

## Neutropenia in the newborn

Petja Fister, Vesna Amon Prodnik,  
Barbara Faganel Kotnik

### Izveleček

Nevtropenija je znižano število nevtrofilnih granulocitov v periferni krvi. Nevtrofilni granulociti so celice prirojene imunosti, ki s fagocitno sposobnostjo organizem varujejo pred bakterijskimi okužbami. V obdobju novorojenčka je fiziologija nevtrofilnih granulocitov drugačna kot pri večjih otrocih in pri odraslih. Glede na mehanizem nastanka razlikujemo nevtropenijo zaradi okrnjenega nastajanja nevtrofilnih levkocitov v kostnem mozgu in nevtropenijo zaradi pospešene razgradnje (porabe) nevtrofilnih levkocitov na periferiji. Vzroki nevtropenije pri novorojenčku so zelo raznoliki, zato je pomembno, da stanje prepoznamo, ga klinično ovrednotimo in zagotovimo potrebno oskrbo.

**Ključne besede:** novorojenček, nevtropenija, aktivacija nevtrofilcev, število levkocitov, referenčne vrednosti, granulocite-stimulirajoči dejavnik, intravenski imunoglobulini.

### Abstract

Neutropenia is a condition with a decreased number of neutrophils in the blood. Neutrophils (neutrophil granulocytes) are cells of inborn immunity and they protect an organism against bacterial infections through their action in the process of phagocytosis. In the neonatal period, the physiology of neutrophils is different from that in are morphologically similar to those of older children or adults, however, there are significant functional differences among them. According to the mechanism of origin, we separate neutropenia because of decreased neutrophil production in the bone marrow and neutropenia due to increased neutrophil destruction (utilisation). Neutropenia can evolve from numerous (clinical and other) causes, therefore it is important to recognise the condition and to make a proper clinical assessment in order to provide appropriate treatment.

**Key words:** neonate, neutropenia, neutrophil activation, leucocyte count, reference values, granulocyte colony-stimulating factor, intravenous immunoglobulins.

## Uvod

Nevtropenija je znižano število nevtrofilnih granulocitov v periferni krvi. Gre za pomembno klinično stanje v obdobju novorojenčka. Kot nevtropenija se lahko izrazijo različna osnovna stanja, zato obravnava novorojenčka z nevtropenijo zahteva različne pristope (1, 2). Odkrijemo jo enostavno, s pregledom krvne slike, ki je ena izmed najpogostejših preiskav pri novorojenčkih. Včasih jo opravimo zaradi suma na nevtropenijo, pogosteje pa je dodatna najdba ob osnovnem pregledu periferne krvi zaradi drugih vzrokov (1). Pogosteje jo odkrijemo pri bolnih novorojenčkih. Pojavnost je višja pri nedonošenčkih kot pri donošenih novorojenčkih (3). Pogosto je prehodne narave, zlasti pa je pomembna ob dolgotrajnem in težkem poteku, saj je verjetnost, da gre za pomembno okrnjeno obrambo pred bakterijskimi okužbami, v tem primeru bistveno večja (2, 3).

## Fagocitopoeza

Hematopoeza se prične v rumenjakovi vrečki, v t. i. krvnih otočkih iz zarodnih krvnih celic. V drugem mesecu nosečnosti so glavni organ hematopoeze jetra, do petega nosečnostnega meseca pa se nastajanje vzpostavi tudi v vranici. Glavno vlogo postopno prevzame kostni mozeg, ki vlogo v celoti prevzame ob roku poroda (4, 5).

Levkopoeza nastopi razmeroma pozno, med 14. in 16. tednom nosečnosti, ter vse do rojstva in tudi po njem poteka v kostnem mozgu (6). Število nevtrofilcev je sprva izredno nizko, nato pa se počasi povečuje. Med 26. in 30. tednom nosečnosti je ocenjeno število nevtrofilcev  $350/\text{mm}^3$ . Ekstremna nedonošenost tako poleg ostalih tveganj predstavlja tudi tveganje življenja ogrožajočih okužb zaradi nizkega absolutnega števila nevtrofilcev v periferni krvi (6).

Razvoj granulocitov poteka preko mieloblasta, promielocita, mielocita in metamielocita vse do paličastih in nato segmentiranih granulocitov (7).

## Aktivacija nevtrofilcev

Nvtrofilni granulociti so celice imunske vrste, ki sodelujejo pri obrambi organizma pred bakterijskimi in glivnimi okužbami v sklopu prirojene (naravne) imunosti (5). Nvtrofilci se aktivirajo ob vstopu tujka v telo. Aktivacija poteka preko posameznih stopenj, ki so medsebojno usklajene s posredniki vnetja in citokini, ki jih sproščajo aktivirani nevtrofilci. Cilj delovanja nevtrofilcev je fagocitoza, tj. odstranitev tujka. Na ta način se nevtrofilci preko medsebojne komunikacije organizirajo za uspešno izvedbo obrambne funkcije v telesu (4). Proces aktivacije nevtrofilcev prikazujemo na Sliki 1.

Faze aktivacije nevtrofilcev so:

1. adhezija,
2. agregacija,
3. eksudacija (levkodiapedeza),
4. kemotaksa in
5. fagocitoza.

Ko nevtrofilci dozoriijo v kostnem mozgu, vstopijo v sistemski krvni obtok. Del jih s krvjo kroži po telesu v osrednjem delu toka krvi, del pa jih ostaja na perifernem delu, ob žilni steni. Periferna skupina nevtrofilcev vstopa v nenehno interakcijo z endotelnimi celicami žilne stene preko L-selektinov na celični površini. Na ta način nevtrofilci prepoznavajo antigene na žilni steni. Sestava antigenov na površini endotelnih celic se namreč ob vdoru tujka v organizem pod vplivom vnetnih citokinov spremeni.

Krožeči nevtrofilni granulocit zazna vsako antigensko spremembo endotelnih celic. Tedaj na površini prične izražati več adhezijskih molekul, s katerimi se čvrsto pritrdi na žilno steno in preneha potovati s krvnim obtokom. Proces imenujemo **adhezija**. Poleg interakcije z endotelnimi celicami se z adhezijskimi molekulami med seboj povežejo tudi posamezni nevtrofilci, kar imenujemo **agregacija**. Sledi **proces eksudacije (levkodiapedeze)**, ko se preko oblikovanja psevdopodijev nevtrofilci skozi medcelične stike med endotelnimi celicami prebijejo v medcelični prostor (8). V medceličnem prostoru se nevtrofilci gibljejo po principu **kemotakse**. Usmerja jih koncentracijski gradient vnetnih posrednikov, citokinov, bakterijskih produktov in produktov komplementa, pri čemer vsi difundirajo z mesta okužbe.

