



La enfermedad linfoproliferativa difusa postrasplante renal y su relación con el virus Epstein-Barr. Experiencia de un centro

A. Franco, L. Jiménez, I. Aranda*, L. Álvarez, M. González, N. Rocamora y J. Olivares

Servicios de Nefrología y *Anatomía Patológica. Hospital General Alicante. Alicante.

RESUMEN

La inmunosupresión farmacológica necesaria en el trasplante de órganos facilita el desarrollo de la enfermedad linfoproliferativa difusa postrasplante (ELDP), en cuya patogenia el virus Epstein Barr (VEB) parece determinante. Diversos factores de riesgo han sido identificados, como son la seronegatividad para VEB del receptor, el uso de anticuerpos mono o policlonales y la infección por CMV.

Hemos estudiado la incidencia de ELDP y su relación con el VEB en 588 receptores adultos de trasplante renal de cadáver realizados entre 1988 y 2001 en nuestro hospital, con un seguimiento mínimo de 3 meses. Valoramos los factores de riesgo, los métodos diagnósticos empleados, el tratamiento de ELDP y su evolución.

Un total de 8 receptores (1,3%) con una edad media de 45,6 años (18-67 años), 4 varones y 4 mujeres, y con una evolución media postrasplante de 4,1 años (0,1-7 años), desarrollaron ELDP. Cuatro de ellos (50%) no presentaban ninguno de los factores de riesgo clásicos descritos, 2 habían sido tratados con dosis altas de esteroides por rechazo agudo, otro era seronegativo para VEB y un caso había recibido OKT3, presentando además una enfermedad por CMV. El diagnóstico de ELDP fue postmortem en 2 pacientes, por TC toraco-abdominal y celularidad en líquido pleural y ascítico en 1 y mediante el estudio histológico de biopsias en los 5 receptores restantes. Se detectó la presencia de VEB en el tejido linfoproliferativo de 5 de los 7 pacientes estudiados (85,7%). La evolución de nuestros pacientes fue mala ya que 5 de ellos fallecieron por causa directa de la enfermedad y otro por una complicación infecciosa secundaria al tratamiento (75%). Los 2 pacientes supervivientes reiniciaron diálisis, falleciendo 1 a los 2 años por causa nos relacionada, mientras que el otro está vivo 9 años después.

Concluimos que la ELDP es una entidad de muy mal pronóstico. Está asociada de forma significativa al VEB y en la mitad de los casos no se identifican los factores de riesgo clásicos.

Palabras clave: *Virus Epstein-Barr. Trasplante renal. Enfermedad linfoproliferativa difusa postrasplante.*

Recibido: 12-II-2002.

En versión definitiva: 7-VI-2002.

Aceptado: 11-VI-2002.

Correspondencia: A. Franco
Servicio de Nefrología
Hospital General Alicante
Maestro Alonso, 109
03010 Alicante
E-mail: franco_ant@gva.es

POST-TRANSPLANT LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS AND ITS RELATIONSHIP WITH EPSTEIN BARR VIRUS

SUMMARY

Post-transplant lymphoproliferative disorders (PTLD) are a group of heterogeneous lymphoid proliferations in chronic immunosuppressed recipients which appear to be related to Epstein Barr Virus (EBV).

Receptor EBV seronegativity, use of antilymphocyte antibodies and CMV disease have been identified as risk factors that may trigger development of PTLD.

We have studied the incidence of PTLD and its relationship with EBV in 588 adult renal transplant recipients who were transplanted in our hospital from 1988 to 2001. We have also evaluated the diagnostic and therapeutic methods used, the risk factors and outcome of the patients who developed PTLD.

We identified 8 recipients (4 males and 4 females), range from 18 to 67 years (mean age 45.6 years) with a median time between grafting and PTLD of 4.1 years (0.1-7 years), who developed PTLD (1.3%).

Only 1 patient received OKT3 and had CMV disease, two of them (25%) had been treated with high doses of prednisolone, another was EBV seronegative, but the rest of them (50%) had no risk factors.

Two patients were diagnosed at autopsy, the diagnosis of 5 was based on the histology of biopsy and the last one by CT scans of chest-abdomen and cytology. The presence of EBV in the lymphoproliferative cells was assessed in 5 out of the 7 studied patients (71.4%).

