TESIS DOCTORALES

Circulación extracorpórea y leucocitos *

J. A. Casillas** / J. Fernández*** / R. Llorens**
J. Herreros** / R. Arcas**

RESUMEN

Los leucocitos hemáticos se afectan por sistemas de circulación extracorpórea como la hemodiálisis con membrana de celofán y la leucoforesis con mallas de nylon. Durante la circulación extracorpórea empleada en cirugía cardíaca estas células son afectadas, de igual modo.

Se estudiaron las modificaciones en el número de leucocitos circulantes durante circulación extracorpórea en enfermos sometidos a cirugía cardíaca. Se hicieron dos grupos similares de enfermos. A los enfermos del grupo II se les administró metilprednisolona antes de la inducción anestésica, el grupo I (20 enfermos) sirvió de grupo control. La circulación extracorpórea se llevó a cabo con oxigenador de burbujas, hemodilución total, hipotermia corporal general a 26-30 °C y empleo de filtros. En diferentes momentos del procedimiento se determinaron los niveles de leucocitos y de sus diferentes poblaciones celulares circulantes en sangre periférica.

Durante el período de perfusión cardiopulmonar total aparece una leucopenia, en los dos grupos, alcanzando significación estadística respecto al valor basal. Al finalizar la circulación extracorpórea, en el período post-perfusión y en el postoperatorio inmediato aparece un aumento en el número de leucocitos circulantes superando los valores basales.

La administración de corticoides no modificó la respuesta cuantitativa de los leucocitos a la circulación extracorpórea empleada en cirugía cardíaca.

Introducción

Durante los primeros momentos de la cirugía cardíaca con circulación extracorpórea se observó que la frecuencia de infecciones y su gravedad era superior en los enfermos operados con ayuda de esta técnica que en los enfermos operados con técnicas cardíacas cerradas [13]. El estudio de la función fagocítica de los leucocitos tras la circulación extracorpórea demostró que ésta se encontraba alterada tras este procedimiento quirúrgico [15, 21]. Estos hechos incitaron el interés de diversos autores hacia el estudio de la influencia de la circulación extracorpórea en los leucocitos sanguíneos [10].

La administración de glucocorticoides produce un aumento en el número de leucocitos circulantes en sangre periférica. Este acontecimiento es debido al estímulo de los corticoides sobre la médula ósea produciendo una liberación de los mismos y, asimismo, reducen el efecto de marginación de los leucocitos en los vasos sanguíneos. Del mismo modo, se ha descrito que la administración de corticoides en casos de insuficiencia respiratoria aguda es beneficiosa en el tratamiento de este cuadro, este hecho estaría causado por el efecto inhibitorio de los corticoides en la producción de radicales oxígeno por los granulocitos [9]. Estos acontecimientos pudieran estar relacionados con el beneficio que aporta su administración en prevenir complicaciones pulmonares y de otros tipos tras cirugía cardíaca con circulación extracorpórea [5, 22].

La afirmación de De Leval [4]: "Existen pocos datos acerca del efecto de la circulación extracorpórea en los leucocitos sanguíneos", nos indujo a intentar aportar algún dato más al conocimiento de las modificaciones que sufren las células blancas de la sangre durante este procedimiento quirúrgico.

Material y métodos

Cuarenta enfermos sometidos a cirugía cardíaca con ayuda de circulación extracorpórea forman la base experimental de este estudio. Treinta y cuatro pacientes fueron sometidos a revascularización miocárdica aislada y los seis restantes a sustitución de la válvula aórtica por prótesis.

Se hicieron dos grupos similares, sirviendo uno de ellos de grupo control (I) y al otro (II) se le administró succinato sódico de metilprednisolona, 30 mg/kg i.v., antes de la inducción anestésica. En la tabla I se resumen las características clínicas, hemodinámicas y quirúrgicas de ambos grupos.

La circulación extracorpórea se llevó a cabo con oxigenador de burbujas Harvey 1500 (Lab. W Harvey, USA), hemodilución total, hipotermia corpo-

* Resumen de la Tesis Doctoral: Sistema del Complemento y leucocitos durante circulación extracorpórea.

