

# Usporedba krioglobulinemija starije i mlađe životne dobi : 10-godišnje iskustvo Zavoda za reumatologiju i kliničku imunologiju KBC-a Split

---

**Borovac, Lorena**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:270010>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-09**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Lorena Borovac**

**USPOREDBA KRIOGLOBULINEMIJA STARIJE I MLAĐE ŽIVOTNE DOBI: 10-  
GODIŠNJE ISKUSTVO ZAVODA ZA REUMATOLOGIJU I KLINIČKU  
IMUNOLOGIJU KBC-a SPLIT**

**Diplomski rad**

**Akademska godina:**

**2021./2022.**

**Mentor:**

**doc. dr. sc. Daniela Marasović Krstulović**

**Split, rujan 2022.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Lorena Borovac**

**USPOREDBA KRIOGLOBULINEMIJA STARIJE I MLAĐE ŽIVOTNE DOBI: 10-  
GODIŠNJE ISKUSTVO ZAVODA ZA REUMATOLOGIJU I KLINIČKU  
IMUNOLOGIJU KBC-a SPLIT**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:**  
**2021./2022.**

**Mentor:**

**doc. dr. sc. Daniela Marasović Krstulović**

**Split, rujan 2022.**

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Definicija .....	2
1.1.2. Klasifikacija .....	2
1.2. Epidemiologija .....	3
1.3. Etiologija .....	3
1.4. Patogeneza i patofiziologija .....	3
1.5. Klinička očitovanja .....	4
1.5.2. Krioglobulinemijski vaskulitis .....	5
1.5.3. Rjeđe manifestacije bolesti .....	5
1.6. Dijagnostika .....	6
1.6.1. Testiranje krioglobulina .....	6
1.6.2. Laboratorijska dijagnostika .....	7
1.6.3. Patohistološka analiza .....	7
1.7. Liječenje .....	8
1.7.1. Imunosupresija .....	8
1.7.2. Afereza .....	8
1.7.3. Antivirusna terapija .....	8
1.7.4. Biološka terapija .....	9
1.5. Prognoza .....	9
<b>2. CILJ ISTRAŽIVANJA</b> .....	11
<b>3. ISPITANICI I METODE</b> .....	13
3.1. Ispitanici .....	14
3.2. Metode prikupljanja podataka .....	14
3.3. Obrada podataka .....	15
<b>4. REZULTATI</b> .....	16
<b>5. RASPRAVA</b> .....	23
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	29
<b>7. POPIS CITIRANE LITERATURE</b> .....	31
<b>8. SAŽETAK</b> .....	36
<b>9. SUMMARY</b> .....	38
<b>10. ŽIVOTOPIS</b> .....	39

*. Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Danieli Marasović Krstulović na predanoj pomoći tijekom pisanja i izrade diplomskog rada.*

*Želim zahvaliti najviše svojoj obitelji, roditeljima, ocu Igoru i majci Željki na beskrajnoj podršci i ljubavi, bez njih ništa ne bi bilo moguće. Hvala i mojoj sestri Andrei i bratu Martinu što su bili tu za mene.*

*.I za kraj, hvala mojim prijateljima što su ovaj put učinili lakšim i zabavnijim, pogotovo mojim najdražim kolegicama Bruni i Neti, i još veliko hvala dugogodišnjoj cimerici Mariani, koja mi je uz obitelj bila i velika potpora.*

## POPIS KRATICA

AIB-autoimuna bolest

HCV-virus hepatitisa C

SLE-sistemska eritematozna bolest

SS-Sjögrenov sindrom

RA-reumatoidni artritis

APS-antifosfolipidni sindrom

DAAs-(engl. *direct acting antiviral agents*)-antivirusna terapija s izravnim djelovanjem

GK-glukokortikoidi

DMRADs-(engl. *disease-modifying anti-rheumatic drugs*)-lijekovi koji modificiraju tijek bolesti

NSAIDs-(engl. *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs*)-nesteroidni protuupalni lijekovi

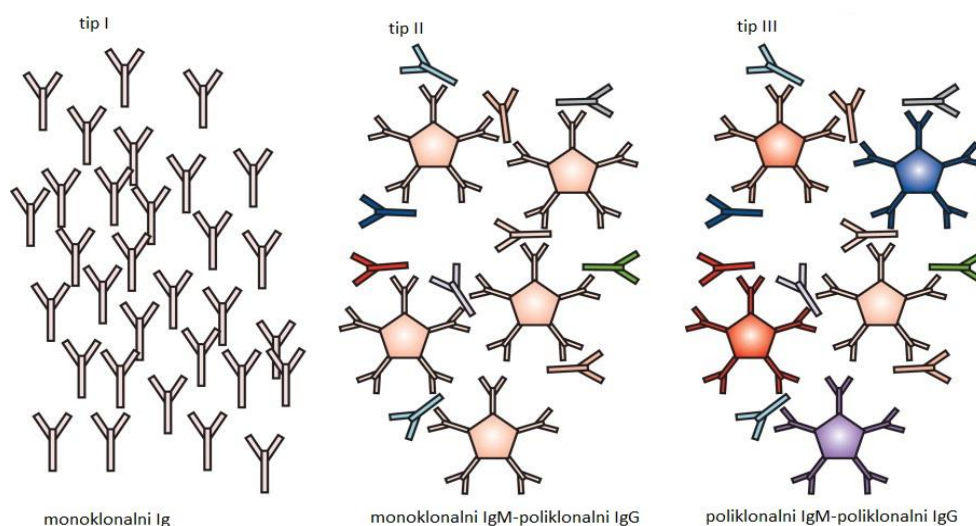
## **1. UVOD**

## 1.1. Definicija

Krioglobulinemija je naziv za pojavu krioglobulina u krvi te njihovo posljedično taloženje na stijenkama krvnih žila, što uzrokuje ozljedu endotela i oštećenje krajnjih organa (1). Riječ je o proteinima koji se talože iz plazme ili seruma, i to kad se serum inkubira na temperaturama nižim od 37 °C. Pojavljuju se kao mješavina imunoglobulina (Ig) i komponenti komplementa ili čisti imunoglobulini. Klinički se krioglobulinemija očituje najčešće kožnom purpurom, artralgijama i slabošću, a pojavljuju se i glomerulonefritis i neuropatija (1, 2). Krioglobulini se pojavljuju uz mnoge bolesti, uz infekcije, maligne bolesti i sistemske autoimune bolesti, a postoji i esencijalna krioglobulinemija, kada nema druge pridružene bolesti (2).

### 1.1.2. Klasifikacija

Za krioglobulinemije vrijede Brouetovi kriteriji. Brouet dijeli krioglobulinemije na 3 tipa na temelju razlika u izgledu, broju i obilježjima imunoglobulina od čega je sastavljen pojedini tip. U krioglobulinemiji tipa I su prisutni pojedinačni monoklonalni imunoglobulini, a u tipu II monoklonalni i tipu III poliklonalni IgM s aktivnošću reumatoidnog faktora i odgovarajući antigen (obično poliklonalni IgG). Iz tog razloga tipovi II i III uobičajeno se nazivaju "miješana krioglobulinemija". Na Slici 1 prikazani su imunoglobulini i njihove razlike u građi (3). Tip I je najčešći u limfoproliferativnim i hematološkim poremećajima B-limfocita, tip II i III u infekcijama (i to najčešće hepatitis C), malignim bolestima (najčešće limfomi, leukemije) ili autoimunim oboljenjima (Sjögrenov sindrom, sistemski eritemski lupus) (1, 3).



**Slika 1.** Imunoglobulini i tipovi krioglobulinemija. Preuzeto i prilagođeno prema: Ramos-Casals M, Stone JH, Cid MC, Bosch X. The cryoglobulinaemias. *Lancet*. 2012;379:348-60.



## **1.2. Epidemiologija**

Krioglobulinemije se rijetke bolesti s prevalencijom od oko 1:100 000. Krioglobulinemija, odnosno prisutnost krioglobulina u krvi, prisutna je u drugim bolestima, Nalazi se kod 45-60% bolesnika s hepatitisom C, 15-20% inficiranih HIV-om, te u 64% s koinfekcijom HIV/HCV (1). Najčešće se pojavljuje u bolesnika sa 40-60 godina. Krioglobulinemija je tri puta češća u žena naspram muškaraca. Smatra se da se miješana krioglobulinemija najčešće javlja u pacijenata oboljelih od hepatitisa C (4). Najveća prevalencija hepatitisa C s miješanom krioglobulinemijom je u mediteranskim zemljama (3).

## **1.3. Etiologija**

Krioglobulinemija je bolest nepoznatog uzroka, a smatra se da je multifaktorijalna, što znači da je uzrokuju genetski, okolišni i imunološki čimbenici. Krioglobulini u manjim količinama mogu postojati i kod zdravih ljudi. Najčešće se pojavljuje uz infekcije kao što su hepatitis C i HIV infekcija, ili imunološke poremećaje, odnosno autoimunske bolesti poput sistemskog eritemskog lupusa (SLE-a) i Sjögrenovog sindroma (SS), a rjeđe reumatoidnog artritisa (RA) ili maligne bolesti poput limfoma. U rijetkim slučajevima se ne može otkriti uzročnik, pa tada bolest nazivamo esencijalna krioglobulinemija (1, 4).

## **1.4. Patogeneza i patofiziologija**

Očitovanja krioglobulinemije, odnosno simptomi, uzrokovani su taloženjem kompleksa krioglobulina na endotel krvnih žila i okolne organe i tako ograničavaju protok krvi ili mogu izazvati reakciju imunskog sustava. Kao reakcija imunskog sustava nastaju upale krvnih žila i oštećenja organa (4). To nam potvrđuju biopsije oboljelih tkiva ili organa bolesnika s krioglobulinemijom, na primjer kože ili bubrega, i drugih. Biopsijom kože kod krioglobulinemijskog vaskulitisa nalazi se upala endotela krvnih žila i fibrinoidna nekroza, hiperplazija stanica endotela, kompleksi imunoglobulina i komplementa i krvarenje, a biopsijom bubrega se u 70% nađe membranoproliferativni glomerulonefritis. Povezanost hepatitisa C i krioglobulinemije dokazana je otkrivanjem RNK virusa hepatitisa C i anti-hepatitis C protutijela unutar krioglobulina istaloženih na stijenkama krvnih žila ili u sklopu serumskih krioprecipitata. Imunološki odgovor na infekciju virusom hepatitisa C dovodi do stvaranja imunokompleksa koji se sastoje od antigena hepatitisa C, poliklonskog IgG specifičnog za hepatitis C i monoklonskog reumatoidnog faktora IgM, pa se taloženjem ovih

imunokompleksa razvija upala u stijenkama krvnih žila, u obliku leukocitoklastičnog vaskulitisa malih krvnih žila (5).

