

# **UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA**

Dottorato di ricerca in FISIOPATOLOGIA DELL'INSUFFICIENZA RENALE

Ciclo XXV

## **Sopravvivenza renale a lungo termine dopo malattia linfoproliferativa post trapianto: studio caso-controllo**

Relatore:

*Chiar.mo* Prof. CARLO BUZIO

Tutor:

*Chiar. mo* Dott. Augusto Vaglio

Dottoranda: Alessandra Palmisano

Anno Accademico 2013 – 2014

## Indice

Abstract	pag 3
Introduzione	pag 5
Materiali e metodi	
• Pazienti e popolazione in studio	pag 11
• Caratteristiche delle PTLD	pag 12
• Controlli	pag 12
• Valutazione della funzione renale	pag 13
• Analisi statistica	pag 14
Risultati	
• Caratteristiche demografiche e cliniche	pag 16
• Caratteristiche delle PTLD	pag 18
• Trattamento delle PTLD	pag 19
• Outcome delle PTLD	pag 20
• Funzione renale nei casi prima e dopo il trattamento della PTLD	pag 21
• Confronto della funzione renale del graft nei casi e nei controlli	pag 23
Discussione	pag 27
Bibliografia	pag 33
Tabelle	pag 37
Figure	pag 47

## Abstract

---

**Background:** Le malattie linfoproliferative post-trapianto (PTLD) sono severe complicanze dei trapianti di organi solidi ed ematopoietici, con un'incidenza dell'1- 5% nel trapianto di rene. Mentre molti studi hanno stimato una sopravvivenza post-PTLD a 5 anni del 50%, non ci sono studi che abbiano valutato l'andamento della funzione del rene trapiantato nel lungo termine dopo la comparsa di questa patologia.

**Pazienti e Metodi:** sono stati selezionati tutti i pazienti che hanno sviluppato una PTLD dal 1986 al 2013 nel nostro centro, per ciascuno dei quali sono stati scelti 4 controlli matchati per sesso, età, data del trapianto, tipo di donatore e di organo trapiantato. Per entrambi i gruppi sono state valutate le caratteristiche cliniche e laboratoristiche al momento del trapianto e l'andamento della funzione renale dal trapianto all'ultimo follow-up /comparsa di rigetto /inizio della dialisi /decesso del paziente. L'effetto della PTLD sull'outcome renale è stato esaminato usando il metodo del restricted maximum likelihood (REML) per stimare modelli misti con coefficienti random e struttura gerarchica .

La valutazione delle caratteristiche delle PTLD e il loro trattamento sono state, altresì, incluse nello studio.

**Risultati:** sono stati identificati 19 casi di PTLD su 1273 trapianti di rene o rene-pancreas effettuati presso il nostro centro, per un'incidenza pari all' 1,48%; sono quindi stati selezionati 76 controlli. Tutti i pazienti avevano ridotto la terapia immunosoppressiva e eseguito altre terapia (rituximab e/o chemioterapia). A dispetto di una maggiore mortalità nei pazienti con PTLD rispetto ai controlli a partire dalla diagnosi di PTLD (log-rank test  $p=0.011$ ), la sopravvivenza del graft censurata per la morte è risultata simile nei casi e nei controlli ( $p=0.69$ ) e dopo un follow up mediano di 48 mesi (range interquartile 14.5- 96.5)

12/13 (92%) pazienti sopravvissuti alla PTLD avevano un graft funzionante. Non vi era un declino significativamente differente della funzionalità renale misurata come eGFR dal momento della PTLD in poi (rispetto ad un analogo periodo nei controlli); si osservava, invece, un comportamento divergente prima dell'insorgenza della PTLD (rispetto al corrispettivo tempo dal trapianto nei controlli): l'eGFR tendeva a migliorare nei casi e a peggiorare nei controlli con una differenza statisticamente significativa ( $p=0019$ ).

**Conclusioni:** La PTLD è una patologia severa che si può associare ad elevata mortalità nei pazienti con trapianto renale. I pazienti che sopravvivono alla malattia hanno però un'elevata probabilità di mantenere una stabile funzione renale, pur in presenza di minima terapia immunosoppressiva.

## Introduzione

---

Il trapianto di rene rappresenta il gold standard nel trattamento dell'insufficienza renale cronica avanzata offrendo una migliore qualità di vita e un miglior outcome rispetto al trattamento dialitico[1]. Lo sviluppo di nuove terapie immunosoppressive ha permesso di prevenire e trattare tempestivamente le complicanze precoci del trapianto incidendo positivamente sulla sopravvivenza dell'organo e del paziente trapiantato. Tutti i pazienti ricevono una terapia immunosoppressiva di mantenimento per preservare la funzione e la sopravvivenza dell'organo a distanza [2]. Tuttavia, è noto che l'uso cronico di questi farmaci esponga il paziente a un'aumentata suscettibilità verso alcune complicanze, in particolare infezioni opportunistiche e tumori come le malattie linfoproliferative post trapianto (PTLD); queste ultime sembrano limitare la sopravvivenza dell'organo trapiantato in quanto il loro trattamento comporta una minimizzazione della terapia immunosoppressiva con conseguente aumentato rischio di perdita del graft [3].

Le PTLD sono complicanze ben riconosciute e potenzialmente fatali dei trapianti di organi solidi ed ematopoietici. Sono state descritte per la prima volta nel 1968 da Doak *et al* [4] come “sarcomi a cellule reticolari probabilmente dovuti ad un'eccessiva immunosoppressione favorente infezioni da virus oncogeni”; il termine post-transplant lymphoproliferative disorders (PTLD) fu, invece, coniato da Starzl nel 1984 che le definì come “proliferazioni linfoidi che, a differenza dei linfomi, non sono sempre monoclonali e le cui caratteristiche morfologiche spesso differiscono da quelle dei linfomi.” [5]. Negli ultimi decenni una considerevole quantità di informazioni in merito a diagnosi, fattori di rischio e terapia è stata aggiunta per cui con il termine PTLD ci si riferisce ad un eterogeneo gruppo di disordini linfoproliferativi che vanno dall'iperplasia linfoide benigna a forme aggressive di linfoma [6]. La classificazione più utilizzata è quella stilata nel 2008 dalla WHO [7], che distingue le

PTLD in quattro categorie in base a criteri morfologici, immunofenotipici e molecolari: early lesions, PTLN polimorfe, PTLN monomorfe e Linfoma di Hodgkin. Ciascuna di queste forme viene, inoltre, classificata in EBV positiva o negativa sulla base del riscontro di proteine di EBV (EBER-1, LMP, etc) all'analisi immunoistochimica. Le forme EBV positive colpiscono frequentemente pazienti giovani, si presentano più precocemente e si associano ad una prognosi peggiore rispetto a quelle EBV negative [8,9]; le forme EBV-negative, invece, insorgono tardivamente (in media 50-60 mesi dal trapianto) e sembrano essere più frequentemente monomorfe rispetto a quelle EBV positive (67 % vs 42%) [10].

Le PTLN sono la seconda neoplasia più frequente nei pazienti trapiantati dopo i carcinomi della cute; il rischio di svilupparle è 10-20 volte maggiore rispetto a quello della popolazione generale. L'incidenza varia a seconda dell'organo trapiantato e si aggira intorno all'1-5% nei pazienti adulti trapiantati di rene o fegato, al 5-20% per i trapianti multiorgano e intestinali e al 2-10% per i trapianti toracici; si pensa che la frequenza differente nei diversi tipi di trapianto dipenda da diversi fattori, in primis dall'intensità e dalla durata dell'immunosoppressione, insieme ad una diversa quantità di tessuto linfoide trasferito con il graft [11-14]. I principali fattori di rischio per lo sviluppo di malattia sono l'immunosoppressione e lo stato sierologico nei confronti del virus EBV. In particolare, la durata ed il livello di immunosoppressione rappresenta uno dei fattori più importanti grazie all'abilità della maggior parte dei farmaci immunosoppressori utilizzati ad indurre deplezione e/o blocco funzionale dei linfociti T, alcuni dei quali (in particolare i T suppressor) svolgono funzioni di "vigilanza" sulla proliferazione B cellulare [15-17]. Tra i farmaci immunosoppressivi gli inibitori della calcineurina (CNI), in particolar modo il tacrolimus rispetto alla ciclosporina, e gli anticorpi antitimociti (ATG), utilizzati sia nell'induzione che

come terapia del rigetto acuto [18,19], sono stati associati ad un aumentato rischio di sviluppare PTLD [16]

Un secondo importante fattore di rischio è rappresentato dallo stato sierologico vs EBV del donatore e del ricevente. Il virus EBV ha capacità di rimanere latente nelle cellule B di memoria sotto forma episomiale [20]. Essendo l'eliminazione e il blocco della propagazione dei cloni infetti sotto il controllo dei linfociti T (più precisamente i linfociti T citotossici), ed essendo questi ultimi il maggior bersaglio delle terapie immunosoppressive convenzionali (ATG, CNI), nel periodo post-trapianto è possibile assistere ad una incontrollata proliferazione delle cellule infette ed allo sviluppo di iperplasie o franche neoplasie [21-24]. Il 50-80% delle PTLD, infatti, risulta positivo per EBV all'esame biotico. Il rischio, infatti, aumenta notevolmente in caso di donatore positivo e ricevente negativo (D+/R-), e si riduce in caso di donatore e ricevente negativi [25,26] nonostante la sieronegatività conferisca di per sé un rischio aumentato [27].

I pazienti affetti da PTLD comunemente hanno manifestazioni cliniche eterogenee e multiformi, i sintomi dipendono dal coinvolgimento che è nodale in circa il 70% dei casi [28-44], mentre le lesioni extranodali si osservano nel 68-81% dei casi. Recenti studi hanno mostrato come le PTLD tendano ad interessare il graft in circa il 21% dei pazienti [29]; sembra che ciò sia dovuto ad una cronica stimolazione antigenica da parte del graft stesso [30] e sono più frequenti nelle forme EBV positive [28]. In questo caso tipici saranno sintomi da disfunzione del graft stesso, imponendo una diagnosi differenziale con altre condizioni quali il rigetto dell'organo.

La prima strategia terapeutica per il trattamento delle PTLD è la riduzione dell'immunosoppressione, che in genere si basa sulla riduzione del 30-50% della dose di CNI e/o sospensione degli antimetaboliti (MMF e AZA) [28]; alcuni autori hanno documentato

una risposta alla riduzione dell'immunosoppressione nel 63% dei casi [31,32], anche se studi successivi hanno riportato tassi di risposta inferiori intorno al 10%, in particolare nelle forme EBV negative[28]. Alla riduzione della terapia immunosoppressiva segue, in molti casi, l'uso di altri farmaci quali il rituximab, indicato per le forme B-cellulari positive all'immunoistochimica per CD20 [33-36], e/o differenti schemi chemioterapici, tra cui il CHOP (ciclofosfamide, doxorubicina, vincristina e prednisone) ed il proMACE-CytaBOM (prednisone, doxorubicina, ciclofosfamide, etoposide, citarabina, bleomicina, vincristina, e methotrexate). Attualmente rituximab e chemioterapia sono impiegati congiuntamente in modo sincrono o in sequenza. Entrambi le opzioni sembrano molto efficaci con tassi di risposta intorno al 60% per il rituximab da solo e tassi di remissione completa del 90% con l'utilizzo sequenziale di rituximab seguito da 4 cicli di CHOP [28].

I pazienti affetti da PTLD sono considerati ad alto rischio di perdita del graft a causa principalmente della riduzione della terapia immunosoppressiva e, in secondo luogo, perché la stessa localizzazione della PTLD, seppure in una modesta percentuale dei casi, a livello del graft può essere causa di disfunzione dello stesso.

In letteratura, i tassi di rigetto acuto in questi pazienti si aggirano intorno al 40% [31,32,37]. L'outcome renale di questi pazienti però è stato raramente valutato in modo sistematico; in particolare, non è noto se la PTLD e/o il suo trattamento abbiano realmente un impatto negativo sulla sopravvivenza del graft e/o sulla sua funzione[33-36].

Nel 2008 Swinnen *et al* hanno pubblicato i risultati del primo studio prospettico in cui 20 pazienti con PTLD venivano trattati con uno schema sequenziale di riduzione dell'immunosoppressione seguita da somministrazione di interferon  $\alpha$ -2b e chemioterapia. Dei 16 pazienti valutabili, 6 (38%) hanno sviluppato un rigetto del graft, ma, tuttavia, non venivano forniti dati ulteriori sull'outcome del graft a lungo termine [38].

L'unico studio che abbia finora valutato l'impatto della PTLD e/o del suo trattamento sulla funzionalità renale è stato condotto quello di Trappe *et al* nel 2009 [39]. Si tratta di uno studio retrospettivo su 58 portatori di trapianto renale che, dopo la riduzione dell'immunosoppressione, hanno ricevuto un trattamento con rituximab e/o CHOP per una diagnosi di PTLD. La funzione renale è stata monitorata per poco più di un anno dopo lo sviluppo della PTLD ed è stata confrontata con quella di un gruppo di controllo composto da 610 trapiantati, matchati per età, sesso, età dal trapianto e funzione del graft all'avvio del follow up. Si osservava che, a 12 mesi dalla PTLD, l'eGFR dei pazienti con PTLD non era significativamente differente da quella di trapiantati di controllo. Gli autori ipotizzavano che la riduzione dell'immunosoppressione venisse "compensata" dall'effetto immunosoppressivo di rituximab+CHOP, e che fosse questo a garantire una buona sopravvivenza dell'organo trapiantato. Questi dati, sebbene di estremo interesse, erano sostanzialmente limitati dal breve follow-up di 12-14 mesi e, inoltre, non veniva specificato quanti pazienti andassero incontro a rigetto e come questa potenziale complicanza venisse trattata.

