



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ - ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ-ΟΓΚΟΛΟΓΙΑ ΠΑΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΕΦΗΒΩΝ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Λευκοπενία – λεμφοκυττάρωση σε παιδιά και εφήβους. Πορεία – πρόγνωση παραπομπών σε Παιδοαιματολογική Κλινική»

Εμμανουήλ Αθανασόπουλος
Παιδίατρος

*Ηράκλειο
Ιούνιος 2021*

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

- 1. Ευτυχία Στειακάκη (Επιβλέπων)**
- 2. Ελένη Παπαδάκη**
- 3. Χαράλαμπος Ποντίκογλου**

Πρόλογος - Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία με τίτλο « Λευκοπενία – λεμφοκυττάρωση σε παιδιά και εφήβους. Πορεία – πρόγνωση παραπομπών σε Παιδοαιματολογική Κλινική » εκπονήθηκε στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Κρήτης στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών «Αιματολογία – Ογκολογία παιδιών και εφήβων ». Αποτελεί μια πρωτότυπη μελέτη που στόχο της έχει να διερευνήσει τους αιτιολογικούς παράγοντες, την πορεία και την πρόγνωση των περιστατικών λεμφοκυτταρώσεων και με λευκοπενία σε παιδιά και εφήβους, ένα πολύ συχνό πρόβλημα που απασχολεί το γενικό Παιδίατρο και μια από τις συχνές αιτίες παραπομπής στην Κλινική Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων. Η παρούσα μελέτη αποτέλεσε την αφορμή για να ανασκοπηθεί συστηματικά η βιβλιογραφία για ένα συχνό εύρημα όπως η λεμφοκυττάρωση με ή χωρίς λευκοπενία και ουδετεροπενία. Με τη δομημένη μελέτη των ιατρικών φακέλων των περιστατικών συλλέχτηκαν δεδομένα, τα οποία αναλύθηκαν με τη χρήση στατιστικών προγραμμάτων και υπό το πρίσμα της διεθνούς βιβλιογραφίας παρουσιάζονται και αναλύονται, με στόχο την αποσαφήνιση των ερευνητικών ερωτημάτων της παρούσας μελέτης.

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στην Καθηγήτρια Παιδιατρικής Αιματολογίας – Ογκολογίας της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης κ. Ευτυχία Στειακάκη για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος και για όλη την βοήθεια, υποστήριξη και καθοδήγηση για την αποσαφήνισή του. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους επιβλέποντες της εργασίας μου, στην Καθηγήτρια Αιματολογίας της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης κ. Ελένη Παπαδάκη και στον Αναπληρωτή Καθηγητή Αιματολογίας της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Κρήτης κ. Χαράλαμπο Ποντίκογλου της για όλη τη βοήθεια και το χρόνο που διέθεσαν. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω το Ιατρικό και Νοσηλευτικό προσωπικό της Κλινικής για τη βοήθεια τους στη συλλογή των δεδομένων και τους γονείς και τους μικρούς ασθενείς που συμμετείχαν στην μελέτη. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ στη συνοδοιπόρο μου στη ζωή την Μαρία Τσιριγωτάκη για την υπομονή της και τη στήριξη της όλα αυτά τα χρόνια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
Περίληψη	1
Abstract	4
Συνοτομογραφίες	6
1. Εισαγωγή / Γενικό μέρος	7
1.1. Λευκά Αιμοσφαίρια	7
1.2. Λευκοπενία	8
1.3. Ουδετερόφιλα / Πολυμορφοπύρρηνα	8
1.4. Ουδετεροπενία	9
1.5. Λεμφοκύτταρα	13
1.6. Λεμφοκυττάρωση	15
1.7. Σκοπός μελέτης	19
2. Μεθοδολογία / πληθυσμός και μέθοδοι	20
3. Αποτελέσματα	24
3.1. Δημογραφικά στοιχεία	24
3.2. Γενική αίματος διάγνωσης	24
3.3. Προηγούμενο ιστορικό με πολυμορφοπυρηνικό τύπο	25
3.4. Ανοσολογικός έλεγχος	25
3.5. Ιολογικός έλεγχος	26
3.6. Ορμονολογικός έλεγχος	26
3.7. Ειδικές παρακλινικές εξετάσεις	29
3.8. Αιτιολογικοί παράγοντες	29
3.9. Πορεία - πρόγνωση	30
3.10. Συσχετίσεις στατιστικής ανάλυσης	32
4 Συζήτηση	37
4.1. Περιοριστικοί παράγοντες	44
4.2. Μελλοντικές προοπτικές	45
5 Συμπεράσματα	46
6. Χρηματοδοτήσεις, εγκρίσεις μελέτης, συμβολή ερευνητών/ιδρυμάτων	47
7. Βιβλιογραφία	48

Περίληψη

Τίτλος εργασίας: «Λευκοπενία – λεμφοκυττάρωση σε παιδιά και εφήβους.
Πορεία – πρόγνωση παραπομπών σε Παιδοαιματολογική Κλινική»

Του: Εμμανουήλ Αθανασόπουλου

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Ευτυχία Στειακάκη (Επιβλέπων)

2. Ελένη Παπαδάκη

3. Χαράλαμπος Ποντίκογλου

Ημερομηνία: Ιούνιος 2021

Εισαγωγή: Η λεμφοκυττάρωση είναι η αύξηση των επιπέδων των λεμφοκυττάρων στο αίμα., μπορεί να είναι σχετική με αύξηση του ποσοστού των λεμφοκυττάρων έναντι των ουδετερόφιλων ή απόλυτη αν τα επίπεδα τους υπερβαίνουν σε παιδιά άνω των 12 ετών >4000 κύτταρα/ μ L και σε μικρότερης ηλικίας από 12 ετών >8000 / μ L Αποτελεί συχνό εργαστηριακό εύρημα σε παιδιά και εφήβους. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων δεν ανευρίσκεται υποκείμενη αιτιολογία και με την πάροδο του χρόνου αποκαθίσταται. Σε ορισμένες περιπτώσεις ιδίως όταν συνοδεύεται από λευκοπενία και ουδετεροπενία, μπορεί να υποκρύπτεται υποκείμενη παθολογία και χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση και κατά περίπτωση αντιμετώπιση.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη των επιδημιολογικών, κλινικών και εργαστηριακών χαρακτηριστικών παιδιών και εφήβων που παραπέμφθηκαν σε τριτοβάθμιο κέντρο με λεμφοκυττάρωση και η αναζήτηση των αιτιών και της έκβασής τους.

Ασθενείς και μέθοδοι: Πραγματοποιήθηκε αναδρομική μελέτη και καταγράφηκαν δημογραφικά στοιχεία, κλινικά δεδομένα και αποτελέσματα παρακλινικού ελέγχου σε παιδιά

και εφήβους που παραπέμφθηκαν στα τακτικά ιατρεία της Κλινικής Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων με αναφερόμενη λεμφοκυττάρωση. Ακολούθησε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων με τη χρήση υπολογιστικού προγράμματος Graph Pad Prism version 9.1.2 ©., με τις κατηγορικές παραμέτρους, να αναλύονται με δοκιμασία Mann-Whitney και με τις ποσοτικές με Fisher’s exact test, υπολογίστηκε ο λόγος αναλογιών (Odds Ratio - OR) και το p – value. Ως στατικά σημαντικό αποτέλεσμα ορίστηκε τιμή του p – value < 0,05.

Αποτελέσματα: Μελετήθηκαν 103 ασθενείς με λεμφοκυττάρωση, εκ των οποίων 47 κορίτσια, 56 αγόρια με ηλικία 6,06 έως 17,35 ετών (μέση ηλικία 10,87 έτη). Στο 83,65% των περιπτώσεων δεν διαπιστώθηκε υποκείμενος αιτιολογικός παράγοντας για τη λεμφοκυττάρωση. Ως υποκείμενη αιτιολογία αναγνωρίστηκε ο υποθυρεοειδισμός σε ποσοστό 7,77%, οι ιογενείς λοιμώξεις σε 2,91% (0,97% Epstein–Barr ιός, 0,97% ιός παρωτίτιδας, 0,97% αδενοϊός), φαρμακευτικής αιτιολογίας σε 2,91% με το σύνολο τους να λαμβάνει αντιεπιληπτική αγωγή (1,94% βαλπροϊκό οξύ, 0,97% λεβητιρακετάμη), σε 0,97% αυτοάνοσο νόσημα και σε 0,97% πιθανό μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο. Το 73,79% αποκατέστησε πολυμορφοπυρηνικό τύπο λευκών αιμοσφαιρίων με μέση διάρκεια της λεμφοκυττάρωσης 16,14 μήνες, ενώ στο 41,75% δεν επιβεβαιώθηκε η λεμφοκυττάρωση κατά την πρώτη τους επίσκεψη.

Στατιστικά σημαντικές διαφορές ανευρέθηκαν μεταξύ των περιστατικών με υποκείμενη αιτιολογία σε σχέση με τα περιστατικά χωρίς αιτιολογία, στη γενική αίματος διάγνωσης, όσον αφορά τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων, αριθμό ουδετερόφιλων και λεμφοκυττάρων, με την ομάδα με υποκείμενη αιτιολογία να έχει χαμηλότερες διάμεσες τιμές (p–value 0,01, p–value 0,006, p–value 0,01 αντίστοιχα). Τα περιστατικά που αποκατέστησαν πολυμορφοπυρηνικό τύπο είχαν μεγαλύτερη διάμεση ηλικία διάγνωσης και κυρίως σχετική λεμφοκυττάρωση σε σχέση με τα περιστατικά που παρέμεινε ο λεμφοκυτταρικός τύπος, με στατιστικά σημαντική διαφορά (p–value 0,04, p–value 0,008)

Συμπεράσματα: Τα ευρήματα αυτής της εργασίας σε συνδυασμό με τα βιβλιογραφικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι η λεμφοκυττάρωση σε υγιή παιδιά συχνά έχει αυτοπεριοριζόμενη πορεία και καλή έκβαση. Σπάνια αναγνωρίζεται υποκείμενη αιτιολογία, όπως ενδοκρινικά, ιογενή αίτια και φάρμακα, αυτοάνοσα και αιματολογικά νοσήματα. Παράγοντες που σχετίζονται με την ύπαρξης παθολογίας στη διάγνωση αποτελούν ο χαμηλός αριθμός λευκών και ουδετερόφιλων.

Λέξεις κλειδιά: Λεμφοκυττάρωση, λευκοπενία, παιδιά, έφηβοι, διερεύνηση, αιτιολογία, πορεία και πρόγνωση

Abstract

Title: “Leucopenia with lymphocytosis in childhood and adolescence. Course and prognosis of referrals at a Pediatric Hematology department”

By: Emmanouil Athanasopoulos

Three Member Evaluating Committee

1. Eftichia Stiakaki (Supervisor)
2. Helen Papadaki
3. Charalampos Pontikoglou

Date: June 2021

Introduction: Lymphocytosis refers to an increase in the number of lymphocytes in the blood. Absolute lymphocytosis is characterized by an increase in the lymphocyte count above the normal range; in children older than 12 years above the 4000/ μ L threshold and in younger children above 8000/ μ L. Relative lymphocytosis refers to an increase in the lymphocyte proportion relative to the white blood cell count. Lymphocytosis constitutes a common finding in children and adolescents. In the majority of cases, an underlying cause cannot be identified, and the condition is self-resolving, while less often, especially when associated with leukopenia and neutropenia, further investigation is warranted.

The aim of our study is to investigate the epidemiological, clinical and laboratory characteristics of children and adolescents that have been evaluated in a tertiary hospital with lymphocytosis in a 5-year period.

Patients and Methods: A retrospective cohort study was performed and demographic, clinical and laboratory data were collected from children and adolescents that were referred to the outpatient services of the Paediatric Haematology – Oncology Department of the University Hospital of Crete due to lymphocytosis. Statistical analysis was conducted using Graph Pad Prism version 9.1.2 ©. statistical software. Mann-Whitney test was used to compare categorical variables while continuous variables were compared by Fisher’s exact test. The odds ratios (OR) were calculated and a p value <0.05 was considered statistical significant.

Results: A total of 103 patients with lymphocytosis were included in the study; 47 girls and 56 boys. The age range at diagnosis was 6.06 to 17.35 years old (mean 10.87 years). In 83.65% of cases no underlying cause was identified. Causes of lymphocytosis included: hypothyroidism in 7.77% of cases, viral infections (0.97% Epstein – Barr virus, 0.97% Mumps, 0.97% Adenovirus) and antiepileptic treatment (1.94% Valproic Acid, 0.97% Levetiracetam). One case was attributed to autoimmune condition and one case to Myelodysplastic syndrome. In most of the cases (73.79%), the lymphocytosis resolved within 16.14 months from the time of diagnosis. In addition, 41.75% had recovered on the first visit. Patients with lymphocytosis due to an underlying cause versus those without cause differed significantly in terms of white blood cell count (p value 0.01), mean absolute neutrophil count, (p value 0.006) and the mean absolute lymphocyte count, (p value 0.01). Also, patients whose lymphocytosis resolved versus those whose lymphocytosis remained differed significant in terms of older age at diagnosis and presence of relative lymphocytosis (p value 0.04 and p 0.008 respectively).

Conclusions: In agreement with the existing literature, lymphocytosis in healthy children is often a self-resolving condition with good prognosis. Underlying causes are identified rarely and include endocrine, autoimmune, hematological conditions, viral infections and drugs. Low white blood cell count, low neutrophil and low lymphocyte count at diagnosis are more commonly associated with an underlying cause while older age at diagnosis and the presence of relative lymphocytosis are associated with full recovery.

Keywords: Lymphocytosis, leucopenia, children, adolescence, work up, underline causes, prognosis

Συντομογραφίες

- WBC: White blood cells – λευκά αιμοσφαίρια
- ANC: Absolute neutrophil count – απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων
- ALC: Absolute lymphocyte count – απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων
- N: απόλυτος αριθμός μεταβλητής
- Mean: ο μέσος όρος
- Median: η διάμεσος
- SD: Standard Deviation – τυπική απόκλιση
- Max: maximum – μέγιστη τιμή
- Min: minimum – ελάχιστη τιμή
- NLR: Neutrophil to Lymphocyte ratio - ο λόγος ουδετερόφιλων προς λεμφοκύτταρα
- Anti – PMN: anti – polymorhonuclear neutrophil antibodies, αντι - πολυμορφοπυρηνικά αντισώματα
- ANA: Anti-nuclear antibody - αντι-πυρηνικά αντισώματα
- IgA: ανοσοσφαιρίνη A
- IgG: ανοσοσφαιρίνη G
- IgM: ανοσοσφαιρίνη M
- C3: C3 κλάσμα συμπληρώματος
- C4: C4 κλάσμα συμπληρώματος
- EBV: Ιός Epstein – Barr
- CMV: Κυτταρομεγαλοϊός
- HIV: Ιός Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας
- HBV: Ιός της Ηπατίτιδας Β
- HCV: Ιός της Ηπατίτιδας C
- Parvo: Παρβοϊός
- Toxo: Τοξόπλασμα
- HSV: Ερπητοϊός
- ADV: Αδενοϊός

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Λευκά αιμοσφαίρια

Τα κυκλοφορούντα λευκά αιμοσφαίρια είναι εμπύρηνια κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος, αποτελούνται από ώριμα κύτταρα της κοκκιώδους και λεμφικής σειράς. Διαχωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες, τα κοκκιοκύτταρα, τα λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα. Τα κοκκιοκύτταρα διακρίνονται επιπλέον σε ουδετερόφιλα/πολυμορφοπύρηνια, ηωσινόφιλα και τα βασεόφιλα. Η βασική λειτουργία των λευκών αιμοσφαιρίων είναι η συμμετοχή τους στο ανοσολογικό σύστημα του οργανισμού, διασφαλίζοντας την άμυνα έναντι βλαπτικών βιολογικών παραγόντων του περιβάλλοντος. [1 – 8]

Τα επιμέρους στοιχεία που απαρτίζουν το σύνολο των λευκών αιμοσφαιρίων βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία, η οποία μεταβάλλεται με την ηλικία του παιδιού, διαφοροποιώντας των λόγο των ουδετερόφιλων προς τα λεμφοκύτταρα (NLR – neutrophil to lymphocyte ratio). Ειδικότερα, από τη γέννηση έως την 1^η εβδομάδα ζωής επικρατούν τα ουδετερόφιλα, άρα ο τύπος των λευκών αιμοσφαιρίων είναι πολυμορφοπυρηνικός. Στη συνέχεια από τη 2^η εβδομάδα ζωής έως το 4^ο έτος επικρατούν τα λεμφοκύτταρα σε σχέση με τα ουδετερόφιλα. Κατόπιν σταδιακά από το 4^ο έτος μέχρι το 6^ο έτος ο τύπος των λευκών αιμοσφαιρίων γίνεται πολυμορφοπυρηνικός, ενώ ένα μικρό ποσοστό των παιδιών εξακολουθεί να έχει φυσιολογικά λεμφοκυτταρικό τύπο. Τέλος, από το 6^ο έτος ο τύπος των λευκών αιμοσφαιρίων είναι πολυμορφοπυρηνικός. Όμως, υπάρχουν περιπτώσεις παιδιών και εφήβων, όπου φυσιολογικά παραμένει ο λεμφοκυτταρικός τύπος μετά την ηλικία των 6 ετών. Σημαντικό σημείο στη διαφορική διάγνωση της λεμφοκυττάρωσης είναι η παρουσία ουδετεροπενίας. Παιδιά και έφηβοι με ανεύρεση στη γενική αίματος λεμφοκυττάρωσης με συνοδό ουδετεροπενία χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης για αποκλεισμό σπάνιων υποκείμενων αιτιολογικών παραγόντων. [1-13]

