

ARCHIVO HISTÓRICO



El presente artículo corresponde a un archivo originalmente publicado en el **Boletín de la Escuela de Medicina**, actualmente incluido en el historial de **Ars Medica Revista de ciencias médicas**. El contenido del presente artículo, no necesariamente representa la actual línea editorial. Para mayor información visitar el siguiente

vínculo: <http://www.arsmedica.cl/index.php/MED/about/submissions#authorGuidelines>

TRANSFUSION DE GRANULOCITOS

Dr. Arnaldo Foradori C.

- I. INTRODUCCION

- II. UN POCO DE FISIOPATOLOGIA
 - 1. Algo de Biología Celular
 - 2. Algo de Biología de poblaciones del granulocito

- III. UN POCO DE HISTORIA DE LA TRANSFUSION DE GRANULOCITOS Y DE POR QUE NO ES TAN FACIL
 - 1. Histocompatibilidad dador/receptor
 - 2. Preparación del concentrado
 - 3. Indicaciones de la transfusión del granulocito
 - 4. El manejo clínico del dador
 - 5. Las complicaciones de la transfusión de granulocitos

- IV. LA EFICACIA DE LA TRANSFUSION DE GRANULOCITOS

I. INTRODUCCION

La quimioterapia intensiva, la radioterapia y la cirugía actual han mejorado notablemente el pronóstico de los enfermos de neoplasia. Sin embargo, la enfermedad de fondo y la terapia asociada (especialmente la quimioterapia y radioterapia) hacen que estos enfermos sean más susceptibles a la infección bacteriana, siendo esta la causa principal de muerte en leucemias y linfomas y una causa relevante de morbilidad y mortalidad en los pacientes con tumores sólidos (1, 2, 3, 4, 5).

La complicación iatrogénica más frecuente asociada a patología neoplásica está dada por períodos variables, en duración e intensidad, de una hipoplasia medular transitoria que condiciona un riesgo mayor de sangramiento por defecto de plaquetas o de infecciones por defecto de granulocitos, y en largo plazo, de una anemia por déficit de eritrocitos. El predominio de uno u otro tipo de complicación por hipoplasia medular depende en gran magnitud del tipo de quimioterapia o radioterapia, del estado clínico y el tipo de la neoplasia en tratamiento, pero en su gran mayoría se determina un déficit de las tres estirpes celulares de la médula ósea hemopoyética en proporciones variables.

El incremento de las tasas de remisión y de la duración de la sobrevida (especialmente en tumores hematológicos) por esquemas quimioterapéuticos y radioterapéuticos agresivos en la última década se deben en gran parte a un mejor manejo del enfermo en su totalidad durante los inevitables períodos de hipoplasia medular. Durante los años de la década del 50, la causa principal de muerte en los enfermos portadores de una insuficiencia medular por anemia aplástica o tumores hematológicos era la hemorragia con la infección como una complicación alejada. Sin embargo, el uso

agresivo de concentrados plaquetarios a partir de 1960 significó una reducción drástica de la frecuencia de la complicación hemorrágica como causa de muerte y es así como entre 1965 y 1971 sólo un 11 % de las muertes de los pacientes con tumores hematológicos se debieron a hemorragias, pero más de un 65 % se debieron a infecciones (6).

La infección es en consecuencia un riesgo importante en el enfermo portador de neoplasia y se ha visto en varias publicaciones que esta complicación representa un factor fundamental como causa de muerte durante el esquema terapéutico inicial (7) (llegando a describirse hasta un 25 % de mortalidad inicial por complicación de quimioterapia en tumores hematológicos).

Los esfuerzos para resolver estos problemas se ha orientado al uso precoz y agresivo de antibióticos en combinación (8) en enfermos neutropénicos con fiebre, al uso de antibióticos profilácticos (9) y el uso de unidades de aislamiento con ambiente bacteriológico limitado (10,11,12). Si bien la frecuencia de la infección puede reducirse con el uso combinado de antibióticos profilácticos y de ambiente bacteriológicamente protegido, los resultados no siempre son tan efectivos como podría aparecer teóricamente; tienen un costo muy elevado, requieren un control bacteriológico exhaustivo y además crean problemas psicológicos hasta en un 20 % de los pacientes (13).

Actualmente se agrega a estas posibilidades el uso de concentrados leucocitarios para compensar la brusca caída de las defensas, que significa el período variable de hipoplasia medular iatrogénica (14, 15, 16, 17, 18) en el enfermo portador de un cáncer sometido a radioquimioterapia.

El tema de esta presentación es precisamente la

revisión sistemática pero general del uso de concentrados leucocitarios para el tratamiento del paciente neutropénico severo

Por qué la transfusión de granulocitos

En 1966, Bodey y colaboradores (19) demostraron que la frecuencia de episodios infecciosos aumentaba con una reducción de los recuentos de granulocitos periféricos : en pacientes con leucemia aguda un 53 % de los días de sus hospitalizaciones se gastaban en infecciones a gérmen conocido, si el recuento absoluto de granulocitos era menor de 100 por mm³ ; a medida que el recuento de granulocitos aumentaba, el porcentaje de días de hospitalización con infecciones evidentes se acortaba hasta llegar a un mínimo de un 10 %, si el recuento absoluto era de unos 1.000 granulocitos por mm³. Por otro lado, también la frecuencia de episodios de infecciones severas se relacionaba inversamente con el recuento absoluto de granulocitos, pero no aumentaba en forma significativa hasta que el recuento de granulocitos era menor que 1.000 por mm³. El estudio de Bodey y colaboradores fue confirmado por muchos otros, destacando el trabajo de Hughes y Smith (20), quienes volvieron a encontrar la misma relación inversa entre la neutropenia y la infección en niños portadores de leucemia linfoblástica y en múltiples ocasiones varios autores propusieron en forma teórica la utilidad del uso profiláctico de transfusiones de granulocitos en el paciente neutropénico.

Pareciera así que el riesgo de infección de los pacientes neutropénicos comienza a aumentar cuando el recuento de neutrófilos granulocíticos en sangre periférica cae bajo los 1.000 por mm³ y que el riesgo y la severidad de la infección continúa aumentando a medida que el recuento de granulocitos disminuye. La posición actual de

nuestro grupo de hematología es la de alertar al clínico si el recuento está alrededor de 1.500 granulocitos por mm³ e iniciar un tratamiento antibiótico profiláctico cuando el recuento recae alrededor de 1.000 a 1.500 granulocitos por mm³ (21). En los centros que disponen de transfusión de granulocitos, ésta se utiliza generalmente cuando el recuento está bajo los 500 granulocitos por mm³. Sin embargo, a diferencia de la fácil disponibilidad de eritrocitos y plaquetas, los granulocitos tienen dificultades en su obtención y uso, son de alto costo en el procedimiento de obtención y representan siempre un riesgo real, pequeño, pero real, tanto para el dador como para el receptor (mayor que el riesgo que tiene la transfusión de eritrocitos y plaquetas).

LA TRANSFUSION DE GRANULOCITOS ES EL RECURSO TERAPEUTICO UTILIZADO PARA AUMENTAR LA RESISTENCIA A LAS INFECCIONES EN POBLACIONES DE ALTO RIESGO PORTADORES DE UNA NEUTROPENIA IMPORTANTE.

