

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA**

**ESTUDIO COMPARATIVO, PROSPECTIVO, ALEATORIO,
CONTROLADO Y SIMPLE CIEGO DEL USO DE DOS FILTROS
(DESLEUCOCITARIO vs. CONVENCIONAL) EN 159 PACIENTES
SOMETIDOS A CIRUGÍA CARDÍACA CON CIRCULACIÓN
EXTRACORPÓREA**

**Rosario Amaya Villar
Sevilla 2005**

Proyecto de Tesis Doctoral presentado por la Licenciada en

Medicina y Cirugía

ROSARIO AMAYA VILLAR

para optar al grado de Doctor

Directores de Tesis:

Dr. SANTIAGO RAMÓN LEAL NOVAL

Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

Profesor Dr. JESÚS LOSCERTALES ABRIL

Catedrático de Cirugía

de la Universidad de Sevilla

JESÚS LOSCERTALES ABRIL, CATEDRÁTICO DE CIRUGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA y SANTIAGO RAMÓN LEAL NOVAL, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA.

CERTIFICAN:

Que el trabajo de Investigación Clínica titulado **“ESTUDIO COMPARATIVO, PROSPECTIVO, ALEATORIO, CONTROLADO Y SIMPLE CIEGO DEL USO DE DOS FILTROS (DESLEUCOCITARIO vs. CONVENCIONAL) EN 159 PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA CARDÍACA CON CIRCULACIÓN EXTRACORPÓREA”** que presenta D^a Rosario Amaya Villar para optar con él al Grado de Doctor, ha sido dirigido por nosotros y reúne todos los requisitos exigibles para ello.

Y para que conste, firmamos el presente Certificado en Sevilla a veintinueve de Marzo de 2005.

Prof. Dr. Jesús Loscertales Abril

Dr. Santiago Ramón Leal Noval

***Al Dr. Ramón Leal, por
la confianza depositada en mí,
dedicación e insistencia en el
desarrollo de la presente
Tesis Doctoral.***

***Al Prof. Jesús
Loscertales, por el apoyo
constante en todos los
campos que han permitido la
conclusión de esta Tesis.***

***A Daniel mi marido,
gracias por estar siempre
a mi lado
A Pablo, mi hijo.***

INDICE

1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	10
1.1. Transfusiones Sanguíneas en Cirugía Cardíaca	11
1.1.a. Objetivo de la transfusión. Transporte y consumo de oxígeno en cirugía cardíaca.....	12
1.1.b. Variabilidad de las transfusiones. Criterios dispares. Trascendencia.....	19
1.1.c. Criterios Transfusionales.....	22
1.2. Efecto TRIM.....	23
1.2.a. Generalidades.....	23
1.2.a. 1. Descripción de la teoría inmune y de la no inmune.....	24
1.2.b. Cirugía Cardíaca.....	27
1.2.b.1. Limitaciones de los estudios descritos.....	32
1.2.c. Trascendencia en Cirugía cardíaca.....	35
1.3. Efectos de la circulación extracorpórea.....	36
1.3.a. Efectos sistémicos.....	36
1.3.b. Efectos en órganos.....	40
1.3.c. Liberación citokinas.....	43
1.3.d. Activación Leucocitos.....	44

1.4. Efecto de la activación de los leucocitos sobre el sistema inmune...	45
1.5. Efectos clínicos de la activación de los leucocitos.....	48
1.6. Filtros desleucocitarios.....	52
1.6.a. Historia.....	52
1.6.b. Clases.....	57
1.6.b.1. Leucodeplección durante el bypass aortocoronario.....	60
1.6.b.2. Métodos alternativos de Leucodeplección Sistémica.....	63
1.6.b.3. Leucodeplección de la cardioplegia	66
1.6.b.4. Posición de los Filtros de Leucodeplección durante la cardioplegia.....	73
1.6.c. Ventajas y desventajas.....	77
1.6.d. Síntesis de trabajos.....	85
2. <u>HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVO</u>	87
3. <u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>	90
2.1. Población de Estudio.....	91
2.2. Diseño de estudio.....	93

2.3. Anestesia, cirugía y procedimientos postquirúrgicos.....	93
2.4. Variables objetivos.....	94
2.5. Variables de confusión.....	97
2.6. Análisis estadístico.....	98
4. <u>RESULTADOS</u>	99
3.1. Resultados generales.....	100
3.2. Función Cardíaca.....	102
3.3. Función Pulmonar.....	103
3.4. Infecciones perioperatorias, fiebre y estado hiperdinámico.....	104
3.5. Contaje de células sanguíneas.....	105
3.6. Sangrado y Transfusión de hemoderivados.....	112
3.7. Estancia en UCI.....	116
5. <u>DISCUSIÓN</u>	117
6. <u>LIMITACIONES</u>	123
7. <u>CONCLUSIONES</u>	125
8. <u>RESUMEN</u>	127
9. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	131

LISTADO DE ABREVIATURAS Y SIGLAS:

AB: Antibiótico.

ACD/CPD: Soluciones conservadoras-anticoagulantes de sangre. (*Acid-Citrate-Dextrose/Citrate-Phosphate-Dextrose*).

ADA: Arteria coronaria descendente anterior.

APACHE: Acute Physiologic Score and Chronic Health Evaluation.

BCIA: Balón de contrapulsación intraaórtico.

CaO₂: Contenido arterial de oxígeno.

CABG: Injerto bypass de arteria coronaria. (*Coronary artery bypass grafting*).

CCV: Cirugía cardiovascular.

CEC: Circulación extracorpórea.

CH: Concentrado de hematíes.

CIA: Comunicación interauricular.

CO: Gasto cardíaco. (*Cardiac output*)

DE: Desviación estándar.

DO₂: Transporte de oxígeno. (*Delivery oxigen*)

2,3-DPG: 2,3 Difosfoglicerato.

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

FE: Fracción de eyección.

FR: Frecuencia respiratoria.

Hb: Hemoglobina.

HTA: Hipertensión arterial.

IAM: Infarto agudo de miocardio.

IC: Intervalo de confianza.

FDCEC: Filtro desleucocitario

IL: Interleukina.

ITU: Infección del tracto urinario.

NAV: Neumonía asociada a ventilador.

NN: Neumonía nosocomial.

NK: Célula asesina (*Natural killer*).

NYHA: Clasificación funcional de New York Heart Association.

POMI: Infarto de miocardio perioperatorio (*Perioperative myocardial infarction*).

PO₂: Presión parcial de oxígeno.

RBC: Células rojas sanguíneas (*Red blood cells*).

RCT: Estudio aleatorio controlado (*Randomized controlled trial*).

RR: Riesgo relativo.

SNC: Sistema Nervioso Central.

TCH: Transfusión de Concentrado de Hematíes.

TP: Tiempo de protrombina.

TPTA: Tiempo de tromboplastina parcial activada.

TRIM: Inmunomodulación asociada a transfusión (*transfusion-associated immunomodulation*).

TVM: Tiempo de ventilación mecánica.

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos.

VM: Ventilación mecánica.

VO₂: Consumo de oxígeno.

1

INTRODUCCIÓN

1.1. Transfusiones Sanguíneas en Cirugía Cardíaca

Las transfusiones sanguíneas constituyen una terapia habitual en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI).

A pesar de los importantes avances en los últimos años de las técnicas de cirugía cardíaca, hoy en día siguen siendo unas de las intervenciones más cruentas, que inevitablemente llevan implícitas ciertas pérdidas sanguíneas. Éstas, llevan en muchos casos, a la necesidad del uso de hemoderivados.

Los datos estadísticos hablan de más de medio millón de intervenciones anuales en todo el mundo. Sin duda, este gran número de operaciones da lugar a un gran consumo de hemoderivados, ya que este colectivo de pacientes es frecuentemente transfundido, sobre todo en el periodo perioperatorio. Se calcula que 3,2 millones de unidades de concentrados de hematíes se consumen anualmente en Estados Unidos sólo en pacientes de revascularización coronaria ¹.

Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca están expuestos a determinados riesgos implícitos que dependen de múltiples factores como la enfermedad de base, estado previo a la cirugía, tipo de cirugía y los inherentes al período postoperatorio. Muchos de estos riesgos son bien conocidos y por tanto valorables a tener en cuenta para aquellos que se puedan prevenir.

Otros, por el contrario, son inesperados o menos conocidos y base de investigaciones clínicas en la actualidad.

1.1.a. Objetivo de la transfusión. Transporte y consumo de oxígeno en cirugía cardíaca.

El objetivo de la transfusión de concentrado de hematíes (TCH), el componente sanguíneo más comúnmente utilizado en medicina, es aumentar la concentración de hemoglobina, de forma que mejore el transporte de oxígeno (DO_2) a los tejidos^{2,3}, aumente el consumo de oxígeno tisular y disminuya, por tanto, el débito tisular de oxígeno. Cuando el transporte de oxígeno se incrementa mediante transfusiones, fluidos ó fármacos, mejora espectacularmente la supervivencia de pacientes quirúrgicos de alto riesgo⁴, puesto que la anemia, sumada a la gravedad del paciente, parecen dos factores condicionantes de una alta mortalidad⁵.

La capacidad de transportar oxígeno de la hemoglobina, o la afinidad por el oxígeno, se representa gráficamente por una relación sinusoidal entre la saturación de hemoglobina y la presión parcial de oxígeno (PO_2). Esta relación, conocida como curva de disociación de la hemoglobina, permite la carga en los pulmones a altas presiones de PO_2 y la descarga en los tejidos a valores bajos de PO_2 . Sin embargo, la afinidad por el oxígeno (el grado al cual la molécula de hemoglobina se satura de oxígeno a una cierta PO_2) puede ser alterada por varios estados patológicos y puede jugar un papel importante en la respuesta a

la anemia. Concretamente, el almacenamiento de los glóbulos rojos puede dar lugar a un desplazamiento a la izquierda de la curva de disociación de la hemoglobina como consecuencia del descenso de los niveles de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), una de las lesiones potencialmente significativas derivadas del almacenamiento.

La cantidad de oxígeno liberado, bien a la totalidad del cuerpo o a órganos específicos, es el producto del flujo sanguíneo y el contenido arterial de oxígeno (CaO_2). Para la superficie corporal total, el transporte de O_2 es el producto del flujo total de sangre (cardiac output, CO) y CaO_2 ³. Así pues, la ecuación es :

$$\text{DO}_2 = \text{CO} \times \text{CaO}_2$$

En términos de CaO_2 más del 99% del oxígeno es transportado por la hemoglobina y el resto se disuelve en el plasma. La despreciable fracción de oxígeno disuelto en el plasma es directamente proporcional a la presión parcial y puede ser calculada multiplicando la PO_2 por una constante ($k = 0.00301$). Así pues, bajo estas circunstancias, CaO_2 puede aproximarse a la porción ligada a la hemoglobina usando la ecuación:

$$\text{CaO}_2 \text{ (ml/l)} = \% \text{ Sat} \times 1.39 \text{ (ml/g)} \times [\text{Hb}] \text{ (g/l)}$$

Si sustituimos CaO_2 desde la ecuación 2 a la 1, entonces:

$$\text{DO}_2 = \text{CO} \times (\% \text{ Sat} \times 1.39 \times [\text{Hb}])$$

Luego, CO = gasto cardíaco en l/min., % Sat = saturación de hemoglobina en %, $[Hb]$ = concentración de hemoglobina en g/L y 1.39 es la constante de la hemoglobina ligada (1.39 ml de oxígeno se ligará a 1 g de hemoglobina cuando esté totalmente saturada).

Desde estas ecuaciones, parece que la hipoxia tisular podría ser causada por descenso del DO_2 , resultante del descenso en la concentración de hemoglobina (anemia hipóxica), gasto cardíaco (anemia hipovolémica), o saturación de hemoglobina (anoxia hipóxica). El transporte de oxígeno tiene reservas fisiológicas, así el cuerpo humano puede adaptarse a aumentos importantes en los requerimientos o descensos en el DO_2 como resultado de ciertas enfermedades ⁶.

En circunstancias normales de salud, la cantidad de oxígeno liberada a la totalidad del cuerpo excede de dos a cuatro veces a los requerimientos ³. Implícitamente, se asume que un aumento de la hemoglobina con la transfusión aumentará el contenido de oxígeno de la sangre, y el transporte del mismo de forma que puede ser utilizado fácilmente por los tejidos. Aunque existe discusión sobre si la transfusión de hematíes aumenta la cantidad de hemoglobina disponible para el transporte de oxígeno, en la práctica raramente se miden los efectos de la transfusión sobre la oxigenación de los tejidos. En efecto, un aumento de la concentración de hemoglobina resultará ser uno de los marcadores de la eficacia de la transfusión más comúnmente utilizados.

Debido a la dificultad que existe para averiguar si la oxigenación de los tejidos es ó no la adecuada, existen pocos estudios que intenten determinar la concentración mínima de hemoglobina que da lugar al desarrollo de hipoxia tisular así como la concentración óptima de hemoglobina en determinadas condiciones clínicas. Tanto estudios clínicos como de laboratorios han intentado determinar el DO_2 (crítico), el nivel de hemoglobina en el cual ocurriría la hipoxia tisular. La mayoría de los estudios clínicos encontraron un valor umbral de 4 ml/min./kg. ⁷, mientras que otros estudios clínicos encontraron valores en el rango de 8 ml/min./kg. ⁸. El DO_2 (crítico), o umbral anaeróbico, es poco probable que sea un simple valor fijo pero variará sustancialmente dependiendo de factores tales como metabolismo basal, tejido u órgano específico, algunos estados de enfermedad y quizás factores complejos tales como edad del paciente o características genéticas. Igualmente, la concentración óptima de hemoglobina resulta un ideal difícil de conseguir a causa de los limitados y contradictorios datos tales como diferencias en el DO_2 que requieren diferentes individuos y enfermedades. La imposibilidad para definir el umbral de transfusión máximo y mínimo, y la imposibilidad para realizar medidas de la oxigenación tisular, quizás han enmascarado los problemas referentes a la seguridad de las unidades de concentrados de hematíes ⁶.

Utilizando un modelo animal para la transfusión, se ha observado una falta de eficacia de la sangre vieja (almacenada) transfundida, para mejorar el

consumo de oxígeno tisular en ratas, comparada con sangre fresca u otros sustitutos sanguíneos^{9,10}.

Queda por aclarar si los efectos observados de la transfusión de sangre antigua, se deben a cambios corpusculares en los glóbulos rojos o asociados a las sustancias biorreactivas en el plasma sobrenadante de los concentrados de hematíes almacenados, o ambos. Además, la magnitud de los efectos y sus consecuencias clínicas han de ser establecidos.

Estudios clínicos que intentan determinar los efectos de la transfusión de glóbulo rojos sobre la cinética del oxígeno no proporcionan respuestas definitivas. La *Tabla 1* resume los estudios clínicos que evalúan el impacto de la transfusión de sangre sobre la cinética del oxígeno. Todos los estudios miden DO_2 y el consumo antes y después de la transfusión de un número prefijado de unidades de hematíes alogénicos. DO_2 aumenta uniformemente, pero se observa que el consumo sólo aumenta en cinco de los estudios.

Así pues, aunque un número de ensayos clínicos hayan intentado definir los niveles óptimos de DO_2 , no existe aún consenso sobre qué pacientes son más probable que se beneficien y qué intervención o método es mejor (fluidos, agentes inotrópicos o combinaciones de éstos)^{11,12}.

Tabla 1: Trabajo que examinan transporte (DO₂) y consumo de oxígeno (VO₂) y lactato antes y después de transfundir concentrados de hemáties. (Adaptada de Hébert (38))

Autor y año de publicación	Población estudiada	Nº Pacientes	Unidades de CH	Hb	DO ₂	VO ₂	Lactato	Comentarios
Ronco et al. ¹³ (1990)	NPC	5	1.5 U	Si	Si	Si	ND	Todos los pacientes tuvieron ↑ de lactato. Se usó termodilución para medir DO ₂ y VO ₂ .
Fenwick et al. ¹⁴ (1990)	SDRA	24	1.5 U	Si Si	Si Si	No No	No Si	El grupo de lactato normal (n=1) con el grupo de lactato alto (n=13). Se usó catéter de termodilución para todas las mediciones. Aumento significativo en VO ₂ en respuesta a la transfusión en el grupo de lactato alto.
Ronco et al. ¹⁵ (1991)	SDRA	17	1.5 U	Si	Si	No	ND	El grupo de lactato normal (n=7) fue comparado con el grupo de lactato normal (n=10). No relación entre el DO ₂ y VO ₂ medido en gases espirados.
Shah et al. ¹⁶ (1982)	Post-trauma	8	1 ó 2 U	Si	Si	Si	ND	Se usó termodilución para medir DO ₂ y VO ₂ .
Steffes et al. ¹⁷ (1991)	Post-cirugía + post-trauma	21	1-2 U	Si	Si	Si	No	27 medidas en 21 pacientes. Se usó termodilución para medir DO ₂ y VO ₂ . Aumento en los niveles de lactato no predijo la respuesta VO ₂ .
Babineau et al. ¹⁸ (1992)	Post-cirugía	31	328±9 ml	Si	Si	No	ND	32 de 33 transfusiones fueron unidades simples. Se usó termodilución para medir DO ₂ y VO ₂ . 58% de las transfusiones no aumentaron VO ₂ .
Gilbert et al. ¹⁹ (1986)	Sépticos	17	20g/l	Si	Si	No	No	33 medidas en 31 pacientes. 10 de 17 pacientes incrementaron los niveles de lactato. VO ₂ solo aumentó en el grupo mayor.
Dietrich et al. ²⁰ (1990)	Shock (séptico/cardíaco)	32	577ml	Si	Si	No	No	36 medidas en 32 pacientes. No cambios en VO ₂ después de la transfusión. Termodilución para medir DO ₂ y VO ₂ .
Conrad et al. ²¹ (1990)	Shock séptico	19	30g/l	Si	Si	No	No	Grupo de lactato normal (n=8) comparado con grupo de lactato alto (n=11). No aumento de VO ₂ con transfusión. Termodilución para medir DO ₂ y VO ₂ .

SDRA: Síndrome de distress respiratorio agudo; NPC: Neumonía por *Pneumocystis carinii*; ↑: aumento; ND: No disponible

Tabla 1. Continuación

Autor y año de publicación	Población estudiada	Nº de pacientes	Unidades de CH	Hb	DO ₂	VO ₂	Lactato	Comentarios
Marick et al. ²² (1993)	Sépticos	23	3 U	Si	Si	No	No	DO ₂ medido independientemente de VO ₂ . Usando tonometría gástrica, los pacientes que sangre vieja desarrollaron evidencia de isquemia gástrica.
Lorente et al. ²³ (1993)	Sépticos	16	2 U	Si	Si	No	ND	Dobutamina aumentó significativamente VO ₂ ; la transfusión no lo hizo.
Mink et al. ²⁴ (1990)	Shock séptico	8	8-10 ml/kg	Si	Si	No	ND	Termodilución para medir DO ₂ y VO ₂ . Pacientes pediátricos. VO ₂ no se aumentó con la transfusión. Termodilución para medir DO ₂ y VO ₂ .
Lucking et al. ²⁵ (1990)	Shock séptico	7	10-15 ml/kg	Si	Si	Si	ND	8 medidas en 7 pacientes. Termodilución para medir DO ₂ y VO ₂ .

SDRA: Síndrome de distress respiratorio agudo; NPC: Neumonía por *Pneumocystis carinii*; ↑: aumento; ND: No disponible

1.1.b. Variabilidad de las transfusiones. Criterios dispares.

Transcendencia.

Millones de unidades de sangre que se transfunden anualmente son destinadas a pacientes quirúrgicos. En la actualidad no se ha establecido un umbral óptimo de hemoglobina en el paciente crítico.

La transfusión de hematíes en cirugía, a pesar de numerosas conferencias de expertos y de consenso, está sujeta a una extensa variabilidad en las prescripciones (*Esquema 1*). En un estudio, realizado entre 18 hospitales universitarios con un total de 540 pacientes, el porcentaje de pacientes transfundidos para cirugía coronaria variaba entre el 17 y 100% según los distintos hospitales²⁶.

Esquema 1: Consenso sobre transfusión intraoperatoria

NIH 1988 (JAMA 1998, 268, 2700-3)

Transfundir si Hb 7-10 (decisión individualizada)

Hto depende volemia

Tópico 10/30 (Hb/Hto)

ACP (American College Physicians) 1992

Valorar síntomas de anemia

ASA (American Society Anesthesiologist) 1996

Hb \leq 6 g/dl \rightarrow transfundir

Hb 6-10 g/dl \rightarrow según riesgo

SFAR (Sociedad Francesa Anestesia y Reanimación) 1994

Hb < 10 g/dl \rightarrow raramente necesaria la transfusión.

Hb < 7 g/dl \rightarrow habitualmente necesaria transfusión.

SFAR (Sociedad Francesa Anestesia y Reanimación) 1997

Hb 7 \rightarrow aceptable ASA I, normovolémico y asintomático

Hb 8 \rightarrow ASA I y II. Pérdidas intraoperatorias < 500 ml

Hb 10 \rightarrow aceptable siempre

SIGN (Scottish Intercollegiate Guidelines Network) 2004

Hb < 7 g/dl \rightarrow transfundir

Hb > 10 g/dl \rightarrow no transfundir

Hb < 9 g/dl \rightarrow transfundir, si paciente de riesgo.

La creencia de que la transfusión de concentrado de hematíes (TCH) es eficaz y relativamente segura, ha conducido a la adopción de criterios liberales de transfusión, con una alta variabilidad entre centros cualificados con respecto al número de unidades transfundidas en pacientes con patología similar²⁷, y con ello a criterios dispares.

Sin embargo, cifras altas de hemoglobina no siempre conducen a un mejor resultado quirúrgico. La elevación de transporte de oxígeno, mediante TCH, a niveles altos puede no mejorar la supervivencia e incluso tener efectos deletéreos¹¹.

Aunque la seguridad de los hemoderivados ha mejorado espectacularmente en los últimos años, la práctica transfusional no está completamente libre de riesgos, siendo algunos de ellos aún desconocidos.

Al efecto que produce la transfusión de sangre alogénica (sangre procedente de donante) sobre el sistema inmune del receptor se le denomina *inmunomodulación inducida por la transfusión (efecto TRIM)*. Estos cambios en el sistema inmune dan lugar a una mayor susceptibilidad para la adquisición de infecciones. Los pacientes críticos son transfundidos con frecuencia y, por tanto, sometidos a efectos inmunomodulatorios que podrían aumentar su morbimortalidad. Esta gran variabilidad en la práctica transfusional podría tener

una trascendencia importante, que un número indeterminado de transfusiones probablemente sean prescritas en exceso ²⁷.

1.1.c. Criterios transfusionales.

El umbral transfusional no debe ser un valor aislado de la concentración de hemoglobina (Hb). Idealmente, la decisión de transfundir debería estar basada en un conjunto de datos clínicos y de laboratorio. Sin embargo, en la práctica, suele basarse en una caída de la Hb por debajo de un umbral transfusional. Clásicamente se consideraba un umbral de 100 g/L, por debajo del cual debía transfundirse. En la actualidad, predomina la idea de que cuando la Hb está entre 70 y 100 g/L, la decisión de transfundir debe tener en cuenta los diferentes factores que mejoran la tolerancia a la anemia, así como la evolución real o potencial del proceso hemorrágico y los medios de vigilancia disponibles.

No existe en la actualidad una cifra ideal por debajo de la cual haya un riesgo importante de deterioro clínico que obligue a transfundir. Sin embargo, de la amplia literatura existente al respecto pueden extraerse varias conclusiones (*Esquema 2*) ²⁸:

Esquema 2: Indicaciones de transfusión.

a.-Transfusión indicada

Pacientes con hemoglobina ≤ 70 g/L

Pacientes con sangrado importante, o sangrado que produce deterioro clínico o hemodinámico.

b.-Transfusión probablemente indicada

Pacientes normovolémicos, con Hb entre 80-100 g/L y que presentan sangrado, y/o deterioro hemodinámico.

c.-Transfusión no indicada

Pacientes no sangrantes, con Hb >100 g/L.

Pacientes con Hb ≥ 80 g/L, no sangrantes, estables clínica y hemodinámicamente.

1.2. Efecto TRIM.

1.2.a. Generalidades

Al efecto que produce la transfusión de sangre alogénica (sangre procedente de donante) sobre el sistema inmune del receptor se le denomina *inmunomodulación inducida por la transfusión (efecto TRIM)*. Estos cambios en el sistema inmune dan lugar a una mayor susceptibilidad para la adquisición de infecciones. Los pacientes críticos son transfundidos con frecuencia y, por tanto, sometidos a efectos inmunomodulatorios que podrían aumentar su morbimortalidad.

1.2.a.1. Descripción de la teoría inmune y de la no inmune

En un intento de explicar los mecanismos por los cuales la sangre transfundida provoca determinados efectos adversos, podemos distinguir entre dos teorías, la primera de las cuales hipotetiza un efecto inmune sobre el receptor de la transfusión (*inmunomodulación*), y la segunda, que considera cambios no relacionados con la inmunidad provocados por la sangre transfundida.

La transfusión de sangre alogénica es un trasplante de células extrañas que causa reacciones inmunológicas en el receptor. En el siglo pasado, el conocimiento de la incompatibilidad de grupos sanguíneos, la detección de los antígenos expresados en la membrana del hematíe, aloanticuerpos y antígenos plaquetarios y leucocitarios, disminuyó considerablemente el número de reacciones transfusionales y sus efectos indeseables ²⁷.

Sólo recientemente, ha sido reconocido que la TCH puede provocar efectos no bien aclarados sobre el sistema inmune del receptor que podrían conducir a un aumento de la tasa de infección en pacientes transfundidos. Los leucocitos del donante, y más probablemente los linfocitos, parecen jugar un papel primordial en estas alteraciones ²⁷. La sospecha de que los linfocitos transfundidos son responsables de los efectos inmunomoduladores de la transfusión viene refrendada por múltiples fuentes. Se ha observado

recientemente, que los linfocitos alogénicos continúan circulando durante más de un año en el torrente circulatorio de pacientes traumatológicos transfundidos, incluso circulan durante años en receptores de órganos trasplantados, conviviendo con los linfocitos del receptor²⁹. Tres posibles caminos pueden seguir los linfocitos transfundidos. Pueden ser secuestrados en el sistema reticuloendotelial y eliminados de la circulación del receptor (equivalente a rechazo). En algunas circunstancias, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos, los linfocitos del donante pueden proliferar y, ya sea directamente o mediante la liberación de citocinas, atacar las células del receptor (enfermedad injerto frente a huésped asociada a transfusión). Por último pueden convivir con los leucocitos del receptor (tolerancia o quimerismo)²⁹. Es probable que este último proceso sea responsable de la *inmunomodulación inducida por la transfusión (efecto TRIM)* ²⁷.

