

บทความพินิจ

Chronic Neutropenia

ปณิธิ ลวสุต

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

Neutrophil เป็นเม็ดเลือดขาวที่มีจำนวนมากที่สุดในร่างกาย การทำหน้าที่ phagocytosis มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อระบบภูมิคุ้มกัน เมื่อเกิด neutropenia ร่างกายมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ง่าย และรุนแรง ซึ่งสาเหตุส่วนใหญ่มักเกิดจากยาหรือการติดเชื้อบางชนิด

ในเวชปฏิบัติมีผู้ป่วยกลุ่มหนึ่งที่เราพบว่าเม็ดเลือดขาวต่ำเรื้อรังอยู่นาน แม้มักไม่มีอาการใดๆแต่ก็เป็นปัญหาในการตัดสินใจแก่แพทย์ผู้รักษาในการหาสาเหตุ ให้คำวินิจฉัย และบอกพยากรณ์โรคแก่ผู้ป่วย ภาวะนี้เรียกโดยรวมว่า chronic neutropenia

คำจำกัดความ

Neutropenia หมายถึง ภาวะที่มีจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil ต่ำลง เนื่องจากจำนวนเม็ดเลือดขาวมีความแตกต่างไปตามอายุ เพศ เชื้อชาติและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ^{1,2} ดังนั้น ถ้ากล่าวให้ถูกต้อง neutropenia คือ มี absolute neutrophil count (ANC) น้อยกว่า 2 standard deviation (SD) ของค่าเฉลี่ยประชากรเชื้อชาตินั้น^{3,4} แต่จากความยุ่งยากในการนำมาใช้หลายครั้งไม่ทราบค่าเฉลี่ยและ SD ของประชากร ทำให้คำจำกัดความในการศึกษาต่างๆ มีความหลากหลาย ต้องนำคำจำกัดความมาพิจารณาประกอบทุกครั้งในการอ่านผลของแต่ละการศึกษา

สำหรับผู้ที่อายุตั้ง 10 ปีขึ้นไป neutropenia ในชาวผิวขาว (Caucasian) หมายถึง ANC < 1.8 x 10⁹/L (1,800/mL) และสำหรับชาวผิวดำ (African descent) หมายถึง ANC < 1.4 x 10⁹/L (1,400/mL)⁵ สำหรับเด็กอายุตั้งแต่ 1 เดือนจนถึง 10 ปีใช้ค่า ANC < 1.5 x 10⁹/L (1,500/mL)³ โดยไม่มีคำจำกัดความเฉพาะของแต่ละเชื้อชาติ

พบว่าบางเชื้อชาติมีค่าเฉลี่ยจำนวน neutrophil น้อยกว่าเชื้อชาติอื่น เช่น ชาวผิวดำหรือชาวยิว มีค่าเฉลี่ย ANC น้อยกว่าชาวผิวขาวหรือชาวเอเชีย อย่างไรก็ตามผลต่างของค่าเฉลี่ยไม่มาก ไม่มีผลให้อาการแตกต่างกันอย่างใด ส่วนค่ามาตรฐานสำหรับคนไทยหรือชาวเอเชียยังไม่ทราบแน่นอน มีเพียงรายงานขนาดเล็ก⁶ (n=400 คน) ว่าสตรีชาวผิวขาว (n=100) ชาวพื้นเมืองอเมริกา (n=90) และ

ชาวเอเชียตะวันออก (n=51) มีค่า ANC ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (1.6-7.7, 1.5-7.7, 1.6-7.3 x 10⁹/L ตามลำดับ) มีเพียงชาวผิวดำที่มีจำนวน ANC ต่ำกว่าชัดเจน (1.1-5.2 x 10⁹/L, p<0.001) ไม่พบการศึกษาเปรียบเทียบกับชาวเอเชียอีกหลังจากนี้ รายงานค่าปกติของคนไทยรายงานเพียง white blood cell count และ ร้อยละของ neutrophil แต่ไม่แสดงค่า ANC ไว้⁷

จากความยุ่งยากดังกล่าว จึงมีอีกคำจำกัดความที่ใช้กันแพร่หลายคือ การใช้ค่าขอบล่างเป็น 1.5 x 10⁹/L เช่นเดียวกับเด็ก^{4,8} หรือใช้ตามคำจำกัดความของ National Cancer Institute ในการรายงานผลข้างเคียงจากการรักษา (Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v4.0)⁹ โดยแบ่งระดับความรุนแรง⁴ เป็น mild neutropenia หมายถึง ANC 1.0-1.5 x 10⁹/L, moderate neutropenia หมายถึง ANC 0.5 - 1.0 x 10⁹/L และ severe neutropenia หมายถึง ANC < 0.5 x 10⁹/L การแบ่งระดับเช่นนี้สัมพันธ์กับความเสี่ยงในการติดเชื้อและความจำเป็นในการให้การดูแลรักษา ทำให้ค่า ANC < 1.5 x 10⁹/L เป็นตัวเลขที่นิยมแพร่หลายในการบอกว่ามีภาวะ neutropenia และมีหลายการศึกษานำไปใช้⁸ ข้อเสียคือ ข้อมูลส่วนใหญ่ของระดับความรุนแรงอ้างอิงจาก acute neutropenia ผู้ป่วยกลุ่มนี้มักมีอาการสัมพันธ์กับระดับ neutrophil ชัดเจน ยังไม่มีข้อมูลมากพอว่าสามารถนำมาใช้กับประชากรทั่วไปโดยเฉพาะกลุ่มที่มักไม่มีอาการ เช่น ผู้ป่วย chronic neutropenia ได้หรือไม่ และการไม่นำความแตกต่างทางเชื้อชาติมาเป็นปัจจัยหนึ่งด้วยอาจทำให้ประมาณขนาดของปัญหาผิดจากความเป็นจริง ในผู้ป่วยเด็กชาว African ก็มีปัญหาในการนำเกณฑ์เหล่านี้มาใช้แม้เพื่อการบอกผลข้างเคียงจากการรักษาเนื่องจากจำนวนเม็ดเลือดโดยเฉลี่ยก็มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์อยู่แล้ว¹⁰

Chronic neutropenia หมายถึง ภาวะที่มี ANC ต่ำกว่าค่าปกติของประชากรนั้นโดยที่ไม่พบสาเหตุอื่นต่อเนื่องอยู่เป็นเวลานาน^{11,12} โดย Kyle และ Linman ผู้ใช้คำนี้เป็นครั้งแรกไม่ได้กำหนดระยะเวลาไว้ แต่การศึกษาในช่วงหลังกำหนดให้เป็นนานอย่างน้อย 3 เดือน¹³

เมื่อกล่าวถึง chronic neutropenia มีได้ 2 ความหมาย คือ หมายถึง ภาวะที่มีเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลต่ำเรื้อรังโดยไม่พบสาเหตุชัดเจน ซึ่งสาเหตุเป็นได้ตั้งแต่ 1.) *Congenital neutropenia* ประกอบด้วยกลุ่มอาการที่เป็น severe congenital neutropenia และ cyclic neutropenia ผู้ป่วยกลุ่มนี้มักมีอาการมาแต่เด็ก 2.) *Acquired neutropenia* ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ คือ auto-immune neutropenia ซึ่งพบ anti-neutrophil antibody และ chronic idiopathic neutropenia (CIN)

