

# Върху конгениталната неутропения

## По повод на един случай

Проф. Георги Петков<sup>1</sup>, доц. Георги Йорданов<sup>2</sup>, доц. Ваня Цонева<sup>3</sup>,  
проф. Емилия Христова<sup>4</sup>, д-р Светлана Манджункова<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Катедра по педиатрия, Медицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора

<sup>2</sup>Катедра по офталмология и обща медицина, Медицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора

<sup>3</sup>Клинична лаборатория, Медицински факултет, Тракийски университет, Стара Загора

<sup>4</sup>Факултет по обществено здраве, Медицински университет, София

<sup>5</sup>Изследователски център за генно инженерство и биотехнологии при МАНУ, Скопие

### Резюме

Съществуващите нарушения в неутрофилните левкоцити или техните прогенитори, предизвикващи неутропения, са комплексна група от единици в един спектър с различна клинична тежест и генетични лезии. На единия край е расово детерминираната неутропения, при която клинично не се установява повишена честота на инфекции и костният мозък е нормален. На другия край на спектъра са изолираните неутропени с изявена депресия на абсолютния неутрофилен брой и тежки инфекции, както и случаи с тежка конгенитална неутропения, съчетана със синдромални особености.

Проведените неотдавна изследвания осветлиха молекулярната основа на различни конгенитални неутропенични синдроми, като бяха установени мутациите в *ELA2*, *HAX1*, *Gfi-1* и *WASp* гените. Допълнително бяха изследвани и други клинични синдроми, свързани с конгенитална неутропения. Представен е случай с данни за хронична конгенитална бенигна неутропения.

**Ключови думи:** конгенитална неутропения, бенигна, инфекции, мутации, терапия

### About Congenital Neutropenia: A Case Report

Georgi Petkov<sup>1</sup>, Georgi Yordanov<sup>2</sup>, Vanya Tzoneva<sup>3</sup>, Emilia Hristova<sup>4</sup>, Svetlana Mandjunkova<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Trakia University of Stara Zagora

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology and general medicine, Faculty of Medicine, Trakia University of Stara Zagora

<sup>3</sup>Clinical Laboratory, Faculty of Medicine, Trakia University of Stara Zagora

<sup>4</sup>Faculty of Public Health, Medical University of Sofia

<sup>5</sup>Research Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, Macedonian Academy of Sciences and Arts, Skopje

### Abstract

Existing disorders in neutrophil leucocytes or their progenitors, causing neutropenia are a complex group of units in a range with various clinical appearance and genetic lesions.

At one end of that range is the race determined neutropenia, which doesn't show signs of increased infection rate and the bone marrow is within normal limits. Quite at the opposite end of the range are the isolated neutropenias with marked depression of absolute neutrophil count, severe infections and some cases with pronounced congenital neutropenia with syndromal features, as well.

Recent findings explained the molecular basis of different congenital neutropenia syndromes with the specified mutations in *ELA2*, *HAX1*, *Gfi-1* and *WASp* genes. Other syndromes related to congenital neutropenia were explained presented with a case showing signs of benign chronic neutropenia.

**Key words:** Congenital neutropenia, benign, Infections, mutations, therapy

## Определение

**Неутропенията** се дефинира с намаление на броя на циркулиращите неутрофили в кръвта. **Конгениталната форма** се отличава с изява още при раждането и обикновено, но не винаги, е генетично обусловена.

Долната нормална граница на броя на неутрофилните левкоцити в периферната кръв е зависима от възрастта на детето и неговата расова принадлежност. При кърмачета ( деца  $\leq 12$ -месечна възраст) долният праг е  $1.0 \times 10^9/L$ . След кърмаческа възраст до 10 години обикновено стойността е  $1.5 \times 10^9/L$ . Прагът от  $1.8 \times 10^9/L$  е валиден при децата след 10-годишна възраст и за възрастните<sup>1</sup>. Както броят на белите кръвни клетки, така и този на неутрофилните клетки често е понижен у хората с африкански произход<sup>2</sup>, както и при някои инфекции<sup>3</sup>.

