

Punción hepática con aguja delgada (PAD) en perros, correlación citohistológica

Gerardo Villanueva A.*

Nuria de Buen de A.**

Patricia Alonso de R.***

Abstract

Hepatic fine needle aspiration biopsy (FNA) was done in 100 dogs. The puncture was done with no anesthesia using a 21 calibre needle and a 20 ml syringe. Smears were done and stained using the Papanicolaou technique. In order to establish an histological correlation, hepatic tissue fragments were collected and processed with a paraffin inclusion method and stained with H.E. Under cytological observation, cases were eliminated as inadequate and 93 cases remained. The latter were cytologically and histologically studied and divided into 2 groups. There were 65 cases in Group 1, in which a cytohistological correlation was obtained. Sixtythree per cent presented no alterations, 23% with hepatic lipidosis; 10.7% corresponded to inflammatory alterations and 3.3% with hematic pigment. In Group 2 (28 cases), with no cytohistological correlation, 23 cases presented no cytological alterations (82.1%); and histologically, 19 corresponded to an hepatic lipidosis, 1 of them with a fibrosis, 1 case with necrosis, 1 with hematic pigment and one with metastatic cells from the squamous carcinoma type. Cytologically from 28 cases, 4 cases had hepatic lipidosis, and histologically they corresponded to 2 cases with inflammatory alterations, 2 with hematic pigment and 2 with no alterations. Using Baye's formula, a specificity rate of 89% and sensitivity of 55% were obtained. This corroborated that the hepatic fine needle aspiration biopsy is a highly specific method, but it is not a very sensitive method to select, when no clinical or laboratory data are available to guide to an hepatic alteration. It also proves to be a reliable, harmless and useful tool in the diagnosis of hepatic pathology.

Key words: FNA, LIVER, CYTHOLOGY, DOGS.

Resumen

Se realizó PAD hepática a 100 perros, utilizando una aguja del número 21 y jeringa de 20 ml. En el material obtenido se realizaron varios frotis que fueron teñidos con la tinción de Papanicolaou, para corroborar la presencia de pigmento biliar hemático, grasa y mucopolisacáridos, se tiñeron con Fouchet, Pearl's, Sudán y PAS, respectivamente. Los perros fueron sacrificados y se obtuvo un fragmento de tejido hepático para procesarse mediante inclusión en parafina y teñirse con hematoxilina y eosina. A la observación citológica 7 casos fueron eliminados por inadecuados, los 93 restantes se dividieron en 2 grupos: Grupo 1, 65 casos en los que se obtuvo correlación citohistológica, de éstos, 41 (63.0%) no presentaron alteraciones; en 15 (23.0%) se observaron cambios grasos, en 7 (10.7%) se apreció alteración inflamatoria, y en 2 (3.3%) hubo pigmento hemático. En el grupo 2, de 28 (100%) casos sin correlación citohistológica, 23 (82.1%) a la citología no

Recibido el 19 de abril 1996 y aceptado el 20 de septiembre de 1996.

* Clínica privada.

** Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

*** Departamento de Patología, Hospital General de México, Secretaría de Salud, Dr. Balmis 148, Col. Doctores, 06726, México, D.F.

presentaron alteraciones y a la histología se encontraron 19 con cambio graso, 1 con fibrosis, 1 con necrosis, 1 con pigmento hemático y 1 con células metastásicas de un carcinoma epidermoide. Cuatro casos con cambios grasos a la citología (14.3% de los 28 casos); en la histología, 2 presentaron alteraciones inflamatorias, 1 pigmento hemático y 2 sin alteraciones. Para el caso restante (3.6%), en el estudio citológico se observó alteración inflamatoria y en el histológico resultó normal. Al utilizar la fórmula de Baye se obtuvo una especificidad del 89% y una sensibilidad del 55%, lo cual corrobora que PAD es un método altamente específico y poco sensible cuando no se tienen datos clínicos ni de laboratorio que orienten hacia la alteración hepática. Además, se comprobó que es un método confiable, inocuo y útil como auxiliar en el diagnóstico de la patología hepática.

Palabras clave: PAD, HÍGADO, CITOLOGÍA, PERROS.

