

**U. PORTO**



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR  
UNIVERSIDADE DO PORTO

Dissertação do Mestrado Integrado em Medicina  
6º Ano Profissionalizante

**DOENÇA LINFOPROLIFERATIVA PÓS-TRANSPLANTE A  
PROPÓSITO DE UM CASO CLÍNICO**

Artigo tipo “*case report*”

Joana Patrícia Moreira Fontes

Ano letivo 2015/2016

Orientadora: **Dr.<sup>a</sup> Maria Alexandra dos Santos Mota da Silva**

Categoria: Assistente Hospitalar Graduada de Hematologia  
Clínica no Centro Hospitalar do Porto e Professora Auxiliar  
Convidada do Mestrado Integrado em Medicina do ICBAS

Afiliação: Instituto de Ciência Biomédicas Abel Salazar, Rua de  
Jorge Viterbo Ferreira, nº228, 4050-313, Porto

**Porto, Junho de 2016**

## Lista de abreviaturas

**aTCTH** – Transplante Alogénico de Células Tronco-Hematopoiéticas

**ATG** – Globulina Anti-timocítica

**CMV** – Citomegalovírus

**DECH** – Doença Enxerto Contra Hospedeiro

**DHL** – Desidrogenase Láctica

**DLPT** – Doença Linfoproliferativa Pós-Transplante

**EBER** – *Epstein-Barr Encoded Early RNAs*

**EBNA-2** – *Epstein-Barr Nuclear Antigen-2*

**EBV** – Vírus Epstein-Barr

**ECOG** – *Eastern Cooperative Oncology Group*

**FDG-PET/TC** – Tomografia por emissão de positrões com F-fluoro-2-desoxiglucose / Tomografia Computorizada

**HHV-8** – Herpes Vírus Humano tipo 8

**HiperCVAD** – Ciclofosfamida, Vincristina, Doxorubicina e Dexametasona Hiperfracionadas

**HLA** – Antígeno de Histocompatibilidade Leucocitária

**IPI** – Índice de Prognóstico Internacional

**LB** – Linfoma de Burkitt

**LCB-I** – Linfoma de Células B, Inclassificável, com características intermédias entre o LDGCB e o LB

**LCR** – Líquido cefalorraquidiano

**LDGCB** – Linfoma Difuso de Grandes Células B

**LGCB** – Linfoma de Grandes Células B

**LMP1** – *Latent Membrane Protein 1*

**LNH** – Linfoma Não-Hodgkin

**LH** – Linfomas de Hodgkin

**MI** – Mononucleose Infeciosa

**MO** – Medula Óssea

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**PCR** – Reação em Cadeia de Polimerase

**PET** – Tomografia por emissão de Positrões

**R-CHOP** – Rituximab, Ciclofosfamida, Doxorubicina, Vincristina e Prednisolona

**RIS** – Redução da Imunossupressão

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**TC** – Tomografia Computorizada

**TCTH** – Transplante de Células Tronco-Hematopoiéticas

**TOS** – Transplante de Órgão Sólido

**VHB** – Vírus da hepatite B

**VHC** – Vírus da hepatite C

**VIH** – Vírus da Imunodeficiência Humana

## Resumo

A doença linfoproliferativa pós-transplante (DLPT) é uma complicação potencialmente fatal associada a transplante de órgão sólido (TOS) ou transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH). Compreende um espectro que varia desde a hiperplasia benigna até ao linfoma agressivo.

A classificação patológica mais comumente utilizada é a classificação da OMS, que divide a DLPT em quatro categorias: lesões precoces, DLPT polimórfica, DLPT monomórfica e DLPT tipo Linfoma de Hodgkin clássico.

A maioria dos casos deriva de linfócitos B e estão associados à infecção por EBV, particularmente no primeiro ano após transplante.

A redução da imunossupressão (RIS) é considerada a base do tratamento da DLPT. Contudo, respostas à RIS são observadas em menos de metade dos doentes. Terapêutica adicional inclui o rituximab e a quimioterapia, administrados de forma combinada ou sequencial. Novas estratégias terapêuticas para a DLPT estão a emergir.

O presente artigo descreve um caso de um doente transplantado hepático, ao qual foi diagnosticado DLPT, colocando questões acerca da dificuldade diagnóstica, bem como da abordagem e tratamento adequados.

**Palavras-chave:** Doença linfoproliferativa pós-transplante; diagnóstico; tratamento

## Abstract

Post-transplant lymphoproliferative disorders (PTLD) are a potentially fatal complication of both solid organ transplant (SOT) or allogeneic stem cell transplant (aSCT). PTLD comprise a spectrum ranging from benign hyperplasia to aggressive lymphoma.

The most commonly used pathologic classification of PTLD is the WHO classification, which divides PTLD into four categories: early lesions, polymorphic PTLD, monomorphic PTLD and Classical Hodgkin lymphoma-type PTLD.

The majority of cases is derived from B lymphocytes and is Epstein Barr Virus (EBV) driven, particularly in the first year post-transplant.

Reduction of IS (RIS) is considered the cornerstone of treatment in PTLD. However, responses to RIS are observed in less than half of patients. Therapy in addition includes rituximab and chemotherapy, given together or in sequence. Novel treatment strategies for PLTD have emerged.

The present article describes a case of a patient submitted to a liver transplantation, who was diagnosed with PTLD, addressing the issue of the diagnostic difficulties, as well as the appropriate management and treatment.

**Keywords:** Post-transplant lymphoproliferative disorders; diagnosis; treatment

## Introdução

A doença linfoproliferativa pós-transplante (DLPT) caracteriza-se por proliferações linfóides ou plasmocíticas que se desenvolvem no contexto da imunossupressão associada a transplantes de órgão sólido (TOS) ou transplante alogénico de células tronco-hematopoiéticas (aTCTH). Apresenta um espectro de proliferação linfóide que varia desde lesões precoces policlonais até linfomas agressivos.(1)

Descrita pela primeira vez em 1968 em doentes submetidos a transplante renal(2), a DLPT representa atualmente a causa mais comum de neoplasia pós-TOS em crianças e a segunda causa mais comum em adultos, logo após os tumores cutâneos.(3)

## Epidemiologia

A DLPT ocorre mais frequentemente em idade pediátrica comparativamente com a população adulta. A maior incidência na população pediátrica é explicada devido à maior probabilidade de esta ser seronegativa para o EBV aquando do transplante.

