

# Kryoglobuliny v souboru 3 392 monoklonálních imunoglobulinů

Tichý M.<sup>1,3</sup>, Maisnar V.<sup>2,3</sup>, Hrnčíř Z.<sup>2</sup>, Vávrová J.<sup>1</sup>, Palička V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN Hradec Králové

<sup>2</sup>II. interní klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>3</sup>Česká myelomová skupina

## SOUHRN

V práci jsou stručně uvedeny základní informace o kryoglobulinech a vlastní zkušenosti s průkazem kryoglobulinů v souboru 3392 monoklonálních imunoglobulinů. V tomto souboru bylo prokázáno 37 monoklonálních kryoglobulinů, tj. 1,07 %. Kryoprecipitace je tedy prokazována v klinické biochemii vzácně, ale ne raritně. V práci se diskutuje také o metodických postupech používaných při průkazu kryoglobulinů a autoři poukazují na potřebu jejich standardizace.

*Klíčová slova:* monoklonální imunoglobuliny, kryoglobuliny, kryoprecipitace.

## SUMMARY

**Tichý M., Maisnar V., Hrnčíř Z., Vávrová J., Palička V.: The cryoglobulins in the group of 3392 monoclonal immunoglobulins**

The publication contains basic information about cryoglobulins. The results of determination of the cryoglobulins in the group of 3392 monoclonal immunoglobulins are present. Authors proved 37 monoclonal cryoglobulins (1.07%). The publication also discusses the methods for detection and analysis of cryoglobulins.

*Key words:* monoclonal immunoglobulin, cryoglobulin, cryoprecipitation.

## Úvod

Wintrobe a Buell si v r. 1933 jako první všimli reverzibilní kryoprecipitace séra nemocného mnohočetným myelomem. Termín kryoglobulin pak poprvé použili Lerner a Watson v r. 1947. Kryoproteiny jsou sérové proteiny, které precipitují při teplotách nižších než 37 °C a při zahřátí se opět rozpouštějí. Rozeznáváme dva typy kryoproteinů, a to kryoglobuliny a kryofibrinogeny. Kryoglobuliny jsou imunoglobuliny, které precipitují v séru i v plazmě. Kryofibrinogeny precipitují jenom v plazmě a jsou tvořeny komplexy fibrinogen-fibrin [1]. Podle komponent tvořících kryoprecipitát rozdělili Brouet et al. [4] před 35 lety kryoglobuliny do tří skupin. Typ I. obsahuje jen monoklonální imunoglobulin, typ II. obsahuje směs (mix) monoklonálního a polyklonálního imunoglobulinu a typ III. obsahuje směs polyklonálních imunoglobulinů.

Klinický význam kryoglobulinémie je dán intravasculární precipitací imunoglobulinů, což může způsobit mechanickou obstrukci malých cév. Výsledkem je pak Raynaudův syndrom a imunokomplexová vaskulitida s kožními projevy, s periferní polyneuropatií a s poškozením ledvin. Typ I. bývá asociován s lymfoproliferativními onemocněními, jako jsou mnohočetný myelom a velmi často Waldenströmova makroglobulinémie. Smíšené kryoglobulinémie (typ II. a III.) jsou spojovány s onemocněními stimulujícími imunitní systém (onemocnění autoimunní, infekce a chronické záněty), jako jsou chronické hepatopatie, revmatoidní artritida a systémový lupus erythematoses. Hlavními symptomy jsou u těchto pozorování purpura, artralgie a Raynaudův syndrom [5]. Smíšená kryoglobulinémie bývá také prokazována jako extrahepatální manifestace infekce virem hepatitidy C [3].

## Materiál a metody

Předložená práce navazuje na naše předchozí sdělení v časopise Klinická biochemie a metabolismus o monoklonálních kryoglobulinech z r. 2004 [2]. Soubor monoklonálních imunoglobulinů byl rozšířen na 3392. Postup při úpravě a vyšetření sér na přítomnost monoklonálních imunoglobulinů a postup při průkazu a analýze kryoglobulinů byl totožný s postupem popsáním v naší publikaci z roku 2004.

## Výsledky

V souboru 3392 paraproteinemických sér jsme prokázali 37 monoklonálních kryoglobulinů typu I. a II. Nejčastěji (20krát) se jednalo o monoklonální IgM (17krát typu kappa, 2krát lambda a 1krát antigenní typ lehkých řetězců nebyl určen). Paraproteinů IgG s kryoprecipitačními vlastnostmi bylo zjištěno 14 (6krát kappa a 8krát lambda). Zdvojená paraproteinémie IgG-lambda + IgA-kappa byla prokázána jednou, jednou byly také prokázány kryoprecipitující monoklonální lehké řetězce lambda a 1krát smíšená kryoglobulinémie (typ II.) paraproteinu IgM-kappa s polyklonálním IgG.

