

INSTITUTO DE ANATOMIA
de la
Universidad de Concepción
Director: Prof. Dr. E. Solervicens

Técnicas para la preparación de linfáticos.

(con 2 figuras)

por

Enrique Solervicens

El objeto de esta publicación es suministrar una fuente de informaciones para nuestros laboratorios anatómicos de las técnicas más empleadas en las investigaciones sobre el sistema linfático, y no tiene otra pretensión que cumplir con esta tarea en la forma más clara posible. En la literatura anatómica existen numerosas publicaciones sobre este tema, y entre ellas se destacan las de: Fohman (1840); Gerota (1896) y P. Bartels (1909), que constituyen los principales apoyos en los cuales se cimienta la técnica actual. La publicación de P. Bartels intitulada "Das Lymphgefäßsystem", sigue siendo la más completa y la fuente obligada para todos los anatomistas que desean trabajar sobre este tema hasta hoy día. En ella se pueden encontrar todos los datos necesarios, salvo aquellas informaciones de técnicas particulares de algunos investigadores o las adquisiciones de las últimas décadas.

Estos últimos progresos de la técnica han sido más bien escasos, y en su mayor parte están constituidos sólo por refinamientos de los métodos ya conocidos; sin embargo, poseen una gran importancia y cuando son empleados correctamente por manos experimentadas el fracaso pasa a constituir una excepción.

RESEÑA HISTORICA

Según las apreciaciones de Haeser, Bartels y otros aa., es posible que las primeras nociones sobre linfáticos se remonten a los tiempos de Hipócrates (460-377 a. de J. C.) y luego de Arístoteles (384-322 a. de J. C.), quiénes se refieren a ellos en forma algo confusa.

La revisión de fragmentos debidos a Galeno ha permitido establecer sin lugar a dudas que 300 años antes de J. C. en

Alejandría tanto Herófilo como Erasistrato conocieron los vasos quilíferos (Haeser).

Varios siglos después, Galeno (129-201 d. de J. C.), a pesar de tener referencias de los hallazgos anteriores, no los reconoció en sus vivisecciones y parece haberlos confundido con nervios (Bartholinus). Lo mismo sucedió luego con sus continuadores durante toda la Edad Media hasta llegar al siglo XVI.

Se puede afirmar que el reconocimiento cimentado de los vasos quilíferos que constituyó el punto de partida de las investigaciones sobre el sistema linfático, está constituido por los descubrimientos de Asselio (1581-1626). El los observó naturalmente inyectados de blanco por el quilo en repetidas vivisecciones, primero sobre perros y luego en otros animales domésticos. Estableció además su comportamiento en relación con los períodos digestivos; pero no llegó a comprender claramente su significado.

Según Haeser, los vasos quilíferos humanos fueron descubiertos por Nic. Claude Fabrice de Peiresc (1580-1637) de Aix, cuyos hallazgos no fueron publicados y son conocidos hoy día sólo a través de los escritos de Gassendi y de Pecquet.

Las opiniones de los anatomistas del siglo XVII se mostraron divididas frente al descubrimiento de los vasos quilíferos y así, mientras algunos como: Gassendi, Harvey y Rioloano se mostraron escépticos, otros como: Rolfink, Tulpius y Wesling J. se afirmaron en los hallazgos de Asselio.

Un discípulo de Joh Wesling llamado J. Pecquet (1622-1674) descubrió el Conducto torácico y la Cisterna del quilo (1647) durante la vivisección de un perro. Repitió después varias veces sus observaciones y les dió publicidad. En 1651 publicó la primera descripción que fué seguida de varias otras.

Poco tiempo después las observaciones de Pecquet fueron repetidas por Jan Van Horne (1621-1670), y el Conducto Torácico fué demostrado por Bartholinus (1616-1670), quién publicó además el primer trabajo sobre linfáticos humanos en 1653. Rudbeck el Viejo (1630-1702) fué el primero en reconocer que estos vasos correspondían a un nuevo sistema vascular.

EVOLUCION DE LAS TECNICAS DE INYECCION

El estudio detallado de los vasos linfáticos está estrechamente ligado a la evolución de los métodos empleados para destacarlos plásticamente, ya sea por medio de inyecciones directas o por impregnaciones. Esta evolución ha sido posible sólo debido al progreso simultáneo y general de las ciencias, en especial de la óptica, y al perfeccionamiento material en el campo de los reactivos y del instrumental anatómico.

Los primeros investigadores de los linfáticos emplearon la vivisección y observaron especialmente los vasos quilíferos que sin necesidad de artificio destacan muy claramente por su color blanco durante los períodos digestivos. Después se recurrió a la ligadura del Conducto Torácico como un medio de provocar

estagnación y dilatación de los linfáticos viscerales. Algunos años más tarde se practicaron las primeras inyecciones de este conducto empleando las substancias más variadas, entre ellas: aire, aceites, grasas coloreadas, etc. Así experimentando se llegó a lo que podríamos llamar la era del mercurio, cuyo introductor fué Nuck A (1692).

El mercurio fué empleado en sus comienzos sólo para inyecciones directas en los colectores linfáticos más visibles, pero después, con el auxilio de la aguja de vidrio estirado a la llama, se le pudo también emplear en inyecciones indirectas, es decir, por medio de la picadura en los tejidos mismos.