Nvtrofilci se na naraščajočo koncentracijo molekul nenehno prilagajajo. Gre zlasti za spremembe v naboru izraženih površinskih molekul in spremembe v prepustnosti membrane za različne ione. Ko nevtrofilni granulocit doseže tujek, nastopi zadnja faza eliminacije, **fagocitoza**. Nvtrofilni granulocit se poveže s tujkom preko interakcije z molekulami komplementa in imunoglobulini (t. i. opsonini), ki so vezani na tujek. Nastane fagosom, ki se znotraj celice zlije z lizosomskimi encimi, kar vodi v razgradnjo tujka in s tem v postopno odstranitev tujka iz organizma (4).

## Posebnosti v delovanju nevtrofilcev pri novorojenčku

Morfološko so nevtrofilci pri novorojenčkih enakovredni nevtrofilcem pri starejših otrocih ali pri odraslih, vendar se pomembno razlikujejo v delovanju (4,10).

- Nvtrofilci novorojenčka vsebujejo manj adhezijskih molekul. Razlikujejo se tudi v naboru na površini celice izraženih molekul, kar je očitno predvsem v prvih treh fazah aktivacije, tj. adheziji, agregaciji in eksudaciji, kjer so ključne medcelične interakcije.

- Vsebnost vseh vrst granul, ki jih vsebujejo nevtrofilci, je znižana. Vnetne posrednike sproščajo v okolico tudi primarne granule, ki delujejo znotrajcelično ob zlitju s fagosomom, ter sekundarne in terciarne granule. Slednje vsebujejo različne membranske površinske molekule, ki sodelujejo pri medsebojnem prepoznavanju in interakciji celic ter na ta način delujejo pretežno zunajcelično.

- Upočasnjena je kemotaksa, kar je predvsem posledica znižanega števila granul in njihovega omejenega sproščanja. Ob tem so nevtrofilci pri novorojenčkih zaradi okrnjene fluidnosti celične membrane tudi slabše mobilni. Kemotaksa doseže normalno stopnjo med 2. in 5. letom starosti.

- Proces fagocitoze in baktericidnost sta pri zdravih novorojenčkih enaka kot pri starejših otrocih, pri bolnih novorojenčkih pa znižana.

- Nevtrofilci pri odraslih živijo do 8 dni. Na vprašanje, ali je viabilnost nevtrofilcev pri novorojenčkih enaka kot pri odraslih ali morda skrajšana, še ne poznamo zanesljivega odgovora (8).

## Absolutno število nevtrofilcev

Nevtropenija je znižano število nevtrofilcev. Za oceno kvantitativnih sprememb v krvni sliki izračunamo število posameznih levkocitnih podvrst v absolutnem številu celic na volumsko enoto (5). Absolutno število nevtrofilcev (AŠN) v periferni krvi izračunamo na podlagi izvida hemograma z diferencialno krvno sliko po formuli (3,11):

$$AŠN = L \times X;$$

pri čemer je L število levkocitov v periferni krvi (število celic/ $\mu\text{l}$  oz. št. celic/ $\text{mm}^3$ ), X pa delež nevtrofilcev (vsota deležev segmentiranih in paličastih granulocitov, podana v decimalnem številu).

## Referenčne vrednosti

AŠN vedno klinično ovrednotimo glede na referenčne vrednosti (2, 3). Normalno število nevtrofilcev je namreč odvisno od številnih dejavnikov, ki vključujejo porodno težo novorojenčka in njegovo poporodno starost. Tako so Manroe in sod. izdelali referenčne vrednosti za donošene novorojenčke, Mouzinho s sod. pa za otroke z zelo nizko porodno težo (angl. *very low birth weight*, VLBW), kar prikazujemo v Tabelah 1 in 2 ter na Slikah 2, 3 in 4 (3,11). Normalno število nevtrofilcev naj bi bilo odvisno tudi od rase (12) in morda celo od nadmorske višine (1).

Po rojstvu se število nevtrofilnih granulocitov v prvih 12–18 urah poveča za kar 3- do 5-krat, nato pa se postopno zmanjšuje. Po petih dneh doseže razmeroma stabilno raven, a se postopno zmanjšuje do 28. dneva po rojstvu (4) (Tabeli 1 in 2).

Pri tolmačenju izvida je pomembna predvsem spodnja referenčna meja absolutnega števila nevtrofilnih granulocitov, saj se na podlagi morebitnega odklona odločamo o nadaljnjih diagnostičnih in terapevtskih postopkih (3, 4). Sicer je

absolutno število nevtrofilnih granulocitov predvsem uporaben kazalnik poteka nevtropenije (3).

## Stopnja nevtropenije

Stopnjo nevtropenije v obdobju novorojenčka opredeljujemo na enak način kot zunaj novorojenčkovega obdobja. Če v dveh zaporednih vzorcih periferne krvi dokažemo AŠN  $< 1000/\mu\text{l}$ , govorimo o zmerni nevtropeniji, ki pomeni srednjo stopnjo tveganja okužb (1,3,4,5). Pri vrednostih AŠN  $< 500/\mu\text{l}$  govorimo o težki nevtropeniji in predstavlja povečano tveganje življenjsko nevarnih okužb, zlasti če traja več dni oz. tednov (3,4,5). Nekateri avtorji kot klinično pomembno opisujejo le nevtropenijo z AŠN  $< 500/\mu\text{l}$  (12).

Tudi vrednosti AŠN  $> 1000/\mu\text{l}$  so glede na referenčne vrednosti lahko v območju nevtropenije, a klinično nimajo večjega pomena, saj AŠN  $> 1000/\mu\text{l}$  ne pomeni večjega tveganja okužbe (1).

## Vzroki neonatalne nevtropenije

Večina primerov neonatalne nevtropenije je posledica okužbe ali drugih stresnih dejavnikov, kot so dihalna stiska, možganska krvavitev ipd. (1,6). Za to obdobje so značilne tudi nevtropenije, ki so posledica interakcije materinih protiteles razreda IgG z antigeni na otrokovih nevtrofilcih ali učinka dejavnikov s strani posteljice, ki zavirajo tvorbo nevtrofilcev (4).