1.2 Λευκοπενία

Η λευκοπενία στον παιδιατρικό πληθυσμό ορίζεται ως απόλυτος αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων μικρότερος από 4.000 / μ L. Αποτελεί έκφανση μείωσης μίας ή περισσότερων κυτταρικών σειρών που τα απαρτίζουν, όπως τα κοκκιοκύτταρα (ουδετερόφιλα/ πολυμορφοπύρρηνα, λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, ηωσινόφιλα και βασεόφιλα). Στα παιδιά και τους εφήβους συχνότερα χαρακτηρίζεται από μείωση των κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων (ουδετεροπενία), αν και μπορεί να αφορά τα λεμφοκύτταρα (λεμφοπενία). Πιο σπάνια οφείλεται σε ελάττωση των μονοκυττάρων, ηωσινόφιλων ή βασεόφιλων. Λευκοπενία με ουδετεροπενία που συνοδεύεται και από μονοκυτταροπενία και λεμφοπενία είναι συνήθως πιο σοβαρή στα παιδιά και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. [5 - 12]

Οι πιο συχνές αιτίες λευκοπενίας σε παιδιά και εφήβους είναι οι λοιμώξεις, όπως ιογενείς (οξείες ηπατίτιδες, Epstein – Barr, Κυτταρομεγαλοϊός, Ερυθρά, Ιλαρά και γρίπη A, B), βακτηριδιακές λοιμώξεις (*Shigella spp*, *Salmonella typhi*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*). Λιγότερα συχνά αίτια λευκοπενίας αποτελούν αυτοάνοσα νοσήματα, με προεξάρχων το Συστηματικό Ερυθρηματώδη Λύκο (παρουσία λευκοπενίας με συνοδό ουδετεροπενία) και αιματολογικά νοσήματα, όπως οι Οξείες Λευχαιμίες (παρουσία βλαστών στο επίχρισμα περιφερικού αίματος και διήθηση του μυελού των οστών από βλαστικά κύτταρα). [5- 9, 13 – 16]

1.3 Ουδετερόφιλα - Πολυμορφοπύρρηνα

Τα ουδετερόφιλα – πολυμορφοπύρρηνα αποτελούν την πλειονότητα των κυκλοφορούντων κοκκιοκυττάρων. Προέρχονται από αρχέγονα κύτταρα της μυελικής σειράς, τα οποία διαφοροποιούνται σε προγονικά κύτταρα της κοκκιάδους σειράς (CFU – GM , Colony Forming Unit granulocyte – macrophage progenitor) που με τη σειρά τους διαφοροποιούνται σε ουδετερόφιλα και μακροφάγα. Μετά την ωρίμανσή τους μεταναστεύουν από τον μυελό των οστών στην περιφέρεια και στη συνέχεια σε ιστούς. [1 - 8]

Συμμετέχουν στην πρώτη γραμμή άμυνας κατά μικροβιακών λοιμώξεων και απαντούν ταχύτατα στα διάφορα χημειοτακτικά ερεθίσματα, όπως είναι η ιντερλευκίνη - 8, συγκολλούνται στο αγγειακό ενδοθήλιο με τη μεσολάβηση ειδικών μεμβρανικών υποδοχέων, διέρχονται τη βασική μεμβράνη των αγγείων και αθροίζονται στα σημεία της ιστικής βλάβης. Τα ουδετερόφιλα στου ιστούς ενεργοποιούνται με την επίδραση των κυτταροκινών, που παράγονται από τα μακροφάγα και ασκούν φαγοκυτταρική δραστηριότητα. Στην κυτταρική μεμβράνη των πολυμορφοπύρηνων υπάρχουν υποδοχείς ειδικοί για τα Fc τμήματα των ανοσοσφαιρινών, συντελώντας στη λειτουργία της φαγοκυττάρωσης σωματίων, - μικροοργανισμών και μικροσωματιδίων - οψονινοποιημένων με αντισώματα. Με αυτόν τον τρόπο τα ουδετερόφιλα συμμετέχουν στην ειδική ανοσιακή απάντηση.

Δρουν φαγοκυτταρώνοντας μικροβιακούς παράγοντες και με τα λυσοσσωματικά κοκκία τους και με τη χρήση της «αναπνευστικής έκρηξης» καταστρέφουν τα μικροβιακά αντιγόνα. [1- 8]

Η κατανομή των ουδετερόφιλων στον οργανισμό διαχωρίζεται σε επιμέρους δεξαμενές. Το 85% των πολυμορφοπύρηνων ανευρίσκονται στον μυελό των οστών, όπου και παραμένουν για 7 έως 10 ημέρες. Μετά την έξοδο τους στην κυκλοφορία, (ποσοστό 5% του συνόλου των πολυμορφοπυρήνων) παραμένουν στο αίμα για περίπου 6 ώρες. Ποσοστό 10% είναι προσκολλημένα στο ενδοθήλιο των αγγείων και μπορεί να μεταναστεύσουν στους ιστούς μετά από χημειοτακτικά ερεθίσματα και να παραμείνουν για μερικές ημέρες (2 έως 4). [1 – 8, 13-16]

Ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων και η ποσόστωση τους στο περιφερικό αίμα μεταβάλλεται με βάση την ηλικία. Κατά τη γέννηση υπάρχουν σε πλειονότητα και κατόπιν το ποσοστό τους μειώνεται και επανέρχεται στις τιμές ενηλίκων μετά το 6^ο έτος ζωής. Ο απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων (ANC) ισούται με το γινόμενο του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων από τη γενική αίματος επί το ποσοστό των ουδετερόφιλων ÷ 100. [1- 8, 15 - 18]

1.4 Ουδετεροπενία

Ουδετεροπενία ορίζεται η ελάττωση του απόλυτου αριθμού των κυκλοφορούντων ουδετεροφίλων στο αίμα, με βάση την ηλικία. Ειδικότερα, το κατώτερο όριο των ουδετερόφιλων κατά την πρώτη εβδομάδα ζωής είναι 5000/ μL , μετέπειτα στο πρώτο έτος ζωής είναι 1000/ μL και στα παιδιά άνω του έτους έως του ενήλικες είναι 1500/ μL . [10 -17]

Σε παιδιά άνω του έτους, η ουδετεροπενία ορίζεται ως ήπια αν ο απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων είναι μεταξύ 1000 - 1500/ μL , ως μέτρια αν τα πολυμορφοπύρρηνα είναι 500 - 1000/ μL και ως σοβαρή αν είναι λιγότερα από 500/ μL . Ο κίνδυνος εμφάνισης λοιμώξεων ξεκινάει να αυξάνεται με τιμή πολυμορφοπυρήνων κάτω από 1000/ μL . [10 -18]

Οι όρος λευκοπενία και ουδετεροπενία είναι συνήθως συγγέοντα, ενώ υπάρχουν διαφορές. Η λευκοπενία αναφέρεται σε χαμηλά επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων, που μπορεί να οφείλονται σε οποιαδήποτε αιτία και να αναφέρεται σε λεμφοπενία ή και ουδετεροπενία, όμως η πλειονότητα των λευκοπενικών ασθενών έχουν και ουδετεροπενία, αφού σε συγκεκριμένες ηλικιακές ομάδες τα ουδετερόφιλα αποτελούν την πλειονότητα των λευκών. Επιπλέον, ο όρος ακοκκιοκυτταραιμία αναφέρεται στην απουσία κυττάρων της κοκκιώδους σειράς (ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα, βασεόφιλα) και συχνά χρησιμοποιείται για τη σοβαρή ουδετεροπενία. [16 – 19]

Η ταξινόμηση της ουδετεροπενίας γίνεται με βάση τον παθοφυσιολογικό μηχανισμό σε

- Ανεπαρκή παραγωγή (συγγενείς – επίκτητες)
- Μη αποδοτική κοκκιοποίηση
- Αυξημένη καταστροφή
- Διαταραχή της κατανομής [18 – 25]

Επίσης, οι ουδετεροπενίες κατατάσσονται με βάση αν οφείλονται σε ενδογενείς είτε εξωγενείς παράγοντες των κυττάρων της μυελικής σειράς:

- Ουδετεροπενία που οφείλεται σε ενδογενείς διαταραχές των προγονικών κυττάρων της μυελικής σειράς:
 - Σοβαρή συγγενής ουδετεροπενία (σύνδρομο Kostmann)
 - Κυκλική ουδετεροπενία
 - Μυελοκαχεξία
 - Σύνδρομο Shwachman – Diamond
 - Δικτυωτή δυσγενεσία
 - Σύνδρομο Chediak – Higashi
 - Συγγενής δυσκεράτωση
 - Υποπλασία χόνδρου – τριχών
 - Οικογενής καλοήθης ουδετεροπενία
 - Αναιμία Fanconi
 - Σύνδρομο μυελικής ανεπάρκειας
- Ουδετεροπενία που οφείλεται σε εξωγενείς παράγοντες:
 - Λοιμώξεις (Ιοί: Ηπατίτιδας Α, Β, Αναπνευστικός Συγκυτιακός ιός, Ανεμουλογία, Γρίπης Α, Β, Ερυθρά, Ιλαρά, Ερπητοϊοί, Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), Human Immunodeficiency Virus. Βακτήρια: τυφοειδής πυρετός, φυματίωση, βρουκέλωση, τουλαραιμία, σηψαιμία. κα)
 - Φάρμακα (μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, αντιβιοτικά, αντιεπιληπτικά κα)
 - Αυτοάνοση ουδετεροπενία της παιδικής ηλικίας ή «χρόνια καλοήθης βρεφική ουδετεροπενία»
 - Νεογνική ουδετεροπενία ανοσολογικής αρχής
 - Ουδετεροπενία σχετιζόμενη με ανοσολογικές διαταραχές (σύνδρομο Evans, Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος κα)
 - Ουδετεροπενία σχετιζόμενη με μεταβολικές διαταραχές
 - Διατροφικές ανεπάρκειες (βιταμίνη Β12 και φυλλικό οξύ)
 - Καταστροφή στο σύστημα μονοκυρήνων – μακροφάγων

- Διήθηση του μυελού των οστών
- Χρόνια ιδιοπαθής ουδετεροπενία [18- 35]

Σχετικά με την αυτοάνοση ουδετεροπενία τα παιδιά, βασικό κριτήριο για τη διάγνωσή της είναι η ανεύρεση αντι – πολυμορφοκυτταρικών αντισωμάτων (anti – PMN). στο περιφερικό αίμα και στρέφονται κατά των ειδικών αντιγόνων των κοκκιοκυττάρων

NA1, NA2, NB1, ND1, NE1. Οι ευρέως χρησιμοποιούμενες μέθοδοι για την ανίχνευση των εν λόγω αντισωμάτων είναι η δοκιμασία συσσώρευσης κοκκιοκυττάρων (granulocyte aggregation test GAT) και η δοκιμασία ανοσοφθορισμού των κοκκιοκυττάρων (granulocyte immunofluorescence test GIFT). Η αυτοάνοση ουδετεροπενία δύναται να είναι πρωτοπαθής και δευτεροπαθής. [34 - 35]

Η πρωτοπαθής αυτοάνοση ουδετεροπενία μπορεί να αναφέρεται και ως «καλοήθους ουδετεροπενία της βρεφικής και της παιδικής ηλικίας» και είναι η πιο συχνά ανευρισκόμενη αιτία ουδετεροπενίας. Απαντάται σε παιδιά ηλικίας κάτω των 3 ετών (μέση ηλικία διάγνωσης 8- 11 μήνες), ο απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων στη διάγνωση κυμαίνεται από 150 έως 250 κύτταρα/ μL και οι υπόλοιπες κυτταρικές σειρές είναι εντός των φυσιολογικών ορίων. Ο μηχανισμός που προκαλεί την πυροδότηση παραγωγής των anti PMN δεν έχει αποσαφηνιστεί και φαίνεται ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του τίτλου των αντισωμάτων και της σοβαρότητας των κλινικών εκδηλώσεων. Παρόλα αυτά η μη ανεύρεση anti PMN δεν αποκλείει τη διάγνωση και στο 30% των περιπτώσεων χρειάζεται επανάληψη της εξέτασης αρκετές φορές για να ανιχνευτούν. Κατά την μελέτη του μυελού των οστών με μυελόγραμμα και ανοσοφαινότυπο με κυτταρομετρία ροής διαπιστώνεται φυσιολογική ή και αυξημένη κυτταροβρίθεια, ενώ συχνό εύρημα αποτελεί η μείωση των ώριμων ουδετερόφιλων. Σημαντικό σημείο αποτελεί η μη συσχέτιση του βαθμού της ουδετεροπενίας με τη συχνότητα εμφανιζόμενων λοιμώξεων. Η κλινική πορεία είναι καλή, με αυτόματη ύφεση στην πλειονότητα των περιπτώσεων μετά από διάμεση διάρκεια 20 μηνών. [23 – 25]

Τα αίτια της δευτεροπαθούς αποτελούν λοιμώξεις, όπως λοίμωξη από τον ιό Epstein – Barr (EBV) και τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), φάρμακα, όπως αμινοπυρίνη, πενικιλίνη και κινιδίνη αλλά και νεοπλασματικά νοσήματα. Επιπλέον, μπορεί να εμφανιστεί στα πλαίσια αυτοάνοσου νοσήματος όπως η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος, σύνδρομο Evans & το σύνδρομο Felty. [20 -35]

Προσεγγίζοντας ένα παιδί με ουδετεροπενία μέγιστης σημασίας είναι η σωστή λήψη ιστορικού (έναρξη ουδετεροπενίας, συχνότητα και βαρύτητα λοιμώξεων, φαρμακευτική αγωγή και οικογενειακό ιστορικό). Η αντικειμενική εξέταση παρέχει περαιτέρω πληροφορίες όσον αφορά τυχόν φαινοτυπικές δυσμορφίες, σημεία υποκείμενης οντότητας, λεμφαδενοπάθεια, ηπατομεγαλία και σπληνομεγαλία. Η εργαστηριακή διερεύνηση θα πρέπει να γενική αίματος με επίχρισμα περιφερικού αίματος, έλεγχος νεφρικής, ηπατικής λειτουργίας, δείκτες φλεγμονής (C - αντιδρώσα πρωτεΐνη και ταχύτητα καθίζησης ερυθρών και δείκτες υπερμεταβολισμού όπως η γαλακτική δεϋδρογενάση και το ουρικό οξύ). Επίσης, σκόπιμο είναι να πραγματοποιείται ανοσολογικός έλεγχος με άμεση δοκιμασία Coombs, επίπεδα ανοσοσφαιρινών (IgA, IgM, IgG), έλεγχος κυτταρικής ανοσίας και επί ενδείξεων εκτενέστερος ανοσολογικός έλεγχος. Αν είναι εφικτό θα πρέπει να πραγματοποιείται διερεύνηση για την ύπαρξη αντι-πολυμορφοποιητικών αντισωμάτων στο περιφερικό αίμα. Επιπλέον, θα πρέπει να μετρούνται επίπεδα βιταμίνης B12 και φυλλικού οξέος. Ακτινολογικός έλεγχος με ακτινογραφία θώρακα +/- μακρών οστών. Τέλος, η πιο καθοριστική εξέταση αποτελεί το μυελόγραμμα και η καρυοτυπική ανάλυση του μυελού των οστών, σε περιπτώσεις που δεν βρίσκεται άλλη αιτία. [24 – 35]

1.6 Λεμφοκύτταρα

Τα λεμφοκύτταρα είναι τα μικρότερα εμπύρνηνα κύτταρα του αίματος και είναι τα μόνα κύτταρα που δύναται να διακρίνουν και να αναγνωρίσουν τους διάφορους αντιγονικούς επίτοπους. Προέρχονται από τη διαφοροποίηση του προγονικού κυττάρου της λεμφικής σειράς σε πρόδρομα Β και πρόδρομα Τ κύτταρα. Η διάκριση των επιμέρους υποπληθυσμών των

λεμφοκυττάρων πραγματοποιείται με την αναγνώριση συγκεκριμένων αντιγόνων που φέρουν στην επιφάνεια τους, που ονομάζονται clusters of differentiation (CD). Διακρίνονται σε B – κύτταρα, T- κύτταρα και κύτταρα φυσικούς φονείς. [3 – 6, 36 -38]

Τα B – λεμφοκύτταρα φέρουν το αντιγόνο επιφανείας CD20⁺, παράγονται και ωριμάζουν στον μυελό των οστών. Έχουν ως βασικό ρόλο την παραγωγή ανοσοσφαιρινών. Επίσης έχουν στην επιφάνεια τους μόρια ανοσοσφαιρινών και με την αλληλεπίδραση τους με αντιγόνα, ενεργοποιούνται και διαφοροποιούνται στα δραστικά κύτταρα, που ονομάζονται πλασματοκύτταρα. Τα πλασματοκύτταρα παράγουν και εκκρίνουν διαλυτές ανοσοσφαιρίνες. [3 – 6, 36 -38]

Τα T- λεμφοκύτταρα παράγονται στον μυελό των οστών, αλλά μεταναστεύουν και ωριμάζουν στο θύμο αδένα. Φέρουν αντιγόνο επιφανείας CD3⁺ και διαθέτουν τον ειδικό υποδοχέα των T- κυττάρων (T – cell receptor, TcR). Διακρίνονται στους εξής επιμέρους υποπληθυσμούς : T- βοηθητικά κύτταρα (CD 4⁺) και τα κυτταροτοξικά T κύτταρα (CD 8⁺). [3 – 6, 36 -38]

Συνολικά τα T – λεμφοκύτταρα συμμετέχουν τόσο στην κυτταρική όσο και στην χυμική ανοσία ενάντια σε παθογόνα. Τα λεμφοκύτταρα διακρίνονται σε B και T και στα κύτταρα φυσικούς φονείς (NK cells). Τα T- Λεμφοκύτταρα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στην κυτταρική όσο και στη χυμική ανοσία, ενώ τα B-Λεμφοκύτταρα συντελούν στην χυμική ανοσιακή απόκριση. Με την αναγνώριση των αντιγόνων εξωγενών παθογόνων τα T-βοηθητικά κύτταρα παράγουν κυτταροκίνες, οι οποίες δρουν άμεσα διεγείροντας την ανοσιακή απάντηση. Κατόπιν ενεργοποιούνται τα T-Κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα, παράγοντας κοκκία με ισχυρά κυτταροτοξικά ένζυμα (κυτταρική ανοσία) και τα B-κύτταρα που παράγουν αντισώματα έναντι των παθογόνων (χυμική ανοσία). Μετά την ενεργοποίησή τους και την καταστροφή του παθογόνου, και τα B και τα T Λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται σε κύτταρα μνήμης. Τα κύτταρα φυσικοί φονείς συμβάλλουν στην κυτταρική ανοσία με τις κυτταροτοξικές δυνατότητές τους ενάντια σε παθογόνα (πχ ιοί).

