

-UNIVERZITET U BEOGRADU

MEDICINSKI FAKULTET

Snežana D. Arandjelović

ANALIZA KLINIČKIH I
IMUNOSEROLOŠKIH
OSOBNOSTI BOLESNIKA SA
KRIOGLOBULINEMIJOM:
DOPRINOS UTVRDJIVANJU FENOTIPOVA

Doktorska disertacija

Beograd, 2016

UNIVERSITY OF BELGRADE
SCHOOL OF MEDICINE

Snežana D. Arandjelović

ANALYSIS OF CLINICAL AND IMMUNO-
SEROLOGICAL CHARACTERISTICS OF
PATIENTS WITH CRYOGLOBULINEMIA:
IMPORTANCE FOR PHENOTYPE DEFINITION

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2016.

PODACI O MENTORU, KOMENTORU I ČLANOVIMA KOMISIJE

MENTOR:

Prof.dr Branka Bonači Nikolić, redovni profesor, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

KOMENTOR:

Kl.Ass. dr sc med Slađana Andrejević, viši naučni saradnik, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

ČLANOVI KOMISIJE:

Prof.dr Sanvila Rašković (predsednik), redovni profesor, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Doc. dr Mirjana Šefik Bukilica, docent, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof.dr Miodrag Čolić, akademik, emeritus

Rezime

Uvod: Krioglobulini su serumski imunoglobulini koji precipitiraju na temperaturi nižoj od 37⁰C i ponovo rastvaraju zagrevanjem seruma. Najčešće se povezuju sa prisustvom infekcije, autoimunskih i malignih bolesti ili je uzrok nejasan (esencijalna krioglobulinemija). Krioglobulinemije se klasifikuju u tri tipa na osnovu imunohemijskog sastava krioprecipitata. **Tip I** sastavljen je od jednog monoklonskog imunoglobulina, dok su **tip II i III** sastavljeni od imunskih kompleksa, u čijem se sastavu nalazi imunoglobulin sa aktivnošću reumatoidnog faktora (RF), te se zovu mešoviti krioglobulini. Kod tipa II RF je monoklonski, dok je kod tipa III poliklonski. Kod krioglobulinemije tipa II i III (mešovite krioglobulinemije - MC) taloženje imunskih kompleksa u zidu krvnog suda može da dovede do vaskulitnog procesa uz zahvatanje malih krvnih sudova, kapilara i postkapilarnih venula, a nekada i krvnih sudova srednjeg kalibra, pri čemu histološki nalaz odgovara leukocitoklazijskom vaskulitisu. U kliničkom smislu, vaskulitis se manifestuje artralgijama, malaksalošću kao i lezijama pre svega na koži, bubrezima, perifernom nervnom sistemu, ali i bilo kom drugom organu.

Najveći broj do sada objavljenih istraživanja odnosi se na MC u hroničnoj infekciji virusom hepatitisa C (HCV). Podaci u literaturi o esencijalnoj krioglobulinemiji/vaskulitisu su vrlo oskudni, dok se tek u poslednje vreme daje se nešto veći značaj tzv. neinfektivnom krioglobulinemijskom vaskulitisu. Hronična antigenska stimulacija, povećan nivo citokina i faktora stimulacije B limfocita (B lymphocyte stimulator-BLyS), aktivacija sistema komplementa, neki su od pretpostavljenih mehanizama značajnih u patogenezi krioglobulinemijskog vaskulitisa, koja ostaje nepotpuno razjašnjena.

Ciljevi istraživanja: ispitati kliničke i imunoserološke karakteristike bolesnika sa krioglobulinemijom u odnosu na prisustvo i težinu kliničke slike vaskulitisa, kao i etiologiju krioglobulinemije; ispitati kvantitativne i kvalitativne karakteristike krioglobulina (tip krioglobulina, prisustvo RF i M komponente u krioprecipitatu); ispitati učestalost esencijalne u odnosu na sekundarne krioglobulinemije, kao i njene kliničke i imuno serološke karakteristike; utvrditi značaj količine i sastava

krioglobulina, koncentracije C3 i C4, anti C1q antitela i BLYS u serumu, za procenu aktivnosti, praćenje i prognozu esencijalnog, sekundarnog krioglobulinemijskog vaskulitisa, kao i krioglobulinemije bez manifestacija vaskulitisa.

Metode istraživanja: kohortna studija koja je obuhvatila 201 bolesnika, sprovedena od 2006. do marta 2015. godine na Klinici za alergologiju i imunologiju Kliničkog centra Srbije. Dijagnoza krioglobulinemijskog vaskulitisa (CV) postavljena je na osnovu međunarodno priznatih kriterijuma. Pacijenti su bili grupisani u tri grupe na osnovu prisustva i težine vaskulitisa: (CV0) bolesnici sa krioglobulinemijom bez vaskulitisa, (CV1) bolesnici sa lakim CV, (CV2) bolesnici sa teškim CV; a u odnosu na etiologiju 195 bolesnika u sledeće grupe: bolesnici sa esencijalnom krioglobulinemijom (EMC), neinfektivnom (autoimunske i limfoproliferativne bolesti) i HCV posredovanom krioglobulinemijom. HCV posredovana krioglobulinemija je najbolje do sada proučen tip krioglobulinemije, koji ima kliničko serološke specifičnosti različite od drugih infektivnih krioglobulinemija, tako da su bolesnici sa HBsAg-emijom (njih 6) isključeni iz podele prema etiologiji, dok je bolesnik sa HCV/HIV koinfekcijom uključen u grupu sa HCV krioglobulinemijom. Aktivnost i proširenost vaskulitisa procenjivani su poznatim BVAS i DEI skorom. Standardne statističke metode korišćene su za ispitivanje povezanosti brojnih nezavisnih parametara. Takodje, ispitivan je ishod bolesti definisan kao: izlečenje, remisija (kompletna ili parcijalna), relaps bolesti i smrtni ishod. Za sve praćene praćene bolesnike analizirano je preživljavanje.

Rezultati: od 201 bolesnika sa krioglobulinemijom, 80.1% žena i 19.9% muškaraca, 108 je pripadalo grupi CV0, 44 CV1 i 49 CV2 grupi. Prosečna starost je bila 50.8 godina. EMC je imalo 32.8%, 12.4% infekciju (HCV, HCV/HIV ili HBV), 54.2% autoimunsku bolest i 2% limfoproliferativnu bolest. Najčešće prisutne kliničke manifestacije bile su: kožne promene 71.6%, zglobne manifestacije 78.1%, malaksalost 78.6%. Vaskulitis kože je bio prisutan kod 45.3% (CV1 i CV2), a urtikarija/angioedem kod 21.4%, livedo 22.4% (češće u CV2 34.7%). Grupe prema prisustvu i težini CV (CV0, CV1, CV2), se nisu značajno razlikovale u prisustvu Raynaud-ovog sindroma, kapilaroskopskih promena, sika sindroma, neurološke lezije. Bubrežna lezija je bila najčešća u grupi CV2 (57.1%, $p < 0.01$), kao i lezija gastrointestinalnog trakta (GIT) (2.5%) i rasprostranjeni vaskulitis (8.5%). Bolesnici (70.2%) su najčešće imali malu ili srednju količinu krioglobulina, prosečno 3.5g/L, značajno više kod bolesnika sa CV

($p < 0.01$), prosečne vrednosti CV2 (4.8) i CV1 (3.44) vs CV0 (2.87) g/L. Dominirao je III tip krioglobulinemije (70.3%) u odnosu na II tip (28.5%) i I tip (2%). RF u krioglobulinu bio je prisutan kod 53 od 159 ispitivanih (33.3%) bolesnika bez razlike u odnosu na prisustvo i težinu CV, kao i prisustvo M komponente, ali je IgM κ najčešće bio prisutan u CV2 (14.3%, $p < 0.05$). M komponenta u serumu bila je prisutna kod 22.9%, značajno više kod CV (CV1 (22.5%) i CV2 (36.7%) vs CV0 (16.5%), $p < 0.05$), a RF u serumu kod 51.3% svih bolesnika bez razlike u odnosu na prisustvo i težinu CV. Potrošnja komplementa nadjena je kod 53.3% bolesnika, najčešće CV2 (75.5%, $p < 0.01$), kao i sniženje anti C1q, 24% (CV2 vs 0 CV0, $p < 0.01$) i C1 inhibitora (najčešće kod CV2, 54.2%, $p < 0.05$). Potrošnja komplementa pozitivno je korelirala težinom vaskulitisa procenjenog BVAS skorom i količinom krioglobulina ($p < 0.01$). Anti C1q antitela su bila povišena kod 38.6% bolesnika bez obzira na prisustvo i težinu vaskulitisa i ona su prediktor pojave novih manifestacija CV ($p < 0.01$). Nije nadjeno značajno povišenje vrednosti BlyS između ispitivanih grupa, kao ni u odnosu na zdrave kontrole. Prosečna vrednost BVAS 10.34, DEI 6.14, značajno viši ($p < 0.01$) kod CV2. Bolesnici su praćeni prosečno 70.30 meseci. Relaps CV je nadjen kod 67.7% bolesnika bez obzira na težinu CV, najčešći tip relapsa su bile kožne promene 76.6%, zatim bubrežna lezija 14.1%. Kliničku remisiju dostiglo je 78%, a laboratorijsku 54.9% bez obzira na težinu vaskulitisa. Smrtni ishod je bio kod 14 (7%), najčešće u CV2 16.3%.

Zaključak: Bolesnici sa krioglobulinemijom bez vaskulitisa imaju češće SEL, urtikariju/angioedem, manju količinu krioglobulina, redje prisustvo M komponentu u krioprecipitatu, u odnosu na bolesnike sa CV. Bolesnici sa teškim CV u odnosu na bolesnike sa lakim CV, klinički češće imaju promene na koži tipa ulkus/gangrena, bubrežnu i GIT leziju, rasprostranjeni vaskulitis, veće indekse BVAS i DEI, češće relapse i smrtni ishod, a serološki krioglobulinemiju tipa II, IgM κ u krioprecipitatu, potrošnju komplementa, sniženu vrednost anti-C1q i C1inhibitora, povišen CRP. Bolesnici sa EMC imaju klinički češće prisustvu urtikariju/angioedem, a redje sika sindrom, polineuropatiju i bubrežnu leziju u odnosu na sekundarne krioglobulinemije. Serološki EMC je udružena sa manjom količinom krioglobulina dominantno tipa III, uz redje prisustvo IgM kapa, manju potrošnju komplementa. Ona je udružena sa boljim odgovorom na terapiju i češćim postizanjem remisije, ali češćim relapsima u odnosu na krioglobulinemije u sklopu autoimunskih i limfoproliferativnih bolesti. Prisustvo

povišenih anti-C1q antitela i BlyS se nije razlikovalo u odnosu na prisustvo i težinu vaskulitisa, kao i njegovu etiologiju. Povišena anti-C1q su se izdvojila kao prediktor pojave novih manifestacija CV. Veća količina krioglobulina, duže trajanje bolesti i prisustvo EMC su prediktori pojave relapsa CV, dok je negativni prediktor prisustvo anti SSA/SSB antitela. SLE, anti dsDNK i male količine krioglobulina su prediktori prisustva krioglobulinemije bez vaskulitisa, starije životno doba, prisustvo autoimunskih bolesti, najčešće SS, i prisustvo anti SSA/SSB antitela su prediktori prisustva lakog CV. Duže trajanje bolesti, anemija, trombocitopenija i patološki hepatogram su prediktori krioglobulinemije indukovane HCV. Ovi bolesnici imaju manju verovatnoću za postizanje remisije i imaju sedam puta smanjuje verovatnoću pada BVAS tokom praćenja i lečenja. Bolesnici sa postignutom kliničkom i laboratorijskom remisijom imali su značajno bolje preživljavanje u odnosu na one koji je nisu dostigli.

Ključne reči: krioglobulinemija, krioglobulinemijski vaskulitis, esencijalna krioglobulinemija, sekundarna krioglobulinemija, HCV

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Klinička imunologija

Abstract

Introduction: Cryoglobulins (cryoG) are serum immunoglobulins (IG) that precipitate at temperatures lower than 37⁰C and redissolve after rewarming. Their occurrence is most often associated with various infections, autoimmune and malignant disorders, or the cause of it remains obscure (essential cryoglobulinemia (EMC)). Three basic types are recognized according to the clonality and type of immunoglobulins. Type I consists of monoclonal IG, generally either IgM or IgG, while in Type II cryoglobulins are a mixture of monoclonal IgM and polyclonal IgG. Type three cryoglobulins are mixture polyclonal IgM and IgG. The IgM component of type II cryoglobulins has rheumatoid factor activity. In Type II cryoglobulina (CG) RF is of monoclonal, whilst in Type III CG of polyclonal variety. Types II and III are referred to as mixed mixed cryoglobulinemias (MC). MC deposits of immune complexes in walls of blood vessels might lead to vasculitis of small (capillaries and post capillary venules) and medium blood vessels, giving the histologic picture of leukocytoclastic vasculitis. Clinically, this inflammation is manifested as arthralgias, fatigue, and lesions mainly in skin, kidneys and peripheral nerves, however, any organ system can be involved.

Most of the so far reported clinical and laboratory investigations deal with mixed CG in chronic hepatitis C virus (HCV) infection while the data concerning essential CG vasculitis (CV) are scarce. Only recently, so-called noninfectious CV has attracted more attention of the medical community. Chronic antigenic stimulation, increased cytokine and growth factor (BLYS) levels and complement activation may be implicated in the pathogenesis of CV, etiology of which remains largely unknown.

Objectives: To investigate clinical and immunoserologic characteristics of patients with CG and their relation to presence and clinical manifestations of vasculitis, as well as to the etiology of CG; explore quantitative and qualitative characteristics of cryoG; to analyze a ratio between ECG and secondary CG in 201 consecutive patients with CG; to see whether clinical manifestations and laboratory data in patients with ECG vasculitis differ from those in secondary CG at its presentation and in relapse; to determine whether quantity and structure of CG and serum concentrations of C3 and C4 complement components, anti-C1q antibody and BLYS, have value in estimation,

follow-up and prognosis of secondary essential CV, as well as CG without clinically apparent vasculitis.

Methods: This cohort study included 201 patients with CG different etiology and clinical presentation. Diagnosis of CV was done according to the internationally recognized criteria. The patients were divided in three groups depending on presence and severity of vasculitis: in CV0 group there were patients with CG without clinically apparent vasculitis; in CV1 group patients had only a mild form of vasculitis, while CV2 group encompassed patients with severe vasculitis. According to CG etiology the patients were also put in three groups: those with essential CG, patients with noninfectious CG and those with HCV-mediated CG. The activity and extent of the vasculitis in our patients were estimated using well known BVAS and DEI scoring indexes. Standard statistical analyses were used in estimating correlations between various parameters.

Results: Of the 201 CG patient's 80.1% were females and 19.9% males with an overall average age of 50.8 years. One hundred and eight patients belonged to CV0 group, 44 to CV1 and 49 to CV2 group, respectively. EMC was present in 32.8%, HCV, HCV/HIV or HBV infection in 12.4%, autoimmune disorder in 54.2%, and lymphoproliferative disease in 2% of the patients. The most common clinical manifestations were: skin changes (71.6%), arthralgiae (78.1%) and fatigue (78.6%). Skin vasculitis was seen in 45.3% (CV1 and CV2), urticaria/angioedema in 21.4% and livedo in 22.4% of the patients. Statistical analysis comparing presence of Raynaud's syndrome, capillaroscopic changes, sicca syndrome and neurological lesions did not show significant difference between the groups. Kidney, gastrointestinal lesions and widely spread vasculitis were most commonly found in CV2 group. Most of the patients (70.2%) had low or moderate levels of serum CG (on average 3.5 g/l), however, in CV patients those were significantly higher ($p < 0.01$, mean CV2 (4.8), CV1 (3.44) vs CV0 (2.87) g/L). Type III CG was the most frequent (70.3%), followed by type II (28.5%) and type I (2%), respectively. CG contained RF in 33% of all patients and it had no correlation with presence of CV or monoclonal antibody, although it was found that IgMk type was most often present within CV2 group (14.3%, $p < 0.05$). Serum monoclonal component had 22.9% of the patients and its level was significantly higher in CV group (CV1 (22.5%) i CV2 (36.7%) vs CV0 (16.5%), $p < 0.05$) while serum RF

was present in 53.3% of the individuals and its levels had no correlation with the presence or gravity of CV. Average BLYS values were statistically within the normal range. CV2 group patients had significantly higher average values of BVAS and DEI indexes than CV1 (averaging 10.34 vs 6.14, $p < 0.01$). The mean follow-up was 70.30 months. CV relapses (most often manifested as skin changes (76.6%), followed by kidney lesions (14.1%) were seen in 67.7% of the patients and had no correlation with the CV severity. Most (78%) of the patients reached clinical remission while the laboratory remission was seen in 54.9% of them and both were not statistically influenced by CV. Lethal outcome had 14 patients (7%), most frequently (16.3%) they belong to CV2 group.

Conclusion: CG patients without CV more often have SEL and urticaria/angioedema and have less cryo-G and M component in cryoprecipitate, compared to patients with CV. Clinically, skin changes of ulcer/gangrene type, kidney and GIT disorders, widespread vasculitis, higher values of BVAS and DEI indexes, relapses and lethal outcome are all found more frequently in patients with severe than in those with mild form CV, which is also true for serological findings such as CG type II, presence of IgM kappa in cryoprecipitate, low level of complement, C1q and C1 inhibitor and higher level of CRP. Patients with MCG have more frequently urticaria/angioedema, and less sicca syndrome, polyneuropathy and kidney damage comparing to patients with secondary cryoglobulinemia. Laboratory test in EMC show less CG level (which is mostly type III), IgM kappa and complement consumption. EMC have better treatment response and increased rate of remission but more relapses comparing with CG connected with autoimmune and lymphoproliferative diseases. Presence of increased values of anti-C1q and BLYS was not correlated either to presence and gravity of CV or to its etiology. Increased anti C1q in our study was predictor of new manifestations of CV. Increased CG levels, long lasting disease and presence EMC are all predictors of CV relapse, while presence of anti SSA/SSB antibodies is a negative predictor of it. SLE, anti ds DNA and low levels of cryo-G are all predictors of CG without CV, whilst older age, autoimmune diseases (mostly SS) and presence of anti SSA/SSB antibodies predict milder form of CG. Long disease duration, anemia, thrombocytopenia and abnormal hepatogram are all predictors of CG of HCV-induced CG and those patients have less chance of achieving remission and seven times smaller probability of BVAS

decrease during treatment and follow-up. Patient who entered clinical and achieved laboratory remission of CV had significantly better survival rate than those who did not.

Key words: cryoglobulinemia; cryoglobulinemic vasculitis; essential cryoglobulinemia; secondary cryoglobulinemia; HCV infection

Scientific field: Medicine

Specific medical field: Clinical Immunology

SADRŽAJ:

1.UVOD.....	18
1. Definicija, istorijat i klasifikacija krioglobulinemije.....	19
1.1. Definicija i istorijat.....	19
1.2. Klasifikacija krioglobulinemija.....	19
2. Etiologija i epidemiologija krioglobulinemije.....	20
2.1. Krioglobulinemija u infekciji.....	21
2.2. Neinfektivne krioglobulinemije	21
2.3. Esencijalne ili idiopatske krioglobulinemije.....	23
2.4. Epidemiologija krioglobulinemija	23
3. Patofiziologija krioglobulinemije	24
3.1. Stvaranje krioglobulina	24
3.1.1. Uloga virusa hepatitisa C	24
3.1.2. Uloga reumatoidnog faktora (RF)	25
3.1.3. Uloga komplementa	26
3.1.4. Uloga BLyS (BAFF)	27
3.2.Precipitacija krioglobulina	28
3.3. Patogeneza oštećenja tkiva	29
4. Kliničke manifestacije	29
4.1. Hiperviskozni sindrom	29
4.2. Krioglobulinemijski vaskulitis	30
4.3. Manje česte manifestacije bolesti	31
5. Dijagnoza krioglobulinemijskog vaskulitisa	31
5.1. Laboratorijska ispitivanja	32
5.2. Histopatološka ispitivanja	33
6. Evolucija i ishod CV.....	34
7. Lečenje CV	35
7.1. Imunosupresivna terapija	35
7.2.Afereza	36
7.3. Antivirusna terapija	36
7.4. Biološka terapija	36

2. CILJEVI.....	38
3. MATERIJAL I METODE	40
1. Izbor bolesnika	41
2. Dijagnoza, procena aktivnosti i proširenosti vaskulitisa	42
3. Remisija i relaps vaskulitisa	43
4. Laboratorijska ispitivanja	43
4.1. Standardna laboratorijska analiza uzraka krvi i urina	43
4.2. Odredjivanje krioglobulina	43
4.3. Druga imunološka laboratorijska ispitivanja	44
5. Dijagnoza sistemskih autoimunskih bolesti	46
6 . Postupak istraživanja	46
7. Statistička analiza	47
4. REZULTATI	48
1. Grupe ispitivanih bolesnika	49
2. Demografske karakteristike	50
3. Etiologija krioglobulinemije	51
3.1. Esencijalna (primarna) i sekundarne krioglobulinemije	51
3.2 Udruženost sa limfoproliferativnim, autoimunskim i virusnim (HCV, HBV) bolestima	53
4. Kliničke osobnosti	55
4.1. Prisustvo i tip promena na koži, biopsija i histopatološki (HP) nalaz ..55	
4.2. Kapilaroskopski nalaz	57
4.3. Zglobne manifestacije	58
4.4. Malaksalost, povišena temperatura, miopatija (bolovi u mišićima, slabost i/ili povišeni mišićni enzimi)	58
4.5. Sika sindrom	59
4.6. Lezija nervnog sistema	60
4.7. Bubrežna lezija.....	61
4.8. Lezija pluća, gastrointestinalnog trakta, druge visceralne lezije	62
5. Laboratorijske analize	64
5.1. Analiza krioprecipitata	64

5.1.1. Količina krioglobulina	64
5.1.2. RF u krioprecipitatu.....	65
5.1.3. Prisustvo i tip M komponente u krioprecipitatu.....	66
6. Tip krioglobulinemije	67
7. Analiza seruma	68
7.1. EF proteina seruma, imunofiksacija proteina seruma (karakterizacija M komponente)	68
7.2. RF u serumu (kvalitativno i kvantitativno IU/mL)	69
7.3. Komplement (C), C1q, anti C1q, C1 inhibitor, imunski kompleksi (CIC)....	70
7.4. Autoantitela (ANA, anti dsDNK, SSA/SSB, druga).....	71
7.5. Markeri inflamacije (SE > 50/, CRP, fibrinogen)	72
7.6. Citopenije, patološki hepatogram	73
7.7. Faktor stimulacije B limfocita (BLyS) kvalitativno i kvantitativno	74
7.8. Korelacija koncentracije BLyS, indeksa aktivnosti vaskulitisa (BVAS) i indeksa proširenosti vaskulitisa (DEI).....	75
8. Indeks aktivnosti i proširenosti krioglobulinemijskog vaskulitisa.....	75
8.1. Indeks aktivnosti vaskulitisa, BVAS	75
8.2. Indeks proširenosti vaskulitisa, DEI (Disease Extent Index).....	76
8.3. Korelacija BVAS, DEI, koncentracije krioglobulina g/L, sniženja C, prisustva RF u krioprecipitatu, povišenog RF u serumu i povišenih anti-C1q antitela.....	76
9. Praćenje bolesnika.....	77
9.1. Dužina praćenja	77
9.2. Relaps vaskulitisa, tip relapsa, nove manifestacije CV tokom praćenja.....	78
9.3. Druge bolesti tokom praćenja.....	79
9.4. Remisija (klinička i laboratorijska).....	79
9.5. Količina krioglobulina na kraju praćenja.....	80
9.6. Ishod, uzrok smrti.....	81
9.7. Indeks aktivnosti vaskulitisa na kraju praćenja, BVAS2 (Birmingham vasculitis activity score).....	81
9.8. BVAS1 vs BVAS2.....	82
9.9. Indeks proširenosti vaskulitisa na kraju praćenja, DEI2.....	83

9.10. DEI vs DEI2.....	84
10. Etiologija krioglobulinemije.....	85
10.1. Demografski podaci.....	85
10.2. Prisustvo i težina vaskulitisa.....	86
10.3. Kliničke manifestacije	87
10.3.1. Kožne promene	87
10.3.2. Zglobne manifestacije, malaksalost, sika sindrom.....	88
10.3.3. Visceralne manifestacije.....	89
10.3.3.1. Bubrežna lezija.....	90
10.3.3.2. Lezija nervnog sistema.....	91
10.4. Laboratorijski analize.....	92
10.4.1. Količina krioglobulina, RF u krioprecipitatu, M komponenta u krioprecipitatu.....	93
10.4.2. Tip krioglobulinemije.....	93
10.4.3. EF proteina seruma, RF u serumu, komplement, CIC, anti C1q...94	
10.4.4. Prisustvo autoantitela (ANA, anti dsDNK, SSA/SSB).....	96
10.4.5. Markeri inflamacije (SE > 50/, CRP, fibrinogen).....	96
10.4.6. Anemija, leukopenija, trombocitopenija, patološki hepatogram...97	
10.4.7. Vrednosti citokina B limfocitnog stimulatora (BLyS) prikazane kvalitativno i kvantitativno.....	97
10.5. Indeks aktivnosti vaskulitisa, BVAS (Birmingham vasculitis activity score) i Indeks proširenosti vaskulitisa, DEI (Disease Extent Index).....	98
10.5.1. BVAS1 i DEI1 na početku ispitivanja.....	98
10.5.2. BVAS2 i DEI2 na kraju praćenja.....	99
10.5.3. Odnos BVAS1/DEI1 prema BVAS2/DEI2.....	100
10.6. Relaps, broj relapsa, tip relapsa CV, nove manifestacije CV, druge bolesti tokom praćenja.....	101
10.7. Remisija klinička, remisija laboratorijska, smrtni ishod, uzrok smrti.....	102
10.8. Količina krioglobulina na kraju praćenja.....	103

11. Logistička regresiona analiza u odnosu na posmatrane ishode i analizu faktora razlike izmedju ispitanika sa različitom kliničkom slikom (CV0, CV1,CV2) i etiologijom (EMC, neinfektivne i HCV krioglobulinemije).....	104
11.1. Prediktori razlike u odnosu na pojavu novih manifestacija CV.....	105
11.1.1.Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava novih manifestacija CV.....	105
11.1.2.Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava novih manifestacija CV.....	106
11.2. Prediktori razlike u odnosu na pojavu drugih oboljenja.....	107
11.2.1.Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava drugih oboljenja.....	107
11.2.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava drugih oboljenja.....	108
11.3. Prediktori razlike u odnosu na pojavu kliničke remisije.....	109
11.3.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava kliničke remisije.....	109
11.3.2.Multiivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava kliničke remisije.....	110
11.4. Prediktori razlike u odnosu na pojavu laboratorijske remisije.....	112
11.4.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava laboratorijske remisije.....	112
11.4.2. Multiivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava laboratorijske remisije	113
11.5. Prediktori razlike u odnosu na pojavu relapsa bolesti.....	115
11.5.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava relapsa bolesti.....	115
11.5.2. Multiivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava relapsa bolesti.....	116
11.6. Prediktori razlike u odnosu na pad BVAS.....	118

11.6.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pada BVAS.....	118
11.6.2. Multiivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pad BVAS.....	119
11.7. Prediktori razlike u između ispitanika sa krioglobulinemijom bez vaskulitisa (CV0) i lakšim oblikom vaskulitisa (CV1).....	120
11.7.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava razlike između CV0 i CV1.....	121
11.7.2. Multiivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojave razlike CV0 i CV1.....	123
11.8. Prediktori razlike u između ispitanika sa CV0 i CV2.....	125
11.8.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora pojava razlike između CV0 i CV2.....	125
11.8.2. Multiivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojave razlike CV0 i CV1.....	126
11.9. Prediktori razlike između ispitanika sa esencijalnom krioglobulinemijom i neinfektivnom krioglobulinemijom.....	128
11.9.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između bolesnika sa esencijalnom krioglobulinemijom i neinfektivnom krioglobulinemijom.....	128
11.9.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između bolesnika sa esencijalnom krioglobulinemijom i neinfektivnom krioglobulinemijom.....	130
11.10. Prediktori razlike u između ispitanika sa esencijalnom krioglobulinemijom i HCV krioglobulinemijom.....	132
11.10.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između bolesnika sa esencijalnom krioglobulinemijom i HCV krioglobulinemijom.....	132

11.10.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike izmedju bolesnika sa esencijalnom krioglobulinemijom i HCV krioglobulinemijom.....	133
12. Analiza preživljavanja.....	134
12.1. Kaplan Meir-ova analiza preživljavanja.....	134
12.2. Cox-ova regresiona analiza	145
5.DISKUSIJA.....	148
6.ZAKLJUČCI.....	180
7.LITERATURA.....	184

SKRAĆENICE

ANA	-	antinukleusna antitela
ANCA	-	antineutrofilna citoplazmatska antitela
ANOV	-	analiza varijanse
ARA	-	American Rheumatology Association
BCMA	-	maturacioni antigen B ćelija
BVAS	-	Birmingham Vasculitis Activity Score
BLyS	-	faktor stimulacije B limfocita (B lymphocyte stimulator); B-cellactivating factor (BAFF).
C	-	komplement
CD	-	Cluster of differentiation
CG	-	krioglobulin
CH50	-	skrining test za totalnu aktivnost komplementa
CMV	-	Citomegalo virus
CNS	-	centralni nervni sistema
CRP	-	C rektivni protein
CR1	-	receptor za komplement tipa 1
CS	-	krioglobulinemijski sindrom
CV	-	krioglobulinemijskivaskulitis
DEI	-	Disease Extent Index
DNK	-	rezoksiribonukleinska kiselina
RNK	-	ribonukleinska kiselina
EBV	-	Epstein-Barr virus
EDTA	-	edetic acid (etilendiamintetrasirćetna kiselina)
EF	-	elektroforeza
ENG	-	elektroneurografija
FITC	-	fluorescein izo-tio cijanat
FcRII	-	receptora za Fc fragment imunoglobulina tipa 2
ELISA	-	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EMC	-	esencijalna mešovita krioglobulinemija
GISC	-	Italian Group for the Study of Cryoglobulinemia
GIT	-	gastrointestinalni trakt
GN	-	glomerulonefritis
HBV	-	virus hepatitisa B
HBsAg	-	antigen S virusa hepatitisa B
HCV	-	virus hepatitisa C
HOBP	-	hronična opstruktivna bolest pluća
HP	-	histopatologija
IFN	-	interferon
Ig	-	imunoglobulin
IIF	-	indirektni imunofluorescentni test
IL	-	interleukin
LN	-	lupus nefritis
LR	-	livedo reticularis

kg -	kilogram
KVS -	kardiovaskularni sistem
MBL -	lektin koji vezuje manozu
M komponenta -	monoklonska komponenta
MALT -	mucosa associated lymphoid tissue
MC -	mešovita krioglobulinemija
mg -	miligram
MM -	multipli mijelom
NHL -	non Hodgkin limfom
HIV -	virus humane imunodeficijencije
HTLV -	humani T limfotropni virus
HUVC -	hipokomplementemijski urtikarijalnovaskulitisni sindrom
PBC -	primarna bilijara ciroza
PCR -	polimerase chain reaction
RA -	reumatoidni artritis
RES -	retikuloendotelni sistem
RF -	reumatoidni faktor
RNK -	ribonukleinska kiselina
RPGN -	rapidno progresivni glomerulonefritis
SBVT -	sistemska bolest vezivnog tkiva
SE -	sedimentacija eritrocita
SLE -	sistemska eritemski lupus
SLEDAI -	indeks aktivnosti SLE
SS -	Sjögrenov sindrom
SSA -	Sjögren syndrome antigen A (Ro)
SSB -	Sjögren syndrome antigen B (La)
TACI -	ciklofilin ligand koji moduliše kalcijum
Tg Ag -	tireoglobulinski antigen
TNF -	faktor nekroze tumora
TT -	telesna težina

UVOD

1. Definicija, istorijat i klasifikacija krioglobulinemija

1.1. Definicija i istorijat

Krioglobulini su serumski imunoglobulini koji precipitiraju *in vitro* na temperaturi nižoj od 37°C (većinom od 0 do 4°C) i ponovo se rastvaraju zagrevanjem seruma.

Prvi put je fenomen reverzibilne krioprecipitacije zapažen 1929. godine dok su Heidelberger i Kendall proučavali precipitate formirane *in vitro* sastavljene od pneumokoknog polisaharida i specifičnog zečjeg antiseruma, a zatim 1933.godine kada su Wintrobe i Buell opisali hiperproteinemiju kod pacijenta sa multiplim mijelomom (1). Naziv krioglobulin uveden je 1947. (Lerner i Watson) (2). Dvadesetak godina kasnije, 1966. godine, Meltzer i Franklin opisuju “esencijalnu” mešovitu krioglobulinemiju i zapažaju udruženost sa odredjenim kliničkim trijasom: purpura, artralgije i malaksalost, koji se od tada naziva Meltzerovim trijasom ili krioglobulinemijskim sindromom (3). U literaturi se kao sinonimi, sa skoro podjednakom zastupljenošću, upotrebljavaju nazivi mešovita krioglobulinemija (MC), krioglobulinemijski sindrom (CS) i krioglobulinemijski vaskulitis (CV).

Naziv krioglobulinemija se odnosi na prisustvo krioglobulina u serumu što ne znači uvek i prisustvo bolesti. Naziv krioglobulinemijski sindrom ili krioglobulinemijski vaskulitis podrazumeva prisustvo kliničkih manifestacija koje prate prisustvo krioglobulina u serumu (4). Osobe sa mešovitom krioglobulinemijom čine veoma heterogenu grupu, tako da bi svaki pokušaj klasifikacije odgovarao klasifikaciji osoba sa ubzanom sedimentacijom. Značajno je uočiti da li kod njih postoji krioglobulinemijski sindrom (odnosno vaskulitis) i ako postoji, da li je sekundaran odnosno udružen sa drugim bolestima, kao i utvrditi stepen raširenosti vaskulitisanog procesa.

1.2. Klasifikacija krioglobulinemija

Najčešće se koristi klasifikacija krioglobulinemija na osnovu imunohemijskog sastava krioprecipitata, koju su 1974. godine predložili Brouet i sar. (5) Ova podela je jednostavna i dobro koreliše sa kliničkim manifestacijama i pridruženim oboljenjima. Prema klonalnosti i tipu imunoglobulina, prepoznaju se tri osnovna tipa krioglobulinemija. **Tip I** (10-15%) - u sastavu krioglobulina je jedan monoklonalni imunoglobulin, obično IgG ili IgM. **Tip II** (50-60%) - u sastavu krioglobulina je

mešavina različitih izotipova od kojih je bar jedan monoklonski, usmeren na Fc fragment normalnog IgG (reumatoidni faktor, RF), obično je IgM kappa, ali može biti i IgG i IgA, **Tip III** (25-30%) – mešavina poliklonskih imunoglobulina različitih izotipova, obično IgM i IgG, pri čemu IgM ima RF aktivnost. Tip II i III su mešovite krioglobulinemije (**Tabela 1**). Sugerise se mogućnost da je krioglobulinemija tipa III prelazno stanje ka krioglobuliniji tipa II (od poliklonske ka oligoklonskoj-moklonskoj proliferaciji B limfocita) (6), te je označena posebna podgrupa, tip II-III mešovite krioglobulinemije. Ovakav serološki nalaz je u skladu sa molekularnim ispitivanjima koja pokazuju prisustvo oligoklonske proliferacije B ćelija u jetri i kostnoj srži kod većine osoba sa mešovitom krioglobulinemijom tipa II (7).

Tabela 1. Klasifikacija krioglobulina prema Brouet-u i sar.

	Tip I	Tip II	Tip II-III	Tip III
Sastav	Jedan monoklonski Ig, uglavnom IgG, IgM ili IgA ili monoklonski laki lanci	Prisustvo monoklonske komponente obično IgM, IgG ili IgA i poliklonskog Ig (uglavnom IgG)	Oligoklonski IgM, poliklonski Ig (uglavnom IgG)	Poliklonski mešoviti Ig (svih izotipova)
Patološke karakteristike	Tkivne histološke alteracije vezane za osnovnu bolest	Leukocitoklazijski vaskulitis, B ćelijska ekspanzija, tkivni infiltrati B ćelijama	Leukocitoklazijski vaskulitis, B ćelijska ekspanzija, tkivni infiltrati B ćelijama	Leukocitoklazijski vasulitis, B ćelijska ekspanzija, tkivni infiltrati B ćelijama
Biološke karakteristike	Spontana agregacija preko Fc fragmenata Ig	RF aktivnost monoklonske komponente protiv Fc poliklonskog Ig, ukršteni idiotip Wa mRF	Ukršteni idiotip Wa mRF (IgM) agregacija preko RF ili Fc dela IgG	RF aktivnost jedne poliklonske komponente (obično IgM)
Klinička udruženost	Limfoproliferativne bolesti: multipli mijelom, Waldenstomova makroglobulinemija, hr. limfocitna leukemija, B ćelijski NHL	Virusne, bakterijske, parazitarne infekcije (uglavnom HCV, manje HBV, drugo), autoimunske bolesti, limfoproliferativne bolesti, retko u esencijalnoj formi	Virusne, bakterijske, parazitarne infekcije (uglavnom HCV, manje HBV, drugo), autoimunske bolesti, limfoproliferativne bolesti, retko u esencijalnoj formi	Virusne, bakterijske, parazitarne infekcije (uglavnom HCV, manje HBV, drugo), autoimunske bolesti, limfoproliferativne bolesti, retko u esencijalnoj formi
Kliničke manifestacije	Hemoreološki poremećaji, akrocijanaza, gangrene, Raynaudov fenomen, okluzivne vaskulopatije	Purpura, artralgije, slabost, glomerulonefritis, polineuropatija, komplikovano B ćelijskim NHL	Purpura, artralgije, slabost, glomerulonefritis, polineuropatija, komplikovano B ćelijskim NHL	Purpura, artralgije, slabost, glomerulonefritis, polineuropatija

2. Etiologija i epidemiologija

Krioglobulini mogu biti udruženi sa prisustvom različitih oboljenja koje se najšire mogu označiti kao infekcije, autoimunske i maligne bolesti ili se mogu javiti u idiopatskoj

formi označenoj kao esencijalna krioglobulinemija (8). I u serumu zdravih osoba može se naći mala količina krioglobulina, za koju se veruje da nastaje kao posledica specifičnih fizioloških interakcija između imunoglobulinskih molekula (9). Pored krioglobulina, postoje i drugi krioprecitabilni proteini plazme kao što su krioaglutinini, kriofibrinogen i CRP-albumin kompleksi.

2.1. Krioglobulinemija u infekciji

Otkriće virusa hepatitisa C (HCV) radikalno je promenilo fokus istraživanja od esencijalne ka krioglobulinemiji povezanoj sa HCV infekcijom (10). Ferri i sar. nalaze prisustvo cirkulišuće HCV-RNK kod blizu 90% italijanskih pacijenata sa mešovitom krioglobulinemijom (11), dok kasnija istraživanja nalaze značajne geografske varijacije (12). HCV je najčešće udružen sa krioglobulinemijom tipa II.

Virus hepatitisa B (HBV) je takodje povezan sa pojavom krioglobulinemije, kao i virus humane imunodeficijencije (HIV). Opisane su i brojne druge infekcije udružene sa pojavom krioglobulinemijskog sindroma (**Tabela 2**) (13).

2.2. Neinfektivne krioglobulinemije

Pacijenti sa sistemskim autoimunskim bolestima mogu imati manifestacije krioglobulinemijskog sindroma kao deo kliničke slike. Autoimunska bolest koja je najčešće udružena njegovom pojavom je Sjögrenov sindrom (SS) i u tom slučaju krioglobulinemija je vezana za ekstraglandularne manifestacije i povećan rizik za nastanak B-ćelijskih limfoma (14,15). Krioglobulini se nalaze kod blizu 10% bolesnika sa sistemskim eritemskim lupusom (SEL) i reumatoidnim artritismom (RA), ali je količina krioglobulina obično manja i manifestacije krioglobulinemijskog sindroma redje nego kod bolesnika sa Sjögrenovim sindromom. Pacijenti sa SLE koji imaju kriokrit veći od 1% pokazuju veću učestalost infekcije HCV i kutanih vaskulitisa (16).

Od malignih bolesti udruženih sa krioglobulinemijom, najčešće su zastupljene proliferativne bolesti B limfocita. Kod Waldenströmove makroglobulinemije, multiplog mijeloma i hronične limfocitne leukemije, najčešće se sreću krioglobulinemije tipa I (17). Mešovite krioglobulinemije su uglavnom udružene sa B ćelijskim limfomima (18).

Krioglobulini se mogu sresti i kod bolesnika sa solidnim tumorima, kao što su hepatocelularni karcinom i adenokarcionim tiroidne žlezde (19).

Tabela 2. Uzroci povezani sa prisustvom krioglobulinemije (13)

	Najčešći uzroci	Manje česti uzroci	Retki uzroci
Infekcije	Hepatitis C virus	HIV, Hepatitis B virus	Streptococcus spp; Brucella spp; Coxiella sp; Leishmania spp; Chlamydia spp; Mycobacterium tuberculosis; lepra; hepatitis A virus; cytomegalovirus; parvovirus B-19; Epstein-Barr virus; hanta virus; amebijaza; toxoplasmoza
Autoimunske bolesti	Sjögrenov sindrom	Sistemska eritemski lupus; Reumatoidni artritis	Sistemska skleroza; antifosfolipidni sindrom; inflamatorne miopatije; Stillova bolest; polyarteritis nodosa; gigantocelularni erteritis; Takayasu arteritis; ANCA vaskulitisi; autoimunski hepatitis
Maligne bolesti	B-ćelijski limfom	Multipli mijelom	Hodgkinov limfom; hronična limfocitna leukemija; hronična mijeloidna leukemija; mijelodisplazija; hepatocelularni karcinom; papilarni karcinom tirodeje; adenokarcinom pluća; karcinom bubrega; nazofaringealni karcinom
Drugi uzroci		Alkoholna ciroza	Co-trimoksazol [*] , interferon-alfa [*] , kokain [*] , kontrastna sredstva [*] , vakcine [*] za influencu, hepatitis B, BCG; bolest moya-moya; endokarditis; lupus pernio
ANCA= antineutrofilna citoplazmatska antitela * udruženost sa egzacerbacijom krioglobulinemije			

Tabela 3. Diferencijalne karakteristike CV u infekciji i neinfektivnih CV (Perez-Alomino R. 2014) (20).

	CV u infekciji	Neinfektivni CV
Etiologija	HCV (90%), HBV, HIV	Autoiminske bolesti, hematološki maligniteti, esencijalna/idiopatska
Krioglobulini	Mešoviti (tip II)	Tip I Mešoviti (tip II ili III)
Patogeneza	Krioprecipitacija posredovana imunskim kompleksima	Hiperviskoznost tip I Posredovana imunskim kompleksima (tip II/III)
Klinički nalaz	Vaskulitis malih/srednjih krvnih sudova	Hiperviskozni sindrom (tip I) Vaskulitis malih/srednjih krvnih sudova (tip II/III)
Laboratorija	Tip II krioglobulina RF(+), sniženi C3 i/ili C4 ELISA antitela (+), HCV RNK (serum/krioprecipitat)	Tip I (sEFP)- M protein ANA (+), ENA (+)
Proгноza	Zavisi od rasprostranjenosti i težine vaskulitisa	Zavisi od težine osnovne bolesti Esencijalna MC je mnogo agresivnija Tip I zavisi od hematološkog maligniteta
Lečenje	Zavisi od ekstenzivnosti i težine vaskulitisa: gks, imunosupresivi, tip, plazmafereza, rituksimab, HCV:antivirusna terapija	Zavisi od etiologije i težine vaskulitisa: Rituksimab (kontroverzna), tip, lečenje osnovne hematološke ili autoimunske bolesti

Skraćenice: HCV-hepatitis C virus; HBV-hepatitis B virus; HIV-virus humane imunodefijencije; RF-reumatoid faktor; C3 i C4-komponente komplemента; ELISA-enzyme-linked immunosorbent assay; sEFP-elektroforeza proteina seruma; ANA-antinukleusna antitela; ENA-ekstraktibilni nuklearni antigeni.

2.3. Esencijalne ili idiopatske krioglobulinemije

Esencijalne krioglobulinemije (EMC) su nepoznatog uzroka i predstavljaju oko 10% svih krioglobulinemija (21). Tek poslednjih godina obnavljaju se istraživanja vezana za ovaj oblik krioglobulinemije koji je skoro dve decenije bio u senci HCV-om indukovane krioglobulinemije.

2.4. Epidemiologija krioglobulinemija

Prevalenca krioglobulinemije nije jasno utvrđena (22). Razlozi za to su različiti i odnose se na postojanje laboratorijskih poteškoća za izolaciju i identifikaciju krioglobulina, kao i odsutvo standardne kliničke evaluacije pacijenata sa mogućom

krioglobulinemijom (13). Uočljiva je geografska heterogenost, s najvećom prevalencom HCV-om indukovane krioglobulinemije u Mediteranskom području (23), a razlog za ove geografske varijacije nije dovoljno jasan.

3. Patofiziologija krioglobulinemije

3.1. Stvaranje krioglobulina

Krioglobulini se stvaraju kao posledica klonske ekspanzije B ćelija usled limfoproliferativne bolesti ili perzistentne imunske stimulacije u sklopu hroničnih infekcija i autoimunskih bolesti. U osnovi tipa I i tipa II krioglobulinemija je monoklonska proliferacija klona koji može biti jasno maligni (multipli mijelom), tinjajući (Waldenströмова makroglobulinemija, plazmocitni limfom) ili indolentni (monoklonska gamopatija neodređenog značaja). Nasuprot tome, kod krioglobulinemije tipa III proliferacija B ćelija je poliklonska (13).

3.1.1. Uloga virusa hepatitisa C

Do otkrića virusa hepatitisa C 1989. godine, uzrok mešovite krioglobulinemije ostajao je neprepoznat kod 30-50% bolesnika. 1990-tih godina uočena je jasna povezanost sa infekcijom ovim virusom, a u brojnim eksperimentalnim i studijskim istraživanjima potvrđena je njegova etiopatogenetska uloga, tako da se mešovita krioglobulinemija smatra glavnom ekstrahepatičnom manifestacijom HCV infekcije. HCV je hepatotropni i limfotropni virus, te je pored hronične lezije jetre odgovaran i za imunsku disregulaciju koja je u osnovi limfoproliferacije i autoimunskih fenomena koji se dešavaju kod ove infekcije (24). Infekcija HCV-om je dobar model za proučavanje etiopatogeneze krioglobulinemije (19). Prvi korak je limfotropizam HCV, gde interakcija virusnog E2 sa CD81, signalnim molekulom eksprimovanim na hepatocitima, B i T limfocitima, pokreće hroničnu stimulaciju B limfocita (25). Klonovi B limfocita mogu se naći u perifernoj krvi, kostnoj srži i jetri pacijenata sa HCV infekcijom, posebno kod onih sa krioglobulinemijom tipa II (26). Ovi klonovi produkuju monoklonski IgM, sa aktivnošću RF, koji ima ukršteni idiotip nazvan WA (naziv se vezuje za prisustvo Waldenström-ove makroglobulinemije kod pacijenta iz čijeg seruma je prvi put izolovan) koji se vezuje za imunoglobulin usmeren na anti-HCVprotein jezgra (27). Krioprecipitati pacijenata sa HCV indukovanom

krioglobulinemijom, sadrže virusni core protein i RNK, što sugerira da je produkcija krioglobulina posledica imunskog odgovora domaćina na infekciju (28).

Mešovita krioglobulinemija (MC) indukovana hroničnom HCV infekcijom predstavlja model koji objašnjava vezu između infekcije, autoimunosti i limfoproliferacije, gde prolongirana antigenska stimulacija dovodi do limfoproliferacije i produkcije poliklonskog IgM sa aktivnošću RF, koji tokom vremena i uz delovanje nedovoljno poznatih endogenih i egzogenih faktora, postaje monoklonski uz mogućnost limfomageneze kod jednog broja bolesnika (29). Time se ilustruje da je krioglobulinemija dinamičan proces, gde je pojava poliklonskih krioglobulina inicijalni korak, koji preko oligoklonskih vodi stvaranju monoklonskih krioglobulina, odnosno prelasku krioglobulinemija tipa III ka tipu II. U kliničkoj praksi, HCV infekcija se mora uvek isključiti, čak i kada su vrednosti aminotransferaza u granicama normale. Serum bolesnika sa CV se mora testirati na prisustvo anti HCV antitela i HCV RNK, a u slučaju da su ponavljane analize negativne, imajući u vidu da se HCV RNK i anti-HCV antitela koncentruju u krioprecipitatu, potrebno je analizirati krioprecipitat na prisustvo HCV (30).

3.1.2. Uloga reumatoidnog faktora (RF)

Nisko afinitetni RF je prirodno polireaktivno antitelo u serumu, sa specifičnošću za IgG. Njegova uloga u imunskom odgovoru nije u potpunosti jasna, ali se smatra da pomaže u klirensu imunskih kompleksa čineći ih većim i aktivišući komplement. Veruje se da HCV inficirane cirkulišuće B limfocite i stimuliše ih na sintezu poliklonskog IgM RF, a da nedovoljno poznati faktori indukuju skretanje ka abnormalnoj proliferaciji jednog klona koji sekretuje monoklonski IgM kapa RF, što je u osnovi krioglobulinemija tipa II (31). IgM kapa RF se vezuje sa visokom aviditetom za anti-HCV IgG ili za anti-HCV IgG u imunskim kompleksima, što rezultira u pojavi krioglobulina. Formiranje RF (anti IgG)/IgG imunskih kompleksa je glavni korak koji prethodi krioprecipitaciji.

RF se nalazi i u drugim hroničnim infekcijama osim HCV i njegovo prisustvo ne znači uvek autoimunost. U reumatoidnom artritisu, RF sekretuje poseban klon B limfocita koji ispoljava multiple somatske mutacije što bi ukazivalo na imunski odgovor na specifične antigene. S druge strane, monoklonski IgM kod bolesnika sa limfocitnom

leukemijom samo izuzetno ima takve mutacije. Crouzer et al. analizirali su B limfocite koji produkuju monoklonski RF kod bolesnika sa HCV infekcijom i jasno su našli prisustvo somatskih mutacija. To bi ukazivalo da je ovaj RF "drugačiji" od RF koji stvara "maligna" klonska proliferacija u hematološkim bolestima, ali i da nije isti kao kod reumatoidnog artritisa (32).

RF u krioprecipitatu je u sastavu imunskih kompleksa sa imunoglobulinima vezanim za ciljne antigene (virusi, bakterije ili specifični imunogeni). Takvi imunski kompleksi mogu uzrokovati vaskulitis. Sam po sebi RF ne precipitira na hladnoći, ali precipitira kada je vezan za monoklonske ili poliklonske imunoglobuline (31).

3.1.3. Uloga komplementa

Abnormalnosti komplementa opisane su davno, još na samom početku izučavanja krioglobulinemija, kada je zapaženo prisustvo normalne ili snižene vrednosti C3 i često nemerljiva C4 komponenta (33). Ovakav nalaz je na neki način "zaštitni znak" ili "potpis" krioglobulinemije tipa II. Selektivno sniženje C4 komponente ukazuje na aktivaciju komplementa klasičnim putem, dok C3 komponenta može biti normalnog nivoa, izuzev kod bolesnika sa teškim nanifestacijama bolesti (glomerulonefritis, neuropatija). Sniženje komplementa može biti posledica *in vivo* ili *ex vivo* aktivacije. Kao potencijalni aktivatori navode se monoklonski IgM RF, IgG antitela i njihovi kompleksi na hladnoći ili moguće modulacije stoihiometrijskih i reoloških osobina kriokompleksa u specifičnoj mikrocirkulaciji (koža, bubreg). Takođe, postoji potencijal za aktivaciju komplementa alternativnim i lecitinskim putem, posebno u situacijama hronične infekcije i imunske stimulacije uzrokovane HCV. Mehanizmi odgovorni za selektivno smanjenje C4 nisu dovoljno razjašnjeni, ali se smatra da je posledica: aktivacije komplementa (34), poremećenog klirensa imunskih kompleksa ili smanjene sinteze (35). Da li krio-RF možda interferira sa komplementom na nivou C3, još uvek nije poznato.

Vezivanje C_q za specifične površinske receptore pomaže lokalizovanje imunskih kompleksa na mestu patološkog procesa, posebno u koži i u glomerularnoj mikrocirkulaciji. Poremećen ili zasićen klirens imunskih kompleksa preko CR1 (receptor za komplement tipa 1 na eritrocitima) i/ili FcRII receptora, može objasniti

njihovo perzistiranje u cirkulaciji. Patogeni potencijal krioprecipitabilnih imunskih kompleksa zavisi od njihove sposobnosti aktivacije komplementa i stvaranje fragmenata sa funkcijom anafilatoksina i hemotakse leukocita, kao i kompleksa C5b-9 (membrane attack complex) na površini ćelija.

3.1.4. Uloga BlyS (BAFF)

Faktor aktivacije B limfocita (BAFF - B-cell activating factor), takodje poznat pod nazivom B limfociti stimulator (B lymphocyte stimulator - BlyS), član TNF (tumor necrosis factor) superfamilije, identifikovan je 1999. godine i time su se značajno promenila saznanja o mehanizmima preživljavanja i proliferacije B limfocita. BlyS ima glavnu ulogu u sazrevanju i preživljavanju perifernih B limfocita i neophodan je za njihov razvoj i aktivaciju. Sekretuju ga dominantno aktivisane mijelodne ćelije (monociti, makrofagi i dendritične ćelije (DC)) pod uticajem IL-10 i interferona-gama (IFN- γ), u stanjima inflamacije i/ili hronične infekcije, ali i druge, kao što su stromalne ćelije kostne srži, sinoviociti i epitel creva (36). BlyS stimuliše ekspresiju više anti-apoptotičnih gena u B limfocitima. Interakciju se ostvaruje preko tri tipa receptora: maturacioni antigen B ćelija (BCMA), transmembranski aktivator i ciklofilin ligand koji moduliše kalcijum (TACI) i najvažnije, receptor aktivacije B limfocita (BAFF-R). BlyS pokazuje značajnu homologiju sa drugim članom TNF superfamilije, APRIL (a proliferation-inducing ligand) koji sa BlyS-om deli dva receptora: TACI i BCMA. U murinim modelima jasno je dokazano da je nedostatak BlyS povezan sa deficitom zrelih B limfocita, a da povećana ekspresija BlyS vodi proliferaciji limfocita i produkciji velike količine imunoglobulina, uključujući i autoantitela kao što su RF i anti dsDNK, ponekad krioglobulini. Povećan nivo BlyS omogućava preživljavanje anergičnih autoreaktivnih klonova B limfocita, koji bi normalno bili uništeni, a njihova pozitivna selekcija narušava imunološku toleranciju. Ovi autoreaktivni klonovi su zavisni od BlyS u većoj meri nego autoreaktivni (37).

Visok nivo BlyS nadjen je u čitavom nizu autoimunskih bolesti, najčešće Sjogren i SEL, ali i u reumatoidnom artritisu, sistemske sklerozi, multiploj sklerozi, dijabetesu, celijačnoj bolesti i autoimunske tiroiditise. Mehanizam autoimunskih bolesti koje se udružene sa BlyS detaljno je proučavan i mnogi, ali ne i svi, aspekti su razjašnjeni (38).

Obzirom da je povišen nivo BLyS udružen sa kliničkim i laboratorijskim pokazateljima autoimunosti, moguća je njegova uloga u autoimunskim događjima vezanim za HCV infekciju i krioglobulinemiju. Štaviše, BLyS može predstavljati vezu između infekcije, limfoproliferacije i autoimunosti.

3.2.Precipitacija krioglobulina

Krioglobulinemija je relativno čest laboratorijski nalaz i predstavlja deskriptivni termin za *in vitro* artefakt, krioprecipitaciju. Precipitacija krioglobulina posle izlaganja niskim temperaturama omogućava njihovo otkrivanje, međutim sami biohemijski mehanizmi ovog procesa nisu u potpunosti poznati. Smatra se da pad temperature izaziva konformacione steričke promene celokupnog molekula uz izlaganje nepolarnih rezidua, što rezultira u gubitku solubilnosti i formiranju krioprecipitata. Krioprecipitacija može biti sekundarna, usled intrinzičkih karakteristika i monoklonske i poliklonske imunoglobulinske komponente, a može biti i posledica interakcije između pojedinačnih komponenti krioprecipitata. Temperatura verovatno nije jedini faktor koji utiče na solubilnost krioglobulina. Ona bi se pre mogla posmatrati kao doprinoseći faktor za pojavu manifestnog vaskulitisa na donjim ekstremitetima posle izlaganja hladnoći. Uticaj niske temperature teško je povezati sa pojavom visceralnih manifestacija CV imajući u vidu da se telesna temperatura održava u uskim granicama. Rastvorljivost proteina zavisi od različitih faktora, kao što su njihova primarna struktura i steričke konformacije, što je u vezi sa temperaturom, pH i jonskom jačinom. Manjak tirozinskih rezidua, relativni višak hidrofobnih aminokiselina, smanjena koncentracija galaktoze i sialinske kiseline na glikolizoanom molekulu mogu povećati precipitaciju (39). Neka istraživanja ukazuju da koncentracija hloridnog anjona Cl^- ima najvažniju ulogu u agregaciji krioglobulina i na niskim temperaturama i na $37^{\circ}C$, što bi bilo od posebnog značaja za objašnjenje krioprecipitacije u visceralnim organima, kao što je bubreg, gde se temperaturne promene ne dešavaju, ali gde se menja lokalna koncentracija Cl^- zbog održavanja homeostaze i acido baznog ekvilibrijuma (40). Štaviše, nespecifične Fc-Fc interakcije mogu objasniti agregaciju nekih imunoglobulina (41), pored specifične interakcije koja se događa između krioprecipitabilnog IgM RF i Fc IgG. Pokazana je veća učestalost IgG3 subklase (42) u sastavu krioglobulina. IgG₃ ima svojevrsan sopstveni kriogeni potencijal koji potiče od njihove sposobnosti da se udružuju preko

spontane Fc-Fc interakcije. Takodje je pokazan kriogeni potencijal anti IgG₃ IgM (43). U tipu II mešovite krioglobulinemije, formiranje velikih IgM-IgG kompleksa koji vezuju komplement je glavni faktor koji utiče na krioprecipitaciju (44).

3.3. Patogeneza oštećenja tkiva

U različitim tipovima krioglobulinemije u različitom stepenu su zastupljena dva osnovna načina na koja krioglobulini dovode do oštećenja tkiva: precipitacija krioglobulina u mikrocirkulaciji i inflamacija zida krvnih sudova posredovana imunskim kompleksima. Okluzija krvnih sudova je mnogo češća u tipu I krioglobulinemije, za koji je karakteristično prisustvo velike količine krioglobulina i mogućnost razvoja hiperviskoznog sindroma i perifernih nekroza indukovanih hladnoćom. Vaskulitis posredovan imunskim kompleksima karakterističan je za mešovite krioglobulinemije, posebno krioglobulinemiju tipa II. U ovom slučaju, nastaju veliki imunski kompleksi kao posledica interakcije monoklonskog IgM RF i IgG, kao i C1q komponente komplementa, pri čemu se C1q može vezati za receptore na endotelnim ćelijama olakšavajući taloženje imunskih kompleksa i nastanak inflamacije zida krvnog suda (45). Formiranje krioagregata nakon izlaganja hladnoći ne objašnjava zašto su pogodjena tkiva i organi gde nema varijacija temperature (npr. bubreg, nervi). Jedno od objašnjenja je alteracije hlorida i kalcijuma u intersticijumu bubrega mogu uticati na strukturu krioglobulina i precipitaciju, kao što je već pomenuto (46).

