

# Krioglobulinemija u bolesnika sa sustavnim autoimunim bolestima

---

**Topolovec, Margareta**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:496577>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-04-12**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Margareta Topolovec**

**Krioglobulinemija u bolesnika  
sa sustavnim autoimunim bolestima**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2023.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta i Kliničkoga bolničkog centra Zagreb pod vodstvom doc. dr. sc. Ivana Padjena i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2022./2023.

## Popis kratica

ANA – antinuklearna antitijela

BIS – Bolnički informacijski sustav

dsDNA – DNA s dvostrukom uzvojnicom (*engl. double stranded DNA*)

Hb – hemoglobin

HBV – virus hepatitisa B

HCV – virus hepatitisa C

IgA – imunoglobulin A

IgG – imunoglobulin G

IgM – imunoglobulin M

KBC – Klinički bolnički centar

MCV – prosječni volumen eritrocita (*engl. mean corpuscular volume*)

MGUS – monoklonska gamapatija neodređene važnosti (*engl. monoclonal gammopathy of undetermined significance*)

RF – reumatoidni faktor

SE – sedimentacija eritrocita

SLE – sustavni eritemski lupus (*engl. systemic lupus erythematosus*)

SjS – Sjögrenov sindrom

SScl – sustavna skleroza

## Sadržaj

Sažetak .....	
Summary .....	
Uvod .....	1
<b>Krioglobulini</b> .....	1
<b>Dijagnoza krioglobulinemije</b> .....	1
<b>Klasifikacija krioglobulinemije</b> .....	2
<b>Krioglobulinemijski vaskulitis</b> .....	4
<b>Krioglobulinemija u sustavnim autoimunim bolestima</b> .....	4
Hipoteza .....	6
Ciljevi rada .....	7
Ispitanici i metode .....	8
Bolesnici .....	8
Analizirani podaci .....	8
Statistička analiza podataka .....	9
Etička pitanja .....	9
Rezultati rada .....	10
Rasprava .....	15
<b>Krioglobulinemija i sustavne autoimune bolesti</b> .....	15
<b>Krioglobulinemija u Sjögrenovom sindromu</b> .....	15
<b>Krioglobulinemija u sustavnom eritemskom lupusu</b> .....	16
<b>Vrijednost krioprecipitata</b> .....	16
<b>Razlike u dobi između bolesnika s različitim tipovima krioglobulinemije</b> .....	17
Zaključci .....	18
Zahvale .....	19

<b>Literatura</b> .....	20
<b>Životopis</b> .....	23

## Sažetak

**Naslov rada:** Krioglobulinemija u bolesnika sa sustavnim autoimunim bolestima

**Autor:** Margareta Topolovec

Uvod: Krioglobulini su proteini koji precipitiraju pri temperaturi ispod 37°C, a njihova prisutnost u serumu zove se krioglobulinemija. Tip 1 krioglobulinemije veže se uz limfoproliferativne bolesti, dok se tipovi krioglobulinemije 2 i 3 povezuju s infekcijom virusom hepatitisa C, neoplazmama te sustavnim autoimunim bolestima.

Ciljevi: Cilj ovog istraživanja je usporediti laboratorijske i kliničke značajke između bolesnika s krioglobulinemijom tipa 2 i tipa 3.

Ispitanici i metode: Riječ je o presječnoj studiji temeljenoj na podacima iz bolničke arhive. Uključeni su bolesnici kojima je u razdoblju od tri godine dokazana prisutnost krioglobulina u serumu. Analizirana su klinička i laboratorijska obilježja koja su zatim uspoređena između bolesnika s krioglobulinemijom tipa 2 i 3.

Rezultati: Prisutnost krioglobulina dokazana je kod ukupno 38 bolesnika (krioglobulinemija tip 2 – 10 bolesnika; krioglobulinemija tip 3 – 24 bolesnice i 4 bolesnika). Kod bolesnika s krioglobulinemijom tipa 2 pronađena je značajno viša vrijednost reumatoidnog faktora (359,9, IKR 106,6-379,5 IU/ml vs. 20, IKR 13,4-93,4 IU/ml,  $p=0,007$ ) i krioprecipitata (385,5, IKR 216,5-492,5 mg/L vs. 119,5, IKR 82,3-156 mg/L,  $p<0,001$ ) te niža vrijednost C4 (0,04, IKR 0,03-0,08 g/L vs. 0,13, IKR 0,06-0,19 g/L,  $p=0,025$ ) i gama globulina (9,3, IKR 8,1-12,2 g/L vs. 12,5, IKR 9,6-19 g/L,  $p=0,029$ ) u usporedbi sa bolesnicima s krioglobulinemijom tipa 3. Dijagnoza SLE-a postavljena je kod 21 bolesnika (tip 2 - 8 bolesnika vs. tip 3 - 13 bolesnika,  $p=0,137$ ). Dijagnoza Sjögrenovog sindroma utvrđena je kod 8 bolesnika (tip 2 - 6 bolesnika vs. tip 3 - 2 bolesnika,  $p=0,002$ ).

Zaključak: U analiziranoj skupini bolesnika najčešće su prisutne dijagnoze Sjögrenovog sindroma i SLE-a. Dijagnoza krioglobulinemije tipa 2 rjeđa je od krioglobulinemije tipa 3, a povezana je sa Sjögrenovim sindromom i izraženijim utroškom komplementa.

**Ključne riječi:** krioglobulinemija, SLE, Sjögrenov sindrom, krioprecipitat

## Summary

**Title:** Cryoglobulinemia in patients with systemic autoimmune diseases

**Author:** Margareta Topolovec

**Introduction:** Cryoglobulins are proteins that precipitate at the temperature below 37°C, and their presence in the serum is called cryoglobulinemia. Cryoglobulinemia type 1 is associated with lymphoproliferative disorders, while cryoglobulinemia types 2 and 3 are associated with hepatitis C infection, neoplasms and systemic autoimmune diseases.

