

KRİYOGLOBULİNEMİ VE KLİNİK ÖNEMİ

Dr. Selim KURTOĞLU* Dr. Mustafa ÖZTÜRK**
Ecz. Rüksan ANARAT***

Ö Z E T :

Soğukta çökte özelliği bulunan serum proteini kriyoglobulin bir çok hastalıkta bulunabilir. Kriyoglobulin varlığında, soğuğa maruz kalınca özellikle ekstremitelerde damar yetersizliği belirtileri oluşur.

Bu çalışmada değişik hastalıklarda kriyoglobulin varlığı, patojenik rolü ve prognostik değeri araştırıldı. Çalışma kapsamına giren 66 hastanın 32 sinde kriyoglobulin pozitif bulundu. Pozitif hastaların 20 inde yapılan serum elektroforezinde hipergammaglobulinemi saptandı ve negatif hastalara göre istatistiksel anlamda önemli bulundu. Bu çalışmanın sonuçları, kriyoglobulinlerin gamma-globulin yapısında olduğunu, kriyopatilerde etken olması yanında, lupus eksaserbasyonu ve PSAGN takibinde yararlı olabileceğini ortaya koydu.

CRYOGLOBULINEMIA AND ITS CLINICAL IMPORTANCE

S U M M A R Y :

The pathological serum protein precipitated in cold, the cryoglobulins, can be found in different diseases. When present these proteins cause symptoms of vascular insufficiency on exposure to cold, most commonly involving the extremities.

In this study, we investigated the incidence, possible pathogenic role and prognostic value of cryoglobulins in different diseases. Analyses of the 66 patients showed 32 of them to consist of cryog-

(*) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Bilim Dalı Yardımcı Doçenti.

(**) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Bilim Dalı Doçenti

(***) Erciyes Üniversitesi Biyokimya Bilim Dalı Asistanı.

lobulins. Electrophoretic analyses of the sera of twenty patients, showed hypergamma - globulinemia and this hypergammaglobulinemia was significant when stastically analysed. The results of this study supports that the cryoglobulins may be cause of cold urticaria, cold injury and cold intolerance, the clue of lupus exacerbation and the prognostic criteria poststretococcal glomerulonephritis.

Soğutulunca çöken, ısıtılınca tekrar çözülen serum globulinleri ve globulin kompleksine kriyoglobulin denir. (3, 10, 24) Bu olayı ilk kez Wintrobe ve Buel tanımlamış, daha sonra Lerner ve Watson kriyoglobulin terimini kullanmışlardır. (3, 10, 13, 24) Sinonim olarak kriyoprotein, termoprotein, immunokriyopresipitat terimleri söylenir. (3, 4, 13)

Kriyoglobulinler çeşitli yünden ayırma tabi tutulabilirler. Belirli bir hastalıkla birlikte olup olmamasına göre primer veya sekonder kriyoglobulinemi olarak ayrılır. Primer tipine ayrıca idiopatik veya esansiyel kriyoglobulinemi denir. (17, 24) Sekonder tipi ise belli bir hastalığa eşlik eder ve esas hastalık tedavi olununca kendiliğinden kaybolur. (10)

Kriyoglobulinler immunokimyasal yapılarına göre monoklonal ve poliklonal olarak ayrılırlar. (3, 24) Kriyoglobulinemiye yol açan yapılardan biriside immun komplekslerdir.

Serum elektroforezi yapılırsa hastalarda gamma - globulin fraksiyonunda artma izlenir. (4, 11, 13) Ayrıca immun elektroforez yapılarak gerçek yapıları ortaya konabilir. (1, 24, 26) Tablo : I'de çetişli kriyobulinlerin immunolojik yapıları izlenmektedir.

TABLO I : KRIYOGLOBULİNLERİN İMMUNOLOJİK KAPSAMLARI GÖRÜLMEKTEDİR.

IgG	Ig G + Ig M + C1 Komplement
Ig M	Ig G + Ig M + α_2 M
Ig G, + Ig A	Lipoproteinler + I ₁ S
Ig G, + Ig M	Ig G + β_1 C
Ig G + Ig M + Ig A	

Normal kişilerin serumunda çok az seviyede poliklonal kriyoglobulin bulunabilmektedir (21). Kriyoglobulinler + 4°C'ta çökelirler ve 37 - 40°C'ta tam olarak çözünürler. (3) Yapılan araştırmalarda kriyoglobulinin çökmesine yardımcı olan ayrı bir serum proteini bulunduğu ortaya çıkarılmıştır. (19)

Kriyoglobulinler bir çok hastalığın teşhis, takip ve prognozunda da labortatuar metodu olarak yerleşmiştir. Bu çalışmada çeşitli hastalık gruplarında kriyoglobulinin etiolojik yeri, klinik önemi ve prognostik değeri araştırılmaya çalışıldı.