A sua prevalência depende de diversos fatores de risco como a intensidade e duração da imunossupressão, bem como o tipo de

órgão transplantado. A incidência de DLPT é mais elevada em TCTH haplo-idênticos, transplantes de coração, pulmão, intestino e multiviscerais (>20%), seguido do transplante do fígado (4.5%), transplante combinado coração-pulmão (2.5%), pâncreas (2%), rim (1-1.5%) e TCTH compatível aparentado ou não (0.5-1%). Além da histo-compatibilidade, e do regime imunossupressor utilizado necessário à preservação do enxerto, a quantidade de tecido linfóide presente no órgão pode explicar parcialmente as diferenças na incidência de DLPT.(4)

Sabe-se que entre 85 a 95% dos casos de DLPT têm origem em células B, cerca de 10 a 15% têm origem em células T e raramente nas células *Natural Killer* (NK). Embora 60-70% dos casos de DLPT de células B esteja associada a infeção por EBV, 60-90% da DLPT de células T são EBV negativo.(3)

## Etiopatogenia

A maioria dos casos de DLPT está associada à infeção primária por EBV. Este desempenha um papel crucial no desenvolvimento de DLPT na maioria dos doentes, particularmente nos que apresentam lesões precoces e DLPT polimórfica.(5)

O EBV é um  $\gamma$ -herpes vírus capaz de induzir transformação blástica e proliferação descontrolada dos linfócitos B.

Estima-se que mais de 90% da população adulta seja seropositiva. Em indivíduos saudáveis, a infecção pode ser assintomática ou resultar numa proliferação de células linfoides benigna e auto-limitada, conhecida como mononucleose infecciosa (MI), mantendo-se posteriormente numa fase de latência que pode persistir durante toda a vida sob o controlo imune das células T. No entanto, perante a imunossupressão, a função das células T fica comprometida, contribuindo deste modo para o desenvolvimento de DLPT.(6, 7) O risco de desenvolvimento de DLPT está especialmente aumentado quando um recetor seronegativo para o EBV recebe um transplante de um dador seropositivo. Contudo, é de notar que a positividade para o EBV não é um pré-requisito para o diagnóstico de DLPT, e que o número de casos EBV-negativo está a aumentar ao longo do tempo de 10% (1990-1995) para 48% (2008-2013).(4)

A infecção por Citomegalovírus (CMV), Vírus da Hepatite C (VHC) e Vírus Herpes Humano tipo 8 (VHH-8) também foram reportados como fatores de risco, especialmente quando co-existem com a infecção por EBV.(4)

O maior fator de risco modificável para DLTP em TOS é o grau de imunossupressão. Os agentes imunossupressores ATG (Globulina Anti-timocítica), inibidores da calcineurina, anti-CD3 (OKT3), tacrolimus e a ciclosporina têm sido implicados como potenciais

fatores de risco para o desenvolvimento de DLPT.(2, 8)

Fatores de risco reportados para DLPT após TCTH incluem a depleção de células T, incompatibilidade HLA (antigénio de histocompatibilidade leucocitária), dador não aparentado, severidade da doença enxerto contra hospedeiro (DECH), bem como o uso de terapêutica imunossupressora com ATG.(9, 10)

A variação genética do hospedeiro tem sido igualmente identificada como um fator de risco. Verifica-se que os polimorfismos de citocinas anti-inflamatórias como a interleucina-10 (IL-10), interleucina-6 (IL-6) e o interferão- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), bem como polimorfismos nos haplótipos HLA-A26 e B38 estão associados a uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento de DLPT.(11, 12)

## **Classificação**

A DLPT encontra-se dividida em quatro categorias de acordo com a atual classificação da OMS publicada em 2008. A categorização foi baseada em critérios histopatológicos, imunofenotípicos e genéticos (Tabela I).

Tabela I: Classificação da OMS da DLPT (2008). (1)

Lesões Precoces
-Hiperplasia Plasmocítica
-Lesões semelhantes à Mononucleose Infeciosa
DLPT polimórfica
DLPT monomórfica
-Neoplasia de células B:
-Linfoma difuso de células grandes B
-Linfoma de Burkitt
-Mieloma Múltiplo
-Lesões semelhantes a plasmocitomas
-Outros
-Neoplasia de células T:
-Linfoma de célula T periférico
-Linfoma de célula T hepatoesplénico
-Outros
DLPT tipo Linfoma de Hodgkin clássico

#### Lesões precoces

As lesões precoces são definidas por proliferações linfoides caracterizadas pela preservação da arquitetura do tecido envolvido. Tendem a ocorrer em idades mais jovens, sendo geralmente observadas em crianças ou adultos com *status* serológico pré-transplante negativo para o EBV. Envolvem mais frequentemente os gânglios linfáticos ou as amígdalas e adenóides do que locais extra-nodais. As lesões geralmente regredem espontaneamente ou com redução da imunossupressão (RIS).(1)

#### DLPT polimórfica

A DLPT polimórfica corresponde a lesões polimórficas morfológicamente constituídas por imunoblastos, plasmócitos e linfócitos de pequeno e médio tamanho que evidenciam apagamento da arquitetura nodal ou formam massas destrutivas extra-nodais. Ao contrário de muitos linfomas, a DLPT polimórfica apresenta um espectro completo de maturação da célula B. Corresponde ao subtipo de DLPT mais comum nas crianças, sendo tipicamente relacionada com a infeção primária pelo EBV.(1)

#### DLPT monomórfica

A DLPT monomórfica cumpre os critérios histopatológicos dos linfomas reconhecidos em hospedeiros imunocompetentes. A DLPT de células B é a forma mais frequentemente encontrada (mais comumente o Linfoma Difuso de Grandes Células B (LDGCB), mas também o Linfoma de Burkitt (LB) ou o mieloma múltiplo), mas a DLPT de células T/NK (incluindo linfoma T periférico, linfoma hepatoesplénico e outros) também foi descrita.(1)

#### DLPLT tipo Linfoma de Hodgkin clássico

DLPLT tipo Linfoma de Hodgkin clássico corresponde ao subtipo menos comum de DLPT. Este preenche os critérios para Linfoma de Hodgkin clássico e ocorre mais frequentemente em doentes

transplantados renais, sendo que praticamente todos os casos são EBV positivos.(1) Uma vez que a DLPT polimórfica e as lesões precoces podem apresentar células tipo *Reed-Sternberg*, o diagnóstico de DLPT tipo Linfoma de Hodgkin clássico deve ser baseado nos achados morfológicos clássicos e imunohistoquímicos.