4. Kliničke manifestacije

Prema literaturnim podacima, 2-50% osoba koje imaju cirkulišuće krioglobuline razvijaju simptome bolesti (21). Klasični trijas (purpura, artralgije, malaksalost) opisan od strane Melzera još 1966. godine, prisutan kod je najvećeg broja bolesnika sa simptomatskom krioglobulinemijom (19, 21).

4.1. Hiperviskozni sindrom

Uglavnom se javlja kod bolesnika sa krioglobulinemijom tipa I i veoma je neuobičajen za mešovite krioglobulinemije (< 3%) (47). Glavni simptomi su neurološki (glavobolja, konfuzija), okularni (zamućen vid ili gubitak vida) i ORL (epstaksa, gubitak sluha). Masivna precipitacija u bubrežnim kanalčićima može voditi ka rapidno-progresivnoj

bubrežnoj insuficijenciji. Hipervsikozni sindrom zahteva urgentno lečenje (npr. terapijskom izmenom plazme).

4.2. Krioglobulinemijski vaskulitis

Najčešća klinička manifestacija krioglobulinemijskog vaskulitisa jeste pojava malih purpuričnih promena na koži obično donjih ekstremiteta, mnogo redje na trupu ili gornjim ekstremitetima. Nekada takve promene mogu biti obimne, vezikulozne ili bulozne. Izolovana purpura ima dobru prognozu, obično spontano prolazi posle više dana, uz rezidualnu hiperpigmentaciju koja nastaje usled taloženja hemosiderina u koži. Purpura je često recidivantnog toka i može biti provocirana dugotrajnim stajanjem, fizičkim naporom ili toplotom (13). Nekada promene na koži mogu progredirati usled konfluiranja vaskulitishnih promena ili usled ishemije, uz nastajanje ulkusa kože, obično lokalizovanih perimaleolarno (13,19,21). Prisustvo promena tipa liveda retikularis i ulkusa ukazuju na zahvaćenost krvnih sudova malog i srednjeg kalibra (malih arterija i arteriola) (13).

Artralgijske se javljaju kod 44-71% pacijenata sa CV, zahvataju uglavnom male zglobove šaka, ručja i kolena i obično bez znakova infalamacije. Malaksalost i slabost prisutni su kod oko 50% pacijenata. (13,19,21,48).

Oko 20% bolesnika sa simptomatskom krioglobulinemijom na inicijalnoj prezentaciji već ima bubrežnu leziju (krioglobulinemijska nefropatija), a još 10% je dobije tokom evolucije bolesti (13,19,21,48). Bubrežna lezija je kod polovine bolesnika asimptomatska i ispoljava se kao eritrociturija, proteinurija, cilindririja kao i bubrežna insuficijencija različitog stepena. Redje se javljaju nefrotski (21%) ili nefritični (14%) sindrom (49). Više od 70% pacijenata ima hipertenziju.

Periferna neuropatija se javlja kod 17-60% bolesnika sa simptomatskom krioglobulinemijom i nekada može biti prvi znak bolesti (13,19,21,48). Simptomi se ispoljavaju kao parestezije sa osećajem bola i/ili žarenja u nogama, obično se noću pojačavaju i ove senzitivne smetnje obično prethode motrnim. Takodje, može doći do pojave mononeuritis multipleksa. Elektroneurografija (ENG) je dijagnosička procedura od značaja i može otkriti i supkliničku disfunkciju nerava (50).

4.3. Manje česte manifestacije bolesti

Pacijensi sa krioglobulinemijom mogu imati akrocijanozu, Raynaudov fenomen, livedo retikularis. Vaskulitis gastrointestinalnog trakta je retka manifestacija i javlja se kod 2-6% bolesnika sa CV (51). Klinički se ispoljava kao akutno nastali bol u abdomenu uz opštu malaksalost. Povišena temperatura i prisustvo krvi u stolici javljaju se kod trećine bolesnika, a kod određenog broja može doći do perforacije creva i nastanka peritonitisa. Moguća je zahvaćenost bilo kog abdominalnog organa, uključujući i holecistu i pankreas (52).

Plućne manifestacije u sklopu krioglobulinemijskog vaskulitisa su takodje retke i javljaju se kod manje od 5% bolesnika (13,19,21,48). Najčešća manifestacija je intersticijska bolest pluća koja vodi ka plućnoj fibrozi, klinički manifestovana suvim kašljem i dispnejom, dok je znatno redja alveolarna hemoragija sa akutnom respiratornom insuficijencijom (53).

CNS manifestacije se javljaju kod manje od 6% pacijenata i vrlo ih je teško dokazati (21,48). Najčešća klinička manifestacija je cerebrovaskularni inzult, zatim razvoj encefalopatije sa kognitivnim poremećajima, a moguće su i lezije na nivou produžene i kičmene moždine (54).

Primarna lezija miokarda kod CV klinički se najčešće manifestuje kao srčana insuficijencija ili infarkt miokarda, u odsustvu KVS rizika i uz uredan nalaz na glavnim koronarnim arterijama pri angiografiji (lezija je na nivou malih krvnih sudova) (55).

Retko, može do doći i do rasprostranjenog vaskulitisa sa zahvatanjem više organa (19).

5. Dijagnoza krioglobulinemijskog vaskulitisa

Dijagnoza CV se postavlja na osnovu kliničkih, laboratorijskih i histopatoloških podataka. Ne postoje standardizovani, niti potvrđeni dijagnostički i klasifikacioni kriterijumi za CV. Grupa eksperata u okviru multicentrične studije, rukovodeći se načinom formiranja klasifikacionih kriterijuma za druge autoimunske bolesti, dala je preliminarne klasifikacione kriterijume za CV i oni podrazumevaju kombinaciju podataka dobijenih upitnikom, kao i onih dobijenim kliničkim i laboratorijskim ispitivanjima (56). Ovi kriterijumi imaju specifičnost od 93,6% i senzitivnost od 88,5%

za CV(57). Naglašeno je da je potrebno razlikovati ih od dijagnostičkih kriterijuma (gde se očekuje veća senzitivnost), kao i da je prisustvo krioglobulina u dva uzroka uzetih u razmaku od 12 nedelja neophodan uslov, uz primenu lako dostupnih kliničkih podataka iz kliničke slike i laboratorijskih testova (histopatološke analize, floucitometrija i novi biomarkeri su ovom prilikom zanemareni).

Kod najvećeg broja pacijenata u svakodnevnoj kliničkoj praksi, dijagnoza se postavlja na osnovu postojanja tipičnih kliničkih manifestacija (najčešće purpura, artralgiya, polineuropatije) uz prisustvo krioglobulina u serumu.

Tabela 4. Klinički, laboratorijski i histopatološki nalazi koji ukazuju na postojanje CV (13)

CV je vrlo verovatan kada postoje najmanje dve od sledećih karakteristika, iz različitih kolona		
Klinički nalaz	Laboratorijske analize	Histopatološki nalaz
Purpura	Monoklonska gamapatija najčešće IgM kappa ili sa hiperviskoznošću	Leukocitoklastični vaskulitis
Nekrotični ulusi kože	Neobjašnjivo nizak komplement (posebno C4)	Membranoproliferativni GN
Glomerulonefritis	Neobjašnjivo visok RF	Hijalini trombi u kapilarima u okviru GN ili vaskulitisa malih krvnih sudova
Periferna neuropatija	Pseudotrombocitoza	Endoneuralni vaskulitis
Ne-erozivni artritis	Formiranje rouleaux eritrocita	Neklasifikovani sistemski vaskulitis koji zahvata krvne sudove malog i/ili srednjeg kalibra
Periferne ishemije		
Akrocijanoza na hladnoći		
Raynaudov fenomen		

5.1. Laboratorijska ispitivanja

Za postavljanje dijagnoze neophodno je detektovati prisustvo krioglobulina u serumu. Za dobijanje tačnog nalaza, značajno je adekvatno rukovanje uzorkom krvi, što podrazumeva obezbeđivanje uslova boravka na 37⁰C tokom vadjena krvi, transporta, koagulacije i centrifugiranja, sve do ostavljanja temperaturi od 4⁰C tokom sedam dana. Precipitacija krioglobulina tipa I je brza, unutar nekoliko sati, dok je za mešovite krioglobulinemije obično potrebno više dana (58). Prisustvo krioglobulina u maloj

količini (<0.06 g/L) moguće je i kod zdravih osoba (59), ili se oni mogu javiti tranzitorno tokom infekcija (39). S druge strane, negativan krioglobulinski test ne isključuje njihovo prisutvo zbog mogućnosti lažno negativnih nalaza, koji nastaju usled neadekvatnog rukovanja uzorkom ili zbog nekonzistentnih laboratorijskih tehnika (39). Količina krioglobulina može fluktuirati zavisno od njihove *in vivo* precipitacije. Prema tome, test na prisustvo krioglobulina treba ponavljati u situaciji kada postoji opravdana klinička sumnja za postojanje CV (39,58). Koncentracija krioglobulina (kvantitativna analiza krioprecipitata) može se odrediti merenjem koncentracije ukupnih proteina u krioprecipitatu, kao i odredjivanjem kriokrita (procentualni odnos krioglobulina u serumu) (39). Kvantifikacija krioglobulina je važna zbog toga što količina krioglobulina može korelirati sa težinom simptoma, kao i zbog praćenja odgovora na terapiju.

Imunofiksacija rastvorenog krioprecipitata (kvalitativna analiza krioprecipitata) daje mogućnost identifikacije tipa krioglobulina. Ako je količina krioprecipitata suviše mala, tip krioglobulina može biti odredjen indirektno, imunofiksacijom seruma obzirom da komponenta u serumu obično odgovara postojećem monoklonskom krioglobulinu. Pored detekcije i analize krioprecipitata, kod pacijenta sa sumnjom na CV potrebno je uraditi biohemijske analize koje ukazuju na bubrežnu leziju ili leziju jetre, zatim odredjivanje komponenti komplementa (C), posebno C4, kao i reumatoidnog faktora (RF). Takodje, potrebno je evaluirati mogući uzrok i u tom cilju potrebno je uraditi ispitivanje prisustva anti HCV antitela, HCV RNK u serumu, testove na prisustvo drugih virusa (HBV, HIV), kao i autoimunskih bolesti (ANA, anti-DNK, anti-SSA/SSB, anticitrulinska antitela) (39).

5.2. Histopatološka ispitivanja

Histopatološka ispitivanja potvrđuju dijagnozu CV sa lezijom odredjenog organa, najčešće kože, bubrega i perifernih nerava. Precipitirani krioglobulini izgledaju kao hijalini trombi koji okludiraju male krvne sudove, uključujući glomerularne kapilare i *vasa nervorum*. Njihova pojava je posebno verovatna kada je u pitanju prisustvo značajne količine monoklonske komponente u tipu I i II krioglobulinemije (60). Tipična patohistološka slika mešovite krioglobulinemije je vaskulitis, sastavljen od mešovitog inflamatornog infiltrata, koji zahvata zidove obično malih krvnih sudova, redje krvnih sudova srednjeg kalibra. Moguća je fibrinoidna nekroza. HP nalaz biopsije purpuričnih

promena u koži nalazi leukocitoklazijski vaskulitis kapilara i postkapilarnih venula. U uzorku bubrežnog tkiva, zapaža se prisustvo izraženih glomerularnih infiltrata, kao i subendotelnih krioprecipitata. Obično nalaz odgovara tipu I membranoproliferativnog glomerulonefritisa (GN), što se javlja kod više od 70% pacijenata sa bubrežnom lezijom (47,48,49,61). Specifičniji nalaz su hijalini intraluminalni trombi koji sadrže IgM, IgG i C3 kao endomembranozne depozite, kao i glomerulna infiltracija monocitima. Prisustvo glomerularnih polumeseca (10-20%), nekrotizujućeg vaskulitisa bubrega (5-30%) i intersticijalne inflamacije, je znatno redje (49,61). Moguća je i drugačija histopatološka slika krioglobulinemijskog GN u vidu, fokalnog, mezangioproliferativnog ili membranoznog GN. U tim slučajevima potrebno je razmotriti i mogući etiološki uticaj drugih stanja udruženih sa CV (SEL, limfom, hronične virusne bolesti), bubrežnu leziju u sklopu rizičnih faktora za nastanak kardiovaskularnih bolesti (dijabetes, hipertenzija), kao i IgA nefropatiju (62). U krioglobulinemijskoj neuropatiji vidja se vaskulitis perineuralnih i endoneuralnih krvnih sudova uz različiti stepen aksonalne degeneracije ili demijelinizacije. Zahvaćenost endoneuralnih krvnih sudova je mnogo češća nego u drugim vaskulitisima. Indirektnom imunofluorescencijom mogu se utvrditi depoziti imunoglobulina (istog tipa kao i serumskih krioglobulina) u uzorcima dobijenih biopsijom (44, 49, 60).

6. Evolucija i ishod CV

Klinički tok i ishod CV je veoma varijabilan. Oko polovine bolesnika ima hroničnu bolest bez zahvaćenosti visceralnih organa. Jedna trećina bolesnika ima umereno težak do težak oblik bolesti, sa hroničnom renalnom insuficijencijom ili cirozom jetre, dok oko 15% razvija iznenadnu životno-ugrožavajuću formu bolesti (47). Rizični faktori za lošu prognozu CV su: životno doba preko 60 godina, muški pol, postojeći glomerulonefritis, gastrointestinalne i plućne manifestacije, hronična HCV infekcija i tip II krioglobulinemije (47,51,63).

Prognoza je uslovljena oštećenjem organa uslovljenim CV-om, kao i osnovnom bolešću i komorbiditetima. Terapija (glukokortikoidi, imunosupresivi, terapijska izmena plazme) takodje nosi rizik od infekcija, posebno kod pacijenata sa bubrežnom lezijom i lezijom jetre. Rizik od nastanka neoplazmi, posebno B ćelijskih limfoma, kreće se od 5-22% kod pacijenata sa mešovitom krioglobulinemijom tipa II (21,47,64).

Hipogamaglobulinemija i gubitak krioglobulinemije mogu ukazivati na mogućnost limfomogeneze (65). Prisustvo hronične HCV infekcije povećava rizik od limfoma na 20-30% (66). Razvoj limfoma obično se dešava unutar 10 godina od dijagnoze krioglobulinemije. Hepatocelularni karcinom je usko povezan sa hroničnom HCV infekcijom kod bolesnika sa krioglobulinemijom (21,47). Životno-ugrožavajuće forme bolesti nose veliku smrtnost, koja može dostići 80% za neke manifestacije (47).

7. Lečenje CV

Lečenje treba prilagoditi težini vaskulitisa. Postoje dva osnovna terapijska pristupa: patogenetska terapija (imunosupresivna i biološka terapija), čiji je cilj suzbijanje inflamacije i proliferacije B ćelija koja je u osnovi produkcije krioglobulina i etiološka terapija (antivirusna ili druga terapija usmerena na osnovnu bolest). Etiološka terapija je neophodna u cilju dalje kontrole aktivnosti CV.

7.1. Imunosupresivna terapija

Visoke doze glukokortikoida i ciklofosfamida već godinama se uspešno primenjuju u lečenju CV i takav stav potiče iz vremena kada priroda bolesti nije bila dovoljno jasna i kada je CV tretiran kao i vaskulitisi druge etiologije. Nisu sprovedene kliničke studije o primeni ovih lekova u CV, međutim oni ostaju neophodni za brzo suzbijanje simptoma i preusmeravanje toka teških formi bolesti do upotrebe antivirusne ili biološke terapije, s tim da je cilj njihovo obustavljanje unutar 2-3 meseca, pošto se postigne kontrola bolesti.

Za pacijenti sa umereno teškim i teškim CV primena glikokortikoida za kontrolu inflamacije podrazumeva režim od 500-1000 mg/dan tokom tri dana, uz nastavak primene prednisona u dozi od 1 mg/kg dnevno (maksimalno 80 mg/dan). Kada se postigne kontrola bolesti, glikokortikoide se postepeno smanjuju na minimalno potrebnu dozu za supresiju aktivnosti uz obustavljanje što je moguće pre.

Ciklofosfamid se koristi u lečenju najtežih formi CV bilo oralno (2mg/kg/dan) ili intermitentno (i.v. 750 mg/m² telesne površinemesечно). Azatioprin (2mg/kg/dan) i mokofenolat mofetil (1g dva puta dnevno) često se koriste umesto ciklofosfamida ili posle ciklofosfamida kao terapija održavanja (19).

7.2. Afereza

I terapijska izmena plazme i plazmafereza otklanjaju krioglobuline i privremeno prekidaju patogenezu imunokompleksnog vaskulitisa. Korisna je terapijska procedura kod bolesnika sa životno-ugrožavajućom formom bolesti i sa hiperviskoznim sindromom. Međutim, povoljan efekat je prolazan, a javlja se i "rebound" fenomen sa porastom produkcije krioglobulina po prestanku plazmafereze. Zbog toga ona treba da bude praćena imunosupresivnom terapijom, npr. ciklofosamid tokom 6 nedelja (55).

7.3. Antivirusna terapija

Kod krioglobulinemije indukovane HBV i HCV od značaja je antivirusna terapija kao etiološki pristup lečenju CV. U HCV infekciji duže od decenije primenjuje se terapija pegilovanim IFN α 2b/ribavirin sa odredjenim uspehom. Aktuelna terapija podrazumeva primenu direktnih inhibitora virusnih proteaza (lekovi prve generacije-boceprevir i telaprevir) u kombinaciji sa IFN ili biološkom terapijom, kao i primenu novih tzv. "interferon free režima" kao lekova sa većim potencijalom u postizanju virusne eradikacije kao i sa manje neželjenih efekata. Kod HBV infekcije primenjuje se leflunomid (13).

7.4. Biološka terapija

Duže od jedne decenije sa uspehom se primenjuje rituksimab, mišje/humano monoklonsko antitelo koje dovodi do deplecije klonova B ćelija koji produkuju krioglobuline. Primena ove terapije zasniva se na poznavanju patogeneze krioglobulinemije, u čijoj osnovi je postojanje oligo-monoklonske ili poliklonske proliferacije B limfocita. Više studija, uglavnom kod krioglobulinemija udruženih sa HCV infekcijom, pokazalo je značajnu efikasnost i bezbednost ovog leka: kraće vreme do postizanja remisije, veći klirens krioglobulina, kao i poboljšanje bubrežne lezije (67,68,69,70). Savetuje se pažljiva procena koristi i rizika u svakom pojedinačnom slučaju, uz posebno oprez od teških infekcija (71). I drugi lekovi koji smanjuju proliferaciju B limfocita, kao što je BAFF (BlyS) blokirajući agens (72) takodje pokazuju povoljan terapijski efekat u lečenju CV. Predložene su i druge terapijske mogućnosti, kao što su IL-2 agonisti (73), "Toll-like" receptor agonisti (74), inhibitor tirozin kinaze-imatinib, antiangiogenozni lek-talidomid, inhibitor proteazoma-bortezomib, koji mogu

biti terapija koja obećava u budućnosti. Neophodno su potrebne kontrolisane studije kako bi se potvrdila njihova efikasnost.

U lečenju CV primenjuju se i nesteroidni antiinflamatorni lekovi i kolhicin, takodje savetuje se zaštita od hladnoće, kao i dijeta sa niskim antigenskim unosom (19).

CILJEVI

Heterogenost je najupadljivija karakteristika krioglobulinemije, kako u pogledu etiologije i kliničke prezentacije, tako i različite evolucije i prognoze. Pri tome su nedovoljno poznati sami mehanizmi krioprecipitacije, kao i to na koji način se ovaj u suštini *in vitro* fenomen odvija u *in vivo* uslovima. Takodje, nisu dovoljno poznati svi etiološki činioci važni za pojavu krioglobulinemije, kao i parametri koji utiču na težinu kliničke slike i prognozu CV. Iako je uočena povezanost sa nekim laboratorijskim karakteristikama (sniženje C4 komponente komplementa, prisustvo RF, prisustvo monoklonske komponente, povišen nivo B₂U), nije dovoljno jasna njihova povezanost sa pojavom, težinom, evolucijom i prognozom CV.

Imajući u vidu nedovoljno definisan klinički značaj krioglobulinemije, postavili smo sledeće ciljeve istraživanja:

1. Ispitati kliničke i imunoserološke karakteristike bolesnika sa krioglobulinemijom u odnosu na prisustvo i težinu kliničke slike vaskulitisa, kao i etiologiju krioglobulinemije;
2. Ispitati kvantitativne i kvalitativne karakteristike krioglobulina (tip krioglobulina, prisustvo RF i M komponente u krioprecipitatu);
3. Ispitati učestalost esencijalne u odnosu na sekundarne krioglobulinemije (oboleli od infekcija, autoimunskih i malignih bolesti) kod 201 konsekutivnih pacijenata sa krioglobulinemijom;
4. Ispitati da li se esencijalni krioglobulinemijski vaskulitis razlikuje po učestalosti kliničkih manifestacija (palpabilna purpura, periferna neuropatija, artralgijske, glomerulonefritis, kutani ulkusi i/ili nekroze) kao i laboratorijskim parametrima (količina i sastav krioglobulina, koncentracija RF u serumu i krioprecipitatu, potrošnja komplementa) u odnosu na sekundarne krioglobulinemije pri prvoj prezentaciji bolesti ili u relapsu;
5. Utvrditi značaj količine i sastava krioglobulina, koncentracije C3 i C4, anti C1q antitela i B₂U u serumu, za procenu aktivnosti, praćenje i prognozu esencijalnog, sekundarnog krioglobulinemijskog vaskulitisa, kao i krioglobulinemije bez manifestacija vaskulitisa.

MATERIJAL I METODE

Teorijsko-hipotetičkim okvirom našeg ispitivanja i postavljenim ciljem rada formulisana je i metodologija rada, koja se sastojala iz sledećih etapa:

1. Izbor bolesnika
2. Formiranje studijskog upitnika
3. Prikupljanje kliničkih i laboratorijskih podataka
4. Statistička obrada podataka
5. Analiza dobijenih rezultata

1. Izbor bolesnika

Kohorta ispitanika oformljena je 2006. godine i od tada je u ispitivanje uključen 201 ispitanik. Ispitivanje je obavljeno u Klinici za alergologiju i imunologiju Kliničkog centra Srbije.

Kriterijum za uključivanje u studiju bilo je prisustvo krioglobulinemije. Krioglobulinemijom je smatrano prisustvo krioglobulina u najmanje dva uzorka seruma koja nisu uzeta istovremeno.

Kriterijum za isključivanje bio je terapija visokim dozama glikokortikoida (više od 0,5 mg/kgTT), primena ciklofosfamida i drugih imunosupresiva, kao i terapijske izmene plazme u periodu kraćem od 90 dana pre uključjenja u studiju, zbog mogućnosti navodjenja na pogrešne zaključke.

Kliničke i serološke karakteristike sakupljane prospektivno u formi protokola su bile: demografske karakteristike, starost u vreme postavljanje dijagnoze, starost u trenutku ulaska u studiju, pridružene bolesti (hematološke, infektivne, autoimunske), kliničke manifestacije u vreme postavljanja dijagnoze, kumulativne kliničke manifestacije tokom evolucije bolesti i laboratorijski nalazi.

Postupak koji se sprovodi sa pacijentom bio je deo standardnog protokola odnosno važećeg dijagnostičko-terapijskog algoritma kod bolesnika sa krioglobulinemijom/krioglobulinemijskim vaskulitisom.

Pacijenti su bili grupisani u tri grupe na osnovu **prisustva i težine kliničke slike** odnosno aktivnosti vaskulitisa (75):

- Prva grupa (CV0) - pacijenti sa krioglobulinemijom bez klinički manifestnog vaskulitisa;
- Druga grupa (CV1) - pacijenti sa blagim organskim manifestacijama vaskulitisa ili hroničnom fazom bolesti koji ne zahtevaju primenu glikokortikoida ili zahtevaju primenu nižih doza (<0.5mg/kgTT);
- Treća grupa (CV2)- pacijenti sa teškim manifestacijama krioglobulinemijskog vaskulitisa, koji zahteva lečenje visokim dozama prednizona (0.5-1mg/kgTT), i/ili imunosupresivima kao što su ciklofosamid, azatioprin, metoreksat, ili su podvrgnuti terapijskoj izmeni plazme

Da bi se ispitale karakteristike i značaj esencijalne krioglobulinemije, pacijenti su bili grupisani prema **etiologiji**, u tri grupe:

- Bolesnici sa esencijalnom krioglobulinemijom (EMC)
- Bolesnici sa neinfektivnim krioglobulinemijama
- Bolesnici sa HCV indukovanom krioglobulinemijom

2. Dijagnoza, procena aktivnosti i proširenosti vaskulitisa

2.1. Dijagnoza krioglobulinemijskog vaskulitisa (CV) je bila postavljena na osnovu međunarodno priznatih kriterijuma (56). Kriterijumi podrazumevaju: postojanje simptomatske krioglobulinemije u trajanju od najmanje 12 nedelja, uz najmanje dva od tri simptoma iz Melzerovog trijasa (purpura, artralgijske, malaksalost) i prisustvo sniženog C4 i/ili visokog RF.

2.2. Aktivnost vaskulitisa bila je procenjena BVAS skorom (*Birmingham Vasculitis Activity Score*) (75). Skor je klinički indeks stepena aktivnosti vaskulitisa u devet različitih organskih sistema. Simptom se boduje ako se može pripisati sadašnjoj aktivnosti bolesti i pri tome je ili skorašnjeg početka (poslednje četiri nedelje) ili je prisutan u trenutku procene. Maksimalan skor je 63 za prisutne simptome i 32 za simptome koji su novi ili je došlo do pogoršanja u poslednjih nedelju dana.

2.3. Proširenost vaskulitisa bila je procenjena DEI skorom (*Disease Extent Index*) (75). Indeks opisuje broj zahvaćenih organskih sistema odražavajući proširenost bolesti.

Skoruje se broj zahvaćenih organskih sistema bez obzira na početak simptoma. Svaki zahvaćen organski sistem dobija 2 poena, izuzev sistemskih simptoma koji dobijaju 1 poen. Maksimalan mogući broj poena je 21.

3. Remisija i relaps vaskulitisa

3.1. Kriterijumi za **kompletnu remisiju** CV podrazumevali su odsustvo kliničkih i laboratorijskih (krioglobulina, potrošnje komplementa, RF) pokazatelja vaskulitisa. **Parcijalnom remisijom** se smatralo delimično poboljšanje kliničko-laboratorijskih pokazatelja vaskulitisa ili zaustavljanje dalje progresije bolesti.

3.2. Relapsom se smatrala ponovna aktivacija vaskulitisa nakon uspostavljene remisije. Dijagnoza sistemskih bolesti vezivnog tkiva je postavljena na osnovu priložene medicinske dokumentacije i/ili aktuelnog kliničko laboratorijskog nalaza, prema važećim kriterijumima (76,77). Dijagnoza malignih i infektivnih bolesti takođe je bila dokumentovana izveštajima lekara odgovarajućih specijalnosti.

4. Laboratorijska ispitivanja

4.1. Standardna laboratorijska analiza uzraka krvi i urina

Standardna laboratorijska ispitivanja uzoraka krvi i urina obavljena je u Institutu za biohemiju KCS. Određivani su sledeći parametri: kompletna krvna slika, parametri zapaljenja (SE, CRP), standardni biohemijski parametri, elektroforeza i imunofiksacija proteina seruma kao i elektroforeza i imunofiksacija krioprecipitata, kvantifikacija krioglobulina, ispitivanje sedimenta urina i određivanje proteinurije.

U imunološkoj laboratoriji Klinike za alergologiju i imunologiju KCS određivano je prisustvo i analiza krioprecipitata na prisustvo RF.

4.2. Određivanje krioglobulina

Uzorci 10 ml krvi uzimani su u epruvetu bez heparina i čuvani u vodenom kupatilu na 37⁰C do izdvajanja seruma (3-4 sata). Uzorci su centrifugirani 10 minuta na 2500

obrtaja u prethodno zagrejanom centrifugi na 37⁰C. Izdvojen serum ostavljan je da stoji na +4⁰C sedam dana, posle čega se procenjivalo prisustvo belog oblačastog taloga. Ukoliko je postojao, supernatant se odlije, a talog resuspenduje u toplom PBS-u (fosfatni pufer) ili fiziološkom rastvoru. Ukoliko se talog rastvori, reakcija je pozitivna odnosno talog odgovara krioprecipitatu. Ako talog nije vidjen, onda se serum centrifugirao na 3000 obrtaja u hladnoj centrifugi (+4⁰C), a ukoliko se zatim talog pojavio, supernatant se odlije, a talog rastvori u toplom PBS-u (ako se rastvara radi se o krioprecipitatu). Količina krioglobulina procenjivana je semikvantitativno, određivana spektrofotometrijski na talasnoj dužini 340 nm i označena kao + (mala količina, 0.8-1.0), ++ (srednja količina, 1.1-2.0), +++ (velika količina 2.1-3.0) i ++++ (izuzetno velika količina, >3.0) krioglobulina. Kvantitativno je količina procenjivana određivanjem metodom za kvantitativnu analizu malih količina proteina u urinu i izražavana kao g/L.

Krioprecipitat je zatim analiziran agarozna gel elektroforezom na aparatu Hydragel 7, 15 i 30 β1- β2 kits, Sebia, Francuska i imunofiksacijom (Hydragel 4 IF, Sebia, Francuska) po proceduri za određivanje izotipa imunoglobulina kao i monoklonskog proteina. Elektroforegrami su analizirani vizuelno za prisustvo karakterističnih abnormalnosti.

4.3. Druga imunološka laboratorijska ispitivanja

Druga imunološka ispitivanja obuhvatila su metode: indirektna imunofluorescenca (IIF) kojim je određivano prisustvo antinukleusnih antitela (indirektna imunofluorescenca na kriostatkih isečcima jetre miša i substratu Hep-2 ćelija), anti-dsDNA antitela, (IIF test uz korišćenje komercijalno pripremljenih fiksiranih razmaza Chrithidiae lucille (MAST Diagnostica, Nemačka)), ANCA (IIF na citospinu neutrofila), kao i AMA, AGMA, anti-LKM, APA i antitiroidna antitela.

Turbidimetrijski su određivani: RF (RapiTex[®] RF, DADE Behring, Nemačka), cut off 32 IU/mL), i CRP (RapiTex[®] CRP, DADE Behring, Nemačka). RF je određivan i lateks aglutinacijom kojim je količina RF izražavana semikantitativno kao + (mala količina), ++ (srednja količina) i +++ (velika količina),

Testovima enzimskog imunoeseja (ELISA) određivana su autoantitela protiv definisanih antigena (kardiolipina, SSA, SSB, Sm, RNP), antigenska specifičnost ANCA - ELISA

testovi sa substratom mijeloperoksidaze i proteinaze-3, antikardiolipinska antitela IgM i IgG (ELISA - IMTEC Immunodiagnostika, Nemačka). Virusološka ispitivanja obavljena su u laboratoriji Klinike za infektivne i tropske bolesti KCS kao deo standardnog dijagnostičkog postupka. HCV antitela u serumu određivana su III generacijom ELISA (BIOKIT, Barcelona, Španija), HbsAg (Amerlite HBsAg, Johnson and Johnson Diagnostics, Amersham, Engleska).

Metodom nefelometrije uz korišćenje komercijalnih kitova (Orion Diagnostica, Švedska) određivani su C3, C4, IgG, IgM, IgA.

Lupus antikoagulans (koagulacionim testom prema važećim preporukama - LA Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society of Thrombosis and Haemostasis).

Imunski kompleksi (CIC), metodom taloženja polietilen glikolom- PEG.

4.3.1 Određivanje serumske koncentracije BlyS

BlyS je određivan korišćenjem komercijalnog enzimskog imunoeseja (ELISA) (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, MN, SAD) prema uputstvu proizvođača. Monoklonsko antitelo specifično za BlyS/BAFF prethodno je fiksirano za bazenčiće na ploči za ELISA-u, na koju su zatim nanošeni standardi i uzorci, pri čemu se prisutan BAFF/BlyS vezivao za imobilizirano antitelo. Posle ispiranja, dodavano je enzimom obeleženo poliklonsko antitelo specifično za BlyS/BAFF, i posle ispiranja dodavan je supstrat uz razvijanje boje proporcionalne količini inicijalno vezanog BlyS/BAFF. Reakcija je zatim stopirana i intenzitet boje čitan fotometrijski na 450nm. Standardna kriva formirana je korišćenjem kompjuterskog softvera koji omogućava izradu 4-PL krive. Koncentracija koja je čitana sa standardne krive množila se dilucionim faktorom. U ispitivanje su uključene zdrave kontrole (n=11). Referentni opseg za prisustvo BAFF/BlyS u serumu je bio 584-1186±155 pg/mL.)

4.3.2 Određivanje koncentracije antiC1q antitela

Anti-C1q antitela određivana su komercijalnim ELISA test sistemom za kvantitativno merenje IgG antitela usmerena na C1q u humanom serumu ili plazmi, prema uputstvu proizvođača (Anti-C1q ELISA, Orgentec, Diagnostika, Mainz, Nemačka). Cut-off testa je 10 U/mL.

4.3.3 Određivanje koncentracije C1q i C1inhibitora

Metodom radijalne imunodifuzije (RID) na pločama prema uputstvu proizvođača (Siemens, Erlangen, Nemačka) određivan je koncentracija C1q (referentna vrednost 0.05-0.25 g/L) i C1 inhibitora (0.19-0,58 g/L).

5. Dijagnoza sistemskih autoimunskih bolesti

Sistemske autoimunske bolesti dijagnostikovane su na osnovu poznatih kriterijuma: 1) primarni Sjogrenov sindrom (SS) prema preliminarnim dijagnostičkim kriterijumima predloženim od evropske zajedničke studijske grupe (76), 2) sistemski eritemski lupus (SEL) prema revidiranim kriterijumima američkog reumatološkog društva iz 1982 (77), 3) reumatoidni artritis prema kriterijumima američkog reumatološkog društva (78), 4) sistemske skleroze prema kriterijumima američkog reumatološkog društva (79), 5) polimiozitis-dermatomiozitis prema Bohan i Peter kriterijumima (80), 6) primarni antifosfolipidni sindrom prema preliminarnim klasifikacionim kriterijumima (81), 7) sistemski vaskulitis prema Chapel Hill kriterijumima (82).

6 . Postupak istraživanja

Istraživanje se odvijalo u dva pravca:

1. Ispitivana je međjusobna povezanost brojnih nezavisnih parametara: demografski podaci, etiologija (prisustvo infekcije virusima hepatitisa C i B, kao i HIV, autoimunske, maligne bolesti ili esencijalne krioglobulinemije), prisustvo markera zapaljenja (SE, CRP, fibrinogen); tip i količina krioglobulina, prisutvo i količina RF, paraproteina, autoantitela, sniženih vrednosti C4 i/ili C3, kao i koncentracije anti C1q i BLYS i procenjavana je njihova povezanost sa težinom oboljenja i sa prisustvom definisanih kliničkih manifestacija, kao što su kožne manifestacije, artralgijske/artritis, Raynaud-ov sindrom, sika sindrom, bubrežne, neurološke i druge visceralne lezije, prisustvo i težina vaskulitisa.

2. Za deo bolesnika koji su praćeni u intervalima koje je nalagala klinička slika (od mesec dana do šest meseci) prema proceni ordinirajućeg lekara, ispitivan je ishod bolesti. Ishod bolesti definisan je kao: izlečenje, remisija (kompletna ili parcijalna),

relaps bolesti i smrtni ishod, pojava novih manifestacija CV, pojava drugih bolesti. Za pacijente praćene u periodu dužem od pet godina analizirano je preživljavanje.

7. Statistička analiza

Rezultati dobijeni od svih pacijenata kao i rezultati ispitivanih bolesnika po grupama, statistički su analizirani i međusobno poređeni.

Analiza je obuhvatala metode deskriptivne (tabeliranje i grafičko prikazivanje, izračunavanje mera centralne tendencije, varijabiliteta i proporcije) i analitičke metode (Hi-kvadrat test, Fisherov test za međugrupno poređenje, jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA), Spearmanov test korelacije ranga, linearna korelacija, multivarijantne regresione analize (logistička, Coxov proporcionalni hazardni model, linearna regresija). U svim testovima vrednost verovatnoće manja od 0.05 smatrala se značajnom.

REZULTATI

1. Grupe ispitivanih bolesnika

Ispitivanjem je obuhvaćeno konsektivnih 201 bolesnika sa krioglobulinemijom, koji su ispunili uključujuće kriterijume i kod kojih nije bilo isključujućih kriterijuma.

Na osnovu prisustva i težine vaskulitisa bolesnici su bili podeljeni u tri grupe:

1. **krioglobulinemija bez vaskulitisa (CV0)** - 108 bolesnika
2. **lak oblik krioglobulinemijskog vaskulitisa (CV1)** - 44 bolesnika,
3. **težak vaskulitis(CV2)** - 49 bolesnika.

U drugom delu ispitivanja, analizirani su bolesnici sa esencijalnom krioglobulinemijom u odnosu na krioglobulinemije druge etiologije. Obuhvaćeno je 195 bolesnika iz istog osnovnog skupa (isključeni su bolesnici sa HBV infekcijom, n=6), koji su bili podeljeni u tri grupe (Tabela 1):

Tabela 1. Etiologija krioglobulinemija

Etiologija	N
EMC (esencijalna mešovita krioglobulinemija)	66
Neinfektivne krioglobulinemije	110
HCV indukovane krioglobulinemije	19

Tabela 2. Demografske karakteristike

Demografski podaci	Grupa, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
Pol					
Ž	88 (81.5)	37 (84.1)	36 (80.1)	161 (80.1)	0.383
M	20 (18.5)	7 (15.9)	13 (26.5)	40 (19.9)	
Ukupno	108 (100)	44 (100)	49 (100)	201(100)	
Uzrasna grupa (god.)					
20-29	11 (10.2)	1 (2.3)	3 (6.1)	15 (7.5)	
30-39	23 (21.3)	3 (6.8)	7 (14.3)	33 (16.4)	
40-49	20 (18.5)	6 (13.6)	9 (18.4)	35 (17.4)	
50-59	29 (26.8)	21 (47.7)	20 (40.8)	70 (34.8)	
60-69	19 (17.6)	8 (18.2)	5 (10.2)	32 (15.9)	
70-79	6 (5.5)	4 (9.1)	5 (10.2)	15 (7.5)	
80-89	1 (0.9)	1 (2.3)	0 (0)	2 (0.9)	
Godine(mean±SD)					
	48.6 ±14.1 ^{a,b}	55.6±11.4 ^c	51.1±13.8	50.8±13.7	**0.017
Trajanje bolesti (god)					
<1 godine	50 (46.3)	13 (29.5)	20 (40.8)	83 (41.3)	0.163
>1 godine	58 (53.7)	31 (70.5)	29 (59.2)	118 (58.7)	

*Hi-kvadrat, p<0.05; Multiple komparacije (Bonferroni), ^aCV0 vs CV1 p<0.05, ^bCV0vsCV2 p>0.05, ^cCV1vsCV2 p>0.05; **ANOVA p<0.05, statistički značajna razlika

Osobe su bile pretežno ženskog pola (80.1%) prosečne starosti 50.8 godina. Između ispitivanih grupa nije nadjena statistički značajna razlika u odnosu na pol. Najstariji su bili bolesnici iz grupe CV1 (55.6±11.4) i pri tome je postojala statistički značajna razlika u odnosu na grupu CV0 (p<0.05). Između CV1 i CV2 grupe, kao i CV0 i CV2 grupe nije postojala značajna razlika. Najviše je bilo bolesnika u šestoj deceniji života (34.8%) (Tabela 1).

Kod nešto više od polovine bolesnika 118 (58.7%) bolest je trajala duže od godinu dana pre postavljanja dijagnoze krioglobulinemije i/ili krioglobulinemijskog vaskulitisa. Iako je kod

najvećeg bolesnika u grupi CV1 bolest trajala duže od godinu dana (70.5%), između ispitivanih grupa nije nadjena statistički značajna razlika (Tabela 1).

3. Etiologija krioglobulinemije

Tabela 3.1. Esencijalna (primarna) i sekundarne krioglobulinemije

Etiologija	Grupe, n (%)			Ukupno n=201	P
	CV0 n=108	CV1 n=44	CV2 n=49		
Bez komorbiditeta (EMC ili primarna)	32 (29.6)	20 (45.5)	14 (28.6)	66 (32.8)	0.154
Sa komorbiditetima (sekundarna)	76 (70.4)	24 (54.5)	35 (71.4)	135 (67.2)	

Hi kvadrat, $p > 0.05$.

Tabela 3.1.1. Infekcija, autoimunske i imfoproliferativne bolesti kod bolesnika sa sekundarnom krioglobulinemijom

Infekcija	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
	4 (3.7) ^{a,b}	12 (27.3) ^c	9 (18.4)	25 (12.4)	*0.000
HCV	2 (1.9) ²	9 (20.5)	7 (14.3) ²	18 (9.0)	*0.001
HBV	2 (1.9)	3 (6.8) ²	1 (2.0)	6 (3.0)	
HCV+HIV	0	0	1 (2.0)	1 (0.5)	
Autoimunska bolest	72 (66.7) ^{d,e}	10 (22.7) ^f	27 (55.1)	109 (54.2)	*0.000
Sy Sjogren	10 (9.3)	7 (15.9) ^{1,2}	5 (10.2)	22 (10.9)	*0.000
SEL	39 (36.1) ¹	1 (2.3)	16 (32.7) ²	56 (27.9)	
SEL+Sjogren	11 (10.2)	1 (2.3)	1 (2.0)	13 (6.5)	
Drugo (RA, SScl, MCTD)	12 (11.1) ²	1 (2.3)	5 (10.2)	18 (9.0)	
Limfoprolifer. bolest	2 (1.9)	2 (4.5)	0	4 (2.0) ¹	0.290
Non-Hodgkin limfom	1 (0.9) ¹	2 (4.5) ¹	0	3 (1.5)	0.328
Limfoplazmocitni limfomi (MM, Waldenstrom)	1 (0.9)	0	0	1 (0.5)	

*Hi-kvadrat, statistička značajnost $p < 0.01$; Medjugrupno poredjenje (infekcija: ^aCV0vsCV1 $p < 0.01$, ^bCV0vsCV2 $p < 0.01$, ^cCV1vsCV2 $p > 0.05$); Medjugrupno poredjenje (autoimunske bolesti ^dCV0vsCV1 $p < 0.01$, ^eCV0vsCV2 $p > 0.05$, ^fCV1vsCV2 $p < 0.01$)

¹Udruženo prisustvo autoimunske i limfoproliferativne bolesti (jedan bolesnik). ²Udruženo prisustvo virusa i autoimunske bolesti (jedan bolesnik).

Esencijalna krioglobulinemija (EMC) bila je prisutna kod 66 (32.8%) bolesnika. Najčešće je bila zastupljena u grupi CV1, kod oko polovine bolesnika (45.5%), dok je u grupi CV0 i CV2 bila prisutna kod oko trećine bolesnika (29.6% i 28.6%), međutim to nije bilo statistički značajno (Tabela 3.1).

Hronična infekcija hepatotropnim virusima nadjena je kod 25 (12.4%) bolesnika i pri tome je postojala statistički visoka značajnost, $p < 0.01$, između ispitivanih grupa. Češće je bila prisutna kod bolesnika sa vaskulitisom, dakle u grupi CV1 (27.3%) i grupi CV2 (18.4%), za razliku od grupe CV0 (3.7%). Grupe sa vaskulitisom (CV1 i CV2 se nisu međusobno razlikovale u pogledu pristne infekcije hepatotropnim virusima. Hronična HCV infekcija nadjena je kod 18 (9%) bolesnika i to kod 9 iz grupe CV1, 7 iz grupe CV2, kao i dva iz grupe CV0. Koinfekcija HIV i HCV nadjena je kod 1 bolesnika koji je pripadao grupi CV 2 (težak vaskulitis) (Tabela 3.1.1).

Ukupno 109 (54.2%) bolesnika imalo je sistemsku autoimunsku bolest, (dva udružena sa limfoproliferativnom), pri čemu je između ispitivanih grupa postojala statistički visoko značajna razlika, $p < 0.01$. Najčešće je autoimunska bolest bila prisutna u grupi CV0 (66.7%), zatim grupi CV2 (55.1%), dok je najredje zastupljena u grupi CV1 (22.7%), što je bilo statistički značajno, $p < 0.01$ (Tabela 3.1). Nadjena je visoko statistički visoko značajna razlika, $p < 0.01$, u tipu autoimunske bolesti između ispitivanih grupa bolesnika. Najčešći tip autoimunske bolesti bio je SEL, kod više od polovine (63.3%) ukupnog broja bolesnika sa autoimunskim bolestima i oko trećine (34.3%) ukupnog broja bolesnika. SEL je najčešće bio prisutan u grupi CV0, kod 36.1% bolesnika. Sjogrenov sindrom je bio prisutan kod 20.2% bolesnika sa autoimunskim bolestima, odnosno 10.9% ukupnog broja bolesnika, najčešće u grupi CV1 (15.9%) (Tabela 3.1.1).

Ukupno 91 bolesnik imao je SEL i/ili Sjogrenov sindrom, dok su ostale autoimunske bolesti (RA, SScl, MCTD) bile zastupljene sa 16.5% odnosno 9% ukupnog broja bolesnika (Tabela 3.1.1).

Limfoproliferativne bolesti nadjene su kod ukupno 4 (2.0%) bolesnika. Od toga, 3 (1.5%) bolesnika imalo je Non-Hodgkin limfom, dok je kod 1 (0.5%) nadjen multipli mijelom. Nije nadjena statistički značajna razlika u prisustvu i tipu limfoproliferativne bolesti izmedju ispitivanih grupa bolesnika (Tabela 3.1.1).

Tabela 3.2 Udruženost sa limfoproliferativnim, autoimunskim i virusnim (HCV, HBV) bolestima

	Grupe, n (%)			Ukupno n=201	P
	CV0 n=108	CV1 n=44	CV2 n=49		
Udružene bolesti	2 (1.9)	2 (4.5)	1 (2.0)	5 (2.5)	0.610
Autoimunska + virusna	1 (0.9)	1 (2.3)	1 (2.0)	3 (1.5)	0.782
Autoimunska + limfoprolifer.	1 (0.9)	1 (2.3)	0	2 (1.50)	
Druge bolesti	30 (27.8)	13 (29.5)	13 (26.5)	56 (27.9)	0.987
Malignitet	2 (1.9)	4 (9.1)	1 (2.0)	7 (3.5)	
Druge hronične infekcije	0	3 (6.8)	0	3 (1.5)	
Organ specifične	25 (23.1)	4 (9.1)	12 (24.5)	40 (19.9)	*0.017 ^{a,b}
Malignitet + hr.infekcija	1 (0.9)	1 (2.3)	0	2 (1.0)	
Malignitet + organ specifične autoimunitet	2 (1.9)	1 (2.3)	0	3 (1.5)	
Organ specifične	27(25.0)	4 (9.1)	12 (24.5)	43 (21.4)	0.079
Tiroiditis	16 (14.8)	4 (9.1)	8 (16.3)	28 (13.9)	
PBC	3 (2.8)	0	2 (4.1)	5 (2.5)	
AIHA	5 (4.6)	0	0	5 (2.5)	0.453
ITP	1 (0.9)	0	1 (2.0)	2 (1.0)	
Myastenia gravis	2 (1.9)	0	1 (2.0)	3 (1.5)	

*Hi-kvadrat, p<0.05; Medjugrupno poredjenje (^aCV0vsCV1 p<0.05, ^bCV1vs CV2 p<0.05).

Skraćenice: PBC-primarna bilijarna ciroza, AIHA-autoimuna hemolizna anemija; ITP-idiopatska trombocitopenijska purpura.

Udruženost autoimunskih i virusnih ili autoimunskih i limfoproliferativnih bolesti nadjena je kod malog broja bolesnika sa krioglobulinemijom, kod ukupno 5 (2.5%) i pri tome nije nadjena statistički značajna razlika izmedju ispitivanih grupa (Tabela 3.2).

Krioglobulinemija je bila udružena sa drugim bolestima (maligniteti, hronične infekcije osim hepatotropnim virusima, organspecifične autoimunske bolesti) kod 56 (27.9%) bolesnika. Pri tome nije postojala statistički značajna razlika između ispitivanih grupa (Tabela 3.2).

U odnosu na vrstu drugih bolesti, nadjena je statistički značajna razlika, $p < 0.05$, između ispitivanih grupa bolesnika. Najčešće je postojala udruženost sa organ specifičnim autoimunskim bolestima, kod 40 (19.9%) bolesnika koje su bile najčešće kod bolesnika u CV0 (23.1%) i CV2 (24.5%), kao i sa malignitetima, kod ukupno 12 (5.9%) bolesnika, najviše u CV1 (9.1%) (Tabela 3.2).

Ako iz "drugih bolesti" izdvojimo organ specifične autoimunske bolesti, one su bile prisutne kod skoro četvrtine bolesnika 43 (21.4%), pri čemu nije nadjena statistički značajna razlika između postojećih grupa (Tabela 3.2). Najčešća organ specifična autoimunska bolest bila je autoimunski tiroiditis, koji je bio prisutan kod 28 (13.9%) bolesnika. Druge organ specifične autoimunske bolesti su bile redje, primarna bilijarna ciroza (PBC) i autoimunska hemolizna anemija (AIHA) kod 2.5% bolesnika, idiopatska trombocitopenijska purpura (ITP) kod 1% i myasthenia gravis kod 1.5% bolesnika. Nije nadjena statistički značajna razlika između postojećih grupa prema tipu prisutne organ specifične autoimunske bolesti (Tabela 3.2).

4. Klinički nalaz

Tabela 4.1. Prisustvo i tip promena na koži, biopsija i histopatološki (HP) nalaz

Kožne promene	Grupe, n (%)			Ukupno n=201	p
	CV 0 n=108	CV 1 n=44	CV 2 n=49		
Kožne promene	52 (48.1) ^{a,b}	44 (100) ^c	48 (98)	144 (71.6)	**0.000
Vaskulitis kože	0 ^{a,b}	44 (100)	47 (95.9)	91 (45.3)	**0.000
Tip kožnih promena					
Purpura	0	25 (56.8)	15 (30.6)	40 (19.9)	
Ulkus/gangrena	1 (0.9)	1 (2.3)	4 (8.2)	6 (3)	
Urtikarija/angioedem	21 (19.4)	9 (20.5)	13 (26.5)	43 (21.4)	
Urtikarija/angioedem + purpura	0	3 (6.8)	6 (12.2)	9 (4.5)	**0.000
Ulkus + purpura	0	1 (2.3)	8 (16.3)	9 (4.5)	
Drugo (malarni raš,makulopapulozna ospa)	30 (27.8)	5 (11.4)	2 (4.1)	37(18.4)	
Livedo reticularis	16 (14.8) ^b	12 (27.3)	17 (34.7)	45 (22.4)	*0.015
Sy Raynaud	28 (25.9)	18 (40.9)	18 (36.7)	64 (31.8)	0.139
Biopsija	6 (5.6)	10 (22.7)	23 (46.9)	39 (19.6)	
Leukocitoklazijski vaskulitis	0	7 (70)	13 (56.5)	20 (51.3)	
Limfocitni vaskulitis	0	3 (30)	9 (39.1)	12 (30.8)	**0.000
Urtikarijalni vaskulitis	0	0	1 (4.3)	1 (2.6)	
Bez vaskulitisa u HP	6 (100)	0	0	6 (15.4)	

*Hi-kvadrat, p<0.05; **Hi-kvadrat, p<0.01; Medjgrupno poredjenje (^aCV0vsCV1 p<0.01,

^bCV0vsCV2 p<0.01, ^cCV1vsCV2 p>0.05)

Skraćenica: HP - histopatološki.

Ispitivane grupe statistički su se visoko značajno medjusobno razlikovale po učestalosti promena na koži. Kožne promene je imalo ukupno 144 (71.6%) bolesnika. Pri tome, kožne promene su imali skoro svi bolesnici iz grupa CV1 i CV2 (bolesnici sa vaskulitisom), dok je iz grupe CV0 promene na koži imalo skoro polovina bolesnika (48.1%) (Tabela 4.1).

Grupe su se značajno razlikovale i po tipu prisutnih kožnih promena, $p < 0.01$. Purpurične promene na koži su bile prisutne kod više od četvrtine ukupnog broja bolesnika, kod njih 58 (28.8%) i to isključivo u grupama bolesnika sa vaskulitisom (kod 29 bolesnika iz grupe CV1 i 29 bolesnika iz grupe CV2). Pri tome, purpurične kožne promene udružene pojavom ulkusa/gangrena kože bile su prisutne kod 9 bolesnika, od kojih je 8 (88.9%) iz grupe CV2 (bolesnici sa teškim vaskulitisom), dok je purpura udružena sa urtikarijom/angioedemom nadjena takodje kod 9 bolesnika (6 iz grupe CV2 (66.7%)) (Tabela 4.1).

Izolovana pojava ulkusa/gangrena nadjena je kod ukupno 6 bolesnika, od kojih je 4 (66.7%) iz grupe CV2.

Skoro četvrtina ukupnog broja bolesnika, njih 43 (21.4%) imalo je urtikariju/angioedem, od kojih je skoro polovina iz grupa sa vaskulitisom (grupa CV1 i CV2).

Drugu vrstu kožnih promena, najčešće tipa makulopapulozne ospe, malarnog raša i livedoidnog vaskulitisa, dominantno su imali bolesnici iz grupe CV0, kod kojih je to predominantni tip kožnih promena, kod 30 (27.7%), zajedno sa urtikarijom/angioedemom, ukupno 51 (47.2%) (Tabela 4.1).

Statistički visoko značajna razlika nadjena je u prisustvu vaskulitisa kože između ispitivanih grupa. Skoro svi bolesnici iz grupa CV1 i CV2 imali su vaskulitis kože, koji naravno nije bio prisutan kod bolesnika iz grupe CV0 (Tabela 4.1).

Biopsija kožnih promena uradjena je kod ukupno 39 (19.6%) od ukupno 144 bolesnika sa promenama na koži. Patohistološki nalaz u polovini slučajeva odgovarao je leukocitoklazijskom vaskulitisu, kod 20 (51.3%) bolesnika, dok je kod 12 (30.8%) nadjen limfocitni tip vaskulitisa i kod 1 (2.6%) urtikarijalni tip vaskulitisa. Kod 6 bolesnika sa kožnim promenama, svi iz grupe CV0, nije nadjeno prisustvo vaskulitisa (Tabela 4.1).

Skoro četvrtina bolesnika 45 (22.4%) imala je prisutan livedo retikularis. Između ispitivanih grupa postojala je statistički značajna razlika. Naime, bolesnici iz CV1 grupe (27.3%) i CV2 grupe (34.7%) značajno češće su imali prisutan livedo, nasuprot 14.8% iz grupe 0. Pri tome se CV1 i CV2 nisu značajno razlikovale u prisustvu liveda (Tabela 4.1).

U prisustvu Raynaudovog sindroma, između ispitivanih grupa nije postojala statistički značajna razlika, kod skoro trećine bolesnika (31.8%) sa krioglobulinemijom, bez obzira na prisustvo vaskulitisa, nadjeno je njegovo prisustvo (Tabela 4.1).

Tabela 4.2. Kapilaroskopski nalaz

Kapilaroskopija	Grupe, n (%)			Ukupno N=90	p
	CV 0 n=46	CV 1 n=21	CV 2 n=23		
Normalan nalaz	11 (23.9)	3 (14.3)	0 (0)	14 (15,6)	
Patološki nalaz	35 (76.1) ^{a,b}	18 (85.7) ^c	23 (100)	76 (84.4)	0.796
Nespecifične promene	19 (41.3)	8 (38.1)	9 (39.1)	36 (40)	
Ukazuju na SBVT	13 (28.3)	10 (47.6)	12 (52.2)	35 (38.9)	0.118
Sklerodermni tip	3 (6.5)	0 (0)	2 (8.7)	5 (5.6)	

*Hi-kvadrat, $p > 0.05$; Skraćenica: SBVT-sistemska bolest vezivnog tkiva

Kapilaroskopija je uradjena kod ukupno 90 (44.8%) bolesnika .

Između ispitivanih grupa bolesnika nadjena je statistički značajna razlika u prisustvu patološkog kapilaroskopskog nalaza. Izmenjen kapilaroskopski nalaz imalo je ukupno 76 od 90 (84.4%) bolesnika, 85.7% iz grupe CV1 (lak vaskulitis) i 100% iz grupe CV2 grupe (težak vaskulitis) (Tabela 4.2).

Nije postojala značajna razlika između ispitivanih grupa u pogledu tipa izmenjenog kapilaroskopskog nalaza. Najčešći nalaz odgovarao je nespecifičnim promenama (40%) i promenama koje ukazuju na SBVT (38.9%), dok je mali broj bolesnika, njih 5 (5.6%) imalo sklerodermni tip promena (Tabela 4.2).

Tabela 4.3. Zglobne manifestacije

Zglobne manifestacije	Grupe, n (%)			Ukupno n=201	p
	CV 0 n=108	CV 1 n=44	CV 2 n=49		
Bez artralgijs/artritis	28 (25.9)	12(27.3)	4 (8.2)	44 (21.9)	
Artralgijs/artritis	80 (74.1) ^{a,b}	32(72.7) ^c	45 (91.8)	157 (78.1)	*0.028
Artralgijs	52 (48.1)	24(54.5)	36 (73.5)	112 (55.7)	*0.029
Artritis	28 (25.9)	8 (18.2)	9 (18.4)	45 (22.4)	

*Hi-kvadrat, p<0.05; Medjugrupno poređenje (^aCV0vsCV1 p>0.05, ^bCV0vsCV2 p<0.01, ^cCV1vsCV2 p<0.05)

Ukupno 157 (78.1%) bolesnika imalo je zglobne manifestacije (artralgijs i/ili artritis). Najveći broj bolesnika iz grupe CV2, njih 45 (91.8%) je imalo zglobne manifestacije, što je bilo značajno različito, p<0.05 od CV1 i CV0 koje se međusobno nisu značajno razlikovale u prisustvu zglobnih manifestacija (Tabela 4.3).

Najčešće zglobne manifestacije su bile tipa izolovane artralgijs (112 od 157 bolesnika), dok je artritis bio prisutan kod 45 bolesnika (22.4%), češće iz grupe CV0 (25.9%), nasuprot grupi CV1 (18.2%) i grupi CV2 (18.4%) (Tabela 4.3).

4.4. Malaksalost, povišena temperatura, miopatija (bolovi u mišićima, slabost i/ili povišeni mišićni enzimi)

	Grupe, n (%)			Ukupno n=201	p
	CV 0 n=108	CV 1 n=44	CV 2 n=49		
Malaksalost	80 (74.1) ^{a,b}	33 (75.0) ^c	45 (91.8)	158 (78.6)	*0.034
Povišena T	13 (12.0)	3 (6.8)	9 (18.4)	25 (12.4)	0.238
Subfebrilnost < 38 ⁰ C	11 (10.2)	3 (6.8)	5 (10.2)	19 (9.5)	0.139
Febrilnost >38 ⁰ C	2 (1.9)	0	4 (8.2)	6 (3.0)	
Miopatija	6 (5.6) ^d	1 (2.3) ^c	9 (18.4)	16 (8.0)	**0.007

*Hi-kvadrat, p<0.05; **Hi-kvadrat, p<0.01; Medjugrupna razlika (^aCV0vsCV1 p>0.05, ^bCV0vsCV2 p<0.01, ^cCV1vsCV2 p<0.05, ^dCV0vsCV2 p<0.05)

Malaksalost je bila prisutna kod najvećeg broja bolesnika, 158 (78.6%). Pri tome, postojala je statistički značajna razlika između grupa, $p < 0.05$. Naime, najčešće su izraženu malaksalost imali bolesnici iz grupe CV2, njih 45 (91.8%), nasuprot 74.1% iz grupe CV0 i 75% iz grupe CV1, koji su imali skoro podjednako često prisutnu malaksalost (Tabela 4.4). Povišenu temperaturu imalo je ukupno 25 (12.4%) bolesnika. Nije nadjena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa.

