

# Estudio comparativo morfológico y funcional de los granulocitos neutrófilos humanos obtenidos por los métodos de filtración y de centrifugación a flujo continuo

Francisco Cardellach López

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tesisenred.net](http://www.tesisenred.net)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

ESTUDIO COMPARATIVO MORFOLOGICO Y FUNCIONAL DE LOS  
GRANULOCITOS NEUTROFILOS HUMANOS OBTENIDOS POR LOS  
METODOS DE FILTRACION Y DE CENTRIFUGACION A FLUJO  
CONTINUO

Tesis presentada por  
D. Francisco CARDELLACH LOPEZ  
para aspirar al Grado de  
Doctor en Medicina  
Octubre, 1979

UNIVERSIDAD DE BARCELONA

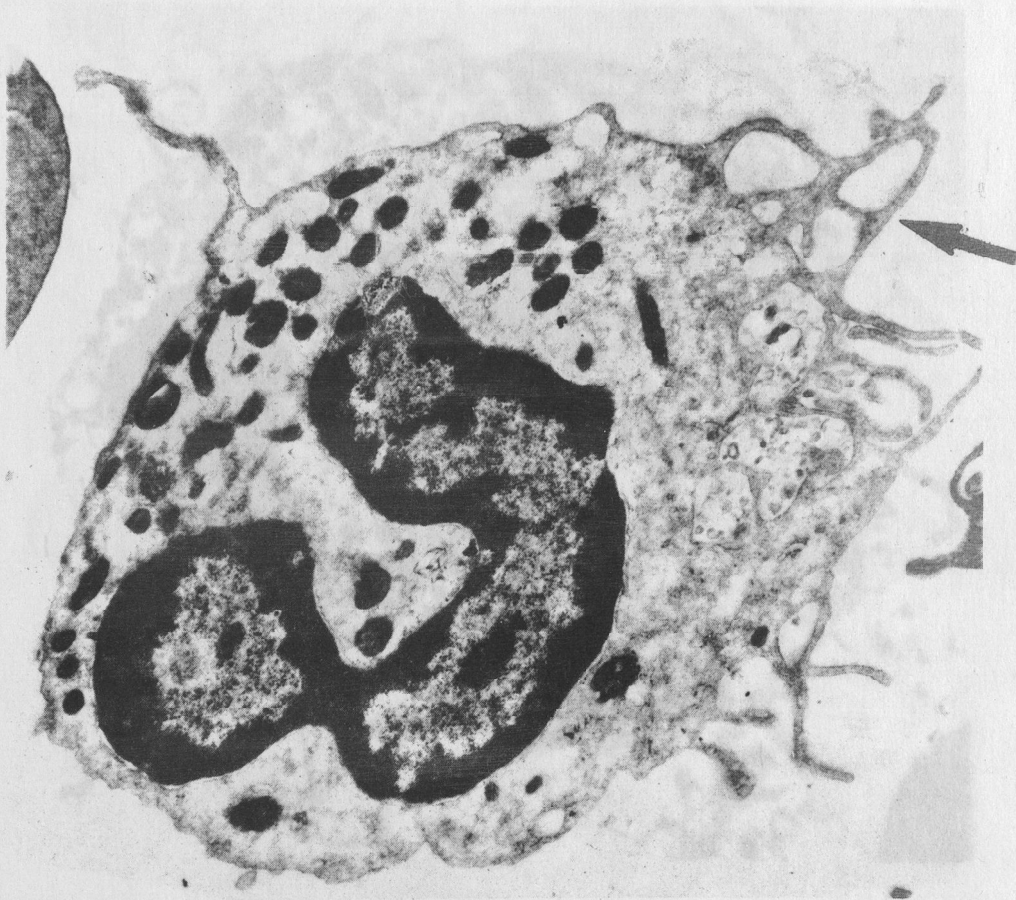


Fig. 32.- Granulocito neutrófilo obtenido por filtración. En un polo de la célula se observan diversos "microvilli" formando una malla que en su sección transversal semeja los cuerpos multivesiculares (flecha). (Aumento original 10.000x)

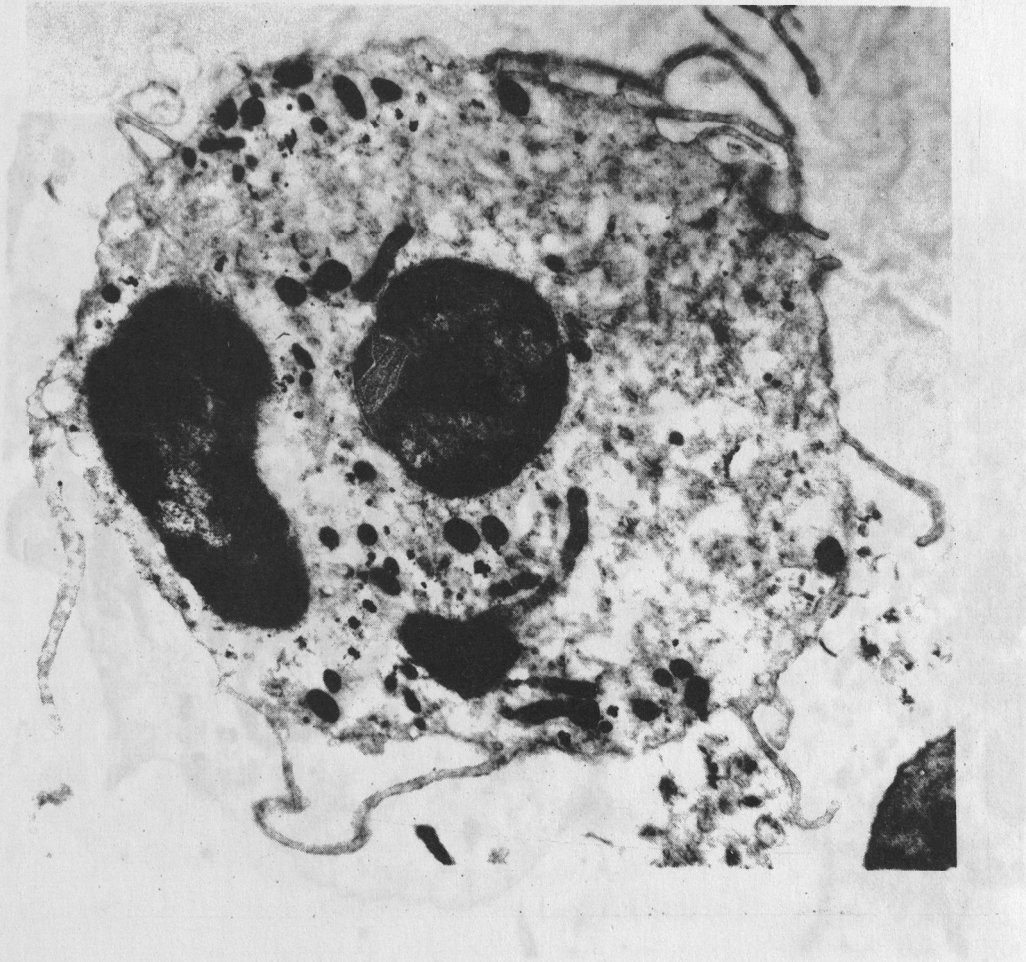


Fig. 33.- Granulocito neutrófilo obtenido por filtración. Obsérvese diversos "microvilli" y zonas citoplasmáticas extensamente desgranuladas. (Aumento original 8.000x).

Fig. 34.- Granulocito neutrófilo obten. . por centrifugación. Se advierte claramente el desplazamiento centrifugo de la mayoría de los granulos. (Aumento original

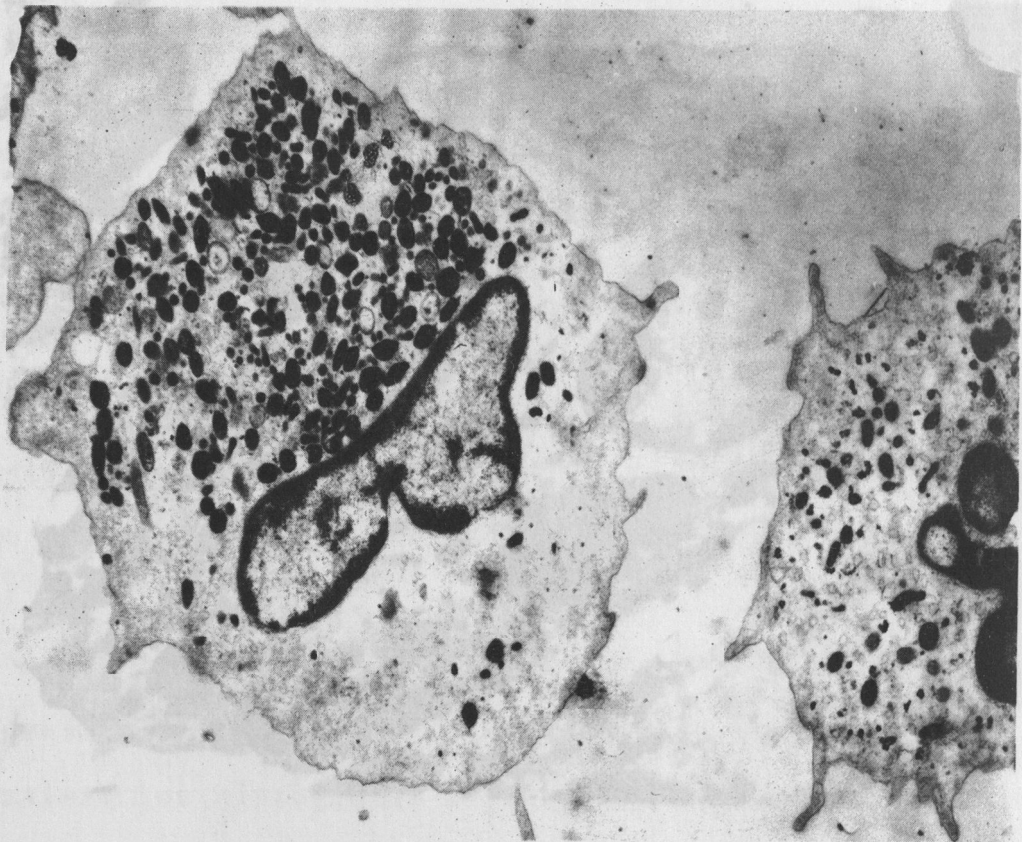


Fig. 34.- Granulocito neutrófilo obtenido por centrifugación. Se advierte claramente el desplazamiento centrífugo de la mayoría de los gránulos. (Aumento original)

6.2. ESTUDIO FUNCIONAL DE LOS GN DEL CUERPO VERDE

6.2.1. Quimiotaxis. - En la Tabla VII se exponen los resultados de la quimiotaxis (A) y de la movilidad al azar (B) con 33 individuos sanos, con una incubación de 3 horas. Vienen expresados en: distancia recorrida (A y B), índice quimiotáctico (A/B), desplazamiento diferencial (a-b) y velocidad de migración o quimioquinesis (A/t y B/t) frente a cuatro factores quimiotácticos.

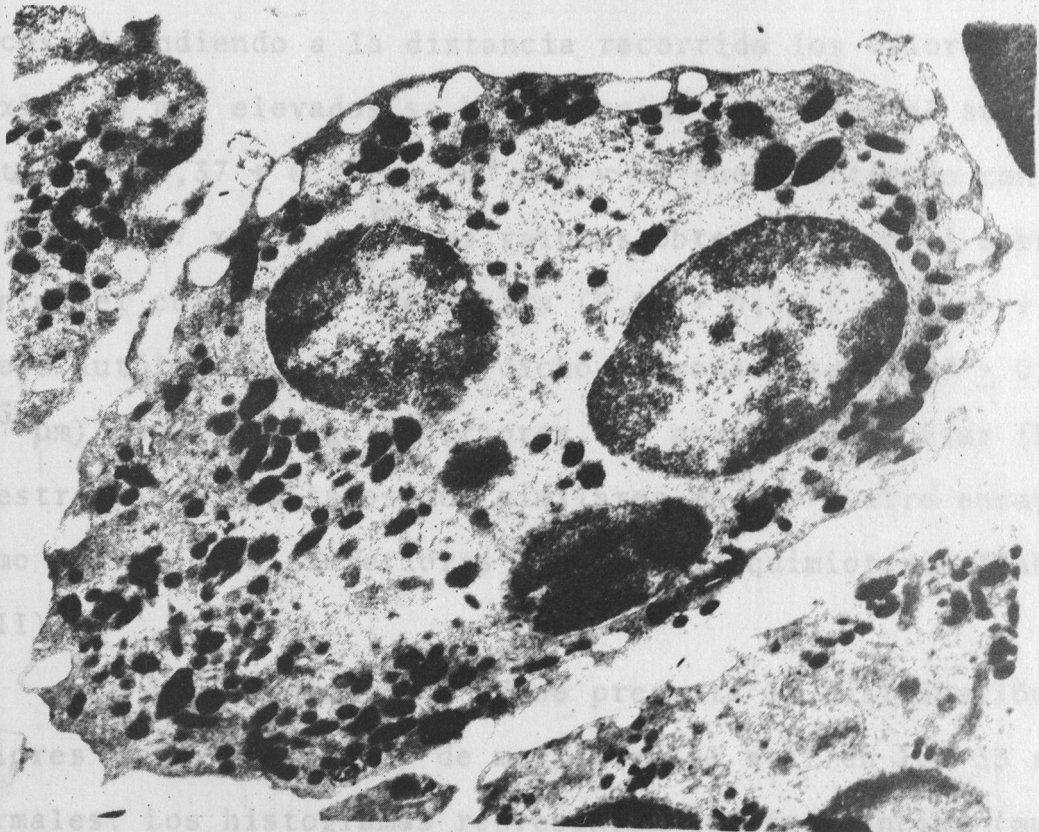


Fig. 35.- Granulocito neutrófilo procesado por filtración. Resaltan diversas formaciones vesiculares submembranas formadas durante el inicio de la adherencia al filtro. Obsérvese la integridad celular. (Aumento original 10.000x)

## 6.2. ESTUDIO FUNCIONAL DE LOS GN DEL GRUPO CONTROL

6.2.1. Quimiotactismo. - En la Tabla XII se exponen los resultados de la quimiotaxis (A) y de la movilidad al azar (B) con 33 individuos sanos, con una incubación de 3 horas. Vienen expresados en: distancia recorrida (A y B), índice quimiotáctico (A/B), desplazamiento diferencial (A-B) y velocidad de migración o quimiocinesis (A/t y B/t) frente a cuatro factores quimiotácticos. Atendiendo a la distancia recorrida los valores de quimiotaxis (A) más elevados se han obtenido empleando el suero autólogo ( $1,37 \pm 0,24 \times 10^3 \mu\text{m}$ ) y el suero activado con zimosán ( $1,52 \pm 9,27 \times 10^3 \mu\text{m}$ ). Los valores obtenidos con el sobrenadante del cultivo de Klebsiella ( $0,91 \pm 0,30 \times 10^3 \mu\text{m}$ ) y con el suero autólogo activado con dicho sobrenadante ( $1,13 \pm 0,35 \times 10^3 \mu\text{m}$ ) han sido algo inferiores. La movilidad al azar (B) muestra unos resultados muy similares en los cuatro ensayos y, como corresponde, inferiores a los de la quimiotaxis (Tabla XIII).

En las figuras 36 y 37 se presenta la distribución de los valores de quimiotaxis y de movilidad al azar en los 33 sujetos normales. Los histogramas representan las frecuencias (multiplicadas por la desviación estándar) de las distancias recorridas por los GN de los sujetos estudiados. Los citados histogramas se contrastan con la distribución normal teórica.

RESULTADOS DE LA QUIMIOTAXIS (A) Y DE LA MOVILIDAD AL AZAR (B)

	$\bar{X} \pm S$			
	S	K	S + Z	S + K
A ( $\mu\text{m} \times 10^3$ )	1,37 $\pm$ 0,24	0,91 $\pm$ 0,30	1,52 $\pm$ 0,27	1,13 $\pm$ 0,35
B ( $\mu\text{m} \times 10^3$ ) (distancia recorrida)	0,39 $\pm$ 0,13	0,36 $\pm$ 0,14	0,39 $\pm$ 0,13	0,38 $\pm$ 0,12
A/B (índice quimiotáctico)	3,85 $\pm$ 1,27	2,84 $\pm$ 1,22	4,41 $\pm$ 1,92	3,14 $\pm$ 1,00
A - B ( $\mu\text{m} \times 10^3$ ) (desplazamiento diferencial)	0,98 $\pm$ 0,25	0,56 $\pm$ 0,25	1,12 $\pm$ 0,29	0,76 $\pm$ 0,31
A/t (mm/hora)	0,46 $\pm$ 0,08	0,30 $\pm$ 0,10	0,50 $\pm$ 0,09	0,37 $\pm$ 0,11
B/t (mm/hora) (quimiocinesis)	0,13 $\pm$ 0,04	0,12 $\pm$ 0,05	0,13 $\pm$ 0,04	0,12 $\pm$ 0,04

S = suero autólogo; K = sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella;  
 S + Z = suero autólogo activado con zimosán; S + K = suero autólogo  
 activado con el sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella



## LA XIII

## MIOTACTISMO Y MOVILIDAD AL AZAR DE LOS GN DEL GRUPO CONTROL

S		K		S + Z		S + K		CONCENTRACION DE GN $\times 10^3/\mu\text{l}$
Q	A	Q	A	Q	A	Q	A	
1,36	0,52	0,93	0,45	1,52	0,52	1,19	0,48	80
1,34	0,45	1,13	0,40	1,82	0,47	1,54	0,46	35,25
1,47	0,32	0,73	0,33	1,56	0,35	0,99	0,31	30
1,58	0,42	1,04	0,42	1,68	0,56	1,52	0,47	39,7
1,39	0,29	0,89	0,33	1,47	0,33	1,05	0,30	40
1,50	0,48	0,86	0,49	1,67	0,51	1,24	0,49	53,2
0,90	0,20	0,65	0,13	1,10	0,40	0,81	0,27	46,55
1,28	0,49	0,76	0,32	1,89	0,36	1,26	0,45	40
1,24	0,18	0,47		1,59	0,13	0,62	0,38	88
1,34	0,27	0,54	0,29	1,54	0,31	0,88	0,33	51
1,36	0,38	0,79	0,46	1,61	0,43	1,03	0,39	44,2
1,54	0,27	0,67	0,24	1,59	0,36	0,86	0,25	36,5
1,54	0,40	0,68	0,25	1,79	0,30	0,97	0,29	44,5
1,52	0,23	0,62	0,35	1,76	0,30	0,88	0,33	48,4
1,26	0,54	1,00	0,28	1,70	0,48	1,14	0,36	77,8
1,08	0,43	0,86	0,43	1,46	0,58	0,72	0,25	66,8
0,79	0,19	0,27	0,15	1,07	0,14	0,21	0,17	60
				1,45	0,42			61
1,85	0,53	0,60	0,25	2,00	0,48	0,96	0,39	72
1,68	0,46	1,52	0,57	1,57	0,48	1,53	0,44	64,6
1,28	0,39	1,21	0,28	1,46	0,42	1,50	0,42	90
1,44	0,32	1,21	0,21	1,75	0,34	1,88	0,35	44
1,76	0,38	1,28	0,24	1,94	0,28	1,67	0,40	75,4
1,68	0,48	1,38	0,34	1,83	0,40	1,52	0,53	72
1,52	0,31	0,81	0,32	1,37	0,39	1,37	0,31	65,2
1,33	0,64	1,20	0,58	1,35	0,60	1,43	0,63	55,8
0,94	0,96	1,07	0,70	1,11	0,73	0,95	0,73	92,6
1,21	0,26			1,19	0,26	1,03	0,24	77,6
1,30	0,30			1,38	0,30	1,14	0,28	62
		0,92	0,18	1,00	0,21	0,93	0,17	78,8
1,26	0,50	0,78	0,42	1,28	0,48	1,00	0,48	78,4
1,27	0,41			1,54	0,39			61
1,60	0,40	1,43	0,58	1,00	0,25	1,32	0,34	50
31		29		33		31		33
1,37	0,39	0,91	0,36	1,52	0,39	1,13	0,38	60,6
+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,24	0,13	0,30	0,14	0,27	0,13	0,35	0,12	17,38

resultados se expresan en  $\mu \times 10^3$

suero; K = sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella; S + Z = suero  
 lavado con zimósán; S + K = suero activado con sobrenadante de cultivo  
 de Klebsiella

quimiotactismo; A = movilidad al azar

$\pm$  S de todos los valores de movilidad al azar (n = 123) =  $0,38 \pm 0,13$

### QUIMIOTAXIS

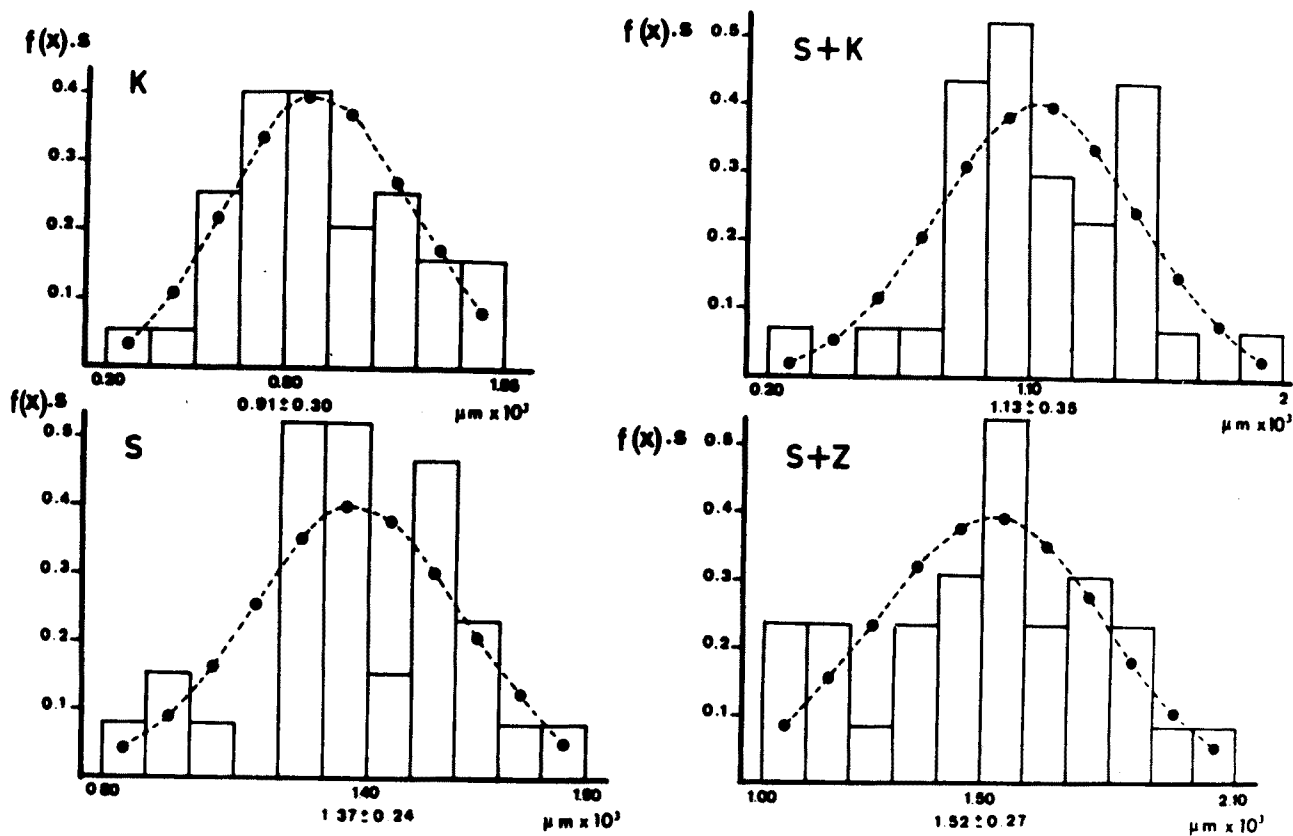


Fig. 36.- Distribución de los valores de la quimiotaxis en 33 sujetos normales frente a cuatro factores quimiotácticos. En línea discontinua está representada la distribución normal y teórica. S = suero autólogo; K = sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella, S + K = suero autólogo activado con sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella; S + Z = suero autólogo activado con zimosán.