** Servicio de Cirugía Cardiovascular.
*** Servicio de Hematología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

Tabla I. DESCRIPCION DE LOS GRUPOS

	Grupo I	*Grupo II*	*Diferencias "P"*
Sexo	20 varones	19 varones 1 hembra	
Edad	52 ± 8	51 ± 9	0,796
Peso	74 ± 10	75 ± 9	0,597
Grado Angor	3 ± 0,64	3 ± 0,51	0,249
PVI Sistólica	123 ± 32	129 ± 34	0,599
PVI Diastólica	10 ± 3	10 ± 3	0,890
PAP Sistólica	26 ± 11	25 ± 7	0,732
PAP Diastólica	10 ± 3	9 ± 4	0,644
PAP Media	16 ± 5	17 ± 9	0,556
PVD Sistólica	26 ± 11	26 ± 7	0,837
PVD Diastólica	4 ± 2	4 ± 1	0,732
PA derecha	4 ± 2	4 ± 1	0,403
PCP	8 ± 2	9 ± 5	0,610
Nº puentes/enfer.	2 ± 0,57	2 ± 0,51	0,58
T CEC	72 ± 27	73 ± 20	0,877
T PA_o	39 ± 13	39 ± 11	0,996
Dosis corticoide	0	2242 ± 266	

Tabla II. TIEMPOS DE EXTRACCION DE LAS MUESTRAS SANGUINEAS

Muestra nº 1	Basal
Muestra nº 2	Tras heparina sódica (5 minutos)
Muestra nº 3	Circulación extracorpórea (1 minuto)
Muestra nº 4	Circulación extracorpórea (5 minutos)
Muestra nº 5	Circulación extracorpórea (15 minutos)
Muestra nº 6	Circulación extracorpórea (30 minutos)
Muestra nº 7	Circulación extracorpórea (60 minutos)
Muestra nº 8	Fin de circulación extracorpórea
Muestra nº 9	Tras sulfato de protamina (25 minutos)
Muestra nº 10	Tras sulfato de protamina (45 minutos)
Muestra nº 11	UCI, 9 horas del inicio de la circulación extracorpórea

ral general a 26-30 °C y empleo de filtros.

Se determinó el número de leucocitos totales, polimorfonucleares cayados y segmentados, linfocitos y monocitos en diferentes momentos del procedimiento, que están relacionados en la tabla II.

El número total de leucocitos y el de las diferentes poblaciones leucocitarias se determinaron con el analizador Hemalog D/90 (Technicon Instruments Corporation, USA). Con el fin de corregir la hemodilución, simultáneamente, se determinó el hematocrito de la muestra sanguínea con el analizador Coulter-Counter modelo S-Plus II (Coulter Electronics Inc., USA). El número total de leucocitos y de sus diferentes tipos celulares fueron corregidos, en cada momento, teniendo en cuenta el hematocrito según la fórmula:

$$\text{nº de leuco (Correg)} = \frac{\text{nº de leuco (medido)} \times \text{Htco (basal)}}{\text{Htco (medido)}}$$

Los datos obtenidos fueron procesados en un ordenador IBM 4341.

Se empleó el programa BMDP [6]; en el análisis dentro del mismo grupo se utilizó el análisis de la t de Student y en las comparaciones entre grupos el análisis de la varianza. Se consideró un resultado estadísticamente significativo si el valor de p fue igual o inferior a 0,01.

Resultados

En las tablas III y IV se relacionan los valores de leucocitos circulantes en los dos grupos (I y II) durante el procedimiento. En la tabla V se describen los valores de p encontrados al compa-

Tabla III. GRUPO I. LEUCOCITOS CIRCULANTES

1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	
7256 ±1948	6618 ±1403	6250 ±1378	5729 ±1305	6245 ±1471	6055 ±1781	7359 ±1781	8078 ±1671	9511 ±1918	9636 ±2231	10009 ±2123	Leucocitos (total)
	0,021	0,003	0,000	0,024	0,027	0,737	0,279	0,0001	0,002	0,0000	P
82 ±18	80 ±28	80 ±26	79 ±30	75 ±26	73 ±24	74 ±16	138 ±79	233 ±109	194 ±134	265 ±129	Cayados
	0,938	0,659	0,516	0,169	0,072	0,411	0,020	0,005	0,015	0,001	P
4164 ±1029	4240 ±927	3996 ±943	3610 ±996	4007 ±1191	3727 ±1343	4018 ±681	5866 ±2343	7786 ±1947	7511 ±2233	8504 ±2103	Segmentados
	0,994	0,285	0,027	0,782	0,347	0,697	0,009	0,000	0,000	0,000	P
2468 ±693	2304 ±593	2066 ±766	2075 ±671	2015 ±696	2235 ±774	2160 ±928	2479 ±1048	2171 ±1048	2467 ±912	2099 ±811	Linfocitos
	0,102	0,034	0,002	0,005	0,080	0,391	0,719	0,104	0,927	0,015	P
150 ±52	175 ±64	177 ±61	128 ±57	136 ±56	154 ±67	149 ±76	223 ±110	207 ±130	220 ±120	237 ±126	Monocitos
	0,302	0,887	0,206	0,141	0,847	0,151	0,043	0,124	0,067	0,038	P