Miopatija manifestovana bolom, povišenim mišićnim enzimima i/ili elektromiografskim (EMG) nalazom, nadjena je kod 16 (8%) bolesnika. Postojala je statistički visoko značajna razlika, $p < 0.01$, između ispitivanih grupa, miopatija je najčešće bila prisutna kod bolesnika iz grupe CV2, kod njih 9 (18.4%), dok se CV0 i CV1 nisu značajno razlikovale (Tabeča4.4).

Tabela 4.5. Sika sindrom

	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
Sika sindrom	54 (50)	26 (59.1)	21 (42.9)	101 (50.2)	0.294
Scintigrafija pozitivna	22 (84.6)	12 (80)	8 (88.9)	42 (84)	0.841
HP nalaz pozitivan	17 (77.3)	6 (75)	5 (100)	28 (80)	0.478

*Hi-kvadrat, statistička značajnost $p < 0.05$; Skraćenica: HP-histopatološki

Sika sindrom izražen subjektivnim osećajem suvoće i pozitivnim oftalmološkim nalazom Keratoconjunctivitis sicca, bio je prisutan kod polovine ukupnog broja bolesnika 101 (50.2%) pri čemu nije bilo statistički značajne razlike između ispitivanih grupa (Tabela 4.5).

Scintigrafija pljuvačnih žlezda uradjena je kod 50 bolesnika. Kod 42 (84%) bila je pozitivna i pri tome takodje nije postojala statistički značajna razlika između ispitivanih grupa bolesnika (Tabela 4.5).

Biopsija pljuvačnih žlezda uradjena je kod 35 bolesnika, pri čemu je kod 28 (80%) bila pozitivna u smislu Sjögrenovog sindroma. Nije postojala statistički značajna razlika između grupa u pozitivnosti biopsije, s tim da je kod svih bolesnika u grupi CV2 bila pozitivna (Tabela 4.5).

Tabela 4.6. Lezija nervnog sistema

Lezija nervnog sistema	Grupe, n (%)				Ukupno n=201	
	CV 0 n=108	CV 1 n=44	CV 2 n=49			
Bez promena	85 (78.7)	33 (75)	31 (63.3)	149 (74.1)		
Lezija nervnog sistema	23 (21.3)	11(25.0)	18 (36.7)	52 (25.9)	0.122	
Polineuropatija	13 (12.0)	9 (20.5)	14 (28.6)	36 (17.9)		
Mononeuritis m.	1 (0.9)	0	1 (2.0)	2 (1.0)		
Polineuropatija + mononeuritis m.	1 (0.9)	0	1 (2.0)	2 (1.0)		
CNS lezija	8 (7.4)	2 (4.5)	2 (4.1)	12 (6.0)		

*Hi-kvadrat, $p>0.05$

Oko četvrtine ukupnog broja bolesnika, 52 (25.9%) imala je leziju nervnog sistema i pri tome nije postojala statistički značajna razlika u odnosu na prisustvo ili odsustvo vaskulitisa.

Najčešći tip lezije nervnog sistema bila je polineuropatija, koja je bila prisutna kod 36 (17.9%) bolesnika, zatim CNS lezija kod 12 (6%) bolesnika, dok su se promene tipa mononeuritis multiplex i polineuropatija uz mononeuritis multipleks javile kod po 1 bolesnika, i to iz grupa CV0 i CV2 (Tabela 4.6).

Polineuropatija je bila prisutna kod 20.5% bolesnika iz grupe 1 i 28.6% bolesnika iz grupe CV2, dok je u grupi bez vaskulitisa (grupa CV0) bila prisutna kod 12% bolesnika.

Tabela 4.7. Bubrežna lezija

	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV 1	CV 2		
Bubrežna lezija	26(24.1) ^{a,b}	7 (15.9) ^c	28(57.1)	61(30.3)	**0.000
Patološki sediment	21(19.4) ^b	6 (13.6) ^c	25(51.0)	52(25.9)	**0.000
Eritrociturija	18(16.7)	6(13.6%)	24(49.0)	48(23.9)	
Eritrociturija + cilindurija	3 (2.8)	0 (0%)	1 (2%)	4 (2)	**0.000
Proteinurija g/24h	24(22.2) ^b	4 (9,1%) ^c	26(53.1)	54(26.9)	**0.000
0.3- 0,5	6 (5.6)	2(4,5%)	8 (16.3)	16 (8)	
0,5 - 3,5	13(12.0)	2 (4,5%)	16(32.7)	31(15.4)	**0.000
>3,5	5 (4.6)	0 (0%)	2 (4.1)	7 (3.5)	
Insuficijencija	5 (4.6) ^d	2 (4,5%)	8(16.3)	15 (7.5)	*0.025
Cr >135 mcg/L	5 (4.6)	2(4,5%)	7(14.3)	14 (7)	0.071
terminalna	0 (0)	0 (0%)	1 (2%)	1 (0.5)	

*Hi-kvadrat, p<0.05; **Hi-kvadrat, p<0.01; Medjugrupno poredjenje (^aCV0vsCV1 p>0.05, ^bCV0vsCV2 p<0.01, ^cCV1vsCV2 p<0.01, ^dCV0vsCV2 p<0.05). Skraćenica: Cr-kreatinin

Od ukupno 201 bolesnika, njih 61 (30.3%) imalo je bubrežnu leziju. Pri tome je postojala statistički visoko značajna razlika, p<0.01, između ispitivanih grupa. Više od polovine bolesnika iz grupe CV2 (57.1%) je imalo bubrežnu leziju, nasuprot 24.1% iz grupe CV0 i 15.9% iz grupe CV1, koje se međusobno nisu značajno razlikovale (Tabela 4.7).

Patološki sediment urina nadjen je kod ukupno 52 (25.9%) bolesnika i pri tome je postojala statistički visoko značajna razlika između grupa, p<0.01. Najveći broj bolesnika koji ima patološki sediment urina je u grupi CV2 (bolesnici sa teškim vaskulitisom), njih 51%. Kada se analizira tip patološkog sedimenta, uočljivo je da je dominantan nalaz eritrociturije, koja je prisutna kod 49% bolesnika iz grupe CV2, nasuprot 16.7% iz grupe CV0 i 13.6% iz grupe CV1 koje se međusobno nisu značajno razlikovale (Tabela 4.7).

Patološka proteinurija bila je prisutna kod oko četvrtine ukupnog broja bolesnika, njih 54 (26.9%). Pri tome, između ispitivanih grupa bolesnika postoji statistički visoko značajna

razlika, $p < 0.01$, više od polovine (53.1%) bolesnika iz grupe CV2 (težak vaskulitis) ima značajnu proteinuriju nasuprot 22.2% iz grupe CV0 i 9.1% iz grupe CV1, koje se međusobno nisu značajno razlikovale. Najveći broj bolesnika imao je proteinuriju subnefrotskog stepena ($< 3.5\text{g}/24\text{h}$), dok je proteinurija nefrotskog stepena bila prisutna ukupno 7 (3.5%) bolesnika, 2 iz grupe CV2 i 5 iz grupe CV0 (Tabela 4.7).

Kod ukupno 15 (7.5%) bolesnika nadjena je bubrežna insuficijencija manifestovana porastom vrednosti kreatinina različitog stepena. Pri tome, postojala je statistički značajna razlika između grupa ispitivanih bolesnika, $p < 0.05$. Bolesnici sa teškim vaskulitisom, grupa CV2, češće su imali bubrežnu insuficijenciju (16.3% nasuprot grupi CV1 4.5% i grupi CV0 4.6%). Terminalna bubrežna insuficijencija bila je prisutna kod jednog bolesnika koji je pripadao grupi sa teškim vaskulitisom (Tabela 4.7).

Biopsija bubrega uradjena je kod ukupno 9 bolesnika i to kod 8 (88.9%) iz grupe CV2 (bolesnici sa teškim vaskulitisom) i samo 1 iz grupe CV1 (11.1%). Najčešće je HP nalaz odgovarao difuznom proliferativnom GN (kod 4 bolesnika (44.4%)) i svi su iz grupe CV2, kao i mezangijalnom GN, takodje kod 4 bolesnika (1 iz grupe CV1 i 3 iz grupe CV2). Membranoproliferativni GN je bio prisutan kod samo jednog nalaza bioptata bubrega i taj bolesnik je pripadao grupi 2 (bolesnici sa teškim vaskulitisom).

Tabela 4.8. Lezija pluća, gastrointestinalnog trakta, druge visceralne lezije

	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV 0	CV 1	CV 2		
Lezija pluća	14 (13.0)	5 (11.4)	12(24.5)	31 (15.4)	0.126
Opstruktivna	2 (1.9)	5 (11.4)	5 (10.2)	12 (6.0)	
Restriktivna	5 (4.6)	0	3 (6.1)	8 (4.0)	
Serozitis	6 (5.6)	0	3 (6.1)	9 (4.5)	0.092
Insuficijencija	0	0	1 (2.0)	1 (0.5)	
Plućna hipertenzija	1 (0.9)	0	0	1 (0.5)	
Lezija GIT	0	0	5(10.2)	5 (2.5)	*0.000
Bolovi u trbuhu (naglo)	0	0	1 (2)	1 (0.5)	
Perforacija	0	0	1 (2)	1 (0.5)	
Holecistitis/pankreatitis	0	0	2 (4.1)	*2 (1)	
Bolovi + hematohezija	0	0	1 (2)	1 (0.5)	

Rasprostranjeni vaskulitis	0	0	17 (34.7)	17 (8.5)	*0.000
-----------------------------------	---	---	-----------	----------	--------

*Hi-kvadrat, statistička značajnost $p < 0.01$

Prisustvo plućne lezije nadjeno je kod 31 (15.4%) bolesnika. Pri tome, najčešće je plućna lezija bila prisutna kod bolesnika iz grupe CV2, njih 12 (24.5%) nasuprot 14 (13%) iz grupe CV0 i 5 (11.4%) iz grupe CV1, mada to nije bilo statistički značajno (Tabela 4.8).

Najčešći tip plućne lezije bila je opstruktivna bolest pluća, kod 12 (38.7%) od ukupno 31 bolesnika sa lezijom pluća (6% ukupnog broja bolesnika) iako to nije bilo statistički značajno. Restriktivna bolest pluća je bila prisutna kod 8 (25.8%), serozitis kod 9 (29.03%), dok je plućna insuficijencija i plućna hipertenzija nadjena kod po jednog bolesnika (3.2%). Nije postojala statistička značajnost u tipu plućne lezije u ispitivanim grupama, mada je opstruktivna bolest pluća upadljivo češća u grupama sa vaskulitisom (CV1 11.4% i CV2 10.2% nasuprot 1.9% u grupi CV0)(Tabela 4.8).

Lezija gastrointestinalnog trakta bila je prisutna kod malog broja bolesnika, ukupno 5 (2.5%). Pri tome su svi bolesnici bili iz grupe CV2 (bolesnici sa teškim vaskulitisom). Dakle, postoji statistički visoko značajna razlika, $p < 0.01$, između ispitivanih grupa u prisustvu lezije GIT-a. Naglo nastali bolovi u trbuhu, perforacija, bolovi u trbuhu i hematohezija, bili su prisutni kod po jednog bolesnika, dok je holecistitis/pankreatitis nadjen kod 2 bolesnika (Tabela 4.8).

Rasprostranjeni vaskulitis javio se kod ukupno 17 (8.5%) bolesnika i svi su bili iz grupe CV2. Prema tome, postoji visoka statistička značajnost između grupa, $p < 0.01$, u prisustvu rasprostranjenog vaskulitisa, koji je bio karakterističan za grupu CV2 (bolesnici sa teškim vaskulitisom) (Tabela 4.8).

5. Laboratorijske analize

5.1. Analiza krioprecipitata

Tabela 5.1.1. Količina krioglobulina

	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV0 ^{a,b}	CV1 ^c	CV2		
Krioglobulini semikvantitativno					
1+	37 (34.3)	5 (11.4)	10 (20.4)	52 (25.9)	*0.000
2+	50 (46.3)	21 (47.7)	18 (36.7)	89 (44.3)	
3+	18 (16.7)	9 (20.5)	7 (14.3)	34 (16.9)	
4+	3 (2.8)	9 (20.5)	14 (28.6)	26 (12.9)	
N	108	44	49	201	**0.022
R	85.64	120.28	117.54		
Krioglobulini kvantitativno(g/L)					
N	82	37	42	161	***0.000
\bar{X}	2.87 ^f	3.44 ^{d,e}	4.80 ^b	3.50	
SD	1.61	1.69	3.60	2.43	
Med	2.67	3.11	3.43	2.86	
IQR	2.11-3.42	2.25-4.27	2.75-5.87	2.23-3.91	

*Hi-kvadrat, p<0.01; **Kruskal Wallis, p<0.05; Medjugrupno poredjenje (^aCV0vsCV1 p<0.01, ^bCV0vsCV2 p<0.01, ^cCV1vsCV2 p>0.05); ***ANOVA p<0.01; ****Multiple komparacije (Bonferroni) ^dCV0vsCV2 p<0.01, ^eCV1vsCV2 p<0.05, ^f0vs1 p>0.05

Količina krioglobulina medju ispitivanim grupama je statistički visoko značajno se razlikovala (p<0.01). Mala količina krioglobulina procenjena semikvantitativno kao 1+, prisutna je kod 34.3% bolesnika iz grupe CV0. Najveća količina (4+) prisutna kod 28.6% bolesnika iz grupe CV2, odnosno kod bolesnika sa teškim vaskulitisom, dok je visok nivo krioglobulina od 4+ imalo samo 3 (2.8%) od 108 bolesnika iz grupe CV0 (krioglobulinemija bez vaskulitisa) (Tabela 5.1.1). Dakle, količina krioglobulina se

značajno razlikovala između ispitivanih grupa, $p < 0.01$, tako što je CV0 imala značajno manju količinu krioglobulina od CV1 i CV2 koje se međusobno nisu značajno razlikovale.

Količina krioglobulina kvantitativno izražena u g/L određena je kod 161 od 201 bolesnika (80.1%). Prosečna količina krioglobulina bila je 3.50 g/L, medijana 2.86 g/L. Srednje vrednosti količine krioglobulina (g/L) visoko statistički značajno su se razlikovale između ispitivanih grupa, grupa CV2 je imala značajno veću prosečnu vrednost količine krioglobulina, $p < 0.01$, od grupe CV0, i značajno veću od CV1, $p < 0.05$. Grupe CV0 i CV1 se nisu razlikovale značajno u količini krioglobulina (Tabela 5.1.1).

Tabela 5.1.2. RF u krioprecipitatu

RF u krioprecipitatu	Grupe, n (%)			Ukupno n=159	p
	CV0 n=81	CV1 n=37	CV2 n=41		
Pozitivan	26 (32.1)	13 (35.1)	14 (34.1)	53 (33.3)	0.941
Negativan	55 (67.9)	24 (64.9)	27 (65.9)	106 (66.7)	
RF semikvantitativno					
1+	8 (9.9)	3 (8.1)	4 (9.8)	15 (9.4)	0.881
2+	6 (7.4)	2 (5.4)	1 (2.4)	9 (5.7)	
3+	12 (14.8)	8 (21.6)	9 (22.0)	29 (18.2)	

*Hi-kvadrat, $p > 0.05$;

RF u krioprecipitatu određen je kod ukupno 159 bolesnika, pri čemu je trećina (33.3%) imala pozitivan rezultat.

Najveću količinu RF u krioprecipitatu, označenu kao 3+, imalo je 29 (18.2%) od 53 bolesnika, dok je veliku količinu, označenu kao 2+, imalo 9 (16.9%). Dakle, 38 (71.7%) od 53 bolesnika sa pozitivnim RF je imalo veliku količinu RF u krioprecipitatu označenu sa 3+ i 2+, ili skoro četvrtina (23.9%) ukupnog broja bolesnika (Tabela 5.1.2).

Nije nadjena značajna statistička razlika između grupa u prisustvu i količini RF određenog semikvantitativno u krioprecipitatu iako su bolesnici sa vaskulitisom imali veću količinu.

Tabela 5.1.3. Prisustvo i tip M komponente u krioprecipitatu

M komponenta	Grupe, n (%)			Ukupno n=165	P
	CV0 n=84	CV1 n=39	CV2 n=42		
Pozitivna	22(26.2)	11 (28.2)	17 (40.5)	50 (30.3)	0.245
Negativna	62 (73.8)	28 (71.8)	25 (59.5)	115 (69.7)	
Tip M komponente					
IgMκ	5 (6.0)	4 (10.3)	6 (14.3)	15 (9.1)	*0.035
IgMλ	3 (3.6)	2 (5.1)	1 (2.4)	6 (3.6)	
IgGκ	8 (9.5)	0 (0)	2 (2.4)	9 (5.5)	
IgGλ	2 (2.4)	1 (2.6)	5 (11.9)	8 (4.8)	
IgAλ	0 (0)	2 (5.1)	0 (0)	2 (1.2)	
Mešovite (oligoklonske)	4 (4.8)	2 (5.1)	4 (9.5)	10 (6.1)	
Poliklonske	62 (73.8)	28 (71.8)	25 (59.5)	115 (69.7)	

*Hi-kvadrat, statistička značajnost $p < 0.05$

Imunofiksacija krioprecipitata analizirana je kod 165 bolesnika. Prisustvo M komponente nadjeno je kod 50 (30.3%) bolesnika, dok je kod 69.7% krioprecipitat bio poliklonski. Nije postojala statistički značajna razlika izmedju ispitivanih grupa u prisustvu M komponente u krioprecipitatu, iako je M komponenta bila češće prisutna kod bolesnika iz grupe CV2 (40.5%), nasuprot 26.2% iz grupe CV0 i 28.2% iz grupe CV1 (Tabela 5.1.3).

Statistički značajna razlika, $p < 0.05$, nadjena je izmedju ispitivanih grupa u odnosu tip prisutne M komponente u krioprecipitatu. Najčešće je bila prisutna monoklonska IgM komponenta i to kod 21 (12.7%) svih bolesnika, odnosno kod 42% bolesnika sa pozitivnom M komponentom, češće kod bolesnika sa vaskulitisom (grupa CV1 i CV2). IgM kapa je dominantna M komponenta, prisutna kod 15 (9.1%) ukupnog broja bolesnika, odnosno 30% bolesnika koji su imali M komponentom, takodje češće prisutna u grupi bolesnika sa vaskulitisom (Tabela 5.1.3).

6. Tip krioglobulinemije

Tabela 6. Tip krioglobulinemije na osnovu M komponente u kioglobulinu

Tip krioglobulinemije	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
Tip I	1 (1.2)	1 (2.6)	0 (0)	2 (1.2)	0.199
Tip II	20 (23.8)	10 (25.6)	17 (40.5)	47 (28.5)	
Tip III	63 (75.0)	28 (71.8)	25 (59.5)	116 (70.3)	
Ukupno	84 (100)	39 (100)	42 (100)	165 (100)	

*Hi-kvadrat test

Tip krioglobulinemije određen je kod ukupno 165 bolesnika. Najzastupljenija je krioglobulinemija tipa III, kod 116 (70.3%) bolesnika, dok je krioglobulinemija tipa II bila prisutna kod 47 (28.5%) bolesnika. Najredje je bila prisutna krioglobulinemija tipa I, kod 2 (1.2%) bolesnika (Tabela 6).

Nije postojala statistički značajna razlika između grupa u tipu prisutne krioglobulinemije, mada je tip II bio češći kod bolesnika iz grupe CV2 (40.5%), dok je tip III bio češći kod bolesnika iz grupe CV0 (75%)(Tabela 6).

7. Analiza seruma

Tabela 7.1. EF proteina seruma, imunofiksacija proteina seruma (karakterizacija M komponente)

EF proteina seruma	Grupe, n (%)			Ukupno n=194	p
	CV0 n=105	CV1 n=40	CV2 n=49		
Normalna	49 (46.7)	18 (45.0)	7 (14.3)	74 (38.1)	*0.000
Patološka	56 (53.3) ^a	22 (55.0)	42 (85.7) ^{b,c}	120 (61.9)	
Sumnja na paraprotein	33 (31.4)	14 (35.0)	25 (51.0)	72 (37.1)	
Poliklonska hipergamaglobulinemija	22 (21.0)	8 (20.0)	15 (30.6)	45 (23.2)	*0.007
Sniženi gamaglobulini	1 (1.0)	0 (0)	2 (4.1)	3 (1.5)	
M komponenta (serum) poz.	17 (16.5) ^{a,b}	9 (22.5)	18 (36.7)	44 (22.9)	**0.021
IgMκ	5 (4.9)	5 (12.5)	8 (16.3)	18 (9.4)	
IgMλ	1 (1.0)	1 (2.5)	0 (0)	2 (1.0)	
IgGκ	5 (4.9)	1 (2.5)	1 (2.0)	7 (3.6)	0.069
IgGλ	2 (1.9)	0 (0)	4 (8.2)	6 (3.1)	
Mešovite (oligoklonske)	4 (3.9)	2 (5.0)	5 (10.2)	11 (5.7)	

*Hi-kvadrat, $p < 0.01$; **Hi-kvadrat $p < 0.05$; Medjugrupno poredjenje (^aCV0vsCV1 $p > 0.05$, ^bCV0vsCV2 $p < 0.01$, ^cCV1vsCV2 $p < 0.01$)

EF proteina seruma bila je izmenjena kod ukupno dve trećine bolesnika, njih 120 (61.9%), najčešće u grupi CV2 (85.7%), što je visoko statistički značajno, $p < 0.01$ (Tabela 7.1).

Izmenjena EF proteina seruma najčešće je odgovarala nalazu "sumnje na prisustvo paraproteina" (37.1%) i poliklonske hipergamaglobulinemije (23.2%) i pri tome je postojala visoko statistički značajna ($p < 0.01$) razlika između grupa, naime bolesnici iz grupe CV2 su imali češće prisutnu sumnju na paraprotein (51%) i poliklonsku hipergamaglobulinemiju (30.6%)(Tabela 7.1).

M komponenta u serumu nadjena je kod 44 (22.9%) bolesnika. Najčešće M komponentu imali bolesnici iz grupe CV2 (36.7%), što je bilo značajno od grupe CV0, $p < 0.01$, ali ne i od CV1 (Tabela 7.1).

U odnosu na tip M komponente, nije postojala statistički značajna razlika između grupa, iako je uočljivo da je češće prisutan monoklonski IgM kapa kod bolesnika iz grupe CV2 (16.3%).

Tabela 7.2. RF u serumu (kvalitativno i kvantitativno IU/mL)

RF serum	Grupa, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
Povišen	43 (43.0)	26 (61.9)	28 (59.6)	97 (51.3)	0.112
N	100	42	47	189	0.236
\bar{X}	85.76	76.09	173.63	105.46	
SD	357.78	93.88	352.26	318.20	
Med	18.50	34.78	64.0	22.0	
IQR	8.35-51.75	11.50-131.50	11.30-169.0	10.0-96.80	

*Hi-kvadrat, $p > 0.05$; **ANOVA

RF u serumu (IU/ml) je određen kod 189 bolesnika i nadjeno je prisustvo povišene vrednosti kod oko polovine bolesnika, njih 97 (51.3%). Povišena vrednost je bila češća kod bolesnika sa vaskulitisom (grupa CV1 i CV2), ali to nije bilo statistički značajno.

Prosečna vrednost RF u serumu bila je 105.46 ± 318.2 (Tabela 7.2). Nije nadjena statistički značajna razlika između ispitivanih grupa, iako je upadljiva visoka prosečna vrednost i mediana u grupi bolesnika sa teškim vaskulitisom (CV2) (173.62 ± 352.26) (Tabela 7.2).

Tabela 7.3. Komplement (C), C1q, anti C1q, C1 inhibitor, imunski kompleksi (CIC)

Komplement (C) i imunski kompleksi (CIC)	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
C ↓	49 (47.1) ^b	19 (43.2)	37 (75.5) ^c	105 (53.3)	
C3 ↓	20 (19.2)	2 (4.5)	4 (8.2)	26 (13.2)	
C4 ↓	7 (6.7)	7 (15.9)	11 (22.4)	25 (12.7)	*0.000
C3 i C4 ↓	22 (21.2)	10 (22.7)	22 (44.9)	54 (27.4)	
C1q ↓	0	6 (35.3)	12 (42.9) ^c	18 (24.0)	*0.000
C1 inhibitor ↓	6 (25.0) ^a	7 (38.9)	13 (54.2) ^d	26 (39.4)	**0.022
CIC ↑	53 (56.4)	25 (69.4)	30 (61.2)	108 (60.3)	0.391
Anti C1q ↑	31 (39.7)	12 (32.4)	18 (41.9)	61 (38.6)	0.223

Anti C1q U/mL					
N	78	37	43	158	
\bar{X}	24.90	27.93	27.93	26.43	
SD	47.32	51.29	39.14	45.97	0.918
Med	7.53	5.35	5.04	7.05	
IQR	3.53-20.22	2.26-14.70	2.66-39.90	3.05-23.22	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.01$; **Hi kvadrat, $p < 0.05$; Medjugrupno poredjenje (^aCV0vsCV1 $p > 0.05$, ^bCV0vsCV2 $p < 0.01$, ^cCV1vsCV2 $p < 0.01$, ^dCV1vsCV2 $p < 0.05$, ^eCV1vsCV2 $p > 0.05$); **ANOVA; Skraćenice: CIC-cirkulišući imunski kompleksi; C3, C4, C1q - komponente komplementa

Snižena koncentracija komponenti komplementa (potrošnja komplementa) nadjena je kod 105 (53.3%) bolesnika. Između ispitivanih grupa nadjena je statistički visoko značajna razlika ($p < 0.01$), naime grupa CV2 je češće imala sniženu vrednosti komplementa u odnosu na druge dve grupe (75.5% vs 47.1% i 43.2%) (Tabela 7.3). Najčešće je postojalo sniženje i C3 i C4 komponente, kod 54 (27.4%) bolesnika. Između ispitivanih grupa nadjena je visoko statistički značajna razlika u pogledu sniženja pojedinih komponenti komplementa

(CV0vsCV2 $p<0.01$, CV1vsCV2 $p<0.05$). Naime, u grupi CV2 najčešće je postojalo sniženje C4 (22.4%) i obe komponente zajedno (44.9%) (Tabela 7.3).

C1q komponenta komplementa određena je 75 bolesnika i nadjeno je da je bila snižena kod 24%, pri čemu je postojala statistički visoko značajna razlika između ispitivanih grupa ($p<0.01$). Sniženje C1q postojalo je isključivo kod bolesnika sa vaskulitisom (grupe CV1 i CV2), nešto češće u grupi CV2 (42.9%) u odnosu na grupu CV1 (35.3%), ali razlika nije bila značajna (Tabela 7.3).

Anti C1q antitela određena su u serumu 158 bolesnika, kod njih 61 (38.6%) nadjena je povišena vrednost. Prosečna vrednost bila je 26.43 ± 45.97 U/mL. Između ispitivanih grupa nije nadjena statistički značajna razlika u prisustvu povišene vrednosti anti C1q (Tabela 7.3).

C1 inhibitor određen je kod 66 bolesnika. Sniženje C1 inhibitora nadjeno je kod 26 (39.4%), pri čemu je češće sniženje uočeno kod bolesnika sa vaskulitisom (grupa CV2 54.2%; grupa CV1 38.9%), $p<0.05$, (Tabela 7.3).

Povišene imunske komplekse imalo je 60.3% bolesnika, nešto češće bolesnici sa vaskulitisom (grupe CV1 i CV2), ali to nije bilo statistički značajno (Tabela 7.3).

7.4. Autoantitela (ANA, anti dsDNK, SSA/SSB i druga autoantitela (AMA, APA, AGMA, RNP, anti Scl)

Autoantitela	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
ANA	71 (65.7) ^{a,b}	19 (43.2)	28 (57.1)	118 (58.7)	*0.036
1/80	15 (13.9)	3 (6.8)	2 (4.1)	20 (10.0)	0.098
1/160	16 (14.8)	2 (4.5)	4 (8.2)	22 (10.9)	
1/320	17 (15.7)	4 (9.1)	7 (14.3)	28 (13.9)	
≥ 1/640	23 (21.3)	10 (22.7)	15 (30.6)	48 (23.9)	
Anti dsDNK	18 (40.9) ^d	1 (6.7)	6 (20.7)	25 (28.4)	*0.021
SSA i/ili SSB	33 (33.0) ^b	14 (66.7) ^{a,c}	14 (29.8)	61 (36.3)	**0.008
SSA	21 (21.0)	7 (33.3)	10 (21.3)	38 (22.6)	0.055
SSB	2 (2.0)	1 (4.8)	0 (0)	3 (1.8)	
SSA+SSB	10 (10.0)	6 (28.6)	4 (8.5)	20 (11.9)	
Druga autoantitela	34 (31.5) ^d	5 (11.4) ^e	21 (42.9)	60 (29.9)	**0.004

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p<0.05$; **Hi-kvadrat, $p<0.01$; Medjugrupna razlika (^aCV0vsCV1 $p<0.01$, ^bCV0vsCV2 $p>0.05$, ^cCV1vsCV2 $p>0.05$, ^dCV0vsCV1 $p<0.05$, ^eCV1vsCV2 $p<0.01$)

ANA su bila pozitivna kod više od polovine bolesnika (58.7%), pri tome je postojala statistički značajna razlika, $p < 0.05$, između grupa. Najčešće su ANA bila pozitivna u grupi CV0 (65.7%) što se značajno razlikovalo od CV1, ali ne i od CV2 koje se međusobno nisu značajno razlikovale (Tabela 7.4). Nije postojala značajna razlika između grupa u titru ANA. Najveći broj bolesnika imao je titar ANA $\geq 1/640$ (23.9%), dok je nizak titar ANA (1/80), imalo najviše bolesnika iz grupe CV0, 13.9% bolesnika. Grupa CV2 (težak vaskulitis) imala je najčešće visoki titar ANA $\geq 1/640$ (30.6%), ali to nije bilo statistički značajno (Tabela 7.4).

Anti dsDNK određena su kod 88 (43.8%) bolesnika. Njihovo prisustvo nadjeno je kod 28.4%. Grupe su se međusobno statistički značajno razlikovale u prisustvu antidsDNK u serumu, $p < 0.05$, najčešće je anti dsDNK nadjen u grupi CV0 (40.9%), zatim grupi CV2 (20.7%), dok je najredje antidsDNK registrovan u grupi CV1 (6.7%), pri čemu se CV0 i CV2 nisu značajno razlikovale (Tabela 7.4).

Prisustvo anti-SSA i/ili SSB određeno je kod 168 (83.6%) bolesnika. Njihovo prisustvo nadjeno je kod oko jedne trećine (36.3%). Postojala je statistički visoko značajna razlika između grupa, najčešće su bila prisutna u grupi CV1 (66.7%), $p < 0.01$, dok su u grupama CV0 i CV2 bila pozitivna u sličnoj meri, oko 30%, što nije bilo značajno. SSA su bila najčešće prisutna u grupi CV1 (33.3%), kao i SSA+SSA (28.6%), međutim to nije bilo statistički značajno (Tabela 7.4).

Prisustvo drugih autoantitela (anti Tg/TPO, ANCA, AMA, APA, RNP, antifosfolipidna, ACPA, anti Scl 70, antiribozomalna) nadjeno je kod oko trećine bolesnika (29.9%). Pri tome je postojala statistički visoko značajna razlika između grupa, $p < 0.01$, najčešće su autoantitela bila prisutna u grupi CV2 (42.9%) i grupi CV0 (31.5%), koje se međusobno nisu značajno razlikovale (Tabela 7.4).

Prema vrsti autoantitela, najčešće su bila prisutna antiTg/TPO antitela (10.4%), statistički značajno češće u grupi CV0 (11.1%) i grupi CV2 (16.3%). Ostala autoantitela su bila prisutna sporadično (Tabela 7.4).

Tabela 7.5. Markeri inflamacije (SE > 50/, CRP, fibrinogen)

Markeri inflamacije	Grupe n, (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
SE > 50/	26 (24.1)	9 (20.5)	19 (38.8)	54 (26.9)	0.087
CRP ↑	40 (39.6)	8 (19.5) ^{a,c}	22 (44.9)	25 (36.6)	*0.030
Fibrinogen ↑	63 (58.3)	14 (35.0) ^{a,b}	19 (38.8)	96 (48.7)	*0.011

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.05$; Medjugrupno poredjenje (^aCV0vsCV1 $p < 0.05$, ^bCV0vsCV2 $p < 0.05$, ^cCV1vsCV2 $p < 0.05$)

Oko četvrtina bolesnika (26.9%) imalo je ubrzanu SE, najčešće u grupi CV2 (38.8%), ali to nije bilo statistički značajno (Tabela 7.5).

Oko trećina bolesnika (36.6%) imala je povišen CRP, najčešće u grupi CV2, i to je bilo statistički značajno, $p < 0.05$ (Tabela 7.5).

Povišena vrednost fibrinogena nadjena je kod oko polovine bolesnika (48.7%), najčešće kod bolesnika u grupu CV0 (58.3%) i to je bilo statistički značajno, $p < 0.05$ (Tabela 7.5).

Tabela 7.6. Citopenije, patološki hepatogram

	Grupe n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
Leukopenija	30 (27.8)	8 (18.2)	13 (26.5)	51 (25.4)	0.457
Neutropenija	8 (7.4)	6 (13.6)	3 (6.1)	17 (8.5)	0.114
Limfopenija	22 (20.4)	2 (4.5)	10 (20.4)	34 (16.9)	
Anemija	16 (14.8)	6 (13.6)	17 (34.7)	39 (19.4)	*0.008
Coombs +	3 (2.8)	0 (0)	4 (8.2)	7 (3.5)	0.072
Sideropenijska	3 (2.8)	1 (2.3)	2 (4.1)	6 (3.0)	
Hronične bolesti	10 (9.3)	5 (11.4)	11 (22.4)	26 (12.9)	
Trombocitopenija	6 (5.6)	7 (15.9)	7 (14.3)	20 (10.0)	0.078
Hepatogram ↑	15 (13.9)	10 (22.7)	13 (26.5)	38 (18.9)	0.132
Transaminaze	5 (4.6)	7 (15.9)	4 (8.2)	16 (8.0)	0.076
Holestaza	6 (5.6)	2 (4.5)	3 (6.1)	11 (5.5)	
Transaminaze + holestaza	4 (3.7)	1 (2.3)	6 (12.2)	11 (5.5)	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.01$;

Leukopenija je nadjena kod jedne četvrtine bolesnika (25.4%) i pri tome nije nadjena statistički značajna razlika između grupa. Češće je bila prisutna limfopenija (16.9%) u

odnosu na neutropeniju (8.5%), najviše prisutna u grupi CV0 i grupi CV2, ali nije nadjena statistička značajnost (Tabela 7.6).

Anemija je nadjena kod 19.4% bolesnika, koji su najčešće bili iz grupe CV2, što je bilo visoko statistički značajno, $p < 0.01$ (Tabela 7.6). Prema tipu anemije, nije postojala statistički značajna razlika između ispitivanih grupa bolesnika, najčešća je bila anemija hronične bolesti (12.9%), najviše zastupljena u grupi CV2 (22.4%) (Tabela 7.6).

Trombocitopenija je bila prisutna kod 10% bolesnika, češće u grupama sa vaskulitisom (grupe CV1 i CV2), ali to nije bilo statistički značajno (Tabela 7.6).

Poremećaj hepatograma nadjen je kod 18,9% bolesnika, pri čemu nije postojala statistička značajnost u prisustvu poremećenog hepatograma između grupa, iako je poremećaj bio češći u grupama sa vaskulitisom (grupe CV1 i CV2) (Tabela 7.6).

Pri tome se nešto češće nalazio porast transaminaza (8.0%) u odnosu na holestazu (5.5%), dok je istovremeni porast alkalne fosfataze i transaminaza najčešće je bio prisutan u grupi CV2, ali to nije bilo statistički značajno (Tabela 7.6).

Tabela 7.7. Faktor stimulacije B limfocita (BLyS) kvalitativno i kvantitativno

BLyS	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
Normalan	18 (72)	21 (65.6)	18 (58.1)	57 (64.8)	0.551
Povišen	7 (28.0)	11 (34.4)	13 (41.9)	31 (35.2)	
Ukupno	25 (100)	32 (100)	31 (100)	88 (100)	

BLyS pg/mL	CV0	Grupe		Ukupno	Zdrave kontrolne	p
		CV1	CV2			
N	25	32	31	88	11	0.330 **0.959
\bar{X}	1237.52	1091.59	1389.90	1238.14	948.9	
SD	623.80	388.61	1140.48	791.06	105.8	
Med	1018.0	1028.50	1014.0	1022.0	1014	
IQR	844.0-1577.0	866.5-1291.7	767.0-1530.0	833.0-1337.0	11	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.05$; **ANOVA, $p > 0.05$;

BLyS je određen kod 88 bolesnika i 11 zdravih kontrola. Povišene vrednosti faktora BLyS (iznad gornje referentne vrednosti) nadjene su kod 35.2% bolesnika, češće u grupama sa vaskulitisom, iako to nije bilo statistički značajno (Tabela 7.7).

Prosečna vrednost faktora BLyS bila je 1238.14 pg/mL, najviša u grupi sa teškim vaskulitisom, ali to takodje nije bilo statistički značajno (Tabela 7.7). Ove vrednosti se nisu značajno razlikovale od kontrolnih u grupi zdravih osoba.

Tabela 7.8. Korelacija koncentracije BLyS, indeksa aktivnosti vaskulitisa (BVAS) i indeksa proširenosti vaskulitisa (DEI)

Korelacija		BLyS	BVAS	DEI
BLyS	Rho	1.000	0.178	0.203
	p	.	0.162	0.110
BVAS	Rho	0.178	1.000	0.822**
	p	0.162	.	0.000
DEI	Rho	0.203	0.822**	1.000
	p	0,110	0.000	.

** Neparametrijska korelacija (Spearman-ov test korelacije), statistička značajnost $p < 0.01$

Nije nadjena statistički značajna povezanost između količine BLyS pg/mL, kao i indeksa aktivnosti BVAS i indeksa proširenosti vaskulitisa (DEI), $p > 0.05$ (Tabela 7.8).

Međutim, postoji statistički visoko značajna linearna povezanost između BVAS i DEI, $p < 0.01$ (Tabela 7.8).

8. Indeks aktivnosti i proširenosti krioglobulinemijskog vaskulitisa

Tabela 8.1. Indeks aktivnosti vaskulitisa, BVAS (Birmingham vasculitis activity score) (75)

BVAS	Grupa, n (%)		Ukupno	p
	CV1	CV2		
N	44	49	93	
\bar{X}	6.36	13.92	10.34	
SD	3.77	7.15	6.90	*0.000
Med	4.0	14.0	9.0	
IQR	3.25-10.0	7.5-19.0	4.0-14.5	

*ANOVA, statistička značajnost, $p < 0.01$;

BVAS (Birmingham vasculitis activity score) određen je kod ukupno 93 bolesnika sa vaskulitisom na prvoj prezentaciji (grupe CV1 i CV2). Prosečna vrednost skora bila je 10.34. Grupe su se statistički visoko značajno razlikovale, $p < 0.01$, prema visini skora, grupa CV2 (bolesnici sa teškim vaskulitisom) je imala značajno viši skor (13.92 vs 6.36) (Tabela 8.1).

Tabela 8.2. Indeks proširenosti vaskulitisa, DEI (Disease Extent Index) (75)

DEI	Grupa		Ukupno	p
	CV1	CV2		
N	44	49	93	
\bar{X}	5.0	7.16	6.14	
SD	1.76	2.08	2.21	0.000
Med	5.0	7.0	7.0	
IQR	4.0-7.0	5.5-9.0	5.0-7.0	

*ANOVA, $p < 0.01$;

Proširenost vaskulitisa određen indeksom DEI (Disease Extent Index) kod bolesnika sa vaskulitisom (grupe CV1 i CV2) visoko statistički značajno se razlikovale. Prosečna vrednost DEI bila je 6.14. Bolesnici sa teškim vaskulitisom imali su viši DEI skor (7,16 vs 5,0) (Tabela 8.2).

Tabela 8.3. Korelacija BVAS, DEI, koncentracije krioglobulina g/L, sniženja C, prisustva RF u krioprecipitatu, povišenog RF u serumu, povišenih anti-C1q antitela i povišene koncentracije BLYS.

Korelacija faktora	BVAS	DEI	Krioglob g/L	C ↓	RF u krioglob.	RF serum IU/mL	Anti - C1q U/mL	BLYS	
BVAS	Rho	1.000	0.822**	0.292**	0.351**	0.004	-0.150	-0.101	0.178
	p	.	0.000	0.009	0.001	0.971	0.167	0.371	0.162
DEI	Rho	0.822*	1.000	0.200	0.358**	0.056	-0.272*	-0.156	0.203
	p	0.000	.	0.078	0.000	0.624	0.011	0.167	0.110
Krioglob. g/L	Ro	0.292**	0.200	1.000	0.069	0.166*	-0.162*	-0.116	-0.154
	p	0.009	0.078	.	0.389	0.039	0.049	0.178	0.169
C ↓	Rho	0.351**	0.358**	0.069	1.000	0.009	-0.122	0.169*	-0.091
	p	0.001	0.000	0.389	.	0.910	0.104	0.035	0.400
RF u krioglob.	Rho	0.004	0.056	0.166*	0.009	1.000	-0.314**	-0.012	-0.034
	p	0.971	0.624	0.039	0.910	.	0.000	0.889	0.764

RF serum IU/mL	Rho	-0.150	-0.272*	-0.162*	-0.122	-0.314	1.000	0.225**	0.159
	p	0.167	0.011	0.049	0.104	0.000	.	0.006	0.148
Anti-C1q	Rho	-0.101	-0.156	-0.116	0.169*	-0.012	0.225**	1.000	-0.017
	p	0.371	0.167	0.178	0.035	0.889	0.006	.	0.879
BLyS	Rho	0.178	0.203	-0.154	-0.091	-0.034	0.159	-0.017	1.000
	p	0,162	0.110	0.169	0.400	0.764	0.148	0.879	.

Neparametrijska korelacija (Spearman-ov test korelacije), statistička značajnost ** p<0.01; * p<0.05.

Nadjena je satistički značajna povezanost između indeksa aktivnosti vaskulitisa (BVAS) i koncentracije krioglobulina izražene u g/L, p<0.01, i snižene koncentracije komplementa, p<0.01. (Tabela 8.3). Indeks proširenosti vakulitisa DEI, također je korelirao sa sniženom koncentracijom komplementa, p<0.01, dok je korelacija sa koncentracijom RF u serumu IU/L, bila negativna, p<0.05 (Tabela 8.3). Količina krioglobulina kvantitativno izražena u g/L pokazala je pored pomenute povezanost sa BVAS-om, povezanost i sa prisustvom RF u krioprecipitatu (p<0.05), dok je korelacija sa koncentracijom RF u serumu bila negativna, p<0.05 (Tabela 8.3). Snižena koncentracija komplementa u serumu je pokazala, pored navedene korelacije sa indeksima BVAS i DEI, i povezanost sa povišenom koncentracijom anti-C1q antitela, p<0.05 (Tabela 8.3). Povišena koncentracija RF u serumu visoko statistički značajno korelirala sa povišenom koncentracijom anti-C1q antitela, p<0.01, a negativno sa koncentracijom krioglobulina, (p<0.05) i prisustvom RF u krioprecipitatu, p<0.01.

Povišena koncentracija anti-C1q antitela pozitivno je korelirala sa potrošnjom komplementa i povišenim RF u serumu, p<0.01 (Tabela 8.3).

Nijedan od navedenih parametara nije korelirao sa prisustvom povišene koncentracije BLyS.

2. Praćenje bolesnika

Tabela 9.1. Dužina praćenja

	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
< 1 god	20 (18.5)	7 (15.9)	9 (18.4)	36 (17.9)	0.637
1-5 godina	48 (44.4)	24 (54.5)	27 (55.1)	99 (49.3)	
> 5 godina	40 (37.0)	13 (29.5)	13 (26.5)	66 (32.8)	

Ukupno	108 (100)	44 (100)	49 (100)	201 (100)
---------------	-----------	----------	----------	-----------

*Hi-kvadrat

Najveći broj bolesnika praćen je duže od godinu dana (76,7%), 66 (32,8%) bolesnika praćeno je duže od 5 godina, približno podjednako zastupljenih u sve tri grupe (Tabela 9.1).

Tabela 9.2. Relaps vaskulitisa, tip relapsa, nove manifestacije CV tokom praćenja

	Grupe, n (%)			P
	CV1	CV2	Ukupno	
Relaps	31 (70.5)	32 (65.3)	63 (67.7)	0.596
Broj relapsa				
<3	8 (18.2)	3 (6.1)	11 (11.8)	0.106
3-5	8 (18.2)	17 (34.7)	25 (26.9)	
>5	15 (34.1)	12 (24.5)	27 (29.0)	
Tip relapsa				
Kožne promene	28 (87.5)	21 (65.6)	49 (76.6)	*0.048
Bubreg+koža	1 (3.1)	8 (25.0)	9 (14.1)	
Mononeuritis+koža	0 (0)	1 (3.1)	1 (1.6)	
Druge visceralne+koža	3 (9.4)	2 (6.3)	5 (7.8)	
Nove manifestacije CV	5 (11.4)	8 (17.0)	13 (14.3)	0.441
Purpura/urtikarijani v.	0 (0)	1 (2.1)	1 (1.1)	0.268
Ulkusi kože	0 (0)	1 (2.1)	1 (1.1)	
Polineuropatija	1 (2.3)	1 (2.1)	2 (2.2)	
Bubrežna lezija	1 (2.3)	4 (8.5)	5 (5.5)	
Druge visceralne lezije	3 (6.8)	1 (2.1)	4 (4.4)	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika p<0.05

Dve trećine bolesnika (67.7%) sa vaskulitisom doživelo je relaps i pri tome nije bilo statistički značajne razlike između grupa sa lakim i teškim vaskulitisom (Tabela 9.2).

Najveći broj bolesnika (55.9% bolesnika sa vaskulitisom) doživeo je relaps više od tri puta, najčešće više od 5 puta (29% bolesnika), bez statistički značajne razlike u odnosu na težinu vaskulitisa (Tabela 9.2).

Najčešći tip relapsa bio je recidiv prurpuričnih promena na koži, koji se javio kod 76.6% bolesnika, nakon toga istovremena pojava bubrežne lezije i purpurične ospe (kod 14.1%). Ostali oblici relapsa vaskulitisa (mononeuritis multipleks+kožne promene, druge visceralne

manifestacije) bili su sporadični. Recidiv kožnih promena je uvek pratio relaps visceralnih manifestacija.

U grupi CV2 je češće dolazilo do relapsa na nivou bubrega (25%), što je bilo statistički značajno, $p < 0.05$ (Tabela 9.2).

Do pojave novih manifestacija vaskulitisa tokom praćenja, došlo je kod 14.3% bolesnika i pri tome nije postojala statistički značajna razlika u odnosu na težinu vaskulitisa.

Od novih manifestacija vaskulitisa, najčešće se javljala bubrežna lezija, kod 5.5% bolesnika sa vaskulitisom i to češće u grupi CV2, iako to nije bilo statistički značajno. Druge visceralne manifestacije javile su se kod 4.4% bolesnika, takodje bez statistične značajnosti u odnosu na težinu vaskulitisa (Tabela 9.2). Ostali oblici vaskulitisa su bili sporadični.

Tabela 9.3. Druge bolesti tokom praćenja

	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
Druge bolesti	9 (10.7)	6 (17.6)	3 (6.3)	18 (10.8)	0.262
Limfoproliferativne	1 (1.2)	2 (5.9)	0 (0)	3 (1.8)	0.263
Druge maligne	2 (2.4)	1 (2.9)	2 (4.2)	5 (3.0)	
Autoimunske	3 (3.6)	3 (8.8)	1 (2.1)	7 (4.2)	
Vaskulitis	3 (3.6)	0 (0)	0 (0)	3 (1.8)	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.05$

Druge bolesti, kao što su limfoproliferativne i druge maligne bolesti, autoimunske bolesti i vaskulitis u grupi CV0, javile su se kod 18 (10.8%) bolesnika, pri čemu nije postojala značajna razlika između ispitivanih grupa (Tabela 9.3).

Najčešće su se javile autoimunske bolesti (4.2%), dok su se limfoproliferativne bolesti javile kod ukupno tri bolesnika, jednog iz grupe CV1 i dva iz grupe CV2.

Tri bolesnika (1.8%) iz grupe koja nije imala vaskulitis, tokom praćenja ispoljilo je kliničku sliku vaskulitisa manifestovanog na koži (dvoje purpuru i jedan urtikarijalni vaskulitis).

Tabela 9.4. Remisija vaskulitisa (klinička i laboratorijska)

	Grupe, n (%)		Ukupno	P
	CV1	CV2		
Remisija klinička	25 (73.5)	39 (81.3)	64 (78.0)	0.405

Parcijalna	18 (52.9)	19 (39.6)	37 (45.1)	0.134
Kompletna	7 (20.6)	20 (41.7)	27 (32.9)	
Remisija laboratorijska	16 (47.1)	29 (60.4)	45 (54.9)	0.231
Parcijalna	10 (29.4)	15 (31.3)	25 (30.5)	0.388
Kompletna	6 (17.6)	14 (29.2)	20 (24.4)	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.05$

Klinička remisija vaskulitisa postignuta je kod 78% bolesnika na kraju perioda praćenja, pri čemu nije postojala značajna razlika u onosu na težinu vaskulitisa. Kompletna klinička remisija češće je postignuta u grupi CV2 (41.7%), dok je parcijalna remisija bila češća u grupi CV1 (52.9%), mada to nije bilo statistički značajno (Tabela 9.4).

Laboratorijska remisija vaskulitisa postignuta je kod nešto više od polovine bolesnika (54.9%), nešto češće u grupi CV2, ali to nije bilo statistički značajno. Češće je postignuta parcijalna laboratorijska remisija, kod 30.5% bolesnika, bez značajne razlike u odnosu na težinu vaskulitisa. Kompletna remisija češće je postignuta kod bolesnika sa teškim vaskulitisom (kod 29.2% u odnosu na 17.6%), ali to nije značajno između ispitivanih grupa (Tabela 9.4).

Tabela 9.5. Količina krioglobulina na kraju praćenja

	Grupe, n (%)				p
	CV0	CV1	CV2	Ukupno	
Krioglobulin poz.	49 (52.1) ^b	35 (79.5) ^{a,c}	25 (54.3)	109 (59.2)	*0.007
Količina krio.					
Negativan	45 (47.9)	9 (20.5)	21 (45.7)	75 (40.8)	**0.030
Nepromenjen	26 (27.7)	21 (47.7)	13 (28.3)	60 (32.6)	
Smanjen	21 (22.3)	12 (27.3)	8 (17.4)	41 (22.3)	
Povećan	2 (2.1)	2 (4.5)	4 (8.7)	8 (4.3)	

*Hi kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.01$; **Hi-kvadrat, $p < 0.05$ Medjugrupna razlika (^aCV0vsCV1 $p < 0.01$, ^bCV0vsCV2 $p > 0.05$, ^cCV1vsCv2 $p < 0.05$)

Količina krioglobulina na kraju perioda praćenja visoko značajno se razlikovala, $p < 0.01$, između ispitivanih grupa. Kod 40.8% bolesnika krioglobulini postaju negativni, kod 22.3% količina krioglobulina je smanjena, dakle 63.1% bolesnika je krioglobuline izgubio ili smanjio (Tabela 9.5). Najčešće krioglobulini postaju negativni u grupi CV0 (47.9%) i grupi

CV2 (45.7%). Količina krioglobulina ostaje nepromenjena kod 32.6% bolesnika, najčešće u grupi CV1 ili čak povećana kod 4.3%, češće u grupi CV2 (Tabela 9.5).

Tabela 9.6. Ishod, uzrok smrti

	Grupe n (%)			Ukupno	p
	CV0	CV1	CV2		
Preživeli	102 (94.4)	44 (100)	41 (83.7)	187 (93.0)	*0.006
Umrli	6 (5.6) ^a	0 (0)	8 (16.3) ^{b,c}	14 (7.0)	
Uzrok smrti					
Nepoznat	1 (16.7)	0	1 (12.5)	2 (14.3)	0.064
Komplikacije CV	0	0	3 (37.5)	3 (21.4)	
Infekcija	1 (16.7)	0	3 (37.5)	4 (28.6)	
Insuficijen. jetre	0	0	1 (1.25)	1 (7.1)	
Drugo	4 (66.7)	0	0	4 (28.6)	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.01$; Medjugrupna razlika (^aCV0vsCV1 $p > 0.05$, ^bCV0vsCV2 $p < 0.05$, ^cCV1vsCV2 $p < 0.01$)

Na kraju perioda praćenja, preživelo je 93% bolesnika, dok je umrlo 14 (7%). Postojala je statistički visoko značajna razlika, $p < 0.01$, između grupa. Najveći broj umrlih je u grupi bolesnika sa teškim vaskulitisom, njih 8 (16.3%), dok u grupi sa lakim vaskulitisom nije bilo umrlih. U grupi bez vaskulitisa umrlo je 6 osoba (5.6%) i to je bilo značajno $p < 0.05$ u odnosu na CV2 (Tabela 9.6).

Nije postojala statistički značajna razlika u uzroku smrti u odnosu na prisustvo vaskulitisa. Najčešći uzrok smrti bila je infekcija (28.6%), zajedno sa drugim uzrocima, gde su bile zastupljene dominantno kardiovaskularne, maligne bolesti i respiratorna insuficijencija, takodje kod 28.6% bolesnika (Tabela 9.6). Od komplikacija vaskulitisa umrlo je 21.4%, svi su bili iz grupe CV2, mada to takodje nije bilo statistički značajno (Tabela 9.6).

U grupi bolesnika sa lakim vaskulitisom nije bilo smrtnog ishoda.

Tabela 9.7. Indeks aktivnosti vaskulitisa na kraju praćenja, BVAS2 (Birmingham vasculitis activity score)

BVAS2	Grupa		Ukupno	p
	CV1	CV2		
N	34	48	82	
\bar{X}	5.50	8.04	6.98	
SD	5.14	6.09	5.82	p 0.051
Med	4.0	5.0	6.0	
IQR	2.0-10.0	3.0-11.75	2.0-10.0	

*ANOVA, statistički značajna razlika $p < 0.05$.

BVAS 2 na kraju perioda praćenja određen je kod 82 bolesnika. Prosečna vrednost skora bila je 6.98 (Tabela 9.7). Grupe se međusobno nisu statistički značajno razlikovale u pogledu visine BVAS skora, koji je bio nešto viši u grupi sa teškim vaskulitisom (5.5 vs 8.04) (Tabela 9.7).

Tabela 9.8. BVAS1 vs BVAS2

	BVAS 1 Grupe			BVAS 2 Grupe			p
	CV1	CV2	Ukupno	CV1	CV2	Ukupno	
N	34	48	82	34	48	82	¹ 0.000
\bar{X}	7.0	14.0	11.0	5.5	8.0	7.0	² 0.020
SD	4.0	7.2	6.9	5.1	6.1	5.8	³ 0.270

*ANOVA sa ponovljenim merenjima, statistička značajnost $p < 0.05$; multivarijantna analiza (¹srednja vrednost u dva vremena, ²pripadnost gupi CV1 ili CV2, ³starost);

Prosečne vrednosti BVAS značajno su bile manje na kraju perioda praćenja u odnosu na vrednosti na prvoj prezentaciji, $p < 0.01$ (Tabela 9.8). Pri tome, grupe sa lakim i teškim vaskulitisom značajno su se razlikovale u padu BVAS, koji je bio skoro tri puta veći u grupi sa teškim vaskulitisom (CV2), $p < 0.05$. Pri tome, starost nije bila doprinoseći faktor na pad BVAS na kraju praćenja (Tabela 9.8).

Grafikon 1. BVAS u grupama CV1 i CV2 na početku i kraju perioda praćenja (pad prosečne vrednosti BVAS u dva vremena)

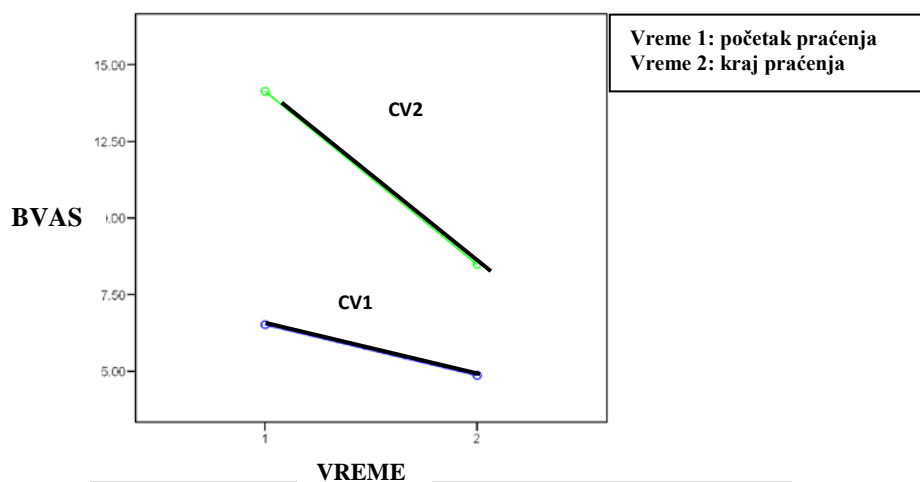


Tabela 9.9. Indeks proširenosti vaskulitisa na kraju praćenja, DEI2 (Disease Extent Index)

DEI 2	Grupa		Ukupno	p
	CV1	CV2		
N	34	48	82	
\bar{X}	4.06	4.85	4.52	
SD	2.66	2.47	2.56	0.168
Med	5.0	5.0	5.0	
IQR	2.0-6.25	3.0-7.0	3.0-7.0	

*ANOVA, statistička značajnost $p < 0.05$

DEI na kraju perioda praćenja određen je kod 82 bolesnika, grupe se nisu značajno razlikovale u visini skora. Prosečna vrednost DEI bila je 4,52 (Tabela 9.9).

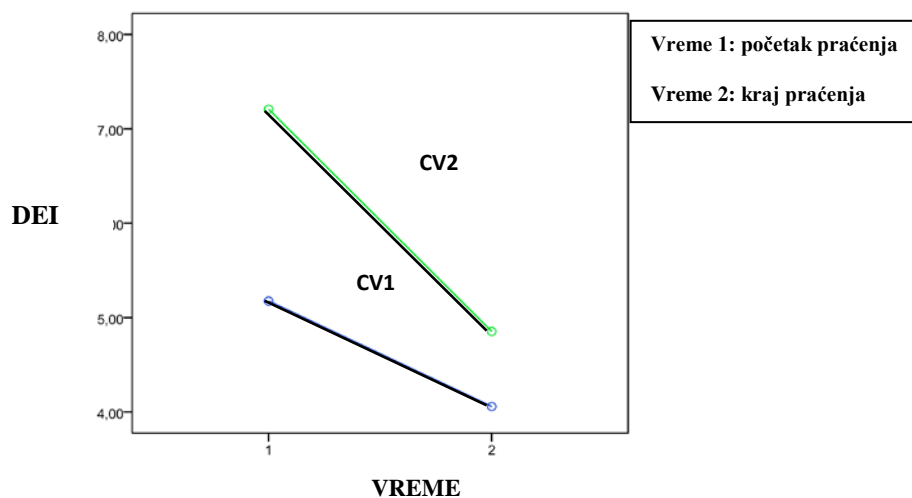
9.10. DEI vs DEI2

	DEI 1 Grupe			DEI 2 Grupe			p
	CV1	CV2	Ukupno	CV1	CV2	Ukupno	
N	34	48	82	34	48	82	¹ 0.000
\bar{X}	5.2	7.2	6.4	4.0	4.8	4.5	² 0.003
SD	1.9	2.1	2.2	2.7	2.5	2.6	³ 0.206

ANOVA sa ponovljenim merenjima, statistička značajnost $p < 0.05$; multivarijantna analiza (¹srednja vrednost u dva vremena, ²pripadnost grupi CV1 ili CV2, ³starost)

Prosečne vrednosti DEI su se značajno promenile na kraju praćenja. Naime, srednja vrednost je značajno niža ($p < 0.01$). Značajna razlika u padu DEI utvrđena je između grupa CV1 i CV2. Na kraju praćenja, DEI pada značajnije u grupi sa teškim vaskulitisom (CV2), $p < 0.01$ (Tabela 9.10). Starost bolesnika nije bila značajan doprinoseći faktor padu srednje vrednosti DEI na kraju perioda praćenja (Tabela 9.10).

