

TRANSFUSION DE GRANULOCITOS EN ENFERMOS NEUTROPENICOS

POR LA VUELTA

JOSE FERNANDEZ^{1,2,3}, VIVIANA PRESSIANI^{1,2}, JORGE SOLIMANO^{1,2}, BENJAMIN KOZINER¹

¹ Unidades de Trasplante de Médula Osea, CEMIC (Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno) y FLENI (Fundación de Lucha contra las Enfermedades Neurológicas de la Infancia Dr. Luis Carrea); ² Secciones de Hematología y Hemoterapia, CEMIC y FLENI; ³ Servicio de Hematología y Hemoterapia, Corporación Médica de Gral. San Martín, Buenos Aires

Resumen Existe un renovado interés en el uso de transfusiones de granulocitos con el objetivo de ofrecer un mejor soporte a enfermos con neutropenia severa y prolongada. Ello se debe a los avances en la metodología de la movilización y colecta, lo que ha permitido la obtención de productos con mayor número y función de neutrófilos comparados a los obtenidos en la década del 70. En esta revisión se discute la experiencia referida en la literatura en las pasadas tres décadas, los progresos en la selección de donantes, y el uso de factores estimulantes de colonias y de separadores celulares. Comentamos también los efectos adversos, enfatizamos sus indicaciones actuales, y nuestra propia experiencia en la utilización de transfusiones granulocíticas. Es de esperar que los progresos realizados en esta área justifiquen tener en cuenta a las transfusiones de granulocitos en el tratamiento del paciente con neutropenia severa, y que ofrezcan documentación que permita no reiterar las decepciones experimentadas en los últimos veinte años.

Palabras clave: granulocito, neutrófilo, aféresis, factores estimulantes

Abstract *Granulocyte transfusions for neutropenic patients.* A renewed interest in the transfusion of granulocytes for support of patients afflicted by severe and prolonged neutropenia has resulted from improved methods of mobilization and collection that provide cellular products superior in number and functions as compared with historical experiences of the 70's. In this review we discuss the clinical experience reported in the literature over the past three decades, the progress made in donor selection, the use of growth factors and mechanical apheresis. We comment on adverse effects, emphasize present indications and our own experience for the use of granulocyte transfusions. Hopefully, the progress made in this area will justify the consideration of granulocyte transfusions in the management of the severely neutropenic patient and provide proper documentation to avoid repeating the disappointment experienced in the previous two decades.

Key words: granulocyte, neutrophil, transfusion, neutropenia, apheresis, growth factors

La transfusión de granulocitos (TG) fue utilizada por décadas en el tratamiento de pacientes con infecciones severas relacionadas a neutropenia profunda y prolongada¹. Los enfermos con una cifra absoluta de neutrófilos debajo de $0.5 \times 10^9/l$, por tiempo prolongado, presentan alto riesgo de contraer infecciones bacterianas o por hongos^{2,3}. En pacientes con recuentos de granulocitos inferiores a $0.2 \times 10^9/l$ la posibilidad de presentar sepsis de difícil control es un evento observado de manera casi universal⁴. Los regímenes de quimioterapia anti-neoplásica se han tornado cada vez más potentes y con mayor capacidad de ablación medular⁵ y, como consecuencia de ello, la morbilidad y la mortandad secundaria

a infecciones oportunistas constituye aún hoy un importante desafío¹. La mortalidad aumenta en pacientes de alto riesgo definidos por Pizzo como aquellos con neutropenia mayor a 10 días⁶ o cuando coexiste infección progresiva, definida esta como falla en obtener respuesta a la terapéutica contra los agentes causales, conocidos o no^{3,7}.

Aproximadamente en 30 a 50% de los pacientes se logra identificar el agente etiológico, pero aún en estas circunstancias el tratamiento antibacteriano o antifúngico puede no ser suficiente para erradicar infecciones que comprometen la vida^{7,9}. Es por ello que el acelerar la recuperación de neutrófilos u obtener su repleción por el suplir externo son disposiciones que parecen poseer una lógica adecuada. Sin embargo, la segunda medida cayó en marcado desuso y fue incluso desaconsejada. ¿Por qué?

Principalmente en la década del 70, fueron realizados numerosos estudios básicos y clínicos que demos-

Recibido: 1-X-1999

Aceptado: 13-IX-2000

Dirección postal: Dr. José Fernández, Servicio de Hematología y Hemoterapia, CEMIC, Las Heras 2900, 1425 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11) 4709-0688 e-mail: pp22@arnet.com.ar

traron el aumento de los granulocitos circulantes luego de su infusión, y muchos trabajos con escasos pacientes sugirieron la posibilidad que se obtenía beneficio clínico en enfermos neutropénicos con infección bacteriana documentada. Fueron menos numerosos los trabajos en pacientes con infecciones fúngicas y en estos no existió inferencia benéfica de las TG^{10, 17}. Incluso, el entusiasmo fue tal, que algunos autores propiciaron el uso profiláctico de las TG sin trabajos que documentaran su beneficio, a tal punto que Higby¹⁰ y Strauss¹⁸ plantearon que continuar realizando estudios controlados era innecesario y hasta pudiera ser considerado anti-ético. Sin embargo, el interés de esta práctica decae a principios de los 80 y continúa hasta más de la mitad de la década de los 90, cuando aparecen una serie de artículos que intentan revitalizar y justificar su utilización. Existieron diferentes causas para que las TG cayeran en desuso que se intentarán enumerar: 1) complicaciones operativas. Se requerían dos o más TG diarias lo que implicaba marcados inconvenientes en la donación, significativo consumo de tiempo e importantes esfuerzos de coordinación entre la recolección y la transfusión, 2) antibióticos más efectivos², 3) aparición de los factores estimulantes de colonias (FEC)¹⁹, 4) mayor familiaridad con algunos síndromes específicos (p. ej. candidiasis hepatoesplénica)²⁰, 5) mayor experiencia de los grupos infectológicos en el manejo del enfermo neutropénico y febril, 6) temor a las frecuentes reacciones indeseadas de las TG, fundamentalmente pulmonares²¹, 7) aumento de la incidencia de refractariedad a plaquetas por aloimmunización anti HLA²², 8) temor a la transmisión de enfermedades por hemo-componentes²³, y en nuestra opinión el punto más importante, 9) lo oneroso del procedimiento, que en la razón costo/beneficio probablemente inclinase el fiel hacia el primer término de la relación.

No obstante, tal cual se manifestó precedentemente, existe un renovado interés en la utilización de TG puesto que muchas de las inconveniencias se podrían subsanar con nuevos aportes^{1, 23, 37}. En primer lugar, la recolección por donante podría alcanzar números de granulocitos marcadamente superiores por tres circunstancias: la primera es la administración de FEC al dador, la segunda es la mejor capacidad de las máquinas de aféresis actuales en la cosecha celular y por último la posibilidad de procesar grandes volúmenes de sangre. El aumento de neutrófilos en el producto, respecto de lo obtenido en los 70', oscilaría entre 400 y 500%¹; además, se especula que el uso de factores estimulantes brinda granulocitos con mejor funcionalidad y mayor vida media, observándose incrementos post-transfusión que perduran más allá de las 24 horas¹. A ello debe agregarse la mayor capacidad de los laboratorios para descartar enfermedades transmisibles por sangre y para ofrecer estudios que permitan detectar donantes con mayor

homología HLA y descartar a aquellos hacia los cuales el receptor presente anticuerpos anti-granulocíticos. La gran mayoría de lo antedicho redundaría en una mayor cantidad de neutrófilos en circulación y/o en los sitios de infección y con mayor tiempo de vida, lo que permitiría menor número de aféresis. Todos estos puntos se analizarán con detenimiento más adelante.

No nos referiremos en este artículo a otros usos de la TG tales como enfermedad granulomatosa crónica, disfunciones severas de los neutrófilos o sepsis neonatal.

Antecedentes

Inicialmente se utilizaron donantes con leucemia mieloide crónica y que poseían elevados conteos leucocitarios. Se constató algún beneficio en los enfermos que habían recibido dosis muy elevadas de granulocitos³⁸. Treinta y cuatro artículos refieren el uso de TG más terapia antimicrobiana y fueron analizados por Chanock y Gorlin⁹ a partir de meta-análisis previos de Strauss^{23, 24, 36} sobre 34 trabajos.