Recentemente Serre *et al* hanno riportato che l'uso di basse dosi di inibitori della calcineurina in pazienti affetti da PTLD migliora l'outcome renale senza avere effetti dannosi sulla sopravvivenza del paziente [40]. Gli autori hanno retrospettivamente rivisto 101 casi di trapiantati affetti da PTLD per identificare i rischi associati alla perdita del graft. Durante un follow up mediano di 70 mesi, 39 pazienti sono morti e 21 hanno perso il graft. L'analisi multivariata ha messo in evidenza che la diagnosi istologica di rigetto acuto dopo la riduzione della immunosoppressione e l'assenza di terapia con inibitori della calcineurina rappresentano fattori di rischio indipendenti per la perdita del graft. Questo ultimo dato è di estrema rilevanza, tuttavia lo studio manca di un gruppo di controllo e pertanto non può dimostrare se la PTLD ha un impatto negativo sulla funzione renale.

Risulta quindi necessario, ai fini di una corretta gestione dei pazienti con trapianto renale che sviluppino PTLD, definire quanto la PTLD stessa ed il suo trattamento possano influenzare la sopravvivenza renale e la sopravvivenza globale a lungo termine. E' inoltre interessante notare come alcuni di questi pazienti, dopo sostanziale riduzione della terapia immunosoppressiva (fino, in alcuni casi, alla completa sospensione), seguita o meno da terapie specifiche, siano in grado di mantenere una buona funzionalità dell'organo trapiantato. Questo fenomeno, definito dalla letteratura anglo-sassone come "operational tolerance", è uno stato in cui il paziente sottoposto a minima o nulla immunosoppressione, pur essendo in grado di rispondere in modo sufficientemente efficace a infezioni o altri stimoli immunogeni, non sviluppi rigetto dell'organo trapiantato [41,42]. La tolleranza è quindi una condizione biologica di estremo interesse, e comprenderne i meccanismi fisiopatologici o identificare i biomarcatori che la caratterizzano è oggetto di numerosi studi. [43]

Lo studio presentato in questa tesi ha l'obiettivo di valutare l'outcome renale a lungo termine nei pazienti portatori di trapianto di rene e rene-pancreas del nostro Centro Trapianti dopo lo sviluppo di una PTLD. Verrà eseguito un confronto con pazienti matchati e selezionati dalla nostra coorte di trapiantati e verranno, inoltre, descritte le caratteristiche della popolazione dei pazienti con PTLD e la loro sopravvivenza.

## **Metodi**

### **Pazienti e popolazione in studio**

Lo studio è stato condotto attraverso l'analisi retrospettiva dei dati clinici di pazienti portatori di trapianto di rene e di rene-pancreas che hanno ricevuto una diagnosi di PTLD dall'aprile 1986 a giugno 2013 nel Centro Trapianti di Parma.

Dall'aprile 1986 al giugno 2013 sono stati effettuati 1273 trapianti renali. Di questi 1126 (88,45%) erano trapianti di rene singolo da donatore cadavere, 44 (3,45%) trapianti di rene doppio da donatore cadavere, 64 (5,02%) trapianti di rene singolo da donatore vivente, 38 (3%) trapianti di rene-pancreas.

Nell'ambito di questa coorte, i pazienti con PTLD sono stati identificati mediante revisione delle cartelle cliniche di tutti i pazienti trapiantati e consultazione dell'archivio computerizzato dell'Anatomia Patologica dell'A.O.U. di Parma relativamente ai pazienti trapiantati. I criteri di eleggibilità per i pazienti-caso comprendono: pazienti con trapianto di rene o rene-pancreas (nell'adulto) che abbiano sospeso o ridotto la terapia immunosoppressiva in seguito ad una diagnosi di PTLD e disponibilità di dati clinici adeguati sul follow-up a lungo termine. Sono state retrospettivamente raccolte dalle cartelle cliniche le seguenti variabili:

- Data del trapianto
- Nefropatia di base e storia clinica (ipertensione, fumo, cardiopatia, diabete)
- Precedenti trasfusioni o storia di precedente trapianto
- Tipo di dialisi pre-trapianto (se presente) e durata del trattamento dialitico (in mesi)
- Tipo di organo trapiantato e tipo di donatore
- Caratteristiche del donatore: età e causa di morte
- Tempo di ischemia fredda dell'organo trapiantato

- Gruppo sanguigno, numero di mismatches sui loci HLA e picco PRA
- Sierologia del ricevente e del donatore (qualora presente) per CMV e EBV
- Trattamento immunosoppressivo utilizzato, sia terapia di mantenimento che terapia di induzione (thimoglobuline o OKT3).

L'identificazione dei singoli dati ha visto la consultazione del database computerizzato del Centro Trapianti di Parma, della lista d'attesa del Centro Regionale Trapianti dell'Emilia-Romagna (per i tempi di ischemia fredda ed il PRA), dell'archivio computerizzato dell'Anatomia Patologica, del database del laboratorio di Genetica nonché la consultazione dei medici che lavorano nei singoli reparti o laboratori.

Dalla coorte di 1273 pazienti sono stati considerati eleggibili per lo studio 19 pazienti che hanno ricevuto una diagnosi di PTLD.

### **Caratteristiche delle PTLD**

La diagnosi di PTLD si è basata sull'esame tissutale ottenuto da una agobiopsia o biopsia a cielo aperto. Al fine di identificare le sedi di malattia i pazienti sono stati sottoposti a esame fisico, esami ematochimici e indagini di secondo livello (biopsia del midollo osseo, TC total body, FDG-PET total body). Per ogni caso sono state valutate le caratteristiche della PTLD: tempo di comparsa dal trapianto, presentazione clinica, fenotipo istologico, markers immunoistochimici, correlazione con EBV, tipo di trattamento adottato, risposta clinica, sopravvivenza, comparsa di rigetto acuto/cronico post-PTLD.

### **Controlli**

Al fine di ottenere una coorte di controlli omogenea ai casi, finalizzata al confronto dell'outcome renale post-PTLD e della sopravvivenza del paziente, sono stati identificati pazienti con trapianto renale o rene-pancreas con un rapporto casi:controlli di 1:4, per un totale di 76 pazienti. I criteri utilizzati per il match casi-controlli sono stati:

- Data del trapianto
- Tipo di trapianto (rene, rene-pancreas)
- Tipo di donatore (vivente, cadavere)
- Sesso del ricevente
- Età del ricevente, con  $\Delta$ età massimo di 5 anni

L'identificazione dei controlli è stata effettuata mediante un database computerizzato del Centro Trapianti di Parma che raccoglie tutte le informazioni relative al donatore e al ricevente, dal momento del trapianto ai primi 3 mesi post-trapianto. Anche per i controlli sono stati registrati gli stessi parametri definiti per i casi.

### **Valutazione della funzione renale**

Sono state rilevate, ad intervalli di tempo prestabiliti, le seguenti variabili: creatinina plasmatica, proteinuria, urea, LDH, pressione arteriosa e peso corporeo. Il filtrato glomerulare, eGFR (estimated glomerular filtration rate), è stato calcolato mediante la formula CKD-EPI. Sono state inoltre riportate: presenza di rigetto cronico (definito come proteinuria  $> 1\text{g/die}$  e/o creatininemia  $>1.8\text{ mg/dL}$  in assenza di altre cause identificabili di disfunzione del trapianto), altre cause istologicamente provate di disfunzione del trapianto come nefropatia da BK virus, ricorrenza della glomerulonefrite (malattia di base), o nefrotossicità da inibitori della calcineurina.

Nei casi e nei controlli i sopradescritti parametri sono stati registrati ai seguenti punti-tempo: al momento del trapianto, a 3 e a 6 mesi, e successivamente ogni anno dal trapianto fino alla data di comparsa della PTLD. I dati sono poi stati valutati al momento della PTLD, a 3 e 6 mesi e ad ogni anno dalla comparsa di quest'ultima fino all'ultimo follow-up, al rigetto del rene trapiantato o rientro in dialisi o al decesso del paziente. Gli stessi dati sono stati

registrati agli stessi punti-tempo nei controlli. E' stato definito "tempo indice" il momento di insorgenza della PTLD nei casi ed è stato diviso il follow up di ciascuno dei 4 controlli matchati in due periodi, prima e dopo il "tempo indice". Questo split nei controlli è stato fatto artificialmente poiché nessuno dei controlli selezionati ha sviluppato alcun "evento" particolare al tempo indice.

### **Analisi statistica**

I *determinanti delle PTLD* sono stati esaminati con regressione logistica condizionale (ad effetti fissi) in cui 4 controlli per ciascun caso erano campionati per tempo di insorgenza dal trapianto. Tale metodo di campionamento si definisce "incidence rate sampling". Usando tale metodo di campionamento, la regressione logistica condizionale equivale esattamente ad un modello di regressione di Cox per rischi proporzionali, in cui l'odds ratio va interpretato come un hazard ratio. Le analisi sono state aggiustate per fattori di confondimento quali uso di terapie linfodepletanti, tipo di trapianto, età di donatore e ricevente e tipo di trapianto.

Il *trend temporale dell'eGFR* nei pazienti con PTLD e nei loro controlli è stato stimato attraverso delle funzioni spline che consentissero di stimare un trend differente prima e dopo l'evento indice. Per tener conto della presenza di dati ripetuti e altamente sbilanciati a causa della presenza di dati mancanti e differente durata di follow-up, abbiamo analizzato i dati di eGFR usando il metodo del restricted maximum likelihood (REML) per stimare modelli misti con coefficienti random e struttura gerarchica. Infatti, il set di pazienti (caso e suoi controlli), i pazienti stessi (annidati all'interno di ciascun set) sono stati inclusi rispettivamente come due differenti random-intercepts, mentre il trend temporale di ciascun paziente è stato incluso come random-slope. La PTLD, e fattori di confondimento quali età del donatore e ricevente, numero di mismatches HLA e uso di terapie linfodepletanti sono stati inclusi come fattori

fissi. La media del trend temporale e la sua interazione con la PTLD è stata inclusa come fattore fisso.

*L'effetto della PTLD sull'outcome* (morte con graft renale funzionante e/o perdita del graft renale) è stata esaminata il log rank test. Le stime della sopravvivenza del graft censurata e non per la morte sono state condotte con il metodo Kaplan Meier.

## Risultati

---

### Caratteristiche demografiche e cliniche

In totale, i pazienti trapiantati nel nostro Centro e affetti da PTLD inclusi nello studio sono stati 19; di questi, 6 (32%) erano di sesso femminile. Sono stati selezionati un totale di 76 controlli matchati per età, sesso, data del trapianto, tipo di trapianto e di donatore, secondo un rapporto caso:controllo di 1:4. 24/76 controlli (31%) erano donne.

Le caratteristiche demografiche e cliniche relative al momento del trapianto, nel gruppo dei casi e in quello dei controlli, sono riportate in *Tabella 1*.

I controlli sono stati scelti in maniera omogenea ai casi per età al momento del trapianto ( $p=0.951$ ); infatti, il 32% dei casi e il 31% dei controlli aveva un'età tra i 18 e i 32 anni; il 26% dei casi e il 38% dei controlli aveva tra i 33 e i 46 anni; mentre il 42% dei casi e il 31% dei controlli aveva un'età compresa tra i 47 e i 61.

La glomerulonefrite è stata la causa più frequente di end stage renal disease sia nei casi sia nei controlli (47 e 38% rispettivamente) seguita, nei casi, dal diabete e dal rene policistico, e nei controlli dalla pielonefrite e dalle malattie malformative.

Nessun paziente nei due gruppi ha ricevuto il rene da un donatore vivente. Due casi e sette controlli (10 e 9% rispettivamente) hanno ricevuto un trapianto combinato di rene-pancreas.

L'età dei donatori è risultata tendenzialmente più bassa nel gruppo dei pazienti con PTLD (mediana, 21 anni, range 15 – 64) che nei controlli (mediana, 40 anni, range 15-75) ( $p=0.078$ ). Inoltre, il tempo di ischemia fredda dell'organo era anch'esso più basso nei casi (mediana, 674 minuti, range 360 - 1530) che nei controlli (mediana, 1020 minuti, range 295 - 1930) ( $p=0.086$ ).

Il rischio immunologico al momento del trapianto non è risultato significativamente differente nei due gruppi: il 31% dei casi e il 20% dei controlli erano stati sottoposti a trasfusioni (dato risultato non disponibile per 14 controlli) ( $p= 0.77$ ); il numero di mismatches sui loci HLA, inoltre, era 0-2 nel 21% dei casi e nel 19% dei controlli ( $p= 1.00$ ), 3-4 nel 63% dei casi e nel 63% dei controlli ( $p=0.59$ ) , 5-6 nel 16% dei casi e nel 9% dei controlli ( $p=0.445$ ), non disponibile solo in 7 controlli.

Lo stato sierologico anti-CMV nei riceventi risultava positivo (IgG+) nel 68% dei casi e nel 75% dei controlli ( $p=0.36$ ), negativo( IgG-) nel 32% dei casi e nel 20% dei controlli, il dato non era noto per il 5% dei controlli. Per quanto riguarda lo stato sierologico dei donatori per il CMV, esso era positivo nel 63% dei casi e nel 51% dei controlli, negativo nel 2% dei controlli, non disponibile nel 37% dei casi e nel 47% dei controlli .

Lo stato sierologico dei riceventi verso il virus EBV risultava positivo nel 63% dei casi e nel 41% dei controlli ( $p=0.757$  ), negativo nel 21% dei casi e nel 21% dei controlli ( $p=1.00$ ); non è stato, tuttavia, possibile reperire lo stato sierologico per EBV di 3 casi (16%) e 29 controlli (38%).