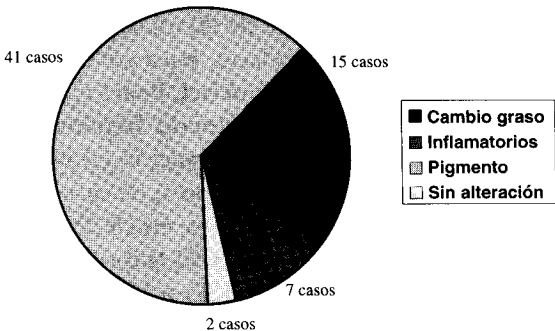
Introducción

Debido a que el hígado es uno de los órganos en el que se llevan a cabo las funciones metabólicas más importantes del organismo, es de suma importancia establecer el diagnóstico de cualquier entidad patológica que le afecte.¹⁴ Existe una amplia literatura al respecto.^{1,2,7,8,9,13,17,18,21,23,31} En estudio retrospectivo de 1970 a 1976, Trigo y Thompson³³ encontraron en la necropsia de 1 867 perros que el 21.3% presentaba las lesiones hepáticas, el 70% de éstas eran de tipo degenerativo o neoplásico, la gran mayoría de ellas eran neoplasias.

Se han desarrollado técnicas para obtener tejido hepático, como la biopsia quirúrgica que implica el uso de equipo, cuidados y los riesgos de cualquier otra cirugía, lo cual la hace incosteable, además de muy poco práctica como método rutinario de diagnóstico. Otra técnica es la biopsia percutánea (Tru cut) desarrollada por primera vez en 1883 por Paul Erlich, citado por Lundquist²² para establecer las cantidades de glucógeno en enfermos diabéticos. A principios del siglo XX, Bingel⁵ reveló una alta mortalidad mediante esta técnica y no fue hasta 1939 cuando Iversen y Roholm¹⁴ en Dinamarca y Baron⁴ en Estados Unidos de América, comenzaron a aplicar este

método de manera general usando agujas de Menghini, Jamshidi y Vim Silverman.

En perros, el primer informe sobre el uso de la técnica fue hecha por Chapman⁷ en 1965, con resultados exitosos. Posteriormente la describieron Knecht y Reynolds¹⁶ y Feldman y Ettenger.⁹ 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, el cual tiene el riesgo de lesionar vasos sanguíneos o conductos biliares, por lo que a pesar de su utilidad, la biopsia percutánea no es un procedimiento inocuo. Feldman y Ettenger¹⁰ informan cambios histopatológicos en 75 casos (73.3%), de los cuales los principales fueron cambios grasos, neoplasias y hepatitis. Osborne *et al.*²⁶ señalan que, en general, la biopsia percutánea facilita establecer el diagnóstico específico de las enfermedades hepáticas difusas, tales como cirrosis, necrosis hepáticas agudas y amiloidosis. A pesar de los diversos métodos diagnósticos con que se cuenta para identificar enfermedades hepáticas ninguno de ellos permite determinar en forma objetiva el tipo de lesión, ya que los métodos no invasivos como las pruebas de función hepática y la determinación sérica de enzimas, no son útiles en la mayoría de los casos para determinar la enfermedad hepática. Incluso ni métodos tan avanzados como



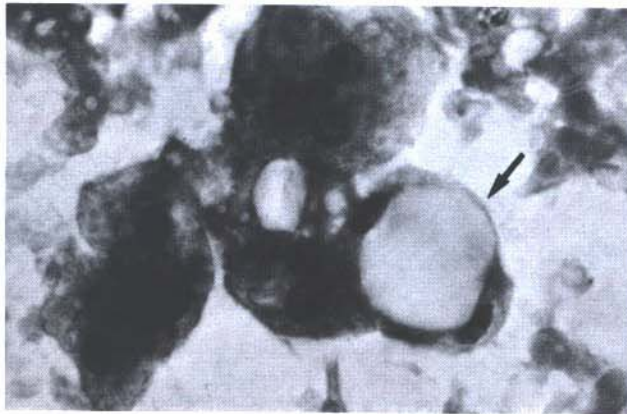
El porcentaje señalado corresponde al de correlación por cada uno de los diagnósticos especificados en las barras

Figura 1. Correlación citohistológica, primer grupo de 65 casos.

