

# LA PUNCIÓN BIOPSIA DE LOS ÓRGANOS HEMATOPOYÉTICOS EN LAS RETÍCULOPATÍAS \*

Dr. FELIPE de DULANTO

Director de Dispensario Dermatológico y de Higiene Social del Estado.  
Jefe de la Sección de Hematología de la Clínica Dermatológica Universitaria  
(Prof. X. Vilanova). - Académico C. de la Real de Medicina

## II

Técnica de las punciones-biopsia de los órganos hemocitopoyéticos.-Lectura e interpretación de los extraídos

### La biopsia por aspiración de la médula ósea

**L**a biopsia de la médula ósea fué un método de empleo restringido mientras exigía utilizar la trepanación del esternón (SEYFARTH, WEINER y KAZNELSON, ESCUDERO y VARELA, etc.) o de la tibia (GHEDHINI, PIANESE), por el volumen del acto operatorio, y las dificultades prácticas de repetirlo en serie, hasta que ARINKIN en 1928 demostró la posibilidad de obtener parénquima mieloide en cantidad suficiente para su estudio, punctionando el esternón con un sencillo trócar. Desde entonces se ha ido desarrollando ampliamente éste procedimiento exploratorio, existiendo numerosos trabajos que se ocupan del mismo, entre los que señalaremos las excelentes monografías de SCHULTEN, SEGERDHAL, TEMPKA y BRAUN, KLIMA, RÉVOL, HENNING y KEILHAK, P. E. WEIL, MALLARMÉ, NORDENSON, MARKOFF, ALDER, PINEY, FIESCHI, PICENA, RHOR, THADDEA, LEITNER, PLUM, RASTELLI y KIENLE. En España, se han ocupado del tema ENRÍQUEZ DE SALAMANCA y su escuela, MATILLA y colaboradores, JIMÉNEZ DÍAZ y MORALES PLEGUEZUELO, FRADE y CIVEIRA, FERNÁNDEZ CRUZ, GUASCH, PERMANYER, VIVES MAÑÉ, y nosotros. No hay duda que la punción de la médula ósea posee, considerable importancia, tanto que DAMESHEK, (1948) llega a decir que en muchas clínicas norteamericanas, se considera inadecuadamente estudiado un caso, si no ha sido practicada. Este criterio, desde luego, muy exagerado, muestra la utilidad del procedimiento.

**TÉCNICA.** — Utilizamos un trócar especial, de acero inoxidable, de unos 4,5 cm. de longitud y 1,5 mm. de grosor. (Fig. 1). El mandril que encaja mediante una cuña en el pabellón de la cánula, va provisto de un mango relativamente voluminoso, con una arandela alrededor de su base, de borde rugoso para facilitar la rotación del trócar y su entrada en el hueso. No creamos necesario añadir una pieza detectora que impida la llegada al espacio céluilo-adiposo retroesternal. Sin emplearla, con lo que se gana en movilidad, y en cerca de un millar de punciones efectuadas, no hemos tenido el menor accidente. Acostumbramos penetrar en el esternón a nivel del 2.<sup>º</sup> ó 3.<sup>er</sup> espacio intercostal y en la línea media, si bien algunas veces hemos seguido la técnica de FIESCHI, punctionando en el borde lateral del hueso y a una altura similar. En algún caso practicamos la *punción vertebral*, siguiendo a HEIDENREICH, en la apofisis espinosa de una vértebra lumbar, o en la espina ilíaca anterosuperior (RUBINSTEIN), con buenos resultados.

Para efectuar la *punción esternal* (P. E.), previa desinfección y anestesia de la piel de la región indicada, se introduce el trócar formando un ángulo de unos 45° con la superficie cutánea; se atraviesa primero el tegumento, penetrando luego directamente en el

Trabajo de las cátedras de Dermatología (Prof. X. Vilanova) y de Histología y Anatomía Patológica (Prof. J. G. Sánchez-Lucas) de la Facultad de Medicina de Barcelona.

hueso, lo que se nota por su resistencia característica; llegados aquí, imprimimos movimientos combinados de rotación y presión, hasta atravesar la tabla esternal externa. La aguja ha de quedar fuertemente clavada e inmovilizada. Seguidamente, se retira el mandril y se aplica a la cánula una jeringa record de 20. cc. de capacidad bien ajustada y seca, aspirando fuertemente hasta retirar 1-2 cc. de jugo medular. El enfermo nota, en este momento, una sensación dolorosa especial, como de estiramiento, muy variable según los individuos. Se

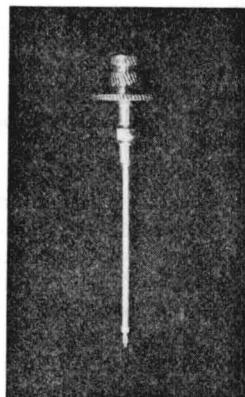


Fig. 1.— Trócar para punción esternal y ganglionar

quita el trócar y jeringa, y entonces previa realización de 1 ó 2 extensiones, de forma similar a las que se efectúan con la sangre periférica, se vierte el resto del extraído en una gran cápsula de Petri o vidrio de reloj, también muy limpio y seco, que se mantendrá vertical. De esta forma resbala la sangre, y quedan libres los fragmentos de médula, que destacan perfectamente al trasluz. Se cogerán uno a uno, mediante unas pinzas finas, veri-

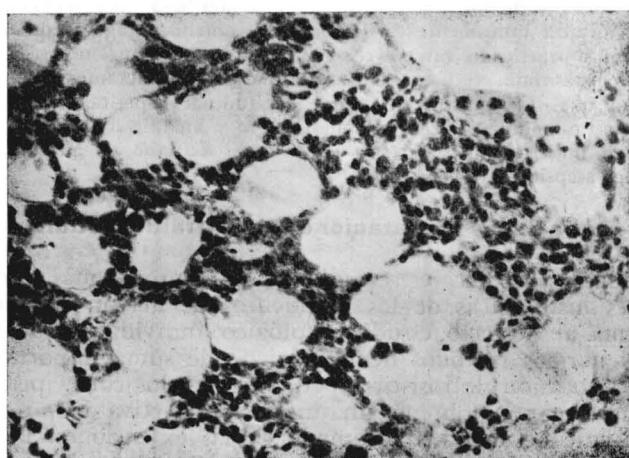


Fig. 2.— Médula ósea normal. Biopsia por aspiración. Inclusión en parafina.-Eritrosina-naranja azul de toluidina-(x 300)

ficando inmediatamente *impresiones sobre portaobjetos*, que serán por lo tanto de *parenquima medular casi puro*. La tinción se practica con el método de May-Grünwald Giemsa, previo fijado al aire unas 12 horas. Conviene una cierta sobrecoloración, que luego se corrige diferenciando con agua destilada, bajo la vigilancia del microscopio. Empleamos también el pancrómico de Laveran y los colorantes de Wright, azul de cresil brillante, rojo neutro y verde Jano, Cesaris-Demel (grasas) y las reacciones de las oxidadas y peroxidadas.

