

Aus dem Otto-Heubner-Centrum für Kinder- und Jugendmedizin
Klinik für Allgemeine Pädiatrie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Bedeutung multipler Virusreaktivierungen nach allogener
hämatopoetischer Stammzelltransplantation bei Kindern und
Jugendlichen**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Adine Margarete Anita Marquis

aus Leipzig

Gutachter/in: 1. Prof. Dr. med. G. Gaedicke
 2. Prof. Dr. med. H. Einsele
 3. Prof. Dr. med. P. Reinke

Datum der Promotion: 08.04.2011

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
2	Grundlagen	7
2.1	Hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSCT) in der Pädiatrie	7
2.1.1	Indikationen und Prognose	7
2.1.2	Transplantationsarten und Durchführung	7
2.1.3	Komplikationen der allogenen HSCT	9
2.2	Virologie	10
2.2.1	Cytomegalovirus	10
2.2.2	Epstein-Barr-Virus	11
2.2.3	Adenoviren	12
3	Ziele und Fragestellungen	14
4	Patienten und Methoden	15
4.1	Patienten	15
4.2	Virusnachweis-Methoden	17
4.3	Supportive Therapien nach allogener HSCT	17
4.4	Datenerhebung und statistische Methoden	17
4.4.1	Univariate Analysen	18
4.4.2	Multivariate Analysen	20
5	Ergebnisse	22
5.1	Ergebnisse der univariaten Analysen	22
5.1.1	Virusreaktivierungen nach allogener HSCT	22
5.1.2	Einflussfaktoren auf Virusreaktivierungen	22
5.1.3	Einfluss der Viren auf transplantationsassoziierte Komplikationen	25
5.2	Ergebnisse der multivariaten Analysen	33
5.2.1	Einflussfaktoren auf Virusreaktivierungen	33
5.2.2	Einfluss der Viren auf transplantationsassoziierte Komplikationen	37
6	Diskussion	42
6.1	Prävalenzen von Virusreaktivierungen nach HSCT	43
6.2	Einflussfaktoren auf Virusreaktivierungen nach HSCT	43
6.2.1	Einfluss der Empfänger- und Spenderserologie auf CMV- und EBV-Reaktivierungen	44
6.2.2	Einfluss weiterer Faktoren auf Virusreaktivierungen	45
6.3	Einfluss von Virusreaktivierungen auf die therapieassoziierte Mortalität (TRM)	46
6.4	Einfluss von Virusreaktivierungen auf weitere Komplikationen nach HSCT	48
6.5	Bewertung der Virus-assoziierten Komplikationen im Vergleich zu weiteren Infektionskomplikationen	49
7	Zusammenfassung	51
8	Literaturverzeichnis	53
9	Danksagung	63
10	Tabellarischer Lebenslauf	64
11	Erklärung	65

Abkürzungsverzeichnis

AdV	Adenoviren
aGVHD	Akute Graft-versus-Host Krankheit (engl. Graft-versus-Host Disease)
ALD	Adrenoleukodystrophie
ALL	Akute lymphoblastische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
BO	Bronchiolitis obliterans
CBT	Transplantation von Stammzellen aus dem Nabelschnurblut (engl. cord blood)
cGVHD	Chronische Graft-versus-Host Krankheit (engl. Graft-versus-Host Disease)
CI	Konfidenzintervall (engl. confidence interval)
CML	Chronische myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalovirus
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EBV	Epstein-Barr-Virus
EFS	Ereignisfreies Überleben (engl. Event-free Survival)
HHV6	Humanes Herpesvirus 6
HLA	Humanes Leukozyten-Antigen-System
HSCT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
HSV	Herpes-simplex-Virus
IE	Angeborene Erkrankungen (engl. inborn errors)
IgG	Immunglobulin G
KMT	Knochenmarktransplantation
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MOV	Multiorganversagen
OR	Odds Ratio
PBSCT	Periphere Blutstammzellen Transplantation (engl. peripheral blood stem cells)
PTLPD	Posttransplantations-Lymphoproliferative Erkrankung
SAA	Schwere aplastische Anämie
TRM	Therapieassoziierte Mortalität (engl. treatment related mortality)
VOD	Venookklusive Erkrankung
VZV	Varicella-Zoster-Virus
WAS	Wiskott-Aldrich Syndrom

1 Einleitung

Die Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen gilt heute als etabliertes Verfahren im Rahmen der Therapie von malignen und nicht-malignen Erkrankungen. Besonders in der Pädiatrie spielt sie eine wesentliche Rolle, da viele erworbene und kongenitale Erkrankungen des lymphohämatopoetischen Systems im Kindesalter mittels einer allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSCT) kurativ behandelt werden können (1).