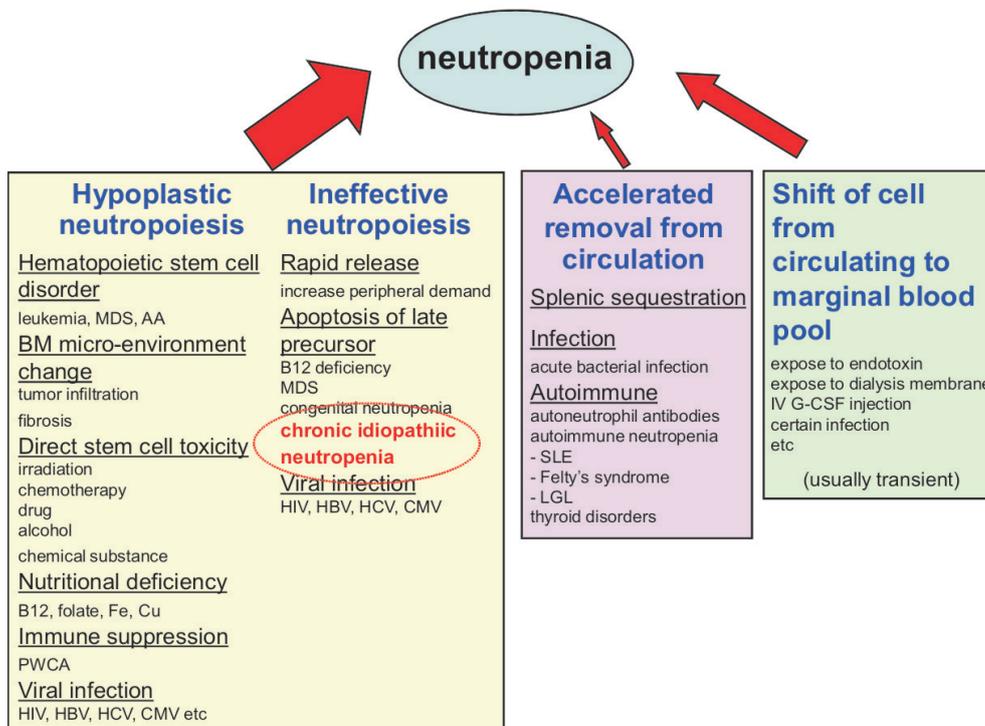
แต่เมื่อใช้กับผู้ใหญ่ บ่อยครั้งการกล่าวถึง chronic neutropenia มักใช้หมายถึงภาวะ neutropenia เรื้อรังที่เป็นมาภายหลังโดยไม่ทราบสาเหตุ ระดับของ neutrophil ไม่มีการขึ้นลงเป็นช่วง และมักไม่มีอาการ ซึ่งคือ **chronic idiopathic neutropenia**¹³ เนื่องจากเป็นกลุ่มใหญ่ในผู้ป่วยที่มีภาวะ chronic neutropenia ของผู้ใหญ่¹⁴ ในขณะที่กลุ่มที่ทราบสาเหตุก็จะเรียกตามการวินิจฉัยโรคนั้น เช่น autoimmune หรือ myelodysplastic syndrome (MDS) มีหลายการศึกษาที่ระบุว่าผู้ป่วยผู้ใหญ่ที่ไม่ทราบสาเหตุจะจัดกลุ่มเป็น CIN ไว้ก่อนถ้าไม่ได้ตรวจ antineutrophil antibody¹⁵ ในที่นี้ก็จะกล่าวถึง chronic idiopathic neutropenia เป็นหลักเช่นกัน

Chronic idiopathic neutropenia เกณฑ์ในการวินิจฉัย¹³ ได้แก่

1. ANC < 1.8 x 10⁹/L ใน Caucasian หรือ < 1.5 x 10⁹/L ใน African descent เป็นเวลาดั้งแต่ 3 เดือน
2. ไม่มีอาการหรือผลตรวจทาง serology ที่แสดงถึงโรคที่สามารถทำให้เกิดภาวะ neutropenia
3. ไม่มีประวัติการได้รับสารรังสี สารเคมี หรือ ulya ที่ทำให้เกิด neutropenia
4. ผล cytogenetic study จากไขกระดูกปกติ
5. ผล serum anti-neutrophil antibody ปกติ โดยต้องเป็นลบด้วยการตรวจอย่างน้อย 2 วิธี เช่น โดย granulocyte agglutination test (GAT) และ granulocyte immunofluorescence test (GIFT) เพื่อแยกภาวะ primary autoimmune neutropenia

สาเหตุ

สาเหตุของ neutropenia โดยทั่วไปอาจแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มหลักๆ คือ เป็นโดยกำเนิดหรือเกิดขึ้นภายหลังซึ่งพบได้บ่อยกว่า โดยเฉพาะเกิดจากยา⁵ หรืออาจแบ่งตามกลไกการเกิด ได้แก่ การสร้างได้ลดลง การถูกจำกัดออกจากกระแสเลือดเร็วขึ้น หรือมีการย้ายที่จากกระแสเลือดมาเกาะอยู่บริเวณผนังเส้นเลือด (รูปที่ 1) แต่สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการสร้างได้ลดลง แบ่งเป็นกลุ่มที่ตรวจไขกระดูกแล้วพบว่าจำนวนเซลล์ในไขกระดูกลดลงหรือการ



รูปที่ 1 แผนภูมิสรุปสาเหตุการเกิด neutropenia¹⁶ (Congenital neutropenia ในที่นี้รวมสาเหตุที่เป็น congenital syndrome ทั้งหมดรวมถึง cyclic neutropenia; MDS myelodysplastic syndrome; AA aplastic anemia; PWCA pure white cell aplasia; LGL large granular lymphocytic leukemia)

สร้างเม็ดเลือดผิดปกติ (hypoplastic neutropoiesis) ซึ่งมักเป็นกลุ่มโรคทางโลหิตวิทยาเป็นหลัก กับกลุ่มที่พบว่าจำนวนเซลล์ในไขกระดูกปกติหรือเพิ่มขึ้นแต่ตัวเต็มวัยไม่สามารถออกไปยังกระแสเลือดได้เพียงพอ (ineffective neutropoiesis)

เมื่อพบผู้ป่วย neutropenia เรายังคงต้องมองหาสาเหตุทั้งหมดก่อน จนมีหลักฐานยืนยันความเกี่ยวข้องร่วมกับทราบรูปแบบการดำเนินโรคชัดเจนจึงให้การรักษาวินิจฉัยหรือสืบค้นไปทางใดทางหนึ่งมากขึ้น สรุปลงจากกลไกการเกิด neutropenia แล้วได้ภาวะที่เราต้องนำมาวิเคราะห์ก่อน คือ ยาและสารพิษ การติดเชื้อ โรคทางโลหิตวิทยาที่มีพยาธิสภาพในไขกระดูก โรคมะเร็งที่กดต่อตนเอง โรคไทรอยด์ การขาดสารอาหาร รวมถึงภาวะม้ามโตจากสาเหตุใดก็ตาม หากหาสาเหตุเหล่านี้ไม่พบแล้ว ติดตามไปผู้ป่วยยังคงมีเม็ดเลือดขาวต่ำคงที่จึงให้การวินิจฉัยเป็น chronic (idiopathic) neutropenia