É de notar que nem sempre é possível enquadrar a DLPT numa destas 4 categorias, seja por sobreposição entre elas, seja pelo facto de a DLPT poder apresentar-se como diferentes subtipos morfológicos em diferentes localizações do organismo ou, até mesmo, na mesma amostra de biópsia. Este último achado está em concordância com a hipótese de que, em alguns casos, pode haver uma transição progressiva desde uma forma precoce de DLPT até DLPT monomórfica.(4)

## **Apresentação clínica**

A apresentação clínica da DLPT é comumente não-específica. Os sintomas de apresentação estão mais frequentemente relacionados com a interferência da função do sistema afetado. A doença é geralmente extra-nodal, podendo envolver o trato gastro-intestinal (TGI), pulmões, pele, MO e SNC. O TGI é o local extra-nodal mais frequentemente

envolvido (22-25%). Os sintomas B clássicos como febre, hipersudorese noturna e perda ponderal marcada podem ocorrer.(2)

## **Diagnóstico e Estadiamento**

A avaliação inicial deve incluir a história clínica e o exame físico completo. Adicionalmente deve ser realizado um estudo laboratorial como o hemograma completo, o perfil bioquímico – incluindo enzimas hepáticas, função renal, níveis séricos de desidrogenase láctica (DLH), ácido úrico – além de serologias para o vírus da Hepatite B e C, vírus da imunodeficiência humana (VIH) tipo 1 e 2 e carga viral do EBV. Todos os doentes requerem uma avaliação da função do órgão transplantado.(13)

Para se estabelecer um diagnóstico definitivo é mandatório a realização de biópsia, que idealmente deverá ser excisional. Para além do estudo morfológico e imunohistoquímico, a avaliação patológica deve incluir a avaliação de antigénios associados ao EBV (LMP1 - *Latent Membrane Protein 1* - e EBNA-2 - *Epstein-Barr Nuclear Antigen2*) e a deteção do EBV pela reação de hibridização *in situ* através da sonda EBER (*Epstein-Barr Encoded Early RNAs*). (5, 14) Assim que o diagnóstico de DLPT está confirmado, torna-se indispensável realizar um estadiamento rigoroso da doença. A

investigação deve incluir o estudo medular, através da biópsia de MO, visando avaliar a infiltração por células neoplásicas. A punção lombar e respetiva análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) (citologia e citometria de fluxo) devem ser limitadas a doentes com suspeição de envolvimento meníngeo ou do SNC.(5, 14)

A imagiologia detém um papel principal no estadiamento, pelo que deve englobar a realização de Tomografia Computorizada (TC) cérvico-tóraco-abdómino-pélvica.(13)

O papel da tomografia por emissão de positrões com F-fluoro-2-desoxiglucose (FDG-PET) no contexto de DLPT ainda não foi clarificado, mas tem sido cada vez mais utilizado associado à TC para estadiamento da DLPT.(5, 14) Dado que a FDG-PET/TC tem sensibilidade e especificidade superiores em relação à TC na avaliação do envolvimento nodal e extra-nodal e devido ainda à similaridade entre DLPT e LNH/LH, a FDG-PET/TC é frequentemente usada na abordagem diagnóstica de doentes com DLPT.(15, 16)

O estadiamento da doença deverá ser efetuado de acordo com o sistema de classificação de Ann Arbor modificada (Tabela II).(13, 17)

Tabela II: Classificação de Ann Arbor Modificada.(18)

Estadio	Descrição
I	Envolvimento de uma única região ganglionar ou de um

	único local extraganglionar.
II	Envolvimento de duas ou mais regiões ganglionares, ou de um único local extraganglionar, do mesmo lado do diafragma.
III	Envolvimento de regiões ganglionares em ambos os lados do diafragma, com ou sem envolvimento do baço ou de um local extraganglionar regional.
IV	Envolvimento, não contínuo, de um ou mais locais extraganglionares, com ou sem envolvimento ganglionar.
Anotação	
A	Ausência de sintomas B
B	Pelo menos um dos sintomas B nos últimos seis meses
X	Doença bulky
E	Extensão a pelo menos um órgão extraganglionar adjacente ao local de envolvimento
S	Envolvimento do baço

## Carga viral de EBV e monitorização

Dada a importância do EBV na patogénese da DLPT, tem sido investigado o papel da monitorização quer da carga



viral de EBV, por PCR, quer das células T específicas, no diagnóstico de DLPT. A determinação da carga viral do EBV surgiu como uma ferramenta útil para iniciar o tratamento preventivo. Esta estratégia, na qual a imunossupressão é reduzida e/ou o rituximab é administrado de acordo com a carga viral determinada, tem demonstrado resultados promissores no TOS e TCTH.

Todavia, neste sentido, torna-se perentório estabelecer um consenso acerca da frequência dos controlos, da origem das amostras, bem como realizar uma padronização dos métodos, de modo a possibilitar uma comparação inter-laboratorial.(4, 19)

## Fatores Prognósticos

O prognóstico de DLPT é mau, com uma taxa de sobrevida global aos 5 anos entre 40% a 60%.(20, 21) Embora a maioria das mortes estejam associadas a doença progressiva, até 40% dos doentes morrem devido a causas não relacionadas - principalmente infeções - ressaltando a fragilidade dos doentes transplantados, ainda que em remissão completa.(4)

Durante a última década vários índices prognósticos têm sido propostos por diferentes autores, mas a validação destes scores em diferentes populações de doentes transplantados mostraram resultados divergentes, principalmente devido à heterogeneidade da população

em estudo e do tratamento implementado.(4)

Encontram-se identificados alguns fatores de prognóstico clássicos associados a mau prognóstico, nomeadamente: idade avançada, doença extensa, baixo performance status, desidrogenase láctica elevada, invasão do SNC e, recentemente, a hipoalbuminemia.(4) Embora não exista nenhum índice de prognóstico aceite universalmente para a DLPT, considera-se, com base na literatura recente, o índice prognóstico Internacional (IPI) para linfomas agressivos (Tabela III) como um fator preditivo confiável e significativo para a sobrevivência destes doentes.(4, 13)

Tabela III: IPI para LNH agressivos.