Grafikon 2. Pad vrednosti DEI u grupama CV1 i CV2 na kraju perioda praćenja (pad prosečne vrednosti DEI u dva vremena)



3. Etiologija krioglobulinemije

U okviru ispitivanja značaja kliničko-laboratorijskih osobnosti bolesnika sa esencijalnom krioglobulinemijom, formirane su grupe na osnovu etiologije. Ispitivanjem je obuhvaćeno 195 od ukupno 201 bolesnika, koji su podeljeni u grupe: 66 bolesnika imalo je mešovitu esencijalnu krioglobulinemiju (EMC), njih 110 imalo je neinfektivnu krioglobulinemiju, dok je kod 19 bolesnika krioglobulinemija bila indukovana HCVinfekcijom.

Tabela 10.1. Demografski podaci

Demografski podaci	Grupa n, (%)			Ukupno	p
	EMC	Neinfektivne krioglobul.	HCV krioglobul.		
Pol					
Ž	53 (80.3)	88 (80.0)	15 (78.9)	156 (80.0)	0.992
M	13 (19.7)	22 (20.0)	4 (21.1)	39 (20.0)	
Ukupno	66 (100)	110 (100)	19 (100)	195 (100)	
Godine(mean±SD)					
	51.8±12.9	49.3±14.5	56.7±11.0	50.8±13.8	0.072
Trajanje bolesti (god)					
<1 godine	42 (63.6) ^{a,b}	37 (33.6) ^c	2 (10.5)	81 (41.5)	*0.000
>1 godine	24 (36.4)	73 (66.4)	17 (89.5)	114 (58.5)	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.01$; Medjugrupna razlika ^a1vs2 $p < 0.01$, ^b1vs3 $p < 0.01$, ^c2vs3 $p < 0.05$; **ANOVA $p < 0.05$, statistički značajna razlika

Ukupan broj bolesnika sa esencijalnom krioglobulinemijom bio je 66 i ona je obuhvatala bolesnike sa i bez kliničke slike krioglobulinemijskog vaskulitisa (CV). Prosečna starost bila je 51.8 godina i nije se statistički značajno razlikovala od bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama i HCV indukovanom krioglobulinemijom, koji su bili najstariji, sa prosečnom starošću 56.7 godina (Tabela 10.1).

U grupi bolesnika sa esencijalnom krioglobulinemijom bilo je više osoba ženskog pola 53 (80.3%) u odnosu na 13 muškaraca (19.7%), što se nije značajno razlikovalo od bolesnika sa neinfektivnim (80% vs 20%) i HCV krioglobulinemijom (78.9% vs 21.1%) (Tabela 10.1).

Kod najvećeg broja bolesnika sa esencijalnom krioglobulinemijom (63.6%) bolest je trajala kraće od godinu dana pre otkrivanja krioglobulinemije, za razliku od bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (66.4%) i posebno bolesnika sa HCV indukovanim krioglobulinemijama (89.5%), kod kojih je bolest trajala duže od godinu dana pre otkrivanja krioglobulinemije i to je bilo statistički visoko značajno, $p < 0.01$ (Tabela 10.1).

10.2. Prisustvo i težina vaskulitisa

	Grupa n, (%)			Ukupno	p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.		
Vaskulitis	34 (51.5) ^{a,b}	38 (34.5)	17 (89.5) ^c	89 (45.6)	*0.000
Lak vaskulitis	20 (30.3)	12 (10.9)	9 (47.4)	41 (21.0)	*0.000
Težak vaskulitis	14 (21.2)	26 (23.6)	8 (42.1)	48 (24.6)	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.05$; Medjugrupna razlika ^a1vs2 $p < 0.05$, ^b1vs3 $p < 0.01$, ^c2vs3 $p < 0.01$;

Skoro polovina bolesnika sa EMC bila je bez vaskulitisa (48.5%). Kada je vaskulitis bio prisutan, najčešće je bio lakog oblika (30.3%). Kod neinfektivnih krioglobulinemija vaskulitis je bio prisutan kod 10.9%, a kod HCV indukovane krioglobulinemije kod 47.4%, što je bilo statistički visoko značajno ($p < 0.01$) (Tabela 10.1). Teške forme vaskulitisa su kod bolesnika sa EMC i neinfektivnim krioglobulinemijama bile su približno podjednako zastupljene (21.2% vs 24,6%). Bolesnici sa HCV indukovanom krioglobulinemijom su u 89.5% slučajeva imali vaskulitis. Teške forme vaskulitisa je imalo 42.1% bolesnika (Tabela 10.1).

10.3. Kliničke manifestacije

Tabela 10.3.1. Kožne promene kod etiološki različitih krioglobulinemija

	Grupa, n (%)				p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.	Ukupno	
Bez promena	15 (22.7)	39 (35.5)	2 (10.5)	56 (28.7)	
Kožne promene	51 (77.3) ^{a,b}	71 (64,5)	17 (89.5) ^c	139 (71.3)	*0.036
Vaskulitis kože	34 (51.5) ^{a,d}	37 (33.0)	16 (84.2) ^c	87 (44.6)	**0.000
Livedo	11 (16.7)	26 (23.6)	6 (31.6)	43 (22.1)	0.320
Raynaud sy	17 (25.8)	37 (33.6)	9 (47.4)	63 (32.3)	0.187
Tip kožnih promena					
Purpura	15 (22.7)	13 (11.8)	9 (47.4)	37 (19.0)	
Ulkusi kože	2 (3.0)	4 (3.6)	0	6 (3.1)	
Urtikarija/angioedem	22 (33.3)	18 (16,4)	2 (10.5)	42 (21.5)	**0.000
Urtikarija+purpura	2 (3.0)	4 (3.6)	2 (10.5)	8 (4.1)	
Purpura+ulkusi kože	4 (6.1)	1 (0.9)	4 (21.1)	9 (4.6)	
Druge promene	6 (9.1)	31 (28.2)	0	37 (19.0)	

*Hi-kvadrat, $p < 0.05$; **Hi-kvadrat, $p < 0.01$; Medjugrupno poredjenje (^a1vs2 $p < 0.05$, ^b1vs3 $p > 0.05$, ^c2vs3 $p < 0.05$, ^d1vs3 $p < 0.05$, ^e2vs3 $p < 0.01$)

Bolesnici sa EMC nešto češće su imali kožne promene u odnosu na bolesnike sa neinfektivnim krioglobulinemijama (77.3% vs 64.5%), ali manje često od bolesnika sa HCV posredovanom krioglobulinemijom koji su kožne promene imali kod 89.5% bolesnika, što je bilo statistički značajno ($p < 0.05$) (Tabela 10.3.1). Takođe, bolesnici sa EMC su češće imali vaskulitis kože (51.5%), što se značajno razlikovalo ($p < 0.01$), od bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (33%) i bolesnika sa HCV posredovanom krioglobulinemijom koji su vaskulitis kože imali najčešće (84.2%) (Tabela 10.3.1.). Bolesnici sa neinfektivnim krioglobulinemijama i HCV posredovanom krioglobulinemijom češće su imali livedo i Raynaud-ov sindrom, međutim to nije bilo statistički značajno.

Što se tiče tipa kožnih promena, bolesnici sa EMC su značajno češće ($p < 0.01$) imali prisutnu urtikariju/angioedem u odnosu na druge dve grupe (33.3% vs 16.4% vs 10.5%). Takođe, češće su imali purpuru (22.7% vs 11.8%), purpuru+ulkuse kože (6.1% vs 0.9%) u odnosu na bolesnike sa neinfektivnim krioglobulinemijama. Međutim, bolesnici sa HCV posredovanom krioglobulinemijom najčešće su imali purpuru (47.4%), istovremenu pojavu urtikarije i purpure (10.5%), kao i purpure i ulkusa kože (21.1%), što je bilo statistički visoko značajno ($p < 0.0$) (Tabela 103.1).

Bolesnici sa neinfektivnim krioglobulinemijama značajno češće su imali druge promene na koži (makulopapulozna ospa, malarni raš, livedoidni vaskulitis).

Tabela 10.3.2. Zglobne manifestacije, malaksalost, sika sindrom

	Grupa, n (%)				p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.	Ukupno	
Zglobne manifestacije	43 (65.2) ^{a,b}	93 (84.5) ^c	15(78.9)	151 (77.4)	*0.012
Malaksalost	44 (66.7) ^a	93 (84.5)	16 (84.2)	153 (78.5)	*0.016
Sika sindrom	21 (31.8)	70 (63.6) ^d	6 (31.6)	97 (49.7)	**0.000
Scintigrafija	6 (66.7)	31 (88.6)	3 (75.0)	40 (83.3)	
Biopsija	4 (80.0)	21 (77.8)	1 (100)	26 (78.8)	

*Hi-kvadrat, statistička značajnaost, $p < 0.05$; **Hi-kvadrat, $p < 0.01$; Medjugrupno poredjenje (^a1vs2 $p < 0.01$, ^b1vs3 $p > 0.05$, ^c2vs3 $p > 0.05$, ^d2vs3 $p < 0.01$)

Dve trećine bolesnika sa EMC (65.2%) imalo je zglobne manifestacije. To je bilo značajno redje ($p<0.05$) u odnosu na bolesnike sa neinfektivnim krioglobulinemijama (84.5%), kao i HCV posredovanom krioglobulinemijom (77.4%). Sličan odnos nalazi se i za malaksalost, dok je sika sindrom bio kod bolesnika sa EMC i HCV indukovanom krioglobulinemijom slično ispoljen (31.8% i 31.6%), značajno manje u odnosu na bolesnike sa neinfektivnim krioglobulinemijama (63.6%) (Tabela 10.3.2).

Tabela 10.4.3. Visceralne manifestacije kod etiološki različitih krioglobulinemija

	Grupa, n (%)			Ukupno	p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.		
Bubreg	10 (15.2) ^{a,b}	41 (37.3)	10 (52.6)	61 (31.3)	**0.001
Nervni sistem	12 (18.2) ^b	30 (27.3)	9 (47.4)	51 (26.2)	*0.036
Pluća	8 (12.1)	23 (20.9) ^d	0	31 (15.9)	
Opstruktivna bolest	6 (9.1)	6 (5.5)	0	12 (6.2)	
Restriktivna bolest	0	8 (7.3)	0	8 (4.6)	*0.042
Serozitis	2 (3.0)	7(6.4)	0	9 (4.6)	
Respiratorna insuf	0	1 (0.9)	0	1 (0.5)	
Plućna hipertenzija	0	1 (0.9)	0	1 (0.5)	
GIT	2 (3.0)	2 (1.8)	1 (5.3)	5 (2.6)	0.652
Rasprostranjeni vaskulitis	5 (7.6)	9 (8.1)	3 (15.8)	17 (8.7)	0.511

Hi-kvadrat, $p<0.05$; **Hi-kvadrat, $p<0.01$; Medjugrupno poredjenje (^a1vs2 $p<0.01$, ^b1vs3 $p<0.01$, ^c2vs3 $p>0.05$, ^d2vs3 $p<0.05$)

Bolesnici sa EMC imali su ispoljenu bubrežnu leziju, kod 15.2% bolesnika, statistički visoko značajno niže ($p < 0.01$) od bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (37.3%) i HCV posredovanom krioglobulinemijom (52.6%) (Tabela 10.4.3).

Lezija nervnog sistema bila je prisutna kod samo 12 (18.2%) bolesnika sa EMC, značajno redje od bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (27.3%) i HCV indukovanim krioglobulinemijama (47.4%) (Tabela 10.4.3).

Plućne manifestacije su statistički značajno češće bile ispoljene ($p < 0.05$) kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (20.9%), za razliku od bolesnika sa EMC (12.1%) i HCV indukovanom krioglobulinemijom kod kojih nisu uočene.

Lezija gastrointestinalnog trakta bila je sporadična, kod ukupno pet bolesnika iz sve tri grupe, koje se nisu značajno razlikovale (Tabela 10.4.3).

Rasprostranjeni vaskulitis, ispoljio se kod 5 (7.6%) bolesnika sa EMC i to se nije značajno razlikovalo od druge dve grupe bolesnika, iako su bolesnici sa HCV najčešće imali rasprostranjeni vaskulitis (16,7%) (Tabela 10.4.3).

Tabela 10.4.3.1. Bubrežna lezija kod etiološki različitih krioglobulinemija

	Grupa, n (%)				p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.	Ukupno	
Eritrociturija	8 (12.1) ^{a,b}	31 (28.2)	9 (47.4)	48 (29.6)	**0.004
Proteinurija	10 (15.2) ^{a,d}	37 (33,6)	7 (36.8)	54 (27,7)	*0.019
Bubrežna insuficijencija	5 (7.6)	6 (5,5)	3 (15.8)	14 (7,2)	0.270
Proteinurija g/24h					
0.3- 0.5	4 (6,1)	9 (8.2)	3 (15.8)	16 (8.2)	
0.5 - 3.5	6 (9.1)	23 (20.9)	2 (10.5)	31 (15.9)	*0.042
> 3.5	0	5 (4.5)	2 (10.5)	7 (3.6)	

*Hi-kvadrat, $p < 0.05$; **Hi-kvadrat, $p < 0.01$; Medjugrupno poredjenje (^a1vs2 $p < 0.01$, ^b1vs3 $p < 0.01$, ^c2vs3 $p > 0.05$, ^d1vs3 $p < 0.05$)

Prema ispoljavanju bubrežne lezije, bolesnici sa EMC su redje u odnosu na druge dve grupe imali prisutan patološki sediment urina ($p < 0.01$) manifestovan najčešće

eritrociturijom (12.1% vs 28.2% i 47.4%), kao i proteinuriju (15.2% vs 33.6% i 36.8%) ($p < 0,05$), dok u odnosu na bubrežnu insuficijenciju nije bilo značajne razlike, iako je najčešće bila prisutna kod bolesnika sa HCV posredovanom krioglobulinemijom (15.8%) (Tabela 10.4.3.1).

Kod 15.2% bolesnika sa EMC nadjena je proteinurija, značajno nižeg stepena ($p < 0.05$) od bolesnika sa neinfektivnim i HCV indukovanom krioglobulinemijom. Nijedan bolesnik sa EMC nije imao proteinuriju nefrotskog stepena, koja je kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama bila prisutna kod 4.5% i HCV indukovanom krioglobulinemijom kod 10.5% bolesnika (Tabela 10.4.3.1).

Tabela 10.4.3.2. Lezija nervnog sistema kod etiološki različitih krioglobulinemija

	Grupa, n (%)			Ukupno	P
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.		
Lezija nervnog sistema	12 (18.2)	30 (27.3)	9 (47.4)	51 (26.2)	*0.036
Polineuropatija	10 (15.2)	18 (16.4)	7 (30.8)	35 (17.9)	
Mononeuritis m	0	2 (1.8)	0	2 (1.0)	*0.042
Polineuropatija + mononeuritis	1 (1.5)	0	1 (5.3)	2 (1.0)	
CNS	1 (1.5)	10 (9.1)	1 (5.3)	12 (6.2)	

*Hi-kvadrat, $p < 0.05$

Bolesnici sa EMC imali su leziju nervnog sistema kod 18.2% bolesnika, koja se dominantno ispoljavala kao lezija perifernog nervnog sistema po tipu polineuropatije (10 od ukupno 12 bolesnika). Grupe su se međusobno razlikovale značajno ($p < 0.05$) prisustvu pojedinih lezija nervnog sistema. Polineuropatija je bila najčešća manifestacija lezije nervnog sistema u sve tri grupe bolesnika, najčešće kod bolesnika sa HCV (30.8%) (Tabela 10.4.3.2).

Teške lezije po tipu mononeuritis multiplex kao i leziju CNS imao je po jedan bolesnika sa EMC. CNS lezija je dominirala kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (9.1%) (Tabela 10.4.3.2)

10.5.Laboratorijski nalazi

Tabela 10.5.1.Količina krioglobulina, RF u krioprecipitatu, M komponenta u krioprecipitatu

	Grupe, n (%)				P
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.	Ukupno	
Krioglobulini semikvantitativno					
1+	19 (28.8)	33 (30.0)	0	52 (26.7)	*0.000
2+	31 (47.0)	49 (44.5)	4 (21.1)	84 (43.1)	
3+	11 (16.7)	20 (18.2)	3 (15.8)	34 (17.4)	
4+	5 (7.6)	8 (7.3)	12 (63.2)	25 (12.8)	
Krioglobulini (g/L)					
N	49	90	18	157	***0.000
\bar{X}	3.45	3.0	6.3 ^{b,c}	3.5	
SD	2.2	1.8	3.8	2.4	
Med	2.8	2.8	5.9	2.9	
IQR					
RF					

RF (kvalitativno)	14 (27.5)	29 (33.0)	8 (47.1)	51 (32.7)	0.327
1+	5 (9.8)	8 (9.1)	2 (11.8)	15 (9.6)	
2+	4 (7.8)	4 (4.5)	1 (5.9)	9 (3.8)	0.576
3+	5 (9.8)	17 (19.3)	5 (29.4)	27 (17.3)	
M komponenta					
	12 (25.0)	25 (26.3)	11 (57.9)	48 (29.6)	**0.016
IgMκ	2 (4.2)	6 (6.3)	6 (31.6)	14 (8.6)	
IgMλ	1 (2.1)	4 (4.2)	1 (5.3)	6 (3.7)	
IgGκ	1 (2.1)	8 (8.4)	0	9 (5.6)	*0.000
IgGλ	2 (4.2)	5 (5.3)	1 (5.3)	8 (4.9)	
IgAλ	0	0	2 (10.5)	2 (1.2)	
Mešovite (oligoklonske)	6 (12.7)	2 (2.1)	1 (5.3)	9 (5.6)	
Poliklonske	36 (75.0)	70 (73.7)	8 (42.1)	114 (70.4)	

*Hi-kvadrat, $p < 0.01$; **Hi-kvadrat, $p < 0.05$; Medjugrupno poređenje (^a1vs2 $p > 0.05$, ^b1vs3 $p < 0.01$, ^c2vs3 $p < 0.01$); ***ANOVA $p < 0.01$; ****Multiple komparacije (Bonferroni) ^a1vs2 $p > 0.05$, ^b1vs3 $p < 0.01$, ^c2vs3 $p < 0.01$

Najveći broj bolesnika sa EMC imalo je umerenu količinu krioprecipitata (47%) označenu kao 2+, i malu količinu 1+ (28.8%). Slično je bilo sa bolesnicima sa neinfektivnim krioglobulinemijama, što se statistički visoko značajno razlikovalo od bolesnika sa HCV indukovanom krioglobulinemijom koji su u dve trećine slučajeva imali izuzetno visoku količinu krioprecipitata označenu kao 4+ (63.2%) (Tabela 10.5.1). Kvantitativno određeni krioglobulini takodje pokazuju prosečno najveću vrednost kod bolesnika sa HCV 6.3 g/L, dok su bolesnici sa EMC i neinfektivnim krioglobulinemijama imali prosečnu vrednost oko 3 g/L (Tabela 10.5.1).

RF u krioprecipitatu bio je prisutan kod 27.5% bolesnika sa EMC, češće kod bolesnika sa HCV (47.1%), koji su ujedno imali i najveću količinu RF (3+), ali to nije bilo statistički značajno (Tabela 10.5.1).

M komponenta u krioprecipitatu je nadjena kod četvrtine bolesnika sa EMC, dok su bolesnici sa HCV, M komponentu imali u 57.9%, što je bilo statistički značajno ($p < 0.05$). Najčešći tip M komponente bio je IgMκ prisutan kod 8.6% bolesnika, najčešće u grupi HCV posredovanih krioglobulinemija (57.9%) (Tabela 10.5.1).

Tabela 10.5.2. Tip krioglobulinemije

Tip krioglobulinemije	Grupe, n (%)			Ukupno	P
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.		
Tip I	0	2 (2.1)	0	2 (1.2)	*0.026
Tip II	11 (22.9)	23 (24.2)	11 (57.9)	45 (27.8)	
Tip III	37 (77.1)	70 (73.7)	8 (42.1)	115 (71)	
Ukupno	48 (100)	95 (100)	19 (100)	162 (100)	

*Hi-kvadrat, $p < 0.05$; Medjugrupno poređenje (^a1vs2 $p > 0.05$, ^b1vs3 $p < 0.01$, ^c2vs3 $p < 0.05$)

Bolesnici sa EMC najčešće su imali III tip krioglobulinemije (77.1%), slično bolesnici sa neinfektivnim krioglobulinemijama (73.7%), dok su bolesnici sa HCV infekcijom imali češće prisutan II tip krioglobulinemije (57.9%), što bilo statistički značajno ($p < 0.05$) (Tabela 10.5.2).

Tabela 10.5.3. EF proteina seruma, RF u serumu, komplement, CIC, anti C1q

	Grupa, n (%)			Ukupno	P
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.		
EF proteina, serum	32 (51.6)	70 (64.8)	14 (73.7)	116 (61.4)	0.120
M komponenta					
IgM κ	6 (10.2)	5 (4.6)	6 (31.6)	17 (9.1)	*0.027
IgM λ	0	1 (0.9)	1 (5.3)	2 (1.1)	
IgG κ	2 (3.4)	4 (3.7)	0	6 (3.2)	
IgG λ	1 (1.7)	5 (4.6)	0	6 (3.2)	
Oligoklonske	3 (5.1)	5 (4.6)	1 (5.3)	9 (4.8)	
Poliklonske	47 (79.7)	88 (47.3)	11 (57.9)	146 (78.5)	
RF \uparrow	22 (40.0)	53 (51.5)	12 (66.7)	87 (49.4)	0.119
RF IU/mL					
N	60	105	18	183	
\bar{X}	85.1	114.0	112.0	104.3	
SD	293.7	361.6	126.4	323.0	0.855
Med	15.5	23.0	62.6	21.0	
Komplement \downarrow	23 (36.5) ^d	69 (63.3)	11 (57.9)	103 (53.9)	**0.003
C3 \downarrow	7 (11.1)	18 (16.5)	1 (5.3)	26 (13.6)	
C4 \downarrow	4 (6.3)	16 (14.7)	3 (15.8)	23 (12.0)	*0.033

	C3+C4↓	12 (19.0)	35 (32.1)	7 (36.8)	54 (28.3)	
C1q↓		7 (25.9)	7 (20.6)	3 (25.0)	17 (23.3)	0.877
C1 inh↓		11 (46.3)	11 (40.7)	4 (36.4)	26 (40.6)	
Imunski kompleksi↑		30 (54.5)	57 (57.0)	16 (88.9)	103 (59.5)	*0.026
Anti C1q ↑		18 (37.5)	39 (41.9)	2 (16.4)	59 (38.3)	0.181
Anti C1q U/mL						
N		48	93	13	154	
X̄		24.6	30.6	9.4	26.9	0.283
SD		40.3	51.7	13.3	46.4	
Med		7.1	8.1	5.3	7.2	

*Hi-kvadrat, $p < 0.05$; **Hi-kvadrat, $p < 0.001$; ANOVA; Medjugrupno poređenje (^a1vs2 $p > 0.05$, ^b1vs3 $p > 0.05$, ^c2vs3 $p < 0.01$, ^d1vs2 $p < 0.01$).

Izmenjena elektroforeza proteina seruma bila je prisutna kod više od polovine bolesnika u sve tri grupe, pri čemu se one nisu statistički značajno razlikovale. Najčešći oblik poremećaja EF bio je "sumnja na paraprotein" najviše zastupljen u grupi sa HCV indukovanom krioglobulinemijom (47.4%), a zatim "poliklonska hipergamaglobulinemija" koja je najčešće bila prisutna u grupi neinfektivnih krioglobulinemija (26.9%) (Tabela 10.5.3).

Povišen RF u serumu imalo je 40% bolesnika sa EMC, 51.5% bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama i 66.7% bolesnika sa HCV, bez statistički značajne razlike između grupa. Bolesnici sa neinfektivnim krioglobulinemijama i HCV indukovanom krioglobulinemijom imali su višu prosečnu vrednost RF u serumu u odnosu na bolesnike sa EMC, ali to nije bilo statistički značajno.

Oko trećine bolesnika sa EMC (36.5%) imalo sniženje koncentracije komponenti komplementa, što je bio statistički visoko značajno niže ($p < 0.01$) u odnosu na bolesnike sa HCV krioglobulinemijama (57.9%) i neinfektivnim krioglobulinemijama (63.3%), koje se međusobno nisu značajno razlikovale. Kod bolesnika sa HCV krioglobulinemijom i neinfektivnim krioglobulinemijama bilo je značajno sniženje i C4 i C3/C4 komponentne komplementa u odnosu na bolesnike sa EMC. Sniženje C3 je značajno kod bolesnika sa neinfektivnom krioglobulinemijama i EMC, odnosno nadjeno je samo kod jednog bolesnika sa HCV indukovanom krioglobulinemijom ($p < 0.05$) (Tabela 10.5.3).

Sniženje Cq bilo je prisutno u oko četvrtine bolesnika iz sve ti grupe (23.3%), a koncentracije C1 inhibitora kod 40.6%, a grupe se nisu značajno razlikovale po učestalosti (Tabela 10.5.3).

Povišene vrednosti imunskih kompleksa imala je većina bolesnika sa HCV posredovanom krioglobulinemijom (88.9%), dok je kod ostale dve grupe bio registrovan kod oko polovine bolesnika (54.5% i 57%), što je bilo statistički značajno ($p < 0.05$) (Tabela 10.5.3).

Povišena koncentracija anti-C1q antitela nadjena je u sve tri grupe bolesnika, najviše kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (41.9%), ali se grupe nisu statistički značajno razlikovale. Prosečna vrednost bila je najviša takodje kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama 30,6 U/ml, ali to takodje nije bilo statistički značajno (Tabela 10.5.3).

Tabela 10.5.4. Prisustvo autoantitela (ANA, anti dsDNK, SSA/SSB)

	Grupa, n (%)				p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.	Ukupno	
ANA	16 (24.2) ^b	94 (85.5) ^{a,c}	5 (26.3)	115 (59.0)	*0.000
Anti dsDNK	0	25 (38.5)	0	25 (29.1)	*0.003
SSA/SSB	1 (2.2) ^a	56 (52.3)	1 (10.0) ^d	58 (35.6)	*0.000

*Hi-kvadrat, statistička značajnost $p < 0.001$; Medjugrupno poredjenje (^a1vs2 $p < 0.01$, ^b1vs3 $p > 0.05$, ^c2vs3 $p < 0.01$, ^d2vs3 $p < 0.05$)

U prisustvu autoantitela (ANA, anti dsDNK i SSA/SSB) postojala je statistički visoko značajna razlika izmedju tri grupe bolesnika, bolesnici sa neinfektivnim krioglobulinemijama imali su najčešće prisutna autoantitela. ANA su bila prisutna i kod bolesnika sa EMC (24.2%) i HCV indukovanom krioglobulinemijom (26.3%), u sličnoj meri (Tabela 10.5.4).

Tabela 10.5.5. Markeri inflamacije (SE > 50/, CRP, fibrinogen)

Markeri inflamacije	Grupe, n (%)			Ukupno	p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.		
SE > 50/	11 (16.7) ^b	39 (35.5) ^d	3 (15.8)	53 (27.2)	*0.013
CRP ↑	19 (31.1)	44 (41.5)	5 (27.8)	68 (36.8)	0.289
Fibrinogen ↑	25 (39.1)	63 (57.8) ^{a,c}	5 (27.8)	93 (48.7)	*0.010

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.05$; Medjugrupno poredjenje (^a1vs2 $p < 0.05$, ^b1vs3 $p > 0.05$, ^c2vs3 $p < 0.05$, ^d1vs2 $p < 0.001$)

Oko četvrtina bolesnika (27.2%) imalo je ubrzanu SE, najčešće u grupi sa neinfektivnim krioglobulinemijama (35.5%), što je bilo značajno ($p < 0.05$) dok se druge dve grupe nisu međusobno razlikovale u prisustvu ubrzanu sedimentacije (Tabela 10.5.5).

Povišena koncentracija CRP, najčešće su utvrđene u grupi neinfektivnih krioglobulinemija, ali to nije bilo statistički značajno (Tabela 10.5.5).

Povišena vrednost fibrinogena takodje je nadjena najčešće kod bolesnika u grupi bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (57.8%) i to je bilo statistički značajno, $p < 0.001$, u odnosu na grupu bolesnika sa EMC i HCV indukovanom krioglobulinemijom (Tabela 10.5.5).

Tabela 10.5.6. Anemija, leukopenija, trombocitopenija, patološki hepatogram

Tip krioglobulinemije	Grupa, n (%)			Ukupno	p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.		
Anemija	6 (9.1) ^{a,b}	25 (22.7) ^c	8 (42.1)	39 (20)	*0.004
Leukopenija	5 (7.6) ^{d,b}	42 (38.2)	3 (15.8)	50 (25.6)	*0.000
Trombocitopenija	1 (1.5) ^{d,b}	10 (9.1)	8 (42.1)	19 (9.7)	*0.000
Hepatogram ↑	10 (15.2)	14 (12.7)	14 (73.7) ^{b,c}	38 (19.5)	*0.000

*Hi-kvadrat, $p < 0.01$; Medjugrupno poredjenje (^a1vs2 $p < 0.05$, ^b1vs3 $p < 0.01$, ^c2vs3 $p > 0.05$, ^d1vs2 $p < 0.01$, ^e2vs3 $p < 0.01$)

Bolesnici sa EMC su u malom procentu imali citopenije, koje su najizraženije bile u grupi bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama, a trombocitopenija u grupi bolesnika sa HCV. Razlika je bila statistički visoko značajna, $p < 0,01$ (Tabela 10.5.6).

Tabela 10.5.7. Vrednosti citokina B limfocitnog stimulatora (BLyS) (kvalitativno i kvantitativno)

	Grupa, n (%)				Zdrave kontrole	p
	EMC	Neinfektivne krioglobulinemije	HCV krioglobulinemije	Ukupno		
BLyS[↑]	10(25.6)	12 (34.3)	7 (63.6)	29 (34.1)		0.064
BLyS pg/mL						
N	39	35	11	85	11	
\bar{X}	1199.0	1254.0	1279.0	1232.0	948.9	
SD	815.1	883.5	452.7	801.2	105.8	0.688
Med	956	1018	1234	1021	1014	

*Hi-kvadrat, statistička značajnost $p < 0.05$; **ANOVA, statistička značajnost $p < 0.05$

Oko četvrtina bolesnika sa EMC (25.6%) imalo je povišenu vrednost BLyS, kao i trećina (34.3%) bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama. Najčešće su bolesnici sa HCV indukovanom krioglobulinemijom (63.6%) imali povišenu vrednost BLyS, ali nije postojala statistički značajna razlika između ispitivanih grupa (Tabela 10.5.7).

Prosečna vrednost BLyS u sve tri grupe ispitanika bila je iznad gornje referentne vrednosti (1186 pg/mL). Prosečna vrednost BLyS bila je najviša kod bolesnika sa HCV posredovanom krioglobulinemijom, 1279.0 pg/mL, ali se nije statistički značajno razlikovala od prosečne količine BLyS u druge dve grupe bolesnika, kao ni od zdravih kontrola ($p > 0.05$) (Tabela 10.5.7).

10.6. Indeks aktivnosti vaskulitisa, BVAS (Birmingham vasculitis activity score) i Indeks proširenosti vaskulitisa, DEI (Disease Extent Index)

Tabela 10.6.1. BVAS1 i DEI1 na početku ispitivanja

	Grupa			Ukupno	p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.		
BVAS1					
N	34	38	17	89	0.212
\bar{X}	9.0	10.9	12.5	10.5	
SD	6.2	7.8	6.3	7.0	
Med	7.0	8.5	12.0	9.0	
DEI1					
N	34	38	17	89	0.091
\bar{X}	5.5	6.6	6.4	6.2	
SD	2.2	2.4	1.7	2.2	
Med	5.0	7.0	7.0	7.0	

*ANOVA, statistički značajna razlika $p < 0.05$

Bolesnici sa EMC imali su prosečan BVAS (Birmingham vasculitis activity score) 9.0 što se nije statistički značajno razlikovalo od bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama i HCV indukovanom krioglobulinemijom koji su imali najvišu prosečnu vrednost BVAS (12.5) (Tabela 10.6.1).

Proširenost vaskulitisa određen sa DEI (Disease Extent Index) kod bolesnika sa EMC bio je 5.5 i nije se statistički značajno razlikovao od druge dve grupe bolesnika (Tabela 10.6.1).

Tabela 10.6.2. BVAS2 i DEI2 na kraju praćenja

	Grupa			Ukupno	p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.		
BVAS2					
N	31	34	13	78	*0.000
\bar{X}	6.2	5.2	13 ^{b,c}	6.9	
SD	5.0	4.5	5.6	5.6	
Med	6.0	4.0	11.0	6.0	
DEI2					
N	31	34	13	78	*0.001
\bar{X}	4.2	3.9	6.8 ^{b,c}	4.5	
SD	2.5	2.4	1.6	2.5	
Med	4.0	4.5	7.0	5.0	

*ANOVA, statistički značajna razlika $p < 0.01$; Medjugrupno poredjenje (Bonferonni test) ^a1vs2 $p > 0.05$, ^b1vs3 $p < 0.01$, ^c2vs3 $p < 0.01$

Prosečna vrednost BVAS 2 na kraju perioda praćenja kod bolesnika sa EMC bio je 6.2, nešto niži kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama, dok je kod bolesnika sa HCV indukovanom

krioglobulinemijom bio visok (13.2) što je statistički visoko značajna razlika ($p < 0.01$) (Tabela 10.6.2).

Prosečna vrednost DEI 2 na kraju praćenja kod bolesnika sa EMC bio je 4.2, kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama 3.9, dok je kod bolesnika sa HCV indukovanom krioglobulinemijom bio 6.8 što je statistički značajna razlika ($p < 0.01$). Najvišu prosečnu vrednost i BVAS i DEI na kraju perioda praćenja imali su bolesnici sa HCV indukovanom krioglobulinemijom (Tabela 10.6.2).

10.6.3. Odnos BVAS1/DEI1 prema BVAS2/DEI2

Na kraju perioda praćenja zapažen je značajan pad ($p < 0.01$), indeksa aktivnosti vaskulitisa BVAS. Pri tome, između bolesnika sa EMC i neinfektivnim krioglobulinemijama nije postojala značajna razlika u padu BVAS, dok je ta razlika bila značajna, $p < 0.01$, u odnosu na grupu sa HCV indukovanom krioglobulinemijom, koji su zadržali najvišu prosečnu vrednost BVAS (Grafikon 3).

Grafikon 3. Pad prosečne vrednosti BVAS na kraju praćenja (BVAS1 vs BVAS 2)



* $p < 0.013$

* ANOVA sa ponavljanim merenjima, $p < 0.05$;

Medjugrupno poredjenje (Bonferonni test): 1vs2 $p > 0.01$ 1vs3 $p < 0.01$, 2vs3 $p < 0.01$

Grafikon 4. Pad prosečne vrednosti DEI na kraju praćenja (DEI 1 vs DEI 2)

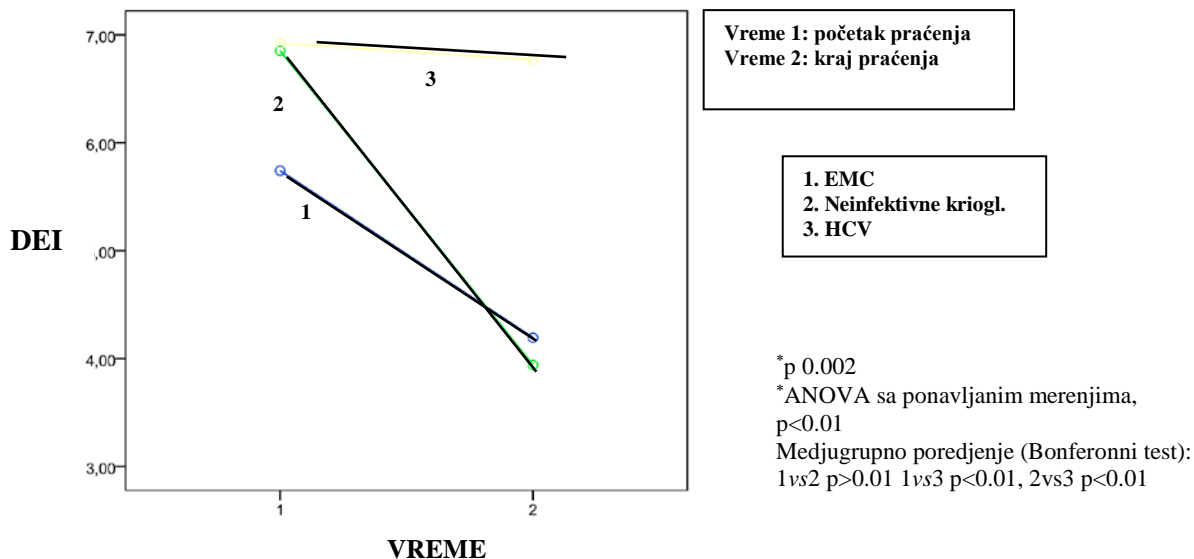


Tabela 10.7. Relaps, broj relapsa, tip relapsa CV, nove manifestacije CV, druge bolesti tokom praćenja

	Grupa, n (%)			Ukupno	p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.		
Relaps	27 (79.4) ^b	20 (52.6) ^{a,c}	13 (76.5)	60(67.4)	*0.036
Broj relapsa					
<3	8 (23.5)	3 (7.9)	0	11 (12.4)	
3-5	11 (32.4)	11 (28.9)	2 (11.8)	24 (27.0)	**0.001
>5	8(23.5)	6 (15.8)	11 (64.7)	25 (28.1)	
Tip relapsa					
Purpura	22 (78.6)	17 (85.0)	8 (61.5)	47 (77.0)	
Bubrežna lezija	3 (10.7)	2 (10.0)	3 (23.1)	8 (13.1)	0.424
Nove manifestacije CV	4 (12.1)	5 (13.2)	3 (18.8)	12 (13.8)	0.810
Purpura	0	0	1 (6.3)	1 (1.1)	
Ulkusi kože	0	1 (2.6)	0	1 (1.1)	
Polineuropatija	1 (3.0)	1 (2.6)	0	2 (2.3)	0.714
Bubrežna lezija	1 (3.0)	25.3)	1 (6.3)	4 (4.6)	
Druge visceralne	2 (6.1)	1 (2.6)	1 (6.3)	4 (4.6)	

Druge bolesti	8 (16.0)	8 (8.2)	1 (7.7)	17 (10.6)	0.320
Limfoproliferativne	0	2(2.0)	0	2 (1.2)	
Autoimunske	2 (4.0)	2 (2.0)	1 (7.7)	5 (3.1)	0.378
Maligne	5 (0.0)	2 (2.0)	0	7 (4.3)	
Vaskulitis	1 (2.0)	2 (1.0)	0	3 (1.9)	

*Hi kvadrat, statistička značajnost $p < 0.05$; **Hi-kvadrat, statistička značajnost $p < 0.01$; Medjugrupno poređenje (^a1vs2 $p < 0.05$, ^b1vs3 $p > 0.05$, ^c2vs3 $p > 0.05$)

Pojava relapsa bila je češća u grupi bolesnika sa EMC (79.4%) i HCV indukovanom krioglobulinemijom (7.5%) u odnosu na neinfektivne krioglobulinemije (52.6%) i to je bilo statistički značajno, $p < 0.05$ (Tabela 10.7).

Broj relapsa se statistički visoko značajno razlikovao, bolesnici sa HCV su imali najčešće relapse (>5 puta) 64.7%. Bolesnici sa EMC su najčešće relapse imali 3-5 puta (32.4%), dok su relapse više od pet puta imali u 23.5% slučajeva (Tabela 10.7).

Najčešći tip relapsa bio je purpura u 77% slučajeva, po čemu se grupe nisu značajno razlikovale, kao ni po pojavi bubrežne lezije koja je bila najčešća kod bolesnika sa HCV indukovanom krioglobulinemijom (Tabela 10.7).

Pojava novih manifestacija CV bila je češća kod bolesnika sa HCV (18.8%), ali se nije značajno razlikovala od ostalih grupa, kao ni pojava novih bolesti (limfoproliferativne, druge maligne i autoimunske bolesti, vaskulitis kod bolesnika koji ga ranije nisu imali) (Tabela 10.7).

Tabela 10.8. Remisija klinička, remisija laboratorijska, smrtni ishod, uzrok smrti

	Grupe n (%)				p
	EMC	Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.	Ukupno	
Remisija klinička	26 (83.9) ^{a,b}	30 (88.2) ^c	6 (46.2)	62 (79.5)	*0.004
parcijalna	18 (58.1)	12 (35.3)	6 (46.2)	36 (46.29)	*0.001
kompletna	8 (25.8)	18 (52.9)	0	26 (33.3)	
Remisija laboratorijska	18 (58.1)	22 (64.7) ^d	3 (23.1)	43 (55.1)	**0.034
parcijalna	12 (38.7)	9 (26.5)	3 (23.1)	24 (30.8)	**0.027
kompletna	6 (19.4)	13 (38.2)	0	19 (24.4)	
Smrtni ishod	1 (1.5) ^e	8 (7.3) ^d	5 (26.3)	14 (7.2)	*0.001
Smrtni ishod uzrok		Grupa (n)			
Nepoznat	0	2	0	2	
Komplikacije CV	0	0	3	3	
Infekcije	1	2	1	4	
Insuficijencije jetre	0	0	1	1	
Drugo	0	4	0	4	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.01$; **Hi-kvadrat-statistički značajna razlika $p < 0.05$; Medjugrupno poredjenje (^a1vs2 $p > 0.05$, ^b1vs3 $p < 0.05$, ^c2vs3 $p < 0.01$, ^d2vs3 $p < 0.05$, ^e1vs3 $p < 0.01$)

Klinička remisija postignuta je statistički značajno češće, $p < 0.01$, kod bolesnika sa EMC (83.9%) i neinfektivnim krioglobulinemijama (88.2%) u odnosu na bolesnike sa HCV indukovanom krioglobulinemijom (46.2%) (Tabela 10.8).

Laboratorijska remisija takodje je češće, $p < 0.05$, bila postignuta kod bolesnika sa EMC i neinfektivnim krioglobulinemijama (Tabela 10.8).

Smrtni ishod je značajno češći kod bolesnika sa HCV indukovanom krioglobulinemijom u odnosu na EMC i neinfektivne krioglobulinemije (26.3% vs 1.5% i 7.3%) (Tabela 10.8).

Tabela 10.9. Količina krioglobulina na kraju praćenja

	EMC	Grupe, n (%) Neinfektivne krioglob.	HCV krioglob.	Ukupno	p
Krioglobulin poz.	33 (43.1)	57 (55.3)	16 (88.9)	106 (59.2)	*0.026
Količina krio.					
Negativan	25 (43.1)	46 (44.7)	2 (11.1)	73 (40.8)	0.202
Nepromenjen	17 (29.3)	34 (33.0)	8 (44.4)	59 (33.0)	
Smanjen	13 (22.4)	20 (19.4)	7 (38.9)	40 (22.3)	
Povećan	3 (1.7)	3 (1.7)	1 (0.6)	7 (3.9)	

*Hi-kvadrat, statistički značajna razlika $p < 0.05$

Na kraju praćenja krioglobulini postaju negativni kod 40.8% bolesnika. Pri tome, bolesnici iz grupe HCV posredovane krioglobulinemije, iako su imali smanjenje koncentracije ili gubitak krioglobulina kod oko 50% bolesnika, u 88.9% slučajeva zadržavaju prisutnu krioglobulinemiju, što je bilo statistički značajno ($p < 0.05$), u odnosu na druge dve grupe bolesnika (Tabela 10.9).

11. Logistička regresiona analiza u odnosu na posmatrane ishode i analizu faktora razlike izmedju ispitanika sa različitom kliničkom slikom (CV0, CV1,CV2) i etiologijom (EMC, neinfektivne i HCV krioglobulinemije)

Logističkom regresionom analizom izdvajani su **prediktori pojave** sledećih posmatranih ishoda u grupi naših bolesnika: **kliničke i laboratorijske remisije, relapsa vaskulitisa, pojave drugih bolesti i pojave novih manifestacija CV**. Ovom vrstom analize izdvajani su i **prediktori razlike** u pojavi manifestacija bolesti između ispitanika sa i bez vaskulitisa, kao i ispitanika sa lakim i teškim oblikom vaskulitisa (CV0 vs CV1; CV0 vs CV2). Takođe, izdvajani su prediktori razlike u pojavi manifestacija bolesti između ispitanika sa različitom etiologijom bolesti: EMC, neinfektivne i HCV krioglobulinemija (EMC vs neinfektivne krioglobulinemije; EMC vs HCV krioglobulinemija).

Cilj ove analize je bio da se definišu parametri razlika između ispitanika sa različitom težinom kliničke slike vaskulitisa i etiologijom bolesti u odnosu na ishode (postizanje kliničke i laboratorijske remisije, relapsa vaskulitisa, pojave drugih bolesti tokom praćenja i

pojave novih manifestacija CV), odnosno da se definišu faktori koji bi mogli da ukažu zbog čega neki bolesnici sa krioglobulinemijom imaju kliničke manifestacije, a neki ne, što bi moglo da bude od pomoći u sagledavanju mogućih komplikacija i planiranju terapijskog pristupa.

11.1. Prediktori razlike u odnosu na pojavu novih manifestacija CV

Tabela 11.1.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava novih manifestacija CV

Posmatrani faktori	Bez pojave novih manifestacija CV vs pojava novih manifestacija CV	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa (CV0,CV1,CV2)	1.600 (0.481-5.324)	p = 0,444
Grupa etiologija		
EMC	/	p = 0,812
Neinfektivne k.	1.098 (0.269-4.482)	p = 0,896
HCV k.	1.673 (0.327-8.570)	p = 0,537
Starost	0.962 (0.918-1.007)	p = 0,093
Trajanje bolesti	3.437 (0.712-16.592)	p = 0,124
Pol	0.000 (0.000-/-)	p = 0,998
Livedo	1.406 (0.417-4.746)	p = 0,583
Zglobne manifestacije	1.100 (0.218-5.559)	p = 0,908
Malaksalost	0.606 (0.145-2.531)	p = 0,492
Bubrežna lezija	1.116 (0.333-3.740)	p = 0,859
Sediment urina	0.889 (0.250-3.160)	p = 0,856
Proteinurija	2.182 (0.659-7.220)	p = 0,201

Lezija GIT-a	1.542 (0.159-14.991)	p = 0,709
Rasprostranjen vaskulitis	0.764 (0.153-3.814)	p = 0,742
1+	/	p = 0,581
Krioglobulini	2.844 (0.318-25.466)	p = 0,350
semikvantit.	3+ 0.867 (0.049-15.279)	p = 0,922
4+	2.889 (0.288-28.944)	p = 0,367
Krioglobulin g/L	1.055 (0.856-1.300)	p = 0,614
RF krio	0.913 (0.248-3.362)	p = 0,891
M komp. u krioglob.	0.917 (0.250-3.361)	p = 0,896
Patološka EF proteina seruma	2.212 (0.448-10.905)	p = 0,330
RF (serum)	0.827 (0.246-2.774)	p = 0,758
Komplement (snižen)	4.033 (0.837-19.429)	p = 0,082
Anti-C1q (povišen)	6.571 (1.613-26.779)	p = 0.009*
Anti SSA/SSB anitela	1.196 (0.326-4.391)	p = 0,788
BVAS	0.998 (0.916-1.087)	p = 0,955
DEI	1.003 (0.770-1.306)	p = 0,985

*statistički značajno

Tabela 11.1.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava novih manifestacija CV u odnosu na grupe CV0, CV1, CV2

Posmatrani faktori	Bez pojave drugih oboljenja vs pojava novih manifestacija	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa CV0, CV1, CV2	0.636 (0.145-2.786)	p = 0.548
Starost	0.978 (0.930-1.028)	p = 0.379
Komplement (snižen)	3.152 (0.538-18.485)	p = 0.203
Anti C1q	5.456 (1.265-23.620)	p = 0.023*

*statistički značajno

Tabela 11.1.3. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava novih manifestacija CV u odnosu na etiologiju CV

Posmatrani faktori	Bez pojave drugih oboljenja vs pojava novih manifestacija	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost

	EMC	/	p = 0.095
Grupa	Neinfektivne	0.475 (0.077-2.923)	p = 0.422
	HCV	9.138 (0.765-109.083)	p = 0.080
Starost		0.968 (0.913-1.025)	p = 0.265
Komplement (snižen)		3.706 (0.490-28.029)	p = 0.204
Anti C1q		23.525 (2.214-249.992)	p = 0.009*

*statistički značajno

Univarijantnom logističkom regresionom analizom izdvajani su faktori razlike između ispitanika sa krioglobulinemijom posmatrano u odnosu na pojavu novih manifestacija krioglobulinemijskog vaskulitisa. Kao statistički značajan izdvojila su se samo anti-C1q antitela (Tabela 11.1).

U multivarijantni model, posmatrano u odnosu na grupe sa različitim manifestacijama krioglobulinemije i različitom etiologijom, ušli su sledeći faktori: starost (na nivou značajnosti $p < 0.1$), sniženje komplementa (nivo značajnosti $p < 0.1$) i prisustvo povišenih anti C1q antitela. Multivarijantnom logističkom regresijom kao prediktori pojave novih manifestacija CV izdvojila su se antiC1q antitela i u grupama prema različitim manifestacijama krioglobulinemije (CV0,CV1,CV2) OR 5.456 (CI 95%) (Tabela 11.1.2) i etiologijom (EMC, neinfektivne, HCV krioglobulinemija) OR 23.525 (CI 95%) (Tabela 11.1.3).

11.2. Prediktori razlike u odnosu na pojavu drugih oboljenja tokom praćenja

Tabela 11.2.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava drugih oboljenja tokom praćenja

Posmatrani faktori	Bez pojave drugih oboljenja vs pojava drugih oboljenja		
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost	
Grupa (CV0, CV1, CV2)	0.835 (0.465-1.500)	p = 0.546	
Grupa etiologija	EMC	/	
	Neinfektivne k.	0.467 (0.164-1.328)	p = 0.333
	HCV k.	0.438 (0.050-3.853)	p = 0.153
Starost	1.991 (0.955-1.029)	p = 0.456	
Trajanje bolesti	2.192 (0.688-6.990)	p = 0.638	
Pol	0.436 (0.095- 1.992)	p = 0.185	
Livedo	0.362 (0.079-1.647)	p = 0.284	
Zglobne manifestacije	0.677 (0.205-2.236)	p = 0.189	

Bubrežna lezija	0.369 (0.102- 1.334)	p = 0.129
Sediment urina	0.286 (0.063-1.297)	p = 0.105
Proteinurija	0.123 (0.016-0.948)	p = 0.044*
Lezija GIT-a	0.000 (0.000- /)	p = 0.999
Rasprostranjeni CV	1.108 (0.232-5.295)	p = 0.897
Malaksalost	0.351 (0.125-0.987)	p = 0.047*
1+	/	p = 0.878
Krioglobulini	0.911 (0.278-2.988)	p = 0.877
semikvant.	0.548 (0.099-3.040)	p = 0.492
3+	1.168 (0.252-5.420)	p = 0.842
4+	0.981 (0.756-1.273)	p = 0.886
Krioglobulin g/L	0.635 (0.163-2.471)	p = 0.512
RF u krioglobulinu	0.935 (0.279-3.133)	p = 0.913
M komp. u krioglobulinu	2.864 (0.787-10.425)	p = 0.111
Patološka EF proteina seruma	1.821 (0.666-4.978)	p = 0.243
RF (serum)	0.558 (0.208-1.497)	p = 0.247
Komplement (snižen)	0.376 (0.100-1.413)	p = 0.147
Anti C1q antitela	0.883 (0.269-2.584)	p = 0.752
Anti SSAi/ili SSB	0.995 (0.900-1.101)	p = 0.927
BVAS	1.279 (0.940-1.740)	p = 0.118
DEI		

* statistički značajno

Tabela 11.2.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava drugih oboljenja tokom praćenja

Posmatrani faktori	Bez pojave drugih oboljenjavs pojava drugih oboljenja	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Proteinurija	0.094 (0.007-1.285)	p = 0.076
Malaksalost	0.377 (0.129-1.103)	p = 0.075

* statistički značajno

Logističkom regresionom analizom izdvajani su faktori razlike između ispitanika sa i bez pojave drugih oboljenja tokom perioda praćenja.

Univarijantnom regresionom analizom kao statistički značajni se se izdvojili: proteinurija i prisustvo malaksalosti (Tabela 11.2.1).

Multivarijantnom logističkom regresijom kao prediktori pojave drugih oboljenja nije se izdvojio ni jedan od posmatranih faktora. Multivarijantni model posmatranih faktora urađen je i u odnosu na grupe sa različiti kliničkim manifestacijama (CV0, CV1, CV2) i grupe sa različitim etiologijom bolesti i ni u jednom od urađenih modela nije izdvojen prediktor pojave analiziranog ishoda, odnosno pojave drugih oboljenja tokom praćenja bolesnika sa krioglobulinemijom (Tabela 11.2.2.).

11.3.Prediktori razlike u odnosu na pojavu kliničke remisije

Tabela 11.3.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava kliničke remisije

Posmatrani faktori	Bez pojave kliničke remisije vs pojava kliničke remisije	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa (CV0, CV1, CV2)	1.560 (0.545-4.465)	p = 0.407
Grupa etiologija		p = 0.011*
EMC	/	
Neinfektivne	1.442 (0.350-5.942)	p = 0.612
HCV	0.165 (0.039-0.703)	p = 0.015*
Starost	0.987 (0.946-1.030)	p = 0.543
Trajanje bolesti	0.292 (0.077- 1.112)	p = 0.071
Pol	2.667 (0.552-12.883)	p = 0.222
Livedo	0.767 (0.260- 2.264)	p = 0.632
Zglobne manifestacije	0.318 (0.038- 2.664)	p = 0.291
Bubrežna lezija	1.368 (0.456- 4.109)	p = 0.576
Sediment	1.560 (0.495- 4.921)	p = 0.448

Proteinurija		1.048 (0.346- 3.171)	p = 0.934
Lezija GIT-a		1.133 (0.119-10.823)	p = 0.913
Rasprostranjeni CV		0.600 (0.179- 2.007)	p = 0.407
Malaksalost		0.602 (0.121- 3.004)	p = 0.536
	1+	/	p = 0.578
Krioglobulini	2+	0.260 (0.029- 2.327)	p = 0.229
semikvant.	3+	0.333 (0.030- 3.676)	p = 0.370
	4+	0.208 (0.022- 1.975)	p = 0.172
Krioglobulin g/L		0.862 (0.716- 1.038)	p = 0.117
RF (krioglobulin)		0.571 (0.179- 1.826)	p = 0.345
Imunofiksacija krio T		0.811 (0.255- 2.582)	p = 0.723
Patološka EF proteina (serum)		1.264 (0.384- 4.164)	p = 0.700
RF (serum)		1.412 (0.465- 4.286)	p = 0.543
Komplement (snižen)		0.641 (0.203- 2.022)	p = 0.448
Anti C1q antitela		1.150 (0.342- 3.864)	p = 0.821
Anti SSAi/ili SSB		1.067 (0.305- 3.732)	p = 0.920
BVAS		0.992 (0.920- 1.069)	p = 0.833
DEI		0.925 (0.731- 1.170)	p = 0.515

*statistički značajno

U univarijantnom logističkom regresionom modelu izdvajani su faktori razlike između ispitanika sa krioglobulinemijom posmatrano u odnosu na pojavu kliničke remisije. Kao statistički značajna izdvojila se samo razlika u odnosu na etiologiju bolesti. Klinička remisija češće je viđena kod ispitanika sa EMC, dok je kod ispitanika sa HCV pojava kliničke remisije bila pet puta ređa nego kod ispitanika sa EMC OR 0.165 (CI 0.039 - 0.703) (Tabela 11.3.1).

Tabela 11.3.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava kliničke remisije u odnosu na kliničku sliku (prisustvo i težinu CV)

Posmatrani faktori	Bez pojave kliničke remisije vs pojava kliničke remisije	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa CV0, CV1, CV2	1.354 (0.460-3.984)	p = 0.583
Trajanje bolesti	0.306 (0.080- 1.176)	p = 0.085

*statistički značajno

U multivarijantnom modelu posmatrano u odnosu na grupe sa različitim manifestacijama krioglobulinemije (CV0, CV1, CV2) i etiološkim faktorom, ušlo je i trajanje bolesti (na nivou značajnosti $p < 0,1$).

Multivarijantnom logističkom regresijom kao prediktor pojave kliničke remisije nije se izdvojio ni jedan faktor, kao faktor sa nezavisnim uticajem u kombinaciji sa grupama CV0, CV1, CV2 (Tabela 11.3.2).

Tabela 11.3.3. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava kliničke remisije u odnosu na etiologiju krioglobulinemije

Posmatrani faktori		Bez pojave drugih oboljenja vs pojava kliničke remisije	
		ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa etiologija	EMC	/	p = 0.029*
	Neinfektivne	1.455 (0.350-6.040)	p = 0.606
	HCV	0.199 (0.044-0.889)	p = 0.035*
Trajanje bolesti		0.306 (0.080- 1.176)	p = 0.382

*statistički značajno

U kombinaciji sa grupama u odnosu na etiologiju bolesti i dalje se kao faktor rizika ispoljila etiologija krioglobulinemije (Tabela 11.3.3). Naime, ispitanici sa infektivnom (HCV) krioglobulinemijom su sa prognostički lošijom verovatnoćom za pojavu kliničke remisije, odnosno pod većim su rizikom da ne dodje do kliničke remisije OR 0.199 (CI 95%).

11.4. Prediktori razlike u odnosu na pojavu laboratorijske remisije

Tabela 11.4.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava laboratorijske remisije

Posmatrani faktori	Bez pojave laboratorijske remisije vs pojava laboratorijske remisije		
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost	
Grupa CV0, CV1,CV2	1.717 (0.707-4.172)	p = 0.233	
Grupa etiologija	EMC	/	p = 0.052
	Neinfektivne	1.324 (0.486-3.606)	p = 0.583
	HCV	0.217 (0.050-0.946)	p = 0.042*
Starost	0.960 (0.924-0.997)	p = 0.035*	
Trajanje bolesti	0.791 (0.317- 1.974)	p = 0.615	
Pol	0.584 (0.204-1.675)	p = 0.317	

Livedo		1.435 (0.568- 3.628)	p = 0.445
Zglobne manifestacije		0.658 (0.177- 2.449)	p = 0.532
Bubrežna lezija		1.667 (0.674- 4.121)	p = 0.269
Sediment urina		1.973 (0.774- 5.032)	p = 0.155
Proteinurija		2.274 (0.874- 5.914)	p = 0.092*
Lezija GIT-a		1.250 (0.198-7.907)	p = 0.813
Rasprostranjeni CV		0.497 (0.168- 1.471)	p = 0.207
Malaksalost		1.517 (0.462- 4.984)	p = 0.493
	1+	/	p = 0.308
Krioglobulini	2+	0.603 (0.154- 2.362)	p = 0.468
semikvant.	3+	0.667 (0.139- 3.194)	p = 0.612
	4+	0.274 (0.063- 1.190)	p = 0.084*
Krioglobulin g/L		0.862 (0.715- 1.039)	p = 0.120
RF (krioglobulin)		0.477 (0.175- 1.301)	p = 0.148
M komp. (krioglobulin)		0.734 (0.271- 1.985)	p = 0.542
Patološka EF proteina (serum)		0.805 (0.283- 2.288)	p = 0.684
RF (serum)		2.381 (0.916- 6.190)	p = 0.075
Komplement (snižen)		0.635 (0.252- 1.598)	p = 0.334
Anti C1q antitela		1.847 (0.689- 4.951)	p = 0.222
Anti SSAi/ili SSB antitela		0.830 (0.298- 2.309)	p = 0.721
BVAS		1.024 (0.960- 1.091)	p = 0.478
DEI		1.005 (0.826- 1.224)	p = 0.957
SLEDAI		1.177 (0.919- 1.507)	p = 0.198

*statistički značajno

Logističkom regresionom analizom izdvojeni su faktori razlike između ispitanika sa i bez pojave laboratorijske remisije.