Al momento del trapianto, il 47 % dei casi e il 43 % dei controlli era stato sottoposto ad una terapia di induzione: le timoglobuline sono state usate prevalentemente nei casi (26% vs 13%,  $p=0.294$ ) mentre gli anticorpi anti-IL2R sono stati più utilizzati nei controlli (21% vs 28%,  $p=0.57$ ). Tutti i casi di PTLD e il 96% dei controlli utilizzavano come terapia di mantenimento un inibitore della calcineurina, ma dall'analisi dei tipo di inibitore si osservava un maggior impiego del tacrolimus tra i casi rispetto ai controlli (42% vs 24%,  $p=0.16$ ).

## Caratteristiche delle PTLD

I dati relativi alle caratteristiche della PTLD sono riassunti nelle *Tabelle 2 e 3*.

L'età mediana dei pazienti alla comparsa di PTLD era 48 anni (range 22–68) mentre la mediana del tempo intercorso dal trapianto alla comparsa della PTLD era di 61 mesi (1–248). Si sono osservati 2 casi di early-onset PTLD (< 1 anno da trapianto) e 17 di late-onset PTLD (> 1 anno dal trapianto).

All'analisi istologica, 15/19 (79 %) casi erano linfomi a cellule B, 1/19 (5%) a cellule T, 2/19 (11%) linfomi di Hodgkin (entrambi variante classica sclero-nodulare) e 1 linfoma polimorfo (1/19; 5%). I fenotipi monomorfi includevano 12/16 casi di linfomi diffusi a grandi cellule (*figura 1*), un linfoma di Burkitt, un linfoma in Malattia di Castleman (*figura 2*), un linfoma a cellule T e uno ad istologia non disponibile. La ricerca di EBV mediante immunohistochimica sulle biopsie delle PTLD era stata condotta in 13/19 casi; di questi, 8 risultavano positivi (61,5%).

Dal punto di vista clinico, la malattia esordiva con sintomi sistemici (febbre, astenia, perdita di peso, sudorazioni notturne) nel 47% dei casi mentre in 8 pazienti (42%) con una linfoadenomegalia isolata; solo 3 pazienti presentavano all'esordio disfunzione del graft (16%). Le forme disseminate sono state riscontrate nel 21% dei casi mentre quelle localizzate nel 79% dei casi. L'esclusivo coinvolgimento nodale si è riscontrato nel 47% dei casi, mentre nei restanti con interessamento extranodale le sedi più frequentemente interessate erano il midollo osseo e il rene trapiantato. C'è stato un solo caso di interessamento, peraltro isolato, del SNC.

Tra le principali alterazioni laboratoristiche, vi erano anomalie della crasi ematica (anemia, leucopenia e trombocitopenia) nel 31% dei casi.

## Trattamento delle PTLD

Al momento della diagnosi di PTLD, tutti i pazienti stavano assumendo un CNI, il 38% un antimetabolita (MMF/AZA) e il 68% steroidi. 3/19 (16%) pazienti erano in monoterapia con CNI, 10/19 (53%) in duplice (CNI + steroidi o CNI + antimetabolita) e 6/19 (31%) pazienti erano in triplice terapia (CNI + antimetabolita + steroidi). Nessun paziente era in trattamento con inibitori di mTOR.

Nei controlli matchati, 4/76 (5%) pazienti erano in monoterapia con CNI, 35/76 (46%) in duplice (CNI + steroidi o CNI + antimetabolita) e 37/76 (49%) pazienti erano in triplice terapia (36 CNI + antimetabolita + steroidi e 1 CNI + mTOR + steroidi).

Dopo la diagnosi di PTLD, tutti i pazienti hanno ridotto la terapia immunosoppressiva, 6/19 (31%) pazienti hanno sospeso il CNI, 2/19 (10,5%) l'antimetabolita e 3/19 (16%) entrambi. Si è avuta una riduzione della dose del CNI in 8/19 (42%) pazienti, essa ammontava al 25-49% della dose iniziale in 3/8 pazienti, al 50-74% in altri 3/8, mentre era  $\geq 75\%$  in 2 pazienti.

Il trattamento della PTLD dopo la modifica della terapia immunosoppressiva si è basato sul rituximab in monoterapia in 5/19 pazienti (26%), su rituximab + chemioterapia in 4/19 (21%) e solo sulla chemioterapia in 5/19 (26%) (*Tabella 3*). Due pazienti (10%) sono stati sottoposti a radioterapia (oltre alla riduzione dell'immunosoppressione): una dei due è stata sottoposta a radioterapia pan-encefalica post-rimozione chirurgica della PTLD cerebrale (*Figura 1*); il secondo paziente è stato sottoposto a radioterapia del distretto nasale/seni paranasali. Infine, un paziente è stato sottoposto a resezione chirurgica di un tratto intestinale coinvolto dalla malattia.

## **Outcome delle PTLD**

Nel corso del follow-up l'incidenza di PTLD è stata di 19 casi, pari a 0.17 per 100 persone anno di follow-up (limiti di confidenza del 95%, 95%CI: 0.09-0.25).

Dei 19 pazienti inclusi nello studio, quattro non erano valutabili in quanto 2 erano ancora in trattamento e 2 deceduti entro il primo mese dalla diagnosi. Si è ottenuta una remissione completa (scomparsa della lesione alle metodiche di imaging quali TC, RMN o PET, remissione della sintomatologia e/o delle alterazioni laboratoristiche) in 14/15 pazienti valutabili (93%). Due pazienti hanno presentato una recidiva dopo la remissione completa della malattia: la prima paziente, affetta da malattia di Castleman, ha avuto una recidiva dopo 18 mesi e la seconda paziente, affetta da Linfoma NH B diffuso a grandi cellule a differenziazione linfoplasmocitica dopo 46 mesi.

Tre pazienti sono deceduti a breve distanza dalla diagnosi di PTLD (<7 mesi): di questi, due (#13 e 14 in Tabelle 3) per progressione di malattia e/o tossicità da chemioterapia. Nel terzo paziente (#4 in Tabelle 3-4), la PTLD era stata misdiagnosticata e il paziente era stato trattato per rigetto acuto del graft, mentre la diagnosi vera e propria di PTLD è stata posta all'esame autoptico.

Altri 3 decessi si sono registrati ad una distanza rispettivamente di 100, 47 e 48 mesi dalla diagnosi di PTLD (pazienti #5,7,9 in Tabelle 3); di queste morti, solo una (paziente #9) era potenzialmente legata ad una recidiva della PTLD mentre le restanti due erano secondarie a cause cardiovascolari.

Al termine del follow-up complessivo (mediana dalla diagnosi di PTLD 48 mesi, range 0.5-161), la sopravvivenza globale è stata del 63%. La sopravvivenza dopo il tempo indice

(sviluppo della PTLD nei casi e il corrispondente tempo dal trapianto nei controlli) è risultata significativamente più bassa nei pazienti affetti da PTLD (log-rank test  $p=0.011$ ).

### **Funzione renale del graft prima e dopo il trattamento della PTLD**

Dati relativi a questo paragrafo sono riassunti nella *tabella 2-4*.

Al momento della diagnosi di PTLD la mediana della creatinina nei casi era di 1,15 mg/dL (0,8 – 3).

Nel periodo post-PTLD 4/19 (21 %) pazienti hanno perso il graft per:

- rigetto in 2 pazienti: il primo paziente (#1) ha sviluppato un rigetto cronico mediato da cellule T a distanza di 132 mesi dalla diagnosi di PTLD; il rigetto è stato trattato con 3 boli di Metilprednisolone (MP) ed introduzione del Sirolimus (inibitore mTOR) (il paziente assumeva solo basse dosi di steroide) con rientro in dialisi dopo 22 mesi dalla diagnosi istologica di rigetto. Il secondo paziente (#5) ha sviluppato un rigetto acuto T-cellulare dopo 42 mesi dalla diagnosi di PTLD trattato con 3 boli di MP e rientro in dialisi nell'arco di 16 mesi dalla diagnosi.
- cause non immunologiche in 2 pazienti: il primo (#4) per la sopradescritta misdiagnosi di rigetto acuto, la seconda (#7) per una trombosi arteriosa del rene trapiantato occorsa a 36 mesi dalla diagnosi di PTLD, quando la malattia stessa era in remissione.

Nel follow up post PTLD altri 2 pazienti (# 11, 15) (10%) hanno sviluppato un rigetto acuto.

Nel paziente #11 la biopsia era diagnostica di un rigetto acuto T-cellulare, trattato con 3 boli di MP e buona ripresa della funzionale del rene trapiantato; all'ultimo follow-up, il rene trapiantato è funzionante.

Nella paziente #15, invece, la biopsia mostrava un rigetto acuto T-cellulare con capillarite peri-tubulare e deposizione di C4d (che quindi suggerivano una forma anticorpo-mediata associata alla componente T-cellulare): la paziente è stata trattata con 3 boli di MP associati ad un aumento del dosaggio del MMF e all'introduzione del sirolimus. All'ultimo follow-up, questa paziente ha un rene funzionante.

Tre su 19 pazienti (16%) sono deceduti con graft funzionante (pz # 9, 13 e 14) per cause correlate alla PTLD.

Dieci su 19 casi (53%) non hanno mai sviluppato rigetto e, all'ultimo follow-up, mantengono una buona funzione renale con una mediana di eGFR di 82,88 mL/min (range 21.68-120.76). La mediana del tempo intercorso tra l'insorgenza della PTLD e l'ultimo follow-up/rigetto/morte/perdita del graft è pari a 48 mesi.

Nel periodo successivo al trattamento della PTLD con riduzione dell'immunosoppressione, rituximab e/o chemioterapia o radioterapia, la terapia immunosoppressiva è stata generalmente mantenuta a livelli minimi, ed in particolare:

- 8/19 (42%) pazienti sono stati mantenuti su una duplice terapia immunosoppressiva (7 con steroide + basse dosi di CNI e una con steroide + MMF);
- 8/19 (42%) su monoterapia (7 con steroide e 1 con ciclosporina);
- i restanti 3/18 (16%) sono deceduti, 2 immediatamente dopo la diagnosi (paziente #4 e 14), quindi risultavano non valutabili, e uno a distanza di 7 mesi mentre era in monoterapia steroidea (#13);

### **Confronto della funzione del graft nei casi e nei controlli**

La stima della sopravvivenza del graft non censurata per la morte è riportata nella *figura 4a*. In modo prevedibile la sopravvivenza del graft non censurata per la morte è risultata significativamente più bassa nei casi che nei controlli (lod rank test  $p=0.043$ ). In questa analisi l'evento veniva identificato come perdita del graft con rientro in dialisi ma anche come morte (senza tuttavia discriminare tra morte con graft funzionante e morte con graft non funzionante). Essendo la PTLD stessa gravata da un tasso di mortalità elevato, questa analisi non forniva il reale outcome della funzione renale nei pazienti sopravvissuti alla PTLD.

La *Figura 4b* mostra invece la sopravvivenza del rene trapiantato censurata per la morte nei casi e nei controlli dopo il "tempo indice" (definito nei casi come il momento della diagnosi di PTLD e nei controlli come il corrispettivo tempo di follow up dal trapianto). Questa sopravvivenza è risultata simile nei casi e nei controlli (log rank test  $p=0.69$ ). Da notare che, poiché i controlli erano matchati con i casi per il tempo dal trapianto, al tempo indice sono stati osservati solo 56 controlli in quanto i restanti 20 erano stati persi al tempo indice a causa di una precedente perdita del graft o a causa della morte.

Nella curva presentata, lungo la linea del gruppo delle PTLD si osservano solo due perdite del graft (in opposizione al totale di 4 descritte sopra nel testo). In realtà la terza perdita del graft è occorsa 11 anni dopo la diagnosi di PTLD (oltre, quindi, il tempo riportato nella figura lungo le ascisse) e la quarta, al contrario, è occorsa al tempo 0 della diagnosi, nel paziente che ha ricevuto una diagnosi autoptica di PTLD, per cui morto con rene funzionante.

Dopo un follow up mediano di 48 mesi (range interquartile 14.5-96.5) 12 dei 13 sopravvissuti affetti da PTLD avevano un rene funzionante.

E' stata, di seguito analizzata le variazioni della eGFR nei pazienti che hanno sviluppato PTLD nel corso del follow-up e nei loro controlli. Dall'analisi della *figura 5* si evidenzia nel gruppo di casi un miglioramento dell'eGFR rispetto ai controlli nei primi 7 anni post-trapianto, seguita da una minima tendenza al peggioramento: la mediana del tempo di insorgenza delle PTLD (dal tempo del trapianto) è di 61 mesi, è quindi plausibile che l'apice della curva rappresenti il momento di sviluppo della malattia. L'andamento della eGFR nei controlli è caratterizzato per tutto il follow up da un lento e progressivo peggioramento della funzione renale.

Questo tipo di rappresentazione non ci consente di confrontare la variazione della funzione renale tra casi e controlli allo stesso tempo dal trapianto, in quanto l'insorgenza della PTLD nei casi si distribuisce lungo l'asse delle x da un tempo di 0.1 a 20 anni dal trapianto.

Di conseguenza abbiamo diviso l'andamento della funzione renale prendendo come riferimento il tempo indice e, tenendo conto che non tutti i controlli che sono stati usati per stimare l'andamento della eGFR prima del tempo indice sono risultati osservabili anche dopo il tempo indice (alcuni erano deceduti e altri avevano perso il graft).