**Aim:** The aim of this study was to compare laboratory and clinical features between patients with cryoglobulinemia type 2 and 3.

**Patients and methods:** For this cross-sectional study data were obtained from the hospital archives. Patients positive for cryoglobulinemia in their serum over a period of three years were included in the study. Clinical and laboratory characteristics were analyzed and then compared between patients with cryoglobulinemia type 2 and 3.

**Results:** The presence of cryoglobulin was proven in a total of 38 patients (cryoglobulinemia type 2 – 10 female patients; cryoglobulinemia type 3 – 24 female patients and 4 male patients). In patients with cryoglobulinemia type 2, we identified a significantly higher value of rheumatoid factor (359.9, IQR 106.6-379.5 IU/ml vs. 20, IQR 13.4-93.4 IU/ml,  $p=0.007$ ) and cryoprecipitate (385.5, IQR 216.5-492.5 mg/L vs. 119.5, IQR 82,3-156 mg/L,  $p<0.001$ ), and a lower value of C4 (0.04, IQR 0.03-0.08 g/L vs. 0.13, IQR 0,06-0,19 g/L,  $p=0.025$ ) and gamma globulin (9.3 , IQR 8.1-12.2 g/L vs. 12.5, IQR 9.6-19 g/L,  $p=0.029$ ) compared to patients with cryoglobulinemia type 3. The diagnosis of SLE was made in 21 patients (type 2 - 8 patients vs. type 3 - 13 patients,  $p=0.137$ ). the diagnosis of Sjögren's syndrome was established in 8 patients (type 2 - 6 patients vs. type 3 - 2 patients,  $p=0.002$ )

**Conclusion:** In the analyzed group of patients, the most common diagnoses were Sjögren's syndrome and SLE. The diagnosis of cryoglobulinemia type 2 was less common than cryoglobulinemia type 3, and it was associated with Sjögren's syndrome and a more pronounced hypocomplementemia.

**Key words:** cryoglobulinemia, SLE, Sjögren's syndrome, cryoprecipitate



## Uvod

### Krioglobulini

Krioglobulini su imunoglobulini koji u laboratorijskim uvjetima podliježu precipitaciji pri temperaturi nižoj od normalne tjelesne temperature (37°C) a pri ponovnom porastu temperature precipitati se otapaju. Prisutnost krioglobulina u serumu naziva se krioglobulinemija, koja najčešće ostaje asimptomatska, dok se za simptomatske bolesnike koristi termin krioglobulinemijska bolest.(1) Uobičajena klinička manifestacija je sustavni vaskulitis koji zahvaća kožu, zglobove i bubrege, a pridružene bolesti mogu pridonijeti kliničkoj slici.

### Dijagnoza krioglobulinemije

Za dijagnozu krioglobulinemije potrebno je dokazati prisutnost krioglobulina u serumu jednostavnom biokemijskom kvantifikacijom. Proces dijagnoze dijeli se u tri faze: predanalitičku, analitičku te fazu karakterizacije krioprecipitata. Najvažniji uzrok lažno negativnih rezultata je pad temperature kod prikupljanja uzorka ili pri transportu do laboratorija (predanalitička greška). Iz tog razloga važno je tijekom cijelog procesa osigurati uvjete u kojima temperatura izvađene krvi neće pasti ispod 37°C. Uzorak krvi prikuplja se u epruvetu bez antikoagulansa prethodno zagrijanu na 37°C te se odmah transportira u laboratorij. Uzorak se zatim centrifugira, također na 37°C, na 2000 okretaja u minuti kroz 10 ili 30 minuta. Time završava predanalitička i započinje analitička faza. Supernatant se prebacuje u Wintrobe-epruvetu na 4°C u kojoj može stajati do 7 dana. Nakon toga slijedi kvantifikacija te višestruko ispiranje serumskih proteina koje obavezno prethodi karakterizaciji krioprecipitata imunofiksacijom. Nakon kvantifikacije provjerava se termoreverzibilnost procesa ponovnim zagrijavanjem seruma na 37°C i otapanjem precipitata. (2–4)

## Klasifikacija krioglobulinemije

U daljnjem tijeku verifikacije krioglobulinemije potrebno je odrediti tip krioglobulinemije. U upotrebi je klasifikacija iz 1974. po Brouetu (5), prema kojoj postoje tri tipa krioglobulinemije koji se međusobno razlikuju po klasi imunoglobulina te laboratorijskim značajkama i kliničkim asocijacijama. Tipovi krioglobulinemije uspoređeni su u Tablici 1.

Tip 1 krioglobulinemije je monoklonska krioglobulinemija koja se sastoji od jednog monoklonskog imunoglobulina, obično IgG ili IgM, nastalog monoklonalnom ekspanzijom plazmastičnog klon. Ovaj tip krioglobulinemije povezan je s limfoproliferativnim poremećajima: monoklonskom gamapatijom neodređene važnosti (MGUS), Waldenströmovom makroglobulinemijom, multiplim mijelomom, non-Hodgkinovim limfomom. Tipovi 2 i 3 predstavljaju miješane krioglobulinemije koje su povezane s raznim infekcijama, sustavnim autoimunim bolestima i neoplazmama. Tip 2 sastoji se od kombinacije poliklonskog IgG i monoklonskog IgM, a tip 3 sastoji se od poliklonskog IgG i poliklonskog IgM. Aktivnost reumatoidnog faktora (RF) imaju i monoklonski i poliklonski IgM. (6, 7)

