

Нейтрофильные гранулоциты
Нейтропении
Тяжелая врожденная
нейтропения



Бадретдинова Азиля (гр.2412)

Научный руководитель:
профессор Хакимова Р.Ф.

Казань, 2016

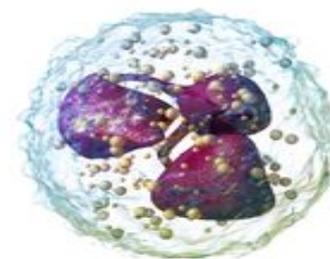
Нейтрофилы



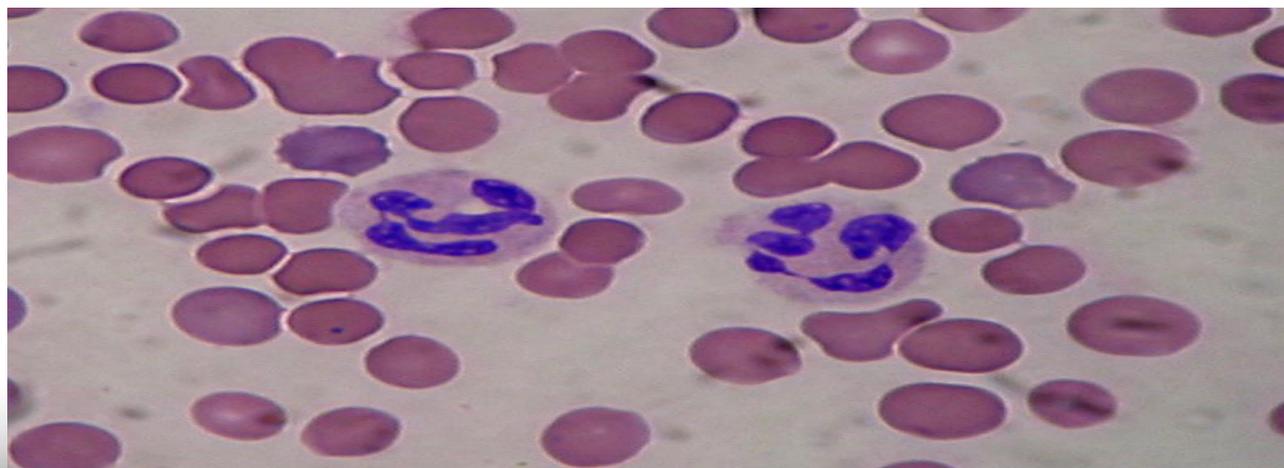
Время созревания в костном мозге-до 14 дней

Зрелые с $d=7-9\mu\text{м}$, со сложным сегментированным ядром

Через 6-10 часов выходят из кровеносного русла в интерстициальное пространство



Neutrophil



Гранулы нейтрофилов



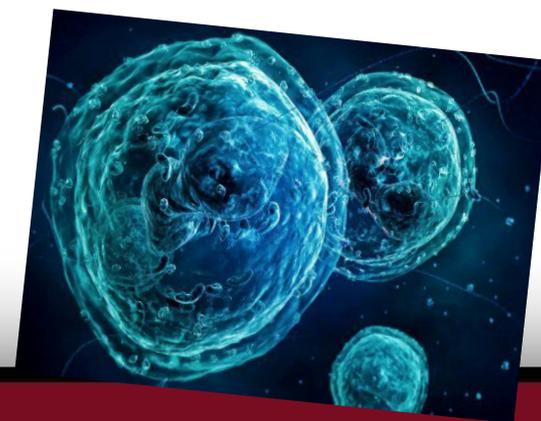
Выделяют три типа гранул:

1. Первичные гранулы (33%) - миелопероксидаза, кислые гидролазы, нейтральные пртеазы и лизоцим.

Образование начинается и завершается на стадии промиелоцита.

2. Вторичные гранулы (67%) - их маркером служит лактоферрин и белок, связывающий витамин В12. Также содержат лизоцим, но не содержат кислых гидролаз. Появляются на стадии миелоцита.

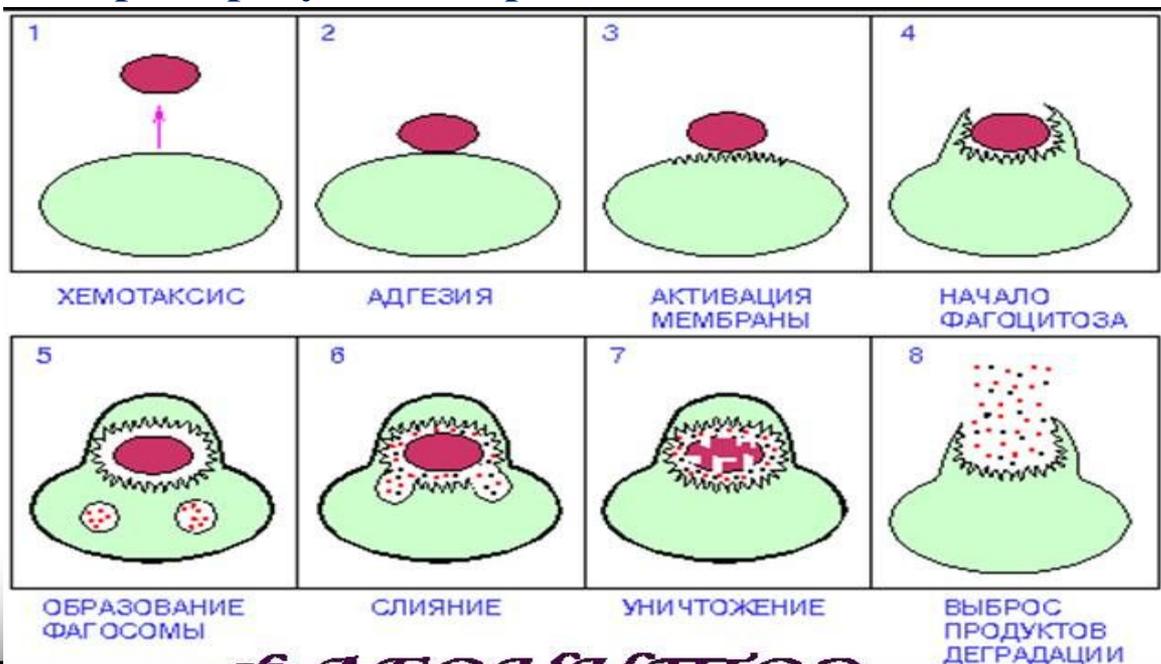
3. Третий тип гранул - содержат только кислые гидролазы