Cuando interesa el estudio histológico, recogemos el extraído medular en una cápsula de Petri, llena de solución de citrato sódico al 3'8 % en suero fisiológico del anticoagulante de Wintrobe, o de una solución de heparina; se dejan depositar los fragmentos que por su peso van al fondo, se decanta el líquido y con unas pinzas finas se trasladan a un pequeño recipiente lleno de Zenker-formol, o formol-sublimado, y después se siguen las prácticas acostumbradas para la inclusión en parafina después de 1-2 horas de fijación. Los bloques se cortarán luego al micrótomo y teñirán con hematoxilina-eosina; eritrosina-naranja-azul de toluidina. (Fig. 2), May G. Giemsa y en algunos casos será conveniente el método de Bielschowsky-Maresch (\*).

Para realizar la punción es preferible que el paciente se halle en ayunas. No precisan cuidados especiales antes ni después de la intervención. Esta se efectuará con el enfermo en decúbito dorsal. El orificio causado por el trócar conviene ocluirlo con una gota de colodión, o un apósito estéril durante unas horas.

Los *peligros* de la punción esternal son mínimos, y como contraindicación formal existe, casi únicamente, la hemofilia (SCHULTEN). Se han comunicado hasta el momento 5 casos de muerte que significan una proporción mínima comparada con el número creciente de punciones que se efectúan. En 4 de ellos (BREI-TENEKER, ALDER), SCHERER y HOWE, fué producida por rotura del esternón, penetrando el trócar en el pericardio, o hasta el miocardio, y en el 5.<sup>o</sup> por inhibición cardíaca refleja, debida probablemente al temor del acto operatorio, en un enfermo de 51 años, afecto de leucemia mieloide (MEYER y HALPERN). A este respecto HADORN, refiere las observaciones de muerte súbita, con un cuadro de shock, que acaecen en el curso de las mielosis, y que naturalmente, la más escrupulosa técnica exploratoria, será incapaz de evitar.

La punción vertebral y de la espina ilíaca anterosuperior están por completo desprovistas de peligros, salvo el muy remoto de infección.

En nuestra casuística, ya bastante considerable, la mayoría lograda mediante punción esternal, no hemos tenido accidentes.

En los niños muy pequeños, en quiénes el esternón está sólo parcialmente osificado, si al puncionar se alcanza únicamente cartílago, no se obtendrá jugo medular. Para resolver esta dificultad, hemos practicado varias veces en lactantes la punción tibial, utilizando un trócar similar, pero más fino, con excelentes resultados. Consideramos que es un procedimiento más inocuo que la punción del seno longitudinal superior para obtener sangre, y que rqúne dos posibilidades, es decir, obtener sangre y médula a la vez.

Cuando precisen *investigaciones bacteriológicas en el extraído*, se guardarán las habituales precauciones de asepsia.

### Lectura de las preparaciones del extraído medular

Es recomendable asociar el estudio de las impresiones medulares, con las preparaciones histológicas de los fragmentos de mayor tamaño del extraído. De esta forma al perfecto estudio citológico individual, que permiten los «frottis» teñidos por los métodos hematológicos, de suma importancia, y sobre el cual tendremos ocasión de insistir repetidamente; los cortes permitirán apreciar la textura del órgano, y obtener una impresión efectiva de la riqueza celular, que sólo se consigue de modo aproximado en las extensiones. Por otra parte, como veremos, el número de los elementos de la serie megacariocitaria, sólo puede determinarse con relativa exactitud en las preparaciones histológicas.

Sin embargo, las impresiones medulares, según la técnica expuesta, suministran imágenes muy bellas y demostrativas. La consideración del jugo medular

\* Para más detalles; remitimos al trabajo de Vilanova, Dulanto y Rubió: La biopsie par Aspiration.-Anales de Dermatología, Enero-Febrero 1950. p.

total es inferior a las impresiones, y mucho más expuesta a errores. Por tal motivo, no es oportuno su empleo aislado.

Efectuamos en primer lugar un examen de la impresión o corte histológico, a pequeño aumento, con lo que se consigue una idea de la densidad celular, de la presencia más o menos abundante de grasa, y en especial de si existen formaciones anormales, y acúmulos celulares (metástasis tumorales).

Luego, con el objetivo de inmersión, se estudiará las zonas donde las células se dispongan más uniformemente, siguiendo con el resto de la preparación. Cuando figuren elementos anormales, se considerarán estos. HENNING y KEILHACK aconsejan efectuar en primer término la reacción de las peroxidases, con lo que se adquiere una imagen de la relación entre las series gránulo y eritroblásticas y luego el Giemsa para diferenciar los elementos.

El método empleado por nosotros, es similar al recomendado por FIESCHI, ROHR, STORTI, HENNING y KEILHACK y KIENLE, y difiere del comúnmente empleado por los autores franceses que estudian la totalidad del extraído lo que modifica los resultados por la presencia de gran cantidad de sangre circulante.

Es preciso realizar siempre un examen hemático periférico, al mismo tiempo que la punción esternal, para las debidas e indispensables comparaciones.

Consideramos suficiente en la inmensa mayoría de los casos la *valoración global de las preparaciones del extraído medular*, de idéntica forma como se lee un corte histológico corriente, *aunque se trate de extensiones*. Es más seguro el examen de conjunto de varias extensiones, que la diferenciación porcentual de los elementos celulares, es decir el *mielograma*. Este no posee en absoluto el valor indiscutible del hemograma periférico en cuanto a su valor cuantitativo. Téngase en cuenta que prácticamente no es posible establecer con seguridad el número total de células que existen en un mmc. de extraído medular por falta de homogeneidad del líquido con presencia de fragmentos de tejido en suspensión, de tamaño desigual, mezcla de sangre, lo que obliga a formular los resultados, refiriéndolos generalmente a diferenciaciones de 1.000 y como es difícil obtener cifras absolutas seguras, el margen de error es siempre considerable. En efecto, la mayor parte de investigadores han terminado por desistir del recuento absoluto de los elementos medulares, debido a que ya en condiciones fisiológicas la diferencia entre los límites superior e inferior es muy considerable (10.000 a 190.000 por mmc. según SEGERTHAL). En la práctica este último carece hasta el momento, de aplicación práctica. (THADDEA REICH y KOLB, STORTI, etc.)

En consecuencia, la expresión numeral de los resultados del examen del extraído medular, tiene el grave inconveniente de que, pese al improbo trabajo que exige cuando quiere realizarse una diferenciación consciente, ofrece unas cifras a las que en determinadas circunstancias puede otorgárseles una exactitud matemática de que carecen, y ser por ello motivo de considerables errores diagnósticos y pronósticos. Precisa recalcar que la distribución del tejido medular no es uniforme, que varía según el sitio que se punciona, y en las extensiones según se observe una zona de aposición inicial o terminal, y que por tanto, insistimos, querer expresar con cifras una serie de tan variables resultados no es aconsejable.

SCHULTEN, FIESCHI, WINTROBE, HEILMEYER, THADDEA, y otros autores, exponen un punto de vista parecido. Ahora bien, esto no quiere decir, que con las limitaciones a que obligan los hechos anteriormente expuestos, el *mielograma* posee interés para documentar y completar los resultados propios y permitir la comparación con los de otros autores, así como las determinaciones complementarias que posibilitan, también con ciertas limitaciones, un examen funcional: curvas de duración, índice mitósico, curvas cariológicas, relación gránulo-eritrobiástica, y algunas más, de menor importancia.

