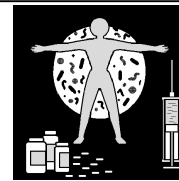


КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ. АЛЛЕРГОЛОГИЯ



УДК 616.32-002.2-079:616.155.32

DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4\(129\).27-31](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4(129).27-31)

ПЕРСИСТЕНЦИЯ СМЕШАННОЙ КРИОГЛОБУЛИНЕМИИ ПОСЛЕ ВИРУСОЛОГИЧЕСКИ УДАЧНОЙ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С: РЕЗУЛЬТАТЫ ДВУХЛЕТНЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Н.В.Дунаева****, С.В.Лапин*, В.В.Рассохин****, Д.А.Гусев*****

PERSISTENCE OF MIXED CRYOGLOBULINEMIA AFTER VIROLOGICALLY SUCCESSFUL THERAPY OF CHRONIC HEPATITIS C: RESULTS OF A TWO-YEAR STUDY

N.V.Dunaeva****, S.V.Lapin*, V.V.Rassokhin****, D.A.Gusev*****

*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, nvch@mail.ru**Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург, gusevden-70@mail.ru***Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, nvch@mail.ru****Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, ras-doc@mail.ru

Цель исследования — изучение частоты персистенции смешанной криоглобулинемии после противовирусной терапии (ПВТ) препаратами прямого противовирусного действия хронического гепатита С у пациентов с устойчивым вирусологическим ответом. В исследование включено 43 больных хроническим гепатитом С, осложненным развитием смешанной криоглобулинемии с клиническими проявлениями, которым была проведена вирусологически эффективная противовирусная терапия с использованием препаратов прямого противовирусного действия в различных режимах. Пациентов обследовали на наличие криоглобулинемии визуальным полуколичественным методом в начале ПВТ, в конце терапии, через 12, 24, 48, 96 недель после завершения терапии. После завершения ПВТ персистенция криоглобулинов сохранялась у 56%, через 12 недель после завершения ПВТ — у 49%, через 24 недели — у 44%, через 48 недель — у 37%, через 96 недель — у 23%. Частота выявления криоглобулинов в каждой точке обследования больше всего была у пациентов с исходно высокими цифрами криокрита ($\geq 10\%$). Исходные значения криокрита (в начале ПВТ) имели достоверную корреляцию с последующей персистенцией криоглобулинов во всех точках обследования. Таким образом, у части пациентов с вирусологически эффективной ПВТ с использованием препаратов прямого противовирусного действия сохраняется персистенция криоглобулинемии до 96 недели наблюдения, что требует разработки подходов к ведению данной категории пациентов.

Ключевые слова: вирус гепатита С, хронический гепатит С, криоглобулинемия, противовирусная терапия, препараты прямого противовирусного действия

Для цитирования: Дунаева Н.В., Лапин С.В., Рассохин В.В., Гусев Д.А. Персистенция смешанной криоглобулинемии после вирусологически удачной противовирусной терапии хронического гепатита С: результаты двухлетнего исследования // Вестник НовГУ. Сер.: Медицинские науки. 2022. №4(129). С.27–31. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4\(129\).27-31](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4(129).27-31)

We aimed to study the frequency of chronic hepatitis C-associated mixed cryoglobulinemia after antiviral therapy (AVT) with direct-acting antivirals (DAA) in patients with sustained virologic response along 2 years. Clinical cohort included 43 patients with chronic hepatitis C and symptomatic mixed cryoglobulinemia who underwent virologically effective AVT with DAA in various regimens. Patients were examined for the presence of cryoglobulinemia by visual semi-quantitative method at the beginning of the AVT, at the end of the therapy, 12, 24, 48, 96 weeks after the end of the therapy. At the end of the AVT, cryoglobulins persisted in 56% of cases, 12 weeks after the end of the AVT — in 49%, after 24 weeks — in 44%, after 48 weeks — in 37%, after 96 weeks — in 23%. The frequency of detection of cryoglobulins at each point of the examination was the highest in patients with initially high cryocrit ($\geq 10\%$). The initial levels of cryocrit (at the beginning of the AVT) had significant correlation with the subsequent presence of cryoglobulins at all points of the examination. In some patients with virologically effective AVT with DAA, cryoglobulinemia was detected up to 96 weeks of follow-up, which requires special approaches to the management of this category of patients.

