

Aus der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. A. Borkhardt

**Virale Infektionen nach allogener und autologer hämatopoetischer
Stammzelltransplantation im Kindes- und Jugendalter**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Yvonne Pufal

2012

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Dekan

Referentin: Prof. Dr. med. D. Dilloo

Korreferent: Prof. Dr. med. O. Adams

Meinen Eltern gewidmet

Danksagung

Für die Überlassung des Themas sowie die stete Diskussionsbereitschaft möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Dagmar Dilloo aus der Abteilung für pädiatrische Hämatologie und Onkologie des Zentrums für Kinderheilkunde der Universität Bonn bedanken.

Weiterhin gilt mein herzlicher und besonderer Dank Herrn Dr. Stefan Schönberger für seine engagierte, geduldige und zeitintensive Betreuung sowie für die vielen Hinweise zur statistischen Auswertung der Daten.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Ortwin Adams aus dem Institut für Virologie der Universität Düsseldorf für die Übernahme des Korreferats sowie die Überlassung der virologischen Daten bedanken.

Mein weiterer Dank gilt Frau M. Schmitz, Frau U. Schreckengast und Frau B. Ehle für ihre Hilfsbereitschaft bei der Suche nach fehlenden Daten, Akten und Blutbildern.

Mein größter Dank gilt von ganzem Herzen meinen Eltern Frau Brigitte Pufal und Herrn Gerd Pufal. Ihre Unterstützung und ihr unermüdlicher Glaube an meine Fähigkeiten machten mir mein Medizinstudium möglich. Ihrer Liebe und ihrem Vertrauen konnte ich mir mein ganzes bisheriges Leben sicher sein. Dafür bin ich sehr dankbar.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Historischer Überblick	1
1.2	Prinzip der Stammzelltransplantation	3
1.2.1	Arten der Stammzellgewinnung und -transplantation.....	3
1.2.2	Spender-Empfängerkonstellationen	5
1.2.3	Durchführung einer Stammzelltransplantation	6
1.3	GvHD nach Stammzelltransplantation	8
1.3.1	Immunologische Grundlagen der GvHD	8
1.3.2	Relevanz für eine Spenderauswahl	9
1.3.3	Klinisches Auftreten	10
1.3.4	Prophylaxe und Therapie einer GvHD	13
1.4	Immunrekonstitution nach Stammzelltransplantation	14
1.5	Virale Infektionen nach Stammzelltransplantation.....	16
1.5.1	Cytomegalievirus	16
1.5.2	Epstein-Barr-Virus (EBV)	19
1.5.3	Humanes-Herpes-Virus Typ 6 (HHV6).....	22
1.5.4	Adenovirus (ADV)	23
1.5.5	Polyoma BK-Virus (BKV)	24
1.5.6	Sonstige virale Infektionen	24
1.5.7	Relevante Virustatika	25
2	Zielsetzung der Arbeit	27
3	Patientenkollektiv und Methoden	28
3.1	Studiendesign und Patientencharakteristika.....	28
3.1.1	Allogen transplantiertes Patientenkollektiv	28
3.1.2	Autolog transplantiertes Patientenkollektiv	32
3.2	Virales monitoring mittels real-time TaqMan®-Technik.....	34
3.3	Präemptive antivirale Therapie	35
3.4	Statistische Analyse	37
4	Ergebnisse	38
4.1	Allogene Blutstammzelltransplantationen	38

4.1.1	Virale DNAämien	38
4.1.2	CMV	41
4.1.3	EBV	43
4.1.4	HHV6, ADV und BKV	44
4.1.5	GvHD	45
4.1.6	HLA-Typisierung	49
4.1.7	unabhängige Risikofaktoren.....	50
4.1.8	Gesamtüberleben	51
4.2	Autologe Blutstammzelltransplantationen.....	53
4.2.1	virale DNAämien	53
4.2.2	CMV	55
4.2.3	EBV	55
4.2.4	HHV6	56
4.2.5	BKV, ADV	58
4.2.6	Gesamtüberleben	58
5	Diskussion	60
5.1	Allogene Blutstammzelltransplantationen.....	60
5.2	Autologe Blutstammzelltransplantationen.....	67
6	Zusammenfassung.....	71
7	Anhang	72
7.1	Abkürzungsverzeichnis	72
7.2	Tabellenverzeichnis	75
7.3	Abbildungsverzeichnis	76
8	Literaturverzeichnis.....	77

1 Einleitung

1.1 *Historischer Überblick*

Eine wichtige Voraussetzung für die Transplantation von Blutstammzellen wurde 1868 geschaffen, als Neumann und Bizzozero unabhängig voneinander das Knochenmark als Hauptort der Blutbildung beim Erwachsenen identifizierten.

Erste experimentelle Arbeiten aus den frühen Fünfzigerjahren des 20. Jahrhunderts zeigten, dass Tiere durch die Transfusion von Knochenmarkszellen vor dem tödlichen Ausfall der Blutbildung nach hochdosierter Ganzkörperbestrahlung (TBI) geschützt werden konnten. Die erste Knochenmarktransplantation (KMT) beim Menschen ist durch Sir Donnall Thomas im Jahr 1956 durchgeführt worden. Dabei wurde einem 63 Jahre alten Mann mit Multiplem Myelom nach fraktionierter Ganzkörperbestrahlung Knochenmark eines fremden Spenders injiziert. Der Patient starb zwölf Tage nach dieser Transplantation an einer akuten Abstoßungsreaktion. Es zeigte sich jedoch, dass sich die im Knochenmark des Empfängers enthaltenen Stammzellen des Spenders zu blutbildenden (hämatopoetischen) Stammzellen entwickeln konnten [1]. Mit der Aussage Thomas':

“The subsequent bone marrow had characteristics of the donor, not the recipient“ begann die Ära der Stammzelltransplantation beim Menschen. Die als revolutionär gefeierte neue Therapieoption ging in den nächsten Jahren zunächst jedoch einher mit schlechten Behandlungsergebnissen, hohen Komplikationsraten und hoher Mortalität [2]. M. Bortin veröffentlichte 1970 die ersten Langzeitergebnisse der bis zum Jahre 1968 durchgeführten 203 Knochenmarktransplantationen. Diese enttäuschten sehr, da nur noch drei von 203 Patienten lebten. Erst neue, erneut durch Sir Donnall Thomas gewonnene Erkenntnisse Ende der 60er Jahre zeigten im Tiermodell, dass es von entscheidender Bedeutung für eine stabile Blutbildung beim Empfängertier ist, gewisse leukozytenspezifische Gewebemerkmale zu beachten, die als Human Leucocyte Antigen (HLA) bezeichnet werden [2, 3]. In der nachfolgenden Zeit wurde somit die Übertragung von Knochenmark HLA-identischer Spender angestrebt. Die Entwicklung serologischer und später molekularbiologischer Methoden zur HLA-Typisierung ermöglichte bald eine gezielte Spenderauswahl auch von nichtverwandten Spendern und führte darüber hinaus zu einer Reduktion der zu Beginn der Transplantationsära meist zum Tode führenden Abstoßungsreaktionen.

Es gelang auf diese Weise die Übertragung von Knochenmark als kurativ therapeutisches Prinzip zu etablieren. Die erste erfolgreiche KMT im Kindesalter geht auf das Jahr 1968 zurück. Damals wurden zwei Kindern Knochenmark eines HLA-identischen Geschwisterkindes zur Therapie einer hereditären Immundefizienz transplantiert. Beide Patienten leben noch heute [4, 5].

Im Jahre 1971 legte Mc Credie den Grundstein zur Gewinnung von hämatopoetischen Stammzellen aus dem peripheren Blut und nicht mehr aus dem Knochenmark des Menschen als er erstmals blutbildende mononukleäre Zellen im peripheren Blut nachwies. Allerdings war die Separation einer ausreichenden Menge dieser Zellen vorerst nur schwer möglich. So sind bis zur Entdeckung hämatopoetischer Wachstumsfaktoren (siehe 1.2) bis zu zehn Sitzungen an einem Zellseparator notwendig gewesen, um eine ausreichende Menge an hämatopoetischen Stammzellen aus dem peripheren Blut zu gewinnen.

1.2 Prinzip der Stammzelltransplantation

1.2.1 Arten der Stammzellgewinnung und -transplantation

Heutzutage wird eine KMT nicht mehr nur dazu benutzt, Menschen mit einer Erkrankung des hämatopoetischen Systems wie akute Leukämie, myelodysplastischem Syndrom, Thalassämie oder einer Erkrankung des Immunsystems kurativ zu behandeln. Die Transplantation von Blutstammzellen kann auch dazu verwendet werden, Patienten mit soliden bösartigen Tumoren, wie z.B. Knochen- oder Gehirntumoren einer intensivierten Chemotherapie, der so genannten Hochdosischemotherapie (HDC), zuführen zu können (siehe 1.2.3).

In der Regel wird für die Transplantation von Blutstammzellen der Oberbegriff der Stammzelltransplantation (SZT) verwendet. Dieser umfasst neben dem Verfahren der KMT auch die Transplantation von peripheren Blutstammzellen (PBSZ) und von Nabelschnurvenenblut (CB).

So können seit den achtziger Jahren die Blutstammzellen nicht nur direkt durch Punktion eines Knochens des Spenders gewonnen werden, sondern auch durch die subkutane oder intravenöse Applikation von granulozytenstimulierenden Wachstumsfaktoren (G-CSF) aus dem Knochenmark mobilisiert und in die Blutbahn ausgeschwemmt werden. Die im Blut zirkulierenden Blutstammzellen werden dann mittels Durchflussszytapherese (Leukapherese) gesammelt und als PBSZ bezeichnet. Zur Gewinnung einer möglichst großen Menge PBSZ für eine autologe SZT kann vor Apherese eine zytostatische Chemotherapie (CTX) durchgeführt werden, da gezeigt werden konnte, dass nach Durchschreitung des Zelltiefes nach CTX zusammen mit der Erholung der Leukozyten auch eine erhöhte Ausschwemmung zirkulierender Vorläuferzellen ins periphere Blut vorhanden ist [4]. Dieses Rebound-Phänomen nach CTX wird auch als Mobilisationsphase bezeichnet.

Die Ausbeute an Blutstammzellen kann mittels eines immunologischen Verfahrens, der Durchflussszytometrie, bestimmt werden. Dabei wird die hämatopoetische Stammzelle über ihr Oberflächenantigen (CD34) identifiziert. Aus dieser Population können sich alle Zellen des Blutes entwickeln. Somit sind sie in der Lage, das hämatopoetische System des Patienten nach Transplantation wieder vollständig aufzubauen (siehe auch 1.5). Eine hohe Anzahl dieser Zellen zeigt den optimalen Zeitpunkt zur Stammzellapherese [6] an, wobei vor Apherese eine Konzentration von mindestens 10 CD34⁺-Zellen/μl peripheres Blut anzustreben ist. Um den Aufbau des

hämatopoetischen Systems sicherzustellen wird eine Anzahl von mindestens 2×10^6 CD34⁺-Zellen/kg Körpergewicht (KG) verlangt. Nach der erfolgreichen Sammlung der Stammzellen bestehen noch verschiedene Möglichkeiten diese aufzureinigen und nach Oberflächenantigenen zu selektionieren. Der Hauptvorteil in der Übertragung CD34⁺ selektionierter Stammzelltransplantate liegt bei der autologen Stammzelltransplantation darin, eine Tumorkontamination des Transplantates weitestgehend zu vermeiden, da z.B. Tumorzellen des Neuroblastoms kein CD34-Antigen exprimieren. Bei der allogenen Stammzelltransplantation CD34⁺ selektionierter Zellen soll primär die Inzidenz schwerer GVHD-Reaktionen (siehe 1.3) durch Depletion der für die GvHD-Reaktion mitverantwortlichen T-Zellen verhindert werden.

Bei unverwandten Stammzelltransplantationen führt die periphere Blutstammzelltransplantation (PBSZT) im Vergleich zur Knochenmarktransplantation zu einer kürzeren Aplasie mit geringerer Morbidität und Mortalität bei geringerer Krankenhausverweildauer und geringerem Bedarf an Erythrozyten- und Thrombozytenkonzentraten [7, 8]. Außerdem wird die Entnahme von Stammzellen aus der Blutbahn als weniger belastend für den Spender empfunden, da das mit einer Knochenmarkentnahme aus dem Beckenknochen verbundene Risiko einer notwendigen Vollnarkose und der postinterventionelle Schmerz ausbleiben.

Größter Nachteil der PBSZT ist, dass bei einigen Patienten trotz Applikation hämatopoetischer Wachstumsfaktoren und vorausgegangener CTX keine ausreichende Mobilisierung zirkulierender Blutstammzellen erreicht werden kann („non-/poor mobilizer“). Weiterhin wird die Inzidenz einer chronischen Abstoßungsreaktion (chronic Graft versus Host Disease (cGvHD); siehe 1.3) bei Patienten nach PBSZT als erhöht beschrieben. Ähnlich häufig und ausgeprägt kommt es bei KMT und PBSZT zu einer akuten GvHD oder Abstoßungsreaktion (aGvHD) [7, 9].

Neben den genannten Stammzellquellen besteht die Möglichkeit Blutstammzellen aus dem Nabelschnurblut eines Neugeborenen zu gewinnen. Die Gewinnung ist für die Gebärende und das Neugeborene risikolos. Weitere Vorteile der Nabelschnurbluttransplantation (CBT) sehen einige Autoren in der schnellen Verfügbarkeit durch ihre Lagerung in großen Nabelschnurblutbanken und einer geringeren Rate an GvHD nach Transplantation, so dass auch Transplantate mit einer niedrigeren HLA-Übereinstimmung verwendet werden können [10]. Der

geringere Grad an Abstoßungsreaktionen liegt beim CB auch darin begründet, dass im CB das noch unreife Immunsystem eines Neugeborenen mit nur eingeschränkt funktionsfähigen Lymphozyten vorhanden ist. Dies bedeutet auf der anderen Seite allerdings auch, dass ein für den immungeschwächten Empfänger erhöhtes Infektionsrisiko zu verzeichnen ist. Letzteres kann allerdings dadurch relativiert werden, dass die Kontamination mit transplantationsrelevanten Viren wie Cytomegalie (CMV)- oder Epstein-Barr-Viren (EBV) bei CB geringer ist als bei der Verwendung von hämatopoetischen Stammzellen Erwachsener. Limitiert wird der Einsatz von Nabelschnurblut als Stammzellquelle durch die zum Teil zu geringe Menge an enthaltenen Blutstammzellen, da in der Regel der neugeborene Spender ein deutlich geringeres Körpergewicht als der Empfänger aufweist. Dieser Limitierung kann mit Transplantation von zwei oder mehr Nabelschnurbluttransplantaten entgegengewirkt werden [11].

Dank ständig steigender Anzahl zur Verfügung stehender gut charakterisierter und kryokonservierter Nabelschnurbluttransplantate wächst die Anzahl durchgeführter CBTs, die klinische Erfahrung und die damit einhergehenden Erfolge seit einigen Jahren.

1.2.2 Spender-Empfängerkonstellationen

Eine Stammzelltransplantation kann im Rahmen unterschiedlicher Spender-Empfänger-Konstellationen durchgeführt werden. Sind Spender und Empfänger die gleiche Person, spricht man von einer autologen Transplantation. Diese Form der Transplantation wird meistens bei Patienten mit soliden Tumoren eingesetzt, bei denen die Erkrankung das eigene blutbildende System nicht primär betrifft. Da der Patient in diesem Fall seine eigenen zumeist aufgereinigten Stammzellen zurück erhält, besteht die Problematik einer GvH-Reaktion nicht. Auf der anderen Seite kann jedoch bei der autologen Transplantation auch der gewünschte Graft-versus-Leukämie (GvL) bzw. Graft-versus-Tumor-Effekt nicht auftreten [12]. Hierbei handelt es sich um einen gewünschten Effekt immunkompetenter Zellen aus dem Graft, der zur Zerstörung von malignem Empfängergewebe (Leukämie- oder Tumorzellen) führt. Bei nachgewiesener GvL treten weniger Rezidive auf, insbesondere bei akuter lymphatischer Leukämie (ALL), chronisch lymphatischer Leukämie (CLL) und AML [13-15].

Sind Spender und Empfänger zwei genetisch unterschiedliche Individuen, so wird die Transplantation von Blutstammzellen zwischen Ihnen als allogene bezeichnet. Hier unterscheidet man zwischen allogene-verwandter und -unverwandter Transplantation. Findet die Transplantation zwischen eineiigen Zwillingen statt, bezeichnet man dies als syngene Transplantation. Erhält der Patient Stammzellen eines Elternteils wird von einer haploidenten SZT gesprochen. Eine allogene SZT ist bei malignen Erkrankungen, die das blutbildende System betreffen, erforderlich [12]. So besteht bei dieser Transplantationsart nicht das Risiko einer autologen Reinfusion von Leukämie- oder Tumorzellen des Patienten. Positiv ist weiterhin der mögliche GvL-Effekt zu werten [16], dem aber das Risiko einer GvHD als Nachteil dieser Transplantationsform gegenübersteht.

1.2.3 Durchführung einer Stammzelltransplantation

Die Transplantation von Blutstammzellen findet in Deutschland in dafür spezialisierten Zentren statt. Sie gliedert sich in drei Phasen:

1. Konditionierung
2. Aplasie
3. Hämatologische und immunologische Rekonstitution

Vor der Stammzelltransplantation erfolgt sowohl bei allogener als auch autologer Transplantation die Zerstörung des Knochenmarks beim Empfänger durch eine so genannte myeloablative Chemotherapie, ggf. unter zusätzlicher Ganzkörperbestrahlung (total body irradiation/TBI). Diese Phase wird als Konditionierungsphase bezeichnet und dauert in Abhängigkeit von der jeweiligen Therapiekombination ca. acht Tage an. Es können verschiedene Chemotherapien wie z. B. Busulfan, Treosulfan, Endoxan, Fludarabin, Melphalan, Thiotepa oder Etoposid eingesetzt werden. Die Therapiekombination wird unter Berücksichtigung der Grunderkrankung, der HLA-Unterschiede zwischen Spender und Empfänger, der Art der Transplantation, des Remissionsstandes, des Allgemeinzustandes und des Alters festgelegt. Als Folge der Konditionierung geht das Knochenmark des Patienten und somit die Produktion aller drei Zellreihen von Blutzellen zu Grunde. Nach Beendigung der Konditionierungsphase erhält der Patient dann die für ihn vorgesehenen Stammzellen. Bis zur Entstehung neuer Blutzellen müssen in der anschließenden als Aplasie bezeichneten Phase Erythrozyten und Thrombozyten mittels jeweiligen Konzentrats transfundiert werden. Aufgrund der Zerstörung der

weißen Blutzellen gilt das Immunsystem des Patienten zu dieser Zeit als besonders geschwächt. Daher erhalten die Patienten bereits in der Konditionierungsphase zur Infektionsprophylaxe antibiotische, antimykotische und virostatistische Therapeutika. An die ca. 2-4 Wochen andauernde Phase der Aplasie schließt sich dann die Phase der Immunrekonstitution, wie unter 1.5. beschrieben, an.

1.3 ***GvHD nach Stammzelltransplantation***

1.3.1 **Immunologische Grundlagen der GvHD**

Eine GvHD kann sowohl bei allogenen-verwandter wie auch -unverwandter Stammzelltransplantation eine lebensbedrohliche Komplikation darstellen. Je nach zeitlichem Auftreten wird die GvHD in eine akute und eine chronische GvHD unterteilt. Die akute GvHD (aGvHD) umfasst den Zeitraum bis Tag 100 (d +100) nach Transplantation, das Auftreten einer GvHD ab Tag +100 wird als chronische GvHD (cGvHD) bezeichnet. Beide Formen können unabhängig voneinander auftreten. Die GvHD wird durch die Immunzellen des Spenders verursacht, die mit der Transplantation von Knochenmark, peripherem Blut oder Nabelschnurblut übertragen werden. Eine GvHD wird vor allem durch die reifen T-Lymphozyten, d.h. CD4⁺ und CD8⁺-Lymphozyten des Spenders initiiert. Diese erkennen die Zelloberflächenantigene des Empfängers als fremd an und werden dadurch aktiviert. Es kommt zur Expansion und Produktion von Komplementfaktoren und Zytokinen, die die Ausbildung entzündlicher Veränderungen an Endothel- und Epithelzellen zur Folge hat.

1966 definierte Billingham erstmals drei entscheidende und auch heute noch zutreffende immunologische Voraussetzungen für die Entwicklung einer GVHD [17]:

- das Transplantat muss immunkompetente Zellen enthalten
- der Empfänger muss dem Transplantat als fremd erscheinen
- dem Empfänger muss es unmöglich sein, eine ausreichende Reaktion zur Zerstörung der transplantierten Zellen auszulösen

Bei der GvHD handelt es sich also um eine Reaktion des Immunsystems auf ihm unbekannte Strukturen. Diese Reaktion richtet sich gegen Major histocompatibility complex (MHC)-Klasse I und MHC-Klasse II-Moleküle der Zelloberflächen. Von diesen Molekülen gelten besonders die drei HLA-Merkmale A, B und DR als transplantationsrelevant. Darüber hinaus sind nach neueren Untersuchungen die HLA-Merkmale C und DQB1 von Interesse. Aufgrund von Differenzen der Gewebsverträglichkeits-Antigene außerhalb des MHC können auch bei vollständiger Übereinstimmung der HLA-Antigene Unverträglichkeitsreaktionen auftreten [18].

Bei der Entwicklung einer akuten GvHD spielen verschiedene Pathomechanismen eine Rolle. Grundsätzlich kann eine GvHD in zwei Phasen eingeteilt werden. Bereits während der Konditionierung, in der sog. afferenten Phase, wird das Empfängergewebe durch die Konditionierungstherapie und deren zytotoxischen Folgen geschädigt (siehe 1.3.3). In Folge dieser Veränderungen kommt es zu einer vermehrten Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen [19]. Diese führen nach der Stammzelltransplantation zu einer Stimulierung reifer T-Lymphozyten des Spenders. Schließlich verursachen die proinflammatorischen Zytokine auch die Aktivierung und Rekrutierung zusätzlicher mononukleärer Effektorzellen aus myeloischen Vorläuferzellen des Spenders, so dass die Immunantwort weiter unterhalten wird. Die efferente Phase der GvHD umfasst die Aktivierung einer Reihe anderer inflammatorischer Effektorzellen, wie T-Zellen, NK-Zellen und Makrophagen (siehe 1.4), die direkt zu Zellschädigungen führen [19].

Die cGvHD wird überwiegend durch T-Zellen des Spenders vermittelt. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, dass so genannte autoreaktive T-Zellen des Spenders vorliegen. Diese Zellen erkennen ein Autoantigen, dessen Träger sowohl der Spender wie auch der Empfänger ist [19].

1.3.2 Relevanz für eine Spenderauswahl

Um die transplantationsbedingte Mortalität so weit wie möglich zu verringern, sollte zumindest für die HLA-Merkmale A, B und DR ein identischer Spender gefunden werden. Für Vollgeschwister besteht dabei eine Wahrscheinlichkeit von 1:4, dass alle o.g. HLA-Merkmale übereinstimmen. Bei einem willkürlich gewählten Fremdspender wäre die Wahrscheinlichkeit mit 1:10.000-1:100.000 anzugeben. Somit sollte zuerst bei den Geschwistern eines Patienten eine HLA-Typisierung durchgeführt werden. Bei nicht vorhandenen Geschwisterspendern wird dann versucht einen HLA-identischen Fremdspender zu gewinnen. Dieses gelingt trotz ständig wachsender Spenderdateien häufig nicht, insbesondere bei Patienten mit seltenen HLA-Typen aus dem arabischen Bevölkerungskreis. In diesem Fall besteht die Möglichkeit der haploidenten SZT bei der ein Elternteil als Spender fungiert. Die Eltern haben allerdings in der Regel nur je einen HLA-Haplotyp mit ihrem Kind gemeinsam, so dass mehr als ein Mismatch in den Allelen der HLA-Antigene auftritt und so im

Rahmen der Konditionierung eine verstärkte Depletion von T-Zellen zur Vermeidung einer GvHD durchzuführen ist.

Als weitere Behandlungsoption steht noch die Transplantation von Nabelschnurblut zur Verfügung (siehe 1.2.1).

1.3.3 Klinisches Auftreten

1.3.3.1 Akute GvHD

Klinisch manifestiert sich die aGvHD meist mit Exanthenen, generalisierter Blasenbildung der Haut, Übelkeit, Erbrechen, gestörter Darmmotilität, Durchfällen, Darmblutungen oder einer Einschränkung der Leber- oder Lungenfunktion [20]. Die aGvHD wird je nach Stärke der Betroffenheit einzelner Organsysteme in unterschiedliche Schweregrade von I° bis IV° eingeteilt (siehe Tabelle 1 entsprechend der Konsensuskonferenz aus dem Jahr 1995 und Tabelle 2 entsprechend der Glucksberg Seattle Kriterien). Weiterhin wird eine, die Schweregrade der einzelnen Organsysteme umfassende, Gesamteinstufung entsprechend Tabelle 3 vorgenommen. Während eine milde GvHD (I° oder II°) mit einer geringen Mortalität assoziiert ist, können höhergradige Formen (III° und IV°) mit Mortalitätsraten von bis zu 90% behaftet sein [21].

Tabelle 1: akute GvHD. Klinische Manifestation, Histologie und Grading [22]

Organ	Klinische Manifestation	Histologie	Grad
Haut	Makulopapulöses Exan- them häufig an Hand- innenflächen und Fuß- sohlen, Blasenbildung	Keratinozytenapoptose, Dyskeratose, Lymphozytenexozytose	Ausschlag: I: <25%, II: 25%-50% III: generalisiert IV: Blasen
Leber	Konjugierte Hyperbiliru- binämie, erhöhte alkalische Phosphatase	Lymphozyteninfiltration des Ductus choledochus, Cholestase, epitheliale Gallengangsschäden	Bilirubin: I: 2-3 mg/dl II: 3,1-6 mg/dl III: 6,1-15 mg/dl IV: >15 mg/dl
Darm	Übelkeit, Erbrechen, Diarrhoe, abdominale Schmerzen, Ileus, gastrointestinale Blutungen	Inflammation der Lamina propria, Zerstörung der Krypten, Mucosaatrophie	Diarrhoen: I: >500 ml/d II: >1000 ml/d III: >1500 ml/d IV: Ileus, Blutungen

Tabelle 2: Glucksberg Seattle Kriterien zum Schweregrad der akuten GvHD [23]

Grad der GvHD	Ausmaß der Organbeteiligung		
	Haut	Leber	Darm
I	Erythem <50% der Haut	keine Beteiligung	keine Beteiligung
II	Erythem >50% der Haut	Bilirubin 2-3 mg/dl	Diarrhoe > 500ml/d oder anhaltendes Erbrechen
III-IV	Generalisierte Erythro- dermie mit Blasen- bildung	Bilirubin >3	Diarrhoe >1000ml/d

Tabelle 3: Akute GvHD. Overall grading [22]

Overall grade	Haut	Leber	Darm
I	1–2	0	0
II	1–3	1	und/oder 1
III	2–3	2–3	und/oder 2–3
IV	2–4	2–4	und/oder 2–4

1.3.3.2 Chronische GvHD

Die cGvHD kann sowohl in lokal begrenzter (z.B. Haut oder Leber) als auch ausgedehnter (sogenannter „extended“) Form in Haut, Leber, Lunge, Speiseröhre, Tränendrüse, seröse Membranen und Mundschleimhaut auftreten. Bis vor kurzem wurde die cGvHD in diese beiden Formen unterteilt. Die US National Institutes of Health (NIH) schlägt nun jedoch die Einteilung in Abhängigkeit von der Anzahl und dem Schweregrad der befallenen Organe vor. Es wurden organspezifische Scoring-Systeme etabliert, die zwischen milden, moderaten und schwerem Organbefall unterscheiden [21].

