

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ
ORIGINAL ARTICLES

КЛИНИЧНО ЗНАЧЕНИЕ НА ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА КРИОГЛОБУЛИНИТЕ

М. Николова¹, М. Балева² и К. Николов³

¹Катедра по вътрешни болести, Медицински университет – София

²Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, Медицински университет – София

³Клиника по клинична имунология, УМБАЛ „Александровска” – София

CLINICAL SIGNIFICANCE OF THE INVESTIGATION OF CRYOGLOBULINS

M. Nikolova¹, M. Baleva² and K. Nikolov³

¹Department of Internal Medicine, Medical University – Sofia

²Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, Medical University – Sofia

³Clinic of Clinical Immunology, University Hospital Alexandrovska – Sofia

| | |
|---------------------------------|--|
| Резюме: | <p>Криоглобулините представляват имуноглобулини, които имат свойството да преципитират обратимо или да образуват гел при по-ниски температури. Ние изследвахме количеството и състава на криоглобулините при болни със системен лупус (СЛЕ), склеродермия, синдром на Рейно, дермато-/полимиозит. Най-висока бе средната стойност на този показател при болните със системен лупус и със склеродермия. При болните с лупусна нефропатия средните нива на криоглобулините бяха по-високи от тези без нефропатия ($p < 0,002$). При тях нивата на криоглобулините показаха връзка с наличието на орални улцерации, с броя критерии за поставяне на диагнозата СЛЕ, с нивата на СУЕ, корелация с нивата на SLEDAI и SLICC и обратна корелация с нивата на общия белтък, албумина, с нивата на С3 и С4. Динамичното проследяване на нивата на криоглобулините при болни с лупусна нефропатия показва намаление, като до шестия месец от наблюдението процентът на болните с положителните резултати спада от 15,9% на 7,9%, на 12-ия месец е 5,9%, а на 24-ия месец – никой от наблюдаваните болни няма данни за повишени криоглобулини. В криопреципитата при лупус се установяват IgG, IgA, IgM, к- и л- вериги, ANA, DNA, Sm и RNP антитела. Обсъжда се диагностичната стойност на определянето на криоглобулините.</p> |
| Ключови думи: | криоглобулини, системен лупус, лупусна нефропатия |
| Адрес за кореспонденция: | <i>Проф. д-р Марта Балева, дмн, Клиника по клинична имунология, УМБАЛ „Александровска”, ул. „Св. Г. Софийски” № 1, 1431 София, e-mail: marta_baleva@yahoo.com</i> |
| Summary: | <p>Cryoglobulins are immunoglobulins that undergo reversible precipitation or gel formation at low temperatures. We investigated the levels and contents of cryoglobulins found in patients with systemic lupus erythematosus (SLE), scleroderma, Raynaud phenomenon, dermato/polymyositis. The highest cryoglobulin levels were detected in patients with SLE and scleroderma. In SLE patients their levels were higher in those with lupus nephritis than in patients without renal involvement ($p < 0.002$). In patients with lupus nephritis, positive cryoglobulins correlated with the presence of oral ulcerations, the number of criteria used for the diagnosis of SLE, ESR levels, SLEDAI and SLICC, and showed reverse correlation with total protein and albumin levels, C3 and C4 complement fractions. The dynamic follow-up of cryoglobulin levels in lupus nephritis patients revealed a gradual decrease over time. The percentage of</p> |

| | |
|--|---|
| <p>Key words:</p> <p>Address for correspondence:</p> | <p>patients with positive cryoglobulins decreased from 15.9% at the initial investigation to 7.9% at month 6, were as low as 5.9% at month 12, and on month 24 none of the investigated patients had high cryoglobulin levels. The following components were detected in the cryoprecipitate of the SLE patients: IgG, IgA, IgM, κ and λ light chains, ANA, DNA, Sm and RNP antibodies. The authors discuss the diagnostic value of cryoglobulins.</p> <p>cryoglobulins, systemic lupus, lupus nephritis</p> <p><i>Prof. Marta Baleva, MD, DSc, Department of Clinical Immunology, University Hospital "Aleksandrovska", 1, Sv. G. Sofiyski St., Bg – 1431 Sofia</i></p> |
|--|---|