### MOVILIDAD AL AZAR

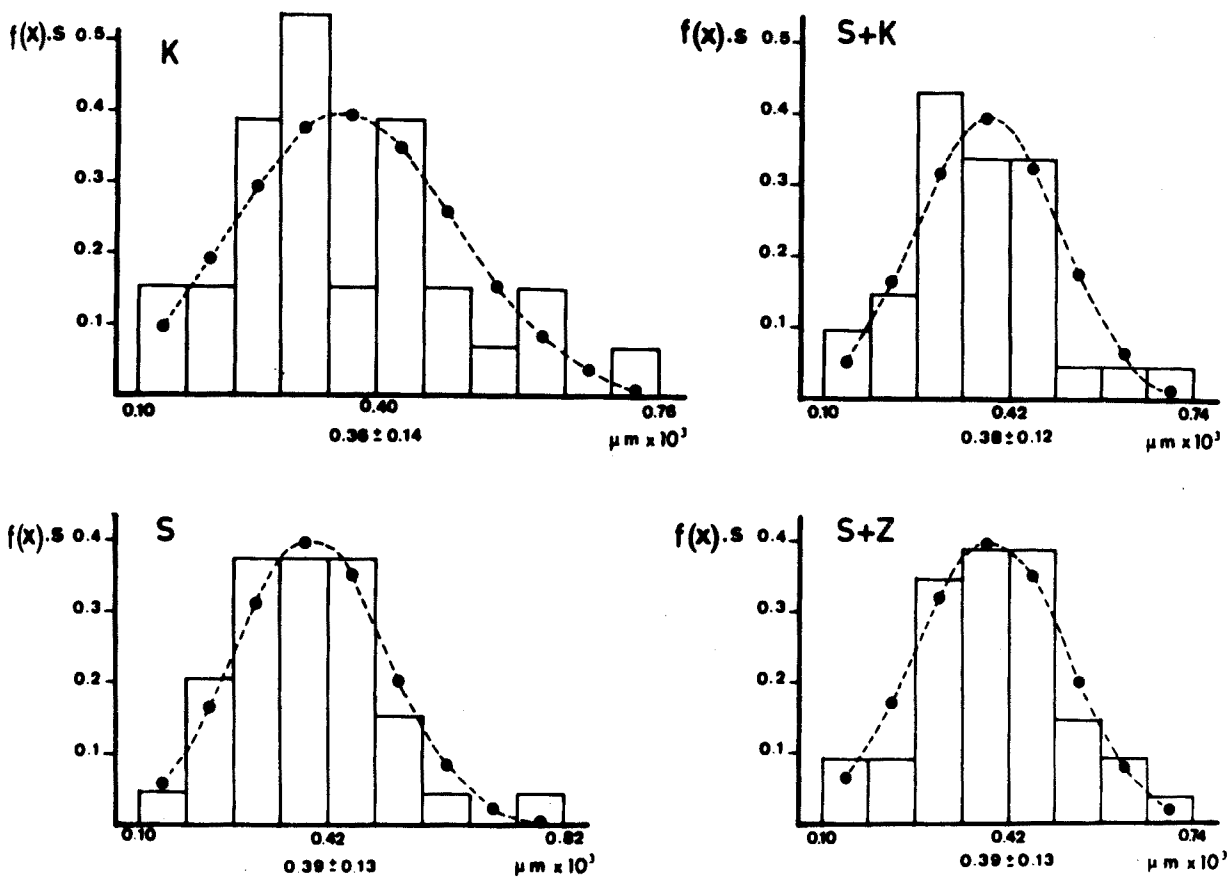


Fig. 37.- Distribución de los valores de la movilidad al azar en 33 sujetos normales. En línea discontinua está representada la distribución normal teórica.

6.2.2. Ingestión de partículas de bactolátex y reducción del NAT (método citoquímico).- Los resultados de 34 sujetos normales están expresados en la Tabla XIV. La ingestión de partículas de bactolátex a los 15 minutos de incubación ha sido positiva en el  $98,44 \pm 2,26\%$  de los granulocitos. La reducción del NAT se ha objetivado en el  $91,47 \pm 5,89$  de estos granulocitos que habían ingerido látex.

TABLA XIV  
 INGESTION DE PARTICULAS DE BACTOLATEX Y REDUCCION DEL NAT (METODO  
 CITOQUIMICO) POR LOS GN DEL GRUPO CONTROL

	L+	L+ NAT+	L+ NAT-
MTC	97	82	18
EBA	100	80	20
JBM	96	87	13
MJV	100	100	0
RJM	99	93	7
CGO	100	96	4
JGC	100	95	5
FTM	100	98	2
NCC	100	96	4
CPF	100	98	2
JCB	100	96	4
ECP	95	97	3
JFH	95	95	5
EFA	94	96	4
FJV	98	95	5
MAG	99	98	2
JPR	100	99	1
MGO	95	85	15
MMH	100	87	13
MGJ	98	89	11
EMD	99	98	2
IEA	100	92	8
ACV	100	80	20
AAN	100	93	7
JJT	100	92	8
AGV	99	93	7
PDN	99	88	12
FRN	98	82	18
FLA	98	88	12
TNM	94	83	17
PNF	91	84	16
STA	100	90	10
NCA	100	93	7
LAN	99	92	8
N° de casos	34	34	34
$\bar{X} \pm S$	98,44 $\pm$ 2,26	91,47 $\pm$ 5,89	8,53 $\pm$ 5,89

Los resultados se expresan en porcentaje de GN que han ingerido un número de partículas de látex igual o superior a 10 (GN látex positivo); porcentaje de GN que además de haber ingerido dicho número de partículas, reducen el NAT a formazán (GN látex positivo y NAT positivo) y porcentaje de GN que habiendo ingerido un número de partículas de látex igual o superior a 10 no reducen el NAT (GN látex positivo y NAT negativo)

6.2.3. Reducción del NAT (método colorimétrico). - Se ha determinado en 40 casos. A los 13 minutos la reducción del NAT espontánea o en reposo, es decir, por aquellos granulocitos sin fagocitar, ha sido de  $0,100 \pm 0,060$ , expresado en diferencia de densidad óptica  $\times 2,5 \times 10^6$  GN/minuto (Tabla XV). La reducción del NAT activado, es decir, por los granulocitos fagocitando partículas de zimosán, ha sido de  $0,400 \pm 0,120$ , expresado del mismo modo. En las figuras 38 y 39 están representados, en forma de histogramas, los valores obtenidos en los 40 sujetos. En raya discontinua está representada la distribución normal teórica.

En la figura 40 pueden observarse todos los valores obtenidos, tanto en reposo como tras la activación de los GN con zimosán. Cada valor en reposo está unido con su correspondiente después de la activación de los GN. Obsérvese cómo los valores correspondientes a los GN activados son prácticamente en todos sensiblemente mayores que en la fase de reposo. En la figura 41 están representadas las medias y valores extremos en ambos casos.

TABLA XV -126  
 REDUCCION DEL NAT (METODO COLORIMETRICO) POR LOS GN DEL GRUPO CONTROL

	ESPONTANEA	ACTIVADA
AAA		0,378
JGF		0,383
FCL		0,257
EFF		0,438
MRP		0,302
JBC	0,100	0,313
FCA	0,231	
MSL	0,054	0,424
CAC	0,078	0,244
CAL	0,157	0,370
MFB	0,092	0,156
RBS	0,244	
EBA	0,060	0,523
BRR	0,127	0,298
JBM	0,105	0,537
MJV	0,113	0,279
RJM	0,143	0,533
CGO	0,126	0,390
JGC		0,419
FTM	0,241	0,293
NCC	0,135	0,413
CPF	0,129	0,398
JCB	0,173	0,371
ECP	0,052	0,435
JFH	0,176	
MMT	0,150	0,405
EFA	0,100	0,667
EMJ	0,035	0,607
FJV	0,000	0,364
MAG	0,091	0,440
JPR	0,000	0,351
MGO	0,051	0,500
MMH	0,079	0,430
MGJ	0,033	0,342
EMD	0,065	0,534
IEA	0,157	0,457
ACV	0,017	0,640
AAN	0,045	
JJT	0,048	0,338
JVC	0,048	0,293
JPD	0,110	0,280
EAT	0,064	0,161
AGV	0,139	
PDN	0,120	
FRN	0,072	0,618
FLA	0,177	0,471
N° de casos	40	40
$\bar{X} \pm S$	0,100 $\pm$ 0,060	0,400 $\pm$ 0,120

Los resultados se expresan en  $DO \times 2,5 \times 10^6$  GN/min

### REDUCCION DEL NAT ESPONTANEA

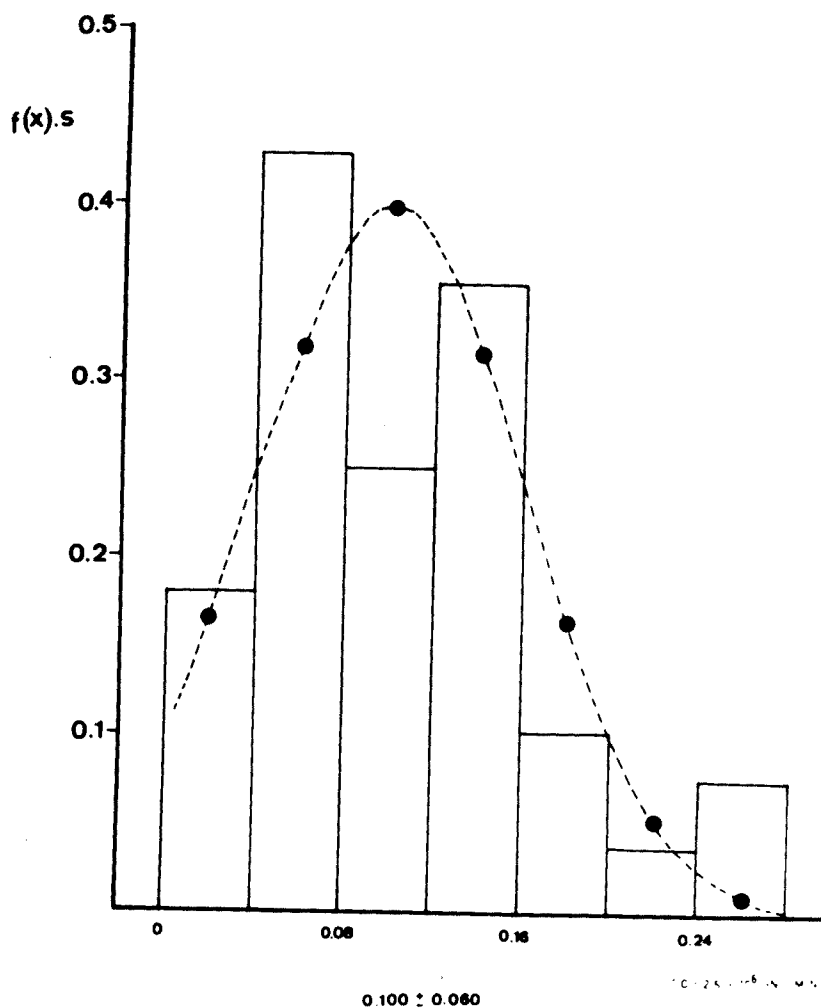


Fig. 38.- Reducción del NAT espontánea en 40 sujetos normales. En línea discontinua está representada la distribución normal teórica.



### REDUCCION DEL NAT ACTIVADA

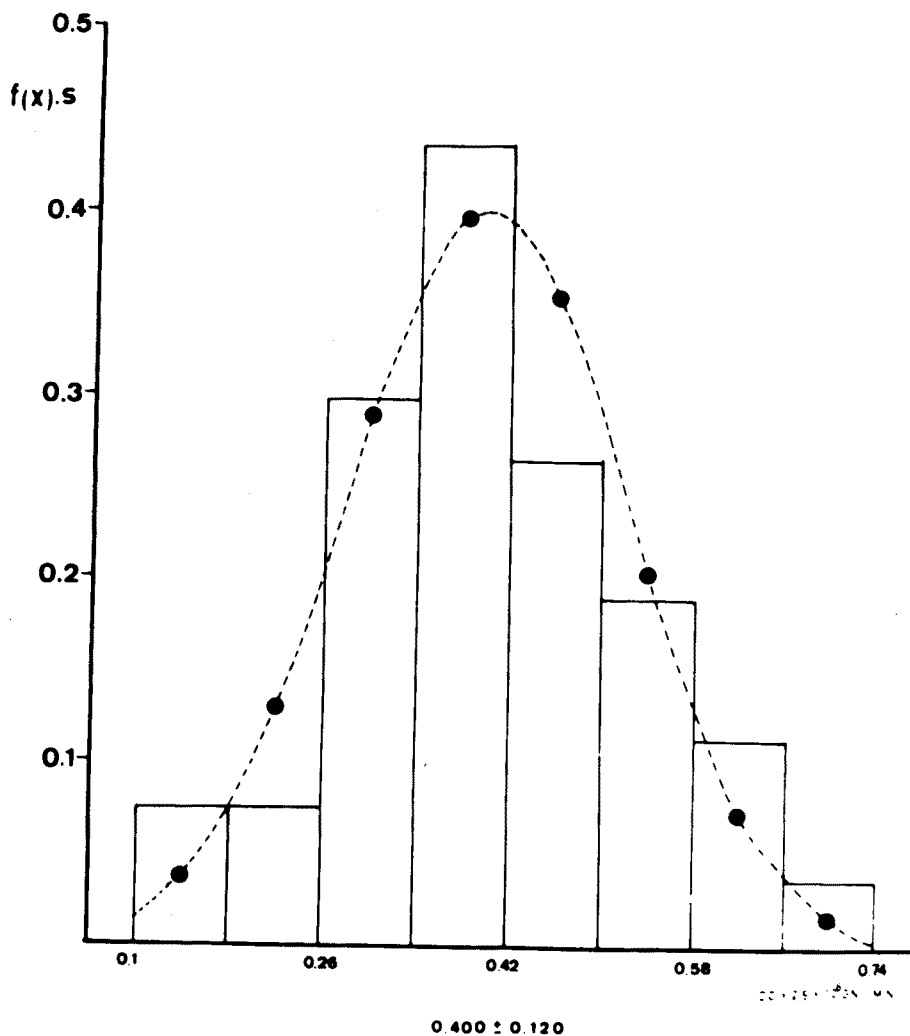


Fig. 39.- Reducción del NAT activada en 40 sujetos normales. En línea discontinua está representada la distribución normal teórica.

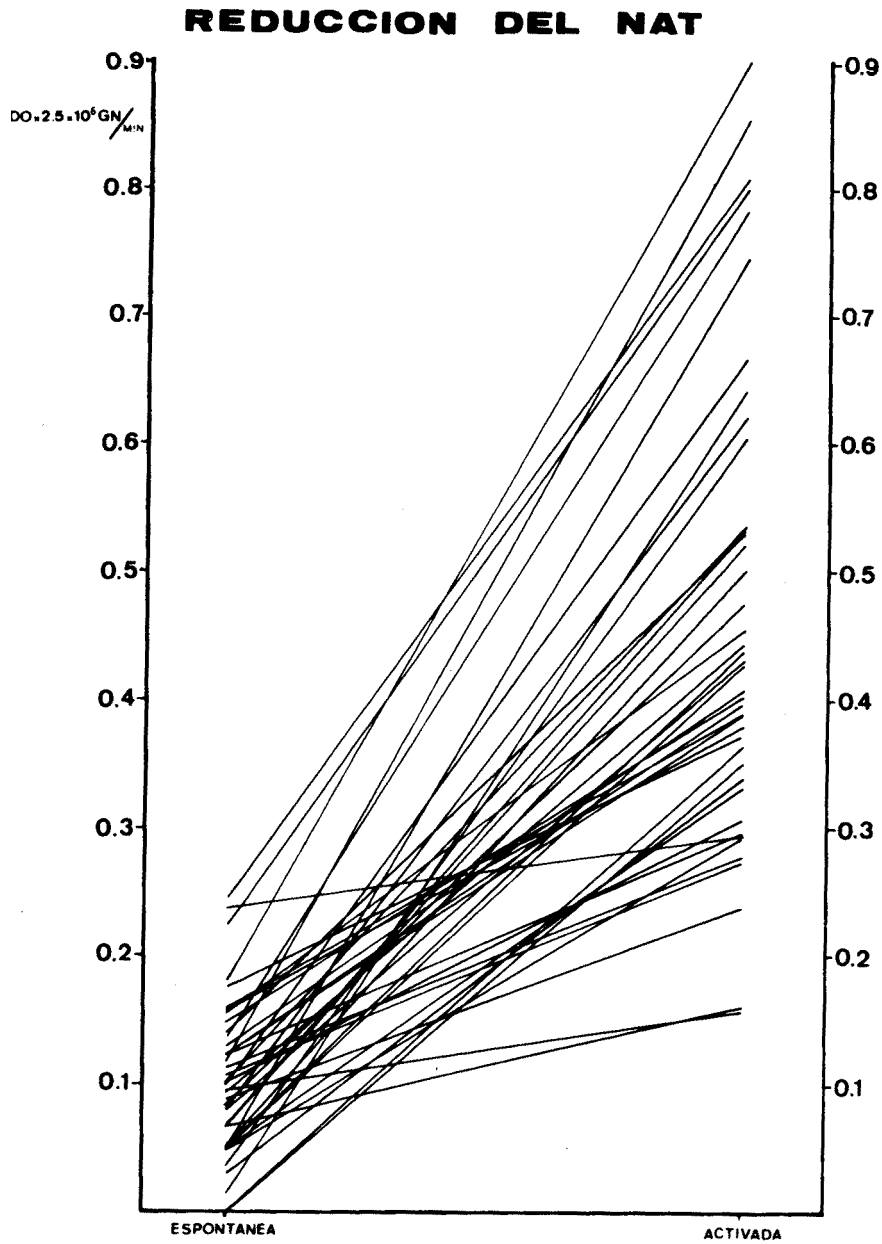


Fig. 40.- Representación de todos los valores de reducción del NAT, espontánea y activada en los sujetos normales. Cada valor en reposo está unido con su correspondiente en activación.

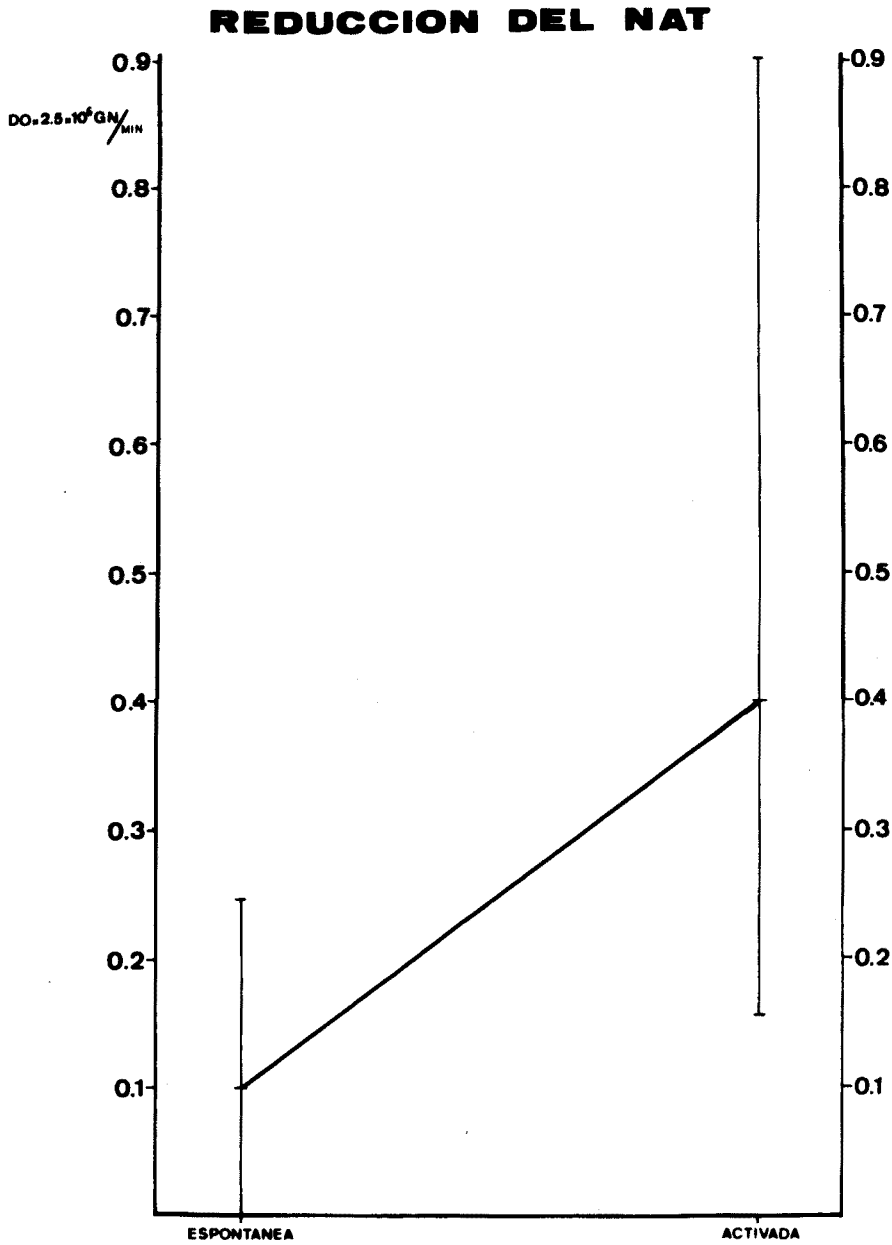


Fig. 41.- Representación de los valores extremos de reducción del NAT en los sujetos normales. Las medias de cada caso (espontánea y activada) están unidas por una línea gruesa.

