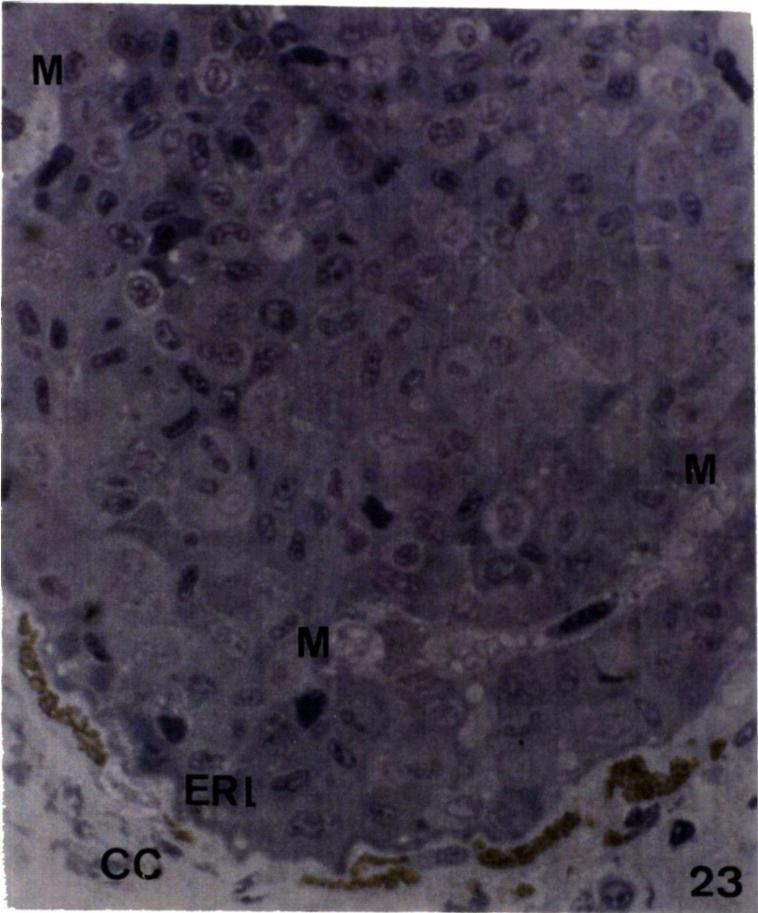


Lámina IX.

**Figura 23.** Sección semifina de la zona interna profunda del timo de lubina mostrando un área mielopoyética. Se observa la presencia de células de las series eritropoyética y granulopoyética. Nótese la asociación lineal de macrófagos (M) delimitando parcialmente islotes. CER limitantes (ERl). Cápsula conectiva (CC). Azul de toluidina. x1.200.



## **2. ESTUDIO CON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION.**

### **2.1. CAPSULA EPITELIAL.**

El estudio mediante microscopía electrónica de transmisión de la cápsula epitelial del timo de lubina confirma la estructura descrita con microscopía óptica, diferenciándose el epitelio tímico y la región subepitelial (Fig. 24).

#### **2.1.1. EPITELIO TIMICO.**

El epitelio que recubre externamente al timo de lubina es plano, simple y discontinuo, con pequeñas criptas o invaginaciones (Fig. 25) similares a las descritas en el epitelio faríngeo de la cavidad branquial de peces teleósteos

marinos. En el fondo de las criptas del epitelio tímico se observa la presencia de células mucosas, células de cloruro y/o macrófagos superficiales (Figs. 25, 30).

El epitelio tímico está constituido por células epiteliales, células mucosas, células de cloruro y macrófagos superficiales, que describimos a continuación.

#### 2.1.1.1. Células epiteliales.

Las células epiteliales superficiales son planas, con largas prolongaciones citoplasmáticas y un soma celular que incide en la región subepitelial. La superficie luminal de estas células está recubierta por un delgado glicocáliz y emite microvellosidades banales de longitud variable (Figs. 24, 25, 26).

Las células epiteliales superficiales se interrelacionan entre ellas a través de la superficie celular lateral, por medio de complejos de unión en la región supranuclear y por debajo de esta región mediante profundas interdigitaciones y pequeños desmosomas (Fig. 24). Inmediatamente por debajo de la superficie celular libre y orientados paralelamente a la membrana apical aparecen filamentos organizados en un velo terminal (Fig. 27), cuyos bordes se anclan en una zónula adherens que rodea el borde apical de la célula; desde el velo terminal algunos microfilamentos se pueden extender dentro de las

microvellosidades (Fig. 24). En algunas de las células que constituyen el epitelio tímico, el velo terminal puede estar ausente (Fig. 24). Estas células poseen un gran núcleo central polimorfo con una banda de heterocromatina periférica y algunos grumos centrales (Fig. 24). El citoplasma está ocupado por cisternas de RER y un aparato de Golgi bien desarrollado de disposición infranuclear, que presenta en sus proximidades numerosas vesículas claras y cubiertas; también se observan numerosas mitocondrias pequeñas, de forma redondeada, con crestas mitocondriales anchas, espacio intermembranal transparente a los electrones y matriz mitocondrial finamente granulada y electronodensa. Los ribosomas libres y polirribosomas son comunes. También aparecen gránulos pequeños y electronodensos limitados por membrana, que están presentes en mayor concentración en las proximidades de la superficie celular libre; los más superficiales parecen estar en contacto con la membrana plasmática apical. Además, también se observan vesículas de contenido foculento o vacías y, ocasionalmente, vesículas de contenido lamelar (Fig. 28).

