

## AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA MÉDULA ÓSEA. TROMBOCITOPOYESIS

---

**Autor:** M. J. Bautista, A. Martínez-Galisteo, F. J. Salguero, E. Ruiz-Villamor, A. Rodríguez y J. C. Gómez-Villamandos.

---

**Dirección:** Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Avda. de Medina Azahara, s/n. Correspondencia: Dr. J. C. Gómez-Villamandos. Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Avda. Medina Azahara, s/n. 14005 Córdoba. E-mail: an1govij@uco.es.

---

**Palabras clave:** Médula ósea. Morfología. Trombocitopoyesis. Citoquinas.

---

### RESUMEN

En este trabajo hacemos una revisión actualizada sobre los componentes de la médula ósea centrandó nuestra atención en las interacciones del microambiente hematopoyético y la serie megacariocítica, tema que ha despertado gran interés en los estudios sobre este órgano.

### SUMMARY

The aim of this work was to offer an updated revision of the histology of the bone marrow with special attention in hematopoietic microenvironment and megakaryocyte morphogenesis.

---

### INTRODUCCIÓN

La médula ósea está constituida por dos grandes compartimentos, el hematopoyético y el estromal. Entre los componentes celulares de estos dos compartimentos se establecen estrechas y complejas uniones. Estas interacciones pueden tener lugar entre células hematopoyéticas y estromales y entre células estromales entre sí. La interacción que involucra a las células estromales y hematopoyéticas da lugar al microambiente hematopoyético (1, 2).

Las células estromales relacionadas con el microambiente hematopoyético más importantes son las células reticulares, aunque también intervienen otros elementos como el endotelio de los senos venosos, los nervios, los macrófagos y las células adiposas (3, 4).

### ESTROMA

El estroma de la médula ósea está formado por un armazón de fibras reticulares, fibras argirófilas birrefringentes de 0,5 a 2 mm de diámetro y compuestas por colágeno tipo III. En íntima asociación con estas fibras se disponen las células reticulares que con el microscopio óptico se ven como células pálidas y de límites citoplasmáticos difusos. Estas células sintetizan y mantienen la delicada trama de fibras reticulares que sostiene a la parte funcional de la médula ósea, aunque existen pruebas de que el papel que desempeñan no sólo se limita a funciones de tipo mecánico. Son esenciales para el mantenimiento de la hematopoyesis en los cultivos medulares y se supone que producen los factores de crecimiento necesarios para la proliferación y

maduración de los precursores de las células sanguíneas (5, 6, 7).

Su forma varía de ovoide a estrellada, tienen un núcleo alargado e indentado y presentan un espacio perinuclear dilatado que se continúa con un retículo endoplásmico rugoso muy desarrollado, numerosos polirribosomas libres y un complejo de Golgi de disposición yuxtannuclear muy evidente. Además se caracterizan por contener en su citoplasma gran cantidad de filamentos intermedios de unos 10 nm de diámetro probablemente de vimentina y bandas de microfilamentos de unos 5 nm de diámetro y similares a la actina localizados en las áreas citoplasmáticas periféricas y en la base de las prolongaciones (6, 7, 8). Además, estas células desarrollan modos de unión del tipo «zonula adherens» y «gap junctions» con células reticulares vecinas (8).

Las células reticulares pueden acumular lípidos y transformarse en células muy similares a las células adiposas del tejido conjuntivo, aunque existen diferencias bioquímicas y funcionales entre ellas, ya que las células reticulares medulares son más pequeñas y metabólicamente más activas. Se establece una relación recíproca entre el volumen parcial de células adiposas de la médula ósea y el ocupado por las células hematopoyéticas. Cuando se produce una hemólisis disminuye el nivel de depósitos lipídicos y aumenta cuando se reduce el tejido hematopoyético (6, 7).