La *figura 6a* a mostra l'andamento dell'eGFR precedente il tempo indice sia nei controlli (pannello di sinistra) che nei pazienti con PTLD (pannello di destra) corretto per età, tipo di trapianto (rene, rene-pancreas) e mismatches HLA. E' interessante notare come vi sia un andamento divergente nei casi e nei controlli: nei controlli la variazione media della eGFR era  $-0.62$  mL/min/anno [95%CI: da  $-0.98$  a  $-0.26$ ;  $P=0.001$ ] mentre nei casi si osservava un miglioramento (eGFR  $+ 0.13$  mL/min/anno [95% CI: da  $-0.41$  a  $+0.68$  ;  $P=0.63$ ]). Questa differenza dell'andamento dell'eGFR tra i due gruppi risultava, inoltre, statisticamente significativa ( $p=0.019$ ).

La *figura 6b* mostra l'andamento dell'eGFR dopo il tempo indice sia nei controlli (pannello di sinistra) che nei pazienti con PTLD (pannello di destra) corretto per età, tipo di trapianto (rene, rene-pancreas) e mismatch HLA. Dopo il tempo indice, nei controlli si osservava che la variazione media della eGFR era -0.03 mL/min/anno [95%CI: da +1.65 a +1.71; p=0.97] e nei casi era -1.84 mL/min/anno [95% CI: da -4.48 a +0.79 ; P=0.17.]. Quindi l'eGFR mostra un modesto declino della eGFR nei casi, ma non significativamente differente rispetto a quello osservato nei controlli (p=0.24). Da notare che l'eterogeneità nella variazione della eGFR dopo il tempo indice era maggiore nei casi. Infatti, la proporzione di pazienti con PTLD che aveva dopo il tempo indice un significativo declino o un miglioramento della eGFR era maggiore rispetto a quella osservata nei controlli (*Figura 7a-b*).

Al fine di spiegare l'interessante fenomeno osservato prima del tempo indice, vale a dire la tendenza al miglioramento dell'eGFR nei pazienti che avrebbero sviluppato la PTLD, siamo andati ad analizzare la terapia immunosoppressiva dei casi e dei controlli prima del tempo indice. L'analisi ha riguardato la terapia dei casi e dei controlli nei tre anni precedenti il tempo indice.

Si è osservato che:

- nei pazienti che assumevano ciclosporina (70% dei controlli e 58 % dei casi) i livelli ematici basali medi di ciclosporina durante i tre anni precedenti il “tempo indice” erano più alti nel gruppo PTLD (+ 44 ng/mL; p=0.011);
- nei pazienti che assumevano tacrolimus (30% dei controlli e 42 % dei casi) i livelli ematici basali medi di tacrolimus durante i tre anni precedenti il “tempo indice” erano più alti nel gruppo dei casi di PTLD ma la differenza non era statisticamente significativa (+ 1,1 ng/mL; p=0.21).

Questi dati sembrano in linea con l'idea che una maggiore immunosoppressione nei casi possa predisporre allo sviluppo di una PTLD ma anche prevenire un danno cronico immuno-mediato del rene trapiantato. Di contro, dall'analisi del numero di farmaci immunosoppressori assunti dai casi e dai controlli emerge che la % di pazienti in triplice terapia (CNI + steroide + imTOR/antimetabolita) è risultata maggiore nei controlli (49% vs 31%) anche se la differenza non è significativa ( $p=0.21$ ).

## Discussione

Le PTLD continuano a rappresentare un'importante complicanza del trapianto di organi solidi ed ematopoietici, con un'incidenza variabile a seconda dell'organo trapiantato. Il nostro studio ha analizzato tutti i casi di PTLD verificatisi in pazienti sottoposti a trapianto renale (o di rene-pancreas) presso il nostro centro in un periodo di 27 anni. Sono stati identificati 19 pazienti su 1273 trapianti renali, per un'incidenza di 1.48%, ovvero di 0.17 casi per 100 persone-anno di follow-up. Questi dati sono sovrapponibili a quelli riportati in letteratura, che mostrano un'incidenza delle PTLD dopo trapianto renale compresa tra l'1 ed il 5% [44].

Le caratteristiche e la presentazione clinica delle PTLD nei nostri pazienti sono anch'esse simili a quelle riportate in letteratura: abbiamo infatti osservato un'elevata frequenza di forme extranodali, con coinvolgimento isolato del graft nell'11% casi. La maggior parte dei pazienti si è presentata con sintomi non-specifici quali sintomi costituzionali (febbre, anoressia, calo ponderale), ed una quota significativa con isolate linfadenomegalie. Infine, il quadro istologico era nella maggior parte dei casi monomorfo, con predominanza di linfomi B-cellulari diffusi a grandi cellule, positivi per EBV all'immunoistochimica nel 69% dei casi testati. A differenza di quanto descritto in letteratura, solo una quota minoritaria di pazienti (11%) ha sviluppato la malattia entro il primo anno dal trapianto, mentre la maggior parte ha mostrato una comparsa tardiva della PTLD. I pazienti sono stati trattati secondo i più consolidati schemi terapeutici, che vedevano una significativa riduzione della terapia immunosoppressiva associata nella maggior parte dei casi all'utilizzo di terapia B-depletante con rituximab (nei casi CD20+) associata o meno alla chemioterapia secondo gli schemi più utilizzati, CHOP o ABVD.

Anche nella nostra serie di pazienti la PTLD si è dimostrata essere una complicanza gravata da significativa mortalità: 3/19 pazienti sono infatti deceduti precocemente per cause legate

alla malattia e/o alla chemioterapia, mentre altri 3 sono deceduti entro il nono anno dalla diagnosi della PTLD, e di questi una per cause legate ad una recidiva della PTLD. Nel complesso, dopo un follow-up mediano dalla diagnosi di PTLD di 48 mesi (range 0.5-175), la mortalità risultava del 37%; questo tasso di mortalità coincideva con la mortalità a 5 e 10 anni, che invece risultava rispettivamente di 45% e 55% nel più ampio studio retrospettivo condotto da un gruppo multicentrico francese su pazienti con trapianto renale [37,45,46].

Uno degli aspetti cruciali nella gestione dei pazienti con trapianto renale che sviluppano PTLD è legato alla riduzione della terapia immunosoppressiva, che è attuata nella maggior parte dei casi come primo intervento terapeutico. La riduzione dell'immunosoppressione espone al rischio di rigetto del rene trapiantato, che si può esprimere come rigetto acuto o come rigetto cronico. Pochi sono gli studi finora pubblicati che abbiano valutato l'andamento della funzione renale dopo una PTLD. L'incidenza di rigetto (acuto e/o cronico) conseguente alla riduzione dell'immunosoppressione è stimata intorno al 40% [31, 38]: alcuni di questi rigetti, in particolare i rigetti acuti, sono trattati efficacemente con ripresa della terapia immunosoppressiva (che ovviamente può comportare un aumentato rischio di recidiva della PTLD), altri invece conducono all'insufficienza renale terminale. I rigetti cronici esitano invece quasi inesorabilmente nell'insufficienza renale terminale.

Nel nostro studio, 4 dei 19 pazienti inclusi (21%) sviluppavano un rigetto; se si escludono, come considerato da altri autori [63], i 3 pazienti deceduti precocemente dopo la diagnosi di PTLD, l'incidenza di rigetti risulta pari al 25% (4/16). Tre pazienti avevano sviluppato un rigetto acuto ed uno un rigetto cronico; solo in due di questi 4 casi il rigetto aveva determinato una progressione verso l'insufficienza renale terminale.

Per meglio comprendere quale fosse l'impatto della PTLD e/o del suo trattamento sulla funzionalità del rene trapiantato, abbiamo valutato l'andamento dell'eGFR nei 19 pazienti con

PTLD ed in 76 pazienti di controllo (con trapianto renale o rene-pancreas) appaiati per diverse caratteristiche, quali età, sesso, data del trapianto, tipo di trapianto (rene vs rene-pancreas) e tipo di donatore (vivente vs deceduto). Questo tipo di approccio è stato utilizzato anche in un precedente studio condotto da Trappe del 2009, che ha incluso 58 pazienti con PTLD post-trapianto renale e 610 controlli [39]; lo studio tedesco aveva concluso che i pazienti con PTLD trattati con riduzione dell'immunosoppressione + chemioterapia (associata o meno all'uso di rituximab) avevano nel follow-up una funzione del graft non inferiore a quella dei controlli, dato che poteva essere spiegato da un effetto "compensatorio" della chemioterapia ( $\pm$  rituximab) alla riduzione dell'immunosoppressione. Questo studio, però, riportava i dati relativi ad un follow-up non superiore a 15 mesi (dalla diagnosi di PTLD/inizio trattamento), mentre il nostro lavoro riporta tutto il follow-up disponibile, con una mediana di 48 mesi ed un range di 0.5-175 mesi. I risultati del nostro studio, che per la prima volta confronta l'outcome renale a lungo termine in pazienti affetti da PTLD e controlli matchati, mostrano come la sopravvivenza del graft censurata per la morte sia simile nei casi e nei controlli, mettendo in evidenza come i pazienti affetti da PTLD, non presentano una significativa perdita o disfunzione del graft a lungo termine. La valutazione dell'outcome renale a lungo termine è di considerevole importanza, perché può fornire informazioni sulla gestione e sul monitoraggio di questi pazienti che, in molti casi, ottengono una remissione completa della PTLD e sopravvivono a lungo.

Considerando il periodo compreso tra il momento del trapianto ed il "tempo indice" (rappresentato dalla PTLD nei casi e da un corrispettivo tempo nei controlli), si è osservato un differente trend dell'eGFR, che mostrava un modesto declino nel tempo nel gruppo dei controlli ed un graduale incremento nei casi; la differenza tra questi due andamenti divergenti dell'eGRF era statisticamente significativa. E' difficile interpretare le basi fisiopatologiche di

questo dato, ed in particolare della tendenza al miglioramento della funzione renale (incremento dell'eGFR) nel periodo "pre-PTLD", ma si può speculare che questo sia legato ad uno stato di intensa immunodepressione che, se da un lato predispone allo sviluppo di una patologia tipicamente "opportunistica" come la PTLD [44], dall'altro può proteggere da un danno immuno-mediato a carico del rene trapiantato. Questo dato andrà, comunque, confermato su una casistica più ampia.

Nel periodo successivo al "tempo indice" (post-PTLD nei casi), vi era un declino dell'eGFR sia nei casi che nei controlli, e questo appariva più accentuato nel gruppo dei casi, anche se questa differenza non era statisticamente significativa. Questo dato potrebbe sembrare atteso e biologicamente plausibile, visto che pressoché tutti i nostri pazienti erano andati incontro ad una significativa riduzione dell'immunosoppressione, e quindi ad un possibile conseguente deterioramento "immuno-mediato" della funzione del graft. In realtà, solo l'analisi su una casistica più ampia (questo studio verrà a breve esteso ad altri centri italiani per il reclutamento di ulteriori casi e controlli) potrà definire se questa differenza nel declino dell'eGFR post-PTLD è statisticamente significativa.

Oltre a questo, a nostro avviso è comunque sorprendente osservare come una significativa quota di pazienti con PTLD mantenga una stabile funzione del rene trapiantato a diversi anni di distanza dalla diagnosi di PTLD ed in presenza di una terapia immunosoppressiva "minima" (frequentemente basata solo sull'uso di glucocorticoidi a basse dosi o su glucocorticoidi+ basse dosi di CNI). Nella nostra serie, infatti, più di due terzi dei pazienti sopravvissuti dopo il primo anno dalla PTLD avevano, all'ultimo follow-up, un rene funzionante in presenza di una minima immunosoppressione (12/13 pazienti sopravvissuti alla PTLD dopo una mediana di follow up di 48 mesi). Questo fenomeno è definito come "tolleranza" verso il graft. Secondo le definizioni più appropriate, lo stato di tolleranza verso

un trapianto è quella condizione in cui vi sia un trapianto ben funzionante senza segni istologici di rigetto, in assenza di terapia immunosoppressiva ed in un ospite immunocompetente [47]. Questo concetto è anche definito nella letteratura anglo-sassone come “operational tolerance”. E’ altresì noto che alcuni portatori di trapianto possano sviluppare tolleranza in presenza di una minima immunosoppressione, fenomeno che va sotto il nome di “prope tolerance”[47]. La prope tolerance è quanto quindi osserviamo anche in pazienti con PTLD che, dopo minimizzazione dell’immunosoppressione, mantengono una stabile funzione renale a lungo termine. Il nostro studio dimostra quindi che questo fenomeno non è inusuale dopo il trattamento di una PTLD.

Analizzare le basi fisiopatologiche di questo tipo di tolleranza va al di là degli scopi di questo lavoro ma rappresenta un futuro approfondimento di questo studio. Si possono ipotizzare alcuni meccanismi. E’ noto che alcuni pazienti sono più sensibili di altri alle terapie immunosoppressive, e che sviluppano quindi più facilmente complicanze opportunistiche quali infezioni o neoplasie. Questo può essere il caso dei pazienti che sviluppano PTLD. E’ quindi ipotizzabile che la riduzione della terapia immunosoppressiva operata alla diagnosi di PTLD riporti il paziente ad uno stato di “giusta” immunodepressione o di prope tolerance. Evidenze da studi genetici dimostrano come i pazienti con PTLD EBV-correlata post-trapianto renale presentino più frequentemente polimorfismi singolo nucleotide di geni che codificano per citochine immunomodulanti come IL-10 e TGF-beta [48].

Come sopra accennato, altri autori hanno invece postulato che, nei pazienti con PTLD post-trapianto renale, la riduzione dell’immunosoppressione sia compensata dall’effetto immunosoppressivo della chemioterapia e/o del rituximab, e che questo consenta una certa preservazione della funzionalità renale [39]. Questa spiegazione sembra plausibile, ma è

difficile immaginare come l'effetto della chemioterapia possa protrarsi per diversi anni e quindi rendere possibile una prope tolerance nel lungo termine.

Infine, è stato anche ipotizzato che possa essere la stessa malattia linfoproliferativa a costituire una "sorgente" di immunodepressione attraverso il rilascio di mediatori solubili quali citochine immunoregolatrici, ma questa resta un'ipotesi da validare.