La transfusión de linfocitos y/o las sustancias liberadas durante su almacenamiento en las bolsas de concentrado de hematíes, alteran las citocinas del receptor, conduciendo a una infraregulación de la inmunidad celular y a una supraregulación de la inmunidad humoral. La TCH disminuye la función celular inmune de los monocitos, macrófagos, células T y células asesinas (natural killer cells, NK), infraregulando las células presentadoras de antígenos y la función de las células T ³⁰. Disminuye, además, la relación CD4/CD8 y la producción de Interleukina 2 (IL-2) ³¹. La IL-2 es necesaria para la activación y proliferación de las células B y para la generación de las células

T citotóxicas. Por consiguiente, la disminución de la producción de IL-2 conduce a un descenso en la estimulación de las células B, en la producción de anticuerpos y a un empeoramiento de la actividad de las NK³¹. Esta respuesta celular inmune alterada es el mecanismo propuesto para la alta incidencia de infecciones postoperatorias, recurrencia de tumores resecados quirúrgicamente y para la supervivencia prolongada de los injertos renales²⁷. Por el contrario, la respuesta Th2 favorece la inmunidad humoral, con producción de las citocinas IL-4, IL-5, IL-6 y IL-10^{30,31}. Las citocinas segregadas en el tipo de respuesta Th2 pueden disminuir las funciones de regulación del procesamiento y presentación del antígeno³² que son necesarias en muchos aspectos para la formación de anticuerpos.

Pudieran intervenir otros mecanismos no específicamente humorales (teoría no inmune). La sangre almacenada puede contener mallas de fibrina, plaquetas y leucocitos los cuales se fijarían a la fibronectina plasmática. La fibronectina es una glucoproteína opsónica con un papel en la función macrofágica y de eliminación de partículas no bacterianas. La transfusión de sangre almacenada podría causar una disminución significativa de la fibronectina plasmática y a través de este mecanismo, una alteración de la actividad de los macrófagos²⁷. Los hematíes viejos tienen niveles bajos de 2-3 DPG y de óxido nítrico (un potente vasodilatador). Además pierden sensiblemente su capacidad de deformarse. Estas alteraciones convierten a los glóbulos rojos en rígidos, poco deformables, con alta afinidad por el oxígeno y

con capacidad de favorecer la vasoconstricción tisular, la isquemia y, posiblemente, la infección ³³.

Los cambios en la respuesta inmune, no son específicos de las transfusiones alogénicas. Otros factores como la hemorragia y la extensión del traumatismo pueden producir inmunodepresión por sí mismas, dificultando la evaluación de la influencia de las transfusiones sanguíneas sobre las infecciones bacterianas ³¹.

1.2.b. Cirugía Cardíaca

Los estudios controlados con distribución aleatoria son estudios clínicos prospectivos diseñados para establecer causalidad. En todos los estudios controlados con distribución aleatoria (*randomized controlled trials*: RCT) los pacientes son divididos en dos grupos, dependiendo del tipo de hemoderivado que se les transfunde. El grupo *tratamiento* es transfundido con sangre alogénica. El grupo *control* recibe sangre autóloga (procedente del propio paciente, mediante predonación o reinfusión) ^{34,35}, ó pobre en leucocitos (sangre procedente de donantes y desleucocitada mediante filtración) ^{36,37,38,39,40}. Los investigadores pretendieron comprobar si los pacientes del grupo *tratamiento* tuvieron más efectos deletéreos que los pacientes del grupo *control*, asumiendo que los factores que generan la necesidad de transfusión están presentes y aleatoriamente repartidos, entre ambos grupos ⁴¹.

La mayor parte han sido llevados a cabo en pacientes sometidos a cirugía por cáncer colorectal ^{34,35,37,38,39,40} y solo uno en pacientes sometidos a cirugía cardíaca ³⁶. En dos estudios, el parámetro fundamental fue el pronóstico del cáncer ^{34,37} y el secundario, la tasa de infección. En el resto, fue la infección postoperatoria el principal parámetro estudiado ^{35,36, 38,39,40}.

Los resultados fueron contradictorios, aún teniendo en cuenta las diferencias en el diseño. En la mitad de los estudios, la tasa de infección fue superior en el grupo tratamiento frente al grupo control : 27 frente a 12% ³⁵, 18,3 frente a 0% ³⁸, 23 frente a 2% ³⁹, 44 frente a 16 % ⁴⁰ y en los tres restantes, no se pudo demostrar diferencias significativas entre ambos brazos de tratamiento ^{34,36,37}. Houbiers et al. ³⁷ encontraron una tasa de infección del 36% en pacientes transfundidos con concentrado de hematíes sin capa sobrenadante y del 42% en pacientes transfundidos con sangre desleucocitada (diferencia no significativa). En el estudio de van Watering et al. ³⁶, los resultados fueron similares 23,5 frente a 17,9% (diferencia no significativa). Sin embargo, los días de estancia hospitalaria y la mortalidad fueron superiores en los pacientes transfundidos con sangre alogénica ³⁶.

Varios aspectos asemejan los resultados de los estudios controlados con los de los observacionales. Los investigadores describieron una relación dependiente de la dosis entre el número de unidades transfundidas y la tasa de infección perioperatoria ^{36,37}, y así, cuando se consideró el subgrupo de

pacientes transfundidos con > 3 unidades de sangre, las complicaciones infecciosas fueron significativamente inferiores en los individuos transfundidos con sangre desleucocitada ($p=.04$)³⁶. También, cuando se compararon únicamente sujetos transfundidos con no transfundidos, la tasa de infección fue significativamente superior en el primer grupo^{34,36,37}.

Puesto que los leucocitos presentes en los concentrados de hematíes han sido implicados en la inmunomodulación relacionada con las transfusiones sanguíneas, cabría esperar que la deplección de leucocitos por filtración redujera las complicaciones infecciosas²⁷. De nuevo, los resultados son contradictorios. La leucodeplección no disminuyó la tasa de infección en dos estudios^{36,37}, mientras que, en otros tres sí^{35,38,40}.

Presentan asimismo resultados dispares los dos estudios aleatorios controlados que utilizaron sangre autóloga para transfundir a los sujetos del grupo control. Mientras que, en el primero la tasa de infección fue significativamente inferior en los pacientes transfundidos con sangre autóloga³⁵, en el segundo no hubo diferencia³⁴.

La morbilidad de los pacientes sometidos a cirugía cardíaca está ligada al desarrollo de infección nosocomial postquirúrgica. Neumonía, mediastinitis, bacteriemia y endocarditis sobre válvula protésica son, todas ellas, de alta prevalencia en estos enfermos. Otra causa frecuente de morbilidad en este tipo

de pacientes es la isquemia de órganos vitales, destacando por su trascendencia el infarto miocárdico perioperatorio (POMI) y el pulmón de “bomba”.

Hasta la fecha, tan sólo se han realizado dos RCTs con pacientes sometidos a cirugía cardiovascular, uno realizado por van Watering et al.³⁶ y un segundo realizado por Gott et al.⁴².

En el estudio realizado por van Watering et al.³⁶, el uso de glóbulos rojos leucodepleccionados disminuyó la tasa de infección postoperatoria en un 30% comparada con la observada en pacientes que recibieron transfusión con glóbulos rojos sin *buffy-coat*. Sin embargo, no hubo diferencias en la incidencia de infección postoperatoria entre los receptores de glóbulos rojos que fueron leucodepleccionados mediante filtros antes o después del almacenamiento. En este RCT, se aleatorizaron 914 pacientes programados para cirugía de injerto bypass de arteria coronaria (CABG), cirugía valvular cardíaca, o una combinación de los 2, a uno de los 3 brazos de tratamiento: hematíes depleccionados de *buffy-coat*, hematíes alogénicos depleccionados de *buffy-coat* leucodepleccionados antes del almacenamiento; y hematíes alogénicos depleccionados de *buffy-coat* leucodepleccionados después del almacenamiento. El análisis de intención de tratar comparó la incidencia de infección postoperatoria entre estos tres brazos y no encontró diferencias significativas ($p=.13$); la incidencia de infección postoperatoria fue del 23%,

16,9%, y 17.9%, respectivamente, en cada brazo. Sin embargo, cuando el brazo desleucocitado pre y postalmacenamiento fueron combinados, los receptores de hematíes desprovistos de *buffy-coat* tuvieron una mayor incidencia de infección postoperatoria que los pacientes que recibieron sangre leucodepleccionada y esta diferencia fue marginalmente significativa ($p=.06$).

Los investigadores detectaron un asociación inesperada entre transfusión alogénica conteniendo leucocitos y mortalidad postoperatoria, por otras causas distintas a infección ³⁶. Además , en el análisis del efecto del volumen de sangre infundido entre los 866 pacientes que recibieron transfusión, hubo un subgrupo de 511 pacientes que recibieron 4 unidades o más de glóbulos rojos, y en estos, hubo asociación estadísticamente significativa ($p=.014$) entre mortalidad y transfusión de sangre alogénica conteniendo leucocitos ³⁶. Cuando los receptores de glóbulos rojos desleucocitados antes y después del almacenamiento fueron combinados, la tasa de mortalidad postoperatoria de los receptores de sangre desprovista de *buffy-coat* fue del 12.5%, comparada con el 5.1% para los receptores de sangre desleucocitada y desprovista de *buffy-coat* ($p=.005$) ³⁶. Con estos resultados, concluyeron que si se transfundía 4 ó más unidades de sangre desprovista de *buffy-coat* en cirugía cardíaca, la desleucocitación de las unidades transfundidas suponía un descenso significativo en la mortalidad ³⁶. Sin embargo, reconocieron que estos hallazgos eran nuevos e inesperados, y que la recomendación del uso solo de componentes de sangre desleucocitados en

cirugía cardíaca incrementaría significativamente el costo de la transfusión; estos investigadores comentaron que urgía realizar futuras investigaciones para repetir y corroborar sus hallazgos antes de que tales recomendaciones se hicieran.

En el estudio de Gott et al.⁴², se diseñaron 4 estrategias dirigidas a minimizar los efectos deletéreos de la circulación extracorpórea en 400 pacientes estratificados en alto, medio y bajo riesgo, antes de la cirugía. La transfusión de sangre desleucocitada fue una de las intervenciones estudiadas. La estancia disminuyó en un día ($p=0.05$) sólo en pacientes de bajo riesgo, no encontrándose beneficio en pacientes de riesgo más elevado.

1. 2.b.1. Limitaciones de los estudios descritos.

Los estudios anteriormente comentados aportan información y datos realmente importantes en el campo de la medicina transfusional, despertando un interés por factores que, hasta hace muy poco tiempo resultaban desconocidos, y que podrían tener importantes consecuencias clínicas de llegar a demostrarse su fisiopatología e influencia real sobre la morbimortalidad de los pacientes transfundidos. De tal forma que dejan una puerta abierta a futuras investigaciones, una vez que puedan corregirse las limitaciones observadas, aunque algunas sean imposibles de salvar.

En cuanto a las limitaciones:

1) La principal es el escaso número de estudios tipo RCT que existen hasta el momento, más aún si nos referimos a aquellos realizados en pacientes de cirugía cardíaca.

2) Es imposible, por razones éticas, llevar a cabo un RCT en el cual los pacientes sean asignados aleatoriamente para no recibir transfusión o recibirla. Tampoco para recibir sangre normal vs. desleucocitada, dada la tendencia actual de implantar la desleucocitación universal por la suficiente evidencia de probables efectos beneficiosos de la desleucocitación. Y por último, tampoco sería ético aleatorizar pacientes para recibir sangre almacenada por largos periodos de tiempo versus cortos tiempos de almacenamientos, una vez que se sospecha que la primera opción puede aumentar la morbilidad. Únicamente, se pueden comparar en los RCTs los pacientes randomizados prospectivamente, cuando la necesidad para transfundir surgiría perioperatoriamente para recibir diferentes productos sanguíneos. Idealmente, los productos sanguíneos administrados a los pacientes enrolados en RCTs, deberían diferir en un solo factor, que reflejara un mecanismo biológico preasumido para servir de base al efecto inmunosupresor de la transfusión de sangre alogénica. Si el efecto TRIM se asume que es mediado por los leucocitos alogénicos, deberían compararse receptores de sangre estándar o desleucocitada. Sin embargo, solamente un RCT que investiga la asociación

entre transfusión alogénica y recurrencia del cáncer, ha usado sangre desleucocitada en el grupo de pacientes del brazo control ⁴³.

3) El contexto de “resección de cáncer colorectal” puede ser inapropiado para la detección de efectos deletéreos de TRIM sobre recurrencia del cáncer. Dado que los pacientes con cáncer suelen ser inmunodeprimidos bien por la enfermedad bien por los tratamientos recibidos, esto puede interferir en el supuesto efecto inmunomodulatorio de la transfusión.

4) Los RCTs que investigaron la asociación de transfusión de sangre alogénica con infección postoperatoria fueron sin técnica de “ciego” o “simple ciego” y no se han hecho RCTs “doble-ciego”. Debido a que, el diagnóstico de infección nosocomial es subjetivo, los sesgos de selección suponen un problema importante, y podrían representar una explicación alternativa para los hallazgos de algunos estudios y para explicar las discrepancias entre los RCTs publicados ⁴⁴. Además de los datos de los RCTs disponibles, no presentaron suficiente información sobre la severidad de la enfermedad o de la distribución de los factores de riesgo para infección postoperatoria en el brazo de tratamiento frente al control. En ausencia de esta información, las posibles contribuciones de los sesgos de selección, sesgos de observación, y factores de confusión a los resultados publicados no pueden ser evaluados, y así pues no pueden ser excluidos ⁴⁴.

5) Una posible explicación para las discrepancias entre los 7 RCTs podría ser que el efecto adverso TRIM sea pequeño. Un efecto pequeño podría no ser detectado consistentemente, y su detección podría ser altamente dependiente del tamaño de la muestra y del diseño de cada estudio. Para detectar un 10% de diferencia en el riesgo de infección postoperatoria entre el brazo tratamiento y el control de igual tamaño, tendrían que ser randomizados 3000 pacientes para cada brazo si la tasa de infección global en la población entera del estudio fuera 35% ⁴⁴. Se requeriría una población de estudio de 20000 pacientes si la tasa global de infección fuera aproximadamente 20% y si casi la mitad de los pacientes enrolados en el estudio no recibieran transfusión⁴⁴.

En efecto, es improbable que se realice un RCT definitivo capaz de detectar tal pequeño efecto. Por lo que las investigaciones, deberán realizarse mediante estudios observacionales correctamente diseñados para evitar en lo posible los sesgos e influencia de factores de confusión.

1.2.c. Trascendencia en Cirugía Cardíaca.

Como ya ha sido nombrado previamente, al efecto que produce la transfusión sanguínea sobre el sistema inmune se le denomina inmunomodulación inducida por la transfusión (efecto TRIM), y su trascendencia puede ser importante. Se ha estimado que la mortalidad debida a infección

postoperatoria causada por la inmunomodulación inducida por la transfusión podría exceder a las muertes causadas por los restantes riesgos transfusionales combinados y que las medidas encaminadas a disminuir sus efectos deletéreos podrían reducir entre 6 y 12 billones de dólares los costes, disminuyendo el número de infecciones postoperatorias.

1.3. Efectos de la circulación extracorpórea.

1.3.a. Efectos sistémicos

La circulación extracorpórea (CEC) afecta a casi todos los sistemas orgánicos. Durante la CEC, se produce un daño físico de los elementos celulares como resultado del bombeo de sangre a través del circuito extracorpóreo, de la oxigenación de la misma y de la recuperación de los hematíes en los dispositivos “preservadores de células”. Este traumatismo sufrido por los elementos celulares durante la CEC, en los últimos años ha disminuido, por los motivos que se exponen a continuación. En primer lugar, el bombeo de la sangre, que en los primeros tiempos se realizaba a través de unas bombas con rodillos que producían hemólisis con destrucción significativa de hematíes y que han sido sustituidos por unos dispositivos, como son las bombas centrífugas, que han reducido el traumatismo físico de los eritrocitos. En segundo lugar, por la oxigenación de la sangre, que anteriormente se desarrollaba a través de un oxigenador de burbuja. En este dispositivo, el

contacto directo de las burbujas de oxígeno con los elementos sanguíneos producía hemólisis de los eritrocitos y activación de las plaquetas. Este efecto se ha reducido en gran medida desde el empleo de oxigenadores de membrana, los cuales impiden el contacto físico directo entre la sangre y las burbujas de gas. Y, por último, el contacto físico directo entre la sangre y las burbujas de gas, presente también en los dispositivos “preservadores de células”, donde un catéter drena sangre desde el campo quirúrgico. Estos elementos celulares recuperados tendrían que ser filtrados para quedar libres de detritos y de burbujas antes de retornarlos a la circulación. De esta forma, los dispositivos “preservadores de células”, aplican tensiones físicas importantes a los elementos celulares durante la succión, contribuyendo al traumatismos de los mismos.

Por otra parte, durante la CEC se desarrolla una hemodilución, debida en parte al cebado de la bomba con líquidos no hemáticos, aproximadamente 2,5 litros de cristaloides. La hemodilución con hematocrito entre 20 y 25 permite una entrega suficiente de oxígeno (en presencia de hipotermia) y reduce las necesidades operatorias y postoperatorias de transfusión. Sin embargo, la hemodilución también produce otros cambios fisiológicos, como exponemos a continuación. La presión coloidosmótica cae hasta un 44%, debido sobre todo, a una reducción del 32% en las concentraciones de albúmina. También se produce una caída importante (de 30 a 36%) en la concentración de los factores de la coagulación. En general, esta dilución de

los factores de la coagulación no conlleva problemas de coagulación, y éstos retornan a la normalidad en 48 horas. Inmediatamente, tras el inicio de la CEC, hay una reducción plasmática de los factores de coagulación II, V, VII, IX, X y XIII, debido al efecto derivado de la hemodilución. Por razones no aclaradas, sólo el factor V disminuye más de lo esperado. No obstante, todos los factores, incluido el factor V, permanecen por encima de los valores necesarios para una hemostasia adecuada, aún en pacientes con sangrado excesivo. Generalmente, los niveles de factores se normalizan dentro de las primeras doce horas de finalizada la CEC y el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) se normalizan tras la administración de protamina ²⁸.

Una vez que se inicia la CEC, las superficies del sistema quedan revestidas por una capa adsorbida de proteínas, de 5 a 20 nm de espesor. Esta capa proteica está compuesta, sobre todo, por fibrinógeno. Con el transcurso del tiempo, el fibrinógeno sufre un cambio en su conformación siendo reemplazado por quinínogeno clivado de alto peso molecular. Se sabe que la superficie sintética no es la que interactúa de forma directa con los elementos de la sangre; sino que, es la capa proteica adsorbida la responsable de la interacción con los elementos formes, especialmente con las plaquetas. Éstas son activadas con rapidez, extendiendo los pseudópodos, que se adhieren, se agregan y liberan sus contenido granular (alfa, denso y lisosómico). Además, tanto las características del flujo no laminar en el interior del sistema de la CEC,

cómo el contacto con superficies no biológicas, activan la cascada de la coagulación, lo que promueve la formación de trombos y a su vez la fibrinólisis. Esta activación del sistema fibrinolítico contribuye a la coagulopatía observada tras la CEC. Por otro lado, se piensa que a su vez, el flujo turbulento también puede dar lugar a la activación plaquetaria.

El sistema hemático (el plasma y los elementos formes), está afectado, al menos en parte, por la acción mecánica de la bomba sobre los elementos celulares, por la hemodilución, por la interacción de elementos celulares y no celulares con las superficies no biológicas, por la hipotermia, la fibrinólisis y la anticoagulación. Esto produce disfunción de las plaquetas y de la coagulación, conllevando a una mayor tendencia a la hemorragia. El grado de disfunción y de coagulopatía se ha relacionado a su vez, con la duración de la CEC y con la profundidad de la hipotermia. La CEC afecta tanto al número como a la función plaquetaria. La hemodilución inicial disminuye el recuento plaquetario a valores inferiores al 50% del preoperatorio, pero generalmente, permanece por encima de $100 \times 10^9/L$ durante toda la intervención quirúrgica. De mayor significado es la pérdida progresiva de la función plaquetaria, que se manifiesta minutos después de iniciar la CEC y alarga el tiempo de sangría a valores superiores a veinte minutos. Este se acorta entre 2-4 horas después de finalizada la CEC, sin embargo, el recuento de plaquetas precisa varios días para corregirse. Como ya ha sido comentado, la disfunción plaquetaria parece deberse al

contacto de las plaquetas con la superficie extracorpórea y a la hipotermia profunda y, no tiene por qué ir pareja al recuento plaquetario.

La deficiente neutralización y el rebote del efecto de la heparina se han propuesto como causas de sangrado tras la CEC. También la fibrinólisis que se inicia tras la esternotomía, se ha implicado frecuentemente en el sangrado postoperatorio de estos enfermos y se ha basado en un acortamiento del tiempo de lisis y de la euglobulina, prolongación del TP y TTPA, hipofibrinogenemia y aumento de los productos de degradación de la fibrina.

Por último, los pacientes tratados con ácido acetil salicílico (AAS) antes de la intervención quirúrgica sangran más, precisan más transfusiones sanguíneas y con mayor frecuencia son reintervenidos ²⁸.

1.3.b. Efectos en órganos

La mayoría de los órganos mayores presentan alteración funcional tras la cirugía cardiaca. La isquemia relacionada con los cambios ateroscleróticos puede ser, la causa primaria de disfunción del miocardio, riñones e intestino. Sin embargo, la respuesta inflamatoria sistémica es el principal factor implicado en la lesión pulmonar y, especialmente, en la miocárdica.

La disfunción pulmonar después de la CEC, fue descrita por primera vez en los primeros años de la cirugía cardiaca, y continúa siendo de un interés considerable para los clínicos e investigadores. Aunque las formas extremas de

lesión pulmonar, como es el síndrome de distress respiratorio del adulto son poco frecuentes tras las actuales cirugías cardíacas, los pacientes sufren a menudo disfunción pulmonar en el postoperatorio, manifestada por aumento en el gradiente de oxigenación alveolo-arterial, shunt intrapulmonar, edema pulmonar, compliance pulmonar y resistencia vascular pulmonar. La lesión pulmonar asociada a la CEC es un modelo complicado de disfunción orgánica, donde la lesión de isquemia-reperfusión y endotoxemia son los primeros estímulos inflamatorios. Se ha comprobado cómo, después de la administración de protamina, el conteo de neutrófilos en la arteria pulmonar excede al conteo en la sangre arterial sistémica, sugiriendo que los neutrófilos son secuestrados en el pulmón. En un estudio reciente, se demostró cómo la concentración de neutrófilos en el lavado broncoalveolar era más alta tras la CEC en comparación con el grupo control. Los cambios histológicos observados en pulmones de animales confirman que, el secuestro de neutrófilos ocurre en asociación con el swelling de células endoteliales y pérdida de eritrocitos hacia el espacio alveolar comenzando principalmente, después de la perfusión.

La disfunción miocárdica tras la CEC también ha sido descrita en publicaciones previas. Recientemente, se ha demostrado que la isquemia miocárdica, y los cambios en la estructura miocárdica asociados, tienen un importante componente inflamatorio. Hennein et al.⁴⁵, encontraron que las anomalías en la pared del ventrículo izquierdo estaban asociadas con los

niveles séricos de las citocinas inflamatorias IL-6 e IL-8, las cuales dan lugar a la activación de los neutrófilos. Estos hallazgos son consistentes con estudios posteriores que muestran que, la presencia de neutrófilos activados se correlaciona con la alteración de la función miocárdica. En un estudio reciente, las diferencias transcárdica veno-arterial de IL-6 y de neutrófilos activados revelaron que había producción de citocinas inflamatorias y secuestro de neutrófilos en el miocardio de pacientes sometidos a cirugía de revascularización aortocoronaria.

Por otra parte, es bien conocido que los pacientes bajo CEC experimentan una respuesta inflamatoria mediada por la activación de los leucocitos. Esta respuesta inflamatoria puede ser sistémica, describiéndose como síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). En casos extremos, el SIRS puede incluso comprometer la vida. Los mecanismos que explican los efectos adversos de CEC son muchos y complejos; sin embargo la participación de los leucocitos en los mismos está bien establecida. Se han ensayado diferentes tipos de tratamientos intentando reducir la respuesta inflamatoria, incluyendo la reciente introducción de filtros de leucodepleción utilizados en los circuitos de perfusión, con la intención de disminuir la morbilidad asociada a la misma. El uso de leucodepleción durante procedimientos cardiológico invasivos podría conllevar a una menor respuesta inflamatoria local y a una disminución en los mecanismos inflamatorios

asociadas a la isquemia/reperfusión que se producen como consecuencia de la interrupción de la circulación.

1.3.c. Liberación citokinas

La respuesta inflamatoria sistémica con activación de la cascada molecular, activación celular, acúmulo de líquido intersticial, disfunción orgánica y ocasionalmente fallo sistémico es una consecuencia muy reconocida de la cirugía cardíaca. La respuesta inflamatoria después de la cirugía cardíaca involucra la activación de los componentes sanguíneos y del endotelio, y se piensa que, es el resultado del contacto entre los diferentes componentes sanguíneos celulares y humorales con el material sintético del circuito de la CEC, de la isquemia y reperfusión, y del trauma de la cirugía en sí ^{46,47}. Las respuestas iniciales como son la activación del complemento conduce a su vez, a la activación de leucocitos y de las células endoteliales. Esto produce citokinas y otras moléculas proinflamatorias que conlleva a la activación celular y expresión de las moléculas de adhesión en la superficie de los leucocitos y de las células endoteliales. La interacción entre estos dos grupos de células implica la interrupción de la barrera del endotelio, con edema tisular y fallo orgánico.

1.3.d. Activación Leucocitos

Los leucocitos, y en particular los neutrófilos, son células cruciales en el proceso inflamatorio por su rápida activación y respuesta a la estimulación quimiotáctica. Tras la inducción de la expresión de las moléculas de adhesión en los neutrófilos activados y en las células endoteliales, se produce el secuestro de los neutrófilos dentro de los tejidos. Durante la CEC, se observa una neutropenia inicial seguida de neutropenia postoperatoria. La integrina leucocitaria CD11b/CD18 promueve la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales y también sirven como un indicador precoz de la activación de los neutrófilos. Su expresión está aumentada durante la CEC⁴⁸. Los neutrófilos activados secretan diferentes enzimas, como son la elastasa, la mieloperoxidasa y la lactoferrina, lo cual promueve el daño endotelial y la extravasación de los mismos⁴⁹. La liberación en el plasma de estas enzimas sugiere la activación de los neutrófilos de forma significativa, involucrando degranulación. Se ha observado, cómo los niveles de mieloperoxidasa y lactoferrina plasmática aumentan significativamente durante la CEC^{50,51}.

