

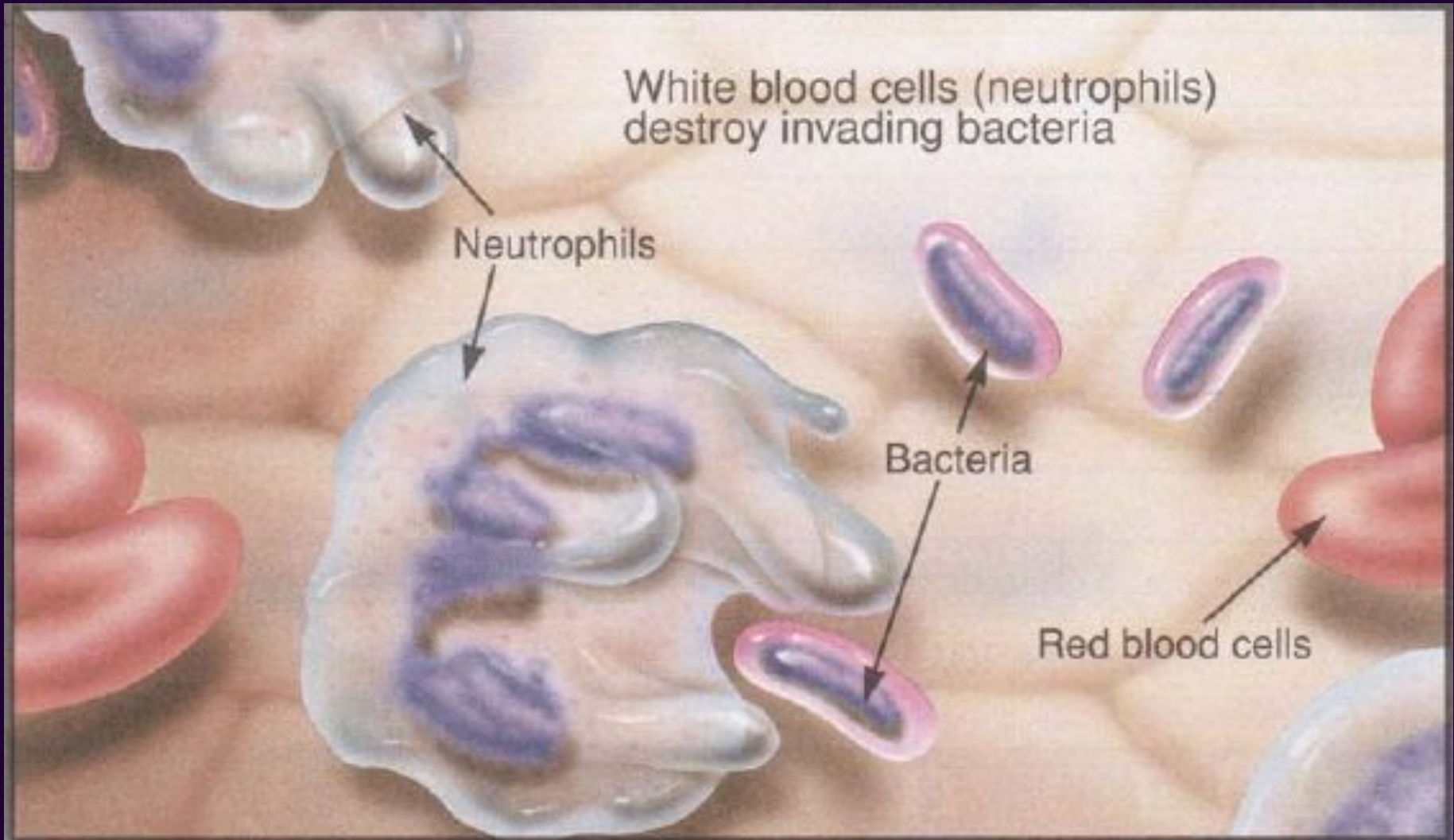
# **Лабораторные методы в дифференциальной диагностике нейтропений**