Tabla IV. GRUPO II. LEUCOCITOS CIRCULANTES

1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	
7329 ±1217	7099 ±1477	7115 ±1790	6122 ±1618	6039 ±1820	5819 ±1643	7724 ±1797	9122 ±2284	9298 ±2281	8935 ±2135	10882 ±1196	Leucocitos (total)
	0,258	0,230	0,001	0,001	0,009	0,973	0,012	0,015	0,043	0,0001	P
79 ±18	71 ±18	78 ±20	66 ±15	74 ±19	81 ±33	101 ±32	145 ±65	149 ±82	164 ±94	237 ±111	Cayados
	0,089	0,204	0,011	0,291	0,919	0,099	0,000	0,003	0,002	0,000	P
4415 ±1079	4103 ±966	4425 ±1263	3621 ±1155	3456 ±1159	3516 ±1221	4958 ±1203	8161 ±2942	8398 ±2906	7755 ±2273	8968 ±2215	Segmentados
	0,245	0,903	0,001	0,005	0,006	0,792	0,0002	0,0001	0,0003	0,0000	P
2621 ±644	2717 ±648	2302 ±847	2374 ±743	2485 ±831	2524 ±711	2857 ±767	3063 ±903	2538 ±771	2283 ±954	2185 ±853	Linfocitos
	0,957	0,072	0,156	0,425	0,359	0,588	0,076	0,730	0,180	0,077	P
154 ±73	147 ±75	126 ±50	140 ±74	153 ±77	156 ±69	261 ±147	225 ±147	225 ±130	255 ±135	297 ±105	Monocitos
	0,893	0,573	0,159	0,263	0,624	0,401	0,009	0,027	0,012	0,0004	P

Tabla V. DIFERENCIAS "P" ENTRE EL GRUPO I Y EL GRUPO II

1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	
0,722	0,317	0,127	0,458	0,722	0,700	0,627	0,199	0,799	0,422	0,219	Leucocitos (total)
0,717	0,287	0,817	0,209	0,933	0,513	0,047	0,272	0,030	0,493	0,535	Cayados
0,486	0,666	0,280	0,977	0,238	0,673	0,064	0,012	0,450	0,762	0,544	Segmentados
0,485	0,062	0,422	0,221	0,079	0,280	0,058	0,106	0,233	0,563	0,774	Linfocitos
0,868	0,265	0,667	0,929	0,872	0,959	0,846	0,422	0,679	0,432	0,154	Monocitos

rar los dos grupos entre sí, en los diferentes controles realizados.

El número total de leucocitos circulantes disminuyó tras el inicio y desarrollo de la circulación extracorpórea, para al finalizar la misma, en el período post-perfusión y en el postoperatorio inmediato elevarse por encima de los valores basales en los dos grupos estudiados y sin diferencias significativas entre ellos en ningún control (Fig. 1, tablas III, IV y V).

Durante el período de perfusión cardiopulmonar las cifras de polimorfonucleares cayados disminuyen sin significación estadística respecto al valor inicial; a partir de la finalización de la misma su número se eleva por encima de los valores basales y en el período post-perfusión (Fig. 2, tablas III, IV y V).

El número de polimorfonucleares segmentados, en ambos grupos, disminuye ligeramente durante la circulación extracorpórea, para elevarse progresivamente, por encima de niveles basales, en el período post-perfusión y en postoperatorio inmediato (Fig. 3, tablas III, IV y V).

El comportamiento de las cifras de linfocitos circulantes durante este procedimiento, en los dos grupos, es más