Tablica 1. Klasifikacija krioglobulinemija

Tip krioglobulinemije	Tip 1	Tip 2	Tip 3
Učestalost	25%	25%	50%
Klasa imunoglobulina	Monoklonski IgM ili IgG	Monoklonski IgM + poliklonski IgG	Poliklonski IgM + poliklonski IgG
Miješana krioglobulinemija	Ne	Da	Da
Laboratorijske značajke	RF - Slobodni laki lanci	RF+ C4↓	RF+ C4↓
Kliničke manifestacije	Hiperviskozni sindrom (glavobolja, poremećaj stanja svijesti, smetnje vida)	Vaskulitis malih krvnih žila Meltzerova trijada (palpabilna purpura, artralgija, opća slabost) Zahvaćenost bubrega	
Kliničke asocijacije	MGUS Walderströmova makroglobulinemija Multipli mijelom	Hepatitis C Sustavne autoimune bolesti Limfomi	Sustavne autoimune bolesti Kronične infekcije

Popis kratica: RF - reumatoidni faktor, MGUS - monoklonska gamapatija neodređene važnosti

Koristeći osjetljivije metode, na primjer metodu imunoblota ili elektroforezu proteina, krioglobulinemija tip 2 može pokazivati mikroheterogenu kompoziciju. Tu se može naći oligoklonski IgM ili kombinacija poliklonskog i monoklonskog IgM. Ovakav serološki nalaz označava se kao krioglobulinemija tip 2-3 i može predstavljati intermedijarno stanje u prijelazu tipa 2 u tip 3. (6)

## Krioglobulinemijski vaskulitis

Krioglobulinemijski vaskulitis je upala malih i srednje velikih krvnih žila posredovana imunokompleksima koji sadrže krioglobuline, a uključuje aktivaciju komplementa. Rijetko se javlja izolirano, a češće sekundarno uz druge bolesti. Prevalencija krioglobulinemijskog vaskulitisa je 1:100.000 uz značajne geografske varijacije vezane uz prevalenciju hepatitisa C. Procjenjuje se da će 5% pacijenata s hepatitisom C razviti krioglobulinemijski vaskulitis. Češće zahvaća žene u dobi od 45 do 65 godina. Obično su zahvaćeni koža, muskuloskeletni sustav i bubrezi. Meltzer je opisao trijas simptoma koji uključuje palpabilnu purpuru, artralgijske i opću slabost. (8) Meltzerov trijas prisutan je kod 80% bolesnika s miješanom krioglobulinemijom. Egzacerbacije su praćene općim simptomima kao što su povišena temperatura, opća slabost i bolovi u mišićima. Osim palpabilne purpore, kožne manifestacije javljaju se u obliku Raynaudovog fenomena, *livedo reticularis*, ulceracija prstiju te gangrene. Artralgijska zahvaća šake i koljena, obično bez kliničkih znakova artritisa. Neurološki simptomi su često bilateralni i simetrični u obliku senzorne ili senzomotorne polineuropatije donjih udova. Rjeđe se nalazi multipla mononeuropatija. Zahvaćenost bubrega obično označava lošu prognozu i prezentira se nefritičkim sindromom. Rjeđe kliničke manifestacije uključuju središnji živčani sustav, gastrointestinalni sustav, perikarditis, hipertrofičku kardiomiopatiju, hiperviskozni sindrom, suhoću očiju i usta te parotitis. (9)

## Krioglobulinemija u sustavnim autoimunim bolestima

Pojam esencijalna krioglobulinemija podrazumijeva isključenje ostalih infektivnih, autoimunih i neoplastičnih poremećaja. Miješana krioglobulinemija povezana je s raznim stanjima, najčešće s infekcijom virusom hepatitisa C, ali javlja se i uz sistavne autoimune bolesti. U većini slučajeva riječ je o primarnom Sjögrenovom sindromu, koji se tada povezuje s ekstraglandularnim manifestacijama, povećanim rizikom za razvoj B-staničnog limfoma i lošim preživljenjem. Krioglobulinemija je prisutna u do 47% bolesnika sa Sjögrenovim sindromom i češće je riječ o tipu 2 krioglobulinemije. Miješana krioglobulinemija nađena je i u oko 10% bolesnika sa sustavnim ertiemskim lupusom i reumatoidnim artritisom. Rijetka je povezanost sa sustavnom sklerozom,

temporalnim arteritisom, nodoznim poliarteritisom, polimiozitisom itd. Važna je pažljiva evaluacija pacijenata za donošenje točne dijagnoze zbog sličnosti u kliničkoj prezentaciji i mogućnosti sindroma preklapanja.(10)

## Hipoteza

Bolesnici s krioglobulinemijom tipa 2 i 3 razlikuju se po kliničkim i laboratorijskim značajkama.

## Ciljevi rada

Cilj ovog rada je opisati klinička i laboratorijska obilježja bolesnika s krioglobulinemijom te usporediti navedena obilježja između bolesnika s krioglobulinemijom tipa 2 i krioglobulinemijom tipa 3.

Specifični ciljevi ovog rada su:

- 1) utvrditi koje su sustavne autoimune bolesti najčešće povezane s krioglobulinemijom te
- 2) utvrditi laboratorijska obilježja po kojima se razlikuje krioglobulinemija tipa 2 i 3.

## Ispitanici i metode

### Bolesnici

Analiza je provedena na populaciji bolesnika iz poliklinike Zavoda za kliničku imunologiju i reumatologiju Klinike za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta, Kliničkoga bolničkog centra Zagreb. Riječ je o presječnom istraživanju u koje su uključeni bolesnici kojima je u razdoblju od 1. 1. 2019. do 1. 2. 2022. utvrđena prisutnost krioglobulina u serumu tijekom rutinske obrade. Podaci su prikupljeni iz „Bolničkog informacijskog sustava“ (BIS) KBC-a Zagreb.