Keywords: hepatitis C virus, chronic hepatitis C, cryoglobulinemia, antiviral therapy, direct-acting antivirals

For citation: Dunaeva N.V., Lapin S.V., Rassokhin V.V., Gusev D.A. Persistence of mixed cryoglobulinemia after virologically successful therapy of chronic hepatitis C: results of a two-year study. Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences. 2022. №4(129). Pp.27–31. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4\(129\).27-31](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4(129).27-31)

Введение

Хронический гепатит С представляет собой «хроническое воспалительное заболевание в течение более 6 месяцев с преимущественным поражением ткани печени вследствие инфицирования вирусом гепатита С (ВГС или HCV — hepatitis C virus)....» [1]. Одной из внепеченочных мишеней для вируса являются В-лимфоциты, с которыми вирус связывается за счет находящегося на поверхности клеток CD81 рецепторов. При проникновении внутрь клетки, согласно общепринятой теории, вирус вызывает хроническую стимуляцию В-клеток, результатом которой является выработка В-лимфоцитами криоглобулинов — особых иммуноглобулинов, способных обратимо преципитировать при снижении температуры ниже 37°C [2]. Криоглобулинемия (КГМ) является одним из самых распространенных внепеченочных проявлений хронической ВГС-инфекции [3–5], может клинически манифестировать рядом тяжелых и даже жизнеугрожающих состояний [6], быть независимым предиктором риска смерти пациентов с ВГС-инфекцией [7]. В связи с этим одной из целей ПВТ у пациентов с ВГС-ассоциированной КГМ является стойкая элиминация криоглобулинов.

Исходя из предполагаемых патогенетических механизмов, представляется логичным, что этиотропная противовирусная терапия (ПВТ) хронического гепатита С должна приводить к полному купированию ВГС-ассоциированной криоглобулинемии. Тем не менее, ряд исследователей показали, что полная редукция криоглобулинемии происходит не всегда [4,5,8,9].

Целью работы было изучение частоты персистенции смешанной КГМ после ПВТ препаратами прямого противовирусного действия (ПППД) хронического гепатита С (ХГС) у пациентов с устойчивым вирусологическим ответом.

Материалы и методы

В проспективное клиническое исследование было включено 43 больных ХГС в возрасте 37–79 лет ($58 \pm 12(2)$ лет) с предположительной длительностью инфицирования ВГС от 3 до 43 лет (Me(Q25;Q75) — 17(11;25) лет), наличием смешанной КГМ с клиническими проявлениями, которым была проведена вирусологически эффективная ПВТ ПППД в период с 2015 по 2020 гг. Диагноз хронического гепатита С устанавливали на основании выявления рибонуклеиновой кислоты (РНК) ВГС в плазме крови непосредственно перед включением в исследование и в анамнезе не менее чем за 6 месяцев до включения в исследование. Под вирусологической эффективностью понимали отсутствие РНК ВГС в плазме крови через 12 недель после завершения ПВТ. Все включенные в исследование пациенты не имели клинико-лабораторных признаков гепатитов В или Д, верифицированных аутоиммунных или онкологических заболеваний, прошли обследование в момент завершения терапии,

через 12 и 24 недели после завершения ПВТ. Три человека по техническим причинам по завершению ПВТ иммунологическое обследование не прошли, но были осмотрены на 12 и 24 неделях наблюдения и сохраняли персистенцию КГМ, в связи с чем они не были исключены из исследования. В последующем пациенты по разным причинам выбывали из наблюдения, обследование через 48 недель после ПВТ прошло 30 человек, через 96 недель — 22 человека.

В начале ПВТ анализу подлежали следующие параметры: возраст на момент включения в исследование, пол, предположительный срок инфицирования, генотип вируса гепатита С, количество РНК ВГС в плазме крови (вирусная нагрузка), уровень аланинаминотрансферазы (АЛАТ), стадия патологического процесса в ткани печени по Metavir, уровень криокрита, количество ревматоидных факторов (РФ), тип КГМ.