Zaradi večje preglednosti nevtropenije glede na vzrok razdelimo v dve večji skupini: 1) nevtropenije, ki so posledica nezadostnega nastajanja nevtrofilcev v kostnem mozgu in 2) nevtropenije, ki nastanejo zaradi pospešene razgradnje nevtrofilcev na periferiji (2, 3, 6).

### Nevtropenije novorojenčka zaradi nezadostne tvorbe nevtrofilcev v kostnem mozgu

V nadaljevanju so naštetih vzroki nevtropenije novorojenčka zaradi nezadostne tvorbe nevtrofilcev v kostnem mozgu (2, 3, 11, 12):

- Nastajanje nevtrofilcev je okrnjeno pri otrocih, rojenih materam s hipertenzijo v nosečnosti. Posteljica naj bi namreč sproščala dejavnike, ki inhibirajo nevtropoezo oz. zmanjšajo odzivnost prekurzorjev nevtrofilcev na G-CSF (angl. *granulocyte colony-stimulating factor*) (3). V primerjavi s stanji ob odsotnosti materine hipertenzije tovrstna nevtropenija traja dlje (4).

- Prisotne pri novorojenčkih dvojčkih, ki so donorji v primeru transfuzije dvojčka k dvojčku.

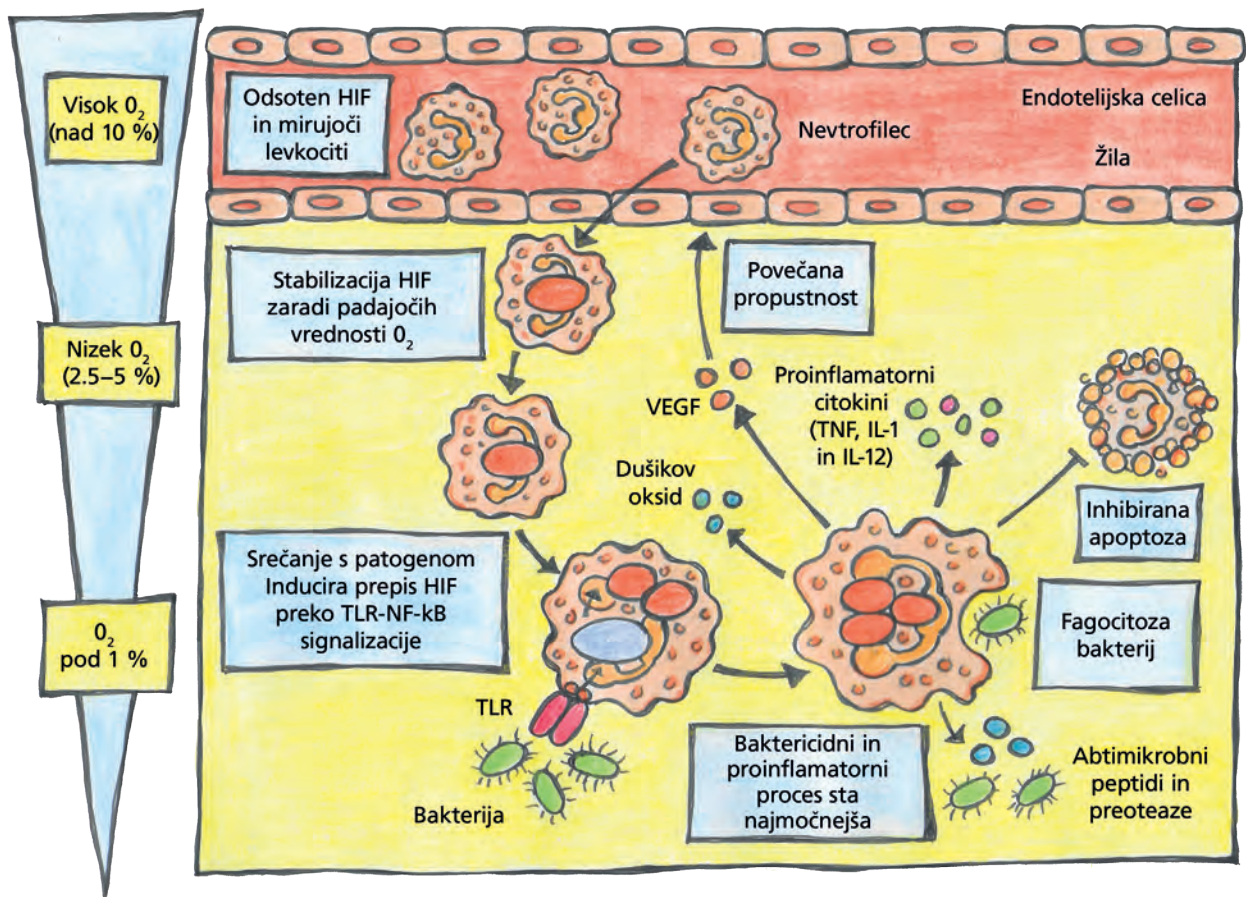
- Pri novorojenčkih z RhD-hemolitično boleznijo (t. i. kradež prekurzorjev) se prekurzorske celice več krvnih vrst usmerijo v eritrocitno vrsto, da nadomestijo s hemolizo izgubljene eritrocite.

- Kongenitalne nevtropenije (3, 12, 14, 15) – Najpogostejša med težkimi kongenitalnimi nevtropenijami je nevtropenija, povezana z mutacijo v genu ELANE, ki nosi zapis za encim elastazo, kar onemogoči vgradnjo encima v celično membrano. Kaže se lahko s težko stalno nevtropenijo ali ciklično nevtropenijo, pri kateri se obdobja nevtropenije pojavljajo na približno 21 dni (15).

- Kostmannov sindrom je stanje z zastojem dozorevanja in pospešeno apoptozo prekurzorjev nevtrofilnih granulocitov, veliko dovzetnostjo za hude bakterijske okužbe, duševno manjrazvitostjo in epilepsijo. Vzrok je mutacija gena HAX1 na kraku q kromosoma 1, ki kodira mitohondrijsko beljakovino, ki ima vlogo stabilizatorja membrane.

- Za Shwachman-Diamondov sindrom so značilni insuficienca eksokrinega dela trebušne slinavke, intermitentna nevtropenija in druge citopenije, metafizne displazije ter psihomotorična manjrazvitost, včasih s pridruženjo prizadetostjo kože (ekcem, ihtioza). Bolnike doživljenjsko ogroža aplazija kostnega mozga ali levkemoidna transformacija (AML, MDS). Vzrok je mutacija gena SBDS na 7. kromosomu, ki kodira ribosomsko beljakovino.