The outcome of our recipients was poor. Five out of 8 patients died shortly after diagnosis as a direct consequence of PTLD and another of an infectious complication of the treatment (75%). The 2 patients alive started dialysis and 1 of them died 2 years later of a non-related cause.

In conclusion, PTLD is a relatively frequent disease with a poor prognosis in renal transplant patients. It seems to have a close relationship with EBV and can develop in the absence of the classical risk factors.

Key words: Post-transplant lymphoproliferative disorders. Epstein Barr Virus. Renal transplant.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad linfoproliferativa difusa postrasplante (ELDP) es un grupo heterogéneo de fenómenos linfoproliferativos que se desarrollan en receptores de órganos sólidos y médula ósea¹.

La infección por el virus Epstein Barr (VEB) en el seno de la inmunosupresión farmacológica necesaria en el trasplante de órganos parece ser determinante en la patogenia de esta enfermedad².

Se han identificado diferentes factores de riesgo, como la seronegatividad para VEB del receptor³, el grado de inmunosupresión global acentuada con el empleo de anticuerpos mono o policlonales⁴, al que contribuiría el tratamiento del rechazo agudo y la enfermedad por CMV, identificada recientemente como una tercera variable independiente en el desarrollo de la ELDP⁵.

Recientemente se han publicado varios estudios que muestran la incidencia de ELDP en diversos países europeos, así como la experiencia existente en el manejo de la enfermedad^{6,7}. En esa línea, hemos evaluado la incidencia de ELDP en nuestra serie de receptores adultos de trasplante renal de cadáver y su relación con el VEB. Asimismo hemos estudiado la evolución de los pacientes con la enfermedad y la presencia en ellos de los factores clásicos de riesgos descritos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

Hemos revisado la incidencia de en 588 receptores adultos de trasplante renal de donante cadáver

realizados entre julio de 1988 y diciembre de 2001 en nuestro hospital, con un tiempo de seguimiento entre 3 y 158 meses. La inmunosupresión se efectuó con ciclosporina, azatioprina y prednisona hasta 1997, en que la azatioprina fue sustituida por micofenolato mofetil. A partir de agosto de 1998, 30 pacientes recibieron tacrólimus en vez de ciclosporina como anticalcineurínico.

El rechazo agudo fue diagnosticado histológicamente y tratado con 3 bolus de 500 mg de metilprednisona i.v. Un total de 55 pacientes (9,4%) recibieron anticuerpos mono o policlonales como profilaxis y 50 (8,5%) como tratamiento de rechazo agudo corticorresistente. Sólo 3 receptores recibieron estos fármacos en ambas indicaciones.

Evaluación diagnóstica

Se efectuó TC toraco-abdominal y craneal a todos los pacientes en los que se diagnosticó ELDP en vida y se obtuvo material histológico y/o celularidad en todos ellos. Se solicitó estudio necrópsico en todos los receptores que fallecieron.

Métodos

Histología-Estudios morfológicos e inmunohistoquímicos

La valoración morfológica fue realizada de acuerdo con la clasificación de la Sociedad de Hematopatología⁸, sobre cortes teñidos con hematoxilina y eosina, giemsa y PAS obtenidas de material fijado en formalina neutra tamponada e incluido en parafina. Los estudios inmunohistoquímicos se realizaron sobre tejido fijado e incluido en parafina mediante el método de estreptavidina biotina peroxidasa, con recuperación antigénica de olla exprés durante 15 minutos. Se utilizaron los siguientes anticuerpos: panleucocitario (CD45), marcadores de linfocitos B (CD20/L26, CD45RA/4KB5y CD79 a), de linfocitos T (CD43, CD45RO/UCHL-1), cadenas ligeras (κ y λ), CD30 (BerH2), CD15, proteína bcl2, proteína p53 y marcador de proliferación celular (Ki67).

Estudios VEB

Se determinó la presencia de VEB en el tejido linfoproliferativo por citometría de flujo antiCD21 (Ortho Cytoron Absolute) o mediante hibridación *in situ* con sondas PNA-EBER (Dako). Se determinó la serología del VEB mediante VEB-VCA IgG e IgM

antes del trasplante en todos los receptores por ELISA.