Las citocinas específicas y los factores estimulantes de colonias estimulan a las células progenitoras de la médula ósea para producir los tres subtipos de granulocitos: neutrófilos, eosinófilos o basófilos. Los eosinófilos y basófilos son producidos y eliminados en una proporción mucho menor que los

neutrófilos. Su modo de activación y su papel en la inflamación aguda sugiere que su relevancia es limitada.

1.4. Efecto de la activación de los leucocitos sobre el sistema inmune.

Tras la estimulación de la médula ósea, los neutrófilos comienzan a ser protagonistas en la defensa del huésped con una vida media de 7-10 horas en la circulación. Se produce la activación y migración de los mismos hacia los tejidos lesionados o áreas de invasión bacteriana con el propósito de proteger al huésped. Los neutrófilos son atraídos al lugar de la inflamación por factores quimiotácticos específicos. La estimulación de los receptores de los neutrófilos por estos factores conduce al movimiento de éstos por modificación de diferentes proteínas intracelulares.

Los estímulos que conllevan a la generación de los factores quimiotácticos son la liberación de polisacáridos bacterianos, la activación del complemento, activación plasmina y la activación del factor XII (factor Hageman) del sistema plaquetario y del sistema quinina-kallicreina. Determinados agentes quimiotácticos son producidos a su vez, por una variedad de leucocitos activados, macrófagos y células endoteliales. Los componentes del sistema de la cascada del complemento y la IL-8 son algunos de los más potentes quimioatrayentes de neutrófilos⁵².

En adición a la Quimiotaxis , las citokinas inflamatorias en la superficie de los neutrófilos da lugar a unas reacciones enzimáticas provocando la activación del neutrófilo. Los neutrófilos así activados interaccionan con las células endoteliales en una cascada de adhesión, favoreciendo la entrada del neutrófilo hacia el tejido. El paso inicial en el proceso de extravasación y migración de los neutrófilos hacia el espacio subendotelial es el rodamiento de los mismos al endotelio vascular bajo un flujo hidrodinámico. El rodamiento es mediado por glicoproteínas llamadas selectinas, la primera secuencia de las cuales fue descrita por primera vez en 1989 ⁵³. Las selectinas comprende un grupo de tres moléculas que están relacionadas en estructura y en función: L-selectina, E-selectina y P-selectina. La L-selectina es expresada en la mayoría de los leucocitos mientras que la E-selectina es expresada en el endotelio y la P-selectina en el endotelio y las plaquetas. El rodamiento de neutrófilos activados hacia el endotelio conlleva una firme adhesión que es regulado por los receptores de superficies llamados integrinas.

Las integrinas comprende el más largo grupo de receptores de adhesión y son encontrados en la mayorías de las células, incluidas los leucocitos. Son proteínas transmembrana de la superficie celular que responde a la señal de la activación celular y median su fusión en la adhesión. Cada integrina contiene un canal α y β no covalente con una estructura característica. La integrina más frecuentemente expresada es la β 1-class, también conocida como very late antigens (VLA). Sin embargo, para un estudio de respuesta inflamatoria

sistémica aguda, las de mayor importancia son las $\beta 2$ integrinas. Éstas son expresadas exclusivamente en la superficie del leucocitos y pueden ser estimuladas desde minutos a horas. La integrina $\alpha M\beta 2$ (también llamada Mac-1 o CD11b/CD18), en particular, juega un papel crucial en la activación y extravasación leucocitaria⁵⁴.

Tras la activación leucocitaria, el rodamiento en el endotelio por medio de la expresión de selectina y la adhesión con el endotelio por medio de las integrinas, ocurre la migración hacia el tejido, degranulación y fagocitosis. Una vez adheridos, los neutrófilos segregan proteasas como la elastasa y metaloproteinasa, y generan radicales libres contribuyendo al daño del endotelio⁵⁵. Los neutrófilos que cruzan el endotelio y entran en el tejido subendotelial no retornan a la circulación. Su supervivencia en el tejido es prolongada durante el proceso inflamatorio bajo la influencia de ciertas citokinas, actuando como agentes lesivos. Esta alta regulación puede conllevar a un peligro para el tejido más que una protección, ya que a pesar de su fuerte potencial antibactericida, los neutrófilos tienen poca capacidad para distinguir entre agentes extraños y propios.

Tras la extravasación, los productos tóxicos generados por los neutrófilos pueden destruir las células normales e involucrar al tejido conectivo⁴⁹. Esta exagerada respuesta inflamatoria puede ser local o sistémica y puede variar desde una forma clínicamente indetectable a fatal.

1.5. Efectos clínicos de la activación de los leucocitos.

Recientemente, ha aumentado el interés, actualmente bien establecido, entre la asociación de la cirugía cardíaca y la respuesta inflamatoria sistémica. Diferentes insultos inflamatorios ocurren durante la cirugía cardíaca entre ellos, el contacto de los componentes sanguíneos humorales y celulares con un material artificial del circuito de CEC, el fenómeno de isquemia/reperfusion, la liberación de endotoxina bacteriana y el trauma quirúrgico en sí. La relativa contribución de estos factores en la respuesta inflamatoria está aún discutida. La disfunción de órganos mayores asociado a la cirugía cardíaca ha sido bien descrita en la literatura y su origen puede ser infecciosa o relacionada con la enfermedad ateromatosa, pero a menudo puede estar exacerbada por los procesos inflamatorios⁵⁶. En este contexto, los neutrófilos juegan un papel crucial.

Durante la cirugía cardíaca se observa una neutropenia inicial seguida de movilización rápida de neutrófilos desde la médula, con leucocitosis posteriormente⁵⁷. Simultáneamente, los leucocitos comienzan a ser activados a través de los mecanismos de complemento relacionados y no relacionados. La activación de los neutrófilos incluyen secreción de citokinas, “estallido respiratorio”, aumento de la adhesión al endotelio y generación de metabolitos tóxicos durante el período intra y/o postoperatorio. Estos neutrófilos activados producen cambios inflamatorios sistémicos durante la cirugía mientras, un estímulo postoperatorio como la isquemia tisular o la

infección conducen a su última activación. Se sabe que el riesgo de daño tisular relacionado con los neutrófilos primarios es más alto aproximadamente a las 12 horas tras la CEC^{58,59}.

Una vez los neutrófilos están activados aumentan su capacidad de adhesión. Así podemos observar cómo la integrina CD11b/CD18 alcanza su pico de expresión a las 4 horas del postoperatorio. En contraste, la β 1 integrina (VLA) no se modifica tras la cirugía cardíaca^{60,61}.

En términos generales, la inflamación es una reacción inespecífica de los tejidos vascularizados tras una variedad de estímulos lesionales. El proceso inflamatorio involucra la generación y activación de un complejo que incluye tanto al sistema celular como al molecular. El conocimiento de los mecanismos que regulan la inflamación ha mejorado significativamente en los últimos años. De esta forma, se sabe cómo los leucocitos a pesar de ser un elemento crucial en la lucha contra los microorganismos, son también responsables de algunos efectos adversos asociados con la inflamación sistémica⁶².

El número de leucocitos en un adulto varía entre 4 a $10 \times 10^9/l$. La población de leucocitos está compuesta por los siguientes elementos: neutrofilos (40-75%), linfocitos (20-50%), monocitos (2-10%), eosinófilos (1-6%) y basófilos (<1%). Cada uno de ellos está involucrado en cierto grado en el proceso inflamatorio.

Los leucocitos activados han sido implicados en el sangrado no quirúrgico, en la infección postoperatoria y en la disfunción pulmonar y cardíaca. Algunos estudios han demostrado el valor de la reducción de leucocitos, mientras otros han fracasado en la demostración de cualquier efecto aparente en el nivel de leucocitos circulantes, respuesta fisiológica o resultados clínicos⁶³. La leucodeplección ha demostrado que mejora la función respiratoria en pacientes con CEC⁶⁴, que disminuye la lesión del miocardio⁶⁵ y que reduce los requerimientos de hemoderivados⁶⁶, la estancia hospitalaria y los costes en pacientes de bajo riesgo⁶⁷. Sin embargo, otros estudios no han demostrado una mejora de la función pulmonar^{68,69}, de la disfunción hemostática⁶⁹ y de los resultados clínicos⁷⁰, incluyendo la estancia hospitalaria.

En la lesión orgánica asociada a CEC, cómo ya se ha comentado previamente, los neutrófilos parecen jugar un importante papel. Después de la administración de protamina, el conteo de neutrófilos en la arteria pulmonar excede al conteo en la sangre arterial sistémica, sugiriendo que los neutrófilos son secuestrados en los pulmones, dando lugar a la lesión de los mismos^{71,72}.

La importancia de la activación de leucocitos en la lesión pulmonar inducida por la CEC se demostraba por el hallazgo de la pentoxifylina, un inhibidor de la activación de leucocitos, que reducía la disfunción pulmonar en pacientes sometidos a cirugía cardíaca⁷³. Similarmente, la depleción de leucocitos con un filtro arterial mostró que atenuaba la lesión pulmonar después

de la CEC tanto en estudios humanos como con animales^{74,75}. Otros estudios han demostrado que la inhibición de metaloproteinasas⁷⁶ ó elastasa⁷⁷ reducía la lesión pulmonar en animales que experimentaron CEC. Además, es probable que los mecanismos de lesión pulmonar aguda mediado por los neutrófilos involucre una estimulación de $\alpha M\beta 2$ (CD11b/CD18), ya que ha sido demostrado en un estudio con animales que la disfunción pulmonar tras CEC era reducida cuando se éstos recibían tratamiento con el inhibidor de $\alpha M\beta 2$, el NPC 15669⁷⁸ o con el anticuerpo monoclonal anti-CD18⁷⁹. En conclusión, la activación de los neutrófilos con estimulación de moléculas de adhesión, la adhesión de neutrófilos al endotelio de los vasos pulmonares y el daño endotelial a través de la liberación de proteasas parecen ser los principales pasos en el mecanismo fisiopatológico de base.

Por otra parte, hay evidencia reciente que sugiere que la isquemia miocárdica y los cambios en la función y estructura del corazón tienen un componente inflamatorio importante. En un reciente estudio, diferencias venoarterial transcardiaca de IL-6 y de activación de neutrófilos revelaron que había producción de citokinas inflamatorias miocárdicas y secuestro de neutrófilos en el miocardio de pacientes que sufrieron CEC⁸⁰. En estudios llevado a cabo con cerdos, se demostró que la depleción de leucocitos durante CEC presentaba mejor preservación de la función ventricular izquierda⁸¹. En consonancia con estos hallazgos, posteriormente Hennein et al. demostraron

que las anomalías de la pared del ventrículo izquierdo en el postoperatorio se asociaban con los niveles séricos de IL-8 y IL-6 ⁴⁵.

Ante estos hallazgos, diferentes tratamientos han sido investigados y aplicados en un esfuerzo para minimizar los efectos deletéreos de la respuesta inflamatoria. Entre otros, se incluye el uso de inhibidores de proteasas, la modificación de biomaterial de superficies de la máquina corazón-pulmón para aumentar la biocompatibilidad y el uso de leucodeplección durante la cirugía cardíaca. El uso de la leucodeplección ha sido y continúa siendo extensamente investigado, con un considerable cuerpo de evidencia, actualmente soportada en numerosos campos médicos que se extienden a la cirugía cardíaca y la cardiología para el SIRS/sepsis, entre otros⁶².

1.6. Filtros desleucocitarios

1.6.a. Historia.

El concepto de filtración para la eliminación de leucocitos de la sangre viene de muchos años atrás. En 1928, Alexander Fleming describió una técnica de laboratorio para eliminar los leucocitos de pequeñas cantidades de sangre usando material de algodón hidrófilo ⁸². En 1962, se investigaba el efecto del uso de los diferentes tipos de fibras en la eliminación de las células, demostrándose que la utilización de fibras de Nylon, en este tiempo, era el

método más eficaz para la eliminación de granulocitos de la sangre heparinizada⁸³. En 1972, se introdujo el primer filtro comercializado para la depleción de leucocitos en los concentrados de hematíes. Este filtro estaba formado por una columna hermética de algodón hidrófilo y esterilizado.

Con la comercialización del primer filtro, se llevó a cabo un tipo de filtración denominada filtración profunda. Los filtros profundos estaban contruidos de un material rígido, hermético y fibroso⁸⁴, resultando en una estructura con una amplia distribución en los tamaños de los poros a través de toda la longitud del filtro. Las partículas eran retenidas dentro del filtro por un mecanismo de cribaje o adhesión.

Los filtros de leucodepleción modernos están contruidos, por lo general, de una estructura rígida que contiene material sintético, específicamente diseñada para la retención de leucocitos. Las características del flujo de sangre del filtro son diseñadas para asegurar que la sangre pase a través del complejo, recibiendo el máximo contacto con el filtro. Esto, se realiza mediante computadoras que evalúan completa y perfectamente el flujo de sangre proporcionado a través de cada complejo antes de la producción completa.

Otra consideración durante la fase de diseño, es la disponibilidad para eliminar efectivamente todo el aire del complejo, permitiendo la eficacia del sistema.

Los filtros de leucodeplección pueden presentar diferentes mecanismos para la eliminación mecánica de las partículas. Éstas pueden ser interceptadas y atrapadas por pequeños poros formados entre un número de fibras, ó atrapadas en el área dónde dos fibras se cruzan, ó al final de fibras individuales, dentro del filtro.

Por otro lado, la depleción de leucocitos depende también de las propiedades físicas de la sangre que comienza a ser filtrada, debido en parte, a la interacción célula-célula^{85,86,87,88}, a la temperatura sanguínea^{86,89,90}, y al tiempo transcurrido desde la donación sanguínea^{91,92,93}. Además, hay que añadir que esta eliminación de los leucocitos de la sangre mediante filtración, puede tener lugar de forma transitoria o permanente, ya que, las partículas atrapadas pueden separarse y salir fuera del filtro⁹⁴.

La adhesión de las células a la superficie del filtro está influenciada por diversos factores. En primer lugar, por la capacidad del filtro para la adhesión en sí. En segundo lugar, por el efecto de las fuerzas mecánicas, como son la gravedad ó el flujo de sangre, por dónde circulan las células para comenzar el contacto con la superficie de las fibras que están disponibles para adherirse. Y

por último, por la superficie de carga del material de la fibra, que también juega un papel en la atracción de leucocitos hacia la superficie de la fibra. La selección de los diferentes tipos de fibras, con respecto a la carga, características químicas e hidrofília de la superficie juega un papel importante en el contaje de la leucodeplección^{95,96}.

La elección del material de fibra para la depleción de leucocitos dependerá de las propiedades fisicoquímicas de las fibras: de la carga, de la humedad y de la características químicas de su superficie. En el desarrollo de nuevas fibras no es fácil establecer el efecto de cambiar una propiedad individual en la eficacia de la leucodepleción, debido a que, en primer lugar, el cambio en las características químicas de la superficie puede también conducir a cambios en la humedad de las fibras e incluso en la carga de la superficie presente en la interfase fibra-sangre, incluso todos estos cambios pueden a su vez alterar las propiedades de las fibras en la leucodepleción.

El efecto de la carga de superficie en el depósito de las células en la superficie de la fibra dependerá de la energía de barrera inducida por las interacciones electroestática y de las fuerzas de London-van der Waals. Habitualmente, los leucocitos tienen una superficie de carga negativa, y se ha postulado que la eficacia de la leucodepleción del filtro se encuentra reducida cuando la carga de superficie de las fibras es más negativa. Se ha demostrado⁹⁷, cómo con la cobertura de la superficie de las fibras con dietil-

amino-etil-metacrilato (DEAEMA) se incrementan las cargas positivas en las fibras de manera suficiente para causar la adhesión de los leucocitos. La concentración óptima de DEAEMA para eliminar leucocitos es del 5%; ya que, incrementando dicha concentración, se conduce además de a la adhesión de los leucocitos, a la adhesión de plaquetas, en dicha superficie.

La hidrofília o humedad de la superficie de fibra, resulta de la interacción entre las fuerzas de la misma y el líquido. Las fibras sintéticas tienen una tensión de superficie menor que la sangre. Cuando la tensión de superficie de la fibra es sustancialmente más baja que la del fluido ocurre el trasvase de la sangre a través de la superficie, dando lugar a una inadecuada humidificación de la misma, con disminución del contacto y subsecuentemente de la adhesión de los leucocitos a la superficie de la misma. De esta forma, para que la filtración sea óptima, es necesario que la superficie total de las fibras esté expuesta a la sangre. Aumentando la hidrofília del material de fibra para implementar el contacto eficiente del complejo, se asegura que todo el aire sea completamente evacuado. Las burbujas de aire residual conducirán a una distribución del flujo de sangre a través del complejo durante la filtración, reduciendo la eficacia en la eliminación de las células. Aunque la superficie hidrofóbica también permite la adhesión^{98,99}, se ha demostrado cómo la superficie hidrofílica muestra una mejor adhesión para los leucocitos^{96,100},

1.6.b. Clases

Se han desarrollado filtros de leucodeplección para aplicaciones específicas, como son, la reinfusión de sangre autóloga ó durante la cardioplegia. Posteriormente, se ha comprobado cómo incluso para el contaje de leucodeplección se requiere variaciones específicas de una aplicación a otra. Estas variaciones son alcanzadas modificando las fuerzas físicas o biológicas, afectando de esa manera la retención de los leucocitos dentro de cada tipo de filtro, cómo ha sido descrito en el apartado anterior.

Los filtros de leucodeplección pueden ser divididos en 2 tipos. El primer tipo utiliza un sistema de poros para la eliminación de los leucocitos, mientras que el segundo usa fibra tecnológica para la eliminación de los mismos.

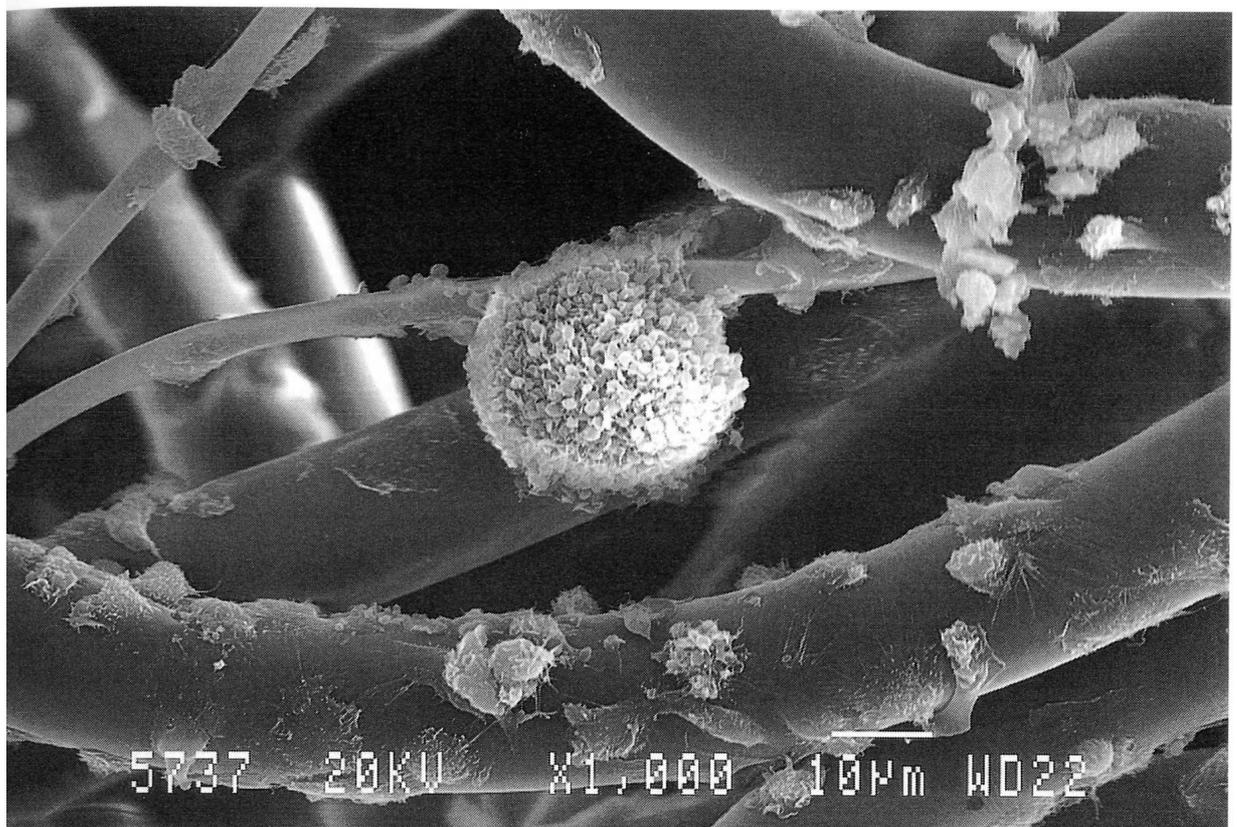
Se ha demostrado cómo se modifica la eficacia de los filtros en la eliminación de leucocitos según las formas de los poros, tras observarse una relación lineal entre el espesor de los poros y el índice de reducción de leucocitos¹⁰¹. Además, también se ha comprobado cómo la deformabilidad de los diferentes componentes de la sangre puede jugar un papel importante en su atrapamiento y subsecuente evacuación del lugar de captura dentro del sistema de poros. Esto sugiere que, la diferencia en la deformabilidad entre leucocitos y eritrocitos puede ser una razón mayor para la eliminación selectiva de leucocitos con el material poroso. Además, este tipo de filtro ha mostrado

ser más eficiente cuando la temperatura de la sangre se reduce, lo cual apoya el argumento de que la deformabilidad celular juega un papel mayor en la depleción de leucocitos asociados con este tipo de filtro. Cuando se añade nitrato sódico para disminuir el metabolismo de los leucocitos, la eliminación de éstos se incrementa, sugiriendo que los leucocitos se comportan como partícula no biológica en este tipo de filtro.

El mecanismo de la eliminación de los leucocitos con el otro tipo, el filtro de fibra tecnológica, también ha mostrado tener una relación lineal con el espesor del tejido, ya que modificando el diámetro medio de la fibra contenida dentro del filtro y manteniendo la misma densidad del compartimento de fibra, puede variar el porcentaje de leucocitos eliminados. Así se ha demostrado¹⁰², cómo reduciendo el diámetro medio de la fibra de 1.7 a 1.2 μm , la leucodeplección se dobla. Figura1.

Cuando el metabolismo de leucocitos se disminuye por la adicción de nitrato sódico, el índice de eliminación de éstos también descende, sugiriendo que hay un elemento de la adhesión celular activa cuándo se utiliza fibras para la leucodeplección.

Figura 1. Esta imagen tomada mediante microscopía electrónica (x1000), muestra un leucocito adherido a la superficie de la fibra en el punto de cruce entre dos fibras.



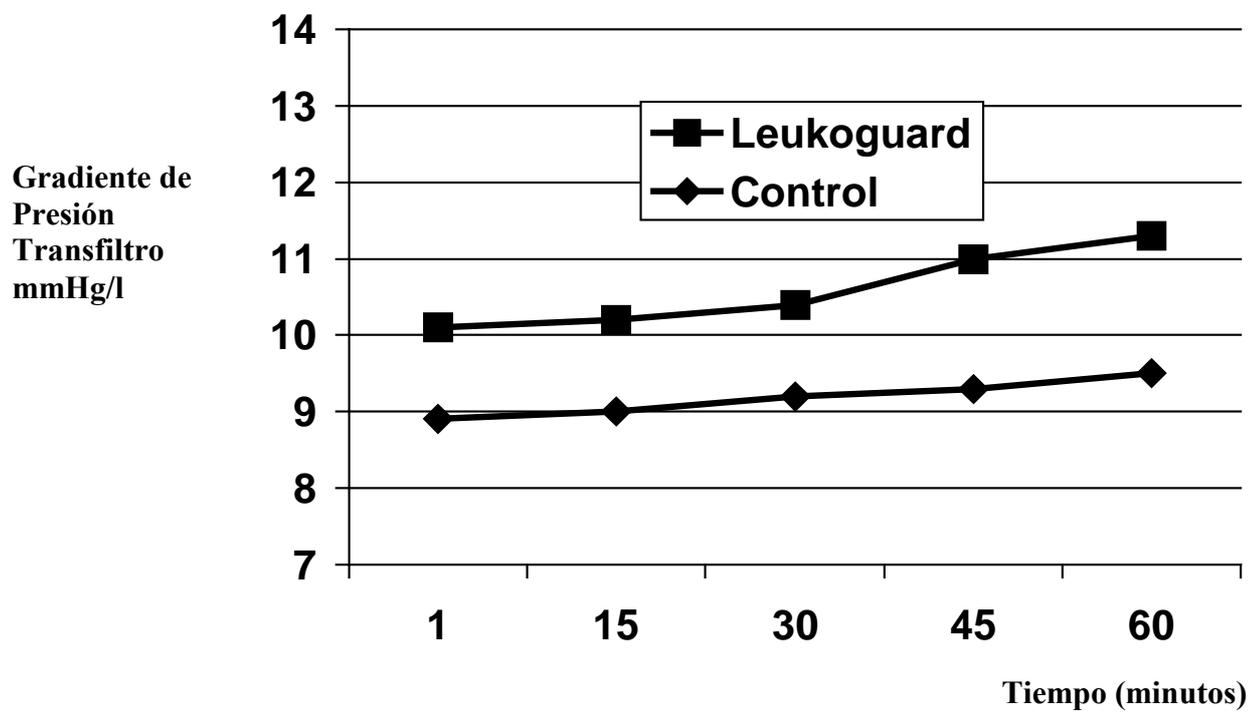
1.6.b.1. Leucodeplección durante el bypass aortocoronario.

El primer filtro para la eliminación de leucocitos de la línea arterial del circuito de extracorpórea fue el leukoguard LG6 (Pall Biomedical, New York, N.Y, USA), introducido en 1992. Éste, era un tipo de filtro de línea arterial modificado que combinaba un filtro de poliéster de 40 μm con una fibra de superficie modificada para la eliminación específica de leucocitos. Estudios previos de laboratorios usando sangre bovina demostraron que, este filtro tenía un buen atrapamiento de aire, similar al de los filtros de no leucodeplección en ese tiempo¹⁰³. La depleción de plaquetas, el gradiente de presión transfiltro y el trauma celular causado por el filtro eran similares a otros modelos disponibles. Usando técnicas de conteo manual se ha medido la eficacia en la eliminación de leucocitos, demostrando cómo en 90 minutos el filtro eliminaba el 50% del total de leucocitos y alcanzaba un 70% en la reducción de neutrófilos. El mismo grupo demostró que, el filtro era equitativo cuando la sangre se transportaba usando tanto flujo continuo cómo pulsátil¹⁰⁴. Posteriormente, se demostró en sangre humana que también producía una depleción significativa de neutrófilos¹⁰⁵. Usando anticuerpos monoclonales asociados a leucocitos para medir la expresión de los antígenos de neutrófilos activados, el mismo grupo postuló que, el filtro de leucodeplección eliminaba neutrófilos activados de manera selectiva aunque, en las mediciones clínicas, no hubo reducción significativa en el conteo total de leucocitos¹⁰⁶. Esto soportaba el concepto de que, el filtro preferentemente eliminaba neutrófilos activados.

