



Ulcere cutanee in corso di crioglobulinemia di tipo I: descrizione di due casi e revisione della letteratura

Carmelo Sgarlata, Sonia Torti, Camilla Vassallo, Giovanni Borroni, Olga Ciocca

*Clinica Dermatologica, Università degli Studi di Pavia,
Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia*

Ulcere cutanee in corso di crioglobulinemia di tipo I: descrizione di due casi e revisione della letteratura

Le ulcere cutanee sono manifestazioni di condizioni locali e sistemiche alterate, e possono essere la prima manifestazione di malattie gravi e potenzialmente fatali. La crioglobulinemia di tipo I è una paraproteinemia monoclonale generalmente asintomatica la cui manifestazione d'esordio può essere la comparsa di lesioni cutanee, generalmente di tipo ischemico o vasculitico, talora con ulcere. Si descrivono due casi di crioglobulinemia di tipo I in cui la manifestazione d'esordio sono state delle ulcere alle gambe con aspetti clinici molto simili. Nel secondo caso, in particolare, la patologia era associata ad una sindrome di Sjogren, condizionandone la prognosi. La diagnosi eziologica delle ulcere cutanee è quindi di fondamentale importanza non solo perché costituisce il primo passo per un trattamento risolutivo delle lesioni, ma anche perché può permettere di identificare e trattare precocemente malattie sistemiche potenzialmente molto gravi o evolutive delle quali possono essere la prima manifestazione clinica.

Skin ulcers due to type I cryoglobulinemia: two case reports and review of the literature

Skin ulcers are not disease, but the manifestation of underlying local or systemic and sometimes severe disease, for which skin lesions can be the first clinical sign. Type I cryoglobulinemia is a usually asymptomatic monoclonal paraproteinemia. When symptomatic, ischemic or vasculitic skin lesions and sometimes ulcers can be the first clinical manifestation. We describe the cases of two patients with type I cryoglobulinemia whose onset was characterized by leg ulcers. In the second case the patient was also affected by Sjogren syndrome, with a worse prognosis. Etiologic diagnosis of skin ulcers is the first goal of ulcer management, not only to start the appropriate and effective treatment to treat the ulcer, but also to promptly identify and treat a possible severe disease whose first manifestation can be the ulcer itself.

Introduzione

Un'ulcera cutanea è una lesione secondaria caratterizzata da perdita di sostanza interessando il derma con scarsa o assente tendenza alla guarigione spontanea. In quanto lesione secondaria non è un'entità nosologica a se stante, ma la possibile manifestazione clinica di fattori locali e sistemici, fra cui molte

patologie e condizioni parafisiologiche, spesso presenti in contemporanea. Pertanto, arrivare alla diagnosi eziologica di un'ulcera è non solo indispensabile per iniziare quanto prima trattamento appropriato ed efficace, ma può anche offrire la possibilità di diagnosticare malattie sistemiche potenzialmente molto gravi la cui manifestazione iniziale può appunto essere un'ulcerazione cutanea cronica.

Una classe di malattie che appartengono a questo gruppo sono le crioglobulinemie.

Si definisce crioglobulinemia la presenza in circolo di immunoglobuline in grado di precipitare reversibilmente in vitro a temperature inferiori a 37°C (crioglobuline) [1]. La presenza di proteine precipitabili al freddo o crioproteine fu dimostrata per la prima volta da Wintrobe e Buell nel 1933 in un caso di mieloma multiplo [2] e successivamente tali proteine furono denominate crioglobuline da Lerner e Watson nel 1947 [3]. Oggi sono noti diversi tipi di crioproteine, classificate dal punto di vista biochimico in tre classi principali: le crioglobuline, i criofibrinogeni e la fibronectina [4].