MATERYAL VE METOD :

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi çocuk ve dahiliyehiliye bölümlerinde izlenen 66 hastada kriyoglobulinemi araştırıldı. Çalışma grubuna, kollojen doku, karaciğer, böbrek, kronik ve ağır enfeksiyon, serum ve malign hastalıklar alındı. Çeşitli yaş gruplarından 13 vaka kontrol grubu olarak alındı. Kontrol ve deneklerden alınan kan örneklerinde kriyoglobulinemi araştırıldı, pozitif vakalarda kriyokrit ölçüldü ve serum elektroforezi yapıldı.

a) Kriyoglobulin Saptanması : Hastalardan kan örneği ısıtılmış enjektörle 37°C'ta steril tüplere alındı. 37C 'ta su banyosunda kendiliğinden pıhtılaşması ve serumunun ayrılması için 2 saat bekletildi. Ayrılan serum kısmı sedimantasyon tüplerine çekilerek buzdolabına yerleştirildi. Buzdolabında + 4°C'ta 24 - 72 saat içinde kriyoglobulin bulanıklığı ve çöküntüsü olup olmadığı kontrol edildi. (4, 11, 25, 26) Kriyoglobulin pozitifliği sonucunun yanıltıcı olmaması için, kriyoglobulin pozitif serumun ısıtılınca çözünmesi ve ayrı bir serumun 37°C'ta bekletilmesiyle kriyoglobulin oluşmaması gibi çift kontrol uygulandı. (19)

b) Kriyokrit Ölçümü : Kriyoglobulin pozitif hastaların serumları kapiller tüplere çekilerek buzdolabında bekletildi. Çöküntünün tüm serum a oranı aynen hematokrit ölçümü yoluyla değerlendirildi. (24)

c) Serum Elektroforezi : Hasta ve kontrol grubundan elde nan serumlar buzlukta saklanarak elektroforez yapıldı. (4, 11, 13) Gelman Instrument Company Deluxe Electrophoreses Chamber aygıtı ile Sepraphore III kağıdı kullanılarak PH 8.6 tris - barbitol tampon solusyonunda 60 voltla 45 ddk. da yapıldı. Ponceau - S ile

boyanıp bantlar kesildi ve 0.1 N NaOH solusyonuyla karıştırıldı. Daha sonra Coleman Junior II A linear absorbance spectrophotometer aygıtında 565 mikronometre (nm) dalga boyunda okundu. Buna bağlı olarak bantlar arası yüzde hesapları yapıldı. Örnek elektroforezler sepraclear solusyonda şeffaflaştırılarak fotoğrafları çekildi.

d) Kollajen doku hastalıklarında özel metodu ile FANA bakıldı. (15)

e) İstatistiksel değerlendirme iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi ile yapıldı. (20)

B U L G U L A R

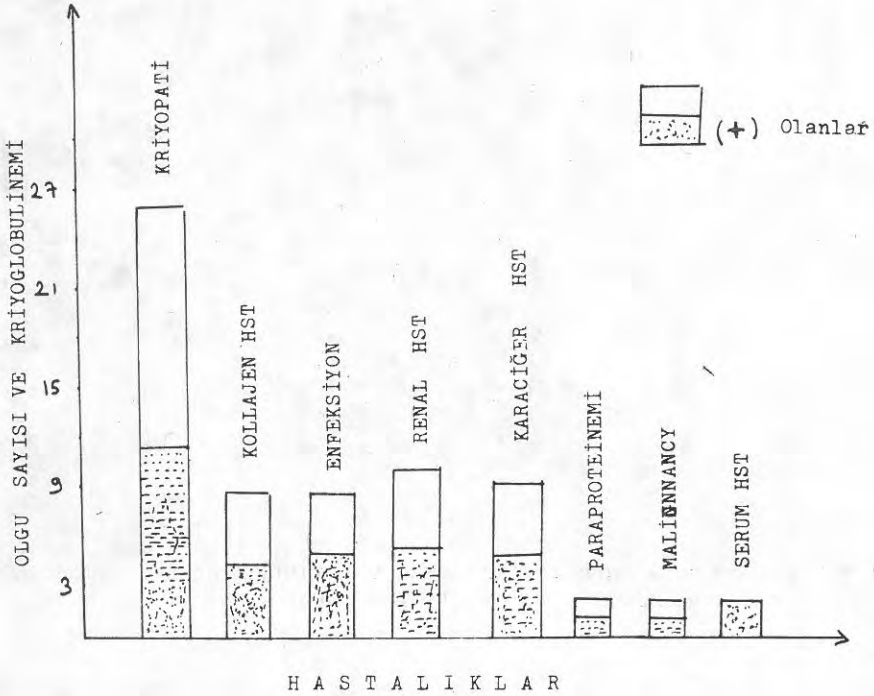
Bu çalışmada geniş bir hastalık grubunda kriyoglobulinemi insidansı araştırılmaya çalışıldı.