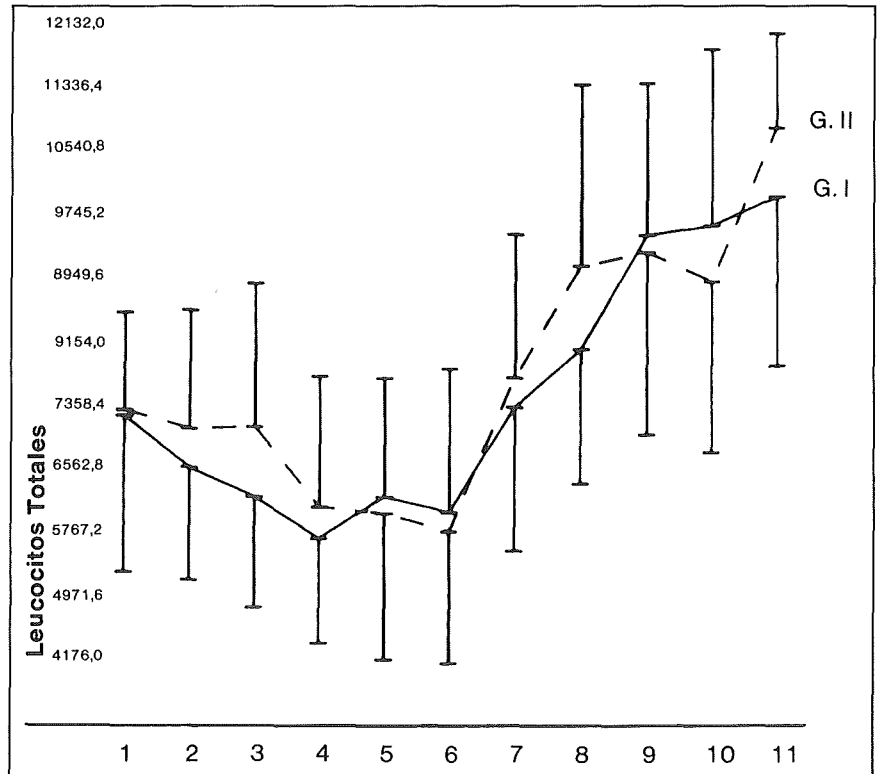

Fig. 1.—*Modificaciones en el número de leucocitos totales a lo largo de la intervención.*

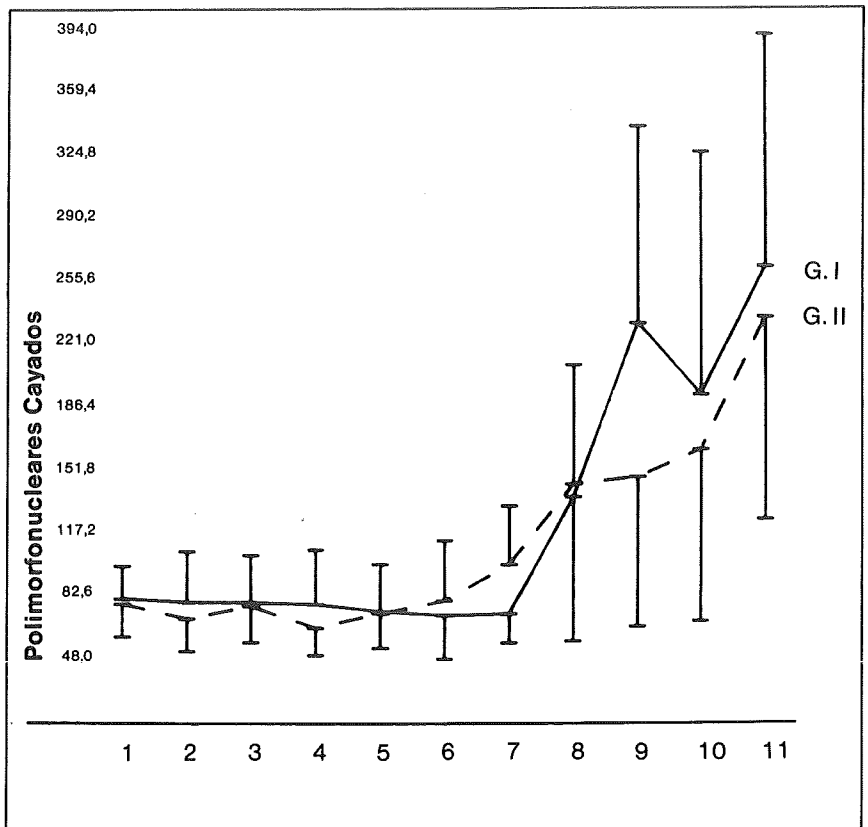

Fig. 2.—*Evolución en el número de polimorfonucleares cayados a lo largo del procedimiento.*