En algunas de las células epiteliales superficiales que no presentan gránulos o son muy escasos, el aparato de Golgi está excepcionalmente desarrollado y aparecen numerosas vesículas en los extremos de sus cisternas y en sus proximidades (Figs. 24, 27).

### 2.1.1.2. Células mucosas.

Las células mucosas del epitelio tímico proceden de la región subepitelial (Ver etapas de diferenciación en el apartado IV.2.1.2.3). Estas células aparecen aisladas (Figs. 28, 29) o en pequeños grupos (Fig. 24) en la superficie epitelial o en el fondo de pequeñas criptas (Fig. 25). Las células mucosas se relacionan con las células epiteliales por medio de numerosas interdigitaciones cortas y pequeños desmosomas (Fig. 24).

Son células de aspecto relativamente grande similares a las células caliciformes del epitelio faríngeo de la cavidad branquial de peces teleósteos (Figs. 28, 29). El núcleo se dispone en el polo basal de la célula, es polimorfo, eucromatínico con una estrecha banda y escasos grumos centrales de heterocromatina. El citoplasma está ocupado en su mayoría por grandes gránulos de secreción de aspecto finamente granular que son secretados por un mecanismo merocrino (Figs. 27), quedando el resto de las organelas citoplasmáticas relegadas a las proximidades del núcleo y a una estrecha banda periférica (Fig. 28).

Conforme se produce la secreción (Fig. 28), las organelas se reorganizan, al mismo tiempo que la célula pierde el contacto con la superficie epitelial (Fig. 31).

#### **2.1.1.3. Células de cloruro.**

En las micrografías electrónicas se observa que ocasionalmente las células de cloruro o ionocitos alcanzan, por su polo apical, la superficie libre del epitelio tímico en las criptas epiteliales (Ver descripción en apartado IV.2.1.2.4).

#### **2.1.1.4. Macrófagos superficiales.**

El estudio ultraestructural del epitelio tímico de lubina pone de manifiesto, tanto en las criptas epiteliales (Fig. 30) como en áreas más superficiales (Figs. 26, 28) del epitelio tímico, la presencia de unas células que destacan por su baja electronodensidad, gran tamaño, contorno irregular y citoplasma con un contenido altamente heterogéneo. Estas células presentan rasgos ultraestructurales similares a los macrófagos intraparenquimáticos del resto de zonas que forman el timo de lubina. Por su localización, en contacto directo con el medio externo, y ultraestructura les denominamos macrófagos superficiales.

Estas células se disponen entre las células epiteliales superficiales y presentan largas prolongaciones citoplasmáticas; que se proyectan sobre las células epiteliales superficiales adyacentes (Fig. 28), a las que se unen por medio de pequeños desmosomas (Fig. 26). La superficie celular libre de los macrófagos,

al igual que en las células epiteliales superficiales, está recubierta por glicocáliz y presenta aspecto ligeramente ondulado (**Fig. 26**).

En las micrograffas electrónicas estas células presentan núcleo irregular, eucromático, con escasa heterocromatina periférica. En el citoplasma destaca un aparato de Golgi muy desarrollado que en sus proximidades presenta numerosas vesículas de mediana electronodensidad y microtúbulos, lisosomas primarios de diversos tamaños y formas, unas pocas mitocondrias redondeadas de matriz clara y escasas crestas, pocos perfiles de RER, en el interior del cual se observan con frecuencia inclusiones paracristalinas, y REL; también aparecen ribosomas libres y polirribosomas en número moderado (**Fig. 30**).

### **2.1.2. REGION SUBEPITELIAL.**

El parénquima tímico de la región subepitelial (**Fig. 24**) está integrado por varios tipos celulares característicos que proporcionan a esta zona un aspecto diferente del resto del parénquima tímico de lubina.

#### **2.1.2.1. Células epitelio reticulares.**

Las CER de la zona subepitelial forman el estroma subepitelial y

se interrelacionan a través de interdigitaciones y desmosomas entre sí y con las células epiteliales superficiales y mucosas del epitelio tímico (Figs. 24, 26, 29).