**Кафедра онкологии и гематологии ПФ РНИМУ им Н.И.Пирогова**

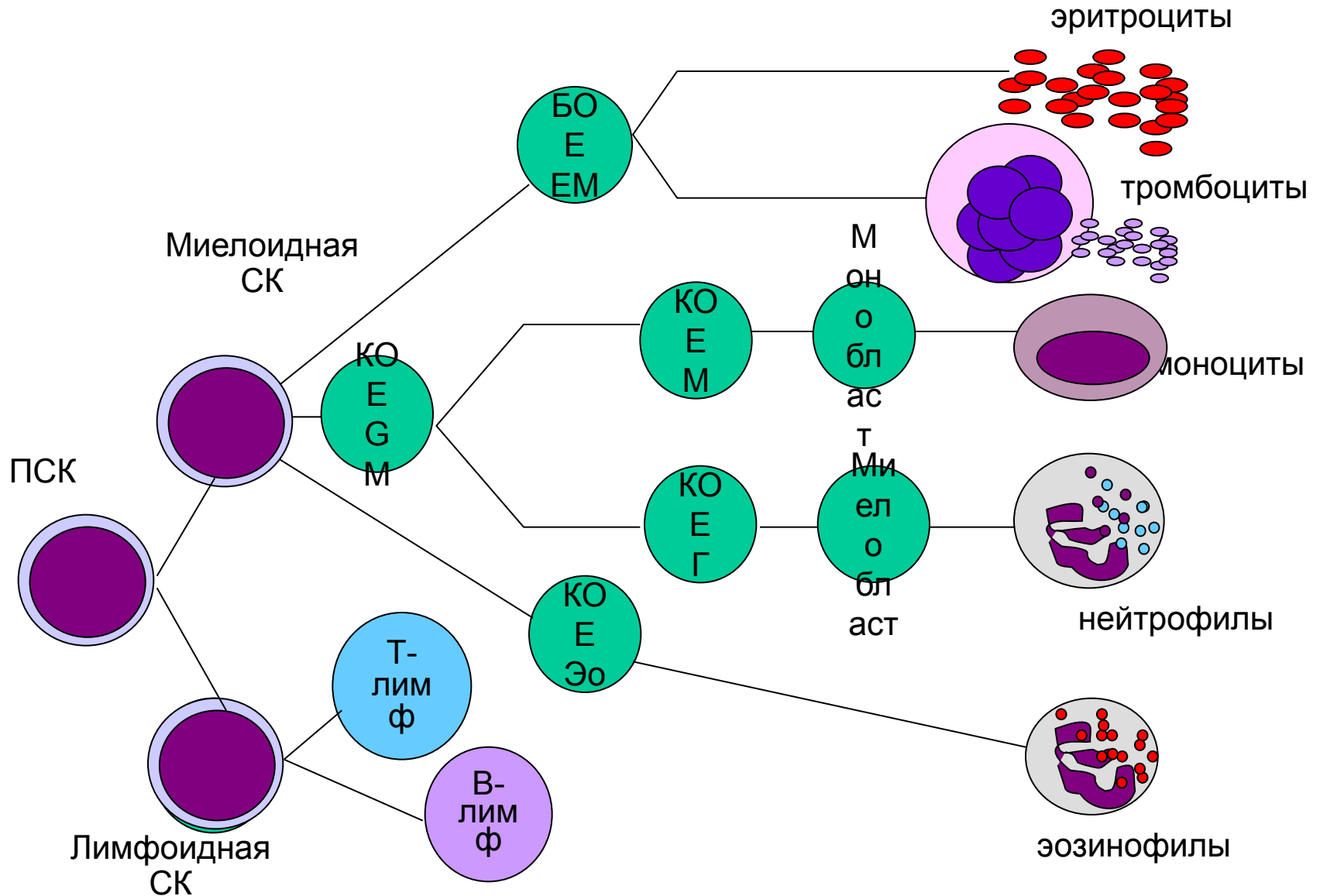
**Электив «Значение исследований крови в клинической практике»**