Неутропенията се определя като **лека** (под долната граница на нормалното, но  $>1.0 \times 10^9/L$ ), **средно тежка** (между  $0.5$  и  $1.0 \times 10^9/L$ ), **тежка** (между  $0.2$  и  $0.5 \times 10^9/L$ ) и **много тежка** ( $<0.2 \times 10^9/L$ ),

Рискът от тежки инфекции нараства след спадане на броя на неутрофилите под  $0.5 \times 10^9/L$  и особено под  $0.2 \times 10^9/L$ . Неутрофилният брой показва физиологични колебания и диагнозата неутропения трябва да се основава на три изследвания седмично в течение на 6-седмичен период. Неутропенията се приема като **перманентна**, когато се установява във всички проби, **интермитентна** – когато има периоди на спонтанно нормализиране, и **циклична**, ако епизодите на снижение се повтарят през 21 дни. В практиката обаче почти не се наблюдава перфектна синусоидална неутропения с един 21-дневен цикъл. С оглед на това е по-целесъобразно да се използват термините „**перманентна**“ и „**интермитентна неутропения**“<sup>4</sup>.

Редица изследвания показват, че терминът „**конгенитална неутропения**“ не се използва еднозначно<sup>5, 6</sup>. Целесъобразно е той да се отнася до всички конгенитални нарушения, съчетани с неутропения<sup>7</sup>.

## Изява и диагностични проблеми

Обикновено неутропенията при децата се открива през първите месеци на живота с рекурентни бактериални инфекции. Изяви-

те при раждането или в първите месеци на живота подкрепят вероятността за **неонатална алоимунна неутропения** (НАИН), често считана като миелоиден хомолог на Rh-болестта на новороденото<sup>8</sup>. Съществува обаче една съществена разлика, че НАИН може да се появи още при първата бременност. За разлика от тежката конгенитална неутропения, инфекциите при НАИН са по-редки и не така тежки. Диагнозата се потвърждава чрез установяване на специфични антинеутрофилни антитела в серума на майката и детето срещу антигени, наследени от бащата на детето. Не е необходима специфична терапия, тъй като настъпва спонтанно оздравяване за около три месеца. Пасивният трансфер на антитела от майка с **автоимунна неутропения** (АИН) може да предизвика подобна клинична картина у новороденото<sup>9</sup>.

Първичната **автоимунна неутропения** (АИН) в детската възраст е рядка. Тя е относително доброкачествено заболяване, отличаващо се с наличие на специфични антинеутрофилни антитела, често с изявена неутропения и рядко съпътствано от тежки бактериални инфекции. Изследването на костно-мозъчен аспират не винаги се налага, особено когато се установи наличие на автоантитела и отсъствие на тежки инфекции. При 95% от болните настъпва спонтанно оздравяване в период от около 17 месеца. Рядко се налага специфично лечение за повишаване на броя на неутрофилите. В случаите с тежко септично протичане прилагането на G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) е наложително. Няма убедителни доказателства за целесъобразността от профилактично прилагане на антибиотици при АИН, но тяхното използване е наложително при рекурентни инфекции.

Както бе отбелязано, терминът „**конгенитална неутропения**“ не се използва еднозначно<sup>5, 6</sup>. Често синдромът на Kostman е считан за протип на конгениталната неутропения<sup>10</sup>. Все още няма проста консенсусна класификация на конгениталната неутропения. Генотипът е най-важният индикатор за различаването на една форма на неутропенията от друга, но това не винаги е възможно. Фенотипът представя една цялост с представящи се клинични прояви, но някои важни форми на органно включване може да не бъдат представени при началното изследване.

Съвременните генетични изследвания в областта на конгениталната неутропения хвърлиха светлина върху молекулярните механизми, контролиращи развитието и функцията на неутрофилните гранулоцити<sup>7</sup>.

От клинична гледна точка се различават две големи групи от тежка конгенитална неутропения. Първата включва пациенти с тежка конгенитална неутропения без допълнителни органични прояви, а втората – случаи с тежка конгенитална неутропения, съчетана със синдромални особености<sup>11</sup>.

### Конгенитална неутропения без синдромни прояви

#### Тежка конгенитална неутропения

Мутациите в гена на неутрофилната еластаза (ELANE) са най-честата известна причина за конгенитална неутропения, като се различават два субтипа: конгенитална, или перманентна тежка неутропения, и циклична неутропения.

Перманентната неутропения, обикновено наричана **тежка конгенитална неутропения (ТКН)**, е свързана с интензивни бактериални и гъбични инфекции от най-ранна възраст. Предилекционните места са променливи, като най-чести са кожата, мукозата и респираторният тракт. Стоматологичните нарушения са налице обикновено след 2-годишна възраст и са характеризират с ерозивен, хеморагичен и болезнен гингивит, съчетан с афтозен стоматит. Понякога са наблюдават гастроинтестинални увреждания, наподобяващи болеста на Crohn. Най-чести бактериални причинители са *S. aureus* и *S. epidermidis*, стрептококи, ентерококи, пневмококи, *Pseudomonas aeruginosa* и грам негативни бактерии. *Candida* или *Aspergillus species* са обичайните причинители на гъбичните инфекции. Неутропенията обикновено е под  $0.2 \times 10^9/L$ , понякога с анемия и матурационен арест на промиелоцитно ниво<sup>12</sup>. Тези пациенти изискват големи дози G-CSF, заедно с лечението на активните инфекции. Съществува риск от възникването на левкемична трансформация<sup>13</sup>. Диагностицира се обикновено преди 6-месечна възраст. Генетичната трансмисия може да бъде или автозомно-доминантна, или рецесивна, но са съобщени много повече спорадични, отколкото унаследени случаи<sup>14</sup>.

