

# Posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom uzrokovan Epstein-Barr-virusom

---

**Kovač, Juraj Matej**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:491882>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2021-10-21**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine  
Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Juraj Matej Kovač**

**Posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom  
uzrokovan Epstein-Barr-virusom**

**DIPLOMSKI RAD**



Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Odjelu za virusni hepatitis Klinike za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“ pod vodstvom prof. dr. sc. Adriane Vince, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu:

PTLD – posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom, *post-transplant lymphoproliferative disease*

EBV – virus Epstein-Barr

SOT-PTLD – posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom u primatelja solidnoga organa, *solid organ transplant post-transplant lymphoproliferative disease*

HSCT-PTLD – posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom u primatelja krvotvornih matičnih stanica, *hematopoietic stem cell transplant post-transplant lymphoproliferative disease*

CMV – citomegalovirus

HLA – humani leukocitni antigen

DNA – deoksiribonukleinska kiselina, *deoxyribonucleic acid*

EA – rani antigen, *early antigen*

VCA – antigen virusne kapside, *viral capsid antigen*

LCL – limfoblastoidne stanične linije, *lymphoblastoid cell lines*

EBNA – Epstein-Barrin jezgreni antigen, *Epstein-Barr nuclear antigen*

LMP – latentni membranski protein, *latent membrane protein*

EBER – EBV-kodirana RNA, *EBV-encoded RNA*

RNA – ribonukleinska kiselina, *ribonucleic acid*

PAMP – molekularni uzorak povezan s patogenom, *pathogen-associated molecular pattern*

PRR – receptori za prepoznavanje uzorka, *pattern recognition receptors*

TLR – *Toll-like* receptor

RIG-I – gen pobudljiv retinoičnom kiselinom I, *retinoic acid-inducible gene I*

NF- $\kappa$ B – *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*

IFN- $\alpha$  – interferon alfa

TNF- $\alpha$  – čimbenik tumorske nekroze alfa, *tumor necrosis factor alpha*

IL-1 – interleukin 1

MCP-1 – monocitni kemoatraktantni protein 1, *monocyte chemoattractant protein 1*

CAEBV – kronična aktivna infekcija Epstein-Barrinim virusom, *chronic active EBV disease*

IFA – neizravni imunofluorescentni test, *indirect immunofluorescent assay*

EIA – neizravni imunoenzimski test, *enzyme immunoassay*

ELISA – *enzyme-linked immunosorbent assay*

CLIA – *chemiluminescence immunoassay*

MFI – *multiplex flow immunoassay*

EA(D)-IgG-protutijela ili EA-D-IgG-protutijela – difuzna G-imunoglobulinska protutijela na rane antigene

EA(R)-IgG-protutijela ili EA-R-IgG-protutijela – restriktivna G-imunoglobulinska protutijela na rane antigene

PH-PTLD – plazmastanična hiperplazija, podtip nedestruktivnoga tipa posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma

IM-PTLD – infektivna mononukleoza, podtip nedestruktivnoga tipa posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma

FFH-PTLD – floridna folikularna hiperplazija, podtip nedestruktivnoga tipa posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma

P-PTLD – polimorfni tip posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma

B-PTLD – B-stanične novotvorine, podtip monomorfne tipa posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma

T-PTLD – T-stanične novotvorine, podtip monomorfne tipa posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma

T/NK-PTLD – T/NK-stanične novotvorine, podtip monomorfna tipa posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma

M-PTLD – monomorfni tip posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma

MALT – sluznično limfno tkivo, *mucosa-associated lymphatic tissue*

ATLL – T-stanična leukemija/limfom u odraslih, *adult T cell leukemia/lymphoma*

HTLV-1 – humani T-limfotropni virus 1, *human T-lymphotropic virus 1*

IPNHLSS – Međunarodni pedijatrijski *staging*-sustav za ne-Hodgkinove limfome, *International Pediatric non-Hodgkin Lymphoma Staging System*

BCSH – Britanski odbor za hematološke standarde, *British Committee for Standards in Haematology*

BTS – Britansko transplantacijsko društvo, *British Transplantation Society*

PCR – lančana polimerazna reakcija, *polymerase chain reaction*

NAAT – test temeljen na amplifikaciji nukleinskih kiselina, *nucleic acid amplification test*

IVIG – intravenski imunoglobulini

RIS – smanjenje imunosupresije, *reduction in immunosuppression*

LDH – laktat-dehidrogenaza

ECOG – Istočna kooperativna onkološka skupina, *Eastern Cooperative Oncology Group*

GvHD – bolest davatelja protiv primatelja, *graft versus host disease*

CNS-PTLD – posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom koji zahvaća središnji živčani sustav, *central nervous system post-transplant lymphoproliferative disease*

ECIL – Europska konferencija o infekcijama u leukemiji, *European Conference on Infections in Leukemia*

## Sadržaj

1. SAŽETAK.....	8
2. SUMMARY .....	9
3. UVOD .....	1
3.1. VIRUS .....	1
3.2. PATOGENEZA BOLESTI UZROKOVANIH EBV-om .....	2
3.3. IMUNOSNI ODGOVOR .....	3
3.4. EPIDEMIOLOGIJA .....	4
3.5. BOLESTI UZROKOVANE EBV-om .....	4
3.5.1. INFEKTIVNA MONONUKLEOZA .....	5
3.5.2. NAZOFARINGEALNI KARCINOM .....	5
3.5.3. ŽELUDČANI KARCINOM .....	6
3.5.4. BURKITTOV LIMFOM.....	6
3.5.5. HODGKINOV LIMFOM .....	6
3.5.6. OSTALI NE-HODGKINOVI LIMFOMI .....	6
3.5.7. KRONIČNA AKTIVNA INFEKCIJA EBV-om.....	7
3.5.8. SINDROM KRONIČNOGA UMORA.....	7
3.5.9. ORALNA VLASASTA LEUKOPLAKIJA.....	7
3.6. DIJAGNOSTIKA.....	8
3.6.1. DOKAZ SPECIFIČNIH PROTUTIJELA .....	8
3.6.2. DETEKCIJA VIRUSNIH NUKLEINSKIH KISELINA.....	9
3.7. LIJEČENJE .....	10
4. POSTTRANSPLANTACIJSKI LIMFOPROLIFERATIVNI SINDROM UZROKOVAN EBV-om .....	10
4.1. POJAVNOST I ZNAČENJE U MEDICINI .....	10
4.1.1. RIZIČNI ČIMBENICI .....	11
4.2. KLINIČKA SLIKA .....	11
4.3. TIPOVI PTLD-a.....	12
4.3.1. NEDESTRUKTIVNI PTLD .....	12
4.3.2. POLIMORFNI PTLD .....	13
4.3.3. MONOMORFNI PTLD .....	13
4.3.4. TIP KLASIČNOGA HODGKINOVA LIMFOMA.....	14
4.4. DIJAGNOSTIKA.....	14
4.4.1. PATOHISTOLOŠKA DIJAGNOSTIKA .....	15

4.4.2. RADIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA.....	15
4.4.3. VIRUSNI TITAR.....	15
4.4.4. ENDOSKOPSKA DIJAGNOSTIKA.....	16
4.5. PREVENCIJA I LIJEČENJE.....	16
4.5.1. PREVENCIJA I LIJEČENJE SOT-PTLD-a.....	16
4.5.1.1. PROFILAKSA.....	16
4.5.1.2. PREVENTIVNA TERAPIJA.....	17
4.5.1.3. CILJANA TERAPIJA.....	17
4.5.2. PREVENCIJA I LIJEČENJE HSCT-PTLD-a.....	18
4.5.2.1. PROFILAKSA.....	18
4.5.2.2. PREVENTIVNA TERAPIJA.....	19
4.5.2.4. CILJANA TERAPIJA.....	19
5. ZAKLJUČAK.....	20
6. ZAHVALE.....	21
7. LITERATURA.....	22
8. ŽIVOTOPIS.....	30



## 1. SAŽETAK

Naslov rada: Posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom uzrokovan Epstein-Barr-virusom

Autor: Juraj Matej Kovač

Posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom najčešća je komplikacija presadbe solidnih organa i krvotvornih matičnih stanica. U više od polovice svih slučajeva bolest je povezana s infekcijom Epstein-Barrinim virusom, ubikvitarnim patogenom kojim budu inficirane gotovo sve odrasle osobe. Virus je poznatiji kao uzročnik infektivne mononukleoze, a povezuje se i s nastankom raznih drugih bolesti, poput Burkittova limfoma, nazofaringealnoga karcinoma i Hodgkinova limfoma. Bolest se češće javlja u pedijatrijskoj populaciji, a s obzirom na vrstu presatka pogođeniji su primatelji solidnih organa nego primatelji krvotvornih matičnih stanica. Rizični čimbenici uključuju mladu ili stariju životnu dob te predtransplantacijsku seronegativnost na virusne antigene. Sindrom se morfološki klasificira u četiri tipa – nedestruktivni, polimorfni, monomorfni i tip klasičnoga Hodgkinova limfoma – a prema vremenu nastanka dijeli se na rani i kasni oblik. U kliničkoj slici dominiraju sustavni simptomi i znakovi poput vrućice, umora, grlobolje, gubitka tjelesne mase, anoreksije, mučnine i povraćanja, te simptomi i znakovi vezani uz presadak. Bolest se prvenstveno dijagnosticira patohistološkim nalazom, a od koristi su i radiološka te endoskopska dijagnostika. Praćenje titra virusne DNA pokazalo se nezaobilaznim ne samo u dijagnostici nego i u prevenciji i liječenju bolesti. Terapija se razlikuje između bolesnika s organskim i matičnostaničnim presatkom. Nastanak bolesti nastoji se spriječiti predtransplantacijskom kemoprofilaksom i imunoprofilaksom te posttransplantacijskim praćenjem EBV-viremije uz smanjenje imunosupresije i primjenu rituksimaba. Rituksimab čini i prvu liniju liječenja nastale bolesti. U ostale terapijske opcije ubrajaju se radioterapija, kirurška ekscizija, kemoterapija te primjena citotoksičnih limfocita T.