**д.м.н., профессор С.А.Румянцев**

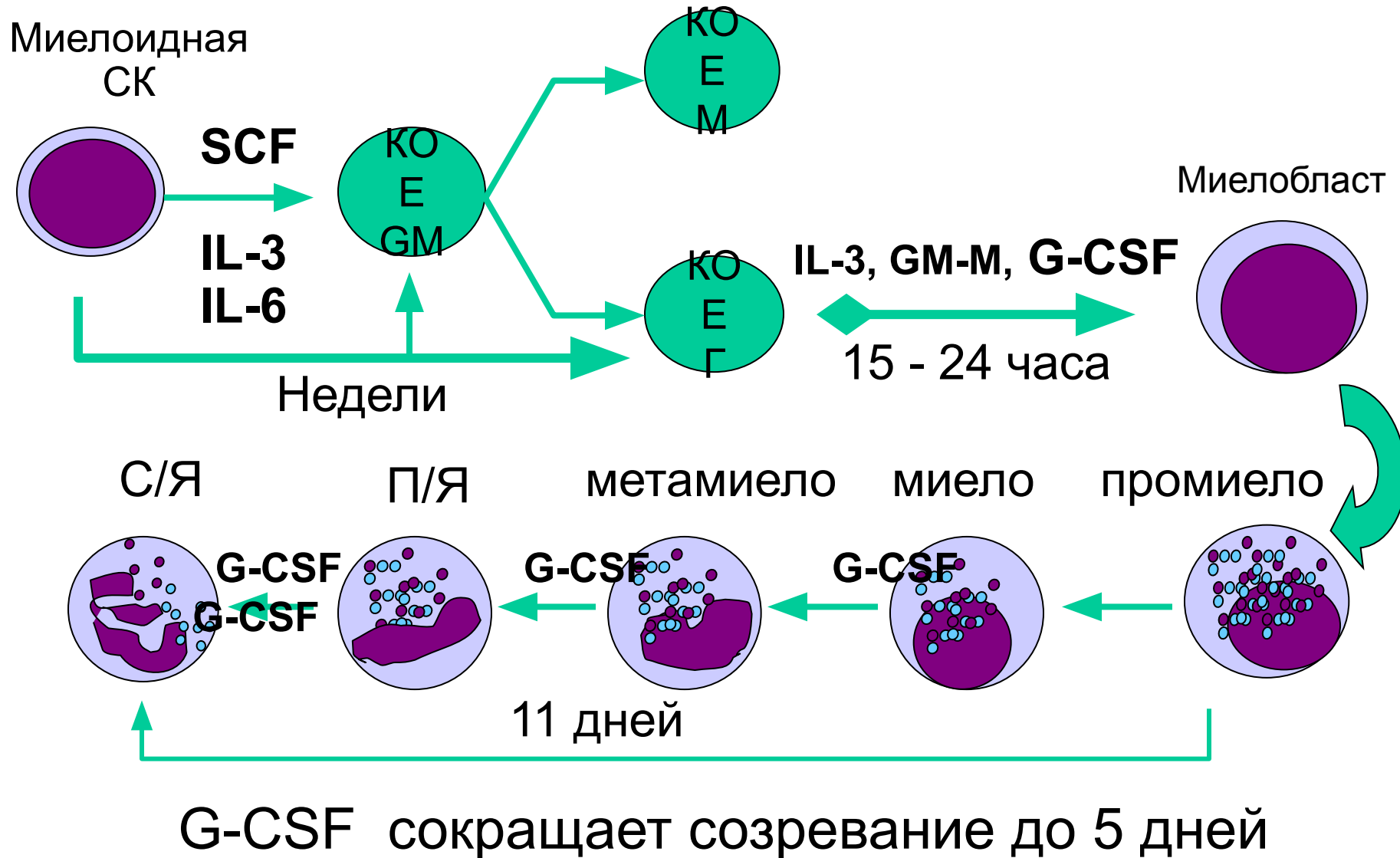
# Функция нейтрофила



# Схема кроветворения



# Схема кроветворения: миелопоэз



Дефекты нейтрофильного звена разделяются на:

- количественные – нейтропении
- качественные – дефекты функции нейтрофилов

- Нейтропения определяется как уменьшение количества циркулирующих нейтрофилов периферической крови ниже 1500/мкл,
- у детей в возрасте от 2 недель до 1 года нижней границей нормы является 1000/мкл.

# Классификация нейтропенических состояний

## По степени выраженности:

Снижение нейтрофилов до 1000/мкл расценивается как легкая степень нейтропении, 500-1000/мкл – средняя, менее 500 – тяжелая степень (агранулоцитоз).

По продолжительности нейтропении разделяются на острые (до 3 мес.) и хронические (более 3 мес.)

# Виды нейтропений

- Врожденные нейтропении:
- Приобретенная нейтропения
- Хроническая идиопатическая нейтропения



# Врожденные нейтропении

## 1. Тяжелая врожденная нейтропения (Severe congenital neutropenia -SCN)

- тяжелая врожденная нейтропения с аутосомно-рецессивным типом наследования (синдром Костмана)
- тяжелая врожденная нейтропения с аутосомно-доминантным типом наследования
- X-сцепленная нейтропения

## 2. Циклическая нейтропения

## 3. Врожденные метаболические болезни, сопровождающиеся нейтропенией:

- Гликогеноз тип 1в
- Метиламиноацидурия
- Синдром Барта
- Синдром Швахмана - Даймонда

## 4. Первичные иммунодефициты, сопровождающиеся нейтропенией

- гипер-IgM синдром
- агаммаглобулинемия
- ретикулярная дисгенезия

## 5. WHIM синдром (warts, hypoimmunoglobulinemia, myelokatexis) (миелокахексия)

## 6. Синдром Чедиака-Хигаши

## 7. Врожденный дискератоз

# Приобретенные нейтропении

## 1. Иммунные:

- первичная аутоиммунная
- вторичная аутоиммунная
- аллоиммунная нейтропения новорожденных

## 2. Вторичные (симптоматические) нейтропении

- инфекционные (ВИЧ, ЦМВ, парвовирус 19, Helicobacter pylori и др. вирусные и бактериальные инфекции)
- лекарственно индуцированные
- вследствие терапии цитостатиками
- при заболеваниях крови (острые лейкозы, МДС, апластическая анемия)
- при аутоиммунных заболеваниях (СКВ, ревматоидный артрит)
- при трансплантации костного мозга, стволовых клеток, почки.
- как следствие гиперспленизма (портальная гипертензия, болезнь Гоше, новообразования, инфекции).
- неэффективный гранулоцитопоз (дефицит витамина В12, фолиевой кислоты, меди).

# Дифференциальный диагноз нейтропении



# Дифференциальный диагноз нейтропении

## Тяжелая хроническая нейтропения

АКН < 0.5 10<sup>9</sup>/л (< 1.0 10<sup>9</sup>/л + тяжелые инфекции)  
в 3 и > анализах крови в течение 6 мес.

Исключаются симптоматические нейтропении при  
МДС, лейкозе, апластической анемии, аутоиммунном  
заболевании, ВИЧ, лекарственноиндуцированные.

Отставание в росте

Нормальный рост

Нейтральный жир в стуле  
Костные аномалии

Врожденная  
дилатационная  
кардиомиопатия

Гепатомегалия  
Гипогликемия

Нет других  
симптомов

Нарушение функции  
поджелудочной железы

3-метилглутаконикацидурия

Дефект  
глюкозо-6 фосфат-  
транслоказы

Нормальный потовый тест

Низкий холестерин

**Синдром Швахмана  
Даймонда**

**Барс синдром**

**Гликогеновая  
болезнь 1в тип**

**Метилмалонацидемия**

**Идиопатическая  
нейтропения**

## Синдром Костмана

- Синдром Костмана— тяжелая врожденная нейтропения с аутосомно-рецессивным типом наследования
- При синдроме Костмана у большинства пациентов выявляется гомозиготная мутация генов *HAХ1* и *ELA2*
- Встречается 1-2 на 1000000 населения