Η αναλογία των υποπληθυσμών των κυκλοφορούντων λεμφοκυττάρων είναι:

- T κύτταρα (CD3⁺): 60 -80 % εκ των οποίων το 60 – 70% είναι T-βοηθητικά και το 30 - 40% T-κυτταροτοξικά.
- B κύτταρα (CD20⁺): 10 - 20 %
- NK κύτταρα (CD56⁺): 5 - 10 %

Ο απόλυτος αριθμός των λεμφοκυττάρων (ALC) ισούται με το γινόμενο του συνολικού αριθμού λευκών αιμοσφαιρίων επί του ποσοστού των λεμφοκυττάρων από τον αιματολογικό αναλυτή, δηλαδή $ALC = WBC \text{ (cells/microL)} \times \text{ποσοστό λεμφοκυττάρων (\%)} \div 100$. [3 – 6, 36 -38]

1.6 Λεμφοκυττάρωση

Ως λεμφοκυττάρωση ορίζεται η αύξηση των επιπέδων των λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα. Διακρίνεται σε σχετική και απόλυτη λεμφοκυττάρωση. Η σχετική λεμφοκυττάρωση αντιπροσωπεύει την αύξηση του ποσοστού των λεμφοκυττάρων έναντι του ποσοστού των ουδετερόφιλων, με επακόλουθη ελάττωση του λόγου ουδετερόφιλων προς λεμφοκύτταρα (Neutrophil to lymphocyte ratio – NLR). Η απόλυτη λεμφοκυττάρωση αναφέρεται στην αύξηση του απόλυτου αριθμού των λεμφοκυττάρων που υπερβαίνει συγκεκριμένα όρια ανά ηλικιακή ομάδα, ειδικότερα σε άτομα ηλικίας άνω των 12 ετών ο απόλυτος αριθμός των λεμφοκυττάρων >4000 κύτταρα/microL (είτε >4000/mm³ είτε >4.0 x 10⁹/L). Στα νεογνά και στα παιδιά μικρότερης ηλικίας από 12 ετών είναι μεγαλύτερα τα επίπεδα του απόλυτου αριθμού λεμφοκυττάρων στο αίμα, τα οποία μπορεί να φτάσουν φυσιολογικά έως και 8000 κύτταρα/microL. Συνεπώς, η απόλυτη λεμφοκυττάρωση στις παραπάνω ηλικίες ορίζεται >8000-9000 κύτταρα/microL . [3 – 6, 38]

Η λεμφοκυττάρωση απαντάται συχνότερα σε λοιμώδη νοσήματα, είτε χρόνια φλεγμονή με σχετική ουδετεροπενία. Οι κλωνικές διαταραχές των λεμφοκυττάρων είναι εξαιρετικά σπάνιες στα παιδιά σε σχέση με τους ενήλικες. [3 – 6, 36 -38]

Αιτίες Λεμφοκυττάρωσης [41 - 58]

A. Λοιμώξεις:

1. Ιοί: Epstein-Barr virus (EBV), Cytomegalovirus (CMV), ερπητοϊός-6, Human Immunodeficiency Virus , αδενοϊοί, HTLV-1, Mumps, varicella, influenza, hepatitis, rubella, roseola, coxsackie virus B2, enteroviruses including poliovirus
2. Βακτήρια: Κοκκύτης
3. Πρωτόζωα: τοξοπλάσμωση
4. Άλλα: φυματίωση, βρουκέλωση, σύφιλη, ρικετσίωση

B.Υπερευαισθησία:

1. φάρμακα
2. ορονοσία

Γ. Stress:

1. μετά από τραυματισμό,
2. μετά από σπληνεκτομή
3. Κάπνισμα

Δ. Αυτοάνοσα:

1. Λεμφοκυττάρωση από μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα
2. Hashimoto
3. Ρευματοειδής αρθρίτιδα
4. Θύμωμα

E. Ενδοκρινολογικά:

Υπερθυρεοειδισμός

ΣΤ. Προκαρκινικές καταστάσεις:

Μονοκλωνική Β λεμφοκυττάρωση

Τύποι λεμφοκυττάρωσης

Η λεμφοκυττάρωση μπορεί να είναι είτε αντιδραστική – πολυκλωνική και σε κλωνική.

Η αντιδραστική λεμφοκυττάρωση αναφέρεται σε πολυκλωνική αύξηση των λεμφοκυττάρων σε παιδί με ελεύθερο ιστορικό αιματολογικού νοσήματος και με υποκείμενη κατάσταση/νόσημα που σχετίζεται με συνοδό λεμφοκυττάρωση. Τα επίπεδα των λεμφοκυττάρων αναμένεται να επανέλθουν στα φυσιολογικά για την ηλικία εντός 2 μηνών μετά την ύφεση του υποκείμενου νοσήματος (πχ ιογενείς λοιμώξεις, κοκκύτης, κτλ) [3-6, 51 – 52]

Αντίθετα, η κλωνική λεμφοκυττάρωση συνδέεται με τη διάγνωση ενός οξέος ή χρόνιου λεμφοϋπερπλαστικού νοσήματος (Μονοκλωνική Β λεμφοκυττάρωση, πολυκλωνική Β λεμφοκυττάρωση, λεμφοϋπερπλαστικές διαταραχές με παρουσία μεγάλων λεμφοκυττάρων).

Παρότι όλες οι κακοήθειες λεμφοκυτταρώσεις είναι κλωνικές, όλες οι κλωνικές λεμφοκυτταρώσεις δεν είναι κακοήθειες. Οι παραπάνω καταστάσεις μπορεί να παραμείνουν σταθερές είτε να εκτραπούν σε κακοήθεια με την πάροδο του χρόνου.[52 - 58]

Η κλωνικότητα στα κακοήθη λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα ορίζεται ως η παρουσία ενός ή περισσότερων ανωμαλιών από τις:

- Καρυοτυπική ανωμαλία (μεταθέσεις, πχ t(12;21))
- Κλωνική αναδιάταξη γονιδίων των ανοσοσφαιρινών σε Β λεμφώματα/λευχαιμίες
- Παρουσία μονής ελαφράς αλύσου (κ ή λ) στα λεμφοειδή κύτταρα
- Κλωνική αναδιάταξη του υποδοχέα των Τ κυττάρων
- Καλοήθη νοσήματα των ΝΚ κυττάρων με συνοδές χρωμοσωμικές ανωμαλίες [52 - 58]

Διερεύνηση λεμφοκυττάρωσης

Η διαγνωστική προσπέλαση ενός παιδιού με λεμφοκυττάρωση είναι πολύπλευρη και ακρογωνιαίο λίθο της αποτελεί η λήψη λεπτομερούς και στοχευμένου ιστορικού. Σημαντικά σημεία του ιστορικού αποτελούν η πρόσφατη λοίμωξη, η συχνότητα λοιμώξεων, η καταβολή, πυρετός και η απώλεια βάρους. Κατόπιν η αντικειμενική εξέταση του ασθενούς κατά συστήματα μπορεί να αποκαλύψει σημεία κλειδιά όπως η ωχρότητα δέρματος, η λεμφαδενοπάθεια και η οργανομεγαλία. [3 – 6, 39 – 40]

Ο εργαστηριακός έλεγχος θα πρέπει να περιλαμβάνει γενική αίματος με επίχρισμα περιφερικού αίματος, βιοχημικό έλεγχο (νεφρική, ηπατική λειτουργία, δείκτες φλεγμονής και δείκτες υπερμεταβολισμού όπως η γαλακτική δεϋδρογενάση και το ουρικό οξύ). Περαιτέρω διερεύνηση με ορολογικό έλεγχο επί ενδείξεων. [3 – 6, 39 – 40]

Η διαφορική διάγνωση εξαρτάται από την ηλικία και στα συμπτώματα των παιδιών. Στα παιδιά η παρουσία «άτυπων» ή «διεγερμένων» λεμφοκυττάρων είναι συχνή και σε συνδυασμό με τυχόν λεμφαδενοπάθεια, οργανομεγαλία και πυρέτιο με καλή γενική κατάσταση, θέτουν την υποψία για πιθανή λοίμωξη από Epstein-Barr, οπότε στη διαγνωστική προσπέλαση προτίθεται ορολογικός έλεγχος για τον EBV. Αντίθετα, η παρουσία παθολογίας σε μία ακόμα αιμοποιητική σειράς, όπως πχ. παρουσία ουδετεροπενίας, αναιμίας ή θρομβοπενίας θέτει ως πρώτη στη διαφορική διάγνωση την κακοήθεια και ο ασθενής πρέπει να παραπέμπεται για παιδοαιματολογική εκτίμηση. Σε περιπτώσεις λεμφοκυττάρωσης που επιμένει σε επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, ίσως χρειάζεται περαιτέρω έλεγχος με ανοσοφαινότυπο περιφερικού αίματος, για τον έλεγχο των υποπληθυσμών των λεμφοκυττάρων. [40 - 45]

1.7 Σκοπός της μελέτης

Οι διαταραχές των λευκών αιμοσφαιρίων αποτελούν μια από τις συχνότερες αιτίες παραπομπής παιδιών και εφήβων από γενικούς παιδίατρος για παιδοαιματολογική εκτίμηση. Ειδικότερα, η λευκοπενία – λεμφοκυττάρωση (συνοδευόμενη ή όχι από ουδετεροπενία) είναι συχνό εύρημα σε έλεγχο ρουτίνας στον παιδιατρικό πληθυσμό και απαιτεί συγκροτημένη προσέγγιση και διερεύνηση, καθώς και σε μερικές περιπτώσεις μακροχρόνια παρακολούθηση. Ως εκ τούτου, υπάρχει πληθώρα περιστατικών με διαφορετική πορεία και έκβαση, τα οποία παρακολουθούνται από την Κλινική Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων και στα τακτικά μας ιατρεία.

Στόχος της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση, ποσοτικοποίηση και η ιεράρχηση των αιτιολογικών παραγόντων, της πορείας, της πρόγνωσης των λευκοπενιών/ λεμφοκυτταρώσεων με συνοδό ή όχι ουδετεροπενία, καθώς και η ανάδειξη πιθανών συσχετίσεων με προγνωστικούς παράγοντες, μέσα από αναδρομική μελέτη περιστατικών και συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας.

Η επιλογή των περιστατικών για τη συμμετοχή στη μελέτη πραγματοποιήθηκε μέσα από ανασκόπηση των φακέλων των ασθενών που παρακολουθούνται στην Κλινική Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων του Πανεπιστημίου Κρήτης είτε ως εσωτερικοί ασθενείς είτε τα τακτικά εξωτερικά ιατρεία της την τελευταία πενταετία (Σεπτέμβριος 2015-Σεπτέμβριος 2020).

2.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία αποτελεί μια αναδρομική μη παρεμβατική μελέτη με στόχο τη μελέτη μέσω της διερεύνησης που πραγματοποιήθηκε των περιστατικών παιδιών και εφήβων που παραπέμφθηκαν με λεμφοκυττάρωση ή και λευκοπενία, στην Κλινική και τα τακτικά εξωτερικά ιατρεία. Μελετήθηκαν οι φάκελοι των ασθενών που παραπέμφθηκαν λόγω αναφερόμενης λεμφοκυττάρωσης -αναστροφής τύπου λευκών αιμοσφαιρίων, με λευκοπενία ή και ουδετεροπενία, καταγράφηκαν τα κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα και η πορεία –έκβαση τους. Η χρονική περίοδος της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας καλύπτει εύρος πενταετίας και ειδικότερα από το Σεπτέμβριο του 2015 έως και το Σεπτέμβριο του 2020.

Τα κριτήρια συμμετοχής στην παρούσα μελέτη ήταν:

1. Περιστατικά παιδιών – εφήβων με αναφερόμενη αναστροφή τύπου λευκών αιμοσφαιρίων, δηλαδή με αναφερόμενη λεμφοκυττάρωση ή / και λευκοπενία ή / και ουδετεροπενία.
2. Τα οποία παραπέμφθηκαν από ιδιώτες Παιδιάτρους είτε από Παιδιάτρους πρωτοβάθμιας φροντίδας υγείας (Κέντρα Υγείας, Τοπικές Μονάδες Υγείας) είτε από Παιδιατρικές Κλινικές της 7^{ης} Υγειονομικής Περιφέρειας της Κρήτης στην Κλινική Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου για περαιτέρω διερεύνηση και αντιμετώπιση.
3. Η ηλικία διάγνωσης ορίστηκε άνω των 6 ετών, εφόσον βάση της διεθνούς βιβλιογραφίας η επικράτηση του λεμφοκυτταρικού τύπου θεωρείται φυσιολογικό εύρημα στη γενική αίματος σε παιδιά μικρότερης ηλικίας από τα 6 έτη ζωής.
4. Γενική αίματος προ της επίσκεψης στις δομές της Κλινικής με λεμφοκυττάρωση ή / και λευκοπενία ή / και ουδετεροπενία.
5. Οι ασθενείς σε καλή γενική κατάσταση χωρίς οξεία κλινική ή εργαστηριακή εικόνα που να θέτει υποψία για λεμφοπερπλαστικό ή μυελοϋπερπλαστικό νόσημα.

Τα κριτήρια αποκλεισμού από την μελέτη ορίστηκαν:

1. Ηλικιακό εύρος κάτω των 6 ετών ζωής
2. Περιστατικά που παραπέμφθηκαν στην Κλινική Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων Πανεπιστημίου Κρήτης για διαφορετικό λόγο από αναφερόμενη αναστροφή τύπου και διαπιστώθηκε λεμφοκυττάρωση στην πρώτη γενική αίματος στην πρώτη επίσκεψη.
3. Περιστατικά που παραπέμφθηκαν σε επείγουσα βάση με σοβαρή κλινική εικόνα και πενίες σε πάνω από 2 κυτταρικές σειρές με παρουσία βλαστών σε επίχρισμα περιφερικού αίματος προ της μεταφοράς τους, δηλαδή περιστατικά με υψηλού βαθμού υποψία για λεμφουπερπλαστικό ή μυελοϋπερπλαστικό νόσημα (Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία και Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία).

Από τη συστηματική μελέτη του συνόλου των παραπομπών στα ιατρεία και στην Κλινική Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου ανευρέθηκαν 103 περιστατικά, τα οποία πληρούσαν τις προϋποθέσεις ένταξης στη μελέτη ~~και~~ ~~χωρίς~~ χωρίς τα κριτήρια αποκλεισμού. Μετά την εξακρίβωση των στοιχείων των περιστατικών πραγματοποιήθηκε ανάκτηση των ιατρικών φακέλων των προαναφερθέντων ασθενών. Έγινε συστηματική ανασκόπηση του ιατρικού φακέλου και των δεδομένων των παρακλινικών εξετάσεων των παιδιών και εφήβων που συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα έρευνα.

Από την ανασκόπηση όλων των διαθέσιμων ιατρικών φακέλων, πραγματοποιήθηκε καταγραφή των δημογραφικών και επιδημιολογικών δεδομένων των περιστατικών. Τα δεδομένα αυτά περιλαμβάνουν το φύλο, την ηλικία διάγνωσης της λεμφοκυττάρωσης για πρώτη φορά, αξιοσημείωτα δεδομένα από το ιστορικό, την κλινική εξέταση ανά συστήματα, προηγούμενες αιματολογικές εξετάσεις (αν στο παρελθόν είχαν ή όχι πολυμορφοκυρηνικό τύπο λευκών αιμοσφαιρίων). Επιπλέον, καταγράφηκε το χρονικό διάστημα που χρειάστηκε για την επικράτηση-του φυσιολογικού πολυμορφοκυρηνικού τύπου, η ηλικία στην αποκατάσταση και ο αριθμός των επισκέψεων στα Τακτικά Εξωτερικά Ιατρεία της Κλινικής Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων έως και την αποκατάσταση.