**Características del extraído medular normal.** — La médula ósea hemocitopoyética normal es rica en células. Predominan las del parénquima hemocitopoyético, observándose también las pertenecientes al tejido retículo-endotelial. Distinguiremos los siguientes tipos:

a) Células reticulares; b) Células eritropoyéticas: Eritroblastos basófilos, Macroblastos policromatílicos, Normoblastos ortocromáticos. c) Células granulopoyéticas: Mieloblastos, Promielocitos, Mielocitos y Metamielocitos (respectivamente neutrófilos, eosinófilos y basófilos); d) Células trombocitopoyéticas (Megacarioblastos, Promegacariocitos, Megacariocitos. e) Linfocitos.

La distribución de los elementos de la serie granulopoyética, (nos referimos concretamente a los neutrófilos) es bastante regular y uniforme en las extensiones. Los eosinófilos, son escasos y los basófilos aún más. Las células reticulares se encuentran generalmente en acúmulos, y muchas veces con su protoplasma desprendido en forma de «núcleos desnudos». Los eritroblastos figuran también en acúmulos característicos. Los megacariocitos son escasos y muy irregularmente repartidos.

En los cortes puede observarse como las células eritro y leucopoyéticas se hallan reunidas en grupos afines, verdaderos nidos eritro y leucogenéticos (VARERA). Los eritroblastos y los megacariocitos se encuentran siempre alrededor de los sinusoides y en íntimo contacto con la pared de los mismos. En algunos puntos de la pared de los vasos es posible observar como los megacariocitos irrumpen en la luz de los mismos, los eritroblastos más diferenciados, son los que están más próximos a la pared del raso.

Cae fuera de nuestro objeto la descripción de los elementos ya diferenciados en sentido hemático que componen el mielograma normal, en cambio, si posee un interés extraordinario para nosotros el estudio de las células del retículo medular, que precisamente, gracias al empleo de la biopsia por aspiración y de los métodos hematológicos ha entrado en una nueva fase. Su importancia obliga a que junto con elementos de idénticas características de los ganglios linfáticos y del bazo, les sea consagrado el siguiente capítulo.

### El Mielograma

Para realizarlo hemos seguido el esquema de ROHR, con ligeras modificaciones, que consisten en llamar promielocitos a los que denomina mielocitos inmaduros y en distinguir numéricamente los grados evolutivos de la serie eosinófila, en lugar de incluirlos en una cifra global.

Diferenciamos 1.000 elementos de la serie blanca, y simultáneamente de la serie eritropoyética, y del retículoendotelio. Una vez contadas las 1.000 células blancas, se calcula el porcentaje dividiendo la cantidad que corresponde a cada célula por 10; el total de la serie roja y S. R. E., se suma a 1.000, y entonces calculamos el porcentaje para cada tipo de estos elementos, tomando como base esta última cifra. Los linfocitos y monocitos, se incluyen entre las formas blancas. Como los megacariocitos, se distribuyen irregularmente, damos una impresión global.

En la Tabla 1 figuran las cifras normales halladas, según la pauta expuesta por MARKOFF, TEMKA y BRAUN, ROHR, SCHNETZ y GREIF, HEILMEYER, y nosotros.

La pauta de ROHR, tiene la ventaja de que al efectuar el recuento exclusivamente entre las células de la serie blanca, proporciona resultados fácilmente comparables con el hemograma. Por otra parte los datos logrados son mucho más constantes, si se tiene en cuenta la disposición en focos, principalmente de los eritroblastos, y el número, tan variable de las células del retículo según las zonas de un mismo extraído, (muy abundantes al final del recorrido de las impresiones).

**PUNCIÓN ESTERNAL**  
**VALORES NORMALES DEL MIELOGRAMA**

TABLA N.º 1

El porcentaje se ha calculado sobre las células de la serie blanca

	MARKOFF	TEMPKA Y BRAUN	SCHNETZ Y GREIF	R O H R		HEILMEYER Y HACKEL.		DULANTO
				Valores Medios	Valores Límites	Valor. Med.	Valores Límites	Valores Medio
Proeritroblastos	0.01	—	0.05 1.9	5	0.8 10.4	—	—	3.5
Macroblastos policromatófilos	2.5	—	1.9 64.	9	2.4 18.8	—	—	16.6
Normoblastos ortocromáticos	10.55	—	9.8 25.7	16	6.2 28.6	—	—	23.5
Mieloblastos	1.5	4.6 7	1.1 6.	1	0.6 2.3	2.8 1.8	4.0	1
Promielocitos	3	4.2 7.4	1.4 2.1	4.0	1.7 6.7	3.2 1.2	6.0	3.5
Mielocitos . . .	12	12.7 13.3	0.2 14.5	—	—	21.5 14.5	25.2	16.5
Neutrofilos	1.5	1.5 2.6	0.4 1.7	13.0	7.1 21.0	2.4 0.8	4.4	2.5
Eosinófilos	0.05	0.0 0.3	0.1 0.2	—	—	—	—	0
Basófilos	0.05	14.3 16.7	4.5 13.2	—	—	—	—	15.5
Metamielocitos	18.5	0.3 0.4	3.6 0.5	0.1	7 4.1 10.3	20. 14.3	25.5	2.1
Neutrofilos	0.05	0.0 0.1	0.01 0.04	—	—	—	—	0.5
Cayados . . .	13	17.0 22.5	2.2 11.2	—	—	—	—	—
Neutrófilos	0.5	0.5 1.0	—	41	33.8 50.6	23.4 17.8	30.2	23.2
Eosinófilos	0.0	0.0 0.16	—	—	—	—	—	—
Basófilos	0.5	31 16.1	20.3 17.2	34.2	17 11.4 29.2	20.0 10.0	28.0	21.6
Leucocitos de nucleo segmentado	3	0.6 0.2	2.5 0.3	0.9 0.15	4.0 0.1	1.8 0.1	6.0 1.0	4.8 0.5
Neutrófilos	0.5	0.2 0.5	0.3 0.7	0.15 0.7	0.2 0.1	0.4 0.1	0.4 1.0	0.5 0.5
Linfocitos	15	2.7 0.5	3.2 0.7	9.9 1.1	21.2 1.9	11.0 2.0	4.9 0.6	18.0 2.8
Monocitos	1.5	0.5 0.2	0.7 1.6	1.1 0.4	1.9 1.3	2.0 8.0	0.6 1.6	2.8 16.8
Células reticulares	1	1.3 0.2	3.7 1.6	—	—	—	—	8.6 3.3
Células plasmáticas	0.5	0.0 0.2	0.4 3.0	—	—	—	—	0.4 1.4
Células no diferenciables								2.0 2.1

(1) Sobre el porcentaje de 100 Leucocitos figuran 33-94 células reticulares linfoides y 30 formas nucleadas de la serie roja

En nuestros mielogramas, hemos efectuado también el cálculo de las cifras globales correspondientes al S. R. E., eritropoyesis y leuco y linfopoyesis, y dentro de estas dos últimas, de los elementos inmaduros de la serie granulocítica, lo que permite obtener con una rápida ojeada, una impresión de los elementos dominantes en el mielograma y facilita el cálculo de la relación gránulo-eritroblástica.