Este último método ganó rápidamente partidarios y ha pasado a convertirse en el preferido de los anatomistas hasta nuestros días. Tuvo como preconizadores a Hunter (1793) y a Cruikshank (1789) y fué perfeccionado por Soemmerring (1841) y especialmente por Fohmann (1840). Se le designa también inyección intersticial o parenquimatosa. Con el empleo de esta técnica se obtiene primero la repleción de las redes de origen y luego la de los colectores. Para practicarla es necesario proveerse de agujas muy finas de vidrio que son indispensables cuando se trabaja con el mercurio, pero pueden ser reemplazadas por agujas metálicas del tipo más fino cuando se trabaja con mezclas de color. La aguja se monta en la cánula o en la jeringa, se prueba dejando escurrir el mercurio o el color, y luego se clava con un movimiento rápido en un punto del órgano cuyo sistema linfático deseamos inyectar; después se retrocede ligeramente, y se inyecta bajo una presión cuya fuerza es característica para cada órgano y sólo se aprende con la experiencia (Bartels).

Este método alcanzó una gran perfección en manos de Sappey, Teichman, y otros anatomistas de fines del siglo pasado y constituyó un gran progreso para el conocimiento más detallado de estas formaciones.

Las inyecciones del sistema linfático se pueden realizar con el mercurio o con mezclas coloreadas. Como el trabajo con el mercurio requiere el uso de dispositivos propios que no sirven para inyectar las mezclas coloreadas, veremos primero la inyección de mercurio, después las fórmulas de las mezclas coloreadas más usadas y, por último, algunos consejos técnicos para su empleo.

LA INYECCION DE MERCURIO

Este metal posee muchas ventajas en la inyección de los vasos linfáticos, entre ellas están las siguientes: es limpio para manipularlo; avanza muy fácilmente en los vasos, y destaca claramente en todos los tejidos; etc. Pero tiene también serios inconvenientes: rompe a veces las paredes vasculares y escapa todo al exterior o hacia las venas; por esta causa es inseguro en la apreciación de los resultados; es además muy difícil obtener con él preparados durables o de museo; y no se presta para el examen a microscopio; etc., etc.

El primer cuidado que se debe tomar antes de inyectarlo es deshumedecerlo por calentamiento directo, pues cuando no está seco tiene tendencia a obstruir cánulas y agujas a causa de la rápida oxidación. Como instrumental para inyectarlo se emplea el dispositivo de Sappey modificado por Gerota, cuyas partes son las siguientes: (Ver fig. 1).

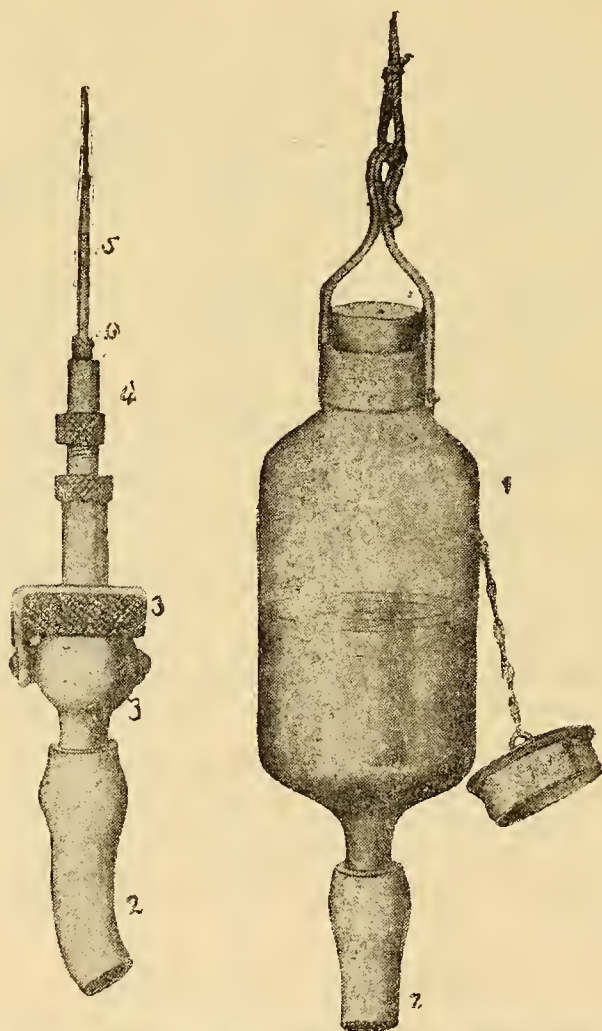


Fig. 1. — Inyector de Mercurio de Sappey - Gerota

1.—Depósito de celuloide. 2.—Tubo de caucho. 3.—Cánula especial con 3' su palanca doblada en ángulo recto. 4.—Enchufe. 5.—Aguja de vidrio. 6.—Vendaje de cuero de fino guante.

a) Un depósito de 80 a 100 cc. de capacidad, hecho de celuloide transparente para que permita observar el nivel del mercurio.