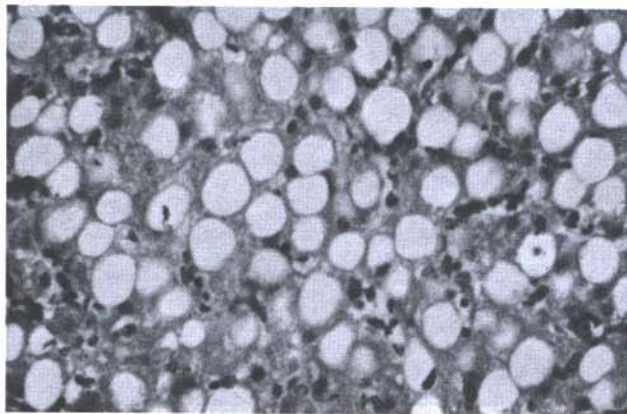
Cuadro 1
CASOS SIN CORRELACION CITOHISTOLOGICA

Dx citológico	Núm. de casos	Dx histológico	Núm. de casos
Sin alteraciones	23	Cambios grasos	19
		Fibrosis	1
		Necrosis	1
		Pigmento	1
		Metástasis de carcinoma epidermoide	1
Cambios grasos	4	Inflamatorio	2
		Pigmento	1
		Sin alteración	1
Inflamatorio	1	Sin alteración	1

Figura 2. Cambio graso de gota gruesa.



A) PAD. Grupo de hepatocitos, el señalado con la flecha muestra una gran vacuola intracitoplasmática (cambio graso de gota gruesa). Papanicolaou. 1000 X.



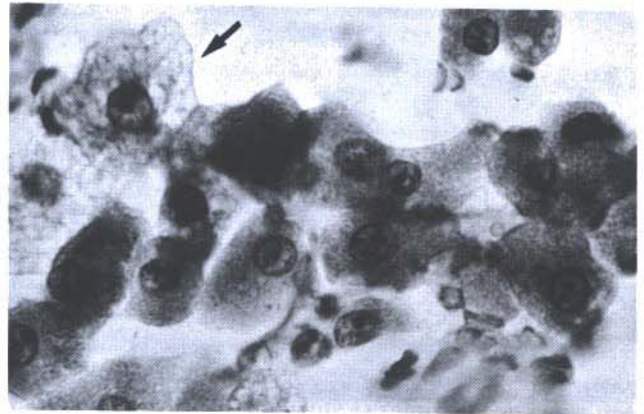
B) Corte histológico que confirma el cambio graso de gota gruesa. Corroborando el diagnóstico de la PAD superior. H.E. 400 X.

la ultrasonografía o la tomografía computarizada, con los que se obtiene la localización y extensión de la lesión, pero no el diagnóstico definitivo necesario para establecer el pronóstico de la enfermedad, son suficientes, por lo cual no se puede excluir la valoración citohistológica. La punción con aguja delgada (PAD) además de ser fácil de realizar, con un riesgo mínimo, es un método altamente específico y sensible por sí solo. La mayor desventaja es no poder punccionar fácilmente las lesiones focales. La PAD, guiada mediante fluoroscopia, ultrasonido y tomografía computarizada han aumentado la certeza diagnóstica en este tipo de lesiones en el hombre.

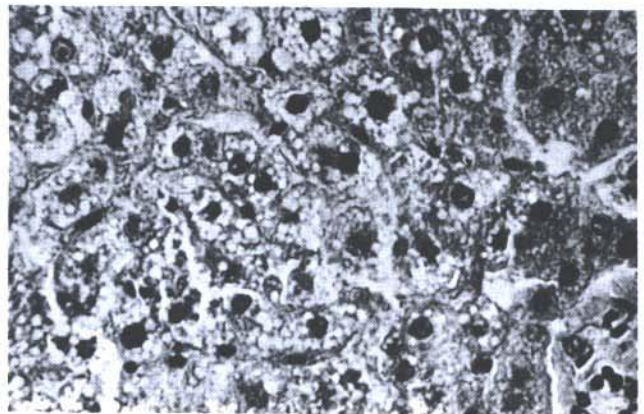
Es conveniente señalar que la PAD hepática puede ser en algunos casos una medida terapéutica.¹⁷

La técnica de punción con aguja delgada (PAD) ha permitido llegar al diagnóstico de un sinnúmero de lesiones localizadas prácticamente en cualquier órgano en el hombre. En medicina veterinaria se ha ido utilizando cada vez más como un método diagnóstico auxiliar de la rutina.^{3,6,11,16,17,18,31,32} En el hombre, la punción hepática con aguja delgada es un método rutinario y específico, sobre todo para el diagnóstico de neoplasias,^{1,6,11,12,15,19,24,25,26,27,28,34,35}

Figura 3. Cambio graso de gota fina. Correlación citohistológica.