Le crioglobulinemie sono state classificate da Brouet e Collaboratori [8] in tre forme distinte in alla caratterizzazione delle immunoglobuline presenti nel crioprecipitato. Nella crioglobulinemia di tipo I (anche definita crioglobulinemia monoclonale) nel crioprecipitato è presente un'unica immunoglobulina, solitamente IgG o IgM di origine monoclonale. Nella crioglobulinemia di tipo II il crioprecipitato è costituito da immunocomplessi formati da immunoglobuline policlonali di tipo IgG e una componente monoclonale IgM diretta contro la frazione costante delle catene pesanti di tipo γ . Il crioprecipitato che si osserva nella crioglobulinemia di tipo III è anch'esso caratterizzato dalla presenza di immunocomplessi, ma questi sono costituiti da IgG policlonali e da IgM policlonali sempre con attività autoanticorpale diretta contro la frazione costante delle catene pesanti immunoglobuliniche [8]. Le crioglobuline di tipo II e III, relativamente più frequenti, sono generalmente associate a malattie infettive o autoimmuni. La crioglobulinemia di tipo I, invece, è estremamente rara e si può osservare solo in caso di malattie proliferative dei linfociti B, di cui possono costituire una complicanza molto grave, potenzialmente fatale anche in caso di piccoli cloni peraltro benigni, come nelle gammopatie monoclonali di incerto significato (MGUS).

In molti pazienti il riscontro di una crioglobulinemia è casuale, in assenza di qualunque sintomo o segno obiettivo. Quando presenti, le manifestazioni cliniche possono essere molteplici e varie, con differenze significative nei diversi tipi di crioglobulinemia, includendo sia manifestazioni sistemiche, come malessere generale e febbre, sia segni e sintomi causati dalla sofferenza ischemica del microcircolo di specifici organi bersaglio come la cute, il rene, il sistema nervoso centrale e periferico, o i polmoni [6-7, 20-21]. L'interessamento cutaneo, molto frequente, è caratterizzato dalla presenza di sintomi indotti dal freddo, come l'acrocianosi e il fenomeno di Raynaud, da lesioni di tipo prevalentemente vasculitico, e dalla comparsa di ulcere cutanee tipicamente dolenti e dolorabili o di gangrena alle estremità [7-8, 12].

Casi clinici

Caso clinico 1

Il paziente, un uomo di 57 anni di età, fumatore, giungeva alla nostra attenzione per piccole ulcere estremamente dolenti e dolorabili alle ginocchia e ai malleoli risultate resistenti per mesi alle terapie locali attuate in precedenza presso altri Centri. All'anamnesi patologica remota il paziente riferiva una pregressa epatite B. Il quadro clinico cutaneo era caratterizzato da piccole ulcere rotondeggianti a margini netti, ben demarcate dalla cute circostante (che appariva integra in assenza di flogosi perilesionale), dolenti ed estremamente dolorabili, a livello delle ginocchia e dei malleoli, associate a pigmentazione brunastra della cute della faccia dorsale e laterale dei piedi e a livedo reticolata delle gambe (Figura 1).

L'eco-color-doppler venoso e arterioso di entrambe le gambe escludeva trombosi venose o arteriose macroscopiche. L'esame istologico di cute prelevata tramite biopsia dal margine di una delle ulcere evidenziava, la presenza di una sofferenza ischemica con ostruzione dei piccoli vasi del derma superficiale e profondo in assenza di un franco processo vasculitico (Figura 2). Gli esami di laboratorio risultarono nella norma ad eccezione che per la presenza di una lieve leucocitosi con linfocitosi e di un aumento spiccato della β 2-microglobulina. Venne inoltre riscontrato un crioprecipitato sierico la cui tipizzazione mediante immunofissazione permise di diagnosticare una crioglobulinemia di tipo I con componente monoclonale (CM) di tipo IgG κ . Si decise pertanto di iniziare un trattamento con steroidi sistemici (prednisone 50mg/die) ed di inviare il paziente all'attenzione dei Colleghi Ematologi per gli eventuali ulteriori accertamenti e le cure della crioglobulinemia, in quanto sintomatica.

Caso clinico 2

La paziente, una donna di 67 anni, giungeva alla nostra attenzione per ulcere estremamente dolenti e dolorabili ai malleoli ed alle ginocchia datanti mesi a dispetto delle terapie locali precedentemente attuate. La paziente riferiva di essere affetta da anni da ipertensione, ben compensata dalla terapia in atto, da osteoporosi con crolli vertebrali e da qualche anno anche da sindrome Sjogren-like, che aveva causato anche un'ulcera corneale all'occhio destro. All'esame obiettivo dermatologico si osservavano alcune ulcerazioni rotondeggianti, a margini netti e intensamente eritematoso ed edematoso, fondo fibrinoso tenacemente adeso al tessuto sottostante e focali escare necrotiche nerastre, localizzate alle ginocchia e ai malleoli (figura 3). Le lesioni erano dolorose e intensamente dolorabili anche per la semplice rimozione della medicazione precedente. Si osservavano anche pigmentazione bruna della faccia dorsale di entrambi i piedi, e livedo reticolare di entrambe le gambe quando restavano scoperte e in scarico in decubito supino per qualche minuto durante la visita.

