

REVISTA CLÍNICA ESPAÑOLA

Director: C. JIMENEZ DIAZ. Secretarios: J. DE PAZ y F. VIVANCO

Redacción y Administración: Antonio Maura, 13. Madrid. Teléfono 21829.

Editorial Científico-Médica.

TOMO XXII

31 DE AGOSTO DE 1946

NUM. 4

REVISIONES DE CONJUNTO

MORFOLOGIA DEL ORGANISMO TROMBOCITICO

J. PELÁEZ REDONDO

Prof. Auxiliar.

Clínica Médica Universitaria de Salamanca. Profesor:
F. QUEROL NAVAS.

A) LAS PLAQUETAS O TROMBOCITOS.

Entre los elementos formes de la sangre se hallan unos corpúsculos de tamaño netamente inferior a los demás, que fueron vistos por vez primera por DONNÉ en 1844, el cual los llamó "globulinos", en consideración precisamente a su pequeñez. Habían de pasar cerca de cuarenta años para que, con los estudios de HAYEM (1881) y BIZZOZERO (1882), se comenzara a prestar atención a su morfología y a sus funciones. Mientras que HAYEM, pensando que tan minúsculas formaciones eran el germen de los eritrocitos, les adjudicó el nombre de "hematoblastos", BIZZOZERO, más cauto, se limitó a llamarles "plaquetas". Sólo más tarde, al quedar demostradas sus relaciones con el proceso de coagulación de la sangre, apareció en la literatura hematológica la denominación de "trombocitos", introducida por DEKHUYZEN en 1901, la que no ha logrado desplazar por completo a la creada por el autor italiano.

1) Número de trombocitos en la sangre.

Los trombocitos se hallan en la sangre humana normal en número inferior al de los hematíes y superior al de los leucocitos, pero sobre cuyo valor aproximado no reina aún unidad de criterio entre los autores, siendo este punto, aparen-

temente tan simple, uno de los muchos problemas que alrededor de los trombocitos hay planteados. La mayoría de los autores admiten cifras entre 150.000 y 300.000 por milímetro cúbico (BIZZOZERO, AFFANASIEW, HELBER, SAHLI, FERRATA, ACHARD y AYNAUD, SCHENK, THOMPSON, KRISTENSON, DEGKWITZ, FONIO, etc.), mientras que otros se inclinan por valores mucho más altos, como 500.000 y hasta 900.000 (JÜRGENS, BRODIE, RUSSEL, FLÖSSNER, ZELLER, KEMP, CAHALM, HARRIS, DAMESHEK, etc.). Diferencias tan grandes sólo pueden explicarse por los diversos métodos de recuento empleados, y así, si consideramos la técnica de cada uno de éstos, vemos que cuanto más complicados son arrojan, en general, una cifra mayor. Una aclaración a esto puede hallarse suponiendo que más complicación supone más exactitud, y que con los métodos más sencillos pudieran pasar desapercibidos un buen número de trombocitos, cosa poco probable, pues aunque pequeños, son fácilmente visibles. HORWITZ supone que con los métodos sencillos, por ejemplo, el de Fonio, aproximadamente dos terceras partes de los trombocitos se destruyen al hacer la extensión de sangre, por lo que los resultados son falsos. Pero es mucho más probable que ocurra lo contrario, o sea, que la destrucción de trombocitos tenga lugar al manipularlos con otros métodos más complicados y que exigen más tiempo, rompiéndose cada uno de ellos en varias partículas que pueden ser tomadas por trombocitos al hacer el recuento. Esta "partición" de las plaquetas puede explicar el que PIANESSE hallara aumento progresivo de ellas en la sangre excluida de la circulación por doble ligadura venosa, HITMAIR en la sangre de cadáver y WOOLDRIDGE, BIZZOZERO, WEIGERT, ARNOLD, BUCHMASTER, PERRONCITO, WATSON en sangre extraída del organismo y hecha incoagulable.

Por otro lado, esta "multiplicación" del número de trombocitos ha sido directamente observada por WERNER, y falta cuando, a pesar del método de recuento complicado y largo, se trabaja con una solución anticoagulante que contenga formol, como, por ejemplo, la de AYNAUD, utilizada por VILARIÑO y VÁZQUEZ en su método; el formol actúa probablemente fijando las plaquetas sin permitir que se disgregen, y por tal procedimiento se obtienen cifras que suelen oscilar entre 150.000 y 300.000 por milímetro cúbico.

A nuestro entender, son estas cifras las que deben considerarse como más verosímiles, y como quiera que se ajustan a las que hemos hallado por el simple procedimiento de hacer el recuento en una extensión simple de sangre, muy fina y hecha rápidamente, y comparando el número de trombocitos con el de hematíes, conocido mediante un recuento previo, es este sencillo método el que nosotros consideramos como de elección, no sólo para usos clínicos, sino también con fines científicos, por ser con toda probabilidad el que menos altera la morfología, ya que la acción mecánica de la extensión poco puede dañar a corpúsculos tan pequeños cuando respeta a casi todos los leucocitos y hematíes. El "método directo" de recuento de plaquetas, cuya eficacia hemos comprobado con nuestro colaborador MARTÍN ANDRÉS, en comparación con el de Foño, es el empleado por AUSTERHOFF, SCHULTEN, ADLER, MEISTER, JAGIC y CIVEIRA, entre otros.

2) Distribución de los trombocitos en el organismo.

Si, guiados por estas cifras de trombocitos, o por cualquiera otras que se acepten, quisiéramos hacer un cálculo de la cantidad de ellos existente en un momento dado en la totalidad del organismo, llegaríamos a una conclusión falsa, por el hecho de que una buena parte de los trombocitos no se halla en la sangre circulante, sino en órganos y territorios de depósito. Esa desigualdad de repartición se muestra ya en la propia corriente, pues en las pequeñas venas y grandes capilares ocupan los trombocitos una posición intermedia entre la zona central de la corriente, formada por hematíes, y la periférica constituida por leucocitos y plasma, como han demostrado, entre otros, EBERT y SCHIMMELBUSCH.

Los acúmulos de plaquetas en el organismo tienen lugar, sobre todo, en el bazo, por lo menos en los animales de experimentación. Esto puede fácilmente demostrarse por la observación microscópica de tejido esplénico, y se pone de manifiesto también por la trombocitosis que aparece tras la inyección de adrenalina coincidiendo con la esplenotomía, fenómeno que falta en los animales esplenectomizados, según BINET y KAPLAN. Además, hay acúmulos de

trombocitos en el territorio esplácnico (TÜNNERHOFF) y, en general, en todos los territorios cuya corriente circulatoria es lenta. También la médula ósea, además del lugar de producción, sería un órgano de reserva de trombocitos, pues en ella se encuentran éstos en cantidades superiores a las de sangre, aproximadamente el doble, según DELLA MAGGIORE.

El conjunto de estos acúmulos de trombocitos no circulantes podemos considerarlo, en un sentido biológico, como una de las fuerzas de reserva del órgano trombocítico, mediante la cual puede responder de modo rápido a las más perentorias necesidades de la periferia.

3) Variaciones fisiológicas del número de trombocitos.

En lo que a la edad se refiere, no son concluyentes las observaciones. En los lactantes parece existir un número normal, aunque, según KEILMANN, se halla sujeto a grandes oscilaciones, entre 40.000 y 200.000. En la senectud, BASTAI y DOGLIOTTI admiten una disminución junto con aumento de hematíes y leucocitos por espesamiento de la sangre, y DEMMER señala como cifra media 85.000 plaquetas. Estos hallazgos son sumamente inconstantes, por lo que no puede admitirse que, de modo regular, exista una trombopenia en las edades avanzadas de la vida (KEYMER y OTTOWESS).