## **1.5. Klinička očitovanja**

Simptomi krioglobulinemije mogu biti različiti, a poremećaj može proći i bez simptoma. Pacijenti sa cirkulirajućim krioglobulinima u 2-50% slučajeva razviju simptome krioglobulinemije. Veći rizik za razvoj simptoma povezan je s dobi, pratećom bolesti (HCV, HIV, autoimune bolesti) i karakteristikama imunoglobulina (određeni tip i koncentracija u serumu) (3). Postoje određene razlike očitovanju krioglobulinemije tipa I i miješanih krioglobulinemija. Simptome dijelimo na kožne, muskuloskeletne, neurološke, plućne i bubrežne (1, 6).

Kod tipa I najčešće su kožne pojave u obliku eritema, purpura, hemoragičnih krusta, nekroza i ulceracija. Kod tipa I češće se javlja i akrocijanoza, Raynaudov fenomen i livedo reticularis. Uobičajeno se pojavljuju i artritis i artralgijske te periferna neuropatija. Za tip I nisu uobičajene promjene srednjeg živčanog sustava, plućni, srčani i gastrointestinalni simptomi (1, 6).

Kod miješanih krioglobulinemija najčešća je purpura, te mialgije i artralgijske uz opću slabost. Zahvaćeni su najčešće metakarpofalangealni zglobovi, proksimalni falangealni zglob, koljena i gležnjevi. Upala lezija pogoršava se na niskim temperaturama. Perifernu neuropatiju ima čak 70-80% bolesnika. Simptomi od strane dišnog sustava su česti kod miješane krioglobulinemije, a najčešće se javljaju kašalj, dispneja i pleuritis. Zahvaćenost bubrega najčešće se očituje membranoproliferativnim glomerulonefritom, izoliranom proteinurijom i hematurijom (6).

Simptome možemo podijeliti i na simptome uz hiperviskozni sindrom, krioglobulinemijski vaskulitis te rijetke manifestacije (3).

### **1.5.1. Hiperviskozni sindrom**

Hiperviskoznost je tipična za krioglobulinemiju tip I, a očituje se neurološkim simptomima (glavobolja, konfuznost), očnim poremećajima (zamađljen vid, gubitak vida), problemima s nosom i uhom (epistaksa, gubitak sluha). Nerijetko se nalazi i teška ozljeda bubrežnih tubula krioprecipitatima te posljedično progresivni gubitak bubrežne funkcije. Za

prevenciju ovih teških simptoma treba kod sumnje na hiperviskoznost izmjeriti viskoznost seruma te ukoliko je pronađen poremećaj, hitno liječiti plazmaferezom (7).

### **1.5.2. Krioglobulinemijski vaskulitis**

Vodeći simptom krioglobulinemijskog vaskulitisa je purpura. Ponekad je prate opći simptomi poput vrućice, slabosti, mialgije i artralgijske (3). Artralgijske su češće od upale zglobova, artritisa, koji se radiološki potvrdi u do 10% pacijenata (8). Primijećena je povezanost i drugih entiteta s krioglobulinemijom. Kod pacijenata s fibromialgijom, poremećajima štitnjače poput hipotireoze ili dijabetesom tipa II možemo pronaći miješanu krioglobulinemiju, pogotovo ako ih prati infekcija virusom hepatitisa C (9, 10, 11).

Kožna purpura je najčešća manifestacija (54-82%), a pojavljuje se u obliku sitnih petehija na donjim ekstremitetima, a rjeđe su to bulozne ili vezikularne petehije (3). Rijetko je proširena na ostale dijelove tijela poput trbuha, prsnog koša ili gornjih ekstremiteta. Moguća je pojava samo izolirane purpore, koja najčešće u roku 1 tjedna zacijeli spontano. Pojava kožnog vrijeda ukazuje na lošiju prognozu vaskulitisa (obično se stvori na gležnju). Nekroza okrajina (uške, nos, usne, prsti na nogama i rukama) znak je najtežeg oblika bolesti. Tada postoji veća opasnost za razvitak infekcije, sepse i čak smrti. Upala srednje velikih krvnih žila očituje se kao *livedo reticularis* ili ulceracije kože (12).

Nefropatiju ima oko 20% pacijenata s krioglobulinemijom. Simptomi su proteinurija, mikrohematurija, eritrocitni cilindri i razni stadiji kroničnog bubrežnog zatajenja. Rjeđe se javlja nefrotski ili nefritički sindrom. Najčešća manifestacija bubrežnih poremećaja je sekundarna hipertenzija, javlja se u 70% slučajeva, a u 40-60% slučajeva povišen je serumski kreatinin (13).

Periferna neuropatija pojavljuje se u 17-60% pacijenata, a može biti i prvi znak krioglobulinemije. Najčešća je u obliku parestezija, a može imati karakter bolnih ili žarećih senzacija donjih udova, najčešće s pogoršavanjem tijekom noći. Pojavljuju se i motorni poremećaji (14).

### **1.5.3. Rjeđe manifestacije bolesti**

Gastrointestinalni poremećaji pojavljuju se u 2-6% slučajeva i uključuju nekrozu crijevne stijenke, akutnu bol u trbuhu, vrućicu i krvave stolice. Moguća je i intestinalna perforacija i šok. Poremećaji u gastrointestinalnom sustavu mogu se zamijeniti za kolecistitis ili pankreatitis (15).

U manje od 5% slučajeva pojavljuju se plućne manifestacije. Uz kašalj i dispneju pronalazimo intersticijsku fibrozu, a bronhalnom lavažom veći broj makrofaga, neutrofila i limfocita. Rijetko se javi akutno alveolarno krvarenje (hemoptize, respiratorna insuficijencija ili difuzni plućni infiltrati), te pleuralni izljevi (16, 17).

Kad je zahvaćen središnji živčani sustav, najčešće se javlja moždani udar (motorički ili senzorni deficit, afazija, disartrija) ili pak difuzna zahvaćenost mozga, odnosno encefalopatija. Kao uzrok pojavljuje se najčešće ishemija, a rjeđe hemoragija ili male difuzne lezije zbog vaskulitisa u mozgu. Najrjeđe se javlja vaskulitis u miokardu, a tada se očituje infarktom miokarda u osobe bez kardiovaskularnih faktora rizika, ili perikarditis ili kongestivno zatajenje srca (18). Vaskulitis malih krvnih žila, kapilara i venula može u najrjeđim slučajevima uzrokovati multiorgansko zatajenje (koža, pluća, bubrezi, središnji živčani sustav, gastrointestinalni sustav) (3).

## **1.6. Dijagnostika**

Za dijagnostiku krioglobulinemije rabi se analiza seruma na prisustvo krioglobulina, testiranje krioglobulina, njihovih karakteristika i koncentracije u serumu- Daljna laboratorijska dijagnostika usmjerena je na procjenu funkcije pojedinih organa i organskih sustava. Za potvrdu dijagnoze potrebna je biopsija i patohistološki pregled patoloških promjena(3).

### **1.6.1. Testiranje krioglobulina**

Uzorak se mora pravilno uzeti i bitno je pravilno rukovanje uzorkom. Krv se skuplja u zagrijane šprice ili epruvete, transportira se, zgruša se i centrifugira na temperaturi 37-40 °C, te se osigura da temperatura ne padne ispod 37 °C. Serum se nadalje pohranjuje na temperaturi od 4 °C 7 dana. Taloženje krioglobulina u tipu I dogodi se unutar nekoliko sati, dok se u miješanim krioglobulinemijama dogodi za par dana (19). Koncentracija krioglobulina je promijenjiva ovisno o simptomima ili tipu. Čak i zdravi pojedini mogu imati manju koncentraciju krioglobulina u serumu, a miješane poliklonalne imunoglobuline mogu imati prolazno tijekom infekcija (3). Rezultati testiranja mogu biti i lažno negativni, te na to moramo obratiti pozornost, pratiti kliničku sliku i sumnju na krioglobulinemiju te ponoviti ispitivanja više puta zbog sigurnosti i paziti na mogućnost neispravnog rukovanja uzorkom i neispravnog laboratorijskog testiranja. Krioglobuline je moguće indirektno ispitati preko mjerenja koncentracije ukupnih proteina unutar sedimenta krioproteina ili prema procjeni kriokrita (20). Kriokrit predstavlja postotak agregiranih krioglobulina u odnosu na ukupni serum nakon centrifugiranja na 4 °C i

najpraktičniji i klinički najkorisniji parametar za predviđanje kliničkog ishoda pacijenta; 1% ili više kriokrita je abnormalno (21). Pomaže i kod praćenja odgovora na terapiju, posebno kod pacijenata s hiperviskoznim sindromom. Koncentracija krioglobulina je viša u krioglobulinemiji tip I (>5 g/L), a kod miješanih krioglobulinemija je obično niža. Još se procjenjuje tip krioglobulina, a to je moguće imunofiksacijom krioglobulina ili ako je koncentracija krioglobulina mala, onda indirektno imunofiksacijom seruma (20).

### **1.6.2. Laboratorijska dijagnostika**

Laboratorijska dijagnostika bitna je kad procjene visceralnih poremećaja i uzročnih faktora. Povišeni su parametri koji ukazuju na kroničnu upalu, CRP i sedimentacija eritrocita. Procjenjuju se i računaju bubrežni i jetreni parametri, a oni su povišeni kod poremećenog rada tih organa (3). Kod miješane krioglobulinemije pronalazimo snižen komplement (najčešće C4) te povišen titar reumatskog faktora u serumu, te ih pratimo kod promjene kliničkih simptoma. Laboratorijskom testiranju pripadaju i detekcije virusa ili potvrda pridružene bolesti. Na primjer, kod HCV infekcije bitno je potvrditi antitijela na virus hepatitisa C i RNK istog, to je najčešći nalaz. Također isto radimo i za infekciju virusom hepatitisa B ili HIV-a, a za autoimune bolesti potrebna je potvrda postojanja antinuklearnih, anti-DNA, anti-Ro/La, anticirkulirajućih protutijela, čak i uz HCV infekciju (20).