Univarijantnom regresionom analizom kao statistički značajni izdvojili su se: starost, proteinurija, količina krioglobulina semikvantitativno, kao i RF u serumu (Tabela 11.4.1).

Tabela 11.4.2. Multiivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava laboratorijske remisije

Posmatrani faktori	Bez pojave laboratorijske remisije vs pojava laboratorijske remisije	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Starost	0.971 (0.926-1.018)	p = 0.221
Proteinurija	2.268 (0.761- 6.761)	p = 0.142

	1+	/	p = 0.834
Krioglobulini semikvant.	2+	0.720 (0.131- 3.948)	p = 0.705
	3+	0.572 (0.089- 3.684)	p = 0.557
	4+	0.470 (0.082- 2.693)	p = 0.397
RF (serum)		2.023 (0.725- 5.649)	p = 0.179

*statistički značajno

Tabela 11.4.3. Multivarijantna regresiona analiza posmatranih faktora i pojava laboratorijske remisije u odnosu na grupe CV0, CV1, CV2

Posmatrani faktori	Bez pojave laboratorijske remisije vs pojava laboratorijske remisije		
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost	
Grupa CV0, CV1, CV2	1.450 (0.482-4.360)	p = 0.508	
Starost	0.972 (0.926-1.019)	p = 0.236	
Proteinurija	1.954 (0.603- 6.333)	p = 0.264	
	1+	/	p = 0.852
Krioglobulin ssemikv.	2+	0.780 (0.139- 4.365)	p = 0.777
	3+	0.648 (0.096- 4.373)	p = 0.656
	4+	0.493 (0.086- 2.839)	p = 0.428
RF (serum)	2.011 (0.719- 5.625)	p = 0.183	

*statistički značajno

Tabela 11.4.4. Multivarijanta logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava laboratorijske remisije u odnosu na grupe prema etiologiji

Posmatrani faktori	Bez pojave laboratorijske remisije vs pojava laboratorijske remisije		
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost	
Grupa etiologija	0.719 (0.327-1.580)	p = 0.411	
Starost	0.977 (0.931-1.025)	p = 0.340	
Proteinurija	2.532 (0.813- 7.887)	p = 0.109	
	1+	/	p = 0.790
Krioglobulin i semikvant.	2+	0.859 (0.152- 4.861)	p = 0.863
	3+	0.583 (0.089- 3.835)	p = 0.575
	4+	0.467 (0.076- 2.890)	p = 0.413

RF (serum)	2.245 (0.734- 6.863)	p = 0.156
-------------------	----------------------	-----------

*statistički značajno

Multivarijantnom logističkom regresijom prediktora pojave laboratorijske remisije nije se izdvoji ni jedan od posmatranih faktora (Tabela 11.4.2).

Multivarijantni model posmatranih faktora uradjen je i u odnosu na grupe sa različitim kliničkim manifestacijama (CV0, CV1, CV2) (Tabela 11.4.3) i grupe sa različitom etiologijom (Tabela 11.4.4) i ni u jednom od urađenih modela nije izdvojen prediktor pojave analiziranog ishoda, odnosno postizanja laboratorijske remisije bolesti.

11.5. Prediktori razlike u odnosu na pojavu relapsa bolesti

Tabela 11.5.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava relapsa CV

Posmatrani faktori		Bez pojave relapsa bolesti vs pojava relapsa CV	
		ExpB (95% CI ExpB)	Značajnost
Grupa		0.789 (0.329-1.893)	p = 0.596
Grupa etiologija	EMC	/	p = 0.041*
	Neinfektivne	1.187 (0.294-4.790)	p = 0.810
	HCV	0.342 (0.094-1.241)	p = 0.103
Starost		0.997 (0.963-1.031)	p = 0.854
Trajanje bolesti		3.092 (1.248- 7.685)	p = 0.015*
Pol		1.562 (0.509-4.797)	p = 0.435

Livedo		1.763 (0.654-4.754)	p = 0.263
Zglobne manifestacije		2.500 (0.834- 7.493)	p = 0.102
Bubrežna lezija		1.640 (0.648- 4.148)	p = 0.296
Sediment urina		1.252 (0.491- 3.196)	p = 0.638
Proteinurija		0.930 (0.368- 2.348)	p = 0.878
Lezija GIT-a		1.966 (0.210-18.393)	p = 0.553
Rasprostranjeni CV		2.571 (0.678- 9.747)	p = 0.165
Malaksalost		1.500 (0.480- 4.687)	p = 0.486
	1+	/	p = 0.063
Krioglobulini semikvant.	2+	0.140 (0.032- 0.625)	p = 0.010*
	3+	0.421 (0.119- 1.495)	p = 0.181
	4+	0.632 (0.132- 3.015)	p = 0.564
Krioglobulin g/L		1.211 (0.962- 1.524)	p = 0.104
RF (krioglobulin)		1.696 (0.605- 4.757)	p = 0.315
M komp. (krioglobulin)		0.997 (0.374- 2.658)	p = 0.995
Patološka EF (serum)		2.008 (0.769- 5.241)	p = 0.154
RF (serum)		1.136 (0.454- 2.844)	p = 0.785
Komplement (sniženje)		1.522 (0.630- 3.675)	p = 0.351
Anti C1q antitela		0.607 (0.229- 1.609)	p = 0.315
Anti SSAi/ili SSB antitela		0.250 (0.086- 0.730)	p = 0.011*
BVAS		1.065 (0.991- 1.143)	p = 0.085
DEI		1.150 (0.934- 1.415)	p = 0.188
SLEDAI		0.885 (0.734- 1.066)	p = 0.198

*statistički značajno

Logističkom regresionom analizom izdvajani su faktori razlike i između ispitanika sa i bez pojave relapsa bolesti.

Univarijantnom regresionom analizom kao statistički značajni izdvojili su se: trajanje bolesti, količina krioglobulina (semikvantitativno), prisustvo anti SSA i/ili SSB antitela i BVAS (na nivou značajnosti $p < 0.1$) (Tabela 11.5.1).

11.5.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojave relapsa CV

Posmatrani faktori	Bez pojave relapsa bolesti vs pojava relapsa CV	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Trajanje bolesti	3.013 (0.913- 9.941)	p = 0.070

	1+	/	p = 0.246
Krioglobulini semikvant.	2+	0.197 (0.032-1.204)	p = 0.079
	3+	0.631 (0.126-3.147)	p = 0.574
	4+	1.097 (0.132-9.133)	p = 0.931
	Anti SSAi/ili SSB	0.253 (0.073- 0.878)	p = 0.030*
BVAS	1.018 (0.932- 1.112)	p = 0.694	

*statistički značajno

Tabela 11.5.3. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava relapsa bolesti u odnosu CV0, CV1, CV2

Posmatrani faktori	Bez pojave relapsa bolesti vs pojava relapsa bolesti		
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost	
Grupa C0, CV1, CV2	0.392 (0.075-2.060)	p = 0.269	
Trajanje bolesti	2.291 (0.632-8.301)	p = 0.207	
	1+	/	p = 0.293
Krioglobulini semikvant.	2+	0.223 (0.036-1.369)	p = 0.105
	3+	0.665 (0.134-3.317)	p = 0.619
	4+	1.234 (0.144-10.591)	p = 0.848
	Anti SSAi/ili SSB	0.196 (0.051-0.757)	p = 0.018*
BVAS	1.047 (0.946-1.158)	p = 0.378	

*statistički značajno

Tabela 11.5.4. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava relapsa bolesti u odnosu na etiologiju

Posmatrani faktori	Bez pojave relapsa bolesti vs pojava relapsa bolesti		
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost	
Grupa etiologija	EMC	/	p = 0,132
	Neinfektivne	10.007 (0.783-127.967)	p = 0.048*
	HCV	1.739 (0.201-15.051)	p = 0.103
Trajanje bolesti	4.685 (1.148- 19.112)	p = 0.031*	
	1+	/	p = 0.188
Krioglobulin semikvant.	2+	0.129 (0.015- 1.080)	p = 0.037*
	3+	0.640 (0.109- 3.737)	p = 0.620
	4+	0.901 (0.086- 9.422)	p = 0.930

Anti SSAi/ili SSB	0.494 (0.105- 2.331)	p = 0.373
BVAS	1.026 (0.934- 1.127)	p = 0.597

*statistički značajno

Multivarijantnom logističkom regresijom kao prediktor pojave relapsa CV izdvojilo se prisustvo anti SSA i/ili SSB antitela i to tako da su ispitanici sa povišenim vrednostima ovog parametra imali oko četiri puta manju šansu za pojavu relapsa CV, OR 0.253 (0.073-0.878) (Tabela 11.5.2).

Multivarijantni model posmatranih faktora uradjen je i u odnosu na grupe sa različitim kliničkim manifestacijama i grupe sa različitom etiologijom bolesti.

U grupi sa različitom manifestacijom bolesti (CV0, CV1,CV2), prediktor pojave relapsa takođe su bila anti SSA i/ili SSB antitela, OR 0.196 (CI 0.051-0.757) (Tabela 11.5.3), dok uvođenjem i etiologije bolesti u multivarijantni model, kao prediktor pojave relapsa izdvojilo se trajanje bolesti, količina krioglobulina semikvantitativno (ispitanici sa krio 1+ imali su manje relapsa), kao i etiologija bolesti (najviše ispitanika sa EMC je imalo relaps bolesti, a najveći broj ispitanika bez relapsa bilo u grupi sa neinfektivnim krioglobulinemijama), OR 10.007 (CI 0.783-127.967) (Tabela 11.5.4)

11.6. Prediktori razlike u odnosu na pad BVAS

Tabela. 11.6.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pad BVAS

Posmatrani faktori	Bez pojave pada BVAS vs pad BVAS	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa CV0, CV1,CV2	3.378 (1.282-8.900)	p = 0.014*
Grupa etiologija		
EMC	/	p = 0.114
Neinfektivne	1.558 (0.418-5.807)	p = 0.509
HCV	4.000 (0.984-16.258)	p = 0.053
Starost	0.991 (0.955-1.029)	p = 0.634
Trajanje bolesti	0.953 (0.359- 2.528)	p = 0.923

Pol		0.909 (0.299-2.768)	p = 0.867
Livedo		0.467 (0.178-1.225)	p = 0.122
Zglobne manifestacije		1.984 (0.544- 7.220)	p = 0.298
Bubrežna lezija		5.500 (1.678- 18.028)	p = 0.005*
Sediment urina		4.435 (1.351- 14.558)	p = 0.014*
Proteinurija		6.183 (1.663- 22.993)	p = 0.007*
Lezija GIT-a		0.000 (0.000-/-)	p = 0.999
Rasprostranjeni CV		10.000 (1.248- 80.138)	p = 0.030*
Malaksalost		2.100 (0.627-7.029)	p = 0.229
	1+	/	p = 0.063
Krioglobulini	2+	2.750 (0.474- 15.964)	p = 0.260
semikv.	3+	1.150 (0.356- 3.714)	p = 0.815
	4+	0.571 (0.147- 2.228)	p = 0.420
Krioglobulin g/L		0.933 (0.783- 1.111)	p = 0.437
RF (krioglobulin)		1.200 (0.408- 3.531)	p = 0.741
M komp. (krioglob).		1.138 (0.389- 3.328)	p = 0.813
Patološka EF seruma		1.797 (0.616- 5.243)	p = 0.283
RF (serum)		0.591 (0.223- 1.562)	p = 0.289
Komplement (snižen)		0.741 (0.274- 2.000)	p = 0.554
Anti C1q antitela		0.768 (0.273- 2.155)	p = 0.616
Anti SSAi/ili SSB antitela		1.131 (0.362- 3.636)	p = 0.836
DEI		1.344 (1.048- 1.698)	p = 0.019*

*statistički značajno

Logističkom regresionom analizom izdvojeni su faktori razlike između ispitanika sa i bez pada BVAS izmerenom na početku i na kraju perioda praćenja.

Univarijantnom regresionom analizom kao statistički značajni izdvojili su se: grupe ispitanika sa različitim kliničkim manifestacijama bolesti (CV0, CV1, CV2), prisustvo bubrežne lezije, patološkog sedimenta urina, proteinurije, postojanje rasprostranjenog vaskulitisa i DEI (Tabela 11.6.1).

Tabela 11.6.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pad BVAS u odnosu na CV0, CV1, CV2

Posmatrani faktori	Bez pada BVAS vs pad BVAS
--------------------	---------------------------

	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa CV0, CV1, CV2	1.581 (4.779-1.893)	p = 0.417
Bubrežna lezija	1.824 (0.141-23.658)	p = 0.646
Sediment urina	0.864 (0.085-8.811)	p = 0.902
Proteinurija	1.554 (0.413-5.841)	p = 0.514
Rasprostranjeni CV	3.415 (0.323- 36.124)	p = 0.307
DEI	1.061 (0.790- 1.424)	p = 0.696

*statistički značajno

Tabela 11.6.3. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora i pojava pada BVAS-a u odnosu na etiologiju

Posmatrani faktori	Bez pada vs pad BVAS	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa	1.161 (0.322-4.193)	p = 0.819
Grupa etiologija		
EMC	/	p = 0.101
Neinfektivne	2.001 (0.543-16.586)	p = 0.208
HCV	6.802 (1.150-40.228)	p = 0.034*
Bubrežna lezija	5.946 (0.304-116.321)	p = 0.240
Sediment urina	0.362 (0.012-10.893)	p = 0.559
Proteinurija	1.968 (0.110-35.340)	p = 0.646
Rasprostranjeni CV	2.902 (0.239-35.171)	p = 0.403
DEI	1.114 (0.803- 1.544)	p = 0.519

*statistički značajno

Multivarijantnom logističkom regresijom kao prediktori pojave pada BVAS u grupama CV1 i CV2, nije se izdvojio nijedan od posmatranih faktora (Tabela 11.6.2).

Multivarijantni model posmatranih faktora urađjen je i u odnosu na grupe sa različitom etiologijom bolesti. U ovom modelu kao statistički značajan prediktor ispoljilo se i prisustvo HCV indukovane krioglobulinemije (kao uzrok ne postojanja pada BVAS). Naime, ova grupa bolesnika imala je oko sedam puta manju verovatnoću pada vrednosti BVAS-a, odnosno ovi bolesnici imaju seda puta veći rizik da ne dodje do pada BVAS u odgovoru na terapiju, u odnosu na krioglobulinemije druge etiologije, OR 6.802 (CI 1.150-40.228) (Tabela 11.6.3).

11.7. Prediktori razlike u između ispitanika sa krioglobulinemijom bez vaskulitisa (CV0) i lakšim oblikom vaskulitisa (CV1)

Logističkom regresionom analizom izdvajani su prediktori razlike između ispitanika bez kliničkih manifestacija krioglobulinemije i ispitanika sa klinički manifestnom krioglobulinemijom u obliku lakšeg vaskulitisa (CV0 vs CV1).

Tabela 11.7.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između bolesnika bez CV i bolesnika sa lakim CV (CV0 vs CV1)

Posmatrani faktori	CV0 vs CV1	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Starost	1.041 (1.012-1.071)	p = 0.006*
Infekcija	3.092 (1.248- 7.685)	p = 0.000*
Autoimunske bolesti	0.147 (0.065-0.331)	p = 0.000*
Bez	/	p = 0.000*
Sy Sjögren prim.	11.342 (1.397-91.918)	p = 0.023*
SEL	8.400 (0.879-80.265)	p = 0.065
SEL + Sjögren	0.308 (0.018-5.300)	p = 0.417
drugo (RA, SScl, MCTD)	1.091 (0.061-19.630)	p = 0.953
Druge bolesti	1.786 (0.582-5.476)	p = 0.310
Kožne promene	1.005 (0.866-1.156)	p = 0.949
Livedo	2.156 (0.922-5.043)	p = 0.076*
Zglobne manifestacije	0.933 (0.423- 2.058)	p = 0.864

Bubrežna lezija		0.597 (0.238- 1.498)	p = 0.272
Sediment urina		0.654 (0.245-1.750)	p = 0.398
Proteinurija		0.519 (0.272-0.992)	p = 0.047*
Insuficijencija bubrega		0.981 (0.183-5.256)	p = 0.982
Malaksalost		1.050 (0.469-2.353)	p = 0.906
Miopatija		0.395 (0.046-3.383)	p = 0.397
	1+	/	p = 0.002*
Krioglobulini	2+	0.045 (0.009- 0.224)	p = 0.000*
semikvant.	3+	0.140 (0.034- 0.569)	p = 0.006*
	4+	0.167 (0.036-0.771)	p = 0.022*
Krioglobulini g/L		1.224 (0.960- 1.560)	p = 0.103
M komponenta (krioprecipitat)		1.021 (0.804- 1.296)	p = 0.867
Patološka EF proteina (serum)		1.069 (0.515- 2.222)	p = 0.857
M komponenta (serum)		1.469 (0.593- 3.635)	p = 0.406
Komplement (sniženje)		0.853 (0.419- 1.735)	p = 0.661
C1inhibitor		0.724 (0.373- 1.403)	p = 0.338
Anti-C1q antitela		0.000 (0.000- /)	p = 0.999
Anti SSAi/ili SSB antitela		4.061 (1.496- 11.021)	p = 0.006*
ANA		0.396 (0.193- 0.811)	p = 0.011*
Anti dsDNK		0.103 (0.012- 0.856)	p = 0.011*
Druga autoantitela		0.279 (0.101- 0.771)	p = 0.014*
CRP		0.370 (0.155- 0.882)	p = 0.025*
Fibrinogen		0.385 (0.181- 0.817)	p = 0.013*
Anemija		0.908 (0.330- 2.497)	p = 0.851
Krioglobulina (prisutan na kraju praćenja)		3.571 (1.547- 8.247)	p = 0.003*
Količina krioglobulina g/L		0.590 (0.391- 0.890)	p = 0.012*
Ishod		0.000 (0.000- /)	p = 0.999

*statistički značajno

U univarijantnom modelu kao statistički značajni izdvojili su se: starost, prisustvo infekcije, vrsta infekcije, postojanje autoimunske bolesti, vrsta autoimunske bolesti, prisustvo liveda, proteinurije, količina krioglobulina određena semikvantitativno, količina krioglobulina (g/L), prisustvo ANA, anti dsDNK, anti SSA i/ili SSB i druga autoantitela, povišeni CRP, fibrinogen i prisustvo krioglobulina na kraju perioda praćenja (Tabela 11.7.1).

Tabela 11.7.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između ispitanika bez CV i ispitanika sa lakim CV (CV0 vs CV1)

Posmatrani faktori	CV0 vs CV1	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Starost	1.036 (0.999-1.074)	p = 0.055
Infekcija	2.880 (0.235-35.348)	p = 0.408
Autoimunske bolesti	0.053 (0.005-0.541)	p = 0.013*
Bez	/	p = 0.020*
Sy Sjögren prim.	14.348 (1.229-167.541)	p = 0.034*
SEL	0.897 (0.897-19.267)	p = 0.945
SEL + Sjogren	2.065 (0.098-43.728)	p = 0.641
drugo (RA. SScI. MCTD)	2.654 (0.402-17.523)	p = 0.311
Livedo	2.292 (0.961-5.468)	p = 0.061
Proteinurija	0.330 (0.106-1.030)	p = 0.056

	1+	/	p = 0.169
Krioglobulin i semikvant.	2+	0.094 (0.010- 0.922)	p = 0.042*
	3+	0.121 (0.018- 0.796)	p = 0.028*
	4+	0.182 (0.028-1.190)	p = 0.075
	Krioglobulin g/L	1.031 (0.742-1.432)	p = 0.856
Krioglobulin (prisustvo na kraju praćenja)		1.873 (0.434- 8.079)	p = 0.400
Krioglobulina g/L		0.705 (0.338- 1.473)	p = 0.353
Anti SSA i/ili SSB antitela		11.968 (1.962-0.73001)	p = 0.007*
ANA		0.000 (0.000- /)	p = 0.999
Anti dsDNK antitela		0.071 (0.007- 0.718)	p = 0.025*
Druga autoantitela		0.663 (0.104- 4.234)	p = 0.664
CRP		0.485 (0.196- 1.201)	p = 0.118
Fibrinogen		0.417 (0.189- 0.917)	p = 0.030*

*statistički značajno

Rezultati urađenih multivarijantnih modela bili su:

Od faktora vezano za starost ispitanika i prisutne komorbiditete, kao statistički značajni izdvojili su se starost ispitanika (ispitanici sa lakšim vaskulitisom bili su stariji od ispitanika bez vaskulitisa), OR 1.036 (CI 0.999-1.074), postojanje infekcije (ispitanici bez vaskulitisa bili su češće bez infekcija, oko pet puta), OR 2.880 (CI 0.235-35.348), prisustvo autoimunske bolesti (ispitanici sa vaskulitisom oko pet puta su bili češće sa nekim pridruženim autoimunskim oboljenjem), OR 0.053 (CI 0.005-0.541) i vrsta autoimunskog oboljenja (Sy Sjogren je bio češći kod ispitanika sa lakšim vaskulitisom, a SEL kod ispitanika bez vaskulitisa), OR 14.348 (CI 1.229-167.541) (Tabela 11.7.2).

Klinički parametri, LR i proteinurije (oba na nivou značajnosti <0,1 u univarijantnom modelu) nisu se pokazali kao prediktor razlike između ove dve grupe (Tabela 11.7.2).

Od laboratorijskih parametara vezano za krioglobulinemiju: količina krioglobulina (semikvantitativno), količina krioglobulina (g/L), prisustvo i količina krioglobulina na kraju perioda praćenja, kao prediktor razlike između ove dve grupe izdvojio se količina krioglobulina (semikvantitativno) i to tako što su ispitanici bez vaskulitisa imali oko osam puta veću verovatnoću pojave male koncentracije krioglobulina (1+), dok su ispitanici sa

vaskulitisom imali veću verovatnoću pojave veće količine krioglobulina označene kao 2+ , OR 0.094 (CI 0.010-0.922) i 3+, OR 0.121 (CI 0.018-0.796) (Tabela 11.7.2).

Analizom parametara vezano za prisutna ANA, anti dsDNK, anti SSA i/ili SSB i druga autoantitela, kao prediktori razlike, odnosno faktori rizika izdvojili su se anti dsDNK (češći kod bolesnika bez vaskulitisa), OR 0.071 (CI 0.07-0.718) i anti SSA i/ili SSB (češći kod ispitanika sa lakšim oblikom vaskulitisa), OR 11.968 (CI 1.962-0.73001) (Tabela 11.7.2).

Od parametara zapaljenja, CRP i fibrinogena, kao statistički značajan izdvojio se fibrinogen koji je bio povišen kod ispitanika sa bez vaskulitisa, OR 0.417 (CI 0.189-0.917)(Tabela 11.7.2).

11.8. Prediktori razlike u između ispitanika sa CV0 i CV2

Tabela 11.8.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između ispitanika sa krioglobulinemijom bez CV i ispitanika sa teškim CV

Posmatrani faktori	CV0 vs CV2	
	ExpB (95% CI ExpB)	Značajnost
Starost	1.013 (0.989-1.038)	p = 0.299
Infekcija	0.585 (1.705- 20.073)	p = 0.005*
Autoimunska bolest	0.614 (0.308-1.224)	p = 0.614
Bez	/	p = 0,450
Sy Sjögren prim.	1.467 (0.455-4.727)	p = 0,521
SEL	1.200 (0.269-5.362)	p = 0,811
SEL + Sjögren	0.985 (0.298-3.251)	p = 0,980
drugo (RA. SScI. MCTD)	0.218 (0.022-2.171)	p = 0,194
Druge bolesti	0.763 (0.461-1.263)	p = 0.294
Kožne promene	51.692 (6.885-388.089)	p = 0.000*
Livedo	3.055 (1.383-6.747)	p = 0.006*
Zglobne manifestacije	3.937 (1.298- 11.942)	p = 0.015*
Bubrežna lezija	4.205 (2.052-8.617)	p = 0.000*
Sediment urina	4.315 (2.068-9.003)	p = 0.000*
Proteinurija	3.957 (1.923-8.141)	p = 0.000*

Insuficijencija		3.900 (1.270-11.977)	p = 0.017*
Malaksalost		3.937 (1.298-11.942)	p = 0.015*
Miopatija		3.825 (1.279-11.443)	p = 0.016*
	1+	/	p = 0,001*
Krioglobulini	2+	0.058 (0.014- 0.242)	p = 0,000*
semikvant.	3+	0.077 (0.020- 0.300)	p = 0,000*
	4+	0.083 (0.018-0.382)	p = 0,001*
Krioglobulin g/L		1.416 (1.135-1.766)	p = 0.002*
M komponenta (krioglobulin)		0.870 (0.700-1.082)	p = 0.211
Patološka EF proteina (serum)		5.250 (2.162-12.750)	p = 0.000*
M komponenta (serum)		2.937 (1.347-6.406)	p = 0.007*
Komplement (sniženje)		3.461 (1.624-7.374)	p = 0.001*
C1inh		0.693 (0.346-1.389)	p = 0.302
Anti C1q antitela		0.000 (0.000- /)	p = 0.998
SSAi/ili SSB		0.861 (0.406- 1.826)	p = 0.697
ANA		0.695 (0.348-1.387)	p = 0.302
Anti dsDNK		0.377 (0.128-1.111)	p = 0.077*
Druga autoantitela		1.632 (0.814-3.275)	p = 0.168
CRP		1.243 (0.623-2.477)	p = 0.537
Fibrinogen		0.452 (0.227-0.902)	p = 0.024*
Anemija		3.055 (1.383-6.747)	p = 0.006*
Prisustvo krioglobulina n kraju praćenja		1.093 (0.539-2.218)	p = 0.805
Količina krioglobulina g/L		1.131 (0.768-1.665)	p = 0.533
Ishod		3.317 (1.084-10.154)	p = 0.036*

*statistički značajno

Univarijantnom logističkom regresionom analizom, za određivanje razlike između ispitanika bez vaskulitisa i ispitanika sa teškim oblikom vaskulitisa, kao statistički značajni faktori izdvojeni su: ishod, bubrežna insuficijencija, malaksalost, količina krioglobulina (semikvantitativno), količina krioglobulina (g/L), prisustvo patološke EF proteina seruma, prisustvo M komponente u serumu, potrošnja komplementa, prisustvo anti dsDNK, povišene vrednosti fibrinogena i anemija (Tabela 11.8.1).

Tabela 11.8.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između ispitanika sa krioglobulinemijom bez CV i ispitanika sa teškim CV (CV0 vs CV2)

Posmatrani faktori	CV0 vs CV2	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost

Infekcija		6.510 (0.910- 46.568)	p = 0.062
Kožne promene		63.811 (7.206-565.080)	p = 0.000*
Livedo		4.191 (1.315-13.360)	p = 0.015*
Zglobne manifestacije		1.361 (0.271- 6.822)	p = 0.708
Bubrežna lezija		0.451 (0.044-4.645)	p = 0.503
Sediment urina		1.346 (0.205-8.845)	p = 0.757
Proteinurija		6.124 (0.986-38.048)	p = 0.052*
Insuficijencija bubrega		1.457 (0.251-8.476)	p = 0.675
Malaksalost		4.892 (1.045-22.905)	p = 0.044*
Miopatija		1.567 (0.336-7.315)	p = 0.568
	1+	/	p = 0.428
Krioglobulin	2+	0.081 (0.002-3.666)	p = 0.196
i semikvant.	3+	0.350 (0.018-6.760)	p = 0.487
	4+	0.145 (0.006-3.549)	p = 0.237
Krioglobulin g/L		0.930 (0.669-1.293)	p = 0.666
Patološka EF proteina (serum)		3.135 (0.108-91.125)	p = 0.506
M komponenta (serum)		1.425 (0.201-10.110)	p = 0.723
Komplement (sniženje)		5.934 (1.042-33.807)	p = 0.045
Anti dsDNK antitela		0.395 (0.082-1.900)	p = 0.246
Fibrinogen		0.403 (0.102-1.591)	p = 0.194
Anemija		2.637 (0.562-12.385)	p = 0.219
Ishod		2.706 (0.363-20.170)	p = 0.331

*statistički značajno

Kao prediktori izdvojeni su livedo, koji se više pojavljivao u grupi sa vaskulitisom, OR 4.191 (CI 1.315 - 13.360), kožne promena, OR 63.811 (7.206-565.080), malaksalost OR 4.892 (CI 1.045-22.905), proteinurija OR 3.957 (CI 1.923 - 8.141) i potrošnja komplementa OR 3.461 (1.624 - 7.374), i to tako da su ispitanici sa potrošnjom komplemeta bili pod šest puta većim rizikom za pojavom teškog vaskulitisa (Tabela 11.8.2).

11.9. Prediktori razlike između ispitanika sa esencijalnom krioglobulinemijom i neinfektivnom krioglobulinemijom

Tabela. 11.9.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između ispitanika sa esencijalnom i neinfektivnom krioglobulinemijom

Posmatrani faktori	EMC vs neinfektivna krioglobulinemija	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
CV	0.497 (0.267-0.926)	p = 0.028*
Trajanje bolesti	3.453 (1.823-6.540)	p = 0.000*
Grupa		
CV0	/	p = 0,626
CV1	1.212 (0.560-2.621)	p = 0,000*
CV2	0.323 (0.123-0.849)	p = 0,022*
Bez promena	/	p = 0,450
Purpura	1.467 (0.455-4.727)	p = 0,521
Ulkus i/ili gangrena	1.200 (0.269-5.362)	p = 0,811
Urtikarija/angioedem	0.985 (0.298-3.251)	p = 0,980
Urtikarija/angioedem i purpura	0.985 (0.298-3.251)	p = 0,980
Ulkus+purpura	0.985 (0.298-3.251)	p = 0,980
Drugo	0.218 (0.022-2.171)	p = 0,194
Kožne promene (prisustvo)	0.535 (0.267-1.074)	p = 0.078
Vaskulitis kože	0.477 (0.256-0.890)	p = 0.020*
Zglobne manifestacije	2.926 (1.419-6.033)	p = 0.004*
Bubrežna lezija	3.328 (1.532-7.230)	p = 0.002*

Sediment urina		3.383 (1.459-7.845)	p = 0.005*
Proteinurija		2.838 (1.300-6.195)	p = 0.009*
Malaksalost		2.735 (1.322-5.662)	p = 0.007*
Sicca		3.750 (1.963-7.165)	p = 0.000*
Promene na nervnom sistemu		1.687 (0.795-3.584)	p = 0.173
Promene na plućima		1.917 (0.803-4.577)	p = 0.143
	1+	/	p = 0,988
Krioglobulini	2+	1.086 (0.310- 3.796)	p = 0,898
semikvant.	3+	0.988 (0.296-3.295)	p = 0,984
	4+	1.136 (0.298-4.330)	p = 0,851
Tip krioglobulinemije		0.775 (0.362-1.659)	p = 0.511
M komponenta (serum)		1.093 (0.875-1.365)	p = 0.434
M komponenta (prisustvo)		0.890 (0.401-1.978)	p = 0.775
Komplement (snižen)		3.000 (1.576-5.712)	p = 0.001*
Anti SSAi/ili SSB		49.412 (6.570-371.592)	p = 0.000*
ANA		18.359 (8.473-39.780)	p = 0.000*
Anti dsDNK		0.000 (0.000- /)	p = 0.998
Anemija		2.941 (1.137-7.608)	p = 0.026*
Leukopenija		7.535 (2.801-20.270)	p = 0.000*
Trombocitopenija		6.500 (0.813-51.988)	p = 0.078
Hepatogram		0.974 (0.650-1.458)	p = 0.897
Relaps		0.288 (0.101-0.821)	p = 0.020*
Remisija klinička		1.442 (0.350-5.942)	p = 0.612
Remisija laboratorijska		1.324 (0.486-3.606)	p = 0.583
Ishod		5.098 (0.623-41.715)	p = 0.129

*statistički značajno

Logističkom regresionom analizom izdvajani su faktori razlike i između ispitanika sa esencijalnom krioglobulinemijom i neinfektivnom krioglobulinemijom.

Univarijantnom regresionom analizom kao statistički značajni izdvojili su se: trajanje bolesti, prisustvo CV, grupe ispitanika sa različitim kliničkim manifestacijama bolesti (CV0, CV1, CV2), vaskulitis kože, prisustvo kožnih i zglobnih manifestacija, malaksalost, *sicca* sindrom, bubrežna lezija, patološki sediment urina, proteinurija, potrošnja komplementa, prisustvo ANA, anti SSA i/ili SSB, anemije, leukopenije i pojava relapsa CV (Tabela 11.9.1).

11.9.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između ispitanika sa EMC i neinfektivnom krioglobulinemijom

Posmatrani faktori	EMC vs neinfektivna krioglobulinemija	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Trajanje bolesti	1.569 (0.249-9.876)	p = 0.631
Grupa (CV0, CV1, CV2)	0.136 (0.014-1.313)	p = 0.085
Bez promena	/	p = 0.316
Purpura	0.708 (0.076-6.575)	p = 0.761
Kožne promene		
Ulkus i/ili gangrena	39.002 (0.226-6721.128)	p = 0.163
Urtikarija/angioedem	3.934 (0.224-69.195)	p = 0.349
Urtikarija/angioedem i purpura	12.374 (0.179-857.180)	p = 0.245
Ulkus+purpura	0.068 (0.001-5.087)	p = 0.194
Vaskulitis kože	0.000 (0.000- /)	p = 0.999
Zglobne manifestacije	4.587 (0.408-51.523)	p = 0.217
Bubrežna lezija	2.112 (0.007-619.090)	p = 0.796
Sediment urina	3.902 (0.123-124.066)	p = 0.440

Proteinurija	0.095 (0.000-29.383)	p = 0.421
Malaksalost	0.467 (0.047-4.678)	p = 0.517
Sicca	80.361 (5.068-1274.213)	p = 0.002*
Anemija	9.169 (0.525-160.046)	p = 0.129
Leukopenija	2.787 (0.423-18.342)	p = 0.286
Relaps	0.163 (0.207-0.968)	p = 0.046*
Komplement (sniženje)	3.589 (1.311-9.825)	p = 0.013*
Anti SSAi/ili SSB	30.089 (3.731-242.684)	p = 0.001*
ANA	13.495 (4.886-37.273)	p = 0.000*

*statistički značajno

Multivarijantnom logističkom regresijom kojim su posmatrani faktori vezano za kliničku sliku bolesti i ishod posmatrani su: trajanje bolesti, prisustvo CV, grupe ispitanika sa različitim kliničkim manifestacijama bolesti (CV0, CV1, CV2), prisustvo vaskulitisa kože, zglobnih manifestacija, kožnih promena, malaksalosti, *sicca* sindroma, bubrežne lezije, patološkog sedimenta, proteinurije, anemija, leukopenija i pojava relapsa (Tabela 11.9.2).

Kao prediktori razlike između ove dve podgrupe ispitanika (EMC vs neinfektivna kriglobulinemija) izdvojen je *sicca* sindrom i to tako da su ispitanici sa neinfektivnom kriglobulinemijom češće imali *sicca* sindrom kao manifestaciju, OR 80.361 (CI 5.068-1274.213), dok je broj relapsa bio veći kod ispitanika sa esencijalnom kriglobulinemijom, OR 0.163 (CI 0.207-0.968). Multivarijantni model posmatranih faktora uradjen je i za posmatrane laboratorijske parametre: potrošnja komplementa, prisustvo ANA, anti SSA i/ili SSB antitela. U ovom modelu kao statistički značajni prediktori razlike između ove dve grupe ispitanika ispoljila su se sva tri parametra. Pozitivan nalaz ovih parametra ukazivao je na postojanje neinfektivne kriglobulinemije. Potrošnja komplementa OR 3.589 (CI 1.311-9-825); Anti SSA/SSB OR 30.089 (3.731-242.684); ANA OR 13.495 (4.886-37.273) (Tabela 11.9.2).

11.10. Prediktori razlike u između ispitanika sa esencijalnom krioglobulinemijom i HCV krioglobulinemijom

11.10.1. Univarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između ispitanika sa esencijalnom i HCV krioglobulinemijom

Posmatrani faktori	EMC vs HCV krioglobulinemija	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
CV	8.000 (1.711-37.415)	p = 0.008*
Trajanje bolesti	14.875 (3.162-69.986)	p = 0.0001*
CV0	/	p = 0.028*
Grupa CV1	0.109 (0.021-0.582)	p = 0.009*
CV2	0.787 (0.244-2.542)	p = 0.690
Kožne promene	2.500 (0.518-12.067)	p = 0.254
Vaskulitis kože	5.020 (1.335-18.870)	p = 0.017*
Zglobne manifestacije	2.006 (0.596-6.751)	p = 0.261
Bubrežna lezija	6.222 (2.022-19.150)	p = 0.001*
Sediment urina	6.525 (2.035-20.920)	p = 0.002*
Proteinurija	3.267 (1.035-10.313)	p = 0.044*
Malaksalost	2.667 (0.702-10.134)	p = 0.150
Sicca	0.989 (0.330-2.963)	p = 0.984
Promene na nervnom sistemu	4.050 (1.353-12.124)	p = 0.012*
Promene na plućima	0.000 (0.000- /)	p = 0.999
Krioglobulini 1+	/	p = 0.001*
semikvant. 2+	0.000 (0.000- /)	p = 0.998

	3+	0.054 (0.012-0.235)	p = 0.000*
	4+	0.114 (0.022-0.591)	p = 0.010*
	Krio g/L	1.405 (1.103-1.790)	p = 0.006*
	Tip krio	4.625 (1.490-14.353)	p = 0.008*
	M komponenta u serumu (tip)	0.746 (0.578-0.963)	p = 0.025*
	M komponenta serum (prisustvo)	2.848 (0.939-8.640)	p = 0.064*
	Komplement (snižen)	2.391 (0.841-6.801)	p = 0.102
	Anti SSAi/ili SSB	5.000 (0.286-87.545)	p = 0.271
	ANA	1.116 (0.348-3.582)	p = 0.854
	Anti dsDNK_	0.000 (0.000- /)	p = 0.998
	Anemija	7.273 (2.108-25.092)	p = 0.002*
	Leukopenija	2.287 (0.494-10.602)	p = 0.290
	Trombocitopenija	47.273 (5.371-416.040)	p = 0.001*
	Hepatogram (patološki)	2.576 (1.467-4.552)	p = 0.001*
	Uredan	/	p = 0.000*
	Hepatogram Povišene transaminaze	0.045 (0.006-0.307)	p = 0.002*
	Holestaza	1.667 (0.198-14.054)	p = 0.001*
	Holestaza+transaminaze	0.999 (0.000- /)	p = 0.001*
	Relaps	0.843 (0.209-3.401)	p = 0.810
	Remisija klinička	0.165 (0.039-0.703)	p = 0.001*
	Remisija laboratorijska	0.217 (0.050-0.946)	p = 0.042*
	Ishod	23.214 (2.513-214.457)	p = 0.006*

*statistički značajno

Univarijantnom regresionom analizom, koja je imala za cilj izdvajanje faktora razlike između ispitanika sa esencijalnom i infektivnom krioglobulinemijom, kao statistički značajni izdvojili su se: trajanje bolesti, prisustvo CV, grupe ispitanika sa različitim kliničkim manifestacijama bolesti (CV0, CV1, CV2), vaskulitis kože, bubrežna lezija, patološki sediment urina, proteinurija, potrošnja komplementa, prisustvo neurološke lezije, tip krioglobulina, prisustvo i tip M komponente u serumu, anemija, trombocitopenija, patološki hepatogram, postizanje kliničke remisije, postizanje laboratorijske remisije i ishod (Tabela 11.10.1).

11.10.2. Multivarijantna logistička regresiona analiza posmatranih faktora razlike između ispitanika sa esencijalnom i ispitanika sa HCV infekcijom

Posmatrani faktori	EMC vs HCV krioglobulinemija	
	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa (CV0, CV1, CV2)	1.500 (0.322-6.992)	p = 0.605
Trajanje bolesti	8.517 (1.344-53.961)	p = 0.023*
Vaskulitis kože	1.131 (0.092-13.933)	p = 0.924
Bubrežna lezija	0.999 (0.000- /)	p = 0.999
Sediment urina	0.999 (0.000- /)	p = 0.999
Proteinurija	0.999 (0.000- /)	p = 0.999

Promene na nervnom sistemu	1.805 (0.437-7.463)	p = 0.415
Anemija	8.302 (1.514-45.538)	p = 0.015*
Krioglobulini g/L	0.647 (0.261-1.607)	p = 0.349
Tip krioglobulinemije	0.038 (0.002-0.696)	p = 0.027*
M komponenta u serumu (tip)	0.046 (0.001-1.839)	p = 0.102
M komponenta u serumu (prisustvo)	0.406 (0.001-288.473)	p = 0.788
Trombocitopenija	34.935 (1.309-932.624)	p = 0.034*
Uredan	/	p = 0.006*
Hepatogram	0.024 (0.001-0.408)	p = 0.010*
Povišene transaminaze	1.965 (0.138-27.913)	p = 0.608
Holestaza	0.999 (0.000- /)	p = 0.999
Holestaza+transaminaze		
Remisija klinička	0.560 (0.078-4.023)	p = 0.564
Remisija laboratorijska	0.434 (0.084-2.233)	p = 0.318
Ishod	7.788 (0.480-126.384)	p = 0.149

*statistički značajno

Multivarijantnom logističkom regresijom kojim su posmatrani faktori vezano za etiologiju bolesti posmatrani su: trajanje bolesti, prisustvo CV, grupe ispitanika (CV0, CV1, CV2), prisustvo vaskulitisa kože, bubrežne lezije, patološkog sedimenta urina, proteinurije, anemije (Tabela 11.10.2). Kao prediktori razlike između ove dve podgrupe ispitanika izdvojeno je postojanje anemije i to tako da su ispitanici sa infektivnom krioglobulinemijom češće (oko osam puta) imali anemiju, OR 8.301 (CI 1.514-45-538), kao i duže trajanje bolesti, OR 8.517 (CI 1.344-53.961) (Tabela11.10.2). Naime, ovi rezultati nam ukazuju da su ispitanici sa anemijom i dužim trajanjem bolesti, pod većim rizikom za postojanjem HCV krioglobulinemije.

Multivarijantni model posmatranih faktora uradjen je za posmatrane laboratorijske parametre: tip krioglobulinemije, patološki hepatogram i trombocitopeniju. U ovom modelu kao statistički značajni prediktori razlike između ove dve grupe ispitanika izdvojeni su: tip krioglobulinemije (tip III češće ukazuje na postojanje esencijalne krioglobulinemije, a tip II na infektivnu), OR 0.038 (CI0.002-0.696), pozitivan nalaz patološkog hepatograma i povišene transaminaze ukazuju na infektivnu (HCV) prirodu krioglobulinemije, OR 0.024 (CI 0.001-0.408), kao i trombocitopenija, koja je bila češća kod ispitanika sa HCV krioglobulinemijom, OR 34.935 (1.309-932.624). Nije bilo razlike u ishodima (smrt, klinička i laboratorijska remisija) između ove dve grupe ispitanika (Tabela 11.10.2).

12. Analiza preživljavanja.

12.1. Kaplan Meir-ova analiza preživljavanja

Tabela 12.1. Preživljavanje i kliničke manifestacije bolesti

Kliničke manifestacije bolesti	Vreme praćenja					Značajnost p [#]
	Jedno-godišnje	Petogodišnje -godišnje	Desetogodišnje-godišnje	Dvadeseto-godišnje	Na kraju praćenja	
CV0	100%	98.9%	/	/	78.5%	p=0.002*
CV1	100%	100%	100%	100%	100%	
CV2	97.9%	92.2%	47.6%	47.6%	47.6%	

#Log-Rank test; *statistički značajna razlika

Ispitanici iz ove studije u proseku su praćeni 70.30 ± 56.43 meseca sa medijanom od 60 meseci, najdužim praćenjem 280 meseci, najkraćim vremenom praćenja od 4 meseca.

Analizom preživljavanja ispitanika posmatrano u odnosu na kliničke manifestacije bolesti (CV0, CV1, CV2) uočena je statistički značajna razlika ($p=0.002$). Međugrupnom analizom statistički značajna razlika u preživljavanju, nije uočena između ispitanika bez vaskulitisa i ispitanika sa lakim vaskulitisom ($p=0.104$) dok je između ispitanika bez vaskulitisa i ispitanika sa teškim vaskulitisom razlika u preživljavanju bila statistički značajna ($p=0.009$), kao i između ispitanika sa lakim i teškim vaskulitisom ($p=0.004$), i to tako da su ispitanici sa teškim vaskulitisom imali najlošije preživljavanje (Tabela 12.1).

Ispitanici iz grupe bez vaskulitisa su praćeni najduže 108 meseci, unutar prve godine praćenja ni jedan ispitanik iz ove grupe nije umro, posle pet godina praćenja preživljavanje je bilo 98.9%, a na kraju perioda praćenja 78.5%.

Ispitanici sa lakim oblikom vaskulitisa najduže su praćeni 43 meseca i tokom ovog perioda ni jedan ispitanik iz ove grupe nije umro.

Najduže su praćeni ispitanici sa teškim vaskulitisom, 240 meseci. Jednogodišnje preživljavanje za ovu grupu ispitanika iznosilo je 97.9%, petogodišnje 92.2%, desetogodišnje 47.6%, koliko je bilo i na kraju dvadeset godina praćenja.

Grafikon 5. Preživljavanje i kliničke manifestacije bolesti (CV0, CV1, CV2)

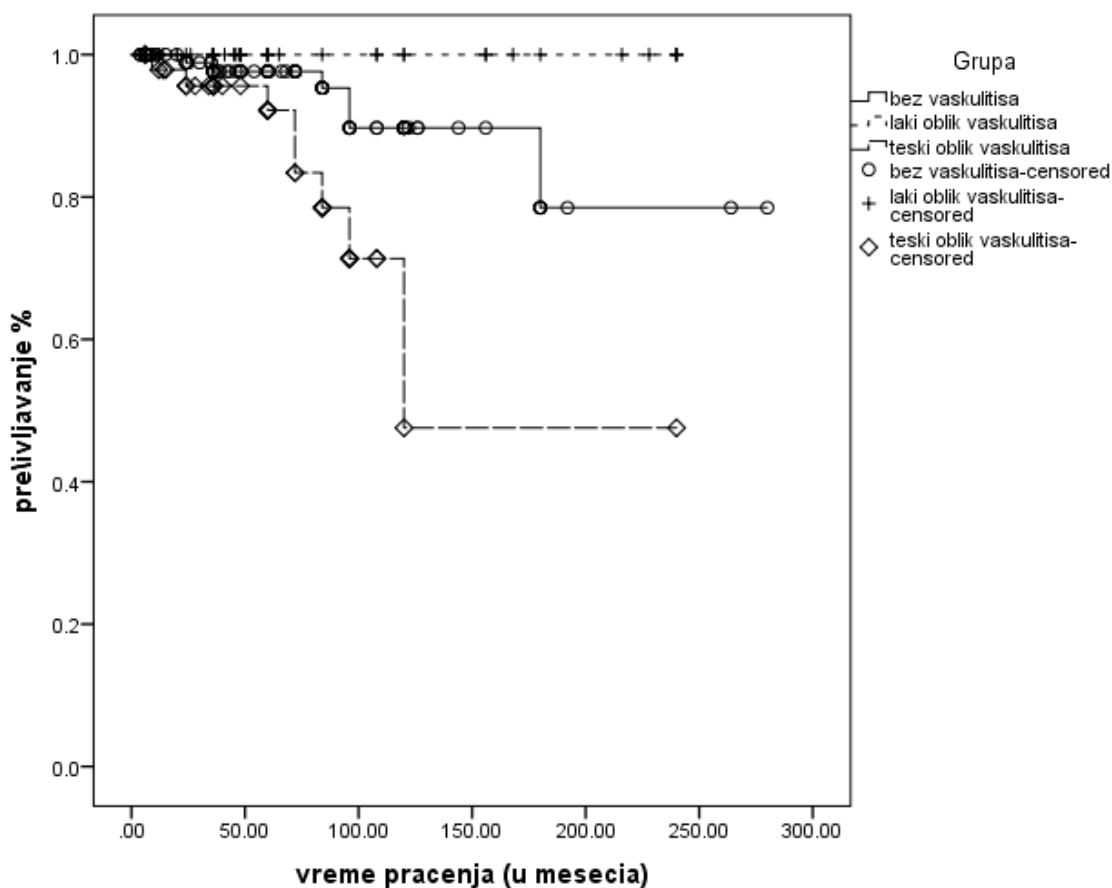


Tabela 12.2. Preživljavanje i etiologija bolesti

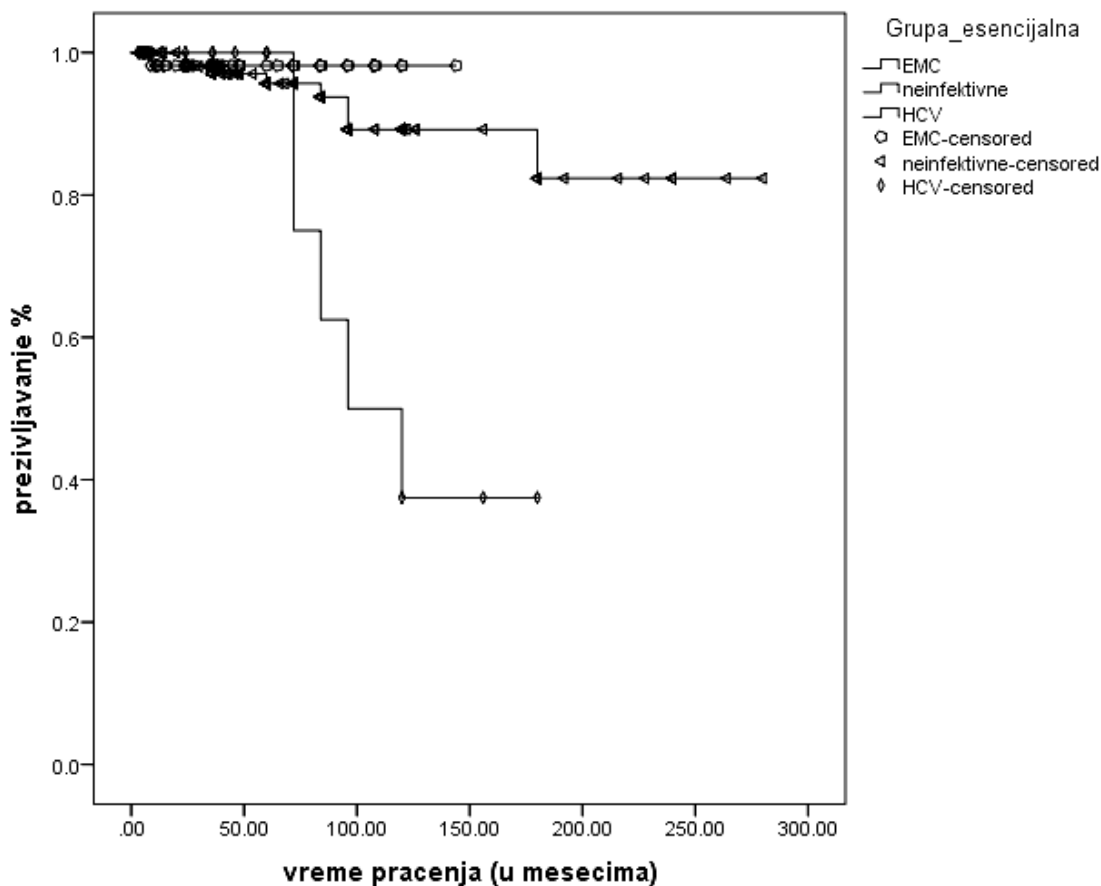
Etiologija bolesti	Vreme praćenja					Značajnost p [#]
	Jedno-godišnje	Petogodišnje-godišnje	Desetogodišnje-godišnje	Dvadeseto-godišnje	Na kraju praćenja	
EMC	98.2%	98.2%	98.2%/	/	/	p=0,002*
Neinfektivne k.	100%	95.7%	89.2%	82.3%	82.3%	
HCV	100%	100%	37.5%	/	/	

#Log-Rank test; *statistički značajna razlika

Između ispitanika sa različitom etiologijom bolesti uočena je statistički značajna razlika u preživljavanju (p=0.002), (Tabela 12.2). Međugrupnim poređenjem, statistički značajna

razlika u preživljavanju nije uočena između ispitanika sa EMC i neinfektivnom krioglobulinemijom ($p=0.402$), dok je uočena između ispitanika sa HCV-om i ispitanika sa EMC-om ($p=0.011$) i ispitanika sa neinfektivnom krioglobulinemijom ($p=0,002$) i to tako da su najlošije preživljavanje imali ispitanici sa infektivnom krioglobulinemijom, grafikon.. Ispitanici iz grupe sa EMC, najduže su praćeni 144 meseca. U ovoj grupi umro je jedan ispitanik i to tokom prve godine praćenja. Jednogodišnje preživljavanje bilo je 98.2% i nije se menjalo do kraja perioda praćenja. Ispitanici sa neinfektivnom krioglobulinemijom najduže su praćeni 280 meseci, Jednogodišnje preživljavanje za ovu grupu ispitanika bilo je 100%, petogodišnje 95.7%, desetogodišnje 89.2%, dvadesetogodišnje 82.3% koliko je bilo i na kraju perioda praćenja. Ispitanici sa HCV-om najduže su praćeni 180 meseci. Preživljavanje na kraju prve godine praćenja bilo je 100%, koliko je bilo i na kraju pete godine praćenja, na kraju desete godine bilo je 37,5% i nije se menjalo do kraja praćenja, grafikon. U ovoj grupi ispitanika dostignuta je medijana preživljavanja i iznosila je 96 meseci.

Grafikon 6. Preživljavanje i etiologija bolesti



Nije uočena statistički značajna razlika u odnosu na pol ispitanika, prisustvo kožnih promena, liveda, bubrežne lezije, patološkog sedimenta urina, proteinurije, malakslosti, GIT lezije, prisustvo povišene temperature, kao ni količine krioglobulina semikvantitativno, prisustva RF u krioglobulinu, količine RF u krioglobulinu semikvantitativno izražene, patološke EF proteina seruma, sniženog komplementa, prisustva anti SSA i/ili SSB antitela, pojave relapsa, novih manifestacija CV, kao i drugih bolesti.

Statistički značajna razlika u preživljavanju uočena je u odnosu na rasprostranjenost CV, ispitanici sa rasprostranjenim CV imali su lošije preživljavanje. Takođe ispitanici sa infekcijom su imali značajno lošije preživljavanje.

Tabela 12.3. Preživljavanje i rasprostranjeni CV

Rasprostranjeni CV	Vreme praćenja					Značajnost p [#]
	Jedno- godišnje	Petogodišnje -godišnje	Desetogodišnje- godišnje	Dvadeseto -godišnje	Na kraju praćenja	
Ne	99.4%	96.9%	88.8%/	82.5%	82.5%	p=0.002*
Da	100%	93.8%	37.6%	37.6%	37.6%	

#Log-Rank test; *statistički značajna razlika

Između ispitanika sa i bez rasprostranjenog CV uočena je statistički značajna razlika u preživljavanju (Tabela 12.3). Ispitanici sa rasprostranjenim CV imali su lošije preživljavanje, grafikon 7. U grupi bez rasprostranjenog CV, jednogodišnje preživljavanje bilo je 99.4%, petogodišnje 96.9%, desetogodišnje 88.8%, dvadesetogodišnje 82.5%, koliko je bilo i na kraju perioda praćenja koje je za ovu grupu iznosilo 280 meseci.

U grupi sa rasprostranjenim CV preživljavanje posle godinu dana praćenja bilo je 100%, posle pet godina 93.8%, posle deset 37.6% koliko je bilo i na kraju periodu praćenja koje je za ovu grupu iznosilo 240 meseci. Medijana preživljavanja za ovu grupu ispitanika bilo je 120 meseci.