6.2.4. Producción de radical superóxido.- Ha sido determinada en 36 sujetos mediante la reducción del citocromo C, con un valor medio (media del de los 5, 10 y 15 minutos) de  $3,62 \pm 1,11$  nanomoles de citocromo C reducido/minuto/ $10^6$ GN (Tabla XVI).

En la figura 42 están representados en forma de histogramas todos los valores correspondientes a los sujetos estudiados. Asimismo, en trazo discontinuo, figura la distribución normal teórica.

	5 minutos	10 minutos	15 minutos	media
BRR	8,57	4,47	6,51	6,52
REA	5,02	4,66	5,68	5,12
JGJ	4,88	2,91	4,07	4,29
GFG	2,30	1,66	2,80	2,26
MPB	2,49	4,45	4,86	3,94
ARM	5,25	4,14	4,78	4,73
JVH	2,31	3,27	2,69	2,76
NFV	0,76	3,13	2,97	2,29
CCM	7,72	4,17	3,19	5,03
EHM	3,04	2,94	2,97	2,99
EEA	4,63	2,49	2,02	3,05
JCF	3,61	4,37	3,61	3,87
CEM	0	4,44	2,62	2,36
EFF	3,20	4,18	3,91	3,77
MRP	1,72	3,53	3,27	2,84
JBC	3,74	4,71	3,50	3,99
FCA	3,56	3,47	3,56	3,53
MSL	3,56	4,54	3,20	3,77
CAC	2,53	2,14	2,85	2,50
MFB	3,90	3,74	2,55	3,40
MTC	4,42	3,96	3,57	3,98
BRR	5,62	6,78	5,61	6,00
JBN	4,45	2,78	5,11	4,11
CGO	4,34	5,91	6,43	5,56
NCC	4,91	3,54	1,36	3,27
JCB	2,70	2,86	1,67	2,41
ECP	3,12	4,99	4,77	4,29
JFH	3,14	4,61	4,97	4,24
BFA	3,45	2,27	1,67	2,46
BMJ	2,66	1,77	1,84	2,09
MAG	2,99	3,28	2,44	2,90
MMH	3,99	4,41	2,43	3,61
MGJ	3,84	2,73	2,10	2,89
AGV	5,88	4,32	3,65	4,61
GNM	2,52	2,43	2,40	2,45
PNF	6,24	4,22	3,23	4,56
Nº de casos	36	36	36	36
$\bar{x} \pm S$	3,81 $\pm$ 1,71	3,76 $\pm$ 1,11	3,47 $\pm$ 1,34	3,68 $\pm$ 1,11

Los resultados se expresan en nM/min/10<sup>6</sup> GN

### REDUCCION DEL CITOCROMO C

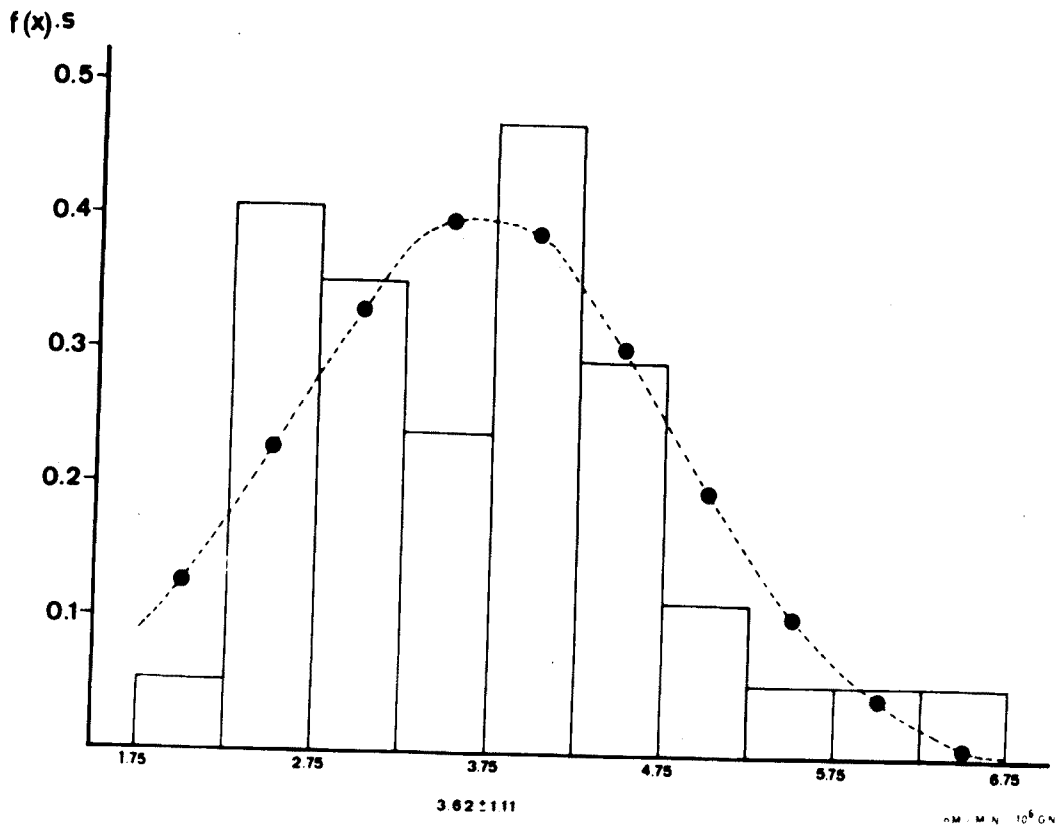


Fig. 42.- Distribución de los valores de reducción del citocromo C en 36 sujetos normales. En línea discontinua está representada la distribución normal teórica.

6.2.5. Yodación.- Esta técnica se ha llevado a cabo en 44 sujetos normales, con un valor medio de los 10 y 20 minutos, de  $11,24 \pm 3,81$  nanomoles de yodo incorporado/hora/ $10^7$ GN (Tabla XVII).

Como en los casos anteriores, en la figura 43 están representados los valores reales en forma de histogramas (frecuencia x desviación estándar) y la curva de distribución normal teórica.

## VALORES DE YODACION EN LOS GN DEL GRUPO CONTROL

	10 minutos	20 minutos	media
MSR	7,27	12,75	10,01
ASM	5,27	13,23	9,25
ASC	6,98	7,15	7,06
FCL	14,42	22,98	18,60
GFG	8,70	13,88	11,29
JCD	11,15	17,08	14,11
MCA	7,39	8,48	7,93
ARM	9,96	9,32	9,64
JVH	7,85	11,97	9,91
MVV	6,83	7,44	7,13
NFV	14,51	22,11	18,31
TRF	12,06	18,20	15,13
MHG	7,92	12,11	10,01
CCM	11,21	16,82	14,01
EHM	9,83	14,61	12,22
EEA	11,10	11,57	11,38
JCF	7,99	9,94	8,96
CEM	7,84	10,12	8,98
EFF	7,20	6,86	7,03
MRP	7,03	9,96	8,49
JBC	8,68	13,27	10,97
FCA	11,79	13,48	12,63
MSL	4,42	6,90	5,66
CAR	8,06	10,99	9,52
MFB	8,40	10,13	9,26
EBM	9,24	9,83	9,53
MTC	8,72	8,76	8,74
BRR	19,70	18,40	19,05
MJV	13,05	14,58	13,81
RJM	21,45	18,94	20,19
MMT	6,66	9,66	9,16
EFA	10,51	13,61	12,06
EMJ	4,98	6,38	5,68
FJV	8,79	8,75	8,77
MAG	7,83	9,58	8,70
JPR	8,51	6,97	7,74
MGO	10,40	7,29	8,84
MMH	17,86	16,48	17,17
EMD	14,96	22,09	18,52
JJT	7,88	10,07	8,97
JVC	12,97	13,67	13,32
DTF	7,80	10,33	9,06
EAT	15,72	16,01	15,86
PDN	12,13	13,34	12,73
N°de casos	44	44	44
$\bar{X} \pm S$	10,07 $\pm$ 3,75	12,41 $\pm$ 4,34	11,24 $\pm$ 3,81

Los valores se expresan en nM/hora/10<sup>7</sup> GN



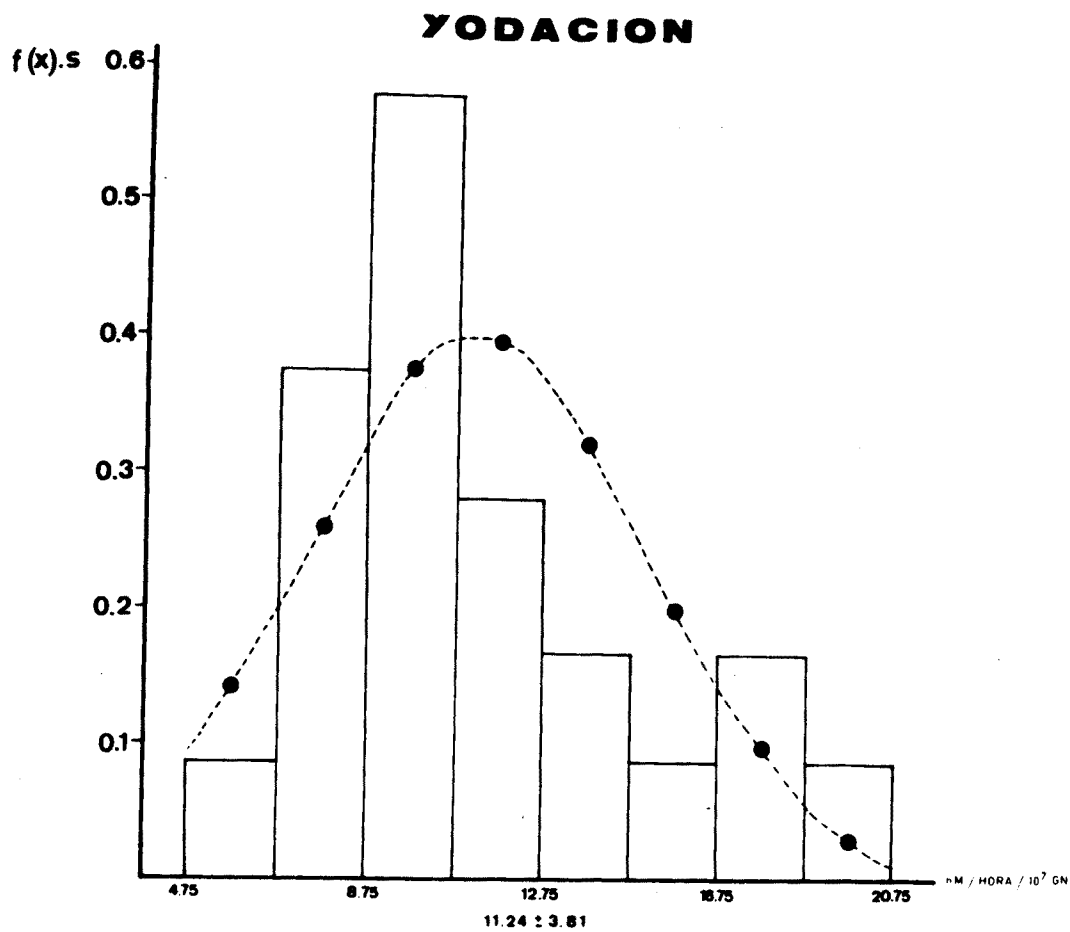


Fig. 43.- Distribución de los valores de yodación en 44 sujetos normales. En línea discontinua está representada la distribución normal teórica.

6.3. FUNCIONALISMO DE LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE FILTRACION (Tablas XVIII, XIX, XX, XXI y XXII)

6.3.1. Quimiotactismo. - Los GN(FL) mostraron, respecto al grupo control, una disminución del quimiotactismo frente a suero, suero activado con zimosán y suero activado con sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella, aunque solo fue significativa frente a suero ( $1,24 \pm 0,4 \mu\text{m} \times 10^3$ ;  $p < 0,05$ ) y frente a suero activado con zimosán ( $1,16 \pm 0,25$  y  $1,52 \pm 0,27$ ;  $p < 0,0005$ ). Frente a sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella, los GN(FL) mostraron una mayor capacidad de desplazamiento respecto al grupo control, aunque no de forma significativa (Tabla XXIII).

6.3.2. Movilidad al azar. - La movilidad al azar fue significativamente inferior en los GN(FL) que en el grupo control ( $0,33 \pm 0,18$  y  $0,38 \pm 0,13$ ;  $p < 0,02$ ) (Tabla XXIV).

TABLA XVIII

QUIMIOTACTISMO DE LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE FILTRACION

	S		K		S + Z		S + K		Concentración GN (x10 <sup>3</sup> µl)	
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
EM	1,27		1,01		1,46		0,48		52	
LVC	1,82	1,43	0,73	0,46	2,14	1,57	1,19	0,61	58,2	51,4
MPE	1,21	1,21	0,50		1,57				75	75
PLS	1,81	1,14	1,78	1,28	1,88	1,14	1,64	1,39	94,4	118
WNG	2,28		2,28	1,57	2,78		2,21	1,43	80	80
MPA	1,10	1,11	1,08	0,96	1,08	1,08	1,07	1,07	70	50
JVG	1,01		0,88	0,57	1,16	0,67	0,88	0,71	54	22
JAM			0,82		2,14				50	41,8
AMC	1,21		0,92		1,14		0,98		53,4	
RHR	1,07				1,28				40,4	
T	1,61	1,30	1,61	1,55	1,54	1,35	1,51	1,10	72,8	60,4
AGM	1,30		1,14		1,35				60	
GF	1,47		1,14		1,41		1,23		80	
ES	1,46		1,14		1,39		1,33		63	
ACHF	0,92	1,14	1,00	0,78	1,00	1,02	0,85	0,97	55	60
MSC	1,82		1,60	0,85	1,95		1,77	0,85	70	65
EAH	1,00		0,85	0,64	1,00	0,71	0,89		70	70,4
MSP	0,85	1,13	0,90	0,97	0,92	1,16	1,11	1,30	75	70
EVM			0,87		1,17		1,09		90	
RG		1,50	0,85	1,04	1,14	1,39	0,92	1,41	52	70
RLG	1,46		1,15		1,51		1,40		75	65
GRA	1,30	1,16	1,26	0,95	1,35	1,21	1,35	1,08	75	88
CCC	1,50	1,38	1,12	1,17	1,38	1,32	1,38	1,46	47	53
FCC	1,19		0,89	0,71	1,43	1,14	1,19	1,00	60	71
GT		1,23		1,03		1,35		1,32		80
AAV		1,10		0,92		1,14		1,01		77
FC	1,28		1,01		1,38		1,041		70	
AP	1,26		1,07		1,32		1,28		68	
de casos	23	12	25	16	26	14	22	15	26	19
$\bar{X} \pm S$	1,40*	1,24	1,16*	0,97	1,50*	1,16	1,28*	1,11	65,7	66,76
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	0,31	0,14	0,32	0,32	0,35	0,25	0,33	0,27	13,3	19,89

Los resultados se expresan en um x 10<sup>3</sup>

S = suero; K = sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella; S + Z = suero activado con zimosán; S + K = suero activado con el sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella

A = antes del proceso de leucaféresis pero después de haber administrado la medicación a los donantes; D = después del proceso de leucaféresis

\*  $\bar{X} \pm S$  de los valores de quimiotactismo de todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis frente a los cuatro quimioatracantes. Para S, n=40, K, n=43, S+Z, n=43; S+K, n=39

MOVILIDAD AL AZAR DE LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE FILTRACION

	S		K		S + Z		S + K	
	A	D	A	D	A	D	A	D
EM	0,31		0,32		0,29		0,32	
LVC	0,50	0,23	0,51	0,25	0,48	0,21	0,64	0,21
MPE	0,35	0,28	0,35		0,35			
PLS	0,64	0,14	0,50	0,10	0,35	0	0,64	0,30
MNG	0,50			0,07	1		0,46	0,14
MPA	0,67	0,78	0,87	1,07	0,88	0,60	0,82	0,66
JVG	1,02		0,86	0,57	1,03	0,57	1,02	0,64
JAM			0,26		0,28			
AMC	0,35		0,23		0,28		0,21	
RHR	0,19				0,17			
JT	0,41	0,34	0,38	0,33	0,45	0,35	0,33	0,28
AGM	0,23		0,42		0,28			
JGF	0,51		0,47		0,55		0,45	
JES	0,41		0,50		0,42		0,40	
ACHF	0,21	0,23	0,28	0,21	0,21	0,22	0,21	0,19
JMSC	0,83		0,78	0,21	0,80		0,77	0,14
EAH	0,14		0,28	0,21	0,32	0,14	0,25	
MSP	0,28	0,33	0,27	0,30	0,17	0,33	0,25	0,36
EVM			0,26		0,32		0,24	
RG		0,33	0,22	0,38	0,25	0,35	0,26	0,37
RLG	0,41		0,42		0,41		0,47	
GRA	0,48	0,28	0,42	0,30	0,48	0,28	0,40	0,29
CCC	0,35	0,45	0,37	0,40	0,42	0,37	0,42	0,42
FCC	0,35		0,32	0,28	0,33	0,21	0,35	0,23
JGT		0,35		0,32		0,42		0,39
AAV		0,32		0,25		0,42		0,21
IFC	0,48		0,44		0,50		0,51	
JAP	0,38		0,35		0,39		0,39	
Nº de casos	23	12	24	16	26	14	22	15
$\bar{X} \pm S$	0,44* $\pm$	0,34 $\pm$	0,44* $\pm$	0,33 $\pm$	0,44* $\pm$	0,33 $\pm$	0,44* $\pm$	0,32 $\pm$
	0,20	0,16	0,20	0,23	0,20	0,17	0,20	0,16

Los resultados se expresan en  $\mu \times 10^3$

S = suero; K = sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella; S + Z = suero activado con zimósán; S + K = suero activado con el sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella

A = antes del proceso de leucaféresis pero después de haber administrado la medicación a los donantes; D = después del proceso de leucaféresis

\*  $\bar{X} \pm s$  de los valores de movilidad al azar de todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis ( n = 164)

TABLA XX

INGESTION DE PARTICULAS DE BACTOLATEX Y REDUCCION DEL NAT (METODO CITOQUIMICO) POR LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE FILTRACION

	L+		L+ NAT+		L+ NAT-	
	A	D	A	D	A	D
BJ	100	84	100	97	0	3
BM	99	59	95	98	5	2
VC	99	99	96	98	4	12
PE	99	94	86	90	14	10
LS	100	99	90	98	10	2
NG	99	90	93	93	7	7
TCT	100		88		12	
PA	99	82	70*	64*	30*	36*
VG	99	97	70*	58*	30*	42*
AM	97	97	73*	69	27*	31
MC	100	99	99	93	1	7
T	100	93	80	82	20	18
GM	99		87		13	
GF	100		98		2	
ES	97	98	91	98	9	2
CHF	99	99	97	96	3	4
MSC	99	91	91	89	9	1
AH	99	99	100	100	0	0
SP	100		99		1	
VM	98	97	98	93	2	7
G	100	100	97	91	3	9
LG	98	95	98	96	2	4
RA	100	98	97	99	3	1
CC	100	100	94	75	6	25
CC	100	93	98	89	2	11
FC	100	92	99	99	1	1
AP	100	97	95	85	5	15
°de casos	27	23	24	21	24	21
$\bar{x} \pm S$	99** + 3,48	93,57 + 8,95	94,46 + 4,77	91,33 + 8,14	5,54** + 4,77	8,19 + 8,29

Los resultados se expresan en porcentaje de GN que han ingerido un número de partículas de látex igual o superior a 10 (GN látex positivo); porcentaje de GN que además de haber ingerido dicho número de partículas reducen el NAT a formazán (GN látex positivo y NAT positivo) y porcentaje de GN que habiendo ingerido un número de partículas de látex igual o superior a 10 no reducen el NAT (GN látex positivo y NAT negativo) = antes del proceso de leucaféresis pero después de haber administrado a medicación a los donantes; D = después del proceso de leucaféresis  
\* Valores excluidos por ser superiores a  $\bar{x} + 3s$   
\*  $\bar{x} \pm s$  de los valores de ingestión de partículas de bactolátex y de reducción del NAT en todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis. Para L+, n=44; L+NAT+, n=39; L+NAT-, n=39

TABLA XXI

REDUCCION DEL NAT (METODO COLORIMETRICO) POR LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE FILTRACION

	ESPONTANEA		ACTIVADA	
	A	D	A	D
IBJ	0,357	0,101	0,409	0,127
EM	0,062	0,235	0,256	0,597
LVC	0,044	0,000	0,735	0,369
MPE	0,051	0,010	0,343	0,340
PLS	0,062	0,102	0,511	0,355
MNG	0,022		0,320	0,497
MTCT	0,111		0,725	
MPA	0,063	0,113	0,262	0,395
JVG	0,012	0,152	0,407	0,468
JAM	0,065	0,040	0,318	0,292
AMC	0,010	0,037	0,247	0,365
RHR	0,115		0,346	
JT	0,478*	0,268	0,761	0,505
AGM	0,048		0,549	
JGF	0,137		0,495	
JES	0,071	0,028	0,395	0,260
ACHF	0,025	0,071	0,301	0,473
JMSC	0,437*	0,140	0,440	0,292
EAH	0,389	0,189	0,518	0,297
MSP	0,283	0,181	0,564	0,351
EVM	0,184	0,233	0,169	0,268
RG	0,079	0,117	0,355	0,442
RLG	0,012	0,155	0,524	0,575
GRA	0,044	0,123	0,613	0,597
CCC	0,068	0,023	0,597	0,326
FCC	0,026	0,166	0,359	0,466
IFC	0,160	0,108	0,499	0,650
JAP	0,051	0,117	0,313	
N° de casos	26	23	28	23
$\bar{x} \pm S$	0,110**	0,120	0,490**	0,400
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	0,100	0,070	0,170	0,120