RESULTADOS

Un total de 8 pacientes de 588 (1,3%) desarrollaron ELDP, con una edad media de 45,6 años (18-67). Eran 4 varones y 4 mujeres, con un tiempo medio entre el trasplante y el diagnóstico de la enfermedad de 4,1 años (0,1-7 años). Siete de los ocho pacientes (87,5%) desarrollaron la enfermedad después de los 2 años postrasplante. Todos ellos, excepto 1 (caso 8), eran VEB seropositivos en el momento del trasplante (tabla I).

La inmunosupresión basal de todos los pacientes con ELDP estaba compuesta por ciclosporina, azatioprina y metilprednisona, ya que todos ellos habían recibido el injerto renal anteriormente a la introducción en nuestro hospital de los nuevos inmunosupresores, tacrólimus y micofenolato.

Cuatro pacientes (50%) no presentaban ninguno de los factores de riesgo descritos. Dos receptores habían presentado rechazo agudo y fueron tratados con dosis altas de esteroides como único factor de riesgo. Uno era VEB seronegativo en el momento del trasplante. La última paciente había recibido un total de 70 mg de anticuerpos monoclonales como resultado de tratamiento profiláctico y de rechazo agudo corticorresistente, junto con dosis altas de esteroides y en ella se diagnosticó una enfermedad por CMV (tabla II). Esta enferma (caso 1) desarrolló la forma maligna fulminante de la enfermedad⁹.

El diagnóstico de ELDP fue postmortem en 2 de nuestros pacientes (casos 1 y 4). En otros 2 casos (casos 3 y 7) el diagnóstico se efectuó mediante TC y obtención de material histológico o celularidad, en enfermos que presentaban un grave cuadro constitucional en fase terminal. Dos pacientes presentaron una adenopatía solitaria subcutánea aislada que se biopsió (casos 2 y 6). Una de estos (caso 2) era un linfoma de Burkitt y el otro (caso 6). Otra receptora había desarrollado una lesión dérmica que se extirpó (caso 8) y el último sintomatología digestiva que condujo al diagnóstico de linfoma gástrico mediante endoscopia digestiva con biopsia (caso 5) (tabla I).

La valoración morfológica evidenció que en los 7 casos de linfoma no Hodgkin, la proliferación era monomórfica (figs. 1 y 2) en 5 de ellos (casos 2, 3, 4, 5, 7) y polimórfica en otros 2 (casos 1 y 8).

Se estudió la presencia de VEB en el tejido linfoproliferativo de 7 de 8 pacientes (87,5%). Se detectó el virus en 5 de ellos (71,4%), en 4 mediante hibridación *in situ* (fig. 3) y en 1 por citometría de flujo

Tabla I. Datos demográficos, serología VEB, diagnóstico y tiempo de aparición postrasplante de ELPD, su estirpe, morfología y relación con VEB

Paciente	Edad (años)	Sexo	Tiempo postrasplante (años)	Serología pretrasplante	Método diagnóstico	VEB en tejido	Estirpe (morfología)
1	39	M	0,1	+	Necropsia	Positivo ORTHO	B no Hodgkin polimórfico
2	18	V	2	+	TAC Biopsia adenopatía	Positivo hibridación	B no Hodgkin Burkitt Monomórfico
3	47	V	7	+	TAC Celularidad líquido ascítico/pleural	No determinado	No Hodgkin monomórfico
4	58	V	7	+	Necropsia	Positivo hibridación	B no Hodgkin monomórfico
5	63	V	4	+	TAC Endoscopia biopsia	Negativo hibridación	B no Hodgkin monomórfico
6	52	M	5	+	TAC Biopsia adenopatía	Positivo hibridación	Hodgkin
7	67	M	5	+	TAC Biopsia injerto	Negativo hibridación	B no Hodgkin monomórfico
8	21	M	3	-	TAC Biopsia dérmica	Positivo hibridación	B no Hodgkin dérmico polimórfico

VEB: Virus Epstein-Barr. ELPD: enfermedad linfoproliferativa difusa postrasplante.