# Синдром Костмана

- Ген *НАХ 1* кодирует митохондриальный антиапоптотический белок НАХ 1, который поддерживает потенциал мембран митохондрий и таким образом защищает миелоидные клетки от апоптоза. При дефекте этого белка усилен апоптоз миелоидных клеток
- Также частым генетическим дефектом у больных с SCN является мутация в гене *ELA2* (локализованном на хромосоме 19 p13.3), кодирующем эластазу нейтрофилов ELA-2. Мутации в гене ELA 2 обнаруживаются в 30% случаев при аутосомно-рецессивной SCN и в 60% случаев при аутосомно-доминантной SCN и практически во всех случаях циклической нейтропении

## Циклическая нейтропения

Заболевание имеет аутосомно-доминантный характер наследования или возникает спорадически. В основе его лежит мутация гена *ELA2* (которая также выявляется у части больных с SCN). Причем даже у фенотипически здоровых членов семьи больного циклической нейтропенией также может быть выявлена данная мутация.

## Циклическая нейтропения

- Периодичность составляет от 14 до 36 дней, у 70% больных - 21 день.
- Эпизоды нейтропении обычно продолжаются от 3 до 10 дней, после чего количество нейтрофилов возвращается к нормальным или субнормальным показателям.
- В период нейтропении возрастает количество моноцитов.



# Циклическая нейтропения

- Согласно европейскому протоколу, диагноз циклической нейтропении устанавливается по анализам крови, взятым с частотой 3 раза в неделю в течение последовательных 6 недель.
- Фиксируются циклические изменения уровня нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, лимфоцитов, тромбоцитов и ретикулоцитов в периферической крови.
- Во время нейтропенической фазы у пациентов возникают регулярные приступы лихорадки, появляются язвы во рту, бактериальные инфекции.
- Вне криза состояние нормализуется.
- Антинейтрофильные антитела не выявляются.

# X-сцепленная нейтропения (XLN)

- Заболевание вызвано мутацией в гене, кодирующем белок WASP, участвующем в построении цитоскелета гемопоэтических клеток.
- В литературе описано несколько случаев X-сцепленной нейтропии. У двух из этих больных была выявлена мутация гена *WASP* – гена, пораженного у больных с синдромом Вискотта-Олдрича. Интересно, что, несмотря на мутации того же гена, у больных с XLN не отмечается тромбоцитопении и других признаков синдрома Вискотта-Олдрича. Предполагается, что мутация при XLN ведет к постоянной активации белка WASP. Однако непосредственно патогенез нейтропии неизвестен.

# Синдром Швахмана-Даймонда

- Заболевание, для которого характерны экзокринная недостаточность поджелудочной железы, карликовость, метафизарная дисплазия и нейтропения.

# Синдром Швахмана-Даймонда

- Синдром Швахмана-Даймонда вызван мутацией гена *SBDS*, расположенного на 7q11. Ген кодирует белок с невыясненной функцией. Заболевание наследуется аутосомно-рецессивно.
- В основе патогенеза лежит внутриутробная задержка развития ацинарных клеток поджелудочной железы, следствием чего является резко сниженная экзокринная панкреатическая функция. В отличие от муковисцидоза, секреция анионов не нарушена.
- Причина скелетных и гематологических нарушений не известна. У половины больных с синдромом Швахмана-Даймонда отмечается панцитопения, у остальных – разная степень нейтропении, анемии и тромбоцитопении. Независимо от числа нейтрофилов, отмечается дефект их хемотаксиса. В основе цитопений, вероятно, лежит дефект колониеобразования, выявляемый *in vitro*.

# Синдром Швахмана-Даймонда

- Первыми признаками синдрома Швахмана-Даймонда, проявляющимися в первые месяцы жизни, являются диарея, задержка роста, потеря веса и выраженная сухость кожи, сопровождаемая экземой, и жирный стул.
- Описаны случаи сочетания синдрома с неперфорированным анусом и болезнью Гиршпрунга, что нередко затрудняет диагноз.
- У пациентов старше 6 месяцев отмечаются рецидивирующие бактериальные инфекции, нередко геморрагический синдром, задержка психомоторного развития.
- Внешне часто обращает на себя внимание большой живот, обусловленный гипотонией и гепатомегалией. Кроме низкорослости, у больных отмечаются следующие скелетные аномалии: клиндактилия, синдактилия, деформация *Сoxa vara*, вальгусная деформация коленных и локтевых суставов, аномалии зубов.
- Умственное развитие у этих больных как правило не страдает

# Гликогеноз 1b

- Гликогеноз 1b – наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, причиной которого является дефицит глюкозо-6 фосфат транслоказы, осуществляющей перенос глюкозо-6 фосфата из цитоплазмы внутрь митохондрии.
- Ген, кодирующий белок транспорта глюкозо-6 фосфата, расположен на хромосоме 11q 23. Глюкозо-6 фосфатаза участвует в синтезе гликогена и метаболизме глюкозы в организме.
- При этом заболевании происходит патологическое накопление гликогена внутри клеток печени и почек. Микросомальный транспорт глюкозо-6 фосфата играет важную роль в антиоксидантной защите нейтрофилов, при его дефиците имеется как количественный, так и качественный дефект нейтрофилов.
- Пациенты особо восприимчивы к грам-положительной флоре.

