

کرایوگلوبولینمیا از دیدگاه بالینی و آزمایشگاهی

● دکتر ناهید نصیری

دکترای تخصصی خون شناسی، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی شیراز

● دکتر حبیب اله گل افشان

دکترای علوم آزمایشگاهی، دکترای تخصصی خون شناسی، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی شیراز

golafshanh@sums.ac.ir

چکیده

کرایوگلوبولین ها ایمنوگلوبولین هایی هستند که در حرارت زیر ۳۷ درجه سانتی گراد رسوب می کنند. تایپ یک کرایوگلوبولین تنها از یک ایزوتایپ IgM منوکلونال شکل گرفته در حالی که تایپ های ۲ و ۳ در گروه کرایوگلوبولین های مخلوط IgG و IgM قرار می گیرند. بدخیمی های لنفوپرولیفراتیو، عفونت ها به ویژه هپاتیت C و بیماری های اتوایمیون از علل ایجاد کرایوگلوبولین ها هستند. واسکولیت، آرترالژی، ضایعات پوستی، اختلالات نورولوژیک و درگیری کلیه از عوارض کرایوگلوبولین ها هستند.

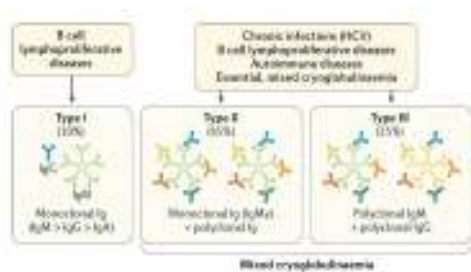
کلید واژه: کرایوگلوبولین، هپاتیت C، واسکولیت، بدخیمی های لنفوپرولیفراتیو

کرایوگلوبولین ها ایمنوگلوبولین هایی هستند که در حرارت زیر ۳۷ درجه رسوب کرده و در ۳۷ درجه محلول می شوند. کرایوگلوبولین در موارد بالینی گوناگونی از قبیل اختلالات هماتولوژیک، عفونت های ویروسی به ویژه هپاتیت C و بیماری های خود ایمن یافت می شوند. در واسکولیت ناشی از کرایوگلوبولین (CG) امکان دارد تمام منبع کمپلکس های کرایو روی دیواره عروق رسوب کرده و با جواب منفی آزمایشگاه روبرو شویم و در این موارد چک کردن سریال آزمایش CG (کرایوگلوبولین) لازم است (۱). از دیرباز کرایوگلوبولین در سه دسته یا تایپ یک، دو و

سه تقسیم بندی گردیده است.

تایپ یک به یک ایزوتایپ یا کلاس ایمنوگلوبولین غالباً از جنس IgM اشاره دارد که بیشتر در رابطه با اختلالات هماتولوژیک مانند مالتیپل میلوما (MM)، ماکروگلوبولینمی والدنشتروم، گاماپاتی منوکلونال با اهمیت ناشناخته (MGUS)، لوسمی مزمن لنفوسیتیک (CLL) و لنفوم غیر هوچکین لنفوسیت های B همراهی دارد.

تایپ های دو و سه کرایوگلوبولین از ایمنوگلوبولین های IgM و IgG شکل گرفته اند و از این رو به آن ها تایپ های مخلوط (Mixed) گفته می شود و به طور ویژه جزء IgM فعالیت فاکتور روماتوئید و توانایی ایجاد کمپلکس دارد. تایپ ۲ از مجموعه IgM منوکلونال و IgG پلی کلونال در حالی که تایپ ۳ هر دو جزء IgM و IgG پلی کلونال هستند (۲).