Grafikon 7. Preživljavanje i rasprostranjeni CV

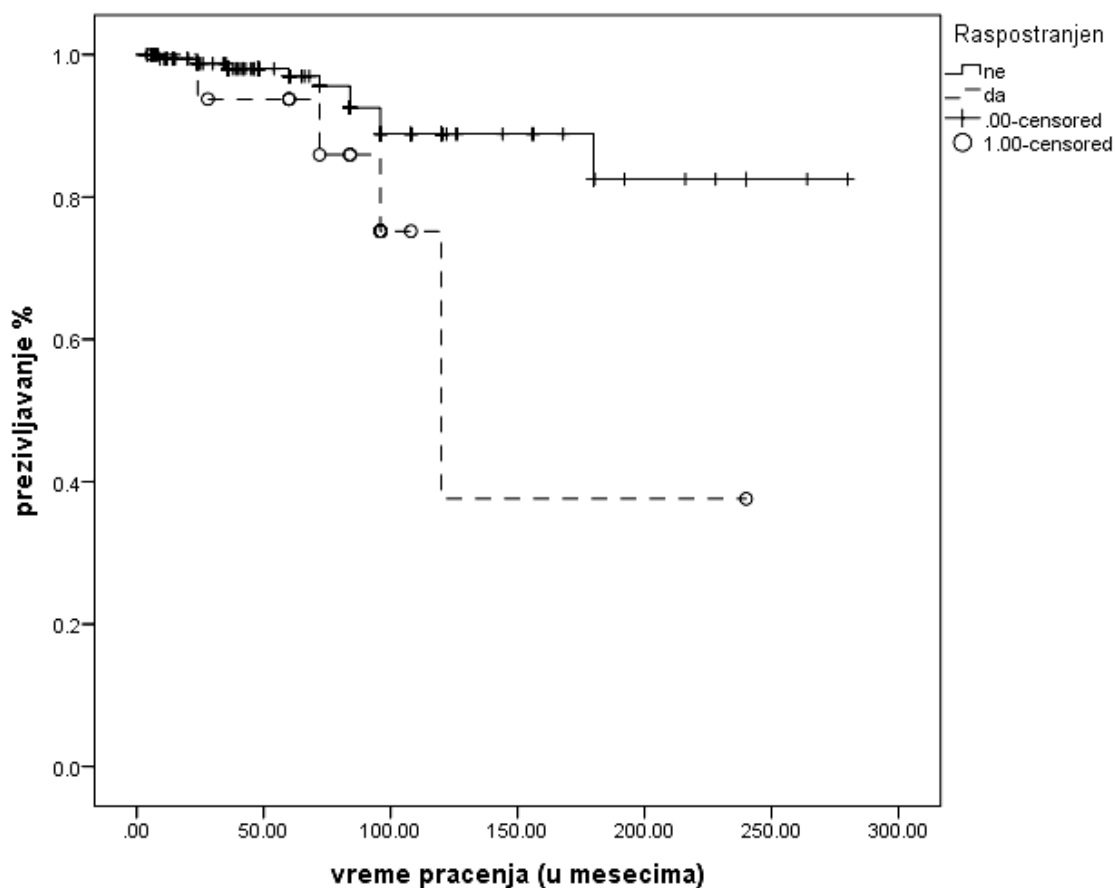


Tabela 12.4. Preživljavanje i HCV infekcija

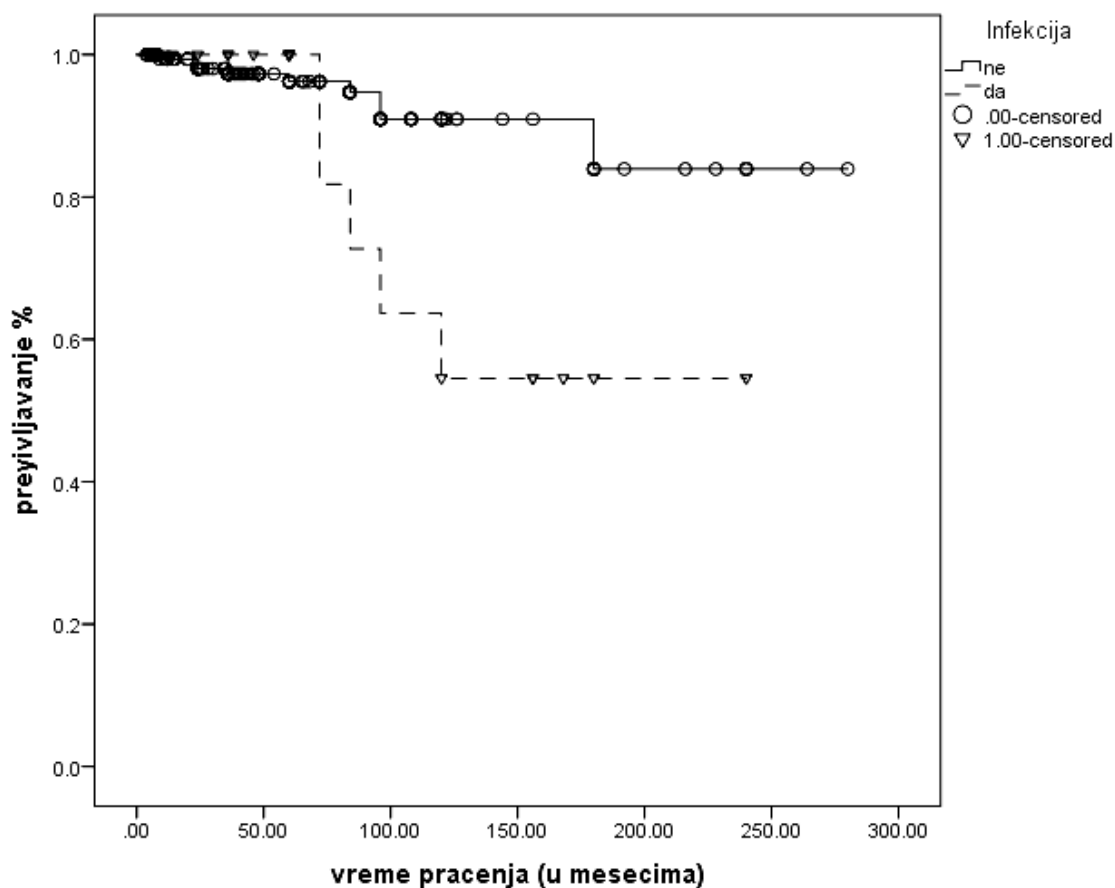
Infekcija	Vreme praćenja					Značajnost p [#]
	Jedno- godišnje	Petogodišnj e-godišnje	Desetogodišnje -godišnje	Dvadeseto -godišnje	Na kraju praćenja	
Ne	99.4%	96.2%	90.9%/	83.9%	83.9%	p=0.002*
Da	100%	100%	54.5%	54.5%	54.5%	

#Log-Rank test; *statistički značajna razlika

Statistički značajna razlika uočena je u preživljavanju ispitanika sa i bez infekcije (p=0.012). Ispitanici bez HCV infekcije imali su bolje preživljavanje, grafikon 8. U grupi bez HCV infekcije najduže vreme praćenja bilo je 280 meseci. Preživljavanje posle godinu

dana praćenja za ovu grupu bolesnika bilo je 99.4%, posle pet godina 96.2%, posle deset godina 90.9%, posle dvadeset godina 83.9%, i nije se menjalo do kraja perioda praćenja. Kod ispitanika sa infekcijom dužina praćenja bila je dvadeset godina, jednogodišnje preživljavanje za ove ispitanike iznosilo je 100%, koliko je bilo i posle pet godina praćenja. Desetogodišnje preživljavanje bilo je 54.5% , koliko je bilo i na kraju perioda praćenja.

Grafikon 8. Preživljavanje i HCV infekcija



Ispitanici i sa kliničkom i sa laboratorijskom remisijom imali su statistički značajno bolje preživljavanje od ispitanika kod kojih remisija nije bila postignuta.

Tabela 12.5 Preživljavanje i laboratorijska remisija

Laboratorijska remisija	Vreme praćenja					Značajnost p [#]
	Jedno-godišnje	Petogodišnje -godišnje	Desetogodišnje-godišnje	Dvadeseto -godišnje	Na kraju praćenja	
Ne	97.1%	94.1%	59.2%/	59.2%/	59.2%/	p=0.029*
Da	100%	95.8%	95.8%	95.8%	95.8%	

#Log-Rank test; *statistički značajna razlika

Između ispitanika sa i bez laboratorijske remisije uočena je statistički značajna razlika u preživljavanju (p=0,029), (Tabela 12.5). Ispitanici koji su imali laboratorijsku remisiju imali su i bolje preživljavanje, grafikon 9.

U grupi bez laboratorijske remisije preživljavanje posle godinu dana bilo je 97,1%, posle pet godina 94,1%, posle deset 59,2%, koliko je bilo i na kraju dvadeset godina praćenja ispitanika u ovoj grupi.

U grupi ispitanika sa remisijom laboratorijskom preživljavanje posle godinu dana bilo je 100%, posle pet godina 95,8% i nije se menjalo do kraja perioda praćenja koje je za ovu grupu ispitanika bio 280 meseci.

Grafikon 9. Preživljavanje i laboratorijska remisija

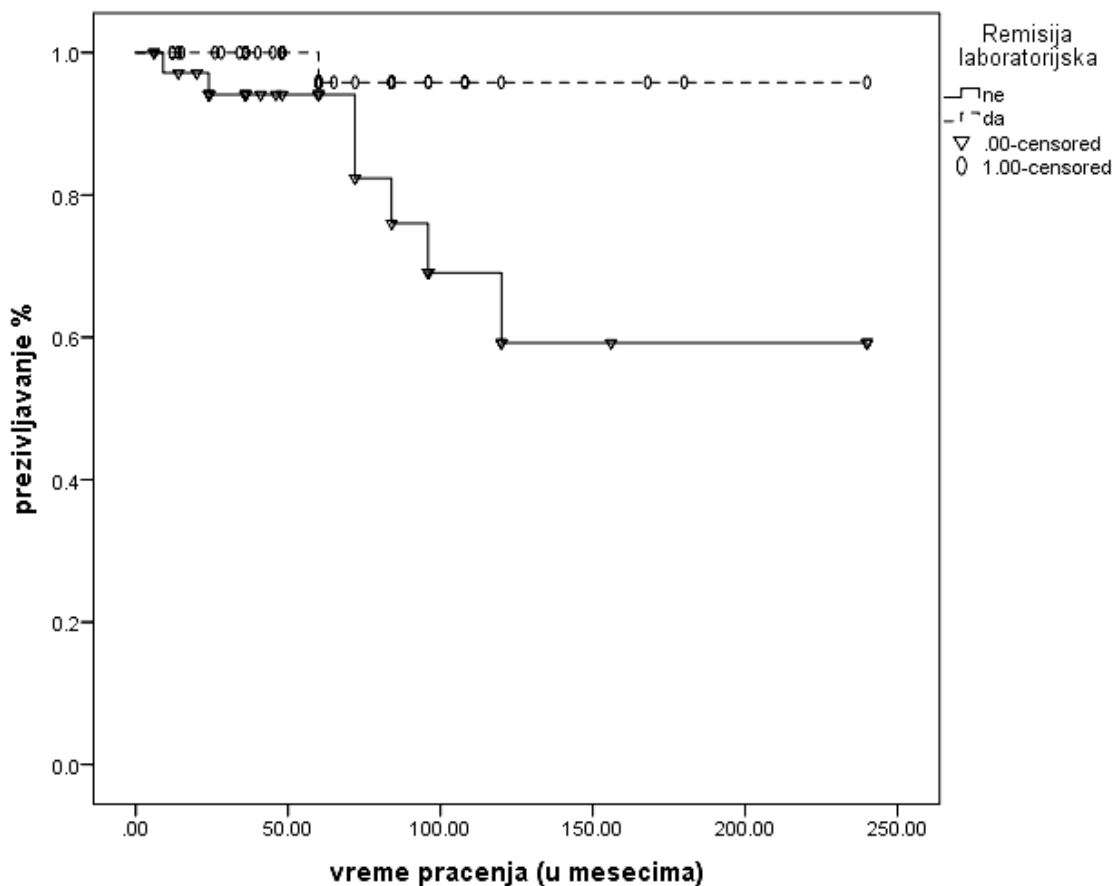


Tabela 12.6. Preživljavanje i klinička remisija

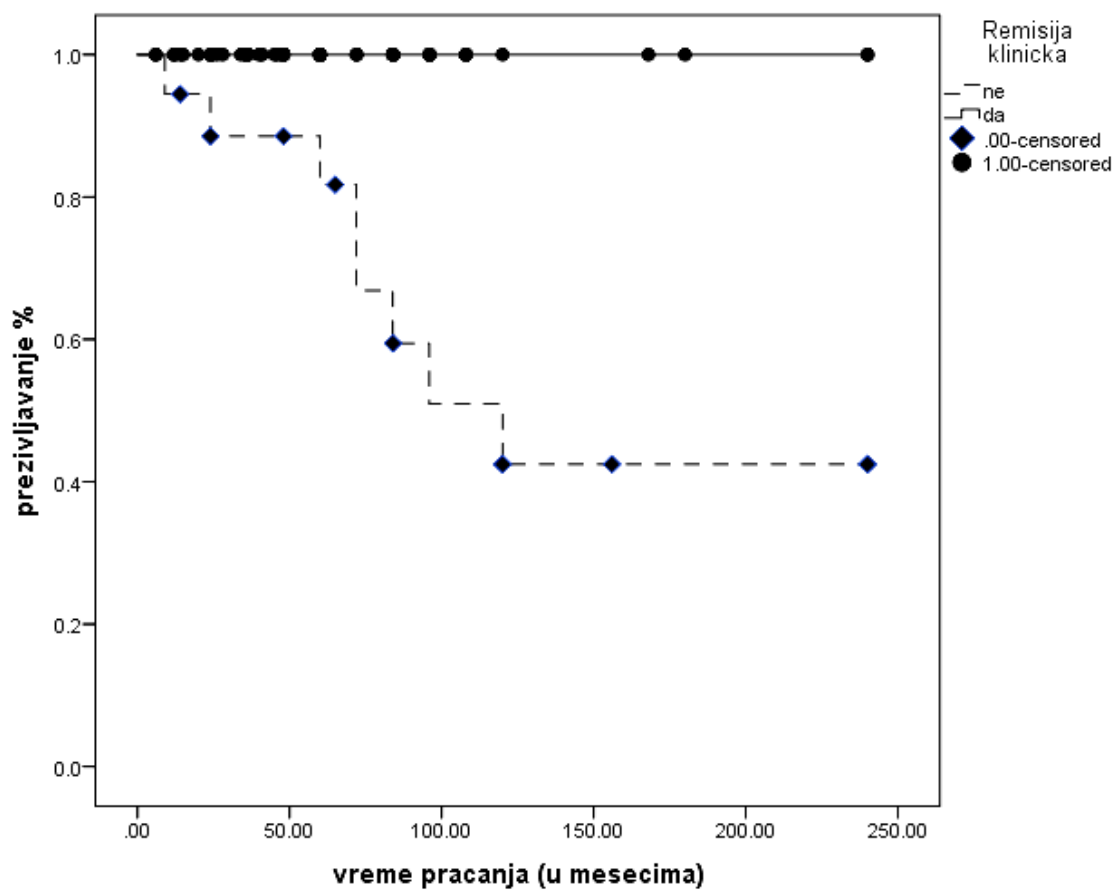
Klinička remisija	Vreme praćenja					Značajnost p [#]
	Jedno-godišnje	Petogodišnje	Desetogodišnje	Dvadeseto-godišnje	Na kraju praćenja	
Ne	94.4%	81.7%	42.5%	42.5%	42.5%	p=0.000*
Da	100%	100%	100%	100%	100%	

#Log-Rank test; *statistički značajna razlik

Statistički značajna razlika u preživljavanju uočene je i u odnosu na pojavu kliničke remisije kod ispitanika (p=0.000), (Tabela 12.6). Ispitanici sa kliničkom remisijom imali su bolje preživljavanje. U ovoj grupi ispitanicu su parćeni 20 godina i niko nije imao smrtni ishod. Kod ispitanikai bez kliničke remisije jednogodišnje preživljavanje bilo je 94.4%,

petogodišnje 81.7%, destogodišnje 42.5% i nije se menjalo do kraja perioda praćenja koji je za ovu grupu ispitanika bio 240 meseci.

Grafikon 10. Preživljavanje i klinička remisija



12.2. Cox-ova regresiona analiza

12.2.1. Univarijantna Cox-ova regresiona analiza posmatranih faktora

Posmatrani faktori		ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa	CV0	/	p = 0.053
	CV1	0.000 (0.000-/-)	p = 0.968
	CV2	3.822 (1.291-11.313)	p = 0.015*
Grupa etiologija	EMC	/	p = 0.010*
	Neinfektivne	2.176 (0.267-17.713)	p = 0.467
	HCV	10.426 (1.206-90.126)	p = 0.033*
Starost	1,044 (0,997-1,092)	p = 0.068	
Trajanje bolesti	0,701 (0,181- 2,718)	p = 0.608	
Pol	2,244 (0,609- 8,262)	p = 0.224	
Kožne promene	0,908 (0,304- 2,718)	p = 0.864	
Livedo	2,201 (0,762- 6,361)	p = 0.145	
Zglobne manifestacije	1,471 (0,509- 4,248)	p = 0.476	
Bubrežna lezija	1,471 (0,509- 4,248)	p = 0.476	
Sediment urina	0,286 (0,063- 1,297)	p = 0.105	
Proteinurija	1,411 (0,471- 4,223)	p = 0.538	
Isuficijencija bubrega	1,862 (0,415- 8,343)	p = 0.417	
Lezija GIT-a	2,419 (0,314-18,659)	p = 0.397	
Rasprostranjeni CV	1,108 (0,232- 10,171)	p = 0.055	
Malaksalost	27,259 (0,072- /)	p = 0.276	
Temperatura	1,842 (0,409- 8,298)	p = 0.426	
Infekcija (prisustvo)	3,681 (1,231-11,010)	p = 0.020*	
Krioglobulini semikvant.	1+	/	p = 0.672
	2+	1.041 (0.259-4.181)	p = 0.955
	3+	0.743 (0.076-7.289)	p = 0.799
	4+	2.028 (0.451- 9.120)	p = 0.356
Krioglobulin ig/L	1,120 (0,958- 1,309)	p = 0.157	
RF (krioglobulin)	0,930 (0,285- 3,035)	p = 0.905	
RF krioglobulin semikvant.	1,138 (0,614- 2,110)	p = 0.680	
Patološka EF seruma	2,161 (0,601-7,763)	p = 0.238	
RF (serum)	0,347 (0,095- 1,262)	p = 0.108	
Anti C1q antitela	0,377 (0,080- 1,778)	p = 0.218	
Anti SSAi/ili SSB	0,607 (0,200-1,839)	p = 0.377	
BVAS	1,044 (0,962- 1,134)	p = 0.303	
DEI	1,142 (0,883-1,477)	p = 0.311	
Druge bolesti	1,092 (0,962- 1,238)	p = 0.173	

*statistički značajno

Tabela 12.2.2 Multivarijantna Cox-ova regresiona analiza

Posmatrani faktori	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Starost	1.041 (0.992-1.093)	p = 0.099
Rasprostranjenost	2.639 (0.800- 8.702)	p = 0.098
Infekcija	3.268 (1.091-9.789)	p = 0.034*

*statistički značajno

Tabela 12.2.3. . Multivarijantna Cox-ova regresiona analiza posmatranih faktora i klinička manifestacija bolesti

Posmatrani faktori	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
CV0	/	p = 0,628
Grupa CV1	0.000 (0.000-/-)	p = 0,966
CV2	1.987 (0.491-8.035)	p = 0,336
Starost	1,038 (0,992-1,086)	p = 0.103
Infekcija	4,856 (1,155-20,417)	p = 0.031*

*statistički značajno

Tabela 12.2.4. Multivarijantna Cox-ova regresiona analiza posmatranih faktora i etiologija bolesti

Posmatrani faktori	ExpB (95%CI ExpB)	Značajnost
Grupa etiologija EMC	/	p = 0,025*
Neinfektivne	2.039 (0.248-16.782)	p = 0,508
HCV	8.349 (0.945-73.740)	p = 0,056*
Starost	1,034 (0,986-1,084)	p = 0.165

*statistički značajno

Cox-ovom regresionom analizom izdvajani su prediktori razlike u posmatranoj grupi ispitanika, u odnosu na preživljavanje.

Univarijantnom Cox-ovom regresijom kao statistički značajni izdvojeni su starost, prisustvo rasprostranjenog vaskulitisa i prisustvo HCV infekcije (Tabela 12.2.1).

Kao prediktor razlike za celu grupu, odnosno faktor rizika za lošijim preživljavanje izdvojeno je samo postojanje HCV infekcije i to tako da su ispitanici sa prisutnom infekcijom imali tri puta lošije preživljavanje, OR 3.268 (CI 1.091-9.789) (Tabela 12.2.2). Analizom ovih faktora u odnosu na grupe dobijene prema kliničkim manifestacijama bolesti (CV0, CV1, CV2), dobijeno je da je HCV infekcija i dalje jedini faktor rizika odnosno prognostički loš faktor za preživljavanje, OR 4.856 (CI 1.155-20.417) (Tabela 12.2.3). U odnosu na grupe sa različitim etiologijom prisutne krioglobulinemije, koja deli grupu na infektivne i neinfektivne krioglobulinemije, kao prognostički loša grupa za preživljavanje izdvajaju se ispitanici sa HCV infekcijom, OR 8.349 (CI 0.954-73.740) (Tabela 12.2.4).



Fotografija 1. Purpurične promene kod bolesnice sa krioglobulinemijom



Fotografija 2. Urtikarijalni vaskulitis kod bolesnice sa krioglobulinemijom



Fotografija 3. Hronični perimaleolarni ulkus kod bolesnika sa krioglobulinemijom i HCV infekcijom



Fotografija 4. Livedoidni vaskulitis kod bolesnice sa krioglobulinemijom



Fotografija 5. Multiple ulcerozne i ožiljne promene kod bolesnice sa krioglobulinemijom i MALT limfomom



Fotografija 6. Tipična distribucija hiperpigmentovanih promena usled odlaganja hemosiderina kod bolesnice sa recidivima purpura tokom 5godina



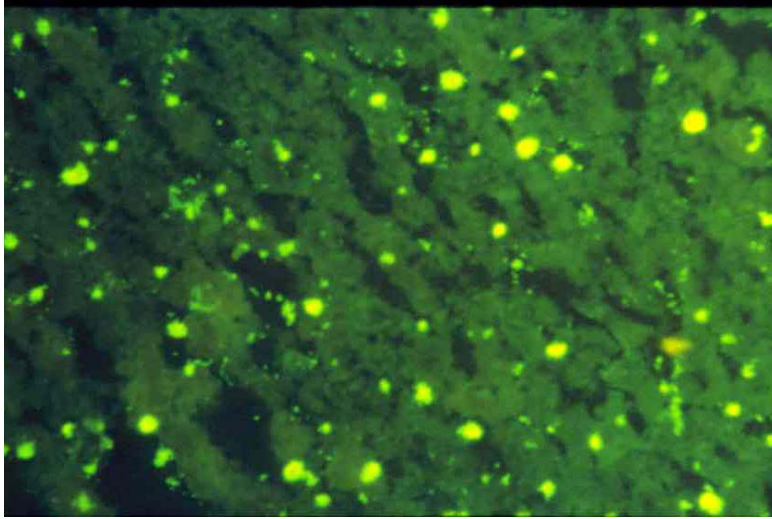
Fotografija 7. Purpurične promene na koži kod bolesnice sa HCV indukovanim krioglobulinemijskim vaskulitisom



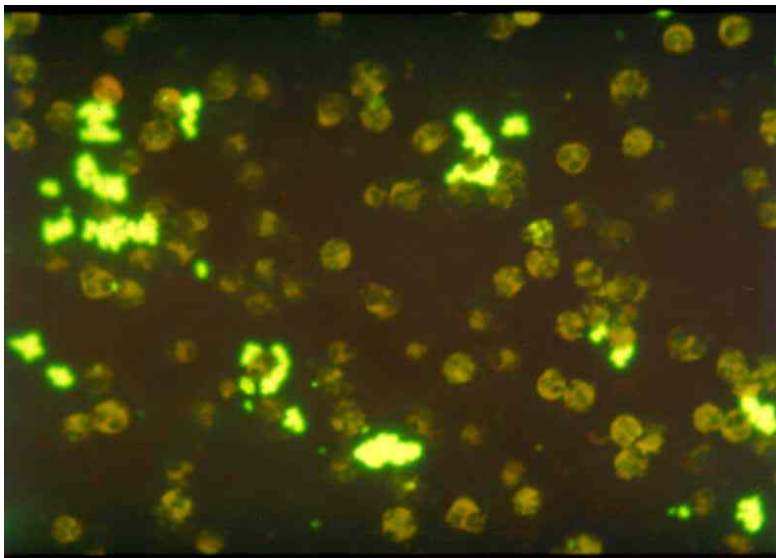
Fotografija 8. Tipične purpurične promene kod bolesnice sa EMC



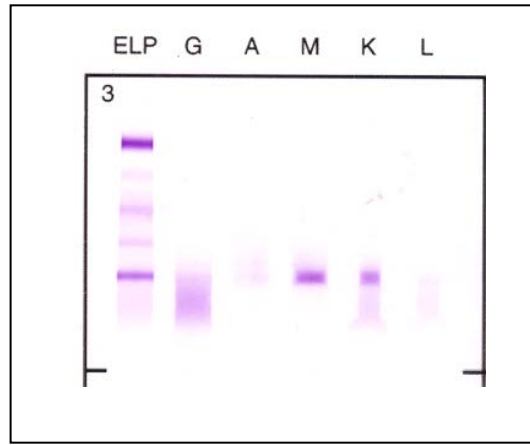
Fotografija 9. Ulcronekrotične promene kod bolesnika sa HCV CV



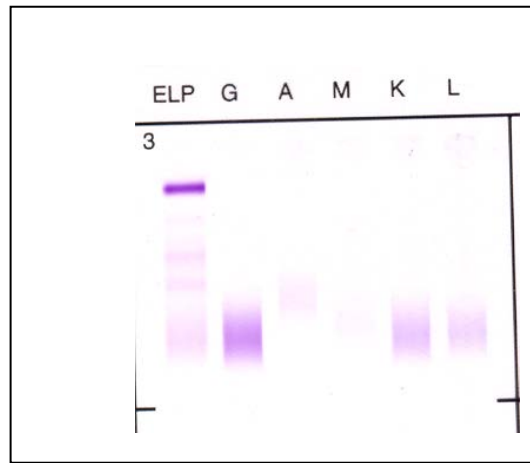
Fotografija 12. Precipitati monoklonskog krioproteina (na kriostatskim isečcima jetre, 400X)



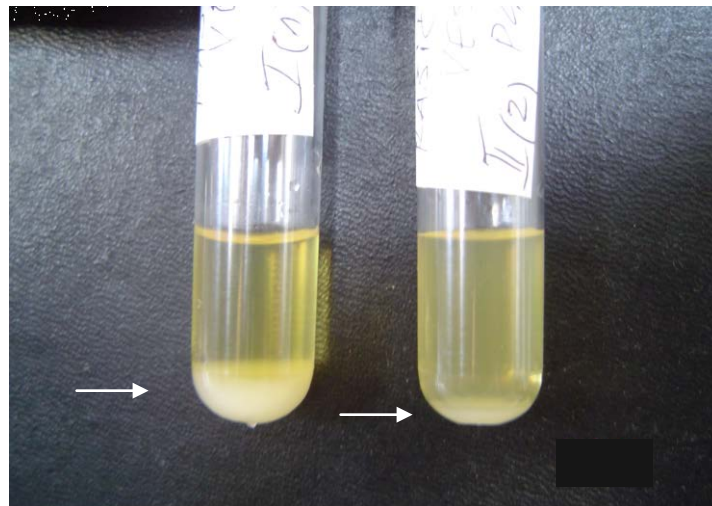
Fotografija 13. Precipitati krioproteina (citospin polimorfonuklearnih leukocita, IIF, etanol, 400X)



Fotografija 14. Imunofiksacija krioprecipitata
Monoklonski IgM kappo (II tip krioglobulinemije)



Fotografija 15. Imunofiksacija krioprecipitata
Poliklonski Ig (III tip krioglobulinemije)



Fotografija 16. Krioprecipitat

DISKUSIJA

Heterogenost krioglobulinemije je u kliničkom, laboratorijskom i prognostičkom smislu njena najupadljivija karakteristika. Dobijanje pozitivnog nalaza krioglobulina otvara potrebu za čitavim nizom dopunskih ispitivanja u cilju otkrivanja značaja njihovog prisustva.

Smatra se da je prevalencija krioglobulinemije nepoznata i da je svakako potcenjena (13) i da za to postoji više razloga. Prisustvo krioglobulina često nije praćeno simptomima bolesti, te njihovo prisustvo ostaje neotkriveno. Značaj krioglobulina je često zanemaren i potreba za njihovim određivanjem se često previdi, čak i u slučajevima jasnog vaskulitisa, gde bi to morao da bude jedan od nezaobilaznih testova. Epidemiološke studije su imale ograničenja, pre svega uslovljena nedostatkom validnih dijagnostičkih i klasifikacionih kriterijuma, koje je nedavno italijanska studijska grupa (GISC) za proučavanje krioglobulinemije kompletirala (56). I konačno, prevalencija je potcenjena i zbog mogućnosti dobijanja lažno negativnih nalaza, bilo neadekvatnog prelaboratorijskog i laboratorijskog postupka (39). Podaci o prevalenciji krioglobulinemije u literaturi uglavnom se odnose na krioglobulinemije u sklopu hronične HCV infekcije gde se smatra da preko 50% bolesnika ima cirkulišuće krioglobuline, ali da sliku krioglobulinemijskog vaskulitisa razvija samo 5% (47). Sam CV se smatra retkom bolešću i uključen je u listu retkih bolesti u Evropi (bolesti čija je prevalenca u opštoj populaciji manja od 5/10000) iako neka istraživanja i svakodnevna praksa ukazuju da je mnogo češći nego što se prvobitno mislilo (83). Epidemioški podaci o krioglobulinemijama druge etiologije su vrlo oskudni.

U našem istraživanju, analizirali smo glavne kliničke i imunoserološke osobenosti 201 bolesnika sa krioglobulinemijom ispitivanih, lečenih i praćenih u jednom centru između 2006. i 2015. godine. Najveći broj bolesnika, oko 80%, praćen je duže od godinu dana, a oko 30% čak duže od 5 godina. Naši bolesnici bile su pretežno osobe ženskog pola, prosečne starosti 50.8 godina, pri čemu je nešto više od polovine bolesnika (58.7%) imalo trajanje bolesti duže od jedne godine pre postavljanja dijagnoze krioglobulinemije i/ili

krioglobulinemijskog vaskulitisa (Tabela 2). Demografske karakteristike naših bolesnika u skladu su sa nalazima saopštenim za velike serije HCV pozitivnih bolesnika sa krioglobulinemijom (84), kao i sa rezultatima najveće multicentrične studije francuskih autora koja je obuhvatala 242 bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (85), s tim da je kod naših bolesnika nešto češće zastupljen ženski pol. Iako istraživanja ukazuju da je krioglobulinemija češća kod osoba starijeg životnog doba, ženskog pola, kao i da je u pozitivnoj korelaciji sa dužinom trajanja HCV infekcije i prisustvom ciroze (86), ovako upadljiva predominacija ženskog pola delimično se može objasniti pristrasnošću u selekciji, koja je proistekla iz opredeljenosti našeg centra za dijagnozu i lečenje sistemskih autoimunskih bolesti, za koje je poznata predominaciju osoba ženskog pola. To je u skladu sa nalazom Terriera i sar. koji navode da su bolesnici sa autoimunskom bolešću i krioglobulinemijom pretežno ženskog pola (92%)(85). Trajanje bolesti duže od godinu dana pre detekcije krioglobulina kod nešto više od polovine bolesnika (Tabela 2) takodje je u vezi sa predominacijom bolesnika sa sistemskim bolestima vezivnog tkiva koje su hroničnog karaktera, ali i činjenicom da je uočeno da može proći i više godina do detekcije krioglobulina iako postoji klinička slika vaskulitisa, najčešće tipa recidivantne purpore, što ide u prilog tvrdnji o zanemarivanju značaja određivanja krioglobulina (87). Odložena dijagnoza nije iznenadjujuća imajući u vidu polimorfizam kliničkog ispoljavanja ove bolesti, zbog čega se bolesnici često obraćaju lekarima različitih specijalnosti u zavisnosti od predominantnih simptoma.

Od otkrića HCV 1989. godine, najveći broj autora navodi hroničnu HCV infekciju kao glavni uzrok krioglobulinemije u 80-90% slučajeva (88,89). Kod naših bolesnika hronična HCV infekcija nadjena je kod njih 19 (kod jednog bolesnika postojala je koinfekcija sa HIV) što je oko 9% (Tabela 3.1.1). Ovako niska prevalencija može se objasniti opredljenošću naše ustanove za autoimunske bolesti, te je nalaz HCV pozitivnosti bio najčešće novootkriven, posle detekcije krioglobulina ili u redjim slučajevima radilo se o od ranije poznatim bolesnicima sa HCV infekcijom koji su imali sliku vaskulitisa i zahtevana je konsultacija imunologa. Kod jednog našeg bolesnika postojala je HIV koinfekcija, i u

takvim slučajevima krioglobulinemija je mnogo češća nego kod pojedinačnih infekcija ovim virusima (90).

Pre otkrića HCV, verovalo se da HBV može imati značajnu etiološku ulogu u nastanku esencijalne krioglobulinemije (91). Danas se smatra da se najčešće radi o koinfekciji sa HCV i da se krioglobulinemija udružena sa HBV sreće kod manje od 5% bolesnika (92). U našoj grupi ispitanika HBsAg-emija je nadjena kod 3%, što je u skladu sa podacima iz literature i nije bilo koinfekcije sa HCV (Tabela 3.1).

Bolesnici sa sistemskim autoimunskim bolestima, najčešće Sjögren-ovim sindromom (SS) (16%) (93), nešto redje sasistemskim eritemskim lupusom (SEL) i reumatoidnim artritismom (RA) (10-15%) (94), mogu imati krioglobulinemiju sa ili bez vaskulitisa, koji je češći kod Sjögrenovog sindroma, gde se i nalazi veća količina krioglobulina. I pored značajnog procenta krioglobulinemije kod bolesnika sa sistemskim bolestima vezivnog tkiva, u velikoj multicentričnoj studiji nadjena je niska prevalenca CV, oko 5% (94). Saopštenja o zastupljenost sistemskih bolesti vezivnog tkiva medju neinfektivnim krioglobulinemijama su različita, i kreću se od 30% (85) do 70% (95). Krioglobulinemija je kod naših bolesnika bila dominantno etiološki povezana sa postojanjem sistemske autoimunske bolesti, kod 54,2% bolesnika, što proističe iz opredeljenosti centra za ovakvu vrstu patologije (Tabela 3.1.1). Najčešća autoimunska bolest bio je SEL (samostalno ili udružen sa SS) kod više od polovine (63.3%) bolesnika sa autoimunskim bolestima i pri tome kod skoro polovine njih (45.5%) nije bilo manifestnog vaskulitisa (tabela 3.1.1). Klinički značaj krioglobulinemije u SEL je malo istraživano, navodi se da je povezan sa aktivnošću i težinom bolesti (posebno prisustvom nefritisa) i potrošnjom komplementa (16). SS je imalo 22 bolesnika, od kojih je više od polovine imalo vaskulitis. Postoje saopštenja koja ukazuju na veću prevalencu HCV infekcije kod bolesnika sa SS, što ukazuje da je krioglobulinemija kod bar nekih od tih bolesnika vezna za HCV (96). Kod naših bolesnika postojala je udruženost sa virusnom infekcijom kod troje bolesnika (Tabela 3.2). Druge autoimunske bolesti su bile redje zastupljene (sistemska skleroza, mešovita bolest vezivnog tkiva, reumatoidni artritis), a saopštenja u literaturi o krioglobulinemijama u okviru ovih bolesti su veoma retka. Značajna zastupljenost sistemskih autoimunskih bolesti medju bolesnicima sa neinfektivnim

krioglobulinemijama i/ili CV, ukazuje na potrebu sistematskog traženja njihovog prisustva kod bolesnika sa krioglobulinemijom, zbog prognostičkih i terapijskih specifičnosti.

Neka saopštenja ukazuju na zastupljenost hematoloških bolesti od oko 20% neinfektivnih krioglobulinemija (85), dok je u drugim navedeno oko 7% (21). Odavno je poznato da neki bolesnici sa krioglobulinemijom mogu dobiti limfome, obično posle dugotrajne evolucije bolesti (29,97). Štaviše, ukazano je na ulogu HCV u razvoju hematoloških maligniteta, posebno non-Hodgkin limfoma, gde se HCV nalazi kod 22-50% bolesnika (98). Kod naših bolesnika primarna hematološka bolest nadjena je kod njih četiri (2%), od kojih je dvoje imalo sistemsku autoimunsku bolest (jedan bez vaskulitisa i jedan sa lakim oblikom vaskulitisa) i kod svih je bolest bila otkrivena tek nakon detekcije krioglobulina (Tabela 3.2). U tri slučaja radilo se o non-Hodgkin limfomu, dok se jedan imao multipli mijelom. U našoj grupi ispitanika nije bilo udružene virusne i limfoproliferativne bolesti. Trejo i sar. (21) nalaze značajno preklapanje između HCV infekcije, SS i non-Hodgkin limfoma. Tzioufas i sar. (14) navode da prisustvo mešovite krioglobulinemije i monoklonskog RF mogu biti laboratorijski predikivni faktori za razvoj limfoma kod bolesnika sa SS, što nalaze detaljnu evaluaciju i praćenje bolesnika koji imaju ove udružene faktore.

Esencijalna krioglobulinemija (EMC) je bila zastupljena kod jedne trećine (32.8%) ukupnog broja naših ispitanika (Tabela 3.1). Ovakav nalaz približan je nalazu najveće multicentrične studije koja je obuhvatila 242 bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (85), gde je esencijalna EMC bila zastupljena sa 48%, dok Trejo sar. nalaze esencijalnu krioglobulinemiju kod 11% od ukupno 443 ispitanika (21). Mascia i sar. (95) nalaze esencijalnu krioglobulinemiju kod 29% neinfektivnih krioglobulinemija. Skoro polovina naših bolesnika sa EMC (45.5%) imala je laku formu vaskulitisa, dok je težak vaskulitis i odsustvo vaskulitisa bilo zastupljeno podjednako kod preostalih (Tabela 3.1).

U ovom istraživanju analizirali smo i preklapanje krioglobulinemija različitih etiologija. Ovakva situacija uočena je kod šest naših bolesnika, kod kojih je nadjeno preklapanje autoimunske i virusne (3 bolesnika) i autoimunske i limfoproliferativne bolesti (3 bolesnika) (Tabela 3.2). Trejo i sar. (21) nalaze preklapanje HCV i autoimunskih bolesti

kod 50% bolesnika sa SS, HCV i hematoloških bolesti kod 50% bolesnika sa Non-Hodkin limfomom, kao i da većina bolesnika sa HBsAg-emijom (80%) i HIV infekcijom (76%) imaju i HCV. Drugi autori nalaze sličnu povezanost (14,99) što sugerise na medjusobno usku povezanost infekcije, autoimunskih poremećaja i limfoproliferacije, uz mogućnost evoluiranja od poliklonske ka monoklonskoj i konačno jasno ispoljenom limfomu.

Poznato je da su infekcije drugim virusima osim hepatotropnih (cytomegalovirus, parvovirus B-19, Epstein-Barr virus), gljivicama (*Coccidiomycosis*), bakterijske (streptokokne infekcije, sifilis, Lajmska bolest) i parazitarne (toksoplazmoza, malarija), kao i različite maligne bolesti, takodje udružene sa pojavom krioglobulinemije i/ili CV (100), Saopštenja su oskudna i uglavnom se odnose na pojedinačne prikaze ili serije slučajeva, najčešće bez detaljne evaluacije krioglobulina. Kod 12 naših bolesnika sa krioglobulinemijom nadjeno je prisustvo maligne bolesti različite lokalizacije (dojka, kolon, žučna kesica), kao i različiti oblika hronične infekcije kod 5 bolesnika (hronični pijelonefritis, hronični cistitis, Lajmska bolest) i pri tome ove osobe nisu češće imale CV (Tabela 3.2). Kod dve osobe je krioglobulinemijski vaskulitis prethodio dijagnozi maligne bolesti, što bi ukazivalo na potrebu za detaljnijom evaluacijom bolesnika sa krioglobulinemijom, posebno u grupi bolesnika sa EMC i bolesnika sa HCV infekcijom obzirom na poznat onkogeni potencijal HCV za hepatocelularni karcinom i limfom (25).

Trijas prurpura-artralgija-malaksalost, dugo je poznata klinička prezentacija krioglobulinemijskog vaskulitisa (3), prisutna kod preko 90% bolesnika (191).

Oko 46% naših bolesnika (93/201) sa krioglobulinemijom imalo je kliničku sliku krioglobulinemijskog vaskulitisa, dok su ostali imali neke od kliničkih karakteristika, ali bez dovoljno kriterijuma za CV ili simptoma relevantnih za CV uopšte nije bilo (Tabela 2). Trejo i sar. takodje nalaze kliničke manifestacije kod 46% od ukupno 443 bolesnika sa krioglobulinemijom (21).

Oko polovina naših bolesnika sa EMC (34/66) imala je vaskulitis, koji je kod 14/66 bio teškog oblika (Tabela 10.2). Malo je podataka o učestalosti vaskulitisa kod EMC. U jednom saopštenju na malom broju bolesnika, 5 od 9 bolesnika sa EMC imalo je tešku

formu vaskulitisa sa predominantno bubrežnom lezijom i 12/16 bolesnika sa EMC u istorijskoj grupi je imalo kliničke simptome bolesti (95). Naši bolesnici sa EMC su češće imali CV u odnosu na bolesnike sa drugim neinfektivnim krioglobulinemijama (sistemske autoimunske i hematološke bolesti), ali manje često od bolesnika sa HCV infekcijom (Tabela 10.2). Međutim, našim istraživanjem je obuhvaćen veoma mali broj bolesnika sa HCV, koji su selekcionisani tako da sa većom verovatnoćom imaju vaskulitis, što je ranije objašnjeno, a imajući u vidu da je prevalenca CV kod bolesnika sa HCV posredovanom krioglobulinemijom negde oko 5-15% (89).

Purpura je najčešća klinička manifestacija CV i javlja se kod 55-100% bolesnika (102). Kod naših bolesnika, purpura je bila prisutna kod 65.9% bolesnika sa lakim vaskulitisom i kod 59.1% bolesnika sa teškim vaskulitisom, bilo samostalno ili udružena sa urtikarijom ili ulkusima kože što je u skladu sa podacima iz literature. Kod bolesnika sa EMC, purpura je bila prisutna kod 21/66 (32%) samostalno ili udružena sa urtikarijom ili ulkusima kože (Tabela 10.3.1). Saopštenja nekih autora ukazuju da su EMC i HCV krioglobulinemijama zastupljenost kožne promene zastupljene u sličnoj meri (85). Drugi nalaze češće prisustvo kožnih promena kod bolesnika sa HCV (103,104).

Ulkusi i/ili gangrene bile su prisutno kod ukupno 13 bolesnika (kod jednog bolesnika iz grupe CV0 postojao je ulkus nevezan za vaskulitis). Najčešće su perimaleolarne lokalizacije, hroničnog toka bilo da su udruženi sa purpurpurom ili ne (Tabela 4.1). Najčešće se radilo o teškim oblicima vaskulitisa, koji su zahtevali intenzivnu imunosupresivnu terapiju. Kod jednog bolesnika postignuto je uspešno zaceljenje ulkusa inicijalnom primenom terapijske izmene plazme.

Interesantno je prisustvo kožnih promena u grupi bolesnika sa krioglobulinemijom bez manifestnog vaskulitisa, koji je kod 21/108 bolesnika odgovarao urtikariji i/ili angioedemu (Tabela 4.1). Kod ovih bolesnika nije bilo kliničke niti HP potvrde vaskulitisa već je urtikarija odgovarala simpleks urtikariji/angioedemu hroničnog toka, a do nalaza krioglobulinemije došlo se u sklopu ispitivanja uzroka hronične urtikarije. Oskudni podaci u literaturi ukazuju na mogućnost pojave obične urtikarije u sklopu krioglobulinemije

(105). Rieu i sar. (48) nalaze urtikariju kod 4.1% bolesnika sa krioglobulinemijom, a takodje postoje pojedinačni opisi slučajeva (106,107). Kod naših bolesnika sa krioglobulinemijom bez vaskulitisa bile su predominantne sistemske autoimunske bolesti, što sugeriše da bi to mogao biti i patogenetski mehanizam njihove hronične urtikarije (dakle radilo bi se o autoimunskoj urtikariji povezanoj sa prisustvom autoantitela na IgE ili alfa subjedinicu visokoafinitetnog IgE receptora na mast ćelijama i bazofilnim leukocitima i posledičnu degranulaciju uz oslobađanje histamina i i drugih medijatora u perivaskularno vezivno tkivo) (108). Štaviše, u dva slučaja kod ovih bolesnika dobijen je pozitivan test autologim serumom. Drugi i redji pretpostavljeni patogenetski mehanizam mogao bi biti hladnoćom provocirana urtikarija/angioedem (što je u takodje dva slučaja potvrđeno pozitivnim provokacionim testom kockom leda) ili pojava angioedema u sklopu hipokomplementemije. I konačno, urtikarija se smatra jednom od dermatoloških ekstrahepatičih manifestacija hronične HCV infekcije za koju je poznata udruženost sa krioglobulinemijom, i to se odnosi i na simpleks urtikariju i na urtikarijalni vaskulitis (109). Malik i sar. (110) nalaze HCV pozitivnost kod 12.5% bolesnika sa običnom urtikarijom. Kod naših bolesnika sa esencijalnom krioglobulinemijom, 33% je imalo hroničnu urtikariju/angioedem, pri čemu u dostupnoj literaturi nisu nadjeni podaci o ovoj povezanosti (Tabela 10.3.1).

Prisutvo promena na koži tipa malarnog raša, makulopapulozne ospe i nespecifičnih kožnih promena kod skoro 30% bolesnika ne iznenadjuje, obzirom na predominaciju bolesnika s sistemskim autoimunskim bolestima pre svega SEL, za koje je poznata učestalost kožnih promena kod preko 70% bolesnika.

Livedo reticularis (LR), fini plavičasti mrežasti crtež koji odražava superficijalne vene, može se videti na koži kao posledica poremećene drenaže krvi u dermisu i sreće se udružen sa nekim bolestima ili se javlja posle izlaganja hladnoći, kada se viskoznost krvi povećava. LR se sreće kod krioglobulinemije, posebno tipa I. Rieu i sar. (48) nalaze LR kod 6.1% bolesnika sa CV. Kod naših bolesnika, LR je bio prisutan kod nešto manje od četvrtine ukupnog broja bolesnika (22.5%), značajno češće kod bolesnika sa vaskulitisom (Tabela 4.1).

Raynaud-ov sindrom je bio prisutan kod 31.8% naših bolesnika, bez značajne razlike u odnosu na prisustvo vaskulitisa, kao i etiologiju krioglobulinemije (Tabela 4.1). Podaci iz literature ukazuju da je Raynaud-ov sindrom češći kod krioglobulinemije koja prati sistemske autoimunske bolesti nego kod krioglobulinemija druge etiologije (94), Garcia-Carasco i sar. (16) nalaze Raynaud-ov sindrom kod 32% svojih bolesnika sa SLE i krioglobulinemijom, Rieu i sar. (48) kod 34.7% bolesnika sa CV. Sugerisana je povezanost Raynaud-ovog sindroma sa prisustvom krioprecipitabilnog monoklonskog RF (111), ali je kod naših bolesnika uočeno dva puta češće prisustvo Raynaud-ovog sindroma u odnosu na pozitivnost RF u krioprecipitatu. Kod većeg broja naših bolesnika uočen je izmenjen kapilaroskopski nalaz, češće kod bolesnika sa teškim vaskulitisom (oko 80%) (Tabela 4.2), što je u skladu sa nalazom Rossi i sar. (112) koji nespecifične kapilaroskopske promene nalaze kod 90% svojih bolesnika sa CV, gde takodje nije postojala pozitivna korelacija sa Raynaud-ovim sindromom..

Artralgije su deo Melzerovog trijasa, tipične prezentacije CV i kod naših bolesnika bile su prisutne kod 78.1%. Artralgije nisu bile vezane samo za prisustvo vaskulitisa, već se nalaze kod 71.4% bolesnika sa krioglobulinemijom bez vaskulitisa, u sličnoj meri kao i kod bolesnika sa lakim vaskulitisom. Bolesnici sa teškim vaskulitisom imali su artralgije znatno češće (Tabela 4.3). Iako se relativno visok prosek prisustva artralgija/artritisa može objasniti predominacijom bolesnika sa sistemskim autoimunskim bolestima, u značajnom procentu bile su zastupljene i kod bolesnika sa EMC (65.2%) (Tabela 10.3.2). Reiu i sar. (48) nalaze artralgije kod 51% bolesnika, nešto više kod bolesnika sa HCV, Trejo i sar. (21) kod 21% bolesnika sa krioglobulinemijom, dok Bryce i sar. (63) nalaze artralgije kod 21% bolesnika sa CV. Relativno visok procenat zglobnih manifestacija medju našim bolesnicima takodje se može objasniti predominacijom sistemskih autoimunskih bolesti. Karakteristike artritisa u CV su iste kao i kod bolesnika sa SS i SEL, radi se o simetričnom neerozivnom artritisu uz često zahvatanje malih zglobova šaka (113).

Malaksalost, takodje deo Melzerovog trijasa, bila je prisutna kod najvećeg broja bolesnika (78.6%) sa krioglobulinemijom, nešto češće kod onih sa vaskulitisom, posebno teškog oblika (Tabela 4.4). Nalazi miopatije, manifestovane bolovima u mišićima i/ili povišenim

mišićnim enzimima, prisutni kod 8% naših bolesnika i povišene temperature kod 12.4% (Tabela 4.4) u skladu su sa nalazima drugih autora.

Disfunkcija salivarnih i lakrimalnih žlezda klinički ispoljena kao *sicca* sindrom, opisana je kod bolesnika sa krioglobulinemijom ne samo udruženom sa Sjögrenovim sindromom, već i kod krioglobulinemija drugih etiologija, pre svega HCV infekcije. Ovi bolesnici obično nemaju anti SSA i SSB antitela (anti Ro/La), pa je mehanizam oštećenja žlezda drugačiji nego kod SS. Smatra se da se radi o inflamaciji posredovanoj taloženjem imunskih kompleksa (114). Rieu i sar. (48) nalaze *sicca* sindrom kod 34.7% bolesnika sa CV, dok ga Ferri i sar. (47) nalaze kod 60% bolesnika sa tipom II i 36% bolesnika sa tipom III krioglobulinemije. U našoj studiji *sicca* sindrom nalazimo kod polovine bolesnika sa krioglobulinemijom bez obzira na prisutan vaskulitis, očekivano najčešće kod bolesnika sa sistemskim autoimunskim bolestima (Tabela 4.5). Međutim, *sicca* sindrom je bio prisutan i kod 31.8% bolesnika sa esencijalnom krioglobulinemijom (Tabela 10.4.2). Scintigrafija pljuvačnih žlezda radjena je kod 50 bolesnika sa klinički prisutnim *sicca* sindromom i bila je pozitivna kod 84%, u sličnom procentu i biopsija malih pljuvačnih žlezda koja ide u prilog limfocitne infiltracije (gradus III-IV po Mason-Chisholmu) (Tabela 4.5). Vrlo su oskudni podaci u literaturi o *sicca* sindromu u sklopu krioglobulinemije bez kriterijuma za SS. SS (primarni i sekundarni) je bio prisutan kod 17.4% naših bolesnika (Tabela 3.1), dok anti SSA/SSB antitela nalazimo kod 36.3% (Tabela 7.4), što sugerise mogućnost evolutivnosti ka Sjögrenovom sindromu za bolesnike sa *sicca* sindromom, anti SSA antitelima i krioglobulinemijom, a bez dovoljno kriterijuma za SS.

Lezija nervnog sistema kod krioglobulinemije najčešće se ispoljava kao periferna senzorna i/ili senzomotorna polineuropatija, koja može biti rana, ponekad u početku i jedina manifestacija bolesti. Ona je simetrična i može biti ispoljena u različitom stepenu, od supkliničke do teške lezije, ponekad je asimetrična, nekada tipa mononeurtis multipleks i često je refraktarna na terapiju (115). Učestalost periferne neuropatije se kreće od 8% (21) kod bolesnika sa krioglobulinemijom do 55.1% (48) kod bolesnika sa CV. Kod naših bolesnika, periferna polineuropatija bila prisutna kod 17.9% (potvrđena neurološkim pregledom i elektroneurografijom), kod još dva bolesnika istovremeno sa mononeuritis

multipleksom, dok je kod dva postojao izolovano mononeuritis multipleks. Najčešće je bila prisutna kod bolesnika sa HCV indukovanom krioglobulinemijom (Tabela 4.6). Tome u prilog govore i nalazi multicentrične CryoVas studije objavljeni 2014. gde je saopšteno da je odnos polineuropatije kod HCV indukovane krioglobulinemije 75% i neinfektivnih krioglobulinemija 52% (85). Iako je polineuropatija bila zastupljenija kod naših bolesnika sa vaskulitisom, u značajnom procentu je bila prisutna i kod bolesnika koji nisu imali tipične manifestacije CV (12%). U ovoj grupi predominantni su bili bolesnici sa sistemskim autoimunskim bolestima koji kao deo kliničke slike mogu imati perifernu polineuropatiju. Međutim, treba imati u vidu mogućnost da polineuropatija, uz krioglobulinemiju i bez tipično prisutnih kožnih manifestacija CV, potrošnje komplementa i RF, u odsustvu sistemske autoimunske bolesti, ipak može biti vaskulitisne patogeneze, što bi nalagalo drugačiji terapijski pristup. Germignani i sar. (116) nalaze krioglobulinemiju kod 11 (13%) svojih bolesnika sa polineuropatijom nejasnog uzroka i sugerišu ispitivanje krioglobulinemije u prvoj liniji dijagnostičkih procedura za polineuropatiju srednjeg i starijeg životnog doba. Ženski pol, asimetrična distribucija, bolnost, dizestezije pre nego parestezije, su karakteristike koje upućuje na krioglobulinemijsku neuropatiju u odsustvu drugih simptoma (116).

Polineuropatija može biti inicijalna prezentacija bolesti ili se može javiti kasnije tokom kliničkog toka (117). Kod dva naša bolesnika sa CV koji prethodno nisu imali neurološku leziju, dolazi do ispoljavanja senzorimotorne polineuropatije tokom praćenja (Tabela 9.2) .

Lezije CNS ispoljene kao cerebralna ishemija, lezije kranjalnih nerava ili kičmene moždine, retke su manifestacije CV (118). Terrier ih nalazi kod 2% svojih bolesnika sa neinfektivnim CV (85), Trejo i sar. (21) kod 3% bolesnika sa krioglobulinemijom, dok Rieu i sar. (48) nalaze CNS leziju kod 6.1% bolesnika sa krioglobulinemijom i pri tome opisuju pojavu encefalopatije usled brzog porasta koncentracije krioglobulina (>15g/L) (48). Kognitivni poremećaji takodje mogu biti manifestacija vaskulitsa i Origgi i sar. ih nalaze kod 21% bolesnika sa CV. Kod naših bolesnika, CNS manifestacije su bile prisutne u 6% (Tabela 4.6), što je nešto veća učestalost koja bi se mogla objasniti ukupnom predominacijom bolesnika sa sistemskim autoimunskim bolestima, pre svega SEL.

Bubrežna lezija je najčešća visceralna manifestacija CV. Incidenca i način ispoljavanja renalnih manifestacija u krioglobulinemiji udruženoj sa HCV su dobro dokumentovani (119,120). Kada je reč o neinfektivnim krioglobulinemijama, većina podataka iz literature potiče od pojedinačnih prikaza slučajeva (121, 122). U jednoj multicentričnoj studiji koja je obuhvatala 20 HCV negativnih bolesnika sa renalnim manifestacijama CV, bilo je 50% sa EMC (123). Rezultati CryoVas studije u okviru koje je analizirano 242 bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama, ukazuju da je pojava bubrežne lezije kod ovih bolesnika slična sa onom kod HCV indukovane krioglobulinemije (85).

Kod mnogih bolesnika sa krioglobulinemijom, bubrežna bolest je indolentnog toka i retko dovodi do terminalne bubrežne insuficijencije. Međutim, lezija može biti i mnogo agresivnija, rapidoprogresivna, po tipu nefrotskog i/ili nefritičkog sindroma, kao i akutne oligurične bubrežne insuficijencije, sa ozbiljnom prognozom. Od 29 bolesnika sa životno-ugrožavajućim CV, 55% epizoda akutizacije bilo je vezano za krioglobulinemijski GN (124). Relapsi bubrežne lezije obično koincidiraju sa egzacerbacijom ekstrarenalnih simptoma, ali mogu se dogoditi i nezavisno.

Krioglobulinemijski glomerulonefritis (GN) se javlja kod više od 20% bolesnika sa CV i obično se ispoljava kao blaga proteinurija, mikroskopska hematurija i hipertenzija kod više od 50% bolesnika (125). Kod naših bolesnika sa krioglobulinemijom, bubrežna lezija je bila prisutna kod 30.3% (Tabela 4.7), češće kod bolesnika sa HCV posredovanom (52.6%) i neinfektivnim krioglobulinemijama (37.3%) nego kod EMC (15.2%) (Tabela 10.4.3). Najčešći nalaz bio je prisustvo patološkog sedimenta u vidu eritrociturije (23.9%). Interesantno je prisustvo eritrociturije u grupi bolesnika sa krioglobulinemijom bez vaskulitisa (16.7%) (Tabela 4.7). Iako je u ovoj grupi značajan procenat bolesnika sa sistemskim autoimunskim bolestima, pre svega SEL gde se može očekivati bubrežna lezija, treba imati u vidu mogućnost postojanja bubrežne lezije kao izolovane manifestacije CV. Prema podacima iz literature, kod najvećeg broja bolesnika simptomi CV godinama prethode pojavi bubrežne lezije, dok kod 29% simptomi bubrežne lezije počinju istovremeno sa drugim manifestacijama CV. Međutim, kod malog broja bolesnika ona može biti prva i jedina manifestacija CV (125). Prisustvo eritrociturije ili leukociturije uz

isključenu urinarnu infekciju, nalagalo bi detaljniju evaluaciju bubrežne lezije kod bolesnika sa krioglobulinemijom, uključujući i biopsiju bubrega (126).

Kod 26.9% naših bolesnika nadjena je značajna proteinurija, koja je kod najvećeg broja bila subnephrotskog stepena, 0.5-3.5 g/24h (Tabela 4.7). Najčešće je bila prisutna kod bolesnika sa HCV posredovanom krioglobulinemijom, dok se kod bolesnika sa EMC javila kod 15.2%, pri čemu kod njih nije bilo proteinurije nephrotskog ranga (Tabela 10.4.3.1). Izolovana proteinurija subnephrotskog ranga uobičajena je prezentacija krioglobulinemijskog GN (120). Kod 20% bolesnika se može pojaviti nephrotski sindrom, nephritični sindrom kod 14-25% i akutna bubrežna insuficijencija kod 9% bolesnika sa CV i oni su prediktori loše prognoze (127).

Devet naših bolesnika (14.1%) sa bubrežnom lezijom u sklopu CV, tokom praćenja ispoljilo je relaps bubrežne lezije u više navrata, obično istovremeno sa relapsom manifestacija na koži (Tabela 9.2). Pet bolesnika (5.5%) bez prethodno evidentne bubrežne lezije, nju je ispoljilo tokom praćenja (1 iz grupe sa EMC, 2 iz grupe sa neinfektivnim krioglobulinemijama, 1 iz grupe sa HCV i 1 sa HBsAg-emijom), od kojih je 4 od njih iz grupe bolesnika sa teškim vaskulitisom (Tabele 10.7 i 9.2).

Neki autori navode da više od 50% bolesnika sa CV ima blagu bubrežnu insuficijenciju koja kod jedne trećine postaje hronična unutar sledećih šest godina (117). Kod 10% bolesnika akutna oligurična bubrežna insuficijencija može biti prvi znak bolesti bubrega u sklopu CV. Kod naših bolesnika, njih 15 (7.5%) imalo je stabilnu hroničnu bubrežnu insuficijenciju manifestovanu porastom kreatinina preko 135mcg/L, dok je jedan bolesnik iz grupe sa teškim vaskulitisom imao terminalnu bubrežnu slabost (Tabela 4.7). U retrospektivnoj studiji 105 bolesnika sa nefropatijom usled CV i srednjim trajanjem bolesti 11 godina, prediktivni faktori za nastanak terminalne bubrežne insuficijencije bili su starost veća 50 godina, splenomegalija, kriokrit veći od 10%, nizak C3, rekurentna purpura, inicijalna vrednost kreatinina veća od 136mcg/L i HIV koinfekcija (123).

Biopsija bubrega kod 70-80% bolesnika sa CV pokazuje sliku membranoproliferativnog GN (55). Biopsija bubrega bila je uradjena kod naših 9 bolesnika i u samo jednom uzorku

nalaz je bio difuzni membranoproliferativni GN, dok su ostali odgovarali uglavnom difuznom proliferativnom GN. Ovakav nalaz je i očekivan imajući u vidu da je biopsija bubrega uglavnom uradjena kod bolesnika sa SEL i suspektnim lupus nefritisom.

Smatra se da je krioglobulinemijski GN karakterističan za tip II krioglobulinemije i da GN koji se javlja u III tipu pokazuje varijabilne i nespecifične glomerularne lezije. Krioglobulinemijski GN se povezuje sa prisustvom monoklonkog IgM kapa koji ima aktivnost RF i afinitet za glomerularne strukture, pre svega celularni fibronektin u mezangijalnom matriksu. Metodom IIF može se videti kao prisustvo subendotelnih depozita IgM, rezultujući u nefrotoksičnosti (128). RF komponenta u krioprecipitatu nadjena je kod 33.3% naših bolesnika (Tabela 5.1.2), a M komponenta kod 30.3% (Tabela 5.1.3), najčešće i u najvećoj količini kod bolesnika sa HCV posredovanom krioglobulinemijom koji su i najčešće imali bubrežnu leziju.