Chronic idiopathic neutropenia เป็นภาวะที่เกิดภายหลังที่มักไม่มีอาการหรืออาการไม่มาก ในขณะที่ congenital neutropenia มักเป็นรุนแรงและมีการติดเชื้อแทรกซ้อนให้เห็นแต่เด็ก¹³ ผู้ที่เป็น CIN จะมีภาวะ ineffective granulopoiesis คือ ไม่สามารถผลิต neutrophil ได้เหมาะสมกับจำนวนเม็ดเลือดที่ต่ำ ในขณะที่เมื่อดูในไขกระดูกจะพบมีปริมาณ granulocyte ปกติและยังพบพบ granulocyte precursor ได้ไม่ถึงกับหายไปเหมือนกับ hypoplastic neutropenia จากสาเหตุอื่นๆ⁵ มักพบในผู้หญิงมากกว่าและสัมพันธ์กับ HLA-DRB1*1302 haplotype¹⁷

Primary autoimmune neutropenia พบในเด็กเป็นส่วนใหญ่ เม็ดเลือดขาวมักต่ำปานกลางถึงมากแต่อาการไม่รุนแรง สามารถหายเองได้ พบน้อยมากในผู้ใหญ่ ถ้าพบก็มักไม่มีอาการหรืออาการน้อยมากแต่จะเป็นเรื้อรังและไม่หายเอง¹⁸ ไม่ค่อยพบมีการติดเชื้อแทรกซ้อนเนื่องจากไขกระดูกยังคงสามารถสร้าง neutrophil ได้ปกติ เมื่อตรวจจะพบเป็น normocellular หรือ hypercellular ผู้ป่วยส่วนน้อยที่พบมีการติดเชื้อได้ สัมพันธ์กับการมี autoantibody ต่อ neutrophil specific antigen บน immature granulocyte precursor หรือมีการทำงานของ neutrophil ผิดปกติจากผลของ autoantibody ที่อยู่บนผิว neutrophil ผู้ป่วยกลุ่มนี้ทุกรายจะต้องมี autoantibody ต่อ specific neutrophil antigen ต่างกับผู้ป่วย chronic idiopathic neutropenia ที่จะต้องไม่พบ อย่างไรก็ตามพบว่าการศึกษา antibody ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ ผลการรักษาไม่แตกต่างกับไม่รักษา¹² รวมทั้งการตรวจทำได้ยาก ทำให้หลายการศึกษาไม่แยกกลุ่ม autoimmune neutropenia ออกจาก CIN เมื่อไม่สามารถส่งตรวจได้เนื่องจากเห็นว่าการดำเนินโรคไม่แตกต่างกัน¹⁵ เป็นไปได้ว่าผลการศึกษาบางอย่าง โดยเฉพาะอัตราการติดเชื้อ ออกมามีความหลากหลายกว่าที่ตั้งสมมติฐานไว้เกิดจากเกณฑ์ในการวินิจฉัยนี้ เพราะโดยแนวโน้ม

autoimmune neutropenia มักมี ANC ค่อนข้างมากกว่า ในขณะที่ CIN มักอยู่ในระดับต่ำเพียงเล็กน้อย

Chronic cyclic neutropenia เป็น congenital neutropenia ที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมอย่าง autosomal dominant¹⁹ มีลักษณะคือ จำนวน neutrophil จะขึ้นลงทุกประมาณ 3 สัปดาห์ ในระหว่างที่เม็ดเลือดขาวต่ำผู้ป่วยก็จะมีอาการอ่อนเพลียและมีการติดเชื้อได้ เช่น ไซ้ เป็นแผลในกระพุ้งแก้มหรือลิ้น ต่อมเหงื่อที่คอโต พบมีการติดเชื้อที่ผิวหนังและเนื้อเยื่อด้านล่างหรือมีเหงือกอักเสบได้บ่อยเช่นกันเหมือนกับกลุ่มที่เป็น chronic severe neutropenia ทั้งหมด แต่ไม่ค่อยรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิต⁵ เป็นภาวะที่ต้องนำมาวินิจฉัยแยกโรคกับ chronic neutropenia อื่นๆ ด้วยเสมอ เนื่องจากการดำเนินโรคต่างกัน ในขณะที่ severe congenital neutropenia มีเม็ดเลือดขาวต่ำตลอดและกลายเป็น MDS หรือ acute myeloid leukemia (AML) ได้ cyclic neutropenia ไม่สัมพันธ์กับ leukemic transformation ส่วนเมื่อเทียบกับผู้ที่เป็น acquired neutropenia ก็ยังมีช่วงที่เม็ดเลือดขาวกลับเป็นปกติ แต่ช่วงที่เม็ดเลือดขาวต่ำจะมีอาการมากกว่า มีโอกาสต้องรับการรักษามากกว่า

ความชุก

รายงานที่ใหญ่ที่สุดของการศึกษาความชุก asymptomatic neutropenia ในประชากรทั่วไป ได้แก่ รายงานจากสหรัฐอเมริกา โดย Hsieh และคณะ² รวมกลุ่มตัวอย่างตั้งแต่อายุ 1 ปีขึ้นไปที่มีสุขภาพแข็งแรงจำนวน 25,222 ราย พบผู้ที่มี ANC $<1.5 \times 10^9/L$ ในชาวผิวขาวร้อยละ 0.79 ชาวผิวดำร้อยละ 4.47 และชาวเม็กซิกันอเมริกันร้อยละ 0.38 โดยกลุ่มประชากรชายและเด็กอายุน้อยกว่า 5 ปีมีความชุกของ neutropenia มากกว่า อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของการศึกษานี้คือ มีการตรวจเลือดแค่ครั้งเดียว ทำให้ไม่สามารถทราบได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดเมื่อต่างเวลาไปหรือไม่ รวมถึงไม่ได้ศึกษาต่อถึงสาเหตุของภาวะ neutropenia

Lima และคณะ จากบราซิล¹⁴ รายงานผู้ใหญ่ที่ตรวจพบ neutropenia โดยบังเอิญในสถาบันของตน โดยใช้ ANC $<1.8 \times 10^9/L$ ถ้าเป็นชาวผิวขาวและ $<1.5 \times 10^9/L$ ถ้าเป็นชาวผิวดำ พบว่ามีจำนวนทั้งหมด 133 รายใน 6 ปี ติดตามมาตรฐานได้ 97 ราย ภาวะที่พบมากที่สุดคือ ไม่สามารถหาสาเหตุได้ (chronic idiopathic neutropenia) ร้อยละ 34 ส่วนสาเหตุที่สามารถหาได้ ได้แก่ การสัมผัสสารเคมีร้อยละ 16.5 การติดเชื้อร้อยละ 9.3 โรคมะเร็งที่กดตนเองร้อยละ 9.3 โรคเลือดร้อยละ 9.3 โรคไทรอยด์ร้อยละ 8.2 เชื้อชาติร้อยละ 7.2 ยาร้อยละ 2.1 ขาดธาตุเหล็กร้อยละ 2.1 cyclic neutropenia ร้อยละ 2.1 พบว่าผู้ป่วยเหล่านี้ถ้าได้รับการรักษาหรือโรคที่เป็นสาเหตุอาการดีขึ้น ภาวะ neutropenia ก็จะดีขึ้นด้วย