Ähnlich wie bei autoimmunen Erkrankungen des Sklerodermie–Formenkreises (systemische Sklerodermie, Sjörgen-Syndrom, Sicca-Syndrom) kommt es durch Fibrose und Elastose der Dermis zu einer verdickten, haarlosen, hypo- oder hyperpigmentierten, glänzenden Haut sowie entsprechend der Ausdehnung und Lokalisation zu Speiseröhren- oder vaginalen Strikturen oder zu Keratokonjunktivitiden. In manchen Fällen kann zusätzlich eine Atrophie der Hautanhangsgebilde und der Epidermis auftreten. Häufig leiden die Patienten daher unter Alopezie und Vitiligo. Weiterhin zeigt sich die cGvHD in Form erosiver Schleimhautveränderungen oder Exanthemen. Ferner stellt in der Lunge die obliterierende Bronchiolitis (BOOP) eine Manifestationsart dar. Die Inzidenz der BOOP wird bei allogenen verwandter HLA-identischer Transplantation mit 25-50%, bei HLA-identischen Fremd Spendern mit sogar bis zu 70% beschrieben. Eine ausgedehnte cGvHD hat eine Mortalität von etwa 50%, die auch durch sekundäre Infektionskomplikationen mitbedingt ist [24, 25].

1.3.4 Prophylaxe und Therapie einer GvHD

Selbst bei Übereinstimmung der fünf transplantationsrelevanten HLA-Antigene (siehe 1.3.1) zwischen Spender und Empfänger besteht die Möglichkeit einer GvHD. Mithilfe einer medikamentösen Immunsuppression beim Empfänger kann die Inzidenz und Schwere der GvHD signifikant gesenkt werden, auch wenn die Neben- und Wechselwirkungen der eingesetzten Medikamente (siehe Tabelle 4) ständige Kontrollen und Dosisanpassungen notwendig machen [19]. Heutzutage wird bei der Mehrheit der Patienten eine Kombination aus Cyclosporin A (CSA) und Mycophenolat mofetil (MMF) eingesetzt. Bei HLA-Disparität wird zusätzlich Methotrexat (MTX) verabreicht [21]. Als weitere Medikamente stehen Anti-T-Lymphozyten-Globulin (ATG) sowie im Falle einer manifestierten, schwerwiegenden GvHD Anti-Zytokin-Antikörper wie Daclizumab und Infliximab zur Verfügung [21]. Manche Zentren transplantieren zur zusätzlichen Prophylaxe einer GvHD nur Stammzellapheresate, die keine oder kaum T-Zellen mehr enthalten. Dafür werden die T-Zellen unter Verwendung von monoklonalen Antikörpern und immunomagnetischer Substanzen in bzw. ex vivo depletiert (siehe auch 1.3.1). Nachteilig sind hier das erhöhte Risiko für Transplantatabstoßungen und Infektionen [26] sowie der reduzierte GvL-Effekt. Eine sich rasch manifestierte GvHD wird zumeist mit Kortikosteroiden behandelt bevor mittelfristig Cyclosporin A oder Calcineurininhibitoren wie Tacrolimus zum Einsatz kommen [21].

Tabelle 4: Gebräuchliche Medikamente zur Prophylaxe und Behandlung einer GvHD [19]

Medikament	Nebenwirkung
Cyclosporin A	Nieren- und Leberinsuffizienz, Hyperglykämie, Hypertonie, Hirsutismus, Übelkeit, Erbrechen, Gingiviahypertrophie
Methotrexat	Mucositis, Hepatopathie, Lungenfibrose, Niereninsuffizienz, Anämie, Leukopenie, Übelkeit, Erbrechen
Mycophenolat mofetil	Gliederschmerzen, abdominelle Schmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall, Neutropenie
Anti-T-Lymphozyten-Globulin	allergische Reaktionen bis hin zum anaphylaktischen Schock, Serum-Krankheit

1.4 Immunrekonstitution nach Stammzelltransplantation

Sollten pathogene Erreger äußere Schutzbarrieren des menschlichen Körpers wie die Haut überwinden, helfen weitere Abwehrmechanismen, wobei zwischen einer angeborenen und einer nicht-angeborenen Immunität unterschieden wird.

Zur angeborenen (nicht-adaptiven) Immunität, auch unspezifische zelluläre Immunität genannt, gehören Makrophagen und dendritische Zellen, die auf ihrer Oberfläche Rezeptoren für Bestandteile von Erregern wie Viren und Bakterien besitzen und somit diese anderen Abwehrzellen als fremd präsentieren können. Ebenso gehören natürliche Killerzellen, die zytotoxisch für virusinfizierte Zellen sind und bestimmte Tumorzellen abtöten können, in diese Gruppe.

Von der angeborenen Immunität wird die erworbene Immunität (adaptive Immunität) abgegrenzt, für die die B- und T-Lymphozyten verantwortlich sind. Sie werden im Knochenmark aus hämatopoetischen Stammzellen gebildet und können sich auf neue bzw. veränderte Erreger einstellen und speziell auf diese ausgerichtete Erkennungsmoleküle herstellen.

Nach Durchführung einer Stammzelltransplantation sind sowohl die äußeren Schutzbarrieren, als auch die angeborenen und erworbenen zellulären Bestandteile des Immunsystems stark beeinträchtigt, so dass der Patient einem hohen Infektionsrisiko ausgesetzt ist. Gefährdet ist der Patient auch durch eine Reaktivierung von im Körper bzw. im Stammzelltransplantat befindlichen Viren (z.B. CMV, EBV). Entwickelt der Patient eine akute oder insbesondere eine chronische GvHD, kann die hämatopoetische Erholung (Rekonstitution) länger andauern und somit das Auftreten von Infektionen begünstigen [27].

Die hämatopoetische Rekonstitution nach einer Stammzelltransplantation basiert auf einem komplexen Zusammenspiel der transplantierten Stamm- und Vorläuferzellen und der von diesen produzierten hämatopoetischen Wachstumsfaktoren. Bei unkompliziertem Transplantationsverlauf kommt es in der Regel innerhalb eines Monats zu einer Wiederherstellung des hämatopoetischen Systems sowie der unspezifischen zellulären Immunität. Zögerlicher gestaltet sich die Rekonstitution der spezifischen Immunität in Form des lymphozytären Systems. So dauert es nach Transplantation mehrere Monate bis erstmals altersentsprechende Lymphozytenzahlen (0-2 Jahre >2500/µl, 2-5 Jahre >1500/µl, >5 Jahre >1000/µl [28]) erreicht werden. Dabei handelt es sich fast ausschließlich um B-Lymphozyten und weniger um für die Abwehr viraler Infektionen benötigte T-Lymphozyten [29]. Zudem bleibt die

Funktion der B- und T-Lymphozyten über einen längeren Zeitraum auch dann noch eingeschränkt wenn bereits quantitativ ausreichende Lymphozytenzahlen vorliegen. Meist können erst nach ca. einem Jahr altersentsprechende Werte für die von den B-Lymphozyten gebildeten Immunglobuline gemessen werden. Für die T-Zellrekonstitution nach erfolgter Stammzelltransplantation bestehen in der Regel zwei Wege:

1. antigengetriggerte, periphere Expansion reifer, mittransplantierter T-Zellen
2. de-novo Synthese naiver Zellen im Thymus aus den transplantierten hämatopoetischen Vorläuferzellen [30]

Während der erste Weg zur Wiederherstellung von T-Gedächtniszellen führt, wird dem zweiten Weg die komplette Rekonstitution eines ausgereiften T-Zellsystems zugeschrieben. Dabei erfolgt die Rekonstitution der CD4⁺-Zellen nach ca. 6-12 Monaten nach SZT, eine durchschnittliche CD8⁺-Lymphozyten-Zahl wird bereits nach 4-6 Monaten erreicht. Insgesamt schreitet die Rekonstitution von T-Lymphozyten im Kindes- deutlich schneller voran als im Erwachsenenalter [31].

1.5 Virale Infektionen nach Stammzelltransplantation

Die Infektionsgefährdung in der frühen Posttransplantationsphase (< Tag +30 nach SZT) wird hauptsächlich durch die ausgeprägte Neutropenie bestimmt, welche die Patienten vor allem für bakterielle und mykotische Infektionen anfällig macht. Risikofaktoren sind hier vor allem das Vorhandensein zentraler Zugänge, vorausgegangene Infektionen bei früheren Chemotherapien, schwere Haut- und Schleimhautschädigungen sowie die starke medikamentöse Immunsuppression während und nach der Konditionierungsbehandlung [32]. In dieser Phase treten eher selten Virusinfektionen auf.

In der mittleren Posttransplantationsphase (von der hämatopoetischen Rekonstitution bis Tag +100 nach SZT) erkranken die Patienten häufiger an Virusinfektionen. Einerseits da die Viren sich intrazellulär in den neu entstandenen Leukozyten vermehren können. Andererseits da auch nach der hämatopoetischen Rekonstitution ein kombinierter quantitativer und funktioneller Defekt der für die Abwehr viraler Infektionen wichtigen B- und T-Lymphozyten besteht (siehe 1.5).

Klinisch bedeutsame Virusinfektionen nach allogener Stammzelltransplantation werden durch die zur Gruppe der humanen Herpesviren gehörenden Viren Cytomegalie-Virus (CMV), Epstein-Barr-Virus (EBV), Humanes Herpesvirus Typ 6 (HHV6), Herpes Simplex Virus (HSV) sowie durch Varizella Zoster Virus (VZV), Polyoma BK-Virus (Polyomavirus hominis Typ 1, BKV) und respiratorische Viren wie Respiratory Syncytial Virus (RSV), Influenzavirus A und B, Parainfluenzavirus, Adeno- (ADV) und Rhinovirus, ausgelöst. Dabei treten Infektionen mit HSV und respiratorischen Viren vor allem in der frühen Posttransplantationsphase (< Tag +30), Infektionen mit CMV, VZV, EBV und HHV6 gehäuft in der mittleren (Tag +30 bis +100) und späten Posttransplantationsphase (>Tag +100) auf [33].

1.5.1 Cytomegalievirus

1.5.1.1 Epidemiologie

CMV kommt ubiquitär vor. Im Erwachsenenalter liegt die Durchseuchungsrate in Deutschland und anderen mitteleuropäischen Industrienationen bei 40-60%. In Entwicklungsländern kann sie aufgrund reduzierter Hygieneverhältnisse und in Abhängigkeit von sozioökologischen Verhältnissen bereits im Kindes- und Jugendalter bis zu 100% betragen [34, 35]. Die Übertragung des Virus von Mensch

zu Mensch erfolgt größtenteils über das Blut oder über Körpersekrete, wie z. B. Ausscheidungsprodukte, Tränenflüssigkeit und Muttermilch. Somit stellen Organ- und Stammzelltransplantationen ein Risiko zur Übertragung von CMV dar.

1.5.1.2 Pathologie und Pathogenese

Eine Infektion mit CMV führt über seine cytopathogenen Eigenschaften zu einer typischen Zellvergrößerung (cytos = Zelle (griech.), megas = groß (griech.)) und ist durch die Bildung von Einschlusskörperchen (Eulenaugenzellen) charakterisiert, die für diese Erkrankung pathognomonisch sind. Das Virus repliziert sich obligat intrazellulär, vornehmlich in den Epithelzellen. Auch bei voll funktionierendem Immunsystem kann der Wirt das Virus häufig nicht vollständig eliminieren. So kann es zu einer ständigen Viruspersistenz in verschiedenen Organen kommen, die das Risiko einer Reaktivierung bei Verschlechterung der Abwehrlage birgt. Ferner muss zwischen einer CMV-Infektion mit molekularbiologischem Nachweis des Virus ohne klinische Symptomatik (CMV-DNAämie) und einer CMV-Erkrankung unterschieden werden. Nach Erstinfektion kommt es zu einer Serokonversion, d.h. es werden Antikörper gegen die Antigene des Virus gebildet, die noch sehr lange nachweisbar bleiben können [36]. Bei immunkompetenten Personen verläuft die Primärinfektion meist ohne klinische Symptome. Gelegentlich ähneln die Symptome denen einer EBV-Erkrankung (siehe 1.6.2.2). Es kann zu Fieber, Lymphadenopathie und Hepatosplenomegalie kommen. Für Menschen mit angeborener oder erworbener Immunschwäche oder für immunsupprimierte Patienten (z.B. nach Stammzell- oder Organtransplantation) ist eine CMV-Infektion hingegen eine vitale Bedrohung, da diese häufig in eine manifeste CMV-Erkrankung mündet. Dabei kann sich z.B. eine Chorioretinitis, Pneumonie, Ösophagitis, chronische Diarrhoe oder Hepatitis manifestieren. Bei Patienten nach SZT kann es zusätzlich zu einer CMV-vermittelten Myelosuppression oder einer Abstoßungsreaktion kommen.

CMV-Infektionen sind nach wie vor für einen bedeutenden Teil der Todesfälle nach allogener Stammzelltransplantation verantwortlich, obwohl durch die deutliche Verbesserung von Diagnostik und Therapie die Bedrohung durch eine CMV-Infektion nachhaltig gesunken ist [37]. So wird versucht, eine Übertragung des Erregers auf den Empfänger durch die Gabe CMV-negativer bzw. leukozytendepletierter Blutprodukte zu minimieren. Außerdem wird unter Wahrung der anderen transplantationsrelevanten Kriterien versucht einen Spender mit einem zum Empfänger identischen CMV-Status auszuwählen.

1.5.1.3 Diagnostik und Therapie

Klinisch sind derzeit drei verschiedene Methoden zum Nachweis von CMV etabliert. Mit Hilfe von Immunfluoreszenzverfahren kann bereits nach 1-2 Tagen das pp65-Protein (siehe 1.6.3.1), der Hauptbestandteil des das Kapsid umgebenden Teguments, nachgewiesen werden. Alternativ können im Verlauf mit dem Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) spezifische CMV-Antikörper im Blut detektiert werden. Alternativ lassen sich mit der Polymerasekettenreaktion (PCR) Abschnitte der viralen Erbsubstanz nachweisen und quantifizieren.

Sollte klinisch der Verdacht auf eine CMV-Pneumonie bestehen so ist die bronchoalveoläre Lavage mit Nukleinsäurenachweis mittels PCR eine geeignete Methode zur Bestätigung der pulmonalen Infektion. Eine Enzephalitis kann mittels PCR aus dem Liquor diagnostiziert werden. Gastrointestinale Erscheinungen einer CMV-Erkrankung bedürfen einer Schleimhautbiopsie des betroffenen Abschnittes.

In der Praxis werden verschiedene Strategien zur Prophylaxe und präemptiver Therapie von CMV verfolgt. Beim präemptiven Therapiekonzept werden wöchentlich Untersuchungen zum Nachweis und zur Quantifizierung von CMV durchgeführt, auf die bei positivem Ergebnis mit sofortigem Therapiebeginn reagiert wird, auch wenn noch keine klinischen Symptome vorliegen. Alternativ kann eine prophylaktische intravenöse oder auch perorale Ganciclovirtherapie durchgeführt werden [38]. Dann wird erst beim Auftreten klinischer Symptome eine weiterführende Diagnostik zum Virusnachweis durchgeführt und die virostatistische Therapie dementsprechend adaptiert. Einige Transplantationszentren ergänzen die präemptive Therapie durch die prophylaktische Gabe von Aciclovir (ACV).

Neben Ganciclovir (GCV) und ACV stehen als weitere virostatistische Medikamente Cidofovir und Foscarnet zur Behandlung von CMV-Erkrankungen zur Verfügung. Außerdem konnten bei Patienten mit fehlendem Nachweis CMV-spezifischer T-Zellen im Blut durch die Gabe von in vitro expandierten CMV-spezifischen T-Zellen gute Ergebnisse bei CMV-Erkrankungen erzielt werden [39, 40]. Details zu Dosierungen und Nebenwirkungen der genannten Virustatika bei Kindern werden unter 1.6.7 beschrieben.

1.5.2 Epstein-Barr-Virus (EBV)

1.5.2.1 Epidemiologie

Das Epstein-Barr-Virus (EBV) wurde 1964 durch M.A. Epstein, B.G. Achong und Y.M. Barr in B-Zellen eines Patienten mit Burkitt-Lymphom entdeckt. Werner und Gertrude Henle identifizierten das EBV später als Agens der infektiösen Mononukleose.

Das EBV ist ein humanpathogenes Virus, welches von der IARC (International agency for research on cancer) als Gruppe I Karzinogen eingestuft worden ist. Weltweit sind über 90% der Erwachsenen mit EBV infiziert. In den Industrieländern sind 90% der über 25-jährigen EBV-positiv, wobei sich rund 50% der Bevölkerung schon in den ersten fünf Lebensjahren infiziert. Im Jugendalter steigt die Infektionsrate erneut steil an [35].

1.5.2.2 Pathologie und Pathogenese

Das EBV wird direkt über Speichel oder Tröpfchen übertragen. Bei Kindern verläuft die Primärinfektion in der Regel asymptomatisch, selten als Vollbild einer infektiösen Mononukleose. Demgegenüber präsentieren Jugendliche und Erwachsene nach einer Inkubationszeit von vier bis sechs Wochen häufig das Vollbild einer infektiösen Mononukleose (Pfeiffer'sches Drüsenfieber, „kissing disease“). Diese äußert sich je nach Immunkompetenz in grippeähnlichen Symptomen wie Halsschmerzen (70-90%), Fieber, einer Anschwellung von Lymphknoten (80-100%), Vergrößerung von Leber (15-25%, ikterische Verläufe 5-10%) und Milz (50-60%). Auch Enantheme (25-35%) und Exantheme (5-10%, vor allem unter Ampicillintherapie) treten auf. Im Differentialblutbild ist die ausgeprägte Mononukleose auffällig [35].

In vivo und in vitro infiziert das EBV sehr effizient Epithelzellen und humane B-Lymphozyten im Oropharyngealtrakt. Durch die Lyse der Lymphozyten werden Viren freigesetzt, die dann weitere B-Zellen infizieren (lytische Phase). Das Immunsystem des Wirtes reagiert auf die Infektion mit einer EBV-spezifischen zytotoxischen-T-Zell-Reaktion, die über natürliche Killer-Zellen, CD4⁺- und CD8⁺-zytotoxische T-Zellen vermittelt wird und somit die Vermehrung der infizierten Zellen stoppt. Die massive Expansion EBV-spezifischer CD8⁺-Zellen und die damit verbundene Zytokin-Freisetzung verursachen sowohl die Veränderung des Blutbildes als auch die grippeähnlichen Symptome der Infektiösen Mononukleose, die stets als Immunreaktion des Wirtes zu verstehen sind.

Nach Primärinfektion kommt es zu einer lebenslangen Virusproduktion in den Speicheldrüsen, den Epithelzellen des Oropharyngealtraktes, einigen epithelständigen B-Zellen und dem Knochenmark (latente Phase). In der latenten Phase werden keine infektiösen Viruspartikel produziert, jedoch wird das im Kernplasma liegende EBV-Genom welches als extrachromosomales Episom vorliegt, immer wieder parallel mit dem Genom der Wirtszelle repliziert und so an die Tochterzellen weitergegeben. Nach Abklingen der Primärinfektion ist eine Reaktivierung der Viren möglich, da das Virus aus den latent infizierten Zellen jederzeit entweder spontan oder durch externe Stimuli reaktiviert wieder in den lytischen Zyklus übergehen und so zur endogenen Reinfektion der Epithelzellen führen kann. Ausnahmefälle, in denen sich kein Gleichgewicht zwischen der Immunabwehr des Wirts und dem Virus einstellen kann, führen zu ernststen Erkrankungen wie EBV-assoziierten Tumoren oder auch chronischen EBV-Infektionen [35].

Bei immunsupprimierten Patienten findet die Elimination der EBV-positiven Zellen aufgrund der Immunsuppression nach SZT bzw. durch den Verlust funktionsfähiger T-Helferzellen nur noch teilweise statt. Es kommt zu Fehlfunktionen der zellulären Abwehrmechanismen und zur Reaktivierung des EBV, so dass es zu Erkrankungen kommen kann, die in Zusammenhang mit dem lytischen Zyklus oder der Transformation von Zellen durch EBV stehen. Hierzu zählen pathologische Veränderungen der Hämatopoese wie Anämie, Thrombozytopenie oder Granulozytopenie sowie das virusassoziierte Hämophagozytose-Syndrom (VAHS). Auch Erkrankungen des ZNS wie Meningoenzephalitis, Guillain-Barré-Syndrom und Hirnnervenparesen können sich als ernsthafte und lebensbedrohliche Komplikationen einer EBV-Infektion zeigen. Weiterhin kann es zu Myo- und Perikarditis, oberen Atemwegsobstruktionen, Leberversagen, Milzruptur sowie lymphoproliferativen Krankheitsbildern kommen.

Die gefürchtetste Komplikation einer EBV-Infektion nach erfolgter SZT ist das EBV-induzierte Lymphoproliferative Syndrom, auch „post transplant proliferative disease“ (PTLD) genannt. Nach autologer SZT ist es eine seltene Komplikation, demgegenüber tritt eine PTLD in ca. 1% aller allogenen transplantierten Patienten auf und ist ein akut lebensbedrohliches Krankheitsbild mit unkontrollierter Proliferation von EBV-infizierten B-Lymphozyten. Die proliferierenden B-Lymphozyten infiltrieren das lymphatische Organsystem, die Leber, den Magen-Darm-Trakt und das ZNS.

Innerhalb kurzer Zeit verschlechtert sich der Allgemeinzustand der Patienten stark und es treten hohes Fieber, Lymphadenopathie, pulmonale Symptomatik und eine Transaminasenerhöhung als Anzeichen einer Leberschädigung auf.

Unbehandelt folgen wenige Tage später Multiorganversagen und Tod des Patienten. Als Risikofaktoren für eine PTLD gelten bei SZT-Patienten eine Fremdspendertransplantation, HLA-Mismatch, T-Zell-Depletion, die Gabe von ATG/OKT3 und eine GvH-Reaktion $>II^{\circ}$ [41]. Bei Kindern wurde zusätzlich eine niedrige Lymphozytenzahl nach SZT als Risikofaktor beobachtet [42]. Die Letalität kann auch heute noch bis zu 80% betragen. Entsprechend des zeitlichen Auftretens einer PTLD werden zwei verschiedene Formen unterschieden: Die „early onset“ PTLD, welche innerhalb des ersten Jahres nach SZT auftritt und die „late-onset“ Form, die im zweiten Jahr nach Transplantation auftreten. Die early-onset Form wird besonders gefürchtet, da die Verläufe häufig fulminant mit einer Krankheitsdauer von nur wenigen Wochen einhergehen. Die late-onset Form schreitet langsamer voran. Beide Formen gehen allerdings mit der gleichen Letalität einher [43].

1.5.2.3 Diagnostik und Therapie

EBV kann mittels quantitativer PCR in den verschiedensten Körperflüssigkeiten wie Vollblut, Plasma, Rachenspülwasser oder im Liquor nachgewiesen werden. Die PTLD wird immunhistochemisch in Biopsien oder mittels Durchflusszytometrie in Körperflüssigkeiten diagnostiziert. Eine präemptive bzw. prophylaktische Therapie ähnlich der CMV-Infektion nach SZT wird kontrovers diskutiert, da die Wirksamkeit der bei EBV eingesetzten antiviralen Medikamente wie ACV, GCV und Cidofovir (CDV) nicht eindeutig belegt ist. Empfohlen wird aktuell bei erwachsenen Patienten eine konsequente klinische Beobachtung, vor allem der Patienten mit hohem Risiko für eine PTLD. Bei HLA-identischer allogener SZT sowie autolog transplantierten Patientenkollektiven sind routinemäßige Viruslastüberprüfungen im Erwachsenenalter nicht erforderlich [44]. Bei klinischen Symptomen oder Zeichen einer PTLD sowie deutlicher Zunahme der EBV-Viruslast wird eine präemptive Therapie mit dem monoklonalen CD20-Antikörper Rituximab oder EBV-spezifischen T-Zellen sowie nach Möglichkeit eine Reduktion der immunsuppressiven Therapie empfohlen [44]. Die Rituximabtherapie führt bei bis zu 50% der Patienten zu Nebenwirkungen mit hohem Fieber, Kopfschmerz, Übelkeit und Hautjuckreiz. Eine gefürchtete Nebenwirkung ist weiterhin eine Hypogammaglobulinämie, welche mit einer gesteigerten Infektanfälligkeit einhergeht [38].

1.5.3 Humanes-Herpes-Virus Typ 6 (HHV6)

1.5.3.1 Epidemiologie

HHV6 wurde erstmals 1986 aus Blutkulturen von Patienten mit AIDS und PTLD isoliert. Die Seroprävalenz untersuchter Patientenkollektive wird teilweise mit bis zu 100% angegeben [35].

Die Primärinfektion findet fast ausschließlich innerhalb der ersten drei Lebensjahre statt, zumeist während der ersten 12 Lebensmonate.

1.5.3.2 Pathologie und Pathogenese

Klinisch manifestiert sich das Virus mit grippeähnlichen Symptomen und rezidivierenden hohen Fieberschüben über insgesamt drei Tage an das sich die Ausprägung eines feinfleckigen, auch konfluierenden Exanthems anschließt (Exanthema subitum, Dreitagefieber). Viele Infektionen verlaufen aber auch als unspezifische Fieberepisode. Nach der Primärinfektion kommt es wie bei allen Herpesvirusinfektionen zur Latenzbildung, wobei das Virus in T-Lymphozyten nachweisbar bleibt. Neben Thrombo- und Lymphopenien, Lebererkrankungen und Exanthemen konnten bei Patienten nach SZT mit Nachweis von HHV6 vermehrt interstitielle Pneumonien, Exanthem und Fieber, (Meningo)-Enzephalitis, Hepatitis, Ösopagitis und Gastritis nachgewiesen werden [38].

1.5.3.3 Chromosomal integriertes HHV6 (CIHHV6)

Das HHV6-Virus besitzt neben der Fähigkeit zur Latenzbildung in Lymphozyten auch die Fähigkeit sich in das Genom des Wirtes zu integrieren und so von Generation zu Generation bzw. bei SZT von Spender auf Empfänger übertragen zu werden. So kann es bei PCR-Untersuchungen auf HHV6 zu falsch positiven Ergebnissen kommen. Beweisend hierfür ist dann der Nachweis von CIHHV6 am gleichen Genlocus bei der Elterngeneration bzw. beim Spender beispielsweise mittels in situ Hybridisierung.

1.5.3.4 Diagnostik und Therapie

Die Diagnostik des HHV6 erfolgt analog zu EBV und CMV mittels PCR. Eine erste HHV6-Infektion fällt zumeist 2-4 Wochen nach SZT auch oft klinisch inapparent in PCR-basierten Untersuchungen auf. Da die klinische Relevanz einer HHV6-Infektion nach SZT bislang noch nicht hinlänglich untersucht ist, gehört das HHV6-Screening

wie es sich für o.g. Viren durchgesetzt hat noch nicht in allen Kliniken zur routinemäßigen Untersuchung. Die klinische Relevanz des Virus wird jedoch als zunehmend höher eingestuft.

In vitro Studien belegen die Wirksamkeit von Foscarnet und Ganciclovir gegen HHV6. In neuen klinischen Studien konnte nachgewiesen werden, dass sich präemptiv die Viruslast in Speichel- und Blutproben durch Ganciclovir positiv beeinflussen ließ [45, 46].