Los valores se expresan en  $DO \times 2,5 \times 10^6$  GN/min

A = antes del proceso de leucaféresis pero después de haber administrado la medicación a los donantes

D = después del proceso de leucaféresis

\* valores excluidos por ser superiores a  $\bar{x} \pm 3s$

\*\*  $\bar{x} \pm s$  de los valores de reducción espontánea del NAT de todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis (n=43)

\*\*\*  $\bar{x} \pm s$  de los valores de reducción activada del NAT de todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis (n=46)

TABLA XXII

VALORES DE YODACION EN LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE FILTRACION

	10 minutos		20 minutos		media	
	A	D	A	D	A	D
IBJ	17,09	8,91	28,94	11,90	28,01	10,40
EM	39,12	37,62	40,23	36,96	39,67*	37,29*
LVC	15,76	8,75	19,66	8,84	17,71	8,79
MPE	7,80	3,33	14,17	3,06	10,98	3,19
PLS	11,31	6,99	10,77	6,97	11,04	6,98
MNG	11,95	9,60	17,16	10,88	14,55	10,24
MTCT	35,09		33,89		34,49*	
MPA	6,54	2,78	8,53	4,68	7,53	3,73
JVG	6,36	6,14	7,29	5,90	6,82	6,02
JAM	4,88	4,16	6,00	3,91	5,44	4,03
AMC	14,25	8,87	18,60	11,68	16,42	10,27
RHR	13,15		10,11		11,63	
JT	13,17	7,56	11,57	5,99	12,37	6,77
AGM	5,95		4,94		5,44	
JGF	6,73		7,03		6,88	
JES	1,85	0,52	2,05	1,83	1,95	1,17
ACHF	2,67	2,09	2,05	1,95	2,36	2,02
JMSC	3,93	1,47	4,01	1,72	3,97	1,59
EAH	2,65	0,67	4,51	0,97	3,58	0,82
MSP	2,83	3,08	2,82	2,74	2,82	2,91
EVM	12,12	12,92	15,19	12,82	13,65	12,87
RG	9,44	9,88	8,33	8,91	8,88	9,39
RLG	12,79	11,84	11,21	10,96	12,00	11,40
GRA	13,25	12,31	12,19	10,54	12,72	11,42
CCC	19,79	24,44	20,59	24,76	22,61	25,10*
FCC	10,63	10,74	9,35	10,92	9,99	10,83
IFC	14,44	8,92	12,89	7,89	13,66	8,40
JAP	26,43	17,70	25,04	13,94	25,73	15,82
Nº de casos	28	24	28	24	26	22
$\bar{X} \pm S$	12,57 ± 9,46	9,26 ± 8,32	13,18 ± 9,59	9,20 ± 7,96	13,37** ± 7,27	7,23 ± 4,29

Los resultados se expresan en nM/h/10<sup>7</sup>GN

A = antes del proceso de leucaféresis pero después de haber administrado la medicación a los donantes; D = después del proceso de leucaféresis

\* Valores excluidos por ser superiores a  $\bar{X} \pm 3s$

\*\*  $\bar{X} \pm s$  de los valores de yodación de todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis (n = 44)

TABLA XXIII

VALORES DE QUIMIOTAXIS ( $\bar{x} \pm s$ ) DE LOS GN OBTENIDOS POR LOS PROCEDIMIENTOS DE CENTRIFUGACION Y DE FILTRACION

	QUIMIOATRACTANTES			
	S	K	S + Z	S + K
C	1,40 $\pm$ 0,32 (n = 18)	1,08 $\pm$ 0,27* (n = 18)	1,45 $\pm$ 0,38 (n = 18)	1,18 $\pm$ 0,22 (n = 18)
			p < 0,01	
F	1,24 $\pm$ 0,14 (n = 12)	0,97 $\pm$ 0,32 (n = 16)	1,16 $\pm$ 0,25 (n = 14)	1,11 $\pm$ 0,27 (n = 15)
	p < 0,05		p < 0,0005	
N	1,37 $\pm$ 0,24 (n = 31)	0,91 $\pm$ 0,30 (n = 29)	1,52 $\pm$ 0,27 (n = 33)	1,13 $\pm$ 0,35 (n = 31)

C = GN obtenidos por el procedimiento de centrifugación; F = GN obtenidos por el procedimiento de filtración; N = GN del grupo control.

Los resultados se expresan en  $\mu\text{m} \times 10^3$

\* p < 0,05 respecto al grupo control

S = suero; K = sobrenadante del cultivo puro de Klebsiella;

S + Z = suero activado con zimósán; S + K = suero activado con sobrenadante del cultivo puro de Klebsiella



TABLA XXIV

MOVILIDAD AL AZAR DE LOS GN OBTENIDOS POR LOS PROCEDIMIENTOS  
DE CENTRIFUGACION Y DE FILTRACION

	$\bar{X} \pm s$
C	0,36 $\pm$ 0,17 (n = 76)
F	0,33 $\pm$ 0,18 (n = 57)
	p < 0,02
N	0,38 $\pm$ 0,13 (n = 123)

C = GN obtenidos por el procedimiento de centrifugación

F = GN obtenidos por el procedimiento de filtración

N = GN del grupo control

n = número de casos

Los resultados se expresan en  $\mu\text{m} \times 10^3$

6.3.3. Ingestión de partículas de bactolátex y reducción del NAT (método citoquímico).- Los GN(FL) mostraron una capacidad de ingestión significativamente inferior a la de los GN del grupo control ( $93,57 \pm 8,95$  y  $98,44 \pm 2,26\%$ ;  $p < 0,005$ ). No hubo diferencias en la capacidad de reducción del NAT por el método citoquímico entre los GN(FL) y el grupo control (Tabla XXV).

6.3.4. Reducción del NAT (método colorimétrico).- Los GN (FL) mostraron por este método unos valores de reducción espontánea del NAT algo superiores a los del grupo control, aunque tal diferencia no fue estadísticamente significativa. Los valores de reducción activada del NAT fueron idénticos en ambos grupos (Tabla XXVI).

6.3.5. Yodación.- Los GN(FL) mostraron unos valores de yodación significativamente inferiores a los del grupo control ( $7,23 \pm 4,24$  y  $11,24 \pm 3,81$  nM/h/ $10^7$  GN,  $p < 0,0005$ ) (Tabla XXVII).

TABLA XXV

INGESTION DE PARTICULAS DE BACTOLATEX Y REDUCCION DEL NAT (METODO CITOQUIMICO) POR LOS GN OBTENIDOS MEDIANTE LOS PROCEDIMIENTOS DE CENTRIFUGACION Y DE FILTRACION ( $\bar{X} \pm S$ )

	L+	L+ NAT-	L+ NAT-
F	9,57 $\pm$ 8,95* (n = 23)	91,33 $\pm$ 8,14 (n = 21) p < 0,05	8,18 $\pm$ 8,29 (n = 21) p < 0,02
C	96,82 $\pm$ 4,79 (n = 17)	83,75 $\pm$ 14,74 (n = 16) p < 0,01	16,88 $\pm$ 15,93 (n = 16) p < 0,005
N	98,44 $\pm$ 2,26 (n = 34)	91,47 $\pm$ 5,89 (n = 34)	8,53 $\pm$ 5,89 (n = 34)

Los resultados se expresan en porcentaje de GN que han ingerido un número de partículas de látex igual o superior a 10 (GN látex positivo); porcentaje de GN que además de haber ingerido dicho número de partículas, reducen el NAT a formazán (GN látex positivo y NAT positivo) y porcentaje de GN que habiendo ingerido un número de partículas de látex igual o superior a 10, no reducen el NAT (GN látex positivo y NAT negativo)

C = GN obtenidos por el procedimiento de centrifugación; F= GN obtenidos por el procedimiento de filtración; N = GN del grupo control

n = número de casos

\* p < 0,005 respecto al grupo control

TABLA XXVI

REDUCCION DEL NAT (METODO COLORIMETRICO) POR LOS GN  
OBTENIDOS POR LOS PROCEDIMIENTOS DE CENTRIFUGACION Y  
DE FILTRACION ( $\bar{X} \pm S$ )

	ESPONTANEA	ACTIVADA
C	0,120 $\pm$ 0,090 (n = 16)	0,420 $\pm$ 0,170 (n = 13)
F	0,120 $\pm$ 0,070 (n = 23)	0,400 $\pm$ 0,120 (n = 23)
N	0,100 $\pm$ 0,060 (n = 40)	0,400 $\pm$ 0,120 (n = 40)

C = GN obtenidos por el procedimiento de centrifugación

F = GN obtenidos por el procedimiento de filtración

N = GN del grupo control

Los resultados se expresan en DO x 2,5 x 10<sup>6</sup> GN/min

n = número de casos

TABLA XXVII

VALORES DE YODACION DE LOS GN OBTENIDOS POR LOS PROCEDIMIENTOS DE CENTRIFUGACION Y DE FILTRACION

	$\bar{X} \pm S$
C	10,60 $\pm$ 4,49 (n = 19)
	p < 0,01
F	7,23 $\pm$ 4,24 (n = 22)
	p < 0,0005
N	11,24 $\pm$ 3,81 (n = 44)

C = GN obtenidos por el procedimiento de centrifugación

F = GN obtenidos por el procedimiento de filtración

N = GN del grupo control

Los resultados se expresan en nM/h/10<sup>7</sup> GN y son la media de los valores obtenidos a los 10 y a los 20 minutos

n = número de casos

#### 6.4 FUNCIONALISMO DE LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE CENTRIFUGACION (Tablas XXVIII, XXIX, XXX, XXXI y XXXII)

6.4.1. Quimiotactismo.- Si bien los GN(CF) mostraron en general, respecto al grupo control, una mayor capacidad de desplazamiento frente a casi todos los quimioattractantes, ésta fue significativa sólo frente a sobrenadante de cultivo puro de *Klebsiella* ( $1,08 \pm 0,27$  y  $0,91 \pm 0,10$ ;  $p < 0,05$ ). (Tabla XXIII).

6.4.2. Movilidad al azar.- No hubo diferencias significativas entre los GN(CF) y los GN del grupo control (Tabla XXIV).

TABLA XXVIII

## QUIMIOTACTISMO DE LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE CENTRIFUGACION

	S		K		S + Z		S + K		Concentración GN( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	
	A	D	A	D	A	D	A	D	A	D
CBA	1,85	1,93	1,32	0,62	1,97	1,95	1,35	0,83	91	91
DGN	1,43	1,53	0,71	0,74	1,57	1,69	0,85	1,13	72	80
NCT	1,18	1,41	1,07	1,18	1,45	1,53	1,27	1,39	53	81
MVGG	1,76	1,75			1,85	1,96			110	120
CJP			1,19		1,28				40	
MMR	1,50		1,39	1,00	1,44		1,40	2,07	60	60
SNC	1,00	0,94	1,08	0,94	1,35	0,87	0,94	0,97	76	93
CMM	1,22	0,77	1,10	0,92	1,15	0,78	1,23	1,09	75	80
MJAT		1,43	1,36	1,36	1,57	1,32	1,10	1,11	96	88
JNF	1,39	1,75	1,17	1,66	1,43	1,77	1,43	1,59	70	70
OLM	1,50	1,38	1,54	1,33	1,65	1,20	1,78	1,27	85	80
MADG	1,85	1,64	1,44	1,40		1,78	1,53	1,28	75	78
ACE	1,71	1,60	1,21	1,28	1,71	1,55	1,57	1,28	50	52
MAC		1,26		0,71		1,22		0,91		67
JAD	1,50	1,16	1,28	0,96	1,53	1,19	1,30	1,16	65	60
NRB	1,75	1,65	1,48	1,28	1,76	1,73	1,71	1,54	64	68
PDH	1,28	1,39	0,85	1,00		1,33	1,00	1,38	70	60
JSP	1,37	1,22	1,32	0,92	1,50	1,25	1,38	1,08	65	65
JMB	1,17	0,85	1,21	1,14	1,46	1,43	1,71	1,14	65	56
ACB	1,44	1,47	1,43	1,00	1,80	1,53	1,50	1,21	75	60
Nº de casos	17	18	18	18	17	18	17	18	19	19
$\bar{x} \pm s$	1,40* ± 0,31	1,40 ± 0,32	1,16* ± 0,32	1,08 ± 0,27	1,50* ± 0,35	1,45 ± 0,34	1,28* ± 0,33	1,18 ± 0,22	71,48 ± 16,36	74,22 ± 16,54

Los resultados se expresan en  $\mu \times 10^3$

S = suero; K = sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella, S + Z = suero activado con zimósán; S + K = suero activado con sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella

A = antes del proceso de leucaféresis pero después de haber administrado la medicación a los donantes; D = después del proceso de leucaféresis

\*  $\bar{x} \pm s$  de los valores de quimiotactismo de todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis, frente a cuatro quimioattractantes. Para S, n=40; K, n=43; S+Z, n=43; S+K, n=39

TABLA XXIX

## MOVILIDAD AL AZAR DE LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE CENTRIFUGACION

	S		K		S + Z		S + K	
	A	D	A	D	A	D	A	D
CBA	0,61	0,40	0,45	0,46	0,52	0,32	0,57	0,08
MCP		0,07		0,00		0,11		0,05
DGN	0,35	0,46	0,42	0,47	0,42	0,44	0,08	0,42
NCT	0,32	0,30	0,35	0,25	0,34	0,27	0,34	0,28
MVGG	0,50	0,47			0,64	0,51		
CJP			0,09		0,22			
MMR	0,62		0,69	0,26	0,67		0,55	0,28
SNC	0,83	0,76	0,82	0,70	0,85	0,72	0,88	0,80
CMM	0,37	0,25	0,36	0,23	0,34	0,25	0,32	0,26
MJAT		0,14	0,83	0,17	0,35	0,23	0,33	0,21
JNF	0,35	0,51	0,35	0,55	0,28	0,50	0,32	0,46
OLM	0,40	0,37	0,45	0,40	0,52	0,40	0,55	0,36
MADG	0,42	0,39	0,33	0,38		0,41	0,29	0,32
ACE	0,28	0,28	0,42	0,21	0,42	0,35	0,28	0,32
MAC		0,27		0,16		0,25		0,11
JAD	0,55	0,32	0,58	0,40	0,54	0,36	0,60	0,38
NRB	0,67	0,79	0,69	0,65	0,69	0,69	0,65	0,71
PDH	0,28	0,39	0,21	0,34		0,38	0,25	0,34
JSP	0,34	0,28	0,35	0,26	0,33	0,29	0,37	0,32
JMB	0,32	0,42	0,39	0,42	0,53	0,42	0,53	0,35
ACB	0,59	0,40	0,59	0,35	0,55	0,35	0,60	0,50
Nº de casos	17	19	18	19	17	19	17	19
$\bar{x} \pm s$	0,44* + 0,20	0,38 + 0,18	0,44* + 0,20	0,35 + 0,17	0,44* + 0,20	0,38 + 0,15	0,44* + 0,20	0,35 + 0,19

Los resultados se expresan en  $\mu \times 10^3$

S = suero; K = sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella; S + Z = suero activado con zimósán; S + K = suero activado con sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella

A = antes del proceso de leucaféresis pero después de haber administrado la medicación; D = después del proceso de leucaféresis

\*  $\bar{x} \pm s$  de los valores de movilidad al azar de todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis (n = 164)



TABLA XXX

INGESTION DE PARTICULAS DE BACTOLATEX Y REDUCCION DEL NAT (METODO CITOQUIMICO) POR LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE CENTRIFUGACION

	L+		L+ NAT+		L+ NAT-	
	A	D	A	D	A	D
CBA	77	83	90	88	10	12
DGN		95		61		49
NCT	100	99	99	98	1	2
MVGG	100	99	55*	39*	45*	61*
CJP	100		90		10	
MMR	100	97	50*	47	41*	53
SNC		99		69		31
CMM	100	100	100	96	0	4
MJAT	100	100	91	90	9	10
JNF	100	100	87	84	13	16
OLM	100	99	97	95	3	5
MADG	100	96	97	80	3	20
ACE	100		90		10	
MAC		87		74		26
JAD	100	100	100	98	0	2
NRB	99	96	94	89	6	11
PDH	100	97	99	97	1	3
JSP	100	99	94	94	6	6
JMB	100		95		5	
ACB	100	100	95	80	5	20
Nº de casos	17	17	15	16	15	16
$\bar{X} \pm S$	99** + 3,48	96,82 + 4,79	94,46** + 4,77	83,75 + 14,74	5,54** + 4,77	16,88 + 15,93

Los valores se expresan en porcentaje de GN que han ingerido un número de partículas de látex igual o superior a 10 (GN látex positivo); porcentaje de GN que además de haber ingerido dicho número de partículas reducen el NAT a formazán (GN látex positivo y NAT positivo) y porcentaje de GN que habiendo ingerido un número de partículas de látex igual o superior a 10 no reducen el NAT (GN látex positivo y NAT negativo)

A = antes del proceso de leucaféresis pero después de haber administrado la medicación a los donantes

D = después del proceso de leucaféresis

\* Valores excluidos por ser superiores a  $\bar{x} \pm 3s$

\*\*  $\bar{x} \pm s$  de los valores de ingestión de partículas de batolátex y de reducción del NAT en todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis. Para L+, n=44; L+ NAT+, n=39; L+ NAT-, n=39

TABLA XXXI

REDUCCION DEL NAT (METODO COLORIMETRICO) POR LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE CENTRIFUGACION

	ESPONTANEA		ACTIVADA	
	A	D	A	D
CBA	0,113	0,058	0,421	0,265
DGN		0,049		0,104
NCT	0,012		0,525	
MVGG	0,009	0,088	0,322	0,371
CJP	0,090		0,688	
MMR	0,000	0,000	0,590	0,524
SNC	0,192	0,162	0,505	0,577
CMM	0,255	0,389	0,436	0,368
MJAT	0,391*	0,194	0,896	0,418
JNF	0,152	0,157	0,637	0,663
OLM	0,307	0,097	0,627	0,972*
MADG	0,231	0,128	0,975	0,802*
ACE	0,143		0,602	
MAC		0,038		0,271
JAD	0,151	0,030	0,321	0,237
NRB	0,068	0,159	0,583	0,542
PDH	0,154	0,148	0,572	0,580
JSP	0,215	0,160	0,400	0,730*
JMB	0,110		0,622	
ACB	0,042	0,045	0,698	0,521
N° de casos	17	16	18	13
$\bar{X} \pm S$	0,110**	0,120	0,490***	0,420
	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
	0,100	0,090	0,170	0,170

Los valores se expresan en  $DO \times 2,5 \times 10^6$  GN/min

A = antes del proceso de leucaféresis pero después de haber administrado la medicación a los donantes; D = después del proceso de leucaféresis

\* Valores excluidos por ser superiores a  $\bar{x} + 3s$

\*\*  $\bar{x} \pm s$  de los valores de reducción espontánea del NAT de todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis (n=43)

\*\*\*  $\bar{x} \pm s$  de los valores de reducción activada del NAT de todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis (n=46)

TABLA XXXII

VALORES DE YODACION EN LOS GN OBTENIDOS POR EL PROCEDIMIENTO DE CENTRIFUGACION

	10 minutos		20 minutos		media	
	A	D	A	D	A	D
CBA	44,64	26,87	52,37	47,44	48,50*	37,15*
DGN		7,48		12,51		9,99
NCT	16,99	13,60	19,26	17,12	18,12	15,36
LSA	17,99	10,24	22,16	10,51	20,07	10,37
MVGG	14,13	16,04	15,80	16,66	14,96	16,35
CJP	22,26		30,22		26,24	
MMR	19,32	11,88	19,29	10,25	19,30	11,06
SNC	16,02	7,78	31,25	8,70	23,63	8,24
CMM	20,39	10,62	32,43	11,43	26,40	11,02
MJAT	25,82	7,78	23,41	5,79	24,61	6,78
JNF	16,28	15,10	13,27	12,22	14,77	13,66
OLM	13,22	13,82	12,75	11,76	12,98	12,79
MADG	21,69	16,65	18,36	13,65	10,02	15,15
ACE	22,22	11,85	17,35	9,56	19,78	10,70
MAC		6,20		5,21		5,70
JAD	7,45	3,54	6,17	3,61	6,81	3,57
NRB	2,79	2,54	2,91	2,16	2,85	2,35
PDH	8,20	12,64	7,71	10,14	7,95	11,39
JSP	14,37	20,23	15,52	20,68	14,94	20,45
JMB	13,29	8,74	10,82	6,69	12,05	7,71
ACB	15,02	9,81	12,81	7,89	13,91	8,85
N° de casos	19	20	19	20	18	19
$\bar{X} \pm S$	17,48 +	11,67 +	19,15 +	12,20 +	13,37** +	10,60 +
	8,66	5,67	11,43	9,47	7,27	4,49

Los resultados se expresan en nM/h/10<sup>7</sup> GN

A = antes del proceso de leucaféresis pero después de haber administrado la medicación a los donantes; D = después del proceso de leucaféresis

\* Valores excluidos por ser superiores a  $\bar{x} + 3s$

\*\*  $\bar{x} + s$  de los valores de yodación de todos los donantes antes de ser sometidos a ambos procesos de leucaféresis (n = 44)

6.4.3. Ingestión de partículas de batolátex y reducción del NAT (método citoquímico).- Tampoco en este caso hubo diferencias significativas entre la capacidad de ingestión de los GN(CF) y el grupo control. Sin embargo, los GN obtenidos con este procedimiento mostraron una capacidad de reducción del NAT significativamente inferior a la del grupo control ( $83,75 \pm 14,74\%$  y  $91,47 \pm 5,89\%$ ;  $p < 0,01$ ). Recíprocamente ello se tradujo en un mayor porcentaje de GN látex positivos-NAT negativos respecto al mismo grupo control ( $16,88 \pm 15,93\%$  y  $8,53 \pm 5,89\%$ ) (Tabla XXV).