### Analizirani podaci

Različiti parametri određeni prilikom pozitivnog nalaza krioglobulinemije uspoređeni su između bolesnika s krioglobulinemijom tipa 2 i tipa 3. U slučaju da je u istog bolesnika u više navrata prilikom prethodno definiranog razdoblja utvrđena prisutnost krioglobulina, analizirani su podaci od zadnjeg dostupnog trenutka kada su utvrđeni pozitivni krioglobulini. Analizirani su sljedeći podaci:

- a) demografski podaci: dob i spol;
- b) laboratorijski podaci: serumska koncentracija komponenata komplemента C3 i C4, pozitivnost antinuklearnih antitijela u serumu metodom imunofluorescencije, serumska protutijela na dvostruku uzvojnicu DNA – dsDNA, serumska protutijela SS-A 52, SS-A 60 i SS-B, reumatoidni faktor (RF), koncentracija gama-globulina te imunoglobulina G, A i M u serumu, brzina sedimentacije eritrocita, koncentracija hemoglobina, prosječni volumen eritrocita (MCV), krioprecipitat u serumu, monoklonski proteini u serumu i
- c) prisutnost idućih stanja: dijagnoza hepatitisa B i C, Raynaudov sindrom, sustavna skleroza, sustavni eritemski lupus, Sjögrenov sindrom, vaskulitisi, limfom.



## **Statistička analiza podataka**

Najprije je provedena deskriptivna statistička analiza. Za provjeru normalnosti kvantitativnih varijabli korišten je Shapiro-Wilkov test. Kontinuirane varijable s normalnom distribucijom prikazane su kao aritmetička sredina i standardna devijacija te su uspoređene pomoću Studentovog t-testa. Kontinuirane varijable koje ne podliježu normalnoj distribuciji prikazane su kao medijan i interkvartilni raspon, a razlike između vrijednosti analizirane su pomoću Mann-Whitneyevog U-testa. Razlike u frekvencijama kvalitativnih varijabli, odnosno proporcija, analizirane su Fisherovim egzaktnim testom i hi-kvadrat testom. Razlike dobivenih vrijednosti između skupina statistički su se analizirale na razini značajnosti od 5%. Statistička analiza napravljena je pomoću programa JASP (Eric-Jan Wagenmakers, Sveučilište u Amsterdamu, Nizozemska).

## **Etička pitanja**

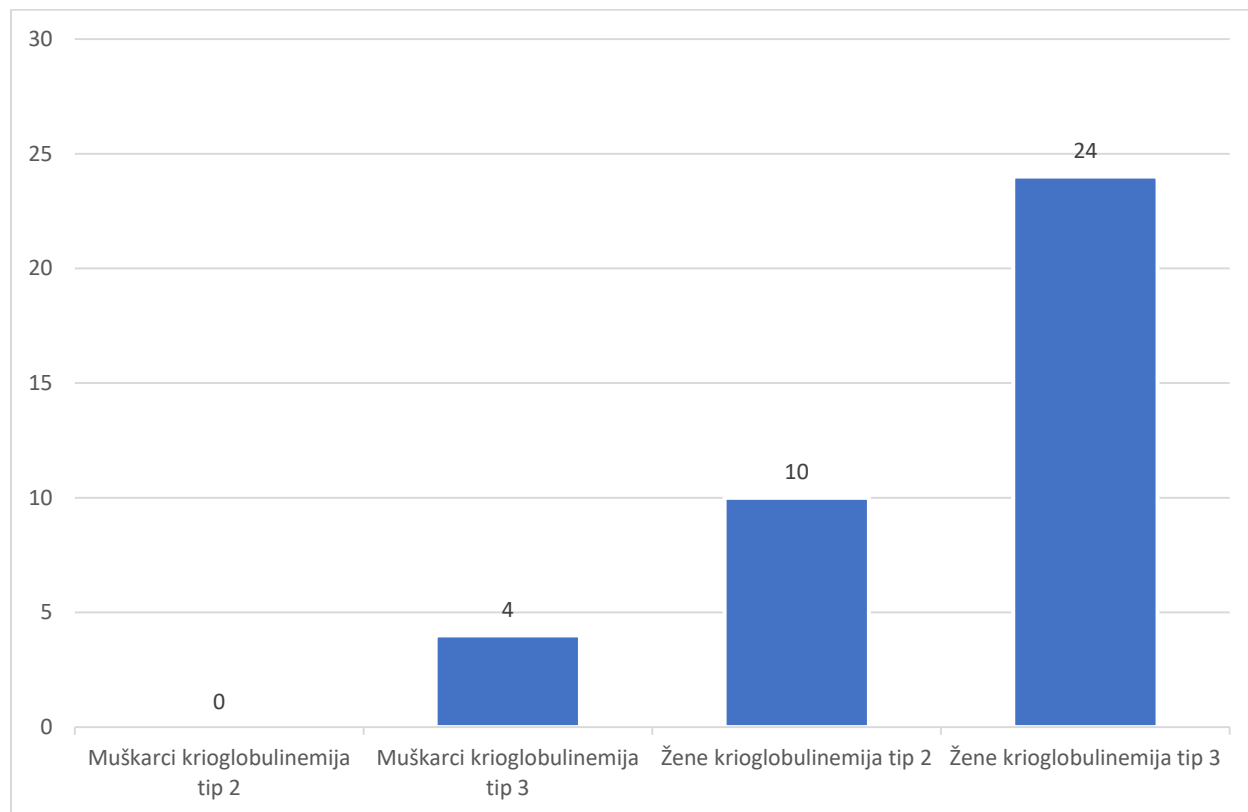
Za provedbu ovog znanstvenog rada dobivena je suglasnost etičkog povjerenstva KBC-a Zagreb (5. prosinca 2022. klasa 8.1-22/246-2 broj 02/013 AG).