شکل ۱. تایپ های مختلف کرایوگلوبولین در اختلالات لنفوپرولیفراتیو، بیماری های ویروسی و بیماری های خودایمن



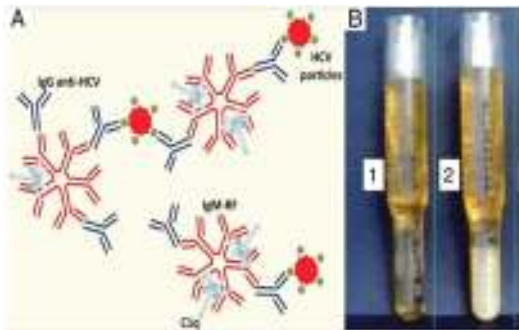
جدول ۱. دلایل اصلی کرایوگلوبولینمی

Type of CG	%	Main causes
Type I CG	10%	Paraneoplastic disorders: SCL, MM, MGUS, CLL, DLBCL
Type II CG	8%	HCN
Type III CG	2%	(in 50% of MG)

- All diseases: Sjogren's Syndrome, antibody type IgG, SLE and RA
- Non-HCV causes: HFE, HFE/BCV combination, HIV disease, HFE/LSM
- Other infectious causes: Bacteria or parasites, other viruses *
- In MM, usually type R-LCL
- Idiopathic or essential MG: 10% of cases

CG: cryoglobulinemia; H: haemorrhagic; SLE: Systemic Lupus Erythematosus; DL: Diffuse Large B-cell Lymphoma; MM: Multiple Myeloma; MGUS: Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance; CLL: Chronic Lymphocytic Leukemia; B-ALL: B Cell Precursor B-cell Lymphoma; HCV: Hepatitis C Virus; HIV: Human Immunodeficiency Virus; HFE: Hepatic Erythrocytosis; LSM: Lymphoproliferative Syndrome; H-ANU: H-anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody; ANU: Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibody (S, P, M, O, I, H)

سلول‌های B است و علایم ریوی (Pneumology) آن شامل بیماری میان بافتی (Interstitial) ریوی است.



شکل ۲. هیپاتیت C از علت‌های شایع کرایوگلوبولینمی مخلوط است. رسوب کمپلکس‌های IgM و IgG عوارض گوناگون پوستی و عروقی را ایجاد می‌کند

ویژگی‌های خاص کرایوگلوبولین تایپ یک انسداد عروقی ناشی از رسوب کرایوگلوبولین است. پورپورا، پدیده ریناد، گانگرن اندام‌های انتهایی و نوروپاتی محیطی از علایم مهم است.

به ندرت مشکلات کلیوی و لیپودور تیکولاریس مشاهده شده است. مقدار کرایوکریت معمولاً بالای ۵ درصد و ممکن است بالغ بر ۵۰ درصد گردد و امکان ایجاد هایپروویسکوزیته بیشتر از 4cp وجود دارد که با کاهش بینایی، خون دماغ، سردرد و گیجی تظاهر می‌کند.

کرایوگلوبولین مخلوط در حدود ۲۵ درصد از مبتلایان به لوپوس و ۱۰ درصد بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید گزارش شده است. حدود ۵ تا ۲۰ درصد بیماران مبتلا به شوگرن (Sjogren s) اولیه ممکن است دارای تایپ ۲ کرایوگلوبولین باشند و این همراهی ممکن است با تظاهرات خارج از غده‌ای (Extraglandular) از قبیل واسکولیت سیستمیک و لنفوم سلول‌های B همراه شود (۴).

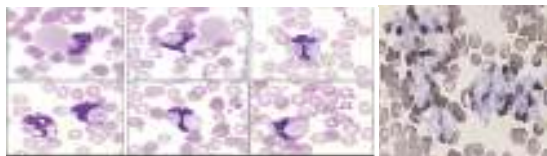
در مطالعه‌ای که در ایتالیا بر روی ۱۲۵۵ بیمار با علایم سیستمیک واسکولیت در ارتباط با HCV انجام گردید نشان داده شد که این بیماران ۳۵ بار بیشتر نسبت به بیماران بدون کرایوگلوبولینمی احتمال ابتلا به لنفوم سلول‌های B غیرهوچکین دارند.