0 - 16 yaş grubuna giren hastalarımızın hastalıklara ve kriyoglobulinemiye göre dağılımı tablo II de görülmektedir.

TABLO II : 0 - 16 YAŞ GRUBU KRİYOBULİN ARAŞTIRILAN HASTALIKLAR.

Tanı	Olgu Sayısı	Kriyoglobulin Olgu Sayısı	Pozitif %
Kriyopati	13	6	46.1
Soğuk İntoleransı	6	1	
Soğuk Hasarı	2	2	
Soğuk Ürtiker	1	—	
Reyno Fenomeni	4	2	
Kollajen HST	4	2	50
SLE	1	1	
RA	2	1	
Morphea	1	—	
Böbrek HST	9	6	66.6
PSAGN	7	6	
MPG	1	—	
Kronik yetm.	1	—	

Karaciğer HST	8	4	50
Viral Hepatit	5	3	
Siroz	1	1	
KAH	2	—	
Enfeksiyonlar	8	5	62.5
Sepsis	4	2	
Konjenital Sifiliz	1	—	
Brusella	1	1	
Staf. Pnömonisi	1	1	
Akciğer amip absesi	1	1	
Malignite	1	—	
Serum HST	1	1	
TOPLAM	44	24	54.5

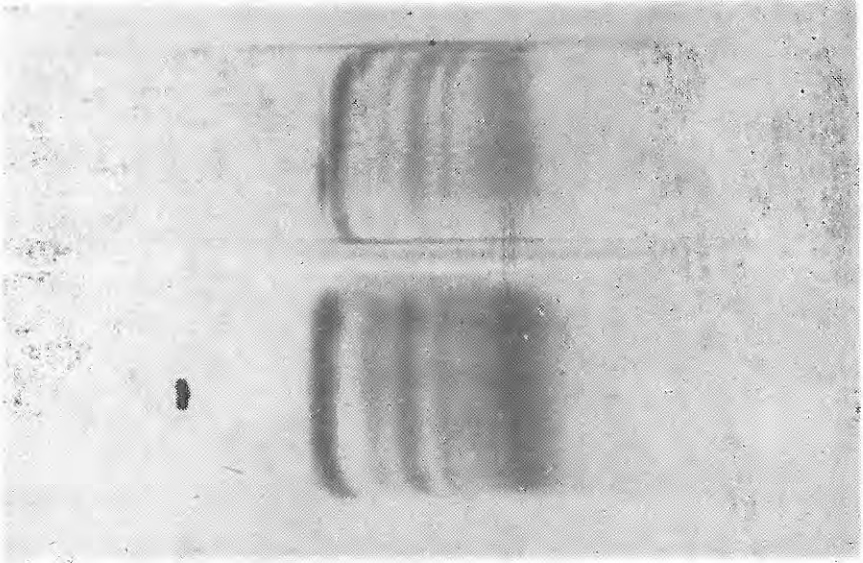


Grafik 1 : Tüm olgularımızın hastalık gruplarına dağılımı ve hastalık yüzdeleri.

Pediatric ve erişkin vakalarımızın hastalık gruplarına ve kriyoglobulin yüzdelere göre dağılımı GRAFİK I'de görülmektedir. Ayrıca kriyopati vakalarından 5 inde purpura ve artralji anamnezi alındı.