# Гликогеноз 1b

- Внешне пациенты выглядят худощавыми, часто с "кукольным лицом" из-за недостаточного развития подкожной жировой клетчатки щек.
- Заметно увеличен в размерах живот за счет значительной гепатомегалии, селезенка нормальных размеров.
- Часто развиваются рахит и железодефицитная анемия.
- Встречаются ксантомы на разгибательных поверхностях в области локтей и колен.
- Характерны гипогликемические приступы.

# WHIM синдром или миелокахекия

- WHIM синдром (сокращенно от англ.: warts, hypogammaglobulinemia, infections and myelokathexis – бородавки, гипогаммаглобулинемия, инфекции и миелокахекия) - редко встречающееся заболевание, для которого характерна патологическая предрасположенность к развитию бородавок, гипогаммаглобулинемия, повторные бактериальные инфекции и миелокахекия (нейтропения с нарушением митоза и формированием тетраплоидных лейкоцитов)
- Наследуется аутосомно-доминантно. Причина WHIM синдрома – гетерозиготная мутация гена хемокинового рецептора CXCR4 - белка, который участвует в гемопоэзе, кардиогенезе, ангиогенезе и нейрогенезе.



## WHIM синдром или миелокахекия

- В периферической крови количество нейтрофилов существенно снижено, вплоть до агранулоцитоза, может немного увеличиться при присоединении инфекции.
- Отмечается лейкопения и, соответственно, умеренно снижено абсолютное количество лимфоцитов в периферической крови, нарушено соотношение Т- и В-лимфоцитов и их транспорт в лимфоидные органы.
- Костный мозг гиперклеточный, с раздражением гранулоцитарного ростка, продукция миелоидных и лимфоидных клеток нормальна, но затруднен выход этих клеток из КМ в периферическую кровь. Нейтрофилы подвержены апоптозу раньше, чем они попадут в периферическое русло.
- У пациентов с WHIM нарушена функция хемотаксиса, адгезии и транс-эндотелиальной миграции как лимфоцитов, так и нейтрофилов.

# WHIM синдром или миелокахекия

- В настоящее время открыты фармакологические агенты, воздействующие на функцию CXCR4, что позволяет надеяться, что в скором будущем можно будет управлять этим заболеванием в течение длительного времени

## Барт (Barth) - синдром

- Это X-сцепленное заболевание, проявляющееся врожденной кардиодилатацией, скелетной миопатией, карликовостью и тяжелой или средне-тяжелой нейтропенией.
- Причина – мутация гена *TAZ*, который локализуется на X-хромосоме и кодирует активность фермента ацилтрансферазы, которая, вероятно, участвует в синтезе кардиолипина, компонента митохондриальной мембраны.

# Метиламинацидурия

- Метилмалоновая ацидемия (ацидурия) (ММА) – гетерогенная группа заболеваний, характеризующаяся патологическим накоплением метилмалоновой кислоты и ее продуктов в биологических жидкостях.
- Причиной заболевания являются дефицит фермента метилмалонил-СoА-мутаза (дефицит апоэнзима), дефект внутриклеточного метаболизма кобаламина (дефицит коэнзима), дефицит транскобаламина, или дефицит поступления кобаламина с пищей (например, при вегетарианстве).
- Гены, мутации которых приводят к ММА, известны только частично. Все генетические дефекты наследуются аутосомно рецессивно.

# Синдром Чедиака-Хигаши

- Аутосомно-рецессивно передающееся заболевание, характеризующееся повторными инфекциями, умственной отсталостью, фотофобией, альбинизмом, нистагмом, нейропатией, предрасположенностью к кровоточивости, дефектом цитотоксической активности CD8+ клеток.
- У больных отмечается среднетяжелая-тяжелая нейтропения. Лечение – ТГСК и симптоматическая терапия.

## Гипер IgM синдром

- Гипер-IgM синдром – полигенное заболевание из группы первичных иммунодефицитов. Это редкое заболевание характеризуется повторными инфекциями, ассоциированными с низким уровнем сывороточных IgG и IgA и нормальным или увеличенным IgM.
- Нейтропения особенно характерна для X-сцепленной формы – у более 50% больных отмечена нейтропения.
- Причиной данной формы гипер-IgM синдрома является мутация гена CD40 лиганда.
- Лечение – ТГСК, при невозможности ТГСК - внутривенные иммуноглобулины и симптоматическая терапия, включая ростовые факторы.

Всем больным с тяжелой врожденной нейтропенией с целью выявления риска злокачественной трансформации настоятельно рекомендуется ежегодное проведение костномозговой пункции с исследованием морфологии и цитогенетики костномозговых клеток

# Лечение

- Препараты Г-КСФ
- Доза титруется с 3 мкг/кг/сут ч/з день



# Приобретенные нейтропении

- Наиболее частая причина приобретенных нейтропений – инфекции. Практически любая вирусная и некоторые бактериальные инфекции могут сопровождаться снижением нейтрофилов в периферической крови. Нейтропения в этих случаях обычно купируется самостоятельно по мере выздоровления от заболевания.

## Иммунные нейтропении

- Частота встречаемости составляет 1:100000, т. е. иммунные нейтропении встречаются примерно в 10 раз чаще, чем врожденные.
- Возникают они в результате повышенной деструкции нейтрофилов под воздействием ауто- или алло- антинейтрофильных антител.
- В свою очередь, аутоиммунные нейтропении разделяются на
  - первичные
  - вторичные

# Первичная аутоиммунная нейтропения

## Патофизиология.

Из-за наличия специфических антигранулоцитарных антител происходит усиленный фагоцитоз макрофагами покрытых антителами нейтрофилов в кровяном русле и тканях, что приводит к развитию нейтропении. Антигранулоцитарные антитела обычно являются IgG антителами и направлены против специфических нейтрофильных антигенов HNA1a` и HNA2в .