Qualsiasi sia la sua base fisiopatologica, la prope tolerance post-PTLD in pazienti con trapianto renale è un fenomeno di estremo interesse scientifico perché potrebbe contribuire a farci comprendere le basi della tolleranza in generale e consentirci quindi di minimizzare, ove possibile, la terapia immunosoppressiva dei portatori di trapianto renale.

In conclusione, le PTLD possono essere complicanze severe del trapianto renale, gravate da una significativa mortalità. Nonostante la loro terapia comporti in genere una riduzione dell'immunosoppressione che può quindi esporre ad un rischio di rigetto dell'organo trapiantato, l'outcome renale dei pazienti che sopravvivono alla malattia è frequentemente buono, e molti di essi sviluppano una duratura prope tolerance, mantenendo nel tempo una stabile funzionalità renale in presenza di una minima terapia immunosoppressiva.

## Bibliografia

---

- [1] Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med.* 1999; 341: 1725- 1730.
- [2] Opelz G, Dohler B. Influence of time of rejection on long-term graft survival in renal transplantation. *Transplantation.* 2008;85: 661-666
- [3] Cavaliere R, Petron G, Lopes M B, et Al. Primary Central Nervous System Post-Transplantation Lymphoproliferative Disorder An International Primary Central Nervous System Lymphoma Collaborative Group Report. *Cancer.* 2010; 116: 863-70
- [4] Doak PB, Montgomerie JZ, North JD et al. Recticulum cell sarcoma after renal homotransplantation and azathioprine and prednisone therapy. *Br Med J.* 1968; 4: 746-8.
- [5] Starzl TE, Nalesnik MA, Porter KA, et al. Reversibility of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporine-steroid therapy. *Lancet.* 1984; 1: 583-587.
- [6] Jagadeesh D, Woda BA, Draper J, Evens AM. Current Treatment Options in Oncology (2012) 13:122–136
- [7] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissue, Lyon, France: IARC, 2008; 342-349.
- [8] Nelson BP, Nalesnik MA, Bahler DW et al. Epstein-Barr virus negative post-transplant lymphoproliferative disorders. A distinct entity? *Am J Surg Pathol.* 2000; 24: 375-85.
- [9] Leblond V, Davi F, Charolette F. et al. Post-Transplant lymphoproliferative disorders not associated with EBV: a distinct entity? *J Clin Oncol.* 1998; 16: 2052-9.
- [10] Evens AM, Roy R Sterrenberg D, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorders: diagnosis, prognosis and current approaches to therapy. *Curr Oncol Rep.* 2010; 12:383-94.
- [11] Opelz G, Dogler B. Lymphomas after solid organ transplantation: a collaborative transplant study report. *Am J Transplant.* 2004; 4: 222-230.
- [12] Opelz G, Henderson R. Incidence of non-Hodgkin lymphoma in kidney and heart transplant recipientis. *Lancet.* 1993; 394: 1514-6.
- [13] Caillard S, Lelong C, Pessione F, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorders occurring after renal transplantation in adults: report of 230 cases from the French Registry. *Am J Transplant.* 2006; 6: 2735-42.
- [14] Cockfield SM. Identifying the patient at risk for post-transplant lymphoproliferative disorder. *Transpl Infect Dis.* 2001; 3:70-8.
- [15] Caillard S., Dharnidharka V., Agodoa L, et al. Posttransplant lymphoproliferative disorders after renal transplantation in the United States in Era of Modern Immunosuppression. *Transplantation.*

2005; 80: 1233-1243.

- [16] Cherikh WS, Kauffman HM, McBride MA, et al. Association of the type of induction immunosuppression with PTLD, graft survival, and patient survival after primary kidney transplantation. *Transplantation*. 2003; 76: 1289-1293.
- [17] Bustami RT, Ojo AO, Wolfe RA, et al. Immunosuppression and the risk of post-transplant malignancy among cadaveric first kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2004; 4: 87-93.
- [18] Maluccio M, Sharma V, Lagman M, et al. Tacrolimus enhance transforming growth factor-beta1 expression and promotes tumor progression. *Transplantation*. 2003; 76:597-602.
- [19] Smith SM, van Besien K, Karrison T, et al. Temsirolimus has activity in non-mantle cell non-Hodgkin's lymphoma subtypes: The University of Chicago phase II consortium. *J Clin Oncol*. 2010; 28:4740-4746.
- [20] Evens AM, Roy R, Sterrenberg D, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorders: diagnosis, prognosis and current approaches to therapy. *Curr Oncol Rep*. 2010; 12:383-94.
- [21] Loren AW, Porter DL, Stdmauer EA, et al. Post-transplantation lymphoproliferative disorder: a review. *Bone Marrow Transplant*. 2003; 31:145-55.
- [22] Sherritt MA, Bharadwaj M, Burrows JM, et al. Reconstitution of the latent T-lymphocyte response to Epstein-Barr virus is coincident with long-term recovery from posttransplant lymphoma after adoptive immunotherapy. *Transplantation*. 2003; 75: 1556-1560.
- [23] Sebelin-Wulf K, Nguyen TD, Oertel S, et al. Quantitative analysis of EBV-specific CD4/CD8 T cell numbers, absolute CD4/CD8 T cell numbers and EBV load in solid organ transplant recipients with PTLD. *Transplant Immunology*. 2007; 17:203-210.
- [24] Kremers WK, Devarbhavi HC, Wiesner RH, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorders following liver transplantation: incidence, risk factors and survival. *Am J Transpl*. 2006; 6: 1017-1024.
- [25] Sampaio MS, Cho YW, Shah T, et al. Impact of Epstein-Barr virus donor and recipient serostatus on the incidence of PTLD in kidney transplant recipients. *Nephrology Dialysis Transpl*. 2012; 0: 1-8.
- [26] JP Nourse, K. Jones, MK Gandhi. Epstein-Barr Virus-Related PTLD: pathogenetic insights for targeted therapy. *Am J Transplant*. 2011; 11: 888-895.
- [27] Ho M, Ho M, Miller G, Archison <RW, et al. Epstein-Barr virus infections and DNA hybridisation studies in posttransplantation lymphoma and lymphoproliferative lesions: The role of primary infection. *J Infect Dis*. 1985; 152: 876 – 886.
- [28] Trappe R, Oertel S, Leblond V, et al. Sequential treatment with rituximab followed by CHOP chemotherapy in adult B-cell post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD): the prospective

- international multicentre phase 2 PTLD-1 trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13:196-206.
- [29] Trofe J, Buell JF, Beebe TM, et al. Analysis of factors that influence survival with PTLD in renal transplant recipients: the Israel Penn International Transplant Tumor Registry experience. *Am J Transplant.* 2005; 5: 775-780.
- [30] Birkeland SA. Chronic antigenic stimulation from the graft as a possible oncogenic factor after renal transplantation. *Scan J Urol Nephrol.* 1983; 17: 355-359.
- [31] Tsai DE, Hardy CL, Tomaszewski JE et al. Reduction in immunosuppression as initial therapy for posttransplant lymphoproliferative disorder: analysis in prognostic variables and long-term follow-up of 42 adult patients. *Transplantation.* 2001; 71;1076-1088.
- [32] Reshef R, Vardhanabhuti S, Luskin MR, et al. Reduction of Immunosuppression as initial therapy for posttransplant lymphoproliferative disorder. *Am J Transplant* 2011; 11:336-347.
- [33] Oertel SH, Verschuuren E, Reinke P et al. Effect of anti-CD20 antibody rituximab in patients with post-transplant lymphoproliferative disorder. *Am J Transplant* 2005; 5:2901-2906.
- [34] Choquet S, LeBlont V, Herbrecht R et al. Efficacy and safety of Rituximab in patients with post-transplant lymphoproliferative disorders- results of a prospective multicentre phase II study. *Blood.* 2006; 107; 3053-3057.
- [35] Gonzalez-Barca E, Domingo-Domenech E, Capote FJ et al. Prospective phase II trial of extended treatment with rituximab in patients with B-cell post-transplant lymphoproliferative disease. *Haematologica.* 2007; 92:1489-1494.
- [36] Choquet S, Oertel S, LeBlond V et al. Rituximab in the management of post-transplantation lymphoproliferative disorder after solid organ transplantation: proceed with caution. *Ann Hematol.* 2007; 86;599-607.
- [37] Caillard S, Porcher R, Provot F, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorder after kidney transplantation: report of a nationwide French registry and the development of a new prognostic score. *J Clin Oncol.* 2013; 31: 1302 – 1309.
- [38] Swinnen LJ, LeBlanc M, Grogan TM, et al. Prospective study of sequential reduction in immunosuppression, interferon alpha-2B, and chemotherapy for posttransplant lymphoproliferative disorder. *Transplantation.* 2008; 86: 215-222.
- [39] Trappe R, Hinrichs C, Appel U, et al. Treatment of PTLD with Rituximab and CHOP reduces the risk of renal graft impairment after Reduction of Immunosuppression. *Am J Transplant* 2009; 9:2331-2337.
- [40] Serre JE, Michonneau D, Bachy E et al. Maintaining calcineurin inhibition after the diagnosis of post-transplant lymphoproliferative disorder improves renal graft survival. *Kidney Int* 2014 Jan;85(1):182-90.

- [41] Brouard S, Pallier A, Renaudin K, et al. The natural history of clinical operational tolerance after kidney transplantation through twenty-seven cases. *Am J Transplant* 2012; 12: 3296-3307.
- [42] . Roussey-Kesler G, Giral M, Moreau A, et al. Clinical operational tolerance after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6: 736-746.
- [43] Ashton-Chess J, Giral M, Souillou JP, et al. Can immune monitoring help to minimize immunosuppression in kidney transplantation? *Transplant Int.* 2009; 22:110-119.
- [44] Morgans AK, Rshaf R, Tsai DE. Posttransplant lymphoproliferative disorder following kidneytransplant. *Am J Kidney Dis.* 2010; 55:168-80.
- [45] Faull RJ, Hollett P, McDonald SP, et al. Lymphoproliferative disease after renal transplantation in Australia and New Zealand. *Transplantation.* 2005; 80:193-197.
- [46] Morton M, Coupes B, Roberts SA, et al. Epidemiology of posttransplant lymphoproliferative disorder in adult renal transplant recipient. *Transplantation.* 2013; 95:470-478.
- [47] Ashton-Chess J, Giral M, Brouard S, Souillou JP. Spontaneous operational tolerance after immunosuppressive drug withdrawal in clinical renal allotransplantation. *Transplantation.* 2007; 84:1215-1219.
- [48] Babel N, Vergopoulos A, Trappe RU, et al. Evidence for genetic susceptibility towards development of post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ recipients. *Transplantation.* 2007; 84:387-391.
-

## Tabelle

**Tabella 1: Caratteristiche demografiche e cliniche al momento del trapianto**

Parametri valutati	PTLD n = 19	pazienti senza PTLT n = 76	p
Sesso, n (%)			1.00
F	6 (32)	24 (31)	
M	13 (68)	52 (69)	
Età al momento del trapianto, n (%)			0.952
18-32	6 (32)	24 (31)	
33-46	5 (26)	28 (38)	
47-61	8 (42)	24 (31)	
Nefropatia di base, n (%)			
ADPKD	3 (16)	6 (8)	
Diabete	3 (16)	6 (8)	
Glomerulonefriti	9 (47)	29 (38)	
nefropatie da tossici	1 (5)	0 (0)	
nefropatie malformative	2 (11)	8 (10)	
pielonefriti, malattie interstiziali	1 (5)	10 (13)	
malattia vascolare	0	3 (4)	
non disponibile	0	14 (18)	
Fattori di rischio cardiovascolari, n (%)			
Ipertensione	15 (79)	46 (61)	
Fumo	4 (21)	22 (29)	
Cardiopatìa	3 (16)	0 (0)	
Caratteristiche del donatore, n (%)			
Cadavere	19 (100)	76 (100)	1.00
Vivente	0 (0)	0 (0)	
Età del donatore (mediana, range)	21 (15 - 64)	40 (15 - 74)	0.08
Sesso del donatore, n (%)			0.44
M	12 (63)	38 (50)	
F	7 (37)	37 (49)	
non disponibile		1 (1)	
Causa di morte, n (%)			
traumatica	12 (63)	29 (38)	0.033
cerebrovascolare	5 (26)	39 (51)	0.07
altro	2 (11)	6 (8)	1.00
non disponibile		2 (3)	
stato sierologico CMV deo donatore, n (%)			
positivo	12 (63)	38 (51)	1.00
negativo	0	2 (2)	
non disponibile	7 (37)	36 (47)	
Tipo di organo trapiantato, n (%)			1.00
rene singolo	17 (90)	69 (91)	
rene-pancreas	2 (10)	7 (9)	
Picco PRA % (mediana, range)	0 (0 - 80)	0 (0 - 100)	0.73
Tempo (min) di ischemia fredda (mediana, range)	674 (360 - 1530)	1020 (295 - 1930)	0.09
non disponibile, n (%)	4 (21)	13 (17)	