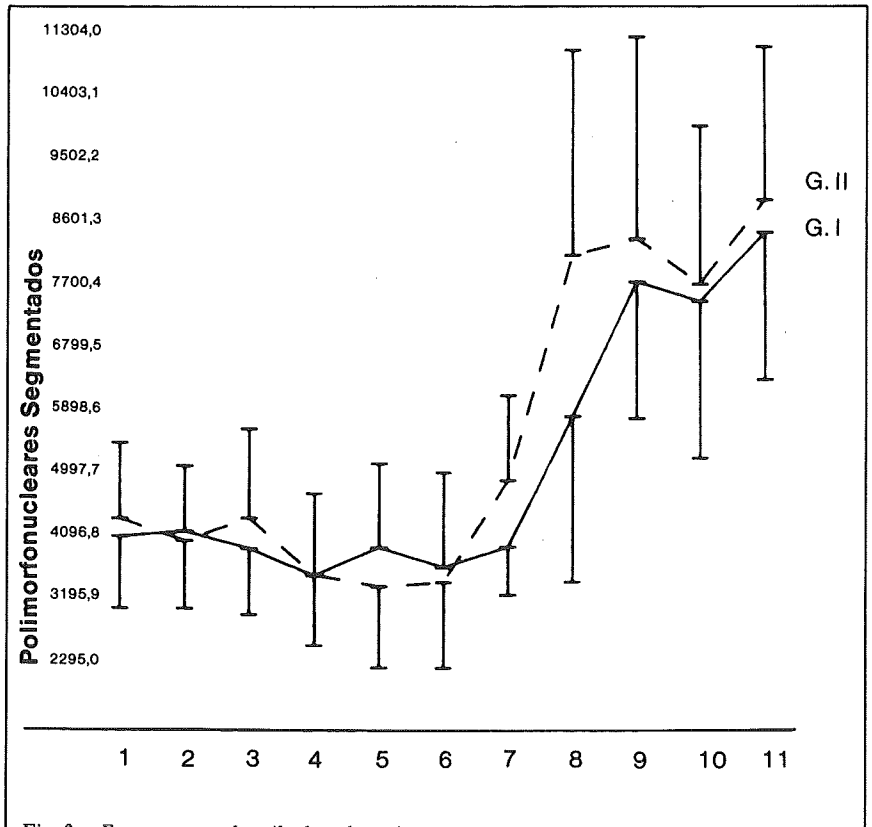

Fig. 3.—*Este esquema describe las alteraciones en número que sufren los polimorfonucleares segmentados durante el período quirúrgico.*

estable. Sólo en los tres primeros controles efectuados durante la circulación extracorpórea su disminución alcanza niveles de significación. A partir de la finalización de la circulación extracorpórea su número se eleva, pero sin significación estadística (Fig. 4, tablas III, IV y V).

El número de monocitos circulantes disminuye ligeramente a lo largo del período de perfusión total, para elevarse gradualmente al finalizar la misma y en el período posterior, en ambos grupos (Fig. 5, tablas III, IV y V).

El comportamiento de las células blancas, al comparar los dos grupos entre sí, es similar, en respuesta a un mismo procedimiento de circulación extracorpórea (Tabla V).

Discusión

En los enfermos estudiados, el número total de leucocitos circulantes disminuyó en el transcurso de la circulación extracorpórea. Una vez finalizada la perfusión y en el postoperatorio inmediato apareció una leucocitosis importante. Tanto la leucopenia como la leucocitosis fueron estadísticamente significativas respecto al valor basal.

Hammerschmidt y cols [11] estudiaron el comportamiento de los polimorfonucleares neutrófilos en enfermos sometidos a circulación extracorpórea con oxigenador de burbujas y de membrana, administrando, en unos casos, corticoides. Los dos tipos de oxigenadores produjeron una neutropenia significativa. La neutropenia que tuvo lugar en los enfermos operados con oxigenador de membrana fue más intensa y prolongada que en los operados con oxigenador de burbujas. La administración de corticoides sólo modificó los resultados en los enfermos operados con oxigenador de burbujas en el sentido de que en éstos la neutropenia fue menos intensa. En los enfermos operados con oxigenador de membrana no hubo diferencias entre los tratados con corticoides y los no tratados respecto a la neutropenia resultante.

En nuestro estudio con oxigenador de burbujas no hemos encontrado que la administración de metilprednisolona, a estas dosis, influya significativamente en la disminución en el número de polimorfonucleares.

La desaparición o disminución en el número de leucocitos circulantes estaría causada por la agregación de los mismos y su atrapamiento en algún lugar de su recorrido durante la perfusión cardiopulmonar.

Diversos autores [8, 18, 19] hacen responsable al pulmón del atrapamiento de los agregados de leucocitos origina-

dos durante la circulación extracorpórea y de la disminución del número de leucocitos circulantes en sangre periférica durante el mismo período. Sin embargo, otros estudios [1, 3] no han demostrado la existencia de estos agregados intrapulmonares. Del trabajo de Asada y Yamaguchi [1] se desprende que la no aparición de agregados de leucocitos intrapulmonares es debido al desarrollo de nuevas técnicas de perfusión y al empleo de materiales más biocompatibles, como los empleados en la actualidad.