6.4.4. Reducción del NAT (método colorimétrico).- Prácticamente no hubo diferencias en la reducción del NAT por este método entre los GN(CF) y el grupo control, tanto espontánea como activada (Tabla XXVI).

6.4.5. Yodación.- Aunque algo disminuida respecto al grupo control, tampoco se objetivan diferencias significativas (Tabla XXVII).

## 6.5. ASPECTOS FUNCIONALES COMPARATIVOS ENTRE LOS PROCEDIMIENTOS DE CENTRIFUGACION Y DE FILTRACION

6.5.1. Quimiotactismo.- Los GN(FL) mostraron una disminución global del quimiotactismo frente a los cuatro quimioattractantes respecto a los GN(CF), aunque tal disminución sólo fue significativa frente a suero activado con zimósán ( $1,16 \pm 0,25$  y  $1,45 \pm 0,34 \mu\text{m} \times 10^3$ ;  $p < 0,01$ ) (Tabla XXIII).

6.5.2. Movilidad al azar.- La movilidad al azar en los GN(FL) fue inferior a la de los GN(CF), pero esta diferencia no fue significativa (Tabla XXIV).

6.5.3. Ingestión de partículas de bactolátex y reducción del NAT (método citoquímico).- No hubo diferencias significativas en la capacidad de ingestión de los GN(CF) y la de los GN(FL). Sin embargo, los GN(CF) mostraron una menor capacidad de reducción del NAT por este método respecto a los GN(FL). Tal disminución fue significativa estadísticamente ( $83,75 \pm 14,75\%$  y  $91,33 \pm 8,14\%$ ;  $p < 0,05$ ). Recíprocamente, el porcentaje de GN látex positivos-NAT negativos en los GN(CF) fue significativamente superior al de los GN(FL) ( $16,88 \pm 15,93$  y  $9,19 \pm 8,29\%$ ;  $p < 0,02$ ) (Tabla XXV).

6.5.4. Reducción del NAT (método colorimétrico).- No hubo diferencias significativas en la reducción del NAT por este método entre los GN obtenidos por ambos procedimientos (Tabla XXVI).

6.5.5. Yodación.- Los GN(FL) mostraron una disminución significativa de la capacidad de yodación respecto a los GN(CF) ( $7,23 \pm 4,24$  y  $10,60 \pm 4,49 \text{ nM/h}/10^7 \text{ GN}$ ;  $p < 0,01$ ) (Tabla XXVII).

## 6.6. EFECTO DE LA MEDICACION (HEPARINA Y CORTICOIDES) SOBRE EL FUNCIONALISMO GRANULOCITARIO

6.6.1. Quimiotactismo.- En general, los GN de los donantes que habían recibido la medicación (GN(M)) mostraron una mayor capacidad de desplazamiento que los GN del grupo control, aunque ello fuera significativo solamente frente a sobrenadante de cultivo puro de *Klebsiella* ( $1,16 \pm 0,32$  y  $0,91 \pm 0,3 \mu\text{m} \times 10^3$ ;  $p < 0,001$ ) y frente a suero activado con dicho sobrenadante ( $1,28 \pm 0,33$  y  $1,13 \pm 0,35$ ;  $p < 0,05$ ) (Tabla XXXIII).

6.6.2. Movilidad al azar.- También los GN(M) mostraron una movilidad significativamente superior a la de los GN del grupo control ( $0,44 \pm 0,20$  y  $0,38 \pm 0,13 \mu\text{m} \times 10^3$ ;  $p < 0,005$ ) (Tabla XXXIV).

6.6.3. Ingestión de partículas de bactolátex y reducción del NAT (método citoquímico).- No hubo diferencias entre la capacidad de ingestión de los GN(M) y la del grupo control. Sin embargo, sí mostraron un aumento significativo de la capacidad de reducción del NAT por este método respecto a los GN del grupo control ( $94,46 \pm 4,77\%$  y  $91,47 \pm 5,89\%$ ;  $p < 0,01$ ). Consiguientemente, el porcentaje de GN látex positivo-NAT negativo fue significativamente inferior en los GN(M) ( $5,54 \pm 4,77\%$  y  $8,53 \pm 5,89\%$ ;  $p < 0,02$ ) (Tabla XXXV).

6.6.4. Reducción del NAT (método colorimétrico).- Por este método tanto la reducción espontánea como la activada fueron superiores en los GN(M), aunque esta diferencia sólo fue

TABLA XXXIII

VALORES DE QUIMIOTAXIS ( $\bar{X} \pm S$ ) DE LOS GN DE LOS DONANTES UNA VEZ ADMINISTRADA LA MEDICACION Y DE LOS GN DEL GRUPO CONTROL

	QUIMIOATRACTANTES			
	S	K	S + Z	S + K
M	1,40 $\pm$ 0,31 (n = 40)	1,16 $\pm$ 0,32 (n = 43) p < 0,001	1,50 $\pm$ 0,35 (n = 43)	1,28 $\pm$ 0,33 (n = 39) p < 0,05
N	1,37 $\pm$ 0,24 (n = 31)	0,91 $\pm$ 0,30 (n = 29)	1,52 $\pm$ 0,27 (n = 33)	1,13 $\pm$ 0,35 (n = 31)

M = GN obtenidos de donantes una vez administrada la medicación

N = GN del grupo control

Los resultados se expresan en  $\mu\text{m} \times 10^3$

n = número de casos

S = suero; K = sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella

S + Z = suero activado con zimósán

S + K = suero activado con sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella

TABLA XXXIV

MOVILIDAD AL AZAR DE LOS GN DE LOS DONANTES UNA VEZ  
ADMINISTRADA LA MEDICACION DE LOS GN DEL GRUPO CONTROL

	$\bar{X} \pm S$
M	0,44 $\pm$ 0,20 (n = 164) p < 0,005
N	0,38 $\pm$ 0,13 (n = 123)

M = GN de los donantes una vez administrada la medicación

N = GN del grupo control

Los resultados se expresan en  $\mu\text{m} \times 10^3$

n = número de casos



TABLA XXXV

INGESTION DE PARTICULAS DE BACTOLATEX Y REDUCCION DEL NAT  
(METODO CITOQUIMICO) DE LOS GN DE LOS DONANTES UNA VEZ  
ADMINISTRADA LA MEDICACION Y POR LOS GN DEL GRUPO CONTROL ( $\bar{X} \pm S$ )

	L +	L+ NAT+	L+ NAT-
M	99 $\pm$ 3,48 (n = 44)	94,46 $\pm$ 4,77 (n = 39)	5,54 $\pm$ 4,77 (n = 39)
		p < 0,01	p < 0,02
N	98,44 $\pm$ 2,26 (n = 34)	91,47 $\pm$ 5,89 (n = 34)	8,53 $\pm$ 5,89 (n = 34)

Los resultados se expresan en porcentaje de GN que han ingerido un número de partículas de látex igual o superior a 10 (GN látex positivo); porcentaje de GN que además de haber ingerido dicho número de partículas reducen el NAT a formazán (GN látex positivo y NAT positivo) y porcentaje de GN que habiendo ingerido un número de partículas de látex igual o superior a 10 no reducen el NAT (GN látex positivo y NAT negativo)

M = GN de los donantes una vez administrada la medicación

N = GN del grupo control

n = número de casos

estadísticamente significativa en el segundo caso ( $0,490 \pm 0,170$  y  $0,400 \pm 0,1200$  DO x  $2,5 \times 10^6$  GN/ min;  $p < 0,005$ ) (Tabla XXXVI).

6.6.5. Yodación.- También fue significativamente superior en los GN(M) que en los GN del grupo control ( $13,77 \pm 7,27$  y  $11,24 \pm 3,81$  nM/h/ $10^7$ GN;  $p < 0,05$ ) (Tabla XXXVII).

TABLA XXXVI

REDUCCION DEL NAT (METODO COLORIMETRICO) POR LOS GN  
DE LOS DONANTES UNA VEZ ADMINISTRADA LA MEDICACION Y  
POR LOS GN DEL GRUPO CONTROL ( $\bar{X} \pm S$ )

	ESPONTANEA	ACTIVADA
M	0,110 $\pm$ 0,100 (n = 43)	0,490 $\pm$ 0,170 (n = 46)
		p < 0,005
N	0,100 $\pm$ 0,060 (n = 40)	0,400 $\pm$ 0,120 (n = 40)

M = GN de los donantes una vez administrada la medicación

N = GN del grupo control

Los valores se expresan en DO x 2,5 x 10<sup>6</sup> GN /min

n = número de casos

TABLA XXXVII

VALORES DE YODACION DE LOS GN DE LOS DONANTES UNA VEZ  
ADMINISTRADA LA MEDICACION Y DE LOS GN DEL GRUPO CONTROL

---

	$\bar{X} \pm S$
M	$13,37 \pm 7,27$ (n = 44)
	p < 0,05
N	$11,24 \pm 3,81$ (n = 44)

M = GN de los donantes una vez administrada la medicación

N = GN del grupo control

Los resultados se expresan en nM/h/10<sup>7</sup>GN y son la media de los valores obtenidos a los 10 y a los 20 minutos

n = número de casos

## VII. DISCUSION

Los trabajos realizados hasta el momento sobre los cambios morfológicos que experimentan los GN obtenidos por leucaféresis han sido escasos. En algunos de ellos (42, 48, 262) se ha constatado la presencia de diversas alteraciones morfológicas ya advertibles en parte a nivel óptico y mucho mejor precisadas mediante su estudio ultraestructural. Así, SANEL y cols. (262) describen en los GN obtenidos por filtración la presencia de grandes vacuolas, fisuras citoplasmáticas, disminución del número de granulaciones primarias y secundarias, numerosas prolongaciones citoplasmáticas en su superficie y agregados de partículas de glucógeno. La mayoría de estas alteraciones desaparecían cuando los GN eran lavados en suero fisiológico y resuspendidos en un medio de cultivo o plasma heparinizado. KLOCK y BAINTON (47), incubando GN con fibras de nylon demuestran que los GN se adhieren a las fibras directa o indirectamente por adherencia entre sí debido a la interdigitación de los "microvilli". A los treinta minutos de incubación, la región citoplasmática adyacente a la membrana adherida no contiene organelas y su densidad electrónica es mayor, lo que sugiere que se ha producido el montaje de los microfilamentos de actina a este nivel, mientras que a los 120 minutos observan la presencia de un importante número de granulaciones en esta región. A continuación, se produce una desgranulación extracelular, apoyada por la presencia de zonas de filtro peroxidasa positivas y la existencia de células desgranuladas. También observan la presencia de numerosas vacuolas intragranulocita-

rias después de dos horas de incubación. Asimismo, TS'AO y cols. ( 48 ) hallan en los GN obtenidos por filtración, un elevado porcentaje de células alteradas, destacando en ellas la presencia de "microvilli", vacuolas y alteraciones nucleares cuando los GN han sufrido la compresión mecánica que se realiza en este proceso, mientras que las alteraciones son mínimas cuando exclusivamente son eluidos. Además de estas anomalías morfológicas, se han registrado una serie de trastornos funcionales que afectan principalmente al quimiotactismo y a la capacidad bactericida y que han sido ampliamente referidas en la bibliografía ( 28, 40, 44, 45, 47, 50, 243 ).

La observación óptica de los cortes semifinos ha mostrado de forma grosera que el porcentaje de células "dañadas" es significativamente mayor en el procedimiento de filtración que en el de centrifugación. Con todo, ha sido el estudio ultraestructural el que ha permitido realizar un análisis más detallado de las alteraciones observadas.

Tal como se describe en los resultados (Tablas X y XI) sólo un 10% de los cortes celulares correspondientes a los GN de donantes normales obtenidos por el método de BOYUM y procesados inmediatamente para su estudio ultraestructural, presentaron alguna anomalía morfológica, entre las que destacaron los bolsillos nucleares, observación ya referida por SMITH y O'HARA (263) como un hecho no excepcional. Las anomalías citoplasmáticas fueron porcentualmente aún menores, de lo que se desprende que, en su conjunto, la técnica de elaboración

electrón-microscópica resulta poco agresiva para la célula. Asimismo, la administración de heparina y corticoides al donantes, así como la notable demora en la fijación celular requerida por cualquiera de las técnicas de obtención de leucocitos, tampoco altera sustancialmente la morfología granulocitaria, como se desprende de nuestros resultados.

Al comparar la morfología de los GN filtrados y centrifugados destaca ya a nivel óptico y aún más a nivel ultraestructural que el número de GN filtrados con alteraciones es muy superior al de los centrifugados (15% frente a 0,2%;  $p < 0,001$ ). Analizando el tipo de anomalías (Tabla XI), observamos que para algunas (vacuolas, distribución granular irregular) no se aprecian grandes diferencias entre los GN obtenidos mediante ambos procedimientos, pero para otras (especialmente la formación de extensos "microvilli"), la disparidad es notabilísima. Debe señalarse que estas prolongaciones citoplasmáticas son probablemente originadas por el propio fenómeno de adherencia al filtro, pues constituyen prácticamente el único trastorno morfológico objetivable en aquellos GN que no se someten a la acción mecánica manual y tan solo son eluidos. Tal vez, la compresión mecánica incremente el número y longitud de los "microvilli" determinando la formación de verdaderas mallas intercitoplasmáticas constituidas por ellos mismos.

La desgranulación ha sido objetivada en los GN procesados por ambos métodos, aunque en un número significativamente superior en los obtenidos mediante filtración. Aunque es probable que este trastorno esté condicionado por diversos meca

nismos, en el proceso de filtración el principal factor responsable tal vez sea la manipulación manual ejercida sobre los filtros, por cuanto no se ha observado en los GN obtenidos simplemente por elución y desprendimiento del filtro. Una prueba adicional de que la desgranulación se produce durante el proceso de leucaféresis por filtración, la constituyen los estudios (43, 47, 250) que demuestran la presencia de enzimas granulocitarias en el sobrenadante o eluyente en donde se obtienen los GN. Probablemente la prolongada centrifugación que se realiza al final del procedimiento de filtración para obtener el leucoconcentrado, sea también un factor condicionante de la desgranulación. En los GN procesados por la centrífuga IBM, es posible que la propia centrifugación sea el único factor responsable de la moderada desgranulación que presentan.

La mayor preservación de los GN centrifugados se debe sin duda alguna a que su manipulación es menor que en los filtrados. Estos últimos se deterioran principalmente con la compresión manual del filtro por lo que para una misma muestra, las alteraciones morfológicas varían según la fuerza que aplica el operador. Que la compresión del filtro es la principal responsable del daño celular lo demuestra la relativa indemnidad morfológica de los GN desprendidos del filtro por el simple paso de una corriente líquida eluyente. En favor de esta sugerencia abogan también las escasas anomalías detectadas por DEBELACK y cols. en su trabajo (28), debido a que no realiza la compresión de los filtros o lo hace con gran cautela. Los granulocitos eosinófilos parecen ser especialmente vulnerables a las injurias mecánicas, ya que en ellos la degeneración nuclear es especialmente frecuente.



De nuestro estudio morfológico ultraestructural, parece desprenderse que si bien el método de filtración posee las ventajas de ser más simple en su técnica, más económico y de permitir obtener una mayor concentración de GN, tiene el inconveniente de producir alteraciones importantes y frecuentes de los GN con las consecuencias que éstas pueden conllevar. Es probable que las alteraciones morfológicas de los GN (FL), puedan responder en parte del escaso rendimiento o falta de recuperación de las cifras de GN en los pacientes después de la transfusión; de las frecuentes reacciones transfusionales y post-transfusionales (44,243), no relacionadas con la presencia de leucoaglutininas ni con la existencia de incompatibilidad HL-A y atribuibles probablemente a las enzimas y proteínas liberadas a partir de las células dislocadas o "secretados" por los GN qctivados y finalmente de los déficits funcionales hallados en ellos (40,44,45,47,243).

Los estudios funcionales que hemos realizado en los GN obtenidos por leucaféresis indican que tanto el quimiotactismo como la movilidad al azar de los GN(CF) se alteran, observación ya referida por otros autores (40,45,58).

El discreto aumento de la capacidad de desplazamiento de dichos GN respecto al grupo control podría ser debido al efecto de la medicación administrada a los donantes, que como hemos visto en nuestro estudio, estimula la función granulocitaria de forma global. Por otra parte, los resultados de la quimiotaxis frente al sobrenadante de cultivo puro de Klebsiella los consideramos menos valorables por tratarse de un quimio-attractante lábil, cuya capacidad de atracción sobre los GN puede variar en función del tiempo de conservación del cultivo.

Por el contrario, el quimiotactismo y la movilidad al

azar de los GN(FL) se hallaron disminuidos, tanto con respecto al grupo control como a los GN(CF). Tal diferencia fue manifiesta frente a suero, y frente a suero activado con zimosán. Ello es fácilmente explicable puesto que son los quimioatracantes con más poder de atracción. Este trastorno de la capacidad de desplazamiento podría muy bien ser debido a las alteraciones morfológicas halladas en nuestro estudio, fundamentalmente los "microvilli".

Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por WRIGHT y cols. (45), y por otros autores (28, 233, 236). Sin embargo, al igual que APPELBAUM y cols. (239), no hemos observado que la administración de corticoides corrija la alteración de la quimiotaxis de los GN(FL), como sugieren otros autores (40, 233, 237).

Los corticoides disminuyen el quimiotactismo "in vivo" (247, 264), aunque para FRUHMANN (265) este efecto sólo se observa administrando dosis muy elevadas. Los estudios "in vitro" realizados al respecto muestran resultados contradictorios. Mientras diversos autores hallan una disminución del quimiotactismo (233, 266, 267), otros no objetivan efecto alguno (41) o incluso hallan un aumento de esta función (233, 268). En algunos casos, estas discordancias se deben al empleo de diferentes corticoides (266, 268), aunque ciertos autores les atribuyen un efecto activador del quimiotactismo debido a la liberación de sustancias estimulantes por parte de las células mononucleares presentes en el medio (233, 269). La activación de la quimiotaxis y de la movilidad al azar que hemos observado al estudiar el despla-

zamiento de los GN de los donantes bajo medicación (heparina y corticoides), podría explicarse por el efecto anteriormente citado. La heparina, a las dosis utilizadas por nosotros, no parece tener efecto sobre el quimiotactismo (241,270) ni sobre la adherencia (247).

Los GN (FL) mostraron una capacidad de ingestión significativamente disminuida respecto a los GN del grupo control y algo más disminuida respecto a los GN (FL). Nuestros resultados coinciden con los de otros autores (43, 28, 44, 45, 33) aunque para algunos la capacidad de ingestión de los GN (FL) no estaría alterada (42, 46, 47, 50,242, 243). Estas discordancias podrían deberse a los distintos tipos de partículas empleadas (33, 42,44,46,47,50,242,243 ) y a diferencias en la metodología: tipo de sustancia eluyente (ACD, EDTA) y concentración de la misma, velocidad de centrifugación al concentrar los GN antes de su transfusión, tiempo de adherencia a las fibras de nylon, etc. ( 28, 45, 50).

Los GN (CF) mostraron una discreta disminución de la capacidad de ingestión, como también han observado otros autores (10,36, 231 ), aunque no fue significativa respecto al grupo control.

Las alteraciones de la ingestión deben atribuirse al propio proceso de leucaféresis y no a los corticoides puesto que en nuestro estudio no hubo diferencias entre la capacidad de ingestión de los GN cuyos donantes recibieron la medicación y de los GN del grupo control. Estos hallazgos han sido constatados por la mayoría de autores (231,246,271), aunque

Álgunos (245,272,273) han objetivado una clara disminución de la ingestión debida a los corticoides. En la literatura revisada no hemos hallado ningún estudio sobre el efecto de la heparina sobre la ingestión.

Los GN(CF) han mostrado una disminución significativa de la reducción del NAT respecto a los GN(FL) y a los del grupo control, aunque ello sólo se ha objetivado con el método citoquímico. No hemos apreciado diferencias en la reducción del NAT entre los GN (FL) y el grupo control. Estos resultados son difíciles de interpretar, puesto que al tratarse de métodos distintos (citoquímico y colorimétrico) podrían intervenir otros factores capaces de influir en la reducción del NAT, tales como el mismo proceso de centrifugación durante la leucaféresis, factores plasmáticos (274) o incluso la existencia de una doble población de GN solo identificable con el test citoquímico (cualitativo) (275). En general, los estudios realizados al respecto, no hallan alteraciones del metabolismo oxidativo de los GN(FL) y (CF) (40, 47, 50, 243 ), como se desprende de nuestros resultados al utilizar el método colorimétrico de reducción del NAT. Sin embargo, HERZIG (44) objetiva una disminución significativa (20%) de la actividad del SHM en los GN(FL) en relación a los GN(CF), mientras que COOK y cols. (43), en un estudio efectuado en perros, hallan una disminución de la actividad basal de SHM en los GN(CF) con respecto a los GN(FL).

En general, la medicación administrada a los donantes de nuestro estudio, ha activado la reducción del NAT. Aunque los corticoides pueden causar una disminución de la reducción del NAT, tanto cualitativa como cuantitativa (246,276,279), en

nuestro estudio el efecto de la heparina podría haber compensado, e incluso sobrepasado, el de los corticoides, debido a su actividad como agente estimulante de la reducción del NAT (275, 278, 281).

En cualquier caso, no hemos hallado una correlación satisfactoria entre la reducción del NAT por el método citoquímico y por el método colorimétrico, como objetivan también otros autores (274, 282, 283).

Hemos hallado una disminución de la capacidad de yodación en los GN(FL) con respecto a los GN(CF) y a los GN del grupo control, mientras que HARRIS y cols. (50), no hallan diferencias entre la capacidad de yodación de los GN (FL) y la de los obtenidos directamente de sangre periférica. En ambos estudios se administraron a los donantes corticoides y heparina, a dosis similares. Estas diferencias podrían deberse en parte a que los citados autores utilizan velocidades de centrifugación (500 r.p.m. durante 20 min.) inferiores a las nuestras (2.500 r.p.m. durante 15 min.) para concentrar los GN, y acortan el tiempo de adherencia a los filtros en la mitad, cambiando éstos a las 2 horas.

No creemos que los corticoides, puedan ser los responsables del descenso de la yodación a través de su efecto inhibitor de la producción de  $H_2 O_2$  (246), puesto que los GN de los donantes que habían recibido la medicación mostraron un aumento significativo de esta función respecto al grupo control. En todo caso, la heparina, debido a su efecto estimulante del SHM (283), podría haber contrarrestado el efecto de los corticoides.