Tampoco existen variaciones fisiológicas concluyentes en lo que a raza, constitución y sexo se refiere. Respecto a este último factor, hay que hacer notar que pueden aparecer variaciones numéricas marcadas en relación con el período menstrual. Así, JAGIC y KLIMA vieron discreta trombopenia durante el período, ya observada antes por PFEIFFER y HOFF y comprobada por FEUCHTINGER. Este descenso del número de trombocitos es situado por LEE y ERIKSON, HENNING, DENISOWA, en el período premenstrual; en cambio, es negado por HIRSCH y HARTMANN, los cuales ven un aumento del 20 al 80 por 100 sobre las cifras normales al final de la menstruación.

De todas formas, la opinión más generalizada admite la existencia de una trombopenia menstrual, que coincide con la disminución de la resistencia capilar que durante el mismo período han visto VON BORBELY, TEY, FRANKE y otros.

4) Morfología de los trombocitos.

Las plaquetas son corpúsculos redondos o ligeramente ovalados, cuyo diámetro suele oscilar entre dos y cuatro micras. Observadas en fresco, ofrecen una zona central granulosa y otra periférica hialina; cuando se realizan coloraciones, la parte central toma los colorantes básicos, mostrándose azurófila, y la periférica ofrece una basofilia que oscila entre grados

medianos en unas y tinte apenas azulado en otras. La parte central ha recibido el nombre de "cromómero" o "granulómero", y la periférica el de "hialómero".

Según DEETJEN y ACHARD y AYNAUD, las plaquetas están dotadas de movimientos amiboideos. Para los dos autores últimamente citados, su forma normal es alargada, siendo el aspecto redondeado u oval un efecto secundario de los métodos de observación. Merced a estos movimientos amiboideos y a cambios en la disposición de la sustancia granular, las plaquetas son corpúsculos polimorfos, como desde su redescubrimiento han observado numerosos autores.

Unas veces presentan forma alargada u oval, otras aparecen formando cadenas, unas veces ofrecen bordes bien delimitados y otras son difíciles de precisar. El tamaño puede ofrecer también variaciones notables, desde las "microplaquetas" de menos de dos micras hasta las formas gigantes de más de seis. Basados en estas diferencias de aspecto, han querido BOSHAMER, FLÖSSNER, ARNETH, JÜRGENS, WERNER, OLEF y otros, establecer una relación entre las diversas variedades, o sea, un "trombocitograma". ARNETH sigue un criterio en el que valora la forma, el aspecto del granulómero y el tamaño:

Número en mm. c.	1.—Formas alargadas				2.—Redondas y ovales			
	Granulómero dividido			Sin división	Tamaño en micras			
	4 o más partes	3 partes	2 partes		+ de 4	3,5-4	2,5-3,5	- de 2,5
250.000	0,5	3,6	10,3	8,5	0,5	1,5	13,5	61,6
	TOTAL: 22,9				TOTAL: 77,1			

CUADRO I (ARNETH)

OLEFF, atento exclusivamente al tamaño, clasifica los trombocitos del modo siguiente:

- Grupo 1.—Tamaño alrededor de 1,8 micras = 1/4 hematíes: 18,6 por 100.
- 2.—Tamaño alrededor de 2,5 micras = 1/3 hematíes: 63,3 por 100.
- 3.—Tamaño alrededor de 3,6 micras = 1/2 hematíes: 17,4 por 100.
- 4.—Plaquetas de aspecto irregular: 0,7 por 100.

CUADRO II (OLEF)

WERNER hace primero cinco grandes grupos, valorando el aspecto y el tamaño, con cuatro subgrupos, en los que tiene en cuenta la disposición del granulómero:

- Grupo I.—Plaquetas redondas u ovales.
- II.—Plaquetas con límites imprecisos.
- III.—Formas alargadas, para las que exige que la longitud sea 2,5 veces mayor que la anchura.
- IV.—Plaquetas gigantes de más de 6 micras.
- V.—Plaquetas pequeñas de menos de 2 micras.

- Subgrupo 1.—Granulación fina, poco visible y regularmente repartida.
- 2.—Granulación conglomerada, ofreciendo una delimitación clara con el hialómero.
- 3.—Granulación conglomerada alrededor de la cual hay una zona de gránulos finos aislados.
- 4.—Falta el hialómero, o está representado por un estrecho espacio; gránulos gruesos, diseminados.

En condiciones normales, y en una extensión efectuada inmediatamente de la salida de la sangre, WERNER halla las siguientes cifras medias:

CUADRO III (WERNER)

Grupo	Subgrupo	%
I	1	11
I	2	16
I	3	7
I	4	15
II	3	3
II	4	14
III	1	6
III	2	2
III	3	1
V	—	25

JÜRGENS divide a las plaquetas por el grado de maduración, distinguiendo:

- 1) *Formas jóvenes.*—Tamaño normal, pocas granulaciones y citoplasma azulado.
- 2) *Formas normales.*—Corresponden a la descripción que antes hicimos.
- 3) *Formas viejas.*—De tamaño normal, granulación abundante, grosera y en parte picnótica; citoplasma rojizo con vacuolas.
- 4) *Formas de irritación.*—Grandes, a menudo en forma de cadenas o alargadas, granulación abundante.

Como vemos, pues, no hay parecido entre las diversas clases de plaquetas que admiten los autores que hemos tomado como ejemplo, y acaso la clasificación de JÜRGENS sea la más aceptable, por estar exenta de una excesiva complicación, aunque es muy dudoso que a las formas por él descritas se las pueda aplicar un tan riguroso criterio de juventud o madurez.

Una interesante aportación al conocimiento de la morfología de los trombocitos ha sido hecha por WOLPERS y RUSKA utilizando el microscopio electrónico. Con este método las plaquetas nor-

males aparecen como un disco, a veces algo ovaladas y de aspecto uniforme (fig. 1).

Pero si se hace una fijación ligera—ellos utilizan el ácido ósmico—y se tratan después con agua destilada, se hacen mayores e irregulares y dejan ver claramente el hialómero y el granulómero (figs. 2 y 3). Este último, que en las preparaciones coloreadas corrientes parece estar constituido por 10 a 30 gránulos, presenta en las observaciones de WOLPERS y RUSKA una granulación muy abundante, formada por 60 hasta 120 elementos y muy rara vez por menos. Estos gránulos tienen un tamaño variable entre 440 y 110 milésimas de micra, siendo el valor medio de 220.

Aparte la, o las, formas que los trombocitos tengan en sangre circulante, que puede colegirse con toda probabilidad fijando rápidamente la

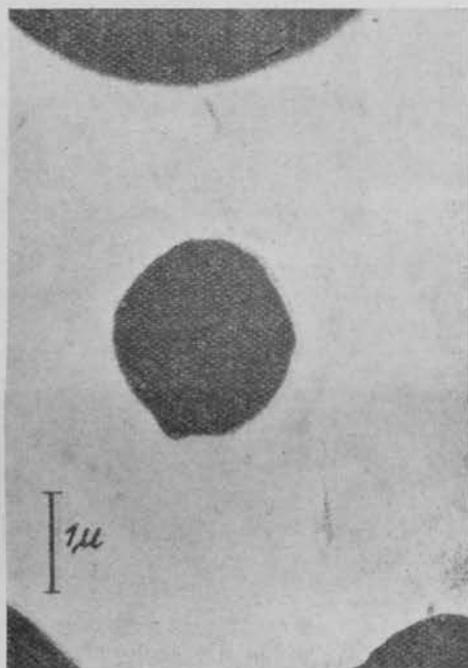


Fig. 1.—Plaqueta normal, según WOLPERS y RUSKA.

sangre tras su extracción, es evidente que las plaquetas situadas fuera del organismo experimentan rápidamente cambios que pueden explicar el polimorfismo que algunos autores hallan y que, aunque la coagulación se halle artificialmente inhibida, puede interpretarse como preparación para la puesta en marcha de los complicados procesos que terminan con la formación y retracción del coágulo.