- b) Un tubo de caucho de 150 cm. de longitud y 0,5 cm. de diámetro interno.
- c) Una cánula de acero o de níquel, provista de una llave de cierre cuyo vástago interior es de cuero endurecido y cuya palanca exterior está doblada en ángulo recto. En su extremo lleva una rosca exterior de hilo para atornillar el enchufe.
- d) Un enchufe que sirve para fijar las agujas de vidrio. Se trata de un tubo metálico de 1,5 cm. de longitud y 3 a 3,5 mm. de diámetro en su lúmen y que lleva interiormente en ambos extremos rosca de hilo para ser atornillado a la cánula y para recibir la aguja de vidrio. Es indispensable disponer de tres o cuatro enchufes para poder trabajar sin tropiezos durante una sesión de inyecciones.
- e) Agujas de vidrio. Se preparan a partir de trozos de 3 a 4 cm. de tubos de un vidrio neutro especial de 2 mm. de grosor, uno de cuyos extremos se estira hasta cortarlo ante un mechero de gas. Para unir una aguja de vidrio al enchufe respectivo se recomienda emplear el método de Gerota, que consiste en envolver su base con una fina venda de cuero (cuero de guante) hasta darle un diámetro ligeramente mayor que el lúmen del enchufe al cual será después atornillada con alguna fuerza. En esta forma quedan a la vez firmes y herméticas; en caso de necesidad se puede además rematar esta unión con una gota de cera fundida.
- f) El depósito de este dispositivo va suspendido de una polea que permite darle una altura adecuada a la presión que se necesita.

Por otra parte, este dispositivo debe ser manejado tomando la cánula con toda la mano derecha, de manera que el dedo pulgar quede reposando sobre la palanca doblada en ángulo recto de su llave.

FORMULAS DE MASAS COLOREADAS

A causa de los serios inconvenientes del mercurio para obtener preparados estables o bien, susceptibles de servir para ser examinados al microscopio, numerosos anatomistas comenzaron a usar en la picadura intersticial diversos tipos de masas coloreadas entre las cuales las más conocidas y las mejores son las siguientes:

1.—Solución de asfalto en benzol (Budge, Klein). Es considerada como una de las más penetrantes y muy apropiada para llenar las redes de origen del sistema linfático. Se presta para examen microscópico. Pero tiene los inconvenientes meno-

res de tener un olor fuerte y ser difícil mantener limpias tanto la jeringa como las manos durante la inyección.

2.—**Masa de Teichmann blanca.**—Su fórmula es la siguiente según Lejars:

Oxido de zinc finamente pulverizado	20	partes
Aceite de linaza	3	„
Eter sulfúrico	2	„

Para incorporar el aceite de linaza en el polvo del óxido de zinc es necesario batir la mezcla en un mortero entibiado hasta darle una consistencia homogénea. Para usarla es necesario dividirla en pequeños trozos y fluidificarla agregándole éter sulfúrico con el cual se bate hasta darle consistencia uniforme. Se adelgaza con mayores cantidades de éter, hasta darle la fluidez deseada y se la filtra a través de una tela de lino fino.

Esta masa se presta especialmente para llenar los colectores linfáticos en inyecciones directas, después de haber llenado las redes de origen con otras mezclas más penetrantes. Apropia para obtener preparados de museo. Tiene el inconveniente de ser poco penetrante y por eso no se presta para practicar exploraciones por picadura intersticial.

3.—**Masa policroma de Gerota.**—Es sin duda la mejor de las masas coloreadas especialmente en su color azul que, con algunas modificaciones en su composición y filtrado, continúa siendo una de las más recomendables para las investigaciones del sistema linfático. Está constituida por los cuatro colores cuya fórmula se expone a continuación:

a) **Masa azul.**

A dos gramos de azul de Prusia se agregan 3 cc. de aceite de trementina puro. Se unen revolviéndolos cuidadosamente en un mortero de porcelana, y luego se agregan 15 cc. de éter sulfúrico. Se revuelve esta solución de nuevo en la misma forma, y luego se filtra pasando el color por un lino doble, y así queda listo para usarlo. Se le guarda en un frasco de vidrio bien cerrado. El examen microscópico de esta mezcla muestra una suspensión de partículas de azul extremadamente pequeñas que se puede inyectar valiéndose de las agujas más finas sin temor a las obstrucciones. Es recomendable su empleo en el estudio de las finas redes linfáticas.

b) **Masa roja A.**

A un gramo de rojo de orcaneta se agregan 3 cc. de aceite de trementina. Se unen en el mortero. Se agregan 10 cc. de éter sulfúrico, y se filtra por lino doble. Esta mezcla tiene el defecto de difundir a través de las paredes de los vasos linfáticos y teñir la grasa que los rodea. Es muy penetrante pero no se presta para preparaciones que han de ser conservadas.

c) Masa negra.

Se toman 5 gramos de "negro absoluto" (negro de pintura al óleo fina) y se mezclan con 5 cc. de aceite de linaza crudo en un mortero, revolviendo durante 10 minutos. Después se agregan 10 cc. de aceite de trementina, y una vez bien unidos, se agregan 10 a 15 cc. de éter sulfúrico. La mezcla se filtra y se guarda como el color azul, pero debe ser agitada antes de usarla.

d) Masa roja B.

Se toman 5 gr. de cinabrio pulverizado fino, y se mezclan con 15 a 20 gotas de aceite de linaza crudo en un mortero, previamente entibiado hasta formar una masa consistente (10-15 minutos). Se agregan 3 cc. de aceite de trementina y se unen revolviéndolos en el mortero. Se adicionan 5 cc. de coloroformo. Se revuelve nuevamente y en seguida se filtra y se guarda como en las demás pinturas. Se recomienda preparar esta mezcla en pequeñas cantidades. Lo más importante es que el cinabrio esté finamente pulverizado y bien unido al aceite de linaza.