El gradiente de presión transfiltro fue medido y se observó que éste era ligeramente mayor que en el grupo de filtro convencional ¹⁰⁷, cómo era de esperar, debido a la presencia de un paquete de fibra adicional. A pesar de que el gradiente de presión medido era más alto, no fue clínicamente significativo en ninguno de los flujos investigados.

Aunque la caída de presión aumentaba con la duración de la circulación extracorpórea en ambos tipos de filtros (convencional y desleucocitario), este incremento del gradiente de presión transfiltro era significativamente mayor después de 30 minutos de la circulación extracorpórea en el grupo de filtro de leucodeplección (figura 2), el cual podía ser debido al acúmulo de leucocitos en las fibras dentro del filtro, afectando al flujo sanguíneo a través del complejo.

Figura 2. Cambios del gradiente de presión a través del filtro leukoguard LG6 durante la circulación extracorpórea.



Se ha demostrado que, tanto los leucocitos totales, como los activados aumentan significativamente tras el desclampaje ¹⁰⁸.

Hay conflictos sobre el beneficio de la leucodeplección en humanos. La mayor evidencia se detectó en animales, lo cual no se ha reflejado en los estudios clínicos realizados. Sin embargo, dichos estudios se realizaron con muestras pequeñas de pacientes, con lo que la capacidad para detectar diferencias en las principales variables medidas, era muy escasa (0.3) ¹⁰⁹.

1.6.b.2. Métodos alternativos de Leucodeplección Sistémica

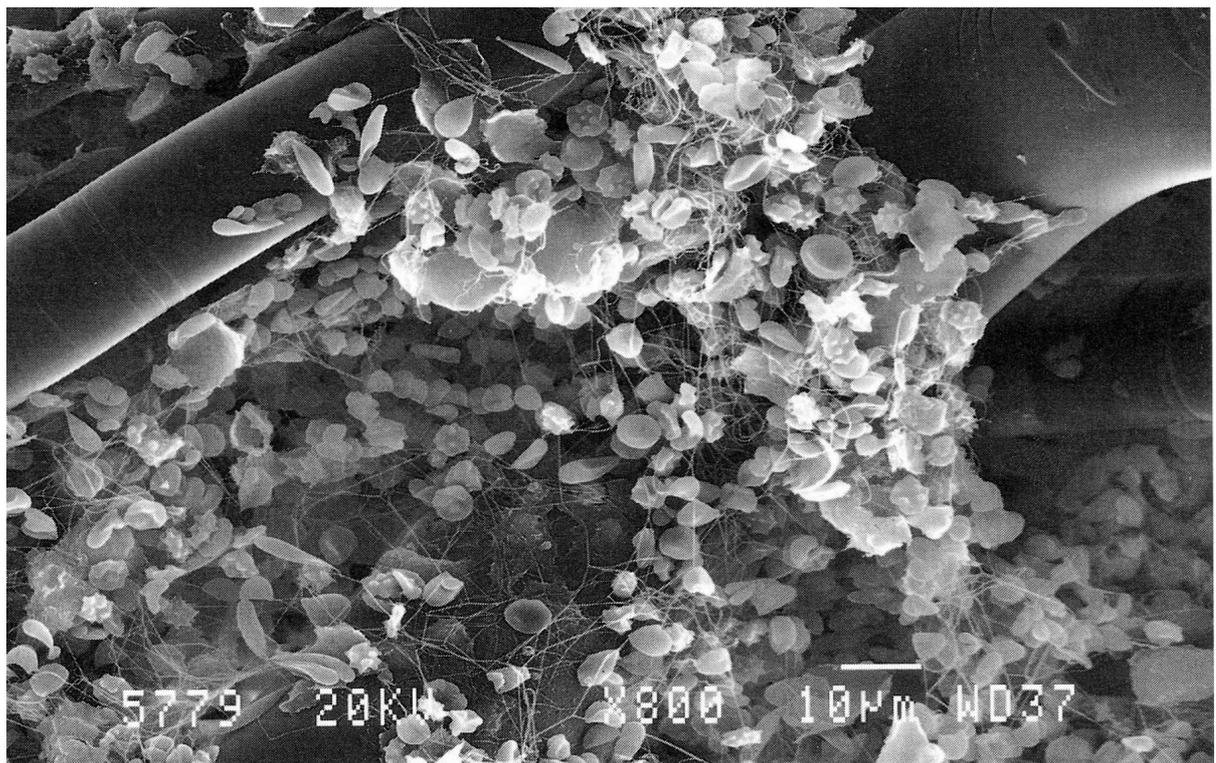
Más recientemente, se ha descrito diferentes métodos para aplicar leucodeplección. En primer lugar, un método de leucodeplección en la línea venosa ¹¹⁰. Para esta técnica, se inserta en el circuito de extracorpórea, un tubo adicional conteniendo 2 filtros de leucodeplección (J1647, Pall Corporation), entre la línea venosa y el reservorio de cardiotorax. Una sección de carga se colocaba en el rodillo de la bomba y la sangre comenzaba a circular a través del filtro a un flujo de 400 ml/min durante 10 minutos, consiguiéndose un filtrado con un volumen de 2000 ml por filtro y un volumen total de 4000 ml de perfusión. La filtración comenzaba después del recalentamiento sistémico pero, antes de la retirada del clampaje aórtico. Usando esta técnica, se conseguía una reducción del 38% en el total del número de neutrófilos circulante, en el momento de eliminar el clampaje.

En segundo lugar, se ha descrito una técnica alternativa para la leucodeplección en el lado arterial ¹¹¹. Durante la misma, el filtro de leucodeplección en el lado arterial actúa en paralelo con un filtro convencional. La leucodeplección es empleada justo antes de retirar el clampaje aórtico y continua durante los primeros 15 minutos de reperfusión, denominándose “estrategia de leucodeplección”. Clínicamente, esta técnica ha mostrado niveles más bajo de troponina T en el grupo de leucodeplección, indicando una reducción del daño miocárdico.

A pesar de las ventajas que aportan los métodos de leucodeplección alternativos descritos previamente, es necesario desarrollar nuevas estrategias para conseguir una incidencia menor de oclusiones de estos filtros. Este fenómeno de oclusión de filtro, puede ser similar al que se observa con el uso de las membranas de oxigenación durante la CEC. Aunque la causa de este problema ha sido ampliamente descrita, la literatura actual ¹¹² sugiere que hay un pequeño número de pacientes que tienen algunas formas de actividad pro-coagulante en CEC. Esto puede conducir a la formación de fibrina y/o depósito de plaquetas en la superficie del circuito extracorpóreo lo que reduce el tamaño de las partículas de sangre a través del filtro, y en algunos casos, esto es en sí, causa suficiente para un incremento irreversible del gradiente de presión. Los investigadores sugieren que, este problema puede exacerbarse por el rápido descenso de la temperatura por debajo de 20°C ¹¹³. Un estudio in vitro demostró, cómo la oclusión del filtro bajo estas circunstancias se debía al

acúmulo de fibrina a través de las fibras del filtro, conduciendo a un atrapamiento de células y subsecuente a la oclusión del filtro (Figura 3).

Figura 3. Esta imagen tomada mediante microscopía electrónica de un filtro de leucodeplección tras hipotermia. Se observa, un acúmulo de fibrina a través de las fibras del filtro, conduciendo a un atrapamiento de células y subsecuente oclusión del filtro.



1.6.b.3. Leucodeplección de la Cardioplegia.

La cardioplegia sanguínea es usada para la protección miocárdica durante los periodos de isquemia quirúrgicas, ya que se considera que proporciona una protección superior a los cristaloides con respecto al transporte de oxígeno y posee unas propiedades más fisiológicas. Sin embargo, la presencia de leucocitos y plaquetas durante la misma, pueden causar lesiones de reperfusión y capilaridad.

Estudios experimentales con animales, han demostrado que la leucodeplección de la cardioplegia sanguínea reduce la lesión miocárdica y puede mejorar la función cardíaca. En uno de estos estudios ¹¹⁴, en los que se aislaron corazones caninos, se observó un incremento significativo del trabajo y gasto cardíaco en el grupo de leucodeplección 24 horas tras la CEC. Otros estudios ^{115,116}, con aislamientos de corazones de corderos y cerdos neonatos demostraron mejor recuperación de la función mecánica y endotelial en el grupo de filtros de leucodeplección. Cuando los leucocitos no fueron deplecionados, el índice cardíaco fue significativamente menor y se observaron necrosis, disrupción mitocondrial, agregación nuclear y edema intersticial.

La mayoría de estos estudios animales, usaron filtros de leucodeplección durante la transfusión para eliminar los leucocitos de la sangre utilizada en la cardioplegia. La sangre del circuito de CEC pasaba a través del filtro

desleucocitario hacia un reservorio colección, que se utilizaba cuándo el suplemento de la cardioplegia sanguínea era requerido. Mientras esta técnica se demostró exitosa en estos modelos animales, el uso de filtros de transfusión en la clínica, no era lo más idóneo, particularmente porque los filtros de transfusión no están diseñados para trabajar con bombas de sangre y tienen una limitada capacidad de filtración. El Pall RC100 (Pall Corporation) se diseñó para filtrar uno, posiblemente dos concentrados de hematíes de 350 ml, usando un flujo <100 ml/min.

Además, estos filtros de transfusión son capaces de reducir significativamente las plaquetas en la sangre filtrada. Por este motivo fueron diseñados para concentrados de hematíes almacenados que contenían plaquetas no viables, no requeridas como parte de la transfusión. Esta capacidad de este tipo de filtro para eliminar plaquetas de la sangre, puede también ser la responsable de algunos de los beneficios observados con su uso.

Durante principios de 1990, cuando esta técnica estaba en sus comienzos, no había filtros específicos disponibles para la cardioplegia. Posteriormente, comenzaron a publicarse diferentes trabajos usando filtros de transfusión, cuyos resultados se resumen en la Tabla 2. Algunos centros, aún continúan usando esta técnica como su método preferido de leucodeplección durante la administración de la cardioplegia.

Tabla 2. Resultados obtenidos usando filtros de transfusión para la leucodeplección durante la cardioplegia.

Referencia	Año	Población	Beneficio S/N	Tipo Filtro
Pearl et al. ¹¹⁷	1992	Pacientes trasplantados 16 Controles 16 Leucodepleccionados	S	Pall RC 100
Ichichara et al. ¹¹⁸ .	1994	Casos electivos 12 Controles 12 leucodepleccionados	S	Pall RC 100
Pala et al. ¹¹⁹ .	1994	FE ^a <35% 11 Controles 11 leucodepleccionados	S	Desconocido
Palatianos y Balentine ¹²⁰	1994	Casos electivos 30 Controles 49 Leucodepleccionados	S	Pall RC 400
Sawa et al. ¹²¹	1996	Hipertrofia Ventricular 10 Controles 10 Leucodepleccionados	S	Asahi Cellsorba 80P
De Vecchi et al. ¹²² .	1997	FE ^a >45% 11 Controles 11 Leucodepleccionados	N	Leukoseize 2
Palatianos et al. ¹²³ .	2000	160 casos consecutivos 80. Controles 80 Leucodepleccionados	S	Pall RC 400

^aFE: Fracción de eyección

Parece, que en el trasplante de corazón, la leucodeplección se asocia a una disminución de lesión de reperfusión asociada a la liberación de CPK-MB y tromboxano B₂ ¹¹⁷. Otros estudios han mostrado que marcadores de daño miocárdico como la troponina I, CPK-MB , peroxidasa lipídica y elastasa disminuían si se usaba la leucodeplección en la cardioplegia sanguínea ^{118,120,121} durante el periodo de reperfusión (cardioplegia terminal). Sin embargo, la demostración más significativa de mejora de protección miocárdica era recientemente publicada usando filtros de leucodeplección para cardioplegia durante el período de clampaje aórtico ¹²³.

En la actualidad, existen nuevos filtros de transfusión de leucodeplección disponibles para su uso en la cardioplegia sanguínea, los cuáles se adaptan directamente en la línea de cardioplegia y son diseñados para volúmenes altos de sangre a filtrar, y del orden de 500 ml/min.

Un modelo de filtro de transfusión de leucodeplección para su uso en la cardioplegia sanguínea, es el descrito por Sawa et al. ¹²¹ . Estudiaron el uso de un filtro de leucodeplección extracorpórea, el Asahi Cellsorba 80 P (Asahi Medical, Tokio, Japan), que contiene fibras de poliéster entretrejido para la eliminación de los leucocitos; tiene un volumen primario de 80 ml, y es capaz de filtra sangre heparinizada a 300 ml/min durante 10 min.

Sawa et al.¹²¹ en su estudio, utilizaba un sistema de bomba con un rodillo de doble cabeza acoplado; con una bomba supliendo la solución de cristaloides, mientras la otra bomba de sangre oxigenada a través del filtro Celsorba 80P, controlando de esta manera, la reperfusión miocárdica. La solución de cristaloides se mezclaba con la sangre leucodepleccionada mediante un conector en “Y” justo antes de la salida del filtro. La cardioplegia sanguínea terminal se administraba, vía raíz aórtica, durante los 10 primeros minutos de la reperfusión miocárdica.

Más recientemente, se ha introducido el Leukoguard BC1 (Pall Corporation), para tareas específicas de leucodepleción en la cardioplegia. Este mecanismo consiste en una funda rígida construida de resina acrílica conteniendo un filtro combinado de 40 µm con una superficie modificada de poliéster entretejido para la eliminación específica de leucocitos de la sangre heparinizada. Tiene un volumen primario de 220 ml y puede ir a un flujo superior de 500 ml/min.

Diferentes estudios han sido publicado sobre el uso de este filtro leukoguard BC1 en la cardioplegia sanguínea. Un resumen sobre los resultados de estos estudios se muestran en la Tabla 3. Se ha demostrado cómo con la utilización del citado filtro y la administración de múltiples dosis de cardioplegia, la eficacia de la leucodeplección disminuye significativamente después de 1.5 litros de cardioplegia ¹²⁴. En modelos animales, comentados

previamente, estos filtros eliminaban más del 99% de los leucocitos cuando fueron usados. Mientras que, la eficacia de leukoguard BC1B parecía ser inicialmente mayor del 95%, el índice de depleción disminuía después de 1.5 a 3 litros de cardioplegia ¹²⁴. Sin embargo, en una publicación posterior, la eficacia clínica del filtro demostró una reducción en la liberación de troponina I, aunque los autores usaron dos filtros leukoguard BC1B en lugar de uno, durante el mismo. Esto plantea la pregunta de, cómo la eliminación de leucocitos requiere de un filtro de cardioplegia sanguínea.

Desafortunadamente hasta la fecha, no hay datos de la eficacia del filtro BC1 para la eliminación de los neutrófilos activados. Sin embargo, una posible hipótesis basada en la observación con el filtro leukoguard LG6 de línea arterial (Pall Corporation), postulaba que el filtro BC1 era probablemente capaz de eliminar todos los neutrófilos activados. De todas formas, aún no está claro por las evidencias clínicas publicadas, si un incremento en la eficacia de eliminación de leucocitos podría proporcionar mejoras clínicas en el futuro.

TABLA 3. Resultados de estudios previos usando cardioplegia de sangre leucodepleccionada.

Referencia	Año	Población	Beneficio S/N	Tipo Filtro
Sawa et al. ¹²¹	1994	Casos electivos 15 sangre total 10 cardioplegia terminal 15 cardioplegia terminal con leukodeplección	N	Asahi Cellsorba 80P
Sawa et al. ¹²¹	1994	Casos urgentes 10 sangre total 10 cardioplegia terminal 10 cardioplegia terminal con leukodeplección	S	Asahi Cellsorba 80P
Roth et al. ¹²⁴	1997	16 leucodepleccionados 8 con filtro único 8 con dos filtros	N	Pall Corporation BC1B
Heggie et al. ¹²⁵	1998	14 casos electivos	S	Pall Corporation BC1B
Suzuki et al. ¹²⁶	1998	Casos electivos 20 Controles 20 Leucodepleccionados	S	Pall Corporation BC1B
Nakamea et al. ¹²⁷	1998	Casos electivos 5 Controles 5 Leucodepleccionados	S	Pall Corporation BC1B
Roth et al. ¹²⁸	1999	32 Casos 15 Controles	S	Pall Corporation 2XBC1B
Browning et al. ¹²⁹	1999	40 Casos 20 Controles 20 Leucodepleccionados	N	Pall Corporation BC1B
Matsuda et al. ¹³⁰	1999		S	Pall Corporation BC1B
Hayashi et al. ¹³¹	2000	pediátricos 25 Controles 25 Leucodepleccionados	S	Pall Corporation BC1B

1.6.b.4. Posición de los Filtros de Leucodeplección durante la cardioplegia.

Se recomienda que el filtro sea colocado, después de la bomba de cardioplegia, pero antes de la cardioplegia intercambiadora de calor. Esta posición antes del intercambiador de calor es importante por problemas tales como el incremento de la presión transfiltro publicada cuando el filtro se colocaba después del intercambiador de calor. Presumiblemente, como comentamos previamente que ocurría con el filtro leukoguard LG6 de línea arterial, si la sangre es congelada rápidamente, ocurre la precipitación de fibrina, produciéndose altos gradientes de presión transfiltro.

Otros autores han publicado datos sobre la colocación del filtro de leucodeplección inmediatamente antes de la bomba de cardioplegia, demostrándose que la eficacia en la eliminación de leucocitos no se afectaba significativamente ¹³².

También se ha descrito el uso del filtro BC1 en un sistema de recirculación ¹²⁵. Esta técnica elimina más del 70% de leucocitos en un volumen medio de 5.3 litros de cardioplegia de sangre, mientras que únicamente elimina aproximadamente el 10% de las plaquetas. La hemólisis de las células rojas era mínima y se observaba una caída de presión de 10.8 mmHg con un flujo medio de 315 ml/min.

El filtro BC1, también ha sido usado en la cirugía cardíaca pediátrica para la leucodepleción durante la cardioplegia administrada en el período de isquemia, con un índice de leucodeplección superior al 90% ¹²⁵.

Se ha comentado que el tamaño del filtro de BC1 (220 ml) añade un considerable volumen primario del circuito extracorpóreo especialmente para pacientes pediátricos. Mientras que, un filtro más pequeño puede ser más aceptable para los circuitos actuales, reduciendo el tamaño del filtro se conduce a una reducción en la superficie disponible para el contacto con la sangre. Esto implicaría una disminución de la capacidad para la eliminación de leucocitos y potencialmente incrementar el gradiente de presión transfiltro. El Asahi Cellsorba 80P tiene un volumen primario menor de 80 ml, pero la única publicación clínica es la de Sawa et al. ¹²¹ que contempla una eficacia en la leucodeplección durante la cardioplegia del 85-95% de reducción de leucocitos en la raíz aórtica. Sin embargo, debería tenerse en cuenta, que no se llevó a cabo el conteo de leucocitos a la salida del filtro, por lo que el filtro podría ser más eficiente en la eliminación de los leucocitos de lo que se publicó anteriormente.

CONCLUSIÓN

La técnica de leucodeplección se ha desarrollado rápidamente en la última década con filtros actualmente disponibles para un amplio tipo de tareas (Esquema 3). Mejoras en los filtros diseñados y en la eliminación de leucocitos en los mismos permitirán que esta técnica sea refinada en los próximos años. La mayoría de los filtros de leucodeplección actuales están basados en tecnología de fibra para la eliminación de leucocitos activados. Modificaciones en la superficie de fibra nos permitirá alcanzar un mayor nivel de eliminación de células usando pequeños mecanismos, permitiendo que la técnica sea más accesible a pacientes neonatales y pediátricos en los que los volúmenes primarios son una cuestión crítica.

Diversos investigadores han demostrado que el uso de la leucodeplección puede reducir la lesión de reperfusión y así proporcionar una mejoría en la situación cardiopulmonar posterior a la CEC. Actualmente, no está claro cuáles son los niveles de leucodeplección requerido para maximizar estos beneficios clínicos, o si simplemente la eliminación de neutrófilos activados podría demostrar unos beneficios equivalentes. Se ha publicado, mejora en el estado del paciente usando leucodeplección durante todo el período de CEC, pero existe evidencia sobre beneficios clínicos similares con el uso estratégico de la técnica para el periodo de reperfusión.

En la próxima década se incrementará nuestro conocimiento del mecanismo exacto por el que los leucocitos son eliminados y el exacto contaje de deplección requerido para optimizar el beneficio clínico, permitiendo refinar esta técnica.

Esquema 3: CLASIFICACIÓN DE LOS FILTROS DE LEUCODEPLECCIÓN

a.- Según la **Composición** del Filtro:

1. Filtro con sistema de **poros**.
2. Filtro con sistema de **fibras**.

b.- Según la **Posición** del Filtro durante el bypass aortocoronario:

1. Filtro de línea **arterial (Leukoguard LG6)**: interviene previo al desclampaje aórtico y durante 15 minutos de la fase de reperfusión.
2. Filtro de línea **venosa (J1647, Pall Corporation)**: tras el inicio del recalentamiento, pero antes del desclampaje aórtico.
3. Filtro de línea **arterial modificada**: el filtro de leucodeplección actúa en paralelo con el filtro convencional.

1.6.c. Ventajas y desventajas

Una revisión de estudios investigó el papel de la filtración de leucocitos en cirugía cardíaca describiendo ciertos patrones, aunque como en la mayoría de los tópicos similares, el consenso total no fue alcanzado por parte de los investigadores. Cuando los filtros leucocitarios fueron incorporados en serie, el conteo de leucocitos total fue moderado, pero significativamente, reducido en comparación con el grupo de pacientes control. Los filtros no depleccionaban a los pacientes de leucocitos sino que en algunos estudios parecían simplemente limitar la leucocitosis postoperatoria, cuando eran usado durante la CEC^{133,134,135} o durante el período de reperfusión¹³⁶. El índice de leucocitos eliminados fue particularmente alto cuando el filtro era insertado en el lado venoso del circuito¹³⁷. Un estudio mostró que los filtros estaban relacionados más que con la disminución en el número de leucocitos, con la reducción en la expresión del componente integrina CD18 de los neutrófilos en el período postoperatorio¹³⁸.

Los niveles plasmáticos de ciertos marcadores moleculares inflamatorios fueron medidos sin ventajas significantes para el grupo de filtración de leucocitos. Los niveles de mieloperoxidasa, componentes del complemento, IL-6 e IL-8 y FNT- α fueron similares en el grupo de filtro desleucocitario y grupo control^{133,134,136,137,138}. Los marcadores de la activación de neutrofilos (CD11b,

mieloperoxidasa, lactoferrina) no se redujeron cuando fueron usados. los filtros desleucocitarios.

Con respecto a la función pulmonar, existen estudios contradictorios sobre el uso de los filtros de leucodeplección en estos pacientes. Así, Reeve WG et al, observaron cómo la Presión arterial de oxígeno volvía a la normalidad en las primeras 7 horas tras la CEC, en el grupo de pacientes que usaron el filtro convencional ¹³⁹. Sin embargo, Hachida M. et al, describieron un peor índice pulmonar después de 24 horas tras la CEC, en el grupo de pacientes con filtro convencional ¹⁴⁰. En contradicción, Mihaljevic et al., no encontraron diferencias clínicas en la función respiratoria entre ambos grupos¹⁴¹, mientras Jonson D et al., encontraron diferencias significativas en las primeras 24 h, con mejor función pulmonar en el grupo de filtro de leucodeplección ¹⁴².

Sin embargo, diferentes trabajos ^{141,143}, han fracasado en la demostración de cualquier mejora en la función pulmonar postoperatoria, en la resistencia vascular pulmonar ó en el tiempo de ventilación mecánica en el grupo de pacientes con filtros de leucodeplección.

Es interesante el hecho observado de cómo la duración de la CEC ha demostrado influencia sobre la eficacia de la leucodeplección ¹⁴⁴, no observándose mejora en la función pulmonar cuando la duración de la CEC era

menor de 90 minutos. Revisando la literatura publicada, estudios previos demostraron un efecto beneficiosos de la leucodeplección cuando tenía una CEC superior a 90 minutos; mientras que aquellos que no mostraron beneficio tuvieron tiempos de CEC más corto (Tabla 4) .

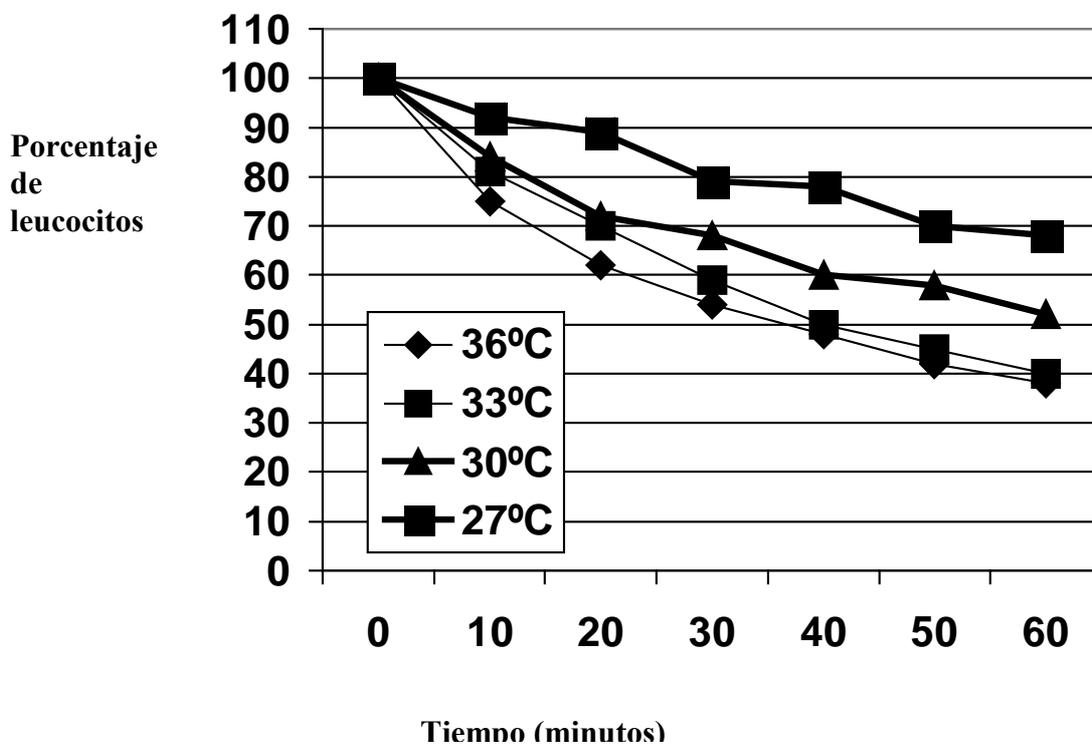
TABLA 4. Resultados clínicos de estudios previos relacionados con la duración de la circulación extracorpórea.