Serum elektroforezi yapılan 20 olgunun α_2 ve δ -globulin yüzdeleri, kriyoglobulin negatif ve kontrol grubu hastalarla karşılaştırıldı ve sadece globulin açısından anlamlı farklılık olduğu görüldü. (Tablo : III, $p < 0.05$ ve $p < 0.01$)

Serum elektroforezi tipi olan SLE'li bir hastamızın, geniş γ -globulin bandı Resim :I'de görülmektedir.



Resim 1 : Sistemik lupus eritematosuslu vakamızın serum elektroforezinde genişleşmiş gamma-globulin bandı görülmektedir.

TABLO III : KRİYOGLOBULİN OLUMLU - OLUMSUZ VE KONTROL GRUBU, α_2 GLOBULİN VE δ - GLOBULİN DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI.

— GLOBULİN	n	\bar{x}	SD	SX	t değeri	önemlilik derecesi
α_2 GLOBULİN						
Olumlu olgular	20	11.28	4.72	1.06	0.772	p>0.05
Olumsuz olgular	11	9.82	5.20	1.57		
Olumlu olgular	20	11.28	4.72	1.06	0.943	p>0.05
Kontrol olgular	13	12.77	4.26	1.18		
Olumsuz olgular	11	9.82	5.20	1.57	1.505	p>0.05
Kontrol olgular	13	12.77	4.26	1.18		
δ - GLOBULİN						
Olumlu olgular	20	22.60	8.82	1.97	2.506	p<0.05
Olumsuz olgular	11	16.61	4.50	1.36		
Olumlu olgular	20	22.60	8.82	1.97	3.699	p<0.01
Kontrol olgular	13	14.87	2.52	0.70		
Olumsuz olgular	11	16.61	4.50	1.36	1.137	p>0.05
Kontrol olgular	13	14.87	2.52	0.70		

T A R T I Ő M A

Bu çalışmada çeşitli hastalık gruplarından 66 vakada kriyoglobulin araştırılarak, pozitif 34 vakanın 20 inde serum elektroforezi yapılmıştır.

İster primer, isterse sekonder olsun kriyopatilerde görülebilecek klinik belirtiler Tablo : IV'te özetlenmiştir. (10)

**TABLO IV : KRIYOGLOBULİNEMİDE KLİNİK
BELİRTİ VE BULGULAR :**

Akral Bulgular	Sistemik Bulgular
Diskolorasyon	Oronazal kanamalar
Siyanoz	Sağırılık
Duyu kaybı	Dispne
Raynaud fenomeni	Stomatit
Trombotik fenomen	Melena
Ülserasyon	Görme keskinliğinde azalma
Parmak nekrozları	Vasküler okluzyon
Ürtiker	Pulmoner enfeksiyon
Purpura	Hemoglobinüri
Gangren	Soğuk etkilenmesi sonrası
Akral kabarcıklar	kırgınlık hali ve ateş.
Ekstremitede sertlik	

Soğuk dayanıksızlığı veya duyarlılığı kriyoglobulineminin genel bir bulgusudur. (7, 14, 17) Soğuğa maruz kaldıktan sonra ön kol ve yanakta sertlik şikâyeti ile başvuran iki vakamızda kriyoglobulinin pozitif bulunması literatür bilgilerine paraleldir. (17) Her iki vakamıza soğuktan korunma yanında kortikosteroid ve antihistaminik tedavisi verildi.

Soğuk ürtikerinin büyük bölümünün familyal ve idiopatik olmasına karşılık bir kısmında etiolojik sebep kriyoglobulin olabilir. (5, 16) Soğuk ürtikeri tanısı anamnez ve ön kola soğuk su uygulaması ile kesinleştirilen 4 hastamızın 1'inde kriyoglobulin pozitif. Bu bulgu soğuk ürtikeri vakalarında kriyoglobulin araştırılmasının yararını anlatır.

Soğuğa karşı dayanıksızlık gösteren 11 vakamızın 3'ünde kriyoglobulin pozitif bulunuşu, Burch ve arkadaşlarının (5), % 25 oranında pozitif bulmalarına paralellik göstermektedir.

Aynı şekilde Raynaud fenomeni gösteren 8 vakamızın yarısında kriyoglobulin sorumlu bulundu.

