



El presente artículo corresponde a un archivo originalmente publicado en el **Boletín del Hospital Clínico**, actualmente incluido en el historial de **Ars Medica Revista de Ciencias Médicas**. Este tiene el propósito de evidenciar la evolución del contenido y poner a disposición de nuestra audiencia documentos académicos originales que han impulsado nuestra revista actual, sin embargo, no necesariamente representa a la línea editorial de la publicación hoy en día.

## INFECCION EN LAS ENFERMEDADES HEMATOLOGICAS MALIGNAS

### PAPEL DEL GRANULOCITO

Dr. Diego Mezzano A.

#### INTRODUCCION

En los últimos años hemos presenciado un avance espectacular en el tratamiento de las E.H.M.; los nuevos conceptos y prácticas terapéuticas han mejorado sustancialmente la expectativa de vida en pacientes portadores de leucemias o linfomas; ciertos tipos de leucemia y linfoma se consideran hoy por muchos autores enfermedades curables y muchos son los enfermos que sobrepasan los cinco y hasta los diez años de supervivencia desde el diagnóstico; ha cambiado también la actitud del médico frente a estos pacientes y la mentalidad derrotista de algunos años atrás se ha trocado en una conducta terapéutica agresiva. Una contribución importante en el logro de esta visión más optimista la constituyen los progresos conseguidos en la prevención, diagnóstico y tratamiento de las diversas complicaciones que sufren estos pacientes en el transcurso de su enfermedad; la administración de eritrocitos y concentrados plaquetarios ha minimizado las consecuencias de la insuficiencia medular eritroblástica y megacariocítica, respectivamente; la infección sin embargo, constituye la causa más frecuente de morbilidad y mortalidad en estos pacientes, a pesar del empleo de poderosas drogas antimicrobianas de reciente incorporación al uso clínico: el 69% de los pacientes fallece a consecuencia de una infección y otro 10% muere debido a la combinación de infección y hemorragia (1a).

Mucho se ha estudiado y publicado en los últimos años acerca de las alteraciones de la inmunidad celular y humoral en ciertas E.H.M. y en clínica se está ya creando el hábito de pensar sistemáticamente en la posibilidad de infección por microorganismos "exóticos" ("infecciones por oportunistas"); no obstante, las infecciones por bacterias habituales siguen a la cabeza de las

estadísticas de infecciones en E.H.M.: el 56% de muertes por infecciones en E.H.M. se deben a septicemia (37%) y neumonía (19%) bacterianas (1a) según estadísticas del National Cancer Institute. En Chile, probablemente este porcentaje es bastante superior.

Los granulocitos constituyen la primera línea defensiva del organismo frente a estas infecciones y cualquier alteración cuali o cuantitativa que los afecte puede potencialmente aumentar el riesgo de infección en los pacientes aquejados de E.H.M.

El objeto de esta revisión es destacar el rol del granulocito en la defensa del huésped ante este tipo de infecciones y las diversas alteraciones cinéticas y funcionales que sufre esta línea celular en el curso de las E.H.M.

#### ALGUNOS ASPECTOS CINÉTICOS DE LA GRANULOPÓIESIS

Con el término granulocito nos estamos refiriendo al granulocito neutrófilo, aunque en estricto sentido la denominación también incluye a eosinófilos y basófilos.

La producción de granulocitos se realiza exclusivamente en la médula ósea, a una tasa estimada de  $1.6 \times 10^9$  célula por kilo de peso corporal por día en la persona normal (1b).

El sistema productor de granulocitos consta de un compartimiento (pool) de células troncales, de un compartimiento mitótico, en que la célula madura a través de divisiones sucesivas, y de un compartimiento no mitótico en que sólo tiene lugar la maduración celular y el almacenamiento de células maduras.

La célula troncal se define como un elemento capaz de autorreplicarse y de producir células hijas más diferenciadas; aunque la célula no ha sido identificada morfológicamente, se sabe que el compartimiento troncal es un sistema celular compartido por las otras líneas hematopoiéticas (2, 3). Los factores que regulan el paso de una célula troncal hacia formas destinadas a la diferenciación granulocítica no han sido identificados o definidos.

El compartimiento mitótico está constituido por los mieloblastos, promielocitos y mielocitos; la célula va siguiendo esta línea madurativa a través de divisiones sucesivas, cuyo número se

estima entre 3 y 7 in vivo (4). Una vez que la célula pasa de la etapa de mielocito, ya no se vuelve a dividir y va madurando a través del juvenil, baciliforme y segmentado (compartimiento no mitótico de maduración). En los estadios del baciliforme segmentado, el granulocito se va acumulando en la médula (compartimiento no mitótico de depósito), adquiriendo propiedades de alta deformabilidad morfológica y perdiendo su adhesividad a las estructuras medulares, fenómenos que facilitan su salida a la sangre periférica (5). El compartimiento de reserva medular (suma de los compartimientos no mitóticos de maduración y de depósito) es muy grande, estimándose alrededor de 10 veces mayor que la tasa de producción diaria de granulocitos, (6) y explica la relación granulocítica/eritroblástica de 3-5:1 en la médula ósea.

El tiempo de tránsito medular, es decir, el período que se requiere para pasar del estadio de mieloblasto hasta el de polinuclear maduro en la sangre periférica es variable según la técnica que se use para determinarlo, y comúnmente se estima en 9 a 10 días, de los cuales el compartimiento de depósito ocupa alrededor de 3 a 4 días (4, 6).

Una vez liberados de la médula ósea, los granulocitos, en plena capacidad funcional, pueden circular libremente en la sangre periférica, (compartimiento granulocítico circulante), o adherirse transitoria y reversiblemente al endotelio vascular, (compartimiento granulocítico marginal), de magnitud similar al circulante. Ambos compartimientos intercambian sus componentes en respuesta a variados factores que pueden afectar el flujo sanguíneo en los lechos capilares o alterando las propiedades de membrana de los granulocitos o del endotelio (4). La vida media de los granulocitos en la sangre periférica es muy corta ( $T_{1/2}=6.5$  horas), y su salida es fundamentalmente el producto de un fenómeno fortuito, (sigue una curva de regresión exponencial), y no la consecuencia del envejecimiento de la célula (7). Las células migran a través de las superficies endoteliales hacia los tejidos y cavidades corporales a desarrollar su función específica y allí morir, sin retornar a la circulación (7). El tiempo de duración del granulocito en el tejido en condiciones normales se estima que puede alcanzar hasta cinco días.

De esta forma, la supervivencia total de los granulocitos desde sus elementos más inmaduros hasta su muerte es muy corta, del orden de 11-15 días. (Fig. 1).