5) Composición química y naturaleza de los trombocitos.

Las plaquetas tienen una composición química que en la actualidad no es totalmente conocida. HAUROWITZ y SLADEK se han ocupado de ella, llegando a la conclusión de que tienen 71 por 100 de proteínas, 12 por 100 de lipoides (de ellos 1,7 por 100 corresponde a colesterolina)

y 5,5 por 100 de cenizas, entre las que figura el calcio en proporción de 0,074 por 100. KOSSEL y LILIENFELD definen a las plaquetas desde el punto de vista químico como una combinación de nucleína y albúmina, y HEILMEYER, también



Fig. 2.—(WOLPERS y RUSKA.)

en este sentido, dice que son formaciones de albuminoides, lipoides y nucleoproteidos con carga electronegativa. Además, parecen contener un fermento proteolítico.

Entre sus componentes, acaso el que más in-

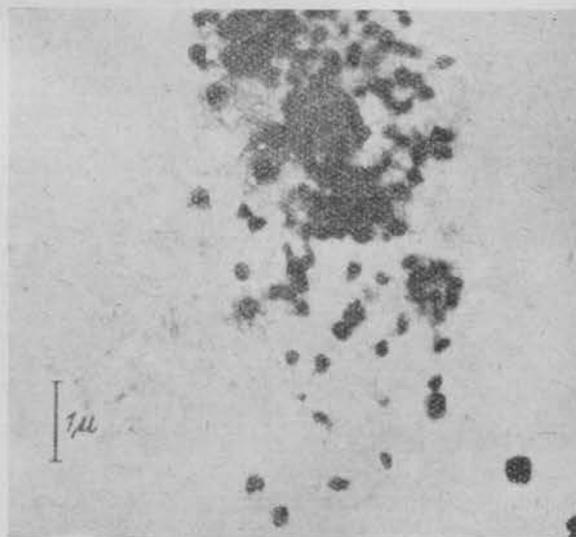


Fig. 3.—(WOLPERS y RUSKA.)

terés ofrece es la *tromboquinasa*, citocima o tromboplastina, por su intervención en el proceso de coagulación de la sangre. Ya SCHMIDT había identificado su naturaleza lipoidea, viendo que era soluble en alcohol y termoestable.

En la actualidad se admite que es un fosfatido, probablemente cefalina, o un complejo albuminoideo de cefalina (BORDET, HOWELL), aunque FISCHER lo niega, pues cree que el efecto coagulante de los preparados de cefalina es debido a impurezas. La cefalina pura apenas si desarrolla, según él, acción alguna sobre la coagulación de la sangre.

Aparte de la composición química, existen dudas sobre si los trombocitos representan restos celulares muertos o si deben considerarse como auténticas células. De un lado existe el hecho de que los trombocitos consumen cierta cantidad de oxígeno, pero de otro, no se ha podido demostrar que las plaquetas tengan núcleo, a pesar de que en ellas VOIT halló positiva la reacción nuclear de Feulgen, cosa no vista por ROSKIN ni por BAKALOS. Por lo tanto, no se les puede considerar como células auténticas—por lo que WATZKA rechaza totalmente la denominación "trombocitos"—, sino más bien como restos celulares. Este cree que las plaquetas no son una entidad morfológica, sino que representan productos de la destrucción de las más diversas células.

6) Destrucción.

Nada sabemos sobre la duración de la vida de las plaquetas, aunque SUÁREZ afirma que varía en uno y cuatro días, siendo cuarenta y ocho horas el término medio. Se ha supuesto que el bazo sea el principal órgano destructor, por el hecho de que entre sus trabéculas se halle un crecido número de trombocitos, cosa que se interpreta más bien como expresión de un órgano de depósito; en todo caso, el bazo es uno de los factores que regulan la trombocitopoyesis y acaso el lugar donde se destruyan las plaquetas ya inútiles para desempeñar sus funciones, a favor de lo cual habla la presencia de plaquetas fagocitadas en la pulpa de bazo y en las células de Kupffer del hígado, vista por BERNHARDT y SEELIGER y GORKE tras circunstancias que, como las infecciones y la inyección intravenosa de peptona, producen verosíblemente la destrucción, al menos funcional, de un buen número de trombocitos. La plaquetolisis se adscribe, en un sentido amplio, al sistema retículo-endotelial al igual que la destrucción de hematíes y leucocitos. Así BEDSON y KOSTER vieron que tras el bloqueo del sistema retículoendotelial con carbón hay un aumento de trombocitos en sangre. El mismo KOSTER observó que si tal bloqueo se sostiene cierto tiempo, el número de trombocitos termina por normalizarse, por lo que admite que la destrucción de éstos no debe correr exclusivamente a cargo del s. r. e.

7) Origen de los trombocitos.

Aunque en la actualidad es generalmente admitida la teoría de WRIGHT de que las plaquetas se originan de los megacariocitos de la me-

dula ósea, no es sin que se la hayan hecho, y se hagan aún, una serie de objeciones junto con las cuales se proponen a su vez teorías diversas.

Más arriba hemos citado la opinión de WATZKA, que piensa que las plaquetas son restos citoplasmáticos de diversas células, entre ellas endotelios, células del retículo del bazo y, también, megacariocitos. De un modo similar ya se habían expresado GRAWITZ, PATELLA, RETTERER, BROWN y otros.

Aparte otras teorías, como la de considerar a las plaquetas como simples precipitados de albúmina o como células independientes con sus correspondientes procesos de división (DEETJEN, DEKHUYZEN, MORAWITZ, ACHARD y AYNAUD), se ha pensado que deriven de los leucocitos, en cuyo sentido se expresan SCHMIDT, BUNTING y otros, y, recientemente, SEHUSTER, quien presentó una ponencia sobre ello en la reunión de 1939 de la Sociedad Alemana de Hematología, sosteniendo que por rotura de formas jóvenes de leucocitos aparecían en sangre formaciones idénticas a las plaquetas; una opinión similar es la de VARGA v. KIBET, que piensa en la posibilidad de que deriven de los mielocitos.

También se ha sostenido que fuera la serie roja el origen de las plaquetas, siendo a este respecto muy conocidas las ideas de SCHILLING, sostenidas por él hasta sus últimas publicaciones, de que los trombocitos son restos de los núcleos de los normoblastos.

En época relativamente reciente (1933), WATSON ha resucitado las antiguas ideas de ARNOLD, SCHWALBE, WEIDENREICH, ENGEL, etc., haciendo derivar las plaquetas del estroma de los hematíes destruidos. En apoyo de tal manera de pensar, aduce varios hechos: 1) Los hematíes de algunos animales degeneran y se rompen en el líquido de recuento de plaquetas, al tiempo que éstas aumentan. 2) La inyección intravenosa de fenilhidracina produce en los conejos una anemia progresiva y al mismo tiempo un aumento del número de plaquetas, realizándose éste precisamente al ir desapareciendo de la circulación los restos visibles de los eritrocitos destruidos. En apoyo de esta teoría han venido ROSENTHAL y FALKENHEIM al demostrar que el suero antieritrocitos posee cierto efecto aglutinante contra las plaquetas, cosa que, según MENNE (estudios anteriores), no ocurre con el suero antileucocitos.