### **1.6.3. Patohistološka analiza**

Patohistološka analiza često je potvrda bolesti na zahvaćenom organu. Pronalaze se hijalini trombi koji okludiraju male krvne žile, a oni se sastoje od krioprecipitata. Najčešći su kod tipa I i II krioglobulinemija kada je obilna monoklonalna komponenta. U miješanoj krioglobulinemiji najčešće se nalazi vaskulitis malih i srednjih krvnih žila, a moguć je i nalaz fibrinoidne nekroze. U krioglobulinemijama najčešće su zahvaćeni koža, bubrezi i periferni živci. Biopsijom purpura na koži nalazimo leukocitoklastični vaskulitis kapilara i postkapilarnih venula. Biopsija bubrega ukazuje u više od 70% slučajeva na tip I membranoproliferativnog glomerulonefritisa (3). Pronalazimo hijaline intraluminalne trombe koji sadrže IgM, IgG i C3 kao endomembranozne komponente i glomerularne infiltrate uz monocite. Teži oblici glomerulonefritisa su manje česti u nalazu (glomerulonefritis sa polumjesecima, bubrežni nekrotizirajući vaskulitis i intersticijska upala). Ostali nalazi bubrežnih poremećaja, poput fokalnog glomerulonefritisa, membranoznog ili mezangioproliferativnog glomerulonefritisa, su manje učestali i potrebno je raditi pretrage na druge bolesti koje mogu biti uzrok, poput sistemskog eritemskog lupusa, limfoma, kroničnih virusnih infekcija, ili hipertenzije i dijabetesa (22). Kod zahvaćenosti perifernih živaca

nalazimo vaskulitis perineuralnih i endoneuralnih krvnih žila, aksonalnu degeneraciju i demijelinizaciju (3).

## **1.7. Liječenje**

Liječenje ovisi o pridruženoj bolesti te zahvaćenosti organa i težini poremećaja (1). Nekoliko je mogućih vrsta liječenja, imunosupresija, afereza, antivirusna terapija i biološka terapija (3).

### **1.7.1. Imunosupresija**

Ovisno o zahvaćenosti organa, težini kliničkih simptoma i etiopatogenezi (hiperviskoznost ili vaskulitis) koriste se za kontrolu bolesti imunosupresivi u različitim dozama i određene duljine terapije. Najčešće se koriste glukokortikoidi i ciklofosamid. Glukokortikoidi poput metilprednizona i prednizona u visokim dozama koriste se za kontrolu umjereno-teških do teških simptoma kao što su ulceracije na koži, senzomotorna neuropatija ili glomerulonefritis (6). Kada se akutna bolest smiri, potrebne su minimalne doze održavanja. Ciklofosamid se koristi kod težih slučajeva. Može se primijeniti oralno ili intermitentno intravenskim ciklusima. Umjesto ciklofosfamida mogu se koristiti azatioprin ili mikofenolat mofetil, a koriste se i nakon ciklofosfamida za održavanje remisije. Uz ovu terapiju potrebna je redovita kontrola krvne slike te profilaksa za *Pneumocystis* pneumonije i druge oportunističke infekcije (3).

### **1.7.2. Afereza**

Izmjena plazme ili plazmafereza koristi se za brzo uklanjanje krioglobulina i sprječavaju daljnji nastanak krioprecipitata i posljedično krioglobulinemijskog vaskulitisa. Koristi se za kontrolu trenutnih teških simptoma, u vitalno-ugrožavajućim stanjima, ali ne liječi bolest pridruženu krioglobulinemiji. Često nakon afereze možemo pronaći veću proizvodnju krioglobulina. Za prevenciju većeg stvaranja koristimo ciklofosamid kroz 6 tjedana nakon provedene afereze. Kod težih simptoma može se primijeniti pulsna terapija glukokortikoidima u kombinaciji s plazmaferezama (3, 6).

### **1.7.3. Antivirusna terapija**

Antivirusna terapija primjenjuje se kod virusnih bolesti pridruženih krioglobulinemiji za koje se smatra da su ujedno i okidač krioglobulinemije. Kod najčešće infekcije virusom hepatitisa C koristimo nove izravne antivirusne lijekove, DAAs, te je potrebno što ranije započeti sa terapijom da se spriječe teži simptomi krioglobulinemijskog vaskulitisa. Stara

terapija interferonom alfa i pegliranim interferonom alfa je napuštena pojavom novih izravno djelujućih oralnih lijekova za hepatitis C. Neki od novih izravno djelujućih lijekova su daklatasvir (inhibitor NS5A regije virusa HCV), dasabuvir (inhibitor NS5B regije virusa HCV), sofosbuvir (inhibitor NS5B polimeraze), kombinacija ledipasvira i sofosbuvira, kombinacija elasvira i grazoprevira, ribavirin. Nekoliko istraživanja govori o uspješnosti liječenja 90-100% bez obzira na genotip HCV-a. Kod odgovora na antivirusnu terapiju prati se ne samo virološki odgovor, nego i klinički i imunološki odgovor kriglobulinemijskog vaskulitisa. Kliničko poboljšanje kriglobulinemijskog vaskulitisa vidljivo je polovice pacijenata liječenih s DAAs. Za limfoproliferativne i bubrežne poremećaje potrebni su i imunosupresivi zato se čini da ti poremećaji zaostaju i iskorjenjivanjem virusa. U bolesnika s blagom do umjerenom kriglobulinemijom, terapiju DAA treba koristiti kao pristup prve linije. U bolesnika s teškim vaskulitisom potrebna je terapija DAA i druga linija liječenja rituksimabom sa ili bez afereze (23-25).

#### **1.7.4. Biološka terapija**

Biološki lijek koji najviše obećava je rituksimab, a koristi se kod neuspješne kontrole miješane kriglobulinemije antivirusnom terapijom. To je monoklonsko protutijelo koje se veže na protein na B-stanicama te uzrokuje depleciju B-stanica. Deplecija B-limfocita na periferiji smanjuje broj B-staničnih klonova koji proizvode kriglobuline. Ova vrsta terapije još mora proći klinička istraživanja do kraja, zasada je zabilježeno smanjenje trajanja liječenja i bolji klirens kriglobulina. Od nuspojava najvažnije je spomenuti infekcije (3,6). Monoterapija RTX-om predstavlja vrlo dobru opciju za teški KV i može se dugoročno održavati u većine bolesnika. Terapija rituksimabom za bolesnike s mješovitim kriglobulinemijskim vaskulitisom, izazvanim HCV-om ili esencijalnim, pokazuje veliku učinkovitost na glavne znakove vaskulitisa kod većine prijavljenih bolesnika. Često je zabilježen recidiv kriglobulinemičnog vaskulitisa (26, 27).

#### **1.5. Prognoza**

Prognoza ovisi o pridruženoj bolesti i težini simptoma te odabiru terapije i odgovoru na terapiju. 10-godišnje preživljenje miješane kriglobulinemije je približno 50%. Veći rizik smrti imaju osobe starije od 60 godina, muški spol, više cirkulirajućih kriglobulina, imunosupresivna terapija, ulceracije kože, upala u bubrezima, jetri, rašireni vaskulitis, limfomi

i mijeloproliferativne bolesti. Od tipova krioglobulinemije najveći rizik ima tip II. Glavni uzroci smrti su zatajenja jetre i bubrega, razne infekcije, kardiovaskularne bolesti, solidni tumori i neuropatije. Antivirusnom terapijom je moguće izlječenje hepatitisa C te posljedično smirivanje simptoma i izlječenje krioglobulinemije, no u nekim slučajevima se uspije izliječiti samo hepatitis C, a krioglobulini perzistiraju u serumu (6, 23).



## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Cilj ovog istraživanja je istražiti klinička obilježja krioglobulinemija u populaciji bolesnika liječenih u Zavodu za reumatologiju i kliničku imunologiju KBC-a Split te usporediti klinička obilježja krioglobulinemija u osoba starijih od 60 godina naspram onih mlađe životne dobi liječenih u razdoblju od 2011. do 2021. godine.

**Hipoteze ovog istraživanja:**

1. Stariji i mlađi bolesnici s krioglobulinemijom imaju podjednaku pojavnost kožnog vaskulitisa u miješanoj krioglobulinemiji.
2. Stariji i mlađi bolesnici s miješanom krioglobulinemijom imaju podjednaku zastupljenost hepatitis C infekcije.
3. Stariji i mlađi bolesnici imaju podjednaku zastupljenost bubrežnog zahvaćanja u krioglobulinemiji.
4. Stariji bolesnici imaju veću učestalost pridruženih neoplazmi u krioglobulinemiji.
5. Kod bolesnika s krioglobulinemijom mlađih od 60 godina primjenjuje se agresivnija imunosupresivna terapija naspram terapije u bolesnika starije životne dobi.

### **3. ISPITANICI I METODE**

### **3.1. Ispitanici**

U naše retrospektivno istraživanje su bili uključeni bolesnici koji boluju od krioglobulinemije, odnosno kojima je jedna od dijagnoza bila krioglobulinemija, a koji su pregledani ili liječeni u poliklinici, dnevnoj bolnici ili stacionaru Zavoda za reumatologiju i kliničku imunologiju KBC-a Split u zadnjih 10 godina. U analizu su uključeni samo oni bolesnici koji su imali barem dva pregleda i/ili otpusna pisma u navedenom periodu. Dijagnoza krioglobulinemije postavljena je na temelju anamnestičkih podataka i uvidom u medicinsku dokumentaciju i nalaze.