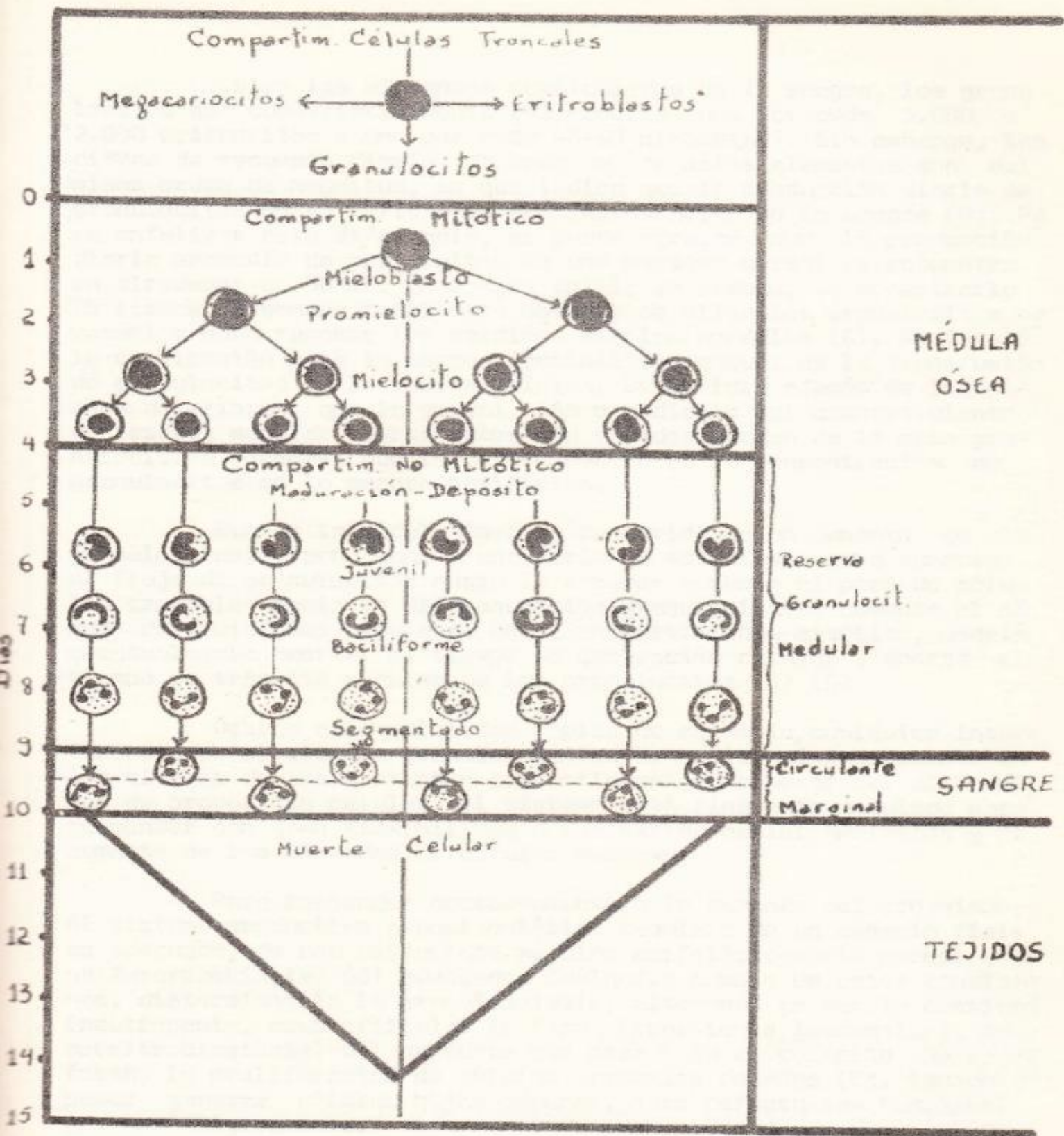


Fig. 1.- Diagrama Esquemático de la Cinética y Tránsito de los Granulocitos. (Ref. 6).

Entre los elementos particulados de la sangre, los granulocitos son cuantitativamente los menores (uno por cada 1.000 o 2.000 eritrocitos y uno por cada 40-80 plaquetas). Sin embargo, las cifras de recambio diario, de cada uno de estos elementos son del mismo orden de magnitud, lo que indica que la producción diaria de granulocitos no se refleja en su concentración en la sangre (8). Para enfatizar esta diferencia, se puede agregar que la producción diaria promedio de eritrocitos en una persona normal se encuentra en alrededor de 50 ml. de sangre total; en cambio, se necesitaría 25 litros de sangre total para obtener de ellos los granulocitos necesarios para reponer las pérdidas diarias normales (6). Aquí está la explicación para la escasa factibilidad actual de la transfusión de granulocitos en la rutina clínica. Se infiere además de los hechos anteriores, que la apreciación o medición del compartimiento de reserva medular aporta datos más sólidos acerca de la masa granulocítica corporal que la determinación de la concentración de granulocitos en la sangre periférica.

Cuando la médula ósea es requerida en un aumento de la granulopoesis, echa mano a una serie de mecanismos para aumentar el flujo de granulocitos hacia la sangre: aumenta el paso de células troncales hacia la diferenciación granulocítica, aumenta el número de divisiones celulares en el compartimiento mitótico, podría eventualmente acortar el tiempo de generación celular y acorta el tiempo de tránsito medular de los granulocitos (9) (6).

Debido a la velocidad rápida de recambio, cualquier interferencia en el sistema granulopoiético se expresará precozmente en los niveles de los distintos compartimientos; a pesar del alto volumen de producción celular, el sistema está finamente modulado para responder con gran flexibilidad a los estímulos inflamatorios y al aumento de las pérdidas de células maduras.

Para responder adecuadamente a la demanda del organismo, el sistema productivo granulopoiético requiere de un espacio físico adecuado, de una estructura medular morfológicamente normal y de un "microambiente" (8) adecuado. Cualquier cambio de estas condiciones, distorsionaría la granulopoesis, alterando ya sea la cantidad (neutropenia, neutrofilia) o la forma (reacciones leucemoides, leucoeritroblastosis) del producto que pasa a la circulación. De igual forma, la proliferación de células troncales dañadas (Ej. leucemias) puede generar células hijas maduras, pero defectuosas funcional y/o morfológicamente.

## REGULACION DE LA GRANULOPOIESIS

En los últimos años han aparecido numerosas publicaciones tendientes a esclarecer los sistemas de regulación de la granulopoesis. En revisiones recientes (8, 10), se perfilan como importantes dos mecanismos de control, cuya existencia descansa aún en evidencias indirectas. Uno de ellos sería un mecanismo estimulador humoral (granulopoietina), cuya identidad reside en el Factor Estimulador de Colonias (FEC), constituido por varias especies moleculares, una de las cuales estaría individualizada (11, 12). En el hombre, el FEC es producido principalmente por el complejo monocito - macrófago (13), estimulándose su liberación en presencia de endotoxinas bacterianas (14). Se ha demostrado que el FEC puede ser producido también por células linfoides activadas (15). La acción del FEC se mide en cultivos *in vitro* e *in vivo*, estimulando la producción de colonias de granulocitos a partir de células troncales de médula ósea murina, pudiéndose cuantificar su actividad.

Muchos sistemas biológicos descansan en mecanismos de "feed back" negativos para la mantención de la homeostasis; de este tipo es el segundo mecanismo postulado como regulador de la granulopoesis; el neutrófilo maduro produciría una sustancia polipeptídica (chalone), que actuaría inhibiendo selectivamente la granulopoesis, a través de una disminución de la síntesis de DNA. (16). (Fig. 2).

De esta forma, la producción de elementos fagocíticos polinucleares estaría estimulada a través del FEC y reprimida por chalone granulocíticas. La respuesta a estos estímulos humorales supone normalidad de la población de células troncales destinadas a la granulopoesis; en efecto, en la leucemia mielógena aguda, la respuesta al FEC es generalmente parcial, con maduración defectuosa de los elementos que responden (17).

## FUNCIONES DEL GRANULOCITO

En el sistema vascular, el granulocito cumple la función de patrullero; como tal debe responder prestamente ante los estímulos infecciosos o inflamatorios; su forma de respuesta incluye la habilidad para salir de la circulación y entrar a los espacios tisulares, la aptitud para ingerir materias particuladas como bacterias y hongos y la capacidad para matar y digerir los distintos tipos de microorganismos ingeridos.