La siguiente población celular que se advierte en el entramado de fibras reticulares es la macrofágica. Los **macrófagos** de la médula ósea son células irregulares de núcleo vesiculoso y eucromático que puede mostrar hasta dos nucléolos. El citoplasma contiene gran cantidad de retículo endoplásmico rugoso, polirribosomas, mitocondrias, un complejo de Golgi bien desarrollado y lisosomas tanto primarios como secundarios (Fig. 1). Además, y con bastante frecuencia, presentan inclusiones cristaloi-



**Figura 1.**—Médula ósea de cerdo. Estroma. Macrófago con gran cantidad de lisosomas, fagosomas y cristales electrodensos. Barra: 5  $\mu$ m.

des electrodensas de posible naturaleza proteica en su citoplasma (Fig. 1). Los macrófagos están ampliamente distribuidos en la médula ósea, aunque se concentran normalmente en la parte central de los grupos de células eritroides (8). Estas células liberan factores solubles como la interleuquina-1 y el factor de necrosis tumoral (FNT) que inducen la producción de gran cantidad de factores de crecimiento por parte de las células endoteliales de los senos venosos y células reticulares (5).

Un término que ha sido acuñado recientemente y que implica una función más activa que la del estroma es el de **microambiente hematopoyético** que constituye una pieza clave del sistema hematopoyético y que está constituido por la matriz extracelular por estructurales entre las que se encuentran los macrófagos, las células reticulares, las células endoteliales de las que hablaremos más adelante y los pericitos y por los factores de crecimiento o sustancias de diferenciación producidas localmente (5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

## PARÉNQUIMA

El parénquima de la médula ósea lo constituyen las colonias o nidos de células de las distintas líneas celulares que se alojan en esa red de fibras reticulares. La formación de células sanguíneas depende de las células madre hematopoyéticas pluripoten-



ciales, cuya proliferación y diferenciación permite la aparición de los otros tipos de células. La mayor parte están habitualmente en fase de reposo y sólo salen de este letargo tras intervalos de tiempo variables o en respuesta a demandas excesivas para la producción de nuevas células. Ellas mismas han de renovarse y dar lugar a los distintos tipos celulares mediante divisiones de diferenciación a partir de las cuales aparecen las células progenitoras con casi nulo poder de renovación. Tanto las células madre como las células progenitoras son morfológica y citoquímicamente indistinguibles. Todas son pequeñas células redondeadas con estrecho citoplasma basófilo alrededor de un núcleo con cromatina poco evidente. Las células progenitoras también llamadas Unidades Formadoras de Colonias (UFC), se diferencian en una serie de fases intermedias en las que también son indistinguibles entre sí. Hay varios tipos de células progenitoras o UFC según el tipo de células que están comprometidas a formar (13, 15, 16, 17).

No se sabe bien el camino de diferenciación que tomará la progenie de las células pluripotenciales, lo que sí se sabe es que están implicados muchos factores, algunos localizados en células estromales y en elementos extracelulares que forman el anteriormente mencionado microambiente hematopoyético, siendo otros los agentes humorales reguladores sintetizados en distintos puntos del organismo y conducidos a la médula ósea a través de la sangre. Estos reguladores específicos humorales del crecimiento van a actuar sobre el tejido hematopoyético para controlar la velocidad de formación y liberación de nuevas células de cada tipo (5, 6, 15).

Se sabe que la eritropoyetina es el factor estimulador de la eritropoyesis. La síntesis de eritropoyetina se realiza en el aparato yuxtglomerular del riñón y es inversa-

mente proporcional a la tensión de oxígeno que prevalece en los tejidos (9, 15, 18).

Hasta el momento se han aislado cuatro factores estimuladores de colonias (FEC). Dos de estos factores actúan sobre células progenitoras iniciales que son todavía capaces de diferenciarse hacia más de un tipo celular y son:

1. Factor estimulador de colonias de granulocitos y monocitos (FEC-MG).
2. Factor Multi-FEC o Interleuquina-3.

Los otros dos factores estimulan la diferenciación de progenitores más avanzados comprometidos en un único linaje celular y son:

3. Factor estimulador de colonias de granulocitos (FEC-G).
4. Factor estimulador de colonias de monocitos (FEC-M) (5).

Todos estos factores estimulantes son glucoproteínas sintetizadas por las células reticulares y las células endoteliales cuando sobre ellas actúan la interleuquina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (FNT) (5, 11, 16).

Las células eritroides se localizan cerca de las células reticulares que rodean los senos venosos y los megacariocitos aparecen adyacentes a las paredes de los senos venosos de manera que sus prolongaciones quedan en el interior de ellos. Los precursores de los granulocitos se disponen cerca de los centros de los espacios intervasculares mientras que los descendientes de los granulocitos van a madurar según parece en íntimo contacto con las prolongaciones celulares de los macrófagos (15, 19, 20).