### **3.2. Metode prikupljanja podataka**

Retrospektivnom analizom i uvidom u medicinsku dokumentaciju 21 pacijenta kojima je jedna od dijagnoza krioglobulinemija, prikupljeni su podatci za istraživanje. U istraživanje su uključeni bolesnici koji su do prve evidencije u Zavodu za reumatologiju napunili 18 godina. Za svakog ispitanika prikupljeni su podatci:

- dob i spol, te kojoj dobnoj skupini pripada (stariji od 60 godina, mlađi od 60 godina)
- razina krioglobulina
- pridružena autoimuna bolest
- pridružena neoplazma
- hepatitis C
- kožni vaskulitis
- periferni živci
- zahvaćanje bubrega
- zahvaćanje unutarnjih organa
- terapija
- izlječenje

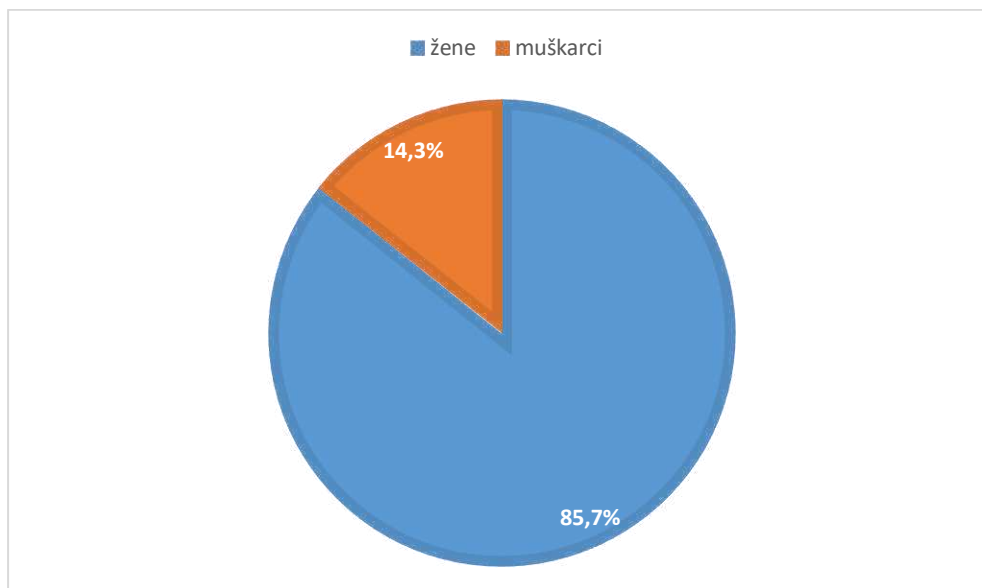
### **3.3. Obrada podataka**

Za potrebe ovog istraživanja podaci su prikupljeni u bazama podataka KBC-a Split, te su uneseni u elektroničke tablice podataka i analizirani pomoću računalnog programa Microsoft Office Excel 2010. U radu se koriste metode tabelarnog prikazivanja kojima se prezentira struktura promatranih varijabli.

Veličina uzorka nije izračunata jer se radilo o retrospektivnoj analizi podataka pacijenata koji su dostupni u određenom vremenskom periodu, stoga se nije moglo u studiju uključiti više pacijenata. Za kontinuirane varijable provedena je analiza distribucije podataka pomoću Shapiro-Wilk testa. U slučaju statistički značajne P-vrijednosti ( $<0,05$ ), korišteni su medijan i interkvartilni raspon (IQR) za prikaz podataka umjesto prosječne vrijednosti i standardne devijacije. Za usporedbu između dvije dobne skupine korišten je Mann-Whitney U-test. Za ordinalne i kategorijske varijable, rezultati su prikazani koristeći frekvencije (N) i postotke (%). Usporedba između dvije skupine provedena je koristeći hi-kvadrat test. Granična vrijednost za statističku značajnost za sve analize postavljena je na 0,05. Za analizu je korišten JASP softver (v.0.14.1).

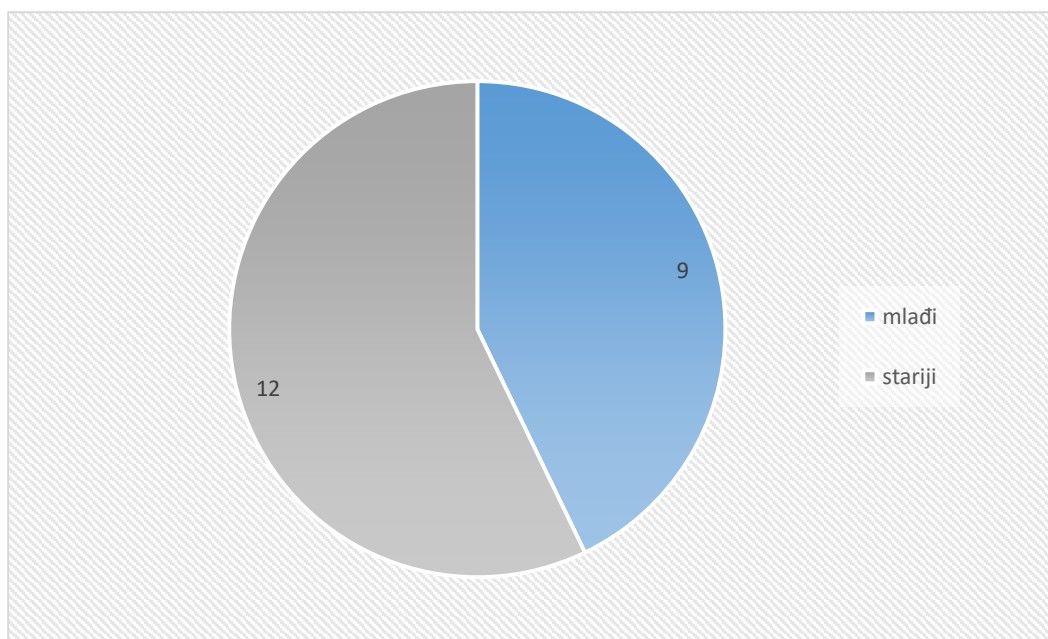
## **4. REZULTATI**

Podaci su prikupljeni za ukupno 21 pacijenta. Od njih je većina bila ženskog spola (n=18, 85,7%), a 3 su bila muškarca (14,3%), što prikazuje slika 2.



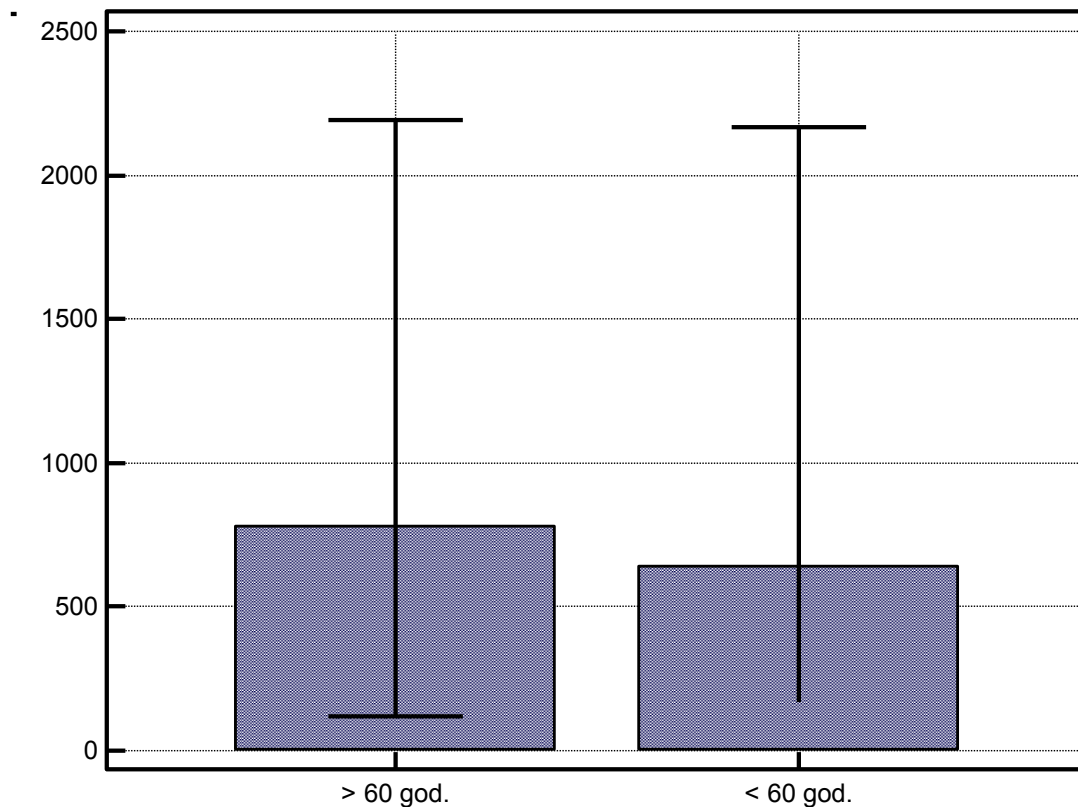
**Slika 2.** Raspodjela ispitanika s obzirom na spol (n=21)

Medijan dobi pacijenata bio je 64 godine (IQR=19.0). Mlađoj skupini pacijenata pripadalo je 42,9% ispitanika (n=9), dok je starijoj pripadalo 57,1% (n=12), što prikazuje slika 3.



**Slika 3.** Raspodjela ispitanika prema dobi, mlađi i stariji od 60 godina

Medijan razine krioglobulina pri postavljanju dijagnoze bio je 711,0 (IQR=1990,5). Raspon vrijednosti krioglobulina kretao se od 19,0 (minimum) do 17832,0 (maksimum). Usporedili smo vrijednosti krioglobulina koje imaju stariji, i koje imaju mlađi pacijenti, što prikazuje Slika 4.



**Slika 4.** Razina krioglobulina u serumu (razlika među dobnim skupinama)

Najčešće pridružene autoimune bolesti bile SLE (n=6, 28,6%), Sjögrenov sindrom (n=5, 23,8%) te kombinacija SLE-a i APS-a (n=4, 19,0%). Dijagnozu prisutne neoplazme imalo je 66,7% pacijenata (n=14). Većina pacijenata nije imala pridruženu dijagnozu hepatitisa C (n=17, 81,0%). Kožni vaskulitis imalo je 38,1% pacijenata (n=8), dok 42,9% nije (n=9).