El número de formas inmaduras que se observa en mitosis, ya de cada uno de los tipos celulares, ya de toda una serie se denomina «índice o coeficiente mitósico», y se refiere siempre a 1.000 elementos. Las cifras que refieren los autores, como normales varían dentro de amplios límites, lo que corresponde a la realidad.

Nosotros hemos hallado para la serie roja cifras que oscilan entre 14 y 25 por mil; y para la serie blanca de 2 a 10 por mil. En general y dentro de cada serie las mitosis predominan en los eritroblastos (macroblastos) policromatófilos, y en los mielocitos. Los resultados de estas investigaciones concuerdan con los de FIESCHI, ROHR y VIDEBAEK.

Las variaciones según la edad del individuo, se reflejan en el mielograma por una acentuada linfocitosis en lactantes y primera infancia, y por una hipoplásia relativa en edades avanzadas. En la mujer, durante la menstruación, se observa una reacción eritrobiástica si hay gran hemorragia. Durante el embarazo hay signos de hiperfunción medular en los tres últimos meses (MARKOFF, RASTELLI, DULANTO).

## La Punción ganglionar

*Historia.* — La punción ganglionar ya se efectuaba desde hace mucho tiempo con fines bacteriológicos y parasitológicos, pero hasta GUTHIE (1921) y C. I. FORKNER (1927), no fué empleada como procedimiento de diagnóstico citológico, siendo curioso que, exceptuando los trabajos sobre punción de neoplasias de los autores ingleses H. E. MARTIN y E. B. ELLIS, STEWART y SHARP (1931 a 1934), no existen más contribuciones sobre el tema, hasta la excelente monografía de PAVLOVSKY (Buenos Aires, 1934) y los artículos de INTROZZI en el libro «Le Emopatie» de FERRATA y de GINSBOURG, inmediatamente posteriores (1935). A continuación, su interés ha ido aumentando, siendo su literatura, no obstante, más bien escasa, si se compara, por ejemplo, con la copiosísima que ya posee la punción esternal. Como más importantes, existen las comunicaciones de P. E. WEIL y colaboradores, SCHILLING, KLIMA y FLEISCHACKER, VELASCO MONTES, LEITNER, ALBAHARHY, STORTI y BUDING, y las monografías fundamentales de STAHEL (1939) y TISCHENDORF (1942).

En España, hay unos datos sobre su técnica, de PITALUGA (1934), y sobre técnica e indicaciones de GUASCH (1935), y el trabajo de conjunto publicado por nosotros en agosto de 1944.

### Técnica

Es muy fácil. Empleamos una aguja de inyecciones, gruesa, de acero inoxidable o mejor un trócar similar al descrito para la punción esternal, pero cuya longitud podrá aumentarse en los casos en que lo requiera la profundidad de las adenopatías. Una vez desinfectada y anestesiada la piel, sujetamos bien el ganglio sobre los planos profundos, y sin más, verificamos la punción. Una vez en su interior, de lo que es fácil darse cuenta porque los movimientos que se imprimen al ganglio se transmiten a la aguja, se retira el mandril y entonces conviene hundir la cánula en varias direcciones —cuantas más mejor— dentro del órgano, a fin de que entren parcelas correspondientes al mayor número posible de regiones. Como son varios los procesos que afectan desigualmente a los ganglios, aumentaremos con estas maniobras las probabilidades de conseguir tejido con alteraciones de valor diagnóstico.

A continuación, se aplica al pabellón de la cánula una jeringa de cristal, grande, de

unos 20 cc., bien seca y ajustada, y aspiramos con fuerza, para obtener jugo ganglionar. Para que la punción sea positiva no es indispensable la presencia de líquido en la jeringa —a diferencia de lo que ocurre en la punción esternal—; casi siempre basta con el material contenido en la luz de la aguja.

Se retirará esta última, vaciando su contenido sobre varios portaobjetos que, bien limpios y desengrasados se tendrán dispuestos. Si se logran porciones suficientemente grandes, se cogerán algunas mediante unas pinzas finas, para realizar impresiones sobre los portaobjetos, en caso contrario verificaremos con la totalidad del extraído el mayor número posible de extensiones, al estilo de las usuales en hematología.

Cuando interese un estudio histológico del extraído, se colocarán las parcelas más voluminosas en un fijador adecuado (Zenker-formol o formol-sublimado), y luego se incluirán en parafina, cortarán al microtomo, etc. (\*)

Los «frottis» o impresiones sobre portaobjetos serán teñidos, durante las primeras veinticuatro horas, con el procedimiento de MAY-GRÜNVALD-GIEMSA o similares, si bien, para lograr buenos resultados es necesaria una cierta práctica. Podrán también emplearse, las coloraciones supravitales (azul de cresil brillante, etc.), de la grasa (Cesaris Démel), oxidadas y peroxidadas, etc.

Si precisan estudios bacteriológicos o parasitológicos, será necesario guardar las habituales precauciones de asepsia.

*Indicaciones generales y posibilidades de la punción ganglionar. Punción o biopsia?* — Este interrogante es, quizás, uno de los obstáculos que más han dificultado el desarrollo de la punción ganglionar, a diferencia de lo ocurrido con la esternal, en donde, naturalmente, no se plantea. Y es sensible que haya existido y exista esta disyuntiva más bien teórica, pues en realidad, y de acuerdo con la mayor parte de autores, estamos convencidos de que no hay tal. Digamos, ya desde un principio, que son métodos que se complementan, pero que en modo alguno se oponen y que como veremos de su adecuada combinación podrán obtenerse indudables ventajas para nuestros conocimientos.

Ahora bien, antes de discutir sus respectivas indicaciones, conviene destacar un aspecto de interés capital. Y es que éste método, de modo similar a la punción esternal, debe ser guardado con el mayor cuidado de una generalización excesiva que le llevaría rápidamente al descrédito, si efectivamente se quiere valorizarlo y que sea útil en la práctica. En lo que atañe a nuestro objeto —insistimos— lo único que tiene importancia diagnóstica decisiva son los resultados positivos inequívocos; sin embargo, en muchos otros casos, se podrán obtener datos que unidos a los procedentes de los demás procedimientos exploratorios harán posible fundamentar conclusiones acertadas.

### Ventajas de la Punción Ganglionar

1. Hace asequibles adenopatías que por su situación anatómica, adherencias, etc. son de imposible o muy peligrosa biopsia (por ejemplo, adenopatías intratorácicas), o bien, cuando existe grave peligro de fistulización (adenopatías tuberculosas), en regiones en que esas representen un peligro en vista a la duración del proceso o por consideraciones estéticas (cuello).

2. Permite repetirla con frecuencia; de aquí la posibilidad, anteriormente no lograda, de una observación en serie de los fenómenos que tienen lugar en el interior del parénquima linfático; y del mecanismo íntimo de actuación de los métodos terapéuticos, (rayos X, por ejemplo).