Um ein Therapieversagen und transplantationsassoziierte Komplikationen zu verhindern, werden verschiedene Untersuchungen durchgeführt, um den passenden Spender zu finden, und unterschiedliche Verfahren eingesetzt, um den Empfänger auf das Transplantat vorzubereiten.

Neben dem „idealen Spender“, dem HLA-genotypisch identischen Geschwisterspender, ist es heute auch möglich, Transplantate von HLA-phänotypisch passenden, nicht-verwandten Spendern oder HLA-differenten Familien- oder unverwandten Spendern zu verwenden (2).

Obwohl sich die Transplantationsergebnisse unabhängig von der Indikation in den letzten 10 Jahren erheblich verbessert haben, gehört die HSCT immer noch zu den risikoreichsten Maßnahmen in der Medizin, und dies gilt besonders bei Verwendung von Transplantaten alternativer Spender. Zu den transplantationsassoziierten Komplikationen gehören die Graft-versus-Host-Krankheit (GVHD) sowie Infektionen, Organtoxizitäten und Spätschäden (1;2).

Unter den Infektionen nach Transplantation stellen insbesondere solche mit verschiedenen DNA-Viren ein Risiko dar. Diese Viren rufen bei Gesunden nur selten eine bedrohliche, klinische Symptomatik hervor, können nach allogener HSCT aber zu tödlichen Komplikationen zum Beispiel durch Pneumonien führen (3). Seit mehr als 10 Jahren werden solche Infektionen durch DNA-Viren vermehrt als pathogenetisch bedeutsame Komplikationen nach Transplantation wahrgenommen (4). Die Ursachen hierfür liegen zum einen in der Verwendung von Transplantaten risikoreicherer, alternativer Spender, aber auch in der generellen Möglichkeit, solche Viren mit molekularen Methoden zu detektieren (4).

Verschiedene Studien haben sich mit dem Einfluss von Infektionen durch Cytomegaloviren (CMV), Epstein-Barr-Viren (EBV) und Adenoviren (AdV) beschäftigt und konnten zeigen, dass Infektionen durch eines dieser drei Viren zu einem Anstieg der therapieassoziierten Mortalität (TRM) führen und somit als schwerwiegende Komplikationen nach allogener HSCT gelten müssen (3;5-9). Es handelt sich bei diesen Viren um Infektionserreger, die die Besonderheit aufweisen, nach Primärinfektion im Körper latent zu verbleiben und unter entsprechenden Bedingungen endogen zu reaktivieren. Die Reaktivierung dieser Viren kann verschiedene Formen annehmen, welche von der asymptomatischen Ausbreitung des Virus bis hin zur

manifesten Erkrankung reichen (10). Ob es zur Reaktivierung kommt, liegt am Zustand des Immunsystems. Bei andauernder Unterdrückung der zellulären, wie auch der humoralen Immunantwort, wie sie im Rahmen einer HSCT auftritt, steigt die Infektionsrate durch latent im Körper vorhandene Viren (10). Da bekannt ist, dass durch eine unbehandelte Infektion mit CMV, EBV oder AdV große Probleme im Therapieverlauf auftreten können, wurden sowohl prophylaktische wie auch sog. präemptive Therapieschemata für die Behandlung der einzelnen Viren entwickelt. Für die CMV-Problematik sind solche therapeutischen Strategien besonders gut dokumentiert und haben zu einem Rückgang der CMV-assoziierten Komplikationen geführt (11).

Da ein signifikanter Patientenanteil aber Reaktivierungen multipler Viren nach allogener HSCT aufweist, war es Ziel dieser Arbeit, in einer retrospektiven Analyse die potentiellen Interaktionen dieser Viren und die Bedeutung der einzelnen Viren wie auch der Viruskombinationen für Komplikationen nach allogener HSCT bei Kindern und Jugendlichen zu untersuchen. Gerade für solche multiplen Virusinteraktionen und -verläufe lagen nur wenige Informationen zum Untersuchungszeitpunkt vor.