Sin embargo, otros autores niegan cualquier efecto de la heparina sobre la yodación (261).

El trastorno de la yodación podría ser debido a la disminución de la capacidad de ingestión observada en los GN(FL) o bien a la desgranulación observada en el estudio morfológico con el consiguiente déficit secundario de MPO. Algunos estudios (233) que hallan una disminución intracelular de MPO en los GN sometidos al proceso de filtración apoyan esta segunda hipótesis, aunque la actividad de esta enzima es hallada normal por AISNER y SANEL ( 46) en un estudio similar.

De ambos estudios, morfológico y funcional, se desprende que las alteraciones halladas en ambos casos podrían estar íntimamente relacionadas entre sí. EL hecho de que los GN(FL) presentan importantes alteraciones morfológicas después de haber sido sometidos a la compresión mecánica manual merece especial atención. En la presente tesis no hemos efectuado el estudio comparativo a nivel funcional entre los GN adheridos a los filtros sin haber sufrido la citada compresión y los GN de la bolsa de recogida final. Creemos que éste es un estudio a realizar ya que quizás supondría un nuevo argumento en favor de la correlación existente entre los trastornos morfológicos y funcionales.

### VIII. RESUMEN Y CONCLUSIONES

En los pacientes granulocitopénicos una de las principales causas de muerte es la infección. No es extraño, por tanto, que la profilaxis y tratamiento de la patología infecciosa hayan polarizado la atención de algunos investigadores en la última década. Diversos autores han demostrado que la combinación del aislamiento en una unidad libre de gérmenes junto con antibioterapia profiláctica de descontaminación del tubo digestivo, orificios y pliegues cutáneos, reduce en gran manera la morbilidad y mortalidad infecciosas de estos enfermos. Con todo, estas modalidades preventivas no siempre son posibles puesto que tales pacientes no rara vez llegan ya infectados a las manos del médico. Cuando esto sucede, los dos recursos fundamentales de que se dispone en la actualidad son las transfusiones de granulocitos (GN) y los antibióticos.

La transfusión de granulocitos constituye un interesante método para la lucha contra las infecciones en los pacientes granulocitopénicos, si bien se enfrenta todavía con una serie de problemas sin resolver.

La obtención de granulocitos se realiza fundamentalmente mediante dos procedimientos completamente distintos: el sistema de centrifugación a flujo continuo y el sistema de filtración. La centrifugación a flujo continuo permite la separación

de los GN de los restantes elementos sanguíneos mediante un sistema de centrifugación en base a la distinta densidad celular. El sistema de filtración está basado en la propiedad que poseen los GN de adherirse de forma reversible a los filtros de ciertas sustancias, como el nylon.

Ambos sistemas de leucaféresis tienen como fin la obtención del máximo número de GN para conseguir una buena respuesta clínica. Si bien el método de filtración es más sencillo y económico que el de centrifugación y proporciona mayores rendimientos, para algunos autores los GN así obtenidos estarían morfológica y funcionalmente alterados debido a su paso a través de los filtros.

Sin embargo, si estas alteraciones morfológicas y funcionales observadas en los GN obtenidos mediante el sistema de filtración interfieren o no con la eficacia clínica no está demostrado y los resultados son en muchas ocasiones contradictorios. Con todo, las reacciones adversas en el donante y en el receptor son más frecuentes cuando se utiliza el sistema de filtración, lo cual puede repercutir de forma indirecta sobre la respuesta clínica del receptor con granulocitopenia.

El objetivo de la presente tesis doctoral fue el de identificar las posibles alteraciones morfológicas y funcionales en los GN obtenidos con los procedimientos de centrifugación a flujo continuo y de filtración, estableciendo un estudio comparativo entre ambos métodos.

Asimismo, se intentó analizar cuáles pudieran ser los factores responsables de los eventuales cambios morfológicos y funcionales observables en uno y otro método de obtención de los



GN.

El estudio morfológico se ha realizado a nivel óptico y ultraestructural en los GN de 12 donantes sanos, obtenidos mediante un proceso de separación celular por centrifugación a flujo continuo en seis casos y por filtración en los seis restantes. Como controles se han estudiado donantes normales cuyos GN han sido procesados en unos casos inmediatamente después de la extracción y en otros, a las tres horas de la misma una vez que los donantes habían recibido la medicación requerida para la leucaféresis. Asimismo, para comprobar la influencia que la compresión manual puede tener sobre la morfología de las células en el procedimiento de filtración, se ha estudiado un segundo "blanco" obtenido mediante una punción del filtro y aspiración de los GN directamente desde su interior.

El estudio funcional se ha realizado en primer lugar en 44 sujetos sanos con el fin de establecer las normalidades de todas las técnicas que se han utilizado: quimiotactismo, movilidad al azar, ingestión de partículas de bactolátex y reducción del nitroazul de tetrazolio (NAT) por el método citotóxico, reducción del NAT por el método colorimétrico, producción de radical superóxido y yodación. En una segunda fase estas mismas técnicas (excepto la producción de radical superóxido) se han aplicado al estudio del funcionalismo de los GN obtenidos por leucaféresis mediante los dos procedimientos antes descritos a partir de donantes normales voluntarios. En ambos casos dicho estudio se realizó antes de iniciar el proceso de

separación celular, una vez que al donante se le había administrado la medicación habitual, y después del mismo a partir de una muestra de la bolsa de recogida.

De los resultados obtenidos del presente estudio, se desprenden las siguientes conclusiones:

1. En los GN obtenidos directamente de los donantes y una vez administrada la medicación y procesados a las tres horas de la extracción de la sangre, no se observa ningún tipo de alteración salvo la presencia de un pequeño porcentaje de células con signos de desgranulación.

2. A nivel óptico y a nivel ultraestructural, el tanto por ciento de GN con alteraciones morfológicas es significativamente muy superior en los obtenidos por el procedimiento de filtración, en comparación con los separados por centrifugación.

3. A nivel ultraestructural los GN obtenidos por el sistema de filtración muestran como alteraciones morfológicas más evidentes la presencia de los "microvilli" y la desgranulación.

4. El estudio de los GN obtenidos por el método de filtración e incluidos para microscopía electrónica previamente a la compresión mecánica manual, demuestra que la mayoría de alteraciones aparecen solamente después de esta maniobra.

5. A nivel funcional, los GN de los donantes una vez administrada la medicación y antes de ser sometidos al proceso de leucaféresis muestran, respecto al grupo control, una estimulación significativa de todas las etapas de la fagocitosis excepto de la ingestión.

6. Los GN obtenidos por el sistema de filtración ofrecen, respecto al grupo control, una disminución significativa del quimiotactismo, mientras que los GN obtenidos por centrifugación solamente muestran una disminución significativa únicamente en la reducción del NAT por el método citoquímico.

7. Comparando ambos procedimientos de leucaféresis, los GN obtenidos por filtración propenden a una disminución global del funcionalismo, pero tal reducción es significativa tan sólo para el quimiotactismo y la yodación.

8. De los estudios funcionales realizados se deduce que la medicación que se administra a los donantes previamente al proceso de leucaféresis no parece influir en las alteraciones funcionales observadas; en todo caso, evita un mayor deterioro de las mismas.

9. Es muy posible que los cambios morfológicos más evidentes ("microvilli" y desgranulación) estén relacionados con los principales trastornos funcionales granulocitarios observados (quimiotactismo y yodación).

10. Las alteraciones morfológicas de los GN obtenidos por filtración podrían ser responsables, en parte de las frecuentes e intensas reacciones transfusionales y postransfusionales, probablemente en virtud de liberación de enzimas y proteínas a partir de las células alteradas.

## IX. BIBLIOGRAFIA

1. HERSH, E.M., BODEY, G.P., NIES, B.A. y FREIREICH, E.J.: Causes of death in acute leukemia. J. Amer. Med. Ass., 193: 105, 1965.
2. LEVINE, A.S., GRAW, R.C. Jr. y YOUNG, R.C.: Management of infections in patients with leukemia and lymphoma. Current concepts and experimental approach. Semin. Haematol., 9: 141, 1972.
3. FELD, R., BODEY, G.P. y RODRIGUEZ, V.: Causes of death in patients with malignant lymphoma. Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 15: 185, 1974.
4. KLASTERSKY, J., DANEAU, D. y WERHEST, A.: Causes of death in patients with cancer. Europ. J. Cancer., 8: 149, 1972.
5. WHITECAR, J.P.Jr., BODEY, G.P. y LUNA, M.: Pseudomonas bacteriemia in patients with malignant diseases. Amer. J. Med. Sci., 60: 216, 1970.
6. FLICH, M.R. y CLUFF, L.E.: Pseudomonas bacteriemia: review of 100 cases. Amer. J. Med., 60:501, 1976.
7. GAYA, H., TATTERSALL, M.H.N., HUTCHINSON, R.M. y SPIERS, A.S. A.: Changing patterns of infections in cancer patients: Europ. J. Cancer, 9: 401, 1973.
8. GURWITH, M.J., BRONTON, J.L., LANK, B.A., RONALD, A.R. y HARDING, G.K.M.: Granulocytopenia in hospitalized patients. I. Prognostic factors and etiology of fever. Amer. J. Med., 64: 121, 1978.

9. BODEY, G.P., BUCKLEY, M., SATHE, Y.S. y FREIREICH, E.J.: Quantitative relationship between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. Ann. intern. Med., 64: 328, 1966.
10. YATES, J.W. y HOLLAND, J.F.: A controlled study of isolation and endogenous microbial supression in acute mielocytic leukemia. Cancer (Philad.), 34: 1490, 1973.
11. BODEY, G.P., GERAN, E.A. y FREIREICH, E.J.: Protected environment prophylactic antibiotic program in the chemotherapy of acute leucemia. Amer. J. Med. Sci., 262: 138, 1971.
12. LEVINE, A.S., SIEGELL, S.E. y SCHREIBER, A.D.: Protected environment and prophylactic antibiotics: a prospective controlled study of their utility in the therapy of acute leukemia. New Engl. J. Med., 288: 477, 1973.
13. GARCIA SAN MIGUEL, J., FELIU, E. y GRAÑENA, A.: Cuidados intensivos en Hematología. Medicine, 7: 606, 1975.
14. GRAÑENA, A., RIBAS MUNDO, M., VIVANCOS, P., FABREGAT, E., GARCIA SAN MIGUEL, J. y ROZMAN C.: Unidad libre de gérmenes. Metodica de trabajo y experiencia en 26 meses de funcionamiento. Med. clín. (Barcelona), 64: 504, 1975.
15. TATERSALL, M.H.N., HUTCHINSON, R.M., GAYA, U. y SPIERS, A.S. P.: Empirical antibiotic therapy in febrile patients with neutropenia and malignant disease. Europ. J. Cancer, 9: 417, 1973.
16. TATTERSALL, M.H.N., SPIERS, A.S.P. y DARRELL, J.U.: Initial therapy with combination of five antibiotics in febrile patients with leukaemia and neutropenia. Lancet, 1: 162, 1972.

17. KLASTERSKY, J., CAPPEL, R., DEBUSSCHER, L. y STILREVANT, M.; Pneumonia caused by gramnegative bacilli in hospitalized patients presenting malignant disease. Europ. J. Cancer, 7: 329, 1971.
18. BODEY, G.P.: Infections in cancer patients. Cancer treat. Rev., 2: 89, 1975.
19. LOVE, L.J., SCHIMPF, S.C., HAHN, D.M., YOUNG, C.M., STANDIFORD, H.C., BENDER, J.F., FORTNER, C.L. y WIERNIK, P.H.: Ensayo randomizado de terapéutica antibiótica empírica con ticarcilina combinada con gentamicina, amikacina o netilmicina en síndromes febriles de pacientes cancerosos granulocitopénicos. Amer. J. Med. (ed. esp.), 9: 277, 1979.
20. RUTME, R.C., ANDERSEN, B.R., CUNNINGHAM, B.C. y EPSTEIN, R.B.: Efficacy of granulocyte transfusions in the control of sistemic candidiasis in the leukopenic host. Blood, 52: 493, 1978.
21. HERZIG, R.H., HERZIG, G.P., GRAW, R. G., BULL, M.I. y RAY, K.K.: Granulocyte transfusion therapy for gram-negative septicemia. New Engl. J. Med., 296: 701, 1977.
22. ALAVI, J.B., ROOT, R.K., DJERASSI, I., EVANS, E., GLUCKMAN, S.J., MAC GREGOR, R.R., GUERRY, D., SCHREIBER, A.D., SHAW, J.M., KOCH, P. y COOPER, R.A.: Clinical trial of granulocyte transfusions for infection in acute leukemia. New Engl. J. Med., 296: 706, 1977.
23. HIGBY, D.J., YATES, J.W., HENDERSON, E.S. y HOLLAND, J.F.: F.: Filtration leukapheresis for granulocyte transfusion therapy. New Engl. J. Med., 292: 761, 1975.
24. MCCREDIE, K.B., FREIREICH, E.J., HESTER, J.P. y VALLEJOS, C.: Leukocyte transfusion therapy for patients with host-defense failure. Transplant. Proc., 5: 1285, 1974.

25. DALE, D.L., REYNOLDS, H.Y., PENNINGTON, J.E., ELIN, R.J., PITTS, T.W. y GRAW, R.G.: Granulocyte transfusion therapy of experimental *Pseudomonas pneumonia*. J. Clin. Invest., 54: 664, 1974.
26. EPSTEIN, R.B., CLIFT, R.A. y THOMAS, E.D.: The effect of leukocyte transfusions on experimental bacteriemia in the dog. Blood, 34: 782, 1969.
27. EPSTEIN, R.B., WAXMAN, F.J., BENNETT, B.T. y ANDERSEN, B.R.: *Pseudomonas septicemia* in neutropenic dogs. I. Treatment with granulocyte transfusions. Transfusion, 14: 51, 1974.
28. DEBELAK, K.M., EPSTEIN, R.B. y ANDERSEN, B.R.: Granulocyte transfusion in leukopenic dogs: in vivo and in vitro function of granulocytes obtained by continuous-flow filtration leukapheresis. Blood, 43: 757, 1974.
29. PFLIEGER, H., ARNOLD, R., BHADURI, S., BULTMANN, B., GOLDMANN, S.F., HAGHDU, F., KUBANEK, B., KURRLE, E. y NIETHAMMER, D.: Beneficial effect of granulocyte transfusions in patients with defects in granulocyte function and severe infections. Scand. J. Haematol., 22: 33, 1979.
30. VOGLER, W.R. y WINTON, E.F.: Estudio controlado sobre la eficacia de las transfusiones de granulocitos en los pacientes neutropénicos. Amer. J. Med. (ed. esp.), 6: 327, 1977.
31. ROZMAN, C., RIBAS MUNDO, M., GRAÑENA, A. y CASTILLO, R.: Transfusion granulocytaire. Expérience en 92 cas. Nouv. Rev. franc. d'Hémat., 16: 154, 1976.
32. RIBAS MUNDO, M., GRAÑENA, A., VIVANCOS, P., CASTILLO, R. y ROZMAN, C.: Transfusión de granulocitos. Aspectos metodológicos y experiencia personal en 40 casos. Sangre, 19: 73, 1974.
33. GRAW, R.G.Jr., HERZIG, G., PERRY, S. y HENDERSON, E.S.: Normal granulocyte transfusion therapy. Treatment of septicemia due to gram negative bacteria. New. Engl. J. Med., 287: 367,

1972.

34. GRAÑENA, A.: Transfusión de granulocitos. Tesis doctoral. Barcelona, enero, 1977.
35. FREIREICH, E.J., JUDSON, G. y LEVIN, R.H.: Separation and collection of leukocytes. Cancer Res., 25: 1516, 1965.
36. BUCKNER, D.C., EISEL, R. y PERRY, S.: Blood cell separation in dog by continuous flow centrifugation. Blood, 31: 653, 1969.
37. TULLIS, J.L., TINCH, R.J., GIBSON, J.G. y BAUDANZA, P.: A simplified centrifuge for the separation and processing of blood cells. Transfusion, 7: 232, 1967.
38. DJERASSI, I., KIM, J. y SUVANSRI, U.: Filtration leukapheresis for separation and transfusion of large amounts of granulocytes from single normal donors. Proc. Amer. Ass. Cancer Res., 12: 28, 1971.
39. DJERASSI, I., KIM, J.S., SUVANSRI, U., MITRAKUL, C. y CIESIELKA, W.: Continuous flow filtration leukapheresis. Transfusion, 12: 75, 1972.
40. McCULLOUGH, J., WEIBLEN, B.J., DEINARD, A.R., BOEN, J., FORTUNY, I.E. y QUIE, P.G.: In vitro function and post-transfusion survival of granulocytes collected by continuous flow centrifugation and by filtration leukapheresis. Blood, 48: 315, 1976.
41. APPELBAUM, F.R., BOWLES, C.A., MAKUCH, R.W. y DEISSEROIH, A.B.: Granulocyte transfusion therapy of experimental Pseudomonas septicemia: study of cell dose and collection technique. Blood, 52: 323, 1978.
42. SCHIFFER, C.A., BUCHHOLZ, D.H., AISNER, J., BETTS, S.W. y WIERNIK, P.H.: Clinical experience with transfusion of granulocytes obtained by continuous flow filtration leukapheresis. Amer. J. Med., 58: 373, 1975.



43. COOK, L.L.O., BOXER, L.A., ALLEN, J.M., GRIEP, J.A. y BAEHNER, R.L.: In vitro functional capabilities of canine polymorphonuclear neutrophils collected simultaneously by continuous-flow centrifugation and continuous-flow filtration leukapheresis. Amer. J. Hematol., 4: 225, 1978.
44. HERZIG, G.P., ROOT, R.K. y GRAW, R.G.: Granulocyte collection by continuous flow filtration leukapheresis. Blood, 39: 554, 1972.
45. WRIGHT, D.G., KAUFFMANN, J.C., CHUSIO, M.J., HERZIG, G.P. y GALLIN, J.I.: Functional abnormalities of human neutrophils collected by continuous flow filtration leukapheresis. Blood, 46: 901, 1975.
46. AISNER, J. y SANEL, F.T.: Ultrastructural and functional studies of granulocytes obtained by filtration leukapheresis. Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 15: 69, 1974.
47. KLOCK, J.C. y BAINTON, D.F.: Degranulation and abnormal bactericidal function of granulocytes procured by reversible adhesion to nylon wool. Blood, 49, 149, 1976.
48. TS'AO, C. y RUDER, E.A.: Ultrastructural damage of leukocytes procured by the leukopak: vulnerability of leukocytes to mechanical injury. Transfusion, 16: 336, 1976.
49. WRIGHT, D.G., UNGERIEIDER, R.S., GALLIN, J.I. y DEISSEROTH, A.B.: Pretreatment of filtration leukapheresis donors with colchicine. Blood, 52: 783, 1978.
50. HARRIS, M.B., DJERASSI, I., SCHWARTZ, E. y ROOT, R.K.: Polymorphonuclear leukocytes prepared by continuous-flow filtration leukapheresis: viability and function. Blood, 44: 707, 1974.

51. HIGBY, D.J., HENDERSON, E.S., BURNETT, D. y COHEN, E.: Filtration leukapheresis: effects of donor stimulation with dexamethasone. Blood, 50: 953, 1977.
52. CLIFT, R.A., FIM, L.S., SANDERS, J.E., THOMAS, E.D., WILLIAMS, B. y BUCKNER, C.D.: Granulocyte transfusions for the prevention of infection in patients receiving bone-marrow transplants. New Engl. J. Med., 298: 1052, 1978.
53. EYRE, H.J., GOLDSTEIN, I.M., PERRY, S. y GRAW, R.G.: Leukocyte transfusions: function of transfused granulocytes from donors with chronic myelocytic leukemia. Blood, 36: 432, 1970.
54. AISNER, J., SCHIFER, C.A. y WIERNIK, P.H.: Granulocyte transfusions: evaluation of factors influencing results and a comparison of filtration and intermittent centrifugation leukapheresis. Brit. J. Haemat., 38: 121, 1978.
55. FERNANDEZ-HUERTA, J.M.: Contribución al estudio del quimiotactismo leucocitario. Tesis doctoral, Barcelona, 1972.
56. PUJOL, N.: Contribución al estudio del test del nitroazul de tetrazolio. Tesis doctoral, Barcelona, abril, 1972.
57. FELIU, E.: Estudio del funcionalismo granulocitario en la cirrosis hepática. Tesis doctoral, Barcelona, junio, 1979.
58. RABINOVITCH, M.: Phagocytosis: the engulfment stage. Semin. Hematol., 5: 134, 1968.
59. POLLIACK, A.: Normal, transformed and leukemic leukocytes. A scanning electron microscopy atlas. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1977.
60. ROZMAN, C. y WOESSNER, S.: Ultraestructura celular en hematología. Salvat Ed. Barcelona, 1976.

61. ZUCKER-FRANKLIN, D.: Physiological and pathological variations in the ultrastructure of neutrophils and monocytes. Clin. Haemat., 4: 485, 1975.
62. PARK, B.H., DOLEN, J. y SNYDER, B.: Defective chemotactic migration of polymorphonuclear leukocytes in Pelger-Huet anomaly. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 155: 51, 1977.
63. OVERTON, J.: Localized lanthanum staining of the intestinal brush border. J. Cell. Biol., 38: 447, 1969.
64. LEWIS, P.R. y KNIGHT, D.P.: Practical methods in electron microscopy. Ed. por Glavert, A.M. North-Holland publishing company. Amsterdam, New York, Oxford, 1977. Pág. 64.
65. BAINTON, D.F.: Neutrophil granules. Annotation. Brit. J. Haemat., 29: 17, 1975.
66. BAINTON, D.F., ULLYOT, J.L. y FARQUHAR, M.G.: The development of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes in human bone marrow. Origin and content of azurophilic and specific granules. J. Exp. Med., 134: 907, 1971.
67. BRETZ, U. y BAGGIOLINI, M.: Biochemical and morphological characterization of azurophil and specific granules of human neutrophilic polymorphonuclear leukocytes. J. Cell. Biol., 63: 251, 1974.
68. GEDDES, A.D., KIRCHEN, M.E. y MARSHALL, G.J.: Localization of leukocyte alkaline phosphatase in human neutrophils. Acta Haemat. (Basel), 53: 145, 1975.
69. SPITZNAGEL, J.K., DALLDORF, F.G., LEFFELL, M.S., FOLDS, J.D., NELSH, I.R.H., COONEY, M.H. y MARTIN, L.E.: Character of azurophil and specific granules purified from human polymorphonuclear leukocytes. Lab. Invest., 30: 774, 1974.