3. Las enfermedades de los tejidos linfático y retículo-endotelial, pueden afectar de manera distinta a los diversos ganglios de la economía. Por lo tanto,

\* V. nota pág. 138.

en un caso dado, mientras unos sólo presentan lesiones incipientes, por completo inespecíficas, en otros ya serán típicas, o bien terminales y, por consiguiente, muchas veces no identificables. Y esto sin que en general sea posible determinar por el examen clínico *cúal es el ganglio que interesa extirpar*, y de aquí que la biopsia pueda dar resultados nulos o hasta desorientadores. Ello obligaría a repetirla varias veces, cosa que no siempre es factible. En cambio, es generalmente bien aceptada la práctica de punciones en las distintas adenopatías, que permiten obtener una visión de conjunto, panorámica, del sistema ganglionar afecto. Además, será posible conocer la existencia de dos enfermedades en un mismo paciente, hecho relativamente frecuente. (Recuérdese la asociación tuberculosis-linfogranulomatosis maligna).

Por fin, la punción prestará un servicio valioso, al señalar el ganglio más específicamente afecto para ulterior biopsia, completándose así armónicamente el estudio de los casos que lo requieran.

4. Se aplican al extraído ganglionar los métodos hematológicos con sus posibilidades casi ilimitadas de diferenciación, y sobre elementos celulares en buena parte inalterados, lo que proporciona imágenes de belleza y nitidez magníficas muy superiores a las de un corte histológico por perfecto que sea, a causa de las lesiones inevitables producidas por los fijadores y demás manipulaciones. Por este camino se han conseguido notables avances en el conocimiento de la citología, tanto normal como patológica, de los sistemas hemolinfático y retículo-endotelial.

5. La rapidez. Se puede proceder a la lectura del extraído, después de los 20-30 minutos que exige la coloración de MAY-GRÜNWALD-GIEMSA.

6. No existe, prácticamente, el peligro de originar una diseminación del proceso, cuando se trate de tumores ganglionares malignos, como sucede a veces con la biopsia.

7. Cuando por circunstancias pertinentes al enfermo o a sus familiares, sobre todo en el ejercicio privado, y en medios rurales, la biopsia, sea imposible, la punción, bien aceptada la mayor parte de las veces, podrá conseguir un diagnóstico.

### **Inconvenientes**

1. Imposibilidad del estudio topográfico. En las extensiones, las células están sueltas o formando acúmulos, pero desprovistas de sus conexiones fundamentales, lo que impide en absoluto el estudio topográfico. Claro está que cuando se obtiene mucho material, esta dificultad puede ser, en parte, subsanada por la inclusión en parafina de las parcelas más grandes.

Siempre que el adenograma no sea decisivo, deberá practicarse biopsia. Además, al efectuar ésta, también pueden realizarse impresiones sobre portaobjetos (SCHILLING, NAEGELI, KLIMA, etc.), que teñidas por los métodos hematológicos, proporcionarán, de manera análoga al extraído, bellas imágenes microscópicas.

2. Peligros. — Son, en realidad, mínimos. Quedan reducidos a hemorragias por punción arterial, que generalmente se resuelven bien.

3. Dificultad en la interpretación del extraído. — Es otro de los inconvenientes de importancia. Es imprescindible poseer la necesaria experiencia y, además, realizar un estudio atento y minucioso de las extensiones, tal como veremos seguidamente.

### **Lectura de las preparaciones del extraído ganglionar normal**

Normalmente los ganglios linfáticos superficiales, no son asequibles a la punción a causa de su pequeño tamaño. Para saber las características de su

extraído, acudimos a la realización de impresiones de ganglios inguinales biopsiados a nuestra petición por el cirujano, durante la operación radical de la hernia inguinal, en sujetos por lo demás sanos. En los «frottis» ganglionares a diferencia de lo que ocurre con la sangre e incluso con la médula ósea, la distribución de las células es en extremo variable. Por lo tanto deberá efectuarse en primer lugar, tal como indicábamos para los extraídos medulares, un examen a pequeño aumento de la preparación teñida que proporcionará una idea sobre la riqueza celular, sobre el predominio de determinados elementos, sobre la presencia de cordones celulares, o de formaciones tumorales. Deben considerarse de esta manera todas las extensiones; hacerlo con una sola es en extremo aventurado. A continuación se estudiarán con el objetivo de inmersión las zonas más interesantes para el fino detalle de las estructuras citológicas.

### **Características del extraído ganglionar**

Es relativamente escaso en células. Predominan los linfocitos adultos, pequeños, junto con algunos linfocitos y prolinfocitos. En mucha menor proporción existen células plasmáticas, idénticas a las existentes en la médula ósea, y mastocitos que se diferencian de los leucocitos basófilos hemáticos por su reacción de las oxidadas negativa. Además se encuentran hematíes, polinucleares neutrófilos y eosinófilos, en cantidad variable.

Merecen una mención especial las células pertenecientes al retículo-endotelio del ganglio, que en cierto número se encuentran siempre al lado de las células linfáticas. Su estudio que nos interesa directamente, será efectuado como ya indicamos en el capítulo siguiente (III), junto con los elementos de igual estirpe de la médula ósea y bazo. Aquí precisa señalar, que hemos utilizado no sólo extensiones procedentes de ganglios normales, sino también de adenomegalias reactivas, mucho más asequibles e interesantes a este respecto, a causa de la «activación» del retículo, que presentan.

### **El Adenograma**

De conformidad con lo anteriormente expuesto, consideramos no sólo inútil, sino hasta contraproducente el recuento y diferenciación porcentual de los distintos tipos celulares; le es indiscutiblemente superior, aquí sin discusión alguna, el examen de conjunto detenido y meticoloso. De manera que, y de acuerdo con la mayoría de autores, no procede hablar de «adenograma» o «linfograma» en el sentido en que se dice corrientemente «hemo» o «mielograma», sino como *denominación global de las características del extraído*. Así lo utilizamos en nuestro anterior trabajo sobre la punción ganglionar, como método diagnóstico.

### **Punción esplénica**

Hasta fecha reciente la mayoría de las investigaciones mediante la punción del bazo, habían sido efectuadas en países latinos, (MATILLA, RAMOS, PITALUGA, GUASCH, SALA GINABREDA, etc. en España; FERRATA, STORTI e INTROZZI en Italia, ARAVANTINOS, P. E. WEIL, ISCH-WALL y PERLES, GIRAUD, en Francia), y por los médicos en ejercicio en países tropicales (MANSON-BAHR). En cambio, en la bibliografía germánica aparte del trabajo de V.NAGY (1924) una de los primeros estudios sistemáticos es el de TEMPKA y KUBICKZEK (1938). Posteriormente SCHULTEN, HEILMEYER, ROSENOW, reconocen el valor del procedimiento dedicándole merecida atención; y en 1947, aparece la excelente y comprensiva monografía del ilustre hematólogo suizo MOESCHLIN. Es interesante señalar esta rápida generalización de la punción esplénica, verificado en poco

más de una década, teniendo en cuenta, que, por ejemplo, en la monografía dedicada al bazo por P. KEMPLERER, en el «Handbook of Hematology» de DOWNEY, en dónde se reúne, prácticamente, todo lo publicado hasta 1938, la mayoría de datos proceden de estudios necrópsicos o consecutivos a extirpación aún la quirúrgica del órgano. Sin embargo, hay escuelas hematológicas que emplean raramente, y es notable que, por ejemplo, en la excelente Hematología de WINTROBE (1947) si lo es mencionada ocasionalmente.