Стадии фагоцитоза

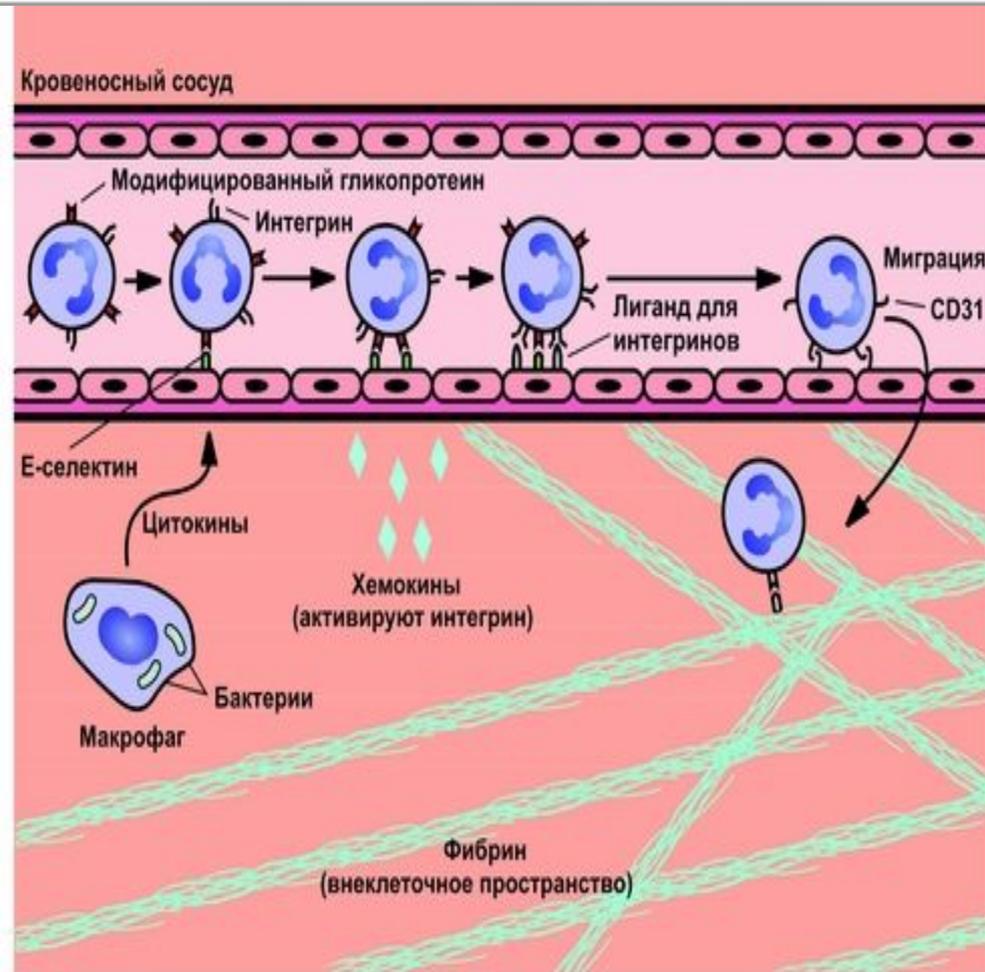


1. Хемотаксис
2. Адгезия фагоцитов к объекту фагоцитоза
3. Поглощение
4. Киллинг и переваривание
5. Выброс продуктов деградации



И.И.Мечников в 1863г.открыл фагоцитоз

Вовлечение нейтрофилов в очаг воспаления



Этапы:

1. Роллинг (перекатывание)

- при участии селектинов

2. Адгезия

- за счет интегринов

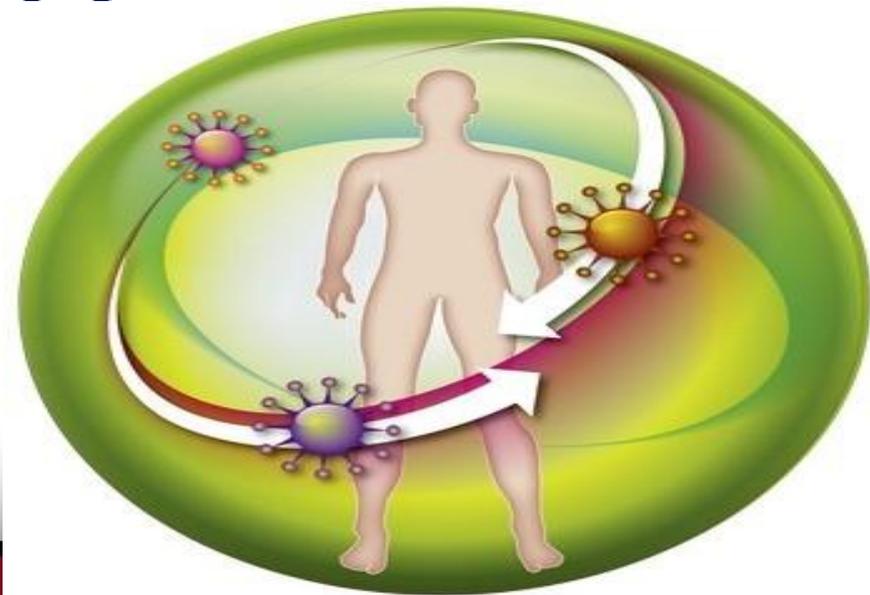
3. Трансэндотелиальная миграция

- под действием хемокинов

НГ как регуляторы иммунитета



НГ обладают широким спектром механизмов, способствующих привлечению клеток адаптивного иммунитета к очагу воспаления, индукции их созревания, дифференцировки, пролиферации и активации



НГ как регуляторы иммунитета



Влияние на клетки иммунной системы



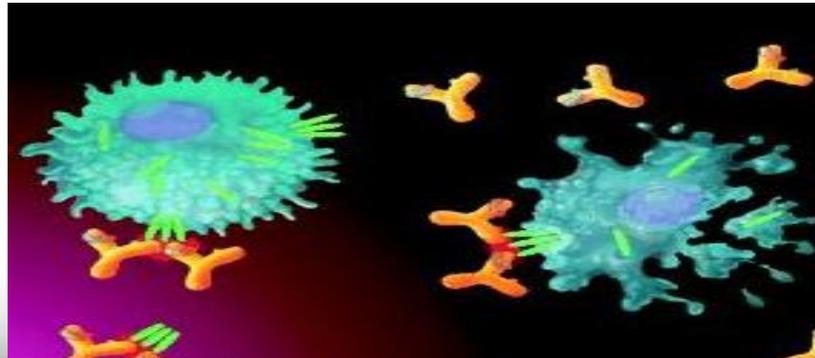
**через прямые
межклеточные
взаимодействия**