A) PAD. En el extremo izquierdo, señalado con la flecha, aparecen 2 hepatocitos con abundantes vacuolas en su citoplasma. Características de cambio graso de gota fina. Papanicolaou 1000X.



B) Corte histológico con cambio de gota fina. Corroborando el diagnóstico de la PAD superior. H.E. 400X.

no así en veterinaria; sin embargo, Kristensen *et al.*¹⁹ describen ampliamente el procedimiento y establecen una clasificación para el estudio de citologías hepáticas.

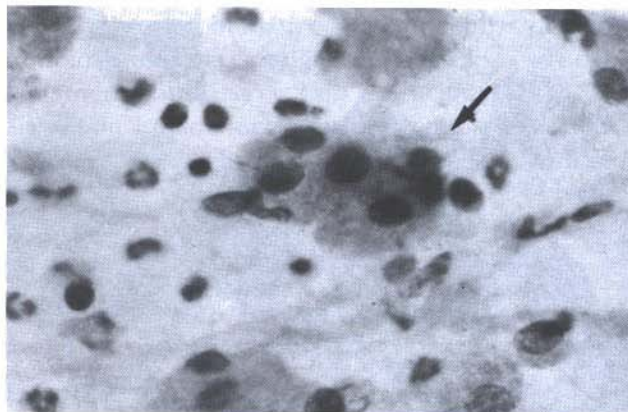
El interés del presente trabajo es mostrar la experiencia diagnóstica obtenida mediante la PAD hepática en 100 perros, y su correlación histológica durante los años 80 al 93.

Material y métodos

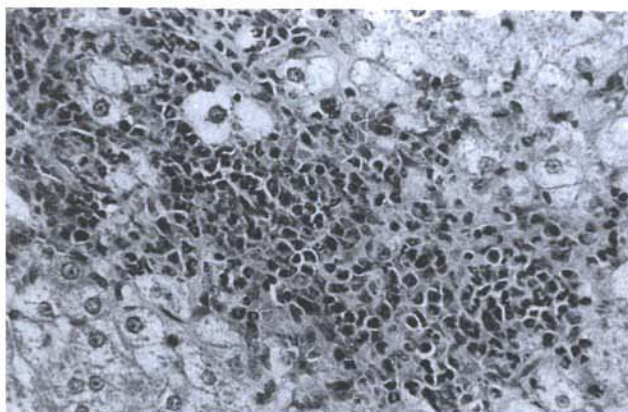
Se utilizaron 100 perros al azar, sin considerar edad, raza, sexo ni estado de salud, proporcionados por el Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

La PAD hepática se realizó colocando al perro en recumbencia lateral izquierda, localizándose el séptimo o el octavo espacio intercostal hacia abajo de la zona media, entre la región dorsal y ventral. Se corroboró el sitio de punción mediante percusión de los espacios intercostales seleccionados. Cabe señalar que no se requiere de anestesia ni sedación para la obtención de la muestra. Previa asepsia del área, se procedió a la punción, realizada mediante una

Figura 4. Proceso inflamatorio, correlación citohistológica.



A) PAD. En el centro se encuentra un grupo de hepatocitos, y en el fondo aparecen aislados neutrófilos polimorfonucleares (PAP). Papanicolaou 1000X.



B) Imagen histológica de hepatitis. Se observa gran cantidad de neutrófilos polimorfonucleares infiltrando el parénquima hepático como los observados en el PAD. H.E. 400X.

jeringa de 10 cm³ y aguja número 21 de 6 cm de largo. La aguja se introdujo perpendicular al plano sagital 1 a 2 cm y se seccionó lentamente en el hígado, una vez obtenido el material, se retiró la aguja y jeringa en un solo movimiento.