Криоглобулините представляват имуноглобулини, които имат свойството да преципитират обратимо или да образуват гел при по-ниски температури [4]. За пръв път белтъци, преципитирани при ниска температура, са описани от P. Wintrobe и M. Buell [34] през далечната 1933 г., а са наречени криоглобулини от A. Lerner и C. Watson [24] през 1947 г. Описани са следните степени на криоглобулинемия:

1. Следи – концентрация до 6 mg%, преципитатът се оформя за 2-6 дни.
2. Концентрация 6-25 mg%, преципитатът се оформя за 1 ден.
3. Концентрация над 25 mg%, преципитатът се оформя непосредствено след охлаждане и дори при стайна температура.

КЛАСИФИКАЦИЯ НА КРИОГЛОБУЛИНИТЕ

А. Имунологична класификация [21, 26, 32, 33]:

1. Съдържащи моноклонални имуноглобулини – IgG, IgA, IgM, леки вериги.
2. Смесени с моноклонален компонент (смесена криоглобулинемия) – от моноклонален (обикновено IgM и по-рядко IgG или IgA) и поликлонален компонент (най-често IgG).
3. Смесени поликлонални (смесена криоглобулинемия) – съставени от един или повече поликлонални имуноглобулини и понякога неимуноглобулинови молекули като фибронектин, липопротеини, С3 и др.

Б. Клинична класификация [26]:

1. Вторични – при имунопролиферативни болести – левкемия, макроглобулинемия, плазмозитом, инфекциозни заболявания – мононуклеоза, цитомегаловирус, малария, лайшманиоза, лепра, сифилис, бруцелоза, бактериален ендокардит; при автоимунни болести – лупус, ревматоиден артрит, хемолитична анемия; саркоидоза; други заболявания.

2. Първични (есенциални, идиопатични) – синдром на Lo Spaluto-Meltzer, безсимптомни форми.

ЗАБОЛЯВАНИЯ, ПРИ КОИТО СЕ ДОКАЗВА КРИОГЛОБУЛИНЕМИЯ

Най-честите клинични симптоми на криоглобулинемията са пурпурата (97%) и артралгията (51%) [21]. За пръв път криоглобулини при болни със системен лупус (СЛЕ) са описани през 50-те години на миналия век [по 29]. В тях са установени IgG и IgM [19, 31], комплемент и ANA [31]. Наличието им се свързва с бъбречна увреда [10].

Освен при СЛЕ криоглобулини се доказват при голям брой други автоимунни болести – ревматоиден артрит [12], нодозен полиартериит, васкулит на Schönlein-Henoch [7], синдром на Raynaud [5], синдром на Sjögren и др.; инфекциозни (вирусен хепатит, мононуклеоза, цитомегаловирусна инфекция, инфекциозен ендокардит, постстрептококов гломерулонефрит, сифилис, лаймска болест, паразитози) и неопластични заболявания (макроглобулинемия, хронична лимфолевкоза, лимфоми и др.), както и при някои други състояния: студова уртикария [5], хронични чернодробни заболявания, саркоидоза и др. [4, 5, 8, 11, 13, 14, 15, 22, 23]. Много често се свързват с наличието на хронична хепатит С-вирусна инфекция, при която се описва постепенен преход от поли- към олиго- и моноклонална гамопатия [8, 11, 13, 14, 15]. При тези пациенти в състава на криоглобулините най-често влизат антитела към IgG (т.е. ревматоиден фактор). Поради това някои автори [8, 11, 13, 14, 15] считат, че криоглобулинемията представлява пренеопластично състояние, преход между автоимунните и лимфопрлиферативните заболявания.

При болни без клинична симптоматика, но с положителни криоглобулини е направено 17-годишно проучване, като е установено, че за този период 37% от болните заболяват от мембранопролиферативен гломерулонефрит, 50% умират от бъбречна недостатъчност, 11% – от лимфопрлиферативни болести, а от останалите 40% – двама са безсимптомни, а останалите

имат ревматична пурпура [21]. Други автори не намират корелация между концентрацията и състава на криоглобулините и промените в бъбречната морфология [17].