Průměrná teplota kryoprecipitace byla kolem 20 °C (rozpětí od 8 °C do 35 °C). Hodnota kryokritu měla rozpětí od 5 mm až do 66 mm, v jednom pozorování gelifikoval celý obsah zkumavky. Koncentrace paraproteinů se pohybovala od 5 g/l až do 69,5 g/l. Z klinického hlediska se jednalo 17krát o Waldenströmovu makroglobulinémii, 13krát o mnohočetný myelom a 7krát o MGUS.

## Diskuse

Kryoprecipitace je jev velmi variabilní. Kryoglobuliny typu I. precipitují obvykle již do 24 hodin v ledničce. Tvoří asi jen 10 % všech kryoglobulinémií, bývají provázány hyperviskozitou a jejich koncentrace bývá vyšší než 5 g/l. Kryoglobuliny II. typu také precipitují většinou do 24 hodin, ale jejich koncentrace bývá nižší než u typu I. ( $\geq 1\text{g/l}$ ). Kryoglobuliny III. typu bývají v nízké koncentraci ( $\leq 1\text{g/l}$ ) a k jejich precipitaci je zapotřebí několika dní. Tyto rozdílné vlastnosti kryoglobulinů vedly k různým přístupům laboratoří k jejich průkazu. Demonstruje to práce Vermeersche et al. [1], která shrnuje průzkum detekce, analýzy a vydávání výsledků kryoglobulinů ve 140 laboratořích. Standardní postup, tj. odběr krve do předeřáté zkumavky, transport krve v kontejneru při 37 °C, srážení a centrifugaci při této teplotě, dodržuje jen 36 % laboratoří. Doba kryoprecipitace při 4 °C kolísá u různých laboratoří mezi 12 hod až 9 dny. Doporučená doba je nejméně 3 dny, ale lépe až 7 dní (u smíšené kryoglobulinémie III. typu). Při elektroforetickém dělení séra a typizaci monoklonálního imunoglobulinu imunofixací je důležité ošetření séra inkubací s dimerkaptoetanolem, jak to také prokazuje kazuistika autorek Čermákové a Gottwaldové v tomto časopise (s. 79–80).

Kvantifikaci kryoglobulinu uvádí část laboratoří jako kryokrit v milimetrech nebo jako koncentraci imunoglobulinu v promytém kryoprecipitátu. Některé laboratoře uvádějí jen pozitivitu nebo negativitu kryoglobulinu. Kryoprecipitace je jev prokazovaný v klinické biochemii ne příliš často, ale rozhodně nejde o jev raritní, jak dokazuje i náš soubor 37 monoklonálních kryoglobulinů. Musíme být proto na průkaz a analýzu kryoglobulinu v klinické laboratoři připraveni a postupovat při něm pokud možno standardním způsobem.

## Závěr

Standardní procedura vyšetření kryoglobulinů (návrh): v průběhu preanalytické fáze by teplota vzorku neměla klesnout pod 37 °C. Odběr krve zajistit do

předeřáté zkumavky, transport krve, její srážení a centrifugaci provádět při teplotě 37 °C. Doba kryoprecipitace při 4 °C v lednici by měla být 3–7 dní, vzorek se doporučuje napipetovat do hematokritové rourky. Po skončení precipitace provést centrifugaci v chlazené centrifuze po dobu 10 minut při 2000 ot/min a odečíst hodnotu kryokritu v mm. Kryoprecipitát je možné po několikerém promytí chladným fyziologickým roztokem analyzovat a kvantifikovat kryoglobulin. Jinak vzorek zahřejeme na 37 °C pro rozpuštění kryoprecipitátu a analyzujeme elektroforézou a imunofixací (nejlépe po ošetření s merkaptoetanolem) pro typizaci kryoglobulinu.

## Literatura

1. Vermeersch, P., Gijbels, K., Mariën, G., Lunn, R. et al. A critical appraisal of current practice in the detection, analysis and reporting of cryoglobulins. *Clin. Chem.*, 2008, 54, 1, p. 39–43.
2. Tichý, M., Hrnčíř, Z., Urban, P., Matěja, F. Monoklonální kryoglobuliny. *Klin. Biochem. Metab.*, 2004, 12 (33), 2, p. 84–87.
3. Urbánek, P. Smíšená kryoglobulinémie jako extrahepatální manifestace infekce virem hepatitidy C – editorial. *Vnitř. Lék.*, 2005, 51, 2, p. 238–243.
4. Brouet, J. C., Clauvel, J. P., Danon, F., Klein, M. et al. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. *Amer. J. Med.*, 1974, 57, p. 775–788.
5. Shihabi, Z. K. Analysis and general classification of serum cryoglobulins by capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis*, 1996, 17, 10, p. 1607–1612.

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MZO 00179906.

Do redakce došlo 18. 2. 2009.

Adresa pro korespondenci  
Prof. RNDr. Miloš Tichý, CSc.  
ÚKBD LF UK a FN Hradec Králové  
Sokolská 581  
500 05 Hradec Králové  
e-mail: tichy@fnhk.cz