آگلوتینین سرد، کرایوگلبولین و کرایوفیبرینوژن

بیماری آگلوتینین سرد (CAD)

نوعی بیماری است که در آن آنتی‌بادی سرد اغلب از نوع IgM علیه گلبول‌های قرمز خون ایجاد می-شود و ممکن است در برخی از بیماران مبتلا به کم خونی همولیتیک خودایمنی ، پنومونی آتیپیک ویا در میان سایر بیماران دیده شود.

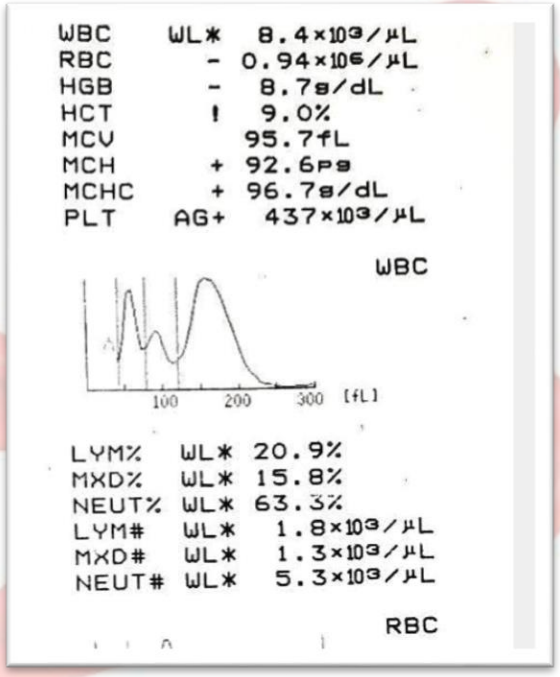
دراین بیماری گلبولهای قرمز با قرارگرفتن در معرض دمایی که کمتر از دمای اصلی بدن است، به هم می چسبند. زمانی که خون به نواحی محیطی بدن مانند انگشتان دست، انگشتان پا، نوک بینی و گوش ها می رسد، کمی خنک تر می شود. در دمای پایین تر، آنتی‌بادی‌های آگلوتینین سرد روی سطح گلبول‌های قرمز باعث می‌شوند که سلول‌ها به هم چسبیده و حرکت آنها از طریق رگ‌های خونی دشوارتر شود و در نتیجه آکروسیانوز ایجاد می شود (پوست در نواحی محیطی بدن آبی یا بنفش می شود).

کم خونی همولیتیک ناشی از اتوآنتی بادی های آگلوتینین سرد ممکن است منشأ اولیه (ناشی از کم خونی همولیتیک با پدیده رینود) یا منشأ ثانویه در پاسخ به یک فرآیند عفونی (مانند مایکوپلاسما پنومونیه، مونونوکلئوز عفونی، سیتومگالوویروس، HIV) یا در نئوپلاسم ها (لنفوم، لوسمی لنفوسیتی مزمن) دیده شود .

اگر این بیماری با تخریب گلبول های قرمز خون مرتبط باشد، می تواند منجر به کم خونی، خستگی، زردی و تنگی نفس شود. در برخی موارد، ادرار تیره می شودکه ناشی از هِم آزادشده از گلبولهای قرمز است. همچنین در این شرایط LDH و بیلی روبین بیمار افزایش پیداکرده و اغلب تست کومبس مستقیم این بیماران مثبت می‌باشد.

اگرچه این آنتی بادی ها در دمای 4°C بهتر واکنش نشان می دهند، ولی اتوآنتی بادی های آگلوتینین سرد پاتولوژیک می‌توانند در دمای °C 28-31 واکنش شدیدی را موجب شوند. آگلوتیناسیون RBC با افزایش دما چه در شرایط in vitro و چه in vivo برگشت پذیر است. آگلوتیناسیون در محیط آزمایشگاه ناشی از کاهش دما ابتدا به صورت ماکروسکوپی با حضور تجمعات کوچک RBC در امتداد دیواره لوله با ضد انعقاد و متعاقباً به صورت میکروسکوپی با مشاهده خوشه های RBC در لام خون محیطی تشخیص داده می‌شود. با قرار دادن ویال CBC در دمای 37°C و مشاهده ازبین رفتن تجمعات RBC ها وجود آگلوتینین سرد تایید می‌شود.

وجود آگلوتینین سرد در انجام تست CBC ، کراس‌مچ و تعیین گروه خونی اختلال ایجاد می‌کند؛ به طوری که در نتیجه CBC منجر به افزایش کاذب WBC، MCV، MCH و MCHC می-شود و همچنین تعداد RBC و درصد هماتوکریت کاهش پیدا می‌کند. در تعیین گروه‌خونی نیز، در سل‌تایپ به طور کاذب به صورت گروه خونی AB دیده می‌شود و سل‌تایپ و بک‌تایپ با هم همخوانی ندارند.



از جمله راه‌حل‌های پیشنهادی برای از بین بردن اثر این آنتی‌بادی‌ها استفاده از روش پیش‌گرمایی می‌باشد. در این روش اگر بیمار case شناخته شده باشد قبل از نمونه‌گیری ویال‌ها و سرنگ به دمای 37°C می‌رسد و بلافاصله بعد از نمونه‌گیری نمونه به دستگاه سل‌کانتر برای انجام تست CBC داده می‌شود. در تست CBC همچنین میتوان پلاسما را خارج و هم حجم آن از نرمال سالین استفاده کرد. جهت انجام کراس‌مچ در این بیماران باید نرمال سالین، لوله‌ها و آنتی‌سرم‌ها به دمای 37°C برسد و قبل از تزریق حتما کیسه خون به دمای 37°C برسد.