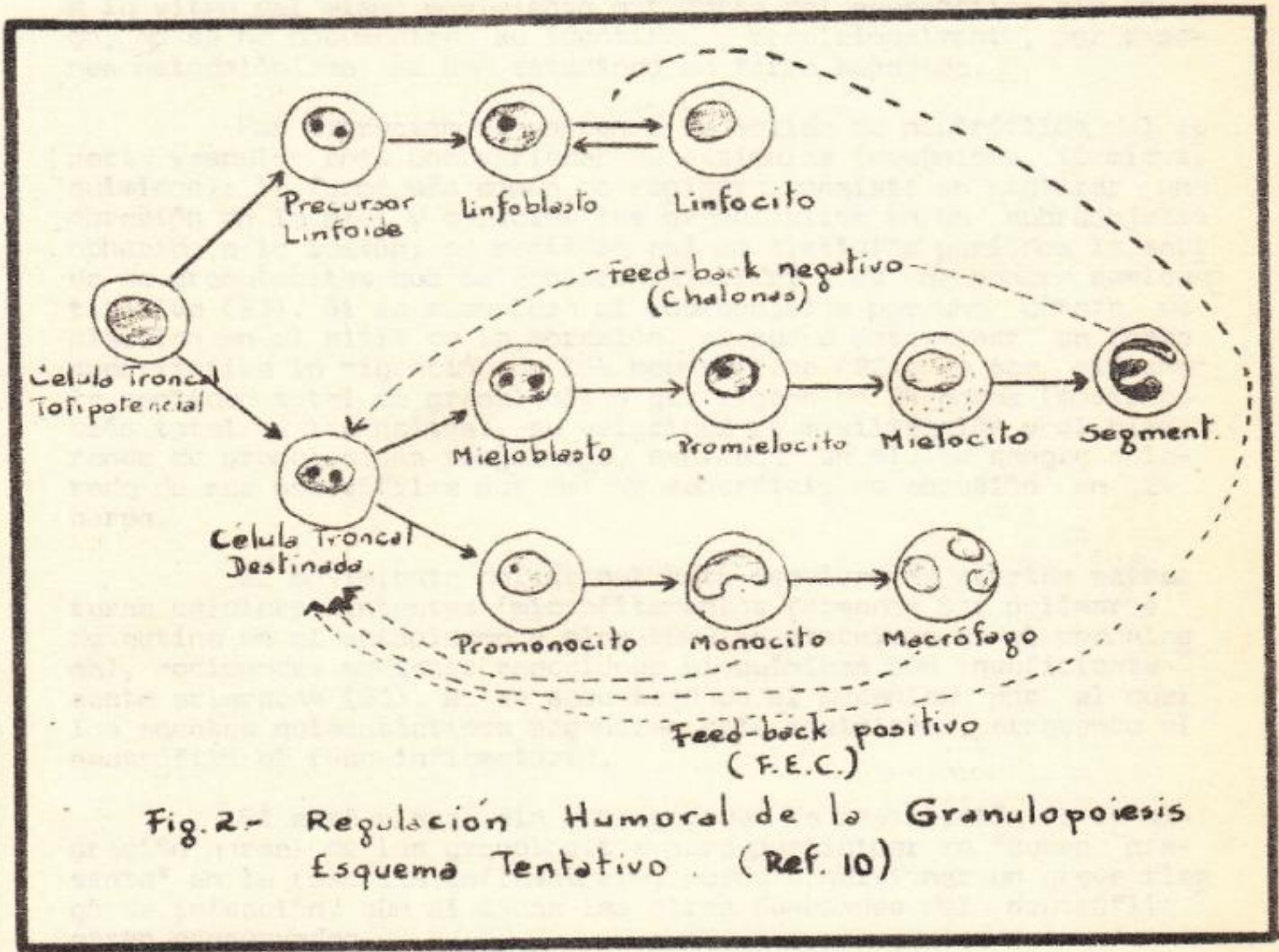


Fig. 2- Regulación Humoral de la Granulopoiesis Esquema Tentativo. (Ref. 10)



Es posible que la migración del neutrófilo (18) y la quimiotaxis (19, 20) representen simplemente los equivalentes in vivo e in vitro del mismo movimiento por parte del neutrófilo; sin embargo, no se ha documentado su identidad y tradicionalmente, por razones metodológicas, se han estudiado en forma separada.

Por migración se entiende la salida de neutrófilos del espacio vascular ante una variedad de estímulos (mecánicos, térmicos, químicos); la forma más común de registro consiste en realizar una abrasión en la piel y coleccionar los granulocitos en un cubreobjetos adherido a la lesión; se registra así en distintos períodos la salida de granulocitos que se adhieren al vidrio, de una manera semicuantitativa (21). Si se reemplaza el cubreobjetos por una cámara de plástico en el sitio de la abrasión, se puede determinar en forma cuantitativa la migración de los neutrófilos (22), ya sea midiendo la cantidad total de granulocitos que migran en 24 horas (movilización total de leucocitos), su velocidad de movilización y el clearance de granulocitos sanguíneos, expresado en ml. de sangre aclarada de sus neutrófilos por  $\text{cm}^2$  de superficie de abrasión en 24 horas.

El movimiento del granulocito requiere de ciertas estructuras celulares intactas (microfilamentos formados por polímeros de actina en el ectoplasma y microtúbulos proteicos en el endoplasma), accionadas mediante reacciones bioquímicas aún insuficientemente aclaradas (23). No se sabe tampoco el mecanismo por el cual los agentes quimiotácticos organizan este movimiento, atrayendo al neutrófilo al foco inflamatorio.

Si está claro, sin embargo, que la restricción de la migración normal de los granulocitos para participar de "cuerpo presente" en la reacción inflamatoria, puede condicionar un grave riesgo de infección, aún si todas las otras funciones del neutrófilo están conservadas.

La quimiotaxis es el movimiento vectorial del granulocito hacia el foco inflamatorio, atraído por sustancias humerales (citotaxinas o agentes quimiotácticos). Esta direccionalidad del desplazamiento diferencia a la quimiotaxis del movimiento al azar del granulocito. El estudio de la migración, que registra la movilización de los granulocitos in vivo, no puede detectar la influencia de las citotaxinas en el movimiento. La quimiotaxis detecta in vitro (en cámara de Boyden (24) o modificaciones de ella), la movilización de granulocitos puestos frente a citotaxinas.

Las citotaxinas se generan principalmente en la interacción entre los microorganismos y los tejidos del huésped; algunas bacterias liberan citotaxinas sin sufrir una alteración previa por parte del huésped. Las citotaxinas endógenas más importantes pertenecen al sistema de las proteasas plasmáticas (Fig. 3), especialmente los derivados de la activación del complemento; en efecto, los fragmentos  $C_{3a}$  y  $C_{5a}$ , liberados en la activación de los factores C3 y C5 y el complejo  $C_{567}$  tienen actividad quimiotáctica. En la figura (2) se esquematiza la interrelación entre estos diversos sistemas enzimáticos del plasma, cuyos productos mediatizan la reacción inflamatoria; se destaca el rol central que juega la activación del Factor Hageman en el gatillamiento del sistema total.

Además, varias especies celulares pueden liberar citotaxinas, entre ellas los leucocitos.

En el suero existe sustancias inhibitoras que actúan, ya sea modulando la expresión de los factores quimiotácticos generados o inmovilizando los neutrófilos, con el fin de mantenerlos en el foco al cual fueron atraídos (23).