Bakterial, viral, protozoal ve fungal antijenlere karşı immun cevabın aşırı ve farklı oluşu kriyoglobulinemiye yol açar. (6,9) Kriyoglobulin pozitif bulunan enfeksiyonun ağır ve kronik olduğu yanında oluşan kriyoglobulinin geçici nötrofil disfonksiyonu yaparak enfeksiyonu uzatması mümkündür. (9) Çalışmamızda, 8 enfeksiyon vakasından 5'inde kriyoglobulin pozitif bulundu. Enfeksiyonun ağır ve kronik oluşu kriyoglobulinemi ile paralellik göstermektedir.

Akut viral hepatitli 5 vakanın 3'ünde kriyoglobulin pozitifli. Bu bulgu akut viral hepatitin immun kompleks hastalığı olduğunu destekler. (2, 9) Klinik ve biopsi sonuçları ile kronik aktif hepatitli 2 vakamızda kriyoglobulinin negatif bulunuşunu uzun süredir kortikosteroid almalarına bağladık.

Dolaşan immun komplekslerin, damar duvarian çökerek lokal kompleman sistemini uyardığı ve mediatörleri açığa çıkardığı, mediatörlerin oluşturduğu inflamatuvar cevapla ortaya çıkan lizozomal enzimlerin doku hasarı yaptığı deneysel olarak konulmuştur. (9, 22) Bu olayların sonucunda hedef organlara göre glomerulonefrit, artrit, cild lezyonları vs. tabloları ortaya çıkar. Dixon (8) yaptığı çalışmalarla akut glomerulonefritin immun kompleks depolanması yoluyla oluştuğunu göstermiştir. Çalışma kapsamımıza giren 7 PSAGN vakamızın 6'ında kriyoglobulin pozitifli. Bu bulgu immun kompleksin kriyoglobulin bakılarak saptanabileceğini gösterir. Ayrıca 2 vakada klinik ve laboratuvar düzelmesi ile birlikte kriyoglobulinin negatifleşmesi, AGN'te kriyoglobulinin takip kriteri olabileceğini gösterir.

Kriyoglobulinemi kollajen doku hastalıklarının genel bir bulgusu sayılır. (3, 6, 18, 25) Sistemik lupus vakalarında klinik alevlenme ve İcnfopeninin kriyoglobulinemi ile paralel gitmesi göze

çarpan bir bulgu olmuştur. (18, 23) Kesin lupus tanısı almış iki vakamızda klinik ağırlık ile kriyoglobulinemi birlikte idi. Romatoid artritli ve serum hastalığı tanısı konan 2 vakamızda kriyoglobulin pozitif bulundu.

Kriyoglobulinlerin gerçek yapısının immun globulin olduğu bilinmektedir. (12, 24, 25, 26) Bu nedenle kriyoglobulin pozitif vaka-

larda serum elektroforezi yapılırsa gamma - globulin fraksiyonunda artma olarak belli olur. (4, 13) Çalışmamızda kriyoglobulin pozitif vakaların gamma - globulin değerlerinin, kriyoglobulin negatif ve kontrol gruba göre, istatistiksel anlamda önemli ölçüde yüksek bulunuşu, destekleyici bir bulgudur. Kriyoglobulinlerin gerçek yapısı, dolayısıyla tipinin ortaya konulması immün elektroforez yoluyla gerçekleştirilebilir.

Çalışmamızın sonuçlarını şu şekilde özetlemek mümkündür :

1 Kriyoglobulin bir dizi hastalıkta, özellikle kriyopatilerde tanıyıcı destekleyici laboratuvar metodu olarak kullanılabilir.

2. Kollajen doku hastalıklarının tanısı ve eksaserbasyonlarının izlenmesinde yararlıdır.

3. PSAGN vakalarında izlem kriteri ve tanıyı destekleyici olarak kullanılabilir.

4. Kriyoglobulin pozitif vakaların serum elektroforezinde gamma - globulin bandında genişleme vardır. Fakat kesin sonuç için immün elektroforez yapılması uygundur.