Kod većine pacijenata bolest nije zahvatila periferne živce (n=12, 57,1%) niti bubrege (n=12, 57,1%). Većina također nije imala ni zahvaćene unutarnje organe (n=18, 85,7%), osim tri ispitanika koji su imali svaki jedno od navedenoga: splenomegaliju, cirozu i ulcerativni



kolitis, plućnu leziju. Najveći broj pacijenata imao je barem tri vrste lijekova u primjeni (n=8, 38,1%). Najčešće terapije koje su pacijenti uzimali bile su sljedeće skupine lijekova: kortikosteroidi (n=19, 90,5%), antimalarici (n=11, 52,4%) te imunosupresivi (n=12, 57,1%). Medijan trajanja bolesti bio je 7 godina (IQR=8.0). Niti jedan pacijent nije postigao izlječenje. Svi podaci prikazani su u Tablici 1.

**Tablica 1.** Opisna statistika karakteristika svih pacijenata uključenih u istraživanje (N=21)

VARIJABLA		Medijan (interkvartilni raspon)
<b>Trajanje bolesti (god)</b>		7.0 (8.0)
		N (%)
<b>Pridružena autoimuna bolest</b>		
	SLE	6 (28,6)
	SLE i APS	4 (19,0)
	SLE i Sjögrenov sindrom	1 (4,8)
	Sjögrenov sindrom	5 (23,8)
	Sjögrenov sindrom i APS	2 (9,5)
	APS	1 (4,8)
	Poliartritis	2 (9,5)
<b>Neoplazma</b>		
	Da	14 (66,7)
	Ne	7 (33,3)
<b>Hepatitis c<sup>a</sup></b>		
	Da	2 (9,5)
	Ne	17 (81,0)
<b>Kožni vaskulitis<sup>b</sup></b>		
	Da	9 (42,9)
	Ne	8 (38,1)
<b>Zahvaćenost perifernih živaca<sup>b</sup></b>		
	Da	5 (23,8)
	Ne	12 (57,1)
<b>Zahvaćenost bubrega<sup>a</sup></b>		
	Da	7 (33,3)
	Ne	12 (57,1)
<b>Zahvaćenost unutarnjih organa</b>		
	Nema	18 (85,7)
	Splenomegalija	1 (4,8)
	Ciroza, ulcerativni kolitis	1 (4,8)
	Plućna lezija	1 (4,8)
<b>Terapija (skupina lijekova)</b>		
	Glukokortikoidi	19 (90,5)
	Antimalarici	11 (52,4)
	Imunosupresivi	12 (57,1)
	Imunoglobulini	2 (9,5)
	NSAIDovi	2 (9,5)
	Rituksimab	2 (9,5)
<b>Broj skupina lijekova u primjeni</b>		
	Jedna	6 (28,6)
	Dvije	5 (23,8)
	Tri	8 (38,1)
	Četiri	2 (9,5)
<b>Izlječenje</b>		
	Da	0 (0,0)
	Ne	21 (100,0)

<sup>a</sup>Nedostaju vrijednosti podaci za dvoje pacijenata.

<sup>b</sup>Nedostaju vrijednosti za četvero pacijenata.

Usporedbom karakteristika bolesnika po dobi imamo da je u starijoj dobi više je bolesnika imalo kožni vaskulitis, zahvaćanje bubrega i perifernu polineuropatiju, a i prosječna serumska razina krioglobulina bila je viša u starijih bolesnika. Hepatitis C imao je po jedan ispitanik iz obje skupine. Ispitanike smo podijelili po dobi i zabilježili simptome kako se javljaju u kojoj skupini u Tablici 2.

U liječenju bolesnika s krioglobulinemijom najviše su korišteni glukokortikoidi (GK) i konvencionalni DMARDi, a potom imunomodulatori te rituksimab. Stariji bolesnici u većoj su mjeri primali GK, antimalarike, ciklofosfamid i intravenske imunoglobuline, dok su mlađi više dobivali mikofenolat-mofetil i rituksimab (Slika 3).

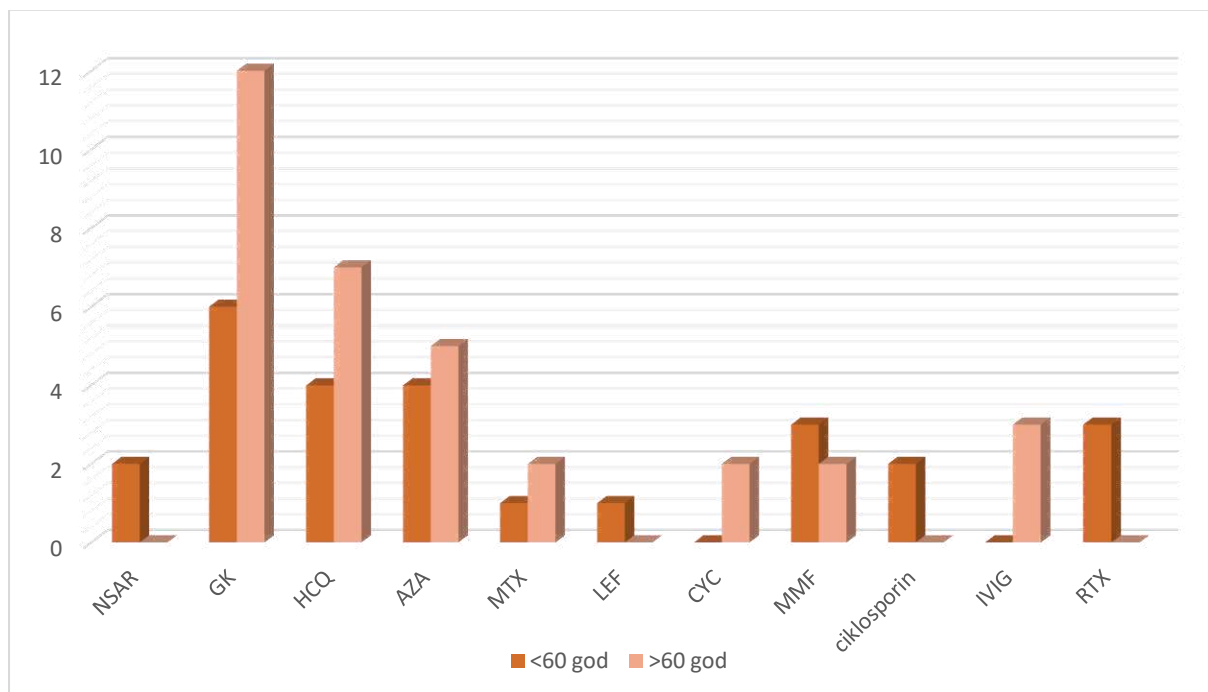
Usporedbom Mann-Whitney U-testom nije pronađena značajna razlika u razini krioglobulina između mlađih i starijih pacijenata ( $P=1,0$ ). Koristeći hi-kvadrat test pronađeno je da je jedina značajna razlika između mlađih i starijih u tome koja skupina lijekova im je propisana kao terapija. Stariji pacijenti su svi ( $N=12, 100\%$ ) bili na terapiji kortikosteroidima, dok je kod mlađih kortikosteroide koristilo  $77,8\%$  ( $7/9$ ),  $P<0,001$ ). Obrnuto je bilo za NSAIDove, gdje niti jedan stariji pacijent nije koristio tu skupinu lijekova ( $N=12, 100\%$ ), a kod mlađih je  $22,2\%$  pacijenata koristilo NSAIDove ( $2/9$ ),  $P<0,001$ . Isto tako se pokazalo i za rituksimab, kojeg nije koristio niti jedan stariji pacijent ( $N=12, 100\%$ ), a  $22,2\%$  mlađih je primalo tu terapiju ( $2/9$ ). Rezultati su zabilježeni u Tablici 2.

**Tablica 2.** Karakteristike ispitanika (podjela po dobi)

<b>Dob</b>	<b>&gt; 60 god.</b>	<b>≤60 god.</b>	
<b>Broj ispitanika</b>	12	9	
<b>Krioglobulini u serumu</b>	643 [169,5-2165]	779 [119,75-2190,5]	P= 0,999†
<b>Trajanje bolesti (god)</b>	9,9 (8,5)	9,3 (5,0)	P= 0,694†
<b>Pridružena autoimuna bolest</b>	8 (66,6 %)	7 (77,7 %)	P= 0,090*
<b>Pridružena neoplazma</b>	4 (33,3 %)	3 (33,3 %)	P= 0,640*
<b>Pridruženi Hepatitis C</b>	1 (8,3 %)	1 (11,1 %)	P= 0,503*
<b>Prisustvo vaskulitisa</b>	5 (41,6 %)	4 (44,4 %)	P= 0,796*
<b>Zahvaćenost perifernih živaca</b>	4 (33,3 %)	1 (11,1 %)	P= 0,363*
<b>Zahvaćenost bubrega</b>	5 (41,6 %)	2 (22,2 %)	P= 0,665*
<b>Splenomegalija</b>	1 (8,3 %)	0 (0 %)	P= 0,138*
<b>Ciroza i UC</b>	1 (8,3 %)	0 (0 %)	P= 0,133*
<b>Plućna lezija</b>	1 (8,3 %)	0 (0 %)	P= 0,133*
<b>Kortikosteroidi u terapiji</b>	12 (100 %)	7 (77,7 %)	P= 0,334*
<b>Antimalarici u terapiji</b>	7 (58,3 %)	4 (44,4 %)	P= 0,849*
<b>Imunosupresivi u terapiji</b>	8 (66,6 %)	4 (44,4 %)	P= 0,566*
<b>Imunoglobulini u terapiji</b>	2 (16,6 %)	0 (0%)	P = 0,591*
<b>NSAID u terapiji</b>	0 (0 %)	2 (22,2 %)	P= 0,334*
<b>Rituksimab u terapiji</b>	0 (0%)	2 (22,2 %)	P= 0,334*

Vrijednosti su prikazane kao aritmetička sredina i standardna devijacija, broj i postotak, ili medijan i interkvartilni raspon. †- Mann-Whitney test, \*Hi-kvadrat test.