También en este sentido pueden interpretarse las observaciones de BROCKFIELD, quien ha estudiado los cambios hematológicos que se presentan tras la administración de preparados de plomo utilizadas contra el cáncer en la "Organización de Investigación Médica" de Liverpool. Por la inyección de uno de ellos, llamado S₇, y que consiste en una suspensión de partículas de plomo en gelatina, aparece un rápido descenso del número de hematíes con aumento simultáneo de los trombocitos; es decir, un resultado similar a los obtenidos por WATSSON. BROOK-

FIELD, sin embargo, expresa la opinión de que no admite que las plaquetas deriven de los hematíes, basado en que no halla relación entre la intensidad de la anemia y la de la trombocitosis y en que la inyección de otro de los preparados, una auténtica suspensión coloidal de selenio y plomo poco tóxica, produce una anemia discreta y muchas veces también trombopenia. El autor cree que la elevación del número de plaquetas producida por el S_7 es debida a una lesión de los fagocitos del bazo, con la consiguiente falta de destrucción; más bien creemos que se pueda interpretar, al igual que en los trabajos ya citados de BEDSON y KOSTER, como un bloqueo del S. R. E.

Aparte todas las teorías citadas, admitidas en la actualidad por un número reducido de hematólogos, la que tiene más aceptación es, como ya adelantamos, la emitida por WRIGHT del origen megacariocítico. Este modo de pensar, fundamentado, sobre todo, en consideraciones y observaciones morfológicas—que analizaremos

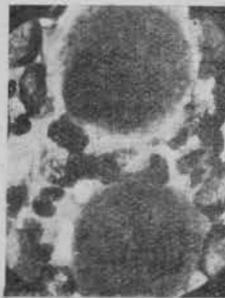


Fig. 4.

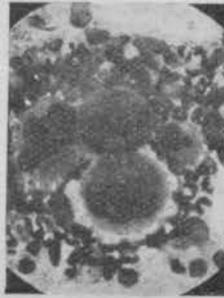


Fig. 5.

cuando conozcamos el aspecto de los megacariocitos—, puede sostenerse desde otros puntos de vista. Así VASATURO, utilizando la reacción del yodo, vió que las plaquetas y los megacariocitos maduros son las únicas células del organismo que dan un color amarillo con granulaciones pardo-negruzcas, y a análogos resultados ha llegado STAHL. ENDRES halló cierta analogía entre la composición química de megacariocitos y plaquetas—admitida con todas las reservas que estas clases de trabajos imponen—, y BEDSON, en investigaciones serológicas, se inclina por la afinidad de ambas formaciones; a este respecto hemos de recordar también que ROSENTHAL obtiene resultados parecidos, aunque, como ya dejamos citado, en otros trabajos vió ciertas propiedades serológicas comunes a plaquetas y hematíes.

Desde otros ángulos de visión, puede sostenerse también el origen de los trombocitos a partir de los megacariocitos. NAEGELI vió que ambos aparecen al mismo tiempo en el embrión, hacia el tercer mes de vida intrauterina, en el período hepatoesplénico de la hematopoyesis. DOAN y SABIN, produciendo tuberculosis experimentales extensas en medula ósea de conejos, hallaron una disminución marcada del número de megacariocitos, y, al mismo tiempo, trom-

bopenia en sangre periférica. Y además, son muchas las circunstancias patológicas en que se presenta un paralelismo neto entre el número de las supuestas “células madre” en medula y el de trombocitos en sangre; en contra de ello existen también numerosos ejemplos clínicos, pero, como veremos más adelante, no pueden utilizarse para este fin, ya que tales discordancias son explicadas por la intervención de otros factores, como un déficit de maduración de los megacariocitos o un exceso de utilización periférica de los trombocitos.

B) LOS MEGACARIOCITOS.

Son las mayores células que existen en medula ósea, alcanzando tamaños de 30 y 40 micras y hasta 60 en ciertos procesos patológicos.

1) Número.

En medula ósea se encuentran en cantidades pequeñas, aunque muy diversamente apreciadas por los diferentes autores. ARINKIN, en su primer trabajo sobre punción esternal, admitía variaciones tan amplias como 0,66 y 6,1 por 100 células nucleadas; después oscilan las cifras entre 0,03 (SEGERDAHL), de 0 a 0,2 (YOUNG y OSGOOD), 0,1 a 0,5 (REVOL), 0 a 1 (NORDENSON), menos de 0,5 (THADDEA), etc. Por nuestra parte, hallamos siempre cifras bajas, similares a las enunciadas; pero su posibilidad de variación es tan amplia (hasta diferencias de 30 ó más veces de unos a otros casos normales), que para su apreciación aproximada habríamos de recurrir a contar por lo menos 10.000 células nucleadas, utilizando campos y preparaciones diversas. Y ni aun así podemos estar completamente seguros de la proporción de megacariocitos en medula ósea, pues para ello no son útiles más que los métodos histológicos; con punción esternal entra en juego la diferente capacidad de desprendimiento de las diversas especies celulares. PIECHL se ha ocupado de este problema recientemente, estudiándolo en normales y en diversas enfermedades de la sangre, y llegando a la conclusión de que la serie eritrocítica es la que muestra menor capacidad de desprendimiento y de que ésta es bastante grande para los megacariocitos. Su técnica la reputamos como inadecuada, pues es un equivalente de la extensión simple; sus resultados nos parecen equivocados, pues en las extensiones de medula ósea hallamos con gran frecuencia acúmulos de megacariocitos (figs. 4 y 5) situados generalmente en las zonas finales de la extensión y de ningún modo uniformemente repartidos por ella, como ocurriría si PIECHL tuviera razón. Tenemos la impresión de que en parénquima medular los megacariocitos poseen una escasa capacidad de desprendimiento—lo cual es en cierto modo lógico por su gran tamaño—a consecuencia de lo cual al aspirar a través del trocárd de punción pasan a él difi-

cilmente. Así nos explicamos que la mayoría de los investigadores que han trabajado con métodos histológicos hayan dado la cifra de 1 por 100 como la correspondiente a la proporción normal de megacariocitos, mientras que las cantidades halladas con punción esternal son, como hemos visto, netamente inferiores.

Por las causas enumeradas creemos que para fines prácticos lo más útil es aceptar la postura de WEERDT, que renuncia a hacer recuentos y—al igual que SCHULTEN y KANDEL y LE ROY aconsejan para todas las especies citológicas medulares—contentarse con obtener una impresión de conjunto. Nosotros, después de títubeos iniciales, hace ya años que optamos por utilizar el examen a pequeños aumentos, recorriendo la totalidad de una extensión fina y de

basófila, y muestra una fina granulación azurófila, que recuerda en todo al cromómero de los trombocitos. Esta granulación aparece en la mayoría de los megacariocitos difusamente repartida, aunque a veces se presenta formando acúmulos.

Aparte este tipo de megacariocito, que corresponde a las formas maduras, se presentan otros en médula ósea, sobre cuya división no reina unidad de criterio, en parte por diferencias de apreciación morfológica y en parte por razones doctrinales, ligadas a el origen de esas células.