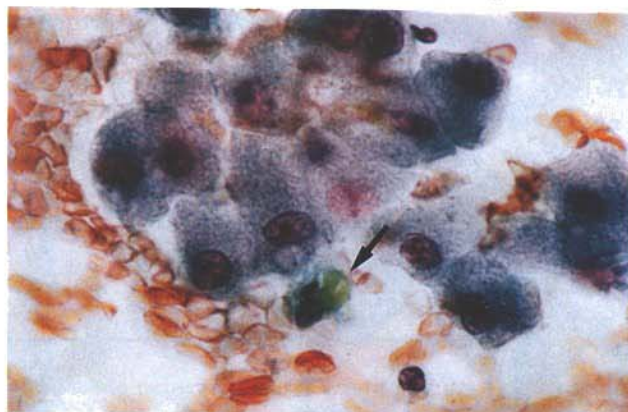
Con el material obtenido se realizaron 6 frotis, 2 se fijaron con Cito-spray* para su tinción con Papanicolaou y los restantes se secaron al aire con el fin de ser teñidas con las siguientes técnicas especiales de Fouchet, Pearl, Sudán y PAS, para corroborar la presencia de pigmento biliar, hemático, grasa y mucopolisacáridos, respectivamente.²

Una vez realizadas las punciones, se procedió a la eutanasia de los perros, a los que se les practicó la necropsia de manera habitual, con el fin de obtener un fragmento de tejido hepático para el estudio histológico, el cual se fijó con formalina amortiguada al 10% y posteriormente se procesaron por el método de inclusión en parafina y se tiñeron con el HE.

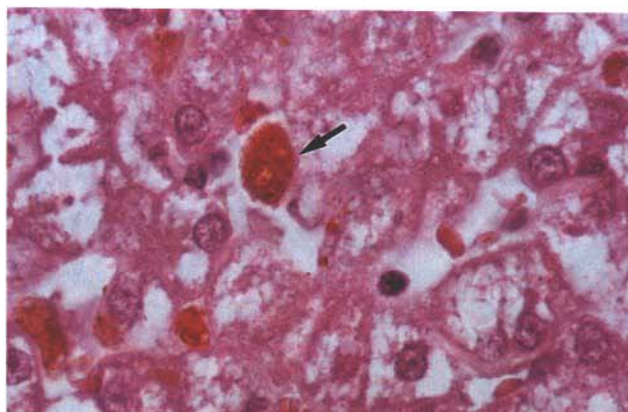
Para el diagnóstico se tomaron en cuenta los siguientes parámetros:

* Cito-Spray, Dade Diagnostics, Inc. Aguda, Puerto Rico, 00602.

Figura 5. Pigmento hemático, correlación citohistológica.



A) PAD. La flecha señala un macrófago con pigmento en su citoplasma, aparece como un material homogéneo de color verdusco. PAP. Papanicolaou 1000X.



B) Corte de hígado con células de Kupffer con abundante material granular de color ocre que corresponde a pigmento como el señalado en la PAD. H.E. 400X.

Sin alteraciones. Dentro de este grupo se consideró el material citológico en el que se observaron eritrocitos, células de Kupffer, células del epitelio de conductos biliares y hepatocitos con y sin glucógeno intracitoplasmático. Todos ellos sin cambios patológicos.

Cambios grasos. Aquí se incluyen aquellos frotis en los que los hepatocitos presentaban gotas tanto finas como gruesas, lo que se corroboró mediante la técnica de Sudán.

Alteración inflamatoria. Se consideraron dentro de este parámetro a todas las muestras en cuyo frotis se encontraron elementos celulares inflamatorios tales como leucocitos polimorfonucleares, linfocitos y eosinófilos.

Material inadecuado. Se consideró como material inadecuado a aquellos especímenes en los que no se obtuvo material celular suficiente para ser evaluado.

Pigmento. Dentro de este parámetro se consideró el material granular ocre localizado en el citoplasma de los hepatocitos y células de Kupffer, que pueden ser biliar o hemático, el cual se valoró mediante tinción de Fouchet y Pearl's, respectivamente.

La valoración del material histológico en los casos: sin alteraciones, de cambios grasos, de pigmento y de alteración inflamatoria, se realizó tomándose en cuenta las mismas características señaladas a la citología. Para el diagnóstico de fibrosis se tomó en cuenta la presencia de abundante tejido conjuntivo.

