

244
2eq



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

PUNCION HEPATICA CON AGUJA FINA Y
SU CORRELACION HISTOLOGICA EN PERROS

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
GERARDO VILLANUEVA ARENALES

Asesores: M.V.Z. NURIA DE BUEN DE ARGUERO
DRA. PATRICIA ALONSO



MEXICO, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1989



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	6
RESULTADOS	8
DISCUSION	12
CONCLUSIONES	15
LITERATURA CITADA	16
CUADRO 1	18

RESUMEN

VILLANUEVA ARENALES GERARDO. Punción hepática con aguja fina y su correlación histológica en caninos (bajo la dirección de: Nuria de Buen Argüero y Patricia Alonso).

Se realizó punción hepática con aguja fina en 100 perros. Una vez localizada el área, sin utilizar anestesia, se procedió a la punción, la cual se efectuó con aguja calibre 21 y jeringa de 20 ml. Con el material obtenido se hicieron frotis tñiéndose con la técnica de Papanicolaou. Posterior al sacrificio se recolectó al azar un fragmento de tejido hepático con el fin de establecer la correlación histológica. Estos fragmentos fueron procesados por el método de inclusión en parafina y teñidos con H y E. La correlación de los hallazgos histológicos obtenida fue de 69.9%; correspondiendo a 65 casos donde observamos 41 casos sin alteraciones, 15 con esteatosis, 7 infiltrado inflamatorio y 2 pigmento. El grupo de casos en los que no se obtuvo correlación correspondieron al 30.1%, (28 casos) 23 en la citología no presentaron alteraciones, y en la histología 19 presentaron esteatosis, 1 fibrosis, 1 necrosis, 1 pigmento hemático y 1 metástasis de carcinoma epidermoide. En 4 casos de este mismo grupo, en la citología se observó esteatosis y en la histología 2 de ellos tenían infiltrado inflamatorio, 1 pigmento, y otro sin alteraciones. En el último de este grupo en la citología se encontraron células inflamatorias y en la histología no hubo alteraciones. De los 100 casos estudiados en 7 citológicos el material no fue suficiente para su evaluación. Mediante la fórmula de Baye's se obtuvo una especificidad del 89% y una sensibilidad del 35% con lo que se corrobora que la punción hepática con aguja fina es un método altamente específico y poco sensible cuando no se tienen datos clínicos y de laboratorio que nos orienten hacia las alteraciones hepáticas. Comprobándose además que es un método confiable, inocuo y útil como auxiliar en el diagnóstico de la patología hepática.

INTRODUCCION

A pesar de las numerosas pruebas de química sanguínea desarrolladas para el diagnóstico de enfermedades hepáticas, ninguna nos muestra en forma objetiva el daño hepático producido, incluso ni con métodos tan avanzados como la angiografía o la ecosonografía, con los cuales se obtiene un panorama general del daño hepático, pero no el diagnóstico exacto, lo que hace tener la necesidad de una idea clara de la citohistología hepática con el propósito de establecer o corroborar un diagnóstico preciso para poder así seleccionar la terapia adecuada y pronosticar el desarrollo de la enfermedad.

Con base en esta necesidad se han desarrollado varias técnicas que nos permiten observar las características citohistológicas del hígado (3,4,5,7,9,10,11,12,13,16,20). Dentro de éstas tenemos a la biopsia hepática, la cual es propiamente una cirugía que implica las técnicas, aparatos, equipo, cuidados y riesgos de cualquier otra cirugía (3,4,5,7,9,16,17), lo que la hace incosteable, además de muy poco práctica para hacer de ella un método rutinario de diagnóstico. Otra técnica es la biopsia percutánea desarrollada por primera vez en 1883 por Paul Erlich, citado por Lundquist -Suppl. 520- (15) para establecer las cantidades de glucógeno en enfermos de diabetes. En los comienzos del siglo XX Bingel (2) reveló alta mortalidad mediante esta técnica y fue hasta 1939 cuando Iversen and Roholm en Dinamarca (8) y Baron en USA (1) comenzaron a usar este método de manera general.