El empleo de la punción esplénica, está limitado a los casos en que existe esplenomegalia, aunque INTROZZI ha efectuado punciones en bazos de volumen normal. Hay que tener en cuenta, su relativa peligrosidad, menor que la afirmada por muchos autores siempre que se tengan muy presentes sus contraindicaciones: esplenomegalias sépticas, infartos esplénicos, enfermos con diátesis hemorrágicas, cierto número de esplenomegalias congestivas, fundamentalmente, y se actúe con técnica correcta.

### Técnica

Es bien conocida en España, por cuyo motivo sólo aludiremos, brevemente, a algunos detalles de la misma. En nuestros enfermos verificamos la punción utilizando un trocar de punción lumbar, ya directamente a través de la pared abdominal, en las grandes esplenomegalias, o bien, en las de menor volumen, en la zona de máxima matidez, en el 9<sup>º</sup> ó 10<sup>º</sup> espacio intercostal izquierdo, y entre las líneas axilar anterior y axilar media, con ligeras variaciones según el estado del diafragma en la inspiración profunda, y la extensión de la matidez.

Previa desinfección y anestesia local, puncionamos en la zona indicada, instruyendo antes al enfermo que es preciso mantenerse en inspiración máxima. Se retira el mandril, y aspiramos entonces una sola vez y suavemente con una jeringa de 20 c.c. esterilizada y seca, de modo análogo a la punción esternal, pero con la diferencia de que aquí conviene extraer la menor cantidad posible de material, no debiendo aparecer jugo esplénico en el interior de la jeringa. Después se retira el trocar con rapidez. El enfermo deberá permanecer en cama, boca arriba, mejor con una bolsa de hielo sobre la región esplénica, durante unas 12 a 24 horas. Si hay molestias se administran analgésicos suaves.

Las extensiones se han de preparar rápidamente, puesto que el líquido esplénico se coagula de modo casi inmediato, y de forma análoga a las efectuadas con sangre, o las de jugo medular o ganglionar total, como ya fué descrito. Los métodos de coloración empleados, son los mismos, que en las restantes punciones.

Si se obtiene cantidad suficiente de extraído, puede incluirse en parafina, para su estudio histológico.

En bastantes ocasiones realizamos la punción esplénica, con el trocar sin mandril, y sin aspirar con la jeringa, retirándolo inmediatamente después de introducido. En general, queda bastante tejido esplénico en el interior de la cánula, para verificar extensiones. De este modo se disminuyen al máximo los peligros de lesionar el bazo, ganándose en rapidez.

### Lectura del extraído esplénico

A este objeto son válidas todas las consideraciones efectuadas al tratar de las punciones esternal y ganglionar. Creemos también que el *esplenograma*, como diferenciación porcentual de los elementos celulares del extraído, tiene una importancia relativa, y le supera una impresión de conjunto obtenida mediante estudio cuidadoso. Sin embargo, y de modo análogo al mielograma es útil para completar los dictámenes, y comparar resultados.

### Características del extraído esplénico

Las extensiones son abundantes en células: linfocitos y sus formas antecesoras, polinucleares neutrófilos y eosinófilos, monocitos, hematíes y numerosos acúmulos de plaquetas. Y debemos aludir especialmente a las células reticulares, que estudiaremos más adelante.

La distribución de las células en las extensiones, es bastante irregular, a causa de los dos componentes fundamentales del tejido esplénico: pulpa roja, y folículos linfáticos, puesto que, si bien la primera se dispone de modo bastante homogéneo, todo lo contrario ocurre con los nodulillos linfáticos. Si se ha aspirado demasiada sangre la interpretación es más difícil, debiendo examinar con detalle en tales casos los bordes de las extensiones. Para asegurarse de que se trata de tejido esplénico, precisa observar células características del mismo: Macrófagos y «células de la pulpa» de MOESCHLIN.

En realidad, nuestra descripción del extraído esplénico «normal», es sólo aproximada. Se trata de punciones verificadas en enfermos de ictericia hemolítica congénita, y en el acto operatorio de bazos extirpados para el tratamiento de la enfermedad de WERLHOF.

**Tabla n.º 2  
ESPLENOGRAMA "NORMAL"**

	Tempka y Kubiczeck	P, F, Wesl	Rosenow	Moeschlin	Dulanto
Células reticulares . . .	0'6-2'5	—	—	0'5-1'8(*)	1-2'3
Endotelios. . .	0-3	—	—	—	—
Células cianófilas . . .	0'25-0'83	1-2	1-2	0-0'3(**)	0'5-3'5
Eritroblastos . . .	—	1 p. 500	rara	0-0'1-0'2	—
Formas inmaduras de la serie granulocíticas. . .	0'15	—	—	0'05-0'3	0'2
Cayados neutrófilos . . .	0'3-1'5			1-0-7'0	0'8-5'2
Neutr. segment. . .	5'0-8'0-(***)	20-30	25-30	8'0-25'0	14'5-30'4
Eosinófilos. . .	0'12-0'5	1'00	1'	0'2-15	0'1-2'6
Basófilos . . .	0'12-0'5	rara	0'1	0'1-1'1	0'1-0'5
Monocitos . . .	0'5-1'5	5-10	5-10	1'2-2'4	1'5-8'3
Linfoblastos . . .	0'3-7	—	—	0'-0'2	0'6-2'2
Grandes células reticulares linfáticas (****) . . .	—	—	—	0'-0'1	—
Linfocitos . . .	41'0-59'5	60-80	60-80	58'0-89'0	55'0-75'0
Células no diferenciables .	0'15-0'2	—	—	—	—
Células parcialmente des-truídas . . .	0'15-8'6	—	—	—	—

(\*) MOESCHLIN incluye bajo el epígrafe «células reticulares» a las células plasmáticas (cianófilas) reticulares, que diferencia de las «células plasmáticas linfáticas». Nosotros reunimos a todos estos elementos bajo la designación de «células cianófilas» (v. más adelante).

(\*\*) Las cifras de MOESCHLIN que figuran en la tabla corresponden a sus «células plasmáticas linfáticas».

(\*\*\*) TEMPKA y RUBICZECK consideran que el porcentaje de los granulocitos se debe a la mezcla con sangre circulante.

(\*\*\*\*) Nosotros incluimos a las «Grandes células reticulares linfáticas» de MOESCHLIN, entre las «Células reticulares» (v. más adelante).

En estas condiciones, y por tanto, suponemos que con mayor razón en personas estrictamente normales, no se observan en el extraído esplénico elementos nucleados de la serie roja, forman inmaduras de la serie granulocítica ni megacariocitos, de acuerdo con HEILMEYER, TEMPKA y KUBICZEK, y ROSENOW. Su hallazgo, por lo tanto, poseerá siempre considerable importancia.