1.5.4 Adenovirus (ADV)

Die Inzidenz adenovirusinduzierter Infektionen ist sehr hoch. Weltweit zeigen bereits mit fünf Jahren 70-80% der Kinder Antikörper gegen unterschiedliche Adenoviren. Im Erwachsenenalter sind es nahezu 100%. Bis heute wurden 51 humanpathogene ADV-Serotypen identifiziert. Humanpathogene Adenoviren weisen keine lipidhaltige Virushülle auf, was ihre erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Umwelteinflüsse (Tenazität) erklärt. Die lineare Doppelstrang-DNA ist von einem Viruskapsid umgeben. Dieses ist besetzt mit antennenartigen Fortsätzen die mit unterschiedlichen Rezeptoren menschlicher Epithelien interagieren können und somit die Einschleusung des Virus in die Zielzellen ermöglichen. Die unterschiedlichen Serotypen infizieren auch unterschiedliche Zielzellen im Urogenital-, Respirations- und Gastrointestinaltrakt. Nach kurzer Inkubationszeit (2-10 Tage) lösen sie in den für sie spezifischen Organen unterschiedliche Krankheitsbilder aus zu denen unter anderem Pneumonie, Colitis, Gastroenteritis, Hepatitis, Pankreatitis, Tonsillopharyngitis, Keratokonjunktivitis und Myokarditis gehören. Sie sind bei immunsupprimierten Kindern deutlich häufiger als bei gesunden Kindern [47]. Eine typische Manifestation bei Kindern nach SZT ist die hämorrhagische ADV-Zystitis mit schmerzhafter Hämaturie [48]. Therapeutisch konnten mit Cidofovir vielfach Erfolge erzielt werden [49, 50]. Darüber hinaus stellt die adoptive Gabe spezifischer T-Zellen eine mögliche Behandlungsmethode dar [51]. Mittels (semi-)quantitativer PCR gelingt auch hier bei Hochrisikogruppen frühzeitig und schnell der Nachweis geringster ADV-Lasten aus Blut, Urin oder anderem biotischen Material. Das PCR-Verfahren hat sich daher bei stammzelltransplantierten Patienten zur Diagnostik gegen andere Nachweismethoden wie Viruskultur und ELISA durchgesetzt.

1.5.5 Polyoma BK-Virus (BKV)

Das Polyoma BK-Virus (BKV) ist ein Papovavirus und wurde nach den Initialen des ersten Patienten von dem es isoliert wurde, benannt. Bei Erstinfektion treten unspezifische Symptome wie Fieber oder Infektionen der oberen Atemwege auf. Bei etwa 75% der Erwachsenen lassen sich BKV-Antikörper im Blut nachweisen. Das Virus persistiert im Nierengewebe. Bei Immunsuppression folgen Reaktivierung und Ausscheidung im Urin. Das BKV ist nach Nierentransplantation von besonderer klinischer Bedeutung, da es hier nach Reaktivierung zu Nephropathien und schließlich zum Verlust des transplantierten Organs kommen kann. Etwa drei Monate nach SZT kann im Urin bei 50% aller allogenen und unter 10% aller autologen transplantierten Patienten BKV nachgewiesen werden. Hierbei handelt es sich ausschließlich um Reaktivierungen, da der Nachweis nur bei initial seropositiven Patienten gelingt [52]. Die Infektion verläuft in den meisten Fällen klinisch stumm, eher selten im Rahmen einer hämorrhagischen Zystitis. Bei letzterer tritt sie allerdings dann mit stärksten Schmerzen und einer ausgeprägten Koagelbildung in der Blase auf und kann virostatisch mit Cidofovir behandelt werden.

1.5.6 Sonstige virale Infektionen

Die offensichtliche Zunahme von viralen Infektionen insgesamt ist sicherlich auf spezifischere und sensitivere Nachweisverfahren wie z.B. der PCR sowie die Zunahme an durchgeführten Transplantationen insgesamt zurückzuführen. Weitere transplantationsrelevante Viren kommen aus der Gruppe der respiratorischen Viren. Sie werden häufig bereits vor der Transplantation erworben und können dann bereits kurz nach Transplantation klinisch manifest in Erscheinung treten. Möglich, wenn auch seltener, ist ebenso die Übertragung der Viren durch direkten Kontakt mit infizierten Dritten (Pflegepersonal, Ärzte, Angehörige). RSV wird in diesem Zusammenhang am häufigsten nachgewiesen, gefolgt von Rhinoviren, Parainfluenzavirus Typ 1 und 3 und Influenzavirus Typ A. Weitere relevante Viren sind das humane Metapneumovirus (HMPV) sowie das Masern-, Mumps- und Rötelnvirus [38].

1.5.7 Relevante Virustatika

1.5.7.1 Aciclovir (ACV)

Patienten mit einer Immunschwäche, hervorgerufen durch HIV, sowie immunsupprimierte Patienten bei Organ- oder Stammzelltransplantationen werden in der Regel prophylaktisch mit ACV behandelt. Die in der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie angewendeten Dosierungen sind unter 3.3 beschrieben.

Die Anwendung von ACV ist relativ selten mit Nebenwirkungen verbunden. Bei i.v. Infusionen kommt es etwa bei 0,1-1% der Patienten zu Krampfanfällen, Psychosen, Schläfrigkeit, Halluzinationen und Verwirrtheit. Hier handelt es sich meistens um Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion. Bei etwa 0,01% wurden Anämien, Thrombozytopenien und Leukozytopenien beobachtet.

1.5.7.2 Ganciclovir (GCV)

Ganciclovir ist ein Nucleosidanalogen, das bei Infektionen mit HSV und CMV bei immunsupprimierten Patienten verwendet wird. In einigen Zentren erfolgt die prophylaktische oder präemptive virostatistische Therapie organ- bzw. stammzelltransplanterter Patienten mittels GCV. GCV wirkt selektiv in infizierten Zellen, dies vermindert seine dosis- und häufig auch therapielimitierenden Nebenwirkungen jedoch nicht. Die wichtigste Nebenwirkung einer Ganciclovir-Therapie ist die Neutropenie (Neutrophilenzahlen $< 1000/\mu\text{l}$), die bei etwa 40% der behandelten Patienten auftritt. Die durch GCV ausgelöste Neutropenie ist nach Absetzen des Medikaments zumeist reversibel. Weitere häufige Nebenwirkungen von GCV sind gastrointestinale Beschwerden wie Durchfall, Übelkeit und Erbrechen. Aufgrund der Metabolisierung von GCV über die Niere muss bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion eine Dosisreduktion entsprechend der Herstellerinformation vorgenommen werden (angewendete Dosisschemata der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie siehe 3.3). Valganciclovir, ein Prodrug des Ganciclovirs, steht als orales Therapeutikum zur Verfügung.

1.5.7.3 Foscarnet (PFA)

Foscarnet (PFA) wird hauptsächlich für die Behandlung von HIV-Patienten mit CMV- oder ACV-resistenten HSV-Infektionen verwendet. Darüber hinaus kommt es

zunehmend bei GCV-resistenten CMV-Infektionen zum Einsatz. Weiterhin kann PFA als präemptives Therapeutikum bei CMV-Nachweis verwendet werden. Aufgrund des hohen nephrotoxischen Potentials sollte sowohl vor als auch nach der Infusion des Medikamentes für eine ausreichende Hydratation und Diurese gesorgt werden. Die zweithäufigste Medikamentennebenwirkung ist das Absinken des Serumkalziumspiegels, wobei in der Folge Muskelkrämpfe und Parästhesien auftreten können. Durch eine regelmäßige Kontrolle der Elektrolyte und entsprechende Substitution kann diese Nebenwirkung weitestgehend vermieden werden [53].

1.5.7.4 **Cidofovir (CDV)**

Cidofovir wird bei AIDS-Patienten für die Therapie der CMV-Retinitis eingesetzt. Darüber hinaus findet es Anwendung bei ACV- und PFA-resistenten Virusinfektionen. Die Anwendung wird durch die hohe Nephrotoxizität des Medikamentes limitiert. Deshalb sind hier Gaben von Probenecid und eine ausreichende Hydratation therapiebegleitend notwendig. Eine Proteinurie, die in 51% der Fälle auftritt gilt dabei als frühzeitiger Indikator für eine Nierenschädigung [54].

2 Zielsetzung der Arbeit

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit ist es Faktoren zu identifizieren, die einen Einfluss auf das Auftreten viraler Infektionen oder Erkrankungen nach allogener und autologer hämatopoetischer Stammzelltransplantation im Kindesalter besitzen. Mit Hilfe der gewonnenen Erkenntnisse wurde die in der Klinik für pädiatrische Onkologie, -Hämatologie und klinische Immunologie verfolgte Strategie der präemptiven virostatischen Therapie auf ihren Erfolg hin überprüft. Dabei wurde mindestens einmal wöchentlich das Blut aller Patienten nach SZT mittels PCR auf die CMV-, EBV-, HHV6-, BKV- und ADV-Last hin überprüft. Als Einflussfaktoren für das Auftreten viraler Infektionen wurde die Zeit bis zum Erreichen altersentsprechender Lymphozytenwerte sowie bei allogenen SZT das jeweilige HLA-Mismatch sowie der Einfluss von ATG untersucht. Darüber hinaus wurde analysiert, ob virale Infektionen bzw. die Gabe von ATG die Inzidenz akuter und chronischer GvHD nach allogener SZT beeinflussen. In der autolog transplantierten Patientengruppe wurde ergänzend der Einfluss CD34⁺-selektionierter Stammzelltransplantate auf Virusinfektionen hin untersucht. Zur Definition therapeutischer Erfolge wurden die Messgrößen Gesamtüberleben, therapieassoziierte Mortalität sowie das Auftreten viraler und virusassoziierter Erkrankungen herangezogen.

Da die Viren aus der Gruppe der humanen Herpesviren in besonderem Maße mit Erkrankungen nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation assoziiert sind, standen diese im Mittelpunkt der Untersuchungen.

3 Patientenkollektiv und Methoden

3.1 *Studiendesign und Patientencharakteristika*

In der hier vorliegenden prospektiven Analyse wurden 62 Kinder im Alter von zwei Monaten bis 28 Jahren, die im Rahmen ihrer Grunderkrankung in den Jahren 2002 bis 2004 einer allogenen oder autologen Stammzelltransplantation in der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie unterzogen wurden, untersucht. Die Patienten wurden bis zum Ende des Jahres 2007 weiterverfolgt. Von allen Patienten bzw. deren Gesundheitsfürsorgeberechtigten lagen schriftliche Einverständniserklärungen zur Durchführung einer erweiterten virologischen Diagnostik vor.

3.1.1 Allogen transplantiertes Patientenkollektiv

In der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie wurden insgesamt 40 Patienten (18 weiblich, 22 männlich) einer allogenen SZT zugeführt. Die Typisierung der transplantationsrelevanten HLA-Antigene wurde für die Merkmale A und B sowie DRB1 als molekulargenetische niedrigauflösende Typisierung durchgeführt, während in 35/40 (87,5%) Fällen zusätzlich eine hochauflösende Typisierung für die Merkmale HLA-C und HLA-DQB1 erfolgte.

Im oben genannten Zeitraum erhielten 32/40 (80%) Patienten (weiblich 11, männlich 21) periphere Blutstammzellen, 8/40 (20%) Patienten (weiblich 7, männlich 1) wurden einer KMT unterzogen. Insgesamt erhielten 24/40 (60%) Patienten (21/32 PBSZT-Patienten sowie 3/8 KMT-Patienten) eine in vivo T-Zell-Depletion mit ATG in einer Dosis von 60 mg/kg Körpergewicht. ATG wurde während der Konditionierungsphase verabreicht, welche in Abhängigkeit von Alter und Grunderkrankung entsprechend den jeweiligen Studienprotokollen der "Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie" (GPOH) und der "Pädiatrischen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation" (PÄD-AG-KBT) durchgeführt wurde.

Dreißig Patienten litten an einer malignen Grunderkrankung (10 weiblich, 20 männlich), wobei die Patienten sich bei SZT in unterschiedlichen Remissionszuständen befanden (CR, PR, PD). In 10 Fällen (8 weiblich, 2 männlich) handelte es sich um eine benigne Erkrankung des hämatologischen Systems,

worunter fünf Patienten mit einem schweren kombinierten Immundefekt fielen. Die mediane Nachbeobachtungszeit betrug in diesem Patientenkollektiv 3,53 Jahre.

Der nachstehenden Tabelle (Tabelle 5) sind genaue Angaben zu Patienten-, Erkrankungs- und Transplantationscharakteristika zu entnehmen. Weiterhin finden sich detaillierte Informationen zu Alter, Geschlecht, HLA-Übereinstimmung sowie zur Konditionierungsbehandlung.

Tabelle 5: Patientencharakteristika des allogenen transplantierten Patientenkollektivs

Patientencharakteristika	Anzahl (n=40)
Alter bei Transplantation	0,1-18,2 Jahre
Geschlecht	
männlich	22 (55%)
weiblich	18 (45%)
Grunderkrankung	
Leukämien insgesamt	28 (70%)
Akute lymphoblastische Leukämie (ALL)	13 (33%)
1.CR/2.CR/3.CR/PR	2/7/3/1
Akute myeloische Leukämie (AML)	7 (17%)
1.CR/2.CR/PR/PD	3/2/1/1
Akute bilineäre Leukämie (ABL)	2 (5%)
1.CR	2
Juvenile myelomonozytäre Leukämie (JMML)	4 (10%)
CR/PR/PD	1/1/2
Chronisch myeloische Leukämie (CML)	2 (5%)
1.CP	2
Non-Hodgkin Lymphom (NHL)	2 (5%)
2.CR/PD	1/1
Immundefekterkrankungen	5 (12,5%)
andere nicht maligne Erkrankungen	5 (12,5%)
Stammzellquelle	
KM	8 (20%)
PBSZ	32 (80%)

Stammzellspender	
Verwandt	18 (45%)
Unverwandt	22 (55%)
HLA-match	
10/10	23 (57,5%)
9/10	6 (15%)
8/10	5 (12,5%)
7/10	1 (4%)
6/6	4 (10%)
3/6	1 (4%)
Konditionierungsregime	
TBI + Etoposid	9 (23%)
TBI + Etoposid + Cyclophosphamid	2 (5%)
TBI + Cyclophosphamid	3 (7%)
Busulfan + Cyclophosphamid	8 (20%)
Busulfan + Cyclophosphamid + Etoposid	4 (10%)
Busulfan + Cyclophosphamid + Melphalan	6 (15%)
keine Konditionierung	3 (7%)
andere Konditionierungen	5 (13%)
Empfänger-Serostatus vor SZT	
CMV positiv	18 (45%)
CMV negativ	22 (55%)
EBV positiv	32 (80%)
EBV negativ	8 (20%)
Spender-Serostatus vor SZT	
CMV positiv	24 (60%)
CMV negativ	16 (40%)
EBV positiv	25 (62,5%)
EBV negativ	2 (5%)
EBV-Status unbekannt	13 (32,5%)

Alle Patienten erhielten nach SZT eine antibiotische, antimykotische und eine, wie unter 3.3 näher beschriebene, virusstatische Prophylaxe.

Die GvHD-Prophylaxe nach SZT erfolgte vorrangig mittels CSA und ATG. Im Falle eines erhöhten GvHD-Risikos bei unverwandten SZT mit HLA-Mismatch wurde dieses Regime um MTX ergänzt. Bei Bedarf, z.B. bei Unverträglichkeit gegen eines der Medikamente, wurden diese durch Tacrolimus (FK 506) oder MMF ersetzt. Die verwandten transplantierten Patienten erhielten alle eine Prophylaxe mit CSA, die in Abhängigkeit des individuellen GvHD-Risikos in einigen Fällen durch MTX oder ATG ergänzt wurde. Die CSA-Dosierung orientierte sich an dem jeweils erreichten Medikamentenspiegeln, wobei Werte zwischen 100-150 ng/dl angestrebt wurden. Bei Anzeichen einer GvHD wurden zusätzlich systemisch oder lokal wirksame Steroide verabreicht. Bei 29/40 (73%) Kindern wurde eine Kombination aus den genannten immunsuppressiven Medikamenten eingesetzt. Eine detaillierte Auflistung der verwendeten Immunsuppressiva ist Tabelle 6 zu entnehmen. Eine Reduktion der immunsuppressiven Therapie erfolgte je nach zugrunde liegender Erkrankung und Einschätzung des individuellen Rezidivrisikos. So wurde bei einer malignen Grunderkrankung in der Regel vor Tag +90 damit begonnen die Immunsuppression zu reduzieren um den Effekt des Spender-Immunsystems auf noch residuelle Blasten zu fördern (GvL-Effekt).

Tabelle 6: durchgeführte GvHD Prophylaxe nach allogener SZT

GvHD-Prophylaxe	Verwandt	Unverwandt
ATG	3	21
kein ATG	15	1
CSA	9	1
CSA + MTX	5	0
CSA + ATG	3	1
CSA + ATG + MTX	0	12
CSA + ATG + MTX + MMF	0	4
Andere	1	4

3.1.2 Autolog transplantiertes Patientenkollektiv

Zwischen Januar 2002 und Dezember 2004 erhielten 22 Kinder in der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie autologe Stammzellen im Anschluss an einer hochdosierte Chemotherapie. Bis auf einen Patienten erhielten alle Patienten PBSZ und wurden entsprechend Ihrer Grunderkrankung und den o.g. Richtlinien konditioniert. Insgesamt erhielt die Hälfte der Patienten (11/22, 50%) CD34⁺-selektionierte Stammzellen, während bei der anderen Hälfte der Patienten keine Selektion der Stammzellen vorgenommen wurde. Alle Patienten litten an malignen Grunderkrankungen und waren zwischen 1,3 und 28,5 Jahren alt. Sie befanden sich bei Transplantation ebenfalls in unterschiedlichen Remissionszuständen: CR, PR PD. Weitere Charakteristika sind Tabelle 7 zu entnehmen.

Tabelle 7: Patientencharakteristika des autolog transplantierte Patientenkollektivs

Patientencharakteristika	Anzahl (n=22)
Alter bei Transplantation	1,3-28,5 Jahre (median 12,0)
Geschlecht	
männlich	12 (55%)
weiblich	10 (45%)
Grunderkrankung	
Neuroblastom	9 (41%)
CR/PR/PD	4/3/2
Ewing-Sarkom	4 (18%)
CR/PR/PD	3/1/0
Lymphom gesamt	3 (13,5%)
Hodgkin-Lymphom	2 (9%)
CR/PR/PD	1/0/1
Non-Hodgkin-Lymphom	1 (4,5%)
CR/PR/PD	1/0/0
Akute lymphatische Leukämie	2 (9%)
CR/PR/PD	2/0/0
Andere solide Tumoren	4 (18%)
CR/PR/PD	0/2/2

Konditionierungsregime	
Melphalan + Etoposid + Carboplatin	4 (18%)
Melphalan + Thiothepa + Carboplatin	3 (14%)
Melphalan + Busulfan	2 (9%)
Melphalan + VP16	3 (14%)
Melphalan + VP16 + BCNU + ARA-C	2 (9%)
Thiothepa + VP16	2 (9%)
TBI + VP16	2 (9%)
andere Kombinationen	4 (18%)
Serostatus vor SZT	
CMV positiv	13 (59%)
CMV negativ	9 (41%)
EBV positiv	20 (90%)
EBV negativ	2 (10%)
Stammzellquelle	
PBSZ	21 (95%)
KM	1 (5%)
Transplantat CD34^{+/-}	
selektionierte CD34 ⁺ -Zellen	11 (50%)
unselektionierte CD34 ⁺ -Zellen	11 (50%)

3.2 *Virales monitoring mittels real-time TaqMan®-Technik*

Im Rahmen eines prospektiven Virus-Monitorings wurde die Viruslast von CMV, EBV, HHV6, Polyoma BK-Virus und der häufigsten Adeno-Viren mindestens einmal wöchentlich im EDTA- bzw. Vollblut mittels real-time TaqMan®-PCR bestimmt. In der allogenen Studiengruppe erfolgte die Bestimmung bis zur Beendigung der Immunsuppression, während sie bei Patienten der autologen Studiengruppe bis Tag +100 durchgeführt wurde. Bei klinischem Verdacht wurden die Patienten mindestens zweimal wöchentlich untersucht und das Monitoring auch über obige Zeitangaben hinaus fortgeführt.

Zur Analyse der Viruslast im Institut für Virologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf erfolgte zunächst die DNA-Extraktion aus EDTA-Plasma, wobei das EZ1 DNA Blood Kit (Qiagen®, Hilden, Germany, No. 951034) und das EZ1 Virus Mini Kit (No. 955338) entsprechend der Gebrauchsanweisung des Herstellers eingesetzt wurde. Durch real-time TaqMan®-PCR wurden 5 µl des Eluats auf CMV, EBV, HHV-6, ADV und BKV hin untersucht. Die Auswahl der PCR-Primer sowie der fluoreszierenden Sonden erfolgte mit Unterstützung der Primer Express Software (PE Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany). Jede PCR enthielt jeweils 300nM Forward- sowie Reverse-Primer, 200nM fluoreszierende TaqMan®-Sonde, jeweils 200 µM dCTP und dGTP, 400 µM dUTP, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 5mM MgCl₂, 0.5 U Uracyl-N-Glucosidase (UNG) und 1.25 U *Taq* Gold Polymerase in einem Gesamtvolumen von 50 µl. Die real-time PCR erfolgte in 45 Zyklen (15 Sekunden bei 95°C und 1 min bei 60°C) und wurde mittels einem ABI 7500 Sequence Detection System (PE Applied Biosystems) ausgewertet.

Als DNA-Standards wurden Plasmide hergestellt, welche die gesamte zu amplifizierende Region umfassten. Die serielle Verdünnung der Plasmide erfolgte nach durchgeführter Aufreinigung. Die Empfindlichkeit der real-time TaqMan®-PCRs wurde mit <5 Kopien pro Probe angegeben. Standardisierte Grafiken der C_T-Werte, die der seriellen Verdünnungen der aufbereiteten Referenzplasmide entstammten, wurden erstellt und mit den C_T-Werten der unbekannten Proben verglichen, so dass schließlich die Anzahl der spezifischen Genome berechnet werden konnte.

3.3 *Präemptive antivirale Therapie*

In der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie wurde eine prophylaktische, virostatistische Therapie mit Beginn der Konditionierung zur Stammzelltransplantation durchgeführt. Diese orientierte sich an der jeweiligen Konstellation des CMV- und HSV-Status von Spender und Empfänger (siehe Tabelle 8). Konnte bei beiden kein HSV- und CMV-IgG Nachweis erbracht werden, erhielt der Empfänger ACV in einer Dosierung von 3x5 mg/kg KG/Tag. Sofern Spender oder Empfänger HSV- bzw. CMV-IgG positiv waren, wurde die Dosis auf 3x10 mg erhöht. Sofern eine Seropositivität für HSV und CMV vorlag, wurden 3x15 mg/kg KG/Tag verabreicht. Ferner wurde an Tag -1, Tag +21 und im Verlauf bei Immunglobulinspiegeln unterhalb des altersentsprechenden Normbereiches humanes, polyvalentes Immunglobulin in einer Dosierung von 0,5 g/kg KG/Tag verabreicht. Bei allogenen transplantierten Patienten wurde dieses mindestens bis zur Beendigung der Immunsuppression, bei autolog transplantierten Patienten bis Tag +100 fortgeführt. Bei Auftreten von cGVHD in dem allogenen transplantierten Kollektiv wurden die Kontrollen im monatlichen Intervall fortgesetzt.

Eine DNAämie lag vor wenn in den untersuchten Proben mindestens 500 Kopien/ μ g DNA (EBV/HHV6) oder 1 Kopie/ μ g DNA (CMV, ADV, BKV) bei zwei aufeinander folgenden Blutentnahmen zu detektieren waren. Eine DNAämie galt als beendet, sobald keine Virus-DNA bei zwei aufeinanderfolgenden Messungen mehr nachzuweisen war. Als Reinfektion wurde eine erneut positive Virus-PCR nach mindestens einwöchiger PCR-Negativität bezeichnet.

Im Falle einer CMV-, EBV- oder HHV6-DNAämie erfolgte in der allogenen Gruppe die unverzügliche Umstellung der antiviralen Medikation von ACV auf GCV in einer Initialdosis von 2x5 mg/kg KG/Tag für 14 Tage. Die Therapie wurde dann mit einer Erhaltungsdosis von 1x5 mg/kg KG/Tag fortgeführt, bis die Viruslast wieder unter die genannten Grenzwerte gefallen war. Trat eine DNAämie nach Beendigung der Immunsuppression und somit zu einem späteren Zeitpunkt ohne prophylaktische Therapie mit ACV auf, erfolgte die Therapie in der allogenen Gruppe direkt mittels GCV in den oben genannten Dosierungen. GCV-resistente CMV-, EBV- und HHV6-DNAämien wurden genauso wie eine BKV- oder ADV-DNAämie mit Foscarnet oder Cidofovir behandelt. Patienten des autolog transplantierten Kollektivs wurden bei Nachweis insbesondere einer niedrigen Virus-DNAämie im Blut und fehlendem Nachweis in einer weiteren Körperflüssigkeit oder Organbiopsie zunächst weiterhin

beobachtet sofern keine Co-DNAämie mit einem weiteren der detektierten Viren vorlag. Eine virale Erkrankung wurde entsprechend der veröffentlichten Leitlinien definiert [55].

Tabelle 8: ACV-Dosierung nach CMV-Serostatus von Spender und Empfänger

Empfänger CMV+, Spender CMV+ (R+D+)	3 x 15 mg/kg KG/Tag
Empfänger CMV+, Spender CMV- (R+D-)	3 x 15 mg/kg KG/Tag
Empfänger CMV-, Spender CMV+ (R-D+)	3 x 10 mg/kg KG/Tag
Empfänger CMV-, Spender CMV- (R-D-)	3 x 5 mg/kg KG/Tag (bei positivem Serostatus anderer Viren 3 x 10 mg/kg KG/Tag)

3.4 **Statistische Analyse**

Die statistischen Auswertungen wurden mit SPSS 14.0 durchgeführt, wobei allogene und autologe transplantierte Patienten getrennt voneinander betrachtet wurden. Kategorische Variablen zum statistischen Vergleich der Patienten mit und ohne virale DNAämie sind mit dem exakten Test nach Fisher verglichen worden. In die statistische Aufarbeitung der Daten zu akuter und chronischer GvHD in der allogenen transplantierten Studiengruppe wurden nur Patienten mit nachhaltigem Engraftment einbezogen. Die Schweregrade der akuten und chronischen GvHD wurden anhand der etablierten Kriterien von Glucksberg [23] und Shulman [56] (siehe 1.3.2.2) klassifiziert. Das lymphozytäre Engraftment wurde in Anlehnung an die altersentsprechenden Referenzwerte für absolute Lymphozytenzahlen ermittelt, wobei die unter 1.5 genannten Grenzwerte galten [28]. Kumulative Inzidenzen viraler DNAämien wurden unter Verwendung von Kaplan Meier-Kurven kalkuliert, wobei der log-rank Test zum Vergleich von Subgruppen eingesetzt wurde.

In der allogenen Gruppe wurden 20 mögliche Risikofaktoren für eine virale DNAämie durch eine univariate Analyse untersucht (siehe Tabelle 9 unter 4.1.1).

Zur Bestimmung unabhängiger Variablen, welche die Wahrscheinlichkeit einer auftretenden Virus-DNAämie beeinflussen können, wurde eine multivariate Analyse durchgeführt, für die alle Faktoren der univariaten Analyse eingesetzt wurden, die einen p-Wert von <0.2 aufwiesen (siehe Tabelle 12 unter 4.1.7). Als statistisch signifikant galt ein p-Wert von <0.05 . Alle angegebenen Signifikanzniveaus sind zweiseitig.