A partir de entonces se elaboraron diversas modificaciones a dicha técnica, tanto en el instrumental, como en el tipo de aguja y también en el procedimiento de la misma. Actualmente la técnica desarrollada en 1958 por Manghini (16), es incuestionablemente la técnica más simple y de mayor difusión, dentro de las técnicas de biopsia percutánea.

La biopsia percutánea es también conocida como biopsia por punción y es posible en ésta realizar diversas pruebas tales como la determinación de glucógeno, cobre, hierro, porfirinas, enzimas, etc., también es posible diagnosticar diversas enfermedades: hepatitis, cirrosis, neoplasias, etc. (3,5,7,15,17)

En perros el primer reporte del uso de la técnica fue hecho por Chapman en 1965 (3), donde describe la necesidad de anestesia local y una pequeña incisión en piel en el sitio de punción, con resultados exitosos. Posteriormente la describen Knecht and Reynolds en 1967 (9) y Feldman and Ettenger en 1977 (4).

Mediante esta técnica se obtiene un fragmento cilíndrico, sólido, de 2 a 2.5 cm. de longitud con un diámetro de 1 a 2 mm. lo cual tiene el riesgo de lesionar vasos sanguíneos o conductos biliares, por lo que a pesar de su utilidad la biopsia percutánea de hígado con aguja de Vin Silverman, no es un procedimiento inocuo y no deberá ser usado como un sustituto de diagnóstico, sino, como un aliado del mismo, en los casos que así se requiera -Osborne, Stevens and Perman (17) Feldman (4), etc.

Debido a las complicaciones de la técnica se intentaron otros métodos, consistentes en usar aguja fina. El primer reporte en humanos lo hizo Lucatello en 1985, citado por Lundquist -Suppl. 520- (15), posteriormente Frola en 1935 (6), utilizó agujas de 0.5 mm. de diámetro (calibre 22) y su uso se ha extendido desde entonces. Soderström en 1966 (21), publica la primera serie de biopsias, concluyendo que la citología hepática es una técnica complementaria excelente para demostrar cambios hematológicos, células malignas, estudios enzimáticos, fluorescencia, etc. De esta forma se inició la utilización de agujas mucho más delgadas desarrollándose así la técnica por punción con aguja fina para el diagnóstico de enfermedades hepáticas. En medicina humana existe una amplia difusión de la técnica, Lundquist en 1970 (14), la señala como un método rutinario para el diagnóstico de neoplasias hepáticas tanto primarias como metastásicas utilizando como guía la angiografía y puncionando con agujas de 0.7 mm. de diámetro (calibre 21). Koss y col. (10,11) y Pedio y col. (18) reportan la punción mediante el uso de agujas que van de 0.68 mm. (calibre 21) a 0.43 mm. (calibre 22) de diámetro con longitudes desde 3.5 cm. hasta 7 cm. para el diagnóstico de alteraciones hepáticas, principalmente neoplasias, mediante la guía del ultrasonido para puncionar el área afectada, obteniendo más del 90% de efectividad. Leiman en 1989 (12) reporta la punción hepática con aguja fina usando como guía la radiología, con excelentes resultados.

Por otro lado al investigar sobre la incidencia de enfermedades hepáticas en el perro, nos encontramos que Trigo y Thompson (22) reportaron en un estudio hecho en Escocia con 1867 perros necropsiados entre 1970 y 1976 en la escuela de Veterinaria de Glasgow, que el 21.3% tuvieron lesiones patológicas significativas en el hígado y que más del 70% de éstas se clasificaron como cambios degenerativos o neoplásicos, representando estos últimos la gran mayoría de los mismos. Chapman (3) a su vez menciona que las indicaciones para la biopsia percutánea de hígado en perros mediante el uso de las agujas de Vin Silverman y Menghini:

- 1).- Para el diagnóstico diferencial de ictericia cuando exista desacuerdo entre las pruebas clínicas y de laboratorio.
- 2).- Para determinar la causa de la persistencia de ictericia en grado bajo.
- 3).- Para determinar la presencia de colestasis de 3 semanas por diferenciación de las formas intrahepática y extrahepática.
- 4).- Para determinar la presencia de hígado nodular.
- 5).- Para el diagnóstico de granulomatosis.
- 6).- Para determinar efectos de terapia.
- 7).- Para el diagnóstico en casos donde se sospeche que el hígado está involucrado: incluyendo enfermedades metabólicas.
- 8).- Para diagnosticar enfermedades hepáticas.
- 9).- Para diagnosticar hepatitis infecciosa canina.
- 10).- Para diagnosticar cirrosis.
- 11).- Para determinar procesos inflamatorios y degenerativos.

Las contraindicaciones son:

- 1).- Diátesis hemorrágica.
- 2).- Hipoprotrombinemia.
- 3).- Colemia.
- 4).- Ictericia obstructiva prolongada.
- 5).- Colangitis.
- 6).- Abscesos.

Así mismo Feldman y Ettinger (5) nos reportan que de 75 casos el 73.3% tuvo cambios histopatológicos donde: 14 tuvieron degeneración grasa, 11 neoplasia, 11 hepatitis, 8 colestasis, 5 necrosis, 4 colangitis, 2 cirrosis. Osborne, Stevens and Perman (10) reportaron que en general la biopsia percutánea facilita establecer el diagnóstico específico de las enfermedades hepáticas difusas tales como cirrosis, necrosis hepáticas agudas o amiloidosis. Koss (10,11) incluso indica el drenaje de los abscesos mediante la punción con aguja fina, usando como guía el ultrasonido, con lo que el método también es útil como tratamiento.

JUSTIFICACION

Los métodos con que se cuenta en Medicina Veterinaria para el diagnóstico de enfermedades hepáticas tales como estudios de laboratorio clínico y radiografías no son del todo satisfactorio ya que la mayoría de las veces no se puede llegar al diagnóstico específico. La punción hepática con aguja fina es un método que se utiliza en Medicina Humana con muy buenos resultados. Con base en lo anterior consideramos el implementar la técnica en Medicina Veterinaria permitirá una mayor integración del diagnóstico en enfermedades hepáticas.

HIPOTESIS

La punción hepática con aguja fina es un método específico y sensible para diagnosticar la patología hepática en perros, así como lo es en humanos.

OBJETIVO

Mostrar la bondad y sensibilidad diagnóstica de la punción con aguja fina en las alteraciones hepáticas, comprobándolo mediante estudio histológico.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 100 perros al azar sin considerar edad, raza, sexo ni estado de salud proporcionados por el Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

TECNICA DESARROLLADA

Se aplicó una modificación a las técnicas de punción con aguja fina descritas por Lundquist (13,14,15) en humanos y a la técnica de biopsia por punción descrita por Chapman (3).

AREA DE PUNCION: se coloca el perro en recumbencia lateral izquierda localizándose el séptimo o el octavo espacio intercostal a nivel de la línea media entre las regiones dorsal y ventral del perro. Sin el empleo de anestesia se procede a desinfectar el área con alcohol etílico. La posición de la aguja es en el plano perpendicular a la línea sagital. Se sugiere corroborar el sitio de punción mediante la percusión de los espacios intercostales seleccionados (*). En el momento de la inserción se atravesarán con mucho cuidado los primeros planos hasta que la aguja toque el hígado. Una vez avanzados 1 ó 2 cm. en el hígado, se procede a succionar lentamente, mediante la jeringa, el material hepático y sin dejar de succionar se retira en un solo movimiento, desinfectándose nuevamente el área. Con el material obtenido se realizaron 6 frotis, 2 se fijaron con cito-spray para su tinción con Papanicolaou y los restantes se secaron al aire. De estos últimos sólo se tñieron los que se requerían para corroborar el diagnóstico con las técnicas de Pearl's, Sudán y Pas.