حدود ۴۰ تا ۶۰ درصد مبتلایان به HCV دارای کرایوگلوبولینمی مخلوط هستند و تنها حدود ۵٪ از این بیماران مبتلا به واسکولیت می‌شوند. گفتنی است که حضور کرایوگلوبولینمی در هیپاتیت C همراهی بیشتری با سیروز و فیبروز کبدی دارد. حدود ۷ تا ۱۷ درصد مبتلایان به HIV دارای کرایوگلوبولینمی بوده و در عفونت‌های همزمان HIV/HCV شانس مثبت شدن کرایو به ۳۵ تا ۶۴ درصد می‌رسد. حدود ۲ درصد موارد واسکولیت ناشی از کرایو در ارتباط با هیپاتیت B است (۳).

مدل مطالعه شده تایپ ۲ کرایوگلوبولینمی مربوط به هیپاتیت C است. پروتئین E2 پوشش غشایی ویروس به گیرنده CD81 که یک پروتئین عرض غشایی لنفوسیت‌های B است می‌چسبند. این گیرنده در ارتباط و کمپلکس با گیرنده‌های CD19 و CD21 است. ویروس از طریق همین پروتئین به هیپاتوسیت‌ها نیز متصل می‌شود. تکثیر ویروس در سلول‌های تک هسته‌ای CD19 مثبت مشاهده شده است. با اتصال ویروس به سلول‌های لنفوسیت و فعال شدن آن‌ها توسعه پلی کلونال رخ می‌دهد. از ویژگی این تایپ از کرایوگلوبولین حضور لنفوسیت‌هایی است که IgM منوکلونال تولید می‌کنند که خاصیت فاکتور روماتوئید برای IgG پلی کلونال دارد که در نهایت به پروتئین‌های مرکزی ویروس اتصال می‌یابند (۱).

تکثیر لنفوسیت‌ها و فعال شدن آن‌ها در هیپاتیت C علایم روماتولوژی مانند واسکولیت و سندرم سیکا را به دنبال دارد. علایم اندوکرینولوژی سندرم ویروسی شامل دیابت اتوایمیون و التهاب تیروئید خودایمن (Autoimmune thyroiditis) است. علایم هماتولوژی شامل کم خونی همولیتیک، ترومبوسیتوپنی و لنفوم

شدن سرم برای کرایوگلوبولین صورت می‌گیرد. آزمایش‌های اتوایمیون، وضعیت بیمار از نظر ویروس‌های هپاتیت و HIV و لنفوم‌های خانواده سلول B مدنظر قرار می‌گیرند.



شکل ۴. گستره محیطی در کرایوگلوبولینمی ممکن است رسوب کرایو را به صورت توده‌های آبی رنگ خارج و داخل سلول‌های فاگوسیت کننده نشان دهد

برای آزمایش کرایوگلوبولین ۱۰ تا ۲۰ سی سی نمونه خون بیمار در لوله بدون ضدانعقاد که از قبل به دمای ۳۷ درجه رسیده است تهیه شده و سفارش می‌شود که محل خونگیری با حوله گرم شده قبل از خونگیری گرم شود. رعایت زنجیره گرما مهم است زیرا در این مرحله کرایوگلوبولین‌ها در دمای کمتر از ۳۷ درجه سانتی‌گراد روی گلبول‌های قرمز رسوب کرده و جواب منفی کاذب می‌دهند. نمونه خون بدون وقفه در حرارت ۳۷ درجه به مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه قرار داده می‌شود تا لخته شود. نمونه لخته شده با دور ۳۰۰۰-۲۵۰۰ برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شود تا سرم شفاف تهیه شود. بهتر است که داخل سانتریفیوژ نیز با حوله داغ گرم شود. سرم تهیه شده در لوله مدرج وینتروب یا لوله معمولی ریخته و در دمای ۴ درجه یخچال قرار داده می‌شود. چنانچه آزمایش مثبت شود رسوب سفید رنگی بعد از ۳ تا ۷ روز از نگهداری در یخچال در ته لوله مشاهده می‌شود. لوله مدرج در سانتریفیوژ یخچال دار قرار داده و کرایوکریت (Cryocrit) محاسبه می‌شود. کرایوکریت شبیه به هماتوکریت محاسبه می‌شود بدین مفهوم که حجم فشرده شده رسوب سفید رنگ بر مبنای درصد محاسبه می‌شود. چنانچه لوله مدرج در دسترس نیست لوله آزمایش را مخلوط کرده تا رسوب یکنواخت شود و با استفاده از لوله کاپیلاری کرایوکریت محاسبه می‌شود. در افراد نرمال مقدار کرایوکریت نزدیک به صفر است و مقادیر بیش از نیم تا یک درصد دارای اهمیت بالینی است. از رسوب کرایو می‌توان