## Клиника.

Аутоиммунная нейтропения чаще всего встречается у детей первых 5-15 месяцев. Нейтропения часто нетяжелая, количество нейтрофилов как правило колеблется 500-1000 клеток в мкл , к инфекционным проявлениям относятся острый средний отит, гастроэнтерит, тонзиллит и кожные инфекции, которые, как правило, нетяжелы и спонтанная ремиссия обычно наблюдается в возрасте 4-5 лет. Тяжелые инфекции - пневмония, сепсис, менингит - встречаются в 12% случаев.

# Первичная аутоиммунная нейтропения

## Диагностика.

В клиническом анализе крови снижение АКН может сочетаться с моноцитозом и эозинофилией, уровень гемоглобина и количество тромбоцитов нормальные.

Важным критерием диагностики является обнаружение специфических антинейтрофильных антител, которые, однако, не всегда можно идентифицировать вследствие особой специфичности данного исследования.

При затруднениях в постановке диагноза тест на определение антинейтрофильных антител рекомендуется повторить 3 и более раз.

Косвенно об иммунный характер нейтропении подтверждается при относительно благоприятном течении заболевания, отсутствии ”обрыва созревания” на уровне промиелоцита в миелограмме, возникновении спонтанной ремиссии без применения Г-КСФ.

Исследование костного мозга проводится прежде всего с целью исключить другое заболевание крови.

Определение уровня сывороточных иммуноглобулинов необходимо для исключения первичного иммунодефицитного состояния

# Неонатальная аллоиммунная нейтропения

- Патопфизиология схожа с патологией, обусловленной Rh-конфликтом. Возникает в результате антигенной несовместимости нейтрофилов плода и матери.
- Нейтропения обычно возникает в периоде новорожденности или в первые месяцы жизни.
- Диагноз базируется на обнаружении специфических IgG, направленных против гранулоцитарных антигенов, унаследованных от отца.
- Как при аутоиммунной, так и при аллоиммунной нейтропении частота и тяжесть возникновения бактериальных инфекций значительно ниже, чем при наследственных нейтропениях.
- Аллоиммунная нейтропения обычно не требует лечения, несмотря на значительное снижение АЧН в анализах крови, купируется спонтанно по мере естественного катаболизма специфических антинейтрофильных антител.

# Лекарственная нейтропения

Антибиотики, сульфаниламиды, противотуберкулезные антигельминтные, противовирусные препараты	Пенициллины, цефалоспориин, ванкомицин, хлорамфеникол, гентамицин, клиндамицин, доксациклин, гризеофульвин, линкомицин, нитрофураны, изониазид, ПАСК, рифампицин, стрептомицин, сульфаниламиды, этамбутол, мебендазол, левомизол, ципрофлоксацин, триметоприл, зидовудин, ацикловир
Анальгетики	Ацетилсалициловая кислота, индометацин, ибупрофен, амидопирин, фенилбутазон.
Антипсихотические и антидепрессанты	Галоперидол, клозапин.
Противосудорожные средства	Карбамазепин, диазепам, фенитоин, вальпроат натрия,
Антигрибковые препараты	Тиамазол.
Сердечно-сосудистые средства	Прокаинамид, каптоприл, пропранолол, гидралазин, метилдопа, нифедипин, пропанорм.
Антигистаминные	Пипольфен, ранитидин.
Другие лекарственные препараты	Аллопуринол, колхицин, аминоклоротетимид, фамотидин, безафибрат, флутамид, тамоксифен, пеницилламин, фениндион, дихлордитинилтрихлорэтан (ДДТ), спиронолактон, леводопа

# Идиопатическая нейтропения

- Диагноз идиопатической нейтропении устанавливается при исключении всех других вышеперечисленных причин нейтропенических состояний, патогенез ее не известен.
- К этой же группе относят выделяемую многими авторами в отдельную категорию **«доброкачественную нейтропению детского возраста»**