## Rezultati rada

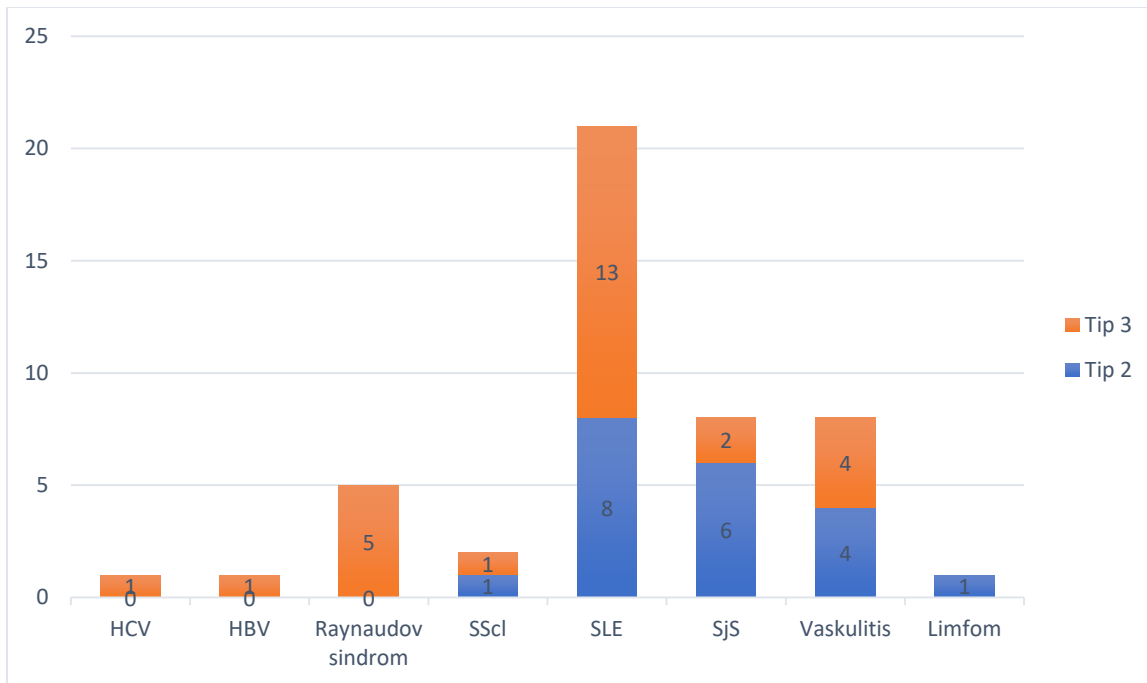
Dijagnoza krioglobulinemije postavljena je u ukupno 38 bolesnika. Krioglobulinemija tip 2 utvrđena je u 10 bolesnika (26%), dok je krioglobulinemija tip 3 utvrđena u 28 bolesnika (74%). U oba tipa brojčano su zastupljenije žene (tip 2 -  $\mathring{Z}=10$ ,  $M=0$ ; tip 3 -  $\mathring{Z}=24$ ,  $M=4$ ).

Za istaknuti je da niti u jednog bolesnika nije utvrđena krioglobulinemija tipa 1.

Za cijelu skupinu podaci su analizirani deskriptivnim metodama te su prikazani u tablici 2 i 3 te grafički.



Slika 1. Raspodjela bolesnika po tipu krioglobulinemije i spolu



Slika 2. Dijagnoze utvrđene u bolesnika s krioglobulinemijom

Tablica 2. Usporedba demografskih i kliničkih obilježja između bolesnika s kriglobulinemijom tipa 2 i tipa 3

Varijable	Krioglobulinemija tip 2	Krioglobulinemija tip 3	p-vrijednost
<b>Demografska obilježja</b>			
Spol (ženski)	10/10	24/28	0,206
Dob (godine)	63 (58-67)	42 (35-60)	0,003*
<b>Klinička obilježja</b>			
SLE	8/10	13/28	0,137
Sjögrenov sindrom	6/10	2/28	0,002*
Krioglobulinemijski vaskulitis	4/10	4/28	0,170
Limfom	1/10	0/28	0,263
Hepatitis C	0/8	1/28	1,000
Hepatitis B	0/8	1/28	1,000
Raynaudov sindrom	0/10	5/28	0,298
Sustavna skleroza	1/10	1/27	0,490

\* - statistički značajne razlike, SLE – sustavni eritemski lupus

Tablica 3. Usporedba laboratorijskih obilježja između bolesnika s krioglobulinemijom tipa 2 i tipa 3