En los diferentes filtros utilizados en la máquina de perfusión cardiopulmonar se han encontrado agregados de leucocitos atrapados en sus mallas y poros [20].

Durante la circulación extracorpórea se forman agregados de plaquetas y de leucocitos de 10-200 um que son infundidos en el enfermo durante la perfusión [7]. Estos agregados son atrapados en el sistema reticuloendotelial, particularmente en el bazo y en el hígado, permaneciendo en él durante un tiempo determinado [12]. La participación de los leucocitos en los agregados de plaquetas contribuye a la desaparición de los mismos en la sangre periférica durante el período de circulación extracorpórea.

El problema planteado es el de conocer cuál es la causa que origina que los leucocitos formen estos agregados. Para algunos autores [14, 16, 17] la formación de agregados estaría causada por la lesión que produce el sistema de oxigenación y de perfusión en los leucocitos. La alteración en su superficie celular daría lugar a la formación de agregados. Otros autores [2, 11] opinan que la formación de agregados de leucocitos sería secundaria a la activación del sistema del complemento y a la generación de $C5_a$ durante la circulación extracorpórea; sin embargo, los niveles de $C5_a$ permanecen estables durante el período de perfusión total [2].

En el período post-perfusión aparece una leucocitosis importante a expensas de todas las células blancas, siendo las formas más jóvenes las responsables de este aumento. El hecho más significativo es la elevación en su número que experimentan los polimorfonucleares cayados. La liberación desde la médula ósea de polimorfonucleares cayados sería un mecanismo compensador a la desaparición de las formas maduras que tuvo lugar durante la circulación extracorpórea [10]. Asimismo, es posible que la ruptura o disociación de los agregados de plaquetas y de leucocitos, formados anteriormente, den lugar a la aparición de leucocitos libres circulantes que cooperen en el aumento del número de los mismos en sangre periférica.

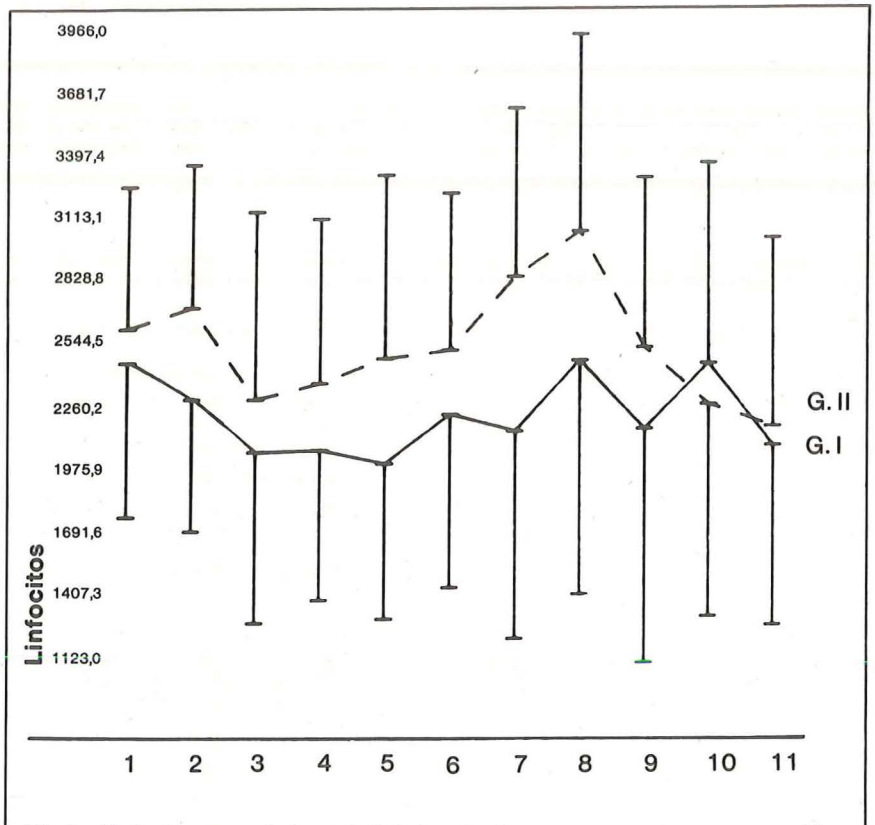

Fig. 4.—*En los dos grupos el número de linfocitos circulantes permanece relativamente estable a lo largo de la cirugía.*