Necrosis. Se consideró necrosis cuando se observaron detritus celulares, bacterias y pérdida de la arquitectura hepática.

Neoplásico. Cuando se encontraron células malignas en el parénquima hepático, se consideró neoplásico.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante el método de Bayes³⁰ cuya fórmulas es:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdadero positivo}}{\text{Verdadero positivo} + \text{falso negativo}}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Verdadero positivo}}{\text{Falso positivo} + \text{verdadero negativo}}$$

Resultados

De las 100 muestras obtenidas para su observación citológica, 7 casos fueron eliminados por inadecuados.

Los 93 casos se separaron en 2 grupos; el primero de ellos, 65 casos con correlación citohistológica (69.9%) (Figura 1). El segundo con 28 casos sin correlación (30.1%) (Cuadro 1).

Del volumen total del primer grupo, de 65 casos con correlación citohistológica, 41 casos se consideraron sin alteraciones (63.0%), con cambio graso 15 casos (23%) (Figuras 2 y 3), 7 casos con alteración inflamatoria (10.7%) (Figura 4) y 2 casos con pigmento hemático (3.3%) (Figura 5).

Del total del segundo grupo, de 28 casos sin correlación citohistológica, en 23 citologías sin alteraciones (82.1%), en la histología se encontraron 19 casos con cambio graso, 1 con fibrosis, 1 con necrosis, 1 con pigmento hemático y 1 caso con células metastásicas de un carcinoma epidermoide.

Cuatro casos con cambios grasos a la citología (14.3%) en la histología 2, fueron alteraciones inflamatorias, 1 pigmento hemático y 1 sin alteraciones. El caso restante (3.6%) en el estudio citológico fue alteración inflamatoria y en el histológico fue normal (Cuadro 1).

Mediante la fórmula de Bayes se obtuvo una especificidad de 89% y una sensibilidad de 55%.

Discusión

Este estudio se realizó sin conocimiento clínico de padecimiento hepático, ya que se trató de animales tomados al azar; sin embargo, se observó que los hallazgos citológicos de la punción hepática con aguja fina tuvieron correlación histológica en su mayoría, a pesar de que la muestra de

tejido no fue tomada del sitio de la punción. Lo anterior demuestra, por un lado, conforme a los resultados, que la técnica es altamente específica y poco sensible cuando no se tienen estudios de laboratorio previos, ni se guía la punción hacia el área afectada como lo realizaron Koss y Coleman,¹⁷ Koss *et al.*,¹⁸ Leiman *et al.*²⁰ y otros autores.^{1,6,11,13,32}

En el grupo 1 se obtuvo la mayor correlación con hígados normales, esto indica que la patología hepática canina es poco frecuente, tal como lo señalan Trigo y Thompson,³³ quienes encontraron 21.3% de lesiones hepáticas en un total de 1 867 casos estudiados. Dentro de este mismo grupo, el 15% presentó cambios grasos y el 2% presentó pigmento hemático. 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 señalado por Osborne *et al.*,²⁶ entre otros. El haber encontrado un gran número de casos de cambios grasos puede ser un reflejo del estado de desnutrición de los animales estudiados, dado el origen de los mismos, ya que todos eran 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 pertenecen a procesos inflamatorios difusos y en los 2 sin correlación, el proceso inflamatorio fue local.

En el grupo 2 es interesante analizar que de los 23 casos que en la citología parecieron como normales, 19 en la histología tienen cambios grasos, lo cual es explicable ya que estos últimos pueden o no ser difusos y probablemente en estos casos fue local, por lo que no se logró la punción en esta área.

En la citología, un caso no mostró la fibrosis debido a que ésta fue focal en la histología. Además, el análisis de células aisladas no 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 el tipo de patología por buscar, así como el disponer de métodos complementarios como 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 sólo afectaba una pequeña porción de un lóbulo. Este error puede ser eliminado con la práctica y la punción guiada.^{1,3,11,19,20,27,28}

Por otro lado, se pudo observar, como lo han señalado Koss y Coleman,¹⁷ Koss *et al.*,¹⁸ Lundquist,²³ Pedio *et al.*²⁷ y Seybold *et al.*,³¹ que la punción hepática con aguja fina evita las complicaciones de la toma de biopsia percutánea (con aguja de Vim 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 *et al.*¹⁸ lo mencionan como un método terapéutico para drenar los abscesos hepáticos.