Ključne riječi: posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom, Epstein-Barr-virus, prevencija, profilaksa, liječenje

## 2. SUMMARY

Title: Post-transplant lymphoproliferative disease caused by Epstein-Barr virus

Author: Juraj Matej Kovač

Post-transplant lymphoproliferative disease is the most frequent complication of both solid organ and hematopoietic stem cell transplantation. More than half of the cases of the disease are associated with Epstein-Barr virus infection. The ubiquitous virus infects virtually all adults. It is better known as the cause of infectious mononucleosis and is associated with many other illnesses, such as Burkitt lymphoma, nasopharyngeal carcinoma and Hodgkin lymphoma. The disease occurs more frequently in pediatric population and solid organ transplant recipients are affected more often than stem cell transplant recipients. Risk factors include young or older age and pre-transplant viral seronegativity. Based on its morphology, the disease is classified into four categories – non-destructive, polymorphic, monomorphic and classic Hodgkin lymphoma. With regards to the onset, the disease can be either early-onset or late-onset. The clinical presentation is characterised by systemic signs and symptoms, such as fever, malaise, sore throat, weight loss, anorexia, nausea and vomiting, and allograft-specific symptoms. The diagnosis is primarily made with pathohistology, although radiologic and endoscopic techniques may also be of use. Viral load monitoring has proved itself valuable not only in diagnosis but also in disease prevention and therapy. The treatment is different in solid organ transplant recipients compared to stem cell transplant recipients. Prevention of the disease consists of pre-transplant chemoprophylaxis and immunoprophylaxis, and post-transplant viral load monitoring combined with reduction in immunosuppression and rituximab. Rituximab is the first line therapy. Other treatment options include radiotherapy, surgical excision, chemotherapy, and cytotoxic T lymphocytes.

Key words: post-transplant lymphoproliferative disease, Epstein-Barr virus, prevention, prophylaxis, treatment

### 3. UVOD

Posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom (PTLD) jest limfocitna ili plazmastanična proliferacija nastala kao posljedica imunosupresije u primatelja organskoga ili matičnostaničnoga presatka (1). Bolest se češće javlja u djece, osobito u EBV-seronegativnih primatelja, te je bolest u njih nerijetko ujedno i primarna infekcija virusom. Češće nastaje po presadbi solidnih organa (SOT-PTLD) (do 20%) (2), dok je u koštanosržnih primatelja (HSCT-PTLD) znatno manje pojavnosti (1–2%) (1). U odraslih rjeđe zahvaća primatelje bubrežnih (1,5–2,5%), jetrenih (2–3%) i srčanih presadaka (3–5%), a češće se javlja u primatelja plućnih (6–10%), crijevnih (20%) i višeorganskih presadaka (12–17%) (3, 4). Rizičnim čimbenicima za nastanak bolesti smatraju se: EBV-seronegativnost prije transplantacije, CMV-seronegativnost prije transplantacije, dječja ili dob iznad 50 godina, bolest davatelja protiv primatelja, predtransplantacijska splenektomija, HLA-nepodudarnost davatelja i primatelja presatka, selektivna T-stanična deplecija davateljeve koštane srži, uporaba antitimocitnih globulina ili anti-CD3-monoklonskih protutijela (1, 2).

#### 3.1. VIRUS

Većina PTLD-a povezuje se s infekcijom virusom Epstein-Barr, obavijenim DNA-virusom iz potporodice *Gammaherpesvirinae*. Virus je dobio ime po Michaelu Epsteinu i Yvonne Barr, istraživačima koji su ga otkrili elektronskim mikroskopom u limfoblastičnim kulturama Burkittova limfoma (5). U hrvatskoj se literaturi uvriježio naziv „Epstein-Barrov virus“, iako je poznato da je Yvonne Barr bila istraživačica, a ne istraživač. Iz ovoga bi se razloga autor ovoga rada odlučio na uporabu ispravnijega imena – Epstein-Barrin virus. S druge strane, u novijoj su literaturi (5) u sve većoj uporabi sintagme „virus Epstein-Barr“ i „Epstein-Barr-virus“, stoga se upravo ti oblici imena pretežno rabe u ovom radu.

Virus je poznat kao uzročnik infektivne mononukleoze, a ima ulogu i u nastanku nazofaringealnoga karcinoma, želudčanoga karcinoma, Burkittova limfoma, Hodgkinova i ne-Hodgkinova limfoma, sindroma kroničnoga umora, oralne vlasaste leukoplakije i drugih imunoproliferativnih bolesti u osoba sa stečenom i prirođenom imunodeficijencijom (5, 6). EBV pokazuje citotropizam prema limfocitima B i stanicama višeslojnoga pločastoga epitela ždrijela, ali može inficirati i limfocite T, NK-stanice, glatkomišićne stanice i monocite (7).

### 3.2. PATOGENEZA BOLESTI UZROKOVANIH EBV-om

Virus ulazi u epitelne stanice fuzijom na plazmatskoj membrani. Virusni proteini BMRF2 i gH/gL vežu se pritom za stanične integrine, što potom potakne fuziju posredovanu virusnim proteinskim kompleksom gB. S druge strane, virus u limfocite B najprije ulazi endocitozom, nakon koje se zbude fuzija s membranom endocitotskoga mjehurića. Ova je fuzija potaknuta vezanjem virusnoga glikoproteina gp350/220 s limfocitnim komplementnim receptorom 2 (CR2, znanim i kao CD21) te virusnoga glikoproteina gp42 s humanim leukocitnim antigenom (HLA) klase II. Na spomenute se interakcije zatim nadoveže fuzija posredovana proteinima gH/gL i gB. Nakon fuzije virusna nukleokapsida bude otpuštena u citoplazmu i prenesena do stanične jezgre mikrotubulnim transportom. Virusni se genom unese u jezgru kroz jezgrenu poru i ondje boravi u obliku izvankromosomskoga episoma (3).

Virus unutar stanice može započeti s litičkom replikacijom ili ostati u latenciji. Litička, aktivna ili produktivna faza EBV-infekcije odvija se uglavnom za vrijeme primarne infekcije. Po ulasku u stanice ždrijelnoga epitela virusne se čestice u njima umnožavaju, izazivajući staničnu lizu i inficirajući dalje limfocite B. Na virusnogenomskoj razini najprije dolazi do transkripcije neposredno ranih gena BZLF1 i BRLF1, potom ranih antigena EA te kasnih gena VCA (5, 8).

U inficiranim limfocitima B zbiva se latentna ili neproduktivna infekcija. Limfociti B se immortaliziraju i beskonačno proliferiraju u limfoblastoidnim staničnim linijama (LCL), te se zbog ovih svojstava virus povezuje s nastankom karcinoma i limfoma. Tijekom ove faze transkribiraju se latentni geni EBNA1–6 te LMP1, 2A i 2B, a dolazi i do ekspresije EBV-kodirane RNA (EBER) i microRNA (5, 8). Ekspresija navedenih gena može u pojedinim bolestima teći u raznim obrascima, prikazanim u tablici 1. U tzv. latenciji 1, kakvu nalazimo kod Burkittova limfoma, uglavnom je ekspimiran samo EBNA1. Latenciju 2 karakterizira ekspresija EBNA1, LMP1 i LMP2, a prisutna je kod nazofaringealnoga karcinoma, EBV-pozitivnoga Hodgkinova limfoma i T-staničnoga limfoma. Latencija 3, koja je dokazana u LCL-ima *in vitro*, kao i u EBV-pozitivnim B-staničnim limfomima karakterističnima za PTLN, označava ekspresiju svih gena latentne faze, dok se isključiva EBER-ekspresija naziva latencijom 0 (2, 3, 9).

**Tablica 1.** Tipovi latencije u bolestima povezanim s infekcijom Epstein-Barr-virusom (prema 9).

Tip latencije	Eksprimirani geni	Bolesti
0	-	Plazmablastični limfom povezan s AIDS-om
1	EBNA1, LMP2	Burkittov limfom
2	EBNA1, LMP1–2	Hodgkinov limfom, Burkittov limfom povezan s AIDS-om, primarni efuzijski limfom, periferni T-stanični limfom, nazalni tip NK/T-staničnoga limfoma, nazofaringealni karcinom, želudčani adenokarcinom
3	EBNA1–6, LMP1–2	PTLD, imunoblastični ili limfom mozga povezan s AIDS-om, infektivna mononukleoza, kronična aktivna infekcija EBV-om, LCL <i>in vitro</i> , X-vezana limfoproliferativna bolest

### 3.3. IMUNOSNI ODGOVOR

Imunosni odgovor organizma na infekciju Epstein-Barrinim virusom dijeli se na odgovore prirodene, stanične i humoralne imunosti. Odgovor prirodene imunosti uključuje interferonske odgovore i NK-stanice. Virusne nukleinske kiseline i bjelančevine djeluju kao PAMP-ovi na sveprisutne stanične PRR-receptore TLR i RIG-I, koji pokreću ekspresiju NF- $\kappa$ B, IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 i MCP-1 (3, 10). Istovremeno, povećava se ekspresija TLR7, a smanjuje ekspresija TLR9. Djelovanjem citokina IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$  i IL-12 aktiviraju se NK-stanice, koje i same eksprimiraju IFN- $\gamma$  te ubijaju inficirane stanice. IFN- $\gamma$  smanjuje ekspresiju latentnih virusnih gena i proliferaciju limfocita B (3).

Odgovor stanične imunosti sastoji se u masovnoj ekspanziji populacije CD8+ citotoksičnih limfocita T, potaknutoj citokinima TNF- $\alpha$ , IL-1 i IL-6. Tijekom akutne faze infekcije limfociti su specifični za litičke antigene, dok su u fazi rekonvalescencije usmjereni protiv latentnih antigena, osobito EBNA3. U imunokompetentnih osoba limfociti T reaktivni na latentne antigene ostaju prisutni u dovoljnom broju i time suzbijaju nekontroliranu proliferaciju inficiranih limfocita B (5). Odgovor CD4+ limfocita T slabije je proučen, a potaknut je od

strane dendritičkih stanica, koje limfocitima predočuju mnoštvo antigena iz inficiranih stanica (3).

Odgovor humoralne imunosti jest kompleksan i javlja se već s pojavom prvih simptoma. Akutna infekcija Epstein-Barrinim virusom potiče poliklonsku proliferaciju limfocita B i proizvodnju nespecifičnih IgA, IgG i IgM-protutijela, koja se nazivaju heterofilnima, a korisna su u dijagnostici zbog sposobnosti aglutinacije ovčjih, konjskih i goveđih eritrocita (6). Istovremeno se javljaju i IgG i IgM-protutijela na antigene virusne kapside (VCA), od kojih samo IgG-protutijela ostaju doživotno prisutna. Doživotno perzistiraju i protutijela na EBNA, koja se javljaju kasnije u infekciji. Protutijela na rane antigene (EA) dijele se u dvije skupine: difuzna i restriktivna protutijela. Difuzna protutijela na rane antigene (EA-D) javljaju se 3–4 tjedna od nastanka simptoma infektivne mononukleoze, a često su prisutna i kod nazofaringealnoga karcinoma te kronične aktivne infekcije EBV-om. Restriktivna se protutijela na rane antigene (EA-R) redovito detektiraju u kroničnoj aktivnoj infekciji EBV-om i afričkom Burkittovu limfomu (3).