В процессе наблюдения всем пациентам проводили общепринятое клиническое обследование, определение наличия антител (HBsAg, HBcAb, HCVAb, HDVAb), генотипирование ВГС, количественное определение ВГС в плазме крови, определение стадии фиброза печени по Metavir методом чрескожной биопсии печени или фиброэластографии на аппарате FibroScan® 502 (Echosens, Франция). Полуколичественное визуальное определение наличия криоглобулинов в сыворотке крови с расчетом криокрита (отношения объема криопреципитата к общему объему сыворотки) выполняли по методике, оптимизированной для условий клинико-диагностических лабораторий [10]. Определение ревматоидного фактора (РФ) проводили с использованием количественного турбидиметрического теста (Biosystems S.A., Испания). Анализ состава криопреципитата осуществлялся методом электрофореза с иммунофиксацией с использованием коммерческого набора Hydrigel 4 IF (Sebia, Франция) на полуавтоматическом электрофоретическом анализаторе Hydrasis (Sebia, Франция).

В соответствии с инструкциями к препаратам в зависимости от генотипа ВГС и доступности для пациентов применяли следующие ПППД: даклтасвир + асунапревир (1 пациент), велпатасвир + софосбувир ± рибавирин (2 пациента), даклтасвир + софосбувир ± рибавирин (9 пациентов), гразопревир + элбасвир ± софосбувир (7 пациентов), дасабувир; омбитасвир + паритапревир + ритонавир ± рибавирин (16 пациентов), глекапревир + пибрентасвир (8 пациентов).

Все стадии исследования соответствовали законодательству РФ, международным этическим нормам и нормативным документам исследовательских организаций, одобрены локальным этическим комитетом.

Статистическая обработка первичных данных была произведена с использованием программы SPSS 26.0. Характеристики выборок с нормальным распределением представлены в виде среднего $\pm$ стандартное отклонение (ошибка среднего), с от-

личным от нормального распределением в виде медианы и квартилей $Me(Q25;Q75)$. Проверку закона распределения проводили при помощи теста Колмогорова — Смирнова с поправкой Лиллефорса, а также теста Шапиро — Уилка. Анализ качественных переменных проводили с использованием критерия χ^2 . Для определения силы связи использовали двухсторонний ранговый корреляционный анализ Спирмена. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (об отсутствии различий и влияний) принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Большая часть включённых в исследование пациентов была среднего и пожилого возраста ($58 \pm 12(2)$ лет), женского пола (61%, $n = 26$), длительно инфицированные ВГС ($Me(Q25;Q75) — 17(11;25)$ лет). Распределение частоты встречаемости генотипов ВГС в группе исследования выглядело следующим образом: 1 генотип — 63%, 2 генотип — 11%, 3 генотип — 26%. Уровень АЛТ у пациентов колебался от 16 до 478 МЕ/мл ($Me(Q25;Q75) — 50(25;71)$), вирусная нагрузка — от $2,2 \cdot 10^3$ до $7,9 \cdot 10^6$ копий/мл ($Me(Q25;Q75) — 6,6 \cdot 10^5(2,0 \cdot 10^5/1,7 \cdot 10^6)$), 28% больных имели сформированную цирротическую трансформацию печени.

В начале ПВТ КГМ была выявлена у всех пациентов (являлось условием включения), при этом уровень криокрита колебался от 2 до 70% $Me(Q25;Q75) — 10(6;70)$. Низкий уровень криокрита (1–4%) был выявлен у 10 пациентов, умеренный (5–9%) — у 10, высокий ($\geq 10\%$) — у 23. Наличие КГМ сопровождалось повышением количества РФ при 37°C у 84% ($n = 36$), при 4°C у 72% ($n = 31$). Преобладала КГМ III типа (поликлональная) — 84% ($n = 36$), КГМ III типа (с наличием моноклонального компонента) была зафиксирована у 16% ($n = 7$): IgMк — 4 человека, IgMк/λ, IgGλ, IgMк/IgGλ — по одному человеку. Криоглобулинемия I типа отмечена не была.