KAYNAKLAR

1. Adam, C., Morel, M.L., and Richet, G. : Cryoglobulins in glomerulonephritis not related to systemic diseases. *Kidney Int.* 3 : 334 - 338, 1973.
2. Almeida, J.D. and Waterson, A.P. : Immune complex in hepatitis. *Lancet*, 2 : 983, 1969.
3. Barnett, E.V. and Bluestone, R. : Cryoglobulinemia and diseases. *Ann. Intern. Med.* 73 : 95 - 107, 1970.
4. Bauer, J.D., Ackerman, P.G. and Toro, G. : Evaluation of formed element of blood. In *Clinical Laboratory Methods*, 8. ed. C.V. Mosby Co. Saint - Louis, 1974, p. 239.
5. Burch, G.E. and Giles, T.D. : Cold hypersensitivity. *Arch. Intern. Med.* 134 : 663 - 668, 1974.
6. Christensen, A.F., Roux, M.E.B. and Arana, R.M. : Cryoglobulins in acute and chronic liver diseases. *Clin. Exp. Immun.* 16 : 599 - 605, 1974.
7. Criepp, L.H. : Allergy to cold. in : *Clinical Immunology and Allergy*. Grune Stratton Inc. New York 1969, pp. 429 - 433.
8. Dixon, F.J., Oldstone, M.B.A. and Toniatti, G. : The etiologies of immün

- complex type glomerulonephritis. In: *Immune Complex Diseases* Carlo Erba Foundation, Milan 1970, pp. 15-18.
9. Drutz, D.J. and Graybill, J.R.: Infections complicated by deposition of circulating immun complex. in: Fudenberg, H.H., Stites, D.P., Coldwell, J.L. and Wells, J.V. *Basic Clinical Immunology*, Lange Medical Publications, California 1976 pp. 546-548.
 10. Ellis, F.A.: The cutaneous manifestations of cryoglobulinemia. *Arch. Dermatol.* 89: 690-697, 1964.
 11. Frankel, S. Reitman, J. and Sonnenwirth, A.C.: *Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*. C.V. Mosby Co. Saint - louis 1970 p. 54
 12. Honauer, L.B. and Christian, C.L.: Studies of cryoproteins in SLE. *J. Clin. Invest.* 46: 400, 1967.
 13. Henry, R.J., Cannon, D.C. and Winkelman, J.W.: Cellulose acetate electrophoresis of serum proteins. in: *Clinical Chemistry*. Harper Row Pub-
 14. Koda, H., Kanaide, A., Asahi, M. and Urabe, H.: Essential IgG cryoglobulinemia with purpura and cold urticaria. *Arch. Dermatol.* 114: 784, 1978.
 15. Öztürk, M.K.: Floresan Antiükleer Antikor Testi (FANA) ve Kollajen Hastalıklardaki Yeri. *Uzmanlık Tezi*, Ankara, 1974.
 16. Rawnsley, H.M. and Shelley, W.B.: Cold urticaria with cryoglobulinemia. *Arch. Dermatol.* 98: 12-17, 1968.
 17. Ritzcan, S.E. and Levin, W.C.: Cryopathies. *Arch. Intern. Med.* 107: 754, 1961.
 18. Stastný, P. and Zilf, M.: Cold insoluble complexes and complement levels in SLE. *N. Eng. J. Med.* 280: 1376, 1969.
 19. Stathakis, N.E.: Cryoprecipitation of fibrin - fibrinogen complexes induced by the cold insoluble globulin in plasma. *Blood* 51: 1211, 1978.
 20. Sümbüloğlu, K. Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik. *Matış Yayınları, Çağ Matbaası*, Ankara 1978.
 21. Wells, J.V. and Ries, C.A.: Hematologic Diseases. in: Fudenberg H.H., Stites, D.P. and Caldwell, J.L. *Basic Clinical Immunology*, Lange Medical Publications, California, 1976 pp. 399-403.
 22. Wells, J.V.: Immune complex disorders. in: Fudenberg, H.H., Stites, D.P. and Caldwell, J.L. *Basic Clinical Immunology*, Lange Medical Publication.
 23. Winfield, J.B., Winchester, R.J. and Kunkel, H.G.: Association of cold-reactive antilymphocyte antibodies with lymphopenia in SLE. *Arthr. Rheum.* 18: 587-594, 1975.
 24. Wintrobe, M.M., Lee, G.R., Baggs, R.D. et al: *Clinical Hematology*, Lea Febiger, Philadelphia, 1974, pp. 1640-1643.
 25. Withsed, H.M. and Peny, S.: Cryoglobulins. *Clin. Exp. Immunol.* 9: 183, 1971.
 26. Zinnemann, H.H., Levi, D. and Seal, U.S.: On the nature of cryoglobulins. *J. Immunol.* 100: 594, 1968.