### **3.4. EPIDEMIOLOGIJA**

Preko 90% odraslih osoba diljem svijeta inficirano je Epstein-Barr-virusom (3). „U zemljama sa slabim higijenskim standardom većina populacije dolazi u kontakt s virusom već u djetinjstvu, a primoinfekcija obično prolazi bez simptoma. U razvijenim se zemljama primoinfekcija najčešće dogodi od 16. do 24. godine i u 50% zaraženih očituje se kao infektivna mononukleoza.“ (5) Virus se obično luči u slini i njome se prenosi, a u vanjskoj sredini ne preživljava dugo.

### **3.5. BOLESTI UZROKOVANE EBV-om**

Osim posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma, u bolesti uzrokovane i povezane s Epstein-Barrinim virusom ubrajamo infektivnu mononukleozu, nazofaringealni karcinom, želudčani karcinom, Burkittov limfom, Hodgkinov limfom, ne-Hodgkinov limfom, kroničnu aktivnu infekciju EBV-om, sindrom kroničnoga umora i oralnu vlasastu leukoplakiju.

### 3.5.1. INFEKTIVNA MONONUKLEOZA

Infektivna mononukleoza najčešći je klinički oblik primarne infekcije virusom. U dojenačkoj i ranoj dječjoj dobi bolest prolazi bez simptoma, a tipična se klinička slika viđa u bolesnika u dobi od 15. do 24. godine (5). Od simptoma su prisutni umor, klonulost, grlobolja, otežano gutanje, otečenost vrata i otežano disanje na nos. Klinički znakovi uključuju temperaturu 38,5–39,5°C, obostranu vratnu limfadenopatiju, hepatosplenomegaliju, pseudomembranoznu anginu te periglandularni i periorbitalni edem. Može se javiti i makulopapulozni osip (rjeđe skarlatiniformni ili urtikarijski) ako je osoba dobila antibiotik zbog sumnje na bakterijsku bolest (5). U laboratorijskim nalazima periferne krvi ističu se leukocitoza, porast broja limfocita T i reaktivna limfocitoza. Udio CD8<sup>+</sup> limfocita T jest povećan, a udio CD4<sup>+</sup> limfocita T smanjen. Reaktivni se limfociti mogu uočiti na patohistološkim preparatima limfnih čvorova i tonzila kao binuklearni imunoblasti koji podsjećaju na Reed-Sternbergove stanice, kakve nalazimo u B-staničnom limfomu (3). U krvi su povišene i koncentracije laktat-dehidrogenaze (LDH), aspartat-aminotransferaze (AST) i alanin-aminotransferaze (ALT), kao i  $\gamma$ -globulina. Sedimentacija eritrocita umjereno je ubrzana (30–60 mm/h). Bolest u 95% oboljelih završava potpunim ozdravljenjem, dok se u ostalih javljaju komplikacije, koje mogu biti rane (u vrijeme akutne infekcije) i kasne (kao posljedica perzistiranja virusa u domaćinu). Rane komplikacije mogu zahvatiti razne organske sustave, te se tako u njih ubrajaju: autoimunosna hemolitička anemija, trombocitopenija, meningitis, meningoencefalitis, poliradikuloneuritis, neuritis, supklinički miokarditis, akutna opstrukcija dišnih putova, pneumonitis, hemofagocitna limfocitocitoza, ruptura slezene i smrtni ishod. Kasne su komplikacije posljedica onkogenoga djelovanja latentnoga virusa u limfnom tkivu, a najčešće su PTLD, nazofaringealni karcinom, Burkittov limfom i Hodgkinov limfom (5).

### 3.5.2. NAZOFARINGEALNI KARCINOM

Nazofaringealni karcinom (NPC, engl. *nasopharyngeal carcinoma*) zloćudna je bolest nastala monoklonskom proliferacijom epitelnih stanica nazofarinska. Endemska je u jugoistočnoj Aziji (osobito je česta u južnoj Kini), sjevernoj Africi, polinezijskom otočju i populacijama arktičkih Eskima (11). Karcinomi mogu biti keratinizirajući i nekeratinizirajući, a ovi posljednji dalje se dijele na diferencirane i anaplastične. Gotovo svi anaplastični tumori jesu EBV-pozitivni, dok ostali tipovi mogu biti povezani s drugim genetskim i okolišnim čimbenicima (5, 3).

### 3.5.3. ŽELUDČANI KARCINOM

EBV je prisutan u 9–10% želudčanih karcinoma, uključujući 90% želudčanih karcinoma nalik limfoepiteliomu, 7% srednje i dobro diferenciranih adenokarcinoma i 6% slabo diferenciranih adenokarcinoma (3, 12). EBV-pozitivni karcinomi nalik limfoepiteliomu imaju bolju prognozu od EBV-pozitivnih adenokarcinoma (13). Općenito govoreći, svi EBV-pozitivni želudčani karcinomi imaju manju vjerojatnost širenja na limfne čvorove u odnosu na EBV-negativne (3).

### 3.5.4. BURKITTOV LIMFOM

Burkittov limfom (BL) zloćudni je tumor malih nezarezanih limfocita B, a javlja se u endemskom i sporadičnom obliku. Endemski je oblik prisutan u zemljama ekvatorske Afrike i na Novoj Gvineji, područjima gdje je također endemska malarija uzrokovana *Plasmodium falciparum*. Prezantira se kao tumor donje čeljusti i u tim je područjima najčešći tumor dječje dobi (3, 14). Sporadični oblik Burkittova limfoma obično se prezentira kao abdominalni tumor u djece. Češće se javlja u zemljama Južne Amerike i sjeverne Afrike te je ondje 85% Burkittovih limfoma EBV-pozitivno. U Europi i SAD-u tek je 20% BL-a EBV-pozitivno. Etiološka podloga bolesti jest disregulacija onkogenog *c-myc* zbog translokacije 8:2, 8:14 ili 8:22 (3).

### 3.5.5. HODGKINOV LIMFOM

„EBV se smatra bitnim patogenetskim čimbenikom u nastanku pojedinih histoloških podtipova Hodgkinova limfoma, i to mješovita tipa i limfocitne deplecije. Zloćudni klon stanica čine Reed-Sternbergove i Hodgkinove stanice koje su B-staničnoga podrijetla, monoklonski promijenjene u fazi postgerminalnih limfocita B, u jezgri sadržavaju monoklonski EBV-genom te imaju ekspresiju latentnih EBV-gena (EBNA1, LMP1, LMP2) i EBER-a. U ostalim podtipovima povezanost nije uočena, iako i kod njih zloćudni klon ima različite mutacije vezane uglavnom za imunoglobulinske gene.“ (5)

### 3.5.6. OSTALI NE-HODGKINOVIM LIMFOMI

EBV se detektira u 6% europskih slučajeva ne-Hodgkinova limfoma (3), što uključuje EBV-pozitivni difuzni B-velikostanični limfom u starijih osoba i difuzni B-velikostanični limfom općenito, periferni T-stanični limfom, angioimunoblastni T-stanični limfom, limfomatoidnu granulomatozu te limfom povezan s piotoraksom. U Aziji je EBV povezan s nastankom NK/T-staničnoga limfoma i agresivne NK-stanične leukemije ili limfoma (3).



### 3.5.7. KRONIČNA AKTIVNA INFEKCIJA EBV-om

Kronična aktivna infekcija EBV-om (CAEBV), poznata i kao dječji EBV-pozitivni limfoproliferativni poremećaj, rijetka je bolest koja nastaje kao posljedica aktivne infekcije EBV-om dulje od 6 mjeseci u osoba s imunosnim poremećajem koji omogućuje nekontroliranu EBV-om potaknutu proliferaciju NK-stanica ili limfocita T. Češće se javlja u Aziji te u srednjoameričkih i južnoameričkih domorodaca. „Za postavljanje dijagnoze CAEBV-a moraju biti ispunjeni sljedeći kriteriji: 1. klinički manifestna bolest koja je počela kao primarna infekcija EBV-om > 6 mjeseci; 2. visoki titrovi protutijela na litičke EBV-antigene (VCA, EA) i/ili visoki titrovi EBV-DNA u krvi; 3. prisutni znakovi zahvaćanja jednoga od većih organa (pneumonitis, hepatitis, limfadenitis, uveitis, hemofagocitoza); 4. zahvaćeni organi trebaju imati molekularni ili imunohistokemijski dokaz prisutnosti EBV-DNA/RNA.“ (5) Prognoza je loša te većina neliječenih pacijenata umire zbog jetrenoga zatajenja, refraktornih T-staničnih ili NK-staničnih limfoma, ili oportunističkih infekcija. Jedina vrsta terapije koja se pokazala učinkovitom jest presađba krvotvornih matičnih stanica (15). Bolesti povezane s CAEBV-om jesu limfom nalik bolesti *Hydroa vacciniiforme* i hemofagocitna limfohistiocitoza.

### 3.5.8. SINDROM KRONIČNOGA UMORA

Sindrom kroničnoga umora povezuje se s infekcijom EBV-om, ali i s nekim drugim uzročnicima (*M. pneumoniae*, ostali herpesvirusi), a javlja se najčešće u mlađih žena. Očituje se trajnim umorom od barem 6 mjeseci koji ne prestaje nakon odmaranja, poremećajem koncentracije, grloboljom, bolovima u mišićima i zglobovima, povećanim limfnim čvorovima, limfocitozom i prisutnošću protutijela na VCA, EBNA i EA (5).

### 3.5.9. ORALNA VLASASTA LEUKOPLAKIJA

„Očituje se vlasastim mrežolikim bijelim naslagama uz vanjske rubove jezika, a posljedica je reaktivacije EBV-a i litičke infekcije u stanicama višeslojnoga pločastoga epitela ždrijela u imunosuprimiranih osoba, poglavito bolesnika s HIV-om. Treba je razlikovati od kandidoze, u koje se okruglasti sitni bijeli plakovi lako skidaju.“ (5)

## 3.6. DIJAGNOSTIKA

### 3.6.1. DOKAZ SPECIFIČNIH PROTUTIJELA

Dijagnoza infekcije EBV-om prvenstveno se postavlja dokazom protutijela na virusne antigene pomoću specifičnih imunoenzimskih testova. Dok se u bolesnika s tipičnim simptomima infektivne mononukleoze bolest može dijagnosticirati i pomoću heterofilnih protutijela, u bolesnika s atipičnim simptomima i u bolesnika s negativnim heterofilnim testom traže se titrovi specifičnih protutijela na EBV.