- Retikularna disgeneza je avtosomno recesivno dedna oblika težke kombinirane imunske pomanjkljivosti (angl. *severe combined immunodeficiency*, SCID) s pridruženjo prizadetostjo notra-



SLIKA 1. PROCES AKTIVACIJE NEVTROFILCEV. POVZETO PO (9).  
 Legenda: HIF – Hypoxia inducible factor

FIGURE 1. THE PROCESS OF ACTIVATION OF A NEUTROPHIL GRANULOCYTES. ADAPTED ACCORDING TO (9).  
 Legend: HIF – Hypoxia inducible factor

njega ušesa, ki vodi v hudo senzori-nevralno naglušnost. Vzrok je mutacija gena AK2, ki kodira encim adenilatno kinazo 2. Gre za presnovni encim, ki pretvarja AMP in ATP v ADP v procesu reverzne transfosforilacije.

- Barthov sindrom je na kromosom X-vezana dedna bolezen, za katero je poleg zmerne do težke nevtropenije značilna dilatativna kardiomiopatija s fibrozo endomiokarda. Vzrok je mutacija gena G4-5, ki kodira beljakovino, vključeno v homeostazo fosfolipidnih membran.
- Sindrom hrustanec-lasje (angl. *cartilage-hair syndrome*) v klinični sliki združuje pritlikavost, metafizno hondrodizplazijo, redke lasje in imunsko pomanjkljivost. Je posledica mutacije v genu RMRP, ki kodira encim ribonukleazo.
- Sindrom WHIM (angl. *warts, hypogammaglobulinemia, infections, myelokathexis*) je stanje, ko so v periferni

krvi krožeči nevtrofilni granulociti maloštevilni in nepravilnih oblik. Kateksija je zadrževanje celic v kostnem mozgu. Pridružene so limfopenija, hipogamaglobulinemija in številne virusne bradavice. Vzrok sindroma WHIM je mutacija v genu CXCR4, ki kodira kemokinski receptor. Mutacija povzroči hiperaktivnost receptorja, ki vodi v moteno izplavljanje nevtrofilnih granulocitov in limfocitov iz kostnega mozga v periferno kri.

- Kronična granulomatозна bolezen se pojavi zaradi mutacij v genih, ki kodirajo podenote levkocitnega kompleksa NADPH. Fagocitne celice niso sposobne lize fagocitiranih mikrobnih delcev, ker ne nastopi respiratorni stres. To vodi v življenje ogrožajoč potek bakterijskih okužb in tvorbo granulomov po telesu.

bolezni ima ugodnejši potek s kasnejšo manifestacijo in daljšo pričakovano življenjsko dobo.

- Nevtropenija pri prirojenih presnovnih boleznih (organske acidemije, glikogenoza tipa 1b).
- Nevtropenija kot posledica virusnih okužb (citomegalovirus, virus Varicella-zoster, virus rdečk, ošpic, mumpsa, virus Epstein-Barr, virus influence, respiratorni sincicijski virus);
- Nevtropenija zaradi pomanjkanja bakra.
- Aloimunska nevtropenija (povzročena s protitelesi anti-NB1, ki so prisotna na prekurzorjih nevtrofilcev).

### Nevtropenija ob anemiji

Ob uporabi rekombinantnega eritropoetina so pri novorojenčkih dokazali okr-



njeno granulopoezo. Predvidevajo, da eritropoetin zmanjša odzivnost prekursorov celic na G-CSF (16). Učinek endogenega eritropoetina je morda podoben.

### Nevtropenije novorojenčka zaradi pospešene razgradnje nevtrofilcev na periferiji, povzročene s protitelesi, okužbami ali vnetnimi procesi (2, 3, 6, 11)

V nadaljevanju so naštet vzroki nevtropenije novorojenčka zaradi pospešene razgradnje nevtrofilcev na periferiji, povzročene s protitelesi, okužbami ali vnetnimi procesi (2, 3, 6, 11):

- bakterijska ali glivna sepsa (s pospešenim migriranjem nevtrofilcev na mesto okužbe, ob hudih okužbah tudi z upočasnjeno tvorbo nevtrofilcev);
- nekrotizirajoči enterokolitis (z migriranjem celic v peritonej in črevesno steno);
- aloimunska neonatalna nevtropenija (podobna RhD-hemolitični bolezni, pri kateri materina protitelesa reagirajo z antigeni na nevtrofilcih, podedovanih od očeta; redko so protitelesa posledica avtoimunskega procesa pri materi);
- neonatalna avtoimunska nevtropenija (transplacentarni prenos antinevtrofilnih protiteles matere z avtoimunsko nevtropenijo);
- avtoimunska nevtropenija otroštva (preobčutljivost na lastne antigene na nevtrofilcih, ki vodi v nastanek protiteles proti nevtrofilcem).

### Drugi vzroki nevtropenije pri novorojenčkih

Nevtropenija je lahko posledica uporabe zdravil (betalaktamskih antibiotikov, tiazidnih diuretikov, ranitidina, aciklovirja in številnih drugih). Če vzroka ne uspemo pojasniti, gre za idiopatsko nevtropenijo. Lahko je navidezna – govorimo o artefaktni nevtropeniji (zaradi interakcije nevtrofilcev z EDTA v epruveti) in o psevdonevtropeniji (nevtrofilci se zadržujejo ob robu žilne stene in niso zajeti v preiskovanem vzorcu krvi, medtem ko je njihovo dejansko število v krvi lahko normalno) (3).