Tabla II. Factores riesgo, tratamiento y evolución de pacientes con ELPD

Pacientes	Factores de riesgo	Tratamiento	Evolución
1	6 M prednisolona. OKT3. CMV	Ninguno	Diagnosis postmortem
2	Bolus 6 M prednisolona	Retirada de IS Quimioterapia	Exitus en 1 mes
3	Bolus 6 M prednisolona	Ninguno	Exitus en 1 mes
4	No	Ninguno	Diagnosis postmortem
5	No	Retirada de IS Cirugía	Hemodiálisis 2 años Exitus no relacionado
6	No	Quimioterapia	Exitus en 1 año infección
7	No	Ninguno	Exitus en 1 mes
8	VEB seronegativa	Retirada de IS	Hemodiálisis Viva 9 años después

ELPD: enfermedad linfoproliferativa difusa postrasplante. VEB: Virus Epstein-Barr. IS: Inmunosupresión.

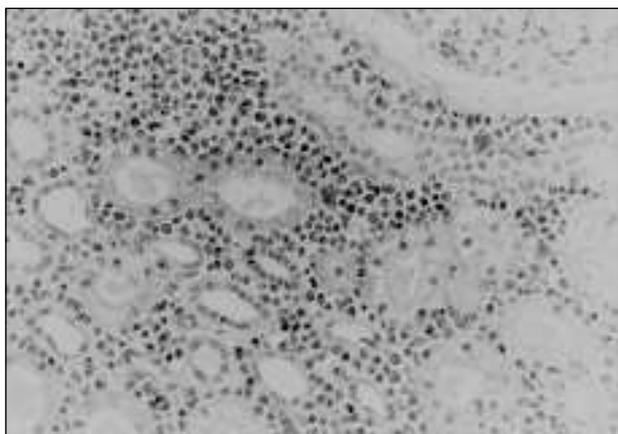


Fig. 1.—Biopsia renal. Enfermedad linfoproliferativa postrasplante con infiltrado linfoide monomorfo que borra parcialmente la estructura (H-E \times 100).

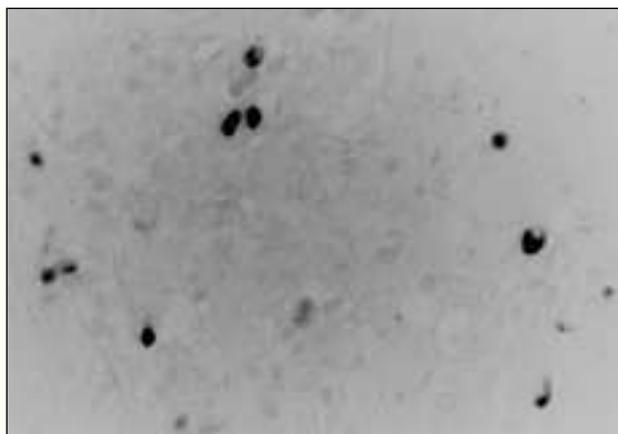


Fig. 3.—Biopsia cutánea. Infiltrado celular con positividad nuclear para virus de Epstein-Barr (HIS, RNA-EBER \times 400).

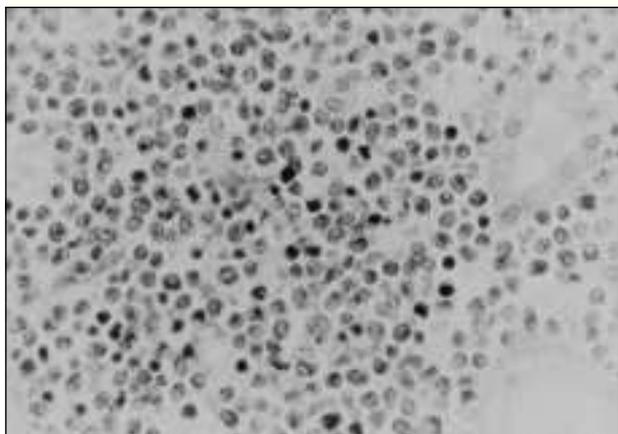


Fig. 2.—Biopsia renal. Detalle del infiltrado celular constituido por linfocitos grandes con núcleo vesiculado con uno o dos nucléolos (H-E \times 200).