**Цикличната неутропения (ЦН)** е едно спорадично или наследствено автозомно доминантно нарушение, отличаващо се с периодично спадане на броя на периферните кръвни неутрофили от приблизително нормално до много ниски нива, обикновено в 21-дневни интервали. Когато броят на неутрофилните клетки спадне до най-ниско ниво, което се задържа от 3 до 6 дни, пациентът повишава температура, настъпват устни улцерации, синузита или по-сериозни инфекции<sup>15</sup>. ЦН се извява обикновено рано в детството, но може да протече и безсимптомно. Трансформиране в миелодиспластичен синдром и AML не е съобщено<sup>16</sup>. Симптоматичната циклична неутропения отговаря на лечение с G-CSF, често на ниски дози, които съкращават продължителността на ниска бройка и повишават броя на неутрофилите, но никога не отстраняват цикличната природа на заболяването<sup>17</sup>.

ЦН и ТКН се обуславят предимно от мутации в ELANE (ELA staase – Neutrophil-Expressed) гена, означаван по-рано като ELA2 и разположен на хромозома -19p 13.3. Мутации са установени в 80–100% от случаите с циклична неутропения и в 35–63% от случаите с ТКН<sup>18, 19</sup>. ELANE генът кодира неутрофилна еластаза, една химиотриптична серинова естераза, синтезираща се по време на прехода от миелобласт до промиелоцит<sup>19</sup>. Мутантната еластаза вероятно индуцира ускорена апоптоза в диференциращите се миелоидни клетки<sup>13, 20</sup>. Тя има директна антимикробна активност и също интегрира възпалителните отговори чрез включването на хемокини, цитокини и клетъчни повърхностни рецептори<sup>21</sup>. Независимо от това, са необходими допълнителни проучвания за определяне на ролята на ELANE гена и неговия протеинов продукт в патогенезата на ЦН и ТКН.

Както ТКН, така и ЦН възникват от ELANE мутации, но изследванията показаха, че типът на ELANE мутацията е различен при тези заболявания. Специфични мутации са били съчетани както с ЦН, така и с ТКН в неродствени пациенти, като голяма част от мутациите са съчетани или със ЦН, или с ТКН, но не и с двете. Допълнителни проучвания разкриха едно взаимоотношение между отделните ELANE мутации и тежестта на заболяването<sup>22</sup>.

Коекзистенцията на ЦН с ТКН у членовете на една фамилия подсказва съществуването на модифициращи гени в определянето на болестния фенотип на конгениталната неутропения. Неотдавнашни проучвания показват, че транскрипционните фактори LEF-1 и Gfi-1 са свързани с ТКН у експериментални животни и хора<sup>23, 24</sup>. Тези и други гени, свързани с неутрофилната продукция, може да взаимодействат с една специфична ELANE мутация и да определят фенотипа и тежестта на клиничната картина на болестта.

ЦН и ТКН понастоящем се класифицират като две различни заболявания, но клиничните наблюдения и генетичните изследвания показват, че ЦН и ТКН са фенотипове от спектъра на една болест<sup>15</sup>.

#### **Дефекти в екстрацелуларния рецептор на G-CSF**

Клиничната картина на това състояние е подобна в значителна степен на тази на тежката конгенитална неутропения, предизвикана от ELANE мутации, но то е неподатливо на лечение с G-CSF<sup>25</sup>.

### **Конгенитална неутропения, съчетана със синдромални прояви**

#### **Синдром на Kostmann и HAX1 мутации**

Заболяването, описано от Rolf Kostmann през 1950 и 1956 г.<sup>10, 26</sup>, остава една парадигма в полето на конгениталната неутропения. Основните клинични прояви са тежка неутропения с моноцитоза и реактивна еозинофилия и висока податливост към бактериални инфекции. Повечето пациенти загиват преди 1-годишна възраст. Достигналите до второто десетилетие показват прояви на неврологични усложнения с развитие на ментална ретардация и гърчове.