2 Grundlagen

2.1 Hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSCT) in der Pädiatrie

2.1.1 Indikationen und Prognose

Die allogene HSCT stellt eine wichtige Therapieform bei Erkrankungen des lymphohämatopoetischen Systems dar. Die Zahl dieser Transplantationen nimmt weltweit auch weiterhin zu. Dies liegt ganz wesentlich an der Zunahme des Spender-Pools, aber auch an der Erweiterung der Transplantationsindikationen, zumal im Kindesalter (12). Diese Indikationserweiterung war nur durch die deutlich verbesserten Transplantationsergebnisse in den letzten Jahren ethisch vertretbar. Klassische Indikationen für eine allogene HSCT sind unter den malignen Erkrankungen die Hochrisiko-Leukämien, die mit Chemotherapie alleine nicht heilbar sind (13), das myelodysplastische Syndrom (MDS) und die chronische myeloische Leukämie (CML). Vor allem bei Kindern und Jugendlichen kommt aber eine Vielzahl von erworbenen und kongenitalen, nicht-malignen Störungen der Blutbildung, des Immunsystems und des Stoffwechsels hinzu (2). Für alle diese ansonsten in der Regel letalen Erkrankungen kann inzwischen durch die allogene HSCT ein Kurativniveau von 60 – 80 % angenommen werden.

2.1.2 Transplantationsarten und Durchführung

Prinzipiell bestehen zwei, durch die Herkunft des Transplantats definierte Arten einer HSCT: die autologe und die allogene Form. Die autologe HSCT spielt in der Pädiatrie nur eine untergeordnete Rolle (2). Bei der autologen HSCT werden patienteneigene Stammzellen entnommen, kryokonserviert und nach entsprechender Behandlung, in der Regel eines soliden Tumors, den Patienten retransplantiert (14). Diese Transplantationsform soll wegen der sehr unterschiedlichen Risiken nicht Gegenstand dieser Arbeit sein.

Die allogene HSCT benötigt patientenfremdes Stammzellmaterial, das entweder aus der Familie oder von freiwilligen, unverwandten Spendern stammt und eine möglichst hohe Anpassung im HLA-System besitzen sollte. Somit kommen als Spender folgende Optionen infrage:

- ein HLA-genotypisch oder phänotypisch identisches Geschwisterkind,
- ein HLA-genotypisch oder phänotypisch identisches, sonstiges Familienmitglied,
- ein HLA maximal haplodifferenter Familienspender
- sowie ein HLA phänotypisch möglichst angepasster, unverwandter Spender (2).

Der „Goldstandard“ bleibt ein HLA-genotypisch identischer Geschwisterspender, der in maximal 20 % aller Fälle gefunden werden kann. Existiert ein solcher Spender nicht, ist heute

der Spender der zweiten Wahl ein möglichst HLA-kompatibler, unverwandter Spender, und erst in dritter Linie ein HLA-differenter Spender. Die Wahrscheinlichkeit, heutzutage einen HLA-kompatiblen, unverwandten Spender zu finden, liegt bei 80 %. Dies gilt jedenfalls für mitteleuropäische Patienten und liegt niedriger bei zahlreichen Migrantengruppen aus anderen Regionen der Welt (15). Neben den HLA-Merkmalen werden – falls möglich – weitere Übereinstimmungen etwa im Geschlecht, für die AB0-Blutgruppen oder hinsichtlich durchgemachter Infektionen angestrebt (15).

Die Übereinstimmung der HLA-Merkmale, als das wichtigste Kriterium bei der Spenderwahl, wird durch Gentypisierung direkt mittels DNA-Sequenzierung oder indirekt durch Sequenz-spezifische Primer oder Sequenz-spezifische Oligonukleotid-Sonden ermittelt (2). Es wird vor allem eine Übereinstimmung in den HLA-Merkmalen A, B, C, DRB1 und DQB1 angestrebt (15).