Heterofilna protutijela poliklonska su IgM-protutijela nastala nespecifičnom virusnom stimulacijom limfocita B. U rutinskoj kliničkoj praksi njihova se prisutnost detektira jednostavnim testom aglutinacije ovčjih, kozjih ili konjskih eritrocita u reakciji po Paulu Bunnelu, ili novijim, monospot-testom adherencije na goveđe antigene (6, 9). Detekcija specifičnih EBV-protutijela vrši se pomoću neizravnih imunofluorescentnih postupaka (IFA) i neizravnih imunoenzimskih postupaka (EIA), od kojih se najčešće koriste ELISA, CLIA i MFI (6, 9). Tijekom akutne infekcije u dijagnostici su najkorisnija IgM-protutijela protiv VCA, koja se pojavljuju tijekom prva 2–3 mjeseca bolesti. IgG-protutijela protiv VCA također su često prisutna za vrijeme akutne infekcije, ali kako ostaju doživotno, nisu jasan pokazatelj akutne infekcije. Tri do šest tjedana od pojave simptoma javljaju se i protutijela protiv EBNA2, a kasnije, u fazi konvalescencije, i protutijela protiv EBNA1 (3, 5). Koristeći se detekcijom samo triju vrsta protutijela, moguće je razlikovati akutnu infekciju od preboljene. Tako prisutnost VCA-IgM i VCA-IgG-protutijela bez prisutnosti EBNA1-IgG-protutijela upućuje na akutnu infekciju, dok je prisutnost VCA-IgG-protutijela i EBNA1-IgG-protutijela uz odsutnost VCA-IgM-protutijela tipična za preboljenu infekciju. Postoje, međutim, slučajevi u kojima bude detektirana tek jedna vrsta spomenutih protutijela ili sve vrste odjednom (kako je prikazano u tablici 2.), što znatno otežava interpretaciju rezultata. Tada se pristupa dokazivanju ostalih vrsta protutijela, poput VCA-IgA, EA(D)-IgG, EA(R)-IgG i EA-IgA. Osim toga, testiranje na prisutnost ovih protutijela korisna je i u dijagnostici drugih bolesti uzrokovanih ili povezanih s Epstein-Barrinim virusom, jer se njihovi serološki profili uvelike razlikuju od onoga infektivne mononukleoze, a i međusobno (prikazano u tablici 3.). Dodatni testovi za potvrdu nalaza protutijela jesu razni *immunoblot*-testovi te testovi IgG-avidnosti.

**Tablica 2.** Interpretacija seroloških profila protutijela na EBV u imunokompetentnih bolesnika (prema 9).

VCA-IgM	VCA-IgG	EBNA1-IgG	Interpretacija
–	–	–	Odsutnost imuniteta
+	–	–	Akutna infekcija ili nespecifično <sup>1</sup>
+	+	–	Akutna infekcija
–	+	+	Prošla infekcija
–	+	–	Akutna ili prošla infekcija <sup>1</sup>
+	+	+	Kasna primarna infekcija ili reaktivacija <sup>1</sup>
–	–	+	Prošla infekcija ili nespecifično <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Potrebno je dodatno testiranje.

**Tablica 3.** Serološki profili protutijela na EBV u raznim bolestima (prema 9).

Bolest	VCA IgM	VCA IgG	VCA IgA	EA(D) IgG	EA(R) IgG	EA IgA	EBNA1 IgG
Kronična aktivna infekcija	+/-	++	+/-	+	++	–	+/-
Burkittov limfom	–	++	–	+/-	++	–	+
Nazofaringealni karcinom	–	++	+	++	+/-	+	+
Hodgkinov limfom	–	++	–	+	–	–	+
Reaktivacija	+/-	++	+/-	+	+/-	+/-	+/-

### 3.6.2. DETEKCIJA VIRUSNIH NUKLEINSKIH KISELINA

Detekcija i praćenje koncentracije EBV-DNA u krvi (tzv. EBV-viremije) pokazali su se korisnima u slučaju dvojbenih seroloških nalaza, kao i u prevenciji i ranom dijagnosticiranju PTLD-a (16–19). Nalaz EBV-DNA u cerebrospinalnoj tekućini koristan je u bolesnika s AIDS-om s lezijama na mozgu kao prediktivni čimbenik nastanka limfoma (3). DNA se uglavnom dokazuje metodom lančane polimerazne reakcije, dok se RNA obično dokazuje u tkivu *in situ* hibridizacijom, pomoću proba za EBER.

### 3.7. LIJEČENJE

Terapija infektivne mononukleoze jest potporna te uključuje mirovanje (zbog hepatosplenomegalije), obilan unos tekućine, kašastu hranu (zbog faringitisa) te uzimanje antipiretika i analgetika (zbog povišene temperature i grlobolje). Premda antiviralni lijekovi mogu smanjiti virusnu replikaciju, koja se zbiva u litičkoj fazi infekcije, oni nemaju učinka na simptome, koji su posljedica limfoproliferacije. Kortikosteroidi se mogu kratkotrajno primijeniti za liječenje komplikacija poput akutne opstrukcije gornjih dišnih putova, teže autoimunosne hemolitičke anemije, miokarditisa, perikarditisa, meningoencefalitisa, hepatitisa, protrahirane febrilnosti i prostracije. Primjena amoksicilina i klindamicina može uzrokovati pojavu osipa (3, 5).

## 4. POSTTRANSPLANTACIJSKI LIMFOPROLIFERATIVNI SINDROM UZROKOVAN EBV-om

U hrvatskoj se literaturi bolest još naziva i posttransplantacijska limfoproliferativna bolest (6) te posttransplantacijski limfoproliferativni poremećaj. Prema klasifikaciji tumora krvotvornih i limfnih tkiva Svjetske zdravstvene organizacije iz 2017. godine (1), PTLD se definira kao limfocitna ili plazmastična proliferacija nastala kao posljedica imunosupresije u primatelja organskoga ili matičnostaničnoga presatka. Pojam su uveli Starzl i sur. 1984. (20), a prve su slučajeve opisali Doak i sur. 1968. (21) u primatelja bubrežnih presađaka. Epstein-Barrin virus pokretač je limfoproliferacije u 50–80% slučajeva PTLD-a, osobito ranih oblika, dok je 20–50% PTLD-a EBV-negativno i nepoznate etiologije (2). Većinom su zahvaćeni limfociti B, ali u 5% slučajeva bolest je T-staničnoga ili T/NK-staničnoga podrijetla (22). Prema vremenu proteklom od transplantacije, PTLD se može podijeliti na rani oblik (engl. *early-onset PTLD*), koji nastaje unutar 12 mjeseci nakon presađbe, i kasni oblik (engl. *late-onset PTLD*), koji nastaje nakon više od 12 mjeseci nakon presađbe (23). S obzirom na kliničko-histomorfološke kriterije postoje četiri glavna tipa PTLD-a: nedestruktivni, polimorfni i monomorfni tip te tip klasičnoga Hodgkinova limfoma (1).

### 4.1. POJAVNOST I ZNAČENJE U MEDICINI

Bolest se češće javlja u djece, osobito u EBV-seronegativnih primatelja, te je bolest u njih nerijetko ujedno i primarna infekcija virusom (24, 25). Češće nastaje po presađbi solidnih organa (SOT-PTLD) (do 20%) (2), dok je u koštanosržnih primatelja (HSCT-PTLD) znatno manje pojavnosti (1–2%) (1). U odraslih rjeđe zahvaća primatelje bubrežnih (1,5–2,5%), jetrenih (2–3%) i srčanih presađaka (3–5%), a češće se javlja u primatelja plućnih (6–10%), crijevnih (20%) i višeorganskih presađaka (12–17%) (3, 4). Infekcija EBV-om u oboljelih od

PTLD-a može biti primarna (nastala u dotad imunološki naivnih primatelja) ili sekundarna (zbog reaktivacije latentnoga EBV-a u primatelja ili reinfekcije novim sojem EBV-a) (26). Prema Dharnidharki i sur. (2), PTLD u primatelja organskoga presatka (SOT-PTLD) obično je primateljskoga podrijetla, dok je PTLD u primatelja krvotvornih matičnih stanica (HSCT-PTLD) uglavnom davateljskoga podrijetla. U zarazi Epstein-Barr-virusom ključnu ulogu igraju inficirani limfociti B, stoga je rizik od nastanka bolesti povećan pri presadbi limfatično bogatih organa poput pluća i crijeva. Upravo su crijeva često zahvaćena bolešću bez obzira na to koji je organ presađen (26). Osim toga, razlika u stopama pojave PTLD-a između primatelja različitih alografata vjerojatno je i odraz razlike u intenzitetima imunosupresije potrebne kako bi se organi zadržali (26).

#### **4.1.1. RIZIČNI ČIMBENICI**

Općenito se rizičnim čimbenicima za nastanak bolesti smatraju: EBV-seronegativnost prije transplantacije, CMV-seronegativnost prije transplantacije, dječja ili dob iznad 50 godina, bolest davatelja protiv primatelja, predtransplantacijska splenektomija, HLA-nepodudarnost davatelja i primatelja presatka, selektivna T-stanična deplecija davateljeve koštane srži, uporaba antitimocitnih globulina ili anti-CD3-monoklonskih protutijela (1, 2). Rizični čimbenici za nastanak ranoga PTLD-a jesu primarna EBV-infekcija ili EBV-seronegativnost primatelja, intenzitet imunosupresije, primjena anti-CD3-monoklonskih i antilimfocitnih poliklonskih protutijela, mlada dob primatelja i nepodudaranje u CMV-serostatusu s davateljem. Za nastanak kasnoga PTLD-a rizični su čimbenici duljina imunosupresije, primateljeva dob iznad 60 godina i predtransplantacijska zloćudna bolest (2, 23, 27).

#### **4.2. KLINIČKA SLIKA**

Klinička slika posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma znatno varira i donekle korelira s tipom alografta i morfološki definiranim tipom PTLD-a. Općenito govoreći, primarna infekcija povezana je s klinički znatnijom bolešću, dočim su sekundarne infekcije pretežno blage ili asimptomatske (28). Simptomi i znakovi bolesti, prikazani detaljno u tablici 4., mogu uključivati tek nejasnu vrućicu i umor, ali i biti slični onima u infektivnoj mononukleozi ili biti vezani uz disfunkciju specifičnoga organa (1). Simptomi se, prema Greenu (26), mogu podijeliti na sistemske i simptome vezane uz alograft. Sistemski simptomi uključuju neobjašnjivu vrućicu, noćna znojenja, umor, gubitak tjelesne mase, anoreksiju, grlobolju, otečeno grlo, glavobolju i fokalne neurološke simptome. Simptomi vezani uz alograft ovise o presađenom organu, tako da su za jetrene presatke značajni žutica i bol u trbuhu; za crijevne bol u trbuhu, gastrointestinalno krvarenje, mučnina i povraćanje; za srčane

i plućne kratkoća daha, kašalj i smanjena plućna funkcija; a za bubrežne bubrežna disfunkcija. U znakove bolesti ubrajaju se bljedoća, limfadenopatija, potkožni čvorići, povećanje ili upala tonzila, hepatosplenomegalija, fokalni neurološki znakovi i masivne lezije na nalazima slikovnih pretraga (26).