# профилактика и лечение инфекций у больного с нейтропенией

## Нейтропения

гранулоциты < 1500/мкл у взрослых  
гранулоциты < 1000/мкл у детей

## Опасный порог

гранулоциты < 1000/мкл

## Высокий риск

гранулоциты < 500 /мкл

## Очень высокий риск

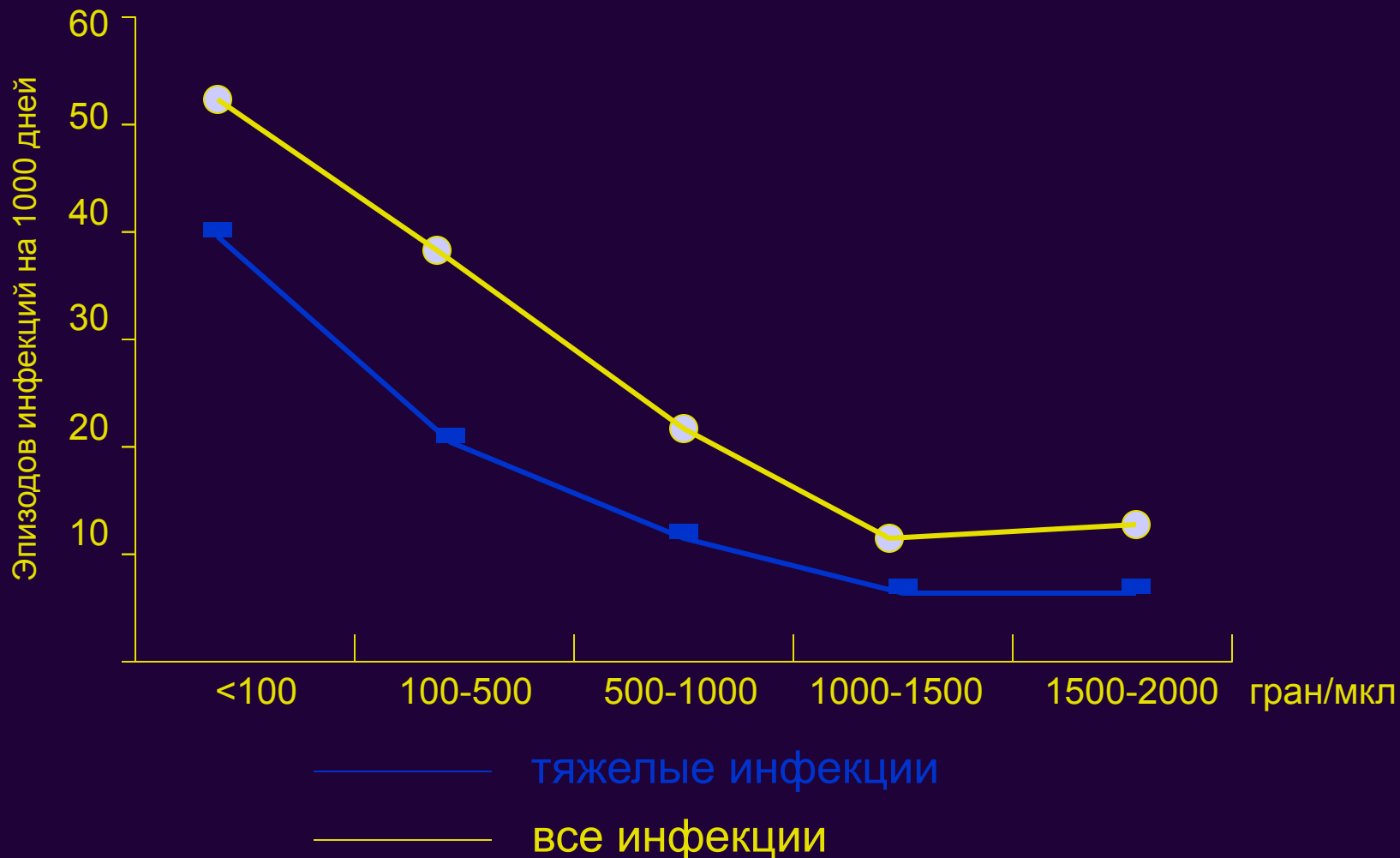
гранулоциты < 100/мкл

## Экстремальный риск (бактериемия > 20%)

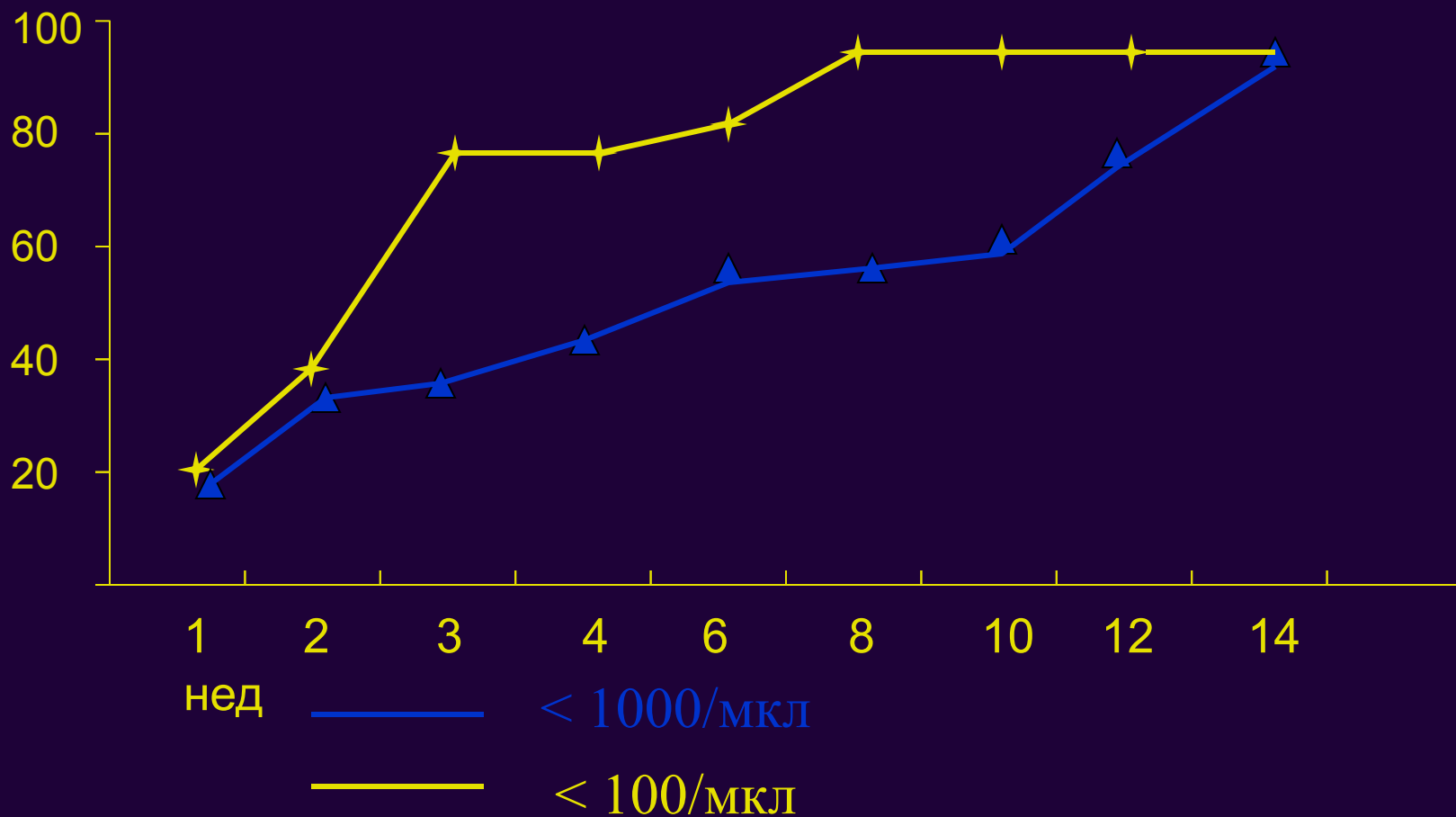
гранулоциты < 100/мкл  
в течение > 10-14 дней