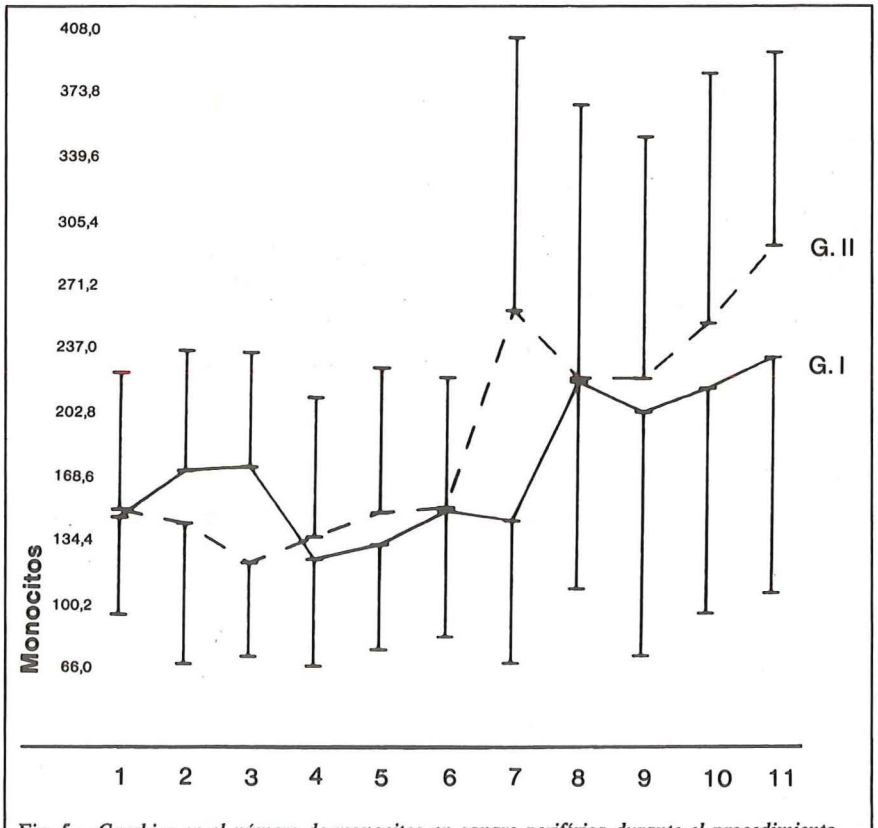

Fig. 5.—*Cambios en el número de monocitos en sangre periférica durante el procedimiento quirúrgico.*

Al igual que en estudios precedentes la administración de succinato sódico de metilprednisolona a razón de 30 mg/kg en una única dosis, no ha modificado la respuesta cuantitativa de las células blancas a la circulación extracorpórea realizada con oxigenador de burbujas. Según esto, parece que los corticoides no tienen influencia sobre el estímulo inicial que hace que los leucocitos disminuyan su número durante la perfusión y aumenten, por encima de los niveles basales, al finalizar la circulación extracorpórea.