En las micrografías electrónicas las CER son numerosas; pero no notables como en el resto de zonas del parénquima tímico, debido en parte a la mayor heterogeneidad de tipos celulares no epitelio reticulares presentes en esta zona y a las estrechas interrelaciones que se establecen entre las células. Las CER de esta zona se caracterizan por presentar una apariencia más ramificada y un soma celular más constreñido que las del resto del citorretículo tímico; además presentan numerosos desmosomas pequeños en sus membranas plasmáticas laterales que las relacionan estrechamente con otros tipos celulares no epitelio reticulares del parénquima de esta zona; como las células mucosas y sus diferentes estadios de maduración o, incluso, linfocitos a los que pueden aparecer unidos estrechamente, por medio de desmosomas (Fig. 34).

El citorretículo de esta zona está compuesto por CER limitantes, claras y oscuras, aunque predominan las CER oscuras.

#### **2.1.2.1.1. Células epitelio reticulares limitantes.**

Las CER limitantes aparecen dispuestas sobre la membrana basal de las trabéculas que marcan el límite entre la cápsula epitelial y la zona externa (Fig. 32).

Las CER limitantes son aplanadas, con largas prolongaciones

citoplasmáticas más delgadas en sus extremos, donde hay pequeños desmosomas e interdigitaciones que les unen entre sí y con el resto de células del citorretículo (Fig. 33).

El núcleo es alargado (Fig. 32), con forma triangular o trapezoidal (Fig. 33) en sección transversal y eucromático, con heterocromatina de disposición marginal y en pequeños grumos centrales. Presentan con frecuencia un nucléolo patente. El citoplasma es de mediana electronodensidad, con abundantes tonofilamentos que pueden aparecer agrupados en pequeños y cortos haces dispuestos en la zona perinuclear y en los extremos de las prolongaciones citoplasmáticas. Las organelas citoplasmáticas, escasas y poco desarrolladas, están representadas por un aparato de Golgi, cisternas de RER, pequeñas mitocondrias, ribosomas libres y pequeñas vesículas claras, que son especialmente abundantes en las proximidades de la membrana plasmática del polo basal (Figs. 32, 33).

#### **2.1.2.1.2. Células epitelio reticulares claras.**

Las CER claras (Figs. 32, 35) destacan por la baja electronodensidad tanto del núcleo, como del citoplasma. Son células de gran tamaño y de forma irregular, con gruesas prolongaciones citoplasmáticas que se extienden entre las células vecinas y en sus extremos se unen con otras CER, mediante desmosomas e interdigitaciones.

El núcleo es eucromático, de gran tamaño, forma redonda u ovalada con contorno ligeramente ondulado y acúmulos marginales de heterocromatina. Presenta, frecuentemente, un nucléolo. La matriz citoplasmática es clara con pocos ribosomas libres y algunos polirribosomas que aparecen dispersos por todo el citoplasma, RE de escasas cisternas cortas, mitocondrias pequeñas de aspecto bastoniforme y aparato de Golgi poco desarrollado. Los haces de tonofilamentos, característicos de las CER, tienen longitud variable y, aunque se disponen por todo el citoplasma, son más patentes alrededor del núcleo y en las prolongaciones citoplasmáticas, en donde se insertan sobre los desmosomas (Fig. 35).

#### **2.1.2.1.3. Células epitelio reticulares oscuras.**

Las CER oscuras se caracterizan por una elevada electronodensidad del protoplasma. Estas células son irregulares, con aspecto estrellado debido a las prolongaciones citoplasmáticas y se relacionan entre sí y con otros tipos de CER por medio de desmosomas e interdigitaciones (Figs. 29, 36).

El núcleo es irregular y de disposición central con acúmulos marginales y centrales de heterocromatina. El citoplasma se caracteriza por la presencia de numerosos haces de tonofilamentos y con excepción de las numerosas mitocondrias de forma redondeada y los abundantes ribosomas libres,

el resto de organelas son escasas y/o están poco desarrolladas (Fig. 36).

#### 2.1.2.2. Células linfoides.

La población celular más numerosa del parénquima de la zona subepitelial son las células linfoides (Fig. 24), al igual que en el resto de zonas del timo, que aparecen ocupando la mayoría de los espacios libres de la red estromática. Es frecuente, además, observar células linfoides aisladas o en pequeños grupos inmediatamente debajo del epitelio tímico, separadas del medio externo de la cavidad branquial sólo por una simple capa de células epiteliales aplanadas (Figs. 26, 27, 29).

Dentro de la población de células linfoides de esta zona se diferencian dos tipos de linfocitos según su tamaño, medianos y pequeños. Estas células se encuentran mezcladas entre sí, en proporción similar, y distribuidas homogéneamente por toda la zona. Los rasgos ultraestructurales son similares en ambos tipos de linfocitos, los cuales difieren principalmente en la relación núcleo/citoplasma, menor en las células grandes que en las pequeñas (Fig. 36).