Referencia	Año	Población	Beneficio S/N	Tiempo CEC
Palanzo et al. ¹⁴⁵	1993	Casos electivos 18 Controles 18 Leucodepleccionados	S	> 90 min.
Hachida et al. ¹⁴⁰	1995	Casos electivos 14 Controles 14 leucodepleccionados	S	> 180 min.
Mihaljevic et al. ¹⁴¹	1995	18 Controles 14 leucodepleccionados	N	< 90 min.
Thurlow et al. ¹⁰⁶	1996	7 Controles 7 Leucodepleccionados	N	< 90 min. Y muestra pequeña
Kennedy et al. ¹⁴⁶	1997	Casos electivos 100 Controles 100 Leucodepleccionados	N	< 90 min.
Sheppard et al. ¹⁰⁷	1997	Casos electivos 50 Controles 50 Leucodepleccionados	S	> 90 min.
Baksaas et al. ¹⁴⁷	1998	20 Controles 20 Leucodepleccionados	N	< 90 min.

CEC: circulación extracorpórea

Aunque la duración de la CEC puede influir en la capacidad para detectar cambios groseros en la función pulmonar y otros marcadores clínicos de eficacia, la temperatura de la sangre también ha demostrado afectar al nivel de leucodeplección tanto in vitro ¹⁴⁸ como in vivo ¹⁴⁹. En el laboratorio, el filtro leukoguard LG6, eliminaba leucocitos con un determinado rango de temperatura (Figura 4). Sin embargo, no hubo una reducción significativa en el conteaje de leucocitos ó, éstos no fueron deplecionados cuando la temperatura era menor.

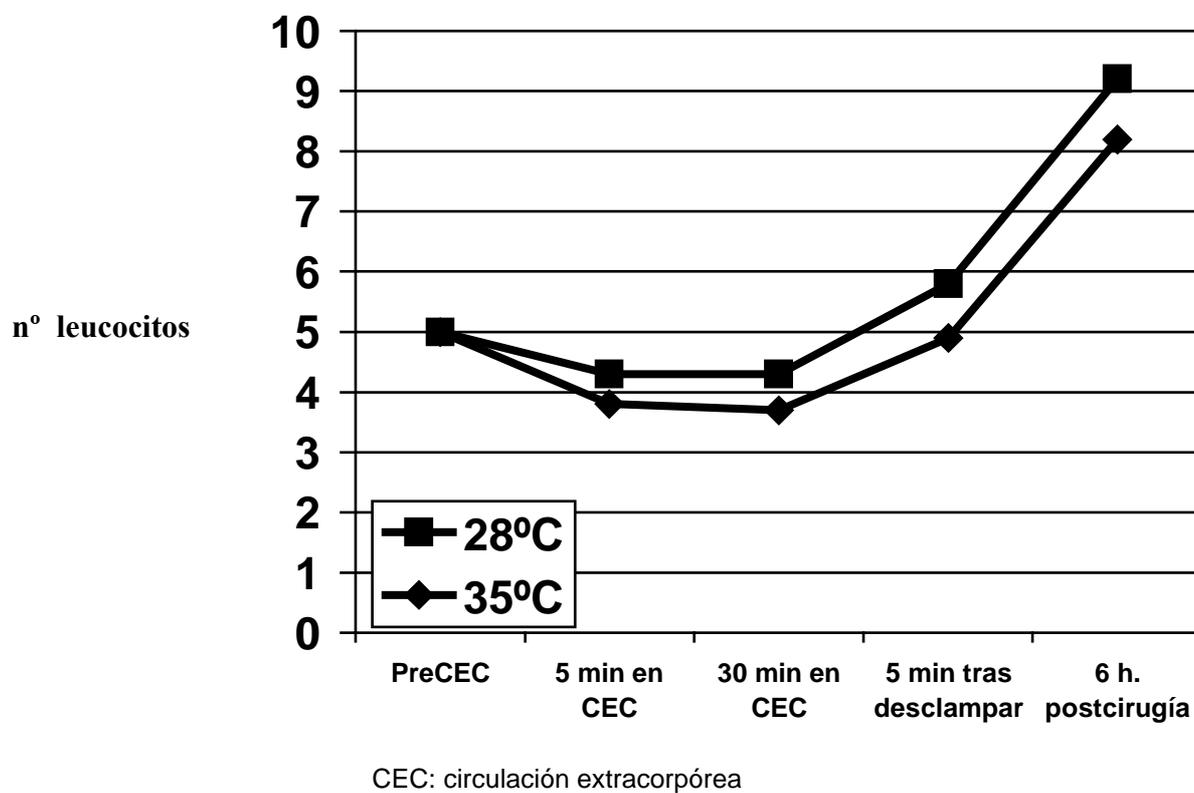
Figura 4. Cambios en el número total de leucocitos en el circuito in vitro expresado como cambios de los valores basales.



Sin embargo, la disminución de la temperatura sanguínea no afectaba a la capacidad del filtro para eliminar rápidamente los leucocitos activados de la circulación de la sangre, incluso en los estadios iniciales de la filtración o después de que el filtro hubiese actuado durante algún tiempo.

En las mediciones clínicas, se ha demostrado un fenómeno similar ¹⁴⁹, con más leucodeplección cuando la CEC se lleva a cabo a 35°C comparada con CEC a 28°C, como muestra la figura 5.

Figura 5 . Cambios en el número total de leucocitos durante la circulación extracorpórea utilizando sangre a temperatura de 28° C y 35° C.



Los efectos de la filtración de los leucocitos en la función pulmonar fue medida por los parámetros de índice respiratorio, presión arterial de oxígeno en la sangre, espirometría y resistencia vascular pulmonar. Ninguno de estos estudios presentaron una medida compresiva de la función pulmonar postoperatoria. La noción prevalente, sin embargo, fue que la filtración de leucocitos no había demostrado una reducción de la disfunción pulmonar^{134,137,138,150,151,152} aunque el índice respiratorio postoperatorio mejoró después de la filtración de leucocitos en 2 estudios^{153,154}. En un nuevo estudio, la sangre residual después de CEC era leucodeplecionada antes de la reinfusión, resultando en una mejora de la oxigenación de la sangre¹⁵⁵.

Con respecto a la función miocárdica en el grupo de pacientes con filtro desleucocitario también ha mostrado ser mejor, con un descenso de CPK-MB y un menor requerimiento inotrópico comparado con el grupo de pacientes con filtro convencional^{140,156}. Sin embargo, existen datos contradictorios, ya que Lust RM. et al.¹⁵¹. y Matheis G. et al.¹⁵⁷ mostraron que la filtración de leucocitos no afecta a los niveles de CPK-MB.

Una evidencia precoz sobre el beneficio potencial del efecto de la leucodeplección en la cardioplejia se obtuvo en ensayos con animales. La leucodeplección en la cardioplejia en humanos produce niveles más bajos de CPK-MB y troponina-T en sangre obtenida del seno coronario después del desclampaje de la aorta, en comparación con los pacientes que reciben

cardioplegia no leucodepleccionada, aunque los niveles de enzimas plasmáticos fueron similares en ambos grupos tras la cirugía.

1.6.d. Síntesis de trabajos

La cirugía cardíaca con CEC está frecuentemente relacionada con un incremento de marcadores inflamatorios en la sangre y también con la disfunción de órganos. Estos cambios constituyen expresiones de la respuesta inflamatoria sistémica de la cirugía cardíaca. Los leucocitos activados son participantes importantes en la inflamación sistémica y su eliminación parece ser una lógica estrategia antiinflamatoria. Recientes ensayos han investigado el efecto de la filtración de leucocitos en humanos que experimentaron cirugía cardíaca. Los resultados proporcionaron, con una evidencia pequeña, que los marcadores de inflamación, lesión orgánica y disfunción orgánica estuvieron afectados por la incorporación de los filtros desleucocitarios en cirugía cardíaca. Cómo con la mayoría de las estrategias antiinflamatorias, el beneficio de la filtración de los leucocitos en cirugía cardíaca será obtenido cuando los detalles con respecto al apropiado tiempo, circuito, material y población de pacientes sean investigados y clarificados.

Se han investigado varias estrategias antiinflamatorias en cirugía cardíaca, desde que comenzó a hablarse del daño potencial de la inflamación sistémica. Los métodos antiinflamatorios podrían actuar prácticamente en

cualquier estado y molécula de la red inflamatoria. Los leucocitos comienzan a ser una de las principales metas debido a su papel en la inflamación. Por lo que eliminando los leucocitos de la filtración durante la CEC se podría atenuar los efectos de la inflamación sistémica. La filtración de leucocitos durante CEC fue inicialmente testado en animales a principios de 1990 y subsecuentemente usado en humanos que experimentaban cirugía cardíaca. Los filtros fueron incorporados en serie en los circuitos extracorpóreos en la mayoría de los ensayos, pero también han sido usado para deplecionar la solución de cardioplejia sanguínea o incluso retransfundir sangre residual después de la CEC. Los resultados principales medidos en estos ensayos son los siguientes: los mediadores inflamatorios en la sangre, los marcadores de lesión orgánica en la sangre y los parámetros clínicos de lesión orgánica.

Escasos ensayos controlados randomizados han investigado la influencia de la leucodeplección sobre la morbilidad en pacientes sometidos a cirugía cardíaca de bajo riesgo, y la necesidad de nuevos estudios ha sido reconocida.

2

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Y

OBJETIVO

Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca pueden sufrir un aumento de la morbimortalidad relacionado con la CEC. La superficie de los circuitos de la CEC activan los leucocitos polimorfonucleares (PMNs), los cuáles se adhieren a las superficies endoteliales y migran a través de los vasos sanguíneos. Una vez en los tejidos, estos PMNs activados pueden producir disfunción de uno o más órganos. El daño tisular varía de ligero a severo y se traduce en diversos síndromes clínicos. El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, daño miocárdico y/o pulmonar y el aumento de las infecciones perioperatorias han sido relacionados con la CEC y probablemente con los PMNs activados. Sin embargo, no ha sido consistentemente demostrado que la retirada de los leucocitos activados durante la CEC, a través de un filtro desleucocitario (FDCEC), tenga ventajas clínicas y/o económicas. Un trabajo reciente demostró que el uso FDCEC puede disminuir la estancia hospitalaria en un día en pacientes de bajo riesgo, pero los pacientes estuvieron sujetos a otros tratamientos concomitantes, lo que dificulta extraer conclusiones. Otros trabajos no han encontrado ventajas clínicas en usar FDCEC.

La **hipótesis** de este trabajo es que la retirada de PMNs activados durante la CEC puede disminuir el daño tisular y, por tanto, la morbimortalidad perioperatoria.

El **objetivo** de este ensayo prospectivo, controlado y randomizado, ha sido determinar si la leucodeplección a través del filtro arterial mejora la morbilidad postoperatoria en pacientes con bajo riesgo sometidos a cirugía cardiaca.

3

MATERIAL

Y

MÉTODOS

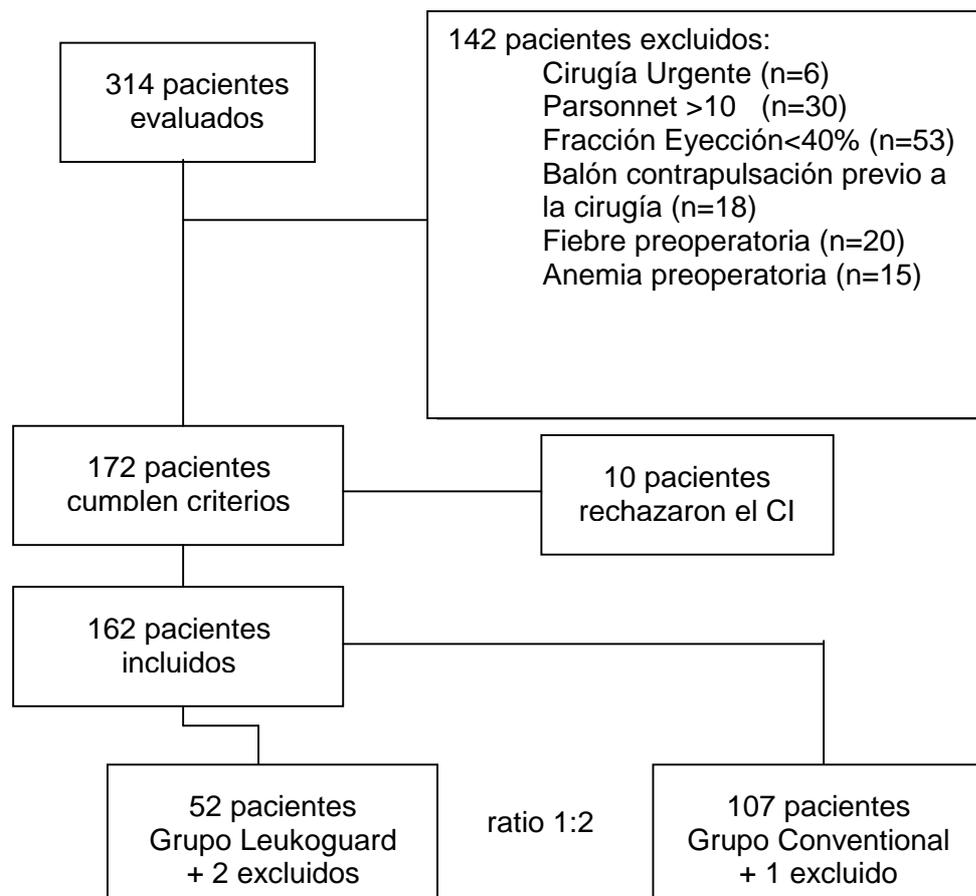
2.1 Población de estudio

Fueron inicialmente incluidos todos los pacientes (n:314) ingresados en la unidad de cuidados postoperatorios de cirugía cardíaca entre el 1.01.2003 y el 31.12.03 en el Hospital Universitario “Virgen del Rocío” de Sevilla, España, un hospital público de 2000 camas. La cirugía cardíaca realizada en este centro incluye revascularización coronaria, reemplazo valvular, corrección de cardiopatías congénitas en adultos y niños y trasplantes cardíacos. El comité de investigación aprobó este estudio y no consideró necesario el consentimiento informado.

Criterios de exclusión

Los pacientes que mantuvieron cualquiera de los siguientes criterios, antes de la cirugía, fueron excluidos: Cirugía urgente (N:6), pacientes de alto riesgo quirúrgico (Parsonnet >10)¹⁵⁸ (N:30), función pulmonar anormal (hipertensión pulmonar severa, EPOC severo) (N:3), disfunción cardiológica severa [fracción de eyección <40% (N:50), enfermedad de tronco y/o necesidad de balón de contrapulsación prequirúrgico (N:18)], anemia prequirúrgica (hemoglobina <110g/L) (N:15), alteraciones de la coagulación (plaquetas <200.000, trombina o tiempo parcial de tromboplastina >1.5 control) (N:0), presencia de fiebre ó infección previo a la cirugía (N:20). Fueron elegibles un total de 159 pacientes (Figura 6).

Figura 6. Número de pacientes valorados e incluidos en el estudio.



CI: Consentimiento Informado

2.2 Diseño del estudio

Estudio aleatorio, controlado, simple ciego y unicéntrico. Se randomizó asignando a los pacientes participantes a recibir filtro convencional o filtro desleucocitario, con una ratio de randomización 2:1.

Los pacientes fueron estratificados en tres niveles, según su escala de Parsonnet al ingreso en el hospital: riesgo ligero (<4), riesgo moderado (4-7) y riesgo alto (8-10). Una vez estratificados, fueron aleatorizados, por cada nivel de riesgo, para pertenecer al grupo de paciente con filtro convencional (N:107) ó al grupo de pacientes con FDCEC (N:52). El objetivo de la estratificación según la escala de Parsonnet, fue evitar que las conclusiones finales del estudio pudieran ser explicadas por las diferencias en la gravedad del paciente.

2.3 Anestesia, cirugía y procedimientos postquirúrgicos

Idéntica anestesia (midazolam, remifentanilo y vecuronio), monitorización intra y postcirugía y técnicas fueron usado en los dos grupos de pacientes. Todos los pacientes fueron monitorizados con presión arterial invasiva, presión venosa central, temperatura corporal y gasometrías arteriales. 107 pacientes (71 en el grupo de pacientes con filtro convencional, y 36 en el grupo de pacientes con FDCEC) fueron también monitorizados con catéter en

la arteria pulmonar (catéter de Swan-Ganz CCOmbo CCO/Sv02 Edwards Lifesciences), permitiendo recoger de forma continua la presión de la arteria pulmonar, presión de enclavamiento, gasto cardíaco y saturación venosa mixta de oxígeno. El circuito de extracorpórea utilizado en todos los pacientes estaba compuesto por un dispositivo de membrana de oxigenador (Dideco) y un rodillo de bomba (Stocker), cebado con una solución de cristaloides que contenía 2 millones de unidades inactivadoras de calicreína (KIU) de aprotinina (únicamente en pacientes con reemplazamiento valvular). El filtro de leucodeplección de la línea arterial (leukoguard-6 Pall Biomedical Products Corp. East Hills, N.Y.) fue incorporado en lugar del filtro arterial standar, en el grupo de filtro desleucocitario. El manejo de protección miocárdica, ventilación mecánica e infusión de drogas fueron idénticas en ambos grupos. En la mayoría de los casos, los pacientes fueron ventilados durante menos de 8 horas y extubados cuando se encontraban hemodinámicamente estables, con una escala de Ramsay de 2-3, Saturación de oxígeno >95% con FiO₂ <0.4 y sin sangrado significativo.

2.4 Variables objetivos

La variable objetivo fue la morbilidad. La morbilidad fue valorada por el tiempo de estancia en UCI y estancia hospitalaria, función cardiopulmonar, incidencia de infecciones perioperatoria, hipertermia, estado hiperdinámico postoperatorio, sangrado y transfusiones de hemoderivados.

Por lo tanto, las siguientes variables fueron comparadas en ambos grupos de pacientes (convencional y desleucocitario):

1. *Función Cardíaca.* Se consideró disfunción cardíaca cuándo se desarrollaba un nuevo infarto perioperatorio ó disminución de la fracción de eyección en más de un 10% ó presencia de insuficiencia cardíaca postquirúrgica ó disminución del gasto cardíaco (sólo en pacientes con catéter de termodilucción pulmonar). El infarto perioperatorio (POMI) fue sospechado por criterios clínicos, electrocardiográficos y enzimáticos y confirmado mediante ecocardiografía y/o gammagrafía con pirofosfato. Las enzimas cardíacas fueron medidas cada 4 horas, y para el propósito de este estudio se incluyó en el análisis estadístico el valor más alto en las primeras 48 horas.

2. *Función Pulmonar.* Valorado por el índice de Murray (PaO_2/FiO_2), la compliance dinámica pulmonar (estas variables fueron medidas en el quirófano, en la primera hora y en la cuarta hora de estancia en UCI), y tiempo de ventilación mecánica. Se consideró disfunción pulmonar cuándo el índice de Murray era menor o igual a 300 ó disminución de la compliance dinámica pulmonar.

3. *Infecciones perioperatorias.* Neumonía, mediastinitis, infección relacionada con el catéter, sepsis, fiebre $>38^{\circ}C$ y estado circulatorio

hiperdinámico. Se diagnosticó neumonía ante la presencia de un nuevo infiltrado pulmonar en la radiografía de tórax, fiebre, leucocitosis y cultivo cuantitativo positivo de las secreciones obtenidas por aspirado traqueal de más de 10^6 C unidades formadoras de colonias (ufc/ml) y/o cepillo protegido ($>10^3$ ufc/ml)¹⁵⁹. Se diagnosticó mediastinitis si existía infección de la herida quirúrgica, requiriendo reintervención para su tratamiento, con cultivos positivos obtenidos a nivel de la esternotomía¹⁶⁰. Infección relacionada con el catéter fue diagnosticado cuándo el mismo germen era aislado en sangre y en el cultivo semi-cuantitativo de un segmento del catéter (> 15 ufc) ó si había una clara respuesta clínica tras la retirada del mismo y no se identificaba otro sitio primario más que el catéter intravascular. Los pacientes sin evidencia de neumonía ni mediastinitis ni infección relacionada con el catéter, pero con criterios de sepsis ó síndrome séptico, fueron clasificados como pacientes con sepsis¹⁶¹. El estado circulatorio hiperdinámico (pacientes con catéter de termodilución pulmonar) fue diagnosticado cuando se cumplían los siguientes criterios: índice cardíaco $> 3,8$ l/m/m², saturación venosa mixta de oxígeno (SvO₂) $>68\%$, resistencia vascular sistémica < 800 dinas.seg./cm⁵, temperatura precoz $> 38^{\circ}\text{C}$ y presión arterial media < 60 mmHg (todos los casos con cultivos negativos).

4. Leucocitos, neutrófilos, linfocitos, plaquetas y niveles de hemoglobina fueron medidos en diferentes intervalos: antes de la cirugía, al desclampar

aorta, a la salida de CEC, y en la primera hora y doceava hora de estancia en UCI.

5. *Estancia en UCI (días).*

2.5. Variables de confusión

Múltiples variables relacionadas con la gravedad del paciente, dificultad de la intervención quirúrgica y manipulación de personal fueron cuantificadas y ponderadas, mediante análisis multivariante, a fin de conocer su efecto sobre las variables objetivos.

Fueron evaluadas las siguientes variables:

1. Datos del paciente: edad y sexo; 2. Estado crónico de salud: definida por la presencia de las siguientes variables: NYHA>3, EPOC (tratada con corticoides y/o broncodilatadores), HTA (tratada médicamente), obesidad (superior al 20% del peso ideal), diabetes mellitus (tratada médicamente); 3. Factores relacionados con la función cardíaca: Infarto de miocardio previo a la cirugía, función cardíaca antes de la cirugía, expresada como fracción de eyección (valorada por ecocardiografía y/o cateterismo) y enfermedad de tronco ó tres vasos coronarios; 4. Factores relacionados con la dificultad de la intervención quirúrgica: tipo de cirugía (bypass, reemplazo valvular y otros), cirugía urgente

o electiva, necesidad de balón de contrapulsación, tiempo de bypass cardiopulmonar, tiempo de isquemia e intervención realizada sin bypass cardiopulmonar; 5. Factores relacionados con la gravedad del paciente en el período postoperatorio: APACHE II medido en las primeras 24 horas del ingreso del paciente en UCI, disfunción del SNC, tiempo de ventilación mecánica, reintubación y necesidad de alimentación enteral; 6. Factores relacionados con transfusión sanguínea: número de bolsas de concentrado de hematíes por paciente y cantidad de sangrado mediastínico.

2.6. Análisis estadístico

La comparación entre el grupo de pacientes con filtro convencional y el grupo de pacientes con FDCEC se llevó a cabo mediante el test de dos muestras no pareadas para variables paramétricas continuas después de la corrección por igualdad de varianza (test de Levene), el test de U-Mann Whitney para variables continuas no paramétricas y el test de chi-cuadrado de Pearson ó test exacto de Fisher para variables categóricas. Se consideró significación estadística cuando p fue menor de 0.05.

Los datos se recogieron y analizaron con el programa SPSS 12.0.

4

RESULTADOS

3.1. Resultados generales

Un total de 304 pacientes fueron incluidos inicialmente. Tras aplicar los criterios de exclusión, 159 pacientes fueron incluidos en el estudio: 152 en el grupo de filtro leukoguard y 107 en el grupo de filtro convencional (Figura 6). No diferencias con respecto a las variables pre e intraoperatoria entre los dos grupos fueron encontradas. (Tabla 5).

De los 159 pacientes evaluables, fueron sometidos a cirugía de reemplazo valvular el 59,1%, cirugía de revascularización coronaria el 35,8%, y cierre de CIA el 5,03%. Ciento veinticuatro pacientes (77,9%) recibieron transfusiones alogénicas de concentrado de hematíes, 28 pacientes (17,6%) transfusión de plasma fresco y 18 pacientes (11,3%) transfusión de unidades de plaquetas.

TABLA 5. Características generales de la población:
Variables Perioperatorias.

	Leukoguard (n=52)	Convencional (n=107)	p
Edad	61.4±11.7	60.9±11.3	0.791
Sexo			
♂	33 (63.4%)	64 (59.8%)	0.898
♀	19 (36.6%)	43 (40.2%)	
Parsonnet	6.15±2.6	6.11±2.8	0.929
Hemoglobina preoperatoria (g/dL)	13.5±1.9	13.4±1.8	0.868
Leucocitos (x10 ⁹) preoperatorio	7.12±1.8	7.4±2.0	0.639
Plaquetas (x10 ⁹) preoperatoria	225.3±77.2	221.7±67.9	0.768
Tipo de Cirugía			
- CABG ^a	18 (34.6 %)	39 (36.4%)	0.410
- Valvular	32 (61.5 %)	62 (57.9 %)	0.282
- CIA ^b	2 (3.8 %)	6 (5.6 %)	0.503
Tiempo de CEC ^c	102.3±27	97.3±33.6	0.347
Tiempo de Anoxia	70.3±21	63.6±26.01	0.109
Temperatura	31.9±0.9	31.8±1.2	0.568
Aprotinina	16 (30.7%)	34 (31.7%)	0.898

^a CABG: injerto bypass de arteria coronaria

^b CIA: comunicación interauricular

^c CEC: circulación extracorpórea

3.2. Función Cardíaca

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos con respecto a las variables que evaluaban la función cardíaca (Tabla 6).

TABLA 6. Variables Postoperatorias: Función Cardíaca.

	Leukoguard (n=52)	Convencional (n=107)	p
Isquemia perioperatoria/ POMI ^a	6 (11.5%)	16 (14.9%)	0.559
Troponina (µg/mL)	0.730±0.664	0.925±1.350	0.410
CPK-MB(U/L) ^b	72.5±43.03	81.8±62	0.789
Indice Cardíaco (l/min/m ²)	2.1±1.6	2.1±1.6	0.891
SvO ₂ (%) ^c	48±30.6	46.8±31.7	0.572
Disfunción miocárdica postoperatoria	9 (17.3%)	21 (19.6 %)	0.726

^a POMI: infarto perioperatorio.

^b CPK: creatininfosfoquinasa.

^c SvO₂: saturación venosa mezclada de oxígeno;

3.3. Función Pulmonar.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos con respecto al índice de Murray (PaO₂/FiO₂) y la complianza dinámica pulmonar, medidas en quirófano, en la primera hora y en la cuarta hora de estancia en UCI (Tabla 7). En el grupo control, un paciente fue extubado en el 4º día postoperatorio debido a disfunción cerebral y este paciente fue excluido del análisis en el tiempo de ventilación mecánica. Tras esta exclusión, ambos grupos tuvieron similar tiempo de ventilación mecánica.

TABLA 7. Variables Postoperatorias: Función Pulmonar.