IPI
Fatores de prognóstico: Idade superior a 60 anos Elevação da DHL sérica ECOG≥2 Estadio III/IV Local extranodal≥2
Categoria de risco:
0 ou 1 – baixo risco
2 – risco baixo/intermédio
3 – risco alto/intermédio
4 ou 5 – risco alto

O performance status do doente deve ser igualmente avaliado, através da escala do *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) (Tabela IV).

Tabela IV: Escala de Performance ECOG.  
(22)

Grau ECOG	
0	Completamente ativo, capaz de realizar todas as atividades sem restrições.
1	Restrição à atividade física vigorosa, mas capaz de realizar trabalhos de natureza leve ou sedentária.
2	Capaz de realizar autocuidados, mas não de executar quaisquer atividades de trabalho; permanece em pé cerca de 50% do tempo de vigília.
3	Capaz de realizar autocuidados de forma limitada; confinado ao leito ou cadeira durante mais de 50% do tempo de vigília.
4	Completamente incapaz de realizar autocuidados básicos; totalmente confinado ao leito ou cadeira.

## Tratamento

Os doentes com DLPT constituem um desafio clínico. Neste sentido torna-se essencial a existência de uma equipa multidisciplinar que contemple não só o estado geral do doente, como também o estado clínico e histológico da doença, o

seu início precoce ou tardio, a função e necessidade do órgão transplantado e as diferentes modalidades terapêuticas disponíveis.(13)

O objetivo primário no tratamento de DLPT é a cura, em paralelo com a preservação do órgão transplantado. Devido em parte à heterogeneidade clinicopatológica da doença, não há uma abordagem terapêutica uniformizada.(2)

Assim que o diagnóstico é estabelecido é mandatório proceder à redução da imunossupressão (RIS)(23), interrompendo-se primeiramente os agentes mielotóxicos como o micofenolato de mofetil ou a azatioprina. A decisão de redução deve ser dirigida pelas características clínicas da DLPT e pelo risco de rejeição do enxerto. As lesões precoces e a DLPT polimórfica tendem a responder melhor comparativamente às outras lesões.(13)

Não existe evidência que oriente a decisão de quando iniciar um tratamento adicional. Na maioria dos casos não se espera mais de quatro semanas para iniciar a terapêutica, a não ser que se alcance uma remissão completa ou pelo menos parcial. No entanto, caso os achados clínicos e histológicos indiquem doença rapidamente progressiva inicia-se imediatamente outro tratamento.(2)

As terapêuticas locais como a cirurgia ou a radioterapia podem ser adequadas no tratamento da DLPT localizada. Contudo, estas poderão não ser

uma opção em tumores que envolvam órgãos vitais ou órgãos não-vitais cuja resseção implique perda da função.(13) Embora a cirurgia seja raramente realizada, esta é geralmente requerida para a abordagem da DLPT GI por se apresentar com alto risco de complicações locais (perfuração, oclusão ou hemorragia). Já a radioterapia deve ser considerada especialmente em casos particulares como a DLPT do SNC e a DLPT-tipo plasmacitoma.(13, 24)

Os tratamentos sistêmicos como a imunoterapia com o Rituximab e a quimioterapia representam o *gold standard* do tratamento da DLPT avançada que progrediu apesar da RIS.

O Rituximab é um anticorpo monoclonal anti-CD20 que, quando usado em monoterapia como primeira opção terapêutica após a RIS é efetivo e seguro, sem toxicidade clinicamente relevante.(24-27) Este fármaco, em combinação com a quimioterapia baseada em antraciclinas (R-CHOP: Rituximab, Ciclofosfamida, Doxorubicina, Vincristina e Prednisolona) apresenta uma melhor taxa de resposta, encontrando-se recomendado para doentes que não atingiram uma adequada remissão ou que progrediram apesar da RIS e do Rituximab em monoterapia.(13, 28) No entanto, embora produza melhores *outcomes*, esta combinação é portadora de maior toxicidade, motivo pelo qual recentemente se tem investigado a administração sequencial de rituximab

seguido de CHOP que demonstrou ser promissora.(29)

Outras terapêuticas adicionais preventivas têm sido utilizadas e encontram-se em investigação. Os agentes anti-virais (como o ganciclovir e o aciclovir) podem auxiliar na prevenção da DLPT em doentes com *status* serológico pré-transplante negativo para o EBV. Porém, dado que estes agentes não são efetivos contra linfócitos B latentes, o butirato de arginina tem sido proposto como um potencial agente a ser combinado com o ganciclovir ou aciclovir, pelo facto de permitir a ativação para a fase lítica do EBV, tornando os linfócitos suscetíveis aos efeitos destes agentes. Contudo, a sua eficácia ainda não foi estabelecida.(30, 31) A infusão de células T autólogas específicas para o EBV é outra estratégia preventiva que se tem revelado promissora. O objetivo é restabelecer a resposta da imunidade celular ao EBV, tendo-se revelado bem sucedida na DLPT após TCTH onde o tumor é derivado das células do dador, todavia tal não se verificou na DLPT pós-TOS. Além disso, o custo elevado e o tempo necessário à sua produção, tornam esta modalidade pouco exequível a curto prazo.(32-35)

## **Apresentação do caso**

Doente do sexo masculino, de 18 anos, caucasiano, transplantado hepático

na infância no contexto de um défice de alfa 1 antitripsina (fenótipo ZZ). O primeiro transplante ocorreu em 25/02/1997 (aos 14 meses), de dador cadáver. O segundo transplante em 20/07/2006 (aos 10 anos) por disfunção crónica do enxerto, de dador cadáver. Sob tratamento imunossupressor crónico com prednisolona, everolimus e tacrolimus. Como antecedentes pessoais há a referir doença celíaca, trombofilia com mutação da protrombina em homozigotia, osteoporose e défice cognitivo com dislexia.