Se ha podido comprobar que hay una gran asociación entre células eritroides, macrófagos y células reticulares, quizás por la producción por estos últimos grupos celu-

lares de citoquinas y factores de crecimiento (15, 20).

Debido al gran número de estudios que en los últimos años se han realizado sobre los mecanismos que puedan estar involucrados en la trombocitopoyesis haremos una descripción detallada de ésta centrándonos en la ultraestructura.

#### TROMBOCITOPOYESIS

Los megacariocitos se originan de células pluripotenciales mediante un complejo proceso que incluye la diferenciación de la célula pluripotencial progenitora hacia la línea megacariocítica, la fase mitótica por la cual el número de células precursoras de megacariocitos aumenta la fase endomitótica por la cual se produce una división del núcleo, pero no del citoplasma, la fase de crecimiento citoplasmático con la adquisición de organelas y de proteínas específicas de las plaquetas y la fase de liberación de las plaquetas a la circulación (21, 22).

La **unidad formadora de colonias de megacariocitos** o célula precursora comprometida en la trombopoyesis va a dar lugar al **megacarioblasto** que es la primera célula identificable de la línea megacariocítica. Es una célula de gran tamaño con núcleo redondeado o escotado y nucléolos poco llamativos pero numerosos. El citoplasma presenta gran número de polirribosomas y ribosomas libres, un complejo de Golgi muy desarrollado y las mitocondrias son pequeñas y redondeadas. Los megacarioblastos carecen de gránulos específicos. En una fase posterior estas células aumentan de tamaño y se convierten en poliploides a través de divisiones nucleares atípicas que no se acompañan de división del citoplasma proceso que se conoce con el nombre de endomitosis. El siguiente estado es el de **promegacariocito** que mide de 15 a 40  $\mu\text{m}$  y en el que se desarrolla un centro celular llamativo que contiene un nú-

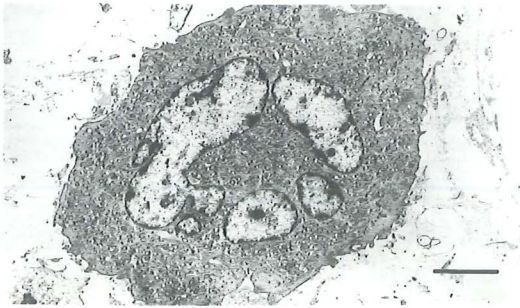
mero par de centriolos que corresponden al grado de poliploidía. El tamaño del citoplasma aumenta progresivamente y la basofilia va disminuyendo formándose gránulos azurófilos. Ultraestructuralmente, los ribosomas libres se localizan preferentemente alrededor del núcleo así como las cisternas de retículo endoplásmico rugoso. El complejo de Golgi está muy desarrollado y se aprecian dos tipos de gránulos: los gránulos alfa de moderada electrodensidad y los gránulos densos. La mayor parte del citoplasma sobre todo en el área periférica está ocupada por un sistema de vesículas, túbulos y sacos membranosos alargados que recibe el nombre de sistema de demarcación de membranas o sistema canalicular abierto. La siguiente fase de maduración da lugar al megacariocito de unos 100  $\mu\text{m}$  de diámetro y entre los que distinguimos dos tipos:

- **Megacariocito de reserva** que está totalmente formado pero sin actividad y,

- **Megacariocito Formador de Plaquetas** que es una célula funcionalmente activa con núcleo multilobulado y con gránulos alfa y densos en grupos separados por estrechos corredores de citoplasma agranular, lo que constituye una diferencia con respecto al megacariocito de reserva que los presenta diseminados por todo el citoplasma (Fig. 2). El tiempo de generación desde la célula madre hasta el megacariocito formador de plaquetas es de unos diez días. Esta regeneración de plaquetas parece estar regulada por un mecanismo humoral. Se cree que este agente humoral es la trombopoyetina o factor estimulante de la trombopoyesis (FET) y, por lo tanto, el responsable de este mecanismo de retroalimentación positiva junto con las interleuquinas 6 y 11 que actúan sinérgicamente con ella (15, 16, 19, 22, 23, 24, 25) (Tabla I).