Από τις παρακλινικές εξετάσεις ανακτήθηκαν τα εξής δεδομένα:

- Από τη γενική αίματος διάγνωσης καταγράφηκε ο συνολικός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, το ποσοστό και ο απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων και λεμφοκυττάρων, το ποσοστό μονοκυττάρων, η τιμή της αιμοσφαιρίνης και το επίπεδο των αιμοπεταλίων. Σημειώθηκε αν η λεμφοκυττάρωση ορίζεται ως απόλυτη (απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων >4.000 κύτταρα/microL) ή σχετική (μεγαλύτερο ποσοστό λεμφοκυττάρων έναντι ουδετερόφιλων).
- Από τον ανοσολογικό έλεγχο καταγράφηκαν τα επίπεδα ανοσοσφαιρινών στο αίμα (IgA, IgM, IgG), τα κλάσματα του συμπληρώματος (C3, C4), η άμεση δοκιμασία Coombs, τα αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA), τυχόν ειδικός έλεγχος για αυτοάνοσα νοσήματα, όπως αντιπηκτικό του Συστηματικού Ερυθματώδους Λύκου, ENA screen, ρευματοειδής παράγοντας κα.
- Από τον ιολογικό και ορολογικό έλεγχο συμπεριλήφθηκαν τα αντισώματα IgM, IgG κατά του Epstein-Barr ιού (EBV), IgM, IgG κατά του κυτταρομεγαλοϊού (CMV), IgM, IgG κατά του Human Immunodeficiency Virus (HIV), IgM, IgG κατά του ιού της Ηπατίτιδας Β (HBV), IgM, IgG κατά του ιού της Ηπατίτιδας C (HCV), HCV, IgM, IgG κατά του ιού parvovirus B19, IgM, IgG κατά του αδενοϊού (ADV), IgM, IgG κατά του ιού της παρωτίτιδας (Mumps) και τέλος IgM, IgG κατά του τοξοπλάσματος.
- Από τον ορμονολογικό έλεγχο σημειώθηκε η θυρεοειδική λειτουργία με τις φυσιολογικές ορμόνες του θυρεοειδούς, τη θυρεοειδοτρόπο ορμόνη και τον έλεγχο των αντισωμάτων κατά της θυρεοσφαιρίνης και τα αντιμικροσωμακά αντισώματα (TSH, FT3, FT4, anti TG anti και anti TPO).
- Από τυχόν ειδικές εξετάσεις καταγράφηκαν ανοσοφαινότυπος με κυτταρομετρία ροής περιφερικού αίματος, μυελού των οστών, καρυότυπος και κυτταρογενετικές διαταραχές του μυελού των οστών.
- Από την τελευταία γενική αίματος καταγράφηκε ο συνολικός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, το ποσοστό και ο απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων και λεμφοκυττάρων, το ποσοστό μονοκυττάρων, η τιμή της αιμοσφαιρίνης και το επίπεδο

των αιμοπεταλίων. Σημειώθηκε αν υπήρξε αποκατάσταση με επικράτηση του πολυμορφοκυτταρικού τύπου ή όχι.

Μετά τη συστηματική ανασκόπηση όλων των διαθέσιμων ιατρικών φακέλων και την καταγραφή σε κρυπτογραφημένο αρχείο με έλεγχο πρόσβασης των προαναφερθέντων κλινικο – εργαστηριακών δεδομένων, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση των δεδομένων με τη χρήση υπολογιστικού στατιστικού προγράμματος του Graph Pad Prism version 9.1.2 ©.

Απλές περιγραφικές μέθοδοι στατιστικής χρησιμοποιήθηκαν αρχικά για την καταγραφή και ποσοτικοποίηση των δεδομένων των παιδιών. Ειδικότερα, οι ποιοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν σε απόλυτο αριθμό (N) και σε ποσοστό (%) επί του συνόλου των περιστατικών. Όσον αφορά τις ποσοτικές και συνεχείς μεταβλητές έγινε ανάλυση αρχικά με απλές περιγραφικές στατιστικές μεθόδους και υπολογίστηκε ο μέσος όρος (median), η διάμεσος (mean), η τυπική απόκλιση (Standard Deviation - SD), η ελάχιστη τιμή (Minimum value -min) και η μέγιστη τιμή (Maximum value – max).

Η περαιτέρω στατιστική ανάλυση των δεδομένων με στόχο τη συσχέτιση μεταξύ προσδιοριστών και εξαρτημένων μεταβλητών έγινε με τη χρήση πολυπαραγοντικών μη – παραμετρικών μοντέλων στατιστικής. Για τις ποιοτικές – κατηγορικές μεταβλητές χρησιμοποιήθηκε το Fisher's exact test και υπολογίστηκε ο λόγος αναλογιών (Odds Ratio - OR), το 95% του διαστήματος εμπιστοσύνης (95% Confidence Interval – 95%CI) και το p – value. Για τις ποσοτικές – συνεχείς μεταβλητές έγινε χρήση του Mann-Whitney test, εφόσον δεν πληρούσαν κριτήρια κανονικής κατανομής κατά Gauss. Με αυτό τον τρόπο υπολογίστηκε το p – value. Ως στατικά σημαντικό αποτέλεσμα ορίστηκε τιμή του p – value < 0,05. Τα δεδομένα παρουσιάζονται σε πίνακες και σε γραφήματα (ιστογράμματα, pie chart κα).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Δημογραφικά χαρακτηριστικά

Από τα 103 περιστατικά που συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, τα 56 ήταν αγόρια (54,37%) και τα 47 κορίτσια (45,63%). Η μέση ηλικία διάγνωσης της λεμφοκυττάρωσης ήταν τα 10,87 έτη με τυπική απόκλιση 2,604 έτη (ελάχιστη ηλικία 6,06 και μέγιστη 17,35 έτη). (Πίνακας 1, Πίνακας 2)

2.2 Γενική αίματος διάγνωσης

Ο μέσος όρος λευκών αιμοσφαιρίων στη διάγνωση ήταν 5476 / μ L με SD 1762 (min 2500 / μ L & max 12400 / μ L). Το ποσοστό των ουδετερόφιλων μετρήθηκε σε μέσο όρο 34,7% με SD 7,881 και σε ελάχιστο 2% - μέγιστο 46%, ενώ ο απόλυτος αριθμός τους είχε μέσο όρο 1899 / μ L με τυπική απόκλιση 770,2 (min 100 / μ L – max 4960/ μ L). Τα λεμφοκύτταρα είχαν ποσοστό κατά μέσο όρο 52,94% με SD 6,932 (min 42% - max 81%) και ο απόλυτος αριθμός τους υπολογίστηκε με μέσο όρο 2921 κύτταρα/microL με SD 1121 (min 1200 / μ L – max 8700 / μ L). Ο μέσος όρος της τιμής της αιμοσφαιρίνης μετρήθηκε 13,4 g/dl με SD 1 (min 9,8 g/dl – max 15,5 g/dl) και ο μέσος όρος των αιμοπεταλίων υπολογίστηκε 254354 / μ L με τυπική απόκλιση 59571 (min 126000 / μ L – max 452000 / μ L). (Πίνακας 2)

Ειδικότερα, όλα τα περιστατικά είχαν λεμφοκυττάρωση, ενώ στα 22 (21,36%) διαπιστώθηκε και λευκοπενία και στα 34 (33,01%) ανευρέθηκε και ουδετεροπενία. Αναιμία στη διάγνωση είχαν 5 παιδιά (4,85%) και θρομβοπενία 5 (4,85%). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως σε όλα τα περιστατικά που διαπιστώθηκε λευκοπενία, συνοδευόταν και από ουδετεροπενία, χωρίς να συμβαίνει το αντίθετο, δηλαδή όσα παιδιά είχαν ουδετεροπενία δεν συνοδευόταν πάντα από λευκοπενία. (Πίνακας 1)

Όσον αφορά το είδος της λεμφοκυττάρωσης, 14 περιστατικά (13,59%) είχαν απόλυτη λεμφοκυττάρωση, ενώ 89 είχαν σχετική λεμφοκυττάρωση (86,41%), δηλαδή ποσοστιαία περισσότερα λεμφοκύτταρα από πολυμορφοπύρρηνα. (Πίνακας 2)

3.3 Προηγούμενο ιστορικό με πολυμορφοπυρηνικό τύπο

Σε προηγούμενο εργαστηριακό έλεγχο με γενική αίματος βρέθηκε ότι 40 περιστατικά είχαν πολυμορφοπυρηνικό επικρατούντα τύπο λευκών αιμοσφαιρίων (38,83%), ενώ 63 δεν είχαν αποκαταστήσει πολυμορφοπυρηνικό τύπο προ της διάγνωσης (61,17%). (Πίνακας 1)

3.4 Ανοσολογικός έλεγχος

Σε όλα τα περιστατικά πραγματοποιήθηκε έλεγχος των επιπέδων των ανοσοφαιρινών στο αίμα. Ο μέσος όρος των επιπέδων της ανοσοσφαιρίνης A (IgA) μετρήθηκε 137,8 mg/dl με SD 54,26 (min 25,4 mg/dl – max 280 mg/dl). Η ανοσοσφαιρίνη G (IgG) υπολογίστηκε με μέσο όρο 1043 mg/dl και τυπική απόκλιση 232 (min 110 mg/dl – max 1590 mg/dl) και η ανοσοσφαιρίνη M (IgM) είχε μέσο όρο 95,09 mg/dl με SD 36,58 (min 36 mg/dl – 288 mg/dl). Διαπιστώθηκαν ελαττωμένα επίπεδα IgA κάτω από το φυσιολογικό όριο για την ηλικία σε 1 περιστατικό. Επίσης 1 περιστατικό είχε αυξημένα επίπεδα IgM για την ηλικία του και κατόπιν σε επαναληπτικό έλεγχο αποκατέστησε στα φυσιολογικά. (Πίνακας 2)

Σε 86 παιδιά έγινε έλεγχος με δοκιμασία άμεσης Coombs, που σε όλα ήταν αρνητική. (Πίνακας 1)

Σε 56 παιδιά έγινε έλεγχος των κλασμάτων του συμπληρώματος, ο οποίος ανέδειξε μέσο όρο C3 107,7 mg/dl με SD 19,52 (min 23 mg/dl – max 160 mg/dl). Το κλάσμα C4 είχε μέσο όρο 25,53 mg/dl με τυπική απόκλιση 20,1 (min 10 mg/dl – max 115 mg/dl). Χαμηλά επίπεδα C3 διαπιστώθηκαν σε 1 περιστατικό, ενώ χαμηλό κλάσμα C4 είχαν 10 περιστατικά (σε συνολικό ποσοστό του δείγματος 9,71%). (Πίνακας 1, Πίνακας 2)

Σε 47 περιστατικά στάλθηκε έλεγχος με αντιπυρηνικά αντισώματα (ANA) εκ των οποίων 5 ήταν θετικά (σε συνολικό ποσοστό του δείγματος 4,85%). (Πίνακας 1)

3.5 Ιολογικός έλεγχος

Λοίμωξη από Epstein Barr Virus (EBV) διαπιστώθηκε σε 1 περιστατικό (0,97%), όπως και λοίμωξη από ιό της Παρωτίτιδας (Mumps) σε 1 περιστατικό (0,97%) και λοίμωξη από αδενοϊο σε 1 περιστατικό (0,97%). Μετά την ύφεση των ιογενών λοιμώξεων η λεμφοκυττάρωση αποκαταστάθηκε και τα παιδιά αποκατέστησαν πολυμορφοπυρηνικό τύπο.

Δεν διαπιστώθηκε άλλη λοίμωξη στο σύνολο των περιστατικών, όπως από κυτταρομεγαλοϊο (CMV), από ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), ιοί της ηπατίτιδας B, C κα. (Πίνακας 1)

3.6 Ορμονολογικός έλεγχος

Από την ανασκόπηση του ελέγχου λειτουργίας του θυρεοειδή διαπιστώθηκε μέσος όρος τιμής θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH) 1,436 mIU/L με τυπική απόκλιση 1,017 (min 0,4 mIU/L – max 8,99 mIU/L). Η ελεύθερη τριωδοθυρονίνη (FT3) είχε μέση τιμή 3,28pg/mL με SD 1,305 (min 1,04 pg/mL – max 4,41 pg/mL). Η ελεύθερη θυροξίνη (FT4) είχε μέση τιμή 1,5 ng/dl SD 1,138 (min 0,8 ng/dl – max 3,8 ng/dl). Θετικά αντισώματα κατά της θυρεοσφαιρίνης (anti TG) διαπιστώθηκαν σε 5 περιστατικά (4,85%), τα οποία είχαν θυρεοειδίτιδα Hashimoto. Υποθυρεοειδισμός τεκμηριώθηκε σε 8 παιδιά (7,77%). (Πίνακας 2 -3)

Με τη ρύθμιση της θυρεοειδικής λειτουργίας αποκαταστάθηκε ο τύπος των λευκών αιμοσφαιρίων σε 5 περιστατικά με υποθυρεοειδισμό (62,5% αποκατάσταση πολυμορφοπυρηνικού τύπου στο σύνολο των παιδιών με υποθυρεοειδισμό).

Πίνακας 1

Χαρακτηριστικά		Αριθμός (N)	Ποσοστό (%)
Φύλο	Άρρεν	56	54,37
	Θήλυ	47	45,63
Διαταραχές στη γενική αίματος διάγνωσης	Λευκοπενία	22	21,36
	Ουδετεροπενία	34	33,01
	Λεμφοκυττάρωση	103	100,00
	Αναιμία	5	4,85
	Θρομβοπενία	5	4,85
	Είδος Λεμφοκυττάρωσης	Απόλυτη	14
	Σχετική	89	86,41
Ιστορικό πολυμορφοπυρηνικού τύπου	Ναι	40	38,83
	Όχι	63	61,17
ANA	Θετικά	5	4,85
	Αρνητικά	98	95,15
Άμεση Coombs	Θετική	0	0,00
	Αρνητική	103	100,00
Ανοσολογικά	Χαμηλή IgA	1	0,97
	Χαμηλή IgM	0	0,00
	Χαμηλή IgG	0	0,00
	Χαμηλό C3	1	0,97
	Χαμηλό C4	10	9,71
Ιολογικά	EBV	1	0,97
	CMV	0	0,00
	HIV	0	0,00
	HBV	0	0,00
	HCV	0	0,00
	Parvo	0	0,00
	Toxo	0	0,00
	HSV	0	0,00
	Mumps	1	0,97
	ADV	1	0,97

Πίνακας 2

	Μέσος Όρος (mean)	Τυπική Απόκλιση (SD)	Ελάχιστη τιμή (min)	Μέγιστη τιμή (max)
Ηλικία στη διάγνωση (έτη)	10,87	2,604	6,06	17,35
WBC διάγνωσης (/microL)	5476	1762	2500	12400
Neut % διάγνωσης	34,7	7,881	2	48
Neut N διάγνωσης (/microL)	1899	770,2	100	4960
Lym % διάγνωσης	52,94	6,932	42	81
Lym N διάγνωσης (/microL)	2921	1121	1200	8700
Mono N διάγνωσης (/microL)	8,205	3,051	1	15,6
Hb διάγνωσης (g/dl)	13,04	1	9,8	15,5
PLT διάγνωσης (/microL)	254534	59571	126000	452000
IgA (mg/dl)	137,8	54,26	25,4	280
IgG (mg/dl)	1043	232	110	1590
IgM (mg/dl)	95,09	36,58	36	288
C3 (mg/dl)	107,7	19,52	23	160
C4 (mg/dl)	25,53	20,1	10	115
TSH (mIU/L)	1,436	1,017	0,8	8,99
FT3 (pg/mL)	3,28	1,305	1,04	4,41
FT4 (ng/dl)	1,5	1,138	0,8	3,8
Ημέρες για αποκατάσταση	484,1	534,2	16	2226
Μήνες για αποκατάσταση	16,14	17,81	0,53	74,2
Ηλικία αποκατάστασης	12,26	2,673	7,33	21,11
WBC τελευταία (/microL)	6028	1627	2800	10400
Neut % τελευταία	48,67	7,981	24	65
Neut N τελευταία (/microL)	2981	1019	1056	5841
Lym % τελευταία	39,51	8,265	19	60
Lym N τελευταία (/microL)	2388	812,4	1000	5720
Hb τελευταία (g/dl)	13,34	0,9905	10,6	16
PLT τελευταία (/microL)	260204	58439	136000	407000
Αριθμός επισκέψεων	2,01	1,956	1	12

3.7 Ειδικές παρακλινικές εξετάσεις

Ανοσοφαινότυπος περιφερικού αίματος με κυτταρομετρία ροής πραγματοποιήθηκε σε 3 (2,91%) περιστατικά με εμμένουσα λευκοπενία – ουδετεροπενία και λεμφοκυττάρωση, χωρίς άλλη αιτιολογία και στο σύνολο τους δεν ανέδειξε παθολογία. (Πίνακας 3)

Μυελόγραμμα με ανοσοφαινότυπο μυελού των οστών διενεργήθηκε σε 3 (2,91%) παιδιά με εμμένουσα λευκοπενία – ουδετεροπενία και λεμφοκυττάρωση, χωρίς άλλη αιτιολογία, εκ των οποίων σε 1 (0,97%) ήταν φυσιολογικός και σε 2 (2,91%) ενδεικτικός παθολογίας. Οι παθολογικές καταστάσεις που προέκυψαν με τον ανοσοφαινότυπο μυελού των οστών ήταν σε 1 παιδί πιθανό MDS like (0,97%), για το οποίο συνεχίζεται ο έλεγχος και η παρακολούθηση και σε 1 παιδί με υπόστρωμα αυτοανοσίας (0,97%), το οποίο παραπέμφθηκε σε Ρευματολογικό Τμήμα για περαιτέρω διερεύνηση και αντιμετώπιση. (Πίνακας 3)

Η καρυοτυπική ανάλυση και ο φθορίζων *in situ* υβριδισμός (FISH) του μυελού των οστών πραγματοποιήθηκε σε όλα τα περιστατικά που έγινε μυελόγραμμα, χωρίς να αναδεικνύεται παθολογία. (Πίνακας 2)

3.8 Αιτιολογικοί παράγοντες

Στη συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων δηλαδή σε 87 παιδιά (83,65%) δεν διαπιστώθηκε υποκείμενος αιτιολογικός παράγοντας για τη λεμφοκυττάρωση. Υποκείμενη αιτιολογία διαπιστώθηκε στο 16,35%.