تعیین گروه‌خونی در این بیماران حتما باید با روش لوله‌ای باشد و RBC ها باید با نرمال سالین گرم شستشو شوند تا اثر آنتی‌های سرد حذف شود. در بک‌تایپ هم نمونه پلاسما حتما باید به 37 °C برسد و در ضمن نمونه کنترل از خود RBC بیمار در شرایط 37 °C استفاده شود تا مثبت واقعی از کاذب قابل تشخیص باشد.

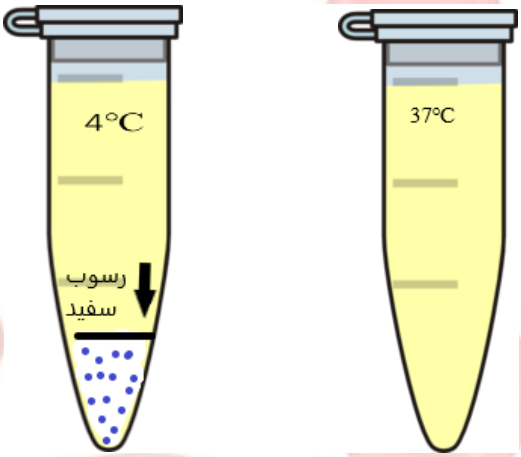
کرایوگلوبولین ها

ایمونوگلوبولین هایی هستند که در دمای زیر 37 درجه رسوب می کنند و می توانند باعث آسیب به ارگانهای حیاتی شوند. سه نوع کرایوگلوبولین وجود دارد: نوع I بیشتر با گاموپاتی مونوکلونال و یا سایر اختلالات هماتولوژیک همراه است و نوع II و III (معروف به کرایوگلوبولین های مخلوط) که با بیماری های عفونی و سیستمیک مرتبط هستند. جهت افتراق کرایوگلبولین از آگلوتینین سرد باید به این نکته توجه کرد که در کرایوگلبولینمی، آنتی‌بادی‌ها علیه ناحیه ثابت آنتی‌بادی‌های دیگر تولید می‌شود اما در آگلوتینین سرد، آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های گلبول‌های قرمز تولید می‌شود.

نحوه انجام تست:

نمونه خون بیمار ابتدا باید در دمای 37°C نمونه‌گیری و نگهداری شود تا از رسوب زودرس کرایوگلوبولین ها جلوگیری شود. نمونه باید در دمای 37°C نگه داری شده تا لخته تشکیل شود. سپس در دمای 37°C سانتریفیوژ شده و سرم بیمار جدا می شود. در ادامه 3mL سرم به مدت 72 ساعت (حداکثر تا 7 روز) دردمای 4°C به طور روزانه از نظر وجود رسوب بررسی می‌شود. می‌توان در این مدت از نمونه سرم بیمار در دمای 37°C به عنوان شاهد استفاده کرد. در صورت وجود رسوب، مقدار این پروتئین‌ها اندازه‌گیری شده و نمونه گرم می‌شود تا مشخص شود که این رسوب

حل می‌شود یا خیر. در صورت حل شدن رسوب در دمای 37 °C وجود کرایوگلبولین تایید می‌شود.



اگر تست کرایوگلبولین مثبت باشد، الکتروفورز پروتئین و الکتروفورز ایمونوفیکساسیون (IFE) انجام می‌شود تا مشخص شود که کدام نوع پروتئین به عنوان کرایوگلبولین وجود دارد و فرد دارای کدام نوع کرایوگلبولینمی است.

نتایج منفی کاذب ممکن است به دلایل زیر رخ دهد. (1) اگر در زمان نمونه گیری، لخته شدن وسانتریفیوژ دما کمتر از 37°C باشد رسوبات قبل از شروع تست تشکیل شده ومنجر به نتیجه منفی کاذب درزمان تست خواهد شد. بنابراین جمع آوری نمونه، لخته شدن وسانتریفیوژ در دمای مناسب برای جلوگیری از نتایج منفی کاذب ضروری است. (2) نگهداری نمونه در دمای بالاتر از 4°C در زمان انجام تست ممکن است تشکیل رسوب کرایو را مختل یا لغو کند و به بروز نتایج منفی کاذب کمک کند. (3) لیپمی در نمونه بیمار باعث کدورت سرم به دلیل لیپیدها می شود و ممکن است در شناسایی صحیح کرایوگلوبولین اختلال ایجاد کند.

نکته ای که در کرایوگلوبولینمی باید به آن توجه کرد این است که تجمع کرایوگلوبولین‌ها ممکن است منجر به شمارش نادرست پلاکت‌ها و RBC ها نیز شوند.

کرایوفیبرینوژنمی

یک کرایوپروتئین است که بر خلاف کرایوگلوبولین، رسوب فقط در پلاسما و نه در سرم تشکیل می شود. وجود کرایوفیبرینوژن در پلاسما می تواند بدون علامت باشد و یا با تظاهرات پوستی، عدم تحمل سرما، پدیده رینود، پورپورا، نکروز پوست، زخم آکرال و قانقاریا مشخص شود.

رسوباتی که در پلاسما (پلاسمایEDTA دار) و نه سرم در دمای سرد ایجاد می شوند برای کرایوفیبرینوژن مثبت گزارش می شوند. لخته‌های فیبرینی که به آهستگی شکل می‌گیرند با ناتوانی در حل مجدد در هنگام گرم شدن از رسوبات کرایوگلبولین متمایز می‌شوند.

نحوه انجام تست:

روش انجام تست مشابه روش اندازه‌گیری کرایوگلبولین می‌باشد با این تفاوت که نمونه مورد نظر پلاسمای EDTAدار بوده و حجم آن به اندازه 0.5 mL کفایت می‌کند. همچنین با افزایش دما به 37 درجه تجمعات فیبرینی حل نخواهد شد.