L'eco-color-doppler arteriose e venoso non mise in evidenza aspetti compatibili con patologie trombotiche acute in atto. Gli esami di laboratorio evidenziarono lieve leucocitosi prevalentemente neutrofila, incremento degli indici di flogosi, fattore reumatoide positivo e positività degli anticorpi antinucleo (ANA) e degli anticorpi anti antigeni nucleari estraibili (ENA) di tipo SSA ed SSB.

L'esame istologico di cute prelevata tramite biopsia dal margine di una delle ulcere mostrò la presenza di una franca vasculite con ostruzione dei piccoli vasi (figura 4), con immunofluorescenza diretta positiva per IgM e complemento attorno ai vasi del derma superficiale e medio. La ricerca di crioglobuline evidenziò la presenza di un crioprecipitato sierico che alla tipizzazione risultò essere costituito da una CM di tipo IgM κ , permettendo una diagnosi di crioglobulinemia di tipo I sintomatica. Anche per questa paziente si decise di iniziare una terapia corticosteroidica e di inviarla all'attenzione dei Colleghi Ematologi per gli eventuali ulteriori accertamenti e le cure della paraproteinemia.

Discussione

La crioglobulinemia monoclonale è un'entità clinica spesso asintomatica secondaria alla presenza di un clone neoplastico di linfociti B, talora descritta in pazienti affetti da artrite reumatoide o anemia emolitica autoimmune [6, 8, 12]. In uno studio su 86 pazienti affetti da crioglobulinemia, Brouet e collaboratori [8] hanno riscontrato la presenza di sole crioglobuline monoclonali nel 25% dei pazienti, con una predominanza delle immunoglobuline di tipo IgM, mentre nel 50% dei pazienti venne riscontrata una crioglobulinemia di tipo III e nel restante 25% una crioglobulinemia di tipo II. In altro studio condotto da Trejo e collaboratori su campione maggiore di pazienti con crioglobulinemia, questa è risultata essere di tipo I nel 34% dei pazienti esaminati [9].

La patogenesi della crioglobulinemia monoclonale non è ancora del tutto chiarita. Le crioglobuline di tipo I sono immunoglobuline monoclonali di tipo IgM, o meno frequentemente IgG o IgA o catene leggere [5], prodotte da un clone B cellulare di entità variabile, non necessariamente progressivo. Tali immunoglobuline generalmente non hanno attività di fattore reumatoide e non determinano attivazione del complemento in vitro [8]. Il fattore eziologico principale è rappresentato da fenomeni trombotici del microcircolo a carico di diversi organi, causati da un lato da una eventuale sindrome da iperviscosità, dall'altro dalla crioprecipitazione delle immunoglobuline. Poiché come ricordato pocanzi tali immunoglobuline hanno solo raramente la capacità di legare altre immunoglobuline il danno mediato da immunocomplessi è invece un meccanismo patogenetico infrequente (al contrario esso svolge un ruolo fondamentale nella genesi delle manifestazioni cliniche nei pazienti affetti da crioglobulinemia di tipo I o II) [5, 16-18]. I meccanismi della crioprecipitazione non sono ancora pienamente compresi, tuttavia sono state formulate diverse ipotesi. In particolare, si è ipotizzato che, dal momento che la solubilità delle crioglobuline è direttamente correlata alla struttura delle catene pesanti e leggere che compongono l'immunoglobulina [16-18], le variazioni di temperatura, determinando variazioni nella conformazione della struttura delle immunoglobuline, potrebbero ridurre la solubilità con conseguente precipitazione e deposito nei piccoli vasi [19].