En su gran mayoría correspondían a la década del 70 y fueron evaluables solamente el 51% de los pacientes tratados. Evolucionaron satisfactoriamente el 63% (rango: 11-89) con porcentajes de éxito superiores al promedio en las septicemias a Gram positivos, infecciones localizadas y en fiebre de origen desconocido. Las infecciones fúngicas (sepsis, sinusitis y neumonía) presentaron evolución favorable en menos de un tercio de los casos. Muchos de estos estudios fueron no controlados, con escaso número de pacientes, con diversos tipos de infección y enfermedades de base y con distintas cantidades e incluso calidad de granulocitos transfundidos (Tabla 1).

Ello hace que pretender extraer conclusiones se convierta en hecho seguramente imprudente. Por dicho motivo resulta más adecuado el análisis de los siete trabajos con mejor metodología de estudio. En todos ellos se valoró la evolución de dos grupos de pacientes neutropénicos e infectados: un grupo bajo antimicrobianos y TG y un grupo control sin TG^{11, 17}. Tres de ellos demostraron diferencia estadísticamente significativa en la supervivencia a favor del grupo con TG^{14, 16}. En dos artículos^{11, 13} fue demostrado éxito a favor de los enfermos con TG en el sobrevivir de algunos grupos. En el primer trabajo¹¹, vivieron el 80% de los pacientes que recibieron TG en al menos cuatro oportunidades mientras que sólo lo hicieron el 30% de los transfundidos con granulocitos en tres o menos de tres ocasiones. En la otra publicación¹³, se describe que el 80% de los pacientes con insuficiencia persistente de la médula ósea sobrevivieron en el grupo con TG comparado con el 20% del grupo control. Dos trabajos no mostraron beneficio^{12, 17}. Al analizar estas diferencias en la efectividad de las

TABLA 1.— Evolución de pacientes neutropénicos tratados con transfusiones de granulocitos. Resumen de 34 artículos. Adaptados de Strauss R^{23, 24, 34}

Tipo de infección	Tratados	Evaluables	Respuesta satisfactoria	
			N°	%
Septicemias totales	437	248	145	59
Gram negativos	238	172	103	60
Gram positivos	44	18	16	89
Poli- microbiana	16	16	8	50
Fúngicas	7	3	-	-
Sin documentación	132	39	18	46
Neomunías totales	130	45	23	51
Bacterianas	5	-	-	-
Fúngicas	10	9	1	11
Sin documentación	115	11	7	64
Infecciones localizadas	143	47	39	83
Fiebre de origen indeterminado	184	85	64	75
Otras infecciones fúngicas invasoras	66	65	17	33
Total	960	490	288	60

TABLA 2.— Resultados de 7 estudios controlados que valoraron la eficacia de las transfusiones de granulocitos en pacientes neutropénicos. Adaptado de Strauss R^{23, 24, 34}

Autores	Grupo con TG		Grupo sin TG		Exito	Tipo de leuco-aféresis	Dosis de granulocitos por 10 ¹⁰	Adminis-tración	Selección por HLA	Ac Anti-granu-locitos
	N° de pac.	% de sobrevida	N° de pac.	% de sobrevida						
Higby y col. ¹⁵	17	76	19	26	Sí	Filtración	2.2	Diaria	No	Sí
Vogler y col. ¹⁶	17	59	13	15	Sí	Centrifugación	2.7	Diaria	Sí	Sí
Herzing y col. ¹⁴	13	75	14	36	Sí	Ambas	0.4-1.7	Diaria	No	Sí
Alavi y col. ¹¹	12	82	19	62	Parcial	Filtración	5.9	Diaria	No	No
Graw y col. ¹³	39	46	37	30	Parcial	Ambas	0.6-2	Diaria	No	Sí
Winston y col. ¹⁷	48	63	47	72	No	Centrifugación	0.5	Diaria	No	No
Fortuny y col. ¹²	17	78	22	80	No	Centrifugación	0.4	Diaria	No	Sí
Total	163	65	171	51	p<.03					

Ac: Anticuerpos

TG se advierte: a) en los tres trabajos en los que la TG fue exitosa, la cifra de neutrófilos infundida fue $\geq 1.7 \times 10^{10}/\text{día}$, b) los donantes tenían compatibilidad eritro y granulocítica con el receptor, c) en los estudios negativos la dosis de granulocitos fue marcadamente inferior: $0.41-0.56 \times 10^{10}/\text{día}$ y por último, d) en algunos fueron utilizadas técnicas de filtración las que posteriormente demostraron que provocaban disfunción celular^{12, 14} y en otros los donantes fueron seleccionados exclusivamente sobre la base de la compatibilidad eritrocitaria. El meta-

análisis de estos siete trabajos muestra que la supervivencia media en los grupos con TG fue de 65% y en los grupos controles de 51%, lo que arroja una diferencia estadísticamente significativa (Tabla 2).

Ninguno de estos trabajos fue randomizado, los grupos de pacientes fueron seleccionados por disponibilidad de donantes, ABO compatibilidad, presencia de anticuerpos anti granulocitos y compatibilidad HLA.

En seis artículos fue valorada la TG profiláctica y en sólo dos de ellos existió diferencia estadísticamente sig-

nificativa a favor de la TG en la utilidad para evitar infección. Sin embargo, no se demostró diferencia en la supervivencia entre los grupos y sí marcado agregado de morbilidad: alo-inmunización plaquetaria, reacciones por transfusión, infiltrados pulmonares e incremento de enfermedad por CMV^{39, 44}. Es por ello que las TG profilácticas no contaron con el aval necesario para recomendar su utilización a partir de los trabajos originales. No obstante, Vamvakas y Pineda refieren en 1997 un meta-análisis de 8 trabajos elegidos y publicados entre 1970 y 1995. Concluyen que la transfusión de dosis adecuadas de granulocitos compatibles, suministrados en forma profiláctica reduce el riesgo relativo de infección, muerte y muerte por infección ($p < 0.05$)³⁰.

Progresos en la movilización y recolección de granulocitos

Selección del donante de granulocitos

A efectos de mejorar la recolección de granulocitos, la correcta selección del donante es de importancia sustantiva. Los concentrados de granulocitos poseen importante cantidad de glóbulos rojos, por lo tanto el dador debe ser ABO compatible con el receptor y Rh idéntico^{45, 47}. Los granulocitos poseen antígenos HLA, ciertos antígenos eritrocitarios y otros granulocito-específicos. Los pacientes que reciben transfusiones de neutrófilos pueden presentar alo-inmunización por transfusiones, embarazos previos y obviamente por las propias transfusiones de granulocitos; es conocido el hecho que tanto la recuperación, la vida media y la capacidad de migración hacia los sitios de infección de esta célula están comprometidas en los pacientes que desarrollan tanto anticuerpos granulocito-específicos como HLA relacionados^{48, 49}. No obstante, es operativamente muy complejo disponer de donantes HLA idénticos excepto en pacientes sometidos a trasplante alogénico donde el donante de células progenitoras hematopoyéticas puede ser donante reiterado de granulocitos. La determinación de la presencia de anticuerpos anti-HLA y anti-granulocitarios es una medida rápida que puede permitir obtener donantes más compatibles con el receptor.

El hecho de utilizar donantes consanguíneos puede ser una decisión correcta en algunas circunstancias por la habitual mayor similitud HLA; constituye una excepción el paciente con aplasia medular que ha de ser sometido a un trasplante alogénico posterior.

Un importante aprendizaje que se obtiene de los estudios de la década del 70 fue que seleccionar donantes sobre la única base de la compatibilidad eritrocitaria era insuficiente y se asoció a falta de beneficios de la TG⁹.

En base a la experiencia de Schiffer¹, Chanock⁹ y Strauss^{23, 24} la selección de donantes debe ser aquellos sin anticuerpos HLA ni granulocíticos ABO compatibles, con serologías negativas.

Factores estimulantes de colonias

Se han desarrollado distintos métodos de movilización y recolección de granulocitos con el principal objetivo de aumentar la cosecha de éstos y obtener un número mayor para ser transfundido. El uso de separadores por centrifugación de flujo continuo o discontinuo constituye el método de elección para la obtención de concentrados granulocitarios (CG)⁵⁰. La AABB requiere al menos 1×10^{10} granulocitos por concentrado recolectado^{45, 46}. Si consideramos que la liberación medular de granulocitos diaria se halla en la potencia 12 y, además, puede aumentar de 3 a 4 veces por estímulos farmacológicos o de otra índole²⁵, la cifra recomendada por la AABB es baja para obtener los beneficios terapéuticos pretendidos^{51, 52}. Es opinión generalizada la necesidad de su modificación a la luz del propósito actual de obtener mayores cantidades de granulocitos. Concentraciones mayores a 4×10^{10} son con las que probablemente se obtengan mejores respuestas y constituyen los números diana a los que debemos apuntar^{47, 53}.