реализуется во вторичных
лимфоидных органах



дистанционно

реализуется посредством
растворимых медиаторов

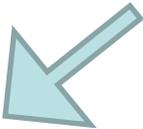


Взаимодействие НГ с дендритными клетками



**ДК: 1. способность к фагоцитозу
2. презентация Аг в составе молекул МНС II Т-лимфоцитам**

Виды действий НГ на ДК


Стимулирующее действие гранул нейтрофилов

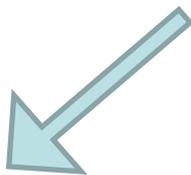

Ингибирующее воздействие гранул нейтрофилов



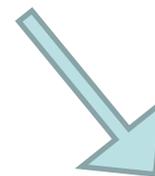
Стимулирующее воздействие на ДК



α-дефинзины, кателициды, лактоферрин



действуют самостоятельно и в составе NET, образуя комплекс с ДНК нейтрофилов



посредством связывания с рецепторами на поверхности ДК

особенно важен TLR4



Ингибирующее воздействие на ДК



Активация клеток бактериальными и
провоспалительными стимулами



Секреция миелопероксидазы во внеклеточную среду



Контакт МРО с ДК



Уменьшение секреции IL-12p70 и снижение экспрессии
CD86

Активация ДК нейтрофильными гранулоцитами



Путем непосредственного воздействия на поверхностные рецепторы ДК



Экспрессия молекул CD40, CD80, CD86, HLA-Dr на ДК

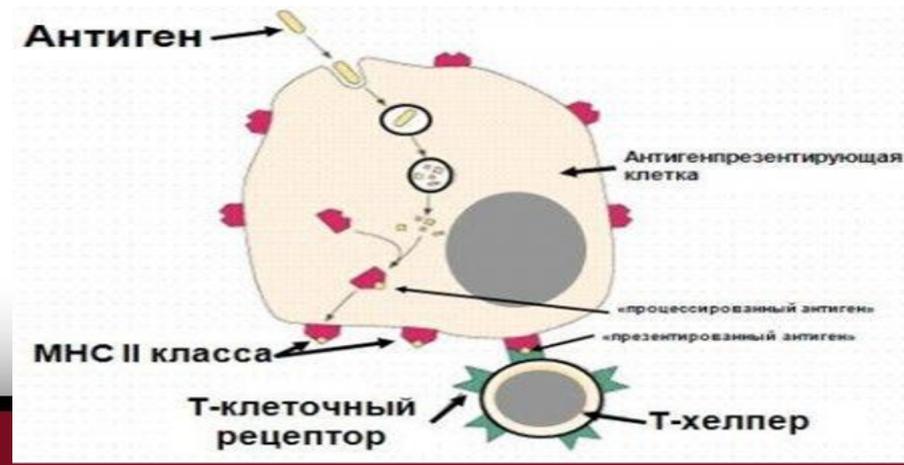
C-лектин DC-SIGN-взаимодействует с молекулами адгезии на поверхности нейтрофилов



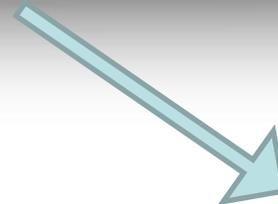
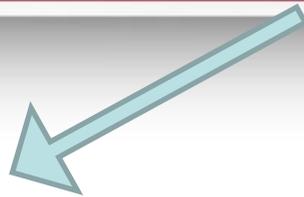
Результаты взаимодействия НГ с ДК



1. Более интенсивный процессинг антигена
2. Более интенсивная экспрессия костимуляторных поверхностных молекул
3. Более интенсивная секреция цитокинов, необходимых для поддержания гомеостаза популяции Т-лимфоцитов и их дифференцировки



Взаимодействие НГ с Т-клетками

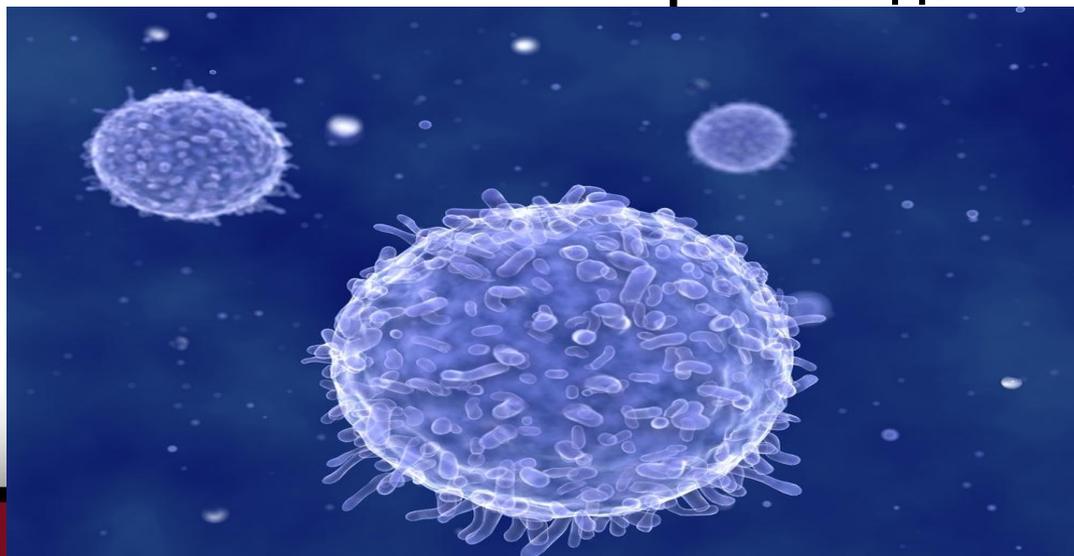


Стимулирующий эффект

НГ мигрируют во вторичные лимфоидные органы и презентуют антиген Т-клеткам

Ингибирующий эффект

С помощью супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC)



Ингибиторное воздействие MDSC на Т-клетки



Главные субпопуляции MDSC

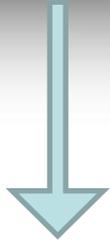


**Гранулоцитарная
PMN-MDSC**



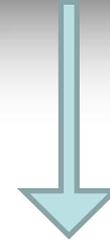
Моноцитарная Мо-MDSC

Механизмы супрессорного воздействия MDSC

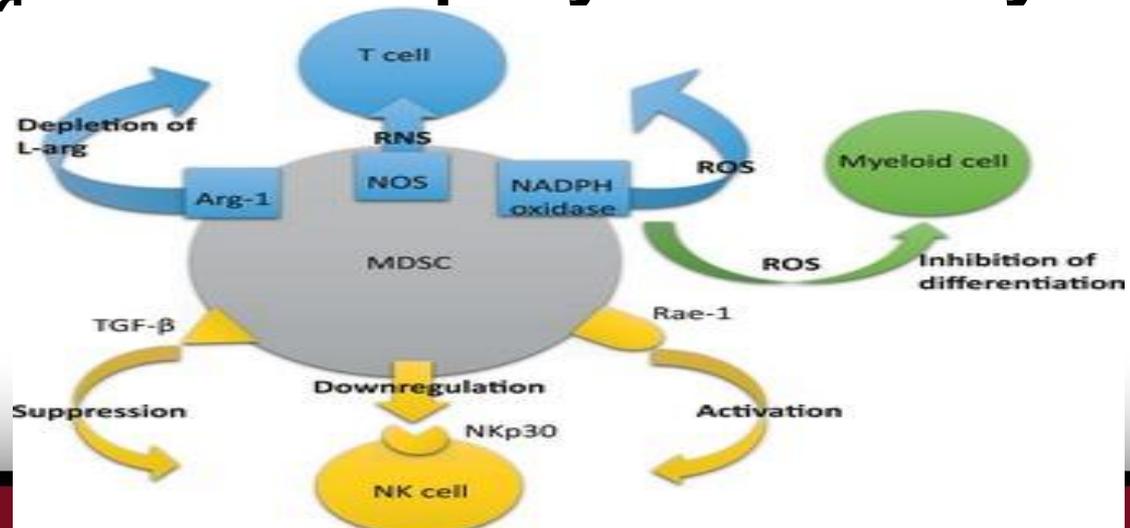


напрямую

высокий уровень генерации АФК и удаление из микроокружения аминокислот, необходимых для пролиферации Т-лимфоцитов