Laboratorijski parametri	Krioglobulinemija tip 2	Krioglobulinemija tip 3	p-vrijednost
Krioprecipitat (mg/L)	358,5 (216,5-492,5)	119,5 (82,3-156,0)	<0,001*
Gama globulin (serum) (g/L)	9,3 (8,1-12,2)	12,5 (9,6-19,0)	0,029*
IgG (serum) (g/L)	9,5 (8,3-13,0)	14,9 (9,5-18,6)	0,082
IgM (serum) (g/L)	2,1 (1,5-2,8)	1,9 (1,0-2,5)	0,328
IgA (serum) (g/L)	1,6 (1,3-2,8)	2,3 (1,9-3,5)	0,169
Monoklonalni protein (prisutnost u serumu)	4/10	12/25	1,000
Reumatoidni faktor (IU/ml)	359,9 (106,6-379,5)	20,0 (13,4-93,4)	0,007*
C3 (g/L)	0,86±0,23	0,91±0,27	0,570
C4 (g/L)	0,04 (0,03-0,08)	0,13 (0,06-0,19)	0,025*
ANA (prisutnost)	9/10	24/28	0,731
dsDNA (IU/ml)	0 (0-80,5)	83 (0-525)	0,053
SE (mm/h)	25 (13,5-46)	31 (14-44)	0,878
Hb (g/L)	128,4±7,589	130±14,737	0,746
MCV (fL)	88,82±4,564	88,136±4,681	0,692

\* - statistički značajne razlike, ANA - antinuklearna antitijela, MCV - prosječni volumen eritrocita

Bolesnici s krioglobulinemijom tipa 2 stariji su od bolesnika s krioglobulinemijom tipa 3 (63 godine, 58-67 vs. 42 godine, 35-60;  $p=0,003$ ).

Tablica 3 prikazuje usporedbu laboratorijskih obilježja između dviju skupina bolesnika. Medijan vrijednosti krioprecipitata u bolesnika s krioglobulinemijom tipa 2 iznosio je 385,5 mg/L, što je značajno više nego u bolesnika s tipom 3, čiji je medijan iznosio 119,5 mg/L ( $p<0,001$ ). Vrijednosti reumatoidnog faktora (RF) također su značajno više među bolesnicima s krioglobulinemijom tipa 2 (medijan 360 IU/ml) u odnosu na tip 3 (medijan 20 IU/ml) s razinom značajnosti od 0,007. Medijan izmjerenih vrijednosti C4 iznosio je 0,04 g/L kod krioglobulinemije tipa 2 i značajno je niži u odnosu na krioglobulinemiju tipa 3 (0,122 g/L) ( $p=0,025$ ). Isto tako, vrijednosti gama globulina značajno su niže kod krioglobulinemije tipa 2 (medijan tip 2 9,5 g/L, tip 3 12,5 g/L;  $p=0,029$ ).

Prisutnost antinuklearnih antitijela utvrđena je kod 33 bolesnika, no bez značajne razlike između tipa 2 i tipa 3 krioglobulinemije.

U tablici 2 prikazana je usporedba kvalitativnih varijabli između dviju skupina bolesnika. Najčešća pridružena bolest bio je sustavni lupus (SLE), koji je dijagnosticiran u 21 bolesnika, od toga 8 bolesnika s krioglobulinemijom tipa 2 i 13 bolesnika s krioglobulinemijom tipa 3 ( $p=0,137$ ). Dijagnoza Sjögrenovog sindroma postavljena je kod 8 bolesnika, značajno češće kod bolesnika s krioglobulinemijom tipa 2 (tip 2 – 6 bolesnika, tip 3 – 2 bolesnika;  $p=0,002$ ). Dijagnoza vaskulitisa također je utvrđena kod 8 bolesnika, no bez značajne razlike između dva tipa krioglobulinemije. Rjeđe su postavljane dijagnoze Raynaudovog sindroma (5 bolesnika), hepatitisa B i C (po jedan bolesnik), sustavne skleroze (2 bolesnika) i limfoma (1 bolesnik). Kod tih dijagnoza nisu utvrđene statistički značajne razlike među tipovima krioglobulinemija.

## Rasprava

### Krioglobulinemija i sustavne autoimune bolesti

Od otkrića virusa hepatitisa C 1989. godine primijećeno je da je većina slučajeva krioglobulinemije za koju se smatralo da je esencijalna, zapravo povezana s infekcijom hepatitisom C. Ta povezanost ovisi o populaciji unutar koje se provodi analiza. Do 30% slučajeva krioglobulinemije nije vezano za HCV. Takva krioglobulinemija može biti esencijalna, a može biti i povezana s hematološkim poremećajima ili sa sustavnim autoimunim bolestima. Od autoimunih bolesti, prije svega riječ je o Sjögrenovom sindromu, ali i sustavnom eritemskom lupusu, sustavnoj sklerozi te reumatoidnom artritisu. Krioglobulinemija sa sustavnim autoimunim bolestima najčešće je miješana. Kod miješane krioglobulinemije bez prisutnosti HCV-infekcije, rjeđe je prisutna klasična trijada simptoma, za razliku od krioglobulinemije s prisutnom HCV-infekcijom.

### Krioglobulinemija u Sjögrenovom sindromu

Prisutnost krioglobulina dokazana je kod 16%-47% bolesnika pri dijagnozi primarnog Sjögrenovog sindroma.(11) Prisutni krioglobulini bili su miješani monoklonski IgM imunoglobulini, što odgovara krioglobulinemiji tipa 2, koja čini 97% slučajeva krioglobulinemije u Sjögrenovu sindromu.(2) Naši rezultati u skladu su s radovima koji upućuju na češću prevalenciju krioglobulinemije tipa 2 u Sjögrenovom sindromu. Većina bolesnika ostaje asimptomatska, a dio razvije simptome krioglobulinemijskog vaskulitisa. Broj bolesnika koji zadovoljavaju kriterije za dijagnozu krioglobulinemijskog vaskulitisa varira od 2% do 50%.(12) U kliničkoj slici, uz krioglobulinemiju su češće ekstraglandularne manifestacije (u 82% pacijenata s krioglobulinemijom, u usporebi s 47% pacijenata bez krioglobulinemije). Krioglobulini bi mogli poslužiti kao osjetljiv indikator razvoja ekstraglandularnih manifestacija kod bolesnika sa Sjögrenovim sindromom. Od laboratorijskih značajki, kod bolesnika sa krioglobulinemijom povezanom sa Sjögrenovim sindromom nađene su više vrijednosti IgM reumatoidnog faktora, češća je prisutnost Ro (SS-A) antitijela te su niže vrijednosti C4 u serumu.(13) Pokazano je da prisutnost krioglobulina pri dijagnozi primarnog Sjögrenovog sindroma