70. GRAHAM, R.C. y KARNOVSKY, M.I.: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: ultrastructural cytochemistry by a new technique. J. Histochem. Cytochem., 14: 291, 1966.
71. ACKERMAN, G.A. y CLARK, M.A.: Ultrastructural localization of peroxidase activity in normal human bone marrow cells. Z. Zellforsch., 117: 463, 1971
72. DE DUVE, C. y BAUDHVIN, P.: Peroxisomes (microbodies and related particles). Physiol Rev. 46: 323, 1966.
73. BRETON-GORIUS, J., COQUIN, Y. y GUICHARD, J.: Activités peroxydasiques de certaines granulations des neutrophiles dans deux cas de déficit congénital en myeloperoxidase. C.R. Acad. Sci. (Paris), 280: 1753, 1975.
74. WEST, B.C., ROSENTHAL, A.S., GELB, N.A. y KIMBALL, H.R.: Separation and characterization of human neutrophil granules. Amer. J. Path., 77: 41, 1974.
75. KANE, S.P. y PETERS, T.J.: Analytical subcellular fractionation of human granulocytes with reference to the localization of vitamin B12 binding proteins. Clin. Sci. mol. Med., 49: 171, 1975.
76. REAVEN, E.P. y AXLINE, S.G.: Subplasmalemmal microfilaments and microtubules in resting and phagocytizing cultivated macrophages. J. Cell Biol., 59: 12, 1973.
77. SANDOVAL, V.I. y CUATRECASAS, P.: De la polimerización de la proteína tubulina resulta una estructura fascinante: el microtúbulo. Investigación y Ciencia, 17: 6, 1978.
78. BOXER, L.A., ALLEN, J.M., WATANABE, A.M., BESCH, H.R. y BAEHNER, R.L.: Role of microtubules in granulocyte adherence.

Blood, 51: 1045, 1978.

79. STOSSEL, T.P.: The mechanism of leukocyte locomotion. En Leucocyte chemotaxis: Methods, physiology and clinical implications. Ed. por Gallin, J.I. y Quie, P.G. Raven Press, Nueva York, 1978. Pág. 144.

80. MALECH, H.L., ROOT, R.K. y GALLIN, J.I.: Centriole, microtubule and microfilament orientation during human polymorphonuclear leukocyte chemotaxis. Clin. Res., 24: 314, 1976.

81. MALECH, H.L., ROOT, R.K. y GALLIN, J.I.: Structural analysis of human neutrophil migration. Centriole, microtubule and microfilament orientation and function during chemotaxis. J. Cell Biol., 75: 666, 1977.

82. MALAWISTA, S.E.: Microtubules and the mobilization of lysosomes in phagocytizing human leukocytes. Ann. N.Y. Acad. Sci., 253: 738, 1975.

83. POLLARD, T.D. y WEIHING, R.A.: Actin and myosin and cell movement. C.R.C. Crit. Rev. Biochem., 2: 1, 1974.

84. ISIKAWA, M., BISCHOFF, R. y HOLTZER, H.: Formation of arrowhead complexes with heavy meromyosin in a variety of cell types. J. Cell Biol., 43: 312, 1969.

85. STOSSEL, T.P., MURAD, F. y MASON, R.J.: Regulation of glycogen metabolism in polymorphonuclear leukocytes. J. Cell. Chem., 245: 6228, 1970.

86. LUTAS, E.M. y ZUCKER-FRANKLIN, D.: Formation of lipid inclusions in normal human leukocytes. Blood, 49: 309, 1977.

87. RAMSEY, W.S. y HARRIS, A.: Leukocyte locomotion and its inhibition by antimetabolic drugs. Exp. Cell. Res., 82: 262, 1973.
88. EDELSON, P.J. y FUDENBERG, H.F.: Effect of vinblastine on the chemotactic responsiveness of normal human neutrophils. Infect. Immun., 8: 127, 1973.
89. BANDMANN, U., RYDGREN, L. y NORBERG, B.: The difference between random movement and chemotaxis. Effects of anti-tubulins on neutrophil granulocyte locomotion. Exp. Cell. Res., 88: 63, 1974.
90. MILLER, M.E.: Pathology of chemotaxis and random motility. Semin. Hematol., 12: 59, 1975.
91. NELSON, R.D., FIEGEL, V.D. y SIMMONS, R.L.: Chemotaxis of human polymorphonuclear neutrophils under agarose: Morphologic changes associated with chemotactic response. J. Immunol., 117: 1676, 1976.
92. KONDO, K. y YOSHITAKE, J.: Scanning electron microscopy of leukocytes in motion. J. Electron. Microsc., 25: 99, 1976.
93. GRIFFIN, F.M.Jr., GRIFFIN, J.A., LEIDER, J.E. y SILVERSTEIN, S.C.: Studies on the mechanism of phagocytosis. I. Requirements for circumferential attachment of particle bound ligands to specific receptors on the macrophage plasma membrane. J. Exp. Med., 142: 1262, 1975.
94. KLEBANOFF, S.J. y CLARK, R.A.: The neutrophil: the function and clinical disorders. Ed. por North-Holland publishing company. Amsterdam, Nueva York, Oxford, 1978. Pág. 163.
95. ALLISON, A.C., DAVIES, P. y DE PETRIS, S.: Role of contractile microfilaments in macrophages movement and endocytosis. Nature New Biol., 232: 153, 1971.

96. BOXER, L.A., HEDLEY-WHYTE, E.T. y STOSSEL, T.P.: Neutrophil actin dysfunction and abnormal neutrophil mobility. New Engl. J. Med., 291: 1093, 1974.
97. BAINTON, D.F.: Sequential degranulation of the two types of polymorphonuclear leukocyte granules during phagocytosis of microorganism. J. Cell. Biol., 58: 249, 1973.
98. HAWIGER, J., COLLINS, R.D., HORN, R.G. y KOEING, M.G.: Interaction of artificial phospholipid membranes with isolated polymorphonuclear leukocytic granules. Nature (London), 222: 276, 1969.
99. KELLER, H.U., WILKINSON, P.C., ABERCROMBIE, M., BECKER, E.L., HIRSH, J.G., MILLER, M.E., RAMSEY, V.S. y ZIGMOND, S.H.: A proposal for definition of terms related to locomotion of leukocytes and other cells. Clin. exp. Immunol., 27: 377, 1977.
100. KELLER, H.V. y SORKIN, V.: Studies on chemotaxis. V. On the chemotactic effect of bacteria. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 31: 505, 1967.
101. GALLIN, J.I.: Radioassay of granulocyte chemotaxis: studies of human granulocytes and chemotactic factors. En: Chemotaxis its biology and biochemistry. Ed. por Sorkin, E.. Karger, Basilea. Pág, 146, 1974.
102. GALLIN, J.I., CLARK, R.A. y FRANK, M.M.: Kinetic analysis of the generation of the chemotactic factor in human serum via activation of the classical and alternate complement pathways. Clin. Immunol. Immunopath. 3: 334, 1975.
103. WARD, P.A.: Chemotaxis of polymorphonuclear leukocytes. Biochem. Pharmacol., 110: 99, 1968.

104. WARD, P.A.: A plasmin-split fragment of C3 as a new chemotactic factor. J. Exp. Med., 126: 189, 1967.
105. SNYDERMAN, R., PHILLIPS, J. y MERGENHAGEN, S.E.: Polymorphonuclear leukocyte chemotactic activity in rabbit serum and guinea pig serum treated with immune complexes: evidence for C5a as the major chemotactic factor. Infect. Immun., 1: 521, 1970
106. RUDDY, S., AUSTEN, K.F. y GOETZL, E.J.: Chemotactic activity derived from interaction of factors  $\bar{D}$  and  $\bar{B}$  of the properdin pathway with cobra venom factor of C3b. J. Clin. Invest., 55: 587, 1975.
107. KAPLAN, A.P., KAY, A.B. y AUSTEN, K.F.: A prealbumin activator of prekallikrein. III. Appearance of chemotactic activity for human neutrophils by the conversion of human prekallikrein to kallikrein. J. exp. Med., 135: 81, 1972.
108. KAPLAN, A.P., GOETZL, E.J. y AUSTEN, K.F.: The fibrinolytic pathway of human plasma. II. The generation of chemotactic activity by activation of plasminogen proactivator. J. Clin. Invest., 52: 2591, 1973.
109. KAY, A.B., PEPPER, D.S. y MCKENZIE, R.: The identification of fibrinopeptide B as a chemotactic agent derived from human fibrinogen. Brit. J. Haematol., 27: 669, 1974.
110. STECHER, V.J. y SORKIN, E.: The chemotactic activity of fibrin lysin products. Int. Arch. Allergy, 43: 879, 1972.
111. WARD, P.A. y HILL, J.H.: C5 chemotactic fragments produced by an enzyme in lysosomal granules of neutrophils. J. Immunol., 104: 535, 1970.
112. WRIGHT, D.G. y GALLIN, J.I.: Modulation of the inflammatory response by products released from human polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis: generation and inactivation of



- the chemotactic factor C5a. Inflammation, 1: 23, 1975.
113. WARD, P.A., REMOLD, H.G. y DAVID, J.R.: Leukotactic factor produced by sensitized lymphocytes. Science, 163: 1079, 1969.
114. ALTMAN, L.C., SNYDERMAN, R., OPPENHEIM, J.J. y MERGENHAGEN, S.E.: A human mononuclear leukocyte chemotactic factor: characterization, specificity and kinetics of production by homologous leukocytes. J. Immunol., 110: 801, 1973.
115. GALLIN, J.I. y KIRKPATRICK, C.H.: Chemotactic activity in dializable transfer factor. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 71: 498, 1974.
116. KAZMIEROWSKI, J.A., GALLIN, J.I. y REYNOLDS, H.Y.: Mechanism for the inflammatory response in primate lungs. Demonstration and partial characterization of an alveolar macrophage-derived chemotactic factor with preferential activity for polymorphonuclear leukocytes. J. Clin. Invest., 59: 273, 1977.
117. HAYASHI, H., YOSHINAGA, M. y YAMAMOTO, S.: The nature of a mediator of leukocyte chemotaxis in inflammation. En: Antibiotics: its biology and biochemistry. Ed. por Sorkin, S., Karger-Basel, 1974. Pág. 296.
118. SCHIFFMANN, E., CORCORAN, B.A. y WAHL, S.M.: N-formylmethionyl peptides as chemoattractants for leukocytes. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 72: 1059, 1975.
119. TURNER, S.R., CAMPBELL, J.A. y LINN, W.S.: Polymorphonuclear leukocyte chemotaxis toward oxidized lipid components of cell membranes. J. exp. Med., 141: 1437, 1975.
120. CHANG, C. y HOUCK, J.C.: Demonstration of the chemotactic properties of collagen. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 134: 22, 1970.

121. STECHER, V.J.: The chemotaxis of selected cell types to connective tissue degradation products. Ann. N.Y.Acad. Sci., 256: 177, 1975.
122. RIVKIN, I, y BECKER, E.L.: Effect of exogenous cyclic AMP and other adenine nucleotides on neutrophil chemotaxis and motility. Int. Arch. Allergy, 50: 95, 1976.
123. GAMOW, E. y BARNES, F.S.: Chemotactic responses of human polymorphonuclear leukocytes to cyclic GMP and other compounds. Exp. Cell. Res., 87: 1, 1974.
124. KALEY, G. y WEINER, R.: Effect of prostaglandin E<sub>1</sub> on leukocyte migration. Nature (New Biol.), 234: 114, 1971.
125. BOOT, J.R. , DAWSON, W. y KITCHEN, E.A.: The chemotactic activity of tromboxane B<sub>2</sub>. A possible role in inflammation. J. Physiol. (London), 257: 47, 1976.
126. KELLER, H.U. y SORKIN, E.: Studies on chemotaxis. VI. Specific chemotaxis in rabbit polymorphonuclear leukocytes and mononuclear cells. Int. Arch. Allergy, 31: 575, 1967.
127. AOKI, T., SHIMIZU, A. y YAMAMURA, Y.: Leucocyte chemotactic factor generated by tryptic digestion of human IgM. Immunochemistry, 13: 461, 1976.
128. WILKINSON, P.C.: Succinyl bee venom melittin is a leucocyte chemotactic factor. Nature (Lond.), 267: 713, 1977.
129. GALLIN, J.I. y KAPLAN, A.P.: Mononuclear cell chemotactic activity of kallikrein and plasminogen activator and its inhibition by CI inhibitor and  $\alpha_2$ -macroglobulin. J. Immunol., 113: 1928, 1974.
130. RIVKIN, I. y BECKER, E.L.: Possible implication of cyclic

- 3'5'-adenosinmonophosphate. Fed. Proc., 31: 657, 1972.
131. GOETZL, E.J. y AUSTEN, K.F.: A neutrophil-immobilizing factor derived from human leukocytes. I. Generation and partial characterization. J. exp. Med., 136: 1564, 1972.
132. WARD, P.A.: The chemosuppression of chemotaxis. J. Exp. Med., 124: 209, 1966.
133. BRAYTON, R.G., STOKES, P.E., SCHWARTZ, M.S. y LOURIA, D.B.: Effect of alcohol and various diseases on leukocyte mobilization, phagocytosis and intracellular bacterial killing. New Engl. J. Med., 282: 123, 1970.
134. ANDERSEN, B.R. y VAN EPPS, D.E.: Suppression of chemotactic activity of human neutrophils by streptolysin O. J. Infect. Dis., 125: 353, 1972.
135. KELLER, H.U., HESS, M.W. y COTTIER, H.: Inhibiting effects of human plasma and serum on neutrophil random migration and chemotaxis. Blood, 44: 843, 1974.
136. HAU, T., NELSON, R.D., FIEGEL, V.D., LEVENSON, R. y SIMMONS, R.L.: Mechanisms of the adjuvant action of hemoglobin in experimental peritonitis. 2. Influence of hemoglobin on human leukocyte chemotaxis in vitro. J. Surg. Res., 22: 174, 1977.
137. GOETZL, E.J.: Modulation of human neutrophil polymorphonuclear leucocyte migration by human plasma alfa-globulin inhibitors and syntetic esterase inhibitors. Immunology, 29: 163, 1975.
138. GOETZL, E.J.: Plasma and cell-derived inhibitors of human neutrophil chemotaxis. Ann. N.Y. Acad. Sci., 256: 210, 1975.
139. PHELPS, P. y STANISLAW, D.: Polymorphonuclear leukocyte motility in vitro. I. Effect of pH, temperature, ethyl alcohol

- and caffeine, using a modified Boyden chamber technic. Arthr. and Rheum., 12: 181, 1969.
140. HOLLEY, T.R., VAN EPPS, D.E., MARVEY, R.C., ANDERSEN, R.E. y WILLIAMS, R.C.Jr.: Effect of high doses of radiation on human neutrophil chemotaxis, phagocytosis and morphology. Amer. J. Path., 75: 61, 1974.
141. WILLIAMS, L.T., SNYDERMANN, R., PIKE, M.C. y LEFKOWITZ, R.J.: Specific receptor sites for chemotactic peptides on human polymorphonuclear leukocytes. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 74: 1204, 1977.
142. BECKER, E.L. y WARD, P.A.: Partial biochemical characterization of the activated esterase required in the complement-dependant chemotaxis of rabbit polymorphonuclear leukocytes. J. Exp. Med., 125: 1021, 1967.
143. WARD, P.A. y BECKER, E.L.: Mechanism of the inhibition of chemotaxis by phosphonate esters. J. exp. Med., 125: 1001, 1967.
144. CANER, J.E.Z.: Colchicine inhibition of chemotaxis. Arth. and Rheum, 8: 757, 1965.
145. GOLDSTEIN, I., HOFFSTEIN, S., GALLIN, J.: Mechanisms of lysosomal enzyme release from human leukocytes: microtubule assembly and membrane fusion induced by a component of C. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 70: 2916, 1973.
146. MANDELL, B.F., SPILBERG, I. y LICHTMAN, J.: Inhibition of polymorphonuclear leukocyte capping by a chemotatic factor. J. Immunol., 118: 1375, 1977.
147. GALLIN, J.I. y ROSENTHAL, A.S.: The regulatory role of divalent cations in human granulocyte chemotaxis: evidence for an association between calcium exchanges and microtubule assembly. J. Cell Biol., 62: 594, 1974.

148. ZIGMOND, S.H. y HIRSCH, J.G.: Effects of cytochalasin B on polymorphonuclear leukocyte locomotion, phagocytosis and glycolysis. Exp. Cell Res., 73: 383, 1972.
149. WEISENBERG, R.C.: Microtubule formation in vitro in solutions containing low calcium concentrations. Science, 177: 1104, 1972.
150. STOSSEL, T.P. y POLLARD, T.D.: Myosin in polymorphonuclear leukocytes. J. Biol. Chem., 248: 8288, 1973.
151. GALLIN, J.I., GALLIN, E.K., MALECH, H.L. y CRAMER, E.B.: Structural and ionic events during leukocyte chemotaxis. En: Leukocyte chemotaxis: Methods, Physiology and clinical implications de Gallin y Quie. Pág. 124. Raven Press, Nueva York, 1978.
152. KRAAL, J.H. y KENNEY, E.B.: Polymorphonuclear leukocyte chemotaxis in the absence of oxygen. J. periodont. Res., 10: 288, 1975.
153. CARRUTHERS, B.M.: Leukocyte motility. II. Effect of absence of glucose in medium, effect of presence of deoxyglucose, dinitrophenol, puromycin, actinomycin D and trypsin on the response to chemotactic substance; effect of segregation of cells from chemotactic substances. Canad. J. Physiol. Pharm., 45: 269. 1967.
154. GOETZL, E.J. y AUSTEN, K.F.: Stimulation of human neutrophil leukocyte aerobic glucose metabolism by purified chemotactic factors. J. Clin. Invest., 53: 591, 1974.
155. ESTENSEN, R.D., HILL, H.R., QUIE, P.G., HOGAN, N. y GOLDBERG, N.D.: Cyclic GMP and cell movement. Nature, 245: 458, 1973.
156. BECKER, SHOWELL, H.J., HENSON, P.M. y HSU, L.S.: The ability of chemotactic factors to induce lysosomal enzyme release. I. The characteristics of the release, the importance of surfaces and

- the relation of enzyme release to chemotactic responsiveness. J. Immunol., 112: 2047, 1974.
157. WRIGHT, A.E. y DOUGLAS, S.R.: An experimental investigation of the role of the blood fluids in connection with phagocytosis. Proc. Roy. Soc. Biol. Sci., 72: 357, 1903.
158. STOSSEL, T.P.: Phagocytosis. New Engl. J. Med., 290: 717, 774 y 833, 1974.
159. SMITH, J.W., BARNETT, J.A., MAY, R.P. y SANFORD, J.P.: Comparison of the opsonic activity of  $\gamma$ -6 and  $\gamma$ -M antiproteins globulins. J. Immunol., 98: 336, 1967.
160. MESSNER, R.P., y JELINEK, J.: Receptors for human  $\gamma$ G globulin on human neutrophils. J. Clin. Invest., 49: 2165, 1970.
161. ROBBINS, J.B., KENNY, K. y SUTER, S.: The isolation and biological activities of rabbit M and G anti-Salmonella typhimurium antibodies. J. Exp. Med., 122: 385, 1965.
162. VAN OSS, C.J. y SINGER, J.M.: The binding of immune globulins and other proteins by polystyrene latex particles. J. reticuloendothel. Soc., 8: 397, 1966.
163. SMITH, M.R. y WOOD, W.B.: Heat labile opsonins to pneumococcus. I. Participation of complement. J. Exp. Med., 130: 1209, 1969.
164. STOSSEL, T.P., FIELD, R.J., GITLIN, J.D., ALPER, C.A. y ROSEN, F.S.: The opsonic fragment of the third component of human complement (C3). J. Exp. Med., 141: 1329, 1975.
165. GRIFFIN, F.M., GRIFFIN, J.A. y SILVERSTEIN, S.C.: Studies on the mechanism of phagocytosis. The interaction of macrophages with anti-immunoglobulin IgG-coated bone marrow derived lymphocytes. J. Exp. Med., 144: 788, 1976.

166. VAN OSS, C.J. y GILLMAN, C.F.: Phagocytosis as a surface phenomenon. I. Contact angles and phagocytosis of nonopsonized bacteria. J. reticuloendothel. Soc., 12: 283, 1972.
167. VAN OSS, C.J. y GILLMAN, C.F.: The influence of the shape of phagocytes on their adhesiveness. Immunol., Commun., 1: 627, 1972.
168. ALLISON, F., LANCASTER, M.G. y CROSTHWALTE, J.L.: Studies on the pathogenesis of acute inflammation. V. An assesment of factors that influence in vitro the phagocytic and adhesive properties of leucocytes obtained from rabbit peritoneal exudate. Amer. J. Path., 43; 775, 1963.
169. STOSSEL, T.D.: Contractile proteins in phagocytosis: An example of cell surface to cytoplasm communication. Fed. Proc., 36: 2181, 1977.
170. MALAWISTA, S.E. y BODEL, P.T.: The dissociation by colchicine of phagocytosis from increased oxigen consumption in human leukocytes. J. Clin. Invest., 46: 786, 1967.
171. DE CHATELET, L.A., COOPER, M.R. y McCALL, C.E.: Dissociation by colchicine of the hexose monophosphate shunt activation from the bactericidal activity of the leukocyte. Infect. Immun., 3: 66, 1971.
172. COX, J.P. y KARNOVSKY, M.L.: The depression of phagocytosis by exogenous cyclic nucleotides, prostaglandins and theophylline. J. Cell. Biol., 59: 480, 1973.
173. IGNARRO, L.J. y CECH, S.Y.: Bidirectional regulation of lysosomal enzyme secretion and phagocytosis in human neutrophils by guanosine-3'5' monophosphate and adenosine 3'5' monophosphate. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 151: 448, 1976.