Los Megacariocitos Formadores de Plaquetas son las células más llamativas de la médula ósea por su gran tamaño. Presentan





**Figura 2.**—Médula ósea de cerdo. Parénquima. Megacariocito Formador de Plaquetas que presenta un núcleo eucromático y multilobulado, así como una gran cantidad de gránulos en su citoplasma. Obsérvese que el área citoplasmática periférica se halla desprovista tanto de organelas como de gránulos. Barra: 5  $\mu$ m.

una morfología redondeada pero pueden emitir prolongaciones citoplasmáticas. Muestran un núcleo complejo con múltiples

lóbulos de tamaño variado conectados por finos puentes con cromatina moderadamente densa y con varios nucléolos mal delimitados. El citoplasma presenta numerosos gránulos densos de un tamaño aproximado de 0.3  $\mu$ m y contenido granular, mitocondrias, un complejo de Golgi bien desarrollado y un abundante sistema de demarcación de membranas o sistema canalicular abierto mientras que el área periférica aparece desprovista tanto de organelas como de gránulos (Fig. 2). Cada megacariocito puede dar lugar a un número de plaquetas que oscila entre las 4.000 y las 8.000 (15, 16, 17, 19, 22, 23, 24, 26, 27).

Con la introducción del microscopio electrónico se puede estudiar con más detalle la fragmentación de los megacariocitos para la formación de las plaquetas. En los megacariocitos formadores de plaquetas el sis-

**Tabla I.**—Efectos de las citoquinas en la megacariocitopoyesis.

Citoquinas	Células progenitoras de megacariocitos			Megacariocitos maduros e inmaduros	
	Eficiencia de clonaje	Células/ Colonia	Ploidía de los megacariocitos en colonia	Ploidía nuclear	Maduración citoplasmática
IL-1 .....	S	D	D	D	D
IL-3 .....	+	+	-	+	+
IL-4 .....	S	D	D	D	D
IL-6 .....	+	+	D	D	D
FEC-GM.....	+	+	D	D	+
FEC-1 .....	0	D	D	D	D
Trombopoyetina.....	S	0	+	+	+
Ertropoyetina .....	+/-	0	D	+	+
FEC-G.....	S	0	D	D	D
FEC-M .....	+	+	+	+	0
FCT- $\beta$ .....	Inhibitoria	Inhibitoria	D	D	Inhibitoria
IFN.....	Inhibitoria	Inhibitoria	D	D	D
Factor plaquetario 4 .....	Inhibitoria	0	D	D	Inhibitoria
Glicoproteína plaquetaria ....	Inhibitoria	D	D	D	Inhibitoria

S = No tiene actividad estimuladora por sí mismo, pero puede tener acción sinérgica con otras citoquinas para potenciar la formación de colonias de megacariocitos.

+ = Acción estimulante.

0 = Sin efecto.

+/- = Resultados contradictorios en la literatura.

D = Desconocida.

tema de membranas de demarcación se disponía a modo de túbulos aplanados rodeados por membrana orientados en distintos planos de manera que dividían al citoplasma en fragmentos de 1 a 3  $\mu\text{m}$  de diámetro. Este sistema forma una estructura laberíntica de cisternas perforadas que rodea a pequeñas zonas de citoplasma destinadas a convertirse en plaquetas (15, 16, 19, 22, 23, 24, 28).

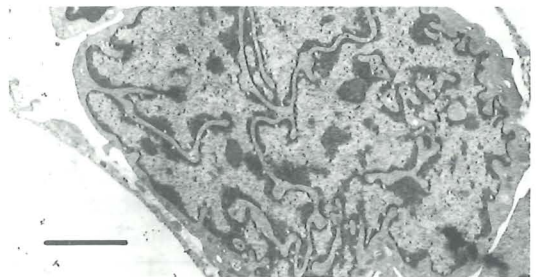
Los megacariocitos se localizan principalmente debajo del endotelio de los senos venosos de la médula ósea (19, 29). Estas células emiten dos tipos de prolongaciones citoplasmáticas hacia la luz de los senos. Algunas de estas prolongaciones son cortas, pequeñas de 0,2  $\mu\text{m}$  de diámetro y no presentan organelas ni gránulos, ni sistema de demarcación de membranas y procederían presumiblemente de la zona periférica del megacariocito (Fig. 3) (30). Este tipo de prolongación podría actuar como punto de anclaje para mantener a los megacariocitos en la adventicia de los senos venosos y como radar que recogería los posibles cambios que apareciesen en la circulación por ejemplo para recibir información relativa a las necesidades de formación de plaquetas (17, 19, 30, 31, 32). El otro tipo de proyección citoplasmática es de mayor tamaño, presenta organelas como mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso y sistema canalicular abierto, gránulos alfa y densos, así como microtúbulos orientados longitudinalmente. Estas prolongaciones penetran a través del endotelio y quedan así largas porciones del citoplasma de los megacariocitos en la luz de los senos venosos a las que se conoce con el nombre de **proplaquetas** (26, 28, 30). Un megacariocito produce más o menos seis de estas proplaquetas y cada una a su vez puede producir unas 1.200 subunidades plaquetarias (15, 17, 19, 22, 23, 24). La fragmentación de las proplaquetas tiene lugar dentro de los senos venosos de la médula ósea, pero algunos megacariocitos pueden entrar en