Ως υποκείμενοι αιτιολογικοί παράγοντες για τη λεμφοκυττάρωση αναγνωρίστηκαν οι εξής:

- Θυρεοειδοπάθεια και ειδικότερα υποθυρεοειδισμός σε 8 περιστατικά (7,77%), εκ των οποίων 5 (4,85%) είχαν θυρεοειδίτιδα Hashimoto.

- Ιογενείς λοιμώξεις σε 3 περιστατικά (2,91%) με 1 περιστατικό (0,97%) με λοίμωξη EBV, 1 περιστατικό (0,97%) με ιό παρωτίτιδας (Mumps) και 1 περιστατικό (0,97%) με λοίμωξη από αδενοϊο.
- Φαρμακευτική αιτιολογία σε 3 παιδιά (2,91%) με σύνολο τους να λαμβάνει αντιεπιληπτική αγωγή. Ειδικότερα, 2 παιδιά ήταν υπό αγωγή με βαλπροϊκό οξύ και 1 λεβετιρακετάμη.
- Αυτοάνοσο πιθανό υποκείμενο νόσημα σε 1 περιστατικό (0,97%).
- Αιματολογικό νόσημα με πιθανό MDS-like σε 1 περιστατικό (0,97%).

(Πίνακας 3)

3.9 Πορεία – πρόγνωση

Από τα 103 περιστατικά που μελετήθηκαν, τα 76 (73,79%) αποκατέστησαν πολυμορφοπυρηνικό τύπο λευκών αιμοσφαιρίων, ενώ παρέμεινε λεμφοκυτταρικός τύπος σε 27 (26,21%). Πιο συγκεκριμένα στα 43 περιστατικά (41,75%) κατά την παραπομπή τους στην Κλινική Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων δεν επιβεβαιώθηκε ο λεμφοκυτταρικός τύπος και δεν συνεχίστηκε η παρακολούθησή τους. (Πίνακας 3)

Σχετικά με το χρονικό διάστημα που μεσολάβησε έως την αποκατάσταση του φυσιολογικού για την ηλικία πολυμορφοπυρηνικού τύπου, υπολογίστηκε ο μέσος όρος σε 16,14 μήνες με τυπική απόκλιση 17,81 (min 0,53 – max 74,2). Ο μέσος όρος επισκέψεων ήταν 2,01 (SD 1,956, min 1 – max 12). Η μέση ηλικία των περιστατικών κατά την αποκατάσταση ήταν 12,26 έτη (SD 2,673, min 7,33 – max 21,11). (Πίνακας 2)

Αναλύθηκε επίσης η τελευταία γενική αίματος των περιστατικών. Ο μέσος όρος λευκών αιμοσφαιρίων ήταν 6028 / μ L με SD 1627 (min 2800 / μ L & max 10400 / μ L). Το ποσοστό των ουδετερόφιλων μετρήθηκε σε μέσο όρο 48,67% με SD 7,981 και σε ελάχιστο 24% - μέγιστο 65%, ενώ ο απόλυτος αριθμός τους είχε μέσο όρο 2981 / μ L με τυπική απόκλιση 1019 (min 1056 / μ L – max 5841/ μ L). Τα λεμφοκύτταρα είχαν ποσοστό κατά μέσο όρο 39,51% με SD 8,265 (min 19% - max 60 %) και ο απόλυτος αριθμός τους υπολογίστηκε με μέσο όρο 2388

κύτταρα/microL με SD 812,3 (min 1000 κύτταρα/microL – max 5720 κύτταρα/microL). Ο μέσος όρος της τιμής της αιμοσφαιρίνης μετρήθηκε 13,34 g/dl με SD 0,99 (min 10,6 g/dl – max 16 g/dl) και ο μέσος όρος των αιμοπεταλίων υπολογίστηκε 260204 /μL με τυπική απόκλιση 58439 (min 136000 /μL – max 407000 /μL). (Πίνακας 2 - 3)

Πίνακας 3

Χαρακτηριστικά	Αριθμός (N)	Ποσοστό (%)	
Ενδοκρινολογικά	Hashimoto	5	4,85
	Υποθυρεοειδισμός	8	7,77
Ανοσοφαινότυπος Περιφερικού Αίματος	Χωρίς παθολογία	3	2,91
	Με παθολογία	0	0,00
	Δεν πραγματοποιήθηκε	100	97,09
Ανοσοφαινότυπος Μυελού των Οστών	Χωρίς παθολογία	1	0,97
	Με παθολογία	3	2,91
	Δεν πραγματοποιήθηκε	99	96,12
Καρύοτυπος Μυελού των Οστών	Χωρίς παθολογία	4	3,88
	Με παθολογία	0	0,00
	Δεν πραγματοποιήθηκε	99	96,12
FISH Μυελού των Οστών	Χωρίς παθολογία	4	3,88
	Με παθολογία	0	0,00
	Δεν πραγματοποιήθηκε	99	96,12
Υποκείμενη Αιτιολογία	Ιογενείς Λοιμώξεις	3	2,91
	Αιματολογικό Νόσημα	1	0,97
	Αυτοάνοσο Νόσημα	1	0,97
	Ενδοκρινολογικό Νόσημα	8	7,77
	Φαρμακευτικής αιτιολογίας	3	2,91
	Καμία	87	84,47
Αποτέλεσμα	Αποκαστάση πολυμορφοπυρηνικού τύπου	76	73,79
	Παραμονή Λεμφοκυτταρικού τύπου	27	26,21
Αποκατάσταση κατά την 1η επίσκεψη		43	41,75

3.10 Συσχετίσεις στατιστικής ανάλυσης

Όσον αφορά την συσχέτιση υποκείμενης αιτιολογίας με την λεμφοκυττάρωση, πραγματοποιήθηκαν επιμέρους αναλύσεις με προσδιοριστές στοιχεία δημογραφικά, από το ιστορικό, από την κλινική εξέταση και τον παρακλινικό έλεγχο. Ειδικότερα, στατιστικά σημαντικά διαφορά διαπιστώθηκε στον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων κατά τη διάγνωση με διάμεση τιμή στα παιδιά με υποκείμενη αιτιολογία 4300 / μL , ενώ υψηλότερη τιμή καταγράφηκε στην ομάδα χωρίς υποκείμενη κατάσταση 5250 / μL , με p – value 0,01.

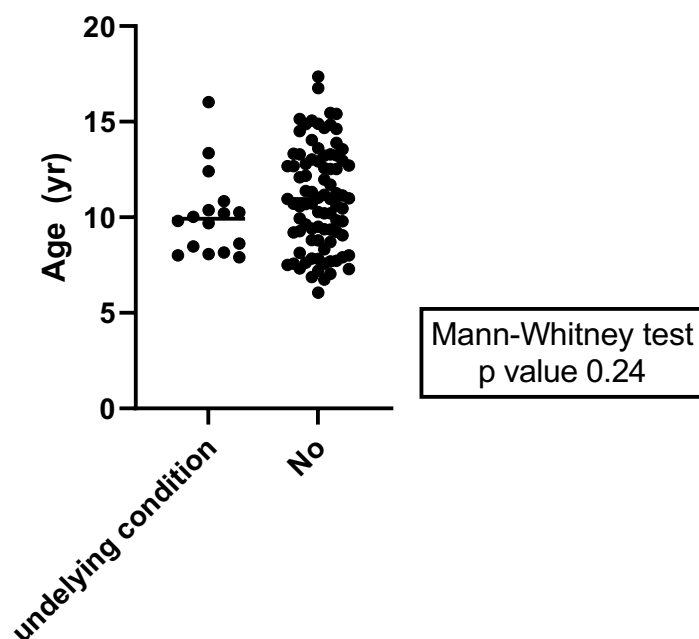
Επίσης, ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων στη διάγνωση βρέθηκε να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά, με την ομάδα με υποκείμενη αιτία να έχει διάμεση τιμή 1370 / μL , ενώ η διάμεση τιμή στην ομάδα χωρίς υποκείμενη αιτιολογία 1840 / μL , με υπολογιζόμενο p – value 0,006.

Τέλος, στατιστικά σημαντική διαφορά υπολογίστηκε όσον αφορά την απόλυτη τιμή των λεμφοκυττάρων κατά την πρώτη γενική αίματος της διάγνωσης με την ομάδα με υποκείμενη αιτιολογία να έχει διάμεση τιμή 2310 / μL , σε αντίθεση με την ομάδα χωρίς υποκείμενη αιτιολογία να έχει μεγαλύτερη διάμεση τιμή λεμφοκυττάρων 2800 / μL , με p – value 0,01. Αναλύθηκαν επίσης το φύλλο, η ηλικία, το είδος λεμφοκυττάρωσης (απόλυτη – σχετική), αν προηγουμένως είχαν πολυμορφοπυρηνικό τύπο και αν στη γενική αίματος διάγνωσης συνυπήρχε πενία σε άλλη κυτταρική σειρά, όπως αναιμία ή θρομβοπενία, χωρίς όμως να υπολογιστούν στατιστικά σημαντικές διαφορές. (Πίνακας 4 διάγραμμα 1 - 4)

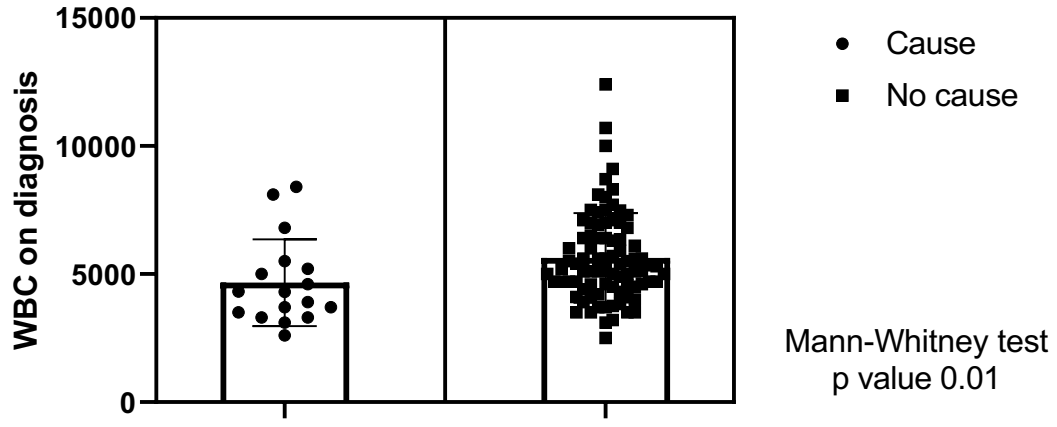
Πίνακας 4

	Total (%) N=103	Με υποκείμενη αιτία N=16	Χωρίς υποκείμενη αιτία N=87	OR (95% CI)	p value
Φύλο (άρρεν)	56	8	48	1.2(0.4-3.7)	0.78
Ηλικία (έτη)	10.6	10	10.9		0.24 ^a
Αριθμός Λευκών (/μL)	5100	4300	5250		0.01 ^a
Ουδετερόφιλα (/μL)	1800	1370	1840		0.006 ^a
Λεμφοκύτταρα (/μL)	2670	2310	2800		0.01 ^a
Απόλυτη Λεμφοκυττάρωση	14	3	11	1.5(0.4-5.7)	0.45
Προηγούμενα Neutro>Lympho	40	8	32	1.7(0.5-5.3)	0.40
Αναιμία	5	0	5		NS
Θρομβοπενία	5	0	5		NS

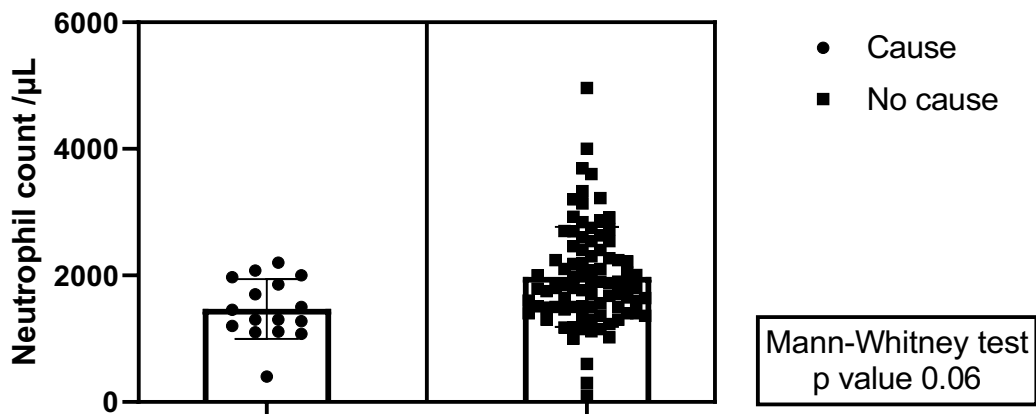
Διάγραμμα 1. Ηλικιακή κατανομή σε παιδιά και εφήβους με υποκείμενη και χωρίς υποκείμενη παθολογία (χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά)



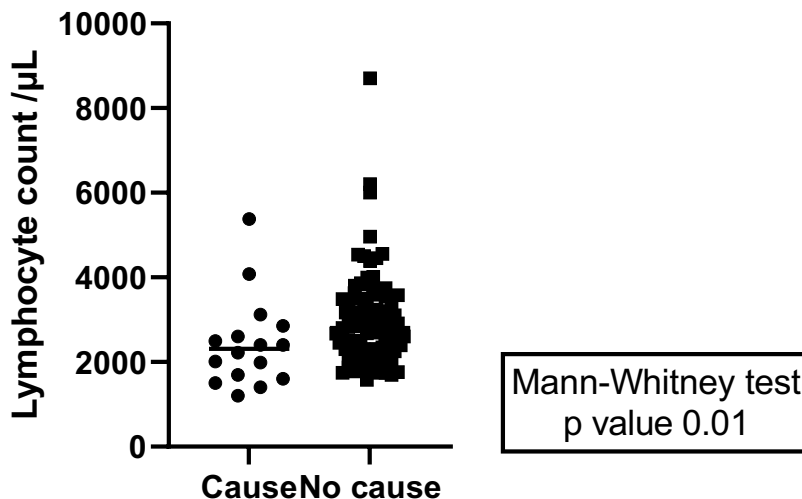
Διάγραμμα 2: Κατανομή τιμής λευκών αιμοσφαιρίων στη διάγνωση σε περιστατικά με υποκείμενη αιτιολογία και χωρίς υποκείμενη αιτιολογία



Διάγραμμα 3: Κατανομή της απόλυτης τιμής ουδετερόφιλων στη διάγνωση σε περιστατικά με υποκείμενη αιτιολογία και χωρίς υποκείμενη αιτιολογία.



Διάγραμμα 4: Κατανομή της απόλυτης τιμής λεμφοκυττάρων στη διάγνωση σε περιστατικά με υποκείμενη αιτιολογία και χωρίς υποκείμενη αιτιολογία.



Αναλύθηκε επιπλέον η αποκατάσταση ή όχι του φυσιολογικού για την ηλικία πολυμορφοκυρηνικού τύπου κατά την τελευταία γενική αίματος, σε σχέση με τους επιμέρους προσδιοριστές από το ιστορικό, την κλινική εξέταση και τον παρακλινικό έλεγχο. Ειδικότερα, στατιστικά σημαντική διαφορά διαπιστώθηκε στην ηλικία διάγνωσης, με την ομάδα που αποκατέστησε να έχει διάμεση ηλικία 10,8 έτη, ενώ η ομάδα στην οποία παρέμεινε ο λεμφοκυτταρικός τύπος λευκών αιμοσφαιρίων είχε διάμεση ηλικία μικρότερη 9,6 έτη, με p – value 0,04.