**Slika 5.** Prikaz zastupljenosti pojedinih terapijskih modaliteta kod ispitanika u obje dobne skupine



NSAR- nesteroidni antireumatici, GK- glukokortikoidi, HCQ-hidroksiklorokin, AZA-azatioprin, MTX-metotreksat, LEF-leflunomid, CYC-ciklofosamid, MMF-mikofenolat-mofetil, IVIG-intravenski imunoglobulini, RTX-rituksimab

## **5. RASPRAVA**

Cilj ovog rada je bio usporediti karakteristike krioglobulinemije u starijih i mlađih bolesnika koji se liječe u zadnjih 10 godina na Zavodu za reumatologiju i kliničku imunologiju KBC-a Split. U istraživanje bio je uključen 21 pacijent. Rezultati ovog istraživanja zbog manje skupine pacijenata ne pokazuju neke veće razlike između krioglobulinemija starijih i mlađih od 60 godina. Uspoređivali smo bolesti pridružene krioglobulinemiji, te klinička očitovanja krioglobulinemija i pridruženih bolesti.

Krioglobulinemija je bolest češća u žena, kako je potvrđeno u drugim radovima pa i u našem, gdje je 85,7% žena, a 14,3% muškaraca. Medijan dobi našeg istraživanja je 64, gdje je ipak starijih više (57,1%), dok je u drugim istraživanjima medijan dobi 60 ili manji od 60 godina (32, 33). Krioglobulinemija se pojavljuje uz druge bolesti, što smo potvrdili i u našem istraživanju. Hepatitis C je glavna dijagnoza uz krioglobulinemiju prema dosadašnjim istraživanjima, a prate je SLE i non-Hodgkinov limfom (28). U dva veća istraživanja koja su uključivala 443 i 1434 bolesnika, udjeli pacijenata sa zaraznim bolestima bili su 75 odnosno 92%, dok su oni pacijenata s HCV infekcijom bili 73 odnosno 91% (2, 34). Ipak, kako u svom radu navode Boletić i suradnici, u današnje vrijeme pojavom nove terapije za hepatitis C, oralnih antivirusnih lijekova s izravnim djelovanjem (DAA), postiže se uspješnije izlječenje, te je smanjena incidencija hepatitis C infekcije i krioglobulinemije povezane s hepatitisom C. U 2011. godini vodeći uzrok miješane krioglobulinemije bila je kronična HCV infekcija, dok su danas glavni uzrok krioglobulinemije postale autoimune bolesti (SLE i Sjögrenov sindrom) (29). U ovom radu samo dvoje pacijenata ima dijagnosticiran hepatitis C uz krioglobulinemiju što je znatno niže nego u drugim kohortama bolesnika s miješanom krioglobulinemijom (2,34). U našoj populaciji bolesnika najčešće smo zabilježili pridruženu autoimunu bolest kao uzrok krioglobulinemije. Od njih 21, 16 je imalo sistemsku autoimunu bolest i to najčešće Sjögrenov sindrom sistemski eritemski lupus (SLE), ili rjeđe antifosfolipidni sindrom i poliartritis. Prema studijama s većim brojem bolesnika- najčešća pridružena autoimuna bolest bila je Sjögrenov sindrom (2). U našoj skupini pacijenata također je najčešći Sjögrenov sindrom, te je zabilježen kod 8 pacijenata, dok je SLE kod 5, APS kod 3 i poliartritis kod 2 pacijenta. Podjednaka je zastupljenost općenito autoimunih bolesti u starijih i mlađih pacijenata od 60 godina. U rezultatima smo zabilježili da je Sjögrenov sindrom češće dijagnosticiran u starijih pacijenata, kod 6 pacijenata od ukupno 8, a APS dijagnosticiran je kod 3 mlađih bolesnika te u nikoga od starijih. Osim zaraznih i autoimunih bolesti, uz krioglobulinemiju vežemo i neoplazme, posebno hematološke. U većoj kohorti koja obuhvaća 443 pacijenta zabilježeno je 7% pacijenata sa hematološkom bolesti, a u drugoj od 246 ispitanika 15%, a najčešće je to bio non-

Hodgkinov limfom (2,33). U našem istraživanju je 7 bolesnika imalo pridruženu neoplazmu, njih četvero je bilo starijih od 60 godina, a svi su imali pridruženu limfoproliferativnu bolest.

Krioglobulinemija zahvaća kožu, zglobove, periferne živce i bubrege, a rjeđe druge unutarnje organe. Prognoza i zahvaćenost tkiva i organa ovisi u kojoj su mjeri zahvaćeni krioglobulinemijskim vaskulitisom te pridruženoj bolesti zajedno (3). U ovom radu smo zato prikupljali podatke pacijenata o njihovim pridruženim bolestima i patološkim nalazima na drugim tkivima i organima radi usporedbe simptoma bolesti kod kojih se javljaju i povišeni krioglobulini te smo uspoređivali dobivene podatke kod mlađih i starijih pacijenata. Kod većine pacijenata, njih 15, zabilježen je barem jedan pridruženi simptom.

Najčešća se krioglobulinemija očituje promjenama na koži. U istraživanju kožnih promjena u krioglobulinemiji, Cohen i sur. su pregledali 72 slučaja krioglobulinemije, te su nađene eritematozne do purpurne makule ili papule u 92% ispitanika (12). U jednom francuskom istraživanju s 18 ispitanika s krioglobulinemijom bez pridružene infekcije hepatitisom C i talijanskom istraživanju s 246 ispitanika vodeći simptom krioglobulinemije bile su promjene na koži zabilježene, u oko 70% ispitanika u oba istraživanja (33, 35). U našim rezultatima 9 pacijenata (41,9 %) imalo je kožne promjene, najčešće u obliku kožnog vaskulitisa te je isto najčešći simptom, ali rjeđe nego u drugim kohortama s krioglobulinemijom. Nema veće razlike u pojavljivanju kožnog vaskulitisa kod starijih i mlađih pacijenata, 5 starijih i 4 mlađa pacijenta. Uz kožne promjene, krioglobulinemiju još prate i opći simptomi poput groznice i umora, artralgija (40-75%) te zahvaćenost krvnih žila (u obliku purpura i kožnih ulkusa) (32).

Sljedeći klinički znak krioglobulinemije i pridruženih bolesti koji smo zabilježili je zahvaćenost bubrega. U našim rezultatima 7 pacijenata imalo je zahvaćene bubrege, a petero ih je starije od 60 godina. U dosadašnjim studijama bubrezi su zahvaćeni u 10-30% ispitanika uključenih u studije (3, 33, 35). Zahvaćenost bubrega često ukazuje na mogućnost težih simptoma krioglobulinemije. U kineskoj kohorti, koja je sadržavala 80 pacijenata s krioglobulinemijom, čak 87,5% ispitanika imalo je zahvaćene bubrege. Međutim, ovo istraživanje uključivalo je samo hospitalizirane bolesnike što podrazumijeva teže kliničke slike i češću zahvaćenost unutarnjih organa, poglavito bubrega. U ovoj kohorti nisu pronađene razlike u kliničkim očitovanjima između tri skupine pacijenata na temelju sekundarnih pridruženih bolesti, odnosno zahvaćeni bubrezi jednako su prisutni i kod krioglobulinemija vezanih i uz infekcije, neoplazme ili autoimune bolesti (32). Brzo progresivni glomerulonefritis smatra se životno-ugrožavajućim očitovanjem krioglobulinemijskog vaskulitisa i jedan od najčešćih uzroka smrti od krioglobulinemija (36, 37).

U krioglobulinemiji često se javlja periferna polineuropatija, odnosno mononeuritis multiplex. U dosadašnjim istraživanjima zahvaćenost perifernih živca opisana je u oko 20% ispitanika (2, 33, 35). U našoj populaciji bolesnika zahvaćenost perifernih živaca utvrđena je kod 5 bolesnika, od kojih su 4 starije životne dobi. Periferna polineuropatija češća je i inače u starijoj dobi te je povezana i s drugim poremećajima starije dobi poput dijabetesa tipa 2.

U rijetkim slučajevima u krioglobulinemijama je zahvaćen središnji živčani sustav i tada se radi o životno-ugrožavajućim simptomima krioglobulinemije (18).

Rijetko su zahvaćeni i unutarnji organi poput pluća, crijeva, želuca, jetre i slezene. Alveolarno krvarenje, organizirana pneumonija, plućni vaskulitis i pleuralni izljev prethodno su prijavljeni u bolesnika s krioglobulinemijom (3). U studijama su zahvaćenost pluća ili gastrointestinalni poremećaji rijetka pojava, <5% (2, 32). Kronična upala jetre i ciroza su simptomi hepatitisa, a ne same krioglobulinemije. U našem radu imamo 3 pacijenta sa zahvaćenim unutarnjim organima (slezena, pluća, jetra) i svi su starije životne dobi.

Analizirajući rezultate ovog rada možemo reći da krioglobulinemija kod starijih pacijenata od 60 godina zahvaća više različitih organa i tkiva, češća je zahvaćenost kože, bubrega, živaca i unutarnjih organa te je češća prisutnost nepolazmi.