La crioglobulinemia costituisce spesso un riscontro casuale in caso di malattia proliferativa della linea B cellulare, nel contesto di un quadro clinico che può essere dominato dai segni e sintomi della neoplasia. L'entità delle manifestazioni causate dalla crioglobulinemia non è tuttavia necessariamente correlata alla concentrazione delle crioglobuline né alla temperatura alla quale si verifica la crioprecipitazione [26]. Sintomi come artralgie e mialgie sono rari nella crioglobulinemia di tipo I mentre sono estremamente comuni nelle crioglobulinemie di tipo I e II [6] e la classica triade di Meltzer, costituita dalla presenza di porpora, artralgia e malessere generale, che frequentemente si osserva all'esordio delle crioglobulinemie di tipo I e II, è generalmente assente nella crioglobulinemia di tipo I [20-21]. Il coinvolgimento cutaneo in generale, con lesioni purpuriche o ulcerative, solitamente localizzate agli arti inferiori ed esacerbate dall'esposizione a basse temperature e dall'ortostatismo prolungato [6-7], è particolarmente frequente in tutti e tre i tipi di crioglobulinemia, e si osserva circa 2/3 dei pazienti [8]. Le ulcere cutanee, solitamente localizzate agli arti inferiori, sono caratteristicamente dolenti e molto dolorabili e sono riscontrabili in tutti i tipi di crioglobulinemia con una prevalenza di circa l'8% nei pazienti con crioglobulinemia di tipo I [6, 10]. Il riscontro di ulcere a livello della testa e del collo o della mucosa oro-nasale è invece una manifestazione più tipica sebbene non esclusiva della crioglobulinemia di tipo I [10]. Meno frequentemente i pazienti possono presentare una vera e propria vasculite con danno d'organo che può interessare il rene, la cute, il fegato, il cervello, i nervi periferici, l'intestino, la vescica o il polmone [7, 12]. Dal punto di vista clinico il danno renale si evidenzia più frequentemente con una proteinuria isolata o con ematuria mentre una franca sindrome nefrosica o una sindrome nefritica sono osservate più raramente [22]. L'interessamento del rene è una delle complicanze più gravi nei pazienti affetti da crioglobulinemia e tipicamente tende a manifestarsi precocemente durante il decorso della malattia (mediamente a 3-5 anni dalla diagnosi) [8, 22]. Eccezionalmente la crioglobulinemia monoclonale di tipo IgM può associarsi ad una vasculite necrotizzante rapidamente letale [13]. Porpora palpabile, livedo o sintomi vasomotori indotti dal freddo come l'acrocianosi, il fenomeno di Raynaud e l'orticaria da freddo possono essere manifestazioni di esordio della crioglobulinemia [8] e, quando presenti, queste manifestazioni possono condurre ad una diagnosi rapida e ad un trattamento efficace, prima di eventuali manifestazioni più gravi [6].

Nel sospetto di una crioglobulinemia deve essere effettuata la ricerca delle crioglobuline su siero. La tecnica per la detezione e la caratterizzazione delle crioglobuline è stata descritta dettagliatamente da Kallemuchikkal e Gorevic [24]: un campione di sangue venoso deve essere prelevato e conservato in provette mantenute a caldo (37°C) in assenza di anticoagulanti permettendo al sangue di coagulare. Il

siero deve essere successivamente separato mediante centrifugazione (da effettuarsi a 37°C) per poi essere incubato a 4°C per almeno sette giorni [24-25]. Infatti, se le crioglobuline di tipo I precipitano già nelle prime 24 ore (a concentrazioni superiori ai 5mg/ml) le crioglobuline di tipo III presenti solitamente in quantità molto più contenute [27] possono richiedere anche sette giorni per precipitare [22]. La tipizzazione delle immunoglobuline può essere effettuata mediante specifici saggi immunologici come l'immunofissazione che è attualmente la metodica più sensibile ed utilizzata [23]. È inoltre possibile quantificare le crioglobuline esprimendone la concentrazione come criocrito: tale parametro esprime il rapporto percentuale tra il volume di crioprecipitato e il volume totale di siero dopo centrifugazione a 4°C per 15' a 1700 rpm, valutati mediante ispezione visiva [24]. Nei pazienti affetti da crioglobulinemia di tipo I o II, sebbene non costantemente, è talora possibile riscontrare un picco monoclonale all'elettroforesi delle sieroproteine, che può suggerire la presenza di una gammopatia monoclonale sottostante [10]. La determinazione della creatininemia, l'esame delle urine completo e la ricerca di eventuale proteinuria sono inoltre importanti per diagnosticare un eventuale interessamento renale [23].