После завершения ПВТ персистенция КГМ сохранялась у 56% ($n = 39/43$), через 12 недель после завершения ПВТ — у 49% ($n = 21/43$), через 24 недели после ПВТ — у 44% ($n = 19/43$), через 48 недель после ПВТ — у 37% ($n = 11/30$), через 96 недель после ПВТ — у 23% ($n = 5/22$). Частота выявления КГМ после завершения ПВТ в каждой точке обследования (в момент завершения ПВТ, через 12, 24, 48, 96 недель после обследования) больше всего была у пациентов с исходно высокими цифрами криокрита ($\geq 10\%$), 82% из них сохраняли синтез криоглобулинов к моменту завершения ПВТ, 74% — через 12 недель после завершения, 70% через 24 и 48 недель, 50% — через 96 недель (табл.1).

Криокрит в начале ПВТ имел значимую умеренную корреляцию с последующей персистенцией КГМ во всех точках обследования. В момент завершения терапии — $r = 0,506, p = 0,001$; через 12 недель наблюдения — $r = 0,574, p < 0,001$; через 24 недели наблюдения — $r = 0,531, p < 0,001$; через 48 недель наблюдения — $r = 0,585, p = 0,001$; через 96 недель наблюдения — $r = 0,627, p = 0,002$.

Таблица 1

Частота обнаружения криоглобулинов в группах пациентов с различными исходными уровнями криокрита ($n = 43$)

Точка обследования, % (абс. знач.)	Уровень криокрита в начале ПВТ			P
	1–4% ($n = 10$)	5–9% ($n = 10$)	$\geq 10\%$ ($n = 23$)	
Завершение ПВТ	20 (2/10)	29 (2/7)	82 (18/22)	$\chi^2 = 13,374$ $p = 0,001$
12 недель наблюдения после ПВТ	10 (1/10)	30 (3/10)	74 (17/23)	$\chi^2 = 13,245$ $p = 0,001$
24 недели наблюдения после ПВТ	10 (1/10)	20 (2/10)	70 (16/23)	$\chi^2 = 13,118$ $p = 0,001$
48 недель наблюдения после ПВТ	10 (1/10)	14 (1/7)	70 (9/13)	$\chi^2 = 10,508$ $p = 0,005$
96 недель наблюдения после ПВТ	0 (0/8)	0 (0/4)	50 (5/10)	$\chi^2 = 7,765$ $p = 0,021$

Релапс КГМ был зафиксирован у одной пациентки (2,3%). Несколько человек после первоначальной элиминации КГМ и РФ в последующем вновь демонстрировали появление незначительного количества ревматоидного фактора.

Приводим клинический пример длительной персистенции КГМ у пациентки, вирусологически успешно пролеченной от ВГС-инфекции.

Женщина У., 54 года, с хроническим гепатитом С, 2 генотипом, высокой вирусной нагрузкой до терапии (2090000 МЕ/мл), фиброзом 2 степени (7,5 кПа, фиброэластометрия печени). Заболевание было осложнено развитием смешанной криоглобулинемии IIb типа (наличие РФ и двух моноклональных компонентов — IgMк и IgMλ) с клиническими проявлениями: системный криоглобулинемический васкулит с поражением сосудов кожи, активность II, периферическая полиневропатия, синдром Рейно. Была проведена ПВТ с применением ПППД: глекапревир + пибрентасвир в течение 8 недель. Авиремия у пациентки была достигнута ко 2-й неделе терапии, устойчивый вирусологический ответ — к 12 неделе. Однако КГМ с наличием РФ и моноклональным компонентом у неё сохраняется в течение 3,5 последующих за ПВТ лет наблюдения. Тем не менее, имеется положительная динамика по снижению количества криоглобулинов, РФ и моноклонального компонента в составе криоглобулинов, а также через 2,5 года после завершения ПВТ перестал определяться IgMλ (табл.2).

Таблица 2

Результаты обследований пациентки У. в динамике

Показатель	Начало ПВТ	Завершение ПВТ	Период наблюдения после завершения ПВТ, недели						
			12	24	48	72	96	120	168
Криокрит, %	20	6	5,8	5,7	2,8	4,5	3,5	3,0	3,0
РФ 37С (МЕ/мл)	154	38	<20	<20	<20	<20	<20	25	23
РФ 4С (МЕ/мл)	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20
Парапротеин IgMκ, г/л	1,0	НД	НД	НД	0,34	0,51	0,23	0,26	0,28
Парапротеин IgMλ, г/л	0,77	НД	НД	НД	0,28	0,49	0,26	0	0
ПЦР С	пол	отр	отр	отр	отр	отр	отр	отр	отр

ПЦР С — качественная реакция для обнаружения рибонуклеиновой кислоты вируса гепатита С, НД — не делали

Параллельно снижению криокрита происходило клиническое улучшение имевшей место внепеченочной симптоматики: достигнута ремиссия по васкулиту (без добавления патогенетической терапии глюкокортикостероидами и/или цитостатиками), уменьшились явления полиневропатии, значительно реже стал проявлять себя клинически синдром Рейно.