شکل ۳. واسکولیت و التهاب عروق ناشی از رسوب کرایو در دیواره عروق است. فعال شدن کمپلمان بر شدت ضایعات پوستی می‌افزاید

با توجه به اینکه کرایوگلوبولین‌های تایپ ۲ و ۳ خاصیت فاکتور روماتوئید دارند ایجاد کمپلکس‌های ایمنی کرده و فعال شدن کمپلمان را در پی دارند. التهاب عروق ریز تا متوسط (Vasculitis) با سه تایی پورپورا، خستگی و آرترالژی (Meltzer triad) بروز می‌کند. گاهی یک مجموعه از علائم بالینی شامل زخم‌های پوستی، نوروپاتی محیطی، گلومرولونفریت، هپاتیت، سندرم سیکا، هماجوری، پروتئینوری، سندرم هایپر ویسکوزیته، اختلالات غدد درون‌ریز و بیماری‌های قلبی عروقی گزارش شده است. آزمایشگاه کاهش سطح کمپلمان C4، مثبت شدن فاکتور روماتوئید و کرایوکریت بیشتر از ۵ درصد را نشان می‌دهد. کرایوکریت بیشتر از نیم تا یک درصد یا غلظت کرایوی بیشتر از ۲ تا ۵ میلی گرم در دسی لیتر حائز اهمیت بالینی است (۵).

□ تشخیص کرایوگلوبولینمی

تشخیص کرایوگلوبولینمی با تظاهرات بالینی و مثبت





شکل ۵. آزمایش مثبت کرایوگلوبولین

بایستی با قرار دادن در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد محلول گردد

برای تعیین تایپ استفاده کرد که برای این کار نیاز به روش ایمنوالکتروفورز و ایمنوفیکساسیون است. لوله‌ای که حاوی رسوب مثبت است بایستی در ۳۷ درجه قرار داده شده و بایستی شاهد حل شدن و شفاف شدن سرم بود، در غیراین صورت ممکن است رسوب فیبرین با کرایو اشتباه شده باشد (۲).

References:

- 1- Alejandro Fuentes, Claudia Mardones, Paula I. Burgos. *Understanding the Cryoglobulinemias. Current Rheumatology Reports (2019) 21:60.*
- 2- Roccatello D, Saadoun D, Ramos-Casals M, Tzioufas AG, Fervenza FC, Cacoub P, et al. *Cryoglobulinaemia. Nat Rev Dis Prim [Internet]. 2018;4(1):11.*
- 3- esbois AC, Cacoub P, Saadoun D. *Cryoglobulinemia: An update in 2019. Joint Bone Spine [Internet]. 2019 Feb 4.*
- 4- Dammacco F, Lauletta G, Russi S, Leone P, Tucci M, Manno C, et al. *Clinical practice: hepatitis C virus infection, cryoglobulinemia and cryoglobulinemic vasculitis. Clin Exp Med [Internet]. 2019;19(1):1–21.*
- 5- Marson P, Monti G, Montani F, Riva A, Mascia MT, Castelnovo L, et al. *Apheresis treatment of cryoglobulinemic vasculitis: A multicentre cohort study of 159 patients. Transfus Apher Sci [Internet]. 2018;57(5):639–45.*