En los linfocitos mediano (Fig. 32) el núcleo tiene cromatina moderadamente condensada y nucléolo poco patente. El citoplasma aparece como una estrecha banda de baja densidad a los electrones y escasas organelas, representadas por un aparato de Golgi poco desarrollado y en sus proximidades

suele aparecer un diplosoma, escasas cisternas de RER, abundantes ribosomas libres, mitocondrias pequeñas y poco numerosas, generalmente en las proximidades del complejo de Golgi. Sólo excepcionalmente se ven algunos gránulos pequeños densos y cuerpos lamelares.

Los linfocitos pequeños (Fig. 36) destacan por su mayor electronodensidad, tienen núcleo redondeado con cromatina muy condensada que presenta un modelo radial de distribución. El ribete citoplasmático es mucho más estrecho que en los linfocitos grandes y carecen prácticamente de organelas, observándose sólo algunas mitocondrias que producen una suave indentación en el núcleo y ribosomas libres.

También se observan, por las características ultraestructurales del núcleo y citoplasma, células transicionales entre ambos tipos de linfocitos.

Entre estas células los procesos de degeneración celular, principalmente por apoptosis (Figs. 24, 33), no son numerosos pero sí notables. Este fenómeno se caracteriza ultraestructuralmente porque las membranas permanecen intactas y en el citoplasma las organelas están empaquetadas, pero su estructura no está alterada. En contraste con las organelas citoplasmáticas, morfológicamente intactas, los principales cambios se observan a nivel del núcleo, en donde hay una agregación de la cromatina en densas masas de heterocromatina con forma semilunar que aparecen adheridas a la membrana nuclear interna. Las células degeneradas pueden aparecer libres o fagocitadas

por macrófagos.

### **2.1.2.3. Células mucosas.**

Las células secretoras mucosas aparecen en el epitelio superficial (Fig. 24), como ha sido descrito anteriormente, y aisladas (Fig. 30) o en pequeños grupos (Fig. 37) en el parénquima de la zona subepitelial.

Las características morfológicas nos permiten establecer la serie de diferenciación de este tipo celular, representada por las siguientes etapas:

#### **- Etapa I:**

Las células mucosas más jóvenes (Figs. 37, 38) son de mediana electronodensidad, forma redondeada o poliédrica. El núcleo redondeado, de disposición central, es eucromatínico con grumos marginales y centrales de heterocromatina. El citoplasma de estos primeros estadios muestra un aspecto granular, debido a la abundancia de ribosomas libres dispersos y a las numerosas cisternas de RER, más o menos dilatadas y dispuestas desordenadamente en el citoplasma celular. Poseen escasas mitocondrias de forma redondeada. Estas células, al igual que las del resto de la serie, se unen con las CER vecinas por medio de pequeños desmosomas e interdigitaciones de escaso desarrollo.

**- Etapa II:**

Esta etapa (Figs. 37, 39) se caracteriza por la presencia de un aparato de Golgi constituido por varios dictiosomas bien desarrollados, que se disponen rodeando parcialmente al núcleo. Entre el RER y la cara formadora del aparato de Golgi aparecen vesículas de transición o intermedias, mientras que en la cara de maduración se observan vesículas de condensación, así como cuerpos multivesiculares. El RER está más dilatado que en el estadio previo. Las mitocondrias son grandes y ovaladas. El núcleo está lateralizado y muestra características similares a la etapa anterior, aunque posee más condensaciones centrales de heterocromatina y la membrana nuclear está dilatada.

**- Etapa III:**

En esta etapa (Figs. 37, 40) las células presentan un RER más dilatado, con contenido de mediana electronodensidad, finamente granular y distribución homogénea en su luz. Las vesículas de transición son muy numerosas. El aparato de Golgi, constituido por numerosos dictiosomas, parece tener una mayor actividad, presentando cisternas más dilatadas y de contenido más electronodenso que en etapas previas. Así mismo, las vesículas de condensación, de contenido electronodenso, de la cara de maduración del aparato de Golgi coalescen entre sí y con vacuolas de presecreción claras de mayor tamaño y contenido filamentoso; en esta etapa ya se observan vacuolas

de secreción de contenido finamente granular, electronodensidad media y distribución uniforme. El núcleo presenta aspecto y disposición similar a la etapa anterior.

**- Etapa IV:**

En esta etapa (Figs. 37, 41) las vesículas de secreción son más numerosas y comienzan a desplazar al núcleo y organelas a la periferia celular. La célula adquiere forma redondeada u oval. El núcleo arrañado, aparece polarizado hacia el margen celular; mientras que las organelas citoplasmáticas quedan relegadas a la zona paranuclear, donde son más patentes, y a una banda periférica entorno al centro del citoplasma ocupado ya por numerosos gránulos de secreción limitados por membrana, que tienen aspecto similar a los de las células maduras. El aparato de Golgi está menos desarrollado y el RER es similar al de la fase anterior, presentando este último un contenido de densidad y textura parecida al de los gránulos de secreción presentes en las células de este estadio. También aparecen cuerpos multivesiculares y mitocondrias entre las cisternas.