	Leukoguard (n=52)	Convencional (n=107)	p
PaO ₂ /FiO ₂ (0) ^a	423.17±55.9	415.7±40.2	0.339
Compliance (0) ^a	34,3±7.4	33.7±5.8	0.146
PaO ₂ /FiO ₂ (1) ^a	378±55	385±67	0.503
Compliance (1) ^a	35.9±6.1	34.3±5.4	0.09
PaO ₂ /FiO ₂ (4) ^a	406.2±68.1	407.7±76.5	0.910
Compliance (4) ^a	36.04±5.9	35.01±5.04	0.282
Tiempo Ventilación Mecánica (horas)	8.5±8	15.1±69.1	0.475

^a mediciones llevadas a cabo en quirófano (0) en la primera hora (1) y cuarta hora (4) en UCI.

3.4. Infecciones Perioperatorias, Fiebre y Estado Hiperdinámico.

En todos los casos, hubo una mayor incidencia de infección, fiebre y estado hiperdinámico en el grupo de pacientes con filtro leukoguard (Tabla 8). Sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

TABLA 8. Variables Postoperatorias: Infecciones Perioperatorias, Fiebre y Estado Hiperdinámico.

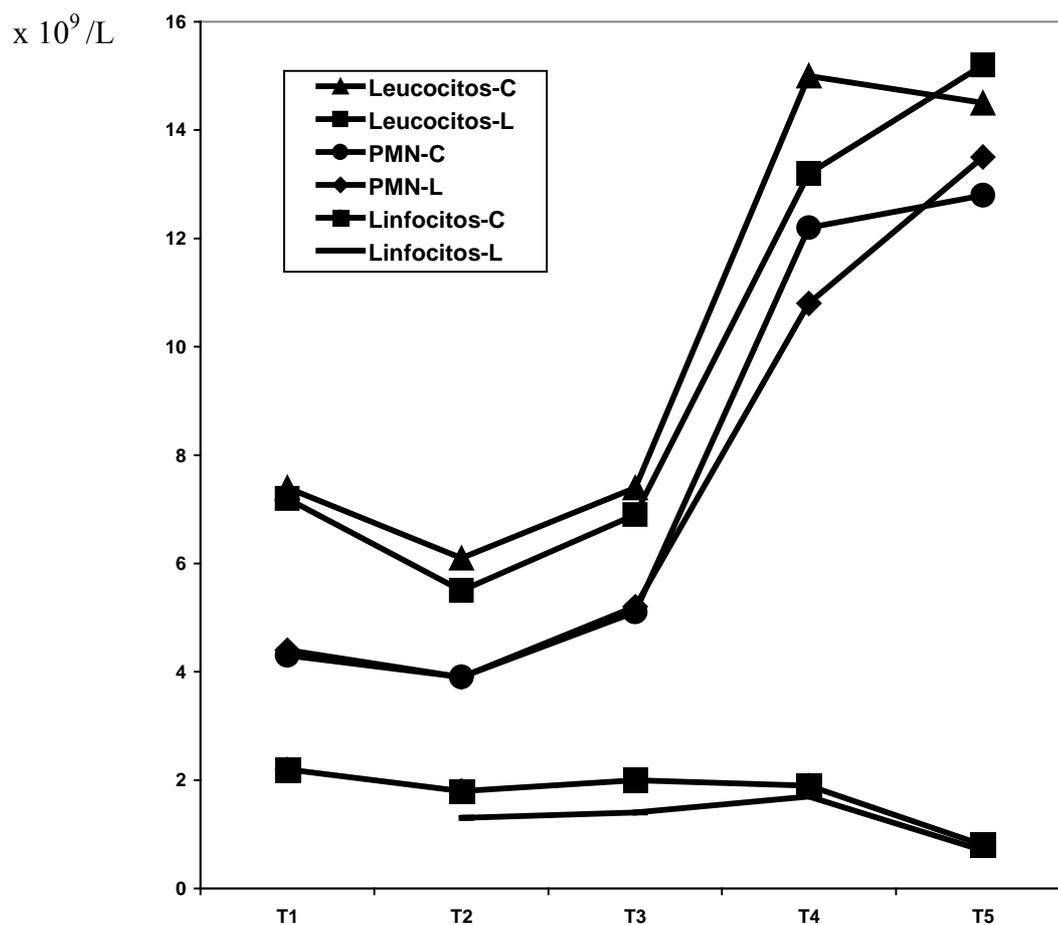
	Leukoguard (n=52)	Convencional (n=107)	p
SIRS ^a	9 (17.3%)	21 (19.6 %)	0.831
T ^a >38°C ^b	12 (23%)	33 (30.8%)	0.308
Neumonía	1 (1.9%)	5 (4,6 %)	0.393
Sepsis	1 (1.9%)	8 (7.4%)	0.155
Mediastinitis	0 (0%)	5 (4.6 %)	0.113
Cateter	1 (1.9%)	4 (3.7%)	0.538
Infecciones	3 (5.7%)	11 (10.2%)	0.346

^a SIRS: síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

^b T^a: temperatura.

3.5. Contaje de células sanguíneas.

Figura 7. Contaje de células sanguíneas .



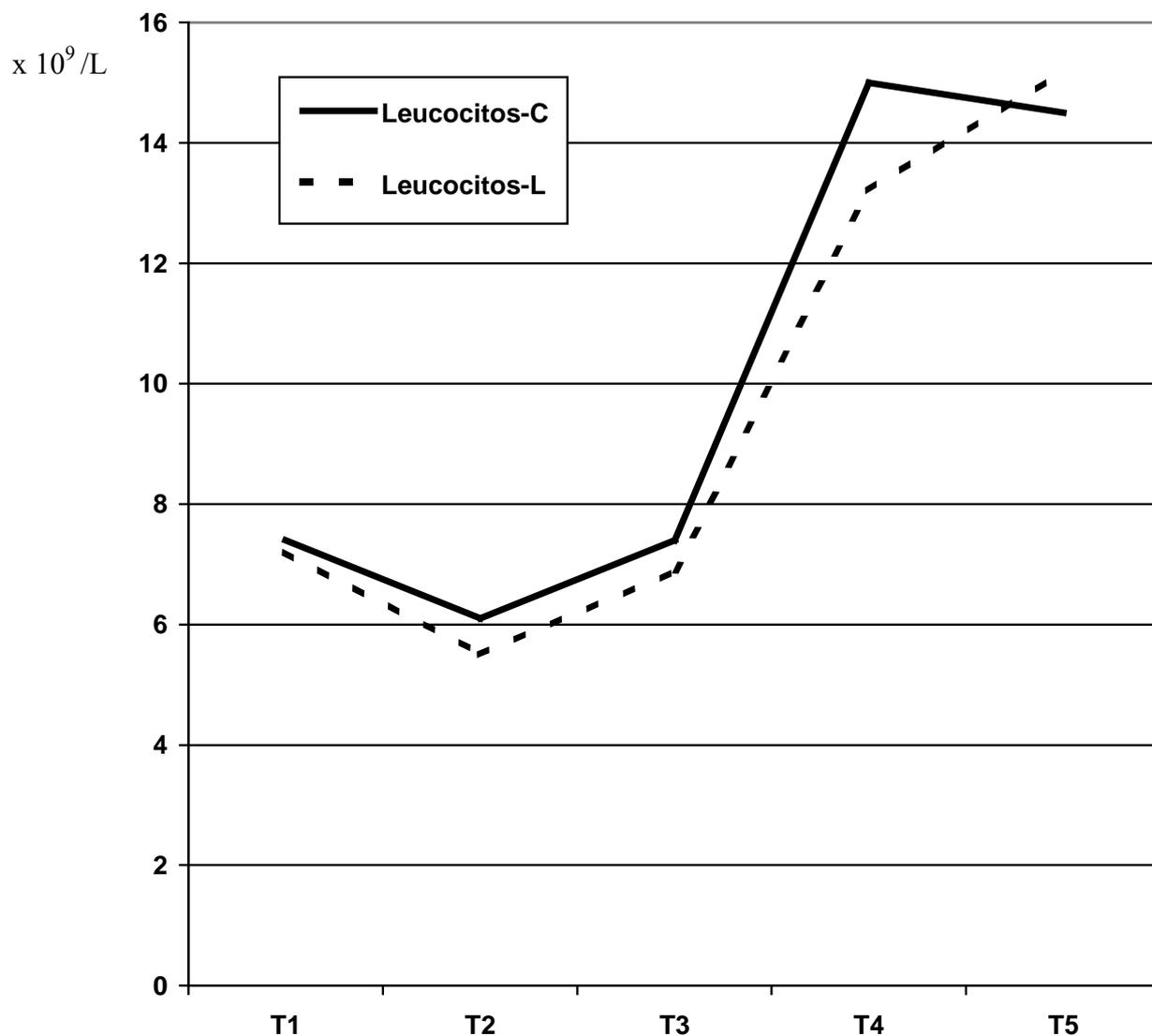
Tiempo1 (T1): precirugía; Tiempo 2 (T2): al desclampar aorta; Tiempo 3 (T3): a la salida de circulación extracorpórea; Tiempo 4 (T4): 1ª hora en UCI; Tiempo 5 (T5): 12 horas en UCI;
C: Grupo de pacientes con Filtro Convencional; L: Grupo de pacientes con Filtro Leukoguard.

Un ligero descenso en el conteo total de leucocitos durante el bypass cardiopulmonar (diferencias no significativas) era seguido de leucocitosis tras el bypass, durante la estancia precoz en UCI ($7.3 \pm 1.8 \times 10^9/L$, previo bypass versus $15.2 \pm 4.7 \times 10^9/L$, 12 horas tras el bypass en el grupo de filtro desleucocitario; $p < 0.001$, y $7.4 \pm 2.0 \times 10^9/L$, antes del bypass versus $14.5 \pm 3.8 \times 10^9/L$, 12 horas tras el bypass en el grupo de filtro convencional; $p < 0.001$ (figura 8).

El análisis del conteo de neutrófilos periféricos revelan un patrón similar al descrito en los leucocitos (Figura 9).

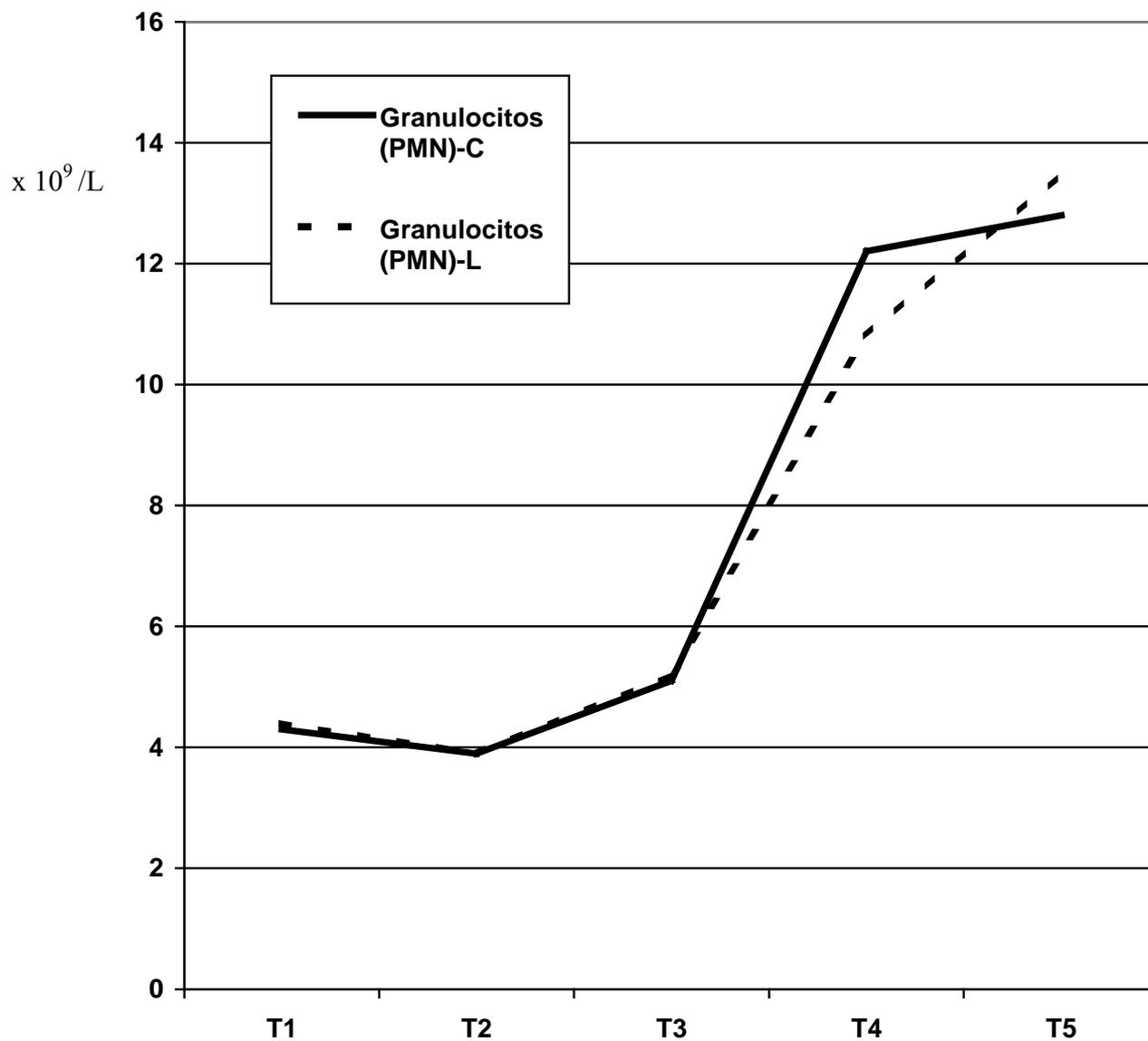
El conteo de linfocitos mostró un ligero descenso tras comenzar el bypass cardiopulmonar, siendo más marcado 12 horas post-bypass ($2.0 \pm 0.6 \times 10^9/L$, antes del bypass versus $0.7 \pm 0.3 \times 10^9/L$, 12 horas tras el bypass en el grupo de filtro desleucocitario; $p < 0.001$, y $2.2 \pm 0.7 \times 10^9/L$, antes del bypass versus $0.8 \pm 0.4 \times 10^9/L$, 12 horas tras el bypass en el grupo de filtro convencional; $p < 0.001$); (figura 10). El descenso en el conteo de linfocitos fue más pronunciado en el grupo de filtro leukoguard ($p = 0.039$) No otras diferencias entre ambos grupos fueron encontradas, en ninguno de los intervalos, con respecto al conteo de linfocitos.

Figura 8. Contaje de leucocitos.



Tiempo1 (T1): precirugía; Tiempo 2 (T2): al desclampar aorta; Tiempo 3 (T3): a la salida de circulación extracorpórea; Tiempo 4 (T4): 1^a hora en UCI; Tiempo 5 (T5): 12 horas en UCI;
C: Grupo de pacientes con Filtro Convencional; L: Grupo de pacientes con Filtro Leukoguard.

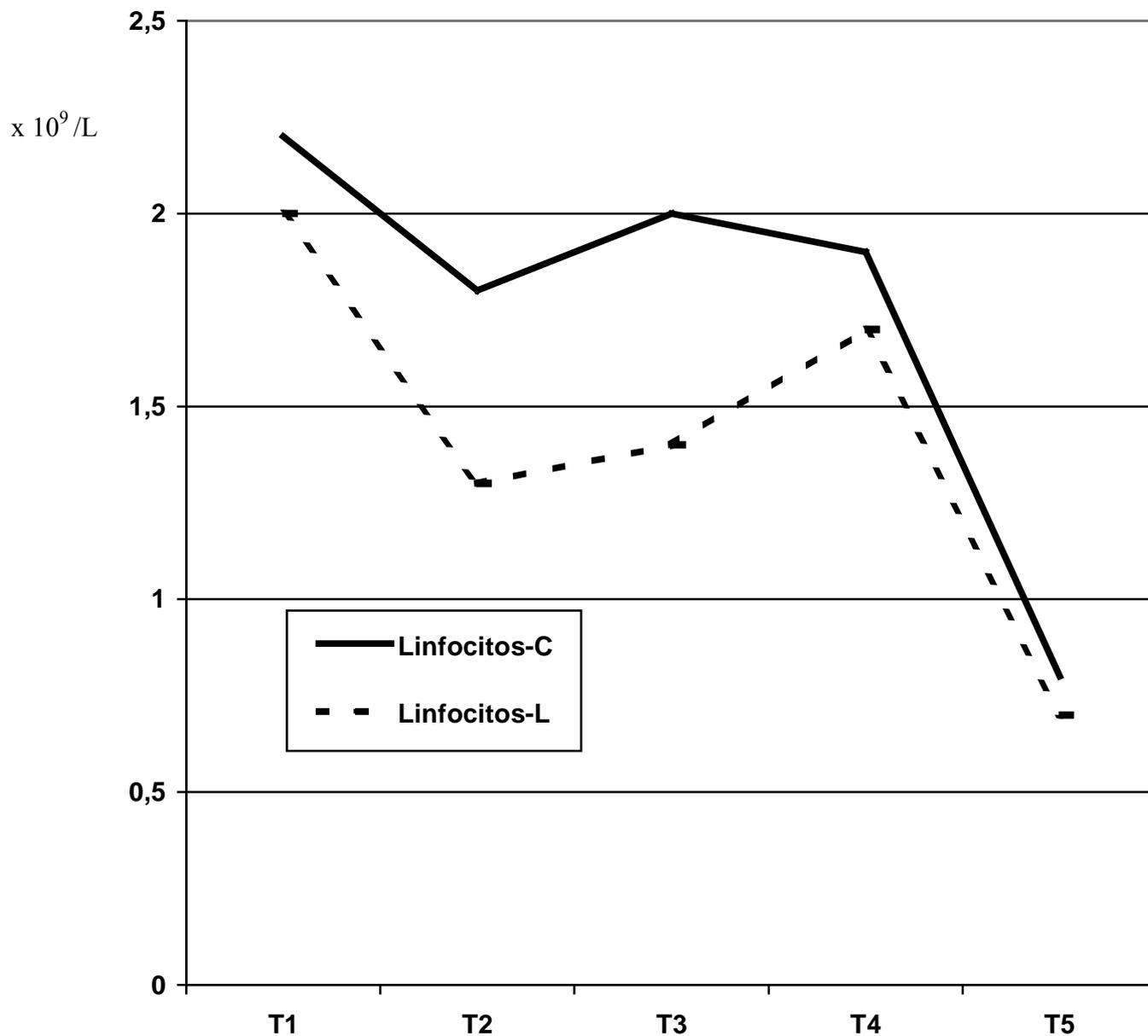
Figura 9. Contaje de Polimorfonucleares (PMN).



Tiempo1 (T1): precirugía; Tiempo 2 (T2): al desclampar aorta; Tiempo 3 (T3): a la salida de circulación extracorpórea; Tiempo 4 (T4): 1ª hora en UCI; Tiempo 5 (T5): 12 horas en UCI;

C: Grupo de pacientes con Filtro Convencional; L: Grupo de pacientes con Filtro Leukoguard.

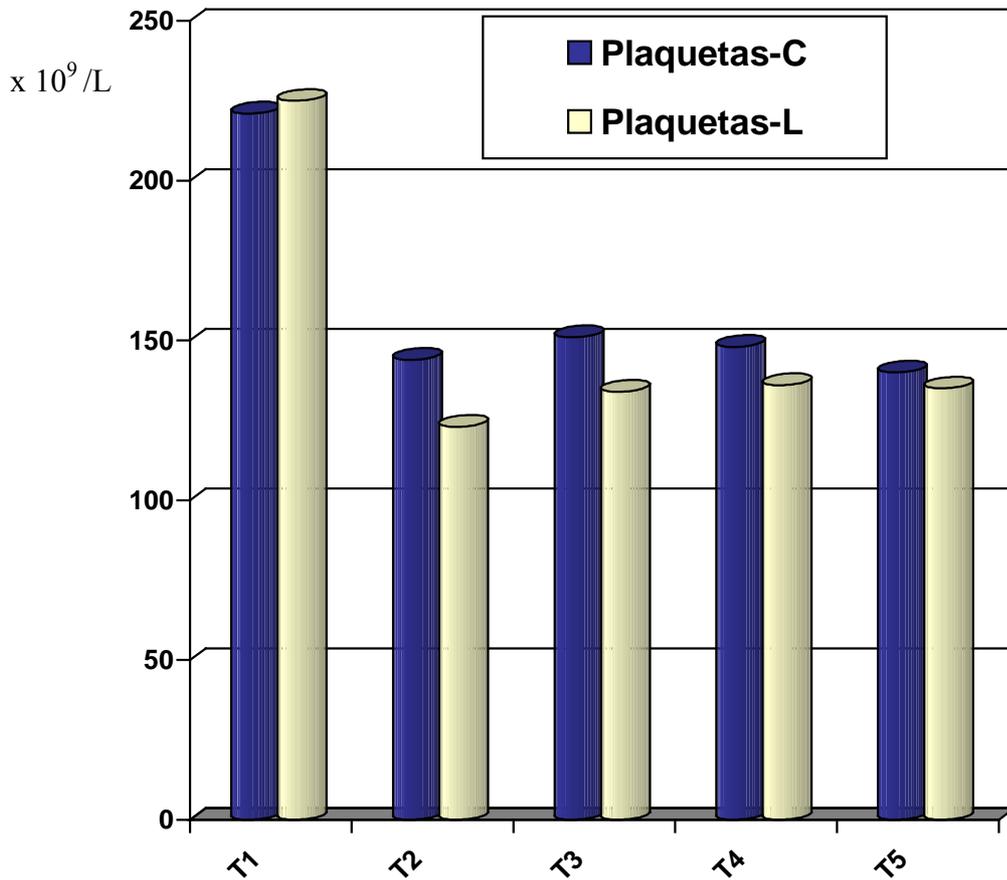
Figura 10. Contaje de linfocitos.



Tiempo1 (T1): precirugía; Tiempo 2 (T2): al desclampar aorta; Tiempo 3 (T3): a la salida de circulación extracorpórea; Tiempo 4 (T4): 1ª hora en UCI; Tiempo 5 (T5): 12 horas en UCI;
C: Grupo de pacientes con Grupo Convencional; L: Grupo de pacientes con Filtro Leukoguard.

El conteo de plaquetas mostró un importante descenso tras comenzar el bypass cardiopulmonar, manteniéndose este descenso, aunque menos pronunciado, en las 12 primeras horas postbypass ($225 \pm 77 \times 10^9/L$, antes del bypass versus $135 \pm 53 \times 10^3/L$, 12 horas tras el bypass en el grupo de filtro desleucocitario; $p < 0.001$, y $221 \pm 67 \times 10^3/L$, antes del bypass versus $140 \pm 61 \times 10^3/L$ 12 horas tras el bypass en el grupo de filtro convencional; $p < 0.001$). El descenso en el conteo de plaquetas fue más pronunciado en el grupo de filtro leukoguard ($p = 0.041$). (Figura 11).

FIGURA 11. Contaje de plaquetas



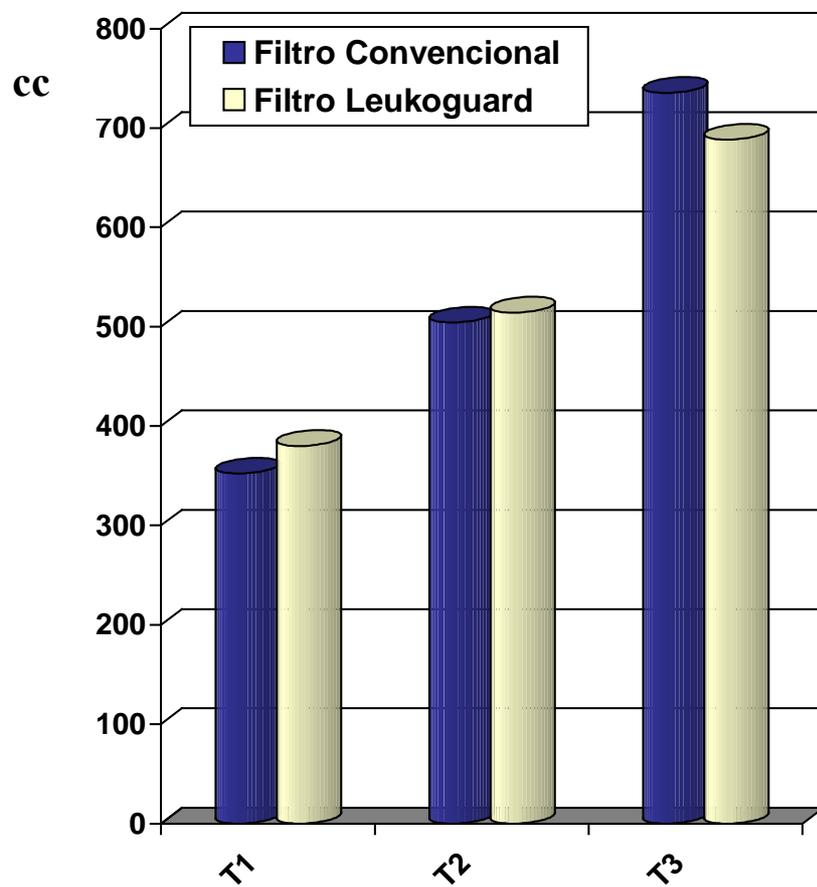
Tiempo1 (T1): precirugía; Tiempo 2 (T2): al desclampar aorta; Tiempo 3 (T3): a la salida de circulación extracorpórea; Tiempo 4 (T4): 1^a hora en UCI; Tiempo 5 (T5): 12 horas en UCI;
C: Grupo de pacientes con Filtro Convencional; L: Grupo de pacientes con Filtro Leukoguard.

3.6. Sangrado y Transfusión de Hemoderivados.

No se encontraron diferencias con respecto al sangrado a través del tubo de drenaje torácico en las primeras 24 horas del postoperatorio (738 ± 791 cc. en el grupo de filtro convencional versus 688 ± 583 cc. en el grupo de filtro leukoguard; $p=0.703$) (figura 12).