ในด้านกลุ่มที่ตรวจแล้วว่าเป็น chronic idiopathic neutropenia จริง Papadaki และคณะ²⁰ รายงานจากประชากรในเกาะ Crete ประเทศกรีซ ว่าพบความชุกเท่ากับร้อยละ 1.67 เมื่อใช้ ANC $< 1.8 \times 10^9/L$

ไม่พบรายงานในประเทศไทยเองหรือจากเอเชียทั้งที่ในทางปฏิบัติเราพบผู้ป่วยกลุ่มนี้พอสมควร ขณะนี้สาขาวิชาโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยจึงกำลังศึกษากลุ่มตัวอย่างในประชากรไทยอยู่¹⁶ ซึ่งจะได้ข้อมูลนำเสนอในโอกาสต่อไป

การดำเนินโรค

ผู้ป่วยมักมีเม็ดเลือดขาวต่ำเช่นนี้ตลอดชีวิต แต่มีส่วนน้อยที่สามารถดีขึ้นเองได้¹³

การติดเชื้อ พบน้อยมากในผู้ป่วยที่เป็น chronic idiopathic neutropenia สัมพันธ์กับระดับของภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ จากข้อมูลที่ไม่ได้ตีพิมพ์ของ Papadaki¹³ ซึ่งศึกษาผู้ป่วย CIN จำนวนมาก พบว่าความชุกของผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาด้วย G-CSF และยาปฏิชีวนะเท่ากับร้อยละ 1.9 ต่อปี แต่ผู้ป่วยในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็น mild neutropenia แบบไม่รุนแรงมีผู้ป่วยเพียงร้อยละ 5.8 เท่านั้นที่มี ANC $< 0.5 \times 10^9/L$ ตำแหน่งการติดเชื้อที่ถ้าพบ มักเป็น chronic gingivitis หรือ periodontitis²¹ รายงานการติดเชื้อในตำแหน่งอื่นมีประปราย มี 2 รายงานว่าพบ serum IgG3 ต่ำ แต่ก็ไม่ได้ทำให้ผู้ป่วยมีการติดเชื้อเพิ่มขึ้น^{22,23} นอกจากนี้ยังพบว่า anti-bacterial peptide pro-LL-37 มีค่าปกติ ในขณะที่จะพบว่าต่ำลงในกลุ่มที่เป็น severe congenital neutropenia²⁴

Leukemic transformation ในขณะที่ severe congenital neutropenia สามารถพบการเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งเม็ดโลหิตขาวได้ร้อยละ 10-20 ใน 10 ปี¹⁵ และสัมพันธ์กับการเกิดการกลายพันธุ์ของ G-CSF receptor แต่ใน chronic idiopathic neutropenia พบมีรายงานการเกิดการเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งเม็ดโลหิตขาวเพียงแค่ 6 ราย²⁵⁻²⁸ จากข้อมูลที่ไม่ได้ตีพิมพ์ของ Papadaki ซึ่งทำการศึกษาผู้ป่วย chronic idiopathic neutropenia จำนวนมากพบมีอุบัติการณ์ของการเกิดการเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งเม็ดโลหิตขาวร้อยละ 1.64¹³ มีรายงานว่าพบการกลายพันธุ์ของ G-CSF receptor เพียงแค่ 1 ราย²⁷ จาก 5 รายที่ตรวจ²⁵⁻²⁷ แต่ยังไม่แสดงผลสรุปว่าการกลายพันธุ์นี้เกี่ยวข้องกับการกลายเป็น AML หรือไม่ ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนไปเป็นมะเร็งเม็ดโลหิตขาว กับ CIN จึงยังไม่สามารถสรุปในปัจจุบัน²⁹

Osteopenia และ osteoporosis

ในการศึกษาที่ได้รับการควบคุมอย่างดี พบว่าผู้ป่วย chronic idiopathic neutropenia มี osteopenia ถึงร้อยละ 44.4 และ osteoporosis ร้อยละ 15.6 ซึ่งสูงกว่าเมื่อเทียบกับประชากรเพศและกลุ่มอายุเดียวกัน³⁰ พบ marker ของการสลายกระดูก เช่น N-telopeptide เพิ่มขึ้น และ marker ของการสร้างกระดูก เช่น serum osteocalcin เพิ่มขึ้น แสดงว่ามี bone turn over เพิ่มขึ้น เมื่อเกิดต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานทำให้เกิดการสูญเสียมวลกระดูกตามมา เชื่อว่ากระบวนการอักเสบเรื้อรังเป็นสาเหตุให้เกิดภาวะนี้ นอกจากนั้นพบว่า bone mineral density แปรผกผันกับความรุนแรงของ neutropenia และ inflammatory cytokine เช่น TNF α และ IL-1 β ซึ่ง cytokine ทั้ง 2 ชนิดมีความสำคัญต่อ bone metabolism³¹

กลไกการเกิดโรค

Neutrophil ศึกษาได้ยากกว่าเม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือด เนื่องจากมีจำนวนน้อยและยังลดลงอีกในภาวะที่สร้างไม่ได้ นอกจากนั้น neutrophil ส่วนที่อยู่ในกระแสเลือดมีระยะเวลาสั้นมากและส่วนส่วนที่อยู่นอกเนื้อเยื่อก็ไม่สามารถวัดได้⁵

สาเหตุหลักของ chronic idiopathic neutropenia เกิดจากความบกพร่องของ granulopoiesis³² มีรายงานบ้างที่พบว่าเกิดจาก neutrophil extravasation³³ การที่ทราบว่ามี การสร้างลดลงจากการทำเพาะเลี้ยงเซลล์จากไขกระดูกพบว่าจำนวน CD34+/CD33+ granulocyte progenitor ลดลงและความสามารถในการสร้าง granulocyte colony ลดลงต่อจำนวนของ mononuclear cell และ CD34+ cell ในไขกระดูก และยังทราบจากการตรวจดูไขกระดูกของผู้ป่วยพบมีตัวแก่ลดลงหรือมี left shift

กลไกการสร้างลดลงเกิดจากการเร่งกระบวนการ apoptosis ผ่าน Fas ligand ให้เร็วขึ้นในส่วนที่เป็น CD34+/CD33+ immature cell ในขณะที่ CD34-/CD33+ หรือ CD34-/CD15+ mature granulocyte มีอัตราการ apoptosis ปกติ และ apoptosis ผ่านทาง death-receptor ของ neutrophil ในกระแสเลือดก็ปกติเช่นกัน ดังนั้นความผิดปกติน่าจะอยู่ใน microenvironment ของไขกระดูก³⁴ เชื่อว่าการกระตุ้นกระบวนการอักเสบในไขกระดูกอย่างต่อเนื่องน่าจะเป็นสาเหตุของ granulocyte precursor apoptosis ที่กล่าวมา เนื่องจากพบว่ามีเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันที่ถูกกระตุ้นและ pro-apoptotic mediator มากขึ้นในผู้ป่วย

เซลล์ที่มีบทบาทหลักให้เกิดพยาธิสภาพนี้ คือ polyclonal หรือ oligoclonal T-lymphocyte ที่ถูกกระตุ้น³⁵ และมีความสามารถในการกดไขกระดูก รวมทั้งสร้าง pro-apoptotic cytokine