**Figura 3.**—Médula ósea de cerdo. Megacariocito emitiendo una pequeña prolongación citoplasmática (\*) que no presenta gránulos ni organelas en su interior. En el citoplasma de esta célula se observa el sistema canalicular abierto los gránulos alfa y los densos. Barra: 1  $\mu\text{m}$ .

la circulación general y llegar al pulmón donde definitivamente se rompen en plaquetas (16, 18, 22, 26, 30, 33, 34, 35).

Cuando se produce la liberación de las proplaquetas el megacariocito queda reducido a un núcleo polimorfo rodeado de una capa residual de citoplasma revestida de membrana citoplasmática intacta. Estos megacariocitos residuales pueden reconstruir su citoplasma y producir una nueva serie de plaquetas. En caso contrario en estos megacariocitos se producirá una condensación nuclear muy marcada quedando el núcleo rodeado por un anillo citoplasmático sin gránulos (Fig. 4) originando así los megacariocitos «desnudos» o en apoptosis, fenómeno que supone la muerte fisiológica de esta población celular (36, 37,



**Figura 4.**—Médula ósea de cerdo. Megacariocito en apoptosis o «desnudo». El citoplasma queda reducido a un fino anillo alrededor del núcleo en el que no se aprecian apenas organelas. Barra: 1  $\mu\text{m}$ .



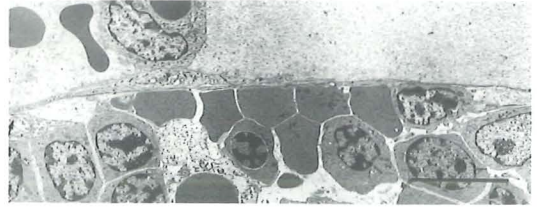
38). El término apoptosis se refiere a un programa intrínseco de suicidio celular mediado por la activación selectiva de nucleasas endógenas (39, 40, 41).

## RIEGO SANGUÍNEO E INERVACIÓN

La médula ósea está rodeada por el tejido óseo compacto de la corteza o por trabéculas de la esponjosa. El suministro de sangre a la médula ósea es proporcionado principalmente por la arteria nutricia que se ramifica y se continúa con un sistema de senos venosos de pared fina anastomosados en el interior de la médula ósea. A su vez estos senos venosos convergen en grandes vasos colectores que se disponen radialmente alrededor de un seno central orientado longitudinalmente. Es decir, la mayor parte del riego que llega a los senos venosos de la médula ósea ha atravesado con anterioridad el tejido óseo tanto el procedente de vasos periósticos como el que llega a partir de la arteria nutricia (13).

La pared de los senos venosos constituye una frontera entre el flujo sanguíneo y el parénquima hematopoyético, la denominada barrera médula sangre (13, 31), ya que regula la salida de células sanguíneas a la circulación. Sin embargo, la evaluación morfológica de la pared de los senos venosos es muy difícil debido a la gran fragilidad de su endotelio que se destruye en un procesado rutinario. Por ello DeBruyn *et al.* (1971) y Campbell (1972) defienden la aplicación de la fijación por perfusión vascular para conservar la ultraestructura.