### El esplenograma normal

Precisa diferenciar 1.000 elementos nucleados, calculando después el porcentaje de cada célula. Además, pueden calcularse las *mitosis* de cada tipo citológico, refiriéndolos, como se hace en los mielogramas a 1.000 elementos.

En la Tabla núm. 2 figuran los valores hallados por TEMPKA y KUBICZEC, P. E. WEIL, ROSENOW, MOESCHLIN, y nosotros.

### La punción biopsia-hepática

El hígado, en la edad adulta, no es un órgano hemocitopoyético, y por lo tanto, rebasa los límites de nuestro estudio. A pesar de ello, su abundancia en tejido retículo endotelial, y la frecuencia con que varias enfermedades de este último le afectan, exige que tratemos, brevemente, de la punción-biopsia hepática.

Aparte de su empleo como procedimiento de diagnóstico parasitológico en Patología Tropical, ha sido utilizado por LABRÉ (1918), FIESSINGER (1935) y WEIL (1936), realizándola por vía anterior, con un trocar fino, y siempre en presencia de hepatomegalia. De esta forma se obtiene el *hepatograma*, mediante tinción del extraído con los métodos hematológicos. El citodiagnóstico, sólo ofrece aquí perspectivas limitadas y está indicado especialmente como colaborador de la biopsia por aspiración de los órganos hemocitopoyéticos. (WEIL, TISCHENDORF). En este sentido ha sido empleado por nosotros.

En 1943, ROHOLM, IVERSEN y KRARP, describieron un nuevo método, que consiste en puncionar el hígado por vía transcostal, mediante un trocar grueso, de 15-18 cm. de longitud y 2 mm. de diámetro, provisto en el borde libre la cánula de unas entalladuras que permiten seccionar un cilindro de parénquima, que se extrae por aspiración, y luego se fixa, e incluye en parafina, con lo que se hace posible un estudio topográfico similar a la biopsia obtenida mediante laparatomía. A pesar de la resistencia que encontró al principio, por la relativa peligrosidad del método, se ha extendido ampliamente, consiguiéndose mediante su ayuda notables progresos en el conocimiento de la Patología del hígado (HOFFBAUER, SHERLOK, AXENFELD, KALK, etc.). En España, BACARDÍ, ha consagrado su excelente Tesis Doctoral, al estudio de la biopsia hepática por aspiración, y le debemos la práctica de la misma en algunos de nuestros enfermos.

## BIBLIOGRAFÍA

### PUNCION ESTERNAL

- ALDEB, A.: «Atlas des normales u. path. Knochenmarkes». Berlin, 1939.  
 ALDER, A.: «Ohweir. Med. Wschr.», 1944, 1288.  
 ARINKIN, M. I.: «Die intravitalen Untersuchungsmethodik des Knochenmarkes». Folia haematol., 38, 233, 1929.  
 BARASCIUTTI, A.: «Sull quadro ematico e midollare nel vecchio». Rass. Fisiopat., 10, 577, 1938.  
 CONTI, G. «Il midollo osseo del lattante normale». Haematologica (Arch), 23, 2267, 1941.  
 DAMESHEK, W.: «Biopsy of Sternal bone-marrow». Its value in the study of the blood forming organs. Amer J. Med. Sci., 190, 617, 1935.  
 DAMESHEK, W.: «Blood», 1948, p. 209.  
 FERRATA, A.: «Le Emopatie». Milán, 1935.  
 FIECHI, A.: «Semeiología del midollo osseo». 2.ª ed., Pavia, 1946.  
 FRADE, F. y CIVEIRA, F.: «Medicina», XII, 2, 1944, p. 69.  
 GREIF, St. «Die Sternalpunktion und die Versuche über ihrer quantitativen Verwertung». Med. Welt., 1937, p. 847.  
 HADORN: «Praxis», 1944, 375.

- HENNING, N. y KEILHACK, H.: «Die Ergebnisse der Sternalpunktion». Erg. der Inn. Med., 56, 372, 1939.
- JACOBSEN, K. M.: «Untersuchungen über das Knochenmarkspunkat bei normalen individuen versch. Altersklassen.» Acta. Med. Scand., 106, 417, 1941.
- JAGIC, N. y KLIMA, R.: «Ueber die diagnostische Bedeutung des Knochenmarkspunktion». W. Klin. Wschr., I, 363, 1937.
- KIENLE, F.: «Die Sternalpunktion in der Diagnostik». Thieme ed., Lpz., 1943.
- KLIMA, R.: «Sternalpunktion u. Knochenmarksbild. bei Blutkrankh.» Berlin, 1938.
- KLIMA y FLEISCHACKER: «Münch. Med. Wschr.», 17, 661, 1937.
- KRACKE: «Diseases of the Blood». Filadelfia, 1941. Lippineot. ed.
- KRUMBAAR y CUSTER: «Studies on the structure and functions of bone marrow». VI. «A note of diff. cell counts». Amer. J. med. Sci., 189, 130, 1935.
- LEITNER, St. J.: «Die klin. Bedeutung der intravitalen K. M. untersuchung». Untersuchung mittels Sternalpunktion. Fol. haematol. (Lpz), 65, I, 1941.
- LEITNER, St. J.: «Die intravitale K. M. untersuchunk». Benno Schwabe, ed. Basilea, 1945.
- MALLARME, J.: «Le myelogramme normal et pathologique par ponction sternale». Doin ed. Paris, 1937.
- MARKOFF, N.: «Die Beurteilung des Knochenmarks durch Sternalpunktion». Dtch. Arch. klin. Med., 179, 113, 1936.
- MARKOFF, N.: «Das K. M. bei norm. u. path. Schwangerschaft». Z. Geburtsh., 119, 13, 1939.
- MEYER, L. M. y HALPERN, J.: «Amer. J. med. Path.», 1944, 14, 247.
- MORALES PLEGUEZUELO: «La biopsia medular. Nuevos aspectos de la Hematología». Barcelona, C. Med., ed. 1942.
- NORDENSON, N. G.: «Ueber die Sternalpunktion u. ihre praktisch. diag. u. theoretische Bedeutung». Nord. Med., 1940, 834.
- ORIA, J.; RAMOS, J., y TRANCESI, B.: «Histología de la médula ósea *in vivo*. El valor de la investig. de la médula ósea en clínica. Ann. Fac. Med. Sao Paulo, 14, 113, 1938.
- PLUM, C. M.: On the composition of the Bone-Marrow in Normal Adults». Acta Med. Scand.
- PINEY: «Sternalpuncture». 3.<sup>a</sup> ed. Heineman, ed. Londres, 1946.
- PLUM, C. M.: «On the composition of the Bone-Marrow in Normal Adults». Acta Med. Scand. 107, 11, 1941.
- PONTONI, L.: «Sul alcuni rapporti citologici ricavati dal mielogramma». Haematologica (Arch), 1936, 17, 833.
- RASTELLI. «La puntura sternale». Roma, 1943.
- REICH, C., y KOLB, F. M.: «A Quantitative Study of the Variationis in Multiple Sternal Marrow Samples taken simultaneously». Amer. J. of Med. S., 1942, 204, 496.
- RENZI, de: «Il puntato midollare nella diag. hematologica». Giorn. Med., 1939, núm. 3.
- REVOL, L.: «L'expl. de la moelle osseuse par ponction sternale». Paris. Bailliere, 1938.
- ROVERSI, A. S. y TANTURRI, E.: «La puntura dello sterno nella practica medica». Haematologica (Arch.), 5, 709, 1935.
- RUBINSTEIN, M. A.: «Aspiration of bone-marrow from the iliac crest.», J. A. M. A., 1948, 137, p. 1281.
- SCHULTEN: «Lehrbuch der klin». Haemat., Leipzig, 1942.
- SCHULTEN: «Die Sternalpunktion als diag. Methode». Thieme ed. 1936.
- SCOTT, R. B.: «Sternalpuncture in the diagnosis of diseases of Blood forming organs. Quart. J. Med., 32, 127, 1939.
- SEGERDAL, E.: «Ueber Sternalpunktionen». Acta Med. Scand. Suppl., 1935.
- STORTI, E.: «La puntura sternale nella practica clinica». Gazzette Degl. Osp., 1938, núm. 93.
- TECILAZIC, F.: «Richerche hematolog. *in vivo* sul midollo osseo nella 1.<sup>a</sup> infancia». Pediatría, 43, 658.
- TEMPKA, T. y BRAUN: «Folia haematol.», 48, 355, 1932.
- THADDEA, S.: «Die Sternalpunktion un ihre klin». Verwertung. Berlin Enke, ed. 1943.
- VARELA, M. E.: Hematología Clínica. El Ateneo. Buenos Aires, 1941.
- VIDEBAEK, A.: «Normal bone-marrow punctates from individuals various age groups. Folia haematologica, 65, 203, 1941.
- WINTROBE, M.: Clinical Hematology», 2.<sup>a</sup> ed. Filadelfia, 1947.
- YOUNG y OSGOOD: «Sternalmarrow aspirated during life». Arch. int. Med., 186, 1936.
- ZANATY, A. F.: «Examination of the bone-marrow by Sternalpuncture». Lancet. Oct., 23, 1937.