La masa de Gerota ofrece entre otras las siguientes ventajas:

1.—Es tanto o más penetrante que el mercurio y no necesita de presiones tan fuertes para inyectarla, y por esto presenta poco peligro de rupturas vasculares.

2.—Pasa a través de los ganglios linfáticos.

3.—La inyección puede ser realizada metódicamente y con toda calma, pues la masa seca con lentitud. Sin embargo el tiempo de secado puede ser abreviado colocando el preparado en alcohol o en una solución de formol.

4.—Solución de Dalla-Rosa.—Se obtiene diluyendo tinta china agua corriente en la proporción de 1:2 o de 1:3. Es indispensable filtrarla dos o tres veces a través de telas de lino de punto fino. Tiene las ventajas de su rápida y fácil preparación y poseer buenas cualidades de penetración. Es así muy útil para el trabajo corriente de laboratorio, pero es algo manchadora.

5.—Masa de Polano.—Se la prepara así: A una solución semi saturada de alcanfor seco pulverizado en éter sulfúrico se le agrega la cantidad suficiente de azul de Prusia para un buen teñido. Luego se filtra la mezcla a través de papel de filtro común. Se obtiene así una mezcla muy penetrante que da excelentes preparados para uso microscópico, pero tiene el inconveniente de solidificar demasiado rápidamente, por lo cual es necesario fluidificarla repetidamente durante la inyección.

6.—Masa de Severeanu.—Este a. emplea la pintura al óleo fina común en cualquiera de estos colores: Azul de Berlín, cinabrio, carmín o negro absoluto. La diluye en trementina o cloroformo y luego le agrega "Siccatif" (fijador) gota a gota, procurando una perfecta suspensión. Se filtra la mezcla inmedia-

tamente después a través de un cuero. Debe ser usada fresca porque termina precipitando al cabo de un rato. Es una mezcla muy penetrante, pero inestable. Inferior a la masa de Gerota.

7.—Masa de Gerota según Baum.—La masa de Gerota es la más recomendable entre las descritas anteriormente y, con pequeñas variantes en su preparación, es seguramente la más usada en los tiempos actuales (1955). Entre estas variantes la más conocida es la de Baum, quien prepara su color así: 3 cc. de pintura al óleo fina azul de Prusia (de la que se vende en pomos de estaño en el comercio), se adicionan con, 2 cc. de trementina y se revuelve detenidamente la mezcla durante algunos minutos, en seguida se agregan de 3 a 5 veces la cantidad en éter sulfúrico; se revuelve nuevamente, y luego se filtra.

FILTRACION

La filtración de las masas de color debe ser realizada entre dos frascos cerrados para evitar la evaporización del éter. Se puede emplear como filtro un trocito de cuero de ante o una doble capa de lino de malla fina a los cuales es recomendable humedecer previamente con un poco de trementina. El filtrado se hace en cinco a diez minutos cuando la mezcla está bien preparada. Las filtraciones se pueden repetir según sea el grado de penetración que se desee obtener. Esta cualidad es también más acentuada en el color recién preparado, pues está dotado de un poder dispersante mayor que en el conservado (Nicolajew).

Es conveniente insistir ahora en un detalle importante en la técnica de la inyección de los vasos linfáticos, se trata del aseo meticuloso que es necesario mantener con todo el material de trabajo, especialmente con las masas de color y con las jeringas. Sobre este detalle Gerota opina textualmente: "El lino para filtrar debe ser de malla fina y libre de hilachas. El frasco en que se guarda una mezcla, así como la jeringa que se va a emplear, deben estar absolutamente limpios, pues una pequeña partícula de polvo es suficiente para obstruir el lumen de las finas agujas con que se trabaja. Especiales cuidados deben tenerse también con la jeringa durante el trabajo. Es conveniente lavarla a menudo en trementina y en éter".

INSTRUMENTOS - JERINGAS

Hemos visto ya los dispositivos que se emplean para la inyección del mercurio, entre los cuales el mejor es sin lugar a dudas el de Sappey con las mejores de Gerota.

Las inyecciones del sistema linfático con las mezclas de color necesitan presiones tanto menores cuanto más fino es el grano de pigmento empleado y por eso resulta más práctico suprimir el empleo de la jeringa. El primer modelo especializado fué ideado por Gerota y tiene el mérito de ser la primera jeringa fabricada con vidrio y metal, pero su uso está ya descartado; se tra-

taba de una jeringa de 9 cc. de capacidad, con tubo de vidrio, émbolo de cuero y cubierta metálica.

Algunos años más tarde Paul Bartels (1907) ideó un modelo tipo *Récord*, de 2 cc. de capacidad, provista de tres anillos para los dedos del operador, con su extremo provisto de un seguro en forma de bayoneta para fijar positivamente el enchufe (en caso de usar agujas de vidrio) o una aguja metálica. Esta