**- Etapa V:**

Las células (Figs. 37, 42) están totalmente desarrolladas y presentan gran tamaño y forma ovoide; caracterizándose por un núcleo

aplanado, electronodenso, de cromatina granulada y algo más densa en la periferia y una pequeña cantidad de citoplasma marginal muy electronodenso, mientras que el área central del citoplasma está lleno de gránulos de secreción de baja electronodensidad. Las cisternas de RER se disponen paralelamente a la superficie celular, que originan la basofilia descrita con microscopía óptica, en el escaso citoplasma marginal y paranuclear, el complejo de Golgi está presente localizándose entre los gránulos de secreción y el RER con una disposición similar a la de este último. Las mitocondrias muy escasas son de aspecto fusiforme. Los gránulos de mucígeno están envueltos por membranas, que con frecuencia coalescen formando gránulos pleomorfos de gran tamaño (Fig. 37). El aspecto del material contenido varía en densidad y apariencia ultraestructural; siendo éste, generalmente, granular fino y de baja electronodensidad y a veces aparece una condensación central de aspecto filamentoso (Fig. 29) o excéntrica de aspecto homogéneo (Fig. 37).

**- Etapa VI:**

Finalmente, las células mucosas maduras próximas al epitelio tímico descargan su secreción a través del epitelio tímico (Fig. 24). Cuando la secreción ha tenido lugar, la célula presenta cerca de la superficie libre sólo unos pocos gránulos de secreción, que contienen en su interior figuras de mielina (Figs. 24, 31). Por lo general, las células mucosas que alcanzan este

estadio (Fig. 31) no muestran signos de degeneración; poseen un núcleo ovoide de contorno ligeramente ondulado, de disposición basal y eucromático con escasa heterocromatina periférica y nucléolo patente. Entre las organelas citoplasmáticas sólo hay unas pocas mitocondrias redondeadas, abundantes ribosomas libres y RER no dilatado. Este último estadio recuerda a las primeras etapas de desarrollo de este tipo celular.

#### 2.1.2.4. Células de cloruro.

Las células secretoras de cloruro o ionocitos que aparecen en el timo de lubina presentan características ultraestructurales similares a las células de cloruro descritas en el epitelio faríngeo de la cavidad branquial de peces teleósteos. Estas grandes células son muy escasas en el timo de lubina y se localizan tanto en el epitelio tímico (como vimos anteriormente) como en el parénquima de la zona subepitelial a diferentes profundidades, pudiendo llegar incluso a aparecer en áreas próximas al límite con la zona externa del timo, siendo su número escaso (Fig. 33).

Son células de aspecto irregular, aparecen aisladas y se relacionan con las CER vecinas por medio de desmosomas e interdigitaciones, poco numerosas y de escaso desarrollo. Presentan núcleo irregular eucromático con heterocromatina en pequeños acúmulos periféricos y grumos centrales dispersos

por el nucleoplasma y nucléolo, frecuentemente, patente.

El citoplasma de estas células se caracteriza por contener un elevado número de grandes mitocondrias pleomórficas, de aspecto hinchado, con numerosas crestas tubulares que destacan sobre la matriz densa y REL muy desarrollado formado por numerosas vesículas claras y una amplia red de túbulos anastomosados, que llegan a establecer contacto con la membrana plasmática de la célula. La luz de estos túbulos presenta un material finamente granular y filamentososo de distribución heterogénea. El RER está formado por escasos perfiles y también son poco numerosos los ribosomas libres. El aparato de Golgi está poco desarrollado y en sus proximidades pueden aparecer lisosomas primarios de diámetro pequeño. En algunas ocasiones se observan microtúbulos en el citoplasma.

#### **2.1.2.5. Macrófagos.**

Los macrófagos representan otro de los componentes celulares presentes invariablemente en la población celular del timo de lubina. Son fácilmente reconocibles en las micrográficas electrónicas del parénquima de la región subepitelial por la carencia de desmosomas y la presencia de heterofagosomas en su citoplasma (Figs. 32, 35, 36), a diferencia de los macrófagos superficiales del epitelio tímico (Previamente descritos).

Los macrófagos (Figs. 32, 35) se caracterizan ultraestructuralmente por ser células grandes y de contorno irregular, debido a la presencia de numerosas prolongaciones citoplasmáticas y profundas invaginaciones de la membrana plasmática, a menudo de naturaleza laberintiforme. El núcleo es excéntrico, de forma irregular pudiendo presentar profundas indentaciones, eucromático con un pequeño ribete marginal y algunos grumos centrales de heterocromatina. El nucléolo aparece frecuentemente y tiene disposición periférica. El abundante citoplasma de estas células destaca en las micrografías electrónicas por su baja electronodensidad y su aspecto muy heterogéneo, debido a los grandes fagolisosomas con restos celulares en diferente estado de digestión (Fig. 35). Las organelas citoplasmáticas comprenden un aparato de Golgi prominente, constituido por numerosos dictiosomas y vesículas, que se localiza preferentemente en posición yuxtannuclear (Fig. 36); observándose, con frecuencia, un diplosoma que forma parte del complejo de Golgi. El RE, principalmente granular, presenta un desarrollo moderado y aparecen inclusiones poliédricas paracrystalinas (Fig. 35) muy electronodensas en la luz del RER, frecuentemente. Se observan pocas mitocondrias de tamaño grande y forma alargada, que presentan crestas claras y matriz electronodensa. Son de destacar las numerosas vesículas limitadas por membrana y transparentes a los electrones, que presentan un rango de tamaño muy amplio, abarcando desde grandes vesículas con aspecto vacuolar hasta las más pequeñas de naturaleza