МЕТОДИ ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КРИОГЛОБУЛИНИТЕ, СТОЙНОСТИ ПРИ ЗДРАВИ ЛИЦА

Отделянето на криопреципитата според различните автори изисква различно дълго време: 72 ч [17, 27], 4-5 дни [30], 7 дни [7, 12], на всеки три дни в продължение на 15 дни [9]. Отчитането става най-често при дължина на вълната 280 nm, като се препоръчва и определянето на имуноглобулините и фракциите на компонента в криопреципитата [9, 17, 27, 28]. При здрави лица нивата на серумните криоглобулини по наши данни са $0,041 \pm 0,024$ OD₂₈₀. Ние предлагаме следната петстепенна скала за отчитане на стойностите на криоглобулините при дължина на вълната (OD) 280 nm (E₂₈₀ nm):

Отрицателни – до 0,100 OD

1+ положителни – от 0,100 до 0,200 OD

2+ положителни – от 0,200 до 0,300 OD

3+ положителни – от 0,300 до 0,400 OD

4+ положителни – над 0,400 OD.

НАШИ ДАННИ ПРИ ОПРЕДЕЛЯНЕТО НА КОЛИЧЕСТВОТО И СЪСТАВА НА КРИОГЛОБУЛИНИТЕ

Средните стойности на серумните криоглобулини, отчетени при E₂₈₀ nm (OD) са представени на табл. 1.

Таблица 1. Серумни криоглобулини при изследваните пациенти

| Група | X ± SD |
|----------------------------------|---------------|
| Здрави (24) | 0,041 ± 0,024 |
| СЛЕ (24) | 0,326 ± 0,263 |
| СЛЕ с данни за нефропатия (63) | 0,18 ± 0,18 |
| СЛЕ без данни за нефропатия (43) | 0,09 ± 0,08 |
| Синдром на Raynaud (17) | 0,250 ± 0,200 |
| Поли- и дерматомиозит (21) | 0,180 ± 0,105 |
| Склеродермия (20) | 0,305 ± 0,120 |
| Ревматоиден артрит (22) | 0,205 ± 0,100 |

При здравите лица средната стойност на криоглобулините е $0,041 \pm 0,024$. При три стандартни отклонения приехме за горна граница на нормалните стойности 0,1 OD [1]. Изследваните болни имат високи стойности на серумните криоглобулини по отношение на здравите лица ($p < 0,001$), като най-висока бе средната стойност при болните със системен лупус и със склеродермия. При изследваните от нас болни със

СЛЕ повишени серумни криоглобулини доказахме при 10/63 (15.9%) болни с лупусен нефрит (ЛН) и при 4/43 (9.3%) от болните без бъбречно засягане ($p = 0.004$) [2]. При болните с ЛН средните нива на криоглобулините бяха по-високи от тези без нефропатия ($p < 0,002$). При тях нивата на криоглобулините показаха връзка с наличието на орални улцерации (средна стойност при болните с орални улцерации 0.38 ± 0.30 , средна стойност при болните без орални улцерации като критерий за поставяне на диагнозата СЛЕ 0.16 ± 0.14 , $r = 0.394$, $p = 0.01$), с броя критерии за поставяне на диагнозата СЛЕ ($r = 0.488$, $p = 0.0001$), обратна корелация с нивата на общия белтък и албумина ($r = -0.400$ и $r = -0.399$, $p = 0.001$), обратна корелация с нивата на С3 компонента ($r = -0.328$, $p = 0.009$) и С4 компонента ($r = -0.408$, $p = 0.001$), корелация с нивата на СУЕ ($r = 0.492$, $p = 0.0001$) и слаба обратна корелация с нивата на IgG ($r = -0.387$, $p = 0.002$), корелация с нивата на SLEDAI ($r = 0.634$, $p = 0.0001$), SLICC/ACR ($r = 0.383$, $p = 0.02$) и слаба корелация с развитието на тромботични усложнения (средна стойност при болните с тромботични усложнения 0.26 ± 0.23 в сравнение с 0.13 ± 0.10 OD при тези без тромботични усложнения ($r = 0.354$, $p = 0.04$), корелация с наличието на инфекция (средна стойност при болни с инфекциозни усложнения 0.25 ± 0.21 , без усложнения -0.13 ± 0.13 OD ($r = 0.321$, $p = 0.01$)).