La diagnosi differenziale clinica delle crioglobulinemie deve tenere in considerazione un ampio spettro di patologie. In particolare malattie autoimmuni come la sclerodermia, il lupus eritematoso sistemico, la dermatomiosite, la sindrome da anticorpi anti fosfolipidi, vasculopatie come la porpora di Schonlein Henoch, la tromboangioite obliterante, le vasculiti leucocitoclasiche, disordini ematologici come la deficienza di proteina C o proteina S, la coagulazione intravascolare disseminata, la porpora trombotica trombocitopenica, la porpora trombotica idiopatica. Devono poi essere tenute in considerazione malattie infettive come la febbre delle Montagne Rocciose e l'infezione meningococcica. È inoltre necessario ricordare come anche alcuni farmaci come ad esempio la Bleomicina, l'Amantidina, il Warfarin e l'Eparina possano dar luogo a manifestazioni cutanee identiche a quelle riscontrabili in corso di crioglobulinemia. Infine, è necessario escludere altre patologie (seppur rare) causate dalla presenza di altri crioprecipitati, tra le quali la criofibrinogenemia, condizione che può essere dimostrata attraverso la ricerca dei criofibrinogeni da effettuarsi con le stesse modalità descritte per le crioglobuline ma su un campione di plasma (e non di siero) opportunamente scagolato [28].

Le alterazioni istopatologiche di più frequente osservazione nella biopsie delle lesioni cutanee di pazienti affetti da crioglobulinemia sono rappresentate dal riscontro di una vasculite leucocitoclasica o dalla presenza di trombosi ialina a livello dei vasi di piccolo calibro e ovviamente dal riscontro sequele post-infiammatorie [10]. In particolare, nel caso della crioglobulinemia monoclonale, il reperto più tipico è la presenza di una trombosi ialina a carico dei piccoli vasi in assenza di un processo infiammatorio francamente evidente [10]. Nelle crioglobulinemie di tipo II e di tipo III è invece più frequente il riscontro di una franca vasculite leucocitoclasica [11].

Il decorso e la prognosi della crioglobulinemia di tipo I dipendono in gran parte dalla gravità della malattia di base [6] e dalla presenza di interessamento renale che riduce la sopravvivenza [7].

La terapia dei pazienti affetti da crioglobulinemia deve essere anzitutto rivolta, quando possibile, al trattamento del clone B cellulare, ed è pertanto di pertinenza oncoematologica, e successivamente a limitare la crioprecipitazione ed il conseguente danno ischemico [28]. Ogni approccio terapeutico deve basarsi sulla gravità del quadro clinico e va pertanto modulato nel singolo paziente. Una crioglobulinemia asintomatica di riscontro occasionale in un clone di natura apparentemente non evolutiva non necessita di alcun trattamento. Per forme di crioglobulinemia lievi-moderate risultano utili gli steroidi a bassi dosaggi mentre i casi più gravi con gravi manifestazioni vasculitiche e danno d'organo possono giovare di terapie combinate basate sull'uso della plasmateresi terapeutica, di alti dosaggi di steroidi, dei farmaci immunosoppressori e Rituximab [28-30].

In entrambi i casi qui presentati i pazienti hanno manifestato un interessamento cutaneo caratterizzato da segni e sintomi di sofferenza ischemica del microcircolo a livello degli arti inferiori come la pigmentazione della cute, la presenza di livedo e la comparsa delle ulcerazioni cutanee. La localizzazione

delle è risultata altresì un aspetto peculiare non essendo mai stato descritto come caratteristico delle crioglobulinemie di tipo I un interessamento delle ginocchia da parte delle lesioni ulcerative [10]. Appare inoltre interessante l'associazione, nel secondo caso, con la sindrome di Sjogren. Negli ultimi anni è stata evidenziata una elevata frequenza di gammopatie monoclonali in corso di sindrome di Sjogren. Nei pazienti con sindrome di Sjogren e CM, in particolare, appare più frequente la presenza di crioglobulinemia e la prognosi appare peggiore, prevalentemente legata ad una evoluzione del clone neoplastico B cellulare [31]. Si sottolinea come le manifestazioni cutanee abbiano rappresentato in entrambi i casi descritti l'esordio clinico di una crioglobulinemia monoclonale, con rischio di una patologia evolutiva in particolare nel secondo caso, risultando di fondamentale importanza nell'indirizzare il sospetto diagnostico e nel condurre alla diagnosi della patologia sottostante consentendo di indirizzare i pazienti ai trattamenti più opportuni. Ciò conferma indubbiamente la grande importanza del corretto inquadramento diagnostico delle ulcere cutanee, il quale, come è avvenuto nei casi qui presentati, risulta indispensabile per instaurare una terapia eziologica ed efficace delle ulcere ma può anche condurre al riscontro di neoplasie o di altre importanti patologie associate alla crioglobulinemia, il cui riconoscimento e trattamento precoce può talora modificare radicalmente la sopravvivenza del paziente.