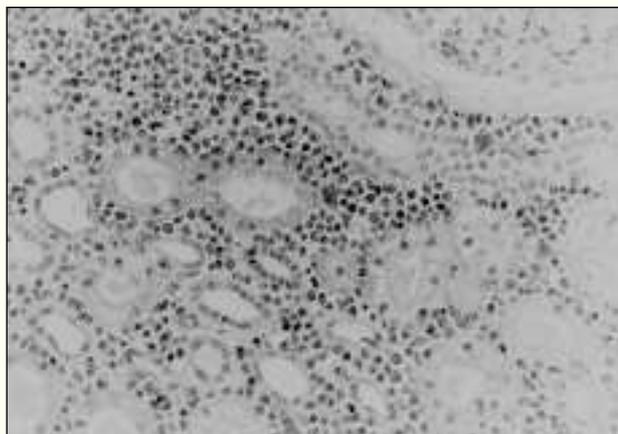


Fig. 4.—TAC abdominal que evidencia una gran masa de adenopatías.

(tabla I). En un paciente (caso 3) el estudio no se pudo efectuar al realizarse el diagnóstico en base a un TC toraco-abdominal (fig. 4) y al estudio de la celularidad obtenida en líquido pleural y ascítico (fig. 5).

El 50% de los pacientes (4/8) no recibieron tratamiento al diagnosticarse 2 de ellos postmortem y otros 2 días antes de su fallecimiento. Los pacientes 2 y 6 (linfoma Hodgkin) recibieron quimioterapia junto con retirada de la inmunosupresión en el caso 2, pero fallecieron ambos pacientes al mes y al año de su diagnóstico, este último por una complicación infecciosa. El caso 5, linfoma gástrico, fue sometido a cirugía y retirada de la inmunosupresión, pero falleció en programa de hemodiálisis por causa no re-

lacionada a los 2 años del diagnóstico. El caso 8 era un linfoma dérmico que remitió tras la retirada de la inmunosupresión y la paciente está viva en diálisis 9 años después del diagnóstico (tabla II). En resumen, 5 de nuestros 8 pacientes fallecieron por causa directa de la ELDP y 1 a consecuencia de una complicación de su tratamiento, lo que representaría una tasa de mortalidad del 75%.

DISCUSIÓN

La incidencia de ELDPs varía según el órgano trasplantado y es de alrededor del 1% en receptores

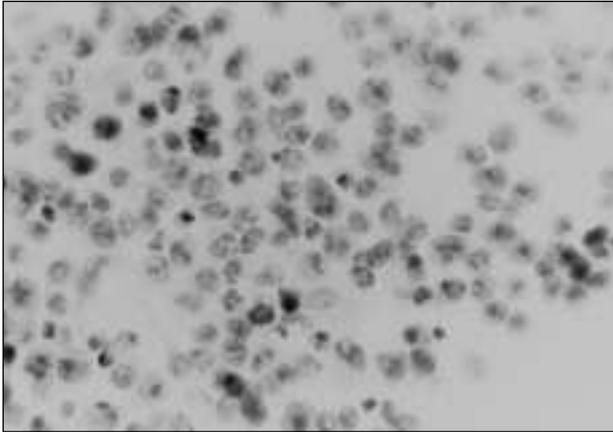


Fig. 5.—Citología líquido pleural. Extendido celular con células linfoides atípicas, monomorfas. Los núcleos son vesiculosos y los nucléolos prominentes (Papanicolau $\times 400$).

adultos de trasplante renal¹⁰. Nuestra incidencia es algo superior, aunque incluimos en nuestra serie, siguiendo las recomendaciones de Payá y cols.¹, únicamente formas neoplásicas de ELDP, claramente diferenciadas de las hiperplasias reactivas.

Es sorprendente la total ausencia de los factores de riesgo descritos³⁻⁵ en la mitad de nuestros pacientes (casos 4, 5, 6 y 7). Otros 2 (casos 2 y 3) tenían como único posible factor de riesgo el tratamiento de un episodio de rechazo agudo con altas dosis de esteroides, mientras que un tercer receptor (caso 8) era VEB seronegativo en el momento del trasplante (tabla II), situación que incrementaría 76 veces la posibilidad de desarrollar la enfermedad³.