Молекулярните основи на този синдром бяха разкрити чрез идентифициране на HAX1 (HS1 – associated protein X1) – протеина, чийто ген е разположен на хромозомното рамо 1q. Мутациите в този ген са отговорни за това заболяване<sup>27</sup>. HAX1 (35 kDa) е един повсеместен митохондриален протеин с изявени антиапоптични свойства. Неутрофилите на тези пациенти са много чувствителни на апоптични стимули и тази аномалия може да бъде преодоляна чрез антиапоптичната активност на G-CSF.

Терминът 'синдром на Kostmann' се използва понякога неподходящо за означаване на неутропенията, предизвикана от ELANE мутации.

#### **Перманентна конгинентална неутропения, предизвикана от мутации в гена за протеина на Wiskott–Aldrich синдрома**

Това е много рядко X-свързано нарушение, предизвикано от мутации в гена на протеина на Wiskott–Aldrich синдрома. Неговата хематологична изява и инфекциозна податливост наподобява на неутропията от ELANE мутации, но без моноцитоза<sup>28</sup>. Фенотипът на тези пациенти е напълно различен от този на болните с класическа форма на синдрома на Wiskott–Aldrich с изявена екзема, тромбоцитопения с малки тромбоцити и имунна недостатъчност. Тази фенотипна разлика се дължи на функционални различия в съответните мутации.

#### **Shwachman–Diamond syndrome**

Описан за първи път от Nezelof през 1961 г.<sup>29</sup>, а след това от Shwachman–Diamond в 1964 г.<sup>30</sup>, той съчетава хематологични нарушения с малформативни стигми и психомоторна ретардация. Неутропенията е обикновено интермитентна и умерена, съчетана с лека до средно тежка анемия и повишен фетален хемоглобин. Клиничните прояви са много вариабилни. Описани са неонатални форми с респираторен дистрес, панцитопения и съпътстващи неврологични и гастроинтестинални нарушения. Установява се задръжка във физическото развитие от втората година.

#### **Конгенитална неутропения и гликогенов метаболизъм**

Неутрофилите са изключително чувствителни на дефицит от глюкоза. Две генетични нарушения бяха установени у човека, при които неутрофилните гранулоцити показват една предиспозиция към повишена апоптоза, дължаща се на нарушение на енергийния метаболизъм в ендоплазматичния ретикулум. Пациентите с гликогенеза тип 1b се отличават не само с гликогеново натрупване, хипогликемия и лактатна ацидоза, но и с дефицит на зрели неутрофилни гранулоцити. Това заболяване е предизвикано от мутации в повсеместно изявената глюкозо-6-фосфат-транслоказа (G6PT, кодирана от SLC37A4 гена), един транспортър, медиращ транслокацията на G6PT в ендоплазматичния ретикулум. Неутрофилите с дефицит на G6PT показват значимо нарушено освобождаване на оксидативни радикали, поради което съществува повишен риск за

тежки бактериални инфекции не само поради неутропения, но и като последица от лошата неутрофилна функция.

Неотдавна беше идентифициран един вторичен конгенитален неутропеничен синдром, свързан с нарушен глюкозен метаболизъм. За разлика от пациентите с болест на гликогеново натрупване, засегнатите индивиди не показват признаци на гликогеново натрупване или симптоми, свързани с хипогликемия. Вместо това е налице съчетание на конгенитална неутропения с различни дефекти в развитието на сърдечно-съдовата, урогениталната система и повишена видимост на суперфициални вени<sup>4</sup>. Причината за широкия клиничен спектър остава все още неизяснена напълно.

#### Неутропения, съчетана с мутации в G6PC3 гена

Това състояние се обуславя от тежка перманентна неутропения с гранулоцитен матурационен арест, податливост към инфекции и няколко други клинични прояви, включващи кожата, урогенитални малформации и сърдечни нарушения. Някои пациенти имат миопатичен синдром. Мутациите в G6PC3 гена са обикновено хомозиготни, но са описани и двойни хетерозиготи<sup>31</sup>. Беше установено, че хомозиготните мутации увреждат ендоплазматичния ретикулум.

#### Синдром на Cohen

Много рядка форма на конгенитална неутропения. Този автозомно рецесивен синдром съчетава ментална ретардация с дизморфични прояви, включващи микроцефалия, лицеви аномалии, миопия, ретинитис пигментоза, обезитас. Неутропенията е налице в над 90% от случаите и обуславя чести инфекции с гингиво-стоматит. В костния мозък няма прояви на матурационен арест. Синдромът на Cohen е тясно свързан с мутации в VPS13B гена, разположен на 8 хромозома и кодиращ един протеин на ендоплазматичния ретикулум<sup>32</sup>.