4 Ergebnisse

4.1 *Allogene Blutstammzelltransplantationen*

4.1.1 Virale DNAämien

Insgesamt wurde während eines medianen Nachbeobachtungszeitraumes von 3,7 Jahren (0,2-5,8 Jahre) bei 25/40 (63%) Patienten virale DNA nachgewiesen. Hierbei handelte es sich am häufigsten um EBV-DNA (19/40, 48%), bei weiteren 11/40 (28%) Patienten wurde CMV-DNA nachgewiesen. Die anderen Viren wurden selten detektiert. Nur zwei Kinder zeigten positive Testergebnisse für HHV6 (2/40, 5%). Bei einem weiteren Kind ließen sich nach unverwandter SZT BKV und ADV (1/40, jeweils 2,5%) nachweisen. Eine Übersicht über die detektierten viralen DNAämien gibt Abbildung 1.

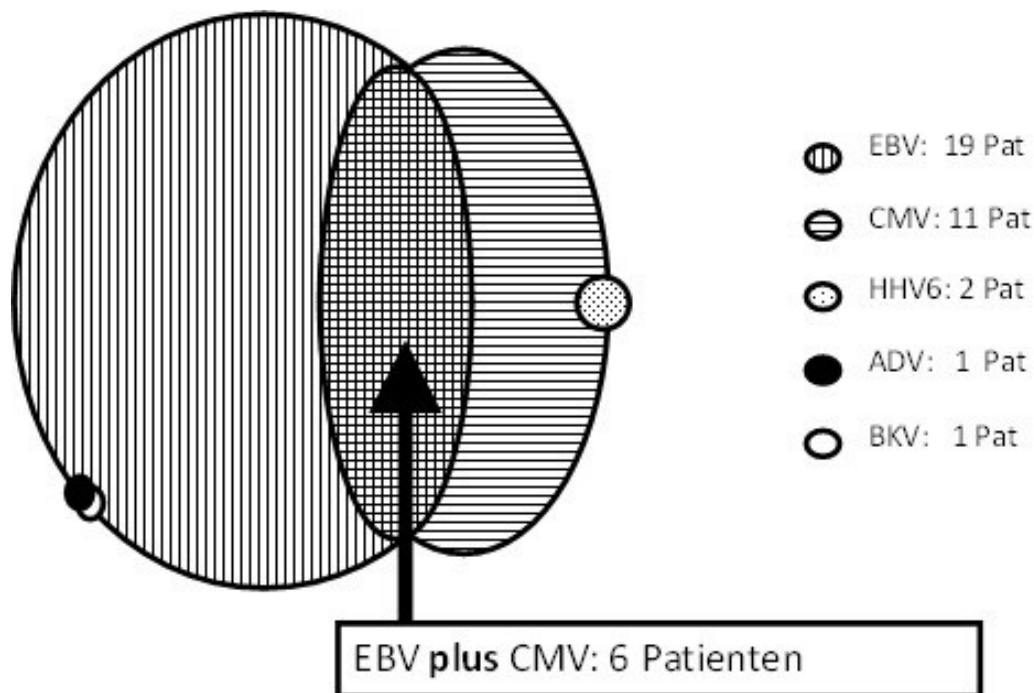


Abbildung 1: Quantitatives Auftreten viraler DNAämien

Eine virale DNAämie wurde ausschließlich nach neutrophilem Engraftment und zumeist innerhalb der ersten drei Monate nach SZT beobachtet. Das zeitliche Median der ersten Virusdetektion lag bei 77 Tagen (12-147 Tage). Im Schnitt wurden die

Patienten dann 25 Tage mit GCV behandelt (12-147 Tage). Während der Behandlungsdauer traten keine gravierenden Nebenwirkungen wie schwere Beeinträchtigungen der Nierenfunktion oder des blutbildenden Systems auf.

Das neutrophile und thrombozytäre Engraftment war durchschnittlich an Tag 18 (8-28 Tage) bzw. an Tag 22 (15-58) erreicht. Ein lymphozytäres Engraftment, festgelegt an altersbezogenen Grenzwerten, konnte bei 30/40 (75%) Patienten zu unterschiedlichen Zeitpunkten festgestellt werden. Bei 5/40 (12,5%) Patienten kam es innerhalb der ersten 12 Monate nach SZT nicht zum Erreichen der altersentsprechend definierten Lymphozytenzahlen, weitere 5/40 (12,5%) Patienten starben bevor eine lymphozytäre Rekonstitution erreicht werden konnte. Patienten mit fehlendem lymphozytären Engraftment zwei Monate nach SZT zeigten zwar kein statistisch signifikant höheres Risiko eine virale DNAämie zu entwickeln, jedoch ist ein Trend dahingehend erkennbar (siehe Abbildung 2).

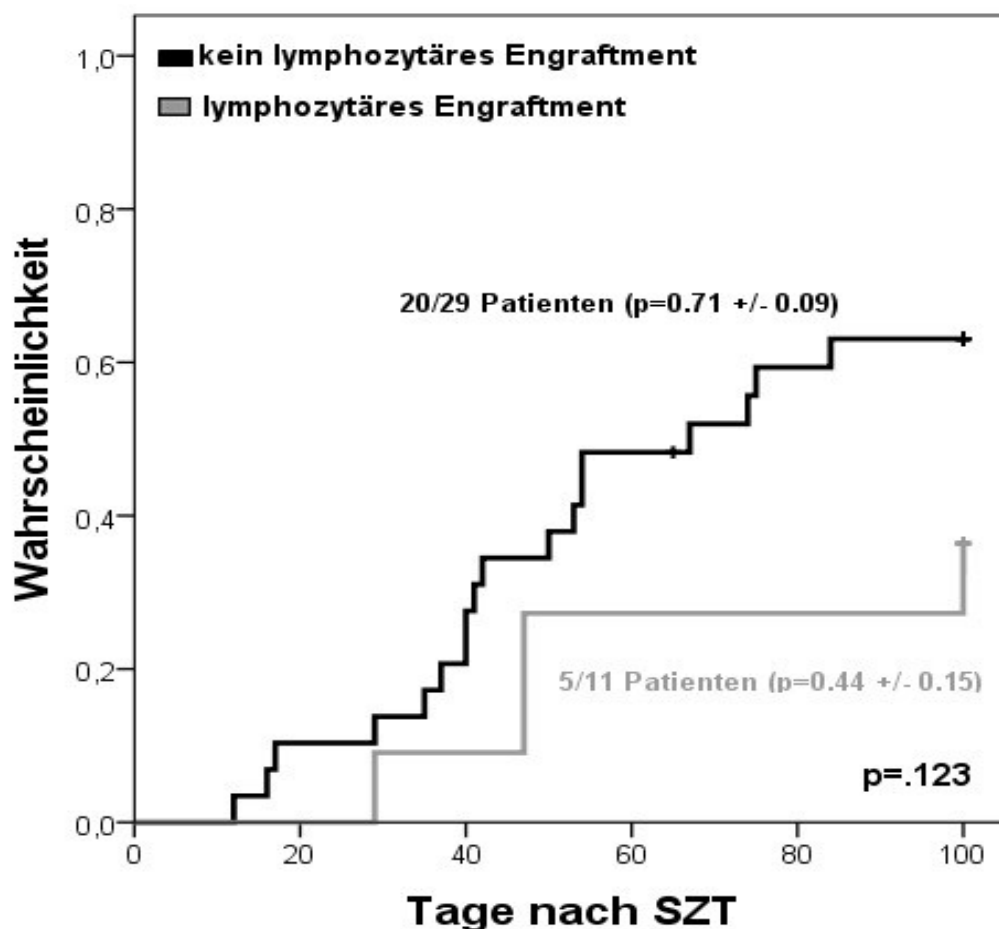


Abbildung 2: Kaplan Meier-Darstellung der kumulativen Inzidenz viraler DNAämie in Abhängigkeit vom lymphozytären Engraftment nach zwei Monaten

Weiterhin ist beachtenswert, dass keiner der zehn Patienten (0/10, 0%) mit einer nicht malignen Grunderkrankung (NMG) innerhalb der ersten zwei Monate nach SZT die Kriterien des lymphozytären Engraftments erreichte, wobei 11/30 (37%) Patienten mit einer malignen Grunderkrankung eine lymphozytäre Rekonstitution zeigten. Unter den zehn Patienten mit einer NMG entwickelten acht (8/10, 80%) eine virale DNAämie, hiervon sogar 6/10 (60%) Patienten mindestens zweimal. Somit war das Risiko für eine rekurrende DNAämie ebenso wie das Risiko für eine virale Erkrankung in dieser Kohorte signifikant höher (rekurrende DNAämie: NMG 6/10: 60% vs. MG 3/30: 10%, $p=0.028$; virale Erkrankung: NMG 6/10: 60% vs. MG 3/30: 10%, $p=0.003$).

Insgesamt ließ sich beobachten, dass alle Patienten, die eine manifeste virale Erkrankung entwickelten die angewandten Viruslast-Grenzwerte überschritten hatten. Bei der Hälfte der betroffenen Patienten (5/10, 50%) war es sogar zu einem Anstieg der zuvor detektierten Viruslast um mindestens eine log-Stufe gekommen.

Die in den univariaten Analysen überprüften Risikofaktoren für das Auftreten einer viralen DNAämie sind Tabelle 9 zu entnehmen, wobei dort Faktoren mit statistischer Signifikanz hervorgehoben wurden.

Tabelle 9: Ergebnisse der univariaten Analyse der Risikofaktoren für eine virale DNAämie

verglichene Merkmale	p	odds ratio	95% KI	
Stammzellquelle (PBSZ vs. KM)	0,03	0,38	0,16	0,90
Erkrankung (maligne vs. nichtmaligne)	0,13	1,90	0,82	4,42
Verhältnis (verwandt vs unverwandt)	0,32	0,66	0,30	1,49
CMV-Status Spender (CMV-D-/CMV-D+)	0,38	1,43	0,65	3,15
CMV-Status Empfänger(CMV-R-/CMV-R+)	0,06	0,47	0,21	1,04
HLA-mismatch:>=9/10 vs.<9/10)	0,02	0,32	0,12	0,86
HLA-mismatch:=10/10 vs. <10/10	0,12	0,51	0,22	1,19
HLA-mismatch (=6/6 vs. <6/6)	0,99	0,98	0,13	7,30
HLA C mismatch (nein vs. ja)	0,35	0,65	0,27	1,61
in vivo T-Zell Depletion (kein ATG vs ATG)	0,03	0,37	0,15	0,90
nur CSA als GvHD-Prophylaxe (nein vs ja)	0,22	1,85	0,69	4,95
akute GvHD (nein vs. ja)	0,08	2,11	0,92	4,84
akute GvHD (0-1 vs. 2-4)	0,01	3,27	1,41	7,58
akute GvHD (0-2 vs. 3-4)	0,25	2,33	0,55	9,94

lymphozytäres Engraftment (nein vs. ja)	0,30	2,48	0,45	13,57
nach 2 Monaten (nein vs. ja)	0,15	2,08	0,78	5,57
nach 3 Monaten (nein vs. ja)	0,51	1,31	0,58	2,95
nach 6 Monaten (nein vs. ja)	0,38	0,64	0,24	1,74
nach 9 Monaten (nein vs. ja)	0,97	1,02	0,37	2,82
nach 12 Monaten (nein vs. ja)	0,67	1,25	0,45	3,45

4.1.2 CMV

Eine Häufung von CMV-DNAämien konnte bei Patienten mit NMG festgestellt werden (siehe Abbildung 3). Darunter befanden sich drei Patienten mit einem Immundefekt als Grunderkrankung. Bei 6/10 (60%) Kindern mit einer NMG wurde als Stammzellquelle Knochenmark eines Geschwisterkindes verwendet.

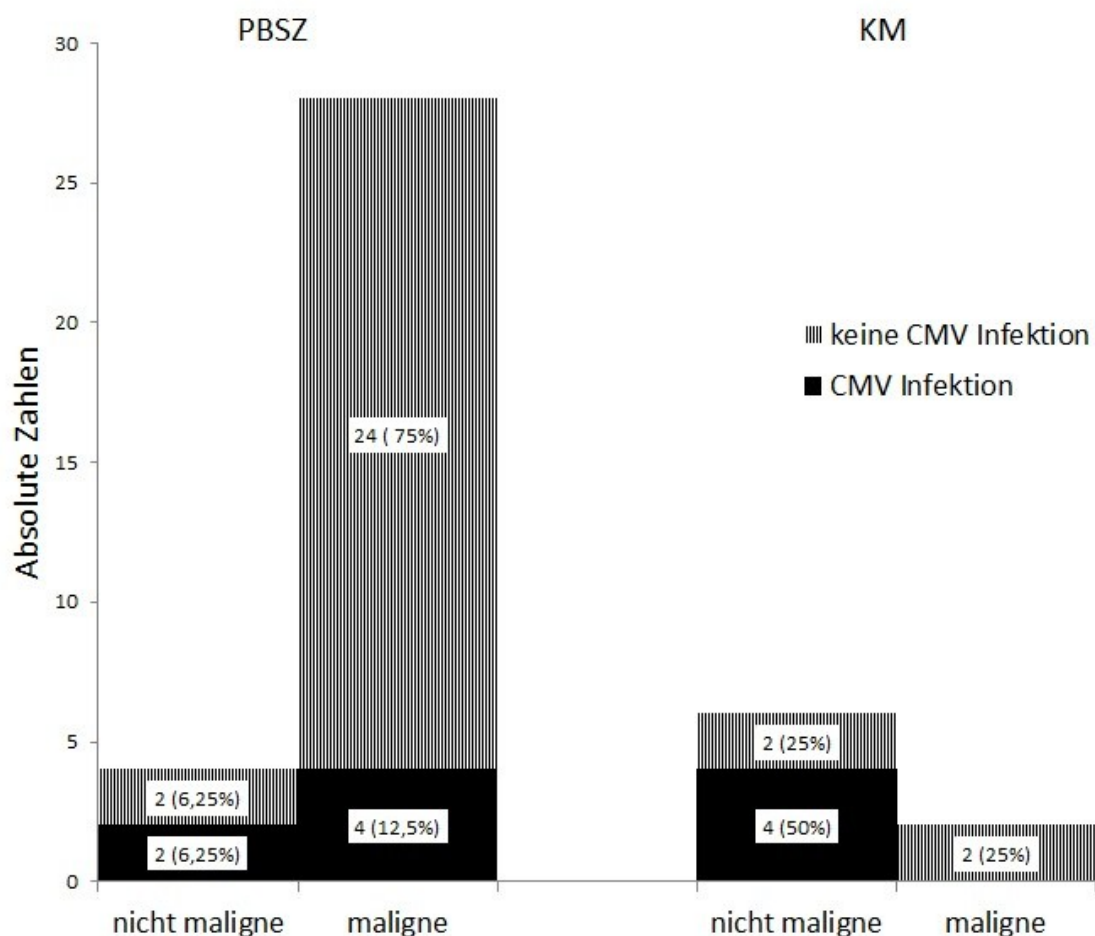


Abbildung 3: CMV-DNAämien in Abhängigkeit von Stammzellquelle und Grunderkrankung

Es entwickelten 5/11 Patienten (45%) mit CMV-DNAämie eine behandlungspflichtige CMV-Erkrankung, welche sich in drei Fällen als Pneumonie und in zwei Fällen als Hepatitis manifestierte. Bei 4/5 (80%) Kindern mit CMV-Erkrankung lag eine NMG vor (CMV+/NMG 4/10: 40% vs. CMV+/MG 1/30: 3%, $p=0.01$). Als signifikanter Risikofaktor für eine CMV-DNAämie konnte unabhängig vom CMV-Spenderstatus ein positiver CMV-Empfängerstatus festgestellt werden ($p=0.006$, siehe Tabelle 10). Ein positiver Spenderstatus (CMV+/CMV-D+ 24/40: 60% vs. CMV+/CMV-D- 16/40: 40%, $p=0.728$) war hingegen nicht signifikant mit einer CMV-DNAämie korreliert. Nur 1/11 (9%) Patienten mit CMV-negativer Empfänger- und CMV-positiver Spenderkonstellation hatten ein positives Testergebnis für CMV. Zu einer rekurrenden CMV-DNAämie kam es bei 2/11 Patienten (18%), wobei einer der betroffenen Patienten an einer NMG litt (Kostmann-Syndrom) und an einer CMV-Pneumonie erkrankte.

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der bei 24/40 (60%) Patienten angewandten in vivo T-Zell-Depletion mit ATG und dem Auftreten einer CMV-DNAämie konnte nicht hergestellt werden (CMV+/ATG+ 7/24: 29% vs. CMV+/ATG- 4/16: 25%, $p=0.533$). Es kam jedoch bis Tag +100 unter ATG-Gabe insgesamt häufiger zu CMV-Infektionen: 7/11 (64%) Patienten mit CMV-DNAämie erhielten im Rahmen der Konditionierung ATG. Auch die absolute Viruslast bei den Patienten ohne ATG-Behandlung war im Vergleich zu ATG-behandelten Patienten tendenziell niedriger, wobei insgesamt Viruslasten von bis zu 4×10^3 K/μg DNA festgestellt werden konnten (siehe Abbildung 5). Weiterhin konnte festgestellt werden, dass 7/11 Kindern (64%) mit CMV-DNAämie im Verlauf ebenfalls für mindestens eines der weiteren untersuchten Viren (siehe 3.2) positive Testergebnisse aufwiesen. Dabei wurde bei 6/11 (55%) Patienten EBV als häufigstes Virus detektiert.

Tabelle 10: Risikofaktoren für eine CMV-DNAämie

Risikofaktoren	Patienten	CMV-DNAämie	Rate an DNAämie	P
Grunderkrankung				0.014
Nicht maligne	10	6	60%	
Maligne	30	5	17%	
Empfängerstatus				0.006
CMV-R+	18	9	50%	

CMV-R-	22	2	9%	
--------	----	---	----	--

4.1.3 EBV

Bei 19/40 Kindern (47%) wurde nach SZT eine EBV-DNAämie detektiert, ein positiver EBV-Empfängerstatus wurde in 15 Fällen festgestellt. Es zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen EBV-Serostatus des Empfängers und einer daraus folgenden DNAämie (EBV+/EBV-R+ 15/32: 47% vs. EBV-/EBV-R+ 17/32: 53%, $p=1.0$, siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: Risikofaktoren für eine EBV-DNAämie

Risikofaktoren	Patienten	EBV-DNAämie	Rate an DNAämie	p
Grunderkrankung				0.571
Nicht maligne	10	5	50%	
Maligne	30	14	47%	
Empfängerstatus				0.592
EBV-R+	32	15	47%	
EBV-R-	8	4	50%	

Im Gegensatz zu CMV kam es 11 mal und somit deutlich häufiger zu einer rekurrenden EBV-DNAämie. Hiervon betroffen waren 8/19 (42%) positiv auf EBV getestete Patienten, bei 2/8 (25%) dieser Patienten kam es sogar zu zwei und mehr EBV-DNAämien, aus denen sich in einem Fall eine EBV-Hepatitis manifestierte. Insgesamt wurden zwei EBV-Pneumonien, eine EBV-Hepatitis und eine EBV-Gastritis diagnostiziert, wobei alle Erkrankungen nicht tödlich verliefen. Zu einer PTLD kam es bei keinem Patienten. Unter den vier Patienten mit einer EBV-Erkrankung erhielten drei (3/4 Patienten, 75%) im Rahmen der Konditionierung eine T-Zell-Depletion mit ATG. Darüber hinaus war auch das Auftreten einer EBV-DNAämie signifikant mit der Anwendung von ATG assoziiert (EBV+/ATG+ 15/24: 63% vs. EBV+/ATG- 4/16: 25%, $p=0.027$).

Ähnlich wie bei CMV zeigten die Patienten unter ATG-Behandlung eine insgesamt höhere absolute EBV-Viruslast (siehe Abbildung 5), wobei keines der vier erkrankten Kinder eine Viruslast über 10^4 Kopien/ μ g DNA aufwies. Bei 3/4 (75%) erkrankten Kindern ließ sich im weiteren Verlauf mindestens ein weiteres der untersuchten Viren detektieren.

EBV-DNAämien traten im Unterschied zu CMV-Nachweisen bei Kindern mit NMG nicht signifikant häufiger auf. Auch die Stammzellquelle hatte keinen Einfluss auf das Auftreten einer EBV-DNAämie (siehe Abbildung 4).

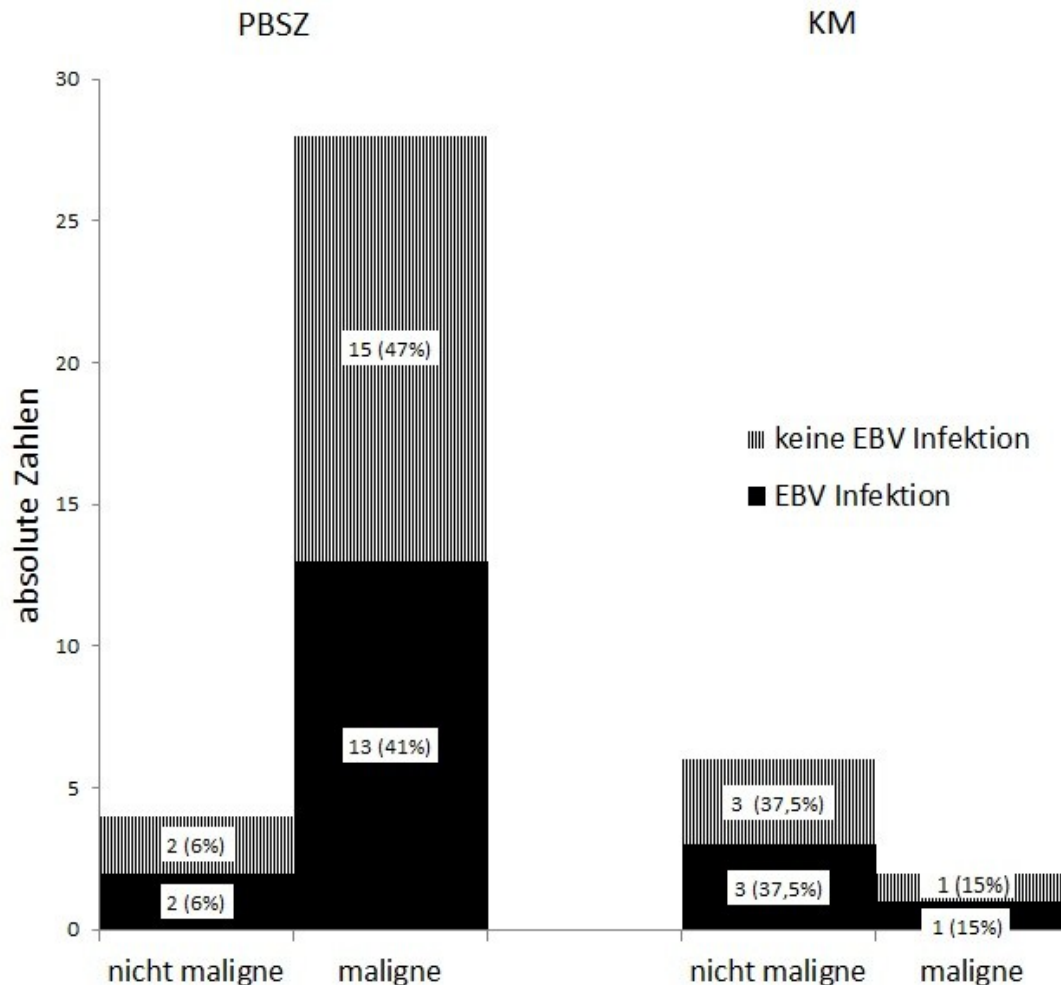


Abbildung 4: EBV-DNAämien in Abhängigkeit von Stammzellquelle und Grunderkrankung

4.1.4 HHV6, ADV und BKV

Lediglich 2/40 (5%) Patienten entwickelten eine den Kriterien entsprechende HHV6-DNAämie mit einer Viruslast >500 Kopien/µg DNA, wobei in einem Fall eine milde HHV6-assoziierte Pneumonie auftrat. Entsprechend wurde bei diesen Patienten eine präemptive Therapie mit GCV eingeleitet. Beide Kinder litten an einem schweren Immundefekt (SCID) und entwickelten eine chronische GvHD.

HHV6-DNAämien unterhalb der definierten Grenze von 500 Kopien/µg DNA waren insgesamt 110 mal als einmalige und 26 mal als zeitlich zweimal aufeinander folgende Detektion zu verzeichnen. Zu klinischen Symptomen kam es unter diesen

niedrigen Viruslasten nicht, so dass auch aus klinischer Sicht keine virostatistische Therapie erfolgen musste. Ohne diese Intervention normalisierten sich die HHV6-Lasten im Verlauf.

Eine ADV- und BKV-DNAämie konnte nur bei einem Patienten (1/40, 2,5%) festgestellt werden ohne dass sich eine hämorrhagische Zystitis oder eine andere ADV- oder BKV- assoziierte Erkrankung entwickelte. Allerdings war dieser Patient zuvor bereits manifest an EBV erkrankt nachdem er im Rahmen der Konditionierung eine T-Zell-Depletion mit ATG unterzogen wurde. Unter zusätzlicher Immunsuppression mit CSA kam es im Verlauf zwar nicht zu einer akuten GvHD, jedoch zu einer schweren Verlaufsform einer chronischen GvHD bei der zeitgleich eine EBV-DNAämie nachgewiesen werden konnte. Der Patient verstarb schließlich an den Komplikationen einer Sepsis im Multiorganversagen bei nachgewiesener Pilzpneumonie.

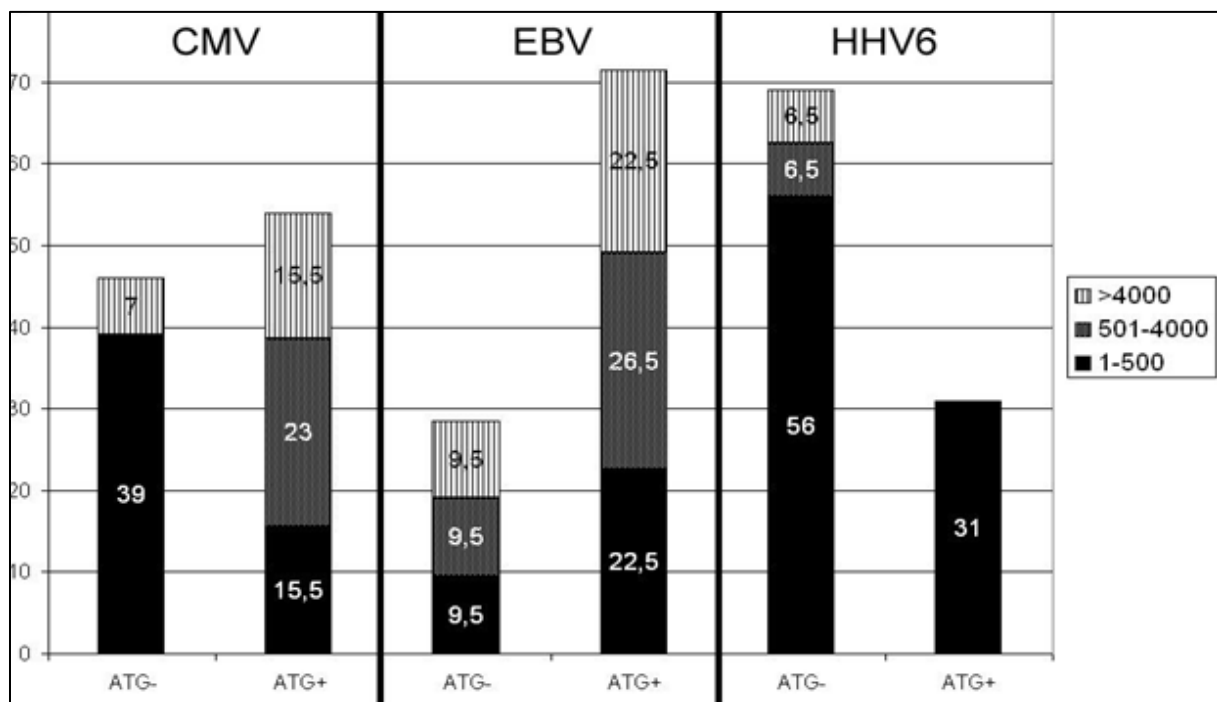


Abbildung 5: Viruslasten in Abhängigkeit von einer ATG-Anwendung

4.1.5 GvHD

Eine akute GvHD mit ausgeprägter Verlaufsform kam bezogen auf das Gesamtkollektiv der allogenen transplantierten Patienten nur selten vor. Insgesamt entwickelte kein Patient eine akute GVHD IV° und nur 5/40 (12,5%) Patienten eine akute GVHD III°. An den Folgen einer schweren akuten GVHD starb kein Patient. Insgesamt kam es bei 16/29 (55%) Patienten mit akuter GvHD zu einer

Virusdetektion. Eine Assoziation zwischen einer akuten GvHD II-III° und einer erhöhten Inzidenz viraler Erkrankungen konnte nicht festgestellt werden.