La introducción de los FEC ha disminuido la duración de la neutropenia inducida por agentes mielotóxicos^{21, 53}. Su uso es liberal y en la práctica clínica se han incorporado estas drogas como tratamiento adyuvante y rutinario en el paciente neutropénico o en vías de estarlo. Un comité de la American Society of Clinical Oncology ha producido guías y recomendaciones para asistir al médico en el uso juicioso de los FEC en la terapia de soporte^{54, 55}.

Los FEC, fundamentalmente G-CSF, se utilizan también con marcado éxito para la movilización de células progenitoras hematopoyéticas, las cuales poseen la capacidad de repoblar la médula luego de protocolos de radio y/o quimioterapia ablativos. La capacidad del G-CSF en provocar la aparición en sangre periférica de una importante cantidad de células con atributos para reconstituir la función medular a corto y largo plazo ha obviado la recolección de médula ósea en la mayoría de los protocolos de trasplante. Inicialmente sólo eran utilizados FEC en el donante-receptor de un trasplante autólogo^{56, 58}. Más recientemente los donantes sanos de células progenitoras para trasplante alogénico también son movilizados de igual forma, obteniéndose excelente número de dichas células, con muy buena respuesta clínica post-trasplante y con escasos efectos colaterales para el donante^{59, 67}. Con similar línea de razonamiento se utiliza G-CSF para la obtención de mayor cantidad de granulocitos a partir de donantes sanos para ser transfundidos posteriormente al receptor, adulto o pediátrico^{27, 68, 76}.

TABLA 3.— Esquemas para movilización de granulocitos con factores estimulantes de colonias con el agregado o no de esteroides

Autores	Dosis de FEC y/o corticoides y tiempo previo a la recolección de granulocitos	Cifras de granulocitos previas a la recolección	Cifras de granulocitos obtenidas por concentrado
Leitman y col ^{89, 90}	G-CSF 5 µg/kg más 8 mg de dexametasona 12 horas antes	29 ± 3.6 x 10 ⁹ /l	7.4 x 10 ¹⁰
Worel y col ⁷⁴	G-CSF 5 µ/kg/día por 4 días dexametasona 12 horas antes	-	5.9 x 10 ¹⁰
Bowden y col ⁹¹	G-CSF 600 µg más 8 mg de	32 x 10 ⁹ /l	18 x 10 ¹⁰
Adkins y col ^{88, 92}	G-CSF 10 µg/kg 12 horas	-	5.1 por 10 ¹⁰
Jendiroba y col ⁵	G-CSF 5 µg/día x 2 vs G-CSF 5 µg/día por medio vs Prednisona (20 mg, 17, 12 y 2 horas)	Los regímenes con G-CSF superaron en 145 y 160% a prednisona sola	Los regímenes con G-CSF superaron en 65 y 75% a prednisona sola
Liles y col ⁷²	G-CSF 600 µg y 8 mg de dexametasona 12 horas antes vs G-CSF a dosis de 300 µg con o sin dexametasona 12 horas antes y vs G-CSF a dosis de 600 µg sin dexametasona	36.0 x 10 ⁹ /l a 43.0 x 10 ⁹ /l	-

Además de incrementar el número de granulocitos movilizados, se ha descrito la capacidad de los FEC, tanto G como GM-CSF para activar neutrófilos⁷⁷ y datos *in vitro* sugirieron un aumento marcado de la actividad microbicida de los polimorfonucleares luego del tratamiento con estas citoquinas⁷⁸; el mecanismo por el cual logran este efecto consiste en la habilidad de estos factores o de moléculas pro-inflamatorias inducidas por ellos para preparar el sistema de la cadena respiratoria celular que permitiría una respuesta más vigorosa frente a un segundo estímulo⁷⁹. Por el contrario, los neutrófilos estimulados presentan incremento de la expresión antigénica en su superficie de CD11b, CD18, CD14, y de receptores Fc (CD32, CD64) pero *in vivo* fallaron en aumentar su capacidad bactericida y de migración⁷⁰. Stroncek y col. demostraron luego de 10 días de estimulación con G-CSF disminución de L-selectina, del receptor FcγRIII y del antígeno CD11a y aumento de expresión de FcγRII y CD14. La mayoría de los cambios ocurrieron luego de la primera dosis y los autores sugieren un probable acrecentamiento de la función fundamentalmente por la expresión aumentada de CD14, que es proteína receptora de lipopolisacáridos bacterianos⁸⁰. El grupo catalán describe los cambios fenotípicos del granulocito luego de la estimulación con G-CSF. Refieren incrementos de la expresión de HLA-DR, CD34, CD14 y CD71 con disminución de CD10 y CD15 y los autores sugieren que dichos cambios después de la estimulación con G-CSF implican la presencia de neutrófilos con fenotipo más inmaduro y con aumento de su funcionalidad⁸¹. Fue demostrado en varios trabajos el alargamiento de la vida media del neutrófilo en la circulación^{60, 68}. En el artículo de Bensinger y col.⁶⁰,

el nivel promedio de granulocitos en circulación a las 24 horas posteriores a la infusión fue de 954 por mm³ contra 50 por mm³ de los grupos históricos; debe tenerse en cuenta que en esta serie el donante de granulocitos fue el mismo que el de médula ósea y pese a no haberse realizado detección de anticuerpos anti-granulocíticos, probablemente el apareamiento HLA idéntico ocasionara importantes ventajas para la sobrevivencia del neutrófilo. Existen diversos estudios de laboratorio que demuestran que los granulocitos movilizados con citoquinas son más resistentes a la apoptosis^{82, 85} y se ha comprobado que el agregado de γ-interferón retarda la muerte celular programada y prolonga la vida media durante el almacenamiento del producto de aféresis^{86, 87}. Se ha demostrado, además, que los granulocitos obtenidos luego de la estimulación con G-CSF y marcados con indio migraron hacia los sitios de infección⁸⁸. La posología y el momento de la administración de los FEC con agregado o no de esteroides no se hallan definidos al presente. Distintos trabajos recomiendan estrategias diferentes en este aspecto (Tabla 3).

Separadores celulares

La recolección basada en gradientes de densidad bajo fuerzas centrífugas cosechan junto con los granulocitos una importante cantidad de células de estirpe eritroide. Por dicho motivo se han suministrado sustancias que incrementan el gradiente de densidad y así facilitan la sedimentación de eritrocitos; los dextranos y el hexa y pentastarch han sido utilizados para dicho objetivo. El hetastarch al 6% ha demostrado ser el más efectivo y el que presenta menor cantidad de reacciones adversas

tales como edema y aumento de peso^{94, 95}. Grigg y col. han obtenido recolecciones exitosas empleando dextrano 40 o 70 y una interfaz que permita introducirse en la capa de eritrocitos, de tal forma de no perder gran cantidad de granulocitos no separados de ella⁹⁶. Utilizando esta metodología en 55 recolecciones de 26 donantes movilizados con G-CSF obtuvieron cifras satisfactorias de granulocitos a transfundir; no obstante, los autores refieren una débil correlación entre la cifra de neutrófilos transfundida y la cuenta recuperadora⁹⁷; este dato es sugerido por otros trabajos y puede obedecer a distintos factores: p. ej. falta de compatibilidad leucocitaria, importante migración a sitios de infección y/o lesión del leucocito por almacenamiento o radiación.

Un importante avance, reconocido por la necesidad de obtener recolecciones con cantidades suficientes de CD34⁺ en los procedimientos con donantes para trasplante autólogo y alogénico, consistió en el hecho de procesar grandes volúmenes (de 3-5 volemias) sin haberse observado inconvenientes de significación si se consideran atentamente los recaudos para evitar la toxicidad del citrato^{98, 106}.

Experiencia actual de las TG terapéuticas y profilácticas

En los últimos años se han publicado trabajos en los que se refiere beneficios en la evolución de pacientes con infecciones severas o en la profilaxis de éstas con TG. Ninguno de los trabajos es controlado, siendo la mayoría de escasa cantidad de pacientes.