#### Синдром на Barth

Този X-свързан синдром съчетава дилатативна кардиомиопативна хипотония, задръжка в растежа и умерена до тежка неутропения, понякога отговорна за тежки инфекции. При някои пациенти е наблюдавана лека лак-

татна ацидурия и/или хипогликемия.

Унаследяването е X-свързано, рецесивно. Заболяването се предизвиква от мутации в гена G4-5, който кодира tafazzin – един протеин, участващ във фосфолипидната мембранна хомеостаза<sup>4</sup>.

#### Конгенитална неутропения с хипоигментация

Докато Chediak–Higashi syndrome (CHS) и Griscelli syndrome тип 2 (GS2) може да показват само преходни епизоди от неутропения, то синдромът на Hermansky–Pudlak тип 2 (HPS2) и дефицитът на p14 се отличават с константно редуциран брой на периферните неутрофили. Всички тези нарушения могат да бъдат диференцирани въз основа на техния клиничен фенотип.

Синдромът на Hermansky–Pudlak беше описан като окулокутанен албинизъм и болест на тромбоцитна дисфункция с тенденция за повишено кървене. Понастоящем HPS обхваща група от най-малко осем различни генетични дефекти у хората. В резултат на мутации в клетките на пациенти с HPS се установява дисфункция в лизозомно свързаните органи. Между всички варианти на HPS само HPS2 е съпътстван с конгенитална неутропения<sup>33, 34</sup>.

HPS2 е предизвикан от мутации в AP3B1 гена, който кодира β3A субединицата на хетеротетрамерния адапторен протеинов (AP3) комплекс. AP3 комплексът медуира селекцията на товарния протеин в транспортните везикули и техния трафик до лизозомите<sup>35</sup>. Не е изяснено напълно защо пациенти с дефицит на AP-3 имат неутропения.

Неотдавна беше описан един синдром, включващ имунен дефицит, съчетан с изоставане в растежа, частичен албинизъм, лимфоцитен дефицит и конгенитална неутропения<sup>36</sup>. Установено беше наличие на хомозиготна мутация в гена ROBLD3, кодиращ ендозомната адапторна молекула p14, и като последица – намаление на нивото на p14 протеина. Проведените допълнителни проучвания подкрепят становището, че p14 е от съществено значение за клетъчната пролиферация и диференциация<sup>37</sup>.

#### Неутропения, съчетана с мутации в гена на GF11 протеина

Това е изключително рядка причина за конгенитална неутропения. Клиничният фено-

тип не изглежда много хомогенен, тъй като у един пациент е била установена тежка неутропения на 4-месечна възраст, докато бащата, който имал същата мутация, бил с умерена асимптоматична неутропения. У друг пациент с тази мутация неутропенията не била съчетана с изявена податливост на инфекции. Всички тези пациенти са били с нормален клетъчен и хуморален имунитет.

GFI1 е нуклеарен протеин, чийто ген е разположен на хромозома 1p22. Той е транскрипционен репресивен фактор, участващ в развитието на Т-клетъчните прогенитори. Неговото участие в гранулорезата и в активността на макрофагите била демонстрирана при експериментални животни<sup>38</sup>.

#### **Wart hypogammaglobulinemia immunodeficiency myelokathexis (WHIM) syndrome**

Това заболяване се отличава с неутропения, с морфологични аномалии на рядко циркулиращите неутрофили, които са хиперсегментирани и съдържат цитоплазмени вакуоли. Този необичновен морфологичен аспект (kathexis означава задръжка на неутрофилите в костния мозък) оправдава използването на началния термин – myelokathexis<sup>39</sup>. Винаги се установяват множество папилома вирусни брадавици, довели до приемането на термина 'Wart hypogammaglobulinemia immunodeficiency myelokathexis'. Последващото изясняване на ролята на гена на хемокиновия рецептор (CXCR 4) показва, че този синдром съответства на същата болестна единица, въпреки че в началото може да липсват брадавици. CXCR4 един хемокинов рецептор, и с неговия лиганд SDF1 (CXCL 12) участва в органогенезата, В-лимфоцитната онтогенеза и миелорезата и са необходими за CD34+ клетъчна миграция от костния мозък. Мутациите на CXCR 4 хемокина са доминантни и водят до дефектна мобилизация на неутрофилите от костния мозък (myelokathexis) и лимфоцитоза<sup>40</sup>.