**Tablica 4.** Simptomi i znakovi posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma prema Allenu i sur. (29).

Simptomi	Znakovi
Povećani limfni čvorovi	Limfadenopatija
Gubitak tjelesne mase	Hepatosplenomegalija
Vrućica ili noćno znojenje	Supkutani čvorići
Grlobolja	Povećanje tonzila
Umor i letargija	Upala tonzila
Kronična sinusna kongestija i nelagoda	
Abdominalni bolovi	Znakovi crijevne perforacije
Anoreksija, mučnina i povraćanje	Mukokutane ulceracije
Gastrointestinalno krvarenje	Masivne lezije
Simptomi crijevne perforacije	Fokalni neurološki znakovi

### 4.3. TIPOVI PTLD-a

Podjela posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma na četiri glavna tipa temelji se uglavnom na razlikama u njihovoj patohistologiji, imunofenotipu i genetskim značajkama. Bolesnici mogu imati više različitih tipova PTLD-a na istom sijelu ili na više različitih sijela. Patohistologija je zlatni standard u dijagnostici PTLD-a. Važno je, međutim, najprije dijagnosticirati bolest, a tek potom odrediti i tip, jer se prognoza i terapija razlikuju za različite tipove bolesti (1, 29).

#### 4.3.1. NEDESTRUKTIVNI PTLD

Nedestruktivni posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom, ranije poznat pod imenom PTLD ranih lezija (engl. *early PTLD*, *early lesions*) (30), karakteriziran je arhitekturnim očuvanjem zahvaćenoga tkiva i odsutnošću limfomskih značajki. Obično nastaje unutar godinu dana od transplantacije (27), a pojavljuje se u tri podtipa: plazmastična hiperplazija (PH-PTLD), infektivna mononukleoza (IM-PTLD) ili floridna folikularna hiperplazija (FFH-

PTLD) (1). Na mikroskopskom preparatu limfnoga čvora, plazmastičnu hiperplaziju karakteriziraju brojne plazma-stanice, mali limfociti i mjestimični imunoblasti, dočim su značajke infektivne mononukleoze parakortikalna i interfolikularna ekspanzija i brojni imunoblasti, s limfocitima T i plazma-stanicama u pozadini. Floridna folikularna hiperplazija masivna je lezija s naznačenom hiperplazijom folikula, što ju razlikuje od infektivne mononukleoze (1, 31). Imunofenotipski gledano, sva tri podtipa sačinjena su od EBV-pozitivnih (u slučaju FFH-PTLD-a i EBV-negativnih) poliklonskih limfocita B i mjestimičnih limfocita T. S genetičkoga gledišta, uglavnom je riječ o poliklonskim ili vrlo malim monoklonskim B-staničnim populacijama, koje u slučaju IM-PTLD-a mogu imati klonske ili oligoklonske TR-gene. Kod IM-PTLD-a i FFH-PTLD-a mogu biti prisutne jednostavne citogenetske abnormalnosti, dok kod PH-PTLD-a to nije slučaj (1).

#### **4.3.2. POLIMORFNI PTLD**

Polimorfni posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom (P-PTLD) tip je sastavljen od polimorfnih staničnih populacija – malih i srednje velikih limfocita, atipičnih imunoblasta, zrelih plazma-stanica i stanica nalik Reed-Sternbergovima (22). Spomenute populacije brišu arhitekturu limfnoga čvora ili tvore destruktivnu ektranodalnu masu (27), što rezultira nastankom nekroza, mitozama i monoklonskih B-limfocitnih agregata (1). U 15% navedenih lezija mogu se naći klonske citogenetske abnormalnosti (32). Mikroskopski je katkad teško razlikovati P-PTLD od IM-PTLD-a i monomorfna tipa sindroma (1). Za razliku od klasičnoga Hodgkinova limfoma, CD30+ stanice nalik Reed-Sternbergovima u P-PTLD-u jesu i CD20+ te CD15- (33, 34). Prema kliničkoj slici, P-PTLD se ne razlikuje od ostalih tipova. Najčešća je vrsta PTLD-a u pedijatrijskoj populaciji te redovito nastaje kao posljedica posttransplantacijske primarne infekcije EBV-om (25, 35).

#### **4.3.3. MONOMORFNI PTLD**

Ovo je najčešći tip PTLD-a (27). Čine ga populacije velikih limfocita i plazma-stanica jednoličnoga izgleda, a dijeli se na većinske, B-stanične (B-PTLD) i rjeđe, T-stanične (T-PTLD) ili T/NK-stanične novotvorine (T/NK-PTLD) (22). Monomorfni B-stanični PTLD-i monoklonske su proliferacije transformiranih limfocita B ili plazma-stanica koje ispunjavaju kriterije za difuzni B-velikostanični limfom, kožni ili potkožni MALT-limfom, Burkittov limfom, ekstraosealni plazmacitom ili plazmastični mijelom. Želudčani i parotidni EBV-

pozitivni MALT-limfomi te ostali B-malostanični limfomi ne smatraju se monomorfnim posttransplantacijskim limfoproliferativnim sindromima prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije jer su istovjetni tim limfomima u imunokompetentnih osoba (1). Klinička slika M-PTLD-a nalikuje onoj limfoma ili plazmastaničnih novotvorina na koje podsjećaju, uz iznimku MALT-limfoma, koji se kod PTLT-a javlja kao solitarna kutana ili supkutana novotvorina (1). Monomorfnim T/NK-PTLD-i čine oko 15% svih PTLT-a u Sjevernoj Americi i zapadnoj Europi. Uključuju gotovo čitav spektar T-staničnih i NK-staničnih novotvorina, a najveće su skupine nespecificirani periferni T-stanični limfom i hepatosplenični T-stanični limfom. Ostali podtipovi jesu T-stanična leukemija velikih granuliranih limfocita, T-stanična leukemija/limfom u odraslih (ATLL), nazalni ektranodalni T/NK-stanični limfom, *mycosis fungoides* (Sézaryjev sindrom), primarni kutani anaplastični velikostanični limfom, T-limfoblastna leukemija/limfom i agresivni NK-stanični PTLT. Slučajevi ATLL-a povezuju se s infekcijom HTLV-1 (1). Klinička slika ovisi o zahvaćenom organu, a najčešće su zahvaćeni koštana srž, slezena, koža, jetra, gastrointestinalni trakt i pluća.

#### **4.3.4. TIP KLASIČNOGA HODGKINOVA LIMFOMA**

Riječ je o najrjeđem tipu PTLT-a, koji je patohistološki istovjetan klasičnomu Hodgkinovu limfomu u imunokompetentnih osoba (27). Lezije su obično tipa mješovite celularnosti, a stanice karakterizira EBV-latencija 2. Stanice nalik Reed-Sternbergovima obično su CD15+ i CD30+, mada mogu biti i CD15- (1). Potreban je oprez u dijagnosticiranju jer se spomenute stanice mogu pojaviti i kod P-PTLT-a i IM-PTLT-a, ali je njihov antigenski profil tada najčešće CD15-, CD20+ i CD45+ (36).

#### **4.4. DIJAGNOSTIKA**

Sumnja na posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom može se postaviti na temelju simptoma i znakova u kliničkoj slici, opisanih u odjeljku 4.2. Zlatni standard u potvrdi dijagnoze jest patohistološka analiza tkivnih uzoraka. U određivanju proširenosti bolesti rabi se PET-CT, dok je u dijagnostici i praćenju bolesti, ali i njezinoj prevenciji, od velike važnosti mjerenje titra virusne DNA.



#### 4.4.1. PATOHISTOLOŠKA DIJAGNOSTIKA

Uzorak za patohistološku dijagnostiku PTLD-a idealno se pribavlja ekscizijskom tkivnom biopsijom. Ako se ekscizijska biopsija nije izvediva, pristupa se iglenoj biopsiji ili iglenoj aspiraciji (27). U određivanju tipa bolesti ključne su metode imunofenotipizacije, probir na prisutnost EBV-a (EBER *in situ* hibridizacija) i stanični klonalitet tumora (2).

#### 4.4.2. RADIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA

Radiološke slikovne pretrage rabe se prvenstveno radi utvrđivanja proširenosti bolesti. Ne postoje smjernice za stupnjevanje posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma, stoga se stadij bolesti obično određuje prema klasifikaciji limfoma u imunokompetentnih osoba. U odraslih se tako primjenjuje Luganski klasifikacijski sustav, a u djece Međunarodni pedijatrijski *staging*-sustav za ne-Hodgkinove limfome (IPNHLSS) (29). Metoda izbora jest pozitronska emisijska tomografija s kompjutoriziranom tomografijom, u kojoj se kao radiofarmak rabi <sup>18</sup>F-fluorodeoksiglukoza. Kod neuroloških simptoma i znakova za slikovnu pretragu mozga mogu poslužiti CT i MR (2).

#### 4.4.3. VIRUSNI TITAR

Istraživanja su pokazala da razvoju PTLD-a prethodi posttransplantacijska prisutnost EBV-DNA u primateljevoj krvi, stoga se perzistirajuća EBV-viremija smatra rizičnim čimbenikom za PTLD (36). Trenutno ne postoji standardizirani test (*assay*) za EBV-kvantifikaciju te se rabe mnoge PCR-platforme, nerijetko i iz vlastite radinosti bolnice ili laboratorija. Posljedično tomu, laboratoriji sami određuju referentne vrijednosti virusnoga titra za primjenu terapije, što otežava usporedbu rezultata između centara. Osim toga, nije definiran optimalan krvni uzorak iz kojega bi se detektirala EBV-DNA, te se tako titar mjeri iz pune krvi, plazme, seruma ili iz perifernokrvnih mononukleara (37). Green (26) navodi, prema Schauer i sur. (38), da perifernokrvni limfociti i mononukleari (PBL/PBMC) sadrže EBV unutar inficiranih limfocita B, bilo unutar tipičnih memorijskih stanica, bilo unutar aberantnih, fenotipno Ig-ništičnih stanica (engl. *aberrant Ig-null phenotype cells*). S druge strane, u uzorcima seruma i plazme mjeri se prisutnost virusne DNA sadržane u zrelim virionima i fragmentima, koji su češći u akutnoj infekciji i EBV-potaknutim malignostima (39). Prema Wadowskom (40), vrijednosti virusnoga titra iz punokrvnih uzoraka dobro koreliraju s perifernokrvnima, ali ne i s onima iz seruma i plazme. Mjerenje posttransplantacijske koncentracije EBV-DNA iz pune krvi pokazalo se korisnim u prognozi i prevenciji nastanka PTLD-a u pedijatrijskih primatelja srčanih (41), jetrenih (19) i matičnostaničnih presađaka (16), a šire studije pokazale su vrijednost metode i u ranoj dijagnostici PTLD-a bez obzira na vrstu transplantata (18). Razvoj

međunarodnoga standarda za testove temeljene na amplifikaciji nukleinskih kiselina (NAAT) Epstein-Barrina virusa nedavno je pokrenula Svjetska zdravstvena organizacija (42). S druge strane, čini se da predtransplantacijska viremija ne predstavlja rizični čimbenik za nastanak PTLD-a i prognostički čimbenik za dugoročni ishod transplantacije (43).