ไม่ว่าจะเป็น interferon-gamma (IFN γ), Fas-ligand, tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) และ transforming growth factor-beta1 (TGF- β 1) ดังที่ตรวจพบในการศึกษาไขกระดูกของผู้ที่เป็นโรค chronic idiopathic neutropenia ไม่ว่าจะด้วยวิธี immunocytochemistry และการศึกษาระดับเซลล์หรือระดับโมเลกุล³⁶ ในขณะที่ cytokine ที่ต้านการอักเสบเช่น IL-10 ลดลง³⁷ ทำให้สมดุลระหว่าง pro-survival และ pro-apoptosis mediator เสียไป พบว่าร่างกายยังคงพยายามชดเชยการเสียชีวิตของเซลล์เหล่านี้ เช่น พบมี soluble flt-3 ligand (sFL) ในกระแสเลือดและไขกระดูกเพิ่มขึ้น ซึ่ง sFL เป็นโปรตีนที่กระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดที่อยู่บนผิวของ lymphocyte และ fibroblast แสดงว่า T-cell อาจกำลังพยายามที่จะชดเชยกลไกการตายของเซลล์เช่นที่เคยรายงานมาใน aplastic anemia มาก่อนหน้านี้³⁸

การศึกษาระดับโมเลกุลไม่พบการกลายพันธุ์ของยีนต่างๆที่เกี่ยวข้อง เช่น ELA-2 (neutrophil elastase)³⁹ เหมือนกับที่พบใน congenital neutropenia แต่มีรายงานการกลายพันธุ์ที่ Gfi1 proto-oncogene ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการทำงานของ neutrophil elastase 1 รายงานการตรวจ 56 ราย⁴⁰ และพบการกลายพันธุ์ของ G-CSF receptor เพียง 1 รายดังกล่าวข้างต้น²⁷

โดยสรุปแล้วจากความรู้นี้ปัจจุบัน chronic idiopathic neutropenia มีพยาธิกำเนิดคล้ายกับ acquired bone marrow failure syndrome มากกว่า congenital neutropenia และกลไกหลักคือ กระบวนการทางระบบภูมิคุ้มกันและการอักเสบ เชื่อว่า CIN อาจแสดงถึงรูปแบบที่ไม่รุนแรงของโรคที่มี T-cell และ cytokine mediated suppression hematopoiesis เช่นเดียวกับ large granular lymphocytosis, lymphoproliferative diseases, aplastic anemia และ MDS แต่โดยรวมแล้วก็ยิ่งถือว่าเรามีความเข้าใจกับภาวะนี้น้อยอยู่ ต้องรอผลการศึกษารองต่อๆไป

อาการ

ใน chronic neutropenia พบว่าการติดเชื้อน้อยกว่าเมื่อเทียบกับระดับเม็ดเลือดขาวที่ต่ำเท่ากันของ neutropenia เฉียบพลัน ยกเว้นในรายที่มีเม็ดเลือดขาวต่ำมากซึ่งยังคงมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อมากกว่าอยู่ เชื่อว่าอธิบายจาก neutrophil ในส่วน tissue compartment สามารถส่ง neutrophil มาทำหน้าที่อย่างเพียงพอ และพบว่าจำนวน monocyte มักปกติซึ่งอาจช่วยการทำหน้าที่ phagocytosis ได้อีกส่วนหนึ่ง⁵

ในผู้ป่วยที่มีอาการ มักเป็น pyoderma หรือ otitis media ในเด็ก⁵ และอาจพบเหงือกอักเสบเรื้อรัง โดยไม่ทราบสาเหตุได้^{41,42} นอกจากนี้มีรายงานการติดเชื้อที่ตำแหน่งอื่นอยู่บ้าง

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. Complete blood count

นอกจาก neutropenia แล้วยังอาจพบ anemia และ/หรือ thrombocytopenia ร่วมด้วยได้ แต่ส่วนใหญ่มักเป็น isolated neutropenia¹³ โดย anemia พบได้ร้อยละ 14.2 เชื่อว่าเกิดจาก anemia of chronic disease⁴³ การศึกษาแสดงว่ามีผลการลดลงของ erythroid precursor ซึ่งสัมพันธ์กับการสร้าง TNF α ที่มากขึ้น⁴⁴ และเกิด apoptosis เร็วขึ้น ส่วน thrombocytopenia แบบไม่รุนแรง พบได้ประมาณร้อยละ 10 สามารถพบ hypolobated megakaryocyte และการสร้าง megakaryocyte ลดลงซึ่งสัมพันธ์กับการมี TNF- β 1 บริเวณนั้นมากจึงกด megakaryopoiesis แม้จะพบว่าเมื่อ thrombopoietin เพิ่มขึ้นด้วยก็ตาม⁴⁵

นอกจากนี้ อาจพบ monocyte ลดลงได้ประมาณร้อยละ 10 ซึ่งสัมพันธ์กับจำนวน CD34+/CD33+ progenitor cell ในไขกระดูก⁴⁶ และพบ lymphopenia ได้ร้อยละ 37 จาก TNF α และ IL1- β ที่เพิ่มขึ้นทำให้มีการกระตุ้น endothelium⁴⁷ และกระตุ้นให้มี extravasation ของ helper และ suppressor CD45RO+ memory T-cell เชื่อว่าจากสาเหตุนี้อาจทำให้มี neutrophil extravasation ด้วย³³

2. Bone marrow study

มักมีจำนวนเซลล์ในไขกระดูกปกติ แต่อาจพบมี left shift ของ myeloid series เนื่องจากการ proliferation และ maturation ไปเป็น mature granulocyte ลดลงและมีสัดส่วนของ Myeloid:Erythroid ลดลง¹³ และอาจพบมี megaloblastoid erythroblast และ microcytic megakaryocyte ซึ่งเป็น dysplastic feature ได้⁴⁸

3. การศึกษาอื่นในระดับกลไกการเกิดโรค

เช่น inflammatory cytokines ที่ได้กล่าวมาบ้าง แต่ยังไม่พบ cytokine ใดนำมาใช้ได้ทางคลินิกได้

การส่งตรวจพิเศษที่อาจมีโอกาสนำมาประยุกต์ใช้ได้ในอนาคต ได้แก่ neutrophil granule protein pro-LL-37 (hCAP18 หรือ cathelin-LL-37) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น anti-bacterial peptide สามารถกระตุ้นการสร้าง myeloid cell ได้ พบว่าในผู้ป่วยที่เป็น chronic idiopathic neutropenia หรือ autoimmune neutropenia มีค่าปกติ ในขณะที่ผู้ป่วย severe congenital neutropenia จะมีค่าต่ำลง และผู้ป่วย cyclic neutropenia จะมีค่าขึ้นลงเป็นช่วงๆ จึงมีความเป็นไปได้ว่าอาจสามารถใช้โปรตีนนี้วินิจฉัยแยกโรคได้⁴⁴

แนวทางการวินิจฉัยผู้ป่วย chronic neutropenia³

ผู้ป่วยที่มี neutropenia เฉียบพลันมักมาด้วยอาการติดเชื้อชัดเจน ควรหาแหล่งติดเชื้อและให้การรักษา มักพุงประเด็นสาเหตุจากยาที่

ได้รับก่อนหน้านี้นี้เป็นหลัก ส่วนผู้ป่วยที่เป็น chronic neutropenia มักพบจากการตรวจเลือดเจอโดยไม่มีอาการหรือพบในการตรวจเลือดเพื่อหาสาเหตุของผู้ที่มาด้วยไข้หรือการติดเชื้อซ้ำบ่อยๆ