#### **Неутропения, свързана със смесени конституционални нарушения**

##### **Ретикуларна дизгенезия и мутация на AK 2 гена**

Ретикуларната дизгенезия е една аутозомна рецесивна форма на тежък комбиниран имунен дефицитен синдром. При раждането този синдром се отличава с пълна липса

на неутрофили, Т- и NK-клетки, понякога съчетан с анемия, тромбоцитопения и малък брой В-клетки, докато броят на моноцитите остава нормален. Неотдавна беше идентифициран генът, отговорен за тази форма на тежък комбиниран имунодефицитен синдром<sup>41</sup>. Той кодира аденилат-киназа-2 (AK2) – един универсален ензим, включен в енергийния метаболизъм, чиято функция е обратимо трансфосфорилиране на АМФ и АТФ в АДФ.

#### **Други синдроми, съчетани с неутропения**

**Анемия на Blackfan–Diamond.** Няколко години след началото може да се появи неутропения у пациенти с анемия на Blackfan–Diamond.

##### **Анемия на Fanconi u dyskeratosis congenita**

Неутропенията е един интегрален признак на тези конституционални форми на костно-мозъчна аплазия, които са свързани с комплексни малформации.

**Аминоацидопатии.** Неутропенията е вторичен признак на много аминоацидопатии, включващи хиперглицинемия и изовалерианова, пропионова и метилмалонова ацидемия<sup>4</sup>.

##### **Диагноза на конгениталната неутропения**

Неутропенията е относително честа находка, докато конгениталната неутропения е госта рядка. При неуспешни ситуации перманентната, интермитентната или регресивната природа на неутропенията трябва да бъде изяснена по време на един период от няколко седмици, заедно с броя и вида на наблюдаваните инфекции, както и промените в букалната област. Изследването на костния мозък често е необходимо за изключване на малигнена хемопатия, изследване на миелодигната матурация и определяне на целуларитета. Матурационният арест на промиелоцитно ниво често е свързан с костномозъчна хипереозинофилия и моноцитоза. Морфологично, малко аспекти са типични за конкретна етиология. Специфичната хемофагоцитоза на неутрофилите е признак на аутоимунна неутропения у малките деца. Цитоплазмената гранулация е суспектна за болестта на Chediak–Higashi, докато хемофагоцитозата насочва към дибазична протеинова intolerантност и myelokathexis. Прекурсорната вакуолизация е един признак на синдрома на Pearson. В натривката от костен мозък се

установява неспецифична дисгранулопоеза или нормална находка, но това не изключва диагнозата конгенитална неутропения. Цитогенетичното костномозъчно изследване е ключово, когато се изследва изолирана неутропения, суспектна за бенигна конгенитална неутропения.

От интерес са изследванията за антинеутрофилни антитела – IgA, IgG, IgM, лимфоцитното имунофенотипизиране, панкреасните маркери и нивата на мастноразтворими витамини – А, Е и D.

## Лечение

От 1987 г., когато става възможно лечението с rh-G-CSF, качеството на живот на болните от тежка конгенитална неутропения е значително подобро. Днес повечето пациенти с конгенитална неутропения достигат до напреднала възраст. G-CSF има плейотропни ефекти чрез серия от молекулярни въздействия в подкрепа на неутрофилната диференциация. Той има антиапоптично въздействие, както и води до т.н. спешна неутрофилна гранулопоеза<sup>42</sup>.

Анализът на данните показва, че 90–95% от пациентите, засегнати от ТКН, отговарят на лечението с rh-G-CSF с повишаване на броя на неутрофилните левкоцити повече от  $1 \times 10^9/L$  и намаляване на необходимостта от болнично лечение, както и на използване на антибиотици<sup>43</sup>.

Повечето пациенти отговарят на rh-G-CSF в доза 3  $\mu g/kg$  до 10  $\mu g/kg$  на ден. Лечението обикновено започва с 5  $\mu g/kg$  на ден. В случаите с незадоволителен ефект дозата се повишава до 10  $\mu g/kg$ , като може да се стигне до 120  $\mu g/kg$  на ден. Пациентите, неповлияващи се от дози до 120  $\mu g/kg$  на ден, се определят като неотговарящи. Напоследък единствената ефективна терапевтична стратегия за ТКН е алогенната трансплантация на хемопоетични стволови клетки<sup>44</sup>.

## Представяне на случая

Значителен напредък в изучаването на спектъра на заболяването е разкриването на една група от конгенитални неутропеници, означена като **бенигна хронична неутропения**<sup>45</sup>. Тя се отличава както с неутропения, така и с намалена гранулопоеза, с редуциран брой на зрели неутрофили в костния мозък.