Una vez que el granulocito, merced a su movimiento bajo la atracción "irresistible" de las citotaxinas, llega al sitio de la inflamación, debe reconocer el material que va a ingerir; en este sentido, la capacidad discriminatoria del fagocito es extremadamente fina. Si las partículas a ingerir están recubiertas por ciertas proteínas séricas muy específicas (opsoninas), la internalización de estas partículas se realiza con gran avidez. Una opsonina se define como "cualquier sustancia sérica que actuando sobre una partícula, aumenta la apetencia de ella por parte del fagocito". (25). Si bien se ha atribuido capacidad opsonica a diversas sustancias, sólo está claramente demostrada para dos de ellas: inmunoglobulina de clase Ig G (sólo subclases Ig G1 e Ig G3) y fragmento de C3 adherido a la superficie de la partícula. La Ig G se adhiere a la partícula por su sitio activo, que porta la especificidad del anticuerpo (porción Fab), dejando el fragmento Fc de la molécula para el reconocimiento por el granulocito, que tiene en su membrana receptores para dicho fragmento (Fig. 4).

El tercer componente del sistema del complemento, al ser activado (por vía clásica o por el sistema de las properdinas), libera el fragmento  $C_{3a}$ , que vimos antes, tenía actividad quimiotáctica; otra parte, el fragmento  $C_{3b}$ , se fija a la partícula, opsonizándola.

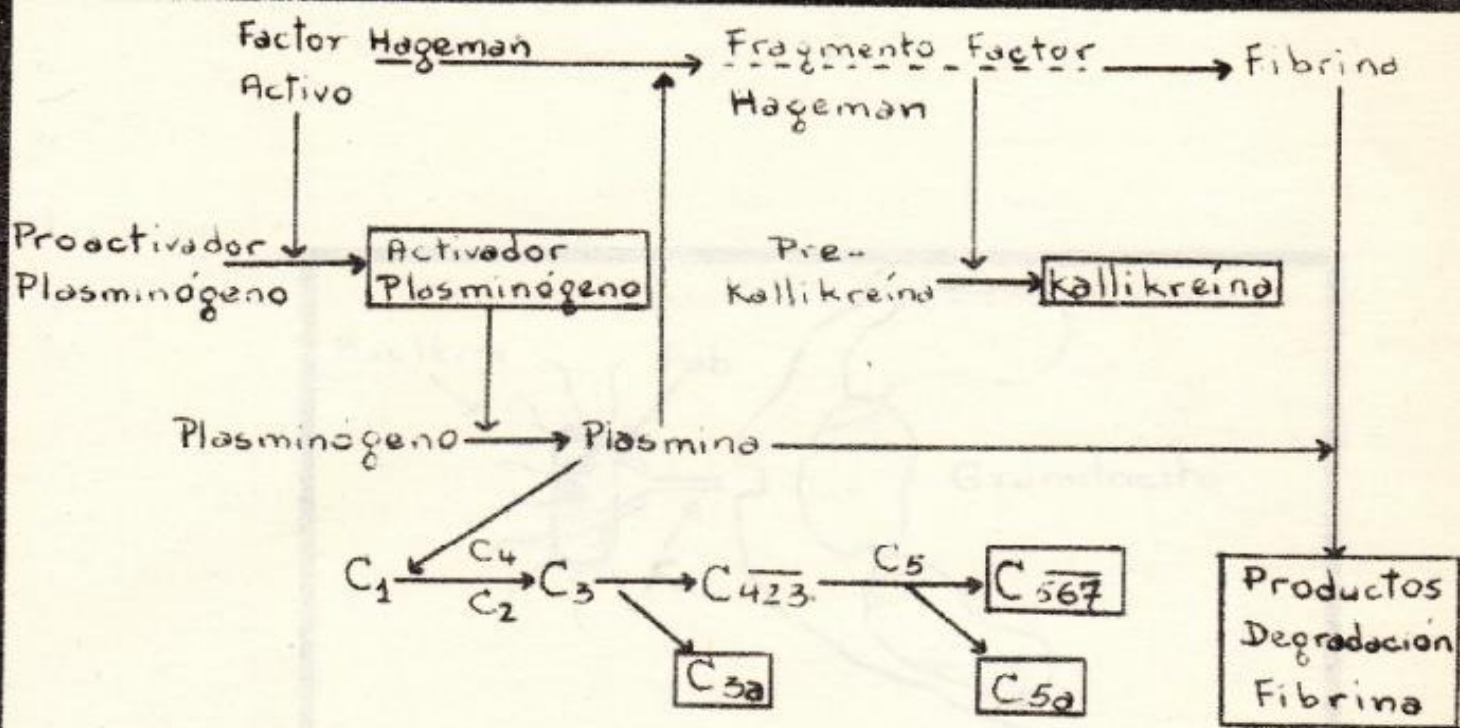


Fig. 3 - Interrelaciones en el sistema de las proteasas plasmaticas. En recuadro se señala las sustancias con actividad quimiotactica. (Ref. 19)

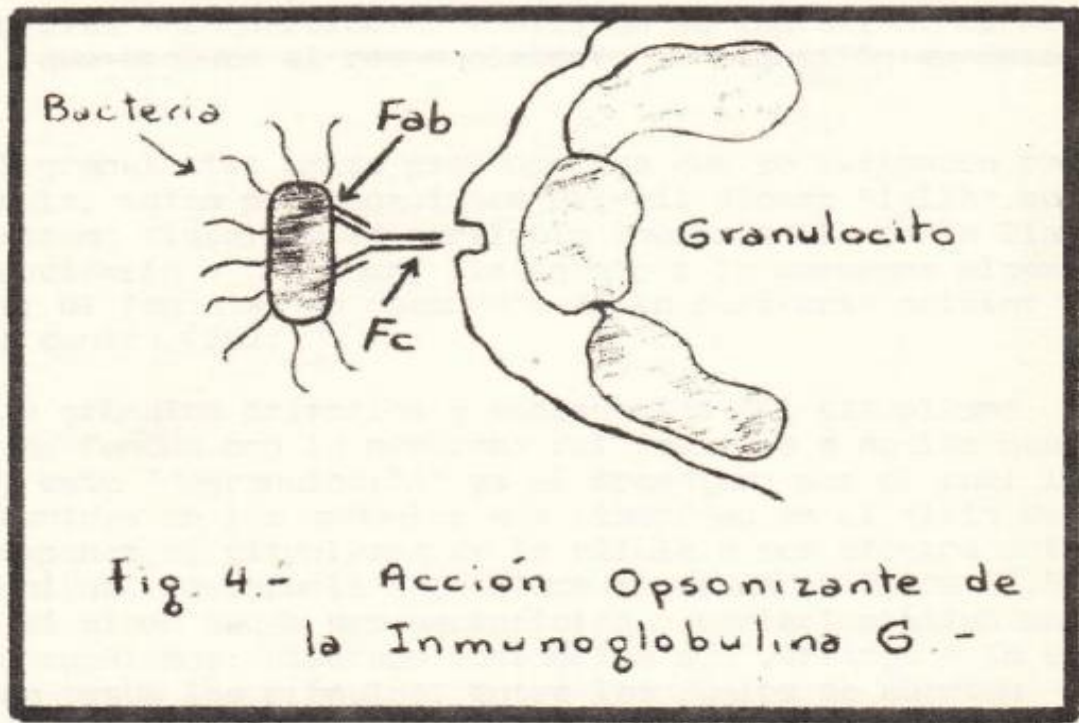


Fig. 4.- Acción Opsonizante de la Inmunoglobulina G.-

La acción de ambas opsoninas generalmente es simultánea y complementaria; por ejemplo, al reaccionar la Ig G con la bacteria, el anticuerpo actúa como opsonina pero en la interacción también se activa el C', fijándose C3a sobre la bacteria, opsonizándola (25, 23).