O doente foi admitido no serviço de Hematologia do Hospital de Santo António – Centro Hospitalar do Porto – a 01/12/2014 com um quadro de hipersudorese profusa noturna, astenia intensa e perda ponderal (8.6% do peso corporal) com cerca de 2 meses de evolução, associado a mialgias difusas, primeiramente no MID, seguido do MSD. Episódio único de febre de 38.0°C, autolimitada, que ocorreu na semana anterior ao recurso hospitalar.

Ao exame físico, encontrava-se vígil, colaborante e orientado no espaço e no tempo. Apresentava-se muito emagrecido, com mau estado geral, com pele e mucosas descoradas e anictéricas. Encontrava-se eupneico e sem sinais de dificuldade respiratória. Apresentava temperatura auricular de 38°, frequência cardíaca de 90bpm, frequência respiratória de 16cpm, saturação de O<sub>2</sub> de 98% em ar ambiente e tensão arterial de

123/75mmHg. Auscultação pulmonar com murmúrio vesicular presente, simétrico e bilateral, sem ruídos adventícios. Auscultação cardíaca normal com S1 e S2 presentes, rítmicos, sem sopros audíveis. Presença de adenopatia axilar direita com cerca de 2cm, móvel e não dolorosa. Ao exame físico abdominal, este encontrava-se mole, depressível, indolor e sem sinais de irritação peritoneal. Baço palpável cerca de 6 cm abaixo da grade costal. Sem outras organomegalias. Na região inguinal direita, presença de adenopatias palpáveis com mais de 2,5cm, duras e pouco móveis e edema nos membros inferiores, mais marcado à direita, não associado a sinais inflamatórios cutâneos.

Analiticamente, apresentava hemograma com anemia normocítica normocrómica (Hb 7,7g/dL, Hematócrito 24,0%, VGM 80,8fL, HGM 25,9pg, CHGM 32,1g/dL), monocitose (Leucócitos 10,15x10<sup>3</sup>/μL, Neutrófilos 5,65 x10<sup>3</sup>/μL, Linfócitos 2,22x10<sup>3</sup>/μL, Monócitos 1,51x10<sup>3</sup>/μL, Eosinófilos 0,23x10<sup>3</sup>/μL, Basófilos 0,01x10<sup>3</sup>/μL), plaquetas normais (152.000) e VS elevada (119mm). Ionograma dentro dos parâmetros normais. Bioquímica com insuficiência renal (creatinina 2,26mg/dL e ureia 93mg/dL), ácido úrico normal (5,6mg/dL), DHL aumentada 2061 U/L (135-225), PCR 205,13mg/L (0,0-5,0), enzimas hepáticas aumentadas ASAT 91 U/L (10-34), FA 180 U/L (45-122), GGT 72 U/L (10-66), com ALAT normal (23U/L).

A pesquisa de EBV por técnicas de biologia molecular no sangue periférico foi negativa, bem como os restantes marcadores víricos: VIH, VHB e VHC.

Realizou TC abdómino-pélvico que revelou múltiplas adenopatias peri-esplénicas, do tronco-celíaco, lombo-aórticas e iliopélvicas, sobretudo à direita, com expressão de conglomerado adenopático a condicionar ausência de permeabilidade segmentar do eixo ilíaco venoso direito distal. Verificou-se ainda trombose venosa ilíaca externa proximal, de carácter agudo e adenopatias inguinais, sobretudo à direita com 13x19mm de maior diâmetro. Infiltração linfomatosa renal bilateral, com aumento volumétrico de ambos os rins (rim direito com 142mm e rim esquerdo com 145mm de eixo bipolar) e esplenomegalia acentuada com 20 cm de maior diâmetro.

O doente foi submetido a biópsia excisional de gânglio linfático axilar cuja histologia revelou uma proliferação difusa, por vezes de esboço nodular, de células de tamanho intermédio a grande, de núcleos arredondados com pequenos nucléolos e, células grandes com nucléolo central proeminente. Índice mitótico muito elevado, intensa cariorréxis e frequentes macrófagos com corpos tingíveis a conferir um aspeto em “céu estrelado”. Foi realizado estudo complementar imunohistoquímico que revelou imunorreatividade das células neoplásicas para CD20, CD79a, CD10 e, focalmente

para CD43, com índice proliferativo de cerca de 95% das células neoplásicas. Os achados morfológicos e o perfil imunohistoquímico favoreceram a hipótese de Linfoma de Burkitt (LB).

Do estudo imunofenotípico realizado, parte dos linfócitos B (47%) era de tamanho grande, com características fenotípicas anormais: CD19+; CD20+, forte; CD5-; CD10+, forte; CD38+, forte; CD30-; CD15-; cadeias leves kappa+; expressão normal de BCL2. Deste modo, as características fenotípicas revelaram-se compatíveis com Linfoma Difuso de Grandes Células B (LDGCB).

Em resumo, apesar dos aspetos histológicos serem sugestivos de LB, os dados imunofenotípicos eram característicos de LDGCB, pelo que foi assumido o diagnóstico de Linfoma de célula B Inclassificável, com características intermédias entre o LDGCB e o LB (LCB-I).

A análise citogenética por técnica de hibridização *in situ* (FISH) revelou ausência da translocação t(8;14), bem como alterações envolvendo o gene *MYC*.

O mielograma não revelou evidência de infiltração medular.

Na análise do LCR não foram visualizadas células do linfoma B diagnosticado na biópsia ganglionar.

A doença encontrava-se no Estadio IV-B-X de Ann Arbor, com ECOG 3, o qual determinou um score IPI de 4, correspondendo a um linfoma de alto risco.

Foi suspensa a imunossupressão e o doente iniciou, a 04/12/2014, o primeiro ciclo A de HiperCVAD (ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina, dexametasona hiperfracionadas), que decorreu sem intercorrências. A avaliação analítica entretanto efetuada evidenciou uma diminuição significativa da DHL 2061>279 U/L, porém uma subida das enzimas de colestase (FA 180>210 U/L e GGT 72>132 U/L). Perante este achado, foi decidido mudar o tratamento quimioterápico – R-CHOP – visando uma diminuição da toxicidade terapêutica.

O doente concluiu quatro ciclos de quimioterapia R-CHOP, o último dos quais em 03/03/2015. Apesar da mudança do esquema de quimioterapia, foi observado uma progressiva deterioração da disfunção hepática (FA 589 U/L, GGT 592 U/L, ASAT 157 U/L, ALAT 221U/L), com surgimento de novo de hiperbilirrubinemia (BT 11,63mg/dL), clinicamente manifestada por icterícia generalizada, que levou à suspensão do tratamento quimioterápico instituído.