predstavlja rizik za veću smrtnost (HR=5,09, p=0,001). (14) Povećan je rizik za razvoj B-staničnog limfoma kod bolesnika koji uz Sjögrenov sindrom imaju dokazanu prisutnost krioglobulina (HR=2,56), a posebno kod onih koji imaju dijagnosticiran krioglobulinemijski vaskulitis (HR=7,47), u usporedbi s onima bez prisutnosti krioglobulina (HR=0,39). (15) Najčešće je riječ o MALT-limfomu, a osim što je prevalencija limfoma češća, kraće je i vrijeme do dijagnoze limfoma uz prisutnu krioglobulinemiju. (16) Određujući faktor za razvoj limfoma je prisutnost monoklonskog reumatoidnog faktora, koji predstavlja B-staničnu klonalnu ekspanziju. Rijetko se spominje utjecaj imunosupresivne terapije na razvoj limfoma. Dok se dugotrajna primjena azatioprina može povezati s višim rizikom razvoja limfoma, rizik razvoja limfoma uz primjenu metotreksata nije dokazan. (15)

### **Krioglobulinemija u sustavnom eritemskom lupusu**

Krioglobulinemija u bolesnika sa SLE-om je česta, no najčešće asimptomatska. 17% bolesnika sa SLE-om ima dokazanu prisutnost krioglobulina u serumu (13), ali vrijednosti kriokrita su niže i kliničke manifestacije krioglobulinemijskog vaskulitisa su rjeđe nego kod bolesnika s primarnim Sjögrenovim sindromom (3). Za razliku od krioglobulina kod bolesnika sa Sjögrenovim sindromom, krioglobulini u bolesnika sa SLE-om najčešće su miješani poliklonski IgM imunoglobulini, što odgovara tipu 3 krioglobulinemije.(13) Kod 80% bolesnika prisutna je krioglobulinemija tipa 3, a kod 19% krioglobulinemija tipa 2.(17) Nema značajne razlike u učestalosti nefritisa, dermatitisa, artritisa ni Raynaudova fenomena između bolesnika oboljelih od SLE-a koji imaju krioglobulinemiju u usporedbi s onima koji nemaju krioglobulinemiju. Bolesnici s prisutnošću krioglobulina imaju značajno niže vrijednosti C4 u serumu. 15% bolesnika razvije krioglobulinemijski vaskulitis, koji se najčešće manifestira promjenama na koži, rjeđe zahvaćenošću bubrega (membranoproliferativni glomerulonefritis).(17)

### **Vrijednost krioprecipitata**

Koncentracija krioglobulina po literaturi obično ne korelira s ozbiljnošću simptoma i aktivnosti krioglobulinemijskog vaskulitisa, kao ni s prognozom bolesti. (6) Tako vrlo



niske vrijednosti kriokrita, koje je ponekad teško kvantificirati, mogu biti povezane s teškim kriglobulinemijskim sindromom. Isto tako, vrlo visoke razine kriglobulina mogu biti prisutne u asimptomatskom obliku bolesti. Iznimka je hiperviskozni sindrom koji se može pojaviti kod jako visokih koncentracija krioprecipitata, uglavnom u bolesnika s kriglobulinemijom tipa 1.

Nagli pad ili potpuni nestanak miješanih kriglobulina u serumu, koji je ponekad povezan s izrazito visokim vrijednostima C4, može predstavljati komplikaciju B-staničnog limfoma. (6)

Kod kriglobulinemije bez prisutnosti HCV-infekcije, vrijednosti kriokrita i komponenata komplementa ipak bolje koreliraju s ozbiljnošću kliničkih manifestacija, u usporedbi s kriglobulinemijom povezanom s HCV-infekcijom.(18)

### **Razlike u dobi između bolesnika s različitim tipovima kriglobulinemije**

Prema našim rezultatima, bolesnici s kriglobulinemijom tipa 2 statistički su značajno stariji od bolesnika s kriglobulinemijom tipa 3. Slični rezultati nađeni su u studijama francuskih (tip 2  $56,6 \pm 16,3$  godina vs tip 3  $49,8 \pm 17,7$  godina) (19), talijanskih (tip 2  $69,4 \pm 10$  godina vs tip 3  $60 \pm 12$  godina) (20) i kineskih autora (tip 2  $53,6 \pm 16,3$  godina vs tip 3  $50,3 \pm 16,6$  godina) (21). Iako su i prema tim studijama bolesnici s kriglobulinemijom tipa 2 starije dobi u usporedbi s kriglobulinemijom tipa 3, navedena dobna razlika nije statistički značajna.

## Zaključci

U analiziranoj skupini bolesnika sa sustavnim autoimunim bolestima češće je prisutna krioglobulinemija tipa 3 u odnosu na krioglobulinemiju tipa 2. U obje skupine češće su zahvaćene žene. Uz dijagnozu krioglobulinemije najčešće su prisutne dijagnoze SLE-a i Sjögrenovog sindroma. Posebno se izdvaja povezanost Sjögrenovog sindroma i krioglobulinemije tipa 2 te izraženijeg utroška komplementa.

## **Zahvale**

Zahvaljujem mentoru doc. dr. sc. Ivanu Padjenu na ukazanom povjerenju i stručnoj pomoći prilikom izrade diplomskog rada.