В ходе исследования мы обнаружили, что эрадикация криоглобулинов после проведения ПВТ происходит не всегда, а частота эрадикации меньше у пациентов с высоким исходным уровнем криокрита. Связь эрадикации криоглобулинов с исходными цифрами криокрита [11] и персистенцию КГМ после завершения ПВТ отмечали и другие авторы [4,5,9], в ряде случаев длительность персистенции могла достигать более 4–8 лет [4,5]. Однако причины феномена сохраняющегося синтеза криоглобулинов после успешной эрадикации ВГС в настоящее время не изучены. Показано, что у части пациентов после вирусной эрадикации на сегодняшний день по необъяснимым причинам сохраняется длительная циркуляция патологически активированных В-лимфоцитов, синтезирующих криоглобулины [12]. У одной пациентки мы наблюдали релапс КГМ. Причины релапсов неизвестны, но уже были отмечены иностранными коллегами [13–15], причем развиваются они после терапии ПППД даже чаще, чем после терапии интерферонсодержащими схемами [13].

Выводы

Таким образом, после завершения вирусологически успешной ПВТ ХГС персистенция криоглобулинов сохраняется у 56%, через 12 недель после завершения ПВТ — у 49%, через 24 недели после ПВТ — у 44%, через 48 недель после ПВТ — у 37%, через 96 недель — у 23%. Персистенция КГМ связана с исходными цифрами криокрита.

Остается открытым вопрос тактики ведения данной категории пациентов. По всей видимости, в случаях сохраняющейся КГМ и отсутствия выраженной клинической манифестации следует более активно наблюдать пациентов, периодически проводя исследование крови на наличие и тип КГМ. В случаях же клинической манифестации применять патогенетическую терапию, объем которой подбирать на ин-

дивидуальной основе, исходя из тяжести манифестации, а также характера вовлечения в патологический процесс органов и систем.

1. Клинические рекомендации «Хронический вирусный гепатит С». 2021. [Электронный ресурс]. URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/516_2 (дата обращения: 16.09.2022).
2. Дунаева Н.В., Эсауленко Е.В. Криоглобулинемия и вирус гепатита С // Журнал инфектологии. 2011. Т.3(2). С.15–20. DOI: <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2011-3-2-15-20>
3. Aguiar M.F., Faria-Janes A.L., Garcia-Brandes G.I. et al. Prevalence of cryoglobulinemia and cryoglobulinemic vasculitis in chronically HCV-infected Brazilian patients // Ann Hepatol. 2019. Vol.18(5). P.685–692. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aohp.2019.04.010>
4. Cheng Y.T., Cheng J.S., Lin C.H. et al. Rheumatoid factor and immunoglobulin M mark hepatitis C-associated mixed cryoglobulinaemia: an 8-year prospective study // Clin Microbiol Infect. 2020. Vol.26(3). P.366–372. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.06.018>
5. Chang M.L., Cheng J.S., Chuang Y.H. et al. Evolution of cryoglobulinemia in direct-acting antiviral-treated asian hepatitis C patients with sustained virological responses: a 4-year prospective cohort study // Front Immunol. 2022. Vol.13. Article number: 823160. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.823160>
6. Retamozo S., Diaz-Lagares C., Bosch X. et al. Life-threatening cryoglobulinemic patients with hepatitis C: clinical description and outcome of 279 patients // Medicine. 2013. Vol.92(5). P.273–284. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e3182a5cf71>
7. Della Rossa 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. Vol.39(2). P.167–170. DOI: <https://doi.org/10.3109/03009740903313639>
8. Genest D.S., Pelletier K., Dallaire G. et al. Obinutuzumab rescue in rituximab resistant mixed cryoglobulinemia // Kidney Int Rep. 2021. Vol.6(3). P.865–866. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2021.01.033>
9. Danishwar M., Jamil Z., Khan S. et al. Persistence of cryoglobulinemic vasculitis after DAA induced HCV cure // J Clin Med. 2022. Vol.11(4). Article number: 984. DOI: <https://doi.org/10.3390/jcm11040984>
10. Неустроева Ю.А., Тихомирова Т.А., Дунаева Н.В. и др. Оптимизация полуквантитативного метода выявления криоглобулинов в условиях клинико-диагностической лаборатории // Клин. лаб. диагностика. 2007. №1. С.37–41.
11. Bonacci M., Lens S., Londoño M.C. et al. Virologic, clinical, and immune response outcomes of patients with hepatitis C virus-associated cryoglobulinemia treated with direct-acting antivirals // Clin Gastroenterol Hepatol. 2017. Vol.15(4). P.575–583. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.09.158>
12. Schiavinato A., Zanetto A., Pantano G. et al. Polyclonal and monoclonal B lymphocytes response in HCV-infected patients treated with direct-acting antiviral agents // J Viral