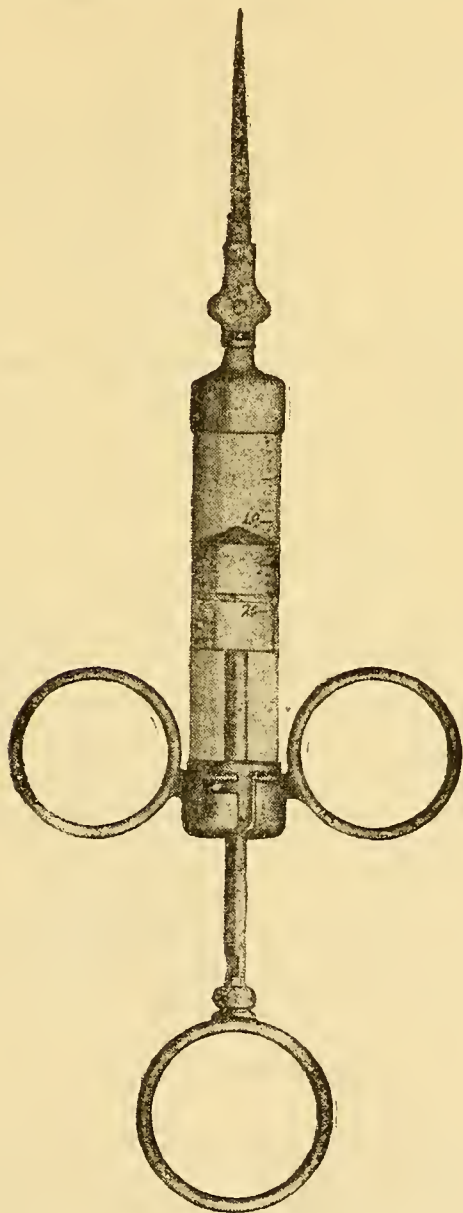


FIG. 2 — Jeringa de Bartels

jeringa es muy parecida a un modelo Récord para la especialidad de ojos, y ha sido adoptada por la mayor parte de los actuales anatomistas que trabajan en linfáticos por ser muy cómoda y manuable (Fig. 2).

Sin embargo, no se debe conceder extremada importancia al modelo de la jeringa que se emplea, pues aunque no tan cómoda, resulta igualmente útil para nuestro objeto cualquier buena jeringa de 2 cc. con punta metálica. En nuestro laboratorio se emplea el tipo Récord de 2 cc. con un solo anillo para el pulgar en la base del émbolo.

Uno de los más laboriosos investigadores del sistema linfático, Baum, dice también a este respecto en uno de sus trabajos: "La jeringa usada por mí fué la Récord recomendada por Bartels, sin embargo creo que la construcción de la jeringa no tiene tanta importancia, ya que la mayoría de los que han trabajado en linfáticos ha ideado un modelo propio, más bien depende, según mi propia experiencia, del empleo de agujas muy finas y de la mucha paciencia y entrenamiento".

Los enchufes son necesarios sólo cuando se desea emplear agujas de vidrio. Forman parte del equipo que acompaña a la jeringa de Bartels, pero también pueden ser improvisados adaptando un enchufe de punta gruesa: El zócalo en que se hunde la base de la aguja debe tener hilo de tuerca, diámetro aproximado de 3,5 mm. y profundidad de 10 mm. más o menos. Con respecto a su forma exterior, es muy práctico darles una forma cuadrada o chata en una de sus caras para que no puedan rodar sobre la mesa mientras se trabaja.

Las agujas de vidrio se preparan en la forma ya descrita a propósito de los dispositivos para inyectar el mercurio. Para fijarlas al enchufe, la base de la aguja se envuelve, como se ha explicado, en una delgada venda de un cuero muy fino (cuero de guante) y se atornilla después en el zócalo respectivo.

Las agujas metálicas en sus números más finos son apropiadas también para las inyecciones del sistema linfático. Presentan las ventajas siguientes: Son herméticas, resistentes, no quebradizas, y se prestan admirablemente para el trabajo sobre huesos, cartílagos, articulaciones y tejidos densos. Pero en cambio, poseen ante las de vidrio la desventaja de no ser tan finas, lo que constituye un detalle importante en estas tareas, y además, que su obstrucción e inutilización consecutiva representan una pérdida mayor. Las agujas metálicas útiles para nuestro propósito son las de bisel corto y de diámetro inferior a 0,3 mm; cuanto más finas tanto mejor. Baum hace hincapié en la importancia de este factor para el éxito de la inyección.

CONSEJOS SOBRE LA INYECCION

Según la mayor parte de los anatomistas, el material que mejor se presta para trabajar sobre el sistema linfático es el que está fresco y sin fijar. Se recomienda el material que está todavía tibio después de la muerte y que aún no haya entrado en la rigidez cadavérica. Las demás características, incluso la

causa de muerte, poseen sólo una importancia relativa. Sin embargo, cuando se desea practicar la inyección directa, resulta más apropiado el material que presenta sus vasos linfáticos algo dilatados por un edema circulatorio, pero esto se puede obtener también artificialmente con un lavado vascular o bien por medio de la inyección coloreada de arterias y venas, lo que permite preparados con hermosa diferenciación.

Cuando se trata de inyectar un cadáver entero conviene seguir el siguiente programa ideado por Gerota: Se comienza por inyectar las redes de origen en las yemas de los dedos de ambas manos y luego en los pies, utilizando la picadura intersticial. Luego se buscan por disección en brazos y muslos los colectores inyectados más voluminosos, se les pincha con una aguja fina y se continúa por ellos la inyección ascendente hasta los últimos troncos colectores. Estos pueden ser inyectados con una mezcla de color más consistente, como la masa de Teichman o bien la propia de Gerota adicionada de 1 a 3 gramos de espermaceti.