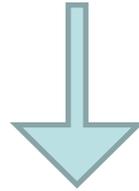
через индукцию FOXP3+ Т-регуляторных клеток в присутствии IFN γ и IL-10



Прямой механизм



Усиление генерации АФК PMN-MDSC

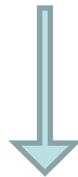


- 1. подавление поверхностной экспрессии дзета-цепи рецептора Т-клеток**
- 2. блокирование Nf-kB пути активации**
- 3. индукция гибели Т-лимфоцитов за счет снижения экспрессии ими Vcl-2**

Взаимодействие НГ с В-клетками



НГ перекрестно взаимодействуют с субпопуляцией В-лимфоцитов, расположенной в маргинальной зоне селезенки



НГ служат индукторами для продукции антител В-клетками

**Особенности данной популяции НГ:
высокая интенсивность экспрессии CD40L, CD86, CD95 и секреция иммунорегуляторных цитокинов BAFF-BLyS и APRIL**

Цитокины BAFF и APRIL



Относятся к семейству ФНО

Основные продуценты: макрофаги и ДК

Нейтрофилы при действии IFN α и G-CSF de novo синтезируют
BAFF-BLyS и APRIL



Накопление и хранение в резервуарах комплекса Гольджи



Высвобождение при действии провоспалительных стимулов

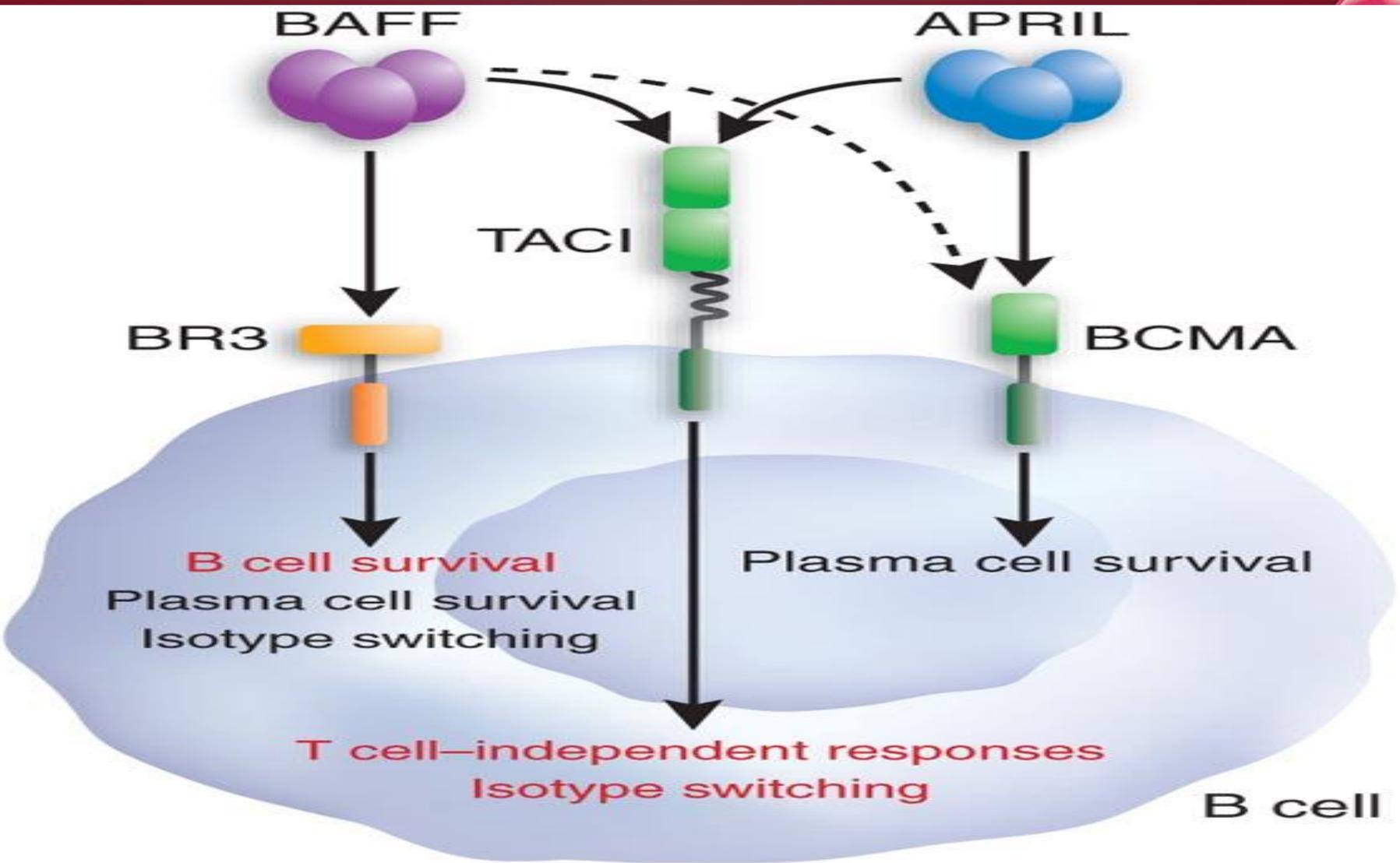


Воздействие на клетку-мишень посредством
связывания с рецепторами TACI, BCMA, BAFF-R



Усиление экспрессии BCR, пролиферации В-
лимфоцитов, снижение их гибели за счет усиления
экспрессии Bcl-2 Bcl-XL