#### **4.4.4. ENDOSKOPSKA DIJAGNOSTIKA**

Crijeva su često zahvaćena bolešću bez obzira na vrstu presatka, stoga bi se rana endoskopija i kolonoskopija trebale vršiti pacijentima s neobjašnjenom bolju i proljevom (26).

### **4.5. PREVENCIJA I LIJEČENJE**

Liječenje PTLD-a nakon presadbe solidnoga organa (SOT-PTLD) i PTLD-a nakon presadbe krvotvornih matičnih stanica (HSCT-PTLD) razlikuju se u koracima terapijske primjene, no zajednička im je redukcija imunosupresije i monoterapija rituksimabom.

#### **4.5.1. PREVENCIJA I LIJEČENJE SOT-PTLD-a**

Terapijski postupci pri liječenju SOT-PTLD-a u Hrvatskoj opisani su u Preporukama za sustavno liječenje limfoma Hrvatske kooperativne skupine za liječenje hematoloških bolesti (44) i istovjetni su onima opisanim u smjernicama „Dijagnostika i liječenje limfoma – drugi hrvatski konsenzus“ (45). U mnogočemu se podudaraju sa smjernicama Britanskoga odbora za hematološke standarde (BCSH) i Britanskoga transplantacijskoga društva (BTS), koje su usporedno opisane u ovom pregledu (46). Premda nisu oblik liječenja *per se*, radi preglednosti i usporedbe s terapijskim postupcima za HSCT-PTLD, najprije će biti prikazani profilaksa i preventivna terapija (engl. *pre-emptive therapy*).

##### **4.5.1.1. PROFILAKSA**

Razlikujemo kemoprofilaksu i imunoprofilaksu (29). Kemoprofilaksa se sastoji primjene antiviralnih lijekova aciklovira, ganciklovira ili valganciklovira. Navedeni lijekovi inhibiraju litičku replikaciju Epstein-Barrina virusa, ali nemaju učinka na latenciju virusa i proliferaciju transformiranih limfocita B. Premda su pojedine manje studije pokazale uspjehe u preveniranju posttransplantacijske viremije i PTLD-a kod presadbe solidnih organa (47–49), prema nedavnom sustavnom pregledu literature uporaba antiviralnih lijekova nema utjecaja na nastanak PTLD-a ni kao profilaksa ni kao preventivna terapija (50).

U imunoprofilaksi se razmatraju dva pristupa koja još nisu zaživjela u široj kliničkoj praksi: primjena intravenskih imunoglobulina (IVIG) i cjepiva protiv Epstein-Barrina virusa. Rezultati uporabe IVIG-a su dvojbeni. Pojedina istraživanja demonstrirala su njihov protektivan učinak (51), dok u drugima on nije zapažen (52, 53). Aktivna imunizacija

cjepivom protiv EBV-a trenutno se istražuje (54), a naponi u razvoju cjepiva uglavnom su usmjereni na glikoprotein gp350.

#### **4.5.1.2. PREVENTIVNA TERAPIJA**

Preventivne terapijske strategije kombiniraju posttransplantacijski kvantitativni nadzor EBV-DNA u perifernoj krvi s intervencijama koje sprječavaju nastanak PTLD-a. EBV-kvantifikacija je najkorisnija tijekom prve posttransplantacijske godine, kada se SOT-PTLD najčešće javlja. Učestalost mjerenja EBV-DNA u krvi može biti tjedna, dvotjedna ili dulja (29).

Smanjenje imunosupresije (RIS) najčešća je inicijalna intervencija u preventivnoj terapiji SOT-PTLD-a (55). U nekim se studijama RIS kombinirao s primjenom antiviralnih lijekova i IVIG-a, no njihova korist ostaje dvojbeno (29). Pojedini se centri odlučuju na davanje mTOR-inhibitorā zbog njihova antiviralnoga i antiproliferativnoga učinka (56), s različitim uspjesima (57, 58).

Za razliku od HSCT-PTLD-a, u preventivnom liječenju SOT-PTLD-a rjeđe se primjenjuje rituksimab (55). Iako su neka istraživanja pokazala korist njegove samostalne primjene (59) ili u kombinaciji s drugim lijekovima (60), postoje sumnje u sigurnost uporabe zbog mogućega uništenja zdravih limfocita B i posljedičnoga nastanka oportunističkih infekcija (61).

Preventivna adoptivna imunoterapija pomoću autolognih ili doniranih poliklonskih EBV-specifičnih citotoksičnih limfocita T obično se rabi u slučaju neuspjeha preventivnoga rituksimaba. Glavni nedostaci ove vrste preventivne terapije jesu cijena, nedostupnost i slabi dokazi o učinkovitosti (62).

#### **4.5.1.3. CILJANA TERAPIJA**

Prvi postupak u liječenju PTLD-a jest smanjenje imunosupresije, uz prekidanje terapije azatioprinom i mofetil-mikofenolatom te smanjenje doze takrolimusa i ciklosporina (45). Prema britanskim smjernicama (46) maksimalni RIS treba iznositi 25–50% temeljne doze, a kod bolesnika se na tjednoj bazi trebaju pratiti promjene u veličini tumora, pad LDH i nestanak konstitucijskih simptoma. Uspjeh RIS-a obično je vidljiv unutar 2–4 tjedna (63).

Kod lokaliziranoga tipa bolesti pristupa se kirurškoj eksciziji ili zračenju. Osim odstranjenja zahvaćenoga tkiva, kirurškom se operacijom zbrinjavaju i crijevne perforacije, opstrukcije i krvarenja kod gastrointestinalnoga oblika. Katkad i ekscizijska biopsija može imati terapijski

učinak (46). Radioterapija se u liječenju PTLD-a, osim kod lokalizirane bolesti, primjenjuje i kod bolesnika koji nisu za kemoterapiju te u palijativnom liječenju PTLD-a.

Prošireni se tip bolesti niskoga rizika, nakon smanjenja imunosupresije i opservacije, liječi monoterapijskim rituksimabom kao prvom linijom liječenja (45). Britanske smjernice preporučuju njegovu primjenu kod izostalog odgovora na RIS u slučaju tzv. niskorizičnoga PTLD-a, koji je definiran izostankom triju rizičnih čimbenika: dobi starije od 60 godina, povišenoga LDH i ECOG-ova izvedbenoga statusa 2–4 (46). Drugu liniju liječenja, prema hrvatskim smjernicama (45), čini uobičajena terapija za limfom kojemu PTLD sličí. S druge strane, u Konsenzusu se po smanjenju proširenosti bolesti primjenom rituksimaba preporučuje prelazak na imunokemoterapiju za indolentni ne-Hodgkinov limfom (44). U slučaju neuspjeha RIS-a i rituksimabne monoterapije, kao i u slučaju klinički agresivnoga limfoma ili kritičnoga oštećenja organa, britanske smjernice preporučuju kombinaciju rituksimaba i antraciklinske terapije (46). Međutim, poželjno je izbjeći antracikline kod bolesnika s transplantiranim srcem zbog njihove kardiotoksičnosti (45, 46).

Rituksimab i kemoterapeutici ne prelaze krvno-moždanu barijeru, stoga nisu od koristi u liječenju PTLD-a koji zahvaća središnji živčani sustav (CNS-PTLD). Britanske smjernice u ovom slučaju preporučuju smanjenje imunosupresije s kombinacijom lokalne radioterapije i steroida, a u mladih bolesnika mogu se primijeniti i visoke doze metotreksata (46). Bolesnik s bolešću visokoga rizika treba se liječiti prema uobičajenim imunokemoterapijskim shemama i eventualnim zračenjem, uz izbjegavanje najagresivnijih protokola (45). Liječenje EBV-specifičnim citotoksičnim limfocitima T, antiviralnim lijekovima, intravenskim imunoglobulinima ili interferonima trenutno se ne preporučuje izvan kliničkih studija (46).

#### **4.5.2. PREVENCIJA I LIJEČENJE HSCT-PTLD-a**

Smjernice Šeste Europske konferencije o infekcijama u leukemiji (ECIL-6) klasificiraju terapijske strategije za HSCT-PTLD u tri kategorije: profilaksa, preventivna terapija i ciljana terapija (64).

##### **4.5.2.1. PROFILAKSA**

Profilaksa podrazumijeva predtransplantacijsku primjenu lijekova radi preveniranja posttransplantacijske EBV-viremije u asimptomatskih EBV-seropozitivnih bolesnika (37). Imunoprofilaksa temelji se na primjeni monoklonskih protutijela i citotoksičnih limfocita T. Iako se rituksimab pokazao sjajnom preventivnom i ciljanom terapijom PTLD-a (vidi odjeljke 4.5.2.2. i 4.5.2.3.), tek je jedna studija utvrdila da je davanje tih anti-CD20-protutijela prije

transplantacije krvotvornih matičnih stanica smanjilo incidenciju posttransplantacijske reaktivacije EBV-a i PTLD-a kod visokorizičnih pacijenata (65). Uporaba EBV-specifičnih citotoksičnih limfocita T također je pokazala veliku učinkovitost samo u jednoj studiji (66) te joj je primjena ograničena na pojedine centre (64).