A diferencia de las venas verdaderas las paredes de los senos venosos carecen de túnica muscular y están constituidas por una capa de células endoteliales redondeadas una membrana basal discontinua y una capa de células reticulares adventicias (Fig. 5). Las células endoteliales se unen entre sí con complejos de unión del tipo «gap-junction». Estas células presentan

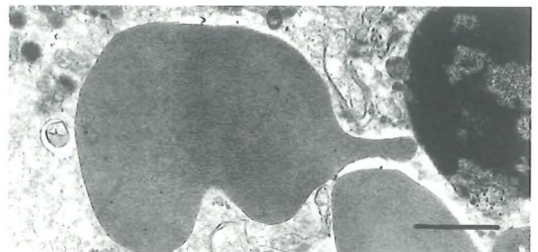


**Figura 5.**—Médula ósea de cerdo. Seno venoso en el que se aprecia la línea endotelial aplanada y la prolongación de una célula reticular adventicia (flecha). Barra: 10  $\mu$ m.

numerosas vesículas de micropinocitosis en las superficies luminal y abluminal, así como vesículas con cubierta. El citoplasma contiene, además de la dotación normal de organelas, dos tipos de microfilamentos cuyo diámetro oscila entre los 30 y 80 A, ambos orientados paralelamente al eje longitudinal de las células (8). En las porciones periféricas extraordinariamente finas de las células se pueden observar acúmulos de poros transendoteliales de 80 a 100 nm de diámetro (19, 20).

Las células reticulares adventicias (Fig. 5) cubren gran parte de la superficie de los senos venosos y dejan el resto accesible a la emigración de las células sanguíneas. Esta superficie libre puede verse incrementada como consecuencia de ciertos estímulos facilitando así la salida de las células sanguíneas (19, 44).

La liberación de células sanguíneas maduras se realiza mediante la formación de poros transitorios de emigración (Fig. 6). La



**Figura 6.**—Médula ósea de cerdo. Eritrocito atravesando la pared de un seno venoso. Barra: 1  $\mu$ m.

célula emigrante comprime la membrana externa de la célula endotelial contra la membrana luminal, se fusionan ambas y se forma entonces el poro. La liberación por tanto es transcelular (Fig. 6). La continuidad del endotelio se restaura cuando la célula sanguínea pasa a la luz del seno venoso. Este endotelio ejerce cierta selectividad en el control del tráfico transcelular (44).

La médula ósea carece de vasos linfáticos. Los nervios de la médula ósea son vasomotores y se encuentran asociados a los vasos sanguíneos (8, 45, 46).