Auch eine rekurrende virale DNAämie wirkte nicht als Trigger für eine akute GvHD höheren Grades: es litten nur 2/10 (20%) Patienten mit wiederholter viraler DNAämie an einer aGvHD II-III°. Das insgesamt niedrige Auftreten von GvHD ist neben dem hohen Grad an HLA-Übereinstimmung (siehe 4.1.6) der Effizienz der angewandten T-Zell-Depletion mit ATG im Rahmen der Konditionierung der allogenen unverwandten transplantierten Patienten zu verdanken. Allerdings traten virale DNAämien bis Tag +100 gehäuft in der ATG-behandelten Gruppe auf (siehe Abbildung 6).

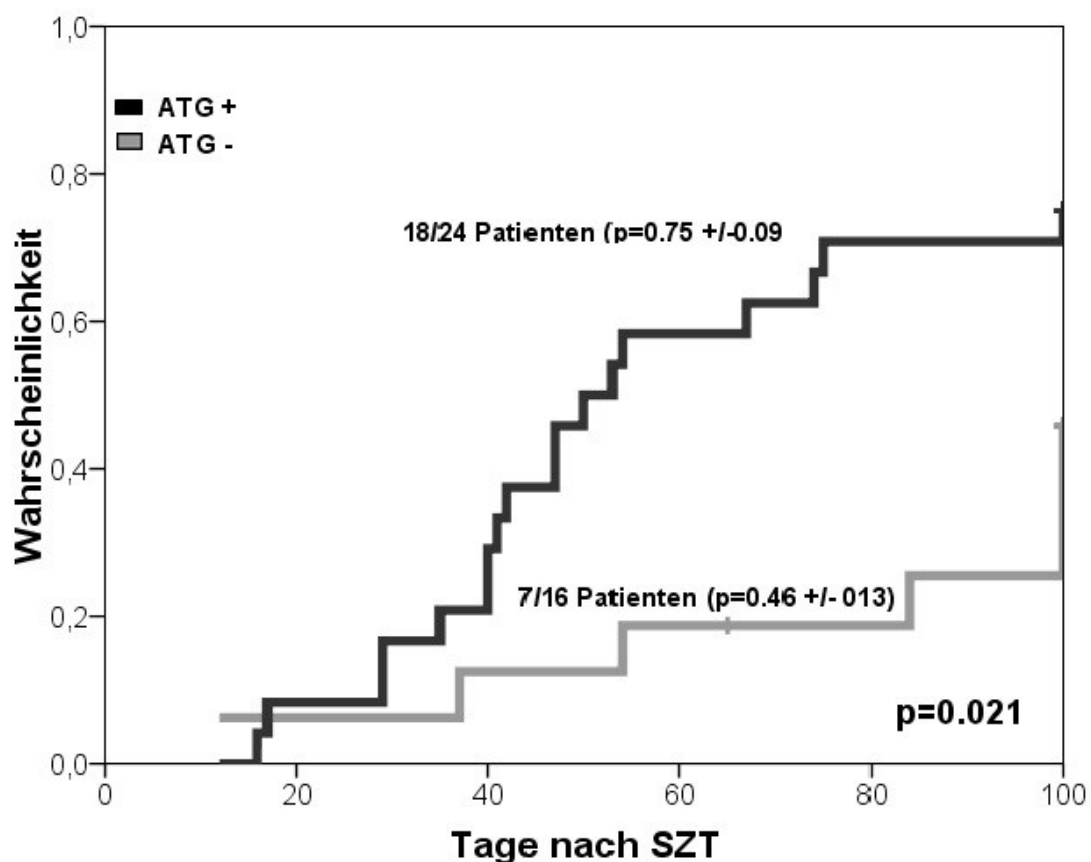


Abbildung 6: Kaplan-Meier-Darstellung der kumulativen Inzidenz viraler DNAämien bis Tag + 100 in Abhängigkeit von einer Vorbehandlung mit ATG

Insgesamt wurde bei 24/40 (60%) Patienten des allogenen transplantierten Patientenkollektivs eine T-Zell-Depletion mit ATG durchgeführt. Hiervon zeigten 16/24 (66%) Patienten keine oder nur milde Zeichen einer akuten GvHD (0/I°). Bei den restlichen 8/24 (33%) Patienten entwickelte sich eine akute GvHD II-III° (aGvHD 0/I°/ATG+ 16/24: 67% vs. aGvHD II-III°/ATG+ 8/24: 33%, $p=0,022$).

In der separaten Betrachtung des allogenen-verwandt transplantierten Patientenkollektivs entwickelten 6/18 (33%) Patienten keine oder eine milde GvHD (0-I°). In 12/18 (66%) Fällen fanden sich Zeichen einer akuten GvHD II-III° (siehe Abbildung 7). Bei 8/18 (44%) Kindern betraf die GvHD zwei oder drei Organe (siehe Abbildung 8). Insgesamt erhielten 9/18 (50%) Patienten zwei oder mehr Medikamente zur GvHD-Prophylaxe bzw. Therapie (siehe Tabelle 6, 3.1.1).

Im Vergleich dazu zeigten 14/22 (63%) Kinder aus der allogenen-unverwandt transplantierten Gruppe keine bis milde Zeichen einer akuten GvHD (0-I°), bei 7/22 (32%) kam es zu einer akuten GvHD II°, eine akute GvHD III° trat nur in einem Fall auf. Lediglich bei 5/22 (23%) der allogenen-unverwandt transplantierten Kinder waren im Rahmen der akuten GvHD zwei oder mehr Organe betroffen. Eine Vorbehandlung mit ATG fand in 20/22 (90%) Fällen statt (siehe Tabelle 6, 3.1.1).

Zusammenfassend traten höhergradige akute GvHD-Erkrankungen mit einer oder mehr Organbeteiligungen häufiger in der allogenen-verwandt transplantierten Gruppe auf, wobei hier betont werden muss, dass diese Patienten aufgrund des höheren Grades an HLA-Übereinstimmung eine schwächere immunsuppressive Therapie, größtenteils ohne ATG, erhielten.

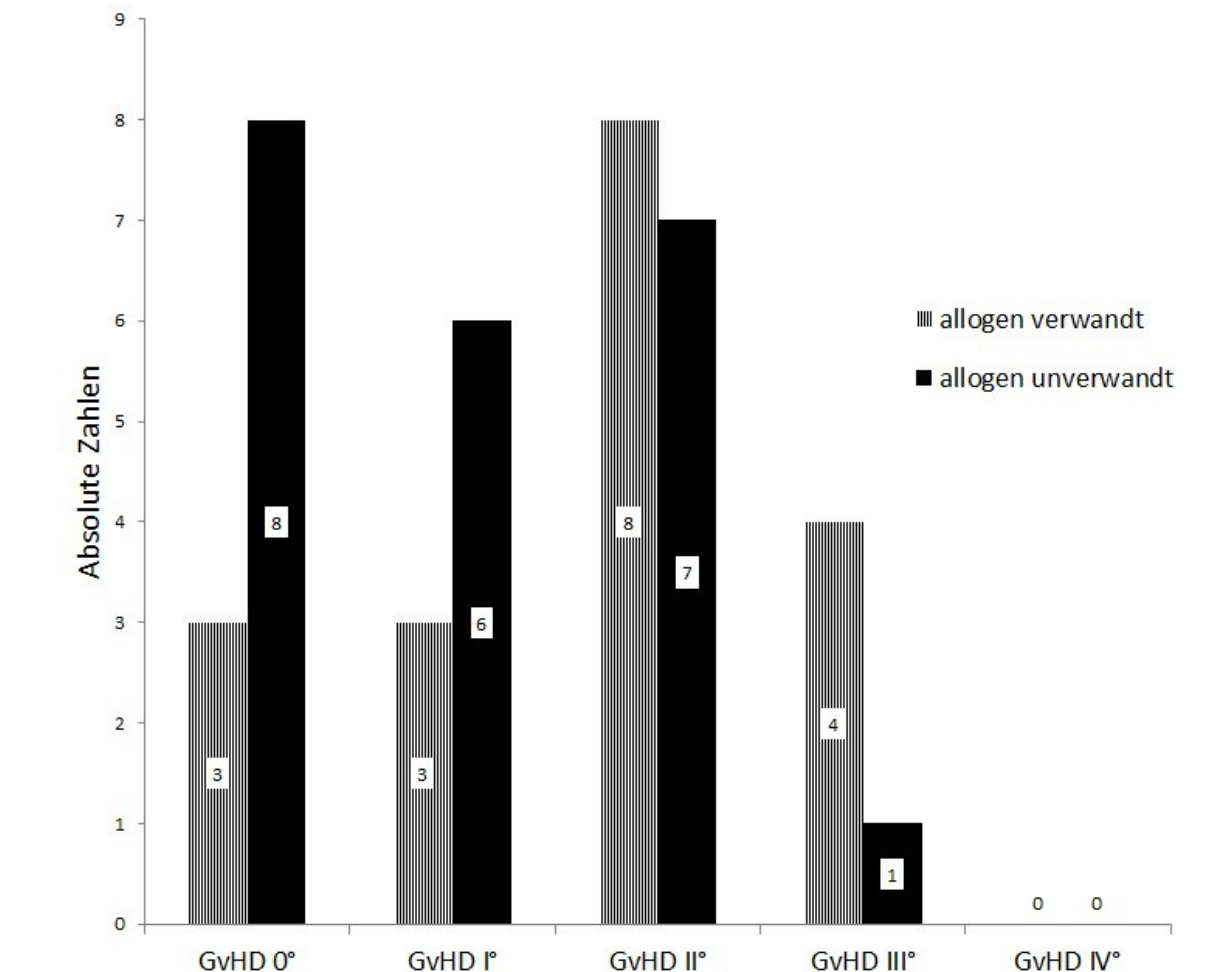


Abbildung 7: Häufigkeit der verschiedenen GvHD-Schweregrade der akuten GvHD bei allogen verwandt bzw. nicht verwandt transplantierten Patienten

Insgesamt lebten 38/40 (90%) Patienten über den Tag +100 hinaus und besaßen somit ein Risiko zur Entwicklung einer chronischen GvHD. Von diesen 38 Patienten erkrankten 15 (15/38, 39%) an einer chronischen GvHD, 7/15 (47%) Patienten zeigten eine ausgedehnte cGvHD. Von den insgesamt 15 Patienten mit cGvHD waren zuvor 12 (80%) an einer akuten GvHD II-III° erkrankt. Eine primäre chronische GvHD entwickelten 3/15 (20%) Kinder. Auch die Inzidenz der chronischen GvHD war mit der Applikation von ATG assoziiert. So entwickelten 20/24 (83%) Patienten, die im Rahmen der Konditionierung ATG erhielten, eine chronische GvHD (cGvHD/ATG+ 20/24: 83% vs. cGvHD+/ATG- 3/24: 13%, $p=0.001$).

Verglichen mit der Inzidenz der akuten GvHD konnte auch in der Gruppe der chronischen GvHD keine Assoziation mit einer viralen DNAämie oder einer viralen Erkrankung festgestellt werden.

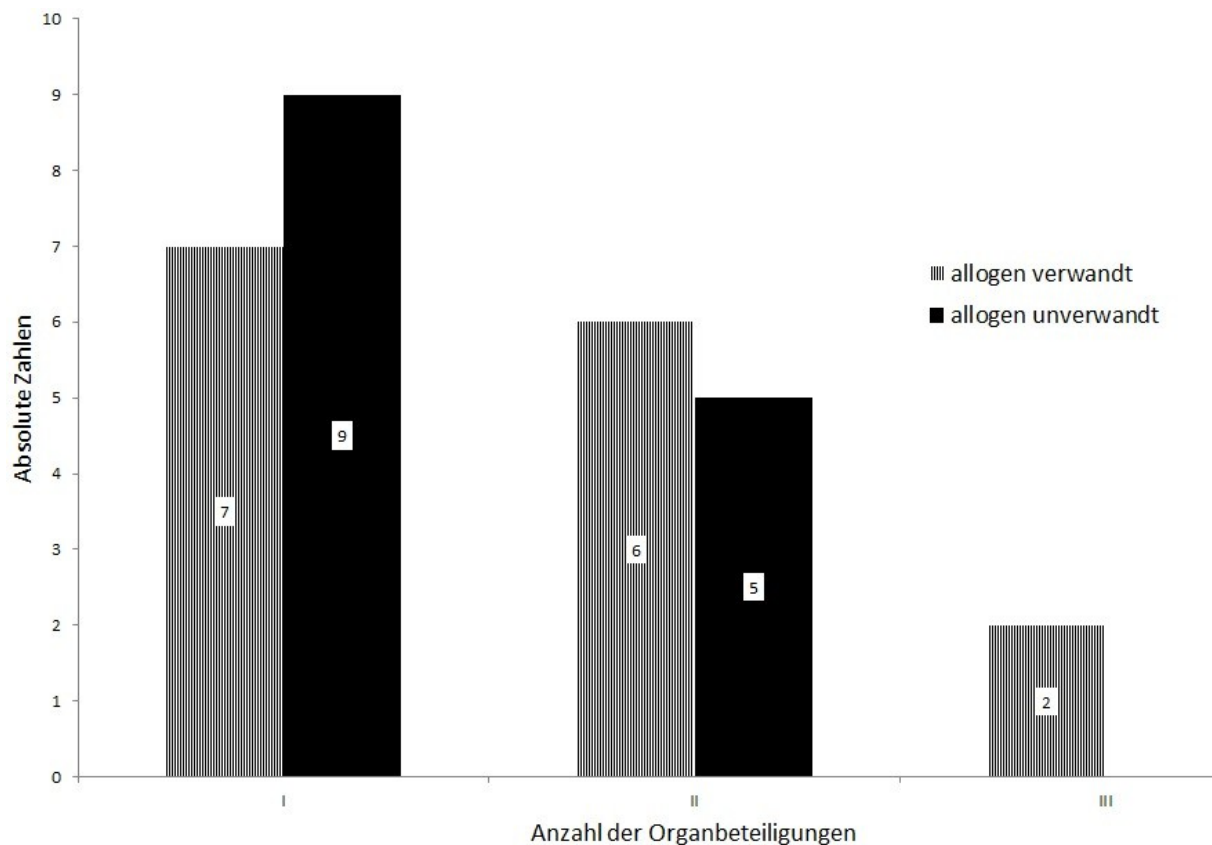


Abbildung 8: Anzahl der beteiligten Organe bei aGvHD

4.1.6 HLA-Typisierung

Bei 35/40 (88%) Patienten wurde eine hochauflösende HLA-Typisierung durchgeführt. Während bei allen Patienten mit einem HLA-match $<9/10$ mindestens einmal eine virale DNAämie nachgewiesen wurde, zeigten lediglich 16/29 (56%) Patienten mit einem HLA-Match $\geq 9/10$ positive Testergebnisse (siehe Abbildung 9). Unter den sechs Patienten mit einem HLA-match $<9/10$ trat bei zweien (33%) eine CMV-DNAämie auf. Bei 5/6 (83%) Patienten musste eine EBV-DNAämie festgestellt werden. Es bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Entwicklung einer akuten oder chronischen GvHD und der Übertragung von $<9/10$ HLA-gematchten hämatopoetischen Stammzellen.

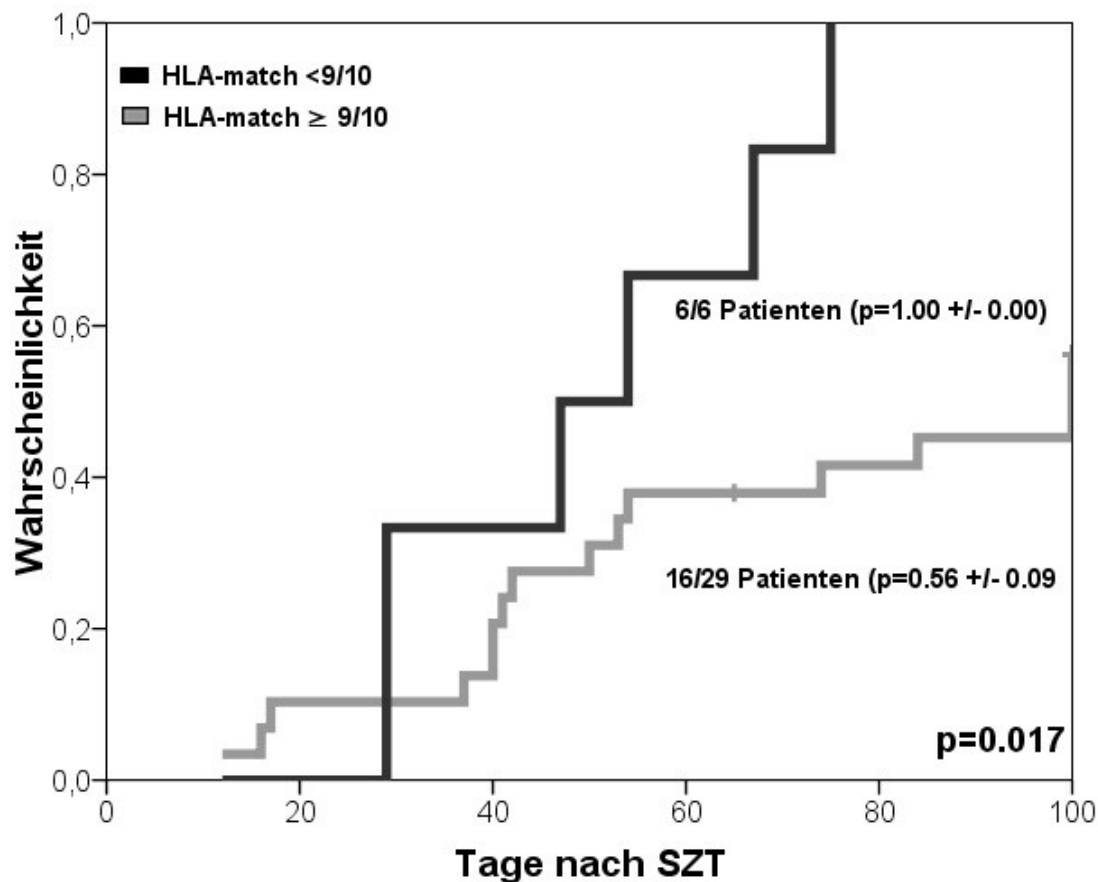


Abbildung 9: Kaplan-Meier-Darstellung der kumulativen Inzidenz viraler DNAämie bis Tag +100 in Abhängigkeit vom HLA-match

4.1.7 unabhängige Risikofaktoren

Die multivariate Analyse identifizierte die in vivo T-Zell Depletion mit ATG, die Stammzellquelle, den positiven CMV-Serostatus des Empfängers sowie ein HLA-match <9/10 als signifikante, unabhängige Risikofaktoren für das Auftreten einer viralen DNAämie (siehe Tabelle 12)

Tabelle 12: Ergebnisse der multivariaten Analyse der Risikofaktoren für eine virale DNAämie

verglichene Merkmale:	p	odds ratio	95% KI	
Stammzellquelle (PBSZ vs. KM)	0,001	0,134	0,042	0,431
CMV-Status Empfänger (CMV-R-/CMV-R+)	0,015	0,335	0,139	0,807
HLA-match (>=9/10 vs.<9/10)	0,036	0,301	0,098	0,923
in vivo T-Zell Depletion (kein ATG vs ATG)	0,041	0,331	0,115	0,956

4.1.8 Gesamtüberleben

In der dargestellten heterogenen Risikogruppe bestehend aus Patienten mit NMG sowie MG in unterschiedlichem Krankheitsstatus (1. oder 2. Remission, progressive Erkrankung) starben 8/40 (20%) Patienten an einem Rezidiv ihrer Grunderkrankung (DOD), 6/40 (15%) Patienten verstarben an Komplikationen (DOC), die im Zusammenhang mit der durchgeführten Therapie gesehen werden müssen. Eine virale Infektion oder Erkrankung führte bei keinem der behandelten Kinder zum vorzeitigen Tod. Nach einer medianen Nachbeobachtungszeit von 3,7 Jahren (0,18 Jahre - 5,8 Jahre) lebten somit noch 26/40 (65%) Patienten. Das Gesamtüberleben bezogen auf 5 Jahre betrug ebenfalls 65%. Es bestand kein signifikanter Überlebensunterschied zwischen Patienten mit oder ohne viraler DNAämie (siehe Abbildung 10). Ebenso ließ sich zwischen den Untergruppen allogene-verwandter und -unverwandter Patienten kein statistisch signifikanter Unterschied ermitteln (siehe Abbildung 11).

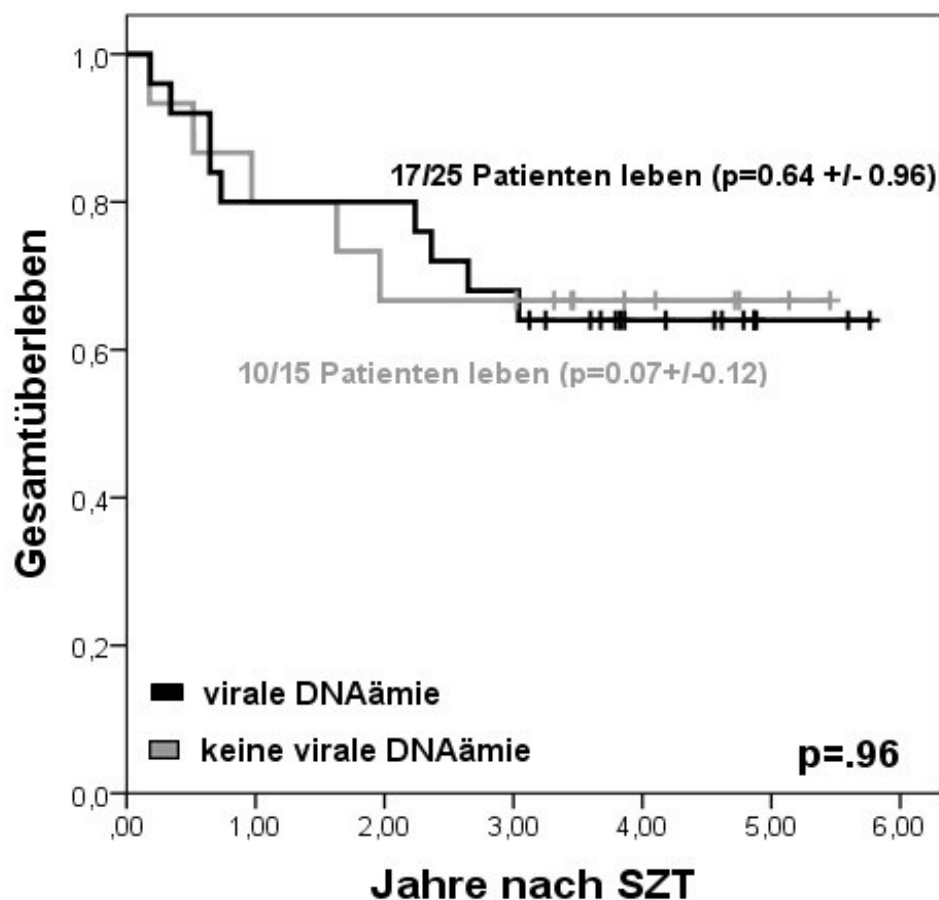


Abbildung 10: Kaplan-Meier Darstellung des Gesamtüberlebens in Abhängigkeit von viraler DNAämie

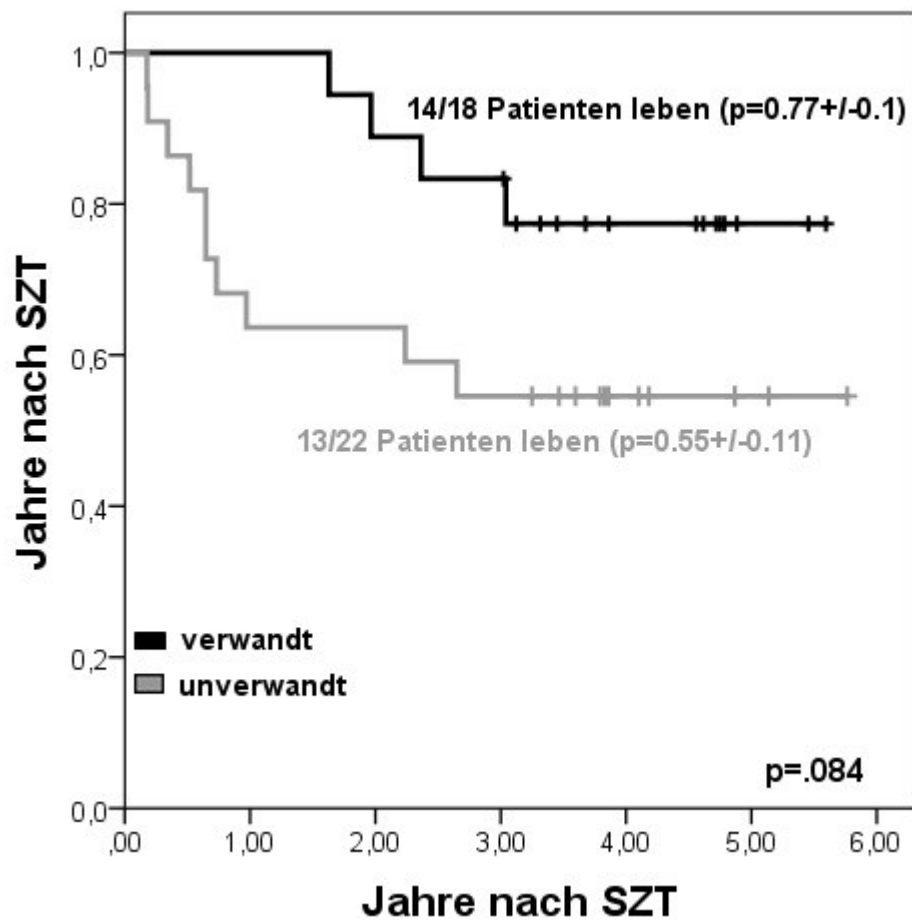


Abbildung 11: Gesamtüberleben nach SZT in Abhängigkeit von der Transplantationsart

4.2 Autologe Blutstammzelltransplantationen

4.2.1 virale DNAämien

Insgesamt wurde während eines medianen Nachbeobachtungszeitraumes von 4,11 Jahren (3 Tage bis 5,69 Jahre) bei 8/22 (36%) Kindern virale DNA nachgewiesen. So wurden insgesamt fünf CMV- (5/22, 23%), jeweils drei EBV- und HHV6- (3/22, 14%) und eine BKV-DNAämie detektiert.