Stato sierologico del ricevente, n (%)			
CMV+	13 (68)	57 (75)	0.36
CMV -	6 (32)	15 (20)	
non disponibile	0	4 (5)	
EBV +	12 (63)	31 (41)	0.77
EBV-	4 (21)	16 (21)	
non disponibile	3 (16)	29 (38)	
storia di trasfusioni	6 (31)	15 (20)	0.77
non disponibile		14 (18)	
Numero di mismatches HLA (%)			
0-2	4 (21)	14 (19)	1.00
3-4	12 (63)	48 (63)	0.59
5-6	3 (16)	7 (9)	0.45
non disponibile	0	7 (9)	0.34
Terapia immunosoppressiva, n (%)			
Induzione	9 (47)	33(43)	
ATG o OKT3	5 (26)	10 (13)	0.29
Anti IL-2R	4 (21)	21 (28)	0.57
linfoglobuline	0	2 (3)	1.00
non eseguita	10 (53)	39 (51)	
non disponibile		4 (5)	0.79
CNI			
Ciclosporina	11 (58)	55 (72)	0.15
Tacrolimus	8 (42)	18 (24)	0.16
non disponibile	0	3 (4)	
Azatioprina	4 (21)	15 (20)	0.55
MMF	5 (26)	16 (21)	0.76
Steroidi	18 (95)	68 (89)	1.00
Inibitori m-TOR	2 (10)	7 (9)	1.00
Farmaci in associazione			
Ciclosporina + Azatioprina	2 (10)	12 (16)	0.28
Ciclosporina + MMF	1 (5)	5 (7)	1.00
Ciclosporina + Rapamicina	1 (5)	6 (8)	1.00
Tacrolimus + Azatioprina	2 (10)	4 (5)	0.65
Tacrolimus + MMF	4 (21)	10 (14)	1.00
Tacrolimus + Rapamicina	1 (5)	1 (1)	0.47

**Tabella 2: Caratteristiche PTLD**

	<b>PTLD n = 19</b>
Terapia immunosoppressiva alla diagnosi n (%)	
CNI	
Ciclosporina	11 (58)
Tacrolimus	8 (42)
Antimetaboliti	7 (38)
Azatioprina	3 (16)
MMF	4 (21)
Steroidi	13 (68)
i-mTOR	0
Tempo trascorso dal trapianto n (%)	
Early onset PTLD (< 12 mesi)	2 (11)
Late onset PTLD (> 12 mesi)	17 (89)
Sintomi e segni di esordio n (%)	
modificazioni della crasi ematica	6 (31)
gammopatia mono/policonale	3 (16)
cafalea	1 (5)
sintomi sistemici	9 (47)
linfadenomegalia	8 (42)
tumefazioni cutanee	1 (5)
sintomi gastrointestinali	3 (16)
disfunzione del graft	3 (16)
Sedi coinvolte, n (%)	
Graft	2 (11)
Fegato	1 (5)
ORL	1 (5)
Cute	1 (5)
Linfonodi (solo)	9 (47)
Organi ematopoietici	4 (21)
Sistema GI	2 (10)
SNC	1 (5)
Forma localizzata	15 (79)
Forma disseminata	4 (21)
Dati di laboratorio n (%)	
LDH > 480 UI/L	7 (38)
non noto	5 (68)
creatininemia (mediana,range)	1,15 (0,8 - 3)
Istologia n (%)	
Linfoma Polimorfo	1 (5)
Linfoma Monomorfo	
cellule B	15 (85)
L. diffuso a grandi cellule	12 (63)
Linfoma di Burkitt	1 (5)
Malattia di Castleman	1 (5)
Plasmacitoma	0
cellule T	1 (5)
Linfoma di Hodgkin	

---

variante a cellularità mista	0
variante classica a sclerosi nodulare	2 (10)
Positività istologica per EBV	8 (42)
non noto	6 (31)

**Tabella 3: Caratteristiche e trattamento delle PTLD**

<b>pz</b>	<b>Sesso/ Età alla PTLD</b>	<b>Δt Tx- PTLD (mesi)</b>	<b>Manifestazioni cliniche e laboratoristiche</b>	<b>Sedi coinvolte</b>	<b>Istologia</b>	<b>Stato EBV</b>	<b>Trattamento</b>	<b>Outcome PTLD</b>	<b>Sopravvi- venza (mesi)</b>
<b>1</b>	M/ 35	152	Inversione di formula, grave anemia, splenomegalia	Midollo osseo(MO)	ML a T large granular lymphocytes CD3+, γδ+	Non noto	⊗ Cya + Ciclofosfamide + MTX	Complete remissione	161 (vivente)
<b>2</b>	M/ 22	47	Linfoadenomegalia sottomandibolare e laterocervicale, epatopatia e splenomegalia	linfonodo	Linfoma di Hodgkin variante classica, scleronodulare	pos	↓ Cya 6 cicli ABVD	Completa remissione	133 (vivente)
<b>3</b>	F/ 25	4	Trombocitopenia, febbre, linfoadenomegalia latero-cervicale	Fegato + linfonodi	Linfoma NH B diffuso a grandi cellule (DLBCL)	pos	↓ Cya e MP, Ganciclovir, 4 somm Rituximab	Completa remissione	125 (vivente)
<b>4</b>	M/ 49	1	Diarrea, dolore al graft, compromissione funzione renale	Rene Tx	DLBCL	Non noto		Perdita del graft	0,5 (deceduto)
<b>5</b>	M/ 67	61	Anemia progressiva	intestino	DLBCL	Non noto	Resezione chir, ⊗ Tac, 6 cicli di R-CHOP	Completa remissione	100 (deceduto)
<b>6</b>	M/ 26	119	Febbre, ARDS, anemia, trombocitopenia, deficit coagulativo, iperbilirubinemia	Rene Tx + MO	DLBCL	pos	⊗ Cya e AZA, ↑ MP, Aciclovir, R-CHOP 6 cicli ( ½ dose)	Completa remissione	93 (vivente)

<b>7</b>	F/ 35	47	Linfoadenomegalie laterocervicali e occipitali multiple, paralisi di Bell	Linfonodi multipli	DLBCL a differenziazione di Linfoma di Burkitt atipico	pos	⊗ MMF e Cya, ↓MP 6 cicli di R-CEOP	Completa remissione	56 (deceduto)
<b>8</b>	M/ 40	148	Linfoadenomegalia sottomandibolare	Linfonodi multipli	Linfoma di Hodgkin, variante classica scleronodulare	Non noto	↓Cya 1 e ½ ciclo di ABVD	Completa remissione	75 (vivente)
<b>9</b>	F/ 68	126	Linfoadenomegalie multiple, gammopatia policlonale, st generali, peggioramento funzione renale	Linfonodi multipli	PTLD in malattia di Castleman multicentrica HHV8+	pos	⊗ Tac, ganciclovir, 4 somm di Rituximab,	Remissione e recidiva	48 (deceduto)
<b>10</b>	F/ 40	153	Cefalea persistente	SNC	DLBCL	pos	Resezione chir, ⊗ Cya, Radioterapia	Completa remissione	64 (vivente)
<b>11</b>	M/ 62	142	Linfoadenomegalia sottomandibolare	Linfonodi multipli	DLBCL marginale a differenziazione plasmacellulare	neg	↓ Cya, 4 somm Rituximab	Completa remissione	64 (vivente)
<b>12</b>	M/ 38	48	Febbre, linfoadenomegalia laterocervicale	Linfonodi multipli	Iperplasia linfoide (early lesion)	pos	⊗ MMF e ↓ Tac	Completa remissione	49 (vivente)
<b>13</b>	M/ 59	53	Calo ponderale, febbre, sudorazione notturna, dolore toracico, piastrinopenia	Linfonodi+ cieco+ MO	DLBCL	neg	⊗ Tac e MMF, ↑MP, valganciclovir, 4 somm di Rituximab,	Mancata remissione	7 (deceduto)

							2 cicli di CHOP, MTX, citarabina e MP intratecale		
<b>14</b>	M/ 65	216	Severa ipoalbuminemia, gammopatia policlonale, dolore addominale e febbre	Linfonodi addominali	DLBCL	Non noto	1 ciclo di CHOP	Mancata remissione	0,5 (deceduto)
<b>15</b>	F/ 52	21	Tumefazione cutanea parasternale/mammaria	cute	DLBCL	neg	⊗Tac, ↑MMF e MP 4 somm di Rituximab	Completa remissione	36 (vivente)
<b>16</b>	M/ 65	248	Neoformazione vestibolo nasale sin	ORL	Linfoma plasmoblastico	pos	↓ Cya, Radioterapia (dose tot 26 Gy)	Completa remissione	24 (vivente)
<b>17</b>	M/ 48	146	Gammopatia monoclonale IgM/k	MO	Linfoma monomorfo (istologia non disponibile)	neg	↓Tac	Non valutabile perché in terapia	8 (vivente)
<b>18</b>	M/ 46	60	Diarrea persistente, dolore e massa addominale palpabile	Linfonodi addominali	DLBCL	pos	⊗AZA, ↓Tac Rituximab 3 somm	Non valutabile perché in terapia	1 (vivente)
<b>19</b>	F/51	52	Febbre, linfadenopatia laterocervicale, calo ponderale.	Linfonodi laterocervicali	DLBCL a differenziazione linfoplasmocitica	Non noto	⊗Cya, 6 cicli di CHOP	Completa Remissione ; successiva recidiva anch'essa seguita da completa remissione.	175 (vivente)

**Tabella 4: Outcome renale dei pazienti che hanno sviluppato una PTLD**

<b>pz</b>	<b>Sesso/ Età alla PTLD</b>	<b>eGFR pre PTLD</b>	<b>eGFR PTLD</b>	<b>eGFR ultimo f-up</b>	<b>Terapia ultimo f-up</b>	<b>Outcome renale</b>	<b>Δt PTLD- rigetto/ dialisi</b>	<b>Δt PTLD- ultimo f-up</b>
<b>1</b>	M/ 35	98,14 mL/min	89,74 mL/min	dialisi	MP 4 mg	Rigetto cronico → dialisi	132 mesi	161 mesi
<b>2</b>	M/ 22	89,74 mL/min	88,57 mL/min	114 mL/min	Cya 25mg x 2 PDN 7,5	Rene funzionante		133 mesi
<b>3</b>	F/ 25	66,3 mL/min	74,05 mL/min	113,31 mL/min	Cya 50+60mg MP 6 mg	Rene funzionante		125 mesi
<b>4</b>	M/ 49	27,08 mL/min	14,46 mL/min	espianto	MP 10 mg	Espianto	0,5 mesi	0.5 mesi
<b>5</b>	M/ 67	56,93 mL/min	46,25 mL/min	dialisi	PDN 15 mg	Rigetto acuto → rene non funzionante	42 mesi	100 mesi
<b>6</b>	M/ 26	69,87 mL/min	41,84 mL/min	54,28 mL/min	PDN 10 mg	Rene funzionante		93 mesi
<b>7</b>	F/ 35	65,2 mL/min	71,04 mL/min	40,83 mL/min	MP 8 mg	Trombosi renale → dialisi	36 mesi	56 mesi
<b>8</b>	M/ 40	91,81 mL/min	94,69 mL/min	120,76 mL/min	Cya 25 mg	Rene funzionante		75 mesi
<b>9</b>	F/ 68	47,22 mL/min	42 mg/dL	42,97 mL/min	MP 4 mg	Rene funzionante		48 mesi

<b>10</b>	F/ 40	65,34 mL/min	25 mL/min	21,68 mL/min	PDN 7,5	Rene funzionante	64 mesi
<b>11</b>	M/ 62	62,84 mL/min	65 mL/min	34,07 mL/min	Cya 25mg x2 MP 4 mg	Rigetto acuto → rene funzionante	64 mesi
<b>12</b>	M/ 38	77,02 mL/min	90,15 mL/min	90,62 mL/min	Tac 1+1 mg PDN 5 mg	Rene funzionante	49 mesi
<b>13</b>	M/ 59	70,09 mL/min	53,08 mL/min	93,51 mL/min	PDN 25 mg	Rene funzionante	7 mesi
<b>14</b>	M/ 65	70,53 mL/min	69,60 mL/min	15,41 mL/min	Non disponibile	Rene funzionante	0,5 mesi
<b>15</b>	F/ 52	90,20 mL/min	92,91 mL/min	20,14 mL/min	Tac 1,5mg x2 PDN 7 mg MMF 500mg	Rigetto acuto → rene funzionante	36 mesi
<b>16</b>	M/ 65	67,17 mL/min	59,89 mL/min	70,97 mL/min	Cya 50mg x2 MP 4	Rene funzionante	24 mesi
<b>17</b>	M/ 48	66,93 mL/min	89,44 mL/min	98,58 mL/min	Tac 1,5mg x2 MP 4mg	Rene funzionante	8 mesi
<b>18</b>	M/ 46	48,89 mL/min	52,22 mL/min	62,77 mL/min	Tac 1,5+1 mg MP 4 mg	Rene funzionante	1 mesi
<b>19</b>	F/ 51	60 mL/min	47,14 mL/min	75,15 mL/min	PDN 7,5 mg	Rene Funzionante	175 mesi

## Abbreviazioni utilizzate nelle tabelle

---

**Tabella 1:** ADPKD= malattia policistica del rene autosomica dominante; PRA= panel reactive antibodies; CMV= Citomegalovirus; EBV= Epstein-Barr virus; HLA= complesso maggiore di istocompatibilità; ATG =Anticorpi anti-timociti; OKT3= muromonab CD3; MMF= Micofenolato Mofetil; m-TOR= mammalian target of Rapamycin.