Sin este reconocimiento previo, la capacidad de ingestión del fagocito es muy débil; las opsoninas, al inducir la aproximación del fagocito a la partícula, facilitan su ingestión. El mecanismo último que traduce el reconocimiento en ingestión es desconocido.

El granulocito emite pseudopodios que se extienden rodeando la partícula; estas prolongaciones del citoplasma hialino se funden en el extremo distal de la partícula encerrándola en la llamada vesícula fagocitaria o fagosoma, limitada por la membrana plasmática invertida; el fagosoma se desprende de la periferia celular y migra hacia el centro (26).

Los gránulos primarios y secundarios del citoplasma del granulocito se funden con la membrana del fagosoma a medida que éste se forma; esta "degranulación" es el mecanismo por el cual las enzimas contenidas en los gránulos son liberadas en el sitio de su acción sin exponer el citoplasma de la célula a sus efectos potencialmente nocivos. La vacuola fagocítica tiene un pH ácido (3.5 a 4.0), que en sí mismo puede ser bactericida o bacteriostático para muchos microorganismos; diversas sustancias son vertidas a la vacuola fagocítica desde los gránulos, entre las cuales se cuentan la lisozima, que ataca la pared celular de algunas bacterias, la lactoferrina, proteína unida a hierro que inhibe el crecimiento de microorganismos, proteínas catiónicas con actividad antibacteriana, y otras enzimas capaces de hidrolizar proteínas, carbohidratos y lípidos.

A todo este arsenal se une el más potente agente antimicrobiano: el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Por acción de oxidasas citoplasmáticas se generan radicales superóxidos (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), que se localizan y concentran en el interior del fagosoma; estos aniones, espontánea o enzimáticamente son reducidos a peróxido de hidrógeno o pueden reaccionar con peróxido de hidrógeno previamente formado, originando radicales hidróxilo (OH<sup>-</sup>) altamente reactivos.

El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es bactericida por sí mismo, sin embargo, su actividad antimicrobiana es intensamente potenciada por la mieloperoxidasa (otra enzima liberada en la degranulación), en presencia de Cl<sup>-</sup> o I<sup>-</sup>; en la interacción H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - Mieloperoxidasas - Halógeno - microorganismos, en el interior del fagosoma se liberan grupos aldehído que tienen alta capacidad bactericida. Los grupos OH<sup>-</sup> formados por la interacción del peróxido de hidrógeno con anión superóxido podrían peroxidar ácidos grasos insaturados de la membrana fagosómica y por este mecanismo originar aldehídos bactericidas.

La concentración de radicales peróxido en el interior del fagosoma defiende al resto de la célula de sus efectos tóxicos. Pero si el peróxido de hidrógeno atraviesa la membrana del fagosoma y entra al citosol, el neutrófilo dispone de mecanismos de detoxificación (catalasa y glutatión reducido) (26, 27). Fig. 5.

Si el granulocito no genera H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (enfermedad granulomatosa crónica) durante la ingestión de partículas, no puede "matar" ciertos microorganismos como staphylococcus aureus, muchos gram negativos y cándida albicans, aún cuando el resto de su arsenal bacteriológico esté presente.

#### ALTERACION DE LA CINÉTICA DE LA GRANULOPOIESIS EN E.H.M.

El recuento de granulocitos en sangre periférica no siempre es reflejo fiel del nivel cuantitativo de la granulopoesis; sin embargo, es el parámetro tradicionalmente empleado para clasificar las alteraciones de la cinética de los granulocitos por su facilidad de medición y porque el mismo examen aporta datos complementarios (recuento diferencial de los granulocitos, su morfología, cantidad de monocitos ...) que orientan sobre el trastorno global de la granulopoesis.

Se puede afirmar que en prácticamente todas las enfermedades hematológicas malignas (E.H.M.) se produce un trastorno cinético de los granulocitos en algún momento de la evolución de la enfermedad, sea por la naturaleza misma de la afección o por efecto del tratamiento empleado.

En las E.H.M., los trastornos de la cinética granulocítica pueden manifestarse en la sangre periférica, ya sea como granulocitopenia o como granulocitosis.

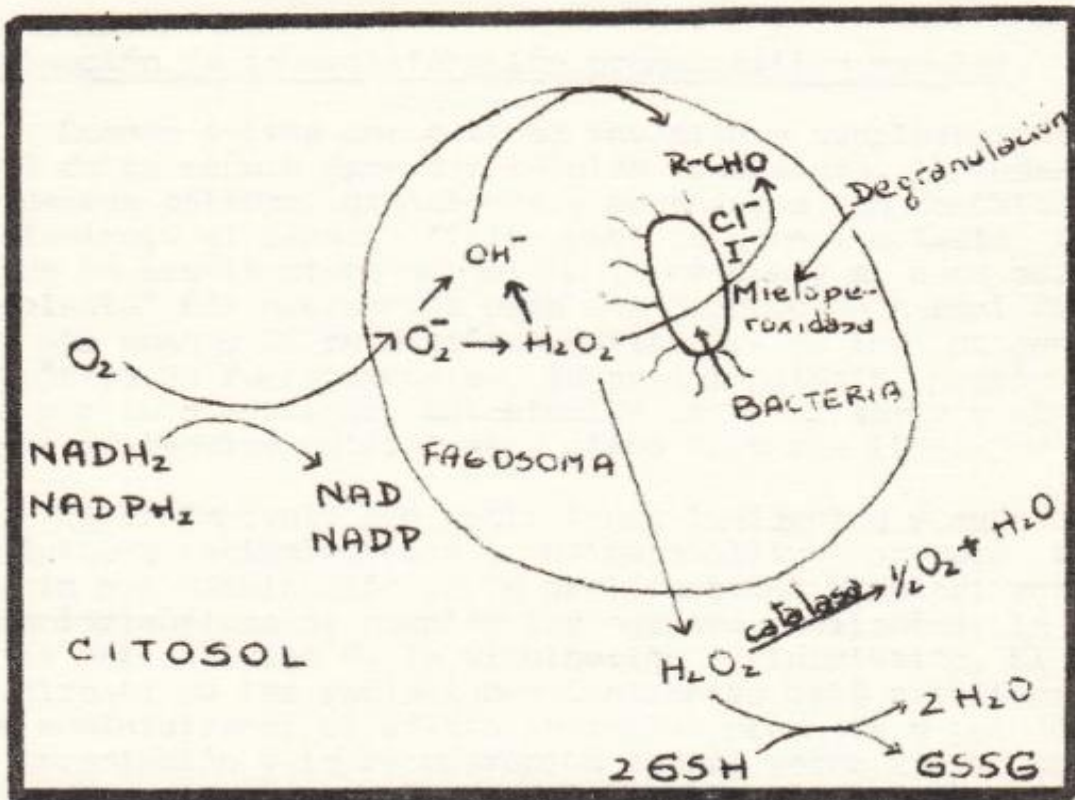


Fig. 5.- Mecanismos propuestos para la Producción, Acción y Detoxificación de Peróxidos en los Granulocitos maduros (Ref. 26)

## GRANULOCITOPENIA.

La concentración de neutrófilos en el compartimiento granulocítico circulante del adulto normal tiene un rango entre 1.600 y 8.000 céls. por ul (28); en los pacientes con E.H.M., se observa frecuentemente cifras inferiores a 1.600 por ul.