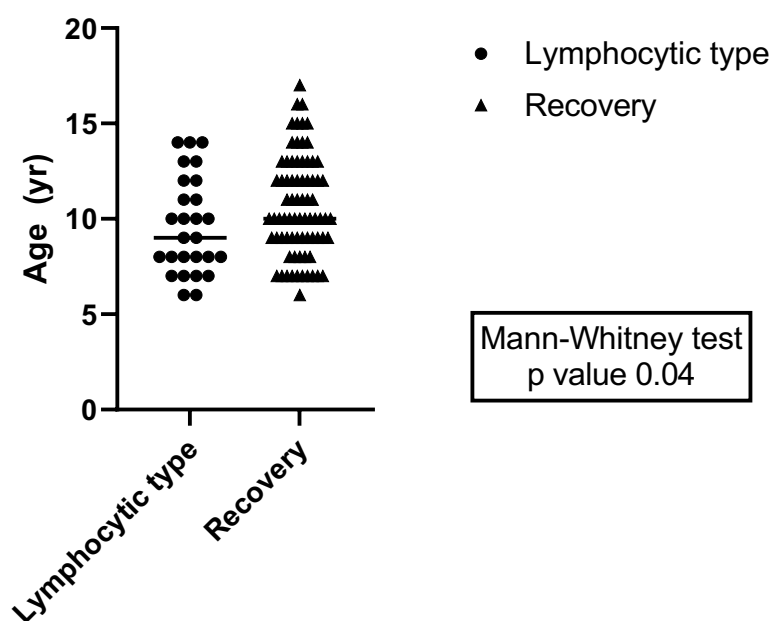
Επίσης, υπολογίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις 2 ομάδες σχετικά με το είδος τη λεμφοκυττάρωσης (σχετική ή απόλυτη). Εβδομήντα περιστατικά με σχετική λεμφοκυττάρωση κατά τη διάγνωση αποκατέστησαν πολυμορφοκυρηνικό τύπο, έναντι 19 στα οποία παρέμεινε ο λεμφοκυτταρικός τύπος με Odds Ratio 4,9 (95% CI 1,6 – 17), με p – value 0,008. Επομένως, τα παιδιά –έφηβοι που είχαν στη διάγνωση σχετική λεμφοκυττάρωση φάνηκε να έχουν σχεδόν πενταπλάσια πιθανότητα να αποκαταστήσουν πολυμορφοκυρηνικό τύπο. Αναλύθηκαν επίσης το φύλο, ο αριθμός λευκών στη διάγνωση, ο απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων και

λεμφοκυττάρων, ο προηγούμενος πολυμορφοπυρηνικός τύπος και η συνύπαρξη στη γενική αίματος διάγνωσης πενία σε άλλη κυτταρική σειρά, όπως αναιμία ή θρομβοπενία, χωρίς όμως να αναδειχθούν στατιστικά σημαντικές διαφορές. (Πίνακας 5, διάγραμμα 5)

Πίνακας 5

	Total (%) N=103	Αποκατάσταση N=76	Χωρίς αποκατάστασ η N=27	OR (95% CI)	p value
Φύλο (άρρεν)	56	44	12	1.7(0.7-4.0)	0.26
Ηλικία (έτη)	10.6	10.8	9.6		0.04^a
Αριθμός Λευκών (/μL)	5100	5100	5000		0.79 ^a
Ουδετερόφιλα (/μL)	1800	1790	1800		0.31 ^a
Λεμφοκύτταρα (/μL)	2670	2602	2725		0.29 ^a
Σχετική Λεμφοκυττάρωση	89	70	19	4.9(1.6-17)	0.008
Προηγούμενα Neutro>Lympho	40	33	7	2.1(0.8-5.5)	0.16
Αναιμία	5	3	2	0.5(0.1-3.0)	0.60
Θρομβοπενία	5	4	1		NS

Διάγραμμα 5



3 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη μελέτη διερεύνησης της οντότητας της λεμφοκυττάρωσης συνοδευόμενης ή όχι από λευκοπενία ή και ουδετεροπενία, υπό το πρίσμα των αιτιολογικών παραγόντων, της πορείας και της πρόγνωσης σε παιδιά και εφήβους στο νησί της Κρήτης και μια από τις ολιγάριθμες παρόμοιες μελέτες που υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία.

Η μεταπτυχιακή εργασία είχε τα εξής σημαντικά αποτελέσματα: i) Στην πλειονότητα των περιπτώσεων (83,65%) που μελετήθηκαν δεν προσδιορίστηκε αιτιολογικός παράγοντας που να σχετίζεται με την λεμφοκυττάρωση, ii) Στην πλειοψηφία τους (73,79%) υπήρξε αποκατάσταση του φυσιολογικού για την ηλικία πολυμορφοκυρηνικού τύπου των λευκών αιμοσφαιρίων και κατά μέσο όρο μετά από 16,14 μήνες, ενώ στο 41,75% των περιπτώσεων δεν επιβεβαιώθηκε η λεμφοκυττάρωση κατά την παραπομπή τους στην Κλινική Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων, iii) Από τα παθολογικά αίτια της λεμφοκυττάρωσης που αναγνωρίστηκαν, πιο συχνό ήταν ενδοκρινολογικές διαταραχές, όπως ο υποθυρεοειδισμός και η θυρεοειδίτιδα Hashimoto, στη συνέχεια ακολούθησαν οι ιογενείς λοιμώξεις από Epstein – Barr ιό (EBV), από ιό της παρωτίτιδας (Mumps) και από αδενοϊό, ακολουθεί η φαρμακευτικής αιτιολογίας λεμφοκυττάρωση και ειδικότερα η αντιεπιληπτική αγωγή με βαλπροϊκό οξύ και λεβετιρακετάμη, ενώ σπάνια είναι τα ρευματολογικά και τα αιματολογικά νοσήματα, iv) Οι παράγοντες που συσχετίστηκαν με υποκείμενη αιτιολογία φαίνεται να είναι κατά τη διάγνωση, ο χαμηλός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, ο χαμηλός απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων και τα χαμηλότερα σχετικά επίπεδα λεμφοκυττάρων, v) Οι παράγοντες που συσχετίστηκαν με θετική έκβαση με κατ' επέκταση ύφεση της λεμφοκυττάρωσης και αποκατάστασης του φυσιολογικού πολυμορφοκυρηνικού τύπου των λευκών φαίνεται να είναι η μεγαλύτερη ηλικία κατά τη διάγνωση και η σχετική λεμφοκυττάρωση.

Η λεμφοκυττάρωση στα παιδιά (ηλικίας άνω των 6 ετών) και στους εφήβους αποτελεί συχνό εύρημα σε τακτικό έλεγχο, σπάνια όμως ανευρίσκεται υποκείμενη αιτιολογία, όπως και στην

παρούσα ερευνα μόνο στο 16,35% βρέθηκε υποκείμενο αίτιο. Ως υποκείμενες αιτιολογίες που συσχετίστηκαν με την διαταραχή του τύπου των λευκών αιμοσφαιρίων αναδείχθηκαν ορμονολογικά νοσήματα, ιογενείς λοιμώξεις και χορήγηση φαρμάκων. Σπάνια ήταν τα αυτοάνοσα νοσήματα και τα αιματολογικά νοσήματα.

Ειδικότερα, στη μελέτη μας παρατηρήθηκαν 8 περιστατικά (ποσοστό 7,77%) με ενδοκρινικές διαταραχές, που στο σύνολό τους η αιτία ήταν ο υποθυρεοειδισμός εκ των οποίων τα 5 (ποσοστό 4,85%) είχαν αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα Hashimoto. Η θυρεοειδίτιδα Hashimoto είναι μια από τις πιο συχνές αιτίες υποθυρεοειδισμού σε παιδιά και εφήβους και η πιο συχνή αιτία επίκτητου υποθυρεοειδισμού σε περιοχές μη ενδημικές για ανεπάρκεια ιωδίου. Μελέτες της παθοφυσιολογίας της νόσου έχουν δείξει αυξημένη ενεργοποίηση T-λεμφοκυττάρων και έχουν συσχετίσει τη θυρεοειδίτιδα Hashimoto με συγκεκριμένους HLA, DR3, DR4 και DR5 υποτύπους ενώ ιστοπαθολογοανατομικά η νόσος χαρακτηρίζεται από την λεμφοπλασματοκυτταρική “lymphoplasmacytic” φλεγμονή του θυρεοειδούς αδένος [59]. Παράμετροι της γενικής αίματος όπως ο αριθμός των λεμφοκυττάρων έχουν μελετηθεί σε ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto και έχει παρατηρηθεί αύξηση του λόγου των ουδετεροφίλων προς τα λεμφοκύτταρα, η οποία οφείλεται στην υποκείμενη φλεγμονώδη διεργασία [60]. Βέβαια, σε μελέτη 218 ασθενών με ουδετεροπενία στο 43% διαπιστώθηκε θυρεοειδοπάθεια (Hashimoto και υποθυρεοειδισμός) με απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων 1610 (1000-3000) και απόλυτο αριθμό ουδετερόφιλων 1700 (160 – 2000), που επηρεάζει το λόγο ουδετερόφιλων προς λεμφοκύτταρα (neutrophil to lymphocyte ratio) [61]. Επιπλέον, σε άτομα με αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα Hashimoto παρατηρούνται κυκλοφορούντα ανοσοσυμπλέγματα που προκαλούν καταστροφή των ουδετερόφιλων. Τα αποτελέσματα της εργασίας μας συνάδουν με αυτά προηγούμενων εργασιών που συσχετίζουν την θυρεοειδίτιδα Hashimoto με μείωση της τιμής των ουδετερόφιλων (4 περιστατικά από τα 8 με υποθυρεοειδισμό είχαν ουδετεροπενία στη μελέτη μας) και κατ’ επέκταση επικράτηση των λεμφοκυττάρων στη γενική αίματος. Όμως, στη μελέτη των Bilge M και συνεργατών του 2019, συγκρίθηκαν 145 ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto με υγιείς μάρτυρες και διαπιστώθηκε χαμηλότερος αριθμός λεμφοκυττάρων και αυξημένος λόγος πολυμορφοπυρήνων/λεμφοκυττάρων (NLR) σε σχέση

με τους υγιείς μάρτυρες ($p < 0.001$) [62]. Όμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε άλλες μελέτες [60, 63, 64] και υποστηρίζεται ότι οι διαφορές που παρατηρούνται στις τιμές των λευκοκυττάρων σε ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto οφείλονται στον υποκείμενο αυτοφλεγμονώδη μηχανισμό της νόσου, όπως έχει περιγραφεί και σε άλλα αυτόνοσα νοσήματα όπως ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1 και σε καταστάσεις χρόνιας φλεγμονής όπως η παχυσαρκία και η υπέρταση [65 -67]. Ο δείκτης NLR έχει επίσης συσχετισθεί με το μέγεθος του θυρεοειδούς αδένου σε ασθενείς με όγκους θυρεοειδούς [68 - 69]. Σε πρόσφατες μελέτες επίσης προτείνεται και η χρήση του λόγου NLR για την παρακολούθηση της ενεργότητας της νόσου σε ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto [60; 70].

Η λεμφοκυττάρωση στα παιδιά συχνά οφείλεται σε λοιμώδη αίτια. Το 1941, ο Smith περιέγραψε για πρώτη φορά τον όρο λοιμώδη λεμφοκυττάρωση για να περιγράψει την παρουσία πολλών μικρών λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα ασθενών με λεμφοκυττάρωση, λεμφοκυττάρωση, πυρετό, εξάνθημα, και συμπτώματα από το αναπνευστικό. Η λεμφοκυττάρωση με λεμφοκυττάρωση είναι χαρακτηριστικό εύρημα λοιμωδών νοσημάτων όπως ο κοκκύτης ενώ έχει περιγραφεί μεμονωμένα σε ιογενείς λοιμώξεις όπως η ανεμοβλογιά, η ερυθρά, ιλαρά, οι λοιμώξεις από εντεροϊούς, ιούς Coxsackie και αδενοϊούς.

Στη μελέτη μας, οι ιοί Epstein Barr (EBV), ο αδενοϊός και ο ιός της παρωτίτιδας αποτέλεσαν τα συχνότερα λοιμώδη αίτια λεμφοκυττάρωσης. Ιδίως η λοίμωξη από ιό Epstein-Barr (EBV) προκαλεί την αποκαλούμενη «λοιμώδη μονοπυρήνωση», η οποία συσχετίζεται άμεσα με αξιοσημείωτη λεμφοκυττάρωση με παρουσία ανοσολογικά διεγερμένων λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα, που αρκετές φορές χαρακτηρίζονται ως «άτυπα» στην μελέτη του επιχρίσματος. Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός με τον οποίο ο EBV προκαλεί λεμφοκυττάρωση σχετίζεται με την εισβολή του ιού στα Β λεμφοκύτταρα μέσω των CD21 υποδοχέων τους και την αύξηση του αριθμού των κυκλοφορούντων διεγερμένων Τ και Β λεμφοκυττάρων. Τα ανοσολογικά διεγερμένα λεμφοκύτταρα εμφανίζουν την μεγαλύτερη αύξηση τους κατά τη δεύτερη και τρίτη εβδομάδα νόσου από EBV και έχουν την τάση να παραμένουν έως και 2 μήνες μετά την αποδρομή της κλινικής και ορολογικής πορείας της λοίμωξης με ιό Epstein - Barr. Έχει βρεθεί ότι η φορεία του ιού παραμένει στη στοματική

κοιλότητα για 174 ημέρες και η παρουσία DNA του ιού εντοπίζεται στο αίμα με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) για έως και 90 ημέρες σε νεαρούς ενήλικες. Αν και ο ιός Epstein – Barr μολύνει Β–Λεμφοκύτταρα έχει διαπιστωθεί ότι η λεμφοκυττάρωση στο αίμα οφείλεται σε αύξηση των Τ –λεμφοκυττάρων και πιο συγκεκριμένα του υποτύπου CD8 (+). [71]

Αναφορικά με τους αδενοϊούς, έχουν περιγραφεί πάνω από 60 ορότυποι στον άνθρωπο και είναι υπεύθυνοι για το 5-10% των λοιμώξεων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος στα παιδιά. Ανήκουν στους αιτιολογικούς παράγοντες του συνδρόμου της λοιμώδους μονοπυρήνωσης μαζί με τον κυτταρομεγαλοϊό, τους ερπητοϊούς, τους ιούς της ηπατίτιδας Α, Β, C και τον ιό της ερυθράς και προκαλούν λοιμώξεις του ανώτερου, κατώτερου αναπνευστικού, γαστρεντερικού, ουροποιητικού συστήματος ενώ μπορεί να προκαλέσει φλεγμονή βλεννογόνων όπως ο επιπεφυκότας. Πολλαπλασιάζονται τοπικά στους ιστούς και τα Τ-κυτταροτοξικά κύτταρα είναι υπεύθυνα για την καταστροφή τους. Στη βιβλιογραφία, δεν ανιχνεύθηκαν μεγάλες σειρές ασθενών με λεμφοκυττάρωση οφειλόμενη σε αδενοϊό ωστόσο έχει περιγραφεί περιπτώσεις αιμοφαγοκυτταρικής λεμφοϊστικοκυττάρωσης στα πλαίσια λοίμωξης από τον ιό αυτό [72].

Ο ιός της παρωτίτιδας εισέρχεται από το αναπνευστικό σύστημα με σταγονίδια και με άμεση επαφή με εκκρίσεις πασχόντων ατόμων και στη συνέχεια πολλαπλασιάζεται στον ρινοφάρυγγα και τους επιχώριους λεμφαδένες. Στην κλασικής της εκδήλωση, η νόσος χαρακτηρίζεται από ετερόπλευρη ή αμφοτερόπλευρη ευαίσθητη, αυτοπεριοριζόμενη διόγκωση της παρωτίδας ή άλλου σιαλογόνου αδένου. Ο καθολικός εμβολιασμός αποτελεί τον καλύτερο τρόπο πρόληψης της νόσου και επιτυγχάνεται με το εμβόλιο έναντι ιλαράς-ερυθράς- παρωτίτιδας. Η νόσος δεν έχει εξαλειφθεί εφόσον σύμφωνα με μαθηματικά μοντέλα απαιτείται ποσοστό εμβολιαστικής κάλυψης 85%-90% για να επιτευχθεί συλλογική ανοσία και εξάλειψη της μετάδοσης του ιού. Η συσχέτιση του με αιματολογικά νοσήματα δεν είναι καινούργια, εφόσον έχει περιγραφεί εκτός από αίτιο λοιμώδους λεμφοκυττάρωσης και ως αίτιο λευχαιμοειδούς αντίδρασης [73].