ČAS PO ROJSTVU	AŠN
ob rojstvu	1800–5500/ $\mu$ l
prvih 12–18 ur	3- do 5-kratno povečanje
24 ur	začetek postopnega zmanjševanja
5. dan	1800–7200/ $\mu$ l
do 28. dne	zmanjšanje na 1800–5400/ $\mu$ l

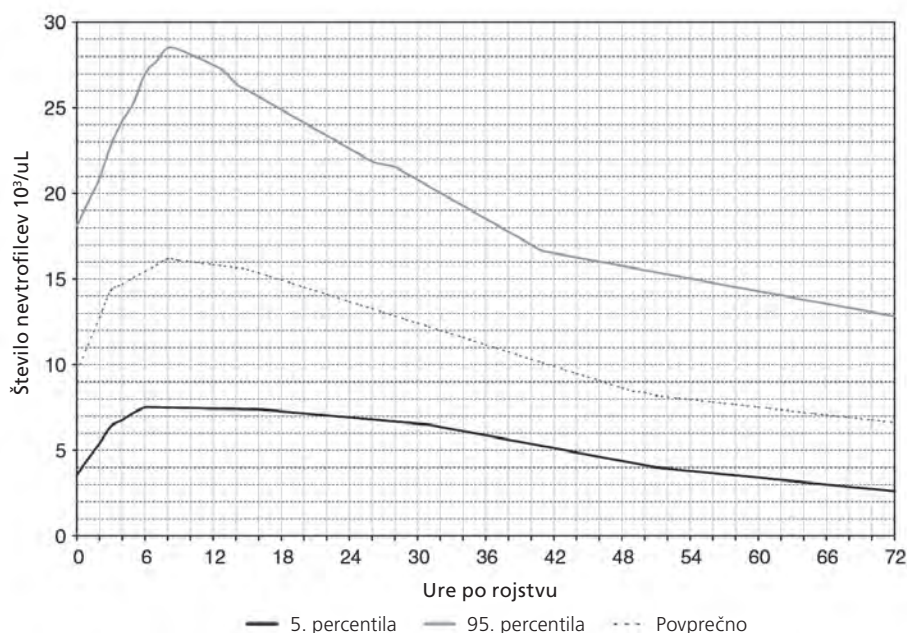
TABELA 1. REFERENČNE VREDNOSTI ABSOLUTNEGA ŠTEVILA NEVTROFILCEV (AŠN) V PERIFERNI KRVI ZA DONOŠENE NOVOROJENČKE, (POVZETO PO (4)).

TABLE 1. NORMAL NEUTROPHIL NUMBERS IN THE CIRCULATION OF THE NEWBORN INFANT (ADAPTED FROM 4).

ČAS PO ROJSTVU	AŠN
18–22 ur	500–2200/ $\mu$ l
do 60 ur	povečanje na 1100/ $\mu$ l
do 28. dne	1100–6000/ $\mu$ l

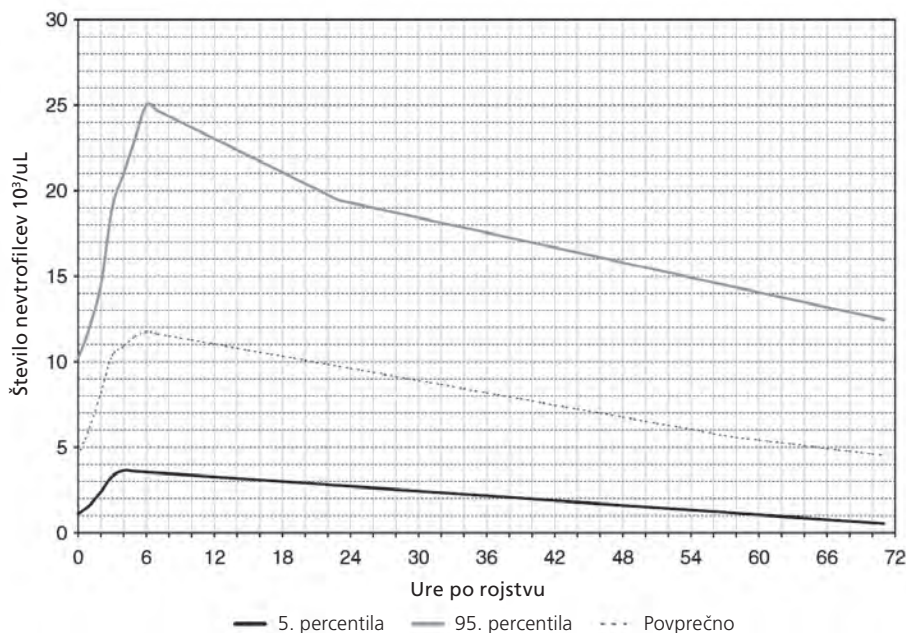
TABELA 2. REFERENČNE VREDNOSTI ABSOLUTNEGA ŠTEVILA NEVTROFILCEV (AŠN) V PERIFERNI KRVI ZA NOVOROJENČKE Z ZELO NIZKO PORODNO TEŽO (POVZETO PO (4)).

TABLE 2. NORMAL NEUTROPHIL NUMBERS IN THE CIRCULATION OF VERY-LOW-BIRTH-WEIGHT (VLBW) INFANTS (ADAPTED FROM 4).



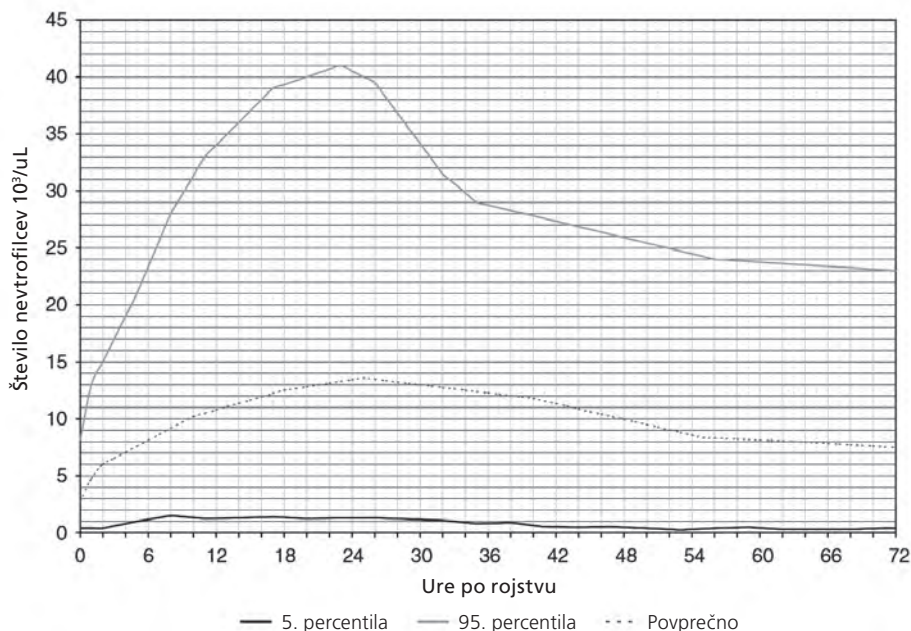
SLIKA 2. ŠTEVILNO NEVTROFILNIH GRANULOCITOV V MIKROLITRU PERIFERNE KRVI V PRVIH 72 URAH PO ROJSTVU PRI DONOŠENEM NOVOROJENČKU (> 36 TEDNOV NOSEČNOSTI). NA SLIKI SO PRIKAZANE VREDNOSTI 5. IN 95. PERCENTILNE KRIVULJE TER KRIVULJA POVPREČNIH VREDNOSTI (POVZETO PO (13)).