Für die allogene HSCT ist aber nicht nur die immer vielfältiger werdende Spenderwahl, sondern auch die Stammzellquelle von Bedeutung. Die klassische Methode ist die Gewinnung von blutbildenden Stammzellen aus dem Knochenmark (KMT). Zunehmend häufiger werden die Stammzellen aber auch aus dem peripheren Blut gewonnen (PBSCT). Dies setzt voraus, dass zuvor beim Spender eine Zytokin-Mobilisierung solcher Stammzellen in das periphere Blut erfolgt. Eine weitere Quelle stellen Stammzellen dar, die aus dem kindlichen Nabelschnurblut der ansonsten verworfenen Plazenta unmittelbar nach Geburt eines gesunden Kindes gewonnen werden (CBT). Die Vor- und Nachteile der unterschiedlichen Transplantatquellen sind in verschiedenen Studien untersucht worden (16-18). Hinsichtlich der transplantationsassoziierten Komplikationen nach HSCT gibt es deutliche Unterschiede in Abhängigkeit von der gewählten Transplantatquelle. So ist das Risiko einer Graft-versus-Host-Krankheit nach PBSCT höher als nach einer KMT und die lymphohämatopoetische Regeneration deutlich länger nach CBT als nach einer KMT oder PBSCT (16;18).

Die praktische Durchführung einer allogenen HSCT beinhaltet verschiedene Schritte: Zuerst muss der Patient auf das Transplantat mit einer sog. Konditionierung vorbereitet werden. Diese beinhaltet eine Myeloablation, die Platz für das neue Mark schaffen und gegebenenfalls die restlichen leukämischen Zellen beseitigen soll, und eine Immunsuppression, um eine Abstoßung zu verhindern. Myeloablativ Verfahren können in einer alleinigen Chemotherapie oder aus einer Kombination von Ganzkörperbestrahlung und Chemotherapie bestehen. Die jeweiligen Verfahren richten sich nach der Grundkrankheit, aber auch nach dem Alter der Patienten (2).

Das zu transplantierende Material muss, wenn nötig, modifiziert werden. So kann bei einer AB0-Blutgruppendifferenz zwischen Spender und Empfänger eine Plasmadepletion oder

Erythrozytendepletion nötig werden. Bei ausgeprägteren HLA-Differenzen werden Verfahren der Stammzellanreicherung oder T-Zell-Abreicherung nötig.

Abhängig von der Transplantatquelle, der Anzahl der transplantierten Stammzellen und der durchgeführten Modifikation des Transplantats dauert die hämatopoetische Rekonstitution 2 - 4 Wochen. Nach allogener Transplantation benötigt die T-Zell Rekonstitution 3 – 6 Monate und die B-Zell Rekonstitution bis zu einem Jahr (2;17).

2.1.3 Komplikationen der allogenen HSCT

Nach allogener HSCT kann es als Komplikation zu einer Transplantatabstoßung, zu einer Graft-versus-Host Krankheit (GVHD), zu zahlreichen, sog. opportunistischen Infektionen und Organschäden, aber auch zu Rückfällen der Grundkrankheit kommen (14). Bei der GVHD unterscheidet man - je nach Zeitpunkt des Auftretens - zwischen einer akuten und einer chronischen Form (19). Die akute GVHD tritt laut Definition innerhalb der ersten 100 Tage nach Transplantation auf. In der Regel erscheint sie in den ersten zwei bis vier Wochen. Typische Symptome sind ein erythematöses, makulopapuläres Exanthem, eine anhaltende Anorexie oder Diarrhö sowie eine Leberfunktionsstörung. Die aGVHD wird entsprechend den Glucksberg-Seattle-Kriterien in die Schweregrade 0 – IV unterteilt (20). Diese orientieren sich anhand klinisch erhobener Daten am Zustand der Haut, des Darmes und der Leber. Die Prävalenz bei Kindern liegt bei 20 - 40 % (2). Sie tritt deutlich häufiger auf, je mehr HLA-Merkmale sich zwischen Empfänger und Spender unterscheiden, aber auch bei Verwendung von PBSC verglichen mit Stammzellen aus dem KM oder Nabelschnurblut (14;19;21). Die mit dem Auftreten und der Behandlung einer höhergradigen aGVHD assoziierte Mortalität liegt je nach Grunderkrankung bei 10 – 20 % (22).