Una vez realizados los frotis se anestesiaron a los animales con pentobarbital sódico por vía endovenosa, posteriormente se sacrificaron con cloruro de potasio. Colocándolos en recumbencia dorsal se incidió supraumbilicalmente a nivel de la línea media, obteniéndose una muestra de tejido hepático, la cual se fijó con formol al 10% y posteriormente se procesaron por el

* Comunicación personal Dr. Rubén Argüero

método habitual de inclusión en parafina y se tiñieron con H-E. Después de teñidas las laminillas se realizó la lectura al microscopio. A los resultados obtenidos se les aplicó el análisis estadístico desarrollado por Baye's (19) según las siguientes fórmulas:

$$\text{Sensibilidad} = p (T^+ / E^+) = \frac{TP}{TP + FN}$$

$$\text{Especificidad} = p (T^- / E^-) = \frac{TN}{FP + TN}$$

Donde:

$p (T^+ / E^+)$ = Es la probabilidad de que ocurra un evento en una prueba positiva (Sensibilidad).

$p (T^- / E^-)$ = Es la probabilidad de que no ocurra un evento en una prueba negativa (Especificidad).

TP = Verdaderos positivos

FN = Falsos negativos

TN = Verdaderos negativos

FP = Falsos positivos

RESULTADOS

Del material examinado se descartaron 7 casos del total por estar constituido por material citológico acelular, por lo que se consideraron inadecuados para su evaluación.

Con el material evaluado, 93 casos, se conformaron 2 grupos. El primer grupo corresponde a los casos en los que existió correlación citohistológica y el segundo de los casos que no tuvieron correlación.

El primer grupo representa el 69.9% de los 93 casos y el segundo al 30.1%.

T A B L A I

En el primer grupo de 65 casos, la correlación se obtuvo (ver cuadro 1) como sigue:

Sin Alteraciones	41
Esteatosis	15
Infiltrado Inflamatorio	7
Pigmento	<u>2</u>
Total	65

En el segundo grupo, de 28 casos, en que no hubo correlación los hallazgos fueron los siguientes:

T A B L A II

Citología		Histología	
		Esteatosis	19
		Fibrosis	1
		Necrosis	1
		Pigmento	1
		Metástasis de carcinoma	
		Epidermoide	<u>1</u>
Sin Alteraciones	23	Subtotal	23

Esteatosis	4	Infiltrado Inflamatorio	2
		Pigmento	1
		Sin alteraciones	<u>1</u>
		Subtotal	4
Células inflamatorias	<u>1</u>	Sin Alteraciones	<u>1</u>
Total	28	Total	28

APLICACION DEL ANALISIS ESTADISTICO DE BAYE'S

En el presente trabajo los verdaderos positivos (TP) correspondieron a los 24 casos en los que se detectó y corroboró alguna alteración hepática, los verdaderos negativos (TN) fueron los 41 casos en los que se descartó la presencia de alguna alteración hepática, los falsos positivos (FP) fueron los 5 casos en los que en la citología se detectó alguna alteración hepática sin corroborarse la histología y los falsos negativos (FN) fueron aquellos 23 casos en los que en la citología se descartó la alteración hepática y en la histología sí se encontró. Sustituyendo:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FN}} = \frac{24}{23 + 23} = 0.35$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{TN}}{\text{FP} + \text{TN}} = \frac{28}{28 + 0} = 0.89$$

La probabilidad de que un evento ocurra es un número entre el 0 y el 1 por lo tanto el resultado de la prueba nos indica que los hallazgos mediante la punción hepática con aguja fina a pesar de no tener datos clínicos de los casos, es una prueba con un 35% de sensibilidad y un 89% de especificidad.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Los parámetros utilizados para la evaluación de los hallazgos citológicos fueron:

Sin Alteraciones

Dentro de este grupo se consideró el material citológico en el que se observó: eritrocitos, células de Kupffer, células del epitelio de conductos biliares y hepatocitos con o sin glucógeno intracitoplasmático.