FIGURE 2. NEUTROPHILS PER  $\mu$ L OF BLOOD DURING THE FIRST 72 H AFTER THE BIRTH IN TERM AND NEAR-TERM (>36 WEEKS GESTATION) NEONATES. THE 5TH PERCENTILE, THE MEAN, AND THE 95TH PERCENTILE VALUES ARE SHOWN (ADAPTED FROM 13).



SLIKA 3. ŠTEVILO NEVTROFILNIH GRANULOCITOV V MIKROLITRU PERIFERNE KRVI V PRVIH 72 URAH PO ROJSTVU PRI NEDONOŠENČKU NOSEČNOSTNE STAROSTI 28–36 TEDNOV. NA SLIKI SO PRIKAZANE VREDNOSTI 5. IN 95. PERCENTILNE KRIVULJE TER KRIVULJA POVPREČNIH VREDNOSTI (POVZETO PO (13)).

FIGURE 3. NEUTROPHILS PER  $\mu\text{L}$  OF BLOOD DURING THE FIRST 72 H AFTER THE BIRTH OF PRE-TERM NEONATES OF 28- TO 36-WEEK GESTATION. THE 5TH PERCENTILE, THE MEAN, AND THE 95TH PERCENTILE VALUES ARE SHOWN (ADAPTED FROM 13).



SLIKA 4. ŠTEVILO NEVTROFILNIH GRANULOCITOV V MIKROLITRU PERIFERNE KRVI V PRVIH 72 URAH PO ROJSTVU PRI NEDONOŠENČKU NOSEČNOSTNE STAROSTI <28 TEDNOV. NA SLIKI SO PRIKAZANE VREDNOSTI 5. IN 95. PERCENTILNE KRIVULJE TER KRIVULJA POVPREČNIH VREDNOSTI (POVZETO PO (13)).

FIGURE 4. NEUTROPHILS PER  $\mu\text{L}$  OF BLOOD DURING THE FIRST 72 H AFTER THE BIRTH OF PRE-TERM NEONATES <28-WEEK GESTATION. THE 5TH PERCENTILE, THE MEAN, AND THE 95TH PERCENTILE VALUES ARE SHOWN (ADAPTED FROM 13).

## Kinetika nevtrofilcev

Granulocite v kostnem mozgu glede na njihovo razvojno stopnjo razdelimo v dve skupini – proliferativno skupino (mieloblasti, promielociti in mielociti) in skladiščno skupino (metamielocit, paličasti in segmentirani nevtrofilec). Izplavljanje zrelih (segmentiranih) nevtrofilnih granulocitov v krvni obtok natančno uravnava njihova diferenciacija. Pojav paličastih granulocitov v periferni krvi pomeni deplecijo zrelih celic v kostnem mozgu (3).

Število nevtrofilcev v vzorcu periferne krvi torej odraža trenutno stanje, ki je sicer precej dinamično. Govorimo o kinetiki nevtrofilcev, ki jo izrazimo z deležem nezrelih nevtrofilcev v obtoku, tj. z razmerjem I/T (angl. *immature/total*), ki je posredni kazalnik aktivnosti granulocitne vrste v kostnem mozgu pri nevtropeniji (3,4).

V normalnem stanju, ko se iz kostnega mozga izplavljajo samo zreli nevtrofilci, je povprečna vrednost razmerja I/T 0,16 (oz. v razponu med 10. percentilom in 90. percentilom: 0,05–0,27) (2). Če se v periferni krvi pojavijo nezrele oblike (mielociti, metamielociti, paličasti nevtrofilci), se razmerje I/T poveča (4).

Povečanje razmerja nad 0,30 z nevtropenijo navadno odraža povečano porabo ali destrukcijo nevtrofilcev na periferiji in pospešeno tvorbo v kostnem mozgu. Normalne ali nizke vrednosti razmerja I/T ob nevtropeniji pomenijo znižano tvorbo nevtrofilcev (3).

Povečano razmerje I/T je dober napovedni dejavnik sepse pri novorojenčku (občutljivost 34–86 %, specifičnost 47–85 %), zlasti, če ob tolmačenju upoštevamo vrednosti CRP (3,4,17,18,19).

## Obravnavanje nevtropenije pri novorojenčku

### Anamneza

Za opredelitev vzroka nevtropenije pri novorojenčku so pomembni predvsem podatki o zapletih in stanjih med nosečnostjo, kot so uporaba zdravil med nosečnostjo, nosečnostna hipertenzija,

zastoj plodove rasti, večplodna nosečnost z diskordantno rastjo plodov in okužbe med nosečnostjo oz. dejavniki tveganja zgodnje sepse (npr. prolongiran razpok plodovih ovojev in horioamnionitis) (3,6).

Prisotnost nevtropenije oz. avtoimunskih bolezni pri materi nakazuje verjetnost anti-nevtrofilnih protiteles (3). Pomembni so tudi podatki o predhodno zbolelih otrocih v družini ter podatki o nagnjenosti k okužbam oziroma o morebitnih primerih smrti zaradi okužbe (6).

O možnem vzroku nevtropenije lahko sklepamo tudi na podlagi trenutne oz. osnovne bolezni, kot so nekrotizirajoči enterokolitis, bakterijska ali glivična sepsa, imunska pomanjkljivost, kardiomiopatija, presnovna acidoza, pridružena anemija in/ali trombocitopenija (3).

Pomemben je tudi podatek o kronološkem nastopu nevtropenije. Zgodaj po rojstvu oz. v prvem tednu gre za nevtropenijo zaradi nosečnostne hipertenzije ali kongenitalni sindrom odpovedi kostnega mozga. Kasneje so vzrok nevtropenije največkrat prirojene presnovne motnje (3).

## Status

Nevtropenija se pogosto pokaže ob razviti sekundarni okužbi. Pri novorojenčku z nevtropenijo se nekateri klasični znaki lokalnega vnetja (eksudacija, fluktuacija, področna limfadenopatija, povišana telesna temperatura) ne razvijejo. Prisotni sta povišana telesna temperatura in bolečina, zato je zelo pomembno, da otroka natančno opazujemo (6,12).