Στη μελέτη μας παρατηρήσαμε ότι η λεμφοκυττάρωση σχετίζεται με χρόνια φαρμακευτική αγωγή και στο σύνολο της ήταν αντιεπιληπτική αγωγή που λάμβαναν τα παιδιά με ιστορικό

σπασμών και επιληψίας, όπως το βαλπροϊκό οξύ και η λεβετιρακετάμη. Στη βιβλιογραφία πολλά αντιεπιληπτικά φάρμακα έχουν σχετισθεί με αιματολογικές δυσκρασίες που περιλαμβάνουν φάσμα εκδηλώσεων από ήπια θρομβοπενία, ουδετεροπενία και αναιμία έως σπάνια πλήρη καταστολή του μυελού. Οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί δεν έχουν διευκρινισθεί πλήρως και φαίνεται να είναι συνδυασμός φαρμακοκινητικών, φαρμακοδυναμικών αλληλεπιδράσεων των φαρμάκων με το μυελό των οστών και ανοσολογικών μηχανισμών [74]. Το βαλπροϊκό οξύ, ένα από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα αντισπασμωδικά φάρμακα σε παιδιά και εφήβους, έχει σχετισθεί με δόσοεξαρτώμενη θρομβοπενία, διαταραχές της λειτουργίας των αιμοπεταλίων και λευκοπενία [75 -77]. Μελέτες έχουν δείξει, ότι οι ανεπιθύμητες αυτές δράσεις του βαλπροϊκού οφείλονται σε διαταραχή στη διαφοροποίηση των προγονικών κυττάρων της κοκκιώδους σειράς. [78 - 79]

Η λεβετιρακετάμη έχει συσχετισθεί με ουδετεροπενία, λευκοπενία, αναιμία και πανκυτταροπενία [80 -81]. Προηγούμενες μελέτες στην Ελλάδα έδειξαν σημαντική μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων σε παιδιά που λάμβαναν μονοθεραπεία με λεβετιρακετάμη για 6 και 12 μήνες με συνοδό αύξηση της τιμής των ουδετεροφίλων [81 - 82]. Ο μηχανισμός με τον οποίο η λεβετιρακετάμη επιδρά στον αριθμό των λεμφοκυττάρων δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Μελέτες έχουν δείξει ότι η λεβετιρακετάμη σχετίζεται με μείωση του αριθμού των CD8+T λεμφοκυττάρων [83] ενώ μελέτες σε ενήλικες έχουν δείξει ότι η πρωτεΐνη σύνδεσης της λεβετιρακετάμης στον εγκέφαλο (SV2A) υπάρχει και στα CD8+T λεμφοκύτταρα στα οποία φαίνεται ότι προκαλεί καθυστερημένη αποκοκκίωση προκαλώντας ενδεχομένως διαταραχές της ανοσίας έναντι ιών. Συνολικά διαφαίνεται ότι τόσο η δράση του βαλπροϊκού οξέος όσο και της λεβετιρακετάμης προκαλεί κυτταροπενίες στη γενική αίματος και ειδικότερα ενοχοποιούνται για ουδετεροπενία, η οποία με τη σειρά της δύναται να προκαλέσει μεταβολή του λόγου ουδετεροφίλων προς λεμφοκύτταρα (Neutrophil to lymphocyte ratio) με εμφάνιση σχετικής λεμφοκυττάρωσης.

Στις πιο σπάνιες αιτίες που διαπιστώθηκαν στην παρούσα εργασία της λεμφοκυττάρωσης σε παιδιατρικό πληθυσμό είναι η αυτοανοσία και τα πιθανά αυτοάνοσα νοσήματα, που μπορεί να

μην έχουν εξελίξει πλήρως τη φαρέτρα των συμπτωμάτων και σημείων, αλλά στο μέλλον δύναται να εξελιχθούν και να τεθεί οριστική διάγνωση. Στο περιστατικό που παραπέμφθηκε για περαιτέρω ρευματολογικό έλεγχο για διερεύνηση υποκείμενου αυτοάνοσου νοσήματος, η γενική αίματος διάγνωσης έδειξε λευκοπενία και ουδετεροπενία με συνοδό λεμφοκυττάρωση. Πλειάδα αυτοάνοσων νοσημάτων έχουν αιματολογικές εκδηλώσεις, όπως ο Συστηματικός Ερυθματώδης Λύκος (ΣΕΛ), το σύνδρομο Sjögren και η νεανική συστηματική ιδιοπαθής αρθρίτιδα. Η διεθνής βιβλιογραφία αναφέρει ότι σε αυτοάνοσα νοσήματα συχνά ανευρίσκεται λευκοπενία με συνοδό ουδετεροπενία. Αυτή η μείωση στις αιματολογικές σειρές προκαλείται μέσω παραγωγής αυτό-αντισωμάτων έναντι της (anti – TPO) και κατά των ουδετερόφιλων – αντι – πολυμορφοπυρηνικά αντισώματα (anti – PMN). Τα αντι – πολυμορφοπυρηνικά αντισώματα θετικοποιούνται και ιδίως δοκιμασία συσσώρευσης κοκκιοκυττάρων (granulocyte aggregation test GAT) και η δοκιμασία ανοσοφθορισμού των κοκκιοκυττάρων (granulocyte immunofluorescence test GIFT) αλλά δεν ανιχνεύονται ειδικά αντισώματα από την μελέτη κινητοποίησης μονοκλωνικών αντισωμάτων από αντιγόνα των πολυμορφοπύρηνων (Monoclonal Antibody Mobilization of Granulocyte Antigens assay MAIGA). [34]

Σημειώνεται ότι η παρούσα μελέτη είχε ως στόχο τη διερεύνηση των περιπτώσεων λεμφοκυττάρωσης σε τακτικές παραπομπές σε τριτοβάθμιο κέντρο Παιδιατρικής Αιματολογίας – Ογκολογίας και το δείγμα περιελάβανε παιδιά και εφήβους σε καλή γενική κατάσταση χωρίς να συμπεριληφθούν στη μελέτη περιστατικά με οξεία εκδήλωση κυτταροπενιών ή θορυβώδη κλινική εικόνα που παραπέμπονται σε επείγουσα βάση με υποψία οξείας λευχαιμίας. Από τα αιματολογικά νοσήματα που συσχετίστηκαν με την λεμφοκυττάρωση σε ένα περιστατικό ήταν το μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (0,97%), το οποίο κατά τη διάγνωση του είχε λευκοπενία με ουδετεροπενία και συνοδό λεμφοκυττάρωση. Τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα αποτελούν μια ετερογενή ομάδα κλωνικών νοσημάτων του αιμοποιητικού συστήματος που χαρακτηρίζονται από πένιες σε μία ή περισσότερες αιματολογικές σειρές, όπως λευκοπενία, ουδετεροπενία, αναιμία και θρομβοπενία με διαταραχή ωρίμανσης των κυτταρικών σειρών στον μυελό των οστών. Η ετήσια επίπτωση τους είναι 1 έως 4 ανά 1.000.000 και αντιπροσωπεύουν λιγότερο από το 5% των παιδιατρικών

αιματολογικών νεοπλασιών. Τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα μπορεί να εμφανιστούν ως κληρονομούμενα σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας. Η συχνότερη μορφή στα παιδιά είναι η ανθεκτική κυτταροπενία των παιδιών.. Επίσης στην μελέτη του μυελού των οστών με μυελόγραμμα, ανοσοφαινότυπο με κυτταρομετρία ροής και καρυοτυπικής ανάλυσης, μπορεί να ανιχνεύεται βλαστικός πληθυσμός και διαταραχή της ωρίμανσής του. [84]

Η πορεία και η πρόγνωση των περιστατικών λεμφοκυττάρωσης σε παιδιά και εφήβους ανευρέθηκε να είναι καλή με την πλειονότητα (73,79%) να αποκαθιστά τον φυσιολογικό για την ηλικία των παιδιών πολυμορφοπυρηνικό τύπο των λευκών αιμοσφαιρίων. Το χρονικό διάστημα που απαιτήθηκε από τη πρώτη γενική αίματος διάγνωσης υπολογίστηκε κατά μέσο όρο ~~μετά από~~ σε 16,14 μήνες. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι κατά την παραπομπή τους στην Κλινικής Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων στο 41,75% των περιστατικών δεν επιβεβαιώθηκε ο λεμφοκυτταρικός τύπος.

Οι παράγοντες που συσχετίστηκαν με ανεύρεσης πιθανής υποκείμενης αιτιολογίας μέσα από τη στατιστική ανάλυση, βρέθηκαν να είναι κατά τη διάγνωση ο χαμηλός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, ο χαμηλός απόλυτος αριθμός ουδετερόφιλων και τα ~~μειωμένα~~ χαμηλότερα επίπεδα λεμφοκυττάρων. Να σημειωθεί ότι αυτό δεν σημαίνει απαραίτητα παθολογικά χαμηλά επίπεδα των προαναφερθέντων σειρών, δύναται να είναι και στα κατώτερα φυσιολογικά όρια. Εύρημα που συμβαδίζει με τη βιβλιογραφία, εφόσον όπως αναλύθηκε παραπάνω οι παθολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με τη λεμφοκυττάρωση σε παιδιά και εφήβους, εκδηλώνονται με διαταραχές και στις υπόλοιπες σειρές όπως τα λευκά αιμοσφαίρια και τα ουδετερόφιλα.

Οι παράγοντες που συσχετίστηκαν με αποκατάσταση της λεμφοκυττάρωσης είναι η ηλικία και η σχετική λεμφοκυττάρωση. Ειδικότερα, η διάμεση ηλικία 10,8 έτη συσχετίστηκε με αποκατάσταση, ενώ παιδιά με μικρότερη ηλικία 9,6 έτη με παραμονή λεμφοκυτταρικού τύπου. Μπορεί να ερμηνευτεί ότι στα μικρότερα σε ηλικία παιδιά πρέπει να παρέλθει ένα ~~και~~ χρονικό διάστημα ακόμα μέχρι την αποκατάσταση του φυσιολογικού πολυμορφοπυρηνικού τύπου του ενήλικα. Όπως στην παρούσα μελέτη χρειάστηκε κατά μέσο όρο 16,14 μήνες,

χρόνος που δεν είχε παρέλθει ακόμα για κάποια παιδιά στα πλαίσια της παρακολούθησής τους. Επίσης, στα παιδιά με απόλυτη λεμφοκυττάρωση φάνηκε να παραμένει ο λεμφοκυτταρικός τύπος, ενώ οι περιπτώσεις με σχετική λεμφοκυττάρωση σχετίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό με αποκατάσταση του πολυμορφοκυτταρικού τύπου.

4.1 Περιοριστικοί παράγοντες

Η μελέτη μας αποτελεί την πρώτη, λεπτομερή καταγραφή των επιδημιολογικών, εργαστηριακών χαρακτηριστικών και της έκβασης των παιδιών και εφήβων με λεμφοκυττάρωση στο νησί της Κρήτης σε χρονικό διάστημα 5ετίας. Τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη ήταν η καλή γενική κατάσταση του παιδιού, η τακτική παραπομπή του και όχι η οξεία έναρξη με κυτταροπενίες και άλλες εκδηλώσεις που παραπέμπουν σε λεμφοϋπερπλαστικά και μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα. Η μελέτη ανήκει στην κατηγορία των αναδρομικών μελετών και ως εκ τούτου συνοδεύεται από τους περιορισμούς των αναδρομικών μελετών αυτού του είδους. Οι πληροφορίες που αναλύθηκαν προκύπτουν από καταγραφές που συγκεντρώθηκαν από αρχεία ασθενών ενώ οι μελετητές δεν είχαν δυνατότητα παρέμβασης ή μελέτης επιπρόσθετων στοιχείων πέραν αυτών που είχαν ήδη καταγραφεί. Επίσης, δεν μπορεί να αποκλεισθεί η πιθανότητα selection bias, εφόσον τα περιστατικά που μελετήθηκαν είχαν παραπεμφθεί σε τριτοβάθμιο κέντρο και ενδεχομένως αποτελούσαν βαρύτερες ή ασυνήθεις περιπτώσεις. Ακόμα και σε αυτή την περίπτωση όμως, το γεγονός ότι υποκείμενη παθολογική αιτία ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 16,35% ενισχύει τα συμπεράσματά μας σχετικά με την σπανιότητα ανίχνευσης υποκείμενου νοσήματος σε παιδιά με λεμφοκυττάρωση και την καλοήγη συνήθως πρόγνωση τους.

4.2 Μελλοντικές προοπτικές

Προκειμένου να μειωθούν οι περιοριστικοί παράγοντες, στο μέλλον, θα είχε ενδιαφέρον να εξετασθούν παιδιά και έφηβοι με λεμφοκυττάρωση σε μεγάλες, καλά σχεδιασμένες, πολυκεντρικές, εθνικές ή διεθνείς προοπτικές μελέτες όπου θα καταγράφονται αναλυτικά τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα σε σύγκριση με ζεύγη υγιών μαρτύρων προκειμένου να

ανιχνευθούν δείκτες εκτίμησης κινδύνου υποκείμενης παθολογίας και προγνωστικοί δείκτες έκβασης. Κατ' επέκταση, τα αποτελέσματα των μελετών αυτών μπορούν στο μέλλον να οδηγήσουν στη δημιουργία ηλεκτρονικών βάσεων ή υπολογιστικών εφαρμογών (calculator-applications), όπως αυτών που ήδη χρησιμοποιούνται σε άλλα νοσήματα, μέσω των οποίων ο κλινικός ιατρός θα δύναται εισάγοντας τα χαρακτηριστικά του υπό εξέταση ασθενή να υπολογίσει τον εκτιμώμενο κίνδυνο για δυσμενή ή μη δυσμενή έκβαση. Με αυτόν τον τρόπο θα μπορούσε να γίνει εφικτή και η κατηγοριοποίηση βάση κινδύνου για αποκατάσταση ή μη.

5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα ευρήματα αυτής της εργασίας σε συνδυασμό με τα διεθνή βιβλιογραφικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι η λεμφοκυττάρωση σε υγιή παιδιά συχνά έχει αυτοπεριοριζόμενη πορεία και καλή έκβαση. Σπάνια αναγνωρίζεται υποκείμενη αιτιολογία, όπως ενδοκρινικά, ιογενή αίτια και τα φάρμακα και ακόμα σπανιότερα αυτοάνοσα ή αιματολογικά νοσήματα. Προγνωστικοί παράγοντες υποκείμενης παθολογίας στη διάγνωση, αποτελούν ο χαμηλός αριθμός λευκών και ουδετερόφιλων, ενώ προγνωστικοί παράγοντες για την αποκατάσταση του φυσιολογικού για την ηλικία τύπου των λευκών είναι η μεγαλύτερη ηλικία και η σχετική λεμφοκυττάρωση.

Όπως προκύπτει από την παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, η περαιτέρω διερεύνηση της λεμφοκυττάρωσης στα παιδιά αποτελεί συχνό προβληματισμό των παιδιάτρων, αλλά στην πλειονότητα των περιπτώσεων δεν συσχετίζεται με υποκείμενο νόσημα. Τα σημεία κλειδιά για την παραπομπή παιδιών και εφήβων σε τριτοβάθμια δομή Αιματολογίας – Ογκολογίας Παίδων είναι η γενική αίματος στη διάγνωση και η συνύπαρξη διαταραχών σε άλλη κυτταρική σειρά, όπως χαμηλά επίπεδα λευκών αιμοσφαιρίων και ουδετερόφιλων. Επιπλέον καθοριστικό παράγοντα αποτελεί η ηλικία, με τα παιδιά κάτω των 10 ετών να καθυστερούν περισσότερο να αποκαταστήσουν τον φυσιολογικό τύπο οπότε χρειάζεται μεγαλύτερο διάστημα παρακολούθησης. Η λήψη ενός σωστού ιστορικού και η εκτίμηση της επίδρασης χρόνιας αγωγής όπως τα αντιεπιληπτικά, συντελεί στην διαγνωστική προσπέλαση, όπως και η κλινική εξέταση ανά συστήματα, για τον αποκλεισμό λοιμογόνου παράγοντα. Σαφώς είναι απαραίτητη η μελέτη του επιχρίσματος περιφερικού αίματος, αλλά και ο έλεγχος θυρεοειδικής λειτουργίας, ως μία από τις πιο συχνές παθολογικές αιτίες λεμφοκυττάρωσης.

Η λεμφοκυττάρωση είναι ένα συχνό πρόβλημα χωρίς να υπάρχει μεγάλο εύρος μελετών στην διεθνή βιβλιογραφία. Για την περαιτέρω διερεύνηση και αποσαφήνιση των αιτιών, της πορείας και της πρόγνωσης της λεμφοκυττάρωσης σε παιδιά και εφήβους κρίνεται σκόπιμο να υπάρξουν περισσότερες και μεγαλύτερες μελέτες, καλά σχεδιασμένες, πολυκεντρικές, εθνικές ή διεθνείς προοπτικές όπου θα καταγράφονται αναλυτικά τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα.

3. ΧΡΗΜΟΤΟΔΟΤΗΣΕΙΣ - ΕΓΚΡΙΣΕΙΣ

Για την υλοποίηση της εργασίας δεν χρειάστηκε χρηματοδότηση.