La literatura^{17,19,20,23,27} señala el 90% de certeza diagnóstica cuando la muestra es tomada previa localización del sitio de la lesión, y con datos clínicos adecuados. Es realmente significativo, pues, que en el presente trabajo se haya obtenido, sin ningún dato clínico ni estudio previo, un 69.9% en la correlación citohistológica; por lo cual este estudio podrá servir como antecedente para futuros trabajos con esta misma técnica, cuyo empleo como método diagnóstico auxiliar puede ser útil en las alteraciones hepáticas. Aunque no es elevado el porcentaje de patología hepática en caninos, sí es necesario contar con un estudio que muestre en forma específica las alteraciones hepáticas, localizándolas previamente mediante otras técnicas como lo señalan diversos autores.^{17,19,20,22,23,27,31}

El número de muestras citológicas inadecuadas reflejó errores en la técnica; sin embargo, se considera que el 7% cae dentro del margen encontrado en la literatura.¹⁴

Dentro de las limitaciones de la técnica, se observó que la punción hepática con aguja delgada no sustituye a la biopsia percutánea (con aguja Vim Silverman) en las alteraciones en las que se requiere observar de la arquitectura para su diagnóstico, como serían en los casos de cirrosis y algunas otras entidades.

En conclusión, la citología es un método diagnóstico auxiliar para problemas hepáticos difusos en perros, aun sin datos clínicos.

Se requiere, para ello, 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.

El método resulta específico y poco sensible cuando no se cuenta con datos clínicos previos.

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.

La punción y la observación debe ser realizada por personal entrenado y capacitado para ello, a fin de reducir el error diagnóstico.