Únicamente 1 paciente (caso 1) se podría considerar el típico candidato a desarrollar ELDP, ya que recibió OKT3 profiláctico y como tratamiento de rechazo agudo, aunque la dosis total no llegó a los 75 mg descritos por Swinnen⁴ como punto de corte para el desarrollo de la enfermedad, junto con dosis altas de esteroides, desarrollando conjuntamente una enfermedad por CMV⁹. Efectivamente la enfermedad por CMV ha sido identificada recientemente como factor independiente de riesgo, e incrementa la incidencia de ELDP entre 7 y 10 veces, ya que el CMV produciría citoquinas que estimularían la proliferación de los linfocitos B⁵.

Algunos autores han apuntado la posibilidad de que existan dos entidades diferentes dentro de la ELDP. La primera de aparición precoz en el posttrasplante, muy relacionada con la infección por VEB y con tendencia a la remisión tras la reducción de la inmunosupresión farmacológica. La segunda entidad sería de aparición tardía, poco rela-

cionada con el VEB y con mala evolución clínica a pesar de la supresión que la inmunosupresión^{11,12}. Nuestros datos van en contra de esta hipótesis, ya que todos nuestros pacientes, excepto el caso 1, desarrollaron la enfermedad al menos 2 años después del trasplante y en todos en los que se pudo determinar, excepto en 2 (casos 5, 7) fue posible identificar la presencia de VEB en el tejido linfoproliferativo (tabla I).

Mientras que los linfomas no Hodgkin son la segunda causa de cáncer en la población trasplantada, la enfermedad de Hodgkin es sólo ligeramente más frecuente en esta población que en la general. Así, sólo el 2,5% de los 1.252 linfomas recogidos por el CTTR en la población trasplantada son Hodgkin¹³. El tratamiento de estos receptores, siguiendo las recomendaciones de Bierman¹⁴ y Garnier¹⁵, debería ser igual al recibido por los pacientes no inmunosuprimidos con esta enfermedad, sin basarse en la retirada de la inmunosupresión, con el fin de alcanzar buenas supervivencias de los enfermos con el mantenimiento del injerto funcionante. Nuestra paciente (caso 6) recibió quimioterapia y mantuvo la inmunosupresión, pero falleció un año después del diagnóstico a consecuencia de una infección intercurrente, al igual que sucedió con 2 de los pacientes de Garnier¹⁵. La relación del linfoma Hodgkin con el VEB parece evidente ya que en la mayoría de estos pacientes, al igual que en el nuestro, se pudo demostrar la presencia de VEB en el tejido linfocitario^{14,15}.

La ELDP es una complicación grave en el paciente trasplantado con una mortalidad entre el 50 y el 80%^{11,12,16}. La evolución de nuestros pacientes confirma estos datos, ya que 2 de ellos (casos 3 y 7) fallecieron en un plazo muy corto después del diagnóstico de la enfermedad, sin poder iniciar tratamiento alguno, y en 2 enfermos (casos 1 y 4) el diagnóstico fue postmortem^{9,17}. Sólo uno de nuestros pacientes (caso 8) ha superado la enfermedad aunque con la pérdida de su injerto (tabla II). El sirolimus es un nuevo inmunosupresor que, además de proporcionar inmunosupresión eficaz, parece inhibir la proliferación tumoral¹⁸, por lo que sería un fármaco a utilizar en pacientes que han desarrollado ELDP.

Concluimos que la ELDP es una entidad de muy mal pronóstico. Está asociada de forma significativa al VEB y en la mitad de los casos no se identifican los factores de riesgo clásicos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Payá C, Fung J, Nalesnik M, Kieff E, Green M, Gores G, Habermann T, Wiesner R, Swinnen L, Woodle E, Bromberg J:

- Epstein-Barr Virus inducer posttransplant lymphoproliferative disorders. *Transplantation* 68: 1517-1525, 1999.
2. Hanto DW, Frizzera C, Purtilo DT, Sakamoto K, Sullivan JL, Saemundsen AK, Klein G, Simmons RL, Najarian JS: Clinical spectrum of lymphoproliferative disorders in renal transplant recipients and evidence for the role of Epstein-Barr Virus. *Cancer Res* 41: 4253-4261, 1981.
 3. Walker RC, Paya CV, Mashall WF, Strickler JG, Wiesner RH, Velosa JA, Habbermann TM, Kaly RC, McGregor CG: Pretransplantation seronegative Epstein-Barr virus status is the primary risk factor for posttransplantation lymphoproliferative in adult heart, lung and other solid organ transplantations. *J Heart Lung Transplant* 14: 214-221, 1995.
 4. Swinnen LJ, Costanzo-Nordin MR, Fisher SG, O'Sullivan EJ, Johnson MR, Heroux AL, Dizikes GJ, Pifarre R, Fisher RI: Increased incidence of lymphoproliferative disorders after immunosuppression with the monoclonal antibody OKT3 in cardiac-transplant recipients. *N Engl J Med* 323: 1723-1728, 1990.
 5. Mañez R, Breinig MC, Linden P, Wilson J, Torre-Cisneros JU, Kusnei S, Dummer S, Ho M: Post-transplant lymphoproliferative disease in primary Epstein-Barr Virus infection after liver transplantation: the role of cytomegalovirus disease. *J Infect Dis* 176: 1462-1467, 1997.
 6. Muti G, De Gasperi A, Cantoni S, Oreste P, Gini G, Civati G, Busnach G, Brando B, Frigerio M, Mangiavacchi M, Alberti A, Decarus L, Rondinara G, De Giuli E, Morra E: Incidence and clinical characteristics of posttransplant lymphoproliferative disorders: report from a single center. *Transpl Int* 13: S382-S387, 2000.
 7. Caillard S, Lachat V, Moulin B: PTLD French Workind Group. Post-transplant lymphoproliferative disorders in renal allograft recipients: report of 53 cases of a french multicenter study. *Transpl Int* 13: S388-S393, 2000.
 8. Harris NI, Fery JA, Swarlow SH: Posttransplant lymphoproliferative disorders: summary of Society for hematopathology workshop. *Semin Diagn Pathol* 14: 8-14, 1997.
 9. Franco A, Muñoz C, Aranda I, Cabezas A, Perdiguero M, Prados MC: Immunological aspects of a case of post-transplant lymphoproliferative disorders. *Am J Nephrol* 15: 137-142, 1995.
 10. Opelz G, Henderson R: Incidence of non-Hodgkin lymphoma in kidney and heart transplant recipients. *Lancet* 342: 1514-1516, 1993.
 11. Dotti G, Fiocchi R, Motta T, Gamba A, Gotti E, Gridelli B, Borleri G, Manzoni C, Viero P, Remuzzi G, Barbui T, Rambaldi A: Epstein-Barr Virus-negative lymphoproliferative disorders in long-term survivors after heart, kidney and liver transplant. *Transplantation* 69: 827-833, 2000.
 12. Leblond V, Davi F, Charlotte F, Dorent R, Bitker MO, Sutton L, Grandjakhch I, Binet JL, Raphael M: Post-transplant lymphoproliferative disorders not associate with Epstein-Barr virus: A distinct entity? *J Clin Oncol* 16: 2052-2059, 1998.
 13. Penn I: The changing pattern of post-transplant malignancies. *Transplant Proc* 23: 1101-1103, 1991.
 14. Bierman PJ, Vose JM, Langnas AN, Rifkin RM, Auke RJ, Smir BN, Greiner TC: Hodgkin's disease following solid organ transplantation. *Ann Oncol* 7: 265-270, 1996.
 15. Garnier JL, Lebranchu Y, Dantal J, Bedrossian J, Cahen R, Assouline D, Jaccard A, Fetissoff F, Moreau A, Martin X, Delsion G, Berger F, Touraine JL: Hodgkin's disease after transplantation. *Transplantation* 61: 71-76, 1996.
 16. Savage P, Waxman J: Post-transplantation lymphoproliferative disorders. *QJM* 90: 497-503, 1997.
 17. Franco A, Jiménez L, Muñoz C, Chulia M, Marco P, Muñoz E: Hematoma del músculo recto anterior abdominal como primera manifestación de una enfermedad linfoproliferativa en el postrasplante renal. *Nefrología* 20: 559-562, 2000.
 18. Guba M, Von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, Bruns CJ, Zuelke C, Farkas S, Anthuber M, Jauch WJ, Geissler EK: Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nature Medicine* 8: 128-135, 2002.