## PUNCION GANGLIONAR

- ALBAHARY, C. «Indications, technique et result. de la ponction gauglionnaire «Le Sang». XV., 8.474.
- BUDING: «Die Drüsenspunktion als diag. Methode». Med. Klinik., 1, 1, 1943.
- DULANTO, F. de: «La punción ganglionar como método diagnóstico». Medicina Clínica. Barcelona, agosto 1944.
- FORKNER, P. E.: «Arch. int.». Med., 40, 532, 1927.
- GINSBOURG, G. B.: «Le Sang», 9, 334, 1935.
- GLOOR-MEYER: «Dtsch. med. Wschr.», 1937, II, 1696.
- GUASCH, G.: «Hematología», fasc. II. 1936, Barcelona.
- GUTHIE, C. G.: «Bull. J. Hopkins Hosp. Baltimore», 32, 266, 1921.
- HOEPKE, A.: «Anat. Anz.», 230. Erg. H. 87, 1938.
- HOFF: «Erg. Inn. Med.», 44, 1934.
- KLIMA y FLEISHACKER: «Münch. Med. Wschr.», 17, 661, 1937.
- LACHNIT, V.: «Wien. klin. Wschr.», I, 747, 1939. Wien. Arch. Int. Med., 34, 3. 1940.
- LEITNER St.: «Die diag. Wertbarkeit der lymphknotenpunktion». Acta med. Scand., 5, 6, 1940.
- MARTIN, H. E.; ELLIS, E. D.: «Surg. Gyn. a. Obstetric.», 52, 2, 578, 1934.
- MOESCHLIN, S.: «Helvet. Med. Acta». 7, 1940. Folia haematologica, 65, 1941.
- PAVLOVSKY, A. J.: «La punción ganglionar». Buenos Aires, 1934.
- SHARP, G.: «Amer. Journ. Canc.», 15, 863, 1931.
- STAHEL, R.: «Diag. Drüsenspunktion». Thieme ed. 1939.
- TISCHENDORF, W.: «Ergebnisse der Lymphknotenpunktion». Thieme ed. 1942.
- VELASCO MONTES, F.: «Münch. Med. Wschr.», 86, 255, 1939.

## PUNCION ESPLENICA

- ARAVANTINOS: «Modifications dans la technique de la ponction de la rate». Bull. de la Soc. de Path. Exotique, París, 44, 1916.
- ARAVANTINOS: «Methode pour assurer l'innocuité parfaite de la ponction splénique». Ibid., 701-705, 1918.
- GIRAUD, P.: «Rev. Med. de France et des Colonies», oct. 1925.
- GIRAUD, P.: «Presse. Med.», 86, 1934.
- INTROZZI, P.: «Precis de Hematologie». Pavia, 1935. (Citado por Weil).
- MATILLA, V.: «Manual de Microbiología Médica». Ed. Científico-Médica. Barcelona, 1942.
- MATILLA, V. y LASTRA, J.: «Técnica bacteriológica y parasitológica». Madrid, 1946.
- MOESCHLIN, S.: «Die Milzpunktion». Benno Schwabe., ed. Basilea, 1947.
- NAGY G. von: «Ueber die Technik der Milzpunktion u. ihren diag. Verwertung». Klin. Wschr., 1924, 274.
- PITALUGA, G.: «La ponction de la rate comme moyen d'exploration aux fins de diagnostic». Rev. Med. française, 1935.
- RAMOS, R.: «Rev. de Inf. Terapéutica», 1936.
- ROSENOW, G.: «Enfermedades de la sangre», 4.<sup>a</sup> ed. esp., Labor, 1944.
- SALA GINABREDA, J.: «Rev. Med. de Barcelona», marzo 1932.
- STORTI, E.: «Diag. differenziale delle emopatie». Milano, 1939.
- TEMPKA y KUBICKZECK, M.: «Das normale u. pathologische Splenogramm im Lichte, eigener Untersuchungen». Fol. haematol., 1938, 60, 18.
- WEIL, P. E., ISCH-WALL, P., y PERLES, S.: «La ponction de la rate». Masson ed. 1936.

## PUNCION BIOPSIA HEPATICA

- AXENFELD, H.: «Leberpunktion». Zblatt. f. allg. Forschung, 377, 23, 1943.
- BACARDI, R.: «Tesis doctoral», 1948.
- BACARDI, R.: «Generalidades sobre la punción biópsica aspiradora del hígado». Medicina Clínica, 1950, XIX, p. 5.
- FEISSINGER, ROUX y LAMBOTTE. «Bull. Acad. Med. de París», 1943, 127, 372.
- HOFFBAUER, H.: «Ext. Year-book of Gen. Med.», 1945.
- KALK, BRUHE y SIECKE: «Die geziehlte Leberpunktion». Dtsch. Med. Wschr., 1934, 39, 49, 693.
- ROHOLM, IVERSEN y KRAUPH «Aspiration biopsie der Leber. Erg. Inn. Med.», 1942, 61, 635.
- SHERLOCK, S.: «Ext. Year-book of Gen.» Surgery, 1946.