Унаследяването е автосомно доминантно. Пациентите може да се асимптоматични или да имат умерено тежки инфекции, които да изискват антибиотична терапия. Бенигнената хронична неутропения е една хетерогенна група, много вероятно – с различни генетични лезии<sup>45</sup>. Кариотипните аномалии са редки, но са били съобщени.

Неотдавна ние установихме едно момиче, суспектно за такава форма на конгенитална неутропения.

Пациентката е на 6 години, презледана за пръв път на 3 години, когато е била открита неутропения. Момичето е родено доносно от първа нормална бременност, хранено изкуствено, с нормално физическо и психическо развитие. Започва да боледува често от 2-годишна възраст, с чести рекурентни инфекции на горните дихателни пътища, пневмония на 5 години, устни улцерации, чести фебрилни периоди до 3-годишна възраст. Сега вече по-рядко повишава температура.

При физикалното изследване момичето тежи 29 kg, високо е 127 cm. Няма прояви на дизморфизъм. Виталните знаци са нормални, но се откриват прояви на респираторна инфекция, с катарално възпалени и уголемени тонзили. Сърдечният статус – нормален, коремът е мек, без хепатоспленомегалия. Зрителен анализатор – без патологични отклонения. Ставите и крайниците бяха нормални. Лабораторните изследвания показаха брой на Eryt –  $4.55 \times 10^{12}/L$ ; хемоглобин – 128 g/L; Hct – 0.38; MCV – 80.7 fl; MCH – 28.1 pg; MCHC – 349 g/L; тромбоцити –  $295 \times 10^9/L$ ; брой на левкоцити –  $2.66 \times 10^9/L$  с 25.5% ( $0.68 \times 10^9/L$ ) неутрофили, 54.1% ( $1.44 \times 10^9/L$ ) лимфоцити, 14.3% ( $0.38 \times 10^9/L$ ) моноцити, 5.3% ( $0.14 \times 10^9/L$ ) еозинофили и 0.8% ( $0.02 \times 10^9/L$ ) базофили. Глюкоза, електролити, триглицериди, холестерол, HDL, LDL, тестове за чернодробна функция, имунна електрофореза, серумно желязо, желязосвързващ капацитет, феритин, TSH, ANA и ревматоидния фактор бяха нормални. Изследването на урината показва нормални резултати. При ехографското изследване на абдомена се установиха нормален черен дроб и слезка, жлъчен мехур, жлъчни пътища и бъбреци.

За установяване на мутации в ELANE гена у пациентката и нейните родители, бяха проведени изследвания в Специализираната лаборатория за ТКН при Медицинския универ-

	2009				2010				2011		2012				2013				
WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	3.4	3.6	2.7	3.8	3.6	2.78	2.8	2.89	3.3	3.0	2.9	2.2	2.5	3.9	3.1	2.66	2.7	1.7	2.7
LYM (%)	64.8	68	59.9	66.9	55.2		68.8		61.7	61.8	50.9	52.3	57.1	58.5	53.5	54.1	45.9	56.7	
LYM (x10 <sup>9</sup> /L)	2.2		1.6	2.5	2.3		1.9		2.0	1.9	1.5	1.4	1.4	2.3	1.6	1.44	1.2	1.0	
GRAN (%)	27	23	30	22.1	26.1		19.8		30.8	28.2	34.7	27.8	31.8	32.7	32.4	25.5	42.6	35.9	
GRAN (x10 <sup>9</sup> /L)	0.9		0.8	0.8	0.9		0.6		1.0	0.8	1.0	0.6	0.9	1.3	1.1	0.68	1.2	0.6	
MID (%)	8.2	4	10.1	11	8.7		11.4		7.7	10	14.4	8.9	11.1	8.8	14.1	14.3	11.5	7.4	
MID (x10 <sup>9</sup> /L)	0.3		0.3	0.4	0.3		0.3		0.3	0.3	0.4	0.2	0.2	0.3	0.4	0.38	0.3	0.1	
HB (g/L)	130	128	141	128	129	127	118	120	129	136	125	129	145	131	142	128	125	135	129
RBC (x10 <sup>12</sup> /L)	4.58	4.75	4.75	4.92	4.79	4.56	4.39	4.40	4.61	5.04	4.22	4.58	5.09	4.71	5.01	4.55	4.31	4.68	4.48
HCT	0.383	0.38	0.38	0.39	0.39	0.38	0.36	0.37	0.38	0.42	0.37	0.38	0.43	0.38	0.42	0.37	0.37	0.39	0.37
MCV (fl)	83.7	79.9	78.7	79.3	81.6	82.4	81.3	82.8	83.5	84.4	86.5	84.6	85	81.6	85	80.7	86.4	84.6	82.1
MCH (pg)	28.4	26.9	29.6	26.0	26.9	27.9	26.9	27.2	28	27	29.6	28.2	29.4	27.8	28.3	28.1	29.0	28.8	28.8
MCHC (g/L)	339	337	378	328	330	339	331	328	335	320	342	345	335	341	335	349	336	341	351
PLT (x10 <sup>9</sup> /L)	343	293	295	347	319	202	255	244	264	288	262	276	251	325	282	295	275	262	282

Табл. 1. Промени в показателите на кръвната картина на пациентката за периода 2009–2013 г.