FERRATA y su escuela distinguen primeramente el "megacarioblasto" como célula madre de los megacariocitos; se trata, según ellos, de una célula de citoplasma muy basófilo, sin granula-

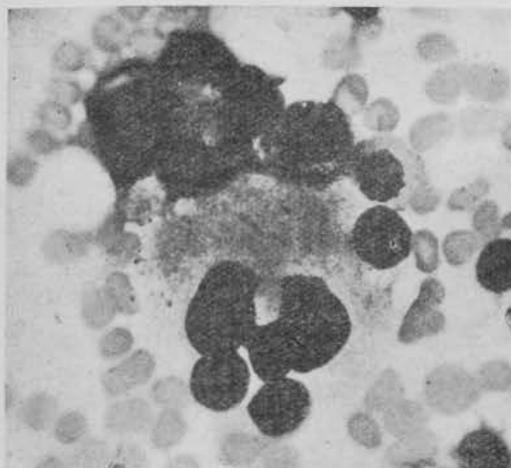


Fig. 6.—Megacariocito normal.

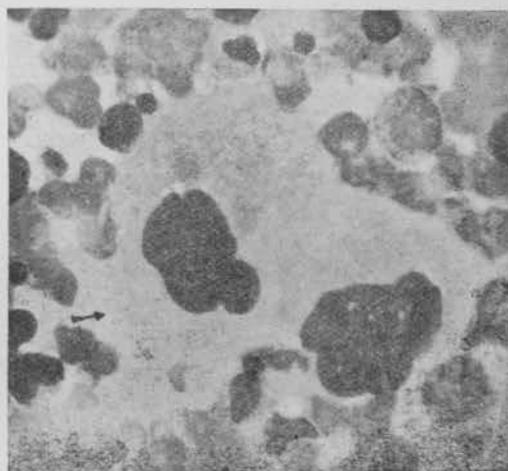


Fig. 7.—Dos megacariocitos. En (→) pseudópodo.

otra gruesa, para darnos una idea del estado cuantitativo de las células madres del órgano trombocítico, expresando el resultado por medio de cruces y considerando (++) como expresión de la normalidad.

2) Morfología de los megacariocitos.

Además del tamaño ya señalado—que resulta siempre mayor en las extensiones que en los cortes por el aplastamiento que en ellas sufren—ofrecen un núcleo grande, a veces redondeado u oval y generalmente lobulado más o menos profundamente, hasta presentar en algunos ejemplares el aspecto de leucocitos polinucleares gigantes (ver figuras); la situación del núcleo es variable, unas veces en el centro de la célula y otras excéntrico o casi fuera de la célula. El citoplasma es de límites poco precisos y bordes con frecuencia irregulares, que a veces presentan prolongaciones a modo de pseudópodos (ver figuras). Estas características, así como la excentricidad del núcleo, pueden ser cargadas, al menos en gran parte, a cuenta del efecto mecánico de la extensión, ya que pocas veces son apreciables en los cortes.

La coloración del citoplasma es suavemente

basófilo, en cuyo contorno se aprecia a veces la iniciación de estrangulaciones y que carece de nucleolos visibles. Además, los autores italianos dividen los megacariocitos ateniéndose a las características del núcleo: grueso; con irregularidades múltiples; pequeño.

PAPPENHEIM admite también una sola célula como forma joven de los megacariocitos, a la que llaman "megacariocito linfoide".

Fué BARTA el primero que, con ayuda de la punción esternal, estableció la serie

Megacarioblasto → Promegacariocito → Megacariocito

El "promegacariocito", forma de transición entre las otras dos, es admitido por FREY, WILLI, ROHR, SCHULTEN, THADDEA, etc., como una célula de núcleo grande ovalado, con estrangulación única o múltiple bien perceptible y citoplasma relativamente pequeño, mal delimitado, con basofilia no tan intensa como la de los megacarioblastos y, generalmente, sin granulación.

Algunos autores, como GALINOWSKY, distinguen una segunda forma de transición, el "metamegacariocito", que se caracteriza por los acúmulos de gránulos azurófilos, los cuales aparecen rodeados de zonas hialinas de color rosa violáceo.

Dentro ya de los megacariocitos propiamente dichos, se diferencian, según FIESCHI y VILLOSOBOS: 1) Formas jóvenes, con uno o dos núcleos; citoplasma basófilo y sin granulación. 2) Formas maduras, granuladas y sin basofilia. 3) Formas maduras polinucleares, con señales de división del citoplasma, precursoras de la formación de plaquetas.

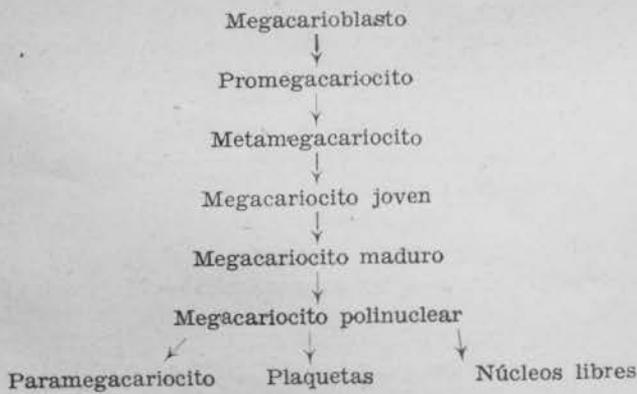
Además de todas estas formas, en cuya aceptación juega un no pequeño papel la imaginación de los autores, se hallan en medula ósea núcleos libres procedentes de megacariocitos, cuyo citoplasma se ha convertido, total o parcialmente, en plaquetas (figs. 11, 12 y 13), así como masas citoplasmáticas aisladas.

SEELIGER distingue como forma especial el "megacariocito degenerativo", que pudiéramos llamar "paramegacariocito", caracterizado por su gran tamaño, núcleo muy denso, picnótico, grande, irregular y citoplasma esponjoso, hialino o filamentososo, sin granulación y a veces con vacuolas (fig. 14).



Figs. 8, 9 y 10.—Diversos tipos de megacariocitos.

Así, pues, podríamos representar la serie megacariocítica con arreglo a lo expuesto:



Salta en seguida a la vista la excesiva sutileza de este esquema, que dudamos mucho corresponda a la realidad de lo que se observa en medula ósea, pues creemos, basados en la propia experiencia, que peca por un lado de fantástico, al admitir formas celulares que nunca hemos visto, y por otro, de excesivamente esquemático.

HEILMEYER y su colaboradora GOHRBANDT complican aún más la cuestión. Después de comenzar por no admitir la existencia del mega-

carioblasto, dividen los megacariocitos en los siguientes grupos y clases, tan diferentes en muchos aspectos de los hasta ahora descritos:

I.—Promegacariocitos.

II.—Megacariocitos:

- 1) Pequeños, granulados, de plasma basófilo (jóvenes).
 - a) No formadores de plaquetas.
 - b) Formadores de plaquetas.
- 2) Grandes, granulosos, de plasma basófilo.
 - a) No formadores de plaquetas.
 - b) Formadores de plaquetas.
- 3) No granulosos, con plasma basófilo.
 - a) No formadores de plaquetas.
 - b) Formadores de plaquetas.
- 4) — a) No granulados, con plasma esponjoso neutrófilo.
 - b) Granulosos, con plasma neutrófilo.
- 5) Núcleos rodeados de trombocitos o con restos de citoplasma.

III.—Núcleos libres.