Цитокины BAFF и APRIL



Нейтрофильная экстрацеллюлярная сеть



дезинтеграция ядерной оболочки и
гранулярных мембран



появление сетевых структур



продукты гранул НГ залипают в сетях
ядерной или митохондриальной ДНК



внеклеточный киллинг микроорганизмов

Сравнительная характеристика Netosis



Нетоз

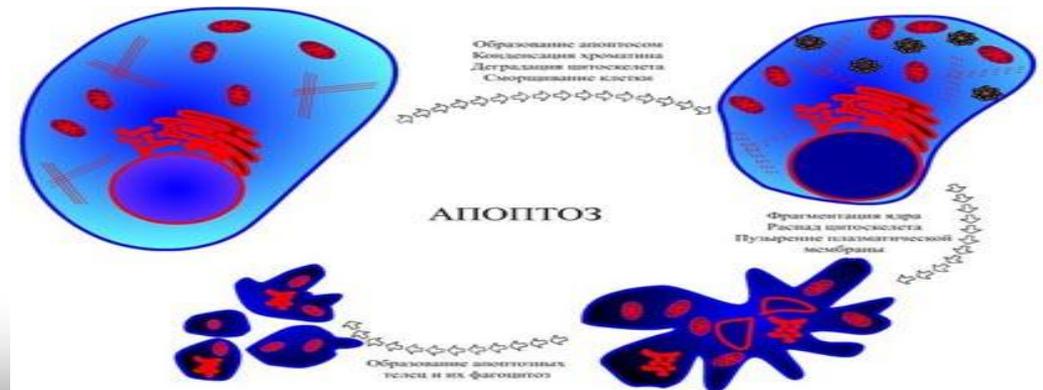
декондесация хроматина
дезинтеграция ядерной оболочки
нет активации каспаз
зависит от наработки АФК

Апоптоз

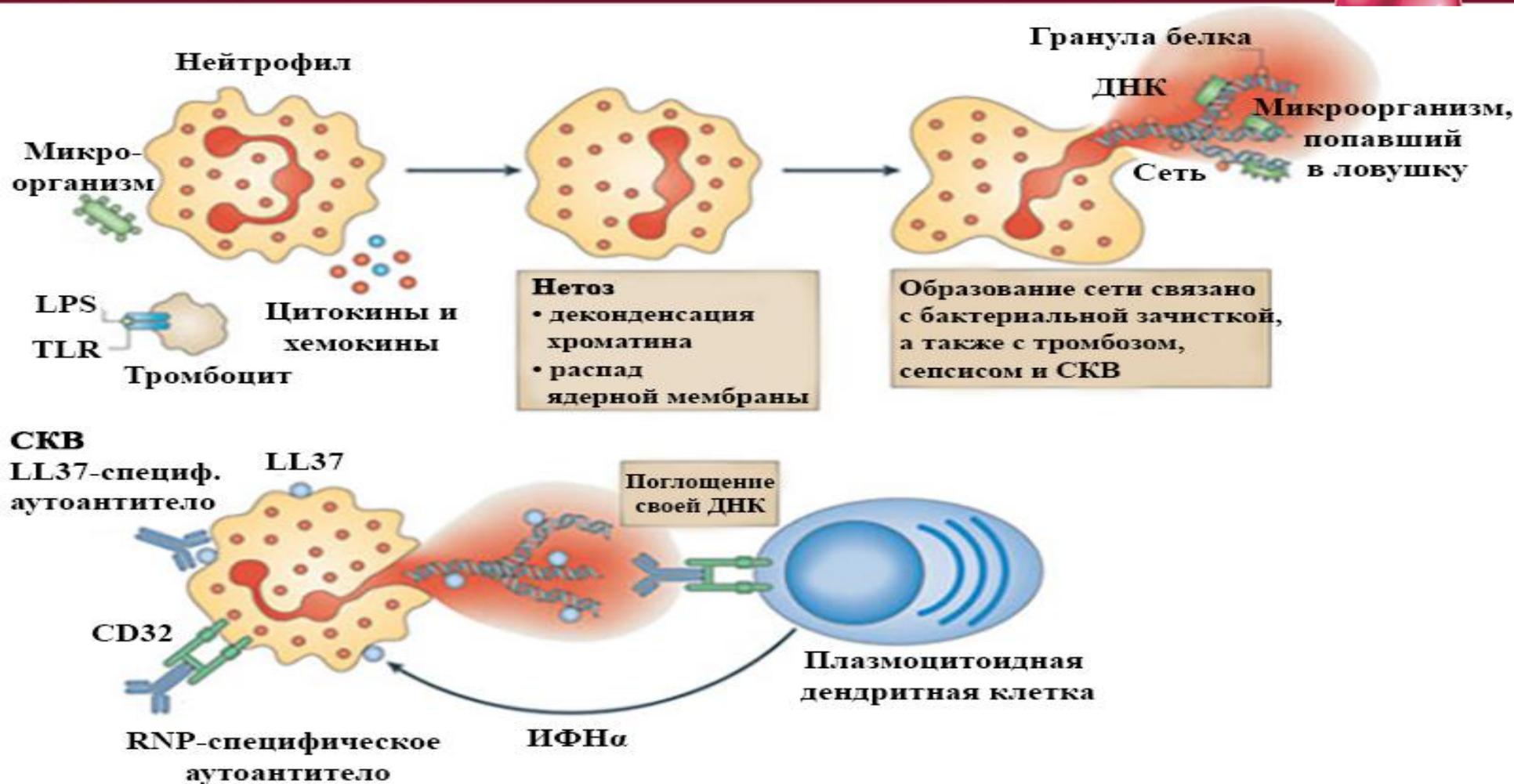
хроматин конденсируется
фрагментация ДНК
эндонуклеазами
без нарушения целостности ядерной оболочки
активация каспаз

Некроз

нарушение целостности, лизис клетки без изменений в гранулах и ядерной мембране



Нетоз



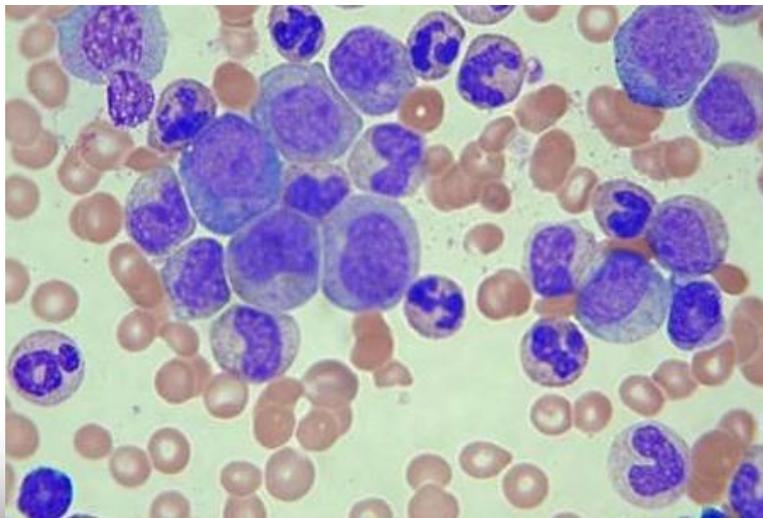
Нейтропении



Диагностируется у детей:

до 1 года – абсолютное содержание Н менее 1000 клеток в 1мкл

старшего возраста-абсолютное содержание Н 1500 клеток в 1 мкл



Виды нейтропений



1. Хроническая доброкачественная нейтропения детского возраста

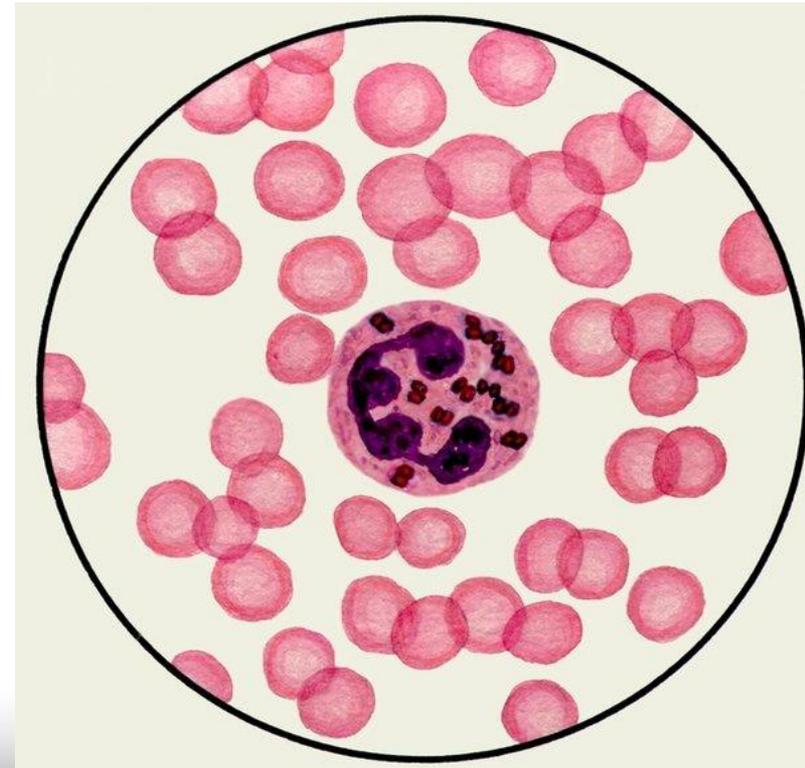
2. Нейтропении новорожденных (изоиммунные и аллоиммунные)

3. Наследственные нейтропении

- синдром Костмана
- тяжелая врожденная нейтропения
- циклическая нейтропения
- синдром Швахмана-Даймонда

4. Приобретенные нейтропении

- аутоиммунная нейтропения
- лекарственные нейтропении



Инфекционные осложнения нейтропений



**Бактериальные
инфекции**



**Грибковые
инфекции**



Степени тяжести нейтропений



- **Легкая:** локальная бактериальная инфекция
- **Среднетяжелая:** частые рецидивы локализованной гнойной инфекции, рецидивирующие инфекции ротовой полости (стоматит, гингивит, пародонтоз)
- **Тяжелая:** выраженная интоксикация, лихорадка, частые тяжелые бактериальные и грибковые инфекции, некротические поражения слизистых, деструктивные пневмонии, сепсис



НОЗОЛОГИЧЕСКИЕ ФОРМЫ ВН



**Тяжелая врожденная
нейтропения**

**Циклическая
нейтропения**

Аутосомно-
доминантно

Аутосомно-рецессивно

Х-сцепленно

мутации гена
ELANE

мутации **HAX1**
G6PC3
GFI1

мутация **WASP**

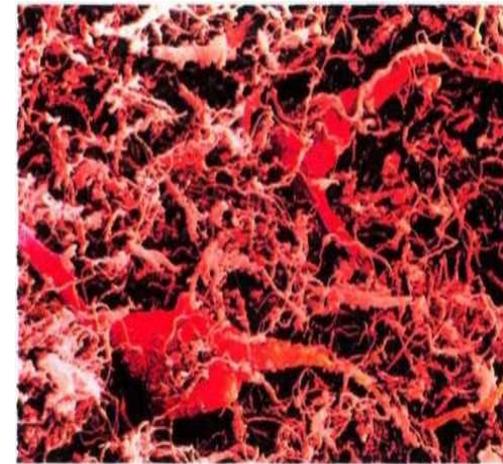


ТЯЖЕЛАЯ ВРОЖДЕННАЯ НЕЙТРОПЕНИЯ



Тяжелая врожденная нейтропения-это группа генетически гетерогенных заболеваний, относящихся к «синдромам костномозговой недостаточности», для которых характерны:

- блок дифференцировки нейтрофилов в костном мозге на уровне промиелоцитов-миелоцитов
- значительное снижение абсолютного количества нейтрофилов в периферической крови, что клинически проявляется повторными бактериальными инфекциями с первых месяцев жизни



Клиника



1. Ранняя манифестация

2. Эпизоды немотивированной лихорадки, длительное заживление пупочной ранки, гнойный омфалит.

3. Гнойные отиты, тяжелые инфекции респираторного тракта, фурункулез, повторные пневмонии, абсцессы легких

У пациентов с мутацией гена НАХ1 возможно сочетание тяжелой нейтропении с неврологическими заболеваниями.



Лабораторная диагностика



- В периферической крови:
- Содержание N значительно снижено, до $0-0.5 \cdot 10^9/\text{л}$,
- повышено количество моноцитов и эозинофилов
- Антинейтрофильные антитела не обнаруживаются
- Высокая концентрация сывороточных иммуноглобулинов при изучении иммунологических показателей
- Миелограмма: «обрыв созревания» на уровне промиелоцита-миелоцита.



Дифференциальная диагностика



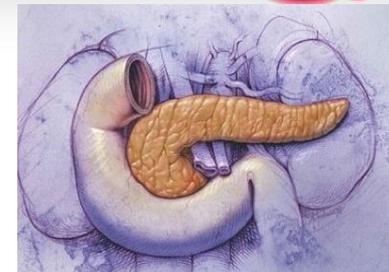
1. Синдром Швахмана-Даймонда

2. синдром Бета,

3. гликогеноз 1-го типа
метиладельцидурия

5. WHIM-синдром

6. Первичные иммунодефицитные состояния (гипер—синдром, агаммаглобулинемия, синдром Чедиака-Хигаши)



Риск злокачественной трансформации



ТВН- предлейкемическое состояние, при котором риск эволюции в острый миелобластный лейкоз, миелодиспластический синдром и реже в острый лимфобластный лейкоз составляет 20%.

У 70-80% пациентов с ТВН с трансформацией в ОМЛ или МДС возникают мутации гена рецептора Г-КСФ (CSF3R).