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) TRENTIN, J.J. (1970): Influence of haematopoietic organ stroma (haematopoietic microenvironment) on stem cell differentiation. En: Gordon AS (ed.). Regulation of haematopoiesis, vol. 1, p. 161. Meredith, New York.
- (2) WOLF N.S. (1979): The haematopoietic microenvironment. *Clin Haematol.* 8: 469-493.
- (3) WEISS, L. (1976): The haematopoietic microenvironment of the bone marrow: An ultrastructural study of the stroma in rats. *Anat. Rec.* 186: 161-184.
- (4) LICHTMAN, M.A (1981): The ultrastructure of the haematopoietic environment of the marrow: a review. *Exp. Haematol.* 9: 391-410.
- (5) BAGBY, G.C. (1987): Production of multilineage growth factors by hematopoietic stromal cells: an intercellular regulatory network involving mononuclear phagocytes and Interleukin-1. *Blood Cells* 13: 147-159.
- (6) QUESENBERRY, P.J.; MC NIERE, I.K.; ROBINSON, B.E.; WOODWARD, T.A.; BABER, G.B.; MC GRATH, H.E.; ISAKSON, P.C. (1987): Stromal cell regulation of lymphoid and myeloid differentiation. *Blood Cells* 13: 137-146.
- (7) MOHAMMAD, A.; ASAI, J. (1993): Ultrastructural and morphometrical studies on the reticular framework and reticular fibers in the reticuloendothelial system of rats. *Nagoya J. Med. Sci.* 55: 47-56.
- (8) YAMAZAKI, K.; ALLEN, T. (1991): Ultrastructural and morphometric alterations in bone marrow stromal tissue after 7 Gy irradiation. *Blood Cells* 17: 527-549.
- (9) ALLEN, T.D.; DEXTER, T.M. (1984): The essential cells of the hemopoietic microenvironment. *Experimental Hematology* 12: 517-521.
- (10) PIERSMA, A.H.; BRACKBANK, K.G.M.; PLOEMACHER, R.E.; VAN VLIET, E.; BRAKEL-VAN PEER, K.M.J.; VISSER, P.J. (1984): Characterization of fibroblastic stromal cells from murine bone marrow. *Exp. Hematol.* 13: 237-243.
- (11) GORDON, M.Y.; RILEY, G.P.; WATT, S.M.; GREAVES, M.F. (1987): Compartmentalization of a haematopoietic growth factor (GM-CSF) by glycosaminoglycans in the bone marrow microenvironment. *Nature* 326: 403-405.
- (12) ROSS, W.M.; PEEKE, J.; HOCKEY, A.J.; POLYAK, S.; IZAGUIRRE, C.A. (1991). Reticulo-fibroblastoid stromal cell progenitors (CFU-RF) in murine bone marrow. *Exp. Hematol.* 19: 1069-1074.
- (13) ISLAM, A.; GLOMSKY, C.H.; HENDERSON E. (1992): Endothelial cells and hematopoiesis: A light microscopic study of fetal, normal and pathologic human bone marrow in plastic-embedded sections. *Anat. Rec.* 233: 440-452.
- (14) THIELE, J.; BRAECKEL, C.; WAGNER, S.; FALLINI, B.; DIENEMANN, D.; STEIN, H.; FISCHER, R. (1992): Macrophages in normal human bone marrow and in a chronic myeloproliferative disorders: an immunohistochemical and morphometric study by a new monoclonal antibody (PG-M1) on trephine biopsies. *Virch. Arch. Pathol. Anat. Histopathol.* 421: 33-39.
- (15) NAFSTAD, H.J.; NAFSTAD, I. (1968): An electron microscopic study of normal blood and bone marrow in pigs. *Pathol. Vet.* 5: 451-470.
- (16) HOFFMAN, R. (1989): Regulation of megakaryocytopoiesis. *Blood* 74, 4: 1196-1212.
- (17) RADLEY, J.M.; ROGERSON, J.; ELLIS, S.L.; HASTHORPE, S. (1991): Megakaryocyte maturation in long term marrow culture. *Exp. Hematol.* 19: 1075-1078.
- (18) QUESNIAUX, V.F.J.; MAYER, P.; LIEHL, E.; TURNER, K.; GOLDMAN, S.J.; FAGG, B. (1993): Review of a novel hematopoietic cytokine interleukin-11. *Int. Rev. Exp. Pathol.* 31: 205-214.
- (19) THIELE, J.; GALLE, R.; SANDER, CH.; FISCHER, R. (1991): Interactions between megakaryocytes and sinus wall. An ultrastructural study on bone marrow tissue in primary (essential) thrombocythemia. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 23 (4): 595-603.
- (20) BLOOM, W.; FAWCETT, D.W. (1995): Médula ósea y formación de las células sanguíneas. En: A Textbook of Histology. Ed. Interamericana-McGraw Hill, pp. 261-285.
- (21) EBBE, S. (1976): Biology of megakaryocytes. *Prog. Hemost. Thromb.* 3: 211.