Bei 4/8 (50%) Patienten wurde ausschließlich DNA eines Virus detektiert. Bei den übrigen vier Kindern kam es zur DNAämie durch zwei verschiedene Viren (siehe Abbildung 12). Bei allen Patienten trat die erste DNAämie von CMV, EBV oder HHV6 ausschließlich nach dem neutrophilen Engraftment und vor Tag +100 auf. Das zeitliche Median der ersten Virusdetektion betrug 31 (20-78) Tage.

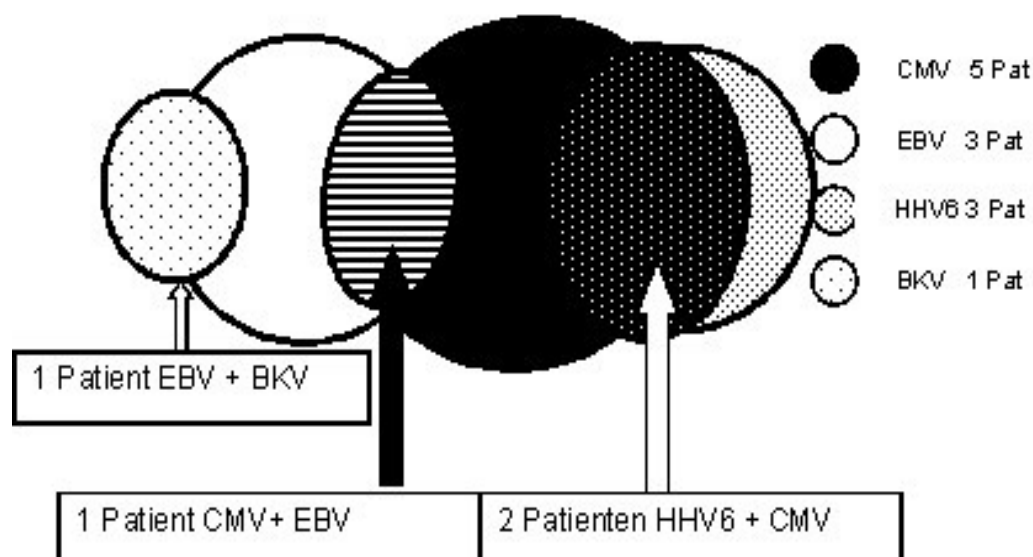


Abbildung 12: Quantitatives Auftreten viraler DNAämien

Insgesamt erfolgte bei 4/8 (50%) Patienten nach wiederholter Detektion viraler DNAämie eine Umstellung von Aciclovir auf Ganciclovir. Darunter erfolgte in zwei Fällen die Umstellung bei rezidivierender HHV6 Detektion, wobei diese Patienten auch an HHV6 erkrankten. Im dritten Fall war neben einer Virusdetektion im Blut auch CMV im Urin nachweisbar, sodass zu diesem Zeitpunkt ebenfalls eine Umstellung auf GCV trotz fehlender Zeichen einer Erkrankung vorgenommen wurde. Im vierten Fall kam GCV aufgrund einer viralen Co-DNAämie mit HHV6 bei vorbestehender CMV-DNAämie zum Einsatz. Bei den übrigen 4 Kindern mit Nachweis einer viralen DNAämie wurde bei körperlichem Wohlbefinden unter

regelmäßiger Viruslastkontrolle die prophylaktische Therapie mit ACV fortgeführt. Eine Co-Infektion mit anderen viralen Erregern trat bei diesen Patienten nicht auf. Die Kriterien des neutrophilen und thrombozytären Engraftments wurden durchschnittlich an Tag 11 (8-31) bzw. an Tag 35 (19-64) erfüllt. Das lymphozytäre Engraftment trat zu unterschiedlichen Zeitpunkten bei insgesamt 19/22 (86%) Kindern ein. Es war drei Monate nach SZT bei 10/22 (45%) Patienten zu verzeichnen. Alle drei Patienten, die auch ein Jahr nach SZT kein lymphozytäres Engraftment aufwiesen sind verstorben, wobei 2/3 (66%) Kinder an ihrer Grunderkrankung (DOD) und ein Kind an den Komplikationen der Stammzelltransplantation (Enzephalitis ohne Erregernachweis) verstarben. Das Auftreten viraler DNAämien korrelierte weder in der frühen noch in der späten Posttransplantationsphase statistisch signifikant mit dem Erreichen des lymphozytären Engraftments. Die kumulative Inzidenz viraler DNAämien in den ersten 4 Monaten nach SZT ist in Abhängigkeit vom lymphozytären Engraftment nach 3 Monaten in Abbildung 13 dargestellt.

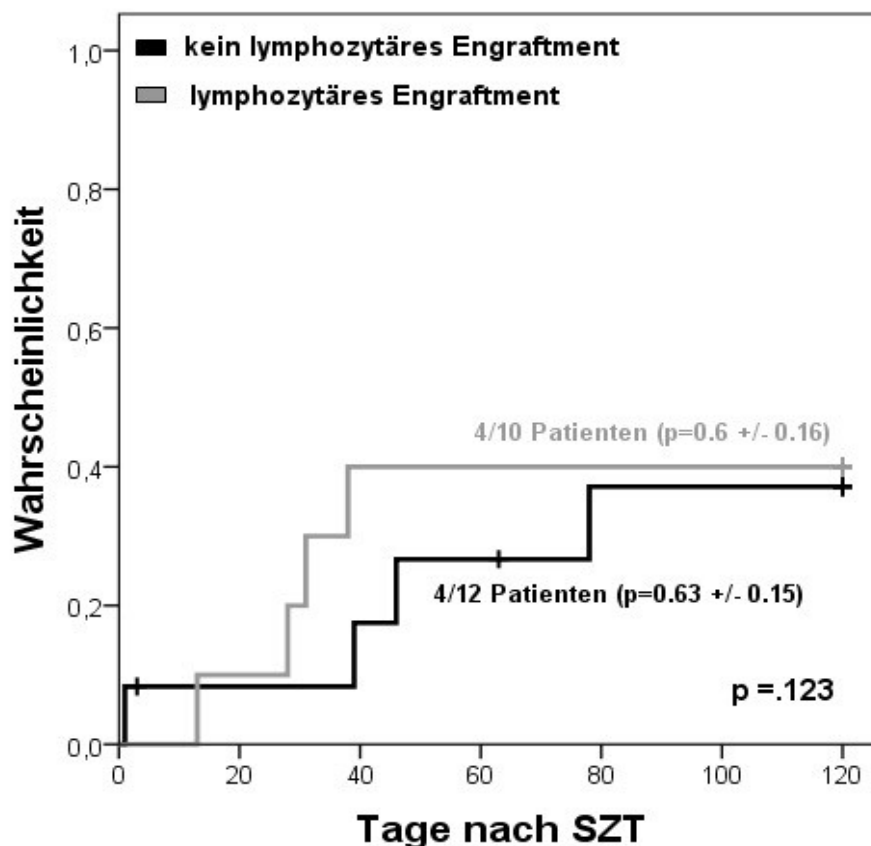


Abbildung 13: Kaplan-Meier Darstellung der kumulativen Inzidenz viraler DNAämie in Abhängigkeit vom lymphozytären Engraftment nach 3 Monaten

Tendenziell kam es nach Transplantation CD34-selektionierter Stammzellen zu einem späteren lymphozytären Engraftment. So konnte das mediane lymphozytäre Engraftment nach Gabe von CD34-selektionierten Stammzellen nach 113 Tagen (31-273) festgestellt werden, während es nach Gabe von unselektionierten Stammzellen nach 62 Tagen (38-274) zu verzeichnen war. Die Häufigkeit viraler DNAämien in den beiden Gruppen unterschied sich nicht statistisch signifikant. Es entwickelten 5/11 (46%) Patienten nach CD34-selektionierter SZT eine oder mehrere virale DNAämien, während 3/11 (27%) Kinder nach unselektionierter SZT auffällig wurden ($p=0.66$). Auch das zeitliche Auftreten der viralen DNAämien unterschied sich in den beiden Gruppen nicht statistisch signifikant.

4.2.2 CMV

Insgesamt war bei 5/22 (23%) Kindern eine CMV-DNAämie zu detektieren. Darunter litten 2/5 (40%) der Patienten an einer simultan nachzuweisenden HHV6-DNAämie. Ferner lag bei einem Patienten zu einem späteren Zeitpunkt eine EBV-DNAämie vor. Alle CMV-DNAämien traten innerhalb der ersten 40 Tage nach SZT auf. Weder musste eine rekurrende CMV-DNAämie noch eine manifeste CMV-Erkrankung diagnostiziert werden.

Bei 5/13 (39%) aller Patienten mit positivem CMV-Serostatus gelang im Verlauf eine CMV-Detektion, während unter den CMV-negativen Patienten CMV nach SZT nicht nachgewiesen werden konnte (CMV-/R+ 5/13: 39% vs. CMV-/R- 0/9: 0%, $p=0.039$). Neben dem CMV-Serostatus war auch ein Zusammenhang zwischen der Transplantation von CD34-selektionierten Stammzellen und dem Auftreten einer CMV-DNAämie zu erkennen. So erhielten vier von den fünf Patienten mit nachgewiesener CMV-DNAämie (4/5, 80%) CD34-selektionierte Stammzellen.

4.2.3 EBV

Bei 3/22 (14%) Kindern traten EBV-DNAämien auf, die an Tag +46, Tag +78 und Tag +83 nach SZT zu detektieren waren. Bei zwei dieser drei Kinder ging der EBV-DNAämie in der frühen Posttransplantationsphase ($< \text{Tag } +40$) eine weitere virale DNAämie mit Nachweis von CMV bzw. BKV voraus. Weder eine rekurrende EBV-DNAämie noch eine manifeste EBV-Erkrankung waren zu verzeichnen. Die EBV-assoziierte PTLD war während des Nachbeobachtungszeitraums nicht zu verzeichnen.

Eine positive EBV-Serologie lag bei 19/22 (86%) Patienten vor. Analog zu den CMV-DNAämien traten alle drei EBV-DNAämien bei EBV-seropositiven Patienten auf. Zudem erhielten 2/3 (66%) mit einer EBV-DNAämie CD34-selektionierte Stammzellen.

4.2.4 HHV6

Insgesamt kam es bei 3/22 (13%) Kindern nach SZT zu einer HHV6-DNAämie, wobei alle Nachweise innerhalb von 30 Tagen nach SZT gelangen. Zwei von diesen drei Kindern (2/3, 66%) erlitten im Verlauf eine HHV6-Gastritis, die mit ausgeprägter Übelkeit und Erbrechen einherging.

Während in einem Fall (Patient 1, siehe Abbildung 14) eine Behandlung mit (Val)-Ganciclovir auch gegen die nahezu zeitgleich aufgetretene CMV-DNAämie (max. 65 Kopien/μg) erfolgreich eingesetzt wurde, bestanden im anderen Fall (Patient 2, siehe Abbildung 15) trotz Behandlung mit Valganciclovir anhaltend hohe HHV6-Lasten über 0.5×10^6 Kopien/μg DNA, zunächst ohne klinische Symptomatik. Bemerkenswert ist in diesem Fall, dass bereits vor SZT hohe HHV6-Lasten bei diesem Patienten ohne klinische Symptomatik bekannt waren, die sich gegenüber einer Behandlung mit ACV therapierefraktär zeigten.

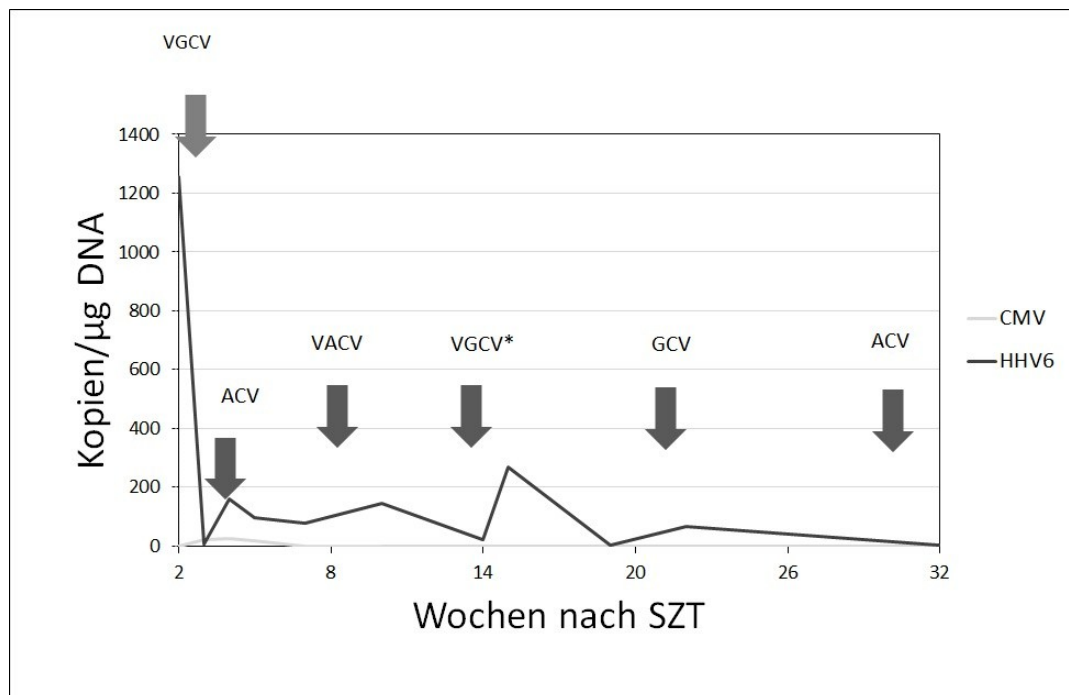


Abbildung 14: Patient 1, Verlauf der HHV6-Last nach SZT

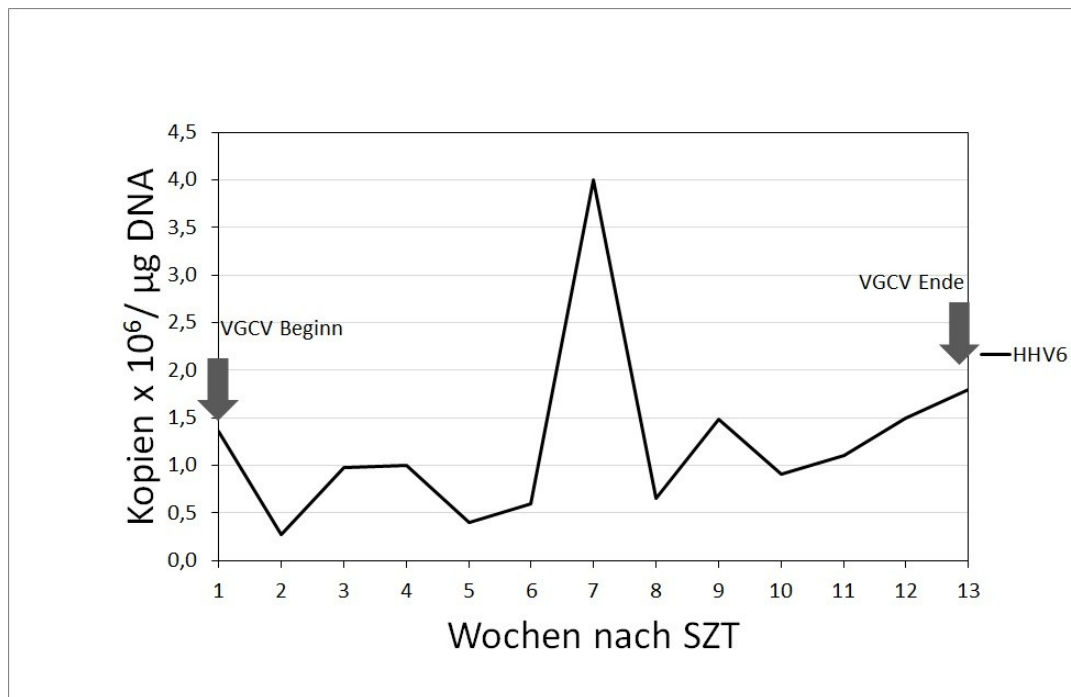


Abbildung 15: Patient 2, Verlauf der HHV6-Last nach SZT (1. dokumentierte Episode)

Bis zur weiteren Betreuung durch eine andere Klinik ab Tag +96 nach SZT erreichte der Patient nicht die Kriterien eines lymphozytären Engraftments. Nachdem der Patient im weiteren Verlauf einer Nachbeobachtung nicht zugänglich war, musste nach 19 Monaten eine akute myeloische Leukämie als Sekundärmalignom diagnostiziert werden. Auch zu diesem Zeitpunkt ließen sich kontinuierlich hohe Viruslasten eines HHV6 Typ B zwischen 2×10^5 und 2×10^6 Kopien/µg DNA im Blut nachweisen. Diese Viruslast blieb sowohl unter (Val-)ganciclovir als auch unter Cidofovir unbeeinflussbar hoch. Nur unter Therapie mit Foscavir ließ sie sich kurzfristig um etwa eine Logstufe senken (siehe Abbildung 16). Trotz der permanent hohen Viruslast erkrankte der Patient erst 19 Monate nach SZT an einer HHV6-Gastritis. Gleichzeitig bestand eine Myelosuppression, die als Folge der Chemotherapie, der kontinuierlichen virostatistischen Therapie oder der viralen Reaktivierung verstanden werden kann. Während der gesamten Nachbetreuung konnte bei diesem Patienten keines der weiteren untersuchten Viren detektiert werden.

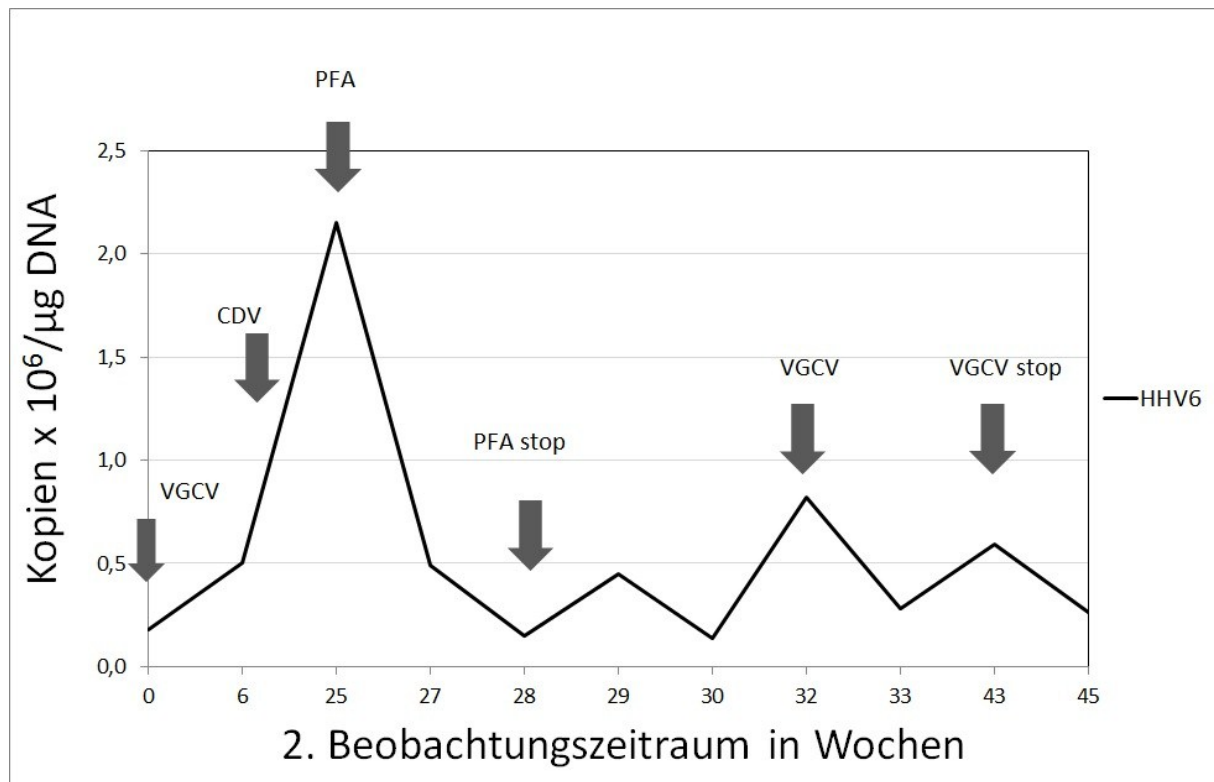


Abbildung 16: Patient 2, Verlauf der HHV6-Viruslast nach SZT (2. dokumentierte Episode)
VGCV in wechselnder Dosierung

Eine HHV6-DNAämie (max. 4264 Kopien/µg DNA) ohne klinische Symptome einer Erkrankung zeigte nur einer der drei Patienten. Bei gleichzeitigem Nachweis von CMV (max. 1578 Kopien/µg DNA), kam es unter Gabe von GCV schnell zu einem Abfall der Viruslasten.

4.2.5 BKV, ADV

Im autologen Patientenkollektiv kam es weder zu einer Detektion von BKV noch von ADV im Blut. Einmalig ließ sich am Tag +1 nach SZT bei einem Patienten BKV im Urin nachweisen. Klinische Anzeichen einer hämorrhagischen Zystitis bestanden zu diesem Zeitpunkt nicht.

4.2.6 Gesamtüberleben

Während der medianen Nachbeobachtungszeit von 4,11 Jahren (3 Tage bis 5,69 Jahre) verstarben 8/22 (36%) der Kinder, was einem Gesamtüberleben von 64% entspricht. Keines der Kinder starb an einer viralen Erkrankung. Das Gesamtüberleben bezogen auf fünf Jahre lag statistisch bei 62,5%.

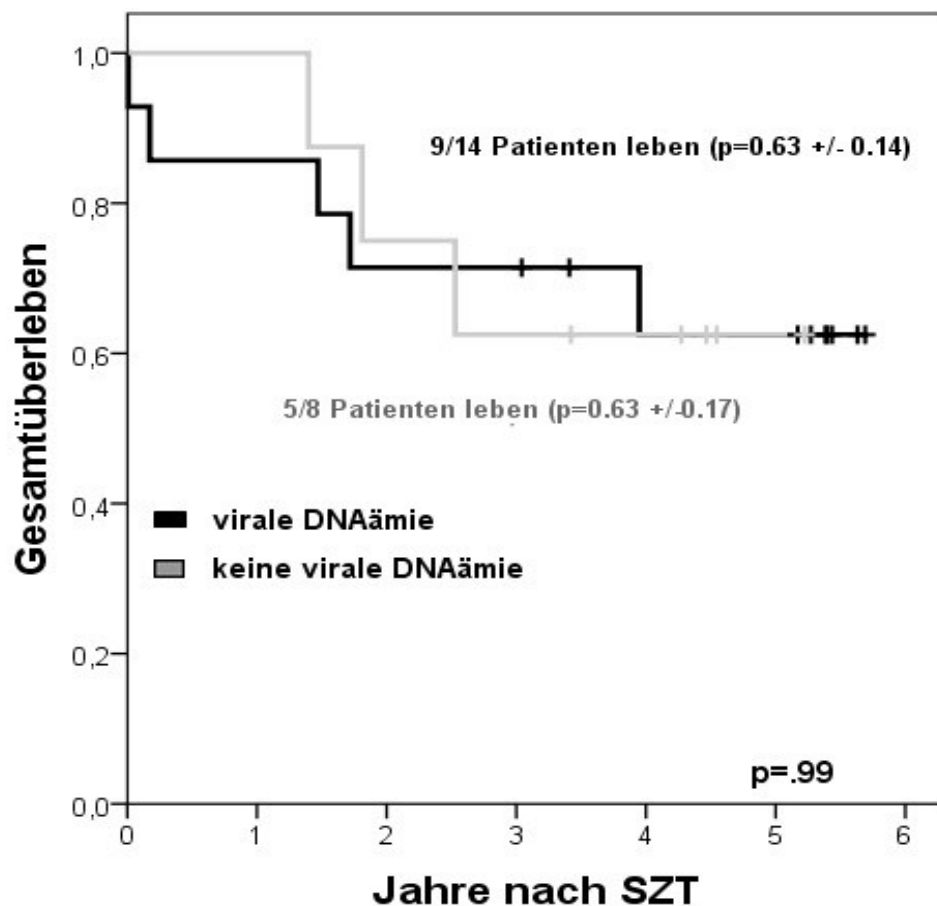


Abbildung 17: Kaplan-Meier Darstellung des Gesamtüberlebens in Abhängigkeit von viraler DNAämie

Ein Todesfall war aufgrund von Nebenwirkungen der SZT zu verzeichnen. In sieben Fällen starben die Kinder aufgrund der zugrunde liegenden malignen Erkrankung. Das Gesamtüberleben unterschied sich innerhalb der Gruppen mit bzw. ohne virale DNAämie nicht signifikant (siehe Abbildung 17). Es gehörten 4/8 (50%) der Gruppe der Patienten an, welche CD34⁺ selektionierte Stammzellen erhalten hatten.

5 Diskussion

5.1 *Allogene Blutstammzelltransplantationen*

Bei dieser Arbeit handelt es sich um die erste prospektive Studie, welche bei einem gemischten Patientenkollektiv aus Kindern mit malignen und nichtmalignen Grunderkrankungen nach allogener unmanipulierter hämatopoetischer Stammzelltransplantation umfangreich Viruslasten im Blut bestimmt und danach die virostatistische Therapie steuert.

Es ist bekannt, dass vor allem bei Durchführung einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation in Konstellation mit einem nicht verwandten Stammzellspender, der Gebrauch von ATG zu einer erheblichen Beeinflussung der Effektor-T-Zell-Funktion führt. So ist es gerechtfertigt, die Viruslasten engmaschig zu kontrollieren um anschließend zu überprüfen, ob dieses Vorgehen einen Vorteil für das genannte Patientenkollektiv hat.

Bei den in der Studie eingeschlossenen Patienten zeigte sich eine außergewöhnlich niedrige Inzidenz viraler Erkrankungen. Zwar kam es bei 63% der Patienten mindestens einmal zu einem positiven Virusnachweis im Plasma, die konsequente präemptive Therapie mit Ganciclovir führte jedoch dazu, dass virale Erkrankungen selten vorkamen und schnell und erfolgreich behandelt werden konnten. So musste auch kein Todesfall aufgrund einer viralen Erkrankung verzeichnet werden. Es kann festgehalten werden, dass die angewandten PCR-Grenzwerte für den Beginn einer präemptiven Ganciclovir-Therapie einsetzbar sind und dass das initial prophylaktische Therapiekonzept mit Aciclovir in Kombination mit einer präemptiven GCV-Therapie adäquat zur Prävention viraler Erkrankungen nach SZT im Kindesalter eingesetzt werden kann. Da eine prophylaktische Ganciclovir-Gabe nachweislich mit den Risiken einer höheren hämatologischen Toxizität und einer verzögerten Immunrekonstitution einhergeht [8, 57, 58] ist eine prophylaktische Therapie mit Ganciclovir im Kindesalter nicht zu empfehlen. In einer zuvor veröffentlichten Studie, welche Ganciclovir zur prophylaktischen Therapie einsetzte, fanden sich zudem vermehrte bakterielle Infektionen sowie sekundärer Neutropenien, ohne dass es zu einer Reduktion der viralen Erkrankungen oder DNAämien kam [58]. Der Einsatz von Ganciclovir sollte daher schweren Verläufen mit hoher Viruslast vorbehalten sein. Nur so können die Behandlungsdauer und die daraus resultierenden unerwünschten

Nebenwirkungen limitiert werden. So dauerte die Ganciclovir-Therapie in dieser Studie im Schnitt nur etwa 25 Tage an, sodass eine potentielle Interaktion des Medikaments mit dem Transplantat nur verhältnismäßig kurz gegeben war. Ferner konnten bei dem in dieser Studie durchgeführten präemptiven und restriktiven Einsatz von Ganciclovir bezüglich des lymphozytären Engraftments keine Nachteile einer Ganciclovir-Behandlung festgestellt werden.