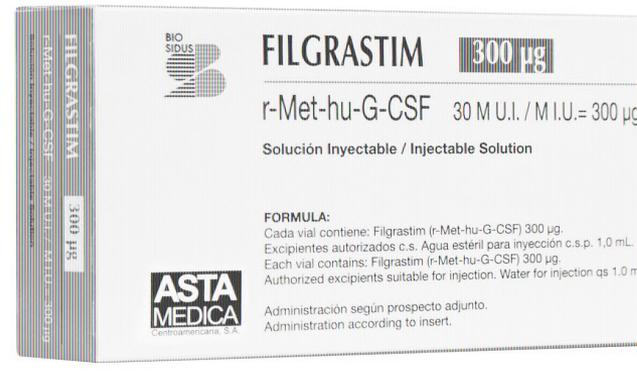
Лечение



Терапия препаратами Г-КСФ - «золотой стандарт» лечения ТВН и рекомендуется всем пациентам с этим заболеванием при невозможности проведения ТГСК.

Независимо от типа наследования и обнаруженной мутации более чем у 95% пациентов отмечается хороший ответ на лечение препаратами Г-КСФ.

Препараты Г-КСФ: филграстим-Лейкостим («Биокад»), Нейпоген, ленограстим-препарат Грасальва.





Клинический случай

Ребенок(мальчик)



Дата рождения: 13.03.2013



Анамнез жизни



Ребенок от 2-ой беременности, 2 срочных физиологических родов.

- Течение беременности: угроза выкидыша, отслойка плаценты на 10 неделе (госпитализация)
- Масса при рождении 3380г , рост 54 см
- Оценка ребенка по шкале Апгар 7 баллов, через 5 мин - 8 баллов
- Закричал сразу
- Наследственность и аллергологический анамнез не отягощены

Анамнез заболевания



- В род. доме на 3-и сутки развился омфалит.
- Со слов матери, с 4-5 дня на коже ягодиц, бедер появились фурункулы.
- В возрасте 10 дней госпитализация с диагнозом: « Абсцесс в/3 правого бедра. Гнойный омфалит. Везикулопустулез» В отделении гнойной хирургии- с 23.03.13-09.04.13

Выявление агранулоцитоза



В ходе обследования выявляется агранулоцитоз.

Проводится консультация иммунолога:
рекомендуется наблюдение в динамике с контролем ОАК.

Анамнез заболевания



Появляется сухой навязчивый кашель.

Подозрение на коклюш: госпитализация в изоляционно-диагностическое отделение ДРКБ. Коклюш исключен.

Сохранялся агранулоцитоз: перевод в педиатрическое отделение ДРКБ до 8.05.13 с диагнозом «врожденная нейтропения»

Анамнез заболевания



- Позднее развивается отек век правого глаза, в динамике с нарастанием.
- В связи с этим направляют на РКТ глазницы с целью исключения флегмоны орбиты.



Гемограмма



Гемограмма (ОАК с рождения)

Дата	СОЭ	WBC	Sg	Ly	Mon	Eo	Ba	RBC	HGB	PLT	HCT
14.03.13		12.0	юбп1с16	46	24	7	0	5.9	226		
23.03.13	8	13.8	ю3п0с5	62	15	15	0	5.15	187	188	51.0
25.03.13	3	15.7	п0с1	44	47	7	1	5.94	196	332	58.1
27.03.13	6	11.2	п0с0	54	43	3	0	5.30	173	244	52.1
1.04.13	4	15.4	п0с1	60	33	5	1	5.68	191	197	55.6
4.04.13	20	12.8	п0с4	42	48	6	0	5.09	174	228	50.6
8.04.13	6	12.3	п0с1	46	48	4	пл.кл1	4.48	150	198	44.9
25.04.13	32	14.7	п0с0	47	41	12	0	4.11	131	377	38.6
30.04.13	2	13.9	п0с1	65	27	7	0	3.49	112	298	34.2
6.05.13	5	18.2	п0с0	59	34	7	0	4.33	135	317	39.8
10.05.13	12	14.94	ю1п1с0	39	54	5	0	4.04	126	160	38.0
13.05.13	20	16.7	ю1п0с0	41	45	12	плкл1	3.70	112	283	33.8

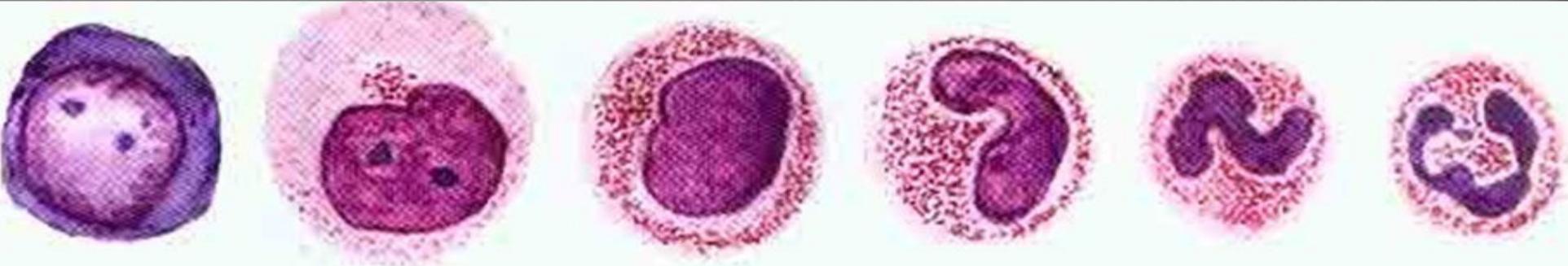
Миелограмма



Миелограмма:

Дата	Бласты	МБ	Про	Мл	Мм	Па	Сег	Эо	Эрб	Про	Нба	Нпо	Нок	Мо	Лим	Пл
	ы	л	м	ц	ц	л	м	з	л	н	з	л	с	н	ф	л
26.04.13	3.0	8.0	4.0	3.5	0.5	-	-	11	-	1.0	2.5	14.5	6.0	10	34	-

Л/Э = 3.0/1 Пунктат костного мозга умеренно гипоклеточный. Отмечается задержка созревания гранулоцитов на стадии промиелоцит-миелоцит. Эритроидный росток без существенных нарушений. Мегакариоциты—количество уменьшено.



Миелобласт



Промиелоцит



Миелоцит



Метамиелоцит



Палочко-
ядерный



Сегменто-
ядерный

нейтрофилы

Иммунограмма



Иммунограмма		
Дата	единицы	26.04.13
Ig A	г/л	0.351
Ig G	г/л	6.27
Ig M	г/л	0.872
C ₃	mg/dl	132.0
C ₄	mg/dl	35.1

Биохимический анализ



Биохимия:			
Дата	единицы	30.04.13	14.05.13
Общий белок	г/л	54.4	48.9
Глюкоза	ммоль/л	3.41	4.03
Билирубин общий/прямой	мкмоль/л	5.5/-	32.8/2.6
АЛТ/АСТ	Е/л	19/30	9/16
Мочевина	ммоль/л	1.20	0.87
Креатинин крови	мкмоль/л	5	7
Сур	ммоль/л	2.34/1.35	
Щелочная фосфатаза	Е/л	176.1	
СРВ	мг/дл	0.13	

Подозрение на коклюш



Подготовленная выписка из истории болезни направлена в ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им.Д. Рогачева» Минздрава России на заочную консультацию

Направление



Направление в Москву в ФГБУ «ФНКЦ»
ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздрава
России.