Para nosotros, la existencia de megacarioblastos es también muy discutible. Nunca hemos hallado en medula ósea una célula que hayamos podido filiar con este nombre, pues ninguno de los elementos basófilos de medula muestra caracteres que hagan suponer ni siquiera un parecido con las formas más jóvenes de megacariocitos o, si se quiere llamarlos así, con los promegacariocitos. Resulta muy curioso contemplar las figuras de lo que NAEGLI y THADDEA, por ejemplo, llaman megacarioblastos; unas veces se trata de células del retículo, jóvenes y con basofilia ci-

toplástica; otras, de mieloblastos deformados, y otras, sencillamente, de núcleos de megacariocitos, que conservan aún una estrecha e irregular zona citoplástica basófila.

Al establecer diversas clases de megacariocitos, es natural que se lanzara en seguida un "megacariocitograma". SEELIGER se limita a decir que el 24 por 100 corresponde a formas inmaduras y 76 por 100 a maduras. GOHRBANDT, que para fines "prácticos" adopta una clasificación muy real y útil de los megacariocitos, da las siguientes cifras:

	%	Promedio
I.—Promegacariocitos (formas inmaduras)	0-3	0,8
II.—Megacariocitos formadores de plaquetas (forma funcional).....	18-38	26,5
III.—Megacariocitos no formadores de plaquetas (forma de reposo)...	43-79	58
IV.—Núcleos libres	5-25	15

3) Origen de los megacariocitos.

Es otro de los problemas que plantea el estudio del órgano trombocítico. De un lado está la opinión primitiva de MAXIMOW—apoyado en estudios de HEIDENHAIN—, que los hace derivar de la célula que FERRATA llamó hemocitoblasto;

NAEGELI, que identifica tal especie celular con el mieloblasto, cree que éste es el origen de los megacariocitos, basado en la existencia de formas celulares que son difíciles de clasificar entre los mieloblastos y los megacarioblastos; SEGERDAHL niega su existencia, y recordemos que hay otros autores—nosotros mismos—que ni siquiera están convencidos de la existencia de un megacarioblasto.

De otro lado, hay otro grupo de autores, como CARNEGIE, DICKSON, FABRIS, THADDEA y BAKALOS, etc., que piensan en una derivación directa de las células del retículo; de esta opinión es también SEELIGER, que pretende haber visto todas las formas de transición entre células del retículo y megacarioblastos, y KATZENSTEIN, que afirma haber visto lo mismo en estudios sistemáticos en gatos.

Esta última opinión es la más admitida, pues, aunque falten a la observación las formas de tránsito, resulta más lógico aceptar el origen reticular por consideraciones morfológicas y porque en las reacciones patológicas de los megacariocitos se hallan con más frecuencia alteraciones del retículo que de los mieloblastos.

4) La formación de plaquetas a partir de los megacariocitos.

Aunque la teoría de WRIGTH es casi sin excepción aceptada, el fenómeno de la formación de las plaquetas se interpreta de formas muy diversas. La primitiva explicación del autor de la teoría era que los megacariocitos emiten pseudópodos que penetran en los capilares de la médula ósea; en tales prolongaciones aparecen agrupamientos de la granulación aurófila, ofreciendo primero un aspecto que OGATA comparó a una cadena de perlas por la aparición de estrangulaciones entre los agrupamientos granulares, y rompiéndose después por ellos, con lo que quedan los trombocitos libres en el torrente circulatorio. Esto explicaría satisfactoriamente, dice NAEGELI, la presentación en sangre periférica—como consecuencia de ruptura incompleta de las estrangulaciones o de la falta de alguna de estas—, de rosarios de plaquetas y de formas alargadas.

Esta primitiva explicación, aunque aclara ciertos aspectos de la cuestión, no puede ser totalmente aceptada, al menos como mecanismo único. En ella, de todos modos, está la idea de que las plaquetas proceden del citoplasma de los megacariocitos. Existen, no obstante, algunos autores (DOWNEY, ENGEL, JORDÁN, WILLI, ROHRY KOLLER, DU BOIS, VOIT y KEMPA, SCHENKER, etc.) que creen que el verdadero origen de las plaquetas sería el núcleo de los megacariocitos, basándose para tal suposición en el hecho de haberse encontrado en ellas sustancias nu-

cleoides; ya vimos antes que esto es muy discutido y, por si fuera cierto, PERRONCITO, PIENESE, VAN HERVERDEN y otros la explican diciendo que la granulación de los megacariocitos es la que sería de origen nuclear.

Tanto las consideraciones de orden químico—reacción del yodo en manos de VASATURO y de STAHL—, como, muy especialmente, las de tipo morfológico, obligan a admitir que las plaquetas derivan del citoplasma de los megacariocitos. Es muy frecuente, en efecto, la observación de células gigantes, que ofrecen un aspecto de mosaico en su citoplasma ("Felderung") producido por grupos de gránulos y que en toda o en parte de su periferia aparecen rodeadas de plaquetas, siendo de tal modo parecido el citoplasma a los acúmulos de trombocitos, que resulta difícil precisar los límites celulares. Así, pues, es admisible que el "Felderung" primero y la rotura después sea el mecanismo de la formación de las plaquetas. Esta formación puede tener lugar paulatinamente, por transformación



Fig. 11. — Megacariocito con núcleo picnótico y restos de citoplasma. En (→) formación de plaquetas.

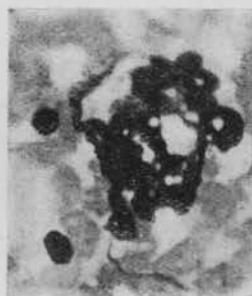


Fig. 12. — Megacariocito. Restos de un núcleo polilobulado intensamente picnótico.



Fig. 13. — Megacariocito. Núcleo gigante con pequeños restos de citoplasma.

sucesiva de diversas zonas, o, como quieren ROHR y SCHENKER, de modo explosivo por rotura de todo el citoplasma. Ambos mecanismos tienen bases morfológicas de confirmación, pero creemos que lo más frecuente es la transformación paulatina, coincidiendo en esto con la opinión más generalizada. SCHLOSSHARDT y HEILMEYER, con ayuda del microscopio luminescente, han podido seguir el proceso de la formación de plaquetas; al irse a formar una, aparece en el citoplasma una pequeña zona periférica que cambia de color, adquiriendo un tinte parecido al del núcleo; esta zona se va individualizando hasta que se desprende y queda formado el trombocito. Piensan ellos que en el mecanismo íntimo de la trombocitogénesis interviene un cambio en la reacción química del citoplasma, y demuestran bellamente que el origen no es nuclear—al menos en lo que al momento de la formación se refiere—y que el modo de transformación habitual es el "paulatino" y no el "explosivo".

Otro punto interesante es el referente a qué clase de megacariocitos son los que originan plaquetas. CAZOL admite que tal cosa puede ocurrir en todos los estadios de la maduración del mega-

cariocito, y ya hemos visto que GOHRBANDT admite formas funcionales y formas de reposo, según que formen o no plaquetas; creemos que no se puede admitir una tal diferenciación más que conceptuándola como estadios diversos de las mismas formas. Realmente así lo hace la colaboradora de HEILMEYER, como se trasluce en su complicada clasificación, haciendo notar que las plaquetas se forman sobre todo en los tipos

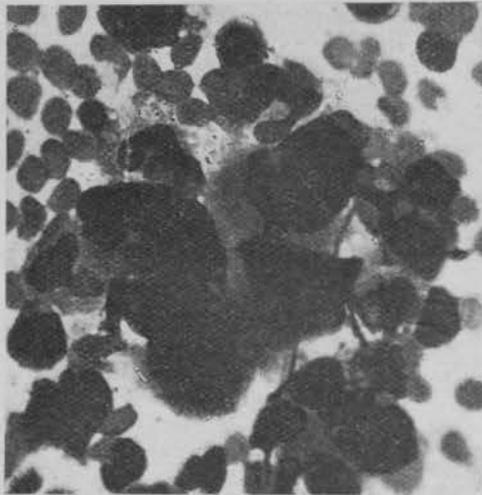


Fig. 14.—Paramegacariocito.