Generell ist die Höhe einer viralen DNAämie im menschlichen Körper abhängig von der Fähigkeit des Immunsystems den Replikationszyklus der Viren zu kontrollieren und einzudämmen. Da die Rekonstruktion des Immunsystems in den ersten Wochen nach Stammzelltransplantation noch nicht abgeschlossen ist, zeigten sich in dieser Studie insbesondere in den ersten 100 Tagen nach Transplantation vermehrt virale DNAämien. Bei Kindern mit fehlendem lymphozytären Engraftment lag die kumulative Inzidenz viraler DNAämien bis zum Tag +100 bei 71%. Das Risiko für eine virale DNAämie war somit deutlich höher als bei den Kindern mit frühem lymphozytären Engraftment (siehe Abbildung 2).

Von einer rekurrenden DNAämie oder dem Nachweis einer zusätzlichen zweiten viralen DNAämie waren bestimmte Kinder betroffen, vor allem solche mit einer nicht malignen Grunderkrankung wie einem schweren kombinierten Immundefekt. Ursächlich hierfür sind das krankheitsbedingt gestörte Immunsystem sowie eine verzögerte Immunrekonstitution nach Stammzelltransplantation (siehe Tabelle 9 und 12). Weiterhin war die Übertragung von Knochenmark als Stammzellquelle ein unabhängiger Risikofaktor für das vermehrte Auftreten einer viralen DNAämie, da bei der Transplantation von Knochenmark verglichen mit peripher gewonnenen hämatopoetischen Stammzellen, weniger funktionstüchtige T-Zellen übertragen werden.

Neben einer gestörten Immunrekonstitution post transplantationem werden verschiedene andere Faktoren als Modulatoren der antiviralen Immunantwort diskutiert. Bestätigt werden kann, dass eine ATG enthaltene Immunsuppression zu einem erhöhten Vorkommen viraler DNAämien führt (siehe Abbildung 5 und 6, Tabelle 9 und 12). Dies unterstreicht, dass vor allem Patienten mit durchgeführter in vivo T-Zelldepletion einem engmaschigen viralen Monitoring zuzuführen sind um so frühzeitig eine präemptive Therapie einleiten zu können. Die, wie in dieser Studie durchgeführten, engmaschigen virologischen Kontrollen konnten Patienten mit einem erhöhten Risiko für eine rekurrende DNAämie frühzeitig identifizieren und sie

durch eine effektive präemptive Ganciclovir-Therapie vor der Entwicklung einer schweren viralen Erkrankung schützen.

Somit sind in einem allogenen transplantierten Patientenkollektiv umfassende Blutuntersuchungen vor allem bei Kindern mit einmalig positivem Testergebnis, mit einer nicht malignen Grunderkrankung oder unter einer ATG-Therapie von entscheidender Bedeutung zur Vermeidung viraler Erkrankungen.

In verschiedenen Studien wurde nachgewiesen, dass die virale DNAämie auf die Entwicklung einer GvHD ähnlich den proinflammatorischen Zytokinen wirkt, und dass ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer viralen DNAämie und der Entwicklung einer akuten oder chronischen GvHD besteht [59-63]. In der vorliegenden Studie konnte die Rate an akuter und chronischer GvHD durch die in vivo erfolgte T-Zell Depletion mit ATG drastisch gesenkt werden. Eine signifikante Assoziation zwischen GvHD und viraler DNAämie bzw. Erkrankung lag nicht vor.

Weiterhin konnten mehrere Studien zeigen, dass ein HLA-mismatch zwischen Spender und Empfänger von hämatopoetischen Stammzellen nicht nur das Risiko für eine GvHD nach SZT erhöht, sondern auch ein weiteres Risiko für virale DNAämien und Erkrankungen darstellt [18, 64, 65]. So ist die niedrige Anzahl viraler Erkrankungen in dieser Studie auch in der besonders hohen HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger begründet. Es konnte gezeigt werden, dass die Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen mit Abweichung von mehr als einem der mittels hochauflösender HLA-Typisierung bestimmten Merkmale zu einer Zunahme viraler DNAämien führt (Abbildung 9, Tabelle 9). In dieser Arbeit war eine ausschließliche Abweichung des HLA-C Antigens nicht assoziiert mit einem erhöhten Risiko für eine virale DNAämie (Tabelle 9).

Die Inzidenz einer CMV-DNAämie ist im erfassten Patientenkollektiv mit 28% verglichen mit anderen pädiatrischen Studien niedrig. Dort werden Inzidenzen von 24-42% angegeben [66-69]. In einer Studie mit 125 Patienten welche nach ex vivo und/oder in vivo T-Zelldepletion entweder hämatopoetische Stammzellen mit vollständiger HLA-Übereinstimmung oder Transplantate von einem haploidentem Spender erhalten hatten, kam es in 24% der Fälle zu einer detektierbaren CMV-DNAämie [68]. Eine andere Studie mit ausschließlich durchgeführter ex vivo T-

Zelldepletion erbrachte einen über den pp65-Antigentest ermittelten CMV-Nachweis bei 41,5% der Kinder [69].

Wie unter 4.1 beschrieben wurde auch in dieser Studie ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Empfänger-CMV Seropositivität vor Stammzelltransplantation [67] und einer erhöhten Rate an CMV-DNAämien nach Stammzelltransplantation nachgewiesen [61, 68, 70, 71]. Demgegenüber konnte eine CMV-Seropositivität des Spenders nicht als eigenständiger Risikofaktor identifiziert werden. Die in vivo T-Zell-Depletion mit ATG konnte allerdings in dieser Studie als Risikofaktor für eine CMV-DNAämie ausgeschlossen werden, da sich die Ergebnisse der Gruppen mit und ohne Verwendung von ATG nicht signifikant unterschieden. Somit stellt die in vivo T-Zelldepletion mit ATG kein statistisch signifikantes Risiko für das Auftreten einer CMV-DNAämie dar, auch wenn insgesamt die CMV-Lasten in der ATG behandelten Gruppe höher waren.

Das Auftreten von EBV-DNAämien wird abhängig vom Transplantationsregime und PCR-Grenzwerten [72, 73] in veröffentlichten Studien an Kindern und Erwachsenen mit 20-60% angegeben. Auch wenn nahezu die Hälfte aller in dieser Studie eingeschlossenen allogenen transplantierten Patienten an einer EBV-DNAämie litten, trat kein EBV assoziiertes PTLD auf, auch nicht in der Gruppe, die im Rahmen der Konditionierung ATG erhalten hatte. In dieser Gruppe kam es bei 25% der Patienten zu in der Literatur berichteten kritischen Viruslasten in einem Bereich von $> 4 \times 10^3$ oder 10^4 Kopien/ μ g DNA, welche das Risiko für ein Auftreten einer PTLD erhöhen sollen [66]. Der fehlende Nachweis einer PTLD in dieser Gruppe steht somit im Gegensatz zu anderen Studien, welche eine ATG-Gabe als Risikofaktor für die Entwicklung einer PTLD identifizierten [74-78]. Seit der CD20-Antikörper Rituximab und andere T-Zell-Therapeutika zur Therapie der PTLD zur Verfügung stehen, wird die Anwendung virostatischer Medikamente im Rahmen eines präemptiven Therapieregimes bei EBV kontrovers diskutiert [79-81]. Für einzelne Risikogruppen wie z.B. Patienten mit einer ex vivo T-Zell-Depletion wurde eine entsprechende Anwendung von Rituximab zur Vermeidung einer PTLD in die kürzlich veröffentlichten Leitlinien implementiert [44].

Es ist jedoch auch möglich, dass eine präemptive Ganciclovir Therapie bei optimalem HLA-match in einer in vivo T-Zell-depletierten Kohorte zu einer Stabilisierung der Viruslasten auf niedrigem und somit weniger risikoreichem Niveau führen kann und somit der frühe Beginn einer antiviralen Therapie mit Ganciclovir

nach Überschreitung des PCR-Grenzwertes von 500 Kopien/ μ g EBV-DNA in zwei aufeinander folgenden Proben eine effektive Strategie zur Vermeidung einer PTLD ist. Möglicherweise können so überflüssige präemptive Anwendungen von Rituximab mit einer in diesem Fall unerwünschten, länger andauernden Immunsuppression und somit potentiellen weiteren Infektionen vermieden werden [72, 82]. Des Weiteren entstehen durch einen präemptiven Einsatz von Rituximab oder zytotoxischen T-Zellen erhebliche und möglicherweise auch vermeidbare Kosten.

Auch wenn eine kürzlich durchgeführte umfangreiche Studie an erwachsenen Patienten zeigte, dass sich eine EBV-DNAämie auch ohne Therapie vollständig zurückbilden kann [83], sollte nach allogener Stammzelltransplantation im Kindesalter vorerst einer EBV-DNAämie noch mit einer präemptiven Ganciclovir-Therapie begegnet werden bis größere pädiatrische Studien vorliegen.

Die Studienlage bezüglich eines quantitativen Monitoring von HHV6, ADV und BKV nach erfolgter Stammzelltransplantation im Kindesalter ist bisweilen spärlich. Da in dieser Arbeit häufig einmalige oder zweimal in Folge auftretende DNAämien mit HHV6-Viruslasten bis 10^2 Kopien/ μ g ohne jegliche klinische Symptomatik und mit spontaner Rückbildung detektierbar waren, wird hier ein höherer Grenzwert von 500 Kopien/ μ g als Grenzwert mit folgendem Beginn einer präemptiven Ganciclovir-Therapie empfohlen. Eine aktuelle Studie von Yamene et al. [65], durchgeführt an Erwachsenen nach Stammzelltransplantation, befasst sich mit den Risikofaktoren für die Reaktivierung einer HHV6-DNAämie. Hier zeigt sich in der Subgruppenanalyse der Patienten welche Knochenmark eines Geschwisters bzw. periphere Blutstammzellen oder Nabelschnurblut erhalten hatten eine Inzidenz einer HHV6-DNAämie von 48%. Damit war sie deutlich höher als in dieser rein pädiatrischen Studie mit einer Inzidenz von 5%. Auch andere klinische Studien an Erwachsenen zeigten eine Inzidenz zwischen 50% [63, 84] und 78% [85]. Auch wenn die unterschiedlichen Verfahren zur HHV6-Detektion sowie die variierenden Grenzwerte in den Studien berücksichtigt werden, bleibt die HHV6-Inzidenz bei der vorliegenden pädiatrischen Kohorte vergleichsweise niedrig. Die Annahme, dass eine HHV6-DNAämie als Risikofaktor für eine CMV-Erkrankung fungieren kann [84], konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden, da nur ein Patient eine CMV-Erkrankung sowie eine HHV6-DNAämie entwickelte. Dabei ging die CMV-DNAämie der HHV6-DNAämie sogar knapp einen Monat voraus und war zum Zeitpunkt der HHV6-Detektion bereits abgeklungen.

Auch die ADV-Inzidenz in dieser optimal HLA-gematchten Patientenkohorte ist verglichen mit anderen ähnlich aufgebauten pädiatrischen Studien mit 2,5% äußerst niedrig. Andere Studien beschreiben eine Inzidenz von ADV-DNAämie zwischen 21-27% bei Patienten, die entweder in-vivo oder ex-vivo depletierte Stammzelltransplantate erhalten hatten [86, 87]. Hierdurch wird das hohe Risiko für ein Auftreten von ADV induzierten Erkrankungen nach T-Zell depletierter hämatopoetischer Stammzelltransplantation unterstrichen. Die in dieser Arbeit festgestellte niedrige Inzidenz von HHV6- und ADV-DNAämien belegt erneut die hohe Effektivität einer konsequenten präemptiven virostatischen Therapie entsprechend der hier festgelegten PCR-Grenzwerte und unterstreicht die Wichtigkeit eines frühen Therapiebeginns. Da HHV6- und ADV-DNAämie spezifische und sensitive Indikatoren für virale Erkrankungen sind [63, 65, 88], ist es speziell in der Gruppe der in vivo T-Zell depletierten Patienten wichtig, auch eine Detektion dieser beiden Viren im Rahmen des Posttransplantationsmonitorings vorzunehmen.

Neben der verbreiteten Methode BKV bei Kindern und Erwachsenen nach Stammzelltransplantation im Urin nachzuweisen, lassen sich in der Literatur nur wenige Studien finden, die den Nachweis einer BKV-DNAämie aus Vollblut erbringen. Diese zeigen mit 6% bei Kindern und bis zu 33% bei Erwachsenen verglichen mit dieser Studie (2,5%) eine höhere BKV-Inzidenz [88, 89]. Entsprechend des nur einmaligen Nachweises von BKV in dieser Studie trat auch keine hämorrhagische Zystitis auf. Trotz des seltenen Nachweises von BKV im Blut, ist eine BKV-DNAämie streng mit der Entwicklung einer Nierenfunktionsstörung und anderen Erkrankungen nach Stammzelltransplantation assoziiert. Daher ist die engmaschige Überprüfung im Blut gleichzeitig mit anderen Viren wie CMV, EBV und HHV6 notwendig. Sollte in größeren Studien belegbar sein, dass eine BKV-DNAämie der Entwicklung einer hämorrhagischen Zystitis vorausgeht, kann zudem auf die vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern häufig schwierige Gewinnung einer Urinprobe zur diagnostischen Zwecken verzichtet werden.

Insgesamt ist ein umfangreiches Monitoring viraler DNAämien, vor allem bei Patienten nach in vivo T-Zell depletierter HSZT, notwendig um kritische Patienten für eine virale Erkrankung zu identifizieren und frühzeitig einer virostatischen Behandlung zuzuführen. In der hier vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die prophylaktische Gabe von Aciclovir in Zusammenhang mit einer präemptiven

Therapie mit Ganciclovir ausreichend ist um virale Erkrankungen, insbesondere durch CMV und EBV, bei Kindern nach HSZT zu verhindern.

5.2 Autologe Blutstammzelltransplantationen

Auch im autologen Patientenkollektiv stellt diese hier vorliegende Studie die erste prospektive Erhebung dar, welche bei einem gemischten Patientenkollektiv an autolog transplantierten Kindern und Jugendlichen die Steuerung einer virostatischen Therapie mittels simultaner Detektion von mehreren Viren vornimmt.

Insgesamt kam es nur bei 36% der Patienten zu einer viralen DNAämie. Diese Inzidenz ist verglichen mit dem in dieser Arbeit analysierten Empfängerkollektiv einer allogenen Blutstammzelltransplantation deutlich geringer. Auch unter den autologen Blutstammzelltransplantationen war ein durch eine virale Erkrankung induzierter Todesfall nicht zu verzeichnen. Neben einer ebenfalls geringen Rate an Nebenwirkungen ließ sich feststellen, dass bei der Hälfte der Patienten bei denen eine virale DNAämie festgestellt werden konnte, die Fortführung der Aciclovirtherapie ausreichte um die Manifestation einer viralen Erkrankung zu verhindern. So ist es auch bei autologen Blutstammzelltransplantationen essentiell, besondere Risikofaktoren und gefährdete Patientengruppen zu identifizieren, die einer präemptiven virostatischen Therapie verlangen.

Als einer der Risikofaktoren für virale Erkrankungen nach autologer Blutstammzelltransplantation wird die Applikation von CD34-selektionierten peripheren Blutstammzellen diskutiert. Ein Grund dafür liegt in dem geringen bis fehlenden Anteil an B- und T-Lymphozyten in einem transplantierten CD34-selektionierten Blutstammzellpräparat, der zu einer prolongierten Immundefizienz führen kann. So ist nicht nur in den ersten zwei Monaten eine verminderte Anzahl von Lymphozyten nach CD34-selektionierter peripherer Blutstammzelltransplantation festzustellen [90, 91] sondern es werden wie auch in dieser hier vorliegenden Arbeit erst verspätet altersentsprechende Lymphozytenzahlen bei Kindern erreicht [92]. Im Gegensatz dazu stehen Arbeiten bei weniger intensiv vorbehandelten Erwachsenen, die keinen Unterschied in der lymphozytären Rekonstitution in Abhängigkeit einer CD34-Selektion aufzeigen konnten [93, 94].

In der hier vorliegenden Arbeit ließen sich tendenziell vermehrt virale DNAämien bei CD34-selektionierten Blutstammzelltransplantationen nachweisen. Eindeutiger, jedoch ebenfalls nicht statistisch signifikant, wird dieser Zusammenhang in Bezug auf CMV-DNAämien. So erhielten 80% der Patienten, die eine CMV-DNAämie entwickelten, CD34-selektionierte Stammzellen. Auch in zwei anderen Studien

konnte ein Zusammenhang zwischen der CD34-Selektion von Blutstammzellprodukten und dem Nachweis von CMV nach autologer Stammzelltransplantation festgestellt werden [90, 95]. Darüber hinaus wurde in der insgesamt 268 Kinder, Jugendliche und Erwachsene umfassenden Studie die CD34-Selektion sogar als unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung von CMV-Erkrankungen und durch CMV verursachte Todesfälle identifiziert [95].

Neben der CD34-Selektion ist auch ein positiver CMV-Serostatus als Risikofaktor für eine CMV-DNAämie zu identifizieren. Wie auch in einer anderen Studie zu CMV-Monitoring und präemptiver Ganciclovir-Therapie [96] wurden auch in der hier vorliegenden Analyse CMV-DNAämien ausschließlich bei Patienten beobachtet, die vor autologer Blutstammzelltransplantation einen positiven CMV-Status aufwiesen.

Auch wenn insgesamt das Risiko einer CMV-Erkrankung nach autologer Blutstammzelltransplantation bei Kindern als gering einzustufen ist [96-98], ist bei Patienten mit positiven CMV-Status und/oder Erhalt eines CD34-selektionierten Blutstammzellpräparates eine präemptive Ganciclovir-Therapie zu empfehlen. Dabei kann jedoch die Dauer des Virusmonitorings zeitlich begrenzt werden, da in allen Studien wie auch in der hier vorliegenden Arbeit CMV-DNAämien ausschließlich in den ersten zwei Monaten nach autologer Blutstammzelltransplantation auftraten [90, 95].

Auch bei den EBV-DNAämien war die Inzidenz im Vergleich mit dem allogenen transplantierten Patientenkollektiv in dieser Studie deutlich geringer. Zudem konnte festgestellt werden, dass bei der Mehrzahl der EBV-DNAämien ein CD34-selektioniertes Blutstammzellpräparat transplantiert wurde und ausschließlich ein positiver EBV-Status beim Patienten vorlag. Zur Manifestation einer lebensbedrohlichen PTLD kam es aber nicht. Über diese EBV-Erkrankung wurde jedoch nicht nur in einzelnen Fallberichten [99], sondern auch in größeren Studien zur autologen Blutstammzelltransplantation beim Neuroblastom berichtet [92, 100]. Dort wurde bei 3.5% bzw. 9% der Kinder eine PTLD diagnostiziert, wobei alle Kinder ein CD34-selektioniertes Blutstammzellpräparat erhielten.

Demgegenüber musste in der hier vorliegenden Arbeit in keinem Fall einer detektierten EBV-DNAämie eine Umstellung der prophylaktischen Aciclovir-Therapie auf Ganciclovir erfolgen, da die EBV-Viruslasten wiederholt unter der auch im allogenen Patientenkollektiv gesetzten Grenze von 500 Kopien/ μ g DNA lagen und keine klinische Symptomatik bestand. Somit scheint es gerechtfertigt nach autologer

Blutstammzelltransplantation im Kindesalter bei niedriger EBV-Viruslast im Blut und fehlenden Anzeichen einer klinischen Symptomatik auf die Einleitung einer kostenintensiveren Ganciclovirtherapie mit entsprechenden Nebenwirkungen zu verzichten. Diese Strategie wurde in dieser Studie erfolgreich umgesetzt. Darüber hinaus kann diskutiert werden ob auf ein EBV-Monitoring bei Patienten, die einen negativen Serostatus besitzen und ein unmanipuliertes Blutstammzelltransplantat erhalten haben, gänzlich verzichtet werden kann.

Einziges der in der autolog transplantierten Patientengruppe detektierten Viren mit Krankheitswert war HHV6, welches in allen drei Fällen innerhalb von dreißig Tagen nach autologer Blutstammzelltransplantation festgestellt werden konnte. Damit ist der Zeitpunkt der Detektionen vergleichbar mit den Ergebnissen anderer pädiatrischer Studien [101, 102], die bei autolog transplantierten Kindern HHV6 ebenfalls in den ersten vier Wochen nachweisen konnten.

Besonderes Augenmerk bei Betrachtung der Verläufe der HHV6-Viruslasten ist Patient 2 zu widmen (s. Kapitel 4.2.4, Abbildung 15+16), bei dem sich trotz unterschiedlichster virostatistischer Therapie anhaltend hohe HHV6-Lasten nicht unter 2×10^5 Kopien/ μ g DNA detektieren ließen. Diese Therapierefraktärität spricht für das Vorliegen einer Integration des HHV6-Virus in das menschliche Genom, die bei 0.8-1.5% der Bevölkerung beschrieben wird [103, 104]. Diese Integration des HHV6-Genoms erfolgt in den Telomerregionen der Chromosomen und kann vererbt werden [105]. Dabei behält das während der Latenzphase integrierte virale Genom seine Fähigkeit krankheitsverursachende Virione zu bilden [105]. Über die genauen Auswirkungen dieser chromosomalen Integration kann derzeit allerdings nur spekuliert werden. So wird u.a. angenommen, dass das in der Telomerregion integrierte Genom zu einer chromosomalen Instabilität und Aktivierung von Protoonkogenen führen kann [106].

Aufgrund der auch vor autologer Blutstammzelltransplantation vorhandenen hohen HHV6-Viruslast bei Patient 2 ist anzunehmen, dass eine chromosomale Integration von HHV6 bereits vor der Transplantation bestand. Dabei kann es sich um eine vertikale Übertragung von den Eltern oder eine horizontale Übertragung über eine unter der Chemotherapie applizierte Blutkonserve gehandelt haben. Auch kann bei Patient 2 der Nachweis von HHV6 in der Magenbiopsie nicht als beweisend für eine durch HHV6 induzierte Gastritis angesehen werden, da eine chromosomale Integration von HHV6 in jeder Form genetischen Materials und somit auch in der

Magenschleimhaut nachweisbar ist [107]. Trotzdem ist es möglich, dass das Virus zum Zeitpunkt der bioptisch gesicherten Gastritis aktiv war, da hier der Einsatz von Foscavir die Viruslasten um etwa eine Logstufe senken konnte.

Entsprechende differentialdiagnostische Untersuchungen [108] wurden jedoch bei dem Patienten dieser Studie nicht durchgeführt, da zum Zeitpunkt der Detektion die Möglichkeit und der Pathomechanismus einer chromosomalen Integration von HHV6 noch nicht bekannt war. In Zukunft sollte jedoch bei hohen Viruslasten $> 1 \times 10^5$ Kopien/ μ g DNA oder fehlendem bzw. unzureichendem Ansprechen auf virostatistische Therapie, die chromosomale Integration von HHV6 in Erwägung gezogen und eine Sicherung dieser Diagnose mittels in situ Hybridisierung erfolgen. So können unnötige, nebenwirkungsreiche und kostenintensive Therapien mit Virustatika vermieden werden.

Im Gegensatz zu den allogenen transplantierten Patienten sollte nach den hier vorliegenden Ergebnissen für das autologe Patientenkollektiv keine Empfehlung zu einem umfassenden virologischen Monitoring dieser Patientengruppe ausgesprochen werden. So sollte ein virales Monitoring auf CMV und EBV bei besonderen Untergruppen mit positivem Serostatus und Erhalt eines CD34-selektierten Blutstammzellpräparats erfolgen, während auf eine regelmäßige Untersuchung von HHV6, ADV und BKV bei autolog transplantierten Patienten verzichtet werden kann. Größere Studien bei Kindern und Jugendlichen sollten klären inwieweit die prophylaktische Behandlung mit Aciclovir außerhalb der skizzierten Risikogruppen überhaupt notwendig ist. Zudem ist bei hohen HHV6-Lasten vor Einleitung einer virostatistischen Therapie die chromosomale Integration des viralen Genoms zu bedenken.

6 Zusammenfassung

Morbidität und Mortalität nach hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSZT) im Kindes- und Jugendalter sind zu einem großen Teil durch das Auftreten von viralen Erkrankungen bedingt.

Ziel der hier vorliegenden Arbeit war es Risikofaktoren für das Auftreten viraler DNAämie (VDNA) zu identifizieren und das angewandte antivirale Therapieregime auf Effektivität und Erfolg hin zu überprüfen. Dafür wurde ein prospektives simultanes Monitoring für Cytomegalievirus (CMV), Epstein-Barr-Virus (EBV), Humanes-Herpes-Virus Typ 6 (HHV6), Polyoma-BK-Virus (BKV) und humanes Adenovirus (ADV) in den ersten 100 Tagen nach HSZT wöchentlich mittels real-time TaqMan® Polymerase-Kettenreaktion (PCR) durchgeführt. Alle Patienten erhielten prophylaktisch Aciclovir (ACV) und nach allogener HSZT präemptiv Ganciclovir (GCV) sofern definierte VDNA-Grenzwerte (>500 Kopien/ μg DNA für EBV/HHV6, >1 Kopie/ μg DNA für CMV/ADV/BKV) im Blut zweimal in Folge überschritten wurden. Zu einer VDNA kam es in der allogenen Kohorte bei insgesamt 25/40 (63%) Patienten, wobei CMV und EBV am häufigsten detektiert wurden. Es erkrankten 5/40 (12,5%) Patienten an CMV, 4/40 (10%) an EBV und ein Patient (2,5%) an HHV6. Eine VDNA wurde ausschließlich nach neutrophilem Engraftment und zumeist bis Tag +100 nach HSZT detektiert. Eine rekurrende VDNA sowie virale Erkrankungen kamen statistisch signifikant häufiger bei Patienten mit nicht maligner Grunderkrankung vor. Des Weiteren konnten ein HLA-Match $<9/10$, Knochenmark als Stammzellquelle, ein positiver CMV-Empfänger-Serostatus sowie die Behandlung mit Anti-T-Lymphozyten-Globulin (ATG) als signifikante unabhängige Risikofaktoren für eine VDNA identifiziert werden.

Nach autologer HSZT kam es bei 8/22 (36%) Patienten zu einer VDNA, wobei CMV bei 5/22 (23%), EBV und HHV6 jeweils bei 3/22 (14%) Patienten detektiert wurde. Die Transplantation CD34+-selektionierter Blutstammzellen erwies sich zumindest für die Detektion von CMV als ein Risikofaktor. Trotz zurückhaltender präemptiver Therapie kam es nur bei zwei autolog transplantierten Patienten zu einer durch HHV6 induzierten viralen Erkrankung.

Weder im allogenen noch im autologen Patientenkollektiv verstarb ein Patient an den Folgen einer viralen Erkrankung. So kann das durchgeführte virale Monitoring und die damit verbundene präemptive Therapiestrategie effektiv zur Vermeidung schwerer viraler Infektionen nach allogener HSZT eingesetzt werden. Bei autolog transplantierten Patienten ist ein umfassendes virales Monitoring jedoch nur für bestimmte Subgruppen zu empfehlen.