Prisustvo nefropatije značajno utiče na preživljavanje bolesnika sa CV. Kod bolesnika sa hroničnim GN Ferri i sar. (47) navode preživljavanje posle desetogodišnjeg praćenja od 33%, a Ramos-Casals (124) od 39%. Terrier i sar. (85) su pokazali da je glomerularna filtracija manja od 60 ml/min na prezentaciji, bez obzira na hematuriju i proteinuriju > 1g, udružena sa lošom prognozom. Relasp bubrežne lezije je bio je uzrok smrti kod tri naša bolesnika (kod dvoje u sklopu rasprostranjenog vaskulitisa) (Tabela 9.6). Takodje treba imati u vidu da su kardiovaskularne komplikacije glavni uzrok smrti kod bolesnika sa nefropatijom (85,117), a da je još 4 naša bolesnika imalo letalni ishod zbog ovih komplikacija.

Zahvatanje pluća u CV uglavnom se karakteriše subkliničkim alveolitisom koji ponekad može voditi ka intersticijumskoj fibrozi (129). Druge kliničke manifestacije koje uključuju alveolarnu hemoragiju i plućne lezije vezane za hiperviskozni sindrom, javljaju se kod manje od 5% bolesnika sa CV (55). Vrlo su oskudni podaci u literaturi o plućnoj leziji u CV, ali se smatra da je zahvatanje pluća udruženo sa lošom prognozom CV (85). U seriji od 49 slučajeva sa životno-ugrožavajućim CV, Ramos-Casals i sar. (124) nalaze smrtnost od 100% kod bolesnika sa plućnom hemoragijom.

Kod 15% ukupnog broja naših bolesnika utvrđeno je prisustvo plućne lezije. Dominirala je opstruktivna bolest pluća (6%), dok je restriktivna bolest bila prisutna kod 4% bolesnika (Tabela 4.8). Predominacija opstruktivne bolesti pluća kod naših bolesnika mogla bi biti u vezi sa značajnim prisustvom bolesnika s hipokomplementemijom i urtikarijalnim vaskulitisom, gde su plućne manifestacije deo sindroma HUVS (hipokomplementemijski urtikarijalni vaskulitisni sindrom), sistemske autoimunske bolesti koja u velikoj meru podseća na SEL, a koja se karakteriše postojanjem urtikarijalnog vaskulitisa, hipokomplementemije, teške HOBP, okularnih manifestacija (uveitis) i anti C1q antitela (130). Kod 31 (15.4%) bolesnika sa CV (12 iz grupe CV1 i 19 iz grupe CV2) postojao je urtikarijalni vaskulitis samostalno ili udružen sa purpurom (Tabela 4.1), dok je 53.3% bolesnika imalo je snižene vrednosti komplementa (Tabela 7.3), što bi sugerisalo na moguću povezanost krioglobulinemije, hipokomplementemije i urtikarijalnog vaskulitisa.

Interesantno je da je opstruktivna bolest pluća nadjena kod 9.1% bolesnika sa EMC (Tabela 10.4.3), urtikarija kod 36.3% (Tabela 10.4.1), a anti C1q antitela čak kod 37.5% (Tabela 10.5.3), što bi ukazivalo da neki od ovih bolesnika iako nisu dijagnostikovani kao sistemska autoimunska bolest, mogu, ukoliko promene na koži odgovaraju urtikarijalnom vaskulitisu, biti definisani ustvari kao sekundarne krioglobulinemije (u sklopu HUVS), a to bi imalo i terapijske implikacije.

Restriktivna plućna bolest nadjena je kod 4% naših bolesnika sa krioglobulinemijom (Tabela 4.8) što je u skladu sa podacima iz literature koji ukazuju na pojavu subkliničkog alveolitisa koji vodi plućnoj fibrozi, kao najčešćoj manifestaciji plućne lezije u CV(55). Druge plućne lezije tipa serozitisa i plućne hipertenzije treba razmatrati u kontekstu značajne zastupljenosti bolesnika sa sistemskim autoimunskim bolestima, pre svega SEL, gde su ove manifestacije uobičajene.

Lezije gastrointestinalnog trakta (GIT) su retke kod bolesnika sa CV (19, 21) i ispoljavaju se kao ishemije creva, hemoragije, peritonitis ili akutna lezija bilo kog abdominalnog organa uključujući pankreas i žučnu kesicu. Terrier i sar. (85) u seriji od 163 bolesnika sa HCV indukovanim CV, histološki dokumentovane GIT manifestacije zapaža samo kod četiri

bolesnika. U našoj studiji GIT manifestacije bile su prisutne kod ukupno 5 bolesnika, praktično svi su bili iz grupe sa teškim vaskulitisom (Tabela 4.8), pri tome je 2 bolesnika bilo iz grupe sa EMC (Tabela 10.4.3) što bi ukazivalo da ovako teške i životno ugrožavajuće forme bolesti mogu biti prisutne i nevezano za HCV indukovanu krioglobulinemiju.

Zahvatanje više organskih sistema, uključujući kožu i još bar dva organa (bubreg, GIT, pluća, CNS) ukazuju na postojanje rasprostranjenog vaskulitisa. Rasprostranjeni vaskulitis nadjen je kod 17 (8.7%) naših bolesnika, koji su samim tim pripadali grupi bolesnika sa teškim CV (Tabela 4.8). Najčešće je bio zastupljen kod HCV indukovane krioglobulinemije, dok je grupi bolesnika sa EMC bio prisutan kod njih 5 (7.6%) (Tabela 10.4.3). Bolesnici sa rasprostranjenim vaskulitisom različitog tipa izneti su u prikazima slučajeva (55) i smatra se da je njihova prognoza uvek ozbiljna (85).

Krioprecipitat je heterogen supstrat i varira u svom sastavu, termalnim karakteristikama i sposobnosti aktivacije komplementa, te proizilazi da se ne može očekivati da koncentracija krioglobulina u serumu koreliše sa težinom kliničke slike. U sastavu krioprecipitata nalaze se imunoglobulini, uključujući RF, albumini, fibronektin, fibrinogen, virusi i bakterije pri čemu su neki od ovih činilaca kontaminanti ili koprecipitanti (131).

Podaci o međusobnom odnosu količine krioglobulina i težine kliničkih manifestacija su kontroverzni. Neki od autora nalaze da je količina krioglobulina povezana sa pojavom kliničkih manifestacija CV (21), dok drugi ovakvu povezanost ne nalaze (8,63,132). Neki autori nalaze čak inverzni odnos između količine krioglobulina i pojave vaskulitisa (133). Činjenica je da može postojati i velika količina krioglobulina potpuno asimptomatski (47), što bi ukazivalo da težina kliničkih simptoma ne zavisi samo od količine krioglobulina. Većina autora prednost daje tipu krioglobulina. Bolesnici sa malom količinom krioglobulina III tipa obično nemaju kliničke manifestacije vaskulitisa, za razliku od onih sa II tipom (144). Takodje, pojava vaskulitisa izgleda bolje koreliše sa sposobnošću krioglobulina da aktivira komplement, nego sa količinom krioglobulina (16).

Ipak, poznavanje količine krioglobulina može pomoći u odlukama o načinu lečenja (npr. terapijska izmena plazme u slučaju vrlo visokih vrednosti krioglobulina) (145). Većina autora se slaže da kada su vrednosti kriokrita $>5\%$ najčešće postoji klinička slika CV (146), kao i da mala količina krioglobulina ne treba da bude zanemarena kada je prisutna klinička slika koja upućuje na CV. Treba imati u vidu da količina krioglobulina može fluktuirati i biti lažno mala kao posledica njihove *in vivo* precipitacije (13).

Prosečna količina krioglobulina kod naših bolesnika bila je 3.50 g/L (Tabela 5.1.1). Sargur i sar. (39) nalaze kod najvećeg broja svojih bolesnika količinu krioproteina između 0.5 i 3.99 g/L, 29% je imalo količinu manju od 0,5 g/L, dok je 17% je imalo vrednosti preko 4 g/L.

Naši rezultati ukazuju da su bolesnici koji su imali vaskulitis, posebno teže forme, imali i veću količinu krioglobulina (Tabela 8.3). Pri tome su bolesnici sa EMC imali količinu krioglobulina sličnu onoj kod neinfektivne krioglobulinemije, ali značajno manju od bolesnika sa HCV indukovanom krioglobulinemijom (Tabela 10.5.1). To se slaže sa nalazima nekih autora, koji takodje nalaze veću količinu krioglobulina kod HCV indukovane krioglobulinemije u odnosu na druge etiologije (147). Medjutim, drugi autori tu razliku ne nalaze (48).

Otežavajuća okolnost, kada se radi o proceni značaja količine krioprecipitata, čini nepostojanje internacionalno prihvaćenih referentnih vrednosti (148). Laboratorije se veoma razlikuju u pristupu analizi krioglobulina i saopštavanju rezultata. Nalazi se kreću od jednostavne kvalitativne detekcije negativni/pozitivni, do detaljnih analiza koje uključuju kvantifikaciju i tipizaciju. Obično se navodi referentna vrednost od 20-80mg/L za ukupnu količinu proteina u krioprecipitatu. Ova široka varijacija u referentnim vrednostima može proisticati iz različite koprecipitacije drugih proteina (148), a nedostatak referentnih vrednosti može delovati zbunjujuće u kliničkoj praksi.

Neki autori ističu značaj određivanja krioglobulina u praćenju uspeha terapije (149). Naši rezultati podržavaju takve nalaze. Naime, kod 40.8% bolesnika krioglobulini postaju negativni na kraju perioda praćenja, dok je kod 22.3% količina krioglobulina smanjena,

dakle 63.1% bolesnika je krioglobuline izgubio ili smanjio. Najčešće krioglobulini postaju negativni u grupi bez vaskulitisa (47.9%) i grupi bolesnika sa teškim vaskulitisom(45.7%) (Tabela 9.5). Smanjenje ili gubitak krioglobulina može se objasniti povoljnim efektom primenjene terapije, posebno u grupi bolesnika sa teškim vaskulitisom gde je primenjivana visoka doza glikokortikoda i citotoksičnih lekova. Bolesnici sa EMC i neinfektivnoim krioglobulinemijama su u približno istom stepenu redukovali odnosno izgubili krioglobuline, dok bolesnici sa HCV indukovanom krioglobulinemijom u najvećem broju zadržavaju isti ili nešto niži stepen krioglobulinemije (Tabela 10.9), što je u skladu s nalazima drugih autora da HCV indukovane krioglobulinemije najčešće održavaju relativno visoke vrednosti krioglobulina (145).

Analize krioprecipitata pokazuju da jedna četvrtina do jedne trećine krioprecipitabilnog materijala nisu imunoglobulini (150). Ti drugi sastojci su C1q, C reaktivni protein (CRP), HCV antigen kada se radi o ovom tipu krioglobulinemije, i molekuli lektinskog puta aktivacije komplementa (MBL i MBL-serinska proteaza za koji je pokazana uloga u patogenezi membranoproliferativnog GN) (151). Pored toga što kvantitativni doprinos ovih komponenti nije jasno utvrđen, one omogućavaju alternativni način aktivacije komplementa preko klasičnog ili lektinskog puta, npr. aktivacija C1q putem CRP u prisustvu fosfolipina produkovanog od apoptotičnih ćelija (152).

Uobičajeno se u tipu II krioglobulina nalazi monoklonski protein, najčešće IgM i poliklonski IgG. Prisustvo M komponente drugih izotipova, posebno u slučaju vrlo velikih količina krioprecipitata, ukazuje na prisustvo tipa I krioglobulina i nalaže isključenje hematološke bolesti (monoklonske gamapatije odnosno MM). Sargur i sar. (39) nalaze tip I kod 14.3% (količina krioprecipitata 4.11g/L), tip II kod 22.3% (količina krioprecipitata 2.45 g/L) i tip III kod 63.2% (0.72 g/L) od 188 krioprecipitata. Najčešće je u precipitatu bio prisutan IgM kapa, ali je nadjeno prisustvo i IgM lambda, IgA kapa i IgA lambda u po jednom slučaju, kao i IgG kapa u dva slučaja.

Tipizacija krioglobulina je važna pre svega zbog odvajanja krioglobulinemija koje su vezane za hematološku malignu bolest od onih koje su vezane za imunsku stimulaciju, pa

će prema tome biti određen dalji postupak sa takvim bolesnikom. Razlikovanje tipa II i tipa III krioglobulinemija nije od neposrednog značaja, jer se u oba slučaja radi o imunskoj stimulaciji i/ili infekciji. Međutim, njihovo razlikovanje bitno je zbog prognoze, obzirom da tip II pokazuje moguću evolutivnost u pravcu limfoma i češće je udružen sa pojavom vaskulitisa u odnosu na tip III (19,153). Tip I nije udružen sa prisustvom RF, niti imunskih kompleksa te prema tome ne dolazi do aktivacije komplementa, već izaziva dominantno hiperviskozne smetnje i udružen je sa B ćelijskim malignim bolestima.

Kod naših bolesnika dominirao je III tip krioglobulinemija (70.3%), dok je II tip bio prisutan kod 28.5% bolesnika, a I tip kod 1.2% (Tabela 6). Zastupljenost pojedinih tipova krioglobulinemije u saopštenjima različitih autora varira i uglavnom zavisi od kliničke specijalnosti (krioglobulinemije tipa III dominiraju u saopštenjima reumatologa, a krioglobulinemije tipa II u saopštenjima nefrologa, hepatologa), kao i od toga da li su u ispitivanje uključeni samo bolesnici sa CV ili i asimptomatske krioglobulinemije. Trejo i sar. (21) nalaze tip II kod 56% svojih bolesnika sa krioglobulinemijom, Rieu i sar. (48) kod 55.9%. Najveća zastupljenost tipa III krioglobulinemije kod naših bolesnika može se objasniti predominacijom bolesnika koji nisu imali kliničku sliku vaskulitisa (108) u odnosu na one sa vaskulitisom (83), kao i značajnog broja bolesnika sa sistemskim autoimunskim bolestima, pre svega SEL, gde se češće sreće tip III krioglobulinemije (95). U grupi naših bolesnika sa EMC takodje je dominirao tip III krioglobulinemije (77.1%), kao i u grupi neinfektivnih krioglobulinemija (73.7%), dok je kod HCV posredovane krioglobulinemije bilo više bolesnika sa tipom II bio (57.9%) (Tabela 10.5.2).

Povećano stvaranje imunoglobulina (hipergamaglobulinemija) karakteristika je krioglobulinemije, koja je istovremeno i autoimunska i benigna limfoproliferativna bolest, koja u jednom broju slučajeva, pod uticajem još uvek nedovoljno poznatih egzogenih i endogenih faktora, može evoluirati do maligne limfoproliferacije. U tome bitnu ulogu igra i vreme, jer je pokazano da je dugotrajnija bolest odnosno prolongirana antigenska stimulacija povezana sa većom verovatnoćom prisustva krioglobulina odnosno monoklonskog IgM kapa RF koji ima krioprecitabilna svojstva (154). Imajući to u vidu, u serumskoj EF proteina može se očekivati prisustvo povećane gama frakcije. Rieu i sar. (48)

nalaze hipergamaglobulinemiju kod 20.4% bolesnika sa CV. Bryce i sar. (63) nalaze normalnu EF kod 60% svojih bolesnika sa CV, kod 12% poliklonsku hipergamaglobulinemiju i kod 2% hipogamaglobulinemiju, dok je kod 26% vidjena nepravilnost krivulje sa pojavom malog pika.

Kod naših bolesnika, patološki nalaz EF proteina seruma bio je prisutan kod 61.9% bolesnika, značajno češće kod bolesnika sa teškim vaskulitisom. Hipergamaglobulinemija je zapažena kod 23.2% bolesnika, takodje najčešće kod onih sa teškim oblikom vaskulitisa (Tabela 7.1).

Interesantan je nalaz koji glasi "sumnja na prisustvo paraproteina" koji je najčešći poremećaj EF uočen kod 37.1% naših bolesnika, najviše onih sa teškim vaskulitisom. Obzirom da kod mnogih od njih tokom daljeg ispitivanja nije nadjena M komponenta, moguće je da prisustvo krioglobulina interferira sa ovom metodom tako da se krioglobulin zaustavi u elektroforetskom polju u zavisnosti od svoje termalne amplitude i deformiše precipitacionu liniju, koja se zatim interpretira kao izmenjena gama zona na EF krivulji.

Monoklonske gamopatije su grupa benignih ili malignih limfoproliferativnih bolesti koje se odlikuju proliferacijom jednog klona plazma ćelija koje proizvode monoklonski protein. Klinički spektar varira od monoklonske gamopatije neodređenog značaja, do multiplog mijeloma i Waldenströmove makroglobulinemije ili pojava M komponente može biti u sklopu malignog limfoma.

M komponenta u krioprecipitatu je nadjena kod 30.3% naših bolesnika, što je slično vrednosti RF u krioprecipitatu (33.3%) imajući u vidu da M komponenta u krioglobulinemijama tipa II ima aktivnost RF. Iako je najčešće bila IgM κ izotipa (9.1%), nadjene su i drugi: IgM λ , IgG κ , IgG λ , IgA izotipovi (Tabela 5.1.3). Garcia-Carasco i sar. (16) nalaze prisustvo M komponente u krioprecipitatu kod oko 10% svojih bolesnika sa SEL. Bryce i sar. (63) imunofiksacijom nalaze M komponentu kod 49% svojih bolesnika sa CV, takodje pored dominantne IgM κ i druge izotipove. IgG monoklonska komponenta bila je dominantna kod naših bolesnika sa EMC i neinfektivnim krioglobulinemijama, dok je kod HCV posredovane krioglobulinemije najzastupljeni IgM κ , što je očekivano (Tabela

10.5.3). Većina autora prisustvo krioglobulinemije uz monoklonski IgM κ vezuje za postojanje hronične HCV infekcije, gde se monoklonska komponenta nalazi kod 2-11% bolesnika (155).

Interesantno je prisustvo biklonskih (oligoklonskih) imunoglobulina u krioprecipitatu, koji su kod naših bolesnika nadjeni kod 6.1%, najviše kod grupe sa teškim vaskulitisom (Tabela 5.1.3), a u odnosu na etiologiju najviše kod bolesnika sa EMC (Tabela 10.5.1). Ovakav nalaz se ne uklapa u poznatu Brouetovu klasifikaciju. Smatra se da bi to moglo da ukaže na poseban tip II-III krioglobulinemije (oligoklonski IgM i poliklonski IgG) (156) koja bi označavala tranzitorni proces od tipa III ka tipu II, ukazujući da je krioglobulinemija dinamični proces.

IgM κ u serumu bolesnika sa vaskulitisom (grupe CV1 i CV2) bila je češće prisutna (Tabela 7.1), kao i kod HCV značajno više nego kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (Tabela 10.5.3).

Nalaz monoklonskog IgM κ sa aktivnošću RF, zajedno sa potrošnjom komplementa, dijagnostički su kriterijumi CV. Nisko afinitetni RF je prirodno polireaktivno antitelo u serumu, sa specifičnošću za IgG. Njegova uloga u imunskom odgovoru nije u potpunosti jasna, ali se smatra da pomaže u klirensu imunskih kompleksa čineći ih većim i aktivišući komplement (157). Navodi se da je povišen RF u serumu udružen sa većom incidencom krioglobulinemije (158). Nivo serumskog RF je pozitivan kod većine bolesnika sa krioglobulinemijom i pri tome, nivo koreliše sa količinom krioglobulina (153). Nalaz RF je uobičajen u hroničnoj HCV infekciji (75-100%) (159).

Oko polovina naših bolesnika (51.3%) imala je povišen RF u serumu (prosečna vrednost 105.6 IU/mL). Nije nadjena statistički značajna razlika između bolesnika sa i bez vaskulitisa, iako su upadljivo najvišu prosečnu vrednost imali bolesnici sa teškim vaskulitisom (173.63 IU/mL) (Tabela 7.2). Nadjena je korelacija između količine krioglobulina i prisustva RF u krioprecipitatu, kao i negativna korelacija između količine krioglobulina i koncentracije RF u serumu (Tabela 8.3). To bi moglo da ukaže na različit krioprecipitabilan potencijal pojedinih RF, kao i da niži ili čak odsutan RF u serumu, u

prisustvu drugih kliničko-seroloških pokazatelja CV, može da znači *in vivo* precipitaciju. Prisustvo RF kod bolesnika sa krioglobulinemijom u saopštenjima različitih autora varira i kreće se od 31.5% (160) do 97% (63) bolesnika. Garcia i sar. (16) nalaze prisustvo RF kod 42% bolesnika sa SEL i krioglobulinemijom, nasuprot 15% bez krioglobulinemije. Rieu i sar. (48) nalaze RF kod 47.1% , a Trejo i sar. (21) kod 69% bolesnika sa CV i 42% asimptomatskih.

Kad se posmatra etiologija krioglobulinemije kod naših bolesnika, RF je najčešće prisutan kod HCV posredovane krioglobulinemije (66.7%), dok je kod EMC bio prisutan kod 40% (Tabela 10.5.3). Pietrogrande i sar. (161) su pokazali su linearnu povezanost između povišenog RF u serumu i količine krioglobulina izražene kriokritom kod svojih bolesnika sa EMC. Ovakav nalaz kod naših bolesnika samo je delimično prisutan. Naime, ovakva povezanost se može uočiti samo kod onih sa HCV indukovanom krioglobulinemijom, koji su imali najviše vrednosti krioglobulina i najviše vrednosti RF i u serumu i u krioprecipitatu, kao i za bolesnike sa teškim vaskulitisom, dok ona nije bila uočljiva za bolesnike bez vaskulitisa i one sa lakim vaskulitisom, kao i za bolesnike sa EMC i neinfektivnim krioglobulinemijama.

Udruženost hipokomplementemije i krioglobulinemije, kao i učešće aktivacije sistema komplementa klasičnim putem, dobro su poznati u patogenezi vaskulitisa. Smanjena koncentracija C4 komponente komplementa je jedan od laboratorijskih dijagnostičkih kriterijuma. Kod bolesnika sa HCV posredovanim CV, ovakav profil (nizak C4, normalan ili snižen C3) koreliše sa nivoom krioglobulina i titrom RF, može ponekad biti nadjen i u odsustvu krioglobulina i RF-a u serumu, a nekada može perzistirati zajedno sa krioglobulinima i posle iščezavanja virusa, dok u suštini slabo koreliše sa kliničkim simptomima (162). U nekim situacijama, vrednosti komplementa su na donjoj granici ili su čak povišene, što je posledica inflamacije u vaskulitisu, pa prema tome njihova vrednost u serumu ne odražava nivo aktivacije komplementa (163).

Trejo i sar. (21) nalaze sniženje CH50 kod 71%, smanjenu koncentraciju C4 kod 50% i C3 kod 25% bolesnika sa krioglobulinemijom različite etiologije, pri čemu su pacijenti sa

simptomatskom krioglobulinemijom imali češće smanjenu koncentraciju C4. Sniženje komplementa bila je češće udružena sa pojedinim kliničkim manifestacijama. Naime, pacijenti sa kutanim manifestacijama su u 64% slučajeva imali nizak C4, dok su oni sa glomerulonefritisom imali sniženje CH50 kod 84% i C4 kod 66% slučajeva. Pacijenti sa HCV indukovanom krioglobulinemijom imaju češće prisutnu hipokomplementemiju i *in situ* aktivaciju sistema komplementa (21). Bryce i sar. (63) nalaze smanjenu koncentraciju komplementa kod 81% od 66 svojih bolesnika sa CV.

Kod naših bolesnika sniženje C3 i/ili C4 komponente komplementa nadjena je kod 53.3%. Izolovano sniženje C3 komponente komplementa najzastupljenije je bilo kod grupe CV0 (19.2%) gde su dominirali bolesnici sa sistemskim autoimunskim bolestima, pre svega SEL, gde je sniženje ove komponente može biti jedan od patogenetski mehanizama nastanka bolesti. Upadljivo češće sniženje C4 komponente nadjeno je u grupi bolesnika sa vaskulitisom, a posebno sa teškim vaskulitisom, gde je najzastupljenja, kao i sniženje C3/C4 komponente komplementa (Tabela 7.3). Bolesnici sa EMC su značajno redje imali smanjenu koncentraciju komplementa u odnosu na bolesnike sa neinfektivnim krioglobulinemijama i HCV indukovanom krioglobulinemijom (Tabela 10.5.3).

Sniženje C1q prati sniženje C4 komponente i posledica je aktivacije sistema komplementa klasičnim putem (152). Kod naših bolesnika sniženje C1q komponente nadjeno je samo kod bolesnika sa vaskulitisom, više kod onih sa teškim (42.9%), dok grupi CV0 nije nadjeno (Tabela 7.3). Sniženje C1q bilo je podjednako zastupljeno kod bolesnika sa EMC, neinfektivnim i HCV indukovanom krioglobulinemijom (Tabela 10.5.3).

Stečeno smanjenje vrednosti C1 inhibitora opisano je u slučaju krioglobulinemije i posledica je njegovog povećanog katabolizma usled ekstenzivne aktivacije sistema komplementa klasičnim putem. C1 inhibitor je multifunkcionalna serinska proteaza prisutna u plazmi u visokoj koncentraciji, čija je glavna uloga inhibicija aktivisanih C1r i C1s komponenti komplementa, inhibicija aktivisanog Hagemanovog faktora (XIIa) i inhibicija aktivisanog kalikreina, proteaze koja cepa kininogen i oslobadja bradikin.

Kod naših bolesnika snižena vrednost C1 inhibitora zapažena je kod 39.4%, najviše kod bolesnika sa teškim oblikom vaskulitisa, tako da je sniženje C1 inhibitora pratilo prisustvo i težinu vaskulitisa (Tabela 7.3). Etiologija krioglobulinemije pri tome nije bio značajan činilac. Podaci u literaturi o stečenom deficitu C1 inhibitora kod krioglobulinemije, uglavnom se odnose na prikaze slučajeva u sklopu B ćelijskih limfoproliferativnih bolesti i malo je podataka o udruženosti sa krioglobulinemijama druge etiologije. Lamas i sar. opisuju slučaj deficijencije C1-inhibitora kod pacijenta sa urtikarijom i krioglobulinemijom (164).

Prisustvo antitela usmerena na kolagenu sličan epitop C1q komponente komplemента (anti-C1q antitela) smatraju se relativno specifičnim za HUVS (hipokomplementemijski urtikarijalno vaskulitisni sindrom) i SEL (130), iako su opisana u drugim bolestima koje su posredovane imunskim kompleksima. Nije u potpunosti jasno da li anti-C1q antitela u različitim bolestima imaju istu specifičnost vezivanja za C1q i iste kliničke konsekvence. Mišljenja o njihovoj patogenosti su kontroverzna, mada je pokazana jasna korelacija sa glomerulonefritisom kod bolesnika sa SEL (165), kao i sniženjem C4 komponente komplemента, prisustvom krioglobulina i HCV infekcije, ali ne i sa prisustvom CV (166,167).

Kod 38.6% naših bolesnika nadjena je povišena vrednost anti-C1q antitela i pri tome nije bilo razlike u odnosu na prisustvo i težinu vaskulitisa (Tabela 7.3). U nešto većoj meri anti-C1q bio je prisutan kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama, što nije iznenadjujuće obzirom da su u ovoj grupi dominirali bolesnici sa sistemskim autoimunskim bolestima, pre svega SEL, gde se anti-C1 nalazi kod kod 30-35% bolesnika, odnosno kod 83% bolesnika koji imaju lupus nefritis (Tabela 10.5.3). Koncentracija anti-C1q antitela korelisala je sa sniženjem komplemента i koncentracijom RF u serumu (Tabela 8.3).

Smatra se da krioimunski kompleksi imaju patogeni značaj i tome u prilog govore nalazi ovih depozita u patološkom supstratu kože ili glomerula (168). Rocatello i sar. (49) nalaze poremećen klirens imunskih kompleksa od strane retikuloendotelnog sistema (RES) kod

bolesnika sa aktivnim CV nefritisom. Sikander i sar. kod svojih bolesnika sa SEL i krioglobulinemijom takodje nalaze povišene imunske komplekse.

Kod više od polovine naših bolesnika, uključujući i one bez vaskulitisa, nadjeni su povišeni imunski kompleksi (Tabela 7.3). Nalaz povišenih imunskih kompleksa mogao bi da uputi na potrebu za sprovođenjem LAC (low antigen content diet), kao jedne od terapijskih procedura, u cilju rasterećenja RES i obnavljanja funkcije klirenska imunskih kompleksa.

Značajno prisustvo autoantitela kod naših bolesnika izraz je pre svega veće prevalence sistemskih autoimunskih bolesti u našoj kohorti, koje su bile zastupljene sa 54.2%. Dominantno je prisustvo pozitivnih ANA, posebno u grupi bolesnika bez vaskulitisa gde je i najveća zastupljenost sistemskih autoimunskih bolesti, pre svega SEL (Tabela 7.4). Trejo i sar. (21) nalaze pozitivna ANA kod 41% svojih bolesnika sa krioglobulinemijom, Ferri i sar. (47) kod 56%.

Interesantno je prisustvo ANA kod 24.2% bolesnika iz grupe EMC, uglavnom niskog titra 1/80, što bi to mogla biti serološka potvrda poliklonske stimulacije B limfocita. Takodje, upadljivo je prisustvo anti SSA/SSB antitela kod 10% bolesnika sa HCV posredovanom krioglobulinemijom, kao i veće ukupno prisustvo anti SSA/SSB antitela u odnosu na broj bolesnika sa primarnim ili sekundarnim SS (Tabela 10.5.4). Smatra se da to može biti odraz kompleksne alteracije imunskog sistema kod genetski predisponiranih osoba, kod kojih hronična antigenska stimulacija, npr. HCV-om, vodi produkciji autoantitela uz inkompletnu sliku autoimunske bolesti, ka kojoj će moguće evoluirati (169), te ova mimikrija sistemskih bolesti vezivnog tkiva nalaže pažljivu evaluaciju i praćenje ove grupe bolesnika sa krioglobulinemijom.

CRP je glavni protein akutne faze čija se koncentracija u serumu dramatično povećava za vreme infekcije ili oštećenja tkiva drugog uzroka. Ovaj porast je posledica stimulacije sinteze proinflamatornih citokina kao što su IL-6, IL-1 i TNF α . Biološka funkcija CRP nije u potpunosti poznata, ali se smatra da ima ulogu u prepoznavanju stranih patogena ili produkata oštećenih autolognih ćelija (170). Zbog njegove reaktivnosti sa sistemom komplementa, učestvuje u humoralnim i celularnim inflamatornim reakcijama i odbrani

domaćina. Kao što je pokazano, kada se CRP veže za ligand (različite strukture patogena ili autolognih oštećenih ćelija), aktivira komplement klasičnim putem, vezivanjem za C1q i pri tome je efikasan kao i agregirani IgG (171). S druge strane, postoje nalazi koji ukazuju da CRP inhibira alternativni put aktivacije komplementa krioglobulinima, povećavajući vezivanje regulatornog faktora H za C3b komponentu komplementa (172). CRP se može naći u sastavu krioglobulina pri čemu pozitivno koreliše sa količinom krioproteina (173).

Kod naših bolesnika sa teškim vaskulitisom nadjene su značajno više vrednosti CRP u odnosu bolesnike sa lakim vaskulitisom, međutim ne i u odnosu na krioglobulinemije bez vaskulitisa, dok su vrednosti fibrinogena najčešće bile povišene u grupi bolesnika bez vaskulitisa (Tabela 7.5). Najčešće su povišene vrednosti CRP, fibrinogena i ubrzane sedimentacije nadjene kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama (Tabela 10.5.5). Nalaz markera inflamacije dominantno kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama može se objasniti najvećom učestalošću sistemskih autoimunskih bolesti u ovoj grupi bolesnika koje su često urdužene sa inflamacijom i/ili infekcijama. Povišen CRP jeste najčešće bio kod bolesnika sa teškim vaskulitisom, ali je u istoj meri bio prisutan i kod bolesnika sa krioglobulinemijom bez vaskulitisa, gde su takodje dominirale sistemske autoimunske bolesti. Iz toga proizilazi, da se ovi parametri ne mogu sa pozdanoću koristiti kao markeri aktivnosti vaskulitisa. Lamprecht i sar. nalaze da merenje BVAS i DEI kao kliničkih i C3c kao imunoloških markera, pokazuje bolju korelaciju sa aktivnošću CV (75).

Mešovita krioglobulinemija tipa II je autoimunska i limfoproliferativna bolest, te je logično očekivati povećanu produkciju BLyS.

Moguća uloga BLyS u mešovitoj krioglobulinemiji istraživana je uglavnom kod bolesnika sa hroničnom HCV infekcijom, gde je nadjen povišen nivo kod jedne trećine bolesnika. Smatra se da je sam virus trigger za ushodnu regulaciju BLyS, koji se, prema nekim istraživanjima, nalazi u povišenoj koncentraciji bez obzira na prisustvo krioglobulinemije (36), dok druga nalaze veću koncentraciju kod HCV infekcije koja je udružena sa

krioglobulinemijom (72). Veća koncentracija BLYS nadjena je u krioglobulinemiji tipa II u odnosu na tip III (174).

Kod jedne trećine naših bolesnika (35.2%) nadjena je povišena vrednost BLYS, nezavisno od prisustva vaskulitisa i njegove težine. Povećana koncentracija je češće bila prisutna kod bolesnika sa vaskulitisom, posebno teškim vaskulitisom, kao i kod HCV posredovane krioglobulinemije, iako to nije bilo statistički značajno (Tabela 7.7. i Tabela 10.5.7). Imajući u vidu značajnu zastupljenost bolesnika sa SEL, koji pokazuje izvesnu patogenetsku sličnost sa krioglobulinemijom - kod obe bolesti postoji poliklonska aktivacija B limfocita, porast humoralnog imunskog odgovora i prisustvo različitih autoantitela, kao što su krioglobulini, RF, aCL, kao i da je u grupi bolesnika sa EMC bilo značajno prisustvo autoantitela, nije iznenadjujuće da nije bilo značajne razlike u količini BLYS u serumu medju grupama naših ispitanika.

Toubi sar. nalaze udruženost povećane koncentracije BLYS sa nekim kliničkim manifestacijama CV, (atralgijama i vaskulitisom), kao i prisustvom (antikardiolipinskih) aCL antitela i krioglobulina kod bolesnika sa hroničnom HCV infekcijom, ali ne i sa HBV infekcijom. Porast BLYS uočen je kod slične proporcije bolesnika sa HCV infekcijom, kao i kod SEL, ali je nivo BLYS niži. Kod bolesnika sa SEL povišen nivo BLYS je bio udružen sa prisustvom anti dsDNK antitela (175).

Fabris i sar. (176) nalaze značajno povišenu koncentraciju BLYS kod bolesnika sa hroničnom HCV infekcijom sa i bez krioglobulinemije, ali ne nalaze povezanost sa količinom krioglobulina, RF i manifestacijama CV, već pojavom B ćelijske limfoproliferativne bolesti. Ovi autori smatraju da je BLYS povišen kod posebne podgrupe genetski predisponiranih osoba sa mešovitom krioglobulinemijom.

Obzirom da nije postojala udruženost povećane koncentracije BLYS sa sistemskim manifestacijama CV medju našim bolesnicima, kao što je slično saopšteno za SEL, SS i RA, moglo bi se pretpostaviti da je BLYS pre marker same bolesti (odnosno limfoproliferacije), a ne i posebnih organskih manifestacija. Porast BLYS-a bi mogao biti

prvi korak koji je "podloga" za sledstvene autoimunske i limfoproliferativne događaje kod bolesnika sa hroničnom infekcijom/inflamacijom.

Prema tome, povišena vrednost BLyS u serumu može biti epifenomen samog razvoja mešovite krioglobulinemije (ekspanzije klona B limfocita u krioglobulinemiji) ili je intrinzička karakteristika posebne podgrupe osoba (genetska osnova?) koje su predisponirane za razvoj limfoproliferacije odnosno krioglobulinemije (176), kod kojih povišena koncentracija BLyS može biti prvi korak.

Odredjivanje koncentracije BLyS može biti od značaja zbog planiranja terapijskog postupka. Naime, zapaženo je da povećana produkcija BLyS smanjuje efikasnost terapije rituksimabom (anti-CD20) kod B-ćelijskih limfoproliferativnih bolesti, te da prethodna primena anti BLyS (belimubab), značajno poboljšava efikasnost lečenja (177). Takodje, lečenje hronične HCV infekcije primenom interferona, povezano je sa posledičnom povećanom produkcijom BLyS i mogućom egzacerbacijom vaskulitisa (178).

Biološki značaj povišenih vrednosti BLyS kod bolesnika sa krioglobulinemijom još uvek nije u potpunosti jasan, te su potrebna detaljnija ispitivanja na većem broju bolesnika sa krioglobulinemijama različite etiologije.

Skale za merenje aktivnosti (BVAS-Birmingham vasculitis activity score) i proširenosti vaskulitisa (DEI - Disease extent index) već se dugo koriste za merenje aktivnosti i ekstenzivnosti lezije u primarnim sistemskim vaskulitisima (179).

Mali broj autora primenjuje BVAS i DEI kao skorove aktivnosti krioglobulinemijskog vaskulitisa. Lamprecht i sar. (75) odredjivali su BVAS i DEI kod 15 bolesnika sa HCV posredovanim CV pre i posle terapije IFN-alfa ili ciklofosfamidom. Oba skora su značajno međusobno pozitivno korelisala posle 6 meseci terapije i istovremeno negativno korelisala sa C3c komponentom komplementa, dok drugi parametri koji se koriste kao markeri vaskulitisa (brzina sedimentacije eritrocita, CRP) nisu. Autori savetuju primenu BVAS, DEI i C3c komponente komplementa kao markere aktivnosti CV.

Naše grupe bolesnika bile su formirane prema težini vaskulitisa i potrebi za intenzivnom glikokortikoidnom i imunosupresivnom terapijom, tako da je jasno da je BVAS u grupi CV2 bio veći (13.92 u odnosu na 6.36), kao i DEI (7.16 u odnosu na 5.0) (Tabela 8.1). Nije nadjeno da je etiologija bila od značaja za težinu i proširenost vaskulitisa procenjenog indeksima BVAS i DEI (Tabela 10.6.1). Nadjena je korelacija BVAS-a sa DEI, sniženjem komplemента i količinom krioglobulina (Tabela 8.3). Pad BVAS i DEI na kraju praćenja pozitivno je korelisao. Oba indeksa su značajno pala na kraju perioda praćenja i to izrazitije u grupi bolesnika sa teškim vaskulitisom (Tabela 9.8). Ovakav nalaz može se objasniti povoljnim efektom primenjene intenzivne terapije visokim dozama glikokortikoda i imunosupresiva u ovoj grupi bolesnika, koji su i češće i dostizali kliničku remisiju. Bolesnici sa HCV krioglobulinemijom imali su sedam puta manju verovatnoću za pad aktivnosti bolesti procenjem BVAS-om (Tabela 11.6.3).

Primena indeksa omogućava egzaktniju procenu aktivnosti vaskulitisa, može pomoći odluci o izboru intenziteta terapije i praćenju njene efikasnosti.

CV je obično relapsirajuća bolest koja godinama može da ostane indolentnog toka ili može doći do novih manifestacija bolesti, uključujući i visceralne.

Dve trećine (67.7%) naših bolesnika doživelo je relaps CV koji se najčešće manifestovao recidivima kožnih promena tipa purpore (76.6%), češće u grupi bolesnika sa lakim vaskulitisom, kod kojih je to obično bila i jedina manifestacija bolesti. Relaps bubrežne lezije bio je češći kod bolesnika sa teškim vaskulitisom (25% bolesnika iz grupe CV2) i javljao se udruženo sa egzacerbacijom promena na koži (Tabela 9.2). Najčešće je relaps imala grupa bolesnika sa EMC (79.4%), najredje sa neinfektivnim krioglobulinemijama (Tabela 10.7). Prisustvo anti SSA/SSB autoantitela pokazao se kao negativni prediktor pojave relapsa CV, naime ovi bolesnici imaju oko četiri puta manju šansu da će imati relaps vaskulitisa (Tabela 11.5.3). Ferri i sar. (47) nalaze da je prisustvo *sicca* sindroma prediktor povoljnog ishoda CV.

Klinička remisija vaskulitisa postignuta je kod 78% bolesnika, a laboratorijska kod 54.9% bez razlike u odnosu na težinu vaskulitisa (Tabela 9.4). I kompletna i parcijalna klinička i

laboratorijska remisija su nešto češće postignute u grupi bolesnika sa teškim vaskulitisom, što bi se moglo objasniti intenzitetom primenjene terapije u ovoj grupi bolesnika. Bolesnici sa EMC imali su pet puta veću šansu za postizanje kliničke remisije u odnosu na bolesnike s HCV infekcijom. Rieu i sar. (48) nalaze remisiju kod 71.4% svojih bolesnika sa CV, ali i pojavu relapsa kod svih posle obustavljanja terapije (Tabela 11.3.1).

Kod ukupno 5 bolesnika koji prethodno nisu imali bubrežnu leziju, tokom praćenja je došlo do njene pojave, a kod 4 je došlo i do lezije drugih visceralnih organa (pankreas, nervni sistem, GIT) (Tabela 9.2). Kao prediktor pojave novih manifestacija krioglobulinemijskog vaskulitisa i u grupama prema različitim manifestacijama krioglobulinemije (CV0, CV1, CV2) i etiologijom (EMC, neinfektivne, HCV krioglobulinemija), izdvojilo se prisustvo povišene koncentracije anti-C1q antitela (Tabele 11.1.2. i 11.1.3). U dostupnoj literaturi nismo našli podatke koji bi upućivali da anti-C1q antitela mogu biti prediktori novih manifestacija krioglobulinemijskog vaskulitisa (različite visceralne manifestacije, rasprostranjeni vaskulitis) kod bolesnika sa krioglobulinemijom i/ili CV.

Tokom praćenja 3 bolesnika je dobilo vaskulitis (iz grupe CV0), 3 limfoproliferativnu bolest, 5 druge solidne maligne tumore, a 7 autoimunska bolest (Tabela 9.3). Pripadnost grupi nije bila od značaja za evoluciju ka ovim drugim bolestima. Terrier i sar. tokom praćenja 242 bolesnika sa CV, kao glavnu komplikaciju uočavaju pojavu infekcija (23%). Nisu se izdvoji prediktori za pojavu drugih bolesti (limfoproliferativnih i drugih malignih bolesti, autoimunskih bolesti i vaskulitisa) kod naših bolesnika (11.2.2). Bryce i sar. (63) nalaze kao jedini značajni prediktor za porast morbiditeta svojih bolesnika sa CV starost veću od 56.7 godina, što nije bio slučaj kod naših bolesnika.

Prognoza mešovite krioglobulinemije je uslovljena postojanjem komplikacija, posebno razvojem maligne bolesti. Ferri i sar. nalaze da je 10-godišnje preživljavanje bolesnika sa CV 56%, da je značajno manje u odnosu na opštu populaciju i da prisustvo bubrežne lezije utiče na prognozu (169). Vrlo su oskudni podaci o istraživanjima kod bolesnika sa neinfektivnim krioglobulinemijama. Neka istraživanja ukazuju na stopu preživljavanja sličnu kao kod bolesnika sa HCV posredovanom krioglobulinemijom (21). Eble i sar. (182) nalaze stopu mortaliteta od 13.6% među bolesnicima sa neinfektivnom

krioglobulinemijom i malom količinom krioglobulina (ispod 0.05g/L). Kod naših bolesnika, tokom praćenja umrlo je ukupno 14 bolesnika, 6 iz grupe CV0 i 8 iz grupe CV2 (Tabela 9.6). Većina je imala dugotrajni krioglobulinemijski vaskulitis uz primenu glikokortikoida i/ili imunosupresivne terapije. Najčešći uzrok smrti bila je sistemska infekcija kod četvoro (28.6%), zajedno sa uzrocima koji nisu bili vezani za krioglobulinemiju ili su bili komorbiditeti (kardiovaskularne i maligne bolesti, kao i respiratorna insuficijencija) (Tabela 9.6). U grupi bolesnika sa kardiovaskularnim uzrocima smrti, treba imati u vidu mogućnost lezije miokarda u sklopu CV (55) koja je moguće potcjenjena, obzirom na brojne druge faktore rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti. Svakako treba imati u vidu toksične kumulativne efekte dugotrajne kortikosteroidne terapije. Od komplikacija vaskulitisa umrlo je 3 bolesnika iz grupe CV2 (Tabela 9.6). Cox-ova regresiona analiza ukazala je da je faktor rizika za preživljavanje prisustvo HCV infekcije (ovi bolesnici su imali tri puta lošije preživljavanje) (Tabela 12.2). Kaplan-Meier-ova analiza je ukazala da je najlošije preživljavanje bilo kod bolesnika sa teškim i rasprostranjenim vaskulitisom, kao i da je prisustvo HCV infekcije jedini loš prognostički faktor (Tabela 12.1). Međutim, treba imati u vidu specifičnost naših bolesnika sa HCV krioglobulinemijom, koji su selekcionisani tako da sa većom verovatnoćom imaju teži vaskulitis. Rieu i sar. nalaze preživljavanje od 77% kod HCV pozitivnih nasuprot 84% kod HCV negativnih bolesnika sa CV, posle petogodišnjeg praćenja (48). Della Rosa i sar. kao prognostičke faktore mortaliteta navode starost, prisustvo bubrežne lezije, vaskulitisa creva, rasprostranjenog vaskulitisa i tipa II krioglobulinemije (51).

Univarijantnom i multivarijantnom regresionom analizom podataka procenjivano je prisustvo prediktivnih faktora za prisustvo različite kliničke slike ili različite etiologije krioglobulinemije. Tako je nadjeno da su češće prisustvo SLE, anti dsDNA i male količine krioglobulina prediktori prisustva krioglobulinemije bez vaskulitisa. Starije životno doba, prisustvo HCV infekcije, prisustvo autoimunskih bolesti, najčešće SS, kao i anti SSA/SSB antitela su prediktori prisustva lakog oblika CV. (Tabele 11.7.1. i 11.7.2). Prediktori prisustva teškog vaskulitisa bilo su livedo, malaksalost, proteinurija, kao i prisustvo potrošnje komplementa (Tabela 11.8.2).

U odnosu na etiologiju, češći relapsi i prisustvo tipa III krioglobulinemije ukazuju na EMC, češće prisustvo *sicca* sindroma, potrošnje komplementa, ANA i anti SSA/SSB su prediktori neinfektivne krioglobulinemije (Tabela 11.9.2), dok je postojanje dužeg trajanja bolesti, anemije, trombocitopenije, patološkog hepatograma i tipa II krioglobulinemije bilo prediktor HCV posredovane krioglobulinemije (11.10.2).

ZAKLJUČCI

1. Krioglobulinemija se češće javlja kod osoba ženskog pola (80%), prosečne starosti 51 godinu. Krioglobulinemija je dominantno sekundarna (67.2%) u sklopu autoimunske bolesti (54,2%), infekcije HCV (9.7%) i limfoproliferativne bolesti (2%), dok je esencijalna mešovita krioglobulinemija prisutna kod 32.8% bolesnika. 22% bolesnika sa krioglobulinemijom ima težak vaskulitisa, 24% ima lak vaskulitis, dok 54% bolesnika nema kriterijume za krioglobulinemijski vaskulitis. Krioglobulinemija indukovana infekcijom HCV značajno češće je udružena sa vaskulitisom ($p < 0.01$) u odnosu na EMC i krioglobulinemiju u sklopu autoimunskih i limfoproliferativnih bolesti.

2. Bolesnici sa krioglobulinemijom bez vaskulitisa imaju češće SEL ($p < 0.01$), hroničnu urtikariju/angioedem ($p < 0.01$), ANA i anti-dsDNK ($p < 0.05$), manju količinu krioglobulina ($p < 0.01$) i redje prisustvo monoklalnog IgMk u krioprecipitatu ($p < 0.05$), u odnosu na bolesnike sa krioglobulinemijskim vaskulitisom.

3. Bolesnici sa teškim krioglobulinemijskim vaskulitisom u odnosu na bolesnike sa lakim krioglobulinemijskim vaskulitisom imaju:

a) klinički češće promene na koži tipa ulkus/gangrena ($p < 0.01$), leziju bubrega ($p < 0.01$), leziju GIT-a i rasprostranjeni vaskulitis ($p < 0.01$), veći indekse BVAS ($p < 0.01$) i DEI ($p < 0.01$), veći pad BVAS na kraju praćenja ($p < 0.01$), češće relapse ($p < 0.05$) i češći smrtni ishod ($p < 0.01$).

b) serološki češće imaju tip II krioglobulinemije, veću količinu krioglobulina ($p < 0.01$), dominantno IgMk u krioprecipitatu ($p < 0.05$), potrošnju komplementa ($p < 0.01$), snižen C1q ($p < 0.01$), C1 inhibitor ($p < 0.05$), kao i povišen CRP ($p < 0.05$).

4. a) Klinički, esencijalna mešovita krioglobulinemija je češće udružena sa urtikarijom/angioedemom ($p < 0.01$), a redje sa sika sindromom ($p < 0.01$), bubrežnom lezijom ($p < 0.01$) i polineuropatijom ($p < 0.05$), u odnosu na krioglobulinemije koje su udružene sa HCV, autoimunskim i limfoproliferativnim bolestima.

b) Serološki, esencijalna mešovita krioglobulinemija je udružena sa manjom količinom krioglobulina (dominantno tip III), uz češće odusutvo IgMk u krioprecipitatu ($p<0.05$), manju potrošnju komplementa ($p<0.01$) i manju koncentraciju imunskih kompleksi ($p<0.05$) u odnosu na HCV indukovane krioglobulinemije.

c) Tokom praćenja, esencijalna mešovita krioglobulinemija je udružena sa boljim odgovoru na terapiju ($p<0.01$), češćim postizanjem remisije ($p<0.01$) i redjim smrtnim ishodom ($p<0.01$), u odnosu na krioglobulinemije indukovane HCV, ali češćim relapsima ($p<0.05$) u odnosu na krioglobulinemije u sklopu autoimunskih i limfoproliferativnih oboljenja.

5. Povišena koncentracija anti-C1q antitela pozitivno je korelisala sa potrošnjom komplementa i povišenim RF u serumu, ($p<0.01$). Postoji statistički značajna povezanost između indeksa aktivnosti vaskulitisa (BVAS), koncentracije krioglobulina u serumu ($p<0.01$) i snižene koncentracije komplementa ($p<0.01$).

6. Male količine krioglobulina (OR 0.094 CI95%), SLE (OR 0.897 CI95%) i anti dsDNK (OR 0.071 CI95%) su prediktori prisustva krioglobulinemije bez vaskulitisa. Starije životno doba (OR 1.041 CI95%), prisustvo autoimunskih bolesti, najčešće Sjögrenovog sindroma (OR 14.348 CI95%), kao i anti SSA/SSB antitela (OR 11.968 CI95%) su prediktori prisustva lakog oblika vaskulitisa. Potrošnja komplementa udružena je sa šest puta većim rizikom za pojavu teškog krioglobulinemijskog vaskulitisa (OR 3.461 CI95%), kao i prisustvo kožnih promena (OR 63.811 CI95%), liveda (OR 4.191 CI95%) i protenurije (OR 6,124 CI95%).

7. Prisustvo povišenih anti C1q antitela i BLYS se nije razlikovalo u odnosu na prisustvo i težinu vaskulitisa, kao i njegovu etiologiju. Međutim, povišena anti C1q antitela su prediktor pojave novih manifestacija krioglobulinemijskog vaskulitisa, (OR 6.571 CI95%), nezavisno od etiologije krioglobulinemije. Veća količina krioglobulina, (OR 0.129 CI95%), duže trajanje bolesti, (OR 3.092 CI95%), i prisustvo esencijalne mešovite krioglobulinemije su prediktori pojave relapsa krioglobulinemijskog vaskulitisa, dok je negativni prediktor prisustvo anti SSA/SSB antitela, (OR 0.250 CI95%).

8. Duže trajanje bolesti (OR 8.517 CI95%), anemija (OR 8.392 CI95%), trombocitopenija (OR 34.935 CI95%), patološki hepatogram (OR 0.024 CI95%) i tip II krioglobulinemije (OR 0.038 CI95%) su prediktori krioglobulinemije indukovane HCV. Ova grupa bolesnika ima sedam puta manju verovatnoću pada BVAS tokom lečenja (OR 6.802 CI95%).

9. Bolesnici sa postignutom kliničkom i laboratorijskom remisijom imali su značajno bolje preživljavanje u odnosu na one koji je nisu dostigli ($p < 0.05$). Bolesnici sa teškim vaskulitisom, rasprostranjenim vaskulitisom i krioglobulinemijom koja je indukovana HCV imaju lošije preživljavanje u odnosu na esencijalnu i krioglobulinemiju u sklopu autoimunskih i limfoproliferativnih oboljenja ($p < 0.01$).

LITERATURA

1. Wintrobe MM, Buell MV. Hyperproteinemia associated with multiple myeloma. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1933;52:156-65.
2. Lerner AB, Watson CJ. Studies of cryoglobulins I: unusual purpura associated with the presence of high concentration of cryoglobulin (cold precipitable serum globulin). *Am J Med Sci* 1947;214: 410-15.
3. Meltzer M, Franklin EC. Cryoglobulinemia: a study of 29 patients. I: IgG and IgM cryoglobulins and factors effecting cryoprecipitability. *Am J Med* 1966;40: 828-36.
4. Ferri C. Mixed cryoglobulinemia. *Orphanet J Rare Dis* 2008; 3:25-42.
5. Brouet JC, Clouvel JP, Danon F, et al. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. *Am J Med* 1974; 57: 775-88.
6. Tissot JD, Schifferli JA, Hochstrasser DF, et al. Two-dimensional polyacryamide gel electrophoresis analysis of cryoglobulins and identification of an IgM-associated peptide. *J Immunol Meth* 1994;173:63-75.
7. Magalini AR, Facchetti F, Salvi L, et al. Clonality of B-cells in portal lymphoid infiltrates of HCV-infected livers. *J Pathol* 1998;185: 856-90.
8. Gorevic PD, Kassab HJ, Levo Y, et al. Mixed cryoglobulinemija: clinical aspects and long-term follow-up of 40 patients. *Am J Med* 1980;69 :287-308.
9. Maire MA, Mittey M, Lambert PH. The presence of cryoprecipitable immunoglobulins in normal human sera may reflect specific molecular interactions. *Autoimmunity* 1989; 2: 155-64.
10. Ferri C, Greco F, Longombardo G, et al. Antibodies to hepatitis C virus in patients with mixed cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 1991;34: 1606-10.
11. Ferri C, Greco F, Longombardo G, et al. Association between hepatitis C virus and mixed cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol* 1991;9: 621-24.
12. Persico M, De Marino FA, Di Giacommo Russo G, et al. Prevalence and incidence of cryoglobulins in hepatitis C virus-related chronic hepatitis patients: a prospective study. *Am J Gastroenterol* 2003;98: 1-9.
13. Ramos-Casals M, Stone JH, Cid MC, Bosch X. The cryoglobulinaemias. *Lancet* 2012;379: 348-60.

14. Tzioufas A, Boumba D, Skopouli F, et al. Mixed monoclonal cryoglobulinaemia and monoclonal rheumatoid factor cross-reactive idiotypes as predictive factors for the development of lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 767-72.
15. Baimpa E, Dahabreh IJ, Voulgarelis M, et al. Hematologic manifestations and predictors of lymphoma development in primary Sjögren syndrome: clinical and pathophysiologic aspects. *Medicine (Baltimore)* 2009; 88: 284-93.
6. Garcia-Carrasco M, Ramos-Casals M, Cervera R, et al. Cryoglobulinemia in systemic lupus erythematosus: prevalence and clinical characteristics in series of 122 patients. *Semin Arthritis Rheum* 2001;30: 366-73.
17. Dammacco F, Lauletta G, Montrone M, et al. Mixed cryoglobulinaemia: a model of virus-related disease in internal medicine. *Dig Liver Dis* 2007;39: 8-12.
18. Pozzato G, Mazzari C, Crovatto M, et al. Low-grade malignant lymphoma, hepatitis C virus infection, and mixed cryoglobulinemia. *Blood* 1994; 84:3047-53.
19. Ferri C, Zignego AL, Pileri S. Cryoglobulins. *J Clin Pathol* 2002;55: 4-13.
20. Perez-Alamino R, Espinoza LR. Non-infectious cryoglobulinemia vasculitis (CryoVas): update on clinical and therapeutic approach. *Curr Rheumatol Rep* 2014; 16:420.
21. Trejo O, Ramos-Casals M, García-Carrasco M, et al. Cryoglobulinaemia: study of etiologic factors and clinical and immunologic features in 443 patients from single center. *Medicine (Baltimore)* 2001;80: 252-62.
22. Trendelenburg M, Schifferli JA. Cryoglobulins are not essential. *Ann Rheum Dis* 1998;57:3 -5.
23. Sansonno D, Carbone A, De Re V, et al. Hepatitis C virus infection, cryoglobulinaemia, and beyond. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 1606-10.
24. Saadoun D, Landau DA, Calabrese LH, et al. Hepatitis C-associated mixed cryoglobulinemia: a crossroad between autoimmunity and lymphoproliferation. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 1234-42.
25. Ferri C, Antonelli A, Mascia MT, et al. HCV-related autoimmune and neoplastic disorders: the HCV syndrome. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 13-21.

26. Charles FD, Green RM, Marukian S, et al. Clonal expansion of immunoglobulin M+CD27+ B cells in HCV-associated mixed cryoglobulinemia. *Blood* 2008;111: 1344-56.
27. Chen PP, Fong S, Goni F, et al. Cross-reacting idiotypes on cryprecipitating rheumatoid factor. *Semin Immunopathol* 1988;10: 35-55.
28. Sansonno D, Cornacchiulo V, Iacobelli AR, et al. Localization of hepatitis C virus antigens in liver and skin tissues of chronic hepatitis C virus-infected patients with mixed cryoglobulinemia. *Hepatology* 1995;21: 305-12.
29. Ferri C, La Civita L, Longombardo G, et al. Mixed cryoglobulinemia: a cross-road between autoimmune and lymphoproliferative disorders. *Lupus* 1998; 7: 275-9.
30. Casato M, Lilli D, Donato G, et al. Occult hepatitis C virus infection in type II mixed cryoglobulinemia. *J Viral Hepatol* 2003;10: 455-9.
31. Trendelenburg M, Schifferli JA. Cryoglobulins in chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol* 2003; 133:153-5.
32. Crouzier R, Martin T, Pasquali JL. Monoclonal IgM rheumatoid factor secreted by CD5-negative B cells during mixed cryoglobulinemia. Evidence for somatic mutations and intracloonal diversity of the expressed VH region gene. *J Immunol* 1995;154: 413-21.
33. Riethmuller G, Meltzer M, Franklin E, et al. Serum complement levels in patients with mixed (IgM-IgG) cryoglobulinemia. *Clin Exp Immunol* 1966;1(3): 337-9.
34. Schamberg NJ, Lake-Bakaar GV. Hepatitis C virus related mixed cryoglobulinemia: pathogenesis, clinical manifestations, and new therapies. *Gastroenterol Hepatol* 2007;3:695-703.
35. Al Sibae M, Jacobson IM, Lake-Bakaar GV. Clinical spectrum of chronic hepatitis C virus related cryoglobulinemia in the US. Presented at Digestive disease week 2007; Abstract 1838.
36. Fabris M, De Vita S. Up-regulation of B-lymphocyte stimulator (BLyS) in patients with mixed cryoglobulinemia. In: *HCV infection and cryoglobulinemia*, Dammacco F. Ed. Springer Verlag Italia, 2012:119-122.
37. Krivosiokova M, Dallos T, Maslinski W, et al. B cell activating factor, its role in autoimmunity and targeting in autoimmune diseases. *Bratisl Lek listy* 2009; 110: 137-45.
38. Mackay F, Schneider P. Cracking the BAFF code. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 491-502.