Bibliografía

1. Asada S y Yamaguchi M. *Fine structural change in the lung following cardiopulmonary bypass. Its relationship to early postoperative course.* Chest 59: 478, 1971.
2. Chenoweth DE, Cooper SW, Hugli TE, Stewart RW, Blackstone EH y Kirklin JW. *Complement activation during cardiopulmonary bypass. Evidence for generation of $C3_a$ and $C5_a$ anaphylatoxins.* N Eng J Med 304: 497, 1981.
3. Cerdán FJ, Azpíroz F, Furio V, Buencuerpo J y Núñez L. *Acción de los corticoides sobre las alteraciones ultraestructurales pulmonares tras circulación extracorpórea.* Cir Esp 37: 198, 1981.
4. De Leval MR, Hill JD, Mielke CH. *Haematological aspects of extracorporeal circulation.* En "Techniques in extracorporeal circulation". Editado por Ionescu MI. Butterworths, Londres 1981, pp. 369-389.
5. Dietzman RH, Lunseth JB, Got LB y Berger EC. *The use of methylprednisolone during cardiopulmonary bypass. A review of 427 cases.* J Thorac Cardiovasc Surg 69: 870, 1975.
6. Dixon WS. *BMDP Statiscal Software.* University of California press. Berkeley, Los Angeles 1982.
7. Dutton RC y Edmunds LH Jr. *Measurement of emboli in extracorporeal perfusion system.* J Thorac Cardiovasc Surg 65: 523, 1973.
8. Fountain SW, Martin BA, Musclow CE y Cooper JD. *Pulmonary leukostasis and its relationship to pulmonary dysfunction in sheep and rabbits.* Circ Res 46: 175, 1980.
9. Goldstein IM, Roos D, Weissman G y Kaplan HB. *Influence of corticosteroids on human polymorphonuclear leukocyte function in vitro: reduction of lysosomal enzyme release and superoxide production.* Inflammation 1: 305, 1976.
10. Goodman JS, Schaffner W, Collins HA, Hattersby EJ y Koenig G. *Infection after cardiovascular surgery. Clinical study including examination of antimicrobial prophylaxis.* N Eng J Med 278: 117, 1968.
11. Hammerschmidt DE, Stroncek DF, Bowers TK, Lammi-Keefe CJ, Kurth DM, Ozalins A, Nicoloff DM, Lillehei RC, Craddock PR y Jacob HS. *Complement activation and neutropenia ocurring during cardiopulmonary bypass.* J Thorac Cardiovasc Surg 81: 370, 1981.
12. Hicks RE, Dutton RC, Ries CA, Price DL y Edmunds LH Jr. *Production and fate of platelet aggregate emboli during veno-venous perfusion.* Surg For 24: 250, 1973.
13. Kittle CF y Reed WA. *Antibiotics and extracorporeal circulation.* J Thorac Cardiovas Surg 41: 34, 1961.
14. Kusserow B, Larrow R y Nichols J. *Metabolic and morfological alterations in leukocytes following prolonged blood pumping.* Trans Am Soc Artif Intern Organs 15: 40, 1969.
15. Lundstrom M, Olsson P, Unger P y Ekestrom S. *Effect of extracorporeal circulation on hematopoiesis and phagocytosis.* J Cardiovas Surg 4: 664, 1963.
16. McIntire LV, Dewit TS y Martin RR. *Mechanical trauma effects on leukocytes.* Trans Am Soc Artif Intern Organs 22: 444, 1976.
17. McIntire LV, Dewit TS y Martin RR. *Effect of the antiplatelet drug dipiridamole on leukocyte response to mechanical trauma.* Trans Am Soc Artif Intern Organs 24: 310, 1978.
18. Rabelo RC, Oliveira SA, Tanaka H, Weigl DR, Verginelli G y Zerbini EJ. *The influence of the nature of the prime on postperfusion pulmonary changes.* J Thorac Cardiovasc Surg 66: 782, 1973.
19. Ratliff MB, Young WG, Hackel DB, Mikat E y Wilson JW. *Pulmonary injury secondary to extracorporeal circulation. An ultraestructural study.* J Thorac Cardiovasc Surg 65: 425, 1973.
20. Rigg IH y Green CG. *The Polystan (Rygg-Kyvsgaard) system for extracorporeal oxigenation and circulation.* En "Techniques in extracorporeal circulation". Editado por Ionescu MI. Butterworths, Londres 1981, pp. 101-128.
21. Silva J, Hoeksema H y Fekety FR. *Transient defects in phafocytic functions during cardiopulmonary bypass.* J Thorac Cardiovasc Surg 67: 175, 1974.
22. Wilson JW. *Treatment or prevention of pulmonary cellular damage with pharmacologic doses of corticosteroids.* Surg Gynecol Obstet 134: 675, 1972.

LEUKOCYTES AND CARDIOPULMONARY BY-PASS

Summary

Leukocytes are damaged by extracorporeal circulation systems like hemodyalisis and filtration leukapheresis. During cardiac surgery with cardiopulmonary bypass these cells are subjected to mechanical trauma, too.

Leukocyte counts were performed during cardiac surgery with extracorporeal circulation. Forty patients undergoing open heart surgery were divided into two groups. Group I (20 patients) underwent routine anaesthesia and surgery, and group II (20 patients) received one dose of Methylprednisolone (30 mg/kg) before induction of anaesthesia. A bubble oxygenator, non-haemic prime, corporal hypothermia 26-30 °C, and filters were used. Blood samples were drawn off at differents moments of surgery.

A prompt neutropenia ocurred during cardiopulmonary bypass and a rebound neutrophilia ocurred in post-bypass and postoperative periods in all patients. Corticosteroids did not affect leukocyte counts during open heart surgery with bubble oxygenator.

COLECCION CIENCIAS MEDICAS
EDUCACION SANITARIA

CONOZCA SU DIABETES (2.ª edición)
Emilio Moncada
1983. ISBN 84-313-0711-0. 128 págs. 650 ptas.

LA ENFERMEDAD EPILEPTICA
Francisco Abad Alegría
1983. ISBN 84-313-0796-X. 100 págs. 575 ptas.

EUNSA
EDICIONES UNIVERSIDAD DE NAVARRA, S. A. - Apdo. 396 - Tel. (948) 256850* - 31080 PAMPLONA (ESPAÑA)