II. UN POCO DE FISIOPATOLOGIA

1. Algo de Biología Celular

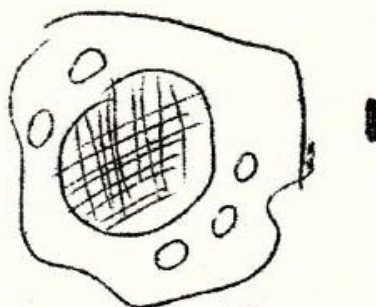
Los granulocitos son las células de estirpe hematológica comprometida en varias funciones de defensa y reparación tisular; son los primeros en aparecer en los focos de inflamación y los granulocitos en la sangre sólo representan a la población en tránsito hacia los tejidos, donde cumplen su misión (22).

Los movimientos de los granulocitos hacia los focos de utilización se caracterizan por ser unidireccion

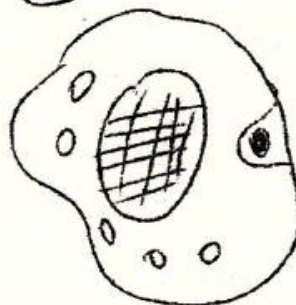
nales desde los sitios de producción y van hacia los de utilización con una recirculación nula, diferenciándose así netamente de los eritrocitos y linfocitos. Su concentración en las áreas de injuria bacteriana se regula por sustancias químicas que regulan su motilidad (recordemos a la quimiotaxis) y que se derivan tanto de la destrucción tisular como de las reacciones inmunológicas que acompañan todo proceso inflamatorio. Por el fenómeno de la fagocitosis los granulocitos devoran a bacterias, eritrocitos e incluso partículas extrañas al organismo. Los detalles de este complejo mecanismo de fagocitosis recientemente se están desentrañando (23, 24) y podemos esquemáticamente reconocer varias etapas :

- a) Formación de una invaginación de membrana celular, que rodea la bacteria o partícula (formación de la vacuola fagocítica) y posteriormente los lisosomas migran a la vacuola fagocítica.
- b) Dentro de la célula los lisosomas migran a la vacuola fagocítica y descargan su contenido de enzimas hidrolíticas, mieloperoxidasas, lisozimas, lactoferrinas y fosfatasa en un ambiente de pH ácido y potencial reductor tal, que hace muy poco comfortable la persistencia de la bacteria en su interior.
- c) En el interior de la vacuola fagocítica, llena ahora de enzimas lisosomales, se generan varios agentes bactericidas y bacteriolíticos, entre ellos agua oxigenada, superóxido, haluros muy reactivos (cloro atómico entre ellos), que por su acción directa y por generación de aldehídos muy reactivos terminan por destruir a la bacteria englobada en esta vacuola. Aparentemente la generación de superóxido y de agua oxigenada es el parámetro crítico en la destrucción bacteriana (vea la Figura N° 1).

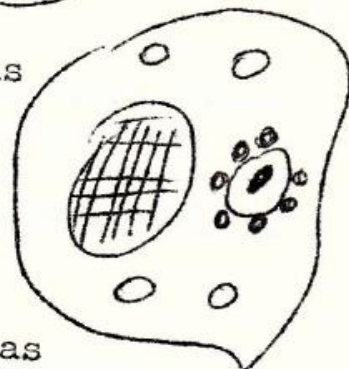
1 Aproximacion e contacto



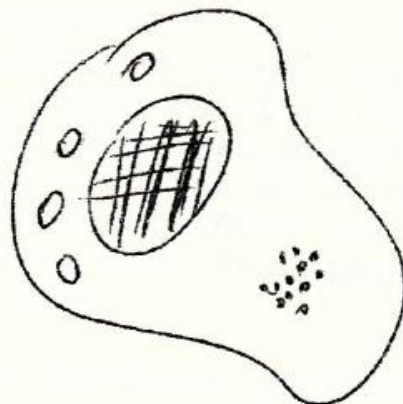
2 Invaginacion y englobamiento



3 Formacion de vacuola y descarga de lisosomas



4 Destruccion de bacterias y restos de vacuolas



El mecanismo bioquímico preciso que permite el funcionamiento del sistema fagocitario es desconocido, pero se sabe que durante la fagocitosis aumenta el consumo de oxígeno, con un gran aumento de producción de agua oxigenada y que además aumenta un 1.000 % la vía metabólica de las hexosas monofosfato, indicando la fuerte dependencia metabólica del fenómeno de la fagocitosis.

Estas notas son de importancia para evaluar los distintos métodos de detección de la viabilidad de los granulocitos, ya que la revisión de los métodos vigentes nos indica que cada uno de ellos mide una función parcial y diferente, sin saber a ciencia cierta la relevancia de cada una a la función bactericida.

En la Tabla N° 1 se enumeran diferentes funciones celulares de los granulocitos y las pruebas que se utilizan para su evaluación, recordando que ninguna de ellas permite por sí sola determinar la calidad biológica de los granulocitos aislados.

2. Algo de Biología de poblaciones del granulocito

El granulocito, fagocitando en un tejido periférico, inició su camino biológico varios días antes en la médula ósea hemopoiética. Conviene tener presente desde ya que los granulocitos en la sangre periférica son solamente aquéllos que están en tránsito hacia su destino final y que su número de sangre periférica es sólo una aproximación grosera a la evaluación de la masa total de granulocito de un individuo (25).

Los granulocitos se producen normalmente en la médula ósea hematopoiética a partir de células troncales indiferenciadas y a través de una serie de multiplicaciones

T A B L A 1

EVALUACION DE LABORATORIO DE LA FUNCION GRANULOCITICAFunción celularPrueba de Laboratorio

VIABILIDAD

Exclusión de Azul Tripam
Sobrevida in vivo
Estudios por ventana cutánea

MIGRACION

Quimiotaxis

FAGOCITOSIS

Indice Fagocitario
Capacidad Bactericida
Prueba del Azul Tetrazolium
Consumo de Oxígeno

BACTERIOLISIS

Recuento Bacteriano
Prueba del Azul Tetrazolium
Consumo de Oxígeno
Enzimas Glicolíticas
Mieloperoxidasa
Yodación Cuantitativa
Producción de Superóxido
Quimioluminiscencia

celulares y de los procesos de diferenciación celular se llega al polimorfonuclear granulocítico (recordemos la serie citológica de mieloblastos, promielocitos, mielocitos, metamielocitos, baciliformes y segmentados) (Ver Fig. 2). La producción normal en el hombre se ha estimado en unos 1.600.000 de neutrófilos por kilo y por día y esta producción compensa una pérdida similar en todos los tejidos expuestos al medio ambiente séptico (como la mucosa respiratoria, digestiva, genitourinaria y cutánea, donde diariamente muere cumpliendo su función esta respetable masa celular).

Los neutrófilos maduros (granulocitos) producidos por la diferenciación y multiplicación celular se acumulan en la médula ósea hemopoiética durante un cierto período de tiempo y posteriormente se liberan a la circulación, donde viajan durante unas 6-8 horas para posteriormente penetrar los diversos tejidos y desaparecer en unos cuantos días.

La cinética de los granulocitos

Para una adecuada comprensión de los esquemas y requerimientos del uso terapéutico de concentrado granulocítico creemos que es de importancia la evaluación de la cantidad total de granulocitos y muy especialmente su distribución y el tiempo de ocupación y tránsito de los diferentes tejidos en los que residen los granulocitos ("compartimiento" para los latinos, o para los sajones "pools") (Fig. 3).