U ovom radu još smo uspoređivali terapiju koju su pacijenti primali. Terapija ovisi o težini simptoma krioglobulinemije i težini simptoma pridružene bolesti. Liječenjem pridružene bolesti smanjuju se simptomi krioglobulinemije jer su te pridružene bolesti najčešći uzrok pojave krioglobulina. Virus hepatitisa C najčešći je etiološki uzročnik većine krioglobulinemija, ali u našoj skupini bolesnika bio je rijetko zastupljen. Ostale pridružene bolesti koje su isto česte su SLE, Sjögrenov sindrom, te Non-Hodgkinov limfom. Giuggioli i Sebastiani u svom radu kažu da se hepatitis C danas se uspješno liječi novim antivirusnim lijekovima s izravnim djelovanjem, na primjer kombinacijom glekaprevira i pibrentasvira ili sofosbuvira i velpatasvira. Tako se smanjila incidencija krioglobulinemije povezane s hepatitisom C. Opisuju i liječenje krioglobulinemija uz autoimune bolesti i neoplazme i to protuupalnim lijekovima, imunosupresivima i citostaticima. Ako se uz te pridružene bolesti pojave teži simptomi same bolesti i krioglobulinemijskog vaskulitisa, koristimo i kombinacijama imunomodulatornih lijekova, što smo zabilježili u našem radu. Liječenje se provodi kroz više linija liječenja od kojih su neka etiološka (antivirusni lijekovikoju utječu na patogenezu (imunomodulatori, rituksimab)), a neki su simptomatski (glukokortikoidi, plazmafereza). U većine pojedinaca, krioglobulinemija pokazuje blagi, sporo progresivni klinički tijek koji zahtijeva samo simptomatsko liječenje, općenito niske doze glukokortikoida (30). Za kontrolu težih simptoma krioglobulinemije i pridruženih bolesti koristimo kombinacije



visokih doza glukokortikoida (metilprednizon, prednizon), imunosupresiva (poput ciklofosfamida, ciklosporina, mikofenolat mofetila, azatioprina), antimalarika (klorokin, hidroksiklorokin), ponekad i nesteroidne protuupalne lijekove i kod određenih pacijenata i imunoglobuline i biološku terapiju. Doziranje imunosupresivnih lijekova u krioglobulinemiji ovisi o težini kliničke slike i agresivnosti tijeka bolesti a temelji se na tjelesnoj težini ili površini tijela pacijenta. Uvijek treba voditi računa o sigurnosnom profilu liječenja i riziku komplikacija, naročito infektivnih i srčano-žilnih koje mogu ugroziti bolesnika (31). Zbog takvog pristupa za pacijente mlađe od 60 godina pretpostavilo se da će moći bolje podnijeti agresivniju terapiju od starijih. U rezultatima ovog rada jedina razlika starijih i mlađih pacijenata bila je u tome koja im je skupina lijekova propisana kao terapija. Svi stariji pacijenti bili su na terapiji glukokortikoidima, a 77% mlađih od 60 godina. Pacijenti su uz njih često primali i druge skupine lijekova, antimalarike, imunosupresive i/ili alkilirajuće citostatike. Stariji bolesnici u većoj su mjeri primali kortikosteroide, antimalarike, ciklofosamid i intravenske imunoglobuline, dok su mlađi više dobivali mikofenolat-mofetil i rituksimab kao agresivniju terapiju. Još smo zabilježili da nesteroidne protuupalne lijekove nije koristio nitko od starijih, a 22,2% mlađih s blažim simptomima. Zabilježili smo još da terapiju rituksimabom primijenjena kod 2 od 9 pacijenata mlađih od 60 godina, a ni u jednog od starijih pacijenata. Propisana terapija u našim rezultatima sukladna je drugim izvješćima poput Muchtara i sur. u algoritmu o liječenju ne-infektivne miješane krioglobulinemije (37). Kod krioglobulinemije s lakšom kliničkom slikom liječi se također pridružena sekundarna bolest, reumatološka ili hematološka, te se koriste najčešće više doze glukokortikoida i imunosupresivi. Dalje, za kontrolu težih simptoma krioglobulinemije, Muchtar i sur. naveli su kao prvu liniju liječenja rituksimab uz glukokortikoide ili ciklofosamid uz glukokortikoide. U drugoj liniji liječenja mogu se koristiti još i azatioprin i mikofenolat mofetil uz plazmaferezu (37). Rituksimab, monoklonsko protutijelo na CD-20 je jedna od novijih terapija za liječenje krioglobulinemije, a pripada biološkim lijekovima (26). Primjenom rituksimaba u kombinaciji s glukokortikoidima postigla se najveća korist u smislu kliničkog odgovora, bubrežnog odgovora i imunološkog odgovora. Ova kombinacija je u više istraživanja bila je učinkovitija od samih glukokortikoida ili glukokortikoida u kombinaciji s alkilirajućim citostatikom (18, 26).

Glavno ograničenje našeg istraživanja je mali uzorak ispitanika. Krioglobulinemija je rijetka bolest s prevalencijom od oko 1:100 000, te je zato u istraživanju u razdoblju od 10 godina uključen svega 21 pacijent s tom dijagnozom, što je mali uzorak za stvarnu usporedbu. Da bi se dobile neke značajne razlike u kliničkoj slici, vrsti terapije ili trajanju krioglobulinemije kod starijih i mlađih bolesnika, potrebno je praćenje većeg broja bolesnika

što se može postići jedino multicentričnim istraživanjem. No, i s malim brojem ispitanika, ipak je potvrđen trend da je više starijih bolesnika s pridruženom autoimunom bolešću, najviše Sjögrenovim sindromom, zatim više je starijih i s pridruženom neoplazmom (3 slučaja s limfoproliferativnom bolešću). U starijoj dobi više je bolesnika imalo kožni vaskulitis, perifernu polineuropatiju i zahvaćanje bubrega, a i prosječna serumska razina krioglobulina bila je viša u starijih.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Od 21-og bolesnika s krioglobulinemijom koji su liječeni na Zavodu za reumatologiju i kliničku imunologiju KBC-a Split u 10-godišnjem razdoblju medijan dobi bio je 64 godine. U skupini je bilo značajno više žena (85,7%) nego muškarca (14,3%).
2. U mlađoj skupini bilo je manje oboljelih (42,9% ) nego u starijoj od 60 godina.
3. Najčešće pridružene autoimune bolesti bile su SLE (28,6%), Sjögrenov sindrom (23,8%) te kombinacija SLE-a i APS-a (19,0%). Dijagnozu prisutne neoplazme imalo je 33,3% oboljelih. Većina bolesnika s krioglobulinemijom nije imala pridružen hepatitis C (81,0%).
4. Nije bilo značajne razlike u razini krioglobulina između dobnih skupina.
5. Bolesnici s krioglobulinemijom najčešće su imali kožni vaskulitis, potom zahvaćenost bubrega i perifernih živaca te potom drugih unutarnjih organa. Veća je učestalost javljanja svih kliničkih očitovanja bila je u starijih ispitanika.
6. Bolesnici s krioglobulinemijom liječeni su različitim kombinacijama lijekova s tim da su glukokortikoidi najčešće primjenjivani lijekovi, poglavito u starijih bolesnika koji su svi bili liječeni glukokortikoidima.
7. Bolesnici s krioglobulinemijom liječeni su kombinacijama više skupina lijekova s tim da su mlađi bolesnici češće dobivali potentnije imunosupresive i rituksimab, a stariji bolesnici blaže imunosupresive u kombinaciji s glukokortikoidima.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Bhandari J, Awais M, Aeddula NR. Cryoglobulinemia. 2022 Apr. StatPearls [Internet].
2. Trejo O, Ramos-Casals M, García-Carrasco M, Yagüe J, Jiménez S, de la Red G, i sur. Cryoglobulinemia: study of etiologic factors and clinical and immunologic features in 443 patients from a single center. *Medicine (Baltimore)*. 2001;80:252-62.
3. Ramos-Casals M, Stone JH, Cid MC, Bosch X. The cryoglobulinaemias. *Lancet*. 2012;379:348-60.
4. Mixed cryoglobulinemia. Rare disease database [Internet]. Burlington: NORD. Dostupno na <https://rarediseases.org/rare-diseases/mixed-cryoglobulinemia/>
5. Langford CA, Fauci AS. Cryoglobulinemic Vasculitis. U: Jameson J, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J., urednici. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 20e. McGraw Hill; 2018.
6. Takada S, Shimizu T, Hadano Y, Matsumoto K, Kataoka Y, Arima Y, i sur. Cryoglobulinemia (review). *Mol Med Rep*. 2012;6:3-8.
7. Della Rossa A, Tavoni A, Bombardieri S. Hyperviscosity syndrome in cryoglobulinemia: clinical aspects and therapeutic considerations. *Semin Thromb Hemost*. 2003;29:473-7.
8. Wener MH, Hutchinson K, Morishima C, Gretch DR. Absence of antibodies to cyclic citrullinated peptide in sera of patients with hepatitis C virus infection and cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum*. 2004;50:2305-8.
9. Poynard T, Cacoub P, Ratziu V, Myers RP, Dezailles MH, Mercadier A, i sur. Multivirc group. Fatigue in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. 2002;9:295-303.
10. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, Giuggioli D, Nesti C, Longombardo G, i sur. Thyroid involvement in patients with overt HCV-related mixed cryoglobulinaemia. *QJM*. 2004;97:499-506.
11. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, Sebastiani M, Nesti C, Barani L, i sur. Type 2 diabetes in hepatitis C-related mixed cryoglobulinaemia patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2004;43:238-40.
12. Cohen SJ, Pittelkow MR, Su WP. Cutaneous manifestations of cryoglobulinemia: clinical and histopathologic study of seventy-two patients. *J Am Acad Dermatol*. 1991;25:21-7.

13. Beddhu S, Bastacky S, Johnson JP. The clinical and morphologic spectrum of renal cryoglobulinemia. *Medicine (Baltimore)*. 2002;81:398-409.
14. Rieu V, Cohen P, André MH, Mouthon L, Godmer P, Jarrousse B, i sur. Characteristics and outcome of 49 patients with symptomatic cryoglobulinaemia. *Rheumatology (Oxford)*. 2002;41:290-300.
15. Terrier B, Saadoun D, Sène D, Scerra S, Musset L, Cacoub P. Presentation and outcome of gastrointestinal involvement in hepatitis C virus-related systemic vasculitis: a case-control study from a single-centre cohort of 163 patients. *Gut*. 2010;59:1709-15.
16. Amital H, Rubinow A, Naparstek Y. Alveolar hemorrhage in cryoglobulinemia--an indicator of poor prognosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2005;23:616-20.
17. Ferri C, La Civita L, Fazzi P, Solfanelli S, Lombardini F, Begliomini E, i sur., Interstitial lung fibrosis and rheumatic disorders in patients with hepatitis C virus infection. *Br J Rheumatol*. 1997;36:360-5.
18. Retamozo S, Diaz-Lagares C, Bosch X, De Vita S, Ramos-Casals M. Life-threatening cryoglobulinemia. In: Khamashta MA, Ramos-Casals M, editors. *Autoimmune Diseases: Acute and Complex Situations*. London, UK: Springer; 2011. pp. 133–162
19. Vermeersch P, Gijbels K, Mariën G, Lunn R, Egner W, White P, Bossuyt X. A critical appraisal of current practice in the detection, analysis, and reporting of cryoglobulins. *Clin Chem*. 2008;54:39-43.
20. Sargur R, White P, Egner W. Cryoglobulin evaluation: best practice? *Ann Clin Biochem*. 2010;47:8-16.
21. Cryoproteins. *Laboratory medicine. Drugs and diseases*. [Internet]. Medscape. Philadelphia. Dostupno na:  
<https://emedicine.medscape.com/article/2086953-overview#:~:text=Cryocrit%20is%20an%20important%20parameter,be%20determined%20with%20protein%20electrophoresis>.
22. Roccatello D, Fornasieri A, Giachino O, Rossi D, Beltrame A, Banfi G, i sur. Multicenter study on hepatitis C virus-related cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis*. 2007;49:69-82.