- (22) MAZUR, E.M. (1986): Megakaryocytopoiesis and platelet production: a review. *Exp. Hematol.* 15: 340-350.
- (23) STRANEVA, J.E.; GOHEEN, M.P.; HUI, S.L.; BRUNO, E.; HOFFMAN, R. (1986): Terminal cytoplasmic maturation of human megakaryocytes in vitro. *Exp. Hematol.* 14: 919-929.
- (24) HANDAGAMA, P.J.; JAIN, N.C.; FELDMAN, B.F.; KONO, C.S. (1987): Scanning electron microscope study of platelet release by canine megakaryocytes in vitro. *Am. J. Vet. Res.* 48: 1003-1006.
- (25) CRAMER, E.M.; MASSÉ, J.M.; CAEN, J.P.; GARCÍA, I.; BRETON-GORIUS, J.; DEBILI, N.; VAINCHENKER, W. (1993): Effects of trombin on maturin human megakaryocytes. *Am. J. Pathol.* 143 (5): 1498-1508.
- (26) LEVEN, R.M.; YEE, M.K. (1987): Megakaryocyte morphogenesis stimulated in vitro by whole and partially fractionated thrombocytopenic plasma: A model system for the study of platelet formation. *Blood* 69 (4): 1046-1052.
- (27) HAN, Z.H.; BRIERE, J.; ABGRALL, J.F.; SENSEBE, L.; PARENT, D.; GUERN, G. (1988): Characteristics of megakaryocyte colony formation in normal individuals and in primary thrombocythemia: Studies using an optimal cloning system. *Experimental Hematology* 17: 46-52.
- (28) RADLEY, J.M.; HARTSHORN, M.A. (1987): Megakaryocyte fragments and the microtubule coil. *Blood Cells* 12: 603-610.
- (29) BURKHARDT, R. (1971): Bone marrow and bone tissues. *Color Atlas of Clinical Histopathology*. Springer-Verlag, Berlin.
- (30) RADLEY, J.M.; SCURFIELD, G. (1980): The mechanism of platelet release. *Blood* 56: 996-999.
- (31) TAVASSOLI, M. (1980): Megakaryocyte-platelet axis and the process of platelet formation and release. *Blood* 55: 537-545.
- (32) TAVASSOLI, M.; AOKI, M. (1981): Migration of entire megakaryocytes through the marrow-blood barrier. *Br. J. Haematol.* 48: 25-29.
- (33) LEVIN, J.; LEVIN, F.C.; HULL, D.F.III; PERNINGTON, D.G. (1982): The effects of thrombopoietin on megakaryocyte-CFC, megakaryocytes and thrombopoiesis: With studies of ploidy and platelet size. *Blood* 60: 989.
- (34) ISHIBASHI, T.; KIMURA, H.; SHIKAMA, Y.; UCHIDA, T.; KARIYONE, S.; HIRANO, T.; KISHIMOTO, T.; TAKATSUTI, F.; AKIJAMA, T. (1989): Interleukin-6 is a potent thrombopoietic factor in vivo in mice. *Blood* 74 (4): 1241-1244.
- (35) McDONALD, T.P.; COTTRELL, M.B.; SWEARINGEN, C.J.; CLIFT, R.E. (1991): Comparative effects of thrombopoietin and interleukin-6 on murine megakaryocytopoiesis and platelet production. *Blood* 77: 735-740.
- (36) ZUCKER-FRANKLIN, D.; TERMIN, C.S.; COOPER, M.C. (1989): Structural changes in the megakaryocytes of patients infected with the human immune deficiency virus (HIV-1). *Am. J. Pathol.* 134: 1295-1303.
- (37) BAUER, S.; KHAN, A.; KLEIN, A.; STARASOLER, L. (1992): Naked megakaryocyte nuclei as an indicator of human immunodeficiency virus infection. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 116: 1025-1029.
- (38) GÓMEZ-VILLAMANDOS, J.C.; BAUTISTA, M.J.; HERVÁS, J.; CARRASCO, L.; CHACÓN-M. DE LARA, F.; PÉREZ, P.; WILKINSON, P.J.; SIERRA, M.A. (1996): Subcellular changes in platelets in acute and subacute African Swine Fever. *J. Comp. Pathol.* 115: 327-341.
- (39) WYLLIE, A.H.; MORRIS, R.G. (1982): Hormone-induced cell death. *Am. J. Pathol.* 109: 78.
- (40) ARENDS, M.J.; MORRIS, R.G.; WYLLIE, A.H. (1990): Apoptosis, the role of the endonuclease. *Am. J. Pathol.* 136: 593.
- (41) HATFILL, S.J.; FESTER, E.D.; STEYLER, J.G. (1992): Apoptotic megakaryocyte dysplasia in the myelodysplastic syndromes. *Hematol. Pathol.* 6: 87-93.
- (42) DEBRUYN, P.P.H.; MICHELSON, S.; THOMAS, T.B. (1971): The migration of blood cells of the marrow through the sinusoidal wall. *J. Morph.* 133: 417-438.
- (43) CAMPBELL, F.R. (1972): Ultrastructural study of transmural migration of blood cells in the bone marrow of rats, mice and guinea pigs. *Am. J. Anat.* 135: 521-536.
- (44) BECKER, R.P.; BRUYN, P.H. (1975): The transmural passage of blood cells into myeloid sinusoids and the entrapment of platelets into the sinusoidal circulation; a scanning electron microscopic investigation. *Am. J. Anat.* 145: 183.
- (45) REBAR, A.H.; LEWIS, H.B. (1976): Blood cells in disease. En: *Canine Medicine*, E.J. Catcott (ed.). American Veterinary Publications, Santa Barbara, California, pp. 1000-1001.
- (46) REBAR, A.H. (1993): General responses of the bone marrow to injury. *Toxicol. Pathol.* 21: 118-129.