Las experiencias más importantes en transfusión de granulocitos terapéutica han sido las de MD Anderson^{108, 109, 110}, Bowden⁹¹, Illerhaus¹¹⁶, Aufferman¹¹⁷ y Peters¹¹⁸ en adultos y en población pediátrica se han publicado dos series de De Montalembert¹¹⁹ y Kolher⁷⁵.

El grupo del MD Anderson, publica estudios piloto en el cual se administran TG a pacientes adultos con infecciones fúngicas documentadas refractarias a anfotericina B y con cifras de neutrófilos inferiores a $0.5 \times 10^9/l$. Fueron incorporados 38 pacientes (Aspergillus: 18, Fusarium: 6, Candida: 8 y otros: 6). Los enfermos recibieron una media de 8 TG (r: 3-23) con un promedio de 4.1×10^{10} granulocitos por transfusión (r: 1-11.6). Las recuperaciones medias de granulocitos a la 1 hora y a las 24 horas fueron de 1.2 y $0.7 \times 10^9/l$, respectivamente. Veinte pacientes tuvieron respuesta favorable y 8 de ellos permanecieron libres de infección tres semanas después de la terapéutica; los autores concluyen que las TG son una modalidad promisorias en el tratamiento de infecciones fúngicas asociadas a neutropenia^{108, 109}; en un artículo previo, informan que la toxicidad no fue significativa en los donantes y existió tendencia a una mejor res-

puesta en aquellos enfermos que iniciaron las TG tempranamente¹¹⁰. Boutati y Anaissie presentan pacientes neutropénicos propios del MD Anderson y de la literatura con infecciones invasoras por el hongo Fusarium y refieren que la respuesta se presentó asociada a TG y a fórmulas lipídicas de anfotericina B¹¹¹. El mismo grupo describe un paciente con aspergilosis de senos paranasales y trasplante alogénico de médula ósea por leucemia mieloblástica aguda refractaria; el tratamiento combinado de cirugía, anfotericina y TG resultó efectivo¹¹². Bowden y col. estudiaron la evolución de 11 pacientes neutropénicos, 8 de ellos post-trasplante de médula ósea, en los que se anticipaba 5 o más días de neutropenia y con infecciones bacterianas o fúngicas que comprometían sus vidas. El recuento de granulocitos transfundidos presentó una media de 8×10^{10} y las TG fueron iniciadas al día + 19 de promedio. Diez pacientes presentaban recuento 0 de neutrófilos pre-tratamiento con TG. Los enfermos recibieron una media de 7 TG (r: 1-14). Después de la segunda TG, la media de neutrófilos en el conteo a la hora fue de $1.8 \times 10^9/l$ y aparecieron granulocitos en el lavado oral a las 4 horas post-transfusión. Un paciente presentó caída significativa de la PO_2 y otro paciente presentó hipoxia leve durante 3 de las últimas 7 TG. Tres de los 11 pacientes presentaron respuesta a la infección. Los autores concluyen que las TG de donantes no relacionados son posibles, seguras y provocan excelentes incrementos de granulocitos en el 90% de los pacientes; además, sugieren que su eficacia debe ser evaluada en trabajos aleatorios⁹¹. En Alemania, Illerhaus y col. describen 24 pacientes neutropénicos, y con infección documentada que recibieron un promedio de 3 TG (r: 1-25) con 1×10^{10} granulocitos de media. Tres enfermos (aspergilosis pulmonar: 2, y enterococo multi-resistente + cándida: 1), se recuperaron del cuadro infeccioso. Otros tres pacientes (aspergilosis pulmonar: 2, e infiltrados pulmonares de origen no determinado: 1) fallecieron¹¹⁶. Auffermann y col. describen 17 pacientes que recibieron TG por neutropenia, fiebre e infiltrados pulmonares sin respuesta luego de 48 horas con tratamientos antibacteriano y antimicótico combinados. Siete de los 17 pacientes recibieron catecolaminas debido a trastornos hemodinámicos por sepsis. Los CG contaban con una media de 5.5×10^{10} por infusión. Los 10 pacientes sin requerimientos de catecolaminas sobrevivieron al cuadro infeccioso así como 2 de 5 que las habían requerido. Las TG fueron bien toleradas y no se constató toxicidad pulmonar¹¹⁷. Peters y col. presentan 30 pacientes con cifra de neutrófilos menor de $0.2 \times 10^9/l$, 17 con infecciones bacterianas y 13 con infecciones fúngicas (9 de ellos con Aspergilosis). Los donantes de granulocitos fueron estimulados con G-CSF o prednisolona y los concentrados obtenidos con factor estimulante fueron superiores aproximadamente en ocho

veces en el número de granulocitos. Fueron administradas un promedio de 7 TG y la duración media del tratamiento fue de 8 días. La probabilidad de alcanzar cifras de neutrófilos superiores a $0.5 \times 10^9/l$ dentro de los 5 días fue de 83%. Luego de 100 días de iniciado el tratamiento, 82% de los pacientes con infecciones bacterianas y 38% de los pacientes con infecciones fúngicas se hallaban vivos y sin evidencia de infección. Los autores concluyen que las TG pueden ser de utilidad en pacientes con neutropenia severa y sepsis sin respuesta a tratamiento convencional. Argumentan, además, la necesidad de estudios comparativos aleatorios¹¹⁸.

De Montalembert y col. describen su experiencia con TG en 45 niños de 5 años de edad y 15.2 kg de peso de promedio, respectivamente. Veinticuatro fueron sometidos a trasplante alogénico, 1 a trasplante autólogo, 16 a quimioterapia, y en 4 niños existía disfunción severa del neutrófilo. La dosis media de los TG fue de 0.9×10^9 . Los 45 niños recibieron 316 TG. Veintiséis de los 37 niños neutropénicos evaluables tuvieron evolución favorable. Cuatro niños presentaron complicaciones pulmonares; en tres de ellos agravamiento de patología pulmonar previa y en uno se observó neumopatía intersticial horas después de la TG. En todos ellos, los cuadros retrogradaron con la suspensión de las TG. Dos niños presentaron alo-inmunización Rh y 1 paciente que recibió 87 TG desarrolló alo-inmunización masiva a antígenos HLA¹¹⁹. Kolher y col. describen 9 niños con neutropenia que recibieron 97 TG con un promedio de 2.14×10^{10} por unidad transfundida. Todos los pacientes presentaron evolución favorable de su infección severa y mostraron disminución de los parámetros de ésta como resultado de la TG⁷⁵.

Existen escasas publicaciones actuales referidas a la utilización profiláctica de las TG. Dos publicaciones actuales demuestran la experiencia de las TG profilácticas, el grupo de MD Anderson¹²⁰ sin resultado positivo y el grupo de Addkins con resultados auspiciosos¹²¹. Por otro lado el grupo español de Galmés¹²² reporta buena viabilidad de neutrófilos criopreservados. Las TG propios podría constituir una alternativa válida y operativamente conveniente de confirmarse clínicamente un artículo reciente del grupo balear. Galmés y col. refieren que los granulocitos de 11 pacientes fueron crío-preservados a -80°C con dimetil-sulfóxido al 5%, hidróxi-etil-almidón al 3% y albúmina al 10% y descongelados una semana más tarde. Presentaban elevada recuperación en el conteo y en la viabilidad mensurada con tripan blue. El índice de apoptosis y la actividad bactericida (esta última determinada por reacción de polimerasa en cadena) tuvieron resultados similares a los basales y se observó incremento post-descongelación de la actividad de fagocitosis contra estafilococo, neumococo y hemophilus¹²².

Efectos adversos de la transfusión de granulocitos

Las reacciones febriles representan un evento común y se refieren en el 25-50% de los trabajos publicados. Sin embargo, sólo el 1% de ellas son severas^{26, 123}. La transfusión de granulocitos se puede asociar al desarrollo de alo-anticuerpos que reaccionen tanto con antígenos HLA específicos como neutrófilo específicos, lo que puede ocasionar refractariedad a la TG y también a plaquetas^{39, 124}. La infección por citomegalovirus constituye un riesgo de importancia en receptores de TG seronegativos. Los receptores CMV negativos deben recibir productos CMV negativos²⁶. El más serio efecto adverso lo constituye la reacción pulmonar aguda post-TG¹²⁵ ya sea por sobrecarga de volumen (HES, dextranos), por secuestro granulocítico en áreas de infección pulmonar que se hallaban previamente libres de exudación, por agregados de granulocitos dentro de la red vascular pulmonar debido a leucoaglutininas del receptor o por activación de complemento. Es por ello que la incidencia de infiltrados pulmonares es mayor en los pacientes que reciben TG. En 1979 fue publicado un artículo donde se sugería interacción potenciada entre TG y anfotericina B, fatal en algunos casos¹²⁶. Esta situación no fue documentada en estudios subsiguientes y en la actualidad ambas terapéuticas pueden utilizarse de hallarse clínicamente indicadas^{124, 127, 128}. Sin embargo, algunos autores recomiendan un intervalo mayor a las 6 horas entre la administración de anfotericina B y las TG⁹. A fines de evitar enfermedad injerto contra huésped post-transfusión es necesario irradiar la unidad con una dosis de 2500 cGy¹²⁹. Otros autores argumentan que la dosis de 1500 cGy es suficiente, no siendo deletérea para la cadena respiratoria del neutrófilo y para su respuesta quimiotáctica^{130, 131}.