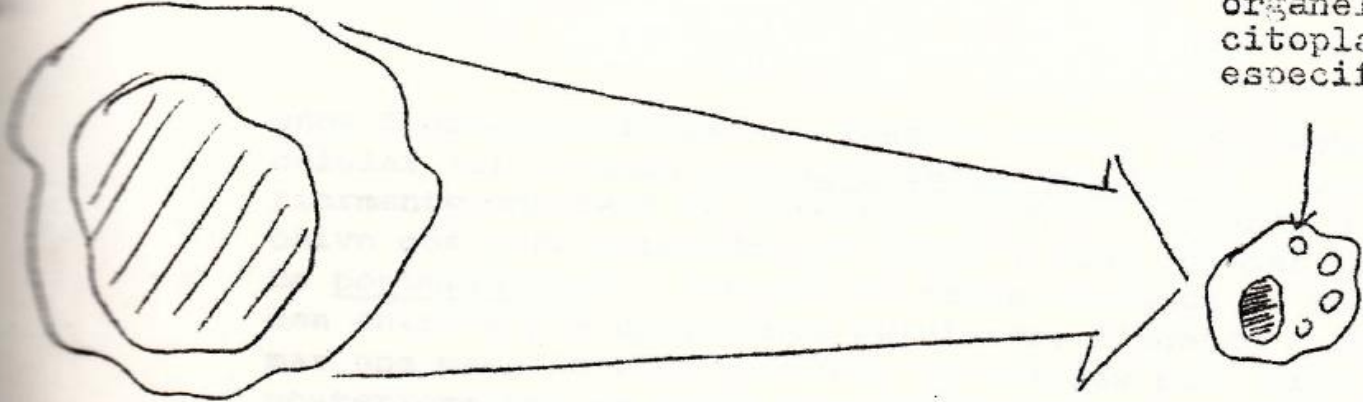
a) Médula ósea (compartimiento medular)

En la médula ósea los granulocitos residen durante unos 11 días en dos actividades diferentes :durante

113.

organelos
citoplasmaticos
especificos

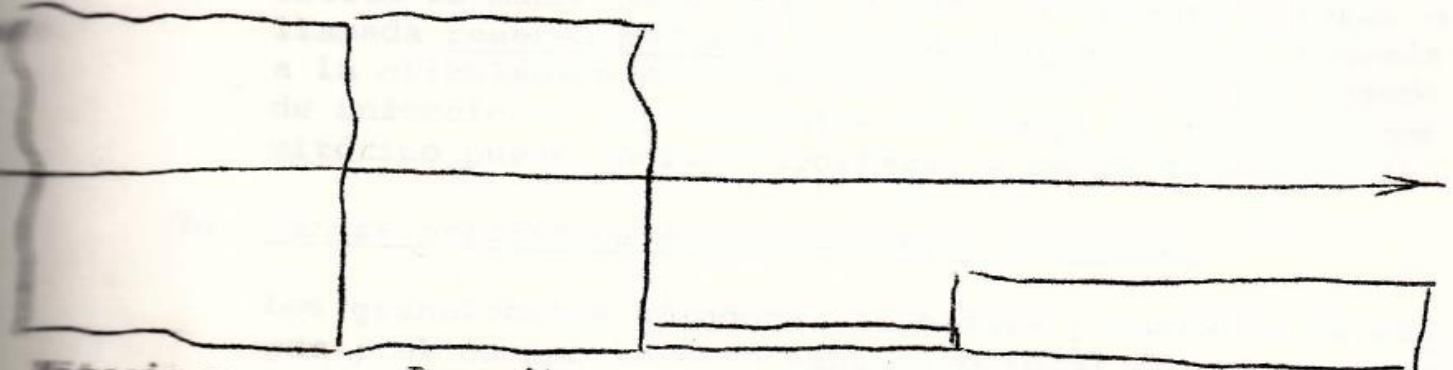
Fig. 2



LEUCOCITOS INDIFFERENCIADOS

GRANULOCITOS
PERIFERICOS

Fig. 3



Mitosis y
Maduración

Deposito
Medula Osea

Circulante

Destruccion en los
Tejidos

unos 5 días tendremos una fase de activa proliferación celular (el llamado compartimiento mitótico), posteriormente una fase de diferenciación de depósito o archivo que dura alrededor de otros 6 días (compartimiento postmitótico). Durante la etapa mitótica se reconocen entre 4 y 5 divisiones celulares, llegando a formar una masa de 2100 millones de células por kilo, y posteriormente se tiene una rápida diferenciación hasta llegar a formar por acumulación una masa de 5.600 millones de células por kilo. Desde este depósito celular los granulocitos migran a la sangre de acuerdo a su edad (es decir, los que entran primero al depósito medular son los que salen primero y los últimos en entrar serán los últimos en salir). Este depósito granulocito es mucho mayor que la masa circulante y forma la llamada reserva medular de granulocitos que es llamada a la circulación en cuanto se requiera (en los casos de infecciones muy violentas el tiempo de tránsito postmitótico puede incluso acortarse a pocos días (1 ó 2).

b) Sangre periférica (compartimiento vascular)

Los granulocitos abandonan la médula y entran a la sangre ; el compartimiento sanguíneo total de granulocito está formado por dos sitios de tránsito del granulocito : los granulocitos circulando libremente (los que se analizan regularmente en un hemograma) y los granulocitos adheridos a las paredes vasculares (compartimiento vascular libre y marginado respectivamente). Ambos están en equilibrio en una razón 1:1, aportando un total de unas 400.000 células por kilo, lo que representa menos de un 10 % de las reservas medulares de granulocito. Su tiempo de tránsito se estima en horas, en el orden de 0.3 días.

c) Tejidos (compartimiento tisular)

Una vez que transitan por el compartimiento vascular, los granulocitos emigran en forma prácticamente irreversible a los tejidos, especialmente pulmón, cavidad nasal, tubo digestivo, hígado y bazo, donde en 2 -3 días desaparecen. Si existen focos de inflamación, se concentran en un número importante y su duración en los tejidos inflamados es aún más breve.

El tránsito total de granulocito diario por la sangre se ha estimado en 1.600 millones por kilo de peso, lo que equivale a la tasa de producción diaria. Recordemos esta cifra, porque es un buen estimador de cuántos granulocitos deberemos administrar para un consumo basal normal. Obviamente que la presencia de infecciones o inflamaciones requieren de masas mayores de granulocitos y recordemos también que tenemos una reserva medular capaz de afrontar en forma rápida hasta unas 4-5 veces lo que se gasta en un día.

III. UN POCO DE HISTORIA DE LA TRANSFUSION DE GRANULOCITO Y DE POR QUE NO ES TAN FACIL

La utilidad potencial de las transfusiones de granulocitos en varias situaciones clínicas ha sido aparente en Medicina desde hace ya mucho tiempo. En 1934 se trató de usar transfusión de granulocito en enfermos portadores de aplasia medular severa, pero con poco éxito (26). Unos pocos años después (1953) (27) se pudo demostrar, en el perro, que la transfusión de granulocitos cambiaba en forma significativa el pronóstico del síndrome

de irradiación aguda y por el año 1964 se pudo evidenciar un efecto positivo de la transfusión de granulocito, usando como dadores a portadores de leucemia granulocítica crónica, lo que aseguraba una buena cantidad de granulocitos, ya que éste es el primer problema terapéutico : la capacidad de un dador normal de donar granulocito es pequeña, ya que se puede obtener en forma factible sólo los provenientes del compartimiento vascular circulante libre (lo que representa una fracción muy pequeña de lo que se requiere para el consumo diario y más aún si el enfermo está consumiendo en forma anormal por un proceso inflamatorio grave).