La picadura intersticial obtiene éxitos más fáciles cuando es realizada en las regiones que poseen una red linfática más rica, y por eso, al aprendiz le conviene más iniciar su trabajo con los linfáticos intentando llenar estas redes. Naturalmente que a pesar de tomar las precauciones usuales no es raro experimentar fracasos; esto sucede a menudo a los que comienzan. En relación con esto, dice Baum lo siguiente: "Yo mismo estuve a punto de desilusionarme después de los primeros ensayos sin éxito, hasta que repentinamente, sin poder precisar variación alguna de la técnica, mis inyecciones resultaron bien".

Para obtener éxito en las inyecciones del sistema linfático y especialmente en la picadura intersticial, es necesario extremar los cuidados durante los preparativos, especialmente lo relacionado con: la preparación del color, su filtradura, el aseo, y proveerse de agujas muy finas. En las picaduras de la piel es aconsejable huir la aguja paralelamente a la superficie, como para practicar una inyección intradérmica y después de correr un trecho de varios milímetros, retroceder un poco y empujar el émbolo con alguna fuerza durante uno o dos minutos. Esta operación se puede repetir en cada yema digital, en cada eminencia y borde de la mano, en su dorso, así como en las diferentes zonas del antebrazo y emplear si es posible, colores diferentes en cada región. Cuando se trata de la piel y se emplean agujas de vidrio es recomendable hacer previamente un pinchazo hasta el dermis con un instrumento metálico punzante y luego empujar la aguja de vidrio en le bolsillo así formado.

Al practicar la picadura intersticial en los órganos parenquimatosos como el hígado o los riñones, es recomendable hundir la aguja paralelamente a la superficie y después de correr cerca de 1 cm. retroceder apenas y empujar discretamente el émbolo bajo una presión suave cuya fuerza depende del órgano inyectado, y que persiste igual después de ver aparecer la inyección en los colectores valvulados subperitoneales. Se mantiene la presión por uno a dos minutos y después de reposar

unos instantes, se vuelve a empujar otras pocas gotas de color en el punto pinchado (consejo de Gerota). La picadura se puede repetir las veces que sea necesario en todos los puntos de la superficie del órgano y asimismo en su espesor.

Cuando se trata de órganos huecos, las ricas redes de la submucosa pueden ser inyectadas con comodidad si se abre la cavidad con un corte de tijera, como lo aconseja Ssysganow, y se pincha directamente en la mucosa a la vista.

Baum ha conseguido la inyección del sistema linfático del tejido cartilaginoso, empleando agujas metálicas muy finas y colores penetrantes en punciones de cartílagos. En la misma forma inyecta también los del tejido óseo esponjoso, pero cuando se trata del hueso compacto, recomienda practicar previamente con un instrumento punzante una minúscula trepanación, ojalá del mismo diámetro de la aguja hipodérmica que se emplea, aguja que se inserta después en el orificio para inyectar el color.

El método de Baum para la inyección de los linfáticos articulares es admirablemente sencillo y útil: Consiste en puncionar la cápsula articular e inyectar el color en su cavidad hasta obtener una suave tensión que se controla exteriormente a la presión del dedo; luego se retira la jeringa, se tapa la aguja y se procede a movilizar pasivamente la articulación durante un tiempo que fluctúa entre 10 y 30 minutos, al cabo de los cuales por lo general se ha obtenido el llene de los linfáticos por la vía de sus estomas en la sinovial. Esta técnica ha sido modificada por Oschkaderow, quién para evitar el pequeño extravasado de color a que da lugar la pinchadura de la cápsula articular, penetra en la cavidad articular aserrando y trepanando el hueso distal de la articulación para inyectar a través de él la mezcla colorante. Este método es de resultados muy fieles y ha sido empleado con éxito por Nikolajew, Polonskaja y otros, en sus investigaciones.

Partiendo de la idea que los linfáticos comienzan por estomas o dispositivos funcionalmente equivalente, Baum ha conseguido también la inyección del sistema linfático de numerosos órganos por el método de poner el color en su interior y luego hacerlo penetrar en las redes linfáticas por medio de movilizaciones y masajes. Así ha conseguido inyectar los de la amígdala palatina aplicando el líquido coloreado en la superficie glandular y luego amasándola con un objeto suave como el mango del bisturí. Los linfáticos pleurales se llenan introduciendo el color en la cavidad pleural y practicando después movimientos parecidos a los de la respiración con ayuda de una bomba. En forma similar se inyectan también los linfáticos del peritoneo parietal. Se ha conseguido llenar los del intestino ligando un trozo de yeyuno, introduciendo el líquido coloreado en su interior y practicando después masajes y movimientos suaves. También se ha podido llenar los linfáticos de la mucosa uterina utilizando el mismo procedimiento. Los linfáticos de las fascias se pueden inyectar atándolas bien estiradas sobre la boca ancha de un embudo, con la solución coloreada (Alkana)

en su superficie y luego haciéndola moverse suavemente por bombeos del aire a través de la boca angosta del embudo.

Siempre partiendo de la misma idea de la inyección linfática por la vía de los estomas, Baum ha ideado un método propio de picadura intersticial que es muy útil en la inyección de los tejidos muy blandos, como el adiposo o el muscular de la órbita. Consiste en inyectar hasta formar un pequeño extravasado sobre el cual se amasa en seguida suavemente durante algunos minutos.