ขั้นแรกต้องยืนยันก่อนว่าผู้ป่วยมี chronic persistent neutropenia จริง ด้วยการดูผลเลือดซ้ำในระหว่างที่ผู้ป่วยไม่มีการติดเชื้อหรืออาการอื่น ในการแยกกับผู้ป่วยที่เป็น cyclic neutropenia ควรจะมีผลเลือดที่ต่ำกว่าอย่างน้อย 4 ครั้งในช่วงเวลา 3 เดือน การตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นที่ควรประเมินด้วย ได้แก่

- Complete blood count มีความผิดปกติในเม็ดเลือดชนิดอื่นหรือไม่
- Globulin level หรืออาจรวมถึง immunoglobulin level ในรายที่สงสัย ผู้ป่วยที่มี hypergammaglobulinemia อาจแสดงว่ามี การติดเชื้อซ้ำบ่อยๆ และมีอาการมานานแล้ว ส่วนผู้ป่วยที่มี hypogammaglobulinemia ร่วมกับ neutropenia มีความเสี่ยงสูงขึ้นต่อการติดเชื้อซ้ำ
- การดู peripheral blood smear มีประโยชน์ โดยเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยอายุน้อยที่อาจเป็น congenital neutropenia อาจพบลักษณะเฉพาะ เช่น myelokathexis ฯลฯ รวมถึงการดู large granular lymphocyte เพื่อแยกภาวะ large granular lymphocytic leukemia หรือ Felty's syndrome
- การเจาะไขกระดูก ช่วยในการยืนยันว่าไม่มี leukemia หรือ MDS รวมทั้งประเมินความรุนแรงของพยาธิสภาพในไขกระดูก ในผู้ใหญ่การแยกระหว่าง MDS กับ chronic idiopathic neutropenia อาจยากในบางครั้ง การพบลักษณะ dysplasia ชัดเจนหรือมี cytogenetic abnormality ก็ จะสนับสนุนการวินิจฉัย MDS ได้อย่างมาก
- การตรวจหาสาเหตุอื่นที่เป็นไปได้ตามตารางสรุปสาเหตุ ให้พิจารณาความเหมาะสมและลำดับขั้นตอนเป็นรายๆ ไป ผู้ป่วยส่วนหนึ่งมีอาการของโรคเด่นชัด แต่ก็มีรายงานจำนวนมากโดยเฉพาะกลุ่มการติดเชื้อไวรัส ที่อาจไม่มีอาการอื่นมาก่อน ในกลุ่ม autoimmune disease อาจพิจารณาตรวจ antinuclear antibodies(ANA) และ rheumatoid factor เนื่องจากพบผู้ป่วยบางรายที่มี occult splenomegaly, ANA และ rheumatoid factor สูง แต่มีอาการน้อยมากได้
- Anti-neutrophil antibody ควรส่งก่อน ในกรณีที่จะให้การวินิจฉัยว่าเป็น chronic idiopathic neutropenia เพื่อแยกภาวะ primary autoimmune neutropenia ได้อย่างมั่นใจ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีห้องปฏิบัติการใดเปิดให้บริการการตรวจนี้

การรักษา

ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักไม่มีอาการและไม่ต้องการได้รับการรักษา เพียงแต่แนะนำการปฏิบัติตัวและติดตามอาการเพียงอย่างเดียว ในกรณีที่เม็ดเลือดขาวต่ำมากและมีการติดเชื้อสามารถพิจารณาให้ G-CSF ได้ ข้อมูลยังไม่เป็นที่สรุปในปัจจุบันเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างการให้ G-CSF และการเกิด MDS/AML ในผู้ป่วย congenital neutropenia ในผู้ป่วย chronic idiopathic neutropenia มีรายงานการเกิด MDS/AML หลังได้ G-CSF¹⁵ แต่ไม่สามารถพิสูจน์ความสัมพันธ์ได้จึงต้องรอดูข้อมูลต่อไป สามารถพิจารณาใช้ยาได้ถ้ามีข้อบ่งชี้

สรุป

Chronic idiopathic neutropenia จากข้อมูลในปัจจุบันถือว่าเป็นเกิดจากกลไกทางภูมิคุ้มกัน ความสามารถในการวินิจฉัยแยกโรคได้ถูกต้องเมื่อแรกวินิจฉัยมีความสำคัญในการวางแผนการรักษาต่อการทราบกลไกของ chronic idiopathic neutropenia ทำให้เราเข้าใจกระบวนการ myelopoiesis และกลไกทางระบบภูมิคุ้มกันได้ดีขึ้นและน่าจะนำไปใช้ในการรักษาได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

พญ ปณิสนี ลวสุต ได้รับการสนับสนุนจากสภาวิจัยแห่งชาติ

เอกสารอ้างอิง

1. Ryan DH. Examination of the blood. In: Marshall A. Lichtman EB, Thomas J. Kipps, Uri Seligsohn, Kenneth Kaushansky, Josef T. Prchal, ed. Williams Hematology. 7th ed: McGraw-Hill Companies 2006:11-9.
2. Hsieh MM, Everhart JE, Byrd-Holt DD, Tisdale JF, Rodgers GP. Prevalence of neutropenia in the U.S. population: age, sex, smoking status, and ethnic differences. Ann Intern Med. 2007;146:486-92.
3. Dale DC. Neutropenia and Neutrophilia. In: Marshall A. Lichtman EB, Thomas J. Kipps, Uri Seligsohn, Kenneth Kaushansky, Josef T. Prchal, ed. Williams Hematology. 7th ed: McGraw-Hill Companies 2006:907-19.
4. Watts RG. Neutropenia. In: Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, et al, eds. Wintrobe's Clinical Hematology. 12th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2009.
5. Lichtman MA. Classification and Clinical Manifestation of Neutrophil Disorders. In: Marshall A. Lichtman EB, Thomas J. Kipps, Uri Seligsohn, Kenneth Kaushansky, Josef T. Prchal, ed. Williams Hematology. 7th ed: McGraw-Hill Companies 2006:899-901.
6. Bain B, Seed M, Godsland I. Normal values for peripheral blood white cell counts in women of four different ethnic origins. J Clin Pathol. 1984;37:188-93.