Al requerir múltiples dadores para un solo receptor se agudiza el problema de la compatibilidad, ya que el granulocito es una célula con marcadores de superficie de tipo individual, por lo que se acentúa el problema de compatibilidad. Por otro lado, como el compartimiento vascular representa la masa granulocítica menor se han utilizado múltiples trucos farmacológicos para inducir en el dador una granulocitosis, lo que crea un riesgo farmacológico anexo para el dador. Como si esto fuera poco, en el procedimiento de preparación de los granulocitos la masa eritrocítica debe reintegrarse al dador, porque se requiere de una anticoagulación eficiente pero inducida y controlada farmacológicamente, lo que crea otro riesgo para el dador. En las páginas siguientes veremos cómo se ha resuelto o se están resolviendo todos estos problemas y cómo se ha llegado a un uso casi rutinario de la transfusión de granulocitos.

Un primer problema y su estado actual

1. Histocompatibilidad dador-receptor

Los requerimientos de la histocompatibilidad del dador y del receptor para la transfusión de leucocitos son actualmente muy poco conocidos (28) ; obviamente si la preparación de granulocito está contaminada con eritrocitos se hace necesaria la tipificación ABO. El primer problema es así la contaminación eritrocítica y se ha resuelto por una cuidadosa preparación (son soluciones técnicas) o bien una buena compatibilización ABO.

El conocimiento de la relación de las leucoaglutininas, anticuerpos linfocitotóxicos y compatibilidad HL-A con la transfusión de leucocitos está en pañales. En la literatura se ha descrito anticuerpos específicos contra leucocitos de dador que afectan en forma importante la sobrevivencia o la migración intravascular de granulocitos transfundidos y, por otro lado, estos anticuerpos se correlacionan bien con las reacciones transfusionales por incompatibilidad leucocitaria (las reacciones post-transfusionales en transfusión de granulocitos se han informado como muy frecuentes, llegando hasta cifras de 60 %, usando como dadores enfermos de leucemia mieloide crónica) (29).

La tipificación HL-A de linfocitos del dador y del receptor han demostrado que la presencia de diferencias en el fenotipo HL-A puede afectar la sobrevivencia intravascular de los granulocitos transfundidos. Se ha propuesto que para dadores no aloinmunizados (jamás transfundidos) la tipificación HL-A es innecesaria pero recomendable como rutina si existen antecedentes aún vagos que indiquen que el dador ha sido transfundido.

Recientemente se han descrito antígenos específicos granulocitos y leucoaglutinante independientes de HL - A (NA-1,2 ; NB 1 de Pellezari) (30). Cuál es la relación de estos mismos grupos y la leucoaglutinación y la duración de los leucocitos transfundidos es un problema que deberá estudiarse.

En pocas palabras, no se tiene actualmente un conocimiento suficiente para saber cómo compatibilizar racionalmente dador y receptor en la transfusión de granulocitos.

Estando así estos problemas, varios autores han propuesto el esquema siguiente :

- a) Compatibilizar dador y receptor para A-B-O-Rh
- b) Determinar si el receptor no tiene leucoaglutininas para los leucocitos del dador
- c) En algunos grupos se busca además la compatibilidad HL -A según el punto b), de tal manera que el dador y el receptor sean compatibles

Sin embargo, incluso con este esquema se tiene un 10 % de reacciones febriles transfusionales, lo que hace bastante difícil la interpretación del rol de la compatibilidad como se conoce hoy día en la transfusión de granulocitos.

Un segundo problema

2. La preparación del concentrado granulocítico

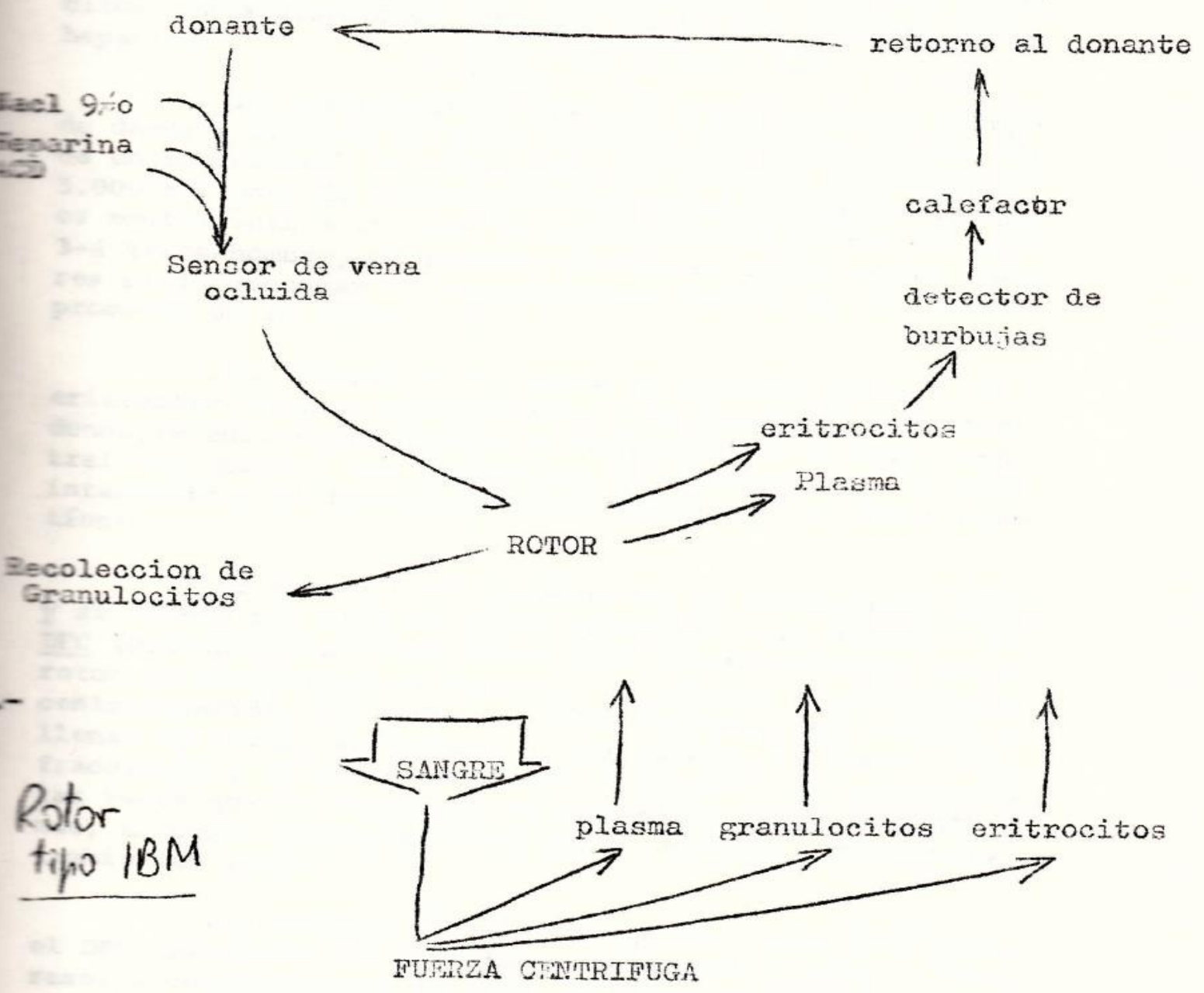
A partir del año 1960 aunaron esfuerzos el Instituto Nacional de Salud Norteamericano (NIH) y la empresa IBM para el desarrollo de un método viable para preparar granulocitos funcionantes a partir de sangre total.