23. Della Rossa A, Tavoni A, D'Ascanio A, Catarsi E, Marchi F, Bencivelli W, i sur. Mortality rate and outcome factors in mixed cryoglobulinaemia: the impact of hepatitis C virus. *Scand J Rheumatol.* 2010;39:167-70.
24. Mazzaro C, Mauro E, Ermacora A, Doretto P, Fumagalli S, Tonizzo M, i sur. Hepatitis C virus-related cryoglobulinemic vasculitis. *Minerva Med.* 2021;112:175-87.
25. Mazzaro C, Dal Maso L, Mauro E, Visentini M, Tonizzo M, Gattei V, i sur. Hepatitis C virus- related cryoglobulinemic vasculitis: A review of the role of the new direct antiviral agents (DAAs) therapy. *Autoimmun Rev.* 2020;19:102589.
26. De Vita S, Quartuccio L, Isola M, Mazzaro C, Scaini P, Lenzi M, i sur. A randomized controlled trial of rituximab for the treatment of severe cryoglobulinemic vasculitis. *Arthritis Rheum.* 2012;64:843-53.
27. Cacoub P, Delluc A, Saadoun D, Landau DA, Sene D. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) treatment for cryoglobulinemic vasculitis: where do we stand? *Ann Rheum Dis.* 2008;67:283-7.
28. Desbois AC, Cacoub P, Saadoun D. Cryoglobulinemia: An update in 2019. *Joint Bone Spine.* 2019;86:707-13.
29. Boleto G, Ghillani-Dalbin P, Musset L, Biard L, Mulier G, Cacoub P, Saadoun D. Cryoglobulinemia after the era of chronic hepatitis C infection. *Semin Arthritis Rheum.* 2020;50:695-700.
30. Giuggioli D, Sebastiani M, Colaci M, Fallahi P, Gragnani L, Zignego AL, i sur. Treatment of HCV-Related Mixed Cryoglobulinemia. *Curr Drug Targets.* 2017;18:794-802.
31. Chandrashekhara S. The treatment strategies of autoimmune disease may need a different approach from conventional protocol: a review. *Indian J Pharmacol.* 2012;44:665-71.
32. Bai W, Zhang L, Zhao J, Zhang S, Zhou J, Leng X, i sur. Renal Involvement and HBV Infection Are Common in Chinese Patients With Cryoglobulinemia. *Front Immunol.* 2021;12:580271.
33. Mazzaro C, Dal Maso L, Mauro E, Gattei V, Gherseti M, Bulian P, i sur. Survival and Prognostic Factors in Mixed Cryoglobulinemia: Data from 246 Cases. *Diseases.* 2018;6:35.



34. Saadoun D, Sellam J, Ghillani-Dalbin P, Crecel R, Piette JC, Cacoub P. Increased risks of lymphoma and death among patients with non-hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia. *Arch Intern Med.* 2006;166:2101-8.
35. Terrier B, Marie I, Lacraz A, Belenotti P, Bonnet F, Chiche L, *i sur.* Non HCV-related infectious cryoglobulinemia vasculitis: Results from the French nationwide CryoVas survey and systematic review of the literature. *J Autoimmun.* 2015;65:74-81.
36. Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D, Cazzato M, Longombardo G, Antonelli A, *i sur.* Mixed cryoglobulinemia: demographic, clinical, and serologic features and survival in 231 patients. *Semin Arthritis Rheum.* 2004;33:355-74.
37. Muchtar E, Magen H, Gertz MA. How I treat cryoglobulinemia. *Blood.* 2017;129:289-98.

## **8. SAŽETAK**

**Uvod:** Krioglobulinemije su skupina bolesti kod kojih dolazi do serumske prisutnosti krioglobulina, Bjelančevina koje se precipitiraju u hladnim uvjetima. Miješane krioglobulinemije (tip II i III) se pojavljuju kao primarne ili pridružene drugim bolestima, najčešće hematološkim, autoimunim ili infektivnim. Najčešća infekcija praćena krioglobulinemijom je kronični hepatitis C, a najčešća autoimuna bolest je Sjögrenov sindrom.

**Cilj:** Cilj ovog rada bio je istražiti klinička očitovanja u bolesnika s krioglobulinemijom liječenih od strane reumatologa te utvrditi postoji li razlika u opisanim obilježjima između miješane krioglobulinemije starije i mlađe dobi.

**Ispitanici i metode:** Retrogradno smo istražili medicinske zapise iz stacionara, poliklinike i dnevne bolnice Zavoda za reumatologiju i kliničku imunologiju u 10-godišnjem periodu koji su imali kao vodeću ili pridruženu dijagnozu krioglobulinemiju ili se ista spominje u zaključku nalaza ili otpusnog pisma. Uključeni su samo oni bolesnici koji su 10-godišnjem intervalu praćenja imali evidentirana barem dva klinička posjeta.

**Rezultati:** Pretraživanjem je evidentiran o 21 bolesnik s krioglobulinemijom, a većina (18/21) su bile žene. Kada smo ih podijelili po dobi utvrdili smo da ih je 12 starijih, a 9 mlađih od 60 godina. Većina je imala pridruženu autoimunu bolest i to ukupno najčešće sistemski lupus eritematosus (SLE). U starijoj dobnj skupini najčešća prateća AIB je bila Sjögrenov sindrom, a u toj je skupini bilo značajno više bolesnika s malignim hematološkim bolestima. Skupina ispitanika starija od 60 godina češće je imala purpuru, zahvaćenost perifernih živaca i glomerulonefritis, a serumska razina krioglobulina prosječno je bila viša kod ovih bolesnika naspram mlađe dobne skupine. Pojavnost hepatitisa C bila je niska u obje skupine. Bolesnici su liječeni najčešće oralnim glukokortikoidima (OGK), bolest-modificirajućim lijekovima, imunosupresivima te rijetko biološkim lijekovima. Ispitanici  $\geq 60$  godina u većoj su mjeri primali OGK, hidroksiklorokin, ciklofosfamid i IVIG, dok su oni dobi  $< 60$  godina češće liječeni miko fenolat-mofetilom i biološkom terapijom.

**Zaključci:** Nema bitnih razlika u kliničkim očitovanjima miješane krioglobulinemije između u raznim dobnim skupinama. U bolesnika starije životne dobi krioglobulinemija je često manifestacija sustavne autoimune bolesti, naročito Sjögrenove te limfoproliferativne bolesti. Agresivnija imunosupresija i/ili biološka terapija primjenjuje se uglavnom kod mlađih bolesnika s krioglobulinemijom.

## **9. SUMMARY**

**DIPLOMA THESIS TITLE:** Comparison of cryoglobulinemias of older and younger age: 10-years single centre experience

**OBJECTIVES:** Cryoglobulinemias are a group of diseases with serologic presence of cryoglobulins, proteins that precipitate in cold conditions. Mixed cryoglobulinemia (type II and III) appear as primary disorder or secondary to other diseases, most often hematological, autoimmune or infectious. The most common infection accompanied by cryoglobulinemia is chronic hepatitis C, and the most common autoimmune disease is Sjögren's syndrome. The objective of this work was to investigate clinical manifestations in patients with cryoglobulinemia treated by a rheumatologist and to determine whether there is a difference in the described characteristics between mixed cryoglobulinemia at an older and younger age.

**METHODS AND MATERIALS:** We retrogradely investigated medical records from inpatients, polyclinics and daily hospital of the Department of Rheumatology and Clinical Immunology in a 10-year period that had cryoglobulinemia as the leading or associated diagnosis on medical report or the term "cryoglobulinemia" was recorded in the conclusion of discharge letter. Only those patients who had at least two clinical visits recorded during the 10-year follow-up interval were included.

**RESULTS:** Through the search, about 21 patients with cryoglobulinemia were recorded, and the majority (18/21) were women. When we divided them according to age, we found that 12 of them were older, and 9 were younger than 60. The majority had an associated autoimmune disease, most commonly systemic lupus erythematosus (SLE). In the older age group, the most common accompanying autoimmune disease was Sjögren's syndrome. In the older group there were significantly more patients with malignant hematological diseases. The subjects in the older group had more often purpura, peripheral nerves involvement and renal involvement, and the average serum level of cryoglobulins was higher in these patients compared to the younger age group. The incidence of hepatitis C was low in both groups. Patients were usually treated with oral glucocorticoids (OGC), disease-modifying drugs, immunosuppressants, and rarely with biological drugs. Subjects  $\geq 60$  years of age received OGK, hydroxychloroquine, cyclophosphamide and IVIG largely, while those aged  $< 60$  were more often treated with mycophenolate mofetil and biological therapy.

**CONCLUSIONS:** There are no significant differences in the clinical manifestations of mixed cryoglobulinemia between different age groups. In elderly patients, cryoglobulinemia is often a manifestation of a systemic autoimmune disease, especially Sjögren's disease and lymphoproliferative disease. More aggressive immunosuppression and/or biological therapy was applied mainly in younger patients with cryoglobulinemia.

## **10. ŽIVOTOPIS**

#### OSOBNI PODATCI:

Ime i prezime: Lorena Borovac

Datum i mjesto rođenja: 25.10.1997. Knin, Republika Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa: Jakova Gotovca 1, Knin 22300, RH

E-mail: [borovac.lorena@gmail.com](mailto:borovac.lorena@gmail.com)

#### OBRAZOVANJE:

2004.-2012. Osnovna škola Domovinske zahvalnosti, Knin

2012.-2016. Srednja škola Lovre Montija, smjer: Opća gimnazija, Knin

2016.-2022. Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, smjer: Medicina

#### OSOBNJE VJEŠTINE I KOMPETENCIJE:

Strani jezici: engleski-aktivno

njemački-aktivno

Vozačka dozvola B kategorija