Obviamente, no deben utilizarse filtros de leuco-reducción como tampoco de micro-agregados (20 μ). Es recomendable el uso de filtros convencionales de 170 μ .

¿Cuándo utilizar TG?

Los pacientes deben reunir los siguientes requisitos para ingresar en un programa de TG terapéutica. En primer lugar presentar un recuento absoluto de neutrófilos inferior de $0.5 \times 10^9/l$, preferentemente con sepsis documentada a bacterias u hongos. Este último requisito aparenta no ser absolutamente necesario, considerando la alta incidencia de pacientes con grave enfermedad séptica sin cultivo positivo y que sugieren vigorosamente la muy probable responsabilidad de determinado micro-organismo. Los enfermos deben presentar granulocitopenias que se presupongan que durarán más de 7 días después del

inicio de la terapia con TG y deben tener progresión pese a instituir tratamiento anti-microbiano adecuado. Los pacientes deben recibir al menos 4 días de TG con la mayor dosis posible²⁶. En lo que respecta a TG profilácticas se requieren estudios comparativos en trasplante alogénico similares a los referidos por Adkins y col.¹²¹ y en TG autólogas quizá se justifique realizar en principio estudios piloto y no comparativos en pacientes seleccionados. Todo donante, alogénico o autólogo, deberá rubricar un consentimiento informado.

De acuerdo con las sugerencias de Chanock y Gorlin⁹ existen importantes consideraciones en el desarrollo futuro de las TG. Nos hemos permitido agregar otras que también estimamos oportunas: a) diseñar protocolos que demuestren mayor eficacia y menor toxicidad para la movilización granulocítica, b) determinar por estudios controlados la eficacia de las TG, sin toxicidad prohibitiva, c) estudiar la vida media, reclutamiento en sitios de infección y capacidad funcional del neutrófilo *in vivo*, especialmente si se administran FEC, d) mejorar los programas de separación celular para que se incremente la eficiencia de las recolecciones y se preserve la funcionalidad del granulocito, e) demostrar eficacia tanto en infecciones bacterianas como fúngicas; reiteramos que no creemos que sea requisito indispensable la documentación microbiológica, especialmente si el paciente presenta evidencias compatibles con compromiso séptico, f) mejorar las técnicas de la preservación y almacenamiento en frío para su posterior uso autólogo o alogénico, g) confirmar el artículo finés que describe más rápido injerto y evolución del trasplante en pacientes que han recibido TG¹³² y, por último, h) efectuar un exhaustivo análisis costo/beneficio o mejor costo/eficiencia para determinar las bondades del procedimiento desde el punto de vista de la economía de la salud.

Nuestra experiencia

En nuestra sección de hematología y hemoterapia se han recolectado 19 donantes (seleccionados por ABO compatibilidad, serologías y negatividad para anticuerpos antiHLA), movilizados según técnica de Liles⁷² con resultados similares pregranulocitoféresis a los referidos por los autores. Se procesaron en promedio 3 volemias sin efectos colaterales, con un separador celular Baxter-Fenwal CS 3000 Plus, en tres horas de duración se logró eficiencia promedio en la recolección de un 68%. Existen trabajos recientes⁶⁹ que demuestran que el uso de interfases con valor de 35 son superiores respecto a las de 15 en la eficiencia de la recolección. Siguiendo estas consideraciones hemos obtenido eficiencias promedio superiores a las reportadas por Lee⁹³ (58%), y a los referidos por Adkins⁶⁸ (60%).

Otra observación importante es que con estos valores de interfase hemos obtenido recuento de plaquetas en los productos similares a los obtenidos en una plaquetoféresis convencional, lo que permite realizar en estos pacientes (generalmente trombocitopénicos) una transfusión agregada equivalente a un concentrado plaquetario.

No hemos documentado toxicidad vinculada a infusiones en 28 de ellas en 4 pacientes con neutropenia severa prolongada y fiebre sin respuesta a tratamiento antimicrobiano. Las cifras promedio de granulocitos por concentrado fueron de 7×10^{10} . Todos los pacientes obtuvieron recuentos de granulocitos post infusión superiores a los $500 \times \text{mm}^3$. La eficacia clínica de dichas infusiones no puede valorarse por el insuficiente número de enfermos (experiencia personal no publicada).

Consideramos que futuros trabajos con los reparos metodológicos ya discutidos y con análisis costo beneficio permitirán dar una respuesta definitiva al valor clínico de las transfusiones de granulocitos para evitar aquello de que la historia vuelve a repetirse¹³³.

Agradecimientos: Al técnico en hemoterapia Sergio Fridman por su invalorable colaboración en la asistencia de donantes y enfermos en los procedimientos de aféresis.

Bibliografía

- Schiffer CA. Granulocyte transfusion therapy. *Curr Opin Hematol* 1999; 6: 3-7.
- Chanock SJ. Evolving risk factors for infections complications of cancer therapy. *Hematol Oncol Clin NA* 1993; 7: 771-93.
- Pizzo PA. Management of fever in patients with cancer and treatment-induced neutropenia. *N Engl J Med* 1993; 328: 1323-32.
- Bodey GP, Buckley M, Shate YS, et al. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1966; 64: 324-40.
- Jendiroba DB, Lichtiger B, Anaissie E, et al. Evaluation and comparison of three methods for the collection of granulocytes. *Transfusion* 1998; 38: 722-8.
- Pizzo P. Fever in immunocompromised patients. *N Engl J Med* 1999; 341: 893-900.
- Lehrnbecher T, Chanock SJ. Controversies in the treatment of neutropenia in cancer patients. *Curr Opin Hematol* 1998; 5: 26-32.
- Viscoli C, Bruzzi P, Castagnola E, et al. Factors associated with bacteriemia in febrile, granulocytopenic cancer patients. The International Antimicrobial Therapy Cooperative Group (IATCG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Eur J Cancer* 1994; 30: 430-7.
- Chanock SJ, Gorlin JB. Infections in Oncology. Granulocyte Transfusions: Time for a Second Look. *Cancer Control: JMCC* 1997; 4: 66-76.
- Higby DJ. Controlled prospective studies of granulocyte transfusion therapy. *Exp Hematol* 1977; 5S: 57.
- Alavi JB, Root RK, Djerassi I, et al. A randomized clinical