Динамичното проследяване на нивата на криоглобулините при болни с ЛН показа че тяхното ниво намалява, като до шестия месец от наблюдението процентът на болните с положителните резултати спада от 15,9 на 7,9%, на 12-ия месец е 5,9%, а на 24-ия месец никой от наблюдаваните болни няма данни за повишени криоглобулини.

СЪСТАВ НА КРИОГЛОБУЛИНИТЕ

В криопреципитата на здрави хора не бяха установени имуноглобулини и фракции на компонента. При болните от СЛЕ преобладават тези с IgG в криопреципитата (44%), следвани от тези с IgG + IgA (15%), IgM (5%), IgG + IgA + IgM (5%). При всички изследвани болни криоглобулинемията е с поликлонален характер, т.е. има както κ-, така и λ-вериги. Средната концентрация на IgG при 16 лупусно болни беше $6,08 \pm 6$ mg%, на IgM – $1,73 \pm 1,6$ mg%, на IgA – $0,7 \pm 0,66$ mg%. Средните концентрации на С3 и С4 са твърде ниски.

При болните от СЛЕ паралелно изследвахме ANA, DNA, Sm и RNP антителата в серума и в криопреципитата. При здравите антитела не бяха

ха открити нито в серума, нито в преципитатите. Резултатите са представени на табл. 2.

Таблица 2. ANA, DNA, Sm и RNP антитела в серум и криопреципитат на болни със СЛЕ

| | Серум | Криопреципитат |
|----------|-------|----------------|
| ANA | 77% | 39% |
| DNA | 84% | 79% |
| Sm и RNP | 33% | 5% |

ОБСЪЖДАНЕ

Определянето на криоглобулините е един от най-старите методи за имунологична характеристика на автоимунните заболявания. От изследваните от нас групи болни най-високи бяха стойностите на криоглобулините при болни от СЛЕ. Наличието на криоглобулини при болни от системен лупус често се свързва с бъбречна увреда [9]. Нашите данни показват, че при болните с ЛН стойностите на криоглобулините са двойно по-високи от тези при болните без лупусна нефропатия. По-високата активност на лупуса също се свързва с по-високи нива на серумните криоглобулини. Този факт се изтъква и от други автори [29]. При болните със СЛЕ най-често се откриват тип III криоглобулини [4] – съставени от един или няколко класа поликлонални имуноглобулини, по-рядко съдържащи и неимуноглобулинови молекули, като фибронектин, липопротеини, С3 и др. Според някои автори [16, 20, 29] повишените серумни криоглобулини при СЛЕ са маркер за активност на болестта, наличие на бъбречно засягане и активност на ЛН (корелират позитивно със серумното ниво на креатинина, систолното и диастолното артериално налягане, бърза прогресия на ЛН до хронична бъбречна недостатъчност), свързани са с развитие на кожен васкулит, по-често се доказват при лупусно болните с хроничен вирусен хепатит С, ревматоиден фактор и хипокомplementемия. Според други изследователи [3] обаче честотата на доказване на повишени криоглобулини при болните с ЛН е съпоставима с тази в общата популация лупусно болни, а според М. Grippenberg и сътр. [18] нивото на криоглобулините корелира с активността на болестта, но не и с бъбречния процес.

Според нашите данни криоглобулините при системния лупус са от смесен поликлонален тип, тъй като са представени и трите основни класа имуноглобулини – IgG, IgA и IgM, като при всички изследвани болни установихме както κ-, така и λ-вериги. Такива са данните и на други автори [18, 19].