С 7 июня по 25 июля 2013г находился на
обследовании.

ОАК



№ п/п	№	г/д	гемоглобин	гематокрит	гематокрит (%)	эритроциты	эритроциты (10 ¹² /л)	баз	Лимф	Мон	Нейт	СОЭ		
					г/л	л	г/л	г/л	г/л	г/л	г/л	мм/ч		
					г/л	г/л	г/л	г/л	г/л	г/л	г/л	мм/ч		
07.06	83	2011	131	39,1	39,1	24,52	0	1	12	2	56	31	0,2	-
10.06	84	2011	131	39,1	39,1	24,21	1	0	2	0	67	30	0,36	-
13.06	85	2011	131	39,1	39,1	24,21	0	1	10	1	57	31	0,27	-
14.06	89	2011	131	39,1	39,1	30,15	-	1	8	0	50	41	0,2	-
17.06	85	2011	131	39,1	39,1	23,21	-	-	8,4	0,3	37	54	0	-
19.06	86	2011	131	39,1	39,1	29,93	0	-	-	-	-	-	-	26
20.06	95	2011	131	39,1	39,1	25,33	0	0	20	0	40	40	0	-
24.06	87	2011	131	39,1	39,1	21,94	0	-	-	-	-	-	-	-
05.07	88	2011	131	39,1	39,1	21,94	0	4	14	0	60	22	0,88	2
08.07	89	2011	131	39,1	39,1	21,94	0	3	13	2	59	23	0,45	-
19.07	85	2011	131	39,1	39,1	21,94	0	2	13	0	66	19	0,58	-
17.07	87	2011	131	39,1	39,1	19,89	0	2	13	0	55	30	0,39	-
19.07	96	2011	131	39,1	39,1	23,222	1	4	12	0,3	59	24	1,16	-
28.07	106	2011	131	39,1	39,1	16,11	0	4	9	1,1	74	13	0,64	-

Биохимический анализ



Биохимия крови:

Показатель	07.06	22.06	02.07	05.07	Норма	
Общий белок, г/л	59	60	58	58	59	57-80
Альбумин, г/л	37	36	32	33	34	32-45
Мочевина, ммоль/л	0,9	1,5	0,9	1,2	1,4	1,8 - 6,4
Креатинин, мкмоль/л	30,3	31,7	30,3	-	32,9	45-104
Билрубин общий, ммоль/л	5,1	3,9	7,3	4,1	3,2	1-17
Билрубин прямой, ммоль/л	3,2	4,6	3,1	2,3	2,3	0 - 3,4
АЛТ, ЕД/л	21	11	10	10	14	0- 45
АСТ, ЕД/л	22	11	22	18	27	0 - 46
Глюкоза, ммоль/л	5,28	3,77	5,22	4,1	3,58	4.11-5.89
Калий, ммоль/л	4,04	4,4	3,6	4	4,1	3.5-5.1
Натрий, ммоль/л	135	137	136	136	137	136-146
ЛДГ, ЕД/л	131	174	208	201	186	100-280
СРБ, мг/л	0	0	55,8	-	16	0-5
АСЛО	-	-	-	<50	-	0-200

Консультации специалистов



Отоларинголога: со стороны Лор-органов без признаков патологии

Травматолога-ортопеда: Дисплазии тазобедренных суставов

Гастроэнтеролога: Наблюдаются кишечные колики

Заключение ЭГДС: Бульбит. Дуоденит

Офтальмолога: Патология не выявлена

Гемостазиолога: Катетер-ассоциированный тромбоз верхней полой вены

Дуплексное исследование с картированием кровотока от 19.06.13



Правая внутренняя ЯВ-d=8мм, проходима. Толщина стенок не отолщена.

Внутрипросветных образований нет

Левая внутренняя ЯВ-d=5мм, проходима. Толщина стенок не отолщена.

Внутрипросветных образований нет

Правая подключичная вена- не визуализируется из-за наклейки

Левая подключичная вена d=3мм, проходима. Толщина стенок не отолщена.

Внутрипросветных образований нет

Брахиоцефальная вена справа-проходима. Определены участки с тромботическими наложениями

Брахиоцефальная вена слева проходима

Заключение: УЗ-признаки тромботических наложений на ПВК

ЭКГ от 23.06.13



ЭКГ от 23.06.13:

P-R/T-A ср.: 0,37-0,40 / 0,38 сек.

ЧСС: 150 уд./мин.: 150-152 / 159 уд./в мин.

P: 0,06 сек.

PQ: 0,17 сек.

QRS: 0,06 сек.

QT: 0,28 сек.

QT погр.: 0,02-0,05 сек.

QTc: 0,46 (верхняя граница нормы 0,45 сек для детей до 1 года) сек.

Заключение: Вертикальное положение ЭОС. Лёгкая синусовая тахикардия, умеренная аритмия.

Нарушение процесса реполяризации в миокарде желудочков в виде некоторой элевации сегмента ST.

Выражены в Q во IIIaVF отведениях. Продолжительность интервала QTc увеличена до 0,46 сек.

Заключение



Результаты медико-генетического исследования:

выявлена мутация гена ELANE.

Заключение



На основании анамнеза, клинико-лабораторных, иммунологических и генетических исследований подтвержден диагноз:

Тяжелая врожденная нейтропения

Заключение



В отделении начата стимуляция гранулоцитопоэза препаратами ГКСФ.

В связи с отсутствием положительной динамики в отношении увеличения числа нейтрофилов, доза ККСФ плавно увеличивалась с 5 до 40 мг/кг в сутки, а в дальнейшем ГКСФ короткого действия был заменен пролонгированный (неуластим).

Подтверждение диагноза



- Выписывается домой с улучшением, с последующей госпитализацией 3 октября 2013г. Родители не едут, от пересадки костного мозга отказываются.

Анамнез заболевания



С 8.11.13 по 4.12.13 находится на лечении в
пульмонологическом отделении ДРКБ

Инструментальные исследования



Рентгенография легких

от 11.11.13: Субтотальное затенение правого легкого в проекции 1, 2 и 6 сегментов, обусловленное инфильтрацией легочной ткани, ателектатическими изменениями в верхней доле

УЗИ плевральных полостей

от 13.11.13 :Справа свободная жидкость около 14 мл слева без особенностей

от 21.11.13:Справа 5мл жидкости, слева жидкости нет

Клинический Диагноз



Основной: Тяжелая врожденная нейтропения. МКБ:D70

Сопутствующий: Пневмония внебольничная очагово-сливная правосторонняя, тяжелой степени тяжести, ДН 2, осл.синпневмоническим плевритом справа и БЛД справа.

ЖДА тяжелой степени тяжести.

Дисплазия тазобедренного сустава. Неокклюзионный тромбоз брахиоцефальной вены справа

Спасибо за внимание!