A pesar de los éxitos indicados, no se puede decir que el método de inyección de los linfáticos por la vía de los estomas sea aplicable en todos los casos en forma preferente, porque da resultados sólo ocasionalmente y resulta práctico sólo para algunos trabajos, especialmente sobre articulaciones y serosas, pero en los demás, sigue siendo mejor el empleo de la picadura intersticial cuyos resultados son más constantes.

FIJACION Y EXAMEN DE LOS PREPARADOS

Después de la inyección es conveniente practicar un minucioso examen macroscópico del preparado para establecer la naturaleza de los vasos inyectados, pues siempre existe la posibilidad de confusión entre redes venosas y linfáticas. Además es inevitable que un cierto número de picaduras falle por el paso del color a los vasos sanguíneos. La diferenciación es muy fácil cuando se examina el preparado junto a las partes que topográficamente lo rodean, porque entonces se ven claramente los colectores linfáticos valvulados que parten del órgano hacia los ganglios linfáticos territoriales respectivos, pero es más difícil cuando la inyección ha recaído sobre un órgano aislado o partes de él.

Por eso, con el objeto de evitar estas confusiones, Ssysganow emplea las precauciones siguientes:

1.—La inyección debe hacerse sin remover el órgano de su sitio, para poder apreciar la disposición de los vasos inyectados que escapan de él (consejo de Stahr).

2.—El examen microscópico debe hacerse en cortes gruesos para poder seguir los vasos desde su constitución hasta su salida y poder apreciar los colectores valvulados (Golubew; Aagaard).

El preparado recién inyectado puede ser lavado en agua para quitarle los derrames de colorantes y después sometido a una especie de amasado o masaje, recomendado por Breschet y Bartels para extender y completar la repleción de las redes linfáticas. A continuación se le deja reposar en un depósito con agua o bien sobre la mesa durante 12-24 horas para permitir la adherencia del color a las paredes vasculares y su secado, pero este tiempo no es imprescindible. Por último se le coloca en una solución de formalina al 10% (neutralizada con amoníaco) hasta obtener su completa fijación. Cuando se trata de partes voluminosas o extensamente recubiertas es recomendable inyectar la formalina por la vía vascular o la subcutánea.

Existen otras fórmulas de sustancias fijadoras que han sido recomendadas para este objeto, pero ninguna de ellas es tan efectiva y cómoda de preparar como la formalina.

Si se desea evitar una excesiva retracción y deformación en un preparado pequeño formado por las paredes de un órgano hueco, se le puede colocar extendido y clavado con alfileres sobre una plancha de corcho (Ssysganow), o bien fijado con hilos a una placa de vidrio. Así puede ser mantenido durante la fijación o aún hasta después de los primeros alcoholes en los cuales se endurece ya definitivamente.

El tratamiento posterior de un preparado ya fijado depende del procedimiento de examen al cual se le va a someter. Estos pueden ser muy variados, pero los principales están constituidos por: la disección, la transparentación y el examen microscópico.

a) La **disección** es siempre laboriosa y difícil a causa de la finura y fragilidad de los elementos en que se trabaja. Se la puede facilitar un poco mediante el empleo de pincillas de punta aguda como las de Feilchenfeld, que permitan penetrar entre los colectores linfáticos para retirar el tejido celular que los rodea y destacarlos así más claramente. Esta tarea es muy importante en los preparados destinados a colecciones de Museo.

b) La **transparentación** aplicada en preparados pequeños formados por cortes de paredes de un órgano hueco (intestino, ureter, tráquea, etc.) o bien por trozos más extensos de pared, da a menudo cuadros hermosísimos y muy convincentes con respecto a las características que en ellos adopta el sistema linfático. Los cortes para transparentar deben ser realizados en preparados ya fijados; deben tener un grosor de 1 a 2 milímetros, y comprender todo el espesor de las paredes del órgano. Conviene tomarlos en las inmediaciones del pequeño extravasado ocasionado por la inyección y en la misma dirección de los vasos visibles.

El método de transparentación más usado es el de Spalteholz con algunas modificaciones, pues es necesario neutralizar completamente la reacción ácida de algunos compuestos, como el agua oxigenada, para evitar la descoloración del Gerota. Los tiempos de este método son los siguientes:

- 1.—Fijación en formalina al 10%, neutralizada.
- 2.—Hacer los cortes en la forma indicada más arriba.
- 3.—Descoloración en agua oxigenada neutralizada. No es necesaria en los cortes muy finos.
- 4.—Lavado en agua corriente durante algunas horas. No es necesaria en los cortes muy finos.
- 5.—Deshidratación en la serie de los alcoholes, hasta llegar al alcohol absoluto.
- 6.—Benzol o Xilol cambiando dos veces.
- 7.—Salicilato de metilo.

Otro método de transparentación aplicable en estos casos es el de Ssysganow que se realiza de la manera siguiente: Los

cortes del preparado se extienden sobre un corcho para evitar estufa termóstato a una temperatura entre 40 y 60°C. y una vez completamente secos, se les pasa al Xilol o al salicilato de metilo.

Los preparados transparentados pueden ser examinados por trans-iluminación con lupas y microscopios estereoscópicos manteniéndolos sumergidos en su medio de salicilato de metilo o montándolos sobre un vidrio. El procedimiento más práctico para este montado es el de Aagaard: El corte se coloca en una solución no muy concentrada de goma damar en Xilol sobre un vidrio de reloj; y después un rato de espera, cuando a causa de la evoparización del Xilol la solución se ha puesto espesa, el corte es retirado, colocado sobre el porta-objeto y recubierto con una laminilla cobre-objeto, sobre la cual se presiona para expulsar las burbujas de aire.

c) El examen microscópico permite apreciar las relaciones del sistema linfático con los vasos sanguíneos y con los demás tejidos estructurales del órgano. Es además un buen medio de controlar la penetración de la inyección. Debe ser realizado sobre cortes gruesos (50-100 μ) y con una tinción de los tejidos que haga contraste con el color empleado en la inyección linfática.