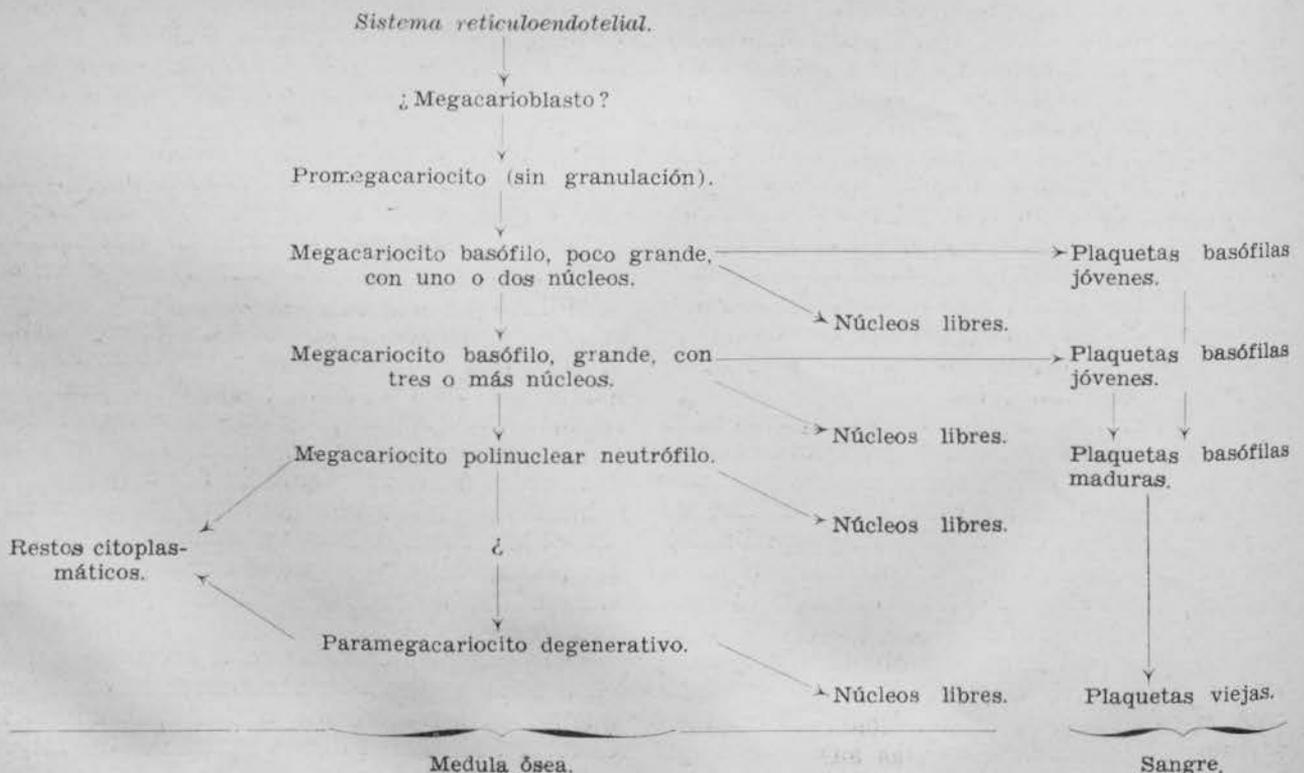
basófilos y no en cambio, o muy rara vez, en los neutrófilos. En nuestra opinión, esto se halla más de acuerdo con la realidad que la teoría clásica, que concibe las plaquetas como el resultado final de una serie de estadios de maduración de los megacariocitos. El hecho de que el hialómero de las plaquetas sea generalmente basófilo, y que cuando no es así muestre con

frecuencia signos degenerativos, correspondiendo al tipo 3) de JURGENS, es muy significativo a este respecto. Creemos, pues, que las plaquetas se originan a partir de las formas basófilas de los megacariocitos. Para nosotros, esto es perfectamente explicable, porque tenemos la opinión de que la basofilia citoplasmática va unida a cierta fragilidad (*), como lo prueba el hecho de que en las extensiones de medula ósea son precisamente los mieloblastos, proeritroblastos y—en su caso—los promegaloblastos, las células que con más frecuencia se presentan aplastadas u ofreciendo excrescencias citoplasmáticas.

En fin, nosotros, como GOHRBANDT, no hemos podido ver que los megacariocitos neutrófilos formen plaquetas. A favor de esto hablan las observaciones de FIESCHI y ASTALDI en cultivos medulares; comprobaron que los megacariocitos envejecen—se hacen neutrófilos—rápidamente; en tales circunstancias no hay tiempo de que se formen plaquetas a partir de los estadios basófilos, y, efectivamente, los autores italianos no vieron nunca tal proceso. Recordemos, no obstante, que el mismo FIESCHI, con VILLALOBOS, admite que los megacariocitos más maduros son precisamente los formadores de plaquetas.

Aceptados estos conceptos, podemos esquematizar del siguiente modo la estructura anatómica del órgano trombocítico:

(*) Nos referimos, naturalmente, a la basofilia de las células jóvenes, y no a la de especies celulares como las plasmáticas, linfoides o del retículo, o a las células del mieloma; los caracteres cromáticos son diferentes, y probablemente el significado de ambas basofilias dista mucho de ser el mismo.