Perante esta citocolestase hepática grave e em crescendo, o doente realizou biópsia hepática com estudo imunohistoquímico que revelou a existência de fenómenos hemodinâmicos de provável natureza obstrutiva, não se evidenciando envolvimento hepático pelo linfoma.

Decidiu-se retomar o tratamento imunossupressor com prednisolona e tacrolimus.

Realizou TC tóraco-abdómino-pélvico de reavaliação que demonstrou boa resposta à quimioterapia, destacando-se apenas uma formação nodular hipodensa e hipocaptante com 18mm, no pólo superior do rim direito, e a persistência de vários gânglios envolvendo em bainha, os grandes vasos e estendendo-se pela raiz do mesentério, com diâmetros individuais que não ultrapassavam os 13mm.

A partir de Abril de 2015, iniciou queixas de prurido generalizado com agravamento progressivo, associado analiticamente a marcada hiperbilirrubinemia e disfunção do enxerto, que motivou no início de Junho de 2015 o internamento eletivo para realização de biópsia hepática. Esta evidenciou sinais sugestivos de fase inicial de uma rejeição crónica ductopénica, com coexistência de fenómenos hemodinâmicos de provável natureza obstrutiva. Perante este quadro, assumiu-se provável síndrome de obstrução sinusoidal pós-quimioterapia e hipertensão portal (HTP) não cirrótica.

Posteriormente, o doente apresentou múltiplas intercorrências infecciosas com necessidade de internamento hospitalar. O primeiro internamento ocorreu no final de Junho de 2015 devido a bacteriemia por *Enterococcus faecalis* que foi atribuída ao

CVC, tendo este sido removido. Contudo, evoluiu com bacteriemias persistentes mesmo após a remoção do CVC, sem identificação do foco infeccioso, com internamentos subsequentes em Agosto e Setembro de 2015. De Outubro a Dezembro de 2015 foi internado por endocardite bacteriana causada pelo mesmo agente - *Enterococcus faecalis*.

Em 17/01/2016 foi internado novamente por um quadro de infeção respiratória nosocomial, com progressão para falência multi-orgânica: cardiovascular - com necessidade de suporte aminérgico-, neurológica que evoluiu para estado comatoso e instalação de disfunção respiratória e metabólica. O doente faleceu a 14/02/2016.

## Discussão

O caso clínico descrito enquadra-se na revisão da literatura realizada. Estudos comparando doentes com DLPT EBV-positivo com DLPLT EBV-negativo, têm demonstrado que a DLPT EBV-negativo ocorre tipicamente mais tardiamente no período pós-transplante e apresenta um comportamento clínico mais agressivo(36), tal como ilustrado no presente caso.

Há inclusive estudos de expressão genética que sugerem que estes casos de DLPT EBV-negativo não devem ser enquadrados na entidade de DLPT, sendo considerados linfomas “clássicos” que

ocorrem de forma coincidente em doentes transplantados.(37) Esta hipótese é sustentada por um estudo genómico que demonstrou que o LDGCB pós-transplante EBV-negativo partilha vários aspetos com o LDGCB em doentes imunocompetentes, sendo que ambos os grupos diferem de forma significativa do LDGCB pós-transplante EBV-positivo. Contudo, o facto de estes linfomas responderem bem à RIS torna esta hipótese insatisfatória.(4)

Do estudo histopatológico e imunofenotípico realizado, obteve-se o diagnóstico de Linfoma de célula B Inclassificável, com características intermédias entre o LDGCB e o LB (LCB-I), o que colocou questões adicionais acerca da abordagem terapêutica do doente. Estes linfomas com características intermédias entre o LDGCB e o LB foram reconhecidos recentemente pela classificação da OMS de 2008 como uma entidade heterogénea que geralmente acarreta desafios diagnósticos na prática clínica. A sua distinção do LDGCB e do LB é importante na medida em que apresenta implicações terapêuticas e prognósticas.(38)

Para realizar o diagnóstico de LCB-I é necessário considerar os aspetos morfológicos do tumor, conjuntamente com os achados citogenéticos e imunofenotípicos.

Morfologicamente, estes linfomas apresentam características arquiteturais e citológicas intermédias entre o LDGCB e o

LB, sendo tipicamente constituídos por uma proliferação difusa de células de médio-grande tamanho, com numerosos macrófagos com corpos tingíveis a conferir um aspeto em “céu estrelado”. As células neoplásicas geralmente exibem um elevado índice proliferativo e apoptoses proeminentes. Em alguns casos, as células neoplásicas são morfológicamente consistentes com o LB mas possuem um fenótipo atípico. Noutros casos, o fenótipo é consistente com o LB, mas a morfologia é atípica.(39)

Imunofenotipicamente, os LCB-I expressam antigénios de superfície específicos de célula B, CD19, CD20, CD22 e CD79a,(39) assim como antigénios de célula B do centro germinativo, CD10 e BCL6, sendo frequentemente positivos para o BCL2.(40)

De uma perspetiva genética, estes tumores são também heterogéneos. Os rearranjos no gene *MYC* ocorrem em apenas 35-50% dos casos. Aproximadamente 15% dos casos apresentam uma translocação do gene *BCL2*, por vezes, juntamente com a translocação do gene *MYC*, integrando os linfomas *double-hit*. Menos frequentemente visualizam-se translocações *BCL6*, por vezes juntamente com os genes *MYC* e/ou *BCL2* (linfomas *double-hit* ou *triple-hit*). A incidência relativa dos linfomas *double-hit* e *triple-hit* aumenta com a idade.(39)

Clinicamente, o LCB-I é geralmente considerado um linfoma agressivo e a

maioria dos doentes apresenta-se com doença disseminada.(40)

O LCB-I ocorre geralmente em adultos, sendo extremamente raro na população pediátrica. A maioria dos doentes apresenta-se com linfadenopatia generalizada ou massas lesionais em locais extra-nodais, com frequente envolvimento da MO. Alguns doentes têm uma apresentação leucémica.(39)