Esteatosis

Aquí se incluyeron todas aquellas muestras en las que los hepatocitos presentaban gotas tanto finas como gruesas, lo que se corroboró mediante la técnica de Sudán.

Células Inflamatorias

Se consideraron así a todas las muestras que presentaban leucocitos polimorfonucleares, linfocitos y eosinófilos.

Material Inadecuado

Fueron aquellos especímenes en los que no se obtuvo material celular suficiente para ser evaluado.

Pigmento

Este puede ser biliar o hemático y se valora por su presencia en el citoplasma.

La evaluación del material histológico se realizó tomando en cuenta los siguientes hallazgos:

Sin Alteraciones

Cuando la estructura hepática estaba conservada.

Esteatosis

En aquel material donde los hepatocitos mostraban vacuolación fina o gruesa del citoplasma.

Infiltración Inflamatoria

A la presencia de células inflamatorias abundantes en algún área del parénquima hepático.

Pigmento

Fue hemático o biliar, este último en forma de pequeños trombos entre los cordones de hepatocitos. El hemático se identificó dentro del citoplasma.

Fibrosis

Se encontró en forma de pequeñas bandas que se organizaban a partir de espacios porta.

Necrosis

Cuando hubo pérdida de los hepatocitos y en su lugar se observaron detritus celulares.

Foco de células epiteliales malignas

Hallazgo de células neoplásicas epiteliales sustituyendo un área del parénquima hepático.

Correlación Citohistológica

Cuando tanto en la citología como en la histología hubo hallazgos similares.

DISCUSION

Este estudio se realizó sin conocimiento clínico de padecimiento hepático, ya que se trató de animales tomados al azar, sin embargo pudimos observar que los hallazgos citológicos de la punción hepática con aguja fina tuvieron correlación histológica en su mayoría. Esto a pesar de que la muestra de tejido no fue tomada del sitio de la punción. Lo que demuestra por un lado, conforme a los resultados, que la técnica es altamente específica [$p = (T^+ / E^+) = 0.89$] y poco sensible [$p = (T^- / E^-) = 0.35$] cuando no tienen estudios de laboratorio previos ni se orienta hacia el área afectada la punción como lo realizó Koss (10,11), Pedio (18) y Teiman (12).

En el primer grupo, se obtuvo la mayor correlación con hígados normales, esto nos indica que la patología hepática canina es poco frecuente tal como lo señalan Trigo y Thompson (22) los que encuentran un 21.3% de lesiones hepáticas en un total de 1867 casos estudiados.

Dentro de este mismo grupo un 15% presentó esteatosis y un 2% presentó pigmento. Estos hallazgos son representativos de lesiones difusas, por lo tanto más factibles de identificarse mediante la punción con aguja delgada, lo que ocurrió en esta ocasión, coincidiendo con lo reportado por Osborne, Stevens y Perman (18) entre otros. El haber encontrado un gran número de casos de esteatosis puede ser un reflejo del estado de desnutrición de los animales estudiados dado el origen de los mismos, ya que todos fueron perros callejeros.

Por otro lado se sabe que los procesos inflamatorios hepáticos pueden ser locales o difusos, de los 9 casos con presencia de células inflamatorias en la citología, 7 obtuvieron correlación y 2 no. A la histología los 7 con correlación pertenecieron a procesos inflamatorios difusos y en los 2 sin correlación el proceso inflamatorio era local.

En el segundo grupo es interesante analizar que los 23 casos que en la citología se reportaron como normales, 19 en la histología tienen esteatosis, esto es explicable ya que la esteatosis puede o no ser difusa y probablemente

en estos casos fue local, no lográndose la punción en esta área.