7 Anhang

7.1 *Abkürzungsverzeichnis*

aGvHD	akute Spender-gegen-Empfänger-Erkrankung
ABL	akute bilineäre Leukämie
ACV	Aciclovir
ADV	Adenovirus
ALL	akute lymphatische Leukämie
AML	akute myeloische Leukämie
ATG	Antithymozytenglobulin
BCNU	bis-Chlorethyl-Nitrosourea = Carmustin
BKV	Poliomavirus hominis 1
BUS	Busulfan
CD	Cluster of differentiation
cDNA	komplementäre DNA
cGvHD	chronische Spender-gegen-Empfänger-Erkrankung
CLL	chronische lymphatische Leukämie
CML	chronische myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalievirus
CR	komplette Remission
CSA	Cyclosporin A
CY	Cyclophosphamid
D-	Spenderserostatus negativ
D+	Spenderserostatus positiv
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOC	Death of Complications =Tod durch Therapiekomplicationen
DOD	Death of Disease =Tod als Folge der Grunderkrankung
EBV	Epstein-Barr-Virus
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FK 506	Tacrolimus
FLU	Fludarabin

G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierender-Faktor
GCV	Ganciclovir
GvHD	Spender-gegen-Empfänger-Erkrankung
GvL	Spender-gegen-Leukämie-Effekt
HDC	Hochdosismotherapie
HHV	humanes Herpesvirus
HLA	humane Leukozytenantigene
HSV	Herpes simplex Virus
IL	Interleukin
JMML	juvenile myelomonozytäre Leukämie
KG	Körpergewicht
KM	Knochenmark
KMT	Knochenmarktransplantation
MDS	myelodysplastisches Syndrom
MG	maligne Grunderkrankung
MHC	Majorhistokompatibilitätskomplex
MM	multiples Myelom
MMF	Mycophenolat Mofetil
MTX	Methotrexat
NHL	Non-Hodgkin Lymphom
neg.	negativ
NMG	nicht-maligne Grunderkrankung
OKT3	Muromonab-CD3
p	p-Wert, statistische Signifikanz
PBSZ	periphere Blutstammzellen
PBSZT	periphere Blutstammzelltransplantation
PCR	Polymerasekettenreaktion
PFA	Foscarnet
PD	fortschreitende Erkrankung
pos.	positiv
PR	partielle Remission
qPCR	quantitative real-time PCR
R-	Empfängerserostatus negativ
R+	Empfängerserostatus positiv

RNA	Ribonukleinsäure
S	Spender
SCID	schwerer kombinierter Immundefekt
SZT	Stammzelltransplantation
TBI	Total body irradiation = Hochdosierte Ganzkörperbestrahlung
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
VACV	Valaciclovir
VDNA	virale DNAämie
VGCV	Valganciclovir
VP16	Etoposid
vs.	versus
VZV	Varizella-Zoster-Virus

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	akute GvHD. Klinische Manifestation, Histologie, Grading
Tabelle 2:	Glucksberg Seattle Kriterien zum Schweregrad der aGvHD
Tabelle 3:	akute GvHD, overall Grading
Tabelle 4:	gebräuchliche Medikamente zur GvHD-Prophylaxe
Tabelle 5:	Patientencharakteristika des allogenen transplantierten Kollektivs
Tabelle 6:	durchgeführte GvHD Prophylaxe nach allogener SZT
Tabelle 7:	Patientencharakteristika des autolog transplantierten Kollektivs
Tabelle 8:	ACV-Dosierung nach Serostatus
Tabelle 9:	Ergebnisse der univariaten Analyse
Tabelle 10:	Risikofaktoren für CMV-DNAämie
Tabelle 11:	Risikofaktoren für EBV-DNAämie
Tabelle 12:	Ergebnisse der multivariaten Analyse

7.3 *Abbildungsverzeichnis*

- Abbildung 1: Quantitatives Auftreten viraler DNAämie im allogenen Kollektiv
- Abbildung 2: Kumulative Inzidenz viraler DNAämie in Abhängigkeit vom lymphozytären Engraftment nach zwei Monaten
- Abbildung 3: CMV-DNAämie in Abhängigkeit von Stammzellquelle und Grunderkrankung
- Abbildung 4: EBV-DNAämie in Abhängigkeit von Stammzellquelle und Grunderkrankung
- Abbildung 5: Viruslasten in Abhängigkeit von ATG-Anwendung
- Abbildung 6: Kaplan-Meier-Darstellung der kumulativen Inzidenz viraler DNAämie in Abhängigkeit von ATG-Vorbehandlung
- Abbildung 7: Häufigkeit der aGvHD-Schweregrade bei allogenen verwandt bzw. nicht verwandt transplantierten Patienten
- Abbildung 8: Anzahl der beteiligten Organe bei aGvHD
- Abbildung 9: Kaplan-Meier-Darstellung der kumulativen Inzidenz viraler DNAämie bis Tag +100 in Abhängigkeit vom HLA-match
- Abbildung 10: Kaplan-Meier Darstellung des Gesamtüberlebens in Abhängigkeit von viraler DNAämie
- Abbildung 11: Gesamtüberleben nach SZT in Abhängigkeit von der Transplantationsart
- Abbildung 12: Quantitatives Auftreten viraler DNAämie im autologen Kollektiv
- Abbildung 13: Kaplan-Meier Darstellung der kumulativen Inzidenz viraler DNAämie in Abhängigkeit vom lymphozytären Engraftment nach 3 Monaten
- Abbildung 14: Patient 1, Verlauf der HHV6-Last nach SZT
- Abbildung 15: Patient 2, Verlauf der HHV6-Last nach SZT (1. dokumentierte Episode)
- Abbildung 16: Patient 2, Verlauf der HHV6-Viruslast nach SZT (2. dokumentierte Episode) VGCV in wechselnder Dosierung
- Abbildung 17: Kaplan-Meier Darstellung des Gesamtüberlebens in Abhängigkeit von viraler DNAämie

8 Literaturverzeichnis

1. Thomas E.D., L.H.L., Lu W.C., Ferrebee J.W. , *Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy*. N Engl J Med, 1957. **257**: p. 491-496.
2. Epstein, R.B., et al., *Cytotoxic typing antisera for marrow grafting in littermate dogs*. Transplantation, 1968. **6**(1): p. 45-58.
3. Storb R., R.R.H., Thomas E.D. , *Marrow grafts between canine siblings matched by serotyping and mixed leukocyte culture*. J Clin Invest, 1971. **50**: p. 1272-1275.
4. Richman, C.M., R.S. Weiner, and R.A. Yankee, *Increase in circulating stem cells following chemotherapy in man*. Blood, 1976. **47**(6): p. 1031-9.
5. Sharp JG, K.A., Lynch JC, Pavletic ZS, Joshi SS., *Blood stem cell transplantation: factors influencing cellular immunological reconstitution*. J Hematother Stem Cell Res, 2000: p. 971-981.
6. Paul-Ehrlich-Institutes., E.v.W.B.d.B.u.M.d., *Richtlinien zur Transplantation peripherer Blutstammzellen*. Dt Ärzteblatt, 1997. **94**(23): p. 1268-1276.
7. Jan Storek, M.A.D., Barry Storer, Terry Stevens-Ayers, David G. Maloney, Kieren A. Marr, Robert P. Witherspoon, William Bensinger, Mary E. D. Flowers, Paul Martin, Rainer Storb, Frederick R. Appelbaum, and Michael Boeckh *Immune reconstitution after allogeneic marrow transplantation compared with blood stem cell transplantation Clinical Observations, Interventions, and therapeutical Trials*. Blood, 2001. **97**(11):p.3380-3389
8. Meisel, R., et al., *Comparable long-term survival after bone marrow versus peripheral blood progenitor cell transplantation from matched unrelated donors in children with hematologic malignancies*. Biol Blood Marrow Transplant, 2007. **13**(11): p. 1338-45.
9. Richard E. Champlin, N.S., Mary M. Horowitz, Bernard Chapuis, Raj Chopra, Jan J. Cornelissen, Robert Peter Gale, John M. Goldman, Fausto R. Loberiza Jr, Bernd Hertenstein, John P. Klein, Emilio Montserrat, Mei-Jie Zhang, Olle Ringdén, Sandra C. Tomany, Philip A. Rowlings, Marlies E. H. M. Van Hoef, and Alois Gratwohl *Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation* Blood, 2000. **95**(12): p. 3702-3709.
10. Schonberger, S., et al., *Transplantation of haematopoietic stem cells derived from cord blood, bone marrow or peripheral blood: a single centre matched-pair analysis in a heterogeneous risk population*. Klin Padiatr, 2004. **216**(6): p. 356-63.
11. Brunstein, C.G. and J.E. Wagner, *Umbilical cord blood transplantation and banking*. Annu Rev Med, 2006. **57**: p. 403-17.
12. Hiddemann W., B.C., *Die Onkologie*. Vol. 1. 2009, Berlin: Springer. 1854.
13. Weiden, P.L., et al., *Antileukemic effect of graft-versus-host disease contributes to improved survival after allogeneic marrow transplantation*. Transplant Proc, 1981. **13**(1 Pt 1): p. 248-51.
14. Weiden, P.L., et al., *Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation*. N Engl J Med, 1981. **304**(25): p. 1529-33.
15. Kolb, H.J., et al., *Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients*. Blood, 1990. **76**(12): p. 2462-5.

16. Miyamura K, B.A., Kodera Y, Saito H, *Minimal residual disease after bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia and implications for graft-versus-leukemia effect: A review of recent results*. Bone Marrow Transplantation N Engl J Med, 1994. **14**: p. 201-209.
17. Billingham, R.E., *The biology of graft-versus-host reactions*. Harvey Lect, 1966. **62**: p. 21-78.
18. Mickelson, E.M., E.W. Petersdorf, and J.A. Hansen, *HLA matching and hematopoietic cell transplant outcome*. Clin Transpl, 2002: p. 263-71.
19. Vogelsang, G.B., L. Lee, and D.M. Bensen-Kennedy, *Pathogenesis and treatment of graft-versus-host disease after bone marrow transplant*. Annu Rev Med, 2003. **54**: p. 29-52.
20. Antin, J.H. and J.L. Ferrara, *Cytokine dysregulation and acute graft-versus-host disease*. Blood, 1992. **80**(12): p. 2964-8.
21. Joseph, R.W., D.R. Couriel, and K.V. Komanduri, *Chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: challenges in prevention, science, and supportive care*. J Support Oncol, 2008. **6**(8): p. 361-72.
22. Przepiorka, D., et al., *1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading*. Bone Marrow Transplant, 1995. **15**(6): p. 825-8.
23. Glucksberg, H., et al., *Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors*. Transplantation, 1974. **18**(4): p. 295-304.
24. Graze PR, G.R., *Chronic graft-versus-host disease: a syndrome of disordered immunity*. Am J Med, 1979. **66**: p. 611-620.
25. Ferrara, J.L. and H.J. Deeg, *Graft-versus-host disease*. N Engl J Med, 1991. **324**(10): p. 667-74.
26. Ho, V.T. and R.J. Soiffer, *The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. Blood, 2001. **98**(12): p. 3192-204.
27. Parkman, R. and K.I. Weinberg, *Immunological reconstitution following bone marrow transplantation*. Immunol Rev, 1997. **157**: p. 73-8.
28. Comans-Bitter, W.M., et al., *Immunophenotyping of blood lymphocytes in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations*. J Pediatr, 1997. **130**(3): p. 388-93.
29. Mohty, M., et al., *Recovery of lymphocyte and dendritic cell subsets following reduced intensity allogeneic bone marrow transplantation*. Hematology, 2002. **7**(3): p. 157-64.
30. Mackall, C.L., et al., *T-cell regeneration after bone marrow transplantation: differential CD45 isoform expression on thymic-derived versus thymic-independent progeny*. Blood, 1993. **82**(8): p. 2585-94.
31. Eyrich, M., et al., *Distinct contributions of CD4(+) and CD8(+) naive and memory T-cell subsets to overall T-cell-receptor repertoire complexity following transplantation of T-cell-depleted CD34-selected hematopoietic progenitor cells from unrelated donors*. Blood, 2002. **100**(5): p. 1915-8.
32. H. Einsele, H.B., J. Beyer, M.G. Kiehl, V. Runde, H.-J. Kolb, E. Holler, R. Beck8, R., U.S. Schwertfeger9, H. Hebart1, H. Martin11, J. Kienast12, A.J. Ullmann13, G. Maschmeyer14,, and H.L. W. Krüger15, C.A. Schmidt17, H. Oettle17, T. Klingebiel15, *Epidemiologie und interventionelle Therapiestrategien infektiöser Komplikationen nach allogener Stammzelltransplantation*. Deutsche medizinische Wochenschrift, 2001. **126**: p. 1278-1284.

33. Einsele, H., et al., *Infectious complications after allogeneic stem cell transplantation: epidemiology and interventional therapy strategies--guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO)*. Ann Hematol, 2003. **82 Suppl 2**: p. S175-85.
34. E.S.Jr., M., *Cytomegalovirus general features (human)*. Encyclopedia of virology, vol. 1, ed. G.A. Webster R.G. 1997: Academic Press,. 292-298.
35. Doerr, H.W., *Medizinische Virologie*. 2009, Stuttgart: Thieme. 736.
36. Modrow S., F.D., *Das humane Cytomegalievirus*. Molekulare Virologie. 1998: Spektrum, Akademischer Verlag. 450-453.
37. Castagnola, E., et al., *Cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation in children*. Hum Immunol, 2004. **65**(5): p. 416-22.
38. Schuster, F.R., et al., *[Viral infections in pediatric cancer patients]*. Klin Padiatr, 2005. **217 Suppl 1**: p. S67-84.
39. Boeckh, M., et al., *Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity*. Blood, 2003. **101**(2): p. 407-14.
40. Zaia, J.A., et al., *Status of Cytomegalovirus Prevention and Treatment in 2000*. Hematology (Am Soc Hematol Educ Program), 2000: p. 339-355.
41. Loren, A.W., et al., *Post-transplant lymphoproliferative disorder: a review*. Bone Marrow Transplant, 2003. **31**(3): p. 145-55.
42. Gerritsen, E.J., et al., *Risk factors for developing EBV-related B cell lymphoproliferative disorders (BLPD) after non-HLA-identical BMT in children*. Bone Marrow Transplant, 1996. **18**(2): p. 377-82.
43. Gärtner, B.C., *Ebstein-Barr-Virus-Infektionen nach Stammzeltransplantation*. Monatsschrift Kinderheilkunde, 2003. **151**: p. 166-173.
44. Styczynski, J., et al., *Management of HSV, VZV and EBV infections in patients with hematological malignancies and after SCT: guidelines from the Second European Conference on Infections in Leukemia*. Bone Marrow Transplant, 2009. **43**(10): p. 757-70.
45. Ljungman, P., et al., *Effectiveness of ganciclovir against human herpesvirus-6 excreted in saliva in stem cell transplant recipients*. Bone Marrow Transplant, 2007. **39**(8): p. 497-9.
46. Ljungman, P. and N. Singh, *Human herpesvirus-6 infection in solid organ and stem cell transplant recipients*. J Clin Virol, 2006. **37 Suppl 1**: p. S87-91.
47. Munoz, F.M., P.A. Piedra, and G.J. Demmler, *Disseminated adenovirus disease in immunocompromised and immunocompetent children*. Clin Infect Dis, 1998. **27**(5): p. 1194-200.
48. Hale, G.A., et al., *Adenovirus infection after pediatric bone marrow transplantation*. Bone Marrow Transplant, 1999. **23**(3): p. 277-82.
49. Ljungman, P., et al., *Cidofovir for adenovirus infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a survey by the Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation*. Bone Marrow Transplant, 2003. **31**(6): p. 481-6.
50. Neofytos, D., et al., *Treatment of adenovirus disease in stem cell transplant recipients with cidofovir*. Biol Blood Marrow Transplant, 2007. **13**(1): p. 74-81.
51. Feuchtinger, T., et al., *Adenoviral infections after transplantation of positive selected stem cells from haploidentical donors in children: an update*. Klin Padiatr, 2005. **217**(6): p. 339-44.

52. Wong, A.S., et al., *Relationship of pretransplantation polyoma BK virus serologic findings and BK viral reactivation after hematopoietic stem cell transplantation*. Clin Infect Dis, 2007. **44**(6): p. 830-7.
53. AstraZeneca, *Fachinformation Foscavir®*. 2003.
54. Pharmacia & Upjohn, *Fachinformation Vistide®*. 1998.
55. Ljungman, P., P. Griffiths, and C. Paya, *Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients*. Clin Infect Dis, 2002. **34**(8): p. 1094-7.
56. Shulman, H.M., et al., *Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients*. Am J Med, 1980. **69**(2): p. 204-17.
57. Battiwalla, M., et al., *Ganciclovir inhibits lymphocyte proliferation by impairing DNA synthesis*. Biol Blood Marrow Transplant, 2007. **13**(7): p. 765-70.
58. Burns, L.J., et al., *Randomized clinical trial of ganciclovir vs acyclovir for prevention of cytomegalovirus antigenemia after allogeneic transplantation*. Bone Marrow Transplant, 2002. **30**(12): p. 945-51.
59. Holler, E., *Cytokines, viruses, and graft-versus-host disease*. Curr Opin Hematol, 2002. **9**(6): p. 479-84.
60. Kim, D.H., et al., *Risk factors for late cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation using HLA-matched sibling donor: donor lymphocyte infusion and previous history of early CMV infection*. Bone Marrow Transplant, 2004. **34**(1): p. 21-7.
61. Ljungman, P., et al., *Risk factors for the development of cytomegalovirus disease after allogeneic stem cell transplantation*. Haematologica, 2006. **91**(1): p. 78-83.
62. Zaucha-Prazmo, A., et al., *Cytomegalovirus (CMV) infections in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation*. Pediatr Hematol Oncol, 2005. **22**(4): p. 271-6.
63. Zerr, D.M., et al., *Clinical outcomes of human herpesvirus 6 reactivation after hematopoietic stem cell transplantation*. Clin Infect Dis, 2005. **40**(7): p. 932-40.
64. Sundin, M., et al., *The role of HLA mismatch, splenectomy and recipient Epstein-Barr virus seronegativity as risk factors in post-transplant lymphoproliferative disorder following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. Haematologica, 2006. **91**(8): p. 1059-67.
65. Yamane, A., et al., *Risk factors for developing human herpesvirus 6 (HHV-6) reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and its association with central nervous system disorders*. Biol Blood Marrow Transplant, 2007. **13**(1): p. 100-6.
66. Cesaro, S., et al., *Cidofovir for cytomegalovirus reactivation in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation*. J Clin Virol, 2005. **34**(2): p. 129-32.
67. Hazar, V., et al., *High-dose acyclovir and pre-emptive ganciclovir in prevention of cytomegalovirus disease in pediatric patients following peripheral blood stem cell transplantation*. Bone Marrow Transplant, 2004. **33**(9): p. 931-5.
68. Matthes-Martin, S., et al., *Pre-emptive treatment of CMV DNAemia in paediatric stem cell transplantation: the impact of recipient and donor CMV serostatus on the incidence of CMV disease and CMV-related mortality*. Bone Marrow Transplant, 2003. **31**(9): p. 803-8.
69. Patel, S.R., R.U. Ridwan, and M. Ortin, *Cytomegalovirus reactivation in pediatric hemopoietic progenitors transplant: a retrospective study on the risk*

- factors and the efficacy of treatment.* J Pediatr Hematol Oncol, 2005. **27**(8): p. 411-5.
70. Boeckh, M. and W.G. Nichols, *The impact of cytomegalovirus serostatus of donor and recipient before hematopoietic stem cell transplantation in the era of antiviral prophylaxis and preemptive therapy.* Blood, 2004. **103**(6): p. 2003-8.
 71. Kroger, N., et al., *Patient cytomegalovirus seropositivity with or without reactivation is the most important prognostic factor for survival and treatment-related mortality in stem cell transplantation from unrelated donors using pretransplant in vivo T-cell depletion with anti-thymocyte globulin.* Br J Haematol, 2001. **113**(4): p. 1060-71.
 72. Wagner, H.J., et al., *Prompt versus preemptive intervention for EBV lymphoproliferative disease.* Blood, 2004. **103**(10): p. 3979-81.
 73. van Esser, J.W., et al., *Epstein-Barr virus (EBV) reactivation is a frequent event after allogeneic stem cell transplantation (SCT) and quantitatively predicts EBV-lymphoproliferative disease following T-cell--depleted SCT.* Blood, 2001. **98**(4): p. 972-8.
 74. Cohen, J., et al., *Increased incidence of EBV-related disease following paediatric stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning.* Br J Haematol, 2005. **129**(2): p. 229-39.
 75. Hoshino, Y., et al., *Prospective monitoring of the Epstein-Barr virus DNA by a real-time quantitative polymerase chain reaction after allogeneic stem cell transplantation.* Br J Haematol, 2001. **115**(1): p. 105-11.
 76. Lynch, B.A., et al., *Effect of in vivo lymphocyte-depleting strategies on development of lymphoproliferative disorders in children post allogeneic bone marrow transplantation.* Bone Marrow Transplant, 2003. **32**(5): p. 527-33.
 77. Peres, E., et al., *High fatality rate of Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorder occurring after bone marrow transplantation with rabbit antithymocyte globulin conditioning regimens.* J Clin Microbiol, 2005. **43**(7): p. 3540-3.
 78. Seidel, M.G., et al., *In vitro and in vivo T-cell depletion with myeloablative or reduced-intensity conditioning in pediatric hematopoietic stem cell transplantation.* Haematologica, 2005. **90**(10): p. 1405-14.
 79. Heslop, H.E., *How I treat EBV lymphoproliferation.* Blood, 2009. **114**(19): p. 4002-8.
 80. Landgren, O., et al., *Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation.* Blood, 2009. **113**(20): p. 4992-5001.
 81. Omar, H., et al., *Targeted monitoring of patients at high risk of post-transplant lymphoproliferative disease by quantitative Epstein-Barr virus polymerase chain reaction.* Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society, 2009. **11**(5): p. 393-9.
 82. Ahmad, I., et al., *Preemptive management of Epstein-Barr virus reactivation after hematopoietic stem-cell transplantation.* Transplantation, 2009. **87**(8): p. 1240-5.
 83. Juvonen, E., et al., *Retrospective evaluation of serum Epstein Barr virus DNA levels in 406 allogeneic stem cell transplant patients.* Haematologica, 2007. **92**(6): p. 819-25.
 84. Wang, L.R., et al., *The impact of human herpesvirus 6B reactivation on early complications following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.* Biol Blood Marrow Transplant, 2006. **12**(10): p. 1031-7.

85. Ljungman, P., et al., *High levels of human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood leucocytes are correlated to platelet engraftment and disease in allogeneic stem cell transplant patients*. Br J Haematol, 2000. **111**(3): p. 774-81.
86. Lion, T., et al., *Molecular monitoring of adenovirus in peripheral blood after allogeneic bone marrow transplantation permits early diagnosis of disseminated disease*. Blood, 2003. **102**(3): p. 1114-20.
87. Yusuf, U., et al., *Cidofovir for the treatment of adenoviral infection in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients*. Transplantation, 2006. **81**(10): p. 1398-404.
88. Erard, V., et al., *Quantitative real-time polymerase chain reaction for detection of adenovirus after T cell-replete hematopoietic cell transplantation: viral load as a marker for invasive disease*. Clin Infect Dis, 2007. **45**(8): p. 958-65.
89. Gorczynska, E., et al., *Incidence, clinical outcome, and management of virus-induced hemorrhagic cystitis in children and adolescents after allogeneic hematopoietic cell transplantation*. Biol Blood Marrow Transplant, 2005. **11**(10): p. 797-804.
90. Sica, S., et al., *Early viral complications after autologous CD34-selected peripheral blood stem cell transplantation*. Bone Marrow Transplant, 2000. **26**(5): p. 587-8.
91. Frere, P., et al., *Infections after CD34-selected or unmanipulated autologous hematopoietic stem cell transplantation*. Eur J Haematol, 2006. **76**(2): p. 102-8.
92. Kanold, J., et al., *Long-term results of CD34(+) cell transplantation in children with neuroblastoma*. Med Pediatr Oncol, 2000. **35**(1): p. 1-7.
93. Peggs, K.S., et al., *Reconstitution of T-cell repertoire after autologous stem cell transplantation: influence of CD34 selection and cytomegalovirus infection*. Biol Blood Marrow Transplant, 2003. **9**(3): p. 198-205.
94. Schiller, G.J., R. Vescio, and J. Berenson, *Cytomegalovirus infection following transplantation of autologous CD34-selected progenitor cells*. Blood, 2000. **96**(3): p. 1194.
95. Holmberg, L.A., et al., *Increased incidence of cytomegalovirus disease after autologous CD34-selected peripheral blood stem cell transplantation*. Blood, 1999. **94**(12): p. 4029-35.
96. Paris, C., et al., *Cytomegalovirus infection in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation in Chile*. Pediatric blood & cancer, 2009. **53**(3): p. 453-8.
97. Castagnola, E., et al., *Incidence of bacteremias and invasive mycoses in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a single center experience*. Bone Marrow Transplant, 2008. **41**(4): p. 339-47.
98. Bilgrami, S., et al., *Cytomegalovirus viremia, viruria and disease after autologous peripheral blood stem cell transplantation: no need for surveillance*. Bone Marrow Transplant, 1999. **24**(1): p. 69-73.
99. Eckrich, M.J., et al., *A case of pediatric PTLN following autologous stem cell transplantation and review of the literature*. Pediatr Transplant, 2010.
100. Powell, J.L., et al., *An unexpectedly high incidence of Epstein-Barr virus lymphoproliferative disease after CD34+ selected autologous peripheral blood stem cell transplant in neuroblastoma*. Bone Marrow Transplant, 2004. **33**(6): p. 651-7.

101. Miyoshi, H., et al., *Inverse relationship between human herpesvirus-6 and -7 detection after allogeneic and autologous stem cell transplantation*. Bone Marrow Transplant, 2001. **27**(10): p. 1065-70.
102. Savolainen, H., et al., *Human herpesvirus-6 and -7 in pediatric stem cell transplantation*. Pediatr Blood Cancer, 2005. **45**(6): p. 820-5.
103. Leong, H.N., et al., *The prevalence of chromosomally integrated human herpesvirus 6 genomes in the blood of UK blood donors*. J Med Virol, 2007. **79**(1): p. 45-51.
104. Hubacek, P., et al., *Prevalence of HHV-6 integrated chromosomally among children treated for acute lymphoblastic or myeloid leukemia in the Czech Republic*. J Med Virol, 2009. **81**(2): p. 258-63.
105. Arbuckle, J.H., et al., *The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(12): p. 5563-8.
106. Morissette, G. and L. Flamand, *Herpesviruses and chromosomal integration*. Journal of virology, 2010. **84**(23): p. 12100-9.
107. Ward, K.N., et al., *Human herpesvirus 6 chromosomal integration in immunocompetent patients results in high levels of viral DNA in blood, sera, and hair follicles*. J Clin Microbiol, 2006. **44**(4): p. 1571-4.
108. Clark, D.A., et al., *Transmission of integrated human herpesvirus 6 through stem cell transplantation: implications for laboratory diagnosis*. J Infect Dis, 2006. **193**(7): p. 912-6.

Lebenslauf



Name Pufal, Yvonne
Geburtsdatum 10.11.1981
Geburtsort Düsseldorf
Familienstand ledig
Staatsangehörigkeit deutsch

Schul Ausbildung 1992-2001 Goethe-Gymnasium, Düsseldorf
1988-1992 kath. Grundschule St. Franziskus, Düsseldorf

Medizin studium 10/2001-12/2007

Praktisches Jahr Marienhospital Düsseldorf
Klinik für Innere Medizin
Klinik für Anästhesiologie
Klinik für Chirurgie

Examina 12/2007 ärztliche Prüfung
09/2003 ärztliche Vorprüfung

Berufliche Laufbahn seit 02/2008 Assistenzärztin,
Klinikum Niederberg, Velbert

bis 06/2011 Klinik I Innere Medizin und
Kardiologie

seit 06/2011 Klinik II Innere Medizin und
Gastroenterologie

seit 12/2009 Notärztin NEF 09, Kreis Mettmann

Düsseldorf, 12.06.2012