Изследвахме антителата в криопреципитата, тъй като в литературата има само единични случаи на описание на антителния състав [18], от една страна, а от друга – не е ясна ролята на този феномен при развитието на болестта. Ние установихме, че антителата срещу нуклеарни антигени се намират по-често в серума и по-рядко в криопреципитата. Най-често в криопреципитата откривахме DNA антитела – 79%, следвани от ANA – 39%, и Sm антитела – 5%. Наличието им в криопреципитата едновременно с имуноглобулини и фракции на комплемента потвърждава тезата, че криоглобулините са вид имунни комплекси [7]. Има становище, че подобно на имунните комплекси те също се произвеждат непрекъснато в организма [25] и се извеждат от клетките на моноцитно-макрофагната система. Натрупването им е резултат или от свръхпродукция, или от затруднено отстраняване, причините за които вероятно са сходни с тези при нарушената елиминация на имунните комплекси.

В заключение изследването на криоглобулините и техния състав при болни с автоимунни заболявания и особено при системен лупус е един допълнителен тест, чрез който могат да се получат данни както за участието на имунната система в развитието на болестта, така и за стадия на болестта.

Библиография

1. Б а л е в а , М. Показатели на хуморалния имунитет при системния лупус еритематозус – съвременни методи за определяне и анализ на диагностичната им стойност. Докт. дис., С., 1994.
2. Н и к о л о в а - В л а х о в а , М. Диагностична и прогностична стойност на някои показатели на имунния отговор при пациенти с различни форми на гломерулонефрит. Дисерт., С., 2000.
3. Р а ш к о в , Р. Проучване на болните с тежко протичане в различни групи със системен лупус еритематодес. Докт. дис., С., 2004.
4. Р е в м а т и ч е с к и е б о л е з н и . Под редакция В. А. Насоновой и Н. В. Бунчука. Москва, Медицина, 1997.
5. С а в о в а , Й. Същност, честота и значение на криоглобулините в дерматовенерологията. Дис., Пловдив, 1981.
6. B r o u e t , J. C. et al. Biologic and clinical significance of cryoglobulins: a report of 86 cases. – Am. J. Med., 57, 1974, 775-788.
7. C r e a m , J. J. Cryoglobulins and vasculitis. – Clin. Exp. Immunol., 10, 1972, № 1, 117-126.
8. D a m m a c c o , F. et al. The lymphoid system in hepatitis C virus infection: autoimmunity, mixed cryoglobulinemia, and overt B-cell malignancy. – Semin. Liver Dis., 20, 2000, 143-157.
9. D r u e t , P. et al. Cryoglobulinemia in human renal disease. A study of 76 cases. – Clin. Exp. Immunol., 15, 1973, 483-496.
10. D u f f y , K. N., C. M. Duffy et D. D. Goldman. Infection and disease activity in SLE: A review of hospitalized patients. – J. Rheumatol., 18, 1991, 1180-1184.