ситет в Хановер, Германия, но резултатите се оказаха негативни. Хромозомното изследване също не установи патологични изменения. Въпреки настойчиви искания да вземем костно-мозъчен аспират за изследвания, родителите не дадоха съгласие.

Проведените кръвни изследвания на детето по време на 4-годишен период показаха една изолирана неутропения с левкоцитен брой, колебаещ се от 1.7 до 3.9 x 10<sup>9</sup>/L, и нисък абсолютен брой неутрофили, вариращи от 0.6 до 1.3 x 10<sup>9</sup>/L. Абсолютният брой на моноцитите беше нормален, варирайки от 0.1 до 0.4 x 10<sup>9</sup>/L. Показателите на кръвната картина на пациентката за този период са показани подробно на табл. 1.

При майката също се установи неутропения с чести инфекции на горните дихателни пътища и ангини. Четири кръвни карти на майката за 3-годишен период показаха левкоцитен брой 3.6 x 10<sup>9</sup>/L, 3.8 x 10<sup>9</sup>/L, 3.1 x 10<sup>9</sup>/L и 3.5 x 10<sup>9</sup>/L. Съответстващите абсолютни неутрофилни бройки бяха 1.6 x 10<sup>9</sup>/L, 1.6 x 10<sup>9</sup>/L, 2.1 x 10<sup>9</sup>/L и 1.8 x 10<sup>9</sup>/L. Останалите показатели на кръвната картина – хемоглобин, еритроцити, еритроцитометрични индекси, хематокрит и брой тромбоцити, не показаха отклонения от референтните стойности.

При двукратно изследване бащата беше с нормална кръвна картина.

Клиничното състояние на пациентката и нейната майка, както и резултатите от лабораторните изследвания – изявена неутропения с ниво на неутрофилите, колебаещо се от 0.6 x 10<sup>9</sup>/L до 1.3 x 10<sup>9</sup>/L у пациентката и от 1.6 x 10<sup>9</sup>/L до 2.1 x 10<sup>9</sup>/L у майката, дават осно-

вание да се приеме вероятна диагноза **конгенитална бенигна хронична неутропения**.

В литературата данните за бенигна неутропения са оскъдни. При единични случаи са установени каротипни аномалии, като fra (10)(q25) fra (16)(q22)<sup>45</sup>. Тези аномалии са рядко откривани, както беше и при представения случай. Наблюдението на пациентката и нейната майка продължава и при изявено съгласие от страна на родителите ще се направи изследване на костно-мозъчен аспират. Това ще попълни празнотата в направените изследвания и ще допринесе за окончателното изясняване на случая.

## Литература

- Dallman PR. Reference ranges for leukocyte counts in children. In: Nathan DG, Orkin SH, eds. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. Philadelphia: WB Saunders Company, 1998 (Appendices XV).
- Reed WW, Diehl LF. Leukopenia, neutropenia, and reduced hemoglobin levels in healthy American blacks. – *Arch Intern Med*, 1991, 151:501–505.
- Валерия Игнатова Калева. Фебрилна неутропения и инфекциозни усложнения при онкологично болни деца. Док. Дис. Варна, 2004.
- Jean Donadieu et al. Congenital neutropenia: diagnosis, molecular bases and patients management. – *Orphan Journal of Rare Diseases*, 2011, 6:26.
- Notarangelo LD et al. Primary immunodeficiencies: 2009 update. – *J. Allergy Clin. Immunol*, 2009, 124:1161–1178.
- Dale DC et al. Severe chronic neutropenia International Registry. – *Am. J. Hematol*, 2003, 72:82–93.
- Bouma G et al. Recent advances in the understanding of genetic defects of neutrophil number and function. – *Brit. Jour. of Hematology*, 2010, 151, 312–326.
- Ancliff PJ. Congenital neutropenia. – *Blood Reviews*, 2003, 17:209–216.
- Maheshwari A, Christensen RD, Calhoun DA. Immune neutropenia in the neonate. Adv. – *Pediatr*, 2002, 49:317–339.

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.