Eine leichte Form der GVHD ist andererseits bei maligner Grunderkrankung durchaus erwünscht, da sie mit einem Graft-versus-Leukämie-Effekt verbunden ist (2;21). Eine höhergradige, akute GVHD stellt jedoch eine unerwünschte Komplikation dar, vor allem, wenn sie mit lebensbedrohlichen Infektionen einhergeht (2;4;5).

Zur Prophylaxe der aGVHD werden Methotrexat, Ciclosporin A, Mykophenolatmofetil, Antithymozytenglobulin (ATG) und/oder Kortikosteroide gegeben. Bei Patienten mit erhöhtem Risiko für eine aGVHD, wie bei Verwendung von HLA-differenten Spendern, kann zusätzlich eine *ex-vivo*-T-Zell-Depletion durchgeführt werden (2). Die Behandlung einer manifesten aGVHD erfolgt in der Regel mit Kortikosteroiden und/oder Antikörpergaben (2).

Unter einer chronischen GVHD versteht man definitionsgemäß das Auftreten von GVHD-assoziierten Symptomen mehr als 100 Tage nach HSCT. 30 – 60 % aller Patienten entwickeln

eine solche cGVHD (23). Bei Kindern liegt die Prävalenz bei 10 – 15 % (2). Die chronische Form der GVHD unterscheidet sich insofern von der akuten, als dass sie zusätzlich eine Autoimmun-Komponente aufweist, mit Symptomen wie einem Lichen planus, einer Poikilodermie, einer Leukodermie, einem Pemphigoid, einer Polymyositis, einer Sklerodermie, einer permanenten Alopezie, einem Nagelverlust oder einer Konjunktivitis sicca. Sie kann aber auch im Bereich der inneren Organe auftreten und zu einer biliären Zirrhose, einer obstruktiven Lungenerkrankung oder Dysphagien führen. Zusätzlich sind neuromuskuläre Manifestationen beschrieben (2). Therapeutisch wird die cGVHD mit Kortikosteroiden, Azathioprin oder auch einer Photophorese behandelt.

Nach HSCT kann es zudem zu diversen Organschäden kommen, die in der Regel eine komplexe Pathogenese durch Interaktionen von Toxizitäten, Infektionen und GVHD aufweisen (14). Infektionen stellen bekanntermaßen eine ganz wesentliche Bedrohung nach allogener Transplantation dar. Bakterielle Infektionen treten dabei überwiegend in der Frühphase nach HSCT bedingt durch Neutropenie, Antikörpermangel und Zusammenbruch der Schleimhautbarrieren auf (24). Das Pilzinfektionsrisiko besteht länger und ist häufig bedingt durch den Immunsuppressionsbedarf im Rahmen einer GVHD. Zu den besonders relevanten Pilzen gehören Candida- und Aspergillus-Spezies (25). Strikte Hygienemaßnahmen und lufttechnische Anlagen dienen der Verhütung solcher Infektionen. Bei unklarem, septischem Fieber auch ohne Erregernachweis wird eine kalkulierte, antibiotische und antimykotische Therapie verwendet, um bedrohliche Infektionsverläufe zu vermeiden.

Ganz im Vordergrund der infektiologischen Komplikationen nach HSCT stehen aber solche durch virale Erreger. Neben den Herpesviren sind dies Infektionen durch Respirationsviren, wie das Respiratory-Syncytial-Virus (RSV) oder Adenoviren. Im nachfolgenden Abschnitt sollen die Probleme der Herpesviren CMV und EBV, aber auch die der großen Gruppe der Adenoviren (AdV) besprochen werden.

2.2 Virologie

2.2.1 Cytomegalovirus

Bei CMV handelt es sich um ein DNA-Virus aus der Familie der Herpesviren. Es weist wie alle Herpesviren die Eigenschaft auf, im infizierten Wirt zu verbleiben (26). CMV bleibt dabei in den mononukleären Zellen latent. Die Durchseuchungsrate mit CMV liegt bei Erwachsenen in Mitteleuropa bei etwa 60 % sowie bei 1 % aller Neugeborenen (26;27). Übertragen werden kann