Después de unos 5 a 6 años de desarrollo, en el año 1967 inició sus operaciones el método de centrifugación continua de preparación de células sanguíneas (CFC: Continuous Flow Blood Fractionation). Este método se fundamenta en que los granulocitos tienen una densidad promedio diferente de la densidad de las otras células sanguíneas, lo que permite separarlas si la sangre se somete a una cierta fuerza de gravedad; si se mantiene constante la densidad del medio, la fuerza de gravedad y la geometría del sistema, el granulocito (como promedio) siempre tomará la misma distribución y será diferente a la distribución de los eritrocitos o las plaquetas. En la práctica, sin embargo, se separan sólo los eritrocitos y los granulocitos y plaquetas salen del aparato en una mezcla de composición variable.

Veamos en el esquema N° 4 el tráfico de una muestra de sangre al fraccionador en NIH-IBM (CFC).

En la parte A del esquema hemos enumerado la línea de alimentación del fraccionador propiamente tal y la línea de salida del mismo: como puede verse, la sangre del dador anticoagulada con una mezcla ACD- heparina entra a un rotor de centrifugación continua que separa la sangre (parte B) en plasma con plaquetas, eritrocitos y leucocitos con plaquetas. La suspensión del eritrocito

Fig.4 Metodo de preparacion de granulocitos por CENTRIFUGACION



y el plasma rico en plaquetas se mezclan y reinfunden al dador bajo presión positiva previa detección de burbujas y calefacción a 37 grados. La suspensión, rica con leucocitos, está disponible para el uso en una solución ACD - heparina.

El procedimiento dura de 4 a 6 horas de tiempo de dador y depleta al dador de unos 300 ml de sangre rica en leucocitos. De cada dador se colectan alrededor de 5.000 millones de leucocitos como valor promedio. Lo que es equivalente a la tasa de requerimiento diario de unos 3-4 kilos/hombre, obviamente que hacen falta varios dadores para compensar el requerimiento diario de un hombre promedio de 70 kilos.

El Gráfico N° 4, parte B, podemos ver que el eritrocito viaja a equilibrarse a la periferia del rotor, donde se colecta; el plasma se equilibra en la zona central del rotor y los leucocitos se concentran en la zona intermedia y el fraccionamiento ocurre así en forma continua.

El sistema CFC requiere de un instrumento caro y se diseñó así bajo el mismo principio otro método: el DFC (Discontinuous Flow Blood Cell Fractionation); en un rotor de centrífuga se separan las células sanguíneas por centrifugación, se sacan los granulocitos, se vuelve a llenar el rotor, se espera el equilibrio, se sacan las fracciones y de nuevo se vuelve a repetir la operación las veces que se requiera. Al operar en forma discontinua, el costo del aparato es menor, pero la eficiencia también es menor.

Los métodos de centrifugación, tanto CFC como el DFC, requieren de aparataje complicado y caro, y Djerassi y colaboradores en 1970 (31) idearon un método ex-

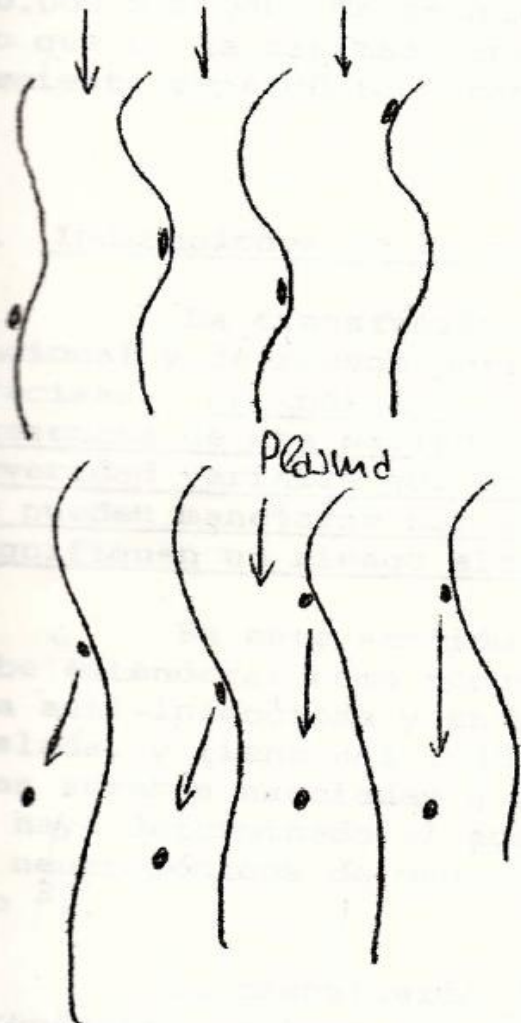
traordinariamente simple para la preparación de leucocitos granulocitos : si se pasa sangre por una superficie de nylon, los fagocitos se unen al plástico en forma reversible y se hace pasar sangre por una malla de fibra de nylon, por ejemplo, todos los granulocitos quedan retenidos en la malla de fibra nylon y todos los demás sistemas celulares atraviesan esta malla sin alterarse, esta metódica puede realizarse en forma manual o automática con rendimientos celulares excelentes, del orden de 40.000 millones a 100.000 millones de células por dador, lo que representa requerimiento diario de 25 a 50 kilos/hombre en feresis prolongada de 5 ó más horas.

En el Gráfico N° 5 se indica esquemáticamente el sistema de filtración para la obtención de granulocitos, tanto en sus fases inicial (adhesión de fagocitos de la sangre en la malla nylon) como la terminal (liberación de los granulocitos adheridos al nylon a reinfusión al receptor). El costo de instalación y de operación de la leucoferesis por filtración (Filtration Leucaferesis : FL) es sensiblemente menor que los métodos de centrifugación, pero se ha informado en forma repetida que la calidad biológica del granulocito se afecta en forma negativa en el procedimiento de la FL, lo que desgraciadamente reduce la eficiencia del mayor rendimiento numérico de este método.

Dado el riesgo y el costo de estos procedimientos, normalmente se administra una cantidad de granulocitos que se sabe reduce riesgos en las infecciones del paciente sin pretender en lo absoluto una normalización de recuento en sangre periférica de granulocito. (Por el contrario, una fracción importante de los granulocitos administrados desaparece rápidamente en la circulación para cumplir su rol biológico en los focos inflamatorios susceptibles que lo requieran).