Η παρούσα μελέτη έχει λάβει έγκριση από το Διοικητικό Συμβούλιο του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ηρακλείου (αριθμός απόφασης: 991/02-12-2020), από το Επιστημονικό Συμβούλιο και από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας (αριθμός απόφασης: 15797/18-11-2020).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Nalls MA, Wilson JG, Patterson NJ, et al. Admixture mapping of white cell count: genetic locus responsible for lower white blood cell count in the Health ABC and Jackson Heart studies. *Am J Hum Genet* 2008; 82:81.
2. Segel GB, Halterman JS. Neutropenia in pediatric practice. *Pediatr Rev* 2008; 29:12.
3. Fish, J. D., Lipton, J. M., & Lanzkowsky, P. (2016). *Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology* (6th ed.). Academic Press.
4. Γερμενής, Α. (2000). *Ιατρική Ανοσολογία*. Εκδόσεις Παπαζήση.
5. Ηλιόπουλος, Γ. (1999). *Φυσιολογία και φυσιολογία του αίματος και των αιμοποιητικών οργάνων*. Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης.
6. Κανακούδη, Φ. (2017). *Βασική Παιδιατρική*. University Studio Press.
7. Shoenfeld Y, Alkan ML, Asaly A, et al. Benign familial leukopenia and neutropenia in different ethnic groups. *Eur J Haematol* 1988; 41:273.
8. Shoenfeld Y, Ben-Tal O, Berliner S, Pinkhas J. The outcome of bacterial infection in subjects with benign familial leukopenia (BFL). *Biomed Pharmacother* 1985; 39:23.
9. Hsieh MM, Everhart JE, Byrd-Holt DD, et al. Prevalence of neutropenia in the U.S. population: age, sex, smoking status, and ethnic differences. *Ann Intern Med* 2007; 146:486.
10. Grann VR, Ziv E, Joseph CK, et al. Duffy (Fy), DARC, and neutropenia among women from the United States, Europe and the Caribbean. *Br J Haematol* 2008; 143:288.
11. Kulkarni H, Marconi VC, He W, et al. The Duffy-null state is associated with a survival advantage in leukopenic HIV-infected persons of African ancestry. *Blood* 2009; 114:2783.
12. Jabbour N, DiGiuseppe JA, Usmani S, Tannenbaum S. Copper deficiency as a cause of reversible anemia and neutropenia. *Conn Med* 2010; 74:261.
13. Maheshwari A, Christensen RD, Calhoun DA. Immune neutropenia in the neonate. *Adv Pediatr* 2002; 49:317.

14. STEFANINI M, MELE RH, SKINNER D. Transitory congenital neutropenia: a new syndrome. *Am J Med* 1958; 25:749.
15. Ishizone S, Makuuchi M, Kawasaki S, et al. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on neutropenia in liver transplant recipients with hypersplenism. *J Pediatr Surg* 1994; 29:510.
16. Tigue CC, McKoy JM, Evens AM, et al. Granulocyte-colony stimulating factor administration to healthy individuals and persons with chronic neutropenia or cancer: an overview of safety considerations from the Research on Adverse Drug Events and Reports project. *Bone Marrow Transplant* 2007; 40:185.
17. Elting LS, Rubenstein EB, Rolston KV, Bodey GP. Outcomes of bacteremia in patients with cancer and neutropenia: observations from two decades of epidemiological and clinical trials. *Clin Infect Dis* 1997; 25:247.
18. Lucas KG, Brown AE, Armstrong D, et al. The identification of febrile, neutropenic children with neoplastic disease at low risk for bacteremia and complications of sepsis. *Cancer* 1996; 77:791.
19. Jacobson MA, Liu RC, Davies D, Cohen PT. Human immunodeficiency virus disease-related neutropenia and the risk of hospitalization for bacterial infection. *Arch Intern Med* 1997; 157:1825.
20. Moore RD, Keruly JC, Chaisson RE. Neutropenia and bacterial infection in acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med* 1995; 155:1965.
21. Lalezari P, Khorshidi M, Petrosova M. Autoimmune neutropenia of infancy. *J Pediatr* 1986; 109:764.
22. Logue GL, Shimm DS. Autoimmune granulocytopenia. *Annu Rev Med* 1980; 31:191.
23. Alario AJ, O'Shea JS. Risk of infectious complications in well-appearing children with transient neutropenia. *Am J Dis Child* 1989; 143:973.
24. Single protective isolation in patients with granulocytopenia. *N Engl J Med* 1981; 304:1493.

25. Freifeld AG, Bow EJ, Sepkowitz KA, et al. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis* 2011; 52:e56.
26. Dale DC, Bonilla MA, Davis MW, et al. A randomized controlled phase III trial of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (filgrastim) for treatment of severe chronic neutropenia. *Blood* 1993; 81:2496.
27. Bonilla MA, Dale D, Zeidler C, et al. Long-term safety of treatment with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (r-metHuG-CSF) in patients with severe congenital neutropenias. *Br J Haematol* 1994; 88:723.
28. Hammond WP 4th, Price TH, Souza LM, Dale DC. Treatment of cyclic neutropenia with granulocyte colony-stimulating factor. *N Engl J Med* 1989; 320:1306.
29. Wright DG, Kenney RF, Oette DH, et al. Contrasting effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (CSF) and granulocyte CSF treatment on the cycling of blood elements in childhood-onset cyclic neutropenia. *Blood* 1994; 84:1257.
30. Manfredi R, Mastroianni A, Coronado O, Chiodo F. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (rHuGM-CSF) in leukopenic patients with advanced HIV disease. *J Chemother* 1996; 8:214.
31. Lehrnbecher T, Welte K. Haematopoietic growth factors in children with neutropenia. *Br J Haematol* 2002; 116:28.
32. Donadieu J, Fenneteau O, Beaupain B, et al. Congenital neutropenia: diagnosis, molecular bases and patient management. *Orphanet J Rare Dis* 2011; 6:26.
33. Rosenberg PS, Alter BP, Link DC, et al. Neutrophil elastase mutations and risk of leukaemia in severe congenital neutropenia. *Br J Haematol* 2008; 140:210.
34. Palmblad, J., Nilsson, C. C., Höglund, P., & Papadaki, H. A. (2016). How we diagnose and treat neutropenia in adults. *Expert Review of Hematology*, 9(5), 479–487. <https://doi.org/10.1586/17474086.2016.1142867>

35. Riera, n. E., Rosso saltó, m., Galán, v., Canalejo, k., Khoury, m., Aixalá, m., Kantor, g. L., Vermeulen, m., Bengiό, r., & de bracco, m. M. E. (2010). Anti-polymorphonuclear neutrophil antibodies in patients with leukopenia or neutropenia. *International Journal of Laboratory Hematology*, 32(1p1), e96–e105. <https://doi.org/10.1111/j.1751-553x.2009.01173.x>
36. Savaşan, S., Al-Qanber, B., Buck, S., Wakeling, E., & Gadgeel, M. (2020). Clonal T-cell large granular lymphocyte proliferations in childhood and young adult immune dysregulation conditions. *Pediatric Blood & Cancer*, 67(5). <https://doi.org/10.1002/pbc.28231>
37. Sidorova, Y., Sychevskaya, K., Chernova, N., Smirnova, S., Ryzhikova, N., Gorodetskiy, V., Naumova, E., Julhakyán, H., Zvonkov, E., & Sudarikov, A. (2018). High Incidence of Clonal CD8+ T-Cell Proliferation in Non-Malignant Conditions May Hamper the Value of T-Cell Clonality Assay for Differential Diagnosis in Oncohematology. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 18, S299–S300. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2018.07.252>
38. Milioglou, I., Kalaitzidou, I., & Ladomenou, F. (2018). Interpretation of lymphocyte subset counts by the general pediatrician. *Pediatrics International*. Published. <https://doi.org/10.1111/ped.13701>
39. Carney D. Peripheral blood lymphocytosis--what is the threshold for further investigation? *Leuk Lymphoma* 2008; 49:1659.
40. Andrews JM, Cruser DL, Myers JB, et al. Using peripheral smear review, age and absolute lymphocyte count as predictors of abnormal peripheral blood lymphocytoses diagnosed by flow cytometry. *Leuk Lymphoma* 2008; 49:1731.
41. Kanegane H, Yachie A, Miyawaki T, Tosato G. EBV-NK cells interactions and lymphoproliferative disorders. *Leuk Lymphoma* 1998; 29:491.
42. Vetsika EK, Callan M. Infectious mononucleosis and Epstein-Barr virus. *Expert Rev Mol Med* 2004; 6:1.

43. Balfour HH Jr, Odumade OA, Schmeling DO, et al. Behavioral, virologic, and immunologic factors associated with acquisition and severity of primary Epstein-Barr virus infection in university students. *J Infect Dis* 2013; 207:80.
44. Levene I, Wacogne I. Question 3. Is measurement of the lymphocyte count useful in the investigation of suspected pertussis in infants? *Arch Dis Child* 2011; 96:1203.
45. Margileth AM. Cat scratch disease. In: Nelson Textbook of Pediatrics, 15th ed, Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM (Eds), WB Saunders, Philadelphia 1996.
46. Saadatian G, Golkar M. A review on human toxoplasmosis. *Scand J Infect Dis* 2012; 44:805.
47. Rosenbaum GS, Johnson DH, Cunha BA. Atypical lymphocytosis in babesiosis. *Clin Infect Dis* 1995; 20:203.
48. Mosqueda J, Olvera-Ramirez A, Aguilar-Tipacamu G, Canto GJ. Current advances in detection and treatment of babesiosis. *Curr Med Chem* 2012; 19:1504.
49. Pavlos R, Mallal S, Phillips E. HLA and pharmacogenetics of drug hypersensitivity. *Pharmacogenomics* 2012; 13:1285.
50. Kano Y, Shiohara T. The variable clinical picture of drug-induced hypersensitivity syndrome/drug rash with eosinophilia and systemic symptoms in relation to the eliciting drug. *Immunol Allergy Clin North Am* 2009; 29:481.
51. Teggatz JR, Parkin J, Peterson L. Transient atypical lymphocytosis in patients with emergency medical conditions. *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111:712.
52. Kho AN, Hui S, Kesterson JG, McDonald CJ. Which observations from the complete blood cell count predict mortality for hospitalized patients? *J Hosp Med* 2007; 2:5.
53. Snow AL, Xiao W, Stinson JR, et al. Congenital B cell lymphocytosis explained by novel germline CARD11 mutations. *J Exp Med* 2012; 209:2247.
54. Kaito K, Otsubo H, Ogasawara Y, et al. Severe aplastic anemia associated with chronic natural killer cell lymphocytosis. *Int J Hematol* 2000; 72:463.
55. Bockorny B, Dasanu CA. Autoimmune manifestations in large granular lymphocyte leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2012; 12:400.

56. Pontikoglou C, Kalpadakis C, Papadaki HA. Pathophysiologic mechanisms and management of neutropenia associated with large granular lymphocytic leukemia. *Expert Rev Hematol* 2011; 4:317.
57. Liu X, Loughran TP Jr. The spectrum of large granular lymphocyte leukemia and Felty's syndrome. *Curr Opin Hematol* 2011; 18:254.
58. Barilà, G., Calabretto, G., Teramo, A., Vicenzetto, C., Gasparini, V. R., Semenzato, G., & Zambello, R. (2019). T cell large granular lymphocyte leukemia and chronic NK lymphocytosis. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 32(3), 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2019.06.006>
59. Tunbridge, W. M., Brewis, M., French, J. M., Appleton, D., Bird, T., Clark, F., Evered, D. C., Evans, J. G., Hall, R., Smith, P., Stephenson, J., & Young, E. (1981). Natural history of autoimmune thyroiditis. *British medical journal (Clinical research ed.)*, 282(6260), 258–262. <https://doi.org/10.1136/bmj.282.6260.258>
60. Aktas, G., Sit, M., Dikbas, O., Erkol, H., Altinordu, R., Erkus, E., & Savli, H. (2017). Elevated neutrophil-to-lymphocyte ratio in the diagnosis of Hashimoto's thyroiditis. *Revista da Associacao Medica Brasileira* (1992), 63(12), 1065–1068. <https://doi.org/10.1590/1806-9282.63.12.1065>
61. Kyritsi, E., Yiakoumis, X., Pangalis, G. A., Pontikoglou, C., Pyrovolaki, K., Kalpadakis, C., Mavroudi, I., Koutala, H., Mastrodemou, S., Vassilakopoulos, T. P., Vaiopoulos, G., Diamanti-Kandarakis, E., Papadaki, H. A., & Angelopoulou, M. K. (2015). High Frequency of Thyroid Disorders in Patients Presenting With Neutropenia to an Outpatient Hematology Clinic STROBE-Compliant Article. *Medicine*, 94(23), e886. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000000886>
62. Bilge, M., Yesilova, A., Adas, M., & Helvacı, A. (2019). Neutrophil- and Platelet- to Lymphocyte Ratio in Patients with Euthyroid Hashimoto's Thyroiditis. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 127(8), 545–549. <https://doi.org/10.1055/a-0723-3441>

63. Onalan, E., & Dönder, E. (2020). Neutrophil and platelet to lymphocyte ratio in patients with hypothyroid Hashimoto's thyroiditis. *Acta bio-medica : Atenei Parmensis*, 91(2), 310–314. <https://doi.org/10.23750/abm.v91i2.8592>
64. Arpaci, D., Karakece, E., Tocoglu, A. G., Ergenc, H., Gurol, G., Ciftci, I. H., & Tamer, A. (2016). Endocan, TGF-beta, and ADMA as Risk Factors for Endothelial Dysfunction and Possible Vascular Disease in Patients with Subclinical Hypothyroidism. *Annals of clinical and laboratory science*, 46(6), 601–607.
65. Demirtas L, Degirmenci H, Akbas EM, Timuroglu A, Gurel A, OzcicekF, et al. Association of hematological indices with diabetes, impaired glucose regulation and microvascular complications of diabetes. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8:11420-7.9.
66. Yilmaz H, Ucan B, Sayki M, Unsal I, Sahin M, Ozbek M, et al. Usefulness of the neutrophil-to-lymphocyte ratio to prediction of type 2 diabetes mellitus in morbid obesity. *Diabetes Metab. Syndr*. 2015;9: 299-304.
67. Hu ZD, Sun Y , Guo J, Huang YL, Qin BD, Gao Q, et al. Red blood cell distribution width and neutrophil/lymphocyte ratio are positively correlated with disease activity in primary Sjögren syndrome. *Clin Biochem* 2014; 47 (18): 287-90.
68. Liu CL, Lee JJ, Liu TP, Chang YC, Hsu YC, Cheng SP. Blood neutrophil-to-lymphocyte ratio correlates with tumor size in patients with differentiated thyroid cancer. *J Surg Oncol*. 2013; 107(5):493-7.17.
69. Kim JY, Park T, Jeong SH, Jeong CY, Ju YT, Lee YJ, et al. Prognostic importance of baseline neutrophil to lymphocyte ratio in patients with advanced papillary thyroid carcinomas. *Endocrine*. 2014; 46(3):526-31.
70. Shimada H, Takiguchi N, Kainuma O, Soda H, Ikeda A, Cho A, et al. High preoperative neutrophil-lymphocyte ratio predicts poor survival in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2010; 13(3):170-6.
71. Balfour et al (*J Infect Dis* 2013; 207:80–8), *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 207, Issue 12, 15 June 2013, Page 1940, <https://doi.org/10.1093/infdis/jit045>

72. Lev R, Haim A, Greenberg D, Fruchtman Y. Adenovirus Infection as an Imitator of Hemophagocytic Lymphocytosis. *Clinical Pediatrics*. 2018;57(5):600-602.
73. Garcia r, rasch ca. Leukemoid reaction to mumps virus. *N Engl J Med*. 1964 Jul 30;271:251-2. doi: 10.1056/NEJM196407302710510. PMID: 14160741.
74. Verrotti A, Scaparrotta A, Grosso S, Chiarelli F, Coppola G. Anticonvulsant drug sand hematological disease. *Neurol Sci*. 2014; 35: 983-993.
75. Thorsten G, Martin T, Nellie B, Elke L. Valproate-associated coagülopathies are frequent and variable in children.2007; XXIst İSTH Congress.
76. Banarjea MC, Diener W Kutschke G. Pro-and anticoagulatory factors under sodium valproate-therapy in children: *Neuro pediatrics*. 2002 Aug; 33(4): 215-220.
77. Pedersen-Bjergaard U, Andersen M, Hansen PB. Drugspecific characteristics of thrombocytopenia caused by non-cytotoxic drugs. *Eur. J. Clin. Pharmacol*. 1998; 54: 9-10
78. Bartels, M., van Solinge, W.W., den Breeijen, H.J., Bierings, M.B., Coffe, P.J., Egberts, T.C. Valproic acid treatment is associated with altered leukocyte subset development. *J Clin Psychopharmacol* 2012; 32(6): 832-834.
79. Bartels, M., Geest, C.R., Bierings, M., Buitenhuis, M., Coffe, P.J. Histone deacetylase inhibition modulates cell fate decisions during myeloid differentiation. *Haematologica* 2010; 95(7): 1052-1060
80. Bunnell K. & Pucci F. Levetiracetam-induced neutropenia following traumatic brain injury. *Brain Inj*, 2015; 29(1): 115-117.
81. Dinopoulos, A., Attilakos, A., Paschalidou, M., Tsirouda, M., Garoufi, A., Moustaki, M., Siafakas, N., Papaevangelou, V., 2014. Shortterm effect of levetiracetam monotherapy on haematological parameters in children with epilepsy: a prospective study. *Epilepsy Res*. 108 (4), 820-823
82. Attilakos A, Dinopoulos A, Paschalidou M, Tsirouda M, Karalexi M, Prasouli A, Garoufi A. Long-term effect of levetiracetam monotherapy on haematological

- parameters in children with epilepsy: A prospective study. *Epilepsy Res.* 2018 Sep;145:160-162. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2018.07.001.
83. Nowak,M.,Bauer,S.,Haag,A.,Cepok,S.,Todorova-Rudolph,A.,Tackenberg,B.,Norwood,B.,Oertel,W.H.,Rosenow,F. ,Hemer,B.,Hamer,H.M.,2011.Interictalalterationsofcytokinesandleukocytesinpatientswith activeepilepsy.*BrainBehav.Immun.*25,423—428.
84. Locatelli, G., Theodorou, D., Kendirli, A. et al. Mononuclear phagocytes locally specify and adapt their phenotype in a multiple sclerosis model *Nat Neurosci* 21, 1196–1208 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0212-3>