Recentemente, a 19 de Maio de 2016, foi publicada uma revisão da classificação da OMS de 2008 para as neoplasias linfoides, visando a atualização dos critérios diagnósticos de algumas entidades, entre as quais o LCB-I. Na revisão efetuada, constatou-se que os critérios para o diagnóstico de LCB-I são vagos e que não têm sido usados uniformemente, limitando a sua utilidade. Deste modo, de acordo com a revisão publicada, esta entidade foi reclassificada. Todos os Linfomas de Grandes Células B (LGCB) com rearranjos *MYC* e *BCL2* e/ou *BCL6* deverão ser incluídos numa categoria designada de Linfoma de células B de alto grau com rearranjos *MYC* e *BCL2* e/ou *BCL6*. Nos casos em que se verificar a ausência do rearranjo *MYC* e *BCL2* e/ou *BCL6*, deverão ser enquadrados na categoria de Linfoma de células B de alto grau, não especificado.(41)

O esquema de quimioterapia mais eficaz para a abordagem terapêutica destes doentes é controverso, não existindo até ao momento nenhum



esquema de quimioterapia *standard*.(42) Considerando o mau prognóstico dos doentes com linfomas *double-hit* ou *triple-hit* tratados com R-CHOP, vários centros têm avaliado o benefício dos esquemas de quimioterapia intensiva, embora se desconheça se estão associados a melhores *outcomes*.(42, 43)

A análise citogenética do caso descrito revelou ausência de alterações envolvendo o gene *MYC*. Estes linfomas são raros e o seu comportamento clínico é desconhecido, não existindo tratamento *standard* definido. No entanto, tem-se recorrido, nestes casos, a protocolos de quimioterapia mais intensivos, tal como o doente efetuou.

O facto de não terem sido pesquisadas outras alterações citogenéticas como as translocações envolvendo os genes *BCL2* e *BCL6*, representa uma limitação para a caracterização deste linfoma.

Este caso clínico levanta questões pertinentes quanto à abordagem terapêutica mais adequada nestes doentes. O desafio terapêutico prende-se, por um lado, em conseguir otimizar-se o equilíbrio entre a preservação do órgão transplantado e a instituição do tratamento anti-neoplásico. Por outro lado, torna-se difícil articular a terapêutica com a toxicidade induzida pelos agentes farmacológicos.

No presente caso, primeiramente, optou-se pela instituição de um regime de

quimioterapia mais intensivo (HiperCVAD), registando-se uma resposta com diminuição significativa do valor de DHL. Porém, a elevação das enzimas de colestase hepática, acarretou a mudança para um regime de quimioterapia associado a menor toxicidade – R-CHOP. Apesar do desenvolvimento de uma citocolestase hepática progressiva não ter permitido cumprir o tratamento programado, este ilustra um caso em que se obteve uma excelente resposta ao regime de quimioterapia R-CHOP, registando-se uma remissão quase completa do linfoma, visualizada pela TC de reavaliação após o quarto ciclo. No entanto, não é possível concluir acerca da eficácia a longo prazo do tratamento implementado e do seu impacto na sobrevida do doente.

O doente acabou por falecer onze meses após o fim do tratamento de quimioterapia, por causas não diretamente relacionadas com o linfoma, dado que não se verificou evidência de progressão tumoral durante este período, mas devido a complicações relacionadas com a abordagem terapêutica efetuada.

A suspensão da imunossupressão implementada, aliada à instituição de um regime de quimioterapia com rituximab, teve como consequência uma alteração da imunidade celular e humoral do doente que propiciou o desenvolvimento de rejeição do enxerto.

Desta forma, o presente caso retrata que um dos grandes desafios atuais na abordagem de doentes com DLPT passa por conseguir otimizar o tratamento do linfoma, assegurando-se concomitantemente a preservação do enxerto.

## Conclusão

A DLPT é uma entidade rara, potencialmente fatal, associada a uma taxa de mortalidade ainda elevada.

Tem-se verificado uma preocupação crescente face à existência e diagnóstico desta entidade, cuja incidência tem vindo a aumentar. A monitorização dos doentes transplantados, assim como a adoção de estratégias de prevenção continuam sob investigação.

Apesar de relatos recentes de novas abordagens terapêuticas, a grande maioria dos doentes ainda é tratada com o recurso a redução de imunossupressão e quimio-imunoterapia. Torna-se por isso necessária uma cooperação internacional no sentido de compreender melhor o comportamento clínico da DLPT e investigar novos tratamentos que permitam melhorar o *outcome* destes doentes.

## Agradecimentos

À Dr.<sup>a</sup> Alexandra Mota por toda a disponibilidade, apoio e dedicação essenciais à elaboração desta dissertação.

## Referências Bibliográficas

1. Swerdlow SH, Webber SA, Chadburn A, Ferry JA. Post-transplant lymphoproliferative disorders. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al, editors. WHO classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. 2008:343-9.
2. Al-Mansour Z, Nelson BP, Evens AM. Post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD): risk factors, diagnosis, and current treatment strategies. *Curr Hematol Malig Rep*. 2013;8(3):173-83.
3. Katabathina V, Menias CO, Pickhardt P, et al. Complications of Immunosuppressive Therapy in Solid Organ Transplantation. *Radiologic clinics of North America*. 2016;54(2):303-19.
4. Dierickx D, Tousseyn T, Gheysens O. How I treat posttransplant lymphoproliferative disorders. *Blood*. 2015;126(20):2274-83.
5. Nassi L, Gaidano G. II. Challenges in the management of post-transplant lymphoproliferative disorder. *Hematol Oncol*. 2015;33 Suppl 1:96-9.
6. Nijland ML, Kersten MJ, Pals ST, et al. Epstein-Barr Virus-Positive

- Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Management. *Transplantation Direct*. 2015;2(1).
7. Ali AS, Al-Shraim M, Al-Hakami AM, Jones IM. Epstein- Barr Virus: Clinical and Epidemiological Revisits and Genetic Basis of Oncogenesis. *Open Virol J*. 2015;9:7-28.
  8. LaCasce AS. Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders. *The Oncologist*. 2006; 11: 674-680.
  9. Landgren O, Gilbert ES, Rizzo JD, *et al*. Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2009;113(20):4992-5001.
  10. Uhlin M, Wikell H, Sundin M, *et al*. Risk factors for Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2014;99(2):346-52.
  11. Lee TC, Savoldo B, Barshes NR, *et al*. Use of cytokine polymorphisms and Epstein-Barr virus viral load to predict development of post-transplant lymphoproliferative disorder in paediatric liver transplant recipients. *Clinical transplantation*. 2006;20(3):389-93.
  12. Reshef R, Luskin MR, Kamoun M, *et al*. Association of HLA polymorphisms with post-transplant lymphoproliferative disorder in solid-organ transplant recipients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2011;11(4):817-25.
  13. Parker A, Bowles K, Bradley JA, *et al*. Management of post-transplant lymphoproliferative disorder in adult solid organ transplant recipients - BCSH and BTS Guidelines. *British journal of haematology*. 2010;149(5):693-705.
  14. Parker A, Bowles K, Bradley JA, *et al*. Diagnosis of post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients - BCSH and BTS Guidelines. *British journal of haematology*. 2010;149(5):675-92.
  15. Dierickx D, Tousseyn T, Requile A, *et al*. The accuracy of positron emission tomography in the detection of posttransplant lymphoproliferative disorder. *Haematologica*. 2013;98(5):771-5.
  16. Panagiotidis E, Quigley AM, Pencharz D, *et al*. (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in diagnosis of post-transplant lymphoproliferative disorder. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(3):515-9.
  17. Preiksaitis JK, Keay S. Diagnosis and management of posttransplant lymphoproliferative disorder in solid-organ transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2001;33 Suppl 1:S38-46.
  18. Armitage JO. Staging non-Hodgkin lymphoma. *CA Cancer J Clin*. 2005;55(6):368-76.

19. Gulley ML, Tang W. Using Epstein-Barr viral load assays to diagnose, monitor, and prevent posttransplant lymphoproliferative disorder. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(2):350-66.
20. Dierickx D, Tousseyn T, Sagaert X, *et al.* Single-center analysis of biopsy-confirmed posttransplant lymphoproliferative disorder: incidence, clinico-pathological characteristic and prognostic factors. *Leukemia & Lymphoma.* 2013;54(11):2433-40.
21. Evens AM, David KA, Helenowski I, *et al.* Multicenter analysis of 80 solid organ transplantation recipients with post-transplantation lymphoproliferative disease: outcomes and prognostic factors in the modern era. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2010;28(6):1038-46.
22. Srensen JB, Klee M, Palshof T, Hansen HH. Performance status assessment in cancer patients. An inter-observer variability study. *Br J Cancer.* 1993;67:773-5
23. Reshef R, Vardhanabhuti S, Luskin MR, *et al.* Reduction of immunosuppression as initial therapy for posttransplantation lymphoproliferative disorder( bigstar). *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons.* 2011;11(2):336-47.
24. Zimmermann H, Trappe RU. EBV and posttransplantation lymphoproliferative disease: what to do? *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program.* 2013;2013:95-102.
25. Oertel SH, Verschuuren E, Reinke P, *et al.* Effect of anti-CD 20 antibody rituximab in patients with post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD). *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons.* 2005;5(12):2901-6.
26. Blaes AH, Peterson BA, Bartlett N, *et al.* Rituximab therapy is effective for posttransplant lymphoproliferative disorders after solid organ transplantation: results of a phase II trial. *Cancer.* 2005;104(8):1661-7.
27. Choquet S, Leblond V, Herbrecht R, *et al.* Efficacy and safety of rituximab in B-cell post-transplantation lymphoproliferative disorders: results of a prospective multicenter phase 2 study. *Blood.* 2006;107(8):3053-7.
28. Lee JJ, Lam MS, Rosenberg A. Role of chemotherapy and rituximab for treatment of posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *The Annals of pharmacotherapy.* 2007;41(10):1648-59.
29. 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(2):196-206.
30. Tse E, Kwong YL. Epstein Barr virus-associated lymphoproliferative diseases: the virus as a therapeutic target. *Experimental & molecular medicine.* 2015;47:e136.
31. Saha A, Robertson ES. Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphomas: pathogenesis and clinical outcomes. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research.* 2011;17(10):3056-63.
32. Savoldo B, Goss JA, Hammer MM, *et al.* Treatment of solid organ transplant recipients with autologous Epstein Barr virus-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs). *Blood.* 2006;108(9):2942-9.
33. Green M, Michaels MG. Epstein-Barr virus infection and posttransplant lymphoproliferative disorder. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons.* 2013;13 Suppl 3:41-54; quiz
34. Icheva V, Kayser S, Wolff D, *et al.* Adoptive transfer of epstein-barr virus (EBV) nuclear antigen 1-specific t cells as treatment for EBV reactivation and lymphoproliferative disorders after allogeneic stem-cell transplantation. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2013;31(1):39-48.
35. Ricciardelli I, Blundell MP, Brewin J, *et al.* Towards gene therapy for EBV-associated posttransplant lymphoma with genetically modified EBV-specific cytotoxic T cells. *Blood.* 2014;124(16):2514-22.
36. Kamdar KY, Rooney CM, Heslop HE. Posttransplant lymphoproliferative disease following liver transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2011;16(3):274-80.
37. Morscio J, Dierickx D, Ferreiro JF, *et al.* Gene expression profiling reveals clear differences between EBV-positive and EBV-negative posttransplant lymphoproliferative disorders. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons.* 2013;13(5):1305-16.
38. Salaverria I, Siebert R. The gray zone between Burkitt's lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma from a genetics perspective. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 2011;29(14):1835-43.
39. Kluin PM, Harris NL, Stein H. B-cell Lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, *et al*, editors. *WHO classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues.* 2008:265-6.
40. Perry AM, Crockett D, Dave BJ, *et al.* B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large

B-cell lymphoma and burkitt lymphoma: study of 39 cases. *British journal of haematology*. 2013;162(1):40-9.

41. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, *et al*. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-90.

42. Edwards L, Krakow EF, Bhagirath V. B-Cell Lymphoma Unclassifiable with features Intermediate between Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Burkitt's Lymphoma: Comparison Study of Clinical Outcome and Treatment Response. *J Clin Anat Pathol*. 2015;2:1-8.

43. Lin P, Dickason TJ, Fayad LE, *et al*. Prognostic value of MYC rearrangement in cases of B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma. *Cancer*. 2012;118(6):1566-73.