5.- Preparacion de granulocitos por Filtracion en fibra Nylon^{mr}

Sangre Anticoagulada



Fagocitos se adhieren.
Las otras celulas pasan y se
reinfunden al dador

Se despegan los fagocitos y se
disuelven en el plasma del
dador

En este sentido se ha estimado que, por enfermo y por ocasión, se recomienda una transfusión de 5.000 a 10.000 millones de granulocitos por m^2 de superficie (32), lo que se ha estimado que permite una sobrevida mejor del paciente septicémico granulopénico (33).

3. Indicaciones de la transfusión del granulocito

La transfusión del granulocito, por su costo que racional y de riesgo para el dador, tiene indicaciones muy precisas : se indicará la transfusión de granulocitos en presencia de una NEUTROPENIA de cualquier etiología y de severidad variable que condiciona cuadros infecciosos que no pueden manejarse por terapia antibiótica habitual y que signifiquen un riesgo alto de mortalidad para el paciente.

En este sentido la transfusión de granulocitos debe entenderse como recurso asociado a la habitual terapia anti-infecciosa y en modo alguno debe usarse en forma aislada, y tiene una indicación fundamental en neutropenias severas asociadas a un cuadro infeccioso, aunque no se haya determinado el agente etiológico (sepsis clínica en neutropénicos de menos de 100 granulocitos por milímetro³).

La transfusión de granulocito es así un agente terapéutico valioso que debe administrarse en forma conjunta a todas las medidas de tratamiento de procesos infecciosos en pacientes neutropénicos y en la medida a que estas sean insuficientes para controlar la infección o bien en el cuadro neutropénico de una severidad tal (- de 100 neutrófilos por mm^3) que haga muy probable infecciones de curso severo.

Conviene recordar aquí que el hemograma sólo informa del nivel de granulocitos en el compartimiento vascular ; nada indica del estado de la reserva medular o de los otros compartimientos ; es por eso que la evolución clínica cuidadosa y el control seriado del recuento de granulocitos periféricos son indicadores más importantes que una determinación aislada.

Una vez indicada y realizada la transfusión, debe tenerse especial cuidado a la evaluación clínica y de laboratorio de la patología infecciosa y de la respuesta clínica del enfermo más que los recuentos de neutrófilos periféricos, ya que estos son indicadores de poca sensibilidad del efecto de la masa granulocito administrados.

Un tercer problema

4. El manejo clínico del dador

En la transfusión de granulocitos, independientemente del método de preparación del concentrado de granulocitos, se tiene una manipulación importante del dador y esto requiere que el procedimiento global deba ser supervigilado por personal médico y paramédico calificado.

Todo dador, una vez evaluada su compatibilidad, debe ser evaluado de acuerdo a normas de dadores de sangre, haciendo énfasis especial en interrogar acerca de sangramiento por mucosas o facilidad para algún tipo de sangramiento cutáneo (obviamente los antecedentes de hepatitis y lues deben ser evaluados detenidamente). Un examen físico inicial de tipo general se hace necesario (peso, estatura,

presión arterial y pulso periférico) y no se ha recomendado un examen físico regional exhaustivo.

Posteriormente se hace necesario también una evaluación de laboratorio orientado a este procedimiento, que incluye parámetros hematológicos (hemoglobina sobre 13,5 gr/dl si es hombre, y sobre 12,5 gr/dl si es una mujer (34); el recuento de plaquetas debe ser superior a $150.000 \times \text{mm}^3$, un tiempo de protrombina normal y un tiempo parcial de tromboplastina también normal; el recuento total y diferencial de granulocitos también debe estar dentro de límites normales.

Además, debe terminarse el tipo ABO-Rh del dador y se debe determinar la compatibilidad del dador y receptor para sus eritrocitos y leucocitos.

Es fundamental la determinación de antígeno de Australia y todo enfermo AUS (+) no podrá considerarse apto para donar independientemente de todo otro parámetro. El dador de granulocitos no puede donar hasta 4 ó 5 días después de haber donado sangre, siempre que los parámetros hematológicos estén en el rango normal.

Después de una transfusión de granulocitos, el recuento de leucocitos y granulocitos prácticamente no varía; el recuento de plaquetas puede caer en un 10 y 20 % y el hematocrito puede reducirse en 2 ó 3 puntos.

La pérdida de sangre en una transfusión de granulocitos se estima en unos 100 ml y dependen en gran parte del número de exámenes que se realizan.

Un dador se estima puede volver a donar granulocitos durante 3 ó 4 veces en período de 7 días, siempre que los parámetros clínicos y de laboratorio se mantengan en un rango normal.

Para aumentar el rendimiento de la donación de granulocitos se ha usado la administración de esteroides (para inducir una granulocitosis previa a la transfusión de granulocitos) y se ha utilizado también hidroxietilalmidón (para provocar una aglutinación reversible de los eritrocitos durante la preparación del concentrado de granulocitos), lo que requiere un buen control farmacológico en el paciente y, por otro lado, si se hace necesaria una anticoagulación completa del dador, ya sea por heparina o por ACD, debe vigilarse cuidadosamente este proceso.

Cuando se usa el ACD, a las complicaciones de la anticoagulación se agrega el riesgo potencial del uso del citrato intravenoso, como ser la hipocalcemia y la arritmia cardíaca, pero difícilmente una coagulopatía.

Normalmente se han administrado 450 ml de solución ACD en un período de 3 horas y en estas condiciones no se han descrito signos clínicos de hipocalcemia.

Otros problemas

5. Las complicaciones de la transfusión de granulocitos

La hipotensión hipovolémica : Cuando se usa la centrifugación continua o la separación por fibras nylon como método de preparación de granulocitos, normalmente se tiene unos 250 ml de sangre que está fuera del compartimiento vascular del dador ; al usar la centrifugación discontinua, se aumenta este volumen externo a unos 600 ml. Este último volumen excede lo autorizado para la donación de una unidad de sangre y puede alarmar al clíni-

co ; sin embargo, se debe recordar que gran parte de la masa eritrocítica al final del procedimiento vuelve al dador, con lo que el riesgo de una hipotensión hipovolémica es transitorio, pero debe mantenerse gran control clínico de la presión arterial del dador durante dicho período.

Hemorragia : El sangramiento por anticoagulación eficaz es un riesgo primordial del método de separación de granulocitos por fibra nylon, en que se usan dosis habituales del orden de los 20.000 unidades internacionales o incluso más de heparina. La preparación de granulocitos por centrifugación continua utiliza citrato (ACD) como anticoagulante, pero usualmente se administra pequeñas dosis (1.500 u) de heparina en forma concomitante y en este procedimiento el sangramiento por anticoagulación es raro. En la preparación de granulocito por la centrifugación discontinua se usa normalmente ACD como anticoagulante y el dador no sufre anticoagulación (sólo se mantiene en anticoagulación el contenido del rotor de la centrífuga). Si se ha utilizado heparina en grandes cantidades, algunos administran temporalmente protamina para neutralizar la anticoagulación heparínica, pero en la opinión de varios autores esta medida no se estima necesaria, por la corta vida media biológica de la heparina in vivo y porque el uso de la protamina no está libre de efectos tóxicos por sí misma.

Toxicidad del citrato : Cuando se usa centrifugación continua o discontinua como método de preparación de granulocito, a veces aparecen síntomas clínicos muy discretos de hipocalcemia, como hormigueo alrededor de la boca y en la punta de los dedos. Este síntoma guarda relación con la concentración y velocidad de transfusión de citrato en la sangre que se reinyecta al dador al término de la leucopheresis. Si se usa mezcla de heparina y citrato se ha visto que no se requiere cantidades altas de citrato y que

prácticamente desaparecen los síntomas clínicos descritos.