Tabelle e figure



Figura 1. Piccole ulcere a margini netti ai malleoli ed alle ginocchia. È inoltre possibile notare la presenza di pigmentazione a livello dei piedi e di livido a livello delle gambe.

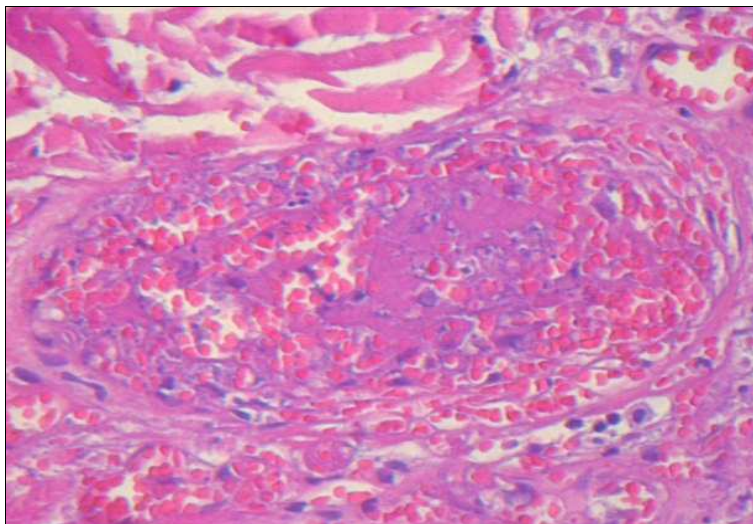


Figura 2. Preparato istologico che evidenzia la presenza di tessuto fibro-cicatriziale e capillari ematici a pareti ispessite occlusi da fenomeni microtrombotici in assenza di franca vasculite.



Figura 3. Ulcere a margini netti ai malleoli ed al ginocchio destro circondate da intensa flogosi perilesionale.

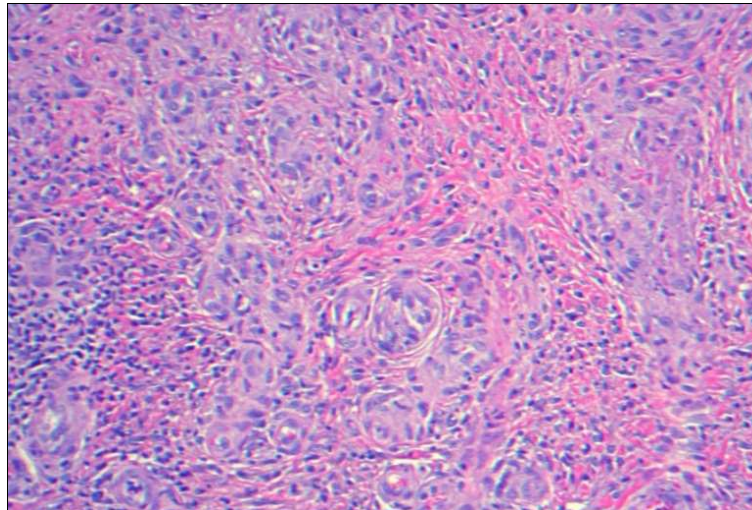


Figura 4. Preparato istologico che evidenzia la presenza di una vasculite dei piccoli vasi del derma superficiale e medio, con infiltrato costituito prevalentemente da linfociti.