micropinocítica (Fig. 35), algunas de las cuales muestran la típica estructura de vesículas cubiertas (Fig. 32). En la matriz citoplasmática hay un número variable de ribosomas libres, dispuestos con frecuencia en evidentes polisomas. El rasgo ultraestructural más llamativo del citoplasma de estas células es el gran número y heterogeneidad de lisosomas primarios de tamaño variable y forma redondeada u oblonga y de lisosomas secundarios de contenido granular o filamentoso que incluyen cuerpos multivesiculares, cuerpos residuales y/o heterofagosomas con restos celulares en diferente grado de digestión lisosomal (Figs. 32, 35). Otras de estas inclusiones tienen un contenido muy heterogéneo, con áreas densas o transparentes a los electrones, figuras de mielina y, algunas veces, estructuras poliédricas de naturaleza paracristalina muy densas a los electrones. Es de destacar la presencia de células linfoides sin ningún síntoma de degeneración en el interior de estos macrófagos (Fig. 36).

#### 2.1.2.6. Granulocitos.

Con microscopía electrónica se observa que entre las células de la región subepitelial también aparecen granulocitos o leucocitos granulares, entre los que se identifican dos poblaciones celulares, granulocitos heterófilos (Fig. 43) y eosinófilos (Fig. 44), en base a la morfología y ultraestructura del contenido granular de sus respectivos citoplasmas y siguiendo criterios

previamente establecidos en vertebrados superiores, así como en peces.

Ambos tipos de granulocitos se encuentran distribuidos de forma aislada por el parénquima de esta zona; aunque son más frecuentes en áreas próximas a la membrana basal limitante del componente extraparenquimático, en donde pueden aparecer en pequeños grupos.

#### **2.1.2.6.1. Granulocitos heterófilos.**

Los granulocitos o leucocitos granulares heterófilos (Fig. 43) poseen gran tamaño y un elevado pleomorfismo, quedando generalmente ambas características enmascaradas por las células vecinas.

El núcleo, generalmente excéntrico, es lobulado con profundas indentaciones y presenta grandes masas de heterocromatina distribuidas en el centro y periferia del nucleoplasma, entre las que aparece eucromatina granulada y un nucléolo poco patente.

El citoplasma contiene un gran número de gránulos limitados por membrana, diferenciándose dos tipos de gránulos según su contenido. Normalmente, ambos tipos de gránulos son de forma bastoniforme y redondeada en sección longitudinal y transversal, respectivamente, y de tamaño bastante uniforme, presentan un halo periférico claro y membrana limitante festoneada.

El primer tipo de gránulos, a los que denominaremos gránulos tipo

I, se caracterizan porque su contenido está constituido por un material fibrilar de disposición paralela al eje mayor del gránulo y poseen electronodensidad media.

El segundo tipo de gránulo, gránulos tipo II, presente en el citoplasma de estas células se caracteriza por poseer un contenido fibrilar muy electronodenso, también de disposición paralela al eje mayor. Algunas veces se observan gránulos tipo II con forma de raqueta, mientras que otros pueden presentar un núcleo paracrystalino mucho más denso que la matriz del gránulo. Este tipo de gránulo es mucho más abundante que los gránulos tipo I.

La matriz citoplasmática de estas células es electronodensa, debido en parte a la presencia de abundantes partículas de glucógeno tipo  $\beta$ . El aparato de Golgi está poco desarrollado, las mitocondrias de forma alargada son escasas y de pequeño tamaño. En la periferia del citoplasma y en las proyecciones de éste aparecen numerosas vacuolas de tamaño mediano y contenido claro. En cuanto al resto de organelas son escasas y/o poco desarrolladas.

#### **2.1.2.6.2. Granulocitos eosinófilos.**

Con microscopía electrónica se observan granulocitos que recuerdan a los descritos en otros vertebrados como granulocitos eosinófilos maduros. Estas células (Fig. 44) destacan sobre las células vecinas por su

---

tamaño relativamente grande y su citoplasma ocupado por abundantes gránulos ovoides altamente electronodensos.