"Calofríos" : Los calofríos del dador se han visto en todos los métodos de leucoferesis. Indudablemente la sangre del dador se expone a temperatura ambiente, enfriándose, y si se le inyecta a temperatura más baja que la corporal produce síntoma y signos de calofríos. La centrifugación discontinua es más probable como inductora de escalofrío porque enfría volúmenes de sangre mayores. El uso de calefactores de sangre antes de la reinducción permite controlar esta complicación. Algunos calofríos pueden deberse a la liberación de pirógenos o moléculas pirogenosimiles por destrucción o daño de leucocitos y si bien este tipo de complicación no es muy frecuente (7 de 479 en una serie publicada (35)) se ha informado como más frecuente en la leucoferesis por filtración que en la centrifugación continua (36).

Embolismo : La embolización tanto por aire como por partículas es un riesgo obvio en un proceso tan complejo como la leucoferesis ; el riesgo es mayor en la centrifugación preparativa continua de los granulocitos y en el método de filtración en fibra nylon, porque la sangre vuelve al dador bajo presión de bombeo normalmente a una presión mayor que la que se usa en la transfusión por gravedad. Este factor es relativamente de poca importancia en la preparación de granulocito por centrifugación discontinua, porque la sangre vuelve al dador como en una transfusión corriente por efecto de la gravedad. Sin embargo, en todos los centros que usan transfusión de granulocitos es obligatorio el uso de trampas de burbujas y filtro de sangre como controles para minimizar este problema.

Hemólisis extracorpórea : No ha habido informes de una hemólisis importante en los métodos en uso y a pesar de esto se ha recomendado precaución en no provocar un stress mecánico exagerado e innecesario a la sangre durante el procedimiento de bombeo.

Toxicidad por drogas : La leucoferesis usualmente se asocia a la administración de una droga y si bien en forma teórica los métodos de centrifugación requieren sólo el uso de ACD, la mayoría de los investigadores han utilizado hidroxietilalmidón para provocar una aglutinación reversible que favorezca la sedimentación de los eritrocitos y así aumentar el rendimiento de la masa de granulocitos.

Otros grupos administran, antes de la preparación del concentrado, diferentes esteroides, como prednisona, dexametasona o etiocolanona para estimular la leucocitosis del dador y de esta manera aumentar el rendimiento de la masa granulocítica antes de procesarla.

En la leucoferesis por filtración en fibra nylon la administración de heparina es necesaria, con todos los riesgos que implica su uso.

Por estos antecedentes debe cuidarse la selección de los dadores de acuerdo al tipo de fármaco que se esté utilizando : por ejemplo, una mujer en período menstrual tiene alto riesgo con una heparinización eficiente y un diabético portador de úlcera gastroduodenal puede complicar su cuadro clínico por el uso de esteroides.

El uso de etiocolanona puede inducir síntomas de tipo gripal, que no deben preocupar mayormente, y por otro lado el uso de hidroxietilalmidón puede determinar una sobrecarga circulante de breve duración al ser reinfundido.

Por otro lado, cualquier droga tiene efectos tóxicos potenciales inesperados, por ser alérgenos, y finalmente la administración reiterada de estos fármacos en algunos enfermos puede tener efectos acumulativos que actualmente desconocemos.

Trombocitopenia : Durante cualquier procedimiento de leucóferesis se remueve también una cantidad variable pero real de plaquetas y se han descrito reducciones de 30 a 50.000 x mm³ al usar los métodos de centrifugación continua y filtración en fibra nylon, y de hasta 100.000 x mm³ al usar centrifugación discontinua. Si asociamos esta reducción de plaquetas al uso de anticoagulantes en cantidades altas, el riesgo de un sangramiento es un hecho real.

IV. LA EFICACIA DE LA TRANSFUSION DE GRANULOCITOS

Normalmente, en la literatura actual la transfusión de granulocíticos se ha utilizado en neutropenia severa (generalmente bajo 500 x mm³) y con fracaso terapéutico a asociaciones antibióticas poderosas, por lo que el grupo de pacientes seleccionados para esta terapia tienen una extraordinaria alta tasa de morbilidad y mortalidad. Son pocos los estudios que, a nuestro saber, han utilizado series controles seleccionadas al azar por un criterio uniforme. Solamente 4 trabajos recientes tienen estas características, por lo que serán brevemente analizados (37, 38, 39, 40).

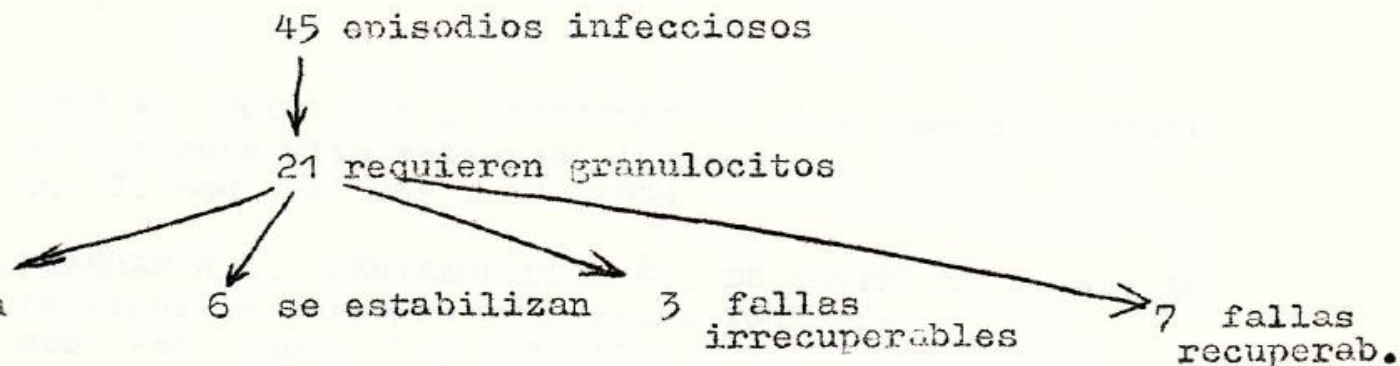
En ellos los pacientes se seleccionaron de acuerdo a criterio variable (- 1.000 granulocitos y hemocultivo positivo) (38), menos de 500 granulocitos, febriles y sin respuesta terapéutica de 48 horas de terapia antibacteriana (39) por ejemplo, y en forma aleatoria se fue aplicando el uso de concentrado de leucocitos obtenidos por diversos métodos, predominando la filtración en fibra nylon.

En la Tabla N° 2 se indican los resultados obtenidos, siendo evidente una mayor sobrevida inmediata en los transfundidos respecto a los controles.

Dada la urgencia clínica con que se ha planteado el uso de concentrados de leucocitos, es difícil de evaluar concretamente su utilidad y por ello creemos que en la información publicada a la fecha es insuficiente y muchas veces el médico clínico enfrentado a un paciente neutropénico severo infectado debe decidir el uso de concentrados de leucocitos solamente después del fracaso terapéutico de determinado esquema de uso antibiótico. En esta situación clínica, sin embargo, debemos recordar que es el único arma terapéutica que queda por usar ; de ahí su rol fundamental en el ámbito hospitalario y muy especialmente en los núcleos clínicos de tratamiento antineoplásico agresivo.