- Hepat. 2017. Vol.24(12). P.1168–1176. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvh.12746>
13. Colantuono S., Marrapodi R., Del Padre M. et al. Clinico-immunological outcomes of HCV-cured cryoglobulinemia: Lower relapse rate with interferon-based than interferon-free therapy // *Liver Int.* 2021. Vol.41(1). P.70–75. DOI: <https://doi.org/10.1111/liv.14698>
 14. Fayed A., Hegazy M.T., Biard L. et al. Relapse of Hepatitis C virus cryoglobulinemic vasculitis after sustained viral response after interferon-free direct-acting antivirals // *Am. J. Gastroenterol.* 2022. Vol.117(4). P.627–636. DOI: <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000001667>
 15. Kondili L.A., Monti M., Quaranta M.G. et al. A prospective study of direct-acting antiviral effectiveness and relapse risk in HCV cryoglobulinemic vasculitis by the Italian PITER cohort // *Hepatology.* 2022. Vol.76(1). P.220–232. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.32281>
- ### References
1. Klinicheskiye rekomendatsii «Khronicheskiy virusnyy gepatit C» [Clinical recommendations "Chronic viral hepatitis C"], 2021. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/516_2 (accessed: 16.09.2022).
 2. Dunaeva N.V., Esaulenko E.V. Krioglobulinemiya i virus gepatita C [Cryoglobulinemia and hepatitis C virus]. *Zhurnal infektologii* — *Journal of Infectology*, 2011, vol.3, no.2, pp.15–20. doi: <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2011-3-2-15-20>
 3. Aguiar M.F., Faria-Janes A.L., Garcia-Brandes G.I., Takemi-Emori C., Ferraz M.L.G., Andrade L.E.C., de Souza A.W.S. Prevalence of cryoglobulinemia and cryoglobulinemic vasculitis in chronically HCV-infected Brazilian patients. *Ann. Hepatol.*, 2019, vol.18, no.5, pp.685–692. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aohp.2019.04.010>
 4. Cheng Y.T., Cheng J.S., Lin C.H., Chen T.H., Lee K.C., Chang M.L. Rheumatoid factor and immunoglobulin M mark hepatitis C-associated mixed cryoglobulinaemia: an 8-year prospective study. *Clin Microbiol Infect.* 2020, vol.26, no.3, pp.366–372. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.06.018>
 5. Chang M.L., Cheng J.S., Chuang Y.H., Pao L.H., Wu T.S., Chen S.C., Chang M.Y., Chien R.N. Evolution of Cryoglobulinemia in Direct-Acting Antiviral-Treated Asian Hepatitis C Patients with Sustained Virological Responses: A 4-Year Prospective Cohort Study. *Front Immunol.*, 2022, vol.13, article no.823160. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.823160>
 6. Retamozo S., Díaz-Lagares C., Bosch X., Bové A., Brito-Zerón P., Gómez M.E., Yagüe J., Forns X., Cid M.C., Ramos-Casals M. Life-Threatening Cryoglobulinemic Patients with Hepatitis C: Clinical Description and Outcome of 279 Patients. *Medicine (Baltimore)*, 2013, vol.92, no.5, pp.273–284. doi: <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e3182a5cf71>
 7. Della Rossa A., Tavoni A., D'Ascanio A., Catarsi E., Marchi F., Bencivelli W., Salvadori S., Migliorini P., Bombardieri S. Mortality rate and outcome factors in mixed cryoglobulinaemia: the impact of hepatitis C virus. *Scand. J. Rheumatol.*, 2010, vol.39, no.2, pp.167–170. doi: <https://doi.org/10.3109/03009740903313639>