El caso que en la citología no mostró la fibrosis, se debió a que esta última fue focal en la histología, además el análisis de células aisladas no nos da la información del patrón arquitectónico que se observa en la histología.

La no correlación citohistológica en los casos de necrosis y metástasis corrobora una vez más la necesidad de tener datos clínicos que orienten al tipo de patología por buscar, así como el disponer de métodos complementarios como serían estudios radiográficos o el ultrasonido para guiar exactamente el área a puncionar. Esto fue totalmente comprobado con el caso de la metástasis del carcinoma epidermoide que solo afectaba una pequeña porción de un lóbulo, este error es factible de eliminarse.

Por otro lado pudimos observar como lo han reportado Koss (10,11), Lundquist (13,14), Pedio (18) y Seybol (21), que la punción hepática con aguja fina evita las complicaciones de la toma de biopsia percutánea (con aguja de Vin Silverman), lo que la hace práctica, inocua, accesible y factible para ser utilizada como un método rutinario de diagnóstico en determinadas enfermedades hepáticas. Cabe señalar también que Koss (11) lo menciona como un método terapéutico para drenar los abscesos hepáticos.

Considerando el 90% ó más de certeza diagnóstica que reporta la literatura (10,11,12,13,18), cuando es tomada la muestra con localización previa del sitio de la lesión y datos clínicos adecuados, el que en el presente trabajo se haya obtenido, sin ningún dato clínico, ni estudio alguno previo, un 69.9% en la correlación citohistológica, es realmente significativo y nos puede servir como antecedente para futuros trabajos con esta misma técnica y su empleo como un método diagnóstico auxiliar en las alteraciones hepáticas, considerando además, que si bien no es elevado el porcentaje de patología hepática en caninos, si se hace necesario contar con un estudio que nos muestre en forma específica las alteraciones hepáticas, localizándolas previamente mediante otras técnicas como lo señalan diversos autores (10,11,12,13,14,15,18,21) ya mencionados.

El número de muestras citológicas inadecuadas reflejó errores en la técnica. sin embargo consideramos que un 7% cae dentro del margen encontrado en la literatura (8,15).

Dentro de las limitaciones de la técnica nos encontramos en la punción hepática con aguja delgada no sustituye a la biopsia percutánea (con aguja de Vin Silverman) en las alteraciones en las que se requiera de la observación de la arquitectura hepática para su diagnóstico.

CONCLUSIONES

Los hallazgos citológicos obtenidos con la punción hepática con aguja delgada en los 100 perros muestreados al azar muestran que:

- 1).- La citología es un método diagnóstico auxiliar efectivo para problemas hepáticos difusos aún sin datos clínicos.
- 2).- Se hace necesario tener una historia clínica así como datos de gabinete en los casos de padecimientos hepáticos localizados, por ejemplo: Quistes, Abscesos, Neoplasias primarias hepáticas, Metástasis, etc.
- 3).- Es un método específico y poco sensible cuando no se cuenta con datos clínicos previos.
- 4).- Queda demostrado que es un método accesible, sencillo, inocuo y práctico para su uso en la clínica veterinaria mediante el cual se puede establecer un diagnóstico preciso en la mayoría de los padecimientos hepáticos, lo que permite al clínico establecer la terapia adecuada.
- 5).- La punción y la observación debe realizarse por personal entrenado y capacitado para ello, ya que ésto reducirá el error diagnóstico.