Pozorni smo tudi na spremembe v ustni votlini, kot sta aftozni stomatitis in gingivitis. Aktivno moramo iskati znake morebitnih vnetij (npr. sinuzitisa, vnetja srednjega ušesa, celulitisa, furunkuloze, vnetja perianalnega predela ali kolitisa). Drugi, redkejši znaki so jetrni abscesi, ponavljajoče se pljučnice in septikemija (12).

Nekatere dismorfne poteze (npr. displazije okostja, hipoplazija radiusa, hipoplazija palca, hepatosplenomegalija, nenormalna pigmentiranost kože in las ipd.) so lahko kazalniki kongenitalnih oblik nevtropenije (3).

Stopnja nevtropenije	AŠN
blaga nevtropenija	1.000–1.500 nevtrofilcev/mm <sup>3</sup>
zmerna nevtropenija	500–1.000 nevtrofilcev/mm <sup>3</sup>
težka nevtropenija	< 500 nevtrofilcev/mm <sup>3</sup>

TABELA 3. STOPNJE NEVTROPENIJE (POVZETO PO (5)).

TABLE 3. THE DEGREE OF NEUTROPENIA (ADAPTED FROM 5).

## Preiskave

Glavno vodilo pri izbiri in vrstnem redu preiskav so trajanje nevtropenije, stopnja nevtropenije ter morebitne pridružene laboratorijske in klinične posebnosti (3).

Osnovna preiskava je pregled razmaza periferne krvi (tj. diferencialna krvna slika) z ustreznim izračunom AŠN in oceno prisotnosti nenormalnih oblik nevtrofilcev (6,12).

Bolj natančno informacijo o celularnosti kostnega mozga dobimo s pregledom vzorca aspiracijske biopsije kostnega mozga (12), ki jo opravimo pri prolongirani nevtropeniji (daljši od 2 tednov) ali refraktarni nevtropeniji in ob sumu na nevtropenijo neperiferne vzroka. Pri novorojenčku vzorec navadno odvezamo iz golenice. Ocenimo proliferativni in postmitotski pol krvnega mozga in z njunim primerjanjem sklepamo na možne vzroke. Zavedati se moramo, da ima preiskava nizko specifičnost (2, 3, 11).

Ob sumu na motnje v prekurzorskih celicah kostnega mozga ali sumu na maligne bolezni se poslužujemo zahtevnejših citogenetskih preiskav kostnega mozga in specialnih barvanj kostnega mozga (12).

Nekatere (monogenske) kongenitalne nevtropenije lahko diagnosticiramo prenatalno. To so težka kongenitalna nevtropenija in ciklična nevtropenija (ELA2, GF11), Shwachman-Diamondov sindrom (SBDS), sindrom WHIM (CXCR4), glikogenoza tipa Ib (G6PT1) ter mutacija gena HAX1 pri Kostmannovem sindromu in G6PC3 pri pomanjkanju glukoza-6-fosfataze (15).

## Zdravljenje

### Zdravljenje z antibiotiki

Ob sumu na sistemsko bakterijsko okužbo sta nujna takojšnje empirično antibiotično zdravljenje s širokospektralnimi antibiotiki in prilagoditev zdravljenja glede na mikrobiološke izvide (6). Pri kroničnih nevtropenijah sta osnovno vodilo klinična slika in vzrok nevtropenije. Benignih oblik nevtropenije brez znakov okužbe ni potrebno zdraviti. Povrhne okužbe kože ob blagi do zmerni nevtropeniji zdravimo s peroralnimi antibiotiki (12). Preventivna uporaba antibiotikov pri novorojenčkih zaradi pojavljanja odpornosti bakterij trenutno ni upravičena (3). Tveganje okužbe ali smrtnega izida pri novorojenčku z nevtropenijo je močno povezano s stopnjo nevtropenije, resnostjo bolezni oz. osnovnih/pridruženih bolezni in s trajanjem nevtropenije (3).

### G-CSF in GM-CSF

G-CSF pospešuje sproščanje nevtrofilnih levkocitov iz kostnega mozga, inducira proliferacijo celic mieloidne vrste v kostnem mozgu in zavira apoptozo nevtrofilcev. Uspešnost zdravljenja z rastnim dejavnikom je odvisna od osnovnega stanja, ki je vzrok nevtropenije (3).

Uporabljamo rekombinantni humani G-CSF (rhG-CSF), s katerim uspešno uravnavamo število nevtrofilnih levkocitov pri težkih kroničnih oblikah nevtropenije, predvsem pri težki kongenitalni nevtropeniji, kroničnih simptomatskih idiopatskih nevtropenijah in cikličnih nevtropenijah. V nizkih odmerkih so lahko uspešni tudi pri imunski nevtropeniji ali z zdravili povzročeni nevtropeniji (12).



Možni dolgoročni neželeni učinki zdravljenja z rhG-CSF so zmerna trombocitopenija, monocitoza, eozinofilija, retikulocitoza, splenomegalija, hiperurikemija in vaskulitis (12,15). Zdravilo dajemo subkutano vsak dan ali nekajkrat na teden, pri čemer odmerke prilagajamo glede na AŠN (2–100 µg/kg TT/dan) (12).

### Intravenski imunoglobulini (IVIG) in kortikosteroidi (KS)

IVIG so primerni za zdravljenje aloimunske in avtoimunske nevtropenije. Povečanje AŠN je prehodno in traja približno teden dni, a lahko dosežemo tudi dolgotrajno remisijo (3). Pri neonatalni sepsi je pomemben predvsem njihov posredni učinek, saj učinkovito mobilizirajo nevtrofilce iz kostnega mozga (3).

Zdravljenje s kortikosteroidi (KS), ki z G-CSF delujejo sinergistično pri spodbujanju proliferacije mieloidne vrste v kostnem mozgu, ni dovolj učinkovito pri zdravljenju aloimunske nevtropenije, nekoliko bolj pa pri zdravljenju avtoimunske nevtropenije, ki jo zdravimo intermitentno (3,12).

### Presaditev krvotvornih matičnih celic (TKMC)

Alogenska presaditev krvotvornih matičnih celic (TKMC) je včasih indicirana pri težkih kongenitalnih nevtropenijah in Shwachman-Diamondovem sindromu ob pojavu mielodisplazije (6,12).

### Drugo

Transfuzija granulocitov je na mestu le pri hudih okužbah s po Gramu negativnimi bakterijami pri novorojenčkih s težko obliko nevtropenije (6,20). Učinkuje le nekaj ur in je primeren ukrep za premostitev nevtropeničnih kriz (3).