 8. Genest D.S., Pelletier K., Dallaire G., Faucher G., Troyanov S. Obinutuzumab Rescue in Rituximab Resistant Mixed Cryoglobulinemia. *Kidney Int. Rep.*, 2021, vol.6, no.3, pp.865–866. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2021.01.033>
 9. Danishwar M., Jamil Z., Khan S., Nakhla M., Ahmad I., Ali M.A., Lau D.T.Y. Persistence of Cryoglobulinemic Vasculitis after DAA Induced HCV Cure. *J. Clin. Med.*, 2022, vol.11, no.4, article no.984. doi: <https://doi.org/10.3390/jcm11040984>
 10. Neustroeva Yu.A., Tikhomirova T.A., Dunaeva N.V., Lapin S.V., Totolyan A.A. Optimizatsiya polukolichestvennogo metoda vyavleniya krioglobulinov v usloviyakh kliniko-dagnosticheskoy laboratorii [Optimization of semiquantitative method for detection of cryoglobulins in a clinical diagnostic laboratory]. *Klin. Lab. Diagn.*, 2007, no.1, pp.37–41. PMID: 17385441.
 11. Bonacci M., Lens S., Londoño M.C., Mariño Z., Cid M.C., Ramos-Casals M., Sánchez-Tapias J.M., Forns X., Hernández-Rodríguez J. Virologic, Clinical, and Immune Response Outcomes of Patients with Hepatitis C Virus-Associated Cryoglobulinemia Treated with Direct-Acting Antivirals. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2017, vol.15, no.4, pp.575–583.e1. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.09.158>
 12. Schiavinato A., Zanetto A., Pantano G., Tosato F., Nabergoj M., Fogar P., Piva E., Gambato M., Franceschet E., Floreani A., Farinati F., Burra P., Russo F.P., Plebani M. Polyclonal and monoclonal B lymphocytes response in HCV-infected patients treated with direct-acting antiviral agents. *J. Viral. Hepat.*, 2017, vol.24, no.12, pp.1168–1176. doi: <https://doi.org/10.1111/jvh.12746>
 13. Colantuono S., Marrapodi R., Del Padre M., Collalti G., Garzi G., De Santis A., Fiorilli M., Basili S., Visentini M., Casato M. Clinico-immunological outcomes of HCV-cured cryoglobulinemia: Lower relapse rate with interferon-based than interferon-free therapy. *Liver Int.* 2021, vol.41, no.1, pp.70–75. doi: <https://doi.org/10.1111/liv.14698>
 14. Fayed A., Hegazy M.T., Biard L., Vieira M., El Shabony T., Saadoun D., Casato M., Visentini M., Ragab G., Cacoub P. Relapse of Hepatitis C Virus Cryoglobulinemic Vasculitis After Sustained Viral Response After Interferon-Free Direct-Acting Antivirals. *Am. J. Gastroenterol.*, 2022, vol.117, no.4, pp.627–636. doi: <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000001667>
 15. Kondili L.A., Monti M., Quaranta M.G., Gragnani L., Panetta V., Brancaccio G., Mazzaro C., Persico M., Masarone M., Gentile I., Andreone P., Madonia S., Biliotti E., Filomia R., Puoti M., Fracanzani A.L., Laccabue D., Ieluzzi D., Coppola C., Rumi M.G., Benedetti A., Verucchi G., Coco B., Chemello L., Iannone A., Ciano A., Russo F.P., Barbaro F., Morisco F., Chessa L., Massari M., Blanc P., Zignego A.L. A prospective study of direct-acting antiviral effectiveness and relapse risk in HCV cryoglobulinemic vasculitis by the Italian PITER cohort. *Hepatology*, 2022, vol.76, no.1, pp.220–232. doi: <https://doi.org/10.1002/hep.32281>