#### **4.5.2.2. PREVENTIVNA TERAPIJA**

Preventivna terapija (engl. *pre-emptive therapy*) jest primjena lijekova nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica u asimptomatskih bolesnika sa značajnom EBV-viremijom i visokim rizikom nastanka PTLD-a (37, 64). Terapija se sastoji od primjene rituksimaba i redukcije imunosupresije. Rituksimab se pokazao učinkovitim u smanjenju EBV-viremije u odraslih (17) i pedijatrijskih bolesnika (67) te nema negativan utjecaj na dugoročne ishode (17). Europske smjernice preporučuju tjednu dozu od 375 mg/m<sup>2</sup> do nestanka viremije. Obično su dovoljne 1–4 doze (64). Prema istim smjernicama redukcija imunosupresije trebala bi se primjenjivati usporedno s rituksimabom, osim u bolesnika s nekontroliranom teškom akutnom ili kroničnom bolešću davatelja protiv primatelja (GvHD), u kojih bi trebala izostati. Ukoliko su dostupni, mogu se primijeniti i EBV-specifični citotoksični limfociti T (64).

#### **4.5.2.4. CILJANA TERAPIJA**

Prva linija liječenja posttransplantacijskoga limfoproliferativnoga sindroma u primatelja krvotvornih matičnih stanica jest monoterapija rituksimabom (64). Način primjene jednak je primjeni rituksimaba kao preventivne terapije, uz praćenje titra virusne DNA. Dodatne doze mogu smanjiti limfocitnu ekspresiju CD20 i smanjiti učinkovitost terapije (37, 64). Pozitivni prognostički čimbenici za ishod rituksimabne monoterapije jesu: dob mlađa od 30 godina, podležeća nemaligna bolest, odsutnost akutnoga GvHD-a, smanjenje imunosupresije u vrijeme postavljanja dijagnoze i smanjenje viremije nakon inicijalne terapije (68). Kod bolesti proširene na središnji živčani sustav, europske smjernice nude i druge terapijske opcije: kombinaciju rituksimaba i kemoterapije temeljene na metotreksatu i/ili citarabinu ili hidroksiureji, T-staničnu terapiju EBV-specifičnim citotoksičnim limfocitima T, te radioterapiju.

Drugu liniju liječenja čine terapija citotoksičnim limfocitima T i kemoterapija. Kako je spomenuto u liječenju SOT-PTLD-a, liječenje citotoksičnim limfocitima nije širokodostupno (64). Kemoterapija se može primjenjivati samostalno ili u kombinaciji s rituksimabom. Ne preporučuje se kao prva linija liječenja zbog mogućega nastanka neutropenije i odbacivanja grafta.

## **5. ZAKLJUČAK**

Posttransplantacijski limfoproliferativni sindrom veliki je izazov u transplantacijskoj medicini. Zbog sveprisutnosti Epstein-Barr-virusa u odrasloj ljudskoj populaciji, koji je odgovoran za više od polovice slučajeva bolesti, važnost pravovremenih preventivnih i terapijskih intervencija postaje sve veća. U ranom sprječavanju i otkrivanju bolesti bitno je pažljivo pratiti koncentracije virusne DNA u krvi te primijeniti raspoložive profilaktičke i preventivnoterapijske opcije. Uspješna prevencija i liječenje bolesti u konačnici produljuju životni vijek presađenoga alografta i samoga bolesnika te smanjuju troškove u zdravstvenom sustavu.

## **6. ZAHVALE**

Zahvaljujem svojoj mentorici prof.dr.sc. Adriani Vince, dr.med., na stručnom vodstvu tijekom pisanja ovoga rada.

Zahvaljujem i Bogu, svojoj obitelji, prijateljima i kolegama na ljubavi i potpori koje su mi pružali tijekom cijeloga studija, pogotovo u teškim trenucima.

## 7. LITERATURA

1. Swerdlow SH, Webber SA, Chadburn SA, Ferry JA. Post-transplant lymphoproliferative disorders. U: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaine ES, Pileri SA, Stein H i sur. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017. Str. 453-62.
2. Dharnidharka VR, Webster AC, Martinez OM, Preiksaitis JK, Leblond V, Choquet S. Post-transplant lymphoproliferative disorders. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:15088. doi:10.1038/nrdp.2015.88
3. Longnecker RM, Kieff E, Cohen JI. Epstein-Barr Virus. U: Knipe DM, Howley PM, ur. *Fields Virology Sixth Edition Volume Two*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. Str. 1898-959.
4. Opelz G, Döhler B. Lymphomas after solid organ transplantation: a collaborative transplant study report. *Am J Transplant*. 2004;4(2):222-230. doi:10.1046/j.1600-6143.2003.00325.x
5. Vince A. Virus Epstein-Barr. U: Begovac J, Baršić B, Kuzman I, Tešović G, Vince A, ur. *Klinička infektologija*. Zagreb: Medicinska naklada; 2019. Str. 470-8.
6. Bader N. Humani herpesvirusi. U: Kalenić S i sur. *Medicinska mikrobiologija*. Zagreb: Medicinska naklada, 2013. Str. 372-86.
7. Hutt-Fletcher LM. Epstein-Barr virus entry. *J Virol*. 2007;81(15):7825-7832. doi:10.1128/JVI.00445-07
8. Vince A, Dušek D. Herpesvirusi kao uzročnici spolno prenosivih bolesti. *Medicus* [Internet]. 2006 [pristupljeno 05.07.2020.];15(2\_UG infekcije):317-326. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/18166>
9. De Paschale M, Clerici P. Serological diagnosis of Epstein-Barr virus infection: Problems and solutions. *World J Virol*. 2012;1(1):31-43. doi:10.5501/wjv.v1.i1.31
10. Marušić M, Kovač Z. Poremećaji prirodene i stečene imunoreaktivnosti. U: Gamulin S, Marušić M, Kovač Z i sur. *Patofiziologija*. Knjiga prva. Osmo izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2018. Str. 497-501
11. Simons MJ. Nasopharyngeal carcinoma as a paradigm of cancer genetics. *Chin J Cancer*. 2011;30(2):79-84. doi:10.5732/cjc.010.10609



12. Fukayama M. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. *Pathol Int.* 2010;60(5):337-350. doi:10.1111/j.1440-1827.2010.02533.x
13. Song HJ, Srivastava A, Lee J, et al. Host inflammatory response predicts survival of patients with Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Gastroenterology.* 2010;139(1):84-92.e2. doi:10.1053/j.gastro.2010.04.002
14. Stefan C, Bray F, Ferlay J, Liu B, Maxwell Parkin D. Cancer of childhood in sub-Saharan Africa. *Ecancermedalscience.* 2017;11:755. doi:10.3332/ecancer.2017.755
15. Cohen JI, Jaffe ES, Dale JK, et al. Characterization and treatment of chronic active Epstein-Barr virus disease: a 28-year experience in the United States. *Blood.* 2011;117(22):5835-5849. doi:10.1182/blood-2010-11-316745
16. Chiereghin A, Prete A, Belotti T, et al. Prospective Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder prevention program in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant: virological monitoring and first-line treatment. *Transpl Infect Dis.* 2016;18(1):44-54. doi:10.1111/tid.12485
17. Kinch A, Hallböök H, Arvidson J, Sällström K, Bondeson K, Pauksens K. Long-term outcome of Epstein-Barr virus DNAemia and PTLD with the use of preemptive rituximab following allogeneic HSCT. *Leuk Lymphoma.* 2018;59(5):1172-1179. doi:10.1080/10428194.2017.1365860
18. Wareham NE, Mocroft A, Sengeløv H, et al. The value of EBV DNA in early detection of post-transplant lymphoproliferative disorders among solid organ and hematopoietic stem cell transplant recipients. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2018;144(8):1569-1580. doi:10.1007/s00432-018-2674-9
19. Seo E, Kim J, Oh SH, Kim KM, Kim DY, Lee J. Epstein-Barr viral load monitoring for diagnosing post-transplant lymphoproliferative disorder in pediatric liver transplant recipients. *Pediatr Transplant.* 2020;24(4):e13666. doi:10.1111/petr.13666
20. Starzl TE, Nalesnik MA, Porter KA, et al. Reversibility of lymphomas and lymphoproliferative lesions developing under cyclosporin-steroid therapy. *Lancet.* 1984;1(8377):583-587. doi:10.1016/s0140-6736(84)90994-2

21. Doak PB, Montgomerie JZ, North JD, Smith F. Reticulum cell sarcoma after renal homotransplantation and azathioprine and prednisone therapy. *Br Med J.* 1968;4(5633):746-748. doi:10.1136/bmj.4.5633.746
22. 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):173-183. doi:10.1007/s11899-013-0162-5
23. Allen UD, Preiksaitis JK; AST Infectious Diseases Community of Practice. Epstein-Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Am J Transplant.* 2013;13 Suppl 4:107-120. doi:10.1111/ajt.12104
24. Dharnidharka VR, Tejani AH, Ho PL, Harmon WE. Post-transplant lymphoproliferative disorder in the United States: young Caucasian males are at highest risk. *Am J Transplant.* 2002;2(10):993-998. doi:10.1034/j.1600-6143.2002.21019.x
25. Webber SA, Naftel DC, Fricker FJ, et al. Lymphoproliferative disorders after paediatric heart transplantation: a multi-institutional study. *Lancet.* 2006;367(9506):233-239. doi:10.1016/S0140-6736(06)67933-6
26. Green M, Michaels MG. Epstein-Barr virus infection and posttransplant lymphoproliferative disorder. *Am J Transplant.* 2013;13 Suppl 3:41-54. doi:10.1111/ajt.12004
27. Singavi AK, Harrington AM, Fenske TS. Post-transplant lymphoproliferative disorders. *Cancer Treat Res.* 2015;165:305-327. doi:10.1007/978-3-319-13150-4\_13
28. Green M, Webber S. Posttransplantation lymphoproliferative disorders. *Pediatr Clin North Am.* 2003;50(6):1471-1491. doi:10.1016/s0031-3955(03)00127-5
29. Allen UD, Preiksaitis JK; AST Infectious Diseases Community of Practice. Post-transplant lymphoproliferative disorders, Epstein-Barr virus infection, and disease in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant.* 2019;33(9):e13652. doi:10.1111/ctr.13652
30. Aguilera N, Gru AA. Reexamining post-transplant lymphoproliferative disorders: Newly recognized and enigmatic types. *Semin Diagn Pathol.* 2018;35(4):236-246. doi:10.1053/j.semdp.2018.02.001