das Virus durch Tröpfchen- oder Schmierinfektion im Rahmen eines engen Kontakts, oder durch Blutübertragung und sexuellen Kontakt. Man geht bei CMV-Infektionen von zwei Altersgipfeln aus. Der eine liegt in der frühen Kindheit, der andere im frühen Erwachsenenalter (28). CMV-Infektionen während der Fetalperiode können zu einer Fehlgeburt führen oder beim Neugeborenen zu einer perinatalen Infektion mit Beteiligung der Leber und des Zentralnervensystems. Ab dem späten Kindesalter kann ein Krankheitsbild auftreten, das der Mononukleose ähnelt (27). Die Primärinfektion verläuft beim immunkompetenten, gesunden Wirt zumeist jedoch asymptomatisch. Anders verhält sich die CMV-Infektion bei primären oder sekundären Immuninsuffizienzen, so auch nach allogener HSCT. Handelt es sich hierbei um eine vorübergehende Beeinträchtigung, kann die Infektion milde verlaufen. Bei ausgeprägter Immunsuppression kann sich die CMV-Infektion jedoch in verschiedenen Organsystemen durch lebensbedrohliche Symptome manifestieren und die Lunge, die Leber, den Gastrointestinal- und Urogenitaltrakt sowie die Retina und das Zentralnervensystem betreffen (27;29). Zum Nachweis einer CMV-Reaktivierung oder -Infektion spielt die Serologie nur bei Immunkompetenten eine Rolle. Nach allogener HSCT müssen die Viren direkt im Blut oder diversen Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden. Hierzu dienen qualitative und quantitative PCR-Analysen, die die früher üblichen Antigen-Tests weitgehend abgelöst haben (26).

Das Cytomegalovirus ist ein gutes Beispiel für das therapeutische Vorgehen bei opportunistischen, latenten Viren. Da die Therapie nach allogener HSCT in der Regel zu spät kommt, wenn das Virus bereits zu schwerwiegenden Komplikationen geführt hat, sollte eine sogenannte präemptive Therapie schon dann begonnen werden, wenn die ersten Viren nachweisbar sind. Zur Behandlung bei CMV steht mit dem Ganciclovir ein potentes Virustatikum zur Verfügung, wie in verschiedenen Studien gezeigt wurde (5;11;29).

2.2.2 Epstein-Barr-Virus

Auch die Epstein-Barr-Viren (EBV) gehören zur Familie der Herpes-Viren. Sie besitzen ebenfalls die Eigenschaft, nach erfolgter Primärinfektion im Wirt latent zu bleiben, und zwar bevorzugt in den B-Lymphozyten (27;30). Die Durchseuchung mit EBV im Erwachsenenalter ist sehr hoch und liegt bei ca. 90 %. Die Übertragung erfolgt durch Speichel- und Rachensekret, weshalb die EBV-Infektion auch den Namen "kissing disease" trägt. Die Primärinfektion erfolgt zumeist in der Kindheit oder im frühen Adoleszentenalter. Kommt es zur Primärinfektion, kann die EBV-Infektion bei intaktem Immunsystem je nach Alter unterschiedliche Symptome aufweisen. Im Säuglings- und Kleinkindalter verläuft sie meist asymptomatisch oder in Form einer leichten Pharyngitis oder Tonsillitis. Tritt die Infektion während der Adoleszenz auf,

zeigen 75 % der Infizierten das Bild einer Mononucleosis infectiosa. Auch Infektionen im Erwachsenenalter können zu einer Mononukleose mit unspezifischen Begleitsymptomen wie Müdigkeit und Myalgie führen (30). Eine Reaktivierung des latent im Körper verbliebenen Virus tritt, wie bei der CMV-Infektion, vorwiegend in Phasen der Immunsuppression auf, wie etwa nach einer allogenen HSCT. Dabei können EBV-assoziierte Krankheitsbilder von der unkomplizierten Mononukleose bis hin zu lymphoproliferativen Erkrankungen, wie der Posttransplantations-Lymphoproliferativen Erkrankung (PTLPD), vorkommen.