Pomembna oblika podpornega zdravljenja nevtropenije je tudi izobraževanje staršev o bolezni in o pomembnosti izvajanja preventivnih ukrepov, kot so skrbna telesna higiena, skrb za negovano kožo (preprečevanje mikropoškodb s ciljem manjšega tveganja okužb), skrb za zdrave dlesni in zobe, ustrezná precepljenost (v okviru obveznega programa in z dodatnimi dostopnimi cepivi) ter zlasti prepoznavanje zgodnjih znakov okužbe (6).

## Zaključek

Nevtropenija v obdobju novorojenčka je v večini primerov prehodno stanje. Pomembno je, da jo prepoznamo ter z natančno anamnezo in kliničnim pregledom ocenimo njen klinični pomen. Na tej osnovi se odločamo o nadaljnjih postopkih. Če odkrijemo nevtropenijo, pri kliničnem pregledu pa ne ugotovljamo odstopanj od normalnega stanja, je večinoma dovolj, da stanje le spremljamo, saj nevtropenija pogosto spontano izzveni. Ob vztrajanju nevtropenije in predvsem ob pojavu kliničnih znakov je potrebno takojšnje diagnosticiranje za bolj natančno opredelitev stanja, učinkovit načrt nadaljnje obravnave ter za preprečitev oziroma pravočasno zdravljenje življenjsko nevarne okužbe.

### Literatura

1. Buescher ES. Neutrophil function disorders. In: de Alarcón PA, Werner EJ, Christensen RD. Neonatal Hematology: Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Hematologic problems. 2nd ed. Cambridge University Press, 2013: 231–54.
2. Maheshwari A. Neutropenia in the newborn. Current opinion in Hematology 2014 21(1): 43–9.
3. Maheshwari A. Practical approaches to the neutropenic neonate. V: Ohls RK, Yoder MC, Polin RA. Hematology, immunology and infectious diseases. Neonatology questions and controversies. 1st ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008: 75–87.
4. Buescher ES. Neutrophil function and disorders of neutrophils in the newborn. In: de Alarcón PA, Werner EJ. Neonatal Hematology. Cambridge University Press, 2005: 254–79.
5. Rajić V, Benedik Dolničar M, Jazbec J. Bolezni krvi in krvotvornih organov. V: Kržišnik C. s sod. Pediatrija. 1. izdaja. Ljubljana: DZS, 2014: 409–26.
6. Manco-Johnson M, McKinney C, Knapp-Clevenger R, Hernández JA. Newborn hematology. In: Gardner SL, Carter BS, Enzman Hines M, Hernández JA. Merenstein & Gardner's handbook of neonatal intensive care. 8th ed. Missouri: Elsevier, 2016: 508–10.
7. Štiblar-Martinčič D. Hemopoeza. V: Štiblar-Martinčič D. Histologija z embriologijo: navodila za vaje. 1. izdaja. Ljubljana: Inštitut za histologijo in embriologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, 2001: 46–52.
8. Kališnik M. Hemopoeza. V: Kališnik M. Oris histologije z embriologijo. 4. izdaja. Ljubljana: Medicinska fakulteta v Ljubljani, 2003: 178–87.
9. Nizet V, Johnson RS. Interdependence of hypoxic and innate immune response. Nature Reviews Immunology 2009; 9(9): 609–17.
10. Del Vecchio A, Christensen RD. Neonatal neutropenia: what diagnostic evaluation is needed and when is treatment recommended? Early Human Development 2012; 88(5): 519–24.
11. Nittala S, Subbarao GC, Maheshwari A. Evaluation of Neutropenia and Neutrophilia in

- Preterm Infants. The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine 2012; 25(55): 100–3.
12. Newburger PE, Boxer LA. Leukopenia. V: Kliegman RM, Stanton BF, Schor NF, St. Geme III JW, Behrman RE, ur. Nelson textbook of pediatrics. 19th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2011: 747–52.
  13. Schmutz N, Henry E, Jopling J, Christensen RD. Expected ranges for blood neutrophil concentrations of neonates: the Manroe and Mouzin charts revisited. Journal of Perinatology 2008; 28: 275–81.
  14. van den Berg JM, van Koppen E, Åhlin A, Belohradsky BH, Bernatowska E et al. Chronic granulomatous disease: the European experience. PLoS ONE 4(4): e5234.
  15. Donadieu D, Fenneteau O, Beaupain B, Mahlaoui N, Bellanné Chantelot C. Congenital neutropenia: diagnosis, molecular bases and patient management. Orphanet J Rare Dis 2011; 6:26.
  16. Christensen RD, Rothstein G. Erythropoietin affects the maturation pattern of fetal G-CSF-responsive progenitors. Am J Hematol 1992; 39: 108–12.
  17. Kordek A. Concentrations of procalcitonin and C-reactive protein, white blood cell count, and the immature-to-total neutrophil ratio in the blood of neonates with nosocomial infections: Gram-negative bacilli vs. coagulase-negative staphylococci. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2011; 30(3): 455–7.
  18. Soni S, Wadhwa N, Kumar R, Faridi MM. Use of immature-to-total neutrophil ratio in early neonatal sepsis. Pediatr Infect Dis J 2012; 31(10): 1101–2.
  19. Newman TB, Draper D, Puopolo KM, Wi S, Escobar GJ. Combining immature and total neutrophil counts to predict early onset sepsis in term and late preterm newborns: use of the I/T2. Pediatr Infect Dis J 2014; 33(8): 798–802.
  20. Pammi M, Brocklehurst P. Granulocyte transfusions for neonates with confirmed or suspected sepsis and neutropenia. Cochrane Database Syst Rev 2011; (10): CD003956.

**doc. dr. Petja Fister, dr. med.**  
(kontaktna oseba / contact person)

Klinični oddelek za neonatologijo  
Pediatrična klinika  
Univerzitetni klinični center Ljubljana  
Bohoričeva 20, 1525 Ljubljana, Slovenija  
E-pošta: petja.fister@mf.uni-lj.si

**Vesna Amon Prodnik, dr. med.**

Zdravstveni dom Ravne na Koroškem,  
Otroški dispanzer, Ravne na Koroškem

**asist. dr. Barbara Faganel Kotnik, dr. med.**

Klinični oddelek za hematologijo  
in onkologijo, Pediatrična klinika,  
Univerzitetni klinični center Ljubljana,  
Ljubljana, Slovenija

prispelo / received: 12. 6. 2018  
sprejeto / accepted: 12. 11. 2018