31. Vakiani E, Nandula SV, Subramaniam S, et al. Cytogenetic analysis of B-cell posttransplant lymphoproliferations validates the World Health Organization classification and suggests inclusion of florid follicular hyperplasia as a precursor lesion. *Hum Pathol.* 2007;38(2):315-325. doi:10.1016/j.humpath.2006.08.014
32. Djokic M, Le Beau MM, Swinnen LJ, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorder subtypes correlate with different recurring chromosomal abnormalities. *Genes Chromosomes Cancer.* 2006;45(3):313-318. doi:10.1002/gcc.20287
33. Chetty R, Biddolph S, Gatter K. An immunohistochemical analysis of Reed-Sternberg-like cells in posttransplantation lymphoproliferative disorders: the possible pathogenetic relationship to Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease and Reed-Sternberg-like cells in non-Hodgkin's lymphomas and reactive conditions. *Hum Pathol.* 1997;28(4):493-498. doi:10.1016/s0046-8177(97)90040-x
34. Vase MØ, Maksten EF, Bendix K, et al. Occurrence and prognostic relevance of CD30 expression in post-transplant lymphoproliferative disorders. *Leuk Lymphoma.* 2015;56(6):1677-1685. doi:10.3109/10428194.2014.966242
35. Végso G, Hajdu M, Sebestyén A. Lymphoproliferative disorders after solid organ transplantation-classification, incidence, risk factors, early detection and treatment options. *Pathol Oncol Res.* 2011;17(3):443-454. doi:10.1007/s12253-010-9329-8
36. Parker A, Bowles K, Bradley JA, et al. Diagnosis of post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients - BCSH and BTS Guidelines. *Br J Haematol.* 2010;149(5):675-692. doi:10.1111/j.1365-2141.2010.08161.x
37. Fujimoto A, Suzuki R. Epstein-Barr Virus-Associated Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Pathogenesis, Risk Factors and Clinical Outcomes. *Cancers (Basel).* 2020;12(2):328. doi:10.3390/cancers12020328
38. Schauer E, Webber S, Kingsley L, Green M, Rowe D. Increased Ig-null B lymphocytes in the peripheral blood of pediatric solid organ transplant recipients with elevated Epstein-Barr viral loads. *Pediatr Transplant.* 2009;13(3):311-318. doi:10.1111/j.1399-3046.2008.00918.x

39. Preiksaitis J. Epstein–Barr viral load testing: Role in the prevention, diagnosis and management of posttransplant lymphoproliferative disorders. U: Dharnidharka VR, Green M, Webber S, ur. Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders. New York: Springer, 2010. Str. 45–68.
40. Wadowsky RM, Laus S, Green M, Webber SA, Rowe D. Measurement of Epstein-Barr virus DNA loads in whole blood and plasma by TaqMan PCR and in peripheral blood lymphocytes by competitive PCR. *J Clin Microbiol.* 2003;41(11):5245-5249. doi:10.1128/jcm.41.11.5245-5249.2003
41. Kim J, Lee J, Kim YH. Clinical Utility of Epstein-Barr Viral Load Assay to Diagnose Posttransplant Lymphoproliferative Disorders in Pediatric Heart Transplant Recipients. *Pediatr Infect Vaccine.* 2017;24(1):44-53. doi:10.14776/piv.2017.24.1.44
42. Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, Minor PD; Collaborative Study Group. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for Epstein-Barr virus for nucleic acid amplification techniques. *Biologicals.* 2016;44(5):423-433. doi:10.1016/j.biologicals.2016.04.010
43. Verghese PS, Schmeling DO, Filtz EA, Grimm JM, Matas AJ, Balfour HH Jr. Transplantation of solid organ recipients shedding Epstein-Barr virus DNA pre-transplant: A prospective study. *Clin Transplant.* 2017;31(11):10.1111/ctr.13116. doi:10.1111/ctr.13116
44. Radna skupina za limfomske bolesti. Preporuke za SUSTAVNO LIJEČENJE LIMFOMA – V3.3 [Internet] Zagreb: Hrvatska kooperativna skupina za liječenje hematoloških bolesti; 2020 [pristupljeno 23. lipnja 2020.] Dostupno na: [https://www.krohem.hr/wp-content/uploads/2020/03/Konsenzus\\_limfomi-2020.pdf](https://www.krohem.hr/wp-content/uploads/2020/03/Konsenzus_limfomi-2020.pdf)
45. Aurer I, Gašparov S, Kralik M, Balenović A, Huić D, Šantek F i sur. DIJAGNOSTIKA I LIJEČENJE LIMFOMA – DRUGI HRVATSKI KONSENZUS. *Liječnički vjesnik* [Internet]. 2013 [pristupljeno 06.07.2020.];135(3-4):0-0. Dostupno na: <https://hrcak.srce.hr/172466>
46. Parker A, Bowles K, Bradley JA, et al. Management of post-transplant lymphoproliferative disorder in adult solid organ transplant recipients - BCSH and BTS Guidelines. *Br J Haematol.* 2010;149(5):693-705. doi:10.1111/j.1365-2141.2010.08160.x

47. Höcker B, Böhm S, Fickenscher H, et al. (Val-)Ganciclovir prophylaxis reduces Epstein-Barr virus primary infection in pediatric renal transplantation. *Transpl Int.* 2012;25(7):723-731. doi:10.1111/j.1432-2277.2012.01485.x
48. Kumar D, Patil N, Husain S, et al. Clinical and virologic outcomes in high-risk adult Epstein-Barr virus mismatched organ transplant recipients. *Clin Transplant.* 2017;31(7):10.1111/ctr.13000. doi:10.1111/ctr.13000
49. Ville S, Imbert-Marcille BM, Coste-Burel M, et al. Impact of antiviral prophylaxis in adults Epstein-Barr Virus-seronegative kidney recipients on early and late post-transplantation lymphoproliferative disorder onset: a retrospective cohort study. *Transpl Int.* 2018;31(5):484-494. doi:10.1111/tri.13085
50. AlDabbagh MA, Gitman MR, Kumar D, Humar A, Rotstein C, Husain S. The Role of Antiviral Prophylaxis for the Prevention of Epstein-Barr Virus-Associated Posttransplant Lymphoproliferative Disease in Solid Organ Transplant Recipients: A Systematic Review. *Am J Transplant.* 2017;17(3):770-781. doi:10.1111/ajt.14020
51. Green M, Kaufmann M, Wilson J, Reyes J. Comparison of intravenous ganciclovir followed by oral acyclovir with intravenous ganciclovir alone for prevention of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus disease after liver transplantation in children. *Clin Infect Dis.* 1997;25(6):1344-1349. doi:10.1086/516139
52. Green M, Michaels MG, Katz BZ, et al. CMV-IVIG for prevention of Epstein Barr virus disease and posttransplant lymphoproliferative disease in pediatric liver transplant recipients. *Am J Transplant.* 2006;6(8):1906-1912. doi:10.1111/j.1600-6143.2006.01394.x
53. Humar A, Hébert D, Davies HD, et al. A randomized trial of ganciclovir versus ganciclovir plus immune globulin for prophylaxis against Epstein-Barr virus related posttransplant lymphoproliferative disorder. *Transplantation.* 2006;81(6):856-861. doi:10.1097/01.tp.0000202724.07714.a2
54. Cohen JJ. Vaccine Development for Epstein-Barr Virus. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1045:477-493. doi:10.1007/978-981-10-7230-7\_22

55. San-Juan R, Manuel O, Hirsch HH, et al. Current preventive strategies and management of Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease in solid organ transplantation in Europe. Results of the ESGICH Questionnaire-based Cross-sectional Survey. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(6):604.e1-604.e6049. doi:10.1016/j.cmi.2015.02.002
56. Adamson AL, Le BT, Siedenburg BD. Inhibition of mTORC1 inhibits lytic replication of Epstein-Barr virus in a cell-type specific manner. *Virology.* 2014;11:110. doi:10.1186/1743-422X-11-110
57. Pascual J, Royuela A, Fernández AM, et al. Role of mTOR inhibitors for the control of viral infection in solid organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis.* 2016;18(6):819-831. doi:10.1111/tid.12601
58. Petrara MR, Serraino D, Di Bella C, et al. Immune activation, immune senescence and levels of Epstein Barr Virus in kidney transplant patients: Impact of mTOR inhibitors. *Cancer Lett.* 2020;469:323-331. doi:10.1016/j.canlet.2019.10.045
59. Choquet S, Varnous S, Deback C, Golmard JL, Leblond V. Adapted treatment of Epstein-Barr virus infection to prevent posttransplant lymphoproliferative disorder after heart transplantation. *Am J Transplant.* 2014;14(4):857-866. doi:10.1111/ajt.12640
60. Vianna RM, Mangus RS, Fridell JA, Weigman S, Kazimi M, Tector J. Induction immunosuppression with thymoglobulin and rituximab in intestinal and multivisceral transplantation. *Transplantation.* 2008;85(9):1290-1293. doi:10.1097/TP.0b013e31816dd450
61. Petropoulou AD, Porcher R, Peffault de Latour R, et al. Increased infection rate after preemptive rituximab treatment for Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Transplantation.* 2012;94(8):879-883. doi:10.1097/TP.0b013e3182664042
62. Gottschalk S, Rooney CM. Adoptive T-Cell Immunotherapy. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2015;391:427-454. doi:10.1007/978-3-319-22834-1\_15
63. Reshef R, Vardhanabhuti S, Luskin MR, et al. Reduction of immunosuppression as initial therapy for posttransplantation lymphoproliferative disorder(★). *Am J Transplant.* 2011;11(2):336-347. doi:10.1111/j.1600-6143.2010.03387.x

64. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*. 2016;101(7):803-811. doi:10.3324/haematol.2016.144428
65. Van Besien K, Bachier-Rodriguez L, Satlin M, et al. Prophylactic rituximab prevents EBV PTLN in haplo-cord transplant recipients at high risk. *Leuk Lymphoma*. 2019;60(7):1693-1696. doi:10.1080/10428194.2018.1543877
66. Heslop HE, Slobod KS, Pule MA, et al. Long-term outcome of EBV-specific T-cell infusions to prevent or treat EBV-related lymphoproliferative disease in transplant recipients. *Blood*. 2010;115(5):925-935. doi:10.1182/blood-2009-08-239186
67. Kim BK, Kang HJ, Hong KT, et al. Successful preemptive therapy with single-dose rituximab for Epstein-Barr virus infection to prevent post-transplant lymphoproliferative disease after pediatric hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis*. 2019;21(6):e13182. doi:10.1111/tid.13182
68. Styczynski J, Gil L, Tridello G, et al. Response to rituximab-based therapy and risk factor analysis in Epstein Barr Virus-related lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplant in children and adults: a study from the Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Clin Infect Dis*. 2013;57(6):794-802. doi:10.1093/cid/cit391

## **8. ŽIVOTOPIS**

Juraj Matej Kovač rođen je u Zagrebu 10. lipnja 1995. godine. Osnovnu školu pohađao je u zagrebačkoj Osnovnoj školi Antuna Mihanovića. Srednjoškolsko obrazovanje stekao je u zagrebačkoj XV. gimnaziji, maturiravši s odličnim uspjehom. Godine 2014. upisao je studij Medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.