PRESERVACION

El primer cuidado que se debe tomar para obtener preparados estables que puedan formar parte de las colecciones de un museo anatómico, consiste en elegir para la inyección un pigmento igualmente estable, como ser: óxido de zinc, amarillo de cromo, cinabrio rojo o verde, azul de Berlín, etc. Cuando se usa pintura al óleo en pomos conviene probar en un tubo de ensayo, agitando una muestra del contenido con una mezcla de trementina, benzol y alcohol que se deja después en reposo durante 24 horas al cabo de las cuales un buen color debe estar totalmente precipitado en el fondo.

Es fácil que se malogre un hermoso preparado cuando no se ha tenido el cuidado de neutralizar la formalina en que se deja fijar. Esta neutralización es particularmente necesaria cuando en la inyección se ha empleado la masa de Gerota cuyo color azul desaparece poco a poco en reacción ácida.

Los preparados macroscópicos después de una adecuada fijación pueden ser disecados y enseguida conservados, ya sea en medios líquidos o en forma de preparados secos. En el primer caso el medio más adecuado es la solución de formalina; al 4% neutralizada y filtrada, pero también se pueden emplear los medios de Jores o de Kaiserling. En cuanto a los preparados secos se pueden obtener por cualquiera de los tres métodos siguientes: a) El método de Wickersheimer, que consiste en la impregnación con un reactivo a base de arsénico y glicerina; b) La impregnación con glicerina pura ideada por Giacomini, y c) La impregnación en parafina ideada por Fredericq y perfeccionada después por Hochstetter.

BIBLIOGRAFIA

- Aagaard** (1923).—“Les vaisseaux lymphatiques du coeur chez l'homme et chez quelques mammifères”. Paris.
- Altschul, R.** (1930).—“Das Verhalten lymphatischer Organe bei Goldimpränierung”. *Anat. Anz.* 70: 379-385.
- Bartels, P.** (1907).—“Modifikation der sogenannten Rekord-Spritze für anatomische Injektionen speziell für Lymphgefässinjektion”. *Anatom. Anzeiger* 30: 613-620.
- Bartels, P.** (1909).—“Das Lymphgefässsystem”. Jena.
- Baum, H.**—“Zur Technik der Lymphgefässinjektion”. *Anat. Anz.* 40: 303-309.
- Baum, H.** (1911).—“Können Lymphgefäße direk in venen einmunden?”. *Anat. Anz.* 39.
- Baum, H.** (1911).—“Die Lymphgefäße der Fascia antebrachii und des Ligamentum Carpi volare superficiale des Rindes”. *Anat. Anz.* 39: 166-174
- Baum, H. und Trautmann** (1925).—“Die Lymphgefäße in der Nasenschleimhaut des Pferdes, Rindes etc.”. *Anat. Anz.* 60: 161-181.
- Dalla Rosa** (1900).—“Ueber Lymphgefässinjektion”. *Anat. Anz.* 18-Supl. 141-147.
- Fohmann** (1940).—“Les vaisseaux lymphatiques de la peau, etc....” *Memoire-Bonn.*
- Gerota, D.** (1896).—“Ueber eine Verbesserung des Quecksilberinjektionsapparates für Lymphgefäße”. *Anat. Anz.* 12: 35-38.
- Gerota, D.** (1896).—“Zür Technik der Lymphgefäße injektion. Eine neue Injektions masse der Lymphgefäße Polychrome injektion”. *Anat. Anz.* 12: 216-224.
- Hoyer, H.** (1931).—“Ueber das Lymphgefäße der Eidechsen”. *Anat. Anz.* 73: 28-40.
- Miller, W. S.** (1896).—“The Lymphatics of the Lung”. *Anat. Anz.* 110-114.
- Nikolajew, P. W.** (1931).—“Die Lymphgefäße der Fusswurzel-Mittelfussgelenke (des Lisfrac'schen Gelenkes) des Menschen”. *Anat. Anz.* 73: 225-259.
- Oschkaderow, W.** (1931).—“Die Lymphgefäße des Kiefergelenks des Menschen”. *Anat. Anz.* 73: 133-152.
- Oschkaderow, W.**—“Die Lymphgefäße des Metakarpo- und Metatarsophalangealgelenke”. *Anat. Anz.* 71: 419-442.
- Polonskaja, R.** (1931).—“Die Lymphgefäße des Chopartschen Gelenks Beim Menschen”. *Anat. Anzeiger* 73: 65-99.
- Polonskaja, R.** (1931).—“Die Lymphgefäße der Articulatio atlanto-occipitalis des Menschen”. *Anat. Anz.* 73: 99-107.
- Shdanow, D. A.** (1931).—“Die Lymphwege des peripherischen und Zentralnervensystems”. *Anat. Anz.* 71: 231-245.
- Ssysganow, A. N.** (1930).—“Zür Untersuchungstechnik des Lymphsystems”. *Anat. Anz.* 70: 288-293.