39. Sargur R, Whittr P, Egner W. Cryoglobulin evaluation:best practice? *Ann Clin Biochem* 2010;47: 8-16.
40. Di Stasio, Bizzari P, Casato M, et al. Cl⁻ regulates cryoglobulin structure: a new hypothesis for the physiopathological mechanism of temperature non-dependent cryoprecipitation. *Clin Chem Lab Med* 2004;42: 614-20.
41. Gytoku Y, Abdelmoula M, Spertini F, et al. Cryoglobulinemia induced by monoclonal immunoglobulin G rheumatoid factor derived from autoimmune MRL/MpJ-Ipr/Ipr mice. *J Immunol* 1987;138: 3785-92.
42. Musset L, Duarte F, Galliard O, et al. Immunochemical characterization of monoclonal IgG containing mixed cryoglobulins. *Clin Immunol Immunopathol* 1994;70: 166-70.
43. Abdelmoula M, Spertini F, Shibata T, et al. IgG3 is the major source of cryoglobulins in mice. *J Immunol* 1989;143: 526-32.
44. Sansonno D, DAmmaco F. Hepatitis C virus, cryoglobulinaemia, and vasculitis: immune complex relation. *Lancet Infect Dis* 2005;5: 227-36.
45. Sansonno D, Tucci FA, Ghebrehiwet B, et al. Role of the receptor for the globular domain C1q protein in pathogenesis of hepatitis C virus-related cryoglobulin vascular damage. *J Immunol* 2009;183: 6013-20.
46. Di Stasio E, Bizzarri P, Casato M, et al. Cl-regulates cryoglobulin structure: a new hypothesis for the physiopathological mechanism of temperature non-dependent cryoprecipitation. *Clin Chem Lab Med* 2004;42: 614-20.
47. Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D, et al. Mixed cryoglobulinemia: demographic, clinical, and serologic features and survival in 231 patients. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 33: 355-74.
48. Rieu V, Cohen P, André MH, at al. Characteristics and outcome o 49 patients with symptomatic cryoglobulinemia. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41: 290-300.
49. Roccatello D, Fornasieri A, Giachino O, et al. Multicenter study on hepatitis C virus related cryoglobulinaemic glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2007;49: 69-82.
50. Gemignani F, Melli G, Inglese C, Marbini A. Cryoglobulinaemia is a frequent cause of peripheral neuropathy in undiagnosed referral patients. *J Peripher Nerv Syst* 2002;7: 59-64.

51. Della Rosa A, Tavoni A, D'Ascanio A, et al. Mortality rate and outcome factors in mixed cryoglobulinaemia: the impact of hepatitis C virus. *Scand J Rheumatol* 2010;39: 167-70.
52. Terrier B, Saadoun D, Sène D, et al. 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.
53. Amital H, Rubinow A, Naparstek Y. Alveolar hemorrhage in cryoglobulinemia - an indicator of poor prognosis. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23:616-20.
54. Morgello S. The nervous system and hepatitis C virus. *Semin Liver Dis* 2005;25: 118-21.
55. Zaidan M, Mariotte E, Galicier L, et al. Vasculitic emergencies in the intensive care unit: a special focus on cryoglobulinemic vasculitis. *Ann Intensiv Care* 2012; 2: 31.
56. De Vita S, Soldano F, Isola M, et al. Preliminary classification criteria for the cryoglobulinaemic vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2011;70: 1183-1190.
57. Quartuccio L, Isola M, Corazza L, et al. Validation of the classification criteria for cryoglobulinaemic vasculitis. *Rheumatology* 2014;53: 2209-2213.
58. Vermeersch P, Gijbels K, Mariën S, et al. A critical appraisal of current practice in the detection, analysis, and reporting of cryoglobulins. *Clin Chem* 2008;54: 39-43.
59. Maire MA, Mittey M, Lambert PH. The presence of cryoprecipitable immunoglobulins in normal human sera may reflect specific molecular interactions. *Autoimmunity* 1989; 2: 155-64.
60. D'Amico G. Renal involvement in hepatitis C infection: cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1998;54: 650-71.
61. Beddhu S, Bastacky S, Johnson JP. The clinical and morphologic spectrum of renal cryoglobulinaemia. *Medicine (Baltimore)* 2002; 81: 398-409.
62. Sumida K, Ubara Y, Hoshino J, et al. Hepatitis C virus-related kidney disease: various histological patterns. *Clin Nephrol* 2010;74: 446-56.
63. Bryce AH, Kyle RA, Dispenzieri A, et al. Natural history and therapy of 66 patients with mixed cryoglobulinemia. *Am J Hematol* 2006;81: 511-18.

64. Saadoun D, Sellam J, Ghillani-Dablin P, et al. Increased risks of lymphoma and death among patients with non-hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinaemia. *Arch Intern Med* 2006;166: 2101-08.
65. Geri G, Terrier B, Semoun O, et al. Surrogate markers of B cell non-Hodgkin's lymphoma in patients with hepatitis C virus-related cryoglobulinemia vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2010;69: 2177-80.
66. Giordano TP, Henderson L, Landgren O, et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma and lymphoproliferative precursor diseases in US veterans with hepatitis C virus. *JAMA* 2007; 297: 2010-17.
67. Zaja F, De Vita S, Mazzaro C, et al. Efficacy and safety rituximab in type II mixed cryoglobulinemia. *Blood* 2003;101: 3827-34.
68. Sneller MC, Hu Z, Langford CA. A randomized controlled trial of rituximab following failure of antiviral therapy for hepatitis C virus-associated cryoglobulinemic vasculitis. *Arthritis Rheum* 2012;64: 835-42.
69. Saadoun D, Resche-Rigin M, Sène D, et al. Rituximab plus PEG-interferon alpha/ribavirin compared to PEG-interferon alpha/ribavirin in hepatitis C-related mixed cryoglobulinemia. *Blood* 2010;116: 326-34.
70. Terrier B, Launay D, Kaplanski G, et al. Safety and efficacy of rituximab in nonviral cryoglobulinemia vasculitis: data from the French Autoimmunity and Rituximab registry. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2010;62: 1787-95.
71. Gea-Banacloche JC. Rituximab-associated infections. *Semin Hematol* 2010;47: 187-98.
72. Lake-Bakaar G, Jacobson I, Talal A. B cell activating factor (BAFF) in the natural history of chronic hepatitis C virus liver disease and mixed cryoglobulinemia. *Clin Exp Immunol* 2012;170: 231-7.
73. Saadoun D, Rosezwajg M, Joly F, et al. Regulatory T-cell responses to low-dose interleukin-2 in HCV-induced vasculitis. *N Engl J Med* 2011;365: 2067-77.
74. Howell J, Angus P, Gow P, et al. Toll like receptors in hepatitis C infection: implications for pathogenesis and treatment. *J Gastroenterol Hepatol* 2013;28: 766-76.

75. Lamprecht P, Moosig F, Gause A, et al. Birmingham vasculitis activity score, disease extent index and complement factos C3c reflect disease activity best in hepatitis C virus-associated cryoglobulinemic vasculitis. *Clin Exp Rheumatol* 2000;18: 319-25.
76. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell L, et al. American College of Rheumatology clasification criteria for Sjogren's syndrome:a data-driven, expert consensus approach in the Sjogren's international colaborative clinical alliance cohort. *Arthritis Care Res* 2012;64: 475-87
77. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40: 1725.
78. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31: 315-24.
79. Anonymous. Preliminary criteria for the classification of systemic scerosis (scleroderma). Subcomitee for scleroderma criteria of the American Rheumatism <association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committiee. *Arthritis Rheum* 1980;23: 581-90.
80. Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis. *N Engl J Med* 1975; 292: 344-7.
81. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, et al. International consensus statement on preliminary classification criteia for definite antiphospholipid syndrome. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1309-11.
82. Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthitis Rheum* 1994;37: 187-94.
83. Monti G, Saccardo F, Castelnoco L, et al. Prevalence of mixed cryoglobulinaemia syndrome and circulating cryoglobulins in a population-based survey: Origgio study. *Autoimmunity Rev* 2014;13: 609-14.
84. Terrier B, Semeoum O, Saadoun D, et al. Prognostic factors in patients with hepatitis C virus infection and systemic vasculitis. *Arthritis Rheum* 2011;63(6): 1748-57.
85. Terrier B, Krastinova E, Marie I, et al. Management of noninfectious mixed cryoglobulinemia vasculitis: data from 242 cases included in the CroVas survey. *Blood* 2012;119:5996-6004.

86. Lunel F, Musset L, Cacoub P, et al. Cryoglobulinemia in chronic liver disease: Role of hepatitis C virus and liver damage. *Gastroenterology* 1994;106: 1291-3900.
87. Terrier B, Cacoub P. Cryoglobulinemia vasculitis:an update.*Current Opin Rheumatol* 2013;25: 10.8
88. Agello V, Chung RT, Kaplan LM. A role od hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 1992;327: 1490-5.
89. Misiani R, Bellavita P, Fenili D, et al. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med* 1992;117: 573-7.
90. Dimitracopoulus A, Kordossis T, Hatzakis A, et al. Mixed cryoglobulinemia in HIV-1 infection: The role of HIV-1.*Ann Intern Med* 1999;130: 226-30.
91. Levo Y, Gorevic PD, Kassab HJ, et al. Association between hepatitis B virus and essential mixed cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 1997; 297:946-7.
92. Galli M. Viruses and cryoglobulinemia. *Cl in Exp Rheumatol* 1995;13:63-70.
93. Ramos-Casals M, Cervera R, Yague J, et al. Cryoglobulinemia in primary Sjogren's syndrome: prevalence and clinical characteristics in a series of 115 patients. *Semin Arthritis Rheum* 1998; 28: 200-5.
94. Monti G, Galli M, Invernizzi F, et al. Cryoglobulinemias: multi-centre study of the early clinical and laboratory manifestations of primary and secondary disease. *GISC. Italian Gropu for the Study of Cryoglobulinemias. QJM* 1995;88: 115-26.
95. Mascia MT, Ferrari D, Campioli D, et al. Non HCV-related mixed cryoglobulinemia. *Digestive and Liver Dis* 2007;39: 61-4.
96. Garcia-Carrasco M, Ramos-Casals M, Cervera R, et al. Hepatitis C virus infection in "primary" Sjogren's syndrome: prevalence and clinical significance in a series of 90 patients. *Ann Rheum Dis* 1997;56: 173-5.
97. Gorevic PD, Feangioene B. Mixed cryoglobulinemia cross-reactive idiotypes: implications for the relationship of MC to rheumatic and lymphoproliferative disease. *Semin Hematol* 1991;56: 173-5.
98. Mazzaro C, Zagonel V, Monfardini S, et al. Hepatitis C virus and non-Hodgkin lymphomas. *Br J Haematol* 1996; 94: 544-50.

99. Nicolau A, Tanasescu R, Balanescu E, Balanescu P, Patrascu R, Tananescu C Hepatitis C virus-mixed cryoglobulinemia-lymphoma relationship. *Rom J Intern Med* 2011;49: 3-10.
100. Pagnoux C, Cohen P, Guillevin L. Vasculitides secondary to infections. *Clin Exp Rheum* 2006; 24:71-81.
101. Ferri C. Mixed cryoglobulinaemia. *Orphanet J Rare Dis* 2008;3: 25
102. Tedeschi A, Barate C, Minola E, et al. Cryoglobuliemia. *Blood Rev.* 2007;21:183-200.
103. Cacoub P, Costedoat-Chalumeau N, Lidove O, et al. Cryoglobulinemia vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 2002;14: 29-35.
104. Buezo GF, Garcia-Buey M, Rios-Buceta L, et al. Cryoglobulinemia and cutaneous leukocytoclastic vasculitis with hepatitis C virus infection. *Int J Dermatol* 1996;35: 112-5.
105. Doutre MS, Beylot-Barry M, Beylot C. Urticaria and hepatitis C infection. *Br J Dermatol* 1998;138: 194-5.
106. Doumas S, Kolokotronis A, Zormpa M, et al. Essential mixed cryoglobulinemia manifesting as recurrent perioral edema: report of a case. *Oral Med* 2014;117: 57-9.
107. Ito A, Kazama T, Ito K, et al. Purpura with cold urticaria in a patient with hepatitis C virus infection-associated mixed cryoglobulinemia type III. Successful treatment with interferon beta. *J Dermatol* 2003;30: 321-5.
108. Greaves MW: Chronic urticaria. *N Engl J Med* 1995;26: 1767-72.
109. Daoud MS, Gibson LE, Daoud S, et al. Chronic hepatitis C and skin diseases: a review. *Mayo Clin Proc* 1995;70: 559-64.
110. Malik ML, Mufti S, Saeed S, et al. Hepatitis C seropositivity in patients with acute and chronic urticaria. *J Pak Assoc Dermatol* 2003;18:144-8.
111. Gripenberg M, Teppo AM, Kurki P, et al. Autoantibody activity of cryoglobulins and sera in systemic lupus erythematosus. Association of IgM class rheumatoid factor with Ryanaudo's syndrome. *Scand J Rheumatol* 1988;17: 249-54.
112. Rossi D, Manouri M, Baldovino S, et al. Nailsfold videocapillaroscopy in mixed cryoglobulinemia. *Nephrol Dial Transplant* 2004;1-5.

113. Fadda P, La Civita L, Zignego AL, et al. Hepatitis C virus infection and arthritis. A clinico-serological investigation of arthritis in patients with or without cryoglobulinemic syndrome. *Reumatismo* 2002;54:316-23.
114. Verbaan S, Carlson J, Eriksson S, et al. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C infection and the interrelationship between primary Sjogren's syndrome and hepatitis C in Swedish patients. *J Inter Med* 1999;245:127-32.
115. Valli G, De Vecchi A, Gaddi L, Nobile-Orazio E, Tarantino A, Barbieri S. Peripheral nervous system involvement in essential cryoglobulinemia and nephropathy. *Clin Exp Rheumatol* 1989;7:479-83.
116. Germignani F, Melli G, Inglese C, et al. Cryoglobulinemia is a frequent cause of peripheral neuropathy in undiagnosed patients. *J periph Neurol* 2002;7: 59-64.
117. Tarantino A, Campise M, Banti G, et al. Long-term predictors of survival in essential mixed cryoglobulinemia glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995;47: 618-23.
118. Casato M, Saadoun D, Marchetti A, et al. Central nervous system involvement in hepatitis C virus cryoglobulinemia vasculitis: a multicenter case-control study using magnetic resonance imaging and neuropsychological tests. *J Rheumatol* 2005;32: 484-8.
119. Campise M, Tarantino A. Glomerulonephritis in mixed cryoglobulinemia: what treatment? *Nephrol Dial Transplant* 1999;14: 281-3.
120. Fabrizi F. Hepatitis C virus, cryoglobulinemia, and kidney: novel evidence. *Scientifica (Cairo)* 2012;2012:128382.
121. Takeda A, Ootsuka Y, Suzuki T, et al. A case report of recurrence of mixed cryoglobulinemic glomerulonephritis in a renal transplant recipient. *Clin Transplant* 2010;22: 44-7.
122. Tsuboi N, Ichinose M, Kawamura T, et al. Rapidly progressive cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Clin Exp Nephrol* 2010;14:492-5.
123. Matignon M, Cacoub P, Colombat M, et al. Clinical and morphologic spectrum of renal involvement in patients with mixed cryoglobulinemia without evidence of hepatitis C virus infection. *Medicine (Baltimore)* 2009;88: 341-8.

124. Ramos-Casals M, Robles A, Brito-Zeron P, et al. Life-threatening cryoglobulinemia: clinical and immunological characterization of 29 cases. *Semin Arthritis Rheum* 2006;36: 189-96.
125. Tarantino A, De Vecchi A, Montagnino G, et al. Renal disease in essential mixed cryoglobulinemia. Long-term follow-up of 44 patients. *Quarterly J Med* 1981 50: 1-30.
126. Mannu GS. An interesting rash: leucocytoclastic vasculitis with type 2 cryoglobulinaemia. *J R Soc Med Sh Rep* 2010;1: 54-8.
127. Beddhu S, Bastacki S, Johnson JP. The clinical and morphologic spectrum of renal cryoglobulinemia. *Medicine (Baltimore)* 2002;81: 398-409.
128. Fornasieri A, Armelloni S, Bernasconi P, et al. High binding of immunoglobulin M κ rheumatoid factor from type II cryoglobulins to cellular fibronectin: a mechanism for induction of in situ immune complex glomerulonephritis? *American J Kidney Dis* 1996;27: 476-83.
129. Manganelli P, Salaffi F, Subiaco S, et al. Bronchoalveolar lavage in mixed cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus. *Br J Rheumatol* 2005;23: 616-20.
130. Wisniewski J. Urticarial vasculitis. *Cur Opin Rheum* 2000;12: 24-31.
131. Kllemuchikkal U, Gorevic PD. Evaluation of cryoglobulins. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123: 119-25.
132. Cesur S, Akin K, Kurt H. The significance of cryoglobulinemia in patients with chronic hepatitis B and Hepatitis C virus infection. *Hepatogastroenterology* 2003;50: 1487-9.
133. Dammacco F, Sansonno D, Piccoli C, et al. The cryoglobulins: an overview. *Eur J Clin Invest* 2001;31: 628-38.
144. Antonescu C, Maxerat C, Mantegani A, et al. Hepatitis C infection: serum rheumatoid factor activity and HCV genotype correlate with cryoglobulin clonality. *Blood* 1998;92: 3486-8.
145. Chesinta B, Levinson S. Analysis, detection and quantitation of mixed cryoglobulins in HCV infection: brief review and case examples. *Clin Chem Lab Med* 2016;1-7.
146. Liakina V, Speiciene D, Irnius A, et al. Prevalence of cryoglobulinemia in patients with chronic hepatitis C infection. *Med Sci Monit* 2002;8: 31-6.

147. Cacoub P, Lunel Fabiani F, Musset L, et al. Mixed cryoglobulinemia and hepatitis C virus. *Am J Med* 1994;96: 124-32.
148. Vermeersch P, Gijbels K, Knockaert D, et al. Establishment of reference values for immunoglobulins in the cryoprecipitate. *Clin Immunol* 2008; 129:360-4.
149. Dispenzioeri A, Gorevic PD. Cryoglobulinemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1999;13:1315-49.
150. Weisman M, Zvaifler N. Cryoimmunoglobulinemia in rheumatoid arthritis. Significance in serum of patients with rheumatoid vasculitis. *J Clin Invest* 1975;56: 725-39.
151. Ohsawa I, Ohi H, Tamano M, et al. Cryoprecipitate of patients with cryoglobulinemic glomerulonephritis contains molecules of the lecithin complement pathway. *Clin Immunol* 2001;101: 59-66.
152. Gorevic P. Rheumatoid factor, complement and mixed cryoglobulinemia. *Clin Dev Immunol* 2012;1-7.
153. Shihabi Z. Cryoglobulins: an important but neglected clinical test. *Ann Clin Lab Sci* 2006;36: 395-408.
154. Ferri C, Zignego AL. Relationship between infection and autoimmunity in mixed cryoglobulinemia. *Curr Opin Rheum* 2000;12: 53-60.
155. Zignego AL, Brechot C. Extrahepatic manifestation of HCV infection: facts and controversies. *J Hepatol* 1999;31:369-76.
156. Musset L, Diemert MC, Taibi F, et al. Characterization of cryoglobulins by immunoblotting. *Clin Chem* 1992;38:798-802..
157. Newkirk MM. Rheumatoid factors: host resistance or autoimmunity? *Clin Immunol* 2002;104: 1-13.
158. Winer SM, Berg T, Berthild H, et al. A clinical and virological study of hepatitis C virus-related cryoglobulinemia in Germany. *J Hepatol* 1998;29: 375-84.
159. Clifford BD, Donahue D, Smith L, et al. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1995;21: 613-19.
160. Leone N, Pellicano R, Ariata MI, et al. Mixed cryoglobulinemia and chronic hepatitis C virus infection: the rheumatic manifestations. *J Med Virol* 2002;66:200-3.

161. Pietrogrande M, Corona M, Milani M, et al. Relationship between rheumatoid factor and immune response against hepatitis C virus in essential mixed cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol* 1995;13: 109-113.
162. Ueda K, Nakagawa T, Shimizu A, et al. Rheumatoid factor in the serum of hepatitis C virus-infected patients: an increase in the titre during cold storage. *Ann Clin Biochem* 1996;33: 438-42.
163. Veetil BM, Osborn TG, Mayer DF. Extreme hypercomplementemia in the setting of mixed cryoglobulinemia. *Clin Rheum* 2011;7: 415-8.
164. Lamas AM, Arnold PI, Schulz DR. Deficiency of serum C1 subcomponents and low functional activity of C1-inhibitor in patient with urticaria and cryoglobulinemia. *Am J Med* 1992;92: 445-6.
165. Siegert CE, Daha MR, Westedt ML, et al. IgG autoantibodies against C1q are correlated with nephritis, hypocomplementemia, and dsDNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1991;18: 230-8.
166. Saadoun D, Sadallah S, Trendelenburg M, et al. Anti-C1q antibodies in hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol* 2006;145: 308-12.
167. Fada SH, Bassyouni IH, Hamdi A, et al. Anti-C1q in chronic hepatitis C virus genotype IV infection: association with autoimmune rheumatologic manifestations. *Immunol Invest* 2015;44: 44-55.
168. Feiner HD. Relationship of tissue deposits of cryoglobulin to clinical features of mixed cryoglobulinemia. *Hum Pathol* 1983;14: 710-5.
169. Ferri C, Mascia MT. Cryoglobulinemic vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 2006;18:54-63.
170. Kilpatrick JM, Volanakis JE. Molecular genetics, structure, and function of C-reactive protein. *Immunol Res* 1991;10: 43-53.
171. Romero IR, Morris C, Rodriguez M, et al. Inflammatory potential of C-reactive protein complexes compared to immune complexes. *Clin Immunol Immunopathol* 1998;87: 155-62.

172. Jarva H, Jokiranta TS, Hellwage J, et al. Regulation of complement activation by C-reactive protein: targeting the complement inhibitory activity of factor H by an interaction with short consensus repeat domains 7 and 8-11. *J Immunol* 1999;163: 3957-62.
173. Weiner SM, Prasauskas V, Lebrecht S, et al. Occurrence of C-reactive protein in cryoglobulinemia. *Clin Exp Immunol* 2001;125: 316-22.
174. Sene D, Limal N, Ghillani-Dalbin P, et al. Virus-associated B-cell proliferation- the role of serum B lymphocyte stimulator (BLyS/BAFF). *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 65-9.
175. Toubi E, Gordon S, Kessel A, et al. Elevated serum B-lymphocyte activating factor (BAFF) in chronic hepatitis C virus infection: association with autoimmunity. *J Autoimmunity* 2006;27: 134-9.
176. Fabris M, Quartuccio L, Sacco S, et al. B-lymphocyte stimulator (BLyS) up-regulation in mixed cryoglobulinemia syndrome and hepatitis C virus infection. *Rheumatology* 2007;46: 37-43.
177. De Vita S, Quartuccio L, Salvin S, et al. Sequential therapy with belimumab followed by rituximab in Sjogren's syndrome associated with B-cell lymphoproliferation and overexpression of BAFF: evidence for long-term efficacy. *Clin Exp Rheumatol* 2014; 32: 490-4.
178. De Blasi T, Aguilar Marucco D, Cariti G, et al. Cryoglobulinemia-related vasculitis during effective anti-HCV treatment with PEG-interferon alfa-2b. *Infection* 2008;36:285-7.
179. Luqemani RA. Disease assessment in systemic vasculitis. *J Indian Rheumatol Assoc* 2003;11:35-44.
180. Cordonnier D, Vialtel P, Renversez JC, et al. Renal disease in 18 patients with mixed type II IgM-IgG cryoglobulinemia (2 cases) and membranoproliferative glomerulonephritis (14 cases). *Adv Nephrol Necker Hosp* 1983;12: 177-204.
181. Rasul I, Shepherd FA, Kamel-Reid S, et al. Detection of occult low-grade non-Hodkin's lymphoma in patients with chronic hepatitis C virus infection and mixed cryoglobulinemia. *Hepatology* 1999; 9: 543-7.
182. Eble V, Legallicier B, Joly P, et al. Long term outcome of patients with low level of cryoglobulin (<0.05 g/L). *Autoimmunity Rev* 2016;15: 440-6.

PRILOG

HCV related life-threatening cryoglobulinemic vasculitis treated with plasma exchange and rituximab: case report and literature review

Category: Case report

Snezana Arandjelovic^{1,2}, Branka Bonaci-Nikolic^{1,2}, Aleksandra Peric-Popadic^{1,2}, Vesna Tomic-Spiric^{1,2}, Jasna Bolpacic^{1,2}, Sanvila Raskovic^{1,2}, Sladjana Andrejevic^{1,2}

¹Clinic of Allergology and Immunology, Clinical Centre of Serbia, Koste Todorovića 2, Belgrade 11 000, Serbia

² Faculty of Medicine, University of Belgrade, Belgrade 11 000, Serbia

Corresponding author:

Snezana Arandjelovic, MD, MSc

Clinic of Allergy and Immunology

Clinical Center of Serbia

Koste Todorovica 2

11000 Belgrade

Serbia

Telephone: +381 11 366 3700

Fax: +381 11 3615807

E-mail: snezana.arandjelovic@kcs.ac.rs

Abstract

Mixed cryoglobulinemia is the most prevalent extrahepatic manifestation of chronic HCV infection. It is usually a benign lymphoproliferative disorder which presents as vasculitis affecting different organs. Although life-threatening cryoglobulinemic vasculitis (CryoVas) is rare, it is sometimes the first and possibly lethal complication. Its treatment depends on the severity of vasculitis and can be challenging. High dose of corticosteroids, immunosuppressive agents and plasma exchange make the first-line treatment, which should be followed by antiviral therapy. Rituximab is an effective and safe treatment option. However, the data about its use in life-threatening conditions are scarce. We report the case of a patient with severe, relapsing and life-threatening HCV-related CryoVas resistant to standard therapy who had had an initial beneficial response to rituximab added to plasma exchange that was later compromised by the development of sepsis. We also review the literature and discuss manifestations and therapy of life-threatening Cryovas with focus on rituximab use.

Key words: hepatitis C virus (HCV); cryoglobulinemic vasculitis; life-threatening cryoglobulinemia; rituximab.

Introduction

Cryoglobulinemic vasculitis (CryoVas) is the most prevalent extrahepatic manifestation of chronic hepatitis C virus infection (HCV) which affects 150-170 million people worldwide. Circulating mixed cryoglobulins are detectable in about 40% of HCV-infected individuals but overt CryoVas develops in only 5-10% of those [1]. It is an immune-complex-mediated systemic vasculitis which most frequently affects small to medium sized blood vessels in the skin, joints and kidneys; however, any organ system can be involved [2]. HCV is present in more than 80% cases of CryoVas and has predilection for Mediterranean countries. Clinical picture of CryoVas is heterogeneous ranging from very mild symptoms to severe and life-threatening ones which may be the first manifestation of HCV infection [3].

Treatment of HCV-induced CryoVas depends on the severity of vascular lesions and it is challenging in patients with severe relapsing and life-threatening disease. It is associated with problems such as the choice of medications, risk of treatment failure and possible severe side effects. High-dose corticosteroids (HDC), immunosuppressive agents (ISA) and plasma exchange (PE) still make a standard initial treatment [4] that should be followed by antiviral drugs. Rituximab (Rtx) (an anti CD-20 monoclonal antibody) has been shown to be safe and efficient in CryoVas [5-7]. However, the data of its use in the treatment of life-threatening forms of the disease are scarce. Hence, we present our clinical experience with rituximab in the treatment of a patient with severe resistant, life-threatening form of CryoVas, in whom initially beneficial response was unfortunately followed by lethal septic condition.

Case report

A 53-year-old female patient was readmitted to our hospital in September 2015 due to exacerbation of the palpable purpura on lower limbs, arthralgia, high-grade fever (38.9°C), fatigue, acute abdominal pain with diarrhea and occasional hematochezia.

Her disease started in 2005 with a relapsing purpura and arthralgia, two years before she was diagnosed with HCV (genotype 4) infection, mixed cryoglobulinemia type II (polyclonal IgG/monoclonal IgMk) and compensated liver cirrhosis. Initial antiviral treatment with peginterferon-2a and ribavirin failed and vasculitis flares were subsequently treated with short courses of corticosteroids. The disease gradually worsened and in addition to the purpura she developed burning paresthesia of the lower limbs due to peripheral polyneuropathy (confirmed by electroneuromyography) and renal disease with erythrocyturia and subnephrotic proteinuria which were consistent with a clinical diagnosis of cryoglobulinemic glomerulonephritis (Cryo-GN). In 2008 the patient had experienced the first renal failure episode, which was treated with hemodialysis (three procedures) and HDC, resulting in complete recovery of renal function. In 2012 and 2015 she experienced two more similar episodes of impaired renal function, which were treated with HDC. Her creatinine level (around 130µmol/L) had been slightly elevated since 2012 (stable chronic renal failure). Vasculitic relapses were also provoked by repeated respiratory and urinary tract infections. The prevention of flares consisted of continuous oral prednisone (OP) therapy for the last two years (Figure 1).

Physical examination on the admission revealed prominent purpuric rash predominantly on the lower limbs (Figure 2), peripheral edema, elevated blood pressure (160/100 mmHg) and tenderness in the left side of the abdomen. Relevant laboratory findings were as follows: elevated

inflammatory markers (ESR 46 mm/h, CRP 38.4 mg/L), anemia (Hob 74.8 g/L), elevated keratinize level (292 mol/L), hypoalbuminemia (24 g/L), erythrocyturia (3+), proteinuria (3.9g/24h), hypogammaglobulinemia (IgG 4.43 g/L), low level of complement C3 (0.33 g/L) and C4 (< 0.05 g/L), positive rheumatoid factor (RF) (94 IU/mL), high concentration of cryoglobulin type II (monoclonal IgMk/policlonal IgG) (4.29 g/L), and positive occult blood stool test. Autoantibodies other than RF were not detected. HCV RNA was positive with 1,030,076 copies/mL while transaminases were within the normal range. Colonoscopy revealed mucosal inflammation, deep ulcerations and signs of ischemic colitis. Histological findings in the biopsy specimens were consistent with vasculitis.

The diagnosis of HCV-related CryoVas flare involving the skin, kidneys, and gastrointestinal (GI) system was made.

The patient was given IVM pulses (1000mg/day for 3 days), one session of PE three times every other day, empirical antibiotics, intravenous immunoglobulins (IVIg) and symptomatic treatment. Her condition gradually improved and the oral steroids were slowly tapered over a period of 4–6 weeks. Unfortunately, improvement did not last long and she experienced a new flare of the disease. Then rituximab (375mg/m²/week for 4 weeks) was introduced into the treatment, combined with a new course of PE.

There was a prompt initial improvement with the resolution of skin changes, disappearance of GI disturbances and improved renal function. Laboratory tests revealed disappearance of cryoglobulin and paraprotein (for the first time since they were discovered), increase in levels of C3 (0.46 g/L) and C4 (0.05 g/L) and decreased RF (45 IU/mL) concentration. Three weeks after the last rituximab dose was given, the patient got high fever and her general condition started to

gradually deteriorate. Laboratory tests showed raised ESR (96 mm/h) and CRP (379 mg/L) along with a low WBC ($1.6 \times 10^9/L$) and platelet ($14 \times 10^9/L$) count and low hemoglobin (78 g/L) and IgG concentration (1.9 g/L). Serum procalcitonin was elevated to 3.54 $\mu\text{g/L}$ and blood culture revealed the presence of *Pseudomonas aeruginosa*. Despite intensive treatment with broad spectrum and antipseudomonal antibiotics, IVIg and other supportive therapy, the patient developed severe respiratory and renal failure that resulted in death from multiple organ dysfunction and septic shock.

Discussion

CryoVas is associated with a wide spectrum of manifestations, ranging from various mild and relapsing symptoms and signs such as weakness, purpura and arthralgia, to moderate or severe (35%) and potentially life-threatening conditions (less than 15%) [8] (Table 1). Ramos-Calas *et al.* gave a description of 29 patients with life-threatening CryoVas out of 209 patients affected by the disease [9]. Retamozo *et al.* reviewed a total of 279 cases with life-threatening CryoVas (30 from their department) and found that in 232 patients (83%) it was the first manifestation of cryoglobulinemia [10]. They suggested awareness of life-threatening CryoVas as a differential diagnosis in ICU [11].

In our patient the disease gradually evolved from a moderate, well controlled disease on low-dose steroids to a severe, widespread type of vasculitis with multiple organ involvement and life-threatening conditions.

Renal involvement is the most common severe visceral manifestation of CryoVas. Cryo-GN appears in more than 20% of cases and it usually presents itself with mild proteinuria, microscopic hematuria and hypertension. In 70-80% of those cases renal biopsy reveals type 1

membranoproliferative GN [11]. Our patient was uncooperative for kidney biopsy and therefore Cryo-GN was diagnosed in accordance with the previously defined clinical criteria [12, 13]. More than 50% of patients with CryoVas have mild renal failure, which in one third of them becomes chronic within the next six years [14]. The reported survival rate for patients with chronic GN is 33% [8] and 39% after a mean follow-up of ten years [9]. It seems that Cryo-GN has the worst prognosis in patients with HCV-related cryoglobulinemia due to hesitation in giving of cyclophosphamide [15].

Less than 5% of patients with CryoVas have GI disease, which may be associated with GI bleeding, ischemic bowel disease, perforation and acute lesions involving any organ in the abdomen [16]. In a case-controlled study that included 163 patients with HCV-related CryoVas and polyarteritis nodosa-like vasculitis GI lesions were detected in only four of them [16]. One study showed that GI vasculitis has a very poor prognosis with mortality of 100% [9]. However, in our case CryoVas GI initially responded well to HDC.

CryoVas involves lungs in less than 5% of patients. Nevertheless, in those affected the prognosis is poor, particularly if it is associated with pulmonary hemorrhage [9] and/or Cryo-GN (renal-pulmonary syndrome) [15]. When CryoVas presents itself as primary cardiac disease it usually causes heart dysfunction with pulmonary edema, but this is rare. [11]. CryoVas-related coronary heart disease involves small blood vessels and angiography shows that major arteries are spared [17]. Life-threatening CNS manifestations, including thrombosis, hemorrhage and encephalopathy with cognitive dysfunction are extremely rare presentations of CryoVas (18).

In critically ill CryoVas patients the first-line treatment ought to be tailored to quickly alleviate the symptoms and signs of the disease. Early therapy consists of high-dose IVM pulses of 500–

1000mg/day for three days, followed by OP 1mg/kg/day and ISA (e. g. cyclophosphamide 2mg/kg/day orally, or one pulse of 600mg/m²/month i. v.) are useful in reversing pathogenic mechanisms of the disease, reducing production of cryoglobulins and limiting inflammation of blood vessel walls [3]. PE should quickly reduce a level of circulating cryoimmune complexes [19] and it is usually followed by HDC pulses, ISA [9] or rituximab [5]. It should be emphasized that replacement fluid needs to be pre-warmed during the PE in order to avoid paradoxical precipitation of cryoglobulins [20].

PE initially performed and followed by HDC had short-term benefits for our patient. The ISA were never given due to a fear of HCV disease progression and infection, which eventually caused her death.

Eradication of HCV infection is important in curing HCV-related CryoVas [21] and antivirals are part of the standard treatment for more than a decade. However, combination of pegylated interferon and ribavirin works in a relatively small number of patients (41–55%) [22]. The data about efficacy and safety of the first generation viral protease inhibitors (boceprevir, telaprevir) [23] and the new interferon-free protocols [12] in the treatment of HCV-related CryoVas are still limited. Antiviral therapy in our patient was not well tolerated and proved to be ineffective.

Since uncontrolled proliferation of B cells plays a key role in the pathogenesis of cryoglobulinemia, it seems logical to use therapy which can selectively prevent it. Rituximab is a mouse/human chimeric monoclonal antibody that binds itself to a CD20 transmembrane protein and its use in humans results in quick and lasting depletion of peripheral blood B lymphocytes [6]. It is licensed for the treatment of various malignancies as well as for refractory rheumatoid arthritis, granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis. During the last decade

several authors have shown that rituximab could be efficient in the treatment of HCV-related CryoVas [5–7]. In an open-labeled randomized controlled trial Sneller *et al.* compared rituximab and standard immunosuppressive therapy in 24 patients with HCV-related CryoVas resistant to antiviral drugs and found significantly higher six-month remission in the rituximab group (83% vs. 8%) [7].

Literature review indicates that rituximab was mostly used for HCV-related CryoVas patients who did not respond or were intolerant to standard treatment or already had an associated lymphoma [24], which makes it a kind of a „rescue” therapy. It seems that ineffective monotherapy with rituximab can be improved by previous PE [25].

A combination of rituximab and antiviral drugs may target both cryoglobulin-producing B cells and a viral intruder [24]. Uraro *et al.* presented a case of successful treatment of HCV-related CryoVas with a combination of Peg-IFN/ribavirin/boceprevir and rituximab [23]. Terrier *et al.* showed that rituximab plus HDC treatment was more efficient compared to standard HDC and ISA. However, Rtx plus corticosteroids was associated with severe infections [26].

To the best of our knowledge, up to now there are 18 published cases in which rituximab was used for life-threatening HVC-related CryoVas (Table 2). In our patient the drug was used after previous PE in order to avoid possible systemic reactions due to high concentration of cryoglobulin and low C4 levels [24,27].

Serious life-threatening infections may occur in HCV-related CryoVas patients treated with HDC, ISA or PE [5, 11, 14]. Chronic renal failure often enhances already existing immunosuppression and the risk of infection. Ramos-Casals *et al.* found that four out of five patients who died of infection also had chronic renal failure due to Cryo-GN [9]. In addition,

HCV infection *per se*, leading to immune dysregulation, contributes to immunosuppression of the host who has already been severely immunocompromised by the previous treatment [28]. In our patient treatment with varying doses of corticosteroids, which were tailored to control disease activity, was relatively effective for several years. However, during that time her HCV-related CryoVas had a progressive course. She became exhausted with her disease and immunocompromised due to long lasting use of HDC. Our patient's poor tolerance to Rtx administration remains unclear. Hypogammaglobulinemia and severe infection have been documented in patients treated with Rtx but causal association is questionable due to confounding effects associated with immunosuppressive therapy and immune dysregulation caused by underlying disease [29].

Conclusion

Long-lasting evolution of chronic HCV infection is burdened with unpredictability and it can go in many different directions, CryoVas being one of the possible one. Natural course of CryoVas is usually slow, but sometimes may be characterized with acute and life-threatening manifestations. Careful evaluation of every single patient is crucial as well as the introduction of appropriate therapy on time, while the overall condition is still good. The application of Rtx in early phase of disease is a reasonable treatment option and it should lead to the expected therapeutic benefit and diminish possible side effects of its use.

It seems that a low baseline immunoglobulin level is a risk factor for development of significant hypogammaglobulinemia after the Rtx administration. Serious non-opportunistic infections may occur in this setting and can be prevented by administration of IVIg to maintain an IgG level above 4 g/L.

Available literature concerning the efficacy Rtx in treatment of life-threatening CryoVas is restricted to case reports and case series. These data and our own experience are in some manner encouraging and emphasize the need for long-lasting careful monitoring in order to avoid the occurrence of infections. The risk of infections in some HCV patients with Rtx-therapy is not yet well understood and it calls for further research in this area.

References

1. Cacoub P, Comarmond C, Domont F, Savey L, Desbois A, Saadoun D (2015) Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection. *Ther Adv Infect Dis* 0: 1-12.
2. Sansonno D, Dammacco F (2005) Hepatitis C virus, cryoglobulinemia, and vasculitis: immune complex relation. *Lancet Infect Dis* 5: 227-236.
3. Ramos-Casals M, Stone JH, Cid MC, Bosch X (2012) The cryoglobulinaemias. *Lancet* 379: 348-360.
4. Pietrogrande M, De Vita S, Zignego AL, Pioltelli P, Sansonno D, Sollima S, Atzeni F, Saccardo F, Quartuccio L, Bruno S, Bruno R, Campanini M, Candela M, Castelnovo L, Gabrielli A, Gaeta GB, Marson P, Mascia MT, Mazzaro C, Mazzotta F, Meroni P, Montecucco C, Ossi E, Piccinino F, Prati D, Puoti M, Riboldi P, Riva A, Roccatello D, Sagnelli D, Scaini P, Scarpato S, Sinico R, Taliani G, Tavoni A, Nonacci E, Renoldi P, Filippini D, Sarzi-Puttini P, Ferri C, Monti G, Galli M (2011) Recommendations for the management of mixed cryoglobulinemia syndrome in hepatitis C virus-infected patients. *Autoimmun Rev* 10: 444-454.
5. De Vita S, Quartuccio L, Isola M, Mazzaro C, Scaini P, Lenzi M, Campanini M, Naclerio C, Tavoni A, Pietrogrande M, Ferri C, Mascia MT, Masolini P, Zabotti A, Maset M, Rocatello D, Zignego AL, Piottelli P, Gabrielli A, Filippini D, Perrella O, Migliaresi S, Galli M, Bombardieri S, Monti G (2012) A randomized controlled trial of rituximab for the treatment of severe cryoglobulinemic vasculitis. *Arthritis Rheum* 64: 843-853.

6. Zaja F, De Vita S, Mazzaro C, Sacco S, Damiani D, De Marchi G, Micheluti A, Baccarani M, Fanin R, Ferracoli G (2003) Efficacy and safety rituximab in type II mixed cryoglobulinemia. *Blood* 101:3827-3834.
7. Sneller MC, Hu Z, Langford CA (2012) A randomized controlled trial of rituximab following failure of antiviral therapy for hepatitis V virus-associated cryoglobulinemic vasculitis. *Arthritis Rheum* 64: 835-842.
8. Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D, Cazzato M, Longombardo G, Antonelli A, Puccini R, Michelassi C, Zignego AL (2004) Mixed cryoglobulinemia:demographic, clinical and serologic features and survival in 231 patients. *Semin Arthritis Rheum* 33: 355-374.
9. Ramos-Casals M, Robles A, Brito-Zerón P, Nardi N, NicolásJM, Forn X, Plaza J, Yagüe J, Sánchez-Tapias JM, Font J (2006) Life-threatening cryoglobulinemia:clinical and immunological characterization of 29 cases. *Semin Arthritis Rheum* 36: 189-196.
10. Retamozo S,Diaz-Lagares C, Bosch X, Bové A, Brito-Zerón P, Gómez ME, Yagüe J, Forn X, Cid M, Ramos-Casals M (2013) Life-threatening cryoglobulinemic patients with hepatitis C: clinical description and outcome of 279 patients. *Medicine* 92: 273-284.
11. Zaidan M, Mariotte E, Galicier L, Arnulf B, Meignin V, Verine J, Mahr A, Azoulay E (2012) Vasculitis emergensies in the intensive care unit:a special focus on cryoglobulinemic vasculitis. *Ann Intensive Care* 2: 31.
12. Sisé M, Bloom A, Wisocky J, Lin M, Gustafson J, Lundquist AL, Steele D, Thiim M, Williams W, Hashemi N, Kin AY, Thadhani R, Chung RT (2016) Treatment of hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia with direct-acting antiviral agents. *Hepatology* 63: 408-417.
13. Saadoun D, Rigon MR, Sene D, Terrier B, Karras A, Perard L, Schoindre Y, Coppéré B, Blanc F, Musset L, Piette JC, Rosenzweig M, Cacoub P (2010) Rituximab plus Peg-

interferon- α /ribavirin compared Peg-interferon- α /ribavirin in hepatitis C-related mixed cryoglobulinemia. *Blood* 116: 326-334.

14. Tarantino A, Campise M, Banti G, Confalonieri R, Bucci A, Montoli A, Colasanti G, Damilano I, D'Amico G, Minetti L, Ponticelli C (1995) Long-term predictors of survival in essential mixed cryoglobulinemia glomerulonephritis. *Kidney International* 47: 618-623.
15. Beddhu S, Bastacki S, Johnson JP (2002) The clinical and morfologic spectar of renal cryoglobulinemia. *Medicine (Baltimore)* 81: 398-409.
16. Terrier B, Saadoun D, Sène D, Scerra S, Musset L, Cacoub P (2010) Presentation and outcome of gastrointestinal involvement in hepatitis C virus-related systemic vasculitis:a case-control study from single-centre cohort of 163 patients. *Gut* 59: 1709-1715.
17. Karras A, Potier L, Reboux AH, Coldea N, Perdix I, Jacquot C, Mouseaux E (2010) Cryoglobulin-induced cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 55: e13.
18. Casato M, Saadoun D, Marchetti A, Limal N, Picq C, Pantano P, Galanaud D, Cianci R, Duhaut P, Piette JC, Fiorilli M, Cacoub P (2005) Central nervous system involvement in hepatitis C virus cryoglobulinemia vasculitis: a multicenter case-control study using magnetic resonance imaging and neuropsychological tests. *J Rheumatol* 32: 484-488.
19. Winters J (2012) Plasma exchange: concepts, mechanisms, and an overview of the American Society for Apheresis guidelines. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012: 7-12.
20. Evans TW, Nicholls AJ, Shortland JR, Ward AM Brown CB (1984) Acute renal failure in essential mixed cryoglobulinemia: precipitation and reversal by plasma exchange. *Clin Nephrol* 21: 287-293.
21. Gragnani L, Fognani E, Piluso A, Boldrini B, Urraro T, Fabbrizzi A, Stasi C, Ranieri J, Monti M, Arena U, Iannacone C, Laffi G, Zignego AL (2015) Long-term effect of HCV

- eradication in patients with mixed cryoglobulinemia:a prospective, controlled, open-label, cohort study. *Hepatology* 61: 1145-1153.
22. Dammacco F, Sansonno D (2013) Therapy for hepatitis C virus-related cryoglobulinemic vasculitis. *N Engl J Med* 369: 1035-1045.
 23. Urraro T, Gragnani L, Piluso A, Fabbrizzi A, Monti M, Fognani E, Boldrini B, Ranieri J, Zignego AL (2015) Combined treatment with antiviral therapy and rituximab in patients with mixed cryoglobulinemia:review of literature and report of case using direct antiviral agents-based antihepatitis C virus therapy. *Case Reports Immunol* 2015: 816424.
 24. Cacoub P, Terrier B, Saadoun D (2014) Hepatitis C virus-induced vasculitis:therapeutic options. *Ann Rheum Dis* 73: 24-30.
 25. Tallarita T, Gagliano M, Corona D, Giuffrida G, Giaquinta A, Zerbo D, Sorbello M, Veroux P, Veroux M (2009) Successful combination of rituximab and plasma exchange in the treatment of cryoglobulinemic vasculitis with skin ulcers:a case report. *Cases J* 2: 7859.
 26. Terrier B, Krastinova E, Marie I, Launag D, Lacraz A, Belleotti P, de Saint-Martin L, Quememar T, Huart A, Bonnet F, Le Guenno G, Kahn JE, Hirschberger O, Rullier P, Diot E, Bridoux F, Zénone T, Carrat F, Hermine O, Léger JM, Mariette X, Senet P, Plasier E, Cacoub P (2012) Management of noninfectious mixed cryoglobulinemia vasculitis:data from 242 cases included in the Cryo Vas survey. *Blood* 119: 5996.
 27. Sené D, Ghillani-Dalbin P, Amboura Z, Musset L, Cacoub P (2009) Rituximab may form complex with IgM kappa mixed cryoglobulin and induce severe systemic reactions in patients with hepatitis C virus-induced vasculitis. *Arthritis Rheum* 60: 3848-3855.
 28. Zignego AL, Giannini C, Gragnani L, Piluso A, Fognani E (2012) Hepatitis C virus infection in the immunocompromised host: a complex scenario with variable clinical impact. *J Transl Med* 10: 158-169.

29. Gea-Banacloche JC (2010) Rituximab associated infections. *Semin Hematol* 47: 187-198.

Table 1. Definition of life-threatening cryoglobulinemic vasculitis [9,11]

The diagnosis can be established if there are any of the following:		
1	Renal involvement	cryoglobulinemic GN with raised serum creatinine (> 2 mg/dL); Glomerular injury is diagnosed by renal biopsy and classified as membranoproliferative GN, or focal proliferative GN
2	Gastrointestinal involvement	vasculitic involvement of the esophagus, stomach, small intestine, colon, or any intraabdominal viscera presenting as gastrointestinal hemorrhage, intestinal ischemia, acute pancreatitis, or acute cholecystitis.
3	Lung involvement	pulmonary hemorrhage leading to respiratory failure, in the absence of pulmonary edema, adult respiratory distress syndrome, infectious pneumonia, lung cancer, or granulomatous disease.
4	CNS involvement	cerebral ischemia (in absence of hypercoagulability or cardiovascular disease), encephalopathy with impaired cognitive function, brain hemorrhage, spinal cord, or cranial nerve involvement.
5	Heart involvement	acute heart failure or acute coronary syndrome in absence previous cardiovascular disease
6	Widespread vasculitis	multiple organ involvement, including the skin and at least two other organs (kidneys, gastrointestinal organs, lungs, CNS)
7	Other	hyperviscosity syndrome, liver failure in HCV-related mixed cryoglobulinemia (acute-on-chronic hepatitis and cirrhosis)

Table 2. - Literature review: Rituximab in therapy of HCV related life-threatening cryoglobulinemic vasculitis

Author	Number of patients on Rtx therapy	Etiology Cryovas	Manifestations	Therapy	Outcome
Lamprecht, et al 2003	1	HCV/NHL	Purpura, polyneuropathy progressive and resistant to standard therapy, ischemic colitis	PE, gcs, CYF, Rtx 6x500mg/every three weeks	Remission
Ramos Casals, et al 2006	1	HCV	Pulmonary hemorrhage	PE, gcs, CYF, Rtx	Death
Monti G, et al 2007	1	HCV	Purpura, leg ulcers, acute renal failure, widespread vasculitis ("catastrophic sy")	PE, gcs, Rtx 375mg/m ² /week for 4 weeks	Death
Visentini M, et al 2007	6	HCV	Necrotizing leg ulcers, renal failure, hyperviscosity or intestinal vasculitis.	Low doses od gcs, Rtx 250mg/m ² per week for 2 weeks	Death 2/6
Quartuccio L, et al 2010	5	HCV	Abdominal vasculitis	Gcs, Rtx 375mg/m ² /week for 4 weeks	Death 1/5
Zaidan M, et al 2012	1	HCV	skin ulcers, renal laesion, GIT laesion, heart failure	gcs 1mg/kg/day, PE, Rtx 375mg/m ² /week for 4 weeks	Remission
Meillier A, et al. 2014	1	HCV/NHL	Leg ulcers, ARF	gcs, Rtx 700mg/week for 4 weeks	Remission
Bitar ZI, et al. 2014	1	HCV	Alveolar hemorrhage, ARF, fulminant hepatitis	Gcs, PE, Rtx 375mg/m ² /week for 2 weeks	Death
Mahieu R, et al 2015	1	HCV	Heart failure, Renal involvement	Rtx 375mg/m ² /week for 4 weeks, simeprevir, sofosbuvir	Remission
Arandjelovic S, et al (present case) 2016	1	HCV	Renal failure, GIT laesion	Gcs, PE, Rtx 375mg/m ² /week for 4 weeks	Death

Abbreviations: HCV-hepatitis C virus; Cryovas-cryoglobulinemic vasculitis; NHL-non Hodgkin lymphoma; ARF-acute renal failure; GIT-gastrointestinal tract; PE-plasma exchange; gcs-glucocorticosteroids; Rtx-rituximab; CYF-cyclofosamide; IVIG-intravenous immunoglobulins.

Methylprednisolone iv "pulses" 1000mg/day for 3 days

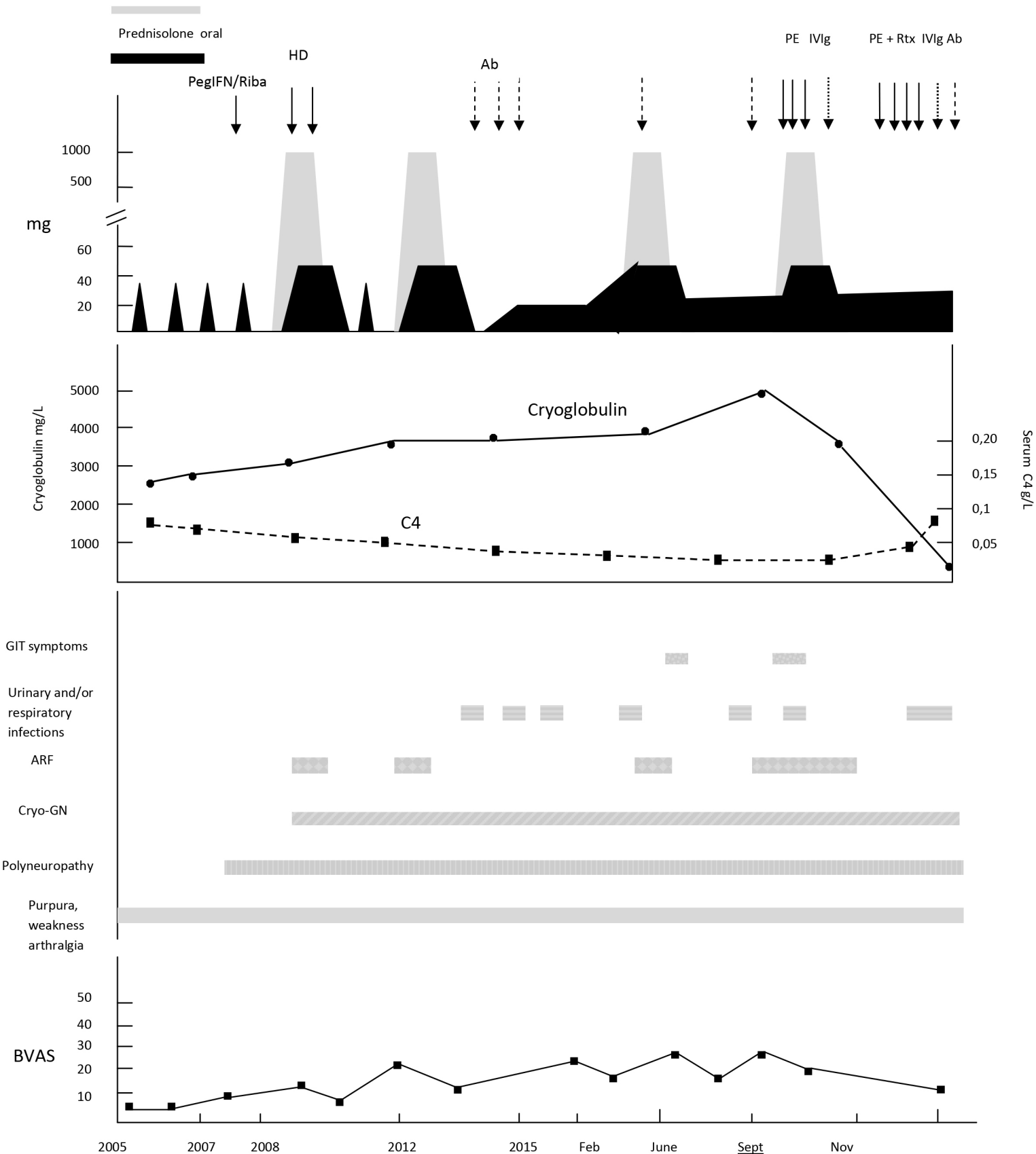


Figure 1. The patient's disease course (a 10-year follow-up). Clinical symptoms, treatment, levels of cryoglobulin and C4 and Birmingham vasculitis activity score (BVAS) are shown. Abbreviations: PegIFN-pegylated IFN α 2b; Riba-ribavirin; GIT-gastrointestinal tract; ARF-acute renal failure; Cryo-GN-cryoglobulinemic glomerulonephritis; HD-hemodialysis; Ab-antibiotics; PE-plasma exchange; IVIg-intravenous immunoglobulins 25g; Rtx-rituximab 375mg/m²/weekly;

BIOGRAFIJA

Dr Snežana Arandjelović rođena je 29.12.1964. godine u Beogradu, gde je završila osnovnu i srednju školu sa odličnim uspehom.

Od 01.08.1991. zaposlena na Klinici za alergologiju i imunologiju Kliničkog centra Srbije, u Jedinici intenzivne nege (Odeljenje za sistemske vaskulitise i medikamentoznu alergiju).

Medicinski fakultet u Beogradu upisala je školske 1982/83. godine, a diplomirala 1989. godine sa prosečnom ocenom 9,64 (iz svih kliničkih predmeta 10,0). Tokom studija pohvaljena je za odličan uspeh i postignute rezultate.

Obavezni pripravnički lekarski staž obavila je tokom 1990. godine kao zaposlena na Medicinskom fakultetu u Beogradu. Posle završenog lekarskog staža i položenog stručnog ispita 27.02.1991, volontirala je na Odeljenju intenzivne internističke nege Urgentnog centra, do prijema na Kliniku za alergologiju i imunologiju Univerzitetskog kliničkog centra u Beogradu, 01.08.1991. kada je zaposlena kao klinički lekar na odeljenju Intenzivne nege i gde je u stalnom radnom odnosu od 20.07.1994.godine.

Specijalizacija iz Interne medicine odobrena je 01.04.1993. godine. Specijalistički ispit iz Interne medicine položila je 30.12.1996. sa ocenom odličan.

Užu specijalizaciju iz Alergologije i kliničke imunologije, završila je 04.05.2012. godine na Medicinskom fakultetu u Beogradu, odbranom rada pod nazivom : "Odnos između krioglobulinemije i nekih kliničkih i laboratorijskih parametara u sistemskom eritemskom lupusu", mentor Doc.dr A.Perić Popadić.

Magistarske studije na Medicinskom fakultetu u Beogradu, iz uže naučne oblasti imunologije, završila je 17.04.2006. odbranom Magistarskog rada pod nazivom "Klinički značaj krioglobulina u sistemskom eritemskom lupusu", mentor prof.dr Sanvila Rašković, članovi komisije Prof.dr M.Bogić, Prof.dr M.Čolić, Prof.dr N.Damjanov.

Za kliničkog asistenta za užu naučnu oblast interna medicina (alergologija) izabrana je 27.09.2012.

Bila je učesnik većeg broja domaćih i međunarodnih skupova i kongresa, edukacionih kurseva i letnjih školi iz oblasti alergologije i kliničke imunologije u organizaciji Evropske akademije za alergologiju i

imunologiju (EAACI) (Advanced educational program on immunology of asthma, 06-11.June 2000, Ferra, Italy; Educational course for allergologists and clinical immunologista, 12-16 June, Palić, Yugoslavia; Highlights on allergic rhinitis and its impact on asthma, 21-25.August, Sofia, Bulgaria.)

Član je Srpskog lekarskog društva, Evropske akademije za alergologiju i imunologiju (EAACI), kao i Udruženja alergologa i kliničkih imunologa, gde je bila sekretar od 2004-2008. godine. Bila je sekretar Sekcije za alergologiju i imunologiju SLD, od 2011. do 2015.god.

Govori engleski jezik.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Snežana Arandjelović

broj upisa _____

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

"Analiza kliničkih i imunoseroloških osobnosti bolesnika sa krioglobulinemijom: doprinos utvrđivanju fenotipova"

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 20.07.2016.



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora ___Snežana Arandjelović_____

Broj upisa _____

Studijski program _____

Naslov rada "Klinički i imunoserološki fenotipovi bolesnika sa kriglobulinemijom: doprinos utvrđivanju fenotipova"

Mentor _Prof. dr Branka Bonači Nikolić_____

Potpisani _____Snežana Arandjelović_____

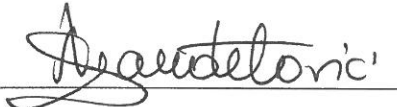
izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, ___20.07.2016._____



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

"Analiza kliničkih i imunoseroloških fenotipova bolesnika sa kriglobulinemijom: doprinos utvrđivanju fenotipova"

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, ____20.07.2016.____