11. Eng, M. A., U. Kallemmuchikkal et P. D. Gorevic. Hepatitis C virus, autoimmunity and lymphoproliferation. – Mt Sinai J. Med., 67, 2000, 120-132.
12. Erhardt, C. C., P. Mumford et R. N. Maini. The association of cryoglobulinemia with nodules, vasculitis and fibrosing alveolitis in rheumatoid arthritis and their relationship to serum C1q binding activity and rheumatoid factor. – Clin. Exp. Immunol., 38, 1979, № 3, 405-413.
13. Ferri, C. et al. Mixed cryoglobulinaemia: a cross-road between autoimmune and lymphoproliferative disorders. – Lupus, 7, 1998, 275-279.
14. Ferri, C. et A. L. Zignego. Relation between infection and autoimmunity in mixed cryoglobulinemia. – Curr. Opin. Rheumatol., 12, 2000, 53-60.
15. Ferri, C., A. L. Zignego et S. A. Pileri. Cryoglobulins. – J. Clin. Pathol., 55, 2002, 4-13.
16. Garcia-Carrasco, M. et al. Cryoglobulinemia in systemic lupus erythematosus: prevalence and clinical characteristics in a series of 122 patients. – Semin. Arthritis Rheum., 30, 2001, 366-373.
17. Garin, E. H. et al. Clinical significance of the presence of cryoglobulins in patients with glomerulonephritis not associated with systemic disease. – Clin. Nephrol., 13, 1980, № 1, 5-11.
18. Grippenbergh, M. et al. Antibody activity of cryoglobulins and sera in systemic lupus erythematosus. – Scand. J. Rheumatol., 17, 1988, № 4, 249-254.
19. Hanauer, L. B. et C. L. Christian. Studies of cryoproteins in systemic lupus erythematosus. – J. Clin. Invest., 46, 1967, № 3, 400-408.
20. Howard, T. W. et al. Rheumatoid factor, cryoglobulinemia, anti-DNA, and renal disease in patients with systemic lupus erythematosus. – J. Rheumatol., 18, 1991, 826-830.
21. Invernizzi, F. et al. Secondary and essential cryoglobulinemia. Frequency, nosological classification and long-term follow-up. – Acta Haematol., 70, 1983, № 2, 73-82.
22. Lamprecht, P., W. H. Schmitt et W. L. Gross. Mixed cryoglobulinaemia, glomerulonephritis, and ANCA: essential cryoglobulinaemic vasculitis or ANCA-associated vasculitis. – Nephrol. Dial. Transplant., 13, 1998, 213-221.
23. Lamprecht, P., A. Gause et W. L. Gross. Cryoglobulinemic vasculitis. – Arthritis Rheum., 42, 1999, 2507-2516.
24. Lerner, A. et C. Watson. Studies of cryoglobulins. I. Unusual purpura associated with the presence of a high concentration of cryoglobulin (cold precipitable serum globulin). – Am. J. Med. Sci., 214, 1947, 410.
25. Levo, Y. Nature of cryoglobulinemia. – Lancet, 1, 1980, № 8163, 285-287.
26. Lovizetto, P. et al. Le crioglobulinemie essenziali. – Minerva Med., 70, 1979, № 57, 3882-3899.
27. McPhaul, J. J. Cryoglobulinemia in patients with primary renal disease and systemic lupus erythematosus. I. IgG and DNA binding assess by co-precipitation. – Clin. Exp. Immunol., 31, 1978, № 1, 131-140.
28. Meltzer, M. et E. Franklin. Cryoglobulinemia – a study of 29 patients. – Am. J. Med., 40, 1966, № 6, 828-836.
29. Mustakalio, K. K. et al. Cryoglobulins and rheumatoid arthritis in systemic lupus erythematosus. – Acta Dermatovenerol., 47, 1967, № 3, 241-248.
30. Nagy, J. et al. Cryoglobulinemia and cryofibrinogenemia in IgA nephropathy: a follow up study. – Nephron, 4, 1987, № 4, 337-342.
31. Stastny, P. et M. Ziff. Cold insoluble complexes and complement levels in systemic lupus erythematosus. – N. Engl. J. Med., 280, 1969, № 25, 1376-1382.
32. Tarantino, A. et al. Renal disease in essential mixed cryoglobulinemia. Long-term follow-up of 44 patients. – Q. J. Med., 50, 1981, № 197, 1-30.
33. Weber, M. et al. Rapidly progressive glomerulonephritis in IgA/IgG cryoglobulinemia. – Nephron, 41, 1985, № 3, 258-261.
34. Wintrobe, P. et M. Buell. Hyperproteinemia associated with multiple myeloma. – Bull. Johns Hopkins Hosp., 52, 1933, 156.

Постъпила за печат на 22 юли 2013 г.

ОФЕРТИ ЗА РЕКЛАМНО УЧАСТИЕ В ИЗДАНИЯТА НА ЦМБ:

1. Отпечатване на многоцветна рекламна страница:

- на корица – 720 лв.;
- в книжното тяло – 600 лв.

2. Отпечатване на черно-бяла реклама и/или текст за 1 страница – 150 лв.

3. Разпространение на готова вложка със списание – 1.00 лв./брой.

При отпечатване на повече от една реклама се правят отстъпки по договаряне.

По желание на рекламодателя многоцветните реклами могат да бъдат придружени от безплатно отпечатване на 1 страница текст след съгласуване на съдържанието му с редколегията.

Всеки рекламодател получава книжки от списанието.