**Tabella 2:** CNI = inibitori della calcineurina; ORL = apparato Otorinolaringoiatrico; sistema GI = sistema gastrointestinale; SNC = sistema nervoso centrale; LDH = Lattato deidrogenasi; EBV= Epstein-Barr virus; MMF= Micofenolato Mofetil;

**Tabella 3:** pz = paziente;  $\Delta t$  Tx-PTLD = tempo intercorrente tra il trapianto e la PTLT; EBV = Epstein-Barr virus; M = maschio; F = femmina; ML = malattia linfoproliferativa; MO = Midollo Osseo;  $\oslash$  = sospensione;  $\downarrow$  = riduzione;  $\uparrow$  = aumento; MTX = Methotrexate; Cya = Ciclosporina A; ABVD = Adriamicina, Bleomicina, Vinblastina, Dacarbazina; MP = Metilprednisolone; NH = non-Hodgkin; DBCL = Linfoma diffuso a grandi cellule B; somm = somministrazioni; rene Tx = rene trapiantato; Tac = Tacrolimus; R – CHOP = Rituximab, Ciclofosfamide, Doxorubicina, Vincristina, Prednisone; ARDS = sindrome da distress respiratorio acuto; CEOP = Ciclofosfamide, Epirubicina, Vincristina, Prednisone; HHV8 = Herpes Virus umano 8; SNC = sistema nervoso centrale; resezione chir = resezione chirurgica; MMF = Micofenolato Mofetil; ORL = apparato Otorinolaringoiatrico; AZA = Azatioprina;

**Tabella 4:** pz = pazienti; f-up = follow-up;  $\Delta t$  = tempo intercorrente tra.; M = maschio; F = femmina; MP = Metilprednisolone; Cya = Ciclosporina A; PDN = Prednisone; Tac = Tacrolimus;

Figure

Figura 1

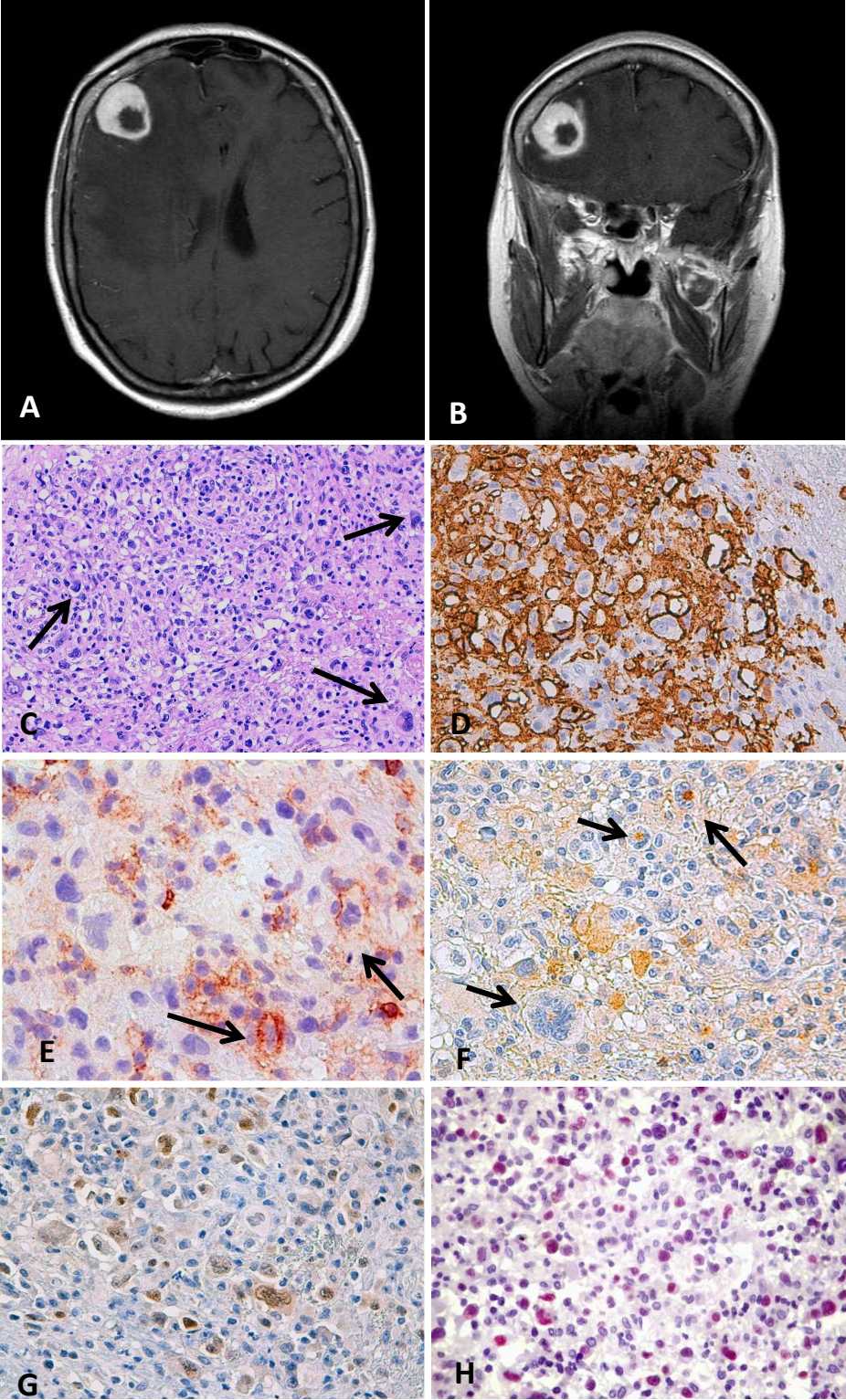
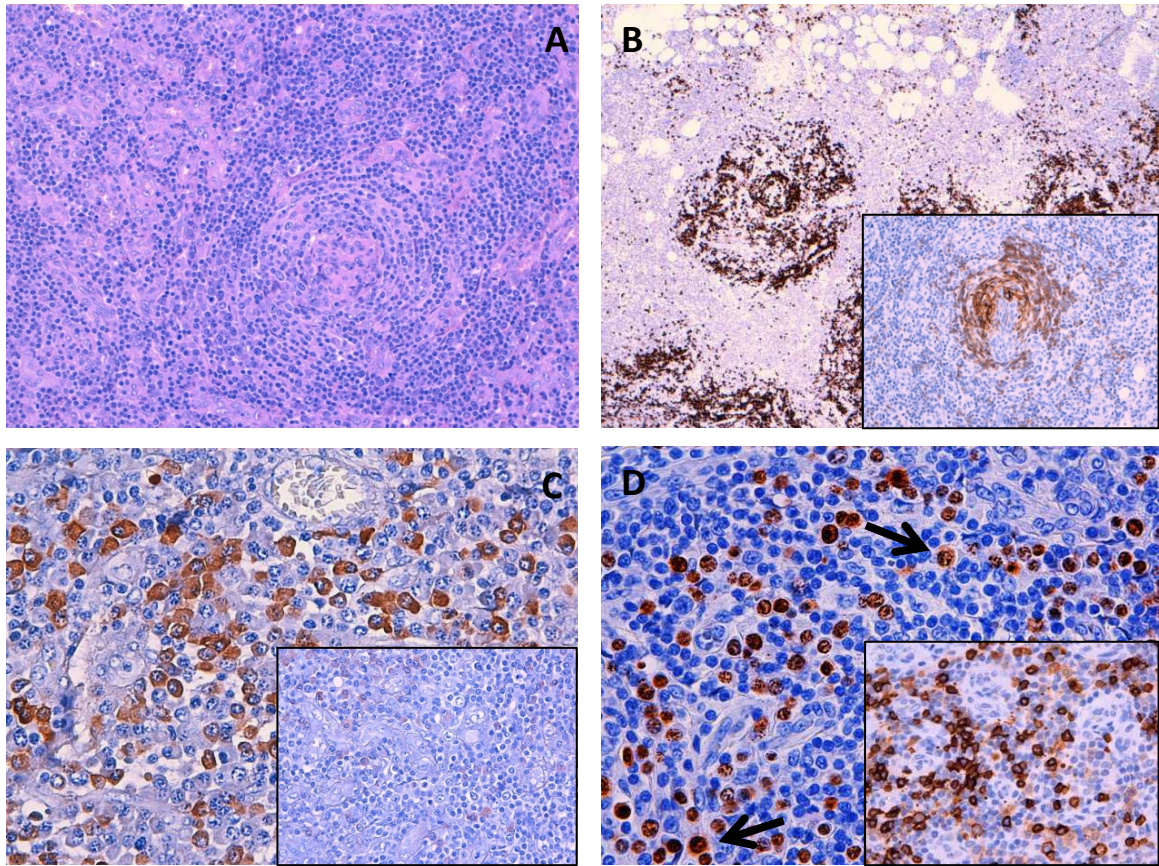
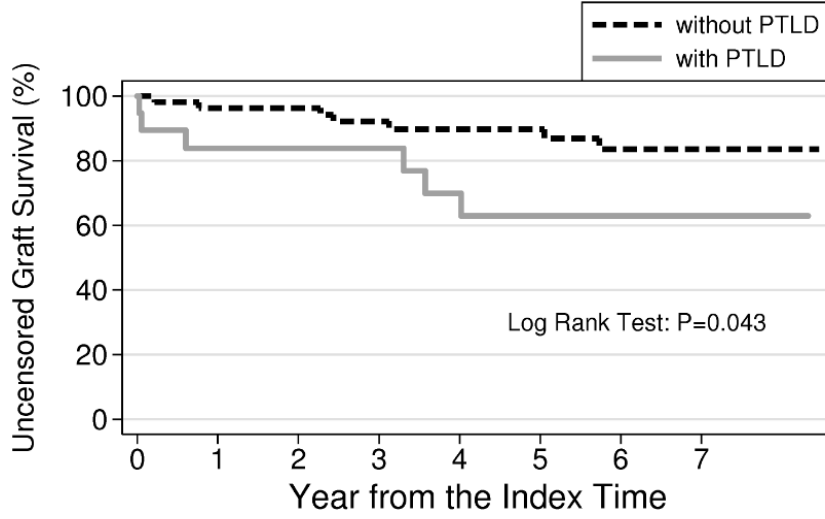


Figura 2

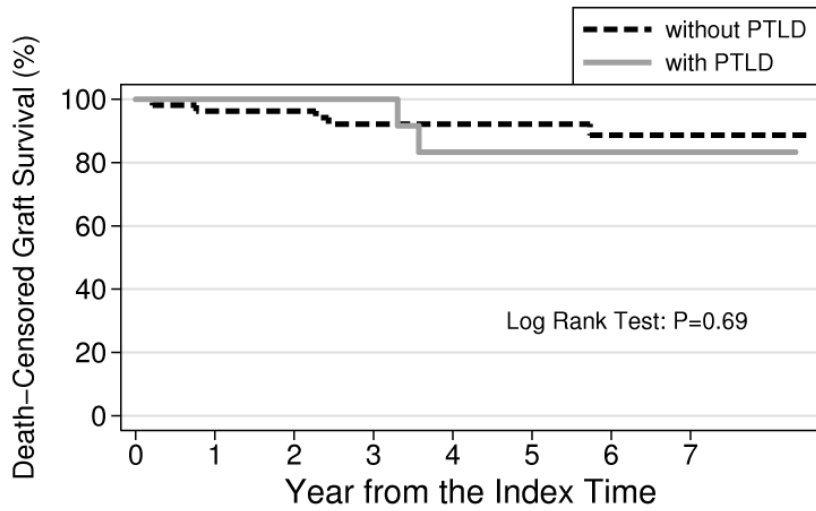


**Figura 3 a**



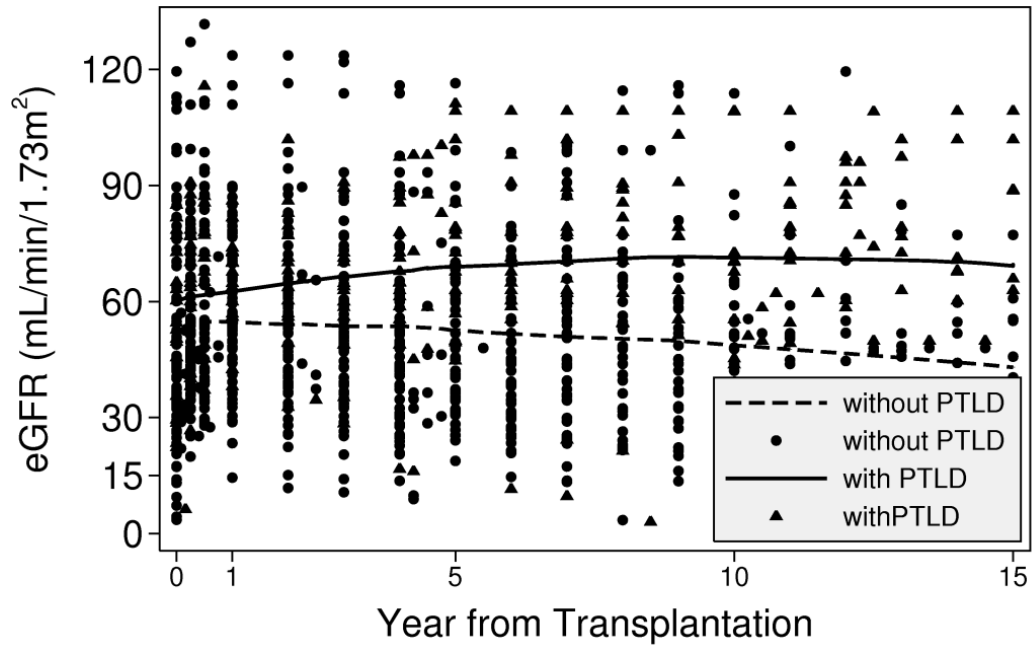
Number at risk		0	1	2	3	4	5	6	7
without PTLD	56	49	49	37	36	32	22	18	
with PTLD	19	14	14	12	10	8	6	5	