Bibliografia

1. Ferri C, Zignego A L, Pileri SA. Cryoglobulins. *J Clin Pathol* 2002;55:4-13.
2. Wintrobe M, Buell M. Hyperproteinemia associated with multiple Myeloma. With report of a case in which an extraordinary hyperproteinemia was associated with thrombosis of the retinal veins and symptoms suggesting Raynaud's disease. *Bulletin of the John Hopkins Hospital* 1933;52:156-165.
3. Lerner AB, Watson CJ. Studies of cryoglobulins; unusual purpura associated with the presence of a high concentration of cryoglobulin (cold precipitable serum globulin). *Am J Med Sci* 1947;214(4):410-415.
4. Landthaler M. Cryoproteinemias. *Hautarzt* 1980;31(12):633-638.
5. Euler HH, Schmitz N, Löffler H. Plasmapheresis in paraproteinemia. *Blut* 1985;50:321-330.
6. Gray Y, Bruno N, Badiavas EV et al. Type I cryoglobulinemia presenting as hemorrhagic crusted leg ulcers. *Cutis* 2002;70(6):319-323.
7. Davis MD, Su WP. Cryoglobulinemia: recent findings in cutaneous and extracutaneous manifestations. *Int J Dermatol* 1996;35:240-248.
8. Brouet JC, Clauvel JP, Danon F et al. Biological and clinical significance of cryoglobulins. *Am J Med* 1974;57:775-788.
9. Trejo O, Ramos-Casals M, García-Carrasco M et al. Cryoglobulinemia: study of etiologic factors and clinical and immunologic features in 443 patients from a single center. *Medicine (Baltimore)* 2001;80(4):252-262.
10. Cohen SJ, Pittelkow MR, Su WP. Cutaneous manifestations of cryoglobulinemia: clinical and histopathologic study of seventy-two patients. *J Am Acad Dermatol* 1991;25:21-27.
11. Abe Y, Tanaka Y, Takenaka M et al. Leucocytoclastic vasculitis associated with mixed cryoglobulinaemia and hepatitis C virus infection. *Br J Dermatol* 1997;136(2):272.
12. Rajvanshi P, Atac BS, Seno R et al. Gallbladder vasculitis associated with type-1 cryoglobulinemia. *Dig Dis Sci* 2001;46(2):296-300.
13. Clemmensen I, Jensen BA, Hølund B et al. Circulating monoclonal IgM lambda cryoglobulin with collagen type I affinity in vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1986;64(3):587-596.
14. Gorevic PD, Kassab HJ, Levo Y et al. Mixed cryoglobulinemia: clinical aspects and long-term follow-up of 40 patients. *Am J Med* 1980;69(2):287-308.
15. Nash JW, Ross P Jr, Neil Crowson A et al. The histopathologic spectrum of cryofibrinogenemia in four anatomic sites. Skin, lung, muscle, and kidney. *Am J Clin Pathol* 2003;119(1):114-122.
16. Uki J, Young CA, Suzuki T. A 22S cryomacroglobulin with antibody-like activity. I. Physico-chemical characterization and modification of its cryoproperties. *Immunochemistry* 1974;11(11):729-740.
17. Wang AC, Wells JV, Fudenberg HH. Chemical analyses of cryoglobulins. *Immunochemistry* 1974;11(7):341-345.
18. Pastore Y, Lajaunias F, Kuroki A et al. An experimental model of cryoglobulin-associated vasculitis in mice. *Springer Semin Immunopathol* 2001;23(3):315-329.

19. Abel G, Zhang QX, Agnello V. Hepatitis C virus infection in type II mixed cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 1993;36(10):1341-1349.
20. Meltzer M, Franklin EC, Elias K et al. Cryoglobulinemia--a clinical and laboratory study. II. Cryoglobulins with rheumatoid factor activity. *Am J Med* 1966;40(6):837-856.
21. Monti G, Galli M, Invernizzi F et al. Cryoglobulinaemias: a multi-centre study of the early clinical and laboratory manifestations of primary and secondary disease. GISC. Italian Group for the Study of Cryoglobulinaemias. *QJM* 1995;88(2):115-126.
22. Tarantino A, Campise M, Banfi G et al. Long-term predictors of survival in essential mixed cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995;47(2):618-623.
23. Motyckova G, Murali M. Laboratory testing for cryoglobulins. *Am J Hematol* 2011;86(6):500-502.
24. Kallemuchikkal U, Gorevic PD. Evaluation of cryoglobulins. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:119-125.
25. Shihabi ZK. Cryoglobulins: an important but neglected clinical test. *Ann Clin Lab Sci* 2006;36:396-408.
26. Letendre L, Kyle RA. Monoclonal cryoglobulinemia with high thermal insolubility. *Mayo Clin Proc* 1982;57:629.
27. Lospalluto J. Cryoglobulinemia based on interaction between a macroglobulin and 7S gammaglobulin. *Am J Med Sci* 1962;32:142.
28. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. *McGraw-Hill*, London, UK 2008.
29. Zaja F. Efficacy and safety of rituximab in type II mixed cryoglobulinemia. *Blood* 2003;101:3827.
30. Siami GA. Cryofiltration apheresis for treatment of cryoglobulinemia associated with hepatitis C. *ASAIO J* 1995;41:M315.
31. 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(5):284-293.