Varios son los mecanismos de la neutropenia en los pacientes con E.H.M.:

### a) Disminución de la proliferación granulocítica medular.

Cuando existe una extensa invasión y desplazamiento (mieloptosis) de la médula ósea por células leucémicas, linfomas, mielomas, tumores sólidos, granulomas y macrófagos con depósito de lípidos, disminuye el espacio físico para la granulopoesis (29) y se alteran la arquitectura normal de la médula y el poco aclarado "microambiente" (8) necesarios para una producción normal de granulocitos; aún cuando la reducción cuantitativa de los progenitores del neutrófilo no fuera excesiva, la granulopoesis podría estar limitada por la competencia establecida entre el tumor y el tejido normal por sustancias nutritivas y otros factores (29).

El tratamiento con radiaciones ionizantes y agentes quimioterapéuticos radiomiméticos y antimetabolitos produce también neutropenia por disminución de la proliferación medular; entre las drogas radiomiméticas se cuentan los agentes alquilantes, la procarbazona, la actinomicina D, la vinblastina y vincristina. El efecto neutropenizante de las radiaciones ionizantes está relacionado con la dosis administrada; el efecto máximo se presenta a los 10 - 14 días de irradiación y la recuperación ocurre entre 2 y 4 semanas; el efecto es mediado a través de daño al DNA. Las drogas radiomiméticas producen su daño alquilando o depolimerizando el DNA, ligándose a él o inhibiendo la mitosis; la rapidez de aparición de la neutropenia es proporcional a la velocidad de administración de la droga; generalmente el efecto dura entre 7 y 10 días y la recuperación se produce en 1 a 2 semanas. Los antimetabolitos, del tipo antagonista de las purinas y pirimidinas, ejercen su acción fundamentalmente a través de la interferencia en la síntesis de DNA, y la intensidad de su efecto se relaciona a la dosis y duración de la administración.

En todas las condiciones antes enumeradas se observa una disminución absoluta de la serie granulocítica normal en la médula ósea, con aumento relativo de las células más inmaduras (desviación



a izquierda), y por definición, neutropenia en el compartimento circulante.

Desde el punto de vista cinético, la proliferación de la serie granulocítica en médula ósea está disminuida por reducción del compartimento mitótico; disminuyen en consecuencia los compartimientos post-mitóticos de maduración y almacenamiento (la reserva granulocítica medular), entregándose una cantidad insuficiente de células a la circulación; los compartimientos circulante y marginal se reducen, pues la salida de elementos a los tejidos se efectúa a velocidad normal; la supervivencia total de los neutrófilos es normal, pero su recambio diario está disminuido. Desde el punto de vista funcional, son generalmente elementos normales (30).

#### b) Granulopoesis ineficaz.

Ciertas E.H.M, como algunos tipos de anemia refractaria, preleucemia, leucemia aleucémica, se presentan con hiperplasia granulocítica en la médula ósea, asincronías de maduración entre núcleo y citoplasma, predominio de elementos jóvenes de la serie granulocítica, vacuolización y otras alteraciones morfológicas; algunas drogas actuando como antimetabolitos (methotrexato, citosina-arabinosido, hidroxiaurea, 6-tioguanina, 6-mercaptopurina, etc.) poseen en común la facultad de interferir la síntesis de DNA; se produce, consiguientemente, un crecimiento celular desbalanceado, en que la replicación del DNA y la división celular están bloqueadas, en tanto la síntesis de citoplasma es normal; la persistencia de este estado se traduce en la pérdida permanente de la capacidad de mitosis y eventual muerte celular en la médula ósea (31); a nivel de la serie granulocítica, este proceso se denomina granulopoesis ineficaz. Los elementos más jóvenes de la serie sufren retrasos en períodos del ciclo celular, retardándose la división celular, acumulándose en el compartimento mitótico y consecuentemente disminuyendo su ingreso al compartimento de reserva, y muriendo muchos de ellos en el interior de la médula ósea.

La traducción morfológica de este estado es la megablástosis medular; puede existir hiperplasia granulocítica a expensas de mieloblastos, promielocitos y mielocitos, visualización frecuente de mitosis, disminución de los elementos más maduros de la serie y en la periferia, además de la neutropenia, granulocitos con aumento de su segmentación.

Desde el punto de vista cinético, existe una proliferación granulocítica aumentada, es decir, el compartimiento mitótico está aumentado, pues los mecanismos de regulación de la granulopoesis están conservados; disminuyen el compartimiento de reserva medular y la entrega de elementos a la circulación; en ésta, los granulocitos circulantes y marginales disminuyen; si no se afecta la función de las células, la salida a los tejidos se realiza a velocidad normal; existe evidencias que indican que a los parámetros anteriores puede agregarse una supervivencia acortada por extensión del defecto a los granulocitos maduros (30).

c) Disminución de la supervivencia de los granulocitos circulantes.

La hiperdestrucción de granulocitos circulantes se debe a anticuerpos antileucocito, leucotoxinas, aumento de la secuestación esplénica o a hiperactividad de las células reticuloendoteliales (30). En muchas de las E.H.M., la esplenomegalia es un hecho muy constante, y en algunas, indispensable en el diagnóstico. (Ej.: mielofibrosis, reticuloendoteliosis leucémica). No existe en el bazo normal un compartimiento granulocítico de depósito, pero en pacientes con neutropenia y esplenomegalia se ha demostrado gran acumulación de leucocitos en el bazo (32); se ha comprobado además que en estos pacientes la neutropenia no se explica sólo por una redistribución en el compartimiento vascular con ganancia del lecho esplénico, sino a un acortamiento significativo de la supervivencia de los granulocitos (33, 34). En este sentido el crecimiento de estructura supone un aumento en la función del órgano, aunque desde el punto de vista de la economía del organismo la hiperdestrucción de granulocitos sea innecesaria. Otra de las E.H.M., la reticulosis medular histiocitaria, se presenta con leucopenia; uno de los mecanismos de su producción radica en una intensa leucofagocitosis por parte de células del sistema reticuloendotelial en los ganglios comprometidos (35).

En un paciente con neutropenia por hiperdestrucción periférica, la médula ósea es rica en las formas más inmaduras de granulocitos; en la circulación, puede existir desviación a izquierda de los neutrófilos.

El patrón cinético revela una granulopoesis total aumentada (crece el compartimiento mitótico), por existir un estímulo acelerado debido a la conservación de los mecanismos regulatorios de la granulopoesis; la entrega de granulocitos a la sangre está

también aumentada (granulopoesis eficaz), lo que se puede manifestar en una disminución de los compartimientos de maduración y almacenamiento en la médula ósea; la supervivencia de granulocitos está disminuída y el recambio está aumentado; el grado de la neutropenia depende del equilibrio entre la producción y la destrucción; el compartimiento marginal está disminuído; la movilización total de granulocitos hacia los tejidos está disminuída por la escasa disponibilidad de ellos en la circulación (30).

Estas diferencias tan nítidas descritas para los patrones morfológicos y cinéticos de cada uno de los mecanismos de neutropenia en las E.H.M., tiene plena validez fisiopatológica; en clínica, sin embargo, es más frecuente la presentación de mecanismos combinados; por ejemplo: la neutropenia por antimetabolitos del tipo metotrexato se debe a mecanismos de hipoproliferación medular y granulopoesis ineficaz, más un componente de hiperdestrucción periférica; en las leucemias agudas, al componente hipoproliferativo puede agregarse la hiperdestrucción por esplenomegalia o por un consumo de granulocitos aumentado en los tejidos en caso de infección; en la misma reticulosis medular histiocitaria, a la leucofagocitosis en ganglios y bazo se agrega la limitación proliferativa medular. Por consiguiente, en las neutropenias de las E.H.M., los mecanismos de producción se combinan siendo en ocasiones difícil discriminar el principal.