**Figura 3b**

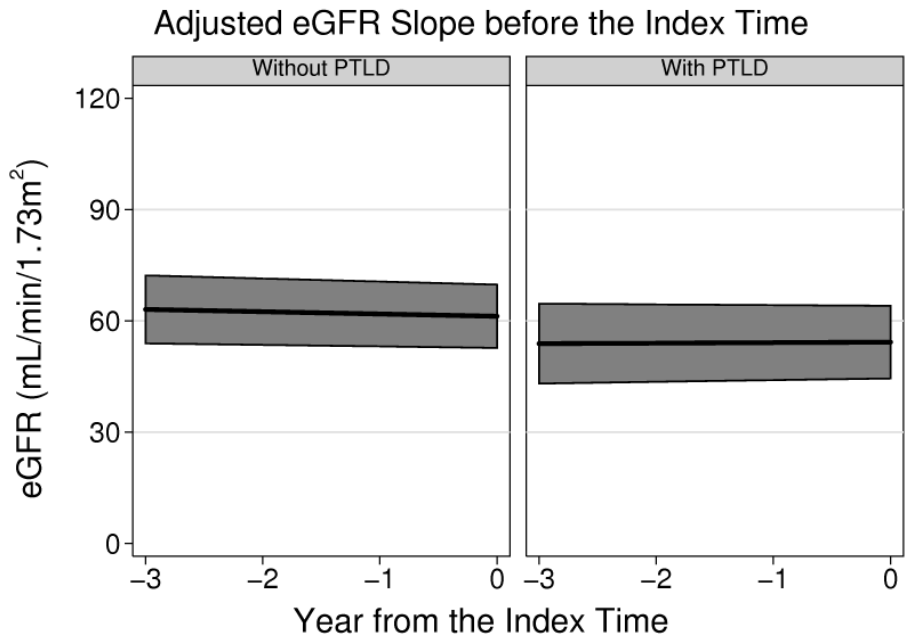


Number at risk		0	1	2	3	4	5	6	7
without PTLD	56	49	49	37	36	32	22	18	
with PTLD	19	14	14	12	10	8	6	5	

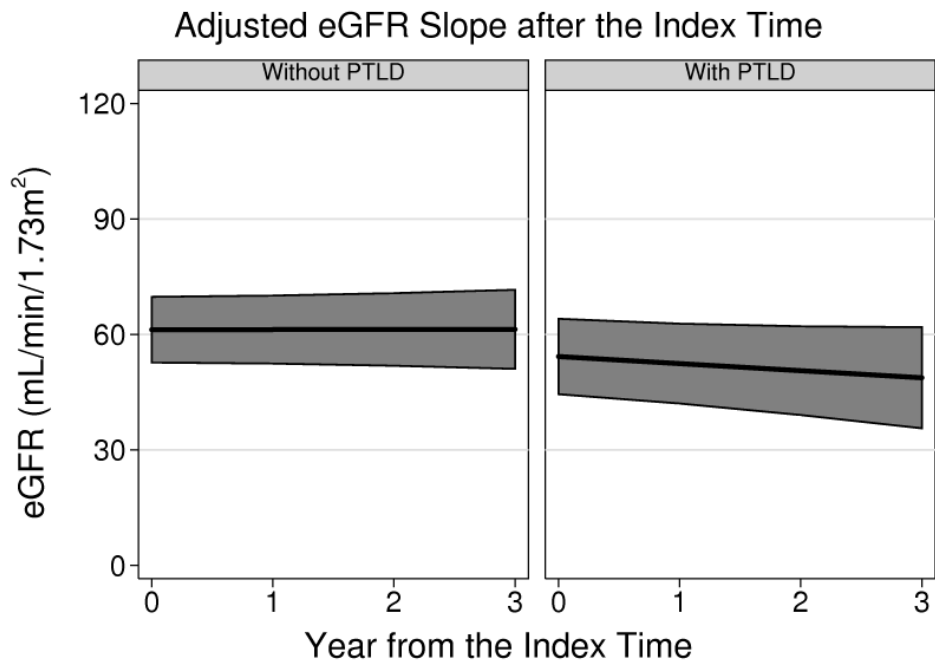
Figura 4



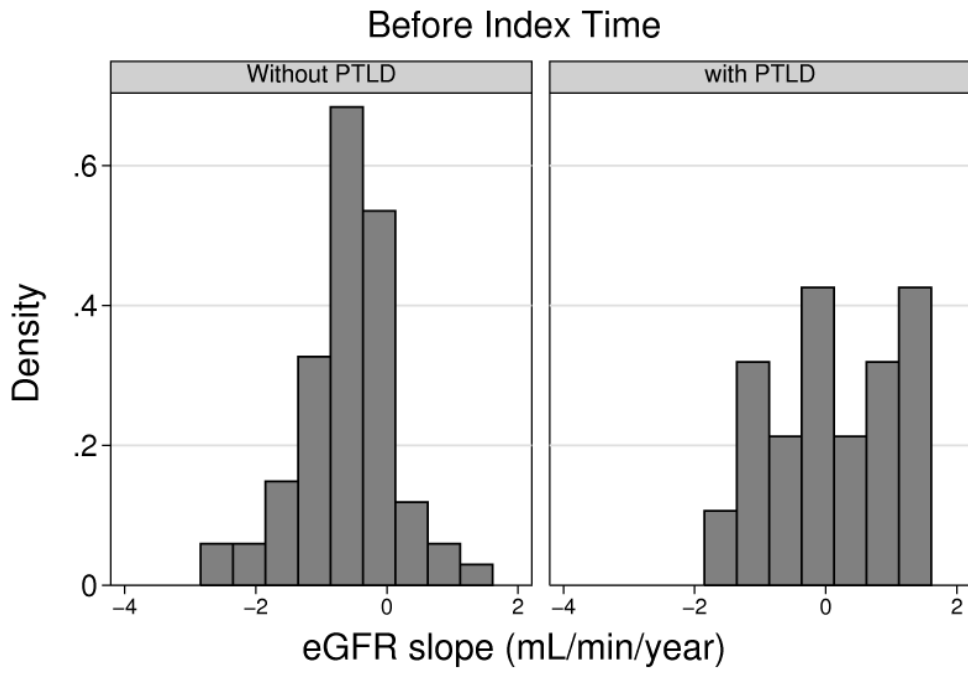
**Figura 5a**



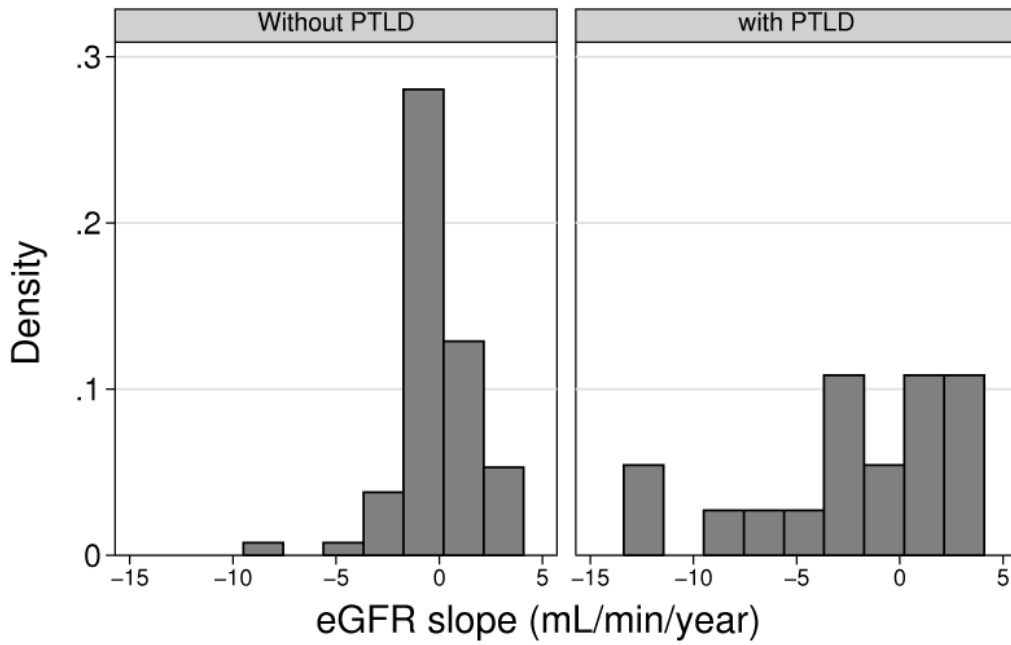
**Figura 5b**



**Figura 6a**



**Figura 6b**  
**After Index Time**



## Didascalie Figure

---

**Figura 1:** Aspetto istologico ed alla Risonanza Magnetica del Linfoma B diffuso a grandi cellule con localizzazione cerebrale (paziente #10); A e B: (immagini T1 pesate, dopo somministrazione di mezzo di contrasto) La Risonanza mostra una voluminosa massa, captante il contrasto, nel lobo frontale di destra, caratterizzata da un core ipointenso necrotico e circondata da un'estesa area edematosa che sviluppa un effetto di massa sul ventricolo laterale destro; C:(ematossilina-eosina 10x) Si osservano due popolazioni di cellule neoplastiche proliferanti, una di piccola-media taglia e l'altra con aspetti simil Hodgkin/Reed-Sternberg (HRS) (freccia); D: (colorazione all'immunoperossidasi 10x) Le cellule proliferanti sono diffusamente e fortemente positive per il CD20; E: (colorazione all'immunoperossidasi 10x) Le grandi cellule neoplastiche esprimono in maniera variabile LCA (antigene leucocitario comune); F: (colorazione all'immunoperossidasi,10x) Molte cellule simil HRS(freccia) sono positive per il CD30, a differenza delle restanti cellule proliferanti; G: (colorazione all'immunoperossidasi,10x) una grande quantità di cellule neoplastiche sono positive (colorazione nucleare marrone) con intensità variabile per il fattore nucleare delle cellule B, PAX-V; H: (ibridizzazione in situ, 10x) l'EBER-1 (RNA nucleare virale di EBV) è diffusamente espresso dalle cellule simil-HRS così come dalle restanti cellule neoplastiche.

**Figura 2:** Aspetto istologico di disordine linfoproliferativo atipico post-trapianto (PTLD) in malattia di Castleman HHV8+; A: (ematossilina-eosina 20x) espansione dell'interfollicolo ricco di plasmacellule e di venule post-capillari, in cui è possibile osservare follicoli linfoidi atrofici e con modificazioni ialino-vascolari tipo Castleman; B: (immunoistochimica 4x, 20x nell'immagine in miniatura) residua positività dei follicoli atrofici per il CD20 e per il CD23 (marker delle cellule dendritiche) (miniatura); a causa dell'atrofia follicolare le cellule

dendritiche assumono un orientamento a buccia di cipolla; C: (entrambe immunohistochemical 40x) plasmacellule polipatiche per le catene lambda, maggiormente rappresentate, e le catene kappa (miniatura), piuttosto scarse; D: (immunohistochemical 40x) elementi a differenziazione plasmacellulare, dispersi nella regione del mantello che risultano positivi per la molecola HHV8 (colorazione brunastra intracellulare nell'immagine principale), eccezionalmente positivi per CD20 [alone arancione pericellulare nell'immagine principale (freccia) e colorazione brunastra nella miniatura] e monotipici per la catena lambda (colorazione arancione citoplasmatica nella miniatura).

**Figura 3a:** Curva di Kaplan Meier che stima la sopravvivenza del rene trapiantato dal tempo indice (sviluppo della PTLD) non censurata per la morte. La sopravvivenza nei due gruppi è stata confrontata con il log-rank test.

**Figura 3b** Curva di Kaplan Meier che stima la sopravvivenza del rene trapiantato dal tempo indice (sviluppo della PTLD) censurata per la morte. La sopravvivenza nei due gruppi è stata confrontata con il log-rank test.

**Figura 4:** Andamento crudo dell'eGFR nei pazienti che hanno sviluppato PTLD nel corso del follow-up e dei loro controlli; i puntini blu rappresentano i controlli, i puntini rossi i casi. È evidente una netta ascesa (miglioramento) dell'eGFR nei casi rispetto ai controlli nei primi 7 anni post-trapianto, seguita da una progressiva discesa: La curva dei controlli va incontro, invece, ad una progressiva discesa (peggioramento della funzione renale).

**Figura 5a:** Andamento dell'eGFR precedente il tempo indice nei pazienti con PTLD (pannello di destra) e nei controlli (pannello di sinistra). Prima del tempo indice, nei pazienti con PTLD l'eGFR mostrava un lieve declino (-0.62 mL/min/anno [95%CI: da -0.98 a -0.26; p=0.001], mentre mostrava un significativo declino nei controlli senza PTLD (+ 0.13

mL/min/anno [95% CI: da -0.41 a +0.68 ; p=0.63]). Questa differenza dell'andamento dell'eGFR tra i due gruppi è risultata statisticamente significativa (p=0.019).

**Figura 5b:** Andamento dell'eGFR successivo al tempo indice nei pazienti con PTLD (pannello di destra) e nei controlli (pannello di sinistra). Nei pazienti con PTLD, dopo il tempo indice si osservava un declino dell'eGFR ai limiti della significatività statistica (-1.84 mL/min/anno [95% CI: da -4.48 a +0.79 ; p=0.17]) mentre nei controlli non si osservava significativa variazione dell'eGFR (-0.03 mL/min/anno [95%CI: da +1.65 a +1.71; p=0.97]). Dopo il tempo indice non vi era differenza significativa nella modifica dell'eGFR tra PTLD e controlli (p=0.24).

**Figura 6a** Distribuzione della variazione della eGFR prima del tempo indice nei singoli pazienti (casi e controlli). Le traiettorie specifiche per ogni soggetto sono riportate come variazione lineare della eGFR in mL/min/anno con valori positivi che indicano un incremento della eGFR e valori negativi che indicano una riduzione della eGFR.

**Figura 6b** Distribuzione della variazione della eGFR dopo il tempo indice nei singoli pazienti (casi e controlli). Le traiettorie specifiche per ogni soggetto sono riportate variazione lineare della eGFR in mL/min/anno con valori positivi che indicano un incremento della eGFR e valori negativi che indicano una riduzione della eGFR.