7. Krailadsiri P, Charuruks N. Automated hematology 1 : reference values for leucocyte parameters on the flow cytometric system (Technicon H*1). *Chula Med J*. 1994;38:337-42.
8. Haddy TB, Rana SR, Castro O. Benign ethnic neutropenia: what is a normal absolute neutrophil count? *J Lab Clin Med*. 1999;133:15-22.
9. National Cancer Institute. Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 (CTCAE) 28 May 2009 [cited 2009 August 30]; Available from: <http://ctep.cancer.gov>
10. Kourtis AP, Bramson B, van der Horst C, Kazembe P, Ahmed Y, Chasela C, et al. Low absolute neutrophil counts in african infants. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic Ill)*. 2005;4:73-6.
11. Kyle RA, Linman JW. Chronic idiopathic neutropenia. A newly recognized entity? *N Engl J Med*. 1968;279:1015-9.
12. Dale DC, Guerry Dt, Wewerka JR, Bull JM, Chusid MJ. Chronic neutropenia. *Medicine (Baltimore)*. 1979;58:128-44.
13. Palmblad J, Papadaki HA. Chronic idiopathic neutropenias and severe congenital neutropenia. *Curr Opin Hematol*. 2008;15:8-14.
14. Lima CS, Paula EV, Takahashi T, Saad ST, Lorand-Metze I, Costa FF. Causes of incidental neutropenia in adulthood. *Ann Hematol*. 2006; 85: 705-9.
15. Dale DC, Bolyard AA, Schwinger BG, Pracht G, Bonilla MA, Boxer L, et al. The Severe Chronic Neutropenia International Registry: 10-Year Follow-up Report. *Support Cancer Ther*. 2006;3:220-31.
16. ปณิสนิณี ลวสุต. การศึกษาความชุกและปัจจัยเสี่ยงของผู้ป่วยที่มีเม็ดโลหิตขาวชนิดนิวโตรฟิลลดต่ำโดยที่ยังไม่มีอาการในประชากรไทย. กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2552.
17. Papadaki HA, Eliopoulos GD, Coulocheri SA, Spyropoulou M, Stavropoulos-Giokas C. Increased frequency of HLA-DRB1*1302 haplotype in patients with nonimmune chronic idiopathic neutropenia of adults. *Blood*. 2001;97:580-1.
18. Berliner N, Horwitz M, Loughran TP, Jr. Congenital and acquired neutropenia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2004:63-79.
19. Sera Y, Kawaguchi H, Nakamura K, Sato T, Habara M, Okada S, et al. A comparison of the defective granulopoiesis in childhood cyclic neutropenia and in severe congenital neutropenia. *Haematologica*. 2005;90:1032-41.
20. Papadaki HA, Xylouri I, Coulocheri S, Kalmanti M, Kafatos A, Eliopoulos GD. Prevalence of chronic idiopathic neutropenia of adults among an apparently healthy population living on the island of Crete. *Ann Hematol*. 1999;78:293-7.
21. Zaromb A, Chamberlain D, Schoor R, Almas K, Blei F. Periodontitis as a manifestation of chronic benign neutropenia. *J Periodontol*. 2006;77:1921-6.
22. Papadaki HA, Palmblad J, Kapsimali V, Anagnou NP, Eliopoulos GD. Increased serum IgA and decreased IgG3 strongly correlate with increased serum TGF-beta1 levels in patients with nonimmune chronic idiopathic neutropenia of adults. *Eur J Haematol*. 2000; 65:237-44.
23. Karlstrom R, Gustafson R, Palmblad J. Chronic mild neutropenia in adults: relation to IgG3 deficiency and infection susceptibility. *J Intern Med*. 2001;250:342-7.
24. Karlsson J, Carlsson G, Ramme KG, Hagglund H, Fadeel B, Nordenskjold M, et al. Low plasma levels of the protein pro-LL-37 as an early indication of severe disease in patients with chronic neutropenia. *Br J Haematol*. 2007;137:166-9.
25. Auner HW, Klintschar M, Crevenna R, Beham-Schmid C, Hoefler G, Mitterbauer G, et al. Two case studies of chronic idiopathic neutropenia preceding acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 1999;105:431-3.
26. Papadaki HA, Kosteas T, Gemetzi C, Alexandrakis M, Psyllaki M, Eliopoulos GD. Two patients with nonimmune chronic idiopathic neutropenia of adults developing acute myeloid leukemia with aberrant phenotype and complex karyotype but no mutations in granulocyte colony-stimulating factor receptor. *Ann Hematol*. 2002;81:50-4.
27. Papadaki HA, Kosteas T, Gemetzi C, Damianaki A, Anagnou NP, Eliopoulos GD. Acute myeloid/NK precursor cell leukemia with trisomy 4 and a novel point mutation in the extracellular domain of the G-CSF receptor in a patient with chronic idiopathic neutropenia. *Ann Hematol*. 2004;83:345-8.
28. Megalaki A, Mitsouli C, Pontikoglou C, Iakovidou J, Koumaki V, Eliopoulos GD, et al. Chronic idiopathic neutropenia preceding polymyalgia rheumatica and acute myeloid leukemia. *Ann Hematol*. 2004;83:791-2.
29. Link DC, Kunter G, Kasai Y, Zhao Y, Miner T, McLellan MD, et al. Distinct patterns of mutations occurring in de novo AML versus AML arising in the setting of severe congenital neutropenia. *Blood*. 2007;110:1648-55.
30. Papadaki HA, Margioris AN, Miliaki M, Steriopoulos C, Valatas W, Eliopoulos GD. Chronic idiopathic neutropenia of adults is associated with decreased bone mineral density and alterations in bone turnover biochemical markers. *Eur J Haematol*. 1999; 62: 311-6.
31. Papadaki HA, Tsatsanis C, Christoforidou A, Malliaraki N, Psyllaki M, Pontikoglou C, et al. Alendronate reduces serum TNFalpha and IL-1beta, increases neutrophil counts, and improves bone mineral density and bone metabolism indices in patients with chronic idiopathic neutropenia (CIN)-associated osteopenia/osteoporosis. *J Bone Miner Metab*. 2004; 22: 577-87.
32. Papadaki HA, Eliopoulos AG, Kosteas T, Gemetzi C, Damianaki A, Koutala H, et al. Impaired granulocytopoiesis in patients with chronic idiopathic neutropenia is associated with increased apoptosis of bone marrow myeloid progenitor cells. *Blood*. 2003;101:2591-600.
33. Papadaki HA, Eliopoulos GD. Enhanced neutrophil extravasation may be a contributing factor in the determination of neutropenia in patients with chronic idiopathic neutropenia of adults. *Eur J Haematol*. 1998;61:272-7.