La gran amenaza que sufre el paciente con disminución de granulocitos en el territorio vascular (compartimiento circulante y marginal) es la infección bacteriana. El riesgo de infección con cifras de granulocitos circulantes mayores de 1.000 por ul es leve; entre 500 y 1.000 por ul el riesgo de la infección es moderado y bajo 500 por ul el riesgo es elevado. En la calificación del riesgo de infección debe considerarse la cantidad absoluta de monocitos circulantes: cifras superiores a 400 monocitos por ul otorgan protección al paciente, aún cuando la granulocitopenia sea importante. (30).

### GRANULOCITOSIS. LA FUNCIÓN DE LOS GRANULOCITOS EN LA INFECCIÓN

El aumento de granulocitos maduros en el compartimiento circulante, generalmente no tiene ni la frecuencia ni la gravedad de la neutropenia en las E.H.M. El aumento de granulocitos sobre

lo normal no parece proteger en forma ventajosa de las infecciones bacterianas en el curso de las E.H.M. En algunos casos, sin embargo, el aumento de número puede compensar el déficit de función, como ocurre, por ejemplo, en la leucemia granulocítica crónica.

La inducción de granulocitosis en E.H.M. obedece a muchas causas: proliferación autónoma de elementos de la médula ósea (Ej.: síndromes mieloproliferativos crónicos), infecciones, hemólisis, hemorragias, necrosis tumoral, estímulos físicos y emocionales, enfermedades metabólicas acompañantes, drogas, mieloptosis, etc.

Los mecanismos a través de los cuales se induce la granulocitosis son variados: aumento de la proliferación medular, prolongación de la supervivencia, vaciamiento del compartimiento de reserva medular al compartimiento vascular, aumento del compartimiento circulante a expensas del marginal, disminución de la diapedesis de granulocitos a los tejidos (36). Igual que en la génesis de la neutropenia, el aumento de los granulocitos muchas veces obedece a mecanismos combinados; por ejemplo, en la leucemia granulocítica crónica, se produce un aumento de la proliferación en el compartimiento mitótico por expansión de las células troncales destinadas a la granulopoesis, una entrega precoz del compartimiento de reserva medular a la sangre y una supervivencia mayor de los granulocitos en la periferia.

La prednisona y la hidrocortisona, coadyuvantes en el tratamiento de numerosas E.H.M., alteran también la cinética de la granulopoesis; en una primera fase se produce un vaciamiento del compartimiento de reserva medular a la circulación y una granulocitosis consiguientemente, que dura alrededor de 4 horas (37); la administración continuada de estos corticoides se sigue de una disminución de la migración de los neutrófilos a los tejidos (37) y de un aumento real de la granulopoesis efectiva (36); ambos fenómenos conducen a la mantención de la granulocitosis neutrófila.

#### ALTERACIONES DE LA FUNCION DEL GRANULOCITO EN LAS E.H.M.

La principal causa de las infecciones en el curso de las E.H.M. reside en el déficit cuantitativo de la actividad fagocitaria; este déficit de la fagocitosis es la traducción funcional de la neutropenia. Sin embargo, se ha demostrado también diversas distorsiones de los patrones normales de función del granulocito, cuya contribución real en la génesis de la infección no está aún aclarada.

En las leucemias agudas, la migración total de leucocitos está disminuida debido al déficit de elementos maduros; luego, la alteración de la migración, en este caso, es una traducción de la neutropenia y no de la función intrínseca de la célula. Para corregir esto, se determina el clearance de granulocitos, que mide el volumen de sangre aclarada de sus neutrófilos y no la cantidad total de células migrantes: en la leucemia linfática aguda, el clearance está normal mientras que en la mielógena aguda está disminuido; estos hallazgos indican que en la primera los granulocitos son normales; en cambio, en las leucemias mielógenas, los granulocitos exhiben un defecto funcional heredado de sus progenitores anormales. En la remisión de las leucemias agudas, ambos parámetros funcionales se normalizan; este hecho indica que en la leucemia mielógena aguda en remisión, la granulopoesis es reiniciada a partir de células troncales normales (18).

Ciertos estudios en leucemia aguda han evidenciado una disminución de enzimas en el citoplasma de los granulocitos y una reducción de la capacidad de fagocitosis; en otros estudios, se ha comprobado que, aún con granulocitos que ingieren normalmente, la capacidad para "matar" hongos y bacterias ingeridos está restringida (1a).

Se comentó antes que en la leucemia granulocítica crónica está alargada la supervivencia del granulocito en la circulación; la traducción funcional de este hallazgo es una reducción del clearance de granulocitos de la sangre periférica; en estos pacientes la granulocitosis es la determinante de una cifra normal de migración total de neutrófilos; sin embargo, cuando este valor se corrige por el número de neutrófilos circulantes se obtiene el bajo volumen de clearance (18). En esta afección se ha comprobado además una menor capacidad fagocitaria, que se correlaciona con una insuficiente dotación enzimática de los gránulos de los neutrófilos. (38).

La infección es una complicación frecuente en los estadios avanzados de la enfermedad de Hodgkin; se ha estudiado extensamente el trastorno de la inmunidad celular en estos pacientes olvidando la función del granulocito; sin embargo, se ha podido comprobar en las etapas III y IV de la afección una disminución del clearance de granulocitos sanguíneos y de la capacidad para "matar" hongos incorporados previamente al citoplasma en un proceso de ingestión normal (1a).

En los pacientes con linfomas no Hodgkin, los valores de migración y clearance de leucocitos están normales (18).

A la modificación ejercida por los glucocorticoides sobre algunos parámetros cinéticos de la granulopoesis debe agregarse su efecto sobre la función del granulocito. Vimos previamente que el uso mantenido de prednisona o hidrocortisona inducía granulocitosis, uno de cuyos mecanismos de producción consistía en la reducción de la migración de los granulocitos a los tejidos; en efecto, se ha observado que a pesar de la granulocitosis, el uso de estas hormonas disminuye la migración total de leucocitos y disminuye en forma marcada el clearance de leucocitos. Sin embargo, se ha observado que el uso de corticoesteroides fluorados (ej.: dexametasona), aumenta la migración total de granulocitos conservando normal el clearance de granulocitos (18); la comprobación de esta observación puede influir a futuro en la elección de glucocorticoide a usar según las afecciones. Se ha demostrado también que la reducción de la migración producida por el uso mantenido de prednisona mejora usando la droga en días alternados (39).

In vitro, los corticoesteroides suprimen la quimiotaxis (20); se cree que in vivo actúan disminuyendo la liberación de sustancias quimiotácticas (como son algunos componentes del sistema de las proteasas plasmáticas) (40); estas hormonas pueden también inhibir la producción de anticuerpos por los elementos linfoides (42), interfiriendo así en la opsonización de las partículas a fagocitar; impiden la degranulación al fagosoma por un efecto estabilizador a nivel de membranas lisosomales (26); y por último, en muy altas dosis, pueden suprimir al sistema enzimático encargado de la producción de peróxido de hidrógeno (42).

De todos estos mecanismos, el que cuantitativamente parece tener mayor importancia es la inhibición de la migración de los neutrófilos; sin embargo, es posible que el conjunto de todos ellos explique mejor la susceptibilidad a las infecciones bacterianas y por hongos en los pacientes tratados con corticoides.