- trial of granulocyte transfusion therapy for infection in acute leukemia. *N Engl J Med* 1977; 296: 706-11.
12. Fortuny IE, Bloomfield CD, Hadlock DC, et al. Granulocyte transfusions: a controlled study in patients with acute non-lymphocytic leukemia. *Transfusion* 1975; 15: 548-58.
 13. Graw RG Jr, Herzig GP, Perry S, Henderson ES. Normal granulocyte transfusion therapy for Gram-negative septicemia. *N Engl J Med* 1972; 287: 367-71.
 14. Herzig RH, Herzig GP, Graw RG Jr., Bull MI, Ray KK. Successful granulocyte transfusion therapy for gram-negative septicemia: a prospective randomized controlled study. *N Engl J Med* 1977; 296: 701-5.
 15. Higby DJ, Yates JW, Henderson ES, Holland JF. Filtration leukapheresis for granulocyte transfusion therapy: clinical and laboratory studies. *N Engl J Med* 1975; 292: 761-6.
 16. Vogler W, Winston E. A controlled study of the efficacy of granulocyte transfusions in patients with neutropenia. *Am J Med* 1977; 63: 548-55.
 17. Winston DJ, Ho WG, Gale RP. Therapeutical granulocyte transfusions for documented infections. A controlled trial in ninety-five infectious granulocytopenic episodes. *Ann Int Med* 1982; 97: 509-15.
 18. Strauss RG. Therapeutical neutrophil transfusions: are controlled studies no longer appropriate? *Am J Med* 1978; 65: 1001-6.
 19. Chanock S, Freifeld A. The use of cytokines in fever and neutropenia. *Int J Pediatr Hematol Oncol* 1995; 2: 173.
 20. Walsh TJ. Management of immunocompromised patients with evidence of an invasive mycosis. *Hematol Oncol Clin NA* 1993; 7: 1003-26.
 21. Jeter EK, Spivey MA. Noninfectious complications of blood transfusion. *Hematol Oncol Clin NA* 1995; 9: 187-204.
 22. Schiffer CA, Aisner J, Daly PA, Schimpf SC, Wiernik PA. Alloimmunization following prophylactic granulocyte transfusions. *Blood* 1979; 54: 766-74.
 23. Strauss RG. Principles of White Blood Cell Transfusion. In: Hoffman R, et al. (eds): Hematology. Basic Principles and Practice. 2nd ed. New York: Churchill Livingstone 1995; p 2006-10.
 24. Strauss RG. Principles of Neutrophil (Granulocyte) Transfusions. In: Hoffman R, et al. (eds). Hematology. Basic Principles and Practice. 3th New York: Churchill Livingstone 2000; p 2257-63.
 25. Demetri GD, Anderson KC. Bone Marrow Failure. In: Abeloff MD, et al. (eds). Clinical Oncology. New York: Churchill Livingstone 1995; p 433, 440-1.
 26. Freifeld AG, Walsh TJ, Pizzo PA. Infection in cancer patients. In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). Cancer. Principles and Practices. 5th ed. Baltimore: Lippincott, 1997; p 2697-8.
 27. Schroeder ML. Granulocyte Transfusions. In: Lee GR, et al (eds). Wintrobe's Clinical Hematology. 10th ed Baltimore: Lippincott 1999; p 840-2.
 28. Prince TH. Granulocyte colony-stimulating factor-mobilized granulocyte concentrate transfusions. *Curr Opin Hematol* 1998; 5: 391-5.
 29. Strauss RG. Neutrophil (granulocyte) transfusions in the new millennium (editorial). *Transfusion* 1998; 38: 710-2.
 30. Vamvakas EC, Pineda AA. Determinants of the efficacy of prophylactic granulocyte transfusions: a meta-analysis. *J Clin Apheresis* 1997; 12: 74-81.
 31. Perez EM, Weisman LE. Novel approaches to the prevention and therapy of neonatal sepsis. *Clin Perinatol* 1997; 24: 213-29.
 32. Dale DC. The discovery, development and clinical applications of granulocyte colony-stimulating factor. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 1998; 109: 27-38.
 33. Dale DC, Liles WC, Price TH. Renewed interest in granulocyte transfusion therapy. *Br J Hematol* 1997; 98: 497-501.
 34. Strauss RG. Therapeutic granulocyte transfusions in 1993; *Blood* 1993; 81: 1675-8.
 35. Strauss RG. Granulocyte transfusions. In: Rossi EC, Simon TL, Moss GD (eds). Principles of Transfusion Medicine. 2nd ed Baltimore Williams & Wilkins 1991; p 287.
 36. Strauss RG. Granulocyte Transfusion Therapy. *Hematol Oncol Clin NA* 1994; 8: 1159-66.
 37. Fletscher S, Mertelsmann R. Supportive care in hematological malignancies. hematopoietic growth factor, infections, transfusion therapy. *Curr Opin Hematol* 1999; 6: 262-73.
 38. Freireich EJ. The function and fate of transfused leukocytes from donors with chronic myelocytic leukemia in leukopenic recipients. *Ann N Y Acad Sci* 1964; 113: 1081-4.
 39. Clift RA, Sanders JE, Thomas ED, Williams B, Buckner CD. Granulocyte transfusions for the prevention of infection in patients receiving bone marrow transplants. *N Engl J Med* 1978; 298: 1052-7.
 40. Ford JM, Cullen MH, Roberts MM, et al. Prophylactic granulocyte transfusions. Results of a randomized controlled trial in patients with acute myelogenous leukemia. *Transfusion* 1982; 22: 311-6.
 41. Strauss RG, Connet JE, Gale RP, et al. A controlled trial of prophylactic granulocyte transfusions during initial induction chemotherapy for acute myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1981; 305: 597-603.
 42. Winston DJ, Ho WG, Gale RP, et al. Prophylactic granulocyte transfusions during human bone marrow transplantation. *Am J Med* 1980; 68: 893-7.
 43. Winston DJ, Ho WG, Young LS, Gale RP, et al. Prophylactic granulocyte transfusions during chemotherapy of acute nonlymphocytic leukemia. *Ann Intern Med* 1981; 94: 616-22.
 44. Winston DJ, Ho WG, Howell CL, et al. Cytomegalovirus infections associated with leukocyte transfusion. *Ann Intern Med* 1980; 93: 671-5.
 45. Vengelen-Tyler V (ed), Technical Manual. 12th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 1996.
 46. Klein HG (ed) American Association of Blood Banks. Standards for Blood Banks and Transfusion Services. Section Q. Bone Marrow and Peripheral Blood Progenitor Cells, 17th Edition, Bethesda: AABB, 1996.
 47. Proposed changes to standards for blood banks and transfusion services for the 18th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks. *AABB News Briefs* 1997; 19: 10-1.
 48. Dutcher JP, Schiffer CA, Johnson GS, et al. Alloimmunization prevents the migration of transfused ¹¹¹indium-labeled granulocytes to sites of infection. *Blood* 1983; 62: 354-60.
 49. McCullough J, Clay M, Hurd D, et al. Effect of leukocyte antibodies and HLA matching on the intravascular recovery, survival, and tissue localization of ¹¹¹Indium granulocytes. *Blood* 1986; 67: 522-8.
 50. Menitove JE, Abrams RA. Granulocyte transfusions in neutropenic patients. *CRC Crit Rev Oncol Hematol* 1987; 7: 89-113.
 51. Appelbaum FR, Bowles CA, Makuch RW, Deisserot AB. Granulocyte transfusion therapy of experimental pseudomonas septicemia: Study of cell dose and collection technique. *Blood* 1978; 52: 323-31.
 52. Bodey GP. Infection in cancer patients. A continuing association. *Am J Med* 1986; 81: 11-26.
 53. McCullough J. Granulocyte transfusion. In: Petz LD, et al (eds) Clinical practice of transfusion medicine. New York:

- Churchill Livingstone, 1996; p 413.
54. Bogaerts M, Cavalli F, Cortes-Funes H, et al. Granulocyte growth factor: achieving a consensus. *Ann Oncol* 1995; 6: 237-44.
 55. American Society of Clinical Oncology. Recommendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: evidence-based clinical practice guidelines. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2471-508.
 56. Bender JB, Uverzagt K, Walker DE. Phenotypic analysis and characterization of CD34+ cells from normal human bone marrow, cord blood, peripheral blood and mobilized peripheral blood from patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Clin Immunol Immunopath* 1994; 70: 10-18.
 57. Beyer J, Scewella N, Zingsem, et al. Hematopoietic rescue after high-dose chemotherapy using autologous peripheral blood progenitor cells or bone marrow: a randomized comparison. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1328-35.
 58. Klumpp TR, Mangan KF, Godberg SL, Pealman ES, Macdonall JS. Granulocyte colony-stimulating factor accelerates neutrophil engraftment following peripheral-blood-stem-cell transplantation: a prospective, randomized trial. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1323-7.
 59. Perotti C, Torretta L, Locatelli F, Salvaneschi L, et al. Peripheral blood stem cell collection from healthy donors for allogeneic transplantation. *Transf Sci* 1996; 17: 423-31.
 60. Bensinger WI, Prince TH, Dale DC, et al. The effects of daily recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukapheresis. *Blood* 1993; 1883-88.
 61. Caspar CB, Seger RA, Burger J, et al. Effective stimulation of donor granulocyte transfusions with recombinant methionyl granulocyte stimulating factor. *Blood* 1993; 81: 2866-71.
 62. Gratwohl A, Schmitz N. First International Symposium on Allogeneic Peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996; 7: S1-S3.
 63. Gratwohl A, Passweg J, Baldomero H, Hermans J. Blood and marrow transplantation in Europe for the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) *Bone Marrow Transplant* 1998; 22: 227-40.
 64. Bensinger WI, Weaver CH, Appelbaum FR, et al. Transplantation of allogeneic peripheral blood stem mobilized by recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Blood* 1995; 85: 1655-8.
 65. Schmitz N, Dreger P, Suttorp M, et al. Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor mobilized by filgrastim. *Blood* 1995; 85: 1666-72.
 66. Anderlini P, Gratwohl A, Gluckman E, et al. Allogeneic blood stem cell transplantation. Considerations for donors. *Blood* 1997; 90 (3): 903-9.
 67. Goldman J. Peripheral blood stem cells for allografting. *Blood* 1995; 85: 1413-9.
 68. Adkins D, Spitzer G, Johnston M, et al. Transfusions of granulocyte-colony-stimulating factor-mobilized granulocyte components to allogeneic transplant recipients: analysis of kinetics and factors determining post transfusion neutrophil and platelets counts. *Transfusion* 1997; 37: 737-48.
 69. Adkins D, Ali S, Despotis G, et al. Granulocyte collection efficiency and yield are enhanced by the use of a higher interface offset during apheresis of donors given granulocyte-colony-stimulating factor. *Transfusion* 1998; 38: 557-64.
 70. Dale DC, Liles WC, Lewellyn C, et al. Neutrophil transfusions: kinetics and functions of neutrophils mobilized with granulocyte-colony-stimulating factor and dexamethasone. *Transfusion* 1998; 38: 713-21.
 71. Jendiroba DB, Lichtiger B, Huh Y, et al. Experience with granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) for leukocyte apheresis. 40th Annual Meeting of The American Society of Hematology. Miami. 1998; Abstract 213.
 72. Liles WC, Huang JE, Lewellyn C, et al. A comparative trial of granulocyte-colony-stimulating factor and dexamethasone separately and in combination, for the mobilization of neutrophils in the peripheral blood of normal volunteers. *Transfusion* 1997; 37: 182-7.
 73. Price TH, Boweden RA, Boeckh M, et al. Neutrophil collection from community apheresis donors after granulocyte colony-stimulating factor and dexamethasone stimulation: feasibility and efficacy. 39th Annual Meeting of The American Society of Hematology. San Diego, 1997, Abstract 3327.
 74. Worel N, Witt V, Peters C, et al. Daily leukapheresis in healthy family leukocyte donors following stimulation with rhG-CSF for treatment of neutropenic patients with severe sepsis. 24th Annual Meeting European Group for Blood and Marrow Transplantation. Courmayeur, Italy, 1998; Abstract 673.
 75. Köler A, Sauer M, Zintl F. Leukocyte transfusions in neutropenic pediatric patients. New aspects and first experiences. 25th Annual Meeting European Group for Blood and Marrow Transplantation. Hamburg. Germany, 1999; Abstract 383.
 76. Parco S, Bruno G, Durighello M, et al. Granulocyte transfusion in leukopenic children by simplified leukapheresis of related donors. *Int J Artif Organs* 1998; 21: 63-4.
 77. Thelen M, Dewald B, Baggolini M, et al. Neutrophil signal transduction and activation of the respiratory burst. *Physiol Rev* 1993; 73: 797-821.
 78. Roilides E, Walsh TJ, Pizzo PA, Rubin M. Granulocyte colony-stimulating factor enhances the phagocytic and bactericidal activity of normal and defective human neutrophils. *J Infect Dis* 1991; 163: 579-83.
 79. Roilides E, Pizzo PA. Modulation of host defenses by cytokines: evolving adjuncts in prevention and treatment of serious infections in immunocompromised hosts. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 508-24.
 80. Strocck DF, Jaszcz W, Herr GP, Clay ME, Mc Collough J. Expression of neutrophil antigens after 10 days of granulocyte-colony-stimulating factor. *Transfusion* 1998; 38: 663-8.
 81. Zarco MA, Ribera JM, Urbano-Ispizua A, et al. Phenotypic changes in peripheral blood neutrophil granulocytes of healthy donors after G-CSF administration. 27th ISH-EHA Combined Haematology Congress. Amsterdam, The Netherlands, 1998; Abstract P-0343.
 82. Brach MA, deVos S, Gruss HJ, Herrmann F. Prolongation of survival of human polymorphonuclear neutrophils by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is caused by inhibition of programmed cell death. *Blood* 1992; 80: 2920-4.
 83. Colotta F, Re F, Polentarutti N, Sozzani S, Mantovani A. Modulation of granulocyte survival and programmed cell death by cytokines and bacterial products. *Blood* 1992; 80: 2012-20.
 84. Cox G, Gauldie J, Jordana M. Bronchial epithelial cell-derived cytokines (G-CSF and GM-CSF) promote the survival of peripheral neutrophils *in vitro*. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7: 507-13.
 85. Adachi S, Kubota M, Lin YW, et al. *In vivo* administration of granulocyte colony-stimulating factor promote neutrophil survival *in vitro*. *Eur J Hematol* 1994; 53: 129-134.
 86. Cohen D, Bathia S, Anaissie E, et al. Effects of *in vitro* and *in vivo* cytokine treatment, leucapheresis and irradiation on the function of human neutrophils:

- implications for white blood cell transfusion therapy. *Clin Lab Haematol* 1997; 19: 39-47.
87. Klebanoff SJ, Olzowski S, Van Vorhis WC, et al. Effects of gamma- interferon on human neutrophils: protection from deterioration on storage. *Blood* 1992; 80: 225-34.
 88. Adkins D, Goodgold H, Hendersott L, et al. Indium-labeled white blood cells apheresed from donors receiving G- CSF localize to sites of inflammation when infused into allogeneic bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 1997, 19: 809-12.
 89. Leitman SF, Oblitas JM. Optimization of granulocyte-tapheresis mobilization regimen using granulocyte colony stimulating factor and dexamethasone. *Transfusion* 1997; S268: 67S.
 90. Leitman SF, Oblitas JM, Emmos R, et al. Clinical efficacy of daily G-CSF-recruited granulocyte transfusions in patients with severe neutropenia and life- threatening infections. 38th Annual Meeting of The American Society of Hematology. Orlando, 1996; Abstract 1313.
 91. Bowden RA, Price TH, Boeckh M, et al. Phase I/II study of granulocyte transfusions from G-CSF stimulated unrelated donors for treatment infections in neutropenic blood and marrow transplant patients. 39th Annual Meeting of The American Society of Hematology. San Diego, 1997; Abstract 1930.
 92. Adkins D, Goodnough LT, Brown R, et al. G-CSF mobilized granulocyte components transfused into autologous transplant recipients in significant and sustained absolute neutrophil counts increments. 39th Annual Meeting of The American Society of Hematology. San Diego, 1997; Abstract 3278.
 93. Adkins D, Goodnough LT, Brown R, et al. Leukocyte compatibility is an important determinant of absolute neutrophil count increments after transfusion of G-CSF mobilized prophylactic granulocyte components. 38th Meeting of The American Society of Hematology. Orlando, 1996; Abstract 2068.
 94. Lee J, Leitman S. A controlled study of the efficacy of hetastarch and pentastarch in granulocyte collection by centrifugal leukapheresis. *Transfusion* 1994; 34: 54.
 95. Lee JH, Leitman SF, Klein HG. A controlled comparison of the efficacy of hetastarch and pentastarch in granulocyte collection by centrifugal apheresis. *Blood* 1995; 86: 4662.
 96. Grigg A, Lusk J, Szer J. G-CSF stimulated donor granulocyte collection for neutropenic sepsis. *Leuk Lymphoma* 1995; 18: 329-34.
 97. Grigg A, Vecchi L, Bardy P, Szer J. G-CSF stimulated donor granulocyte collections for prophylaxis and therapy of neutropenic sepsis. *Aus N Z Med* 1996; 26: 813-18.
 98. Hillyer CD. Large volume leukapheresis to maximize peripheral stem cell collection. *J Hematother* 1993; 2: 529-45.
 99. Malachowski ME, Comenzo RL, Hillyer CD, Tiegerman KD, Beukman EM, et al. Large volume leukapheresis for peripheral blood stem cell collection in patients with hematologic malignancies. *Transfusion* 1992; 32: 732-5.
 100. Comenzo RL, Vosburgh E, Weintraub LR, et al. Collection of mobilized blood precursors cells for hematopoietic rescue by large volume leukapheresis. *Transfusion* 1995; 35: 493-7.
 101. Gorlin JB, Rowley SD. Citrate ratio in collection of peripheral blood progenitors. *Transfusion* 1997; 37: 768.
 102. Gorlin JB, Humpreys P, Kent P, et al. Pediatric large volume peripheral blood collections from patients under 25 kg: a primer. *J Clin Apheresis* 1996, 11: 195-203.
 103. Gorlin JB, Vanvakas EC, Cooke E, et al. Large volume leukapheresis in pediatric patients: processing more blood diminishes the apparent magnitude of intra apheresis recruitment. *Transfusion* 1996; 36: 879-85.
 104. Uhl L, Maillet S, King S, Kruskall MS, et al. Unexpected citrate toxicity and severe hypocalcaemia during apheresis. *Transfusion* 1997; 37: 1063-5.
 105. Schmidt PJ. The apheresis anticoagulant. *Transfusion* 1998; 38: 318-9.
 106. Rock G, Sutton DMC. Apheresis: man versus machine (editorial). *Transfusion* 1997; 37: 993-5.
 107. Dignani MC, Anaissie EJ, Hester JP, et al. Treatment of neutropenia-related fungal infections with granulocyte colony-stimulating factor elicited white blood cell transfusions: a pilot study. *Leukemia* 1997; 11: 1610-30.
 108. Fleming R, Anaissie EJ, O'Brien S. Treatment of neutropenia- related fungal infections with G-CSF mobilized granulocyte transfusions. 38th Meeting of The American Society of Hematology. Orlando. 1996; Abstract 1312.
 109. Hester JP, Dignani MC, Anaissie EJ, Kantarjian HM, O'Brien S, Freireich EJ. Collection and transfusion of granulocyte concentrates. *J Clin Apheresis* 1995; 10: 188-93.
 110. Boutatie EI, Anaissie EJ. Fusarium, a significant emerging pathogen in patients with hematologic malignance: ten years experience at a cancer center and implications for management. *Blood* 1997; 90: 999-1008.
 111. Verschreagen CF, van Besien KW, Dignani C, et al. Invasive Aspergillus sinusitis during bone marrow transplantation. *Scand J Infect Dis* 1997; 29: 436-8.
 112. Illerhaus G, Dwenger A, Wirth K, Lange W. Granulocyte transfusions for the treatment of severe infections in neutropenic patients. 40th Annual Meeting of The American Society of Hematology. Miami, 1998; Abstract 3549.
 113. Auffermann S, Hebart H, Handgretinger R, et al. Granulocyte transfusions in neutropenic patients with life-threatening infections-prophylactic and therapeutic use. 40th Annual Meeting of The American Society of Hematology. Miami, 1998; Abstract 3531.
 114. Peters C, Minkov M, Matthes- Martín S et al. Leucocyte transfusions from rhG-CSF or prednisolona stimulated donors for treatment of severe infections in immunocompromised neutropenic patients. *Br J Haematol* 1999; 106: 689-96.
 115. de Montalembert M, Jabado N, Lemau D, et al. Granulocyte transfusion in children. 40th Annual Meeting of The American Society of Hematology. Miami, 1998; Abstract 3537.
 116. Fleming R, Kantarjian H, Lichtiger B, Keating M, Estey E. Granulocyte transfusion from treated donors as infections prophylaxis in AML/MDS during induction. 39th Annual Meeting of The American Society of Hematology. San Diego, 1997; Abstract 3298.
 117. Adkins D, Brown R, Moellering J, et al. Antibiotic urination is significantly reduced in allogeneic peripheral blood stem cell transplant patients transfused with G-CSF mobilized, HLA matched prophylactic granulocyte components on days +3 and +6. 40th Annual Meeting of The American Society of Hematology. Miami, 1998; Abstract 555.
 118. Galmés A, Iglesias J, Martínez P, et al. Neutrophil transfusions: Cryopreservation and functions of granulocyte- colony- stimulating factor mobilized neutrophils. International Symposium of Peripheral Blood Stem Cell Transplantation. Mulhouse, France, 1999.
 119. Buchholz DH. Long-term granulocyte transfusion in patients with malignant neoplasm. *Arch Intern Med* 1979; 139: 317-21.
 120. Dutcher JP. Granulocyte transfusion therapy. *Am J Med Sci* 1984; 287: 11-31.
 121. Karp D. Pulmonary complications during granulocyte transfusions: Incidence and clinical features. *Vox Sang*

- 1982; 47: 57-61.
122. Wright DG, Robichaud KJ, Pizzo PS, Deisseroth AB. Lethal pulmonary reactions associated with the combined use of amphotericin B and leukocyte transfusions. *N Engl J Med* 1981; 304: 1185-88.
123. Dana BW, Durie BGM, White RF, Huestis DW. Concomitant administration of granulocyte transfusions and amphotericin B in neutropenic patients: absence of significant pulmonary toxicity. *Blood* 1981; 57: 90.
124. Dana BW. The significance of pulmonary infiltrates developing in patients receiving granulocyte transfusions. *Br J Haematol* 1983; 53: 437.
125. Anderson KC, Weinstein HJ. Transfusion-associated graft-versus-host-disease. *N Engl J Med* 1990; 323: 315-21.
126. Eastlund DT, Charbonneau TT. Superoxide generation and cytostatic response of irradiated neutrophils. *Transfusion* 1984; 24: 238-9.
127. Wheeler JW, Abramson JS, Ekstrand K. Function of irradiated polymorphonuclear leukocytes obtained by buffy coat centrifugation. *Transfusion* 1984; 24: 167-70.
128. Saarinen UM, Hovi L, Vilinikka L, Juvonen E, Myllyla G. Reemphasis on leukocyte transfusions: induction of myeloid marrow recovery in critically ill neutropenic children with cancer. *Vox Sang* 1995; 68: 90-9.
129. Cadícamo DE, Tinelli J. Por la vuelta (tango). 1938; Buenos Aires.

- - - -

Nineteenth century thinking was revolutionized by Darwin. A shocked world learned that ancient superstitions could be replaced by a solid, intellectually satisfying theory. The philosophical impact was tremendous. Man was no longer at the center of a universe created for his benefit. He was one of innumerable species, with no particular distinction in the eyes of the evolutionary process, however much his superior brain has contributed to his vast numbers and economic dominance. It seems to me that the twentieth century has brought no such enlightenment or trauma. One might think that our increasing view of life as an outgrowth of chemical change would have been even more traumatic than Darwinism; but it hasn't been. Our generation seems more willing to accept our relatedness to the earth and stars than our Victorian ancestors were to accept our relatedness to the apes. Our lives have been changed enormously by transportation, by pain killers, by telecommunication, by computers - but I don't think these have had a philosophical impact comparable to Darwin's bombshell.

Will something philosophically comparable to Darwinism in the nineteenth century happen in the twenty-first? I think there is one possibility. I would predict that by the turn of the next century and possibly well before, we will have a chemical-mechanistic understanding of memory and thought. Will people find that shocking? Surely some will, those who think of the mind as being as nonmaterial as the soul. Among the kinds of knowledge most likely to cause a philosophical stir, this would be my candidate.

El pensamiento en el siglo XIX se vio revolucionado por Darwin. Un mundo en shock aprendió que las antiguas supersticiones podían ser reemplazadas por una teoría sólida e intelectualmente satisfactoria. El impacto filosófico fue tremendo. El hombre dejaba de estar en el centro de un universo creado para su propio beneficio. Se convertía en una de las innumerables especies sin ninguna distinción particular ante los ojos del proceso de evolución, por más que su cerebro superior haya contribuido a su dominación económica. Se podría suponer que nuestra actual visión del origen de la vida como surgida de cambios esencialmente químicos hubiera sido más traumática que el darwinismo; pero no lo fue. Nuestra generación parece ser más dispuesta a aceptar la interrelación de la tierra con las estrellas que nuestros antecesores victorianos a aceptar su relación con los simios. Nuestras vidas se han visto enormemente transformadas por los medios de comunicación, los sedantes, la telecomunicación, las computadoras, pero no creo que todo estos cambios hayan tenido un impacto filosófico comparable con la noticia bomba de Darwin.

¿Aparecerá algo filosóficamente comparable con el darwinismo en el siglo XXI? Creo que hay una posibilidad. Podría predecir que al final del próximo siglo y posiblemente bastante antes, tendremos una comprensión química-mecánica de la memoria y del pensamiento. ¿Será esto chocante? Para algunos, seguramente lo será, para los que piensan en la mente como en algo tan inmaterial como el alma. De los tipos de conocimientos que puedan tener el mayor de los impactos filosóficos, éste sería mi candidato.

James F. Crow