34. Garwicz D, Palmblad J, Fadeel B. Normal levels of constitutive and death receptor-mediated apoptosis of peripheral blood neutrophils from patients with chronic idiopathic neutropenia. *Clin Immunol* 2007;122:349-55.
35. Wlodarski MW, Nearman Z, Jiang Y, Lichtin A, Maciejewski JP. Clonal predominance of CD8(+) T cells in patients with unexplained neutropenia. *Exp Hematol* 2008; 36: 293-300.
36. Papadaki HA, Stamatopoulos K, Damianaki A, Gemetzi C, Anagnostopoulos A, Papadaki T, et al. Activated T-lymphocytes with myelosuppressive properties in patients with chronic idiopathic neutropenia. *Br J Haematol* 2005;128:863-76.
37. Koumaki V, Damianaki A, Ximeri M, Pontikoglou C, Axioti F, Spanoudakis M, et al. Pro-inflammatory bone marrow milieu in patients with chronic idiopathic neutropenia is associated with impaired local production of interleukin-10. *Br J Haematol* 2006;135:570-3.
38. Papadaki HA, Damianaki A, Pontikoglou C, Pyrovolaki K, Eliopoulos DG, Stavroulaki E, et al. Increased levels of soluble flt-3 ligand in serum and long-term bone marrow culture supernatants in patients with chronic idiopathic neutropenia. *Br J Haematol* 2006;132:637-9.
39. Papadaki HA, Horwitz M, Coulocheri SA, Person RA, Benson KF, Eliopoulos GD. Low levels of serum elastase are not associated with mutations in ELA-2 elastase encoding gene in chronic idiopathic neutropenia. *Blood* 2003;101:2898-9.
40. Person RE, Li FO, Duan Z, Benson KF, Wechsler J, Papadaki HA, et al. Mutations in proto-oncogene GFI1 cause human neutropenia and target ELA2. *Nature genetics* 2003;34:308-12.
41. Buduneli N, Cogulu D, Kardesler L, Kutukculer N. Dental findings and treatment in consanguinity associated congenital chronic familial neutropenia. *J Clin Pediatr Dent* 2006;31:123-6.
42. Kyle RA, Linman JW. Gingivitis and chronic idiopathic neutropenia: report of two cases. *Mayo Clin Proc* 1970 Jul;45(7):494-504.
43. Papadaki HA, Eliopoulos DG, Valatas V, Eliopoulos GD. Anemia of chronic disease is the more frequent type of anemia seen in patients with chronic idiopathic neutropenia of adults. *Ann Hematol* 2001;80:195-200.
44. Pontikoglou C, Liapakis G, Pyrovolaki K, Papadakis M, Bux J, Eliopoulos GD, et al. Evidence for downregulation of erythropoietin receptor in bone marrow erythroid cells of patients with chronic idiopathic neutropenia. *Exp Hematol* 2006;34:1312-22.
45. Psyllaki M, Damianaki A, Gemetzi C, Pyrovolaki K, Eliopoulos GD, Papadaki HA. Impaired megakaryopoiesis in patients with chronic idiopathic neutropenia is associated with increased transforming growth factor beta1 production in the bone marrow. *Br J Haematol* 2006;134:624-31.
46. Papadaki HA, Palmblad J, Eliopoulos GD. Non-immune chronic idiopathic neutropenia of adult: an overview. *Eur J Haematol* 2001;67:35-44.
47. Papadaki HA, Eliopoulos GD. Selective loss of peripheral blood CD45RO+ T lymphocytes correlates with increased levels of serum cytokines and endothelial cell-derived soluble cell adhesion molecules in patients with chronic idiopathic neutropenia of adults. *Ann Hematol* 1998;77:153-9.
48. Papadaki HA, Coulocheri S, Eliopoulos GD. Patients with chronic idiopathic neutropenia of adults have increased serum concentrations of inflammatory cytokines and chemokines. *Am J Hematol* 2000;65:271-7.
49. Petitti DB, Contreras R, Glowalla M, Miday R. Most severe neutropenia in individuals with no chronic condition did not result in a specific diagnosis. *J Clin Epidemiol* 2004;57:1182-7.
50. Bahl S, Vurgese T, Parappil A. Severe chronic neutropenia--a case report. *Indian J Pathol Microbiol* 2004;47 523-5.
51. Yarmohammadi H, Estrella L, Doucette J, Cunningham-Rundles C. Recognizing primary immune deficiency in clinical practice. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13:329-32.
52. Capsoni F, Sarzi-Puttini P, Zanella A. Primary and secondary autoimmune neutropenia. *Arthritis Res Ther* 2005;7:208-14.
53. Alioglu B, Avci Z, Ozyurek E, Ozbek N. Anti-D immunoglobulin-induced prolonged intravascular hemolysis and neutropenia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007;29:636-9.
54. Shah A, Diehl LF, St Clair EW. T cell large granular lymphocyte leukemia associated with rheumatoid arthritis and neutropenia. *Clin Immunol* 2009;132:145-52.
55. Burks EJ, Loughran TP, Jr. Pathogenesis of neutropenia in large granular lymphocyte leukemia and Felty syndrome. *Blood Rev* 2006;20:245-66.
56. Huh YO, Medeiros LJ, Ravandi F, Konoplev S, Jorgensen JL, Miranda RN. T-cell large granular lymphocyte leukemia associated with myelodysplastic syndrome: a clinicopathologic study of nine cases. *Am J Clin Pathol* 2009;131:347-56.
57. Frotscher B, Salignac S, Morlon L, Bonmati C, Jeulin H, Venard V, et al. [Neutropenia and/or thrombocytopenia due to acute parvovirus B19 infection]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2009;67:343-8.
58. Islam LN, Nabi AH, Rahman MM, Khan MA, Kazi AI. Association of clinical complications with nutritional status and the prevalence of leukopenia among arsenic patients in Bangladesh. *Int J Environ Res Public Health* 2004;1:74-82.
59. Glasser L, Meloni-Ehrig A, Joseph P, Mendiola J. Benign chronic neutropenia with abnormalities involving 16q22, affecting mother and daughter. *Am J Hematol* 2006;81:262-70.
60. Griffith DP, Liff DA, Ziegler TR, Esper GJ, Winton EF. Acquired copper deficiency: a potentially serious and preventable complication following gastric bypass surgery. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 2009;17:827-31.
61. Sugiura T, Goto K, Ito K, Ueta A, Fujimoto S, Togari H. Chronic zinc toxicity in an infant who received zinc therapy for atopic dermatitis. *Acta Paediatr* 2005;94:1333-5.

62. Chen SH, Hung IJ, Jaing TH, Sun CF. Gelatinous degeneration of the bone marrow in anorexia nervosa. *Chang Gung Med J* 2004;27:845-9.
63. Hirayama Y, Sakamaki S, Tsuji Y, Chiba H, Matsunaga T, Takimoto R, et al. Recovery of neutrophil count by ganciclovir in patients with chronic idiopathic neutropenia associated with cytomegalovirus infection in bone marrow stromal cells. *Int J Hematol* 2004;79:337-9.
64. Kohgo Y, Hirayama Y, Matsunaga T, Kato J, Sakamaki S, Niitsu Y. Chronic idiopathic neutropenia associated with abnormal expression of granulocyte colony-stimulating factor mRNA of bone marrow stromal cells. *Int J Hematol* 1994;59:177-80.
65. Nadeau KC, Callejas A, Wong WB, Joh JW, Cohen HJ, Jeng MR. Idiopathic neutropenia of childhood is associated with Fas/FasL expression. *Clin Immunol* 2008;129:438-47.
66. Heymann GA, Ahrens N, Lun A, Salama A. Novel point mutations of the G-CSF gene in a patient with neutropenia. *Am J Hematol* 2009;84:465-6.
67. Papadaki HA, Pontikoglou C, Stavroulaki E, Eliopoulos DG, Mavroudi I, Spanoudakis M, et al. Soluble c-kit ligand production by bone marrow stromal cells is independent of the degree of neutropenia in patients with chronic idiopathic neutropenia. *Ann Hematol* 2006;85:170-3.
68. Papadaki HA, Pontikoglou C, Eliopoulos DG, Pyrovolaki K, Spyridaki R, Eliopoulos GD. *Helicobacter pylori* infection is probably the cause of chronic idiopathic neutropenia (CIN)-associated splenomegaly. *Am J Hematol* 2006;81:142-4.
69. Papadaki HA, Pontikoglou C, Stavroulaki E, Minadakis G, Eliopoulos DA, Pyrovolaki K, et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* infection and monoclonal gammopathy of undetermined significance in patients with chronic idiopathic neutropenia. *Ann Hematol* 2005;84:317-20.
70. Coppo P, Ghez D, Fuentes V, Bengoufa D, Oksenhendler E, Tribut B, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibody-associated neutropenia. *Eur J Intern Med* 2004;15:451-9.
71. Welte K, Zeidler C. Severe congenital neutropenia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23:307-20.