BIBLIOGRAFIA

- 1a. Levine, A.S.; Schimpff, S.C.; Graw, R.G.; Young, R.C.: Hematologic malignancies and other marrow failure states: progress in the management of complicating infections. *Semin. Hemat.* 11: 141, 1974.
- 1b. Boggs, D.R.: The kinetics of neutrophilic leukocytes in health and disease. *Semin. Hematol.* 4: 359, 1967.
2. Becker, A.J.; Mc. Culloch, E.A.; Till, J.E.: Cytological demonstrations of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature (Lond)* 197: 452, 1963.
3. Fialkow, P.J.: The origin and development of human tumors studied with cell markers. *N. Engl. J. Med.* 291: 26, 1974.
4. Graddock, C.G.: Granulocyte kinetics, en Williams, W.J.; Beutler, E.; Erslev, A.J.; Rundles, R.W. (eds.): *Hematology*. New York, Mc. Graw-Hill, 1972, p. 593.
5. Lichtman, M.A.; Weed, R.I.: Alteration of the cell periphery during granulocyte maturation: Relationship to cell function. *Blood* 39: 301, 1972.
6. Robinson, W.A.; Mangalik, A.: The kinetics and regulation of granulopoiesis. *Sem. Hematol.* 12: 7, 1975.
7. Cartwright, G.E.; Atens, J.W.; Wintrobe, M.M.: The kinetics of granulopoiesis in normal man. *Blood* 24: 780, 1964.
8. Cline, M.J.; Graddock, C.G.; Gale, R.P. y cols.: Granulocytes in human disease. *Ann. Int. Med.* 81: 801, 1974.
9. Cronkite, E.P.; Vincent, P.C.: Granulopoiesis. *Series Haematologica II* (4): 3, 1969.
10. Golde, D.W.; Cline, M.J.: Regulation of granulopoiesis. *N. Engl. J. Med.* 291, 1388, 1974.
11. Metcalf, D.: The colony stimulating factor (CSF). *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 50: 547, 1972.
12. Price, G.B.; Mc. Culloch, E.A.; Till, J.E.: A new human low molecular weight granulocyte colony stimulating activity. *Blood* 42: 341, 1973.
13. Chervenick, P.A.; Lo Buglio, A.F.: Human blood monocytes: stimulators of granulocyte and mononuclear colony formation in vitro. *Science* 178: 164, 1972.

14. Ruscetti, F.W.; Chervenick, P.A.: Release of colony stimulating factor from monocytes by endotoxin and polyinosinic-polycytidylic acid. *J. Lab. Clin. Med.* 83: 64, 1974.
15. Cline, M.J.; Golde, D.W.: Production of colony-stimulating activity by human lymphocytes. *Nature* 248, 1974.
16. Rytömaa, T.: Role of chaperones in granulopoiesis. *Br. J. Haematol.* 24: 141, 1973.
17. Morley, A.; Higgs, D.: Abnormal differentiation of leukemic cells in vitro. *Cancer* 33: 716, 1974.
18. Senn, H.J.; Jung, W.F.: Neutrophil migration in health and disease. *Semin. Hematol.* 12: 27, 1975.
19. Keller, H.U.; Hess, M.W.; Cottier, H.: Physiology of chemotaxis and random mobility. *Semin. Hematol.* 12: 47, 1975.
20. Miller, M.E.: The pathology of chemotaxis and random mobility. *Semin. Hematol.* 12: 59, 1975.
21. Rebuck, J.W.; Crowley, J.H.: A method of studying leukocytic functions in vivo. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 59: 757, 1955.
22. Senn, H.J.; Holland, J.F.; Banerjee, T.: Kinetic and comparative studies of localized leukocyte mobilization in normal man. *J. Lab. Clin. Med.* 74: 742, 1969.
23. Stossel, T.P.: Phagocytosis (First part). *N. Engl. J. Med.* 290: 717, 1974.
24. Boyden, S.: The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes. *J. Exp. Med.* 115: 454, 1962.
25. Stossel, T.P.: Phagocytosis: recognition and ingestion. *Semin. Hematol.* 12: 83, 1975.
26. Stossel, T.P.: Phagocytosis (Second part). *N. Engl. J. Med.* 290: 774, 1974.
27. Klebanoff, S.J.: Antimicrobial mechanisms in neutrophilic polymorphonuclear leukocytes. *Semin. Hematol.* 12: 117, 1975.
28. Altman, P.L., compiler; Dittmer, D.S., editor: *Blood and other body fluids.* Fed. Amer. Soc. Exp. Biol., Washington, 1961.
29. Beutler, E.: Anemias associated with marrow infiltration, in Williams, W.J.; Beutler, E.; Erslev, A.J., Rundles, R.W. (eds.): *Hematology* N.Y., Mc. Graw-Hill, 1972, p. 379.



30. Finch, S.C.: Granulocytopenia en Williams, W.J., Beutler E.; Erslev, A.J.; Rundles, R.W. (eds.): Hematology N.Y., Mc. Graw-Hill, 1972, p. 628.
31. Beck, W.S.: General considerations of megaloblastic anemias; en Williams, W.J.; Beutler, E.; Erslev, A.J.; Rundles, R.W. (eds.): Hematology. N.Y.; Mc. Graw-Hill, 1972, p. 249.
32. Redd, I.L.; Barry, P.; Wong, H. y Greenberg, M.S.: Granulocyte turnover in patients with cirrhosis. Clin. Res. 14: 325, 1966.
33. Blackman, A.; Grace, N.; Chandler, H. y cols.: Hypersplenism in cirrhosis: Measurements of portal pressure spleen size and circulating blood cell disappearance rates. Clin. Res. 5: 17, 1969
34. Bishop, C.R.; Athens, J.W.: A kinetic classification of neutropenia based on half disappearance time (T<sub>1/2</sub>) and granulocyte turnover rates (GTR). Clin. Res. 18: 175, 1970.
35. Natelson, E.A.; Lynch, E.C.; Hettig, R.A.; Alfrey, C.P.: Histiocytic medullary reticulosis. The role of phagocytosis in pancytopenia. Arch. Int. Med. 122: 223, 1968.
36. Finch, S.C.: Granulocytosis, en Williams, W.J.; Beutler, E.; Erslev, A.J.; Rundles, R.W. (eds.): Hematology, N.Y.; Mc. Graw-Hill, 1972, p. 654.
37. Bishop, C.R.; Athens, J.W.; Boggs, D.R. y cols.: Leukokinetic studies XIII. A non-Steady state kinetic evaluation of the mechanism of cortisone-induced granulocytosis. J. Clin. Invest. 47: 249, 1968.
38. Pedersen, B.; Hayhoe: Relation between phagocytic activity and alkaline phosphatase content of neutrophils in chronic myeloid leukemia. Brit. J. Haemat. 21: 257, 1971.
39. Dale, D.C.; Fauci, A.S.; Wolff, S.M.: Alternate-day prednisone: leukocyte kinetics and susceptibility to infections. N. Engl. J. Med. 291: 1154, 1974.
40. Cline, M.J.: Drugs and phagocytes. Edit. N. Engl. J. Med. 291: 1187, 1974.
41. Baxter, J.D.; Forsham, P.H.: Tissue effects of glucocorticoids. Amer. J. Med. 53: 573, 1972.
42. Quie, P.G.: Pathology of bactericidal power of neutrophils. Semin. Hematol. 12: 143, 1975.