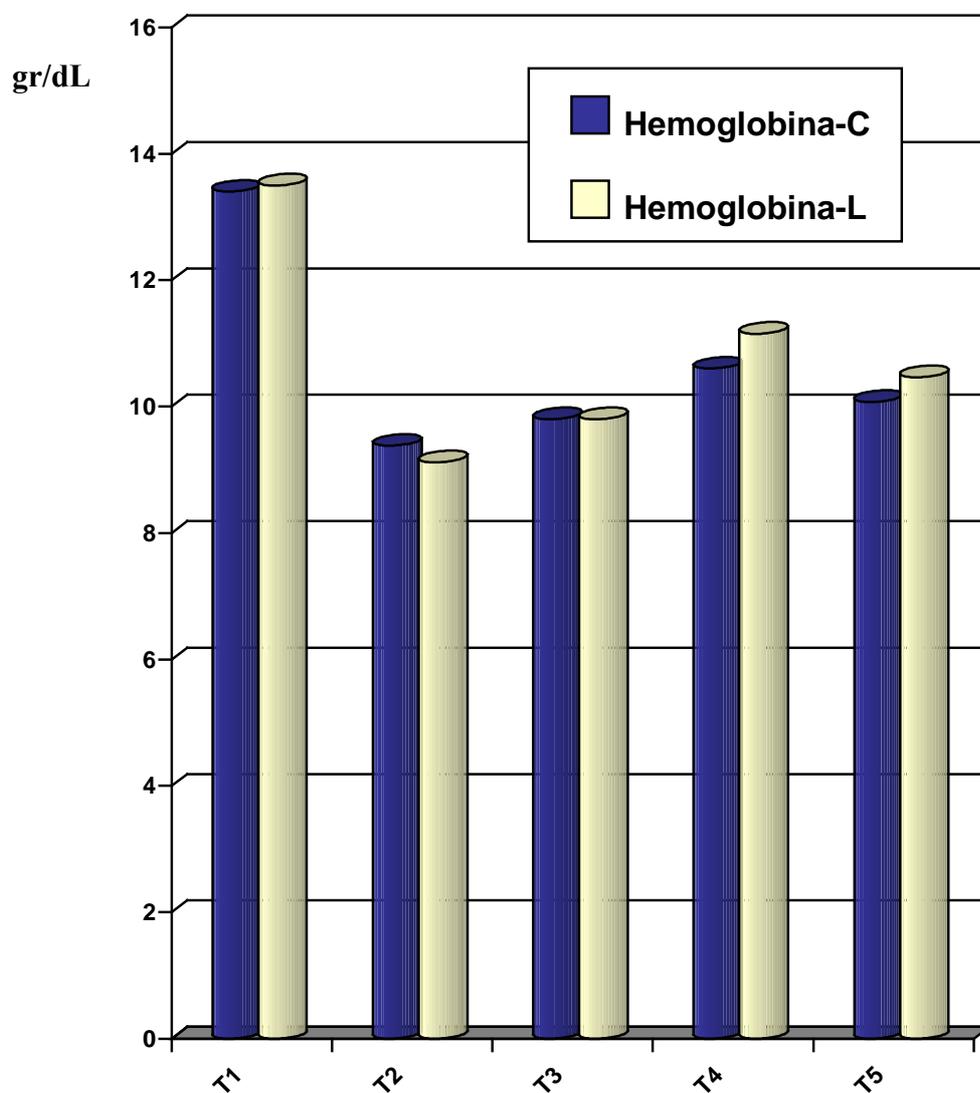
El descenso de la hemoglobina en las 12 primeras horas postbypass fue ligeramente superior en el grupo de pacientes con filtro convencional (10.07 ± 1.3 gr/dL, en el grupo de pacientes con filtro convencional versus 10.46 ± 1.3 gr/dL, en el grupo de pacientes con FDCEC; $p=0.086$) (figura 13); a pesar de que, no hubo diferencias en los requerimientos de transfusión de concentrados de hematíes (4.36 ± 3.09 unidades, en el grupo de filtro convencional versus 4.4 ± 2.2 unidades, en el grupo de filtro leukoguard; $p=0.891$), de transfusión de plasma (3.55 ± 2.3 en el grupo de filtro convencional versus 2.7 ± 2.1 en el grupo de filtro leukoguard; $p=0.400$), y de transfusión de plaquetas (5.1 ± 1.9 en el grupo de filtro convencional versus 4.6 ± 2.4 en el grupo de filtro leukoguard; $p=0.701$), durante el postoperatorio. (figura 14).

FIGURA 12. Sangrado por el tubo de drenaje torácico, en el postoperatorio inmediato.



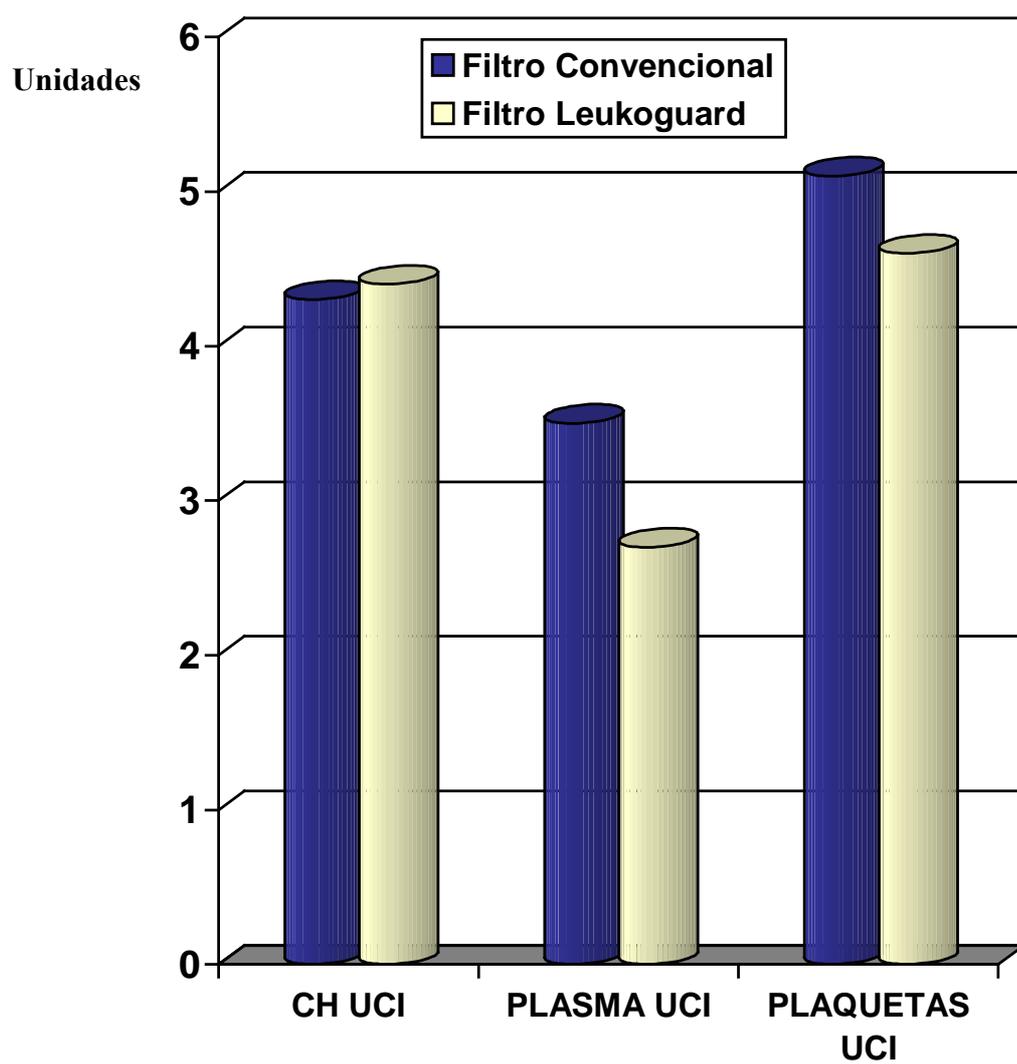
Tiempo1 (T1): primeras 6 horas en UCI; Tiempo 2 (T2): primeras 12 horas en UCI; Tiempo 3 (T3): primeras 24 horas en UCI;

FIGURA 13. Niveles de hemoglobina (gr/dL).



Tiempo1 (T1): precirugía; Tiempo 2 (T2): al desclampar aorta; Tiempo 3 (T3): a la salida de circulación extracorpórea; Tiempo 4 (T4): 1ª hora en UCI; Tiempo 5 (T5): 12 horas en UCI;
C: Grupo de pacientes con Filtro Convencional; L: Grupo de pacientes con Filtro Leukoguard.

FIGURA 14. Transfusión de hemoderivados en el postoperatorio inmediato.



CH: concentrados de hemáties
UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

3.7. Estancia en UCI.

No se detectaron diferencias entre ambos grupos, con respecto a la estancia en UCI (5.0 ± 4.0 días en el grupo de pacientes con filtro convencional versus 4.2 ± 2.7 días en el grupo de pacientes con filtro leukoguard; $p=0.299$). (Tabla 9).

TABLA 9. Estancia en UCI.

	Leucoguard (n=52)	Convencional (n=107)	p
Estancia UCI (días)	4.28±2.7	5.03±4.8	0.299
Estancia Hospitalaria (días)	27.8±10.3	29.6±16.6	0.463

5

DISCUSIÓN

El hallazgo principal de este estudio randomizado y controlado sugiere que el uso de un filtro desleucocitario usado en la línea arterial del bypass cardiopulmonar en pacientes de bajo riesgo sometidos a cirugía cardíaca, no mejora la morbilidad. Esta variable resultado, evaluado mediante la función cardiopulmonar, la incidencia de infección perioperatoria, fiebre, estado hiperdinámico, requerimientos transfusionales y estancia en UCI era similar en ambos grupos de pacientes (filtros desleucocitarios y filtros convencional). Sin embargo, los pacientes randomizados en el grupo de filtro desleucocitarios mostraron una menor incidencia de infección perioperatoria, fiebre y estado hiperdinámico, aunque no significativamente.

Algunos trabajos, sugieren que la morbilidad asociada con la circulación extracorpórea puede estar mediada, al menos en parte, por la activación de los neutrófilos. Por este motivo, se pensaba que la reducción de la población de leucocitos durante la circulación extracorpórea podría resultar en un descenso de la lesión tisular mediada por los neutrófilos, conllevando una menor morbilidad. Sin embargo, el descenso esperado en el número de leucocitos en el grupo de filtro desleucocitario comparado con el grupo de filtro convencional, no ocurría ni tras la circulación extracorpórea ni durante su estancia en UCI (figura 8). Similares resultados han sido publicados^{162,163}. Esto puede ser debido a que, el filtro desleucocitario de línea arterial tiene un efecto preferente sobre la activación de los neutrófilos, sin observarse una reducción aparente de leucocitos en la circulación sistémica tras el uso del mismo¹⁶⁴.

Resultados contradictorios han sido publicados en estudios previos en cuanto al uso clínico de filtro de línea arterial con capacidad de deplección de leucocitos durante la CEC, medidos por los parámetros de función pulmonar postoperatoria, función cardíaca, sangrado, transfusión y estancia hospitalaria. Nosotros medimos la función pulmonar por medio de la compliance pulmonar, el índice de oxigenación y el tiempo de ventilación mecánica, con diferencias no significativas entre ambos grupos de pacientes. En un estudio controlado randomizado, Mihaljevic *et al*⁶⁸ evaluaron la función pulmonar en 14 pacientes con filtro de leucodeplección bajo CEC, y lo compararon con un grupo control con filtro convencional. No hubo diferencias en la función pulmonar entre los dos grupos, valorada mediante el índice de oxigenación, la resistencia vascular pulmonar y el tiempo de intubación. Un estudio similar al nuestro, no pudo demostrar ningún beneficio en la filtración de leucocitos en la función pulmonar y miocárdica en el postoperatorio reglado de revascularización aortocoronaria comparada con pacientes que experimentaron CEC con un filtro convencional de línea arterial¹⁶³. Un reciente ensayo controlado, randomizado, no encontró ningún beneficio con respecto al tiempo de extubación, en pacientes programados para cirugía de revascularización aortocoronaria, en el grupo de filtración desleucocitaria¹⁶². Por el contrario, la leucodeplección mejoró la función respiratoria postoperatoria en pacientes de bajo riesgo⁶⁷ y pacientes con una baja capacidad de oxigenación preoperatoria ó largo tiempo de CEC¹⁶⁵. La inclusión de filtro desleucocitario durante la CEC produjo una reducción

transitoria del shunt intrapulmonar y mejoró la oxigenación sistémica, pero estas diferencias no persistieron más de 24 horas ⁶⁴.

El incremento de la inestabilidad hemodinámica durante la cirugía cardíaca puede ser debido a la liberación de citokinas ⁶³. La leucodeplección durante la CEC debería disminuir estos componentes tóxicos y así mejorar la función miocárdica y la función pulmonar postbypass. Un estudio precoz llevado a cabo in vivo en modelo porcino, mostró que la leucodeplección durante la reperfusión inicial resultaba en una mejora sostenida de la función ventricular izquierda postisquémica ¹⁶⁶. Sin embargo, en un estudio controlado diseñado para evaluar la influencia del filtro desleucocitario arterial en la función pulmonar y miocárdica postbypass, no hubo diferencias con respecto a la necesidad de soporte inotrópico y de los niveles de creatinquinasa MB y troponina perioperatoria entre los pacientes randomizados en el grupo de deplección de leucocitos versus el grupo de filtro convencional ¹⁶³. Nuestros resultados muestran que el índice cardíaco, las enzimas cardíacas y el índice de pacientes con disfunción cardíaca fueron similares en ambos grupos. Así, nuestros datos sugieren que la función cardiopulmonar no mejora con el uso de filtros desleucocitarios.

Ambos, donantes y receptor leucocitarios han sido implicados, en diferentes vías en las infecciones perioperatorias. Donantes alogénicos leucocitarios presente en las unidades de concentrados de hematíes han sido

involucrados en las infecciones perioperatorias de pacientes con bajo riesgo de cirugía cardíaca, demostrándose cómo la depleción de leucocitos de la sangre transfundida disminuye el índice de infección en estos pacientes ¹⁶⁷. Más recientemente, Silliman y colaboradores ¹⁶⁸ demostraron que la capa sobrenadante de la sangre almacenada contiene lípidos con factor activador de plaquetas (PAF)-like capaz de activar los neutrófilos, la célula implicada en el daño tisular, demostrando una respuesta vasoconstrictora y daño pulmonar. Estos resultados sugieren que la activación de los neutrófilos por el plasma sobrenadante de la sangre almacenada puede mediar un daño tisular en el contexto de un insulto endotóxico previo. Posteriormente, estos autores demostraron una relación entre fallo multiorgánico y transfusión de la sangre almacenada en pacientes traumáticos ¹⁶⁹. Recientemente, nuestro grupo encontró una asociación entre transfusión y neumonía nosocomial ¹⁷⁰ y entre transfusión y almacenamiento de concentrados de hematíes durante un tiempo superior a 28 días y desarrollo de neumonía nosocomial ¹⁷¹. En teoría, es posible que los neutrófilos activados durante la CEC, puedan tener el mismo efecto deletéreo que aquellos activados por la sangre almacenada transfundida. En nuestra serie, los pacientes randomizados en el grupo convencional tuvieron una mayor incidencia de infecciones perioperatorias, fiebre y estado hiperdinámico, que pacientes randomizados en el grupo de filtro desleucocitario (tabla 8), aunque las diferencias no fueron significativas.

El sangrado postoperatorio no quirúrgico está correlacionado con el conteo de leucocitos ¹⁷², la activación de la cascada del complemento y la producción de citokinas ⁶³. Por lo tanto, en teoría, eliminando los leucocitos de la sangre transfundida debería disminuir el sangrado así como los requerimientos de transfusión de sangre alogénica. Sin embargo, nuestros resultados, acorde a los resultados de otros autores ^{69,162}, no soporta esta hipótesis.

Finalmente, utilizamos la estancia en UCI como un marcador subrogado de morbilidad. Si la deplección de leucocitos tiene un efecto beneficioso, no detectado por las variables usada en este estudio, se podría ver reflejado en la estancia en UCI, la cual debería disminuir⁶⁷. Sin embargo, este y otro ensayos^{70,162}, tampoco han demostrado ningún efecto beneficioso de la desleucocitación en la estancia en UCI.

6

LIMITACIONES

Este estudio puede tener limitaciones inherente al tamaño muestral. Probablemente, en algunas de estas variables estudiadas (por ejemplo, las infecciones) podrían existir algunas diferencias significativas si el tamaño muestral hubiese sido mayor. Sin embargo, el tamaño de nuestra muestra puede ser considerada suficientemente grande si la comparamos con estudios previamente publicados. Otros múltiples factores relacionados con la dificultad de la cirugía, personal, equipamiento y manipulación pueden haber sido involuntariamente no considerados, no obstante, hemos evaluado la morbilidad a través de diferentes variables y creemos que esto es una contribución relevante de nuestro estudio.

7

CONCLUSIONES

Del análisis de los resultados de este estudio randomizado y controlado, se han extraído las siguientes conclusiones:

1. La leucodeplección no ha demostrado un efecto beneficioso a través del uso de filtro de línea arterial desleucocitario, en pacientes de bajo riesgo sometidos a cirugía cardíaca con circulación extracorpórea.
2. Se ha observado una tendencia a disminuir la incidencia de infección perioperatoria, el estado hiperdinámico y la fiebre postoperatoria en pacientes que pertenecían al grupo de filtro desleucocitario.
3. Creemos necesarias futuras investigaciones sobre los posibles efectos deletéreos de los leucocitos activados en pacientes que experimentan cirugía cardíaca bajo circulación extracorpórea.

8

RESUMEN

Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca pueden sufrir un aumento de la morbimortalidad relacionado con la circulación extracorpórea (CEC). La superficie de los circuitos de la CEC activan los leucocitos polimorfonucleares (PMNs), los cuáles se adhieren a las superficies endoteliales y migran a través de los vasos sanguíneos. Una vez en los tejidos, estos PMNs activados pueden producir disfunción de uno o más órganos. El daño tisular varía de ligero a severo y se traduce en diversos síndromes clínicos. El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, daño miocárdico y/o pulmonar y el aumento de las infecciones perioperatorias han sido relacionados con la CEC y probablemente con los PMNs activados.

El objetivo de este trabajo ha sido ***demostrar que el uso de un filtro arterial desleucocitario durante la CEC disminuye la morbilidad postoperatoria en pacientes con bajo riesgo sometidos a cirugía cardíaca.***

Para ello, se realiza un estudio aleatorizado, controlado, simple ciego y unicéntrico, en una Unidad de Cuidados Intensivos postquirúrgica de un Hospital Universitario de tercer nivel, incluyéndose 314 pacientes consecutivos sometidos a cirugía cardíaca con CEC, durante un período de 12 meses. El número de pacientes evaluables fue de 159 tras aplicar los criterios de exclusión preestablecidos previo a la cirugía. Los pacientes fueron estratificados en tres niveles, según su escala de Parsonnet al ingreso en el hospital: riesgo ligero (<4 de Parsonnet), riesgo moderado (4-7) y riesgo alto (8-

10). Una vez estratificados, fueron aleatorizados, por cada nivel de riesgo, para pertenecer al grupo de paciente con filtro convencional ó al grupo de pacientes con filtro desleucocitario. El objetivo de la estratificación según la escala de Parsonnet, fue evitar que las conclusiones finales del estudio pudieran ser explicadas por las diferencias en la gravedad del paciente. La variable objetivo fue la morbilidad. Se consideró que un paciente tenía elevada morbilidad, si presentaba algunas de las siguientes situaciones clínicas: Disfunción Cardiológica, Disfunción Pulmonar, Infecciones Perioperatorias, Fiebre >38°C y Estado Circulatorio Hiperdinámico y una mayor Estancia en UCI. El conteo de leucocitos, neutrófilos, linfocitos, plaquetas y niveles de hemoglobina fueron medidas en diferentes intervalos: antes de la cirugía, al desclampar aorta, a la salida de CEC, y en la primera hora y doceava hora de estancia en UCI. Los datos se recogieron y analizaron con el programa estadístico SPSS version 12.0.

En 52 pacientes se utilizaron el filtro desleucocitario y en 107 pacientes el filtro convencional. El uso del filtro desleucocitario conllevó una menor disfunción cardiaca: 17.3% vs 19.6%, $p=0,726$; menor desarrollo de disfunción pulmonar: 1.9% vs 4.6%; $p=0,393$; menor desarrollo de estado circulatorio hiperdinámico: 17.3% vs 19.6% $p=0,831$; y un menor número de infecciones: 5.7% vs 10.2%, $p=0,346$; También se observó con el uso del filtro desleucocitario una menor estancia en UCI (días): [4,28(2,7) vs 5,03(4,8);

p=0,299] y menor estancia hospitalaria [27,8(10,3) vs 29,6(16,6); p=0,463] aunque de forma no significativa.

El uso de filtro desleucocitario en la línea arterial del bypass cardiopulmonar en pacientes de bajo riesgo sometidos a cirugía cardíaca, no mejoró la morbilidad. Sin embargo, en este grupo de pacientes se observó una menor incidencia de infecciones perioperatoria, fiebre y estado hiperdinámico, aunque no significativamente.

Escasos ensayos controlados randomizados han investigado la influencia de la leucodeplección sobre la morbilidad en pacientes sometidos a cirugía cardíaca de bajo riesgo, y la necesidad de nuevos estudios ha sido reconocida.

9

BIBLIOGRAFÍA

¹ Lawrence L. Detailed diagnoses and procedures for patients discharged from short stay hospitals. *Vital Health Stat* 1986; 86: 169-172.

² Practice Guidelines for blood component therapy. A report by the American Society of Anaesthesiologist Task Force on Blood component Therapy. *Anaesthesiology* 1996;84:732-747.

³ Hébert PC, Hu LQ, Biro GP. Review of physiologic mechanisms in response to anaemia. *Can Med Assoc* 1997;156:S27-S40.

⁴ Shoemaker WC, Appel PL, Kram Hb, et al. Prospective trial of supranormal values of survivors as therapeutics goals in high-risk surgical patients. *Chest* 1988; 94:1176-1186.

⁵ Hébert PC, Wells G, Tweeddale M, et al. Does transfusion practice affect mortality in critically ill patients? *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1618-1623.

⁶ Hébert PC, Chin-Yee. Should Old Red Cells be Transfused in Critically ill patients?. In: Vincent JL (ed). Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine, Brussels, 2001; 19-22.

⁷ Ronco JJ, Fenwick JC, Tweeddale MG, et al. Identification of the critical oxygen delivery for anaerobic metabolism in critically ill septic and nonseptic humans. *JAMA* 1993;270:1724-1730.

⁸ Shibutani K, Komatsu JC, Kubal K, et al. Critical level of oxygen delivery in anesthetized man. *Crit Care Med* 1983;11:640-643.

⁹ Fitzgerald R, Potter RF, Dietz G, et al. The effect of transfusing aged red blood cells in oxygen supply dependency. *Chest* 106:55-60 .

¹⁰ Sielenkamper A, Chin-Yee, Martin C, et al. Diaspirin crosslinked hemoglobin improves systemic oxygen uptake in oxygen supply-dependent septic rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:1066-1072.

¹¹ Gattinoni L, Brazzi L, Pelosi P, et al. A trial of goal-oriented hemodynamic therapy in critically ill patients. *N Engl Med* 1995; 333:1025-1032.

¹² Boyd O, Ground M, Bennett D. A randomized clinical trial of the effect of deliberate perioperative increase of oxygen delivery on mortality in high risk surgical patients. *JAMA* 1993; 270:2699-2707.

¹³ Ronco JJ, Montaner JSG, Fenwick JC, et al. Pathologic dependence of oxygen consumption on oxygen delivery in acute respiratory failure secondary to AIDS-related *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Chest* 1990; 98:1463-1466.

¹⁴ Fewick JC, Dodek PM, Ronco JJ, et al. Increases concentrations of plasma lactate predict pathologic dependence of oxygen consumption on oxygen delivery in patients with adult respiratory distress syndrome. *J Crit Care* 1990; 5:81-86.

¹⁵ Ronco JJ, Phang PT, Walley KR, et al. Oxygen consumption is independent of changes in oxygen delivery in severe adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1992;143:1267-1273.

¹⁶ Shah Dm, Gottlieb Me, Rahm RL, et al. Failure of red blood cell transfusion to increase oxygen transport or mixed venous PO₂ in injured patients. *J Trauma* 1982; 22:741-746.

¹⁷ Steffes CP, Bender JS, Levison MA. Blood transfusion and oxygen consumption in surgical sepsis, *Crit Care Med* 1991;19:512-517.

¹⁸ Babineau TJ, Dzik WH, Borlase BC, et al. Reevaluation of current transfusion practices in patients in surgical intensive care units. *Am J Surg* 1992;164:22-25.

¹⁹ Gilbert EM, Haupt MT, Mandanas RY, et al. The effect of fluid loading, blood transfusion, and catecholamine infusion on oxygen delivery and consumption in patients with sepsis. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:873-878.

²⁰ Dietrich KA, Conrad SA, Hebert CA, et al. Cardiovascular and metabolic response to red blood cell transfusion in critically ill volume-resuscitated nonsurgical patients. *Crit Care Med* 1990;18:940-944.

²¹ Conrad SA, Dietrich KA, Hebert CA, et al. Effect of red cell transfusion on oxygen consumption following fluid resuscitation in septic shock. *Cis Shock* 1990; 31:419-429.

²² Marik PE, Sibbad WJ. Effect of stored-blood transfusion on oxygen delivery in patients with sepsis. *JAMA* 1993;269:3024-3029.

²³ Lorente JA, De Pablo R, Renes E, et al. Effects of blood transfusion on oxygen transport variables in severe sepsis. *Crit Care Med* 1993;21:1312-1318.

²⁴ Mink RB, Pollack MM. Effect of blood transfusion on oxygen consumption in pediatric septic shock. *Crit Care Med* 1990;18:1087-1091.

²⁵ Lucking SE, Williams TM, Chaten FC, et al. Dependence of oxygen consumption on oxygen delivery in children with hyperdynamic septic shock and low oxygen extraction. *Crit Care Med* 1990;18:1316-1319.

²⁶ Goodnough LT, Johnston M, Toy PT. Transfusion Medicine Academic Award Group. The variability of Trasnfusion practice in coronary bypass surgery. *JAMA* 1991;265:86-90.

²⁷ Leal SR, Jara I, Román MJ. Transfusión de concentrado de hematíes e infección postquirúrgica en pacientes críticos. *Med Clin (Barc)* 2000;115:625-629.

²⁸ Leal SR, Jiménez PI, Márquez JA, et al. Transfusion de hemoderivados en cirugía cardíaca. *Med Intensiva* 1995; 19:20-27.

²⁹ Klein HG. Immunomodulatory aspects of transfusion. *Anesthesiology* 1999; 91:861-865.

³⁰ Blumberg N. Allogenic transfusion and infection: economic and clinical implications. *Semin Hematol* 1997; 34:34-38.

³¹ Landers DF, Hill GE, Wong KC, et al. Blood transfusion-induced immunomodulation. *Anesth Anlg* 1996;82:187-204.

³² Waymack JP, Balakrishnank K, McNeal N, et al. Effect of blood transfusions on macrophage-lymphocyte interaction in an animal model. *Ann Surgery* 1986; 204:681-685.

³³ Vamvakas EC, Carven JH. Length of storage of transfused red cells and postoperative morbidity in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. *Transfusion* 2000; 40:101-109.