Son células de forma redondeada u ovalada normalmente, aunque también pueden presentar forma irregular. Poseen núcleo excéntrico, de forma oval, ligeramente indentado y eucromático con grumos centrales y marginales de cromatina condensada. El citoplasma está muy empaquetado por la presencia de un abundante número de gránulos limitados por membrana, de contenido homogéneo muy electronodenso. Estos gránulos son grandes y de tamaño bastante uniforme aunque, dependiendo de la sección, éste puede parecer heterogéneo. Algunas veces los gránulos presentan borde irregular. Además, en el citoplasma aparece un aparato de Golgi de desarrollo moderado y perfiles de cisternas de RE. También hay escasas mitocondrias de tamaño pequeño y forma redondeada.

Lámina X.

**Figura 24.** Cápsula epitelial del área marginal de un lóbulo tímico. El epitelio tímico (ET) está integrado por células epiteliales (e) y Células mucosas (Mu). En la región subepitelial (SE) observamos células mucosas de la etapa VI (Mu6), linfocitos (L), apoptosis (ap) y células epitelio reticulares (ER). Membrana basal (mb). Trabécula (t). Desmosomas (d). Interdigitaciones (†). Complejos de unión (□). Cavityad branquial (B). x5.000.

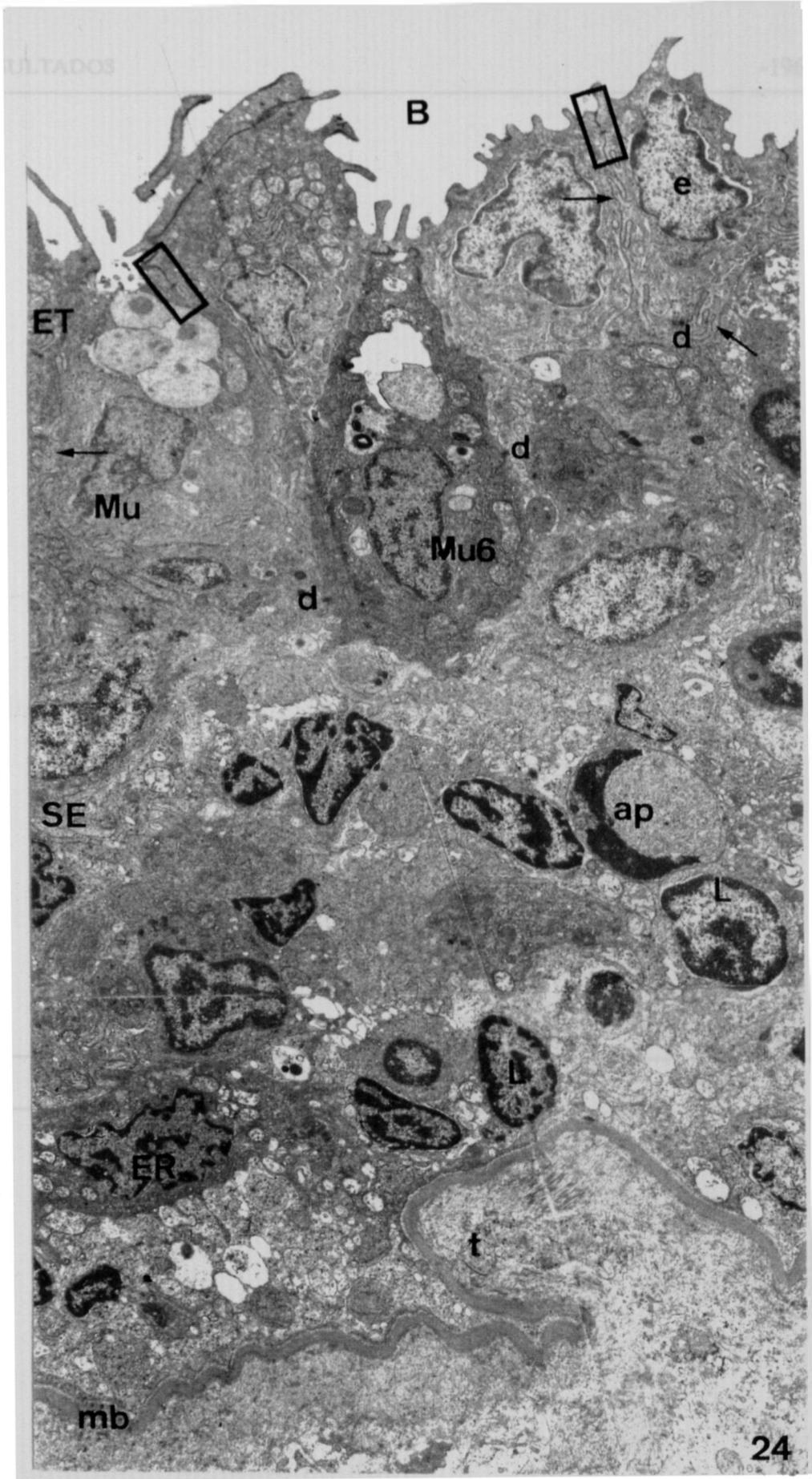


Lámina XI.