174. SBARRA, A.J. y SHIRLEY, W.: Phagocytosis inhibition and reversal. I. Effect of glycolytic intermediates and nucleotides on particle uptake. J. Bact., 86: 259, 1963.
175. KVARSTEIN, B.: Oxygen consumption during the initial stage of human leukocyte phagocytosis of polystyrene latex particles. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 25: 337, 1970.
176. STOSSEL, T.P.: Quantitative studies of phagocytosis. Kinetic effects of cations and heat labile opsonin. J. Cell Biol., 58: 346, 1973.
177. MANDELL, G.L.: Effect of temperature on phagocytosis by human polymorphonuclear neutrophils. Infect. Immun., 12: 221, 1975.
178. SBARRA, A.J., SHIRLEY, W. y BAUMSTARK, J.S.: Effect of osmolarity on phagocytosis. J. Bact., 85: 306, 1963.
179. NAJJAR, V.A., y NISHIOKA, K.: "Tuftsin": A natural phagocytosis stimulating peptide. Nature (Lond.), 228: 672, 1970.
180. WINDHORST, D., HOLMES, B. y GOOD, R.A.: A newly defined X linked trait in man with demonstration of the Lyon effect in carrier females. Lancet, 1: 737, 1967.
181. HAKIM, J., BOIVIN, P., BOUCHEROT, J. y TROUBE, H.: Granulocytopathies acquises. Nouv. Rev. franc. Hémat., 14: 284, 1974.
182. BOUCHEROT, J., HAKIM, J., TROUBE, H. y BOIVIN, P.: Alcohol et fonction des granulocytes circulants. Nouv. Rev. franc. Hémat., 14: 308, 1974.
183. ZUCKER-FRANKLIN, D. y HIRSCH, J.G.: Electron microscopic studies on the granulation rabbit peritoneal leukocytes during phagocytosis. J. Exp. Med., 120: 569, 1964.



184. ZURIER, R.B., HOFFSTEIN, S. y WEISSMANN, G.: Mechanisms of lysosomal enzyme release from human leukocytes. I. Effect of cyclic nucleotides and colchicine. J. Cell. Biol., 58: 27, 1973.
185. ZURIER, R.B., WEISSMANN, G., HOFFSTEIN, S., KAMMERMAN, S. y TAI, H.H.: Mechanisms of lysosomal enzyme release from human leukocytes. II. Effects of c-AMP and c-GMP autonomic agonists and agents with affect microtubule function. J. Clin. Invest., 53: 297, 1974.
186. HOFFSTEIN, S., SOBERMAN, R., GOLDSTEIN, I. y WEISSMANN, G.: Concanavalin A induces microtubule assembly and specific granule discharge in human polymorphonuclear leukocytes. J. Cell. Biol., 68: 781, 1976.
187. ZURIER, R.B., HOFFSTEIN, S. y WEISSMANN, G.: Cytochalasin B: effect on lysosomal enzyme release from human leukocytes. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 70: 844, 1973.
188. HENSON, P.M. y OADES, Z.G.: Stimulation of human neutrophils by soluble and insoluble immunoglobulin aggregates. Secretion of granule constituents and increased oxidation of glucose. J. Clin. Invest., 56: 1053, 1975.
189. SPITZNAGEL, J.K.: Bactericidal mechanisms of the granulocyte. En The granulocyte: function and clinical utilization, de A.R. Liss. Pág. 103. Nueva York, 1977.
190. HAKIM, J., CRAMER, E. y GOUGEROT, M.A.: Le polynucléaire neutrophil: système de défense de l'organisme. En: Le sang en anesthésie et réanimation, de C. Conseiller, J.M. Desmots y cols, Pág. 507. Arnette, París, 1976.
191. KLEBANOFF, S.J.: Antimicrobial mechanisms in neutrophilic polymorphonuclear leukocytes. Semin. Haematol., 12: 117, 1975.
192. BABIOR, B.M.: Oxygen dependent microbial killing by phagocytes New Engl. J. Med., 298: 659, 1978.

193. FELIU, E., GOUGEROT, M.A., HAKIM, J., CRAMER, E., AUCLAIR, C., RUEFF, B. y BOIVIN, P.: Blood polymorphonuclear dysfunction in patients with alcoholic cirrhosis. Europ. J. Clin. Invest., 7: 571, 1977.
194. AUCLAIR, C., CRAMER, E., HAKIM, J. y BOIVIN, P.: Studies on the mechanism of NADPH oxidation by the granule fraction isolated from human resting polymorphonuclear blood cells. Biochimie, 58: 1359, 1976.
195. AUCLAIR, C., TORRES, M. y HAKIM, J.; Involvement of hydroxyl radical in NAD(P)H oxidation and associated oxygen reduction by the granule fraction of human blood polymorphonuclears. Biochem. Biophys. Res. Commun., 81: 1067, 1978.
196. AUCLAIR, C., TORRES, M., CRAMER, E. y HAKIM, J.: Cyanide-insensitive NADH-oxidation by subcellular fraction isolated from polymorphonuclear blood cells. Enzyme, 23: 225, 1978.
197. BADWEY, J.A., CURNUTTE, J.T. y KARNOVSKY, M.L.: The enzyme of granulocytes that produces superoxide and peroxide. New Engl. J. Med., 300: 1157, 1979.
198. MANDELL, G.L.: Catalase, superoxide dismutase and virulence of staphylococcus aureus. In vitro and in vivo studies with emphasis in staphylococcal leukocytes interaction. J. Clin. Invest., 55: 561, 1975.
199. DEWALD, B., BAGGIOLINI, M., CURNUTTE, J.T. y BABIOR, B.M.: Subcellular localization of the superoxide-forming enzyme in human neutrophils. J. Clin. Invest., 63: 21, 1979.
200. SEGAL, A.W. y JONES, O.T.G.: Novel cytochrome b system in phagocytic vacuoles of human granulocytes. Nature (Lond.), 276: 515, 1978.

201. SEGAL, A.W., JONES, O.T.G., WERTHER, D. y ALLISON, A.: Absence of a newly described cytochrome b from neutrophils of patients with chronic granulomatous disease. Lancet, 2: 446, 1978.
202. BORREGARD, N., JOHANSEN, K., TAUDORFF, E. y WADALL, J.H.: Cytochrome b is present in neutrophils from patients with chronic granulomatous disease. Lancet, 1: 949, 1979.
203. BAEHNER, R.L. y NATHAN, D.G.: Quantitative nitroblue tetrazolium test in chronic granulomatous disease. New Engl. J. Med., 278: 475, 1968.
204. CURNUTTE, J.T. y BABIOR, B.M.: Biological defense mechanism. The effect of bacteria and serum on superoxide production by granulocytes. J. clin. Invest., 53: 1662, 1974.
205. HOMAN-MULLER, J.W.T., WEENING, R.S. y ROOS, D.: Production of hydrogen peroxide by phagocytizing human granulocytes. J. Lab. Clin. Med., 85: 198, 1975.
206. ROOT, R.K., METCALF, J., OSHINO, N. y CHANCE, B.: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release from human granulocytes during phagocytosis. I. Documentation, quantification and some regulating factors. J. Clin. Invest., 55: 945, 1975.
207. ALLEN, R.C., STJERNHOLM, R.J. y STEELE, R.H.: Evidence for the generation of an electronic excitation state (s) in human polymorphonuclear leukocytes and its participation in bactericidal activity. Biochem. Biophys. Res. Commun., 47: 679, 1972.
208. WEISIGER, R.A. y FRIDOVICH, I.: Superoxide dismutase. Organelle specificity. J. Biol. Chem., 248: 3582, 1973.
209. FRIDOVICH, I.: Superoxide radical and the bactericidal action of phagocytes. New Engl. J. Med., 292: 624, 1974.

210. KLEBANOFF, S.J. y HAMON, C.B.: Role of myeloperoxidase mediated antimicrobial systems in intact leukocytes. J. Reticuloendothel. Soc., 12: 170, 1972.
211. KLEBANOFF, S.J.: Myeloperoxidase-halide-hidrogen peroxide antibacterial system. J. Bacteriol., 95: 2131, 1968.
212. KLEBANOFF, S.J.: Intraleukocytic microbicidal defects. Annu.Rev. Med., 22: 39, 1971.
213. KLEBANOFF, S.J.: Iodination of bacteria: a bactericidal mechanism. J. Exp. Med., 126: 1063, 1967.
214. KLEBANOFF, S.J.: Myeloperoxidase contribution of the microbicidal activity of intact leukocytes. Science, 169: 1095, 1970.
215. KLEBANOFF, S.J.: Role of superoxide anion in the myeloperoxidase-mediated anti-microbial system. J. Biol. Chem., 249: 3724, 1974.
216. KLEBANOFF, S.J. y PINCUS, S.H.: Hydrogen peroxide utilization in myeloperoxidase deficient leukocytes: a possible microbicidal control mechanism. J. Clin. Invest., 50: 2226, 1971.
217. MANDELL, G.L.: Bactericidal activity of aerobic and anaerobic polymorphonuclear neutrophils. Infect. Immunol., 9: 337, 1974.
218. McRIPLEY, R.J. y SBARRA, A.J.: The role of phagocyte in host-parasite interactions. XII. Hydrogen peroxide myeloperoxidase bactericidal system in the phagocyte. J. Bacteriol., 94: 1425, 1967.
219. LEHRER, R.I.: Antifungal effects of peroxidase systems. J. Bacteriol., 99: 361, 1969.

220. LEHRER, R.I.: Functional aspects of a second mechanism of candidacidal activity of human neutrophils. J. Clin. Invest., 51: 2566, 1972.
221. LEHRER, R.I. y CLINE, M.J.: Leukocyte myeloperoxidase deficiency and disseminated candidiasis: the role of myeloperoxidase in resistance to *Candida* infection. J. Clin. Invest., 48: 1478, 1969.
222. BELDING, M.E., KLEBANOFF, S.J. y RAY, C.G.: Peroxidase-mediated virucidal systems. Science, 167: 195, 1970.
223. CLARK, R.A., KLEBANOFF, S.J., EINSTEIN, A.B. y FEFER, A.: Halide system: cyclotoxic effect on mammalian tumor cells. Blood, 45: 161, 1975.
224. PAUL, B.B., JACOBS, A.A., STRAUSS, R.R. y SBARRA, A.J.: The role of the phagocyte in host-parasite interactions. XXIV. Aldehyde generation by the myeloperoxidase  $H_2O_2$ -chloride antimicrobial system. A possible in vivo mechanism of action. Infect. Immun., 4: 414, 1970.
225. SELVARAT, R.J., PAUL, B.B., STRAUSS, R.R., JACOBS, A.A. y SBARRA, A.J.: Oxidative peptide cleavage and decarboxylation by the MPO- $H_2O_2$ -Cl antimicrobial system. Infect. Immun., 9: 225, 1974.
226. STRAUSS, R.R., PAUL, B.B., JACOBS, A.A. y SBARRA, A.J.: The role of the phagocyte in host parasite interactions. XIX. Leukocytic glutathione reductase and its involvement in phagocytosis. Arch. Biochem. Biophys., 135: 265, 1969.
227. STRAUSS, R.R., PAUL, B.B., JACOBS, A.A. y SBARRA, A.J.: Role of the phagocyte in host parasite interactions. XXVIII. Myeloperoxidase- $H_2O_2$ - $Cl^-$  mediated aldehyde formation and its relationship to antimicrobial activity. Infect. Immun., 3: 595, 1971.

228. HAKIM, J., CRAMER, E., BOIVIN, P., TROUBE, H. y BOUCHEROT, J.: Quantitative iodination of human blood polymorphonuclear leukocytes. Europ. J. clin. Invest., 5:215, 1975.
229. GMUR, J.P., DELUIGI, J. y STRAUB, P.W.: Improved granulocyte collection from normal donors by combination of continuous-flow centrifugation and filtration leukapheresis. Transfusion, 15: 565, 1975.
230. WINTON, E.F. y VOGLER, W.R.: Development of a practical oral dexamethasone premedication schedule leading to improved granulocyte yields with the continuous-flow-centrifugal blood cell separator. Blood, 52: 249, 1978.
231. SHOJI, M. y VOGLER, W.R.: Effects of hydrocortisone on the yield and bactericidal function of granulocytes collected by continuous-flow centrifugation. Blood, 44: 435, 1974.
232. ROSENKVIST, J., BENNKE, O., JOHANSEN, K.S., KARLE, H., NELSEN, O.S., SORENSEN, H. y VALERIUS, N.H.: Harvesting of granulocyte for transfusion therapy by Haemonetics 30. Scand. J. Haematol., 20: 453, 1978.
233. STEIGBIGEL, R.T., BAUM, J., McPHERSON, J.L. y NUSBACHER, J.: Granulocyte bactericidal capacity and chemotaxis as affected by continuous-flow centrifugation and filtration leukapheresis, steroid administration and storage. Blood, 52: 197, 1978.
234. TOKI, H., KITAJIMA, K., TAKAHASHI, I., TOKIOKA, M., KITAGANA, N., KOI, F. y KIMURA, I.: Normal chemotactic activity of granulocytes obtained by filtration leukapheresis. Acta Med. Okayama, 31: 271, 1977.
235. GRAW, R.G., HERZIG, G.P., EISEL, R.J. y PERRY, S.: Leukocyte and platelet collection from normal donors with the continuous flow blood cell separator. Transfusion, 11: 94, 1971.

236. APPELBAUM, F.R., NORTON, I. y GRAW, R.G.: Mygration of transfused granulocytes in leukopenic dogs. Blood, 49: 483, 1977.
237. STEVENSON, R.D.: Effect of steroid therapy on in vitro polymorph migration. Clin. exp. Immunol., 23: 285, 1976.
238. SANEL, F.T., AISNER, J., TILLMAN, C.J. y SCHIFFER, C.A.: Evaluation of granulocyte harvested by filtration leucapheresis: functional, histochemical and ultrastructural studies. International symposium on leukocyte separation and transfusions. Ed. Academic Press. London. Pág. 236-250, 1975.
239. GLASSER, C.: Effect of storage on normal neutrophils collected by discontinuous-flow centrifugation leukapheresis. Blood, 50: 1145, 1977.
240. PRICE, TH.H. y DALE, D.C.: Neutrophil transfusion: effect of storage and of collection method on neutrophil blood kinetics. Blood, 51: 789, 1978.
241. McCULLOUGH, J., WEIBLEN, J. y QUIE, P.G.: Chemotactic activity of human granulocytes preserved in various anticoagulants. J. Lab. Clin. Med., 84: 902, 1974.
242. DE FLIEDNER, V., MEURET, G. y SENN, H.: Normal granulocyte collection with a modified repetitive cycle filtration leukapheresis. Blut, 29: 265, 1974.
243. ROY, A.J., YANKEE, R.A., BRIUKALNS, A. y FITCH, M.: Viability of granulocytes obtained by filtration leukapheresis. Transfusion, 15: 539, 1975.
244. SCHIFFER, C.A., SANEL, F.T., YOUNG, V.B. y AISNER, J.: Reversal of granulocyte adherence to nylon fibers using local anesthetic agents: possible application to filtration leukapheresis. Blood, 50: 213, 1977.

245. LAZZARIN, A., CAPSONI, F., MORONI, M., PARDI, G. y MARINI, A.: Leucocyte function after antenatal betamethasone given to prevent respiratory distress. Lancet, 2: 1354, 1977.
246. MANDELL, G.L., ROBIN, W. y HOOK, E.W.: The effect of an NADH oxidase inhibitor (hydrocortisone) on polymorphonuclear leukocyte bactericidal activity. J. Clin. Invest., 49: 1381, 1970.
247. MACGREGOR, R.R., SPAGNUOLO, P.J. y LENTNEK, A.L.: Inhibition of granulocyte adherence by ethanol prednisone and aspirin measured with an assay system. New Engl. J. Med., 291: 642, 1974.
248. MALINVAUD, G., GAILLARD, S. y GUALDE, N.: Etudes sur l'adhesion des polynucleaires aux fibres de nylon au cours des leucophereses par filtration. Rev. franc. Transf. Immuno-Hemat., 20: 237, 1977.
249. McCULLOUGH, J., WEIBLEN, B.J., PETERSON, P.K. y QUIE, P.G.: Effect of temperature on granulocyte preservation. Blood, 52: 301, 1978.
250. WRIGHT, D.G., KAUFFMANN, J.C., TERPSTRA, G.K., GRAW, R.G., DEISSEROTH, A.B. y GALLIN, J.I.: Mobilization and exocytosis of specific (secondary) granules by human neutrophils during adherence to nylon wool in filtration leukopheresis (FL). Blood. 52: 770, 1978.
251. O'FLAHERTY, J.T., CRADDOCK, P.R. y JACOB, H.S.: Effect of intravasular complement activation on granulocyte adhesiveness and distribution. Blood, 51: 731, 1978.
252. HAMMERSCHMIDT, D.E., CRADDOCK, P.R., McCULLOUGH, J., KRONENBERG, R.S., DALMASSO, A.P. y JACOB, H.S.: Complement activation and pulmonary leukostasis during nylon fiber filtration leukopheresis. Blood, 51: 731, 1978.



253. NUSBACHER, J., ROSENFELD, S.I., MACPHERSON, J.L., THIEM, P.A. y LEDDY, J.P.: Nylon fiber leukapheresis: associated complement component changes and granulocytopenia. Blood, 51: 359, 1978.
254. HERZIG, G.P. y GRAW, R.G.: Granulocyte transfusion for bacterial infections. Prog. Hematol., 9: 207, 1975.
255. DJERASSI, I., KIM, J.S., MITRAKUL, C., SUVANSRI, V. y CIESIELKA, W.: Filtration leukapheresis for separation and centrifugation of transfusable amounts of normal human granulocytes. J. Med., 1: 358, 1970.
256. BOYUM, A.: Isolation of leukocytes from human blood further observations. Methylcellulose, dextran and ficoll erythrocyte aggregating agents. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 21 (sup. 97): 31, 1968.
257. HUMPHREY, C.D. y PITTMAN, F.E.: Methylene blue-azure II and basic fuchsin. Stain. Techno., 42: 9, 1974.
258. CUTLER, J.E.: A simple in vitro method for studies on chemotaxis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 147: 471, 1974.
259. NELSON, R.D., QUIE, P.G. y SIMMONS, R.L.: Chemotaxis under agarose: a new simple method for measuring chemotaxis and spontaneous migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. J. Immunol., 115: 1650, 1975.
260. WEENING, R.S., WEVER, F. y ROSS, D.: Quantitative aspects of the production of superoxide radicals by phagocytizing human granulocytes. J. Lab. clin. Med., 45: 245, 1975.
261. PINCUS, S.H. y KLEBANOFF, S.J.: Quantitative leukocyte iodination. New Engl. J. Med., 285: 744, 1971.
262. SANEL, R., AISNER, J., TILLMAN, C. y WIERNICK, P.:

- Evaluation of granulocyte harvested by filtration leukapheresis: functional, histochemical and ultrastructural studies. Proc. Int. Symp. Leukocyte separation Transfusion. Sept, 9. 1974.
263. SMITH, G.F. y O'HARA, P.T.: Structure of nuclear pockets in human leukocytes. J. Ultrastruc. Res., 21: 415, 1968.
264. MICHAEL, M. y WHORTON, C.M.: Delay of the early inflammatory response by cortisone. Proc. So.Exp. Biol. Med., 76: 754, 1951.
265. FRUHMANN, G.J.: Adrenal steroids and neutrophil mobilization. Blood, 20: 355, 1962.
266. KETCHELL, M.M., FAVOUR, C.B. y STURGIS, S.H.: The in vitro action of hydrocortisone on leucocyte migration. J. Exp. Med., 107: 211, 1958.
267. RIVKIN, I., FOSCHI, G. y ROSEN, C.H.: Inhibition of in vitro neutrophil chemotaxis and spontaneous motility by antiinflammatory agents. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 153: 236, 1976.
268. PETERS, W.P., HOLLAND, J.F., SENN, H., RHOMBERG, W. y BANERJEE, T.: Corticosteroid administration and localized leukocyte mobilization in man. New Engl. J. Med., 282: 342, 1972.
269. STEVENSON, R.D.: Mechanism of anti-inflammatory action of glucocorticosteroids. Lancet, 1: 225, 1977.
270. PATTEN, E., GALLIN, J.I., CLARK, R.A. y KIMBALL, H.R.: Effects of cell concentration and various anticoagulants on neutrophil migration. Blood, 41: 711, 1973.
271. HIRSH, J.G. y CHURCH, A.B.: Adrenal steroids and ingestion. The effect of cortisone administration on polymorphonuclear leukocytic functions and on serum opsonins and bactericidins.

J. clin. Invest., 40: 794, 1961.

272. HANDIN, R.I. y STOSSEL, T.P.: Effect of corticosteroid therapy on the phagocytosis of antibody-coated platelets by human leukocytes. Blood, 51: 771, 1978.

273. CREPEA, S.B., MAGNIN, G.E. y SEASTONE, C.V.: Effect of ACTH and cortisone on phagocytosis. Proc. Soc. Esp. Biol. Med., 77: 704, 1951.

274. DE LA VEGA, G., FREYRE-HORTA, R. y BENITEZ-BRIESCA, L.: Plasma factor affecting the NBT reducing capacity of neutrophils. New Engl. J. Med., 289: 271, 1973.

275. LACE, J.K., TAND, J.S. y VATANAKUNAKORN, C.: Valoración del test de reducción del nitroazul de tetrazolio. Amer. J. Med. (ed. esp.), 1: 117, 1975.

276. MILLER, D.R. y KAPLAN, H.G.: Decreased nitroblue tetrazolium dye reduction in the phagocytes of patients receiving prednisone. Pediatrics, 45: 861, 1970.

277. MATULA, G. y PATERSON, P.Y.: NBT test in a patient on steroids. Lancet, 1: 803, 1971.

278. NG, R.P., CHAN, T.K. y TOOD, D.: NBT test-false-negative and false-positive results. Lancet, 1: 1341, 1972.

279. WENGER, M.E. y BOLE, G.G.: Nitroblue tetrazolium dye reduction by peripheral leukocytes from rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus patients measured by a histochemical and spectrophotometric method. J. Lab. Clin. Med., 82: 513, 1973.

280. PARK, B.H. y GOOD, R.A.: NBT test stimulated. Lancet, 2: 616 1970.

281. SEGAL, A.W., TRUSTEY, S.F. y LEVI, A.J.: Re-evaluation of nitroblue-tetrazolium test. Lancet, 2: 879, 1973.

282. ASHBURN, P., COOPER, M.R., McCALL, C.E. y DECHATELET, L.R.: Nitroblue tetrazolium reduction: false positive and false negative results. Blood, 41: 921, 1973.

283. McCALL, C.E., DE CHATELET, L.R., BUTLER, R. y BROWN, D.: Enhanced phagocytic capacity. The biologic basis for the elevated histochemical nitroblue tetrazolium reaction. J. Clin. Invest., 54: 1227, 1974.