L I T E R A T U R A C I T A D A

- 1.- Baron, E.: Aspiration for removal of biopsy material from the liver. *Arch. Intern. Med.*, 63: 276 (1939).
- 2.- Bingel, A.: Uber die parenchypunktion der leber. *Ver. Ltsch. Ges. inn Med.*, 35: 210 (1923).
- 3.- Chapman, Jr. W. L.: Liver biopsy in the dog. *JAVMA.*, 146 (2): 126-128 (1965)
- 4.- Feldman, E. C. and Ettenger, S. J.: Percutaneous liver biopsy. --- *JAVMA.*, 169 (8): 805-810 (1969).
- 5.- Feldman, E. C. AND Ettenger, S. J.: Percutaneous trasntoracic liver biopsy in the dog. a review of 75 cases. *J. Am. Hosp.*, 13 (1): 17-22 (1977).
- 6.- Frola, E.: Estude clinique de petar factionnel du foie por la ponction hepatiche. *Presse Med.*, 2: 1198 (1935).
- 7.- Hinko, P. J. and Kellogg, R. H.: A biopsy procedure for collecting hepatic tissue specimens for biochemical analysis. *J. Am. Anim. -- Hosp.*, 14 (14): 92-93 (1978).
- 8.- Iversen, P. and Roholm, K.: On aspiration of the liver with remarks on its diagnostic significance. *Acta Med. Scand.*, 102 (1): 4 -- (1939).
- 9.- Knecht, C. and Reynolds, H. A.: Needle punth biopsy procedures for obtaining specimens of the liver, Kidney and lymph nodes of dogs. *Anim. Hosp.*, 3: 163-170 (1967).
- 10.- Koss, L. G. and Coleman, D. V.: Advances in clinical cytology, vol. 2. *Masson Publishing, USA, 1984.*
- 11.- koss, L. C., Stonestow, W. and Olszewsky, W.: Aspiration biopsy, - cytologic interpretation and histologic basis. *IGAKU-SHOIN, 1984..*
- 12.- Leiman, G.; Leibowitz, B. C. and Dunbar, F.: Fine-needle aspira--- tion of the liver: *Diagnostic Cytopathology*, 5 (1): 35-39 (1999)
- 13.- Lundsquit, A.: Fine-needle aspiration biopsy for cytodiagnosis of malignant tumour in the liver. *Acta Med. Scand.*, 188: 471 (1970)

- 14.- Lundquist, A.: Liver biopsy with a needle of 0.7 mm outer diameter. *Acta Med. Scand.*, 188: 471 (1970).
- 15.- Lundquist, A.: Fine-needle aspiration biopsy of the liver. Application in clinical diagnosis and investigation. *Acta Med. Scand.*, --- Supp. 520: 1-28 (1971).
- 16.- Menghini, G.: One-second biopsy needle of the liver. *Gastroenterology*, 35: 190 (1958).
- 17.- Osborne, C. A. Stevens, J. B. and Pearman, V.: Needle biopsy of the liver. *JAVMA*., 155 (10): 1605-1620 (1969).
- 18.- Pedio, G., Landolt, U., Zobel, L. and Gut, D.: Fine needle aspiration of the liver. Significance of hepatocytic naked nuclei in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Acta Cytologica*., 32 (4): -- 437-442 (1988).
- 19.- Polansky, F. F. and Lamb, E. J.: Analysis of three laboratory tests used in the evaluation of male fertility: Bayes'rule applied to the postcoital test, the in vitro mucus migration test, and the zona-free hamster egg test. *Fertility and Sterility*, 51 (2): 215-223 --- (1989)
- 20.- Seybold, I., Goldstone, R. T. and Wilkis, R. D.: Exfoliative cytology. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 77 (7): 1029-1033 (1982).
- 21.- Soderstrom, N.: Fine needle aspiration biopsy. *Grune & Stratton*, -- New York, 1966.
- 22.- Trigo, J. T. F. y Thompson, H.: Estudio sobre la incidencia y tipos de lesiones hepáticas en perros de Escocia. *Rev. Vet. Mex.*, 10: --- 163-169 (1970).

CUADRO 1

HISTOGRAMA COMPARATIVO DE HALLAZGOS CITO-
HISTOLOGICOS DE LA PUNCIÓN HEPÁTICA