³⁴ Busch ORC, Hop WCJ, van Papendrecht MAWH, et al. Blood transfusions and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1993; 328:1372-1376.

³⁵ Heiss MM, Mempel W, Jausch K-W, et al. Beneficial effect of autologous blood transfusion on infectious complications after colorectal cancer surgery. *Lancet* 1993; 342:1328-1333.

³⁶ Van Watering LMG, Hermans J, Houbiers JGA, et al. Beneficial effects of leukocyte depletion of transfused blood on postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery. A randomized clinical trial. *Circulation* 1998; 97:562-568.

³⁷ Houbiers JGA, Brand A, van de Watering LMG, et al. Randomized controlled trial comparing transfusion of leukocyte-depleted or buffy-coat-depleted blood in surgery for colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994; 344:573-578.

³⁸ Jensen Ls, Kissmeyer-Nielsen P, Wolff B, et al. Randomized comparison of leukocyte-depleted versus buffy-coat-poor blood transfusion and complications after colorectal surgery. *Lancet* 1996; 348:841-845.

³⁹ Jensen LS, Andersen AJ, Christiansen PM, et al. Postoperative infection and natural killer cell function following blood transfusion in patients undergoing elective colorectal surgery. *Br J Surg* 1992;79:513-516.

⁴⁰ Tartter Pi, Mohandas K, Azar P, et al. Randomized trial comparing packed red cell blood transfusion with and without leukocyte depletion for gastrointestinal surgery. *Am J Surg* 1998; 176:462-466.

⁴¹ Vamvakas EC. Transfusion-associated cancer recurrence and postoperative infection: meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *Transfusion* 1996; 36:175-186.

⁴² Gott JP, Cooper WA, Schmidt FE, et al. Modifying risk for extracorporeal circulation: trial of four antiinflammatory strategies. *Ann Thorac Surg* 1998; 66:747-754.

⁴³ Heiss MN, Mempel W, Delanoff C, et al . Blood transfusion-modulated tumor recurrence: first results of a randomized study of autologous versus allogenic blood transfusion in colorectal cancer surgery. *J Clin Oncol* 1994;12:1859-1867.

⁴⁴ Vamvakas EC, Blajchman MA. Deleterious clinical effects of transfusion-associated immunomodulation: fact or fiction?. *Blood* 2001; 97:1180-1195.

⁴⁵ Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL, et al. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108: 626-635.

⁴⁶ Butler J, Rucker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993; 55: 552-59.

⁴⁷ Asimakopoulos G. Mechanisms of the systemic inflammatory response. *Perfusion* 1999; 14: 269-277.

⁴⁸ Asimakopoulos G, Taylor K. Effects of cardiopulmonary bypass on leukocytes and endothelial adhesion molecules. *Ann Thorac Surg* 1998; 66: 2135-2144.

⁴⁹ Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Eng J Med* 1989; 320: 365-376.

⁵⁰ Videm V, Mollnes TE, Fosse E, et al. Heparin-coated cardiopulmonary bypass equipment: I. Biocompatibility markers and development of complications in a high-risk population. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117: 794-802.

⁵¹ Stefanou DC, Gourlay T, Asimakopoulos G, et al. Leucodepletion during cardiopulmonary bypass reduces blood transfusion and crystalloid requirements. *Perfusion* 2001; 16: 51-58.

⁵² Williams L, Wilkins P. Granulocytes. In: Jandl JH (ed). *Blood. Textbook of Hematology*. Philadelphia, 1996. 145-152.

- ⁵³ Bevilaqua MP, Nelson RM: Selectins. *J Clin Invest* 1993; 91: 379-387.
- ⁵⁴ Stewart M, Thiel M, Hogg N: Leukocyte integrins. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7:690-696.
- ⁵⁵ Springer TA: Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm. *Cell* 1994; 76:301-314.
- ⁵⁶ Asimakopoulos G: Mechanisms of the systemic inflammatory response syndrome. *Perfusion* 1999; 14: 269-277.
- ⁵⁷ Van Eeden S, Miyagashima R, Haley L, et al: L-selectin expression increases on peripheral blood polymorphonuclear leukocytes during active marrow release. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 500-507.
- ⁵⁸ Kawahito K, Kobayashi E, Ohmori M, et al. Enhanced responsiveness of circulatory neutrophils after cardiopulmonary bypass: increased aggregability and superoxide producing capacity. *Artif Organs* 2000; 24: 37-42.
- ⁵⁹ Patrick DA, Moore EE, Fullerton DA, et al. Cardiopulmonary bypass renders patients at risk for multiple organ failure via early neutrophil priming and late neutrophil disability. *J Surg Res* 1999; 86: 42-49.

⁶⁰ Asimakopoulos G, Taylor KM: The effects of cardiopulmonary bypass on leukocyte and endotelial adhesión molecules. *Ann Thorac Surg* 1998; 66: 2135-2144.

⁶¹ Asimakopoulos G, Kohn A, Stefanou DC, et al: Leukocyte integrin expression in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2000; 69: 1192-1197.

⁶² Karfer R. In: Matheis G, Moritz A, Scholz M (eds). *Leukocyte Depletion in Cardiac Surgery and Cardiology*. Basel. 2002; 1-12.

⁶³ Laffey JG, Boylan JF, Cheng DC. The Systemic Inflammatory Response to Cardiac Surgery. *Anesthesiology* 2002; 97:215-252.

⁶⁴ Johnson D, Thomson D, Mycyk T, et al. Depletion of Neutrophils by filter during aortocoronary bypass surgery transiently improves postoperative cardiorespiratory status. *Chest* 1995;107:1253-1259.

⁶⁵ Di Salvo C, Louca LL, Pattichis K, et al. Does activated neutrophil depletion on bypass by leukocyte filtration reduce myocardial damage? A preliminary report. *J Cardiovasc Surg* 1996; 37:93-100.

⁶⁶ Stefanou DC, Gourlay T, Asimakopoulos G, et al. Leukodepletion during cardiopulmonary bypass reduces blood transfusion and crystalloid requirements. *Perfusion* 2001;16: 51-58.

⁶⁷ Gott JP, Cooper WA, Schmidt FEJ, et al. Modifying risk for extracorporeal circulation: trial of four antiinflammatory strategies. *Ann Thorac Surg* 1998; 66:747-753.

⁶⁸ Mihaljevic T, Tonz M, Segesser LK, et al. The influence of leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass on postoperative lung function. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 109:1138-1145.

⁶⁹ Baksaas ST, Flom-Halvorsen HI, Ovrum E, et al. Leukocyte filtration during cardiopulmonary reperfusion in coronary artery bypass surgery. *Perfusion* 1999;14:107-117.

⁷⁰ Hurst T, Johnson D, Cujec B, et al. Depletion of activated neutrophils by a filter during cardiac valve surgery. *Can J Anesth* 1997; 44:131-139.

⁷¹ Hashimoto K, Miyamoto H, Suzuki K, et al. Evidence of organ damage after cardiopulmonary bypass. The role of elastase and vasoactive mediators. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104: 666-673.

⁷² Braude S, Nolop KB, Fleming JS, et al. Increased pulmonary transvascular protein flux after canine cardiopulmonary bypass. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134: 867-872.

⁷³ Turkoz R, Yorukoglu K, Akcay A, et al. The effect of pentoxifylline on the lung during cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg* 1996; 10: 339-346.

⁷⁴ Hachida M, Hanayama N, Okamura T, et al. The role of leukocyte depletion in reducing injury to myocardium and lung during cardiopulmonary bypass. *ASAIO J* 1995; 41: 291- 294.

⁷⁵ Johnson D, Thomson D, Hurst T , et al. Neutrophil-mediated acute lung injury after extracorporeal perfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 107: 1193-1202.

⁷⁶ Carney DE, Lutz CJ, Picone AL, et al. Matriz metalloprotenase inhibitor prevents acute lung injury after cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999; 100: 400-406.

⁷⁷ Yamazaki T, Ooshima H, Usui A, et al. Protective effects of ONO-5046*Ma, a specific neutrophil elastase inhibitor, on postoperative lung injury. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 2141-2146.

⁷⁸ Friedman M, Wang SY, Sellke FW, et al. Pulmonary injury after total or partial cardiopulmonary bypass with thromboxane synthesis inhibition. *Ann Thorac Surg* 1995; 59: 598-603.

⁷⁹ Dreyer WJ, Michael LH, Millman EE, et al. Neutrophil sequestration and pulmonary dysfunction in a canine model of open heart surgery with cardiopulmonary bypass. Evidence for a CD18-dependent mechanism. *Circulation* 1995; 92: 2276-2283.

⁸⁰ Zahler S, Massoudy P, Hartl H, et al. Acute cardiac inflammatory responses to postischaemic reperfusion during cardiopulmonary bypass. *Cardiovasc Res* 1999; 41: 722-730.

⁸¹ Wilson IC, Gardner TJ, DiNatale JM, et al. Temporary leukocyte depletion reduces ventricular dysfunction during prolonged postischemic reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106: 805-810.

⁸² Fleming A: A simple method of removing leukocytes from blood. *Br Exp Pathol* 1928; 7: 281-286.

⁸³ Greenwalt TJ, Gajewski M, McKenna JL. A new method for preparing buffy-coat poor blood. *Transfusion* 1962; 2: 221-230.

⁸⁴ Swank RL, Hirsh H, Breur M, et al. Effect of glass wool filtration on blood during extracorporeal circulation. *Surg Gynecol Obstet* 1963; 117: 547-552.

⁸⁵ Loss JA, Blok-Schut B, Kipp B. Size distribution, electronic recognition and counting of human blood monocytes. *Blood* 1976; 48: 473-479.

⁸⁶ Williamson JR, Shanahan MO, Hodimuth RM. The influence of temperature on red cell deformability. *Blood* 1975; 46: 611-624.

⁸⁷ Milner GR, Fagence R, Darnborough J. Temperature dependence of leukocyte depletion of blood with an automatic blood cell processor. *Transfusion* 1982; 22:48-50.

⁸⁸ Albelda SM, Buck CA: Integrins and other cell adhesion molecules. *FASEB J* 1990; 4: 2868-2880.

⁸⁹ Lederman DM, Cumming RD, Petschek HE, et al. The effect of temperature on the interaction of platelets and leukocytes with material exposed to flowing blood. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1978; 24: 557-560.

⁹⁰ Manara FS, Schneider DL. The activation of the human neutrophil respiratory burst occurs only at temperatures above 17°C. Evidence that activation requires membrane fusion. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 132: 696-701.

⁹¹ Swank RL: Alteration of blood on storage: Measurement of adhesiveness of "aging" platelets and leukocytes and their removal by filtration. *N Engl J Med* 1961. 265:728-733.

⁹² Truter EJ, Murray PW: Morphological classification by scanning electron microscopy of erythrocytes stored at 4°C in citrate-phosphate-dextrose anticoagulant. *Med Lab Sci* 1990; 47:113-119.

⁹³ Humbert JR, Fermin CD, Winsor EL. Early damage to granulocytes during storage. *Semin Hematol* 1991; 28:10-13.

⁹⁴ Forrester JV, Lackie JM: Adhesión of neutrophil leukocytes under conditions of flow. *J Cell Sci* 1984; 70: 93-110.

⁹⁵ Absolom DR, Thompson C, Hawthorn, et al. Kinetics of cell adhesion to polymer surfaces. *J Biomed Mater Res* 1988; 22:215-229.

⁹⁶ Van Oss CJ, Gillman CF, Neumann AW. Phagocytosis as a surface phenomenon IV. The minimum size and composition of antigen-antibody complexes that can become phagocytized. *Immunol Commun.* 1974; 3: 77-84.

⁹⁷ Dzik S. Mechanisms of leukocyte removal by filtration. In: Lane TA, Myllylä G (eds). Leukocyte-Depleted Blood Products. Curr Stud Hematol Blood Transf. Basel. 1994; 60:123-133.

⁹⁸ Van Kampen CL, Gibbons DF: Effect of implant surface chemistry upon arterial thrombosis. J Biomed Mater Res 1979; 13: 517-541.

⁹⁹ Lim F, Cooper SL: The effect of surface hydrophilicity on biomaterial-leukocyte interactions. ASAIO Trans 1991; 37: 146-147.

¹⁰⁰ Unarska M, Robinson GB: Adherence of human leukocytes to synthetic polymer surfaces. Life Support Syst 1978; 5:283-292.

¹⁰¹ Kora S, Kuroki H, Kido T, et al. Mechanisms of leukocyte removal by porous foam. In: Clinical Applications of Leukocyte Depletion. Oxford. Blackwell Scientific, 1993: 65-76.

¹⁰² Oka S, Maeda K, Nishimura T, et al. Mechanisms of leukocyte removal by fibers; In: Clinical Applications of Leukocyte Depletion. Oxford. Blackwell Scientific, 1993: 77-84.

¹⁰³ Gourlay T, Fleming J, Taylor KM. Laboratory evaluation of the Pall LG-6 leukocyte depleting arterial line filter. Perfusion 1992; 7:131-140.

¹⁰⁴ Gourlay T, Fleming J, Taylor KM. The effects of pulsatile flow on the leukocyte depleting qualities of the Pall G-6 leukocyte depleting arterial line filter. *Perfusion* 1992; 7:227-232.

¹⁰⁵ Thurlow PJ, Doolan L, Sharp R, et al. Studies of the effect of Pall leukocyte filters LG6 and AV6 in an in vitro simulated extracorporeal circulatory system. *Perfusion* 1995; 10: 291-300.

¹⁰⁶ Thurlow PJ, Doolan L, Sharp R, et al. Laboratory studies of the effect of Pall extracorporeal leukocyte filters LG6 and AV6 on patients undergoing coronary bypass grafts. *Perfusion* 1996; 11: 29-37.

¹⁰⁷ Sheppard SV, Kennedy NJ, Smith DC. Arterial line filter pressure gradients. *Perfusion* 1997; 12: 55-59.

¹⁰⁸ Nanson JK, Sheppard SV, Guryeta M, et al. A comparison of sequential total and activated white cell count in patients undergoing coronary artery bypass grafting, using cardiopulmonary bypass, with and without a white cell filter. *Perfusion* 1999; 14: 34-42.

¹⁰⁹ Altman DG. How large a sample? In: Gore SM, Altman DG (eds). *Statistics in Practice*. London. 1982: 85-92.

¹¹⁰ Gu YJ, de Vries AJ, Vos P, et al. Leukocyte depletion during cardiac operations: A new approach through the venous bypass circuit. *Ann Thorac Surg* 1999; 67: 604-609.

¹¹¹ Matheis G, Scholz M, Gerber J, et al. Leukocyte filtration in the early reperfusion phase on cardiopulmonary bypass reduces myocardial injury. *Perfusion* 2001; 16: 43-49.

¹¹² Sheppard SV: Are the occasional high pressure gradients associated with leukocyte-reducing filters and oxygenators a similar phenomenon?. *Perfusionist* 2000; 24: 7-10.

¹¹³ Sheppard SV, Huxtable S, Smith DC, et al. Does the use of aggressive blood cooling during CPB cause fibrin precipitation?. *Perfusion* 1999; 14: 25-32.

¹¹⁴ Fukushima N, Shirakura R, Nakata S, et al. Effects of terminal cardioplegia with leukocyte depleted blood on heart grafts preserved for 24 hours. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11: 676-682.

¹¹⁵ Kawata H, Sawatari K, Mayer JE. Evidence for the role of neutrophils in reperfusion injury after cold cardioplegic ischemia in neonatal lambs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 103: 908-918.

¹¹⁶ Breda MA, Drinkwater DC, Laks H, et al. Prevention of reperfusion injury in the neonatal heart with leukocyte depleted blood. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1989; 97: 654-665.

¹¹⁷ Pearl JM, Drinkwater DC, Laks H, et al. Leukocyte-depleted reperfusion of transplanted human hearts prevents ultrastructural evidence of reperfusion injury. *J Surg Res* 1992; 52: 298-308.

¹¹⁸ Ichihara T, Yasuura K, Maseki T, et al. The effects of using a leukocyte removal filter during cold blood cardioplegia. *Surg Today Jap J Surg* 1994; 24: 966-972.

¹¹⁹ Pala MG, Paolini G, Paroni R, et al. Myocardial protection with and without leucocyte depletion: A comparative study on the oxidative stress. *J Surg Res* 1994; 54: 305-312.

¹²⁰ Palatainos G, Balentine G. Leucocyte filtered blood cardioplegia and controlled reperfusion. *International Congress of the Society of Cardiovascular Surgery. Perfusion* 1994; 8: 25-32.

¹²¹ Sawa Y, Matsuda H, Shimazaki Y. Evaluation of leukocyte depleted terminal blood cardioplegia in patients undergoing elective and emergency coronary bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108: 1125-1131.

¹²² De Vecchi E, Paroni R, Pala MG. Role of leucocytes in free radical production during myocardial revascularisation. *Heart* 1997; 77: 449-455.

¹²³ Palatianos GM, Balentine G, Astras G, et al: Leukocyte filtration reduces myocardial reperfusion morbidity. *Perfusion* 2000; 15: 47-54.

¹²⁴ Roth M. Single leukocyte filter (Pall BC1B) fails in multidose cold blood cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997; 113: 1116-1117.

¹²⁵ Heggie A, Corder JS, Crichton PR, et al. Clinical evaluation of the new Pall leukocyte depleting blood cardioplegia filter (BC1). *Perfusion* 1998; 13: 17-25.

¹²⁶ Suzuki I, Ogoshi N, Chiba M. Clinical evaluation of a leucocyte-depleting blood cardioplegia filter (BC1B) for elective open-heart surgery. *Perfusion* 1998; 13: 205-210.

¹²⁷ Nakamae K. Experimental use of the blood cardioplegia filter BC1B. *J Extracorp Tech* 1998; 24: 70-75.

¹²⁸ Roth M, Kraus B, Scheffold T, et al. The effect of leukocyte-depleted blood cardioplegia in patients with severe left ventricular dysfunction: A randomized, double-blind study. *Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 120: 642-650.

¹²⁹ Browning PG, Pullan M, Jackson M. Leucocyte-depleted cardioplegia does not reduce reperfusion injury in hypothermic coronary artery bypass surgery. *Perfusion* 1999; 14: 371-377.

¹³⁰ Matsuda H, Fukushima N, Sawa Y. First brain dead honor Herat transplantation under new legislation in Japan. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 47: 499-505.

¹³¹ Hayashi Y, Sawa Y, Nishimura M. Clinical evaluation of leukocyte-depleted blood cardioplegia for pediatric open heart operation. *Ann Thorac Surg* 2000; 69: 1914-1919.

¹³² Hansboro S. Clinical evaluation of the Pall BC1B leukocyte depleting blood cardioplegia filter. *Perfusion* 2000; 15: 235-243.

¹³³ Baksaas T, Videm V, Mollnes TE, et al. Leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass hardly changed leukocyte counts and did not influence myeloperoxidase, complement, cytokines or platelets. *Perfusion* 1998; 13: 429-436.

¹³⁴ Fabbri A, Manfredi J, Piccin C, et al. Systemic leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 2001; 16:11-18.

¹³⁵ Gott JP, Cooper WA, Schmidt FE Jr, et al. Modifying risk for extracorporeal circulation: trial of four anti-inflammatory strategies. *Ann Thorac Surg* 1998; 66: 747-753.

¹³⁶ Baksaas ST, Flom-Halvorsen HI, Ovrum E, et al. Leukocyte filtration during cardiopulmonary reperfusion in coronary artery bypass surgery. *Perfusion* 1999; 14: 107-117.

¹³⁷ Gu YJ, de Vries AJ, Vos P, et al. Leukocyte depletion during cardiac operations: a new approach through the venous bypass circuit. *Ann Thorac Surg* 1999; 67: 604-609.

¹³⁸ Hurst T, Johnson D, Cujec B, et al. Depletion of activated neutrophils by a filter during cardiac valve surgery. *Can J Anaesth* 1997; 44: 131-139.

¹³⁹ Reeve WG, Ingram SM, Smith DC. Respiratory function after cardiopulmonary bypass: A comparison of bubble and membrane oxygenators. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1994; 8: 502-508.

¹⁴⁰ Hachida M, Hanayama N, Okamura T, et al. The role of leukocyte depletion in reducing injury to myocardium and lung during cardiopulmonary bypass. *ASAIO J* 1995; 41: 291-294.

¹⁴¹ Mihaljevic T, Tonz M, Von-Segesser LK, et al. The influence of leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass on postoperative lung function: A clinical study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 109: 1138-1145.

¹⁴² Johnson D, Thomson D, Mycyk, et al. Depletion of neutrophils by filtration during aortocoronary bypass surgery transiently improves postoperative cardiorespiratory status. *Chest* 1995; 107: 1253-1259.

¹⁴³ Al-Ebrahim K, Shaffei H. Our experience with using the Pall LG6 leukocyte depleting filter during cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993; 56: 1216-1217.

¹⁴⁴ Sheppard SV, Rehman RH, Kennedy NJ, et al. Does the duration of cardiopulmonary bypass influence the clinical effectiveness of leukocyte depleting arterial line filters. *Perfusion* 1998; 13: 298-306.

¹⁴⁵ Palanzo DA, Manley NJ, Montesano RM, et al. Clinical evaluation of the Leukoguard (LG-6) arterial line filter for routine open heart surgery. *Perfusion* 1993; 8: 489-496.

¹⁴⁶ Kennedy NJ, Sheppard SV, Smith DC. Leucocyte depleting vs non-leucocyte depleting filters. A prospective randomized study comparing oxygenation indices and time to extubation. *Br J Anaesth* 1998; 80: 43-52.

¹⁴⁷ Baksaas ST, Videm V, Mollnes TE. Leucocyte filtration during cardiopulmonary bypass hardly changed leucocyte counts and did not influence myeloperoxidase, complement, cytokines or platelets. *Perfusion* 1998; 13: 429-436.

¹⁴⁸ Sheppard SV, Smith DC, Gibbs RV. The effect of blood temperature on leukocyte depletion rates in vitro study. *Perfusion* 1999; 14: 164-172.

¹⁴⁹ Alexiou C, Sheppard SV, Haw MP, et al. The effect of blood temperature (35°C vs 28°C) on leukocyte depletion during CABG. *Perfusion* 2000; 15: 335-349.

¹⁵⁰ Lust RM, Bode AP, Yang L, et al. In-line leukocyte filtration during bypass. Clinical results from a randomized prospective trial. *ASAIO J* 1996; 42: 819-822.

¹⁵¹ Mair P, Hoermann C, Mair J, et al. Effects of a leukocyte depleting arterial line filter on perioperative proteolytic enzyme and oxygen free radical release in patients undergoing aortocoronary bypass surgery. *Acta Anaesthesiol Scand* 1999; 43: 452-457.

¹⁵² Mihaljevic T, Tonz M, Von Segesser LK, et al. The influence of leukocyte filtration during cardiopulmonary bypass on postoperative lung function. A clinical study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 109:1138-1145.

¹⁵³ Ohto T, Yamamoto F, Nakajima N. Evaluation of leukocyte-reducing arterial line filter (LG6) for postoperative lung function, using cardiopulmonary bypass. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 48: 295-300.

¹⁵⁴ Treacher DF, Sabbato M, Brown KA, et al. The effects of leucodepletion in patients who develop the systemic inflammatory response syndrome following cardiopulmonary bypass. *Perfusion* 2001; 16: 67-73.

¹⁵⁵ Gu YJ, de Vries AJ, Boonstra PW, et al. Leukocyte depletion results in improved lung function and reduced inflammatory response after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 112: 494-500.

¹⁵⁶ Chiba Y, Muraoka R, Haya AI, et al. Leukocyte depletion and prevention of reperfusion injury during cardiopulmonary bypass. A clinical study. *Cardiovasc Surg* 1993; 1: 350-356.

¹⁵⁷ Matheis G, Scholz M, Gerber J, et al. Leukocyte filtration in the early reperfusion phase on cardiopulmonary bypass reduces myocardial injury. *Perfusion* 2001; 16: 43-49.

¹⁵⁸ Parsonnet V, Dean D, Bernstein AD. A method of uniform stratification of risk for evaluating the results of surgery in acquired adult heart disease. *Circulation* 1989; 79: 3-12.

¹⁵⁹ ACCP Evidence-Based Assessment of Diagnostic Tests for ventilator – associated pneumonia. *Chest*. 2000; 17:177-218.

¹⁶⁰ El Oakley RM, Wright JE. Postoperative mediastinitis: classification and management. *Ann Thorac Surg*. 1996; 61:1030-1036.

¹⁶¹ Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med*. 1991; 115: 457-469.

¹⁶² Sahlman A, Ahonen J, Salo JA, et al. No impact of a leucocyte depleting arterial line filter on patient recovery after cardiopulmonary bypass. *Acta Anesthesiol Scand* 2001; 45: 558-563.

¹⁶³ Mair P, Hoermann C, Mair J, et al. Effects of a leucocyte depleting arterial line filter on perioperative proteolytic enzyme and oxygen free radical release in patients undergoing aortocoronary bypass surgery. *Acta Anesthesiol Scand* 1999; 43: 452-457.

¹⁶⁴ Ortolano G, Aldea GS, Lilly K, et al. A review of leukofiltration in cardiac surgery: the time course of reperfusion injury may facilitate study design of anti-inflammatory effects. *Perfusion* 2002; 17: 53-62.

¹⁶⁵ Marioka K, Muraoka R, Chiba Y, et al. Leukocyte and platelet depletion with a blood cell separator: Effects on lung injury after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 111: 45-54.

¹⁶⁶ Wilson IC, Gardner TJ, DiNatale JM, et al. Temporary leukocyte depletion reduces ventricular dysfunction during prolonged postischemic reperfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106: 805-810.

¹⁶⁷ Van de Watering LM, Hermans J, Houbiers JG, et al. Beneficial effects of leukocyte depletion of transfused blood on postoperative complications in patients undergoing cardiac surgery: A randomized clinical trial. *Circulation* 1998; 97: 562-568.

¹⁶⁸ Silliman CC, Moore EE, Johnson JL, et al. Transfusion of the injured patient. Proceed with caution. *Shock* 2004; 21: 291-299.

¹⁶⁹ Offner PJ, Moore EE, Biffl WL, et al. Increased rate of infection associated with transfusion of old blood after severe injury. *Arch Surg* 2002;137:711-717.

¹⁷⁰ Leal-Noval SR, Márquez JA, García-Curiel A, et al. Nosocomial pneumonia in patients undergoing heart surgery. *Crit Care Med.* 2000; 28:935-940.

¹⁷¹ Leal-Noval SR, Jara I, García-Garmendía JL, et al. Influence of erythrocyte concentrate storage time on post surgical morbidity in cardiac surgery patients. *Anesthesiology* 2003; 98: 815-822.

¹⁷² Despostis GI, Levine V, Goodnough LT. Relationship between leukocyte count and patient risk for excessive blood loss after cardiac surgery. *Crit Care Med* 1997; 25:1338-1346.