BIBLIOGRAFIA

1. ACHARD y AYNAUD.—C. R. Soc. Biol., 65, 332, 1908.
2. ACHARD y AYNAUD.—Arch. mal. Coeur, 129, 1909.
3. ADLER.—(Cit. NAEGLI).
4. AFANASSIEW.—D. Arch. klin. Med., 35, 217, 1884.
5. ARINKIN.—Folia haemat., 38, 233, 1929.
6. ARNETH.—Z. klin. Med., 141, 35, 1942.
7. ARNETH.—Münch. med. Wschr., 371, 1942.
8. AUSTERHOF.—Dtsch. med. Wschr., 1843, 1928.
9. BAKALOS.—Ueber das Verhalten der Megakaryocyten bei den Blutkrankheiten. Berlin, 1939.
10. BARTA.—D. Arch. klin. Med., 162, 185, 1928.
11. BARTA.—Folia haemat., 47, 168, 1932.
12. BASTAI y DOGLIOTTI.—Physiopatologie de la Vieillesse. Paris, Masson, 1938.
13. BEDSON.—Jour. of Path., 28, 101, 1925.
14. BEDSON.—Arch. of Path., 3, 1041, 1927.
15. BERNHARDT.—(Cit. HEILMEYER).
16. BINET.—La rate organe reservoir. Paris, Masson, 1930.
17. BORVELY, von.—Münch. med. Wschr., 886, 1930.
18. BORDET.—(Cit. HEILMEYER).
19. BROOKFIELD.—J. Path. a. Bact., 31, 277, 1928.
20. BROWN.—J. exp. Med., 18, 278, 1913.
21. BUNTING.—Bull. John Hopkins Hosp., 22, 114, 1911.
22. BUNTING.—Bull. John Hopkins Hosp., 31, 439, 1920.
23. CAZOL.—Biolog. Med., 31, 257, 1941.
24. CIVEIRA.—Medicina, Sept., 194, 1943.
25. DAMESHK.—Arch. int. Med., 50, 579, 1932.
26. DEBTJEN.—(Cit. NAEGLI).
27. DEBKWITZ.—En Abderhalden: Handb. Biol. Arbeitsmethoden, IV, 3^a, 1924.
28. DEMMER.—Folia haemat., 27, 141, 1922.
29. DENISSOWA.—Ztbl. Gynäk., 2535, 1928.
30. DELLA MAGGIORE.—Sperimentale, 92, 251, 1938.
31. DOAN y SABIN.—J. exp. Med., 43, 839, 1926.
32. DOWNEY.—Folia haemat., 15, 25, 1913.
33. DU BOIS.—Klin. Wschr., 22, 1937.
34. EBERT y SCHIMMELBUSCH.—(Cit. FRANK).
35. ENDRES.—Z. Biol., 88, 451, 1929.
36. FABIS.—(Cit. PINEY).
37. FEUCHTINGER.—Arch. exp. Path., 196, 644, 1940.
38. FEUCHTINGER.—Z. klin. Med., 141, 697, 1942.
39. FIESCHI y VILLALOBOS.—Hematologica, 20, 535, 1939.
40. FIESCHI y ASTALDI.—Arch. exp. Zellforsch., 24, 241, 1941.
41. FISCHER.—(Cit. LEHNARTZ).
42. FLÖSSNER.—Arch. Biol., 89, 37, 1923.
43. FLÖSSNER.—Z. Biol., 77, 113, 1923.
44. FONIO y SCHWENDER.—Die Thrombocyten des menschlichen Blutes. Berna, Huber, 1942.
45. FRANK.—En Schittenhelm: Die Krankheiten des Blutes. Berlin, 1925.
46. FRANKE.—Z. klin. Med., 137, 86, 1940.
47. FRANKE.—Z. klin. Med., 142, 316, 1943.
48. FREY.—Folia haemat., 51, 173, 1934.
49. GALINOWSKY.—Folia haemat., 60, 397, 1938.
50. HAUROWITZ y SLADEK.—Z. physiol. Chem., 173, 233, 1928.
51. HAYEM.—Arch. physiol. norm. et path., 5, 692, 1878.
52. HEIMEYER.—Blutkrankheiten, en Handb. inn. Med., T. 2. Berlin, Springer, 1942.
53. HELBER.—D. Arch. klin. Med., 82, 41, 1904.
54. HENNING.—Dtsch. med. Wschr., 1078, 1924.
55. HENNING y KEILHACK.—Ergeb. inn. Med., 56, 372, 1939.
56. HERVERDEN, van.—Journ. Am. Med. Ass., 76, 723, 1921.
57. HEYMER y GERATS.—D. Arch. klin. Med., 186, 125, 1940.
58. HEYMER, HERKES, PFEIFFER y SPITZER.—D. Arch. klin. Med., 186, 258, 1940.
59. HEYMER y OTTOWESS.—Klin. Wschr., 478, 1940.
60. HIRSCH y HARTMANN.—Ztbl. Gynäk., 2883, 1924.
61. HORWITZ.—Klin. Wschr., 1613, 1931.
62. HOWELL.—The problem of coagulation. Chicago, 1925.
63. JAGIC y KLIMA.—Münch. med. Wschr., 483, 1943.
64. JÜRGENS.—Ergeb. inn. Med., 53, 975, 1934.
65. JÜRGENS y BACH.—D. Arch. klin. Med., 176, 626, 1934.
66. KANDEL y LE ROY.—Arch. int. Med., 64, 121, 1939.
67. KAPLAN.—(Cit. MAGNER).
68. KATZENSTEIN.—Z. exp. Med., 28, 607, 1926.
69. KEILMANN.—Monatschr. Kinderhk., 23, 382, 1932.
70. KOSSEL y LILIENFELD.—(Cit. URTUBEY).
71. KOSTER.—Arch. Path., 2, 930, 1926.
72. KRISTENSON.—Acta med. Scand., 68, 129, 1928.
73. LEE y ERIKSON.—J. Labor. clin. Med., 24, 821, 1939.
74. LEHNARTZ.—Physiologische Chemie. Berlin, Springer, 1942.
75. MEISTER.—Z. exp. Med., 108, 742, 1941.
76. MENNE.—J. infect. Dis., 31, 445, 1922.
77. NAEGLI.—Trat. Hematología Clínica. Barcelona, Labor, 1935.
78. OGATA.—Beitr. path. Anat., 52, 192, 1912.
79. OLEF.—Arch. int. Med., 57, 1163, 1936.
80. PERRONCITO.—Sang., 1, 297, 1927.
81. PIECHL.—Z. klin. Med., 141, 788, 1943.
82. PINEY.—Recientes adquisiciones en hematología. Madrid, Morata, 1928.
83. ROHR.—Das menschliche Knochenmark. Leipzig, Thieme, 1940.
84. ROSENTHAL.—Journ. Am. Med. Ass., 84, 1887, 1925.
85. ROSENTHAL y FALKENHEIM.—Arch. exp. Path., 92, 231, 1922.
86. ROSKIN.—(Cit. NAEGLI).
87. SCHENKER.—Folia haemat., 63, 223, 1939.
88. SCHILLING.—En Bethe-Bergmann: Handb. norm. path. Physiol. VI, 2, 1928.
89. SCHLOSSHARDT y HEILMEYER.—(Cit. HEILMEYER).
90. SCHULTEN.—Sternalpunktion als diagnostische Methode. Leipzig, Thieme, 1937.
91. SCHULTEN.—Lehrbuch der klinischen Haematologie. Leipzig, Thieme, 1939.
92. SCHUSTER.—Folia haemat., 63, 382, 1940.
93. SEELIGER.—Klin. Wschr., 1217, 1924.
94. SEELIGER y GORKE.—Z. exp. Med., 24, 1921.
95. SEGERDAHL.—Acta med. Scand. Supl., 64, 1935.
96. STAHL.—Klin. Wschr., 755, 1926.
97. SUÁREZ.—Boletín As. Med. Puerto Rico, 345, 1939.
98. TEY.—Fragilidad capilar humana. Buenos Aires, Salvat, 1940.
99. THADDEA.—Die Sternalpunktion, et Stuttgart, Enke, 1943.
100. THADDEA y BAKALOS.—Folia haemat., 63, 401, 1940.
101. TUNNERHOFF.—Med. Klinik, 1024, 1940.
102. URTUBEY.—La sangre y la teoría del mesenquima. Valencia, América, 1943.
103. VARGA, V. KIBED y ARMENTENO.—Z. klin. Med., 142, 501, 1943.
104. VASATURO.—(Cit. PINEY).
105. VILARINO y VÁZQUEZ PIMENTEL.—Klin. Wschr., 1253, 1939.
106. VOIT.—Klin. Wschr., 1188, 1934.
107. WATSON.—Edimb. med. J., 39, 229, 1933.
108. WATZKA.—Anat. Anz., 85, 47, 1938.
109. WERDT.—Rev. belge Sci. Med., 11, 297, 1939.
110. WERNER.—D. Arch. klin. Med., 190, 391, 1943.
111. WERNER.—Z. klin. Med., 142, 602, 1943.
112. WOLPERS y RUSKA.—Klin. Wschr., 1077 y 1111, 1939.
113. WRIGHT.—Virchows Arch., 186, 55, 1906.