Literatura citada

1. Angeles, A.A.: Biopsia por Aspiración con Aguja Delgada. *Angeles Editores*, México, D.F., 1994.
2. Armed Forces: Manual of Histologic Staining Methods. Institute of Pathology. 3rd ed. *McGraw-Hill*, New York, 1968.
3. Bagel, C., Rougier, P., Lecleve, J., Dullivan, P. and Charpentier, P.: Fine needle aspiration of the liver and pancreas with ultrasound guidance. *Acta Cytol.*, 32: 22-26 (1988).
4. Baron, E.: Aspiration for removal of biopsy material from the liver. *Arch. Intern. Med.*, 63: 276-279 (1939).
5. Bingel, A.: Über die Parenchympunktion der Leber. *Ver. Dtsch. Ges. Inn. Med.*, 35: 210-214 (1923).
6. Carrozza, M.J., Calafati, S.A. and Edmonds, P.R.: Immunocytochemical localization of polyclonal carcinoembryonic antigen in hepatocellular carcinomas. *Acta Cytol.*, 35: 221-224 (1991).
7. Chapman Jr., W.L.: Liver biopsy in the dog. *J. Am. vet. med. Ass.*, 146: 126-128 (1965).
8. Dennis, G.: A simple, rapid technique for liver biopsy. *Vet. Med.*, 82: 614-615 (1987).
9. Feldman, E.G. and Ettenger, S.J.: Percutaneous liver biopsy. *J. Am. vet. med. Ass.*, 169: 805-810 (1969).
10. Feldman, E.G. and Ettenger, S.J.: Percutaneous transthoracic liver biopsy in the dog. A review of 75 cases. *J. Am. Anim. Hosp.*, 13: 17-22 (1977).
11. Forange, B.D., Rifkin, M.D., Touche, D.H. and Lemaire, A.D.: Ultrasound guided fine-needle aspiration biopsy of the liver. *Appl. Radiol.*, 15: 65-73 (1986).
12. Frola, E.: Etude clinique de petar factiönnel du foie por la ponction hepaticue. *Presse Med.*, 2: 1198-1201 (1985).
13. Hinko, P.J. and Kellogg, R.H.: A biopsy procedure for collecting hepatic tissue specimens for biochemical analysis. *J. Am. Anim. Hosp.*, 14: 92-93 (1978).
14. Iversen, P. and Roholm, K.: An aspiration of the liver with remarks on its diagnostic significance. *Acta med. scand.*, 102: 4-7 (1939).
15. Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C. and Palmer, N.: Pathology of Domestic Animals. 4th ed. *Academic Press*, San Diego, California, 1993.
16. Knecht, C. and Reynolds, H.A.: Needle punch biopsy procedures for obtaining specimens of the liver, kidney and lymph nodes of dogs. *Anim. Hosp.*, 3: 163-170 (1967).
17. Koss, L.G. and Coleman, D.V.: Advances in Clinical Cytology. Vol. 2. *Masson*, New York, 1984.
18. Koss, L.C., Stonestow, W. and Olszewsky, W.: Aspiration biopsy, cytologic interpretation and histologic basis. *Igaku-shoin*, New York, 1984.
19. Kristensen, A.T., Weiss, D.J., Klauser, J.S. and Handy, R.M.: Liver cytology in cases of canine and feline hepatic disease. *Compendium*, 12: 797-808 (1990).
20. Leiman, G., Leibowitz, B.C. and Dunbar, F.: Fine-needle aspiration of the liver. *Diag. Cytopathol.*, 5: 35-39 (1989).
21. Liang, Ch.T.: Are oral contraceptive associated liver cell adenomas premalignant? *Acta Cytol.*, 36: 338-344 (1992).
22. Lundquist, A.: Liver biopsy with a needle of 0.7 mm outer diameter. *Acta med. scand.*, 188: 471-473 (1970).
23. Lundquist, A.: Fine-needle aspiration biopsy of the liver. Application in clinical diagnosis and investigation. *Acta med. scand.*, 20 (Suppl.): 1-28 (1971).
24. Menghini, G.: One-second biopsy needle of the liver. *Gastroenterology*, 35: 190 (1958).
25. Nguyen, G.K. and Catzavels, C.H.: Solitary angiomyolipoma of the liver. Report of a case initially. Examined by fine needle aspiration biopsy. *Acta Cytol.*, 34: 201-204 (1990).
26. Osborne, C.A., Stevens, J.B. and Perman, V.: Needle biopsy of the liver. *J. Am. vet. med. Ass.*, 10: 1605-1620 (1974).
27. Pedio, G., Landolt, U., Zobeli, L. and Gut, D.: Fine needle aspiration of the liver. Significance of hepatocytic naked nuclei in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Acta Cytol.*, 32: 437-442 (1988).
28. Pisto, M.M., Avila, N.A., Heller, Ch. I. and Criscuolo, E.M.: Fine needle aspiration of the liver. *Acta Cytol.*, 32: 15-21 (1988).
29. Pogavnik, A., Maririsek, Z.P. and Krasovec, M.V.: Fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of liver echinococcosis. *Acta Cytol.*, 34: 765-766 (1990).
30. Polansky, F.F. and Lamb, E.J.: Analysis of three laboratory tests used in the evaluation of male fertility. Baye's rule applied to the postcoital test, the *in vitro* migration test, and the zona free hamster eggs test. *Fertil. Steril.*, 51: 215-223 (1989).
31. Seybold, I., Golstone, R.T. and Wilkis, R.D.: Exfoliative cytology. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 77: 1020-1033 (1982).
32. Soderstrom, N.: Fine Needle Aspiration Biopsy. *Grune & Stratton*, New York, 1986.

33. Trigo, J.T.F. y Thompson, H.: Estudio sobre la incidencia y tipos de lesiones hepáticas en perros de Escocia. *Vet. Méx.*, 10: 163-169 (1979).
34. Valero, G. y de Buen, N.: Utilidad de las improntas en el diagnóstico de enfermedades parasitarias. Memorias del I Congreso de la Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios, A.C. México, D.F. 1992. 5. *Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios, A.C.* México, D.F. (1992).
35. Wolber, R.A., Greene, C.A. and Dupuis, B.A.: Polyclonal carcinoembryonic antigen staining in cytologic differential diagnosis of primary and metastatic hepatic malignancies. *Acta Cytol.*, 35: 215-220 (1991).
36. Wong, M.A. and Yazdi, H.M.: Hepatocellular carcinoma *versus* carcinoma metastatic to the liver. Value of stains for carcinoembryonic antigen and naphthylamidase in fine needle aspiration biopsy material. *Acta Cytol.*, 34: 192-196 (1990).