## Literatura

1. Retamozo S, Brito-Zerón P, Bosch X, Stone JH, Ramos-Casals M. Cryoglobulinemic disease. *Oncology (Williston Park)*. 2013;27(11):1098–1196.
2. Gulli F, Santini SA, Napodano C, Bottoni P, Pocino K, Rapaccini GL i sur. Cryoglobulin Test and Cryoglobulinemia Hepatitis C-Virus Related. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2017;9(1):e2017007.
3. Roccatello D, Saadoun D, Ramos-Casals M, Tzioufas AG, Ferrienza FC, Cacoub P i sur. Cryoglobulinaemia. *Nat Rev Dis Primer*. 2018;4(1):11.
4. Napodano C, Gulli F, Rapaccini GL, Marino M, Basile U. Cryoglobulins: Identification, classification, and novel biomarkers of mysterious proteins. *Adv Clin Chem*. 2021;104:299–340.
5. Brouet JC, Clauvel JP, Danon F, Klein M, Seligmann M. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. A report of 86 cases. *Am J Med*. 1974;57(5):775–88.
6. Ferri C, Zignego AL, Pileri SA. Cryoglobulins. *J Clin Pathol*. 2002;55(1):4–13.
7. Marshall SE, Johnston SL. Clinical immunology. U: Ralston SH, Penman I, Strachan MWJ, Hobson R. *Davidson's Principles and Practice of Medicine*. 23. izd. Edinburgh: Elsevier; 2018, str. 61-90.
8. Meltzer M, Franklin EC, Elias K, McCluskey RT, Cooper N. Cryoglobulinemia--a clinical and laboratory study. II. Cryoglobulins with rheumatoid factor activity. *Am J Med*. 1966;40(6):837–56.
9. Davuluri S, Vaqar S. Cryoglobulinemic Vasculitis. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [pristupljeno 28.4.2023.]. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556045/>
10. Ferri C. Mixed cryoglobulinemia. *Orphanet J Rare Dis*. 2008;3:25.

11. Ramos-Casals M, Cervera R, Yagüe J, García-Carrasco M, Trejo O, Jiménez S i sur. Cryoglobulinemia in primary Sjögren's syndrome: prevalence and clinical characteristics in a series of 115 patients. *Semin Arthritis Rheum*. 1998;28(3):200–5.
12. Ramos-Casals M, Stone JH, Cid MC, Bosch X. The cryoglobulinaemias. *Lancet*. 2012;379(9813):348–60.
13. Tzioufas AG, Manoussakis MN, Costello R, Silis M, Papadopoulos NM, Moutsopoulos HM. Cryoglobulinemia in autoimmune rheumatic diseases. Evidence of circulating monoclonal cryoglobulins in patients with primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 1986;29(9):1098–104.
14. Brito-Zerón P, Ramos-Casals M, Bove A, Sentis J, Font J. Predicting adverse outcomes in primary Sjogren's syndrome: identification of prognostic factors. *Rheumatology (Oxford)*. 2007;46(8):1359–62.
15. Retamozo S, Gheitasi H, Quartuccio L, Kostov B, Corazza L, Bové A i sur. Cryoglobulinaemic vasculitis at diagnosis predicts mortality in primary Sjögren syndrome: analysis of 515 patients. *Rheumatology (Oxford)*. 2016;55(8):1443–51.
16. De Vita S, Gandolfo S, Zandonella Callegher S, Zabotti A, Quartuccio L. The evaluation of disease activity in Sjögren's syndrome based on the degree of MALT involvement: glandular swelling and cryoglobulinaemia compared to ESSDAI in a cohort study. *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36 Suppl 112(3):150–6.
17. Roubertou Y, Mainbourg S, Hot A, Fouque D, Confavreux C, Chapurlat R i sur. Cryoglobulinemia in systemic lupus erythematosus: a retrospective study of 213 patients. *Arthritis Res Ther*. 2022;24(1):167.
18. Mascia MT, Ferrari D, Campioli D, Sandri G, Mussini C, Ferri C. Non HCV-related mixed cryoglobulinemia. *Dig Liver Dis*. 2007;39 Suppl 1:S61-64.
19. Kolopp-Sarda MN, Nombel A, Miossec P. Cryoglobulins Today: Detection and Immunologic Characteristics of 1,675 Positive Samples From 13,439 Patients Obtained Over Six Years. *Arthritis Rheumatol*. 2019;71(11):1904–12.

20. Basile U, Gulli F, Gragnani L, Pocino K, Napodano C, Miele L i sur. Different biochemical patterns in type II and type III mixed cryoglobulinemia in HCV positive patients. *Dig Liver Dis.* 2018;50(9):938–43.
21. Zhang X, Yu XJ, An CW, Yong ZH, Wang SX, Zhou F de i sur. Clinicopathological Spectrum of Cryoglobulinemic Glomerulonephritis without Evidence of Autoimmunity Disorders: A Retrospective Study from a Single Institute of China. *Kidney Dis.* 2022;8(3):253–63.

## Životopis

Rođena sam 30. 5. 1998. u Zagrebu. Završila sam Osnovnu školu Brezovica, a nakon toga XI. gimnaziju u Zagrebu, gdje sam maturirala 2017. godine. U akademskoj godini 2017./2018. upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu.

Dobitnica sam Dekanove nagrade Medicinskog fakulteta za najboljeg studenta pete godine studija. Bila sam aktivni sudionik na 24. Kongresu Hrvatskoga reumatološkog društva. Bila sam demonstrator na Katedri za internu medicinu u sklopu nastave iz Kliničke propedeutike u akademskoj godini 2022./2023.

Aktivno se služim engleskim i njemačkim jezikom.