TABLA 2

Eficacia de la transfusión de granulocitos
 Un ejemplo reciente (ver ref.32)



Dosis de Granulocitos
 (en miles de millones por m²)
 promedios

99

34

20

24

B I B L I O G R A F I A

=====

1. FELD R., BODEY G.P., RODRIGUEZ et el : Causes of death in patients with malignant lymphoma.
Am. J. Med. Sc. 268 : 97, 1974
2. FREEMAN A.L., PANTAZOPOULUS N., DE CASTRO L. et al: Infections in children with acute leukemia.
Med. Ped. Oncol. 1 : 167, 1975
3. HERSH S.P., BODEY G.P., NIES B.A. et al : Causes of death in acute leukemia.
JAMA 193 : 99, 1965
4. MILLER S.P., SHANBROM E.: Infectious syndromes of leukemia and lymphoma.
Am. J. Med. Sc. 246 : 78, 1963
5. SILVER R.T., UTZ J.P., FREI E. III et al : Fever, infection and host resistance in acute leukemia.
Am. J. Med. 24 : 25, 1958
6. LEVINE A.S., SCHIMPF S.C., GRAW R.G. et al : Hematologic malignancies and other marrow failure states. Progress in the management of complicating infections.
Sem. Hematol. 11 : 141, 1974
7. LEVINE A.S., SIEGEL S.E., SCHREIBER A.D. et al : Protected environment and prophylactic antibiotics.
New Engl. J. Med. 288 : 477, 1973

8. SCHIPFF S., SATTERLEE W., YOUNG V.M. et al : Therapy with carbencillin and gentamicin for febrile cancer patients.
New Engl. J. Med. 284 : 1061, 1971
9. KLASTERSKY J., CAPPEL R., DANEAU D.: Therapy with carbenicillin and gentamicin for patients with cancer and severe infections caused by gram negative rods.
Cancer 31 : 331, 1973
10. RODRIGUEZ V., BURGUESS M., BODEY G. P.: Management of fever of unknown origin in patients with neoplasia and neutropenia.
Cancer 32 : 1007, 1973
11. TATTERSALL M.H., SPIERS A.S., DARRELL J.H.: Initial therapy with combination of five antibiotics in febrile patients with leukemia and neutropenia.
Lancet 1 : 162, 1972
12. BLOOMFIELD C.D., KENNEDY C.J.: Cephalotin-carbenicillin and gentamicin combination therapy for febrile patients with acute non lymphocytic leukemia.
Cancer 34 : 431, 1974
13. YATES J.W., HOLLAND J.F.: A controlled study of isolation and endogenous microbial suppression in acute myelocytic leukemia patients.
Cancer 32 : 1490, 1973
14. GRAW R.G., HERZIG G., PERRY S.: Normal granulocyte transfusion therapy.
New Engl. J. Med. 287 : 367, 1972
15. MC CRDI K.V., FREIRICH E.J., HESTER J.P.: Leukocyte transfusion therapy for patients with host-defense failure.
Transp. Proc. 5 : 1285, 1973

16. LOWENTHAL R.M., GOLDMAN J.M., BUSKARD N.A. et al : Granulocyte transfusions in treatment of infections in patients with acute leukemia and aplastic anemia.
Lancet 1 : 353, 1975
17. SCHIFFER C.A., BUCHHOLZ D.H., AISNER J. et al.: Clinical experience with transfusions of granulocytes obtained by continuous flow filtration leukapheresis.
Am. J. Med. 58 : 373, 1975
18. HIGBY D.J., YATES J.W., HENDERSON E.S. et al : Filtration leukapheresis for granulocyte transfusion therapy (clinical and laboratory studies).
New Engl. J. Med. 292 : 761, 1975
19. BODEY G.P., BUCKLEY M., SATHE Y.S. et al.: Quantitative relationship between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia.
Ann. Int. Med. 64 : 328, 1966
20. HUGHES W.T., SMITH D.R.: Infection during induction of remission in acute lymphocytic leukemia.
Cancer 31 : 1008, 1973
21. LIRA P.: Complicaciones hematológicas de la quimioterapia.
2° Curso de Postgrado para Médicos Generales en Quimioterapia en el Cáncer, Universidad Católica, 1976
22. WILLIAMS J., WILLIAMS E., BEUTLER A., ERSLEV R.W., RUNDLES : Hematology
Mc Graw Hill, 1975
23. QUIE P.G., MILLS E.L., HOLMES B.: Molecular events during phagocytosis by human neutrophils.
Prog. Hemat. X : 193, 1977

24. SENN H.J., JUNGI W.F.: Neutrophil migration in health and disease.
Sem. Hemat. 12 : 27, 1975
25. FINCH C.A., HARKER L.A., COOK J.D.: Kinetics of the form ed elements of human blood.
Blood 50 : 699, 1977
26. STRUMIA M.D.: The effect of leukocytic cream injections in the treatment of the neutropenias.
Am. J. Med. Sc. 187 : 527, 1934
27. MC CULLOUGH J.J.: Introduction to granulocyte function and donor selection for granulocyte transfusion.
Pag. 1 de Ref. 29
28. DOAN C.A.: The recognition of a biologic differentiation in the white blood cells with special reference to blood transfusions.
JAMA 86 : 1591, 1926
29. Leukapheresis and granulocyte transfusions. A technical workshop.
Am. Ass. Blood Bank, 1975
30. LALEZARI P.: NB 1 A new neutrophil-specific antigen involved in the pathogenesis of neonatal neutropenia.
J. Clin. Invest. 50 : 1108, 1971
31. DJERASSI I.: Gravity leukapheresis. A new method for collection of transfusable granulocyte.
Exp. Hemat. 5 (Suppl.) 139, 1977

32. SCHIFFER C.A., AISNER J., WIERNIK P.: Granulocyte transfusions : evaluation of factors influencing results and a comparison of filtration and intermittent centrifugation leukapheresis.
Brit. J. Hemat. 38 : 121, 1978
33. GOLDMAN J.M.: Leukocyte separation and transfusion (annotation)
Brit. J. Hemat. 28 : 271, 1974
34. 13.5 gr/dl para el hombre
12.5 gr/dl para las mujeres
35. NUSBACHER J.: Controlling the leukapheresis process.
Pág. 53 de Ref. 29
36. HIGBY D.J.: Filtration leukapheresis : a review.
Pág. 69 de Ref. 29
37. HIGBY D.J., YATES J.W., HENDERSON E.S. et al : Filtration leukapheresis for granulocyte transfusion therapy.
New Engl. J. Med., 292 : 761, 1975.
38. HERZIG R.H., HERZIG G.P., GRAW R.G. et al.: Granulocyte transfusion therapy for gram negative septicemia.
New Engl. J. Med., 296 : 701, 1977
39. ALAVI J.B., ROOT R.T., DJERASSI I. et al : Clinical trial of granulocyte transfusion for infection in acute leukemia.
New Engl. J. Med. 296 : 706, 1977
40. VOGLER W.R., WINTON E.F.: A controlled study of the efficacy of granulocyte transfusions in patients with neutropenia.
Am. J. Med. 63 : 548, 1977