# Зависимость частоты инфекций от числа нейтрофилов



# Зависимость частоты тяжелых инфекций от длительности нейтропении



# профилактика инфекций у больных с нейтропенией

## Особенности инфекций у больных с нейтропенией

- Слабый локальный воспалительный ответ
- Небольшое число локализаций (пневмонии, целлюлиты, периодонтиты, синуситы)
- Склонность к фульминантному течению
- Самое частое проявление - лихорадка неясной этиологии

# больной с нейтропенией

## Источники инфекции

- Эндогенная флора ЖКТ (большинство)  
(бактерии, грибы, VZV, HSV)
- Руки медицинского персонала  
(бактерии, Candida, CMV)
- Трансфузионные среды  
(вирусы, редко бактерии)
- Воздух (Aspergillus)
- Пища (бактерии, Candida)
- Инвазивные манипуляции

# профилактика инфекций у больных с нейтропенией

## Неспецифическая профилактика

- мытье рук перед каждым контактом с больным
- ежедневная (или чаще) смена белья
- строгая оральная гигиена
  - полоскания (бета-йодин, хлоргексидин + сода) x 6-8 раз
  - избегать ранящих продуктов (леденцы, сушки и т.д.)
  - избегать пластмассовых ложек и вилок
- минимизация инвазивных манипуляций  
(ан. крови из пальца, «лишние» пункции и т.д.)
- низкобактериальная пища
  - тщательная кулинарная обработка
  - нельзя: листовные овощи, цитрусовые, копчености, черный перец, чай в пакетиках

# профилактика инфекций у больных с нейтропенией

## Селективная деконтаминация кишечника

### Цели

- ↓ частоты фульминантных грам (-) бактериемий и грибковых инфекций
- ↓ частоты инвазивных инфекций
- ↓ частоты всех инфекций и применения п/э антибиотиков
- сохранение анаэробной флоры, определяющей колонизационную резистентность

# профилактика и лечение инфекций у больных с нейтропенией

Самые частые возбудители инфекций у больных с  
нейтропенией

## Грам(+) кокки и бактерии

- S. Epidermidis, S. Aureus
- Str. Viridans, S. Pneumoniae
- E. Faecalis/E. faecium,
- Corynebacterium JK

## Грам (-) палочки

- E. Coli
- Klebsiella sp.
- Ps. Aeruginosa
- Acinetobacter, Citrobacter, St. Maltophilia, Enterobacter

## Грибы

- C. Albicans
- Aspergillus
- C. Krusei, C. glabrata

# профилактика и лечение инфекций у больных с нейтропенией

Лихорадка неясной этиологии

**Базальная температура**

$\geq 38,3^{\circ}\text{C}$  - 1 раз

или

$\geq 38,0^{\circ}\text{C}$  - 1 час

Базальная температура =

аксиальная температура  $+0,5^{\circ}\text{C}$  (!!!)



# профилактика и лечение инфекций у больных с нейтропенией

## Лихорадка неясной этиологии

### Диагностический подход

- Клинический осмотр («септический» вид?)
- АД
- Оценка возможности неинфекционной лихорадки
- Гемокультуры
- Мочевина, креатинин, лактат
- СРБ (>3 mg/dl - признак бактериальной или грибковой инфекции)

## лечение инфекций у больных с нейтропенией

### Лихорадка неясной этиологии

Цель начальной эмпирической терапии ЛНЭ -  
предотвращение ранней летальности  
(т.е. септического шока)

### Принципы антибактериальной терапии

- Быстрое начало ( в первые 2-3 часа)
- Адекватные препараты широкого спектра активные против бактерий, способных вызвать СШ
- Достаточные дозы
- Достаточная длительность
- Своевременная оценка и коррекция
- Разумные комбинации

# септический шок: патофизиология