**Figura 25.** Cripta en el epitelio tímico de lubina (Cp). Células epiteliales (e).  
Células mucosas (Mu). Célula rodlets (R). Linfocitos (L). Cavityad  
branquial (B). x7.500.

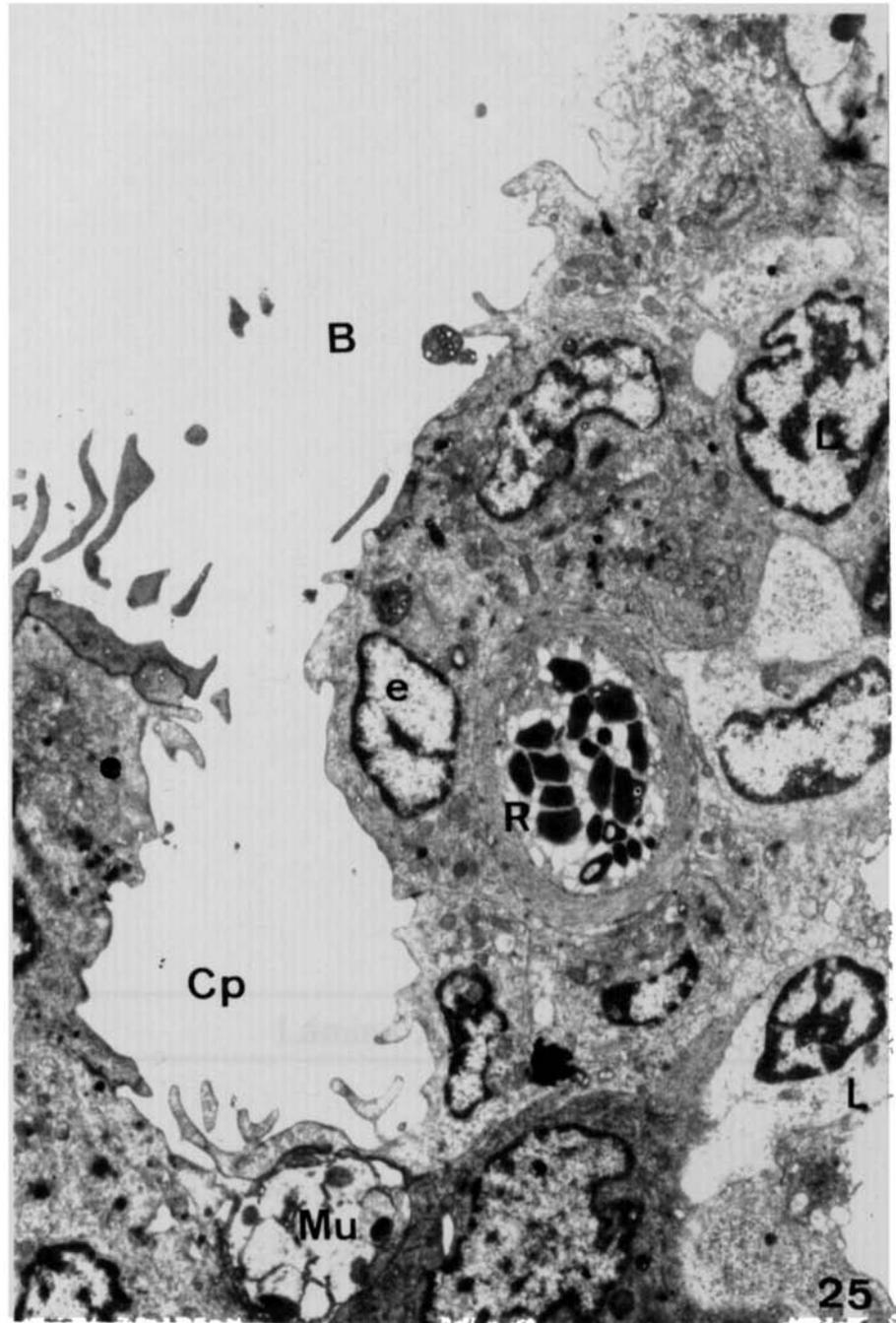


Lámina XII.

**Figura 26.** Detalle del epitelio tímico de lubina. Macrófago superficial (Ms) unido por pequeños desmosomas (†) a células epiteliales (e). CER oscuras (ERo). Nótese el contacto directo de los linfocitos (L) con el epitelio. Glicocáliz (gz). Desmosomas (d). Cavityad branquial (B). x7.500.

**Figura 27.** Detalle del epitelio tímico. Célula epitelial (e) con un aparato de Golgi (G) muy desarrollado y un denso velo terminal (vt). Célula mucosa (Mu), secreción mucosa merocrina (sm). Linfocitos (L). Cavityad branquial (B). x14.400.