Lymphoproliferative Erkrankungen der B-Zellen stellen schon lange eine bekannte Komplikation nach Organtransplantationen dar (31). Die Inzidenz der EBV assoziierten lymphoproliferativen Erkrankungen nach allogener HSCT wird mit unter 2 % angegeben, steigt jedoch bei Patienten mit unverwandten oder HLA-differenten Spendern (24). Die Problematik reicht dabei von benignen B-Zell-Hyperplasien bis zu malignen mono-, oligo- oder polyklonalen B-Zell-Lymphomen (30). Als Nachweismethode gilt bei immundefizienten Patienten ebenfalls die PCR-Analyse. Therapeutisch werden hochdosiertes Aciclovir, Ganciclovir oder besser Foscavir eingesetzt. Auch sind adoptive Therapieverfahren, das heißt Übertragungen von virusspezifischen T-Zellen in der Erprobung (30;32).

2.2.3 Adenoviren

Humane Adenoviren gehören zu der Familie der Adenoviridae. Es handelt sich hierbei ebenfalls um DNA-Viren. 53 Serotypen sind bekannt, welche wiederum nach ihren Hämagglutinationseigenschaften und DNA-Homologien in die 6 Untergruppen A - F eingeteilt werden (33;34). Die Durchseuchung mit AdV ist sehr hoch. Nahezu 100 % aller Erwachsenen besitzen Antikörper gegen verschiedene Serotypen (35). Die höchste Rate der Primärinfektion liegt zwischen dem sechsten Lebensmonat und dem fünften Lebensjahr. 80 % aller Kinder im Alter zwischen einem und fünf Jahren haben Antikörper gegen verschiedene Serotypen (34). Die AdV-Infektion zeigt eine saisonale Abhängigkeit. Beim Immungesunden treten die meisten Infektionen im Winter auf (36). Die Übertragung erfolgt durch Tröpfchen- und Schmierinfektionen. Auch die Adenoviren besitzen die Eigenschaft, nach erfolgter Primärinfektion im Körper latent zu verweilen und unter entsprechenden immunsuppressiven Bedingungen zu reaktivieren. Dabei verbleiben diese Viren, ihrem Namen entsprechend, vorwiegend in adenoiden Geweben der regionären Lymphknoten und der Tonsillen (37). Infektionen mit AdV können verschiedene Organsysteme betreffen. Je nach Serotyp kommt es beim immunkompetenten Patienten zu Infektionen des Respirationstraktes mit den typischen Symptomen wie Rhinitis, Pharyngitis, Bronchiolitis, zu Infektionen der Augen in Form einer folliculären Konjunktivitis und Keratokonjunktivitis, zu

Infektionen des Magen-Darmtraktes mit Diarrhöen, aber auch zu hämorrhagischen Zystitiden (38). Alle diese Krankheitsbilder treten prinzipiell auch unter Immunsuppression auf, jedoch in deutlich schwererer beziehungsweise lebensbedrohlicher Form, mit Pneumonitis, hämorrhagischer Kolitis, Hepatitiden mit und ohne Nekrosen, Pankreatitiden, Nephritiden bis hin zu septischen Verläufen unter Beteiligung des Zentralnervensystems. Die Mortalitätsrate unter Immunsuppression liegt bei bis zu 60 % (8). Zum Nachweis der Adenoviren werden ebenfalls qualitative und quantitative PCR-Methoden im Stuhl, Urin, peripheren Blut und anderen Körperflüssigkeiten eingesetzt, wobei es hier bedeutsam ist, dass die Methodik möglichst alle AdV-Serotypen erfassen kann (39). Zur Behandlung bei immunsupprimierten Patienten stehen als Virustatika Ribavirin und Cidofovir zur Verfügung, allerdings mit nur bedingter Wirksamkeit und signifikanten Nebenwirkungen. Auch bei dieser Virusgruppe werden adoptive Therapieverfahren erprobt (40-42).

3 Ziele und Fragestellungen

Die **Ziele** dieser Arbeit waren:

Anhand einer retrospektiven Analyse einer Stichprobe von 124 konsekutiv transplantierten Kindern und Jugendlichen zu prüfen, welche kritischen Viren alleine oder in Kombination reaktiviert werden, welche Transplantationsparameter mit Virusreaktivierungen assoziiert sind und welche Viren schwergewichtig für die relevanten Transplantationskomplikationen verantwortlich sind.

Folgende **Fragestellungen** sollten dabei beantwortet werden:

- (1) Wie hoch ist die Prävalenz einzelner Viren aus der Gruppe CMV, EBV und AdV für Kinder und Jugendliche nach allogener HSCT?
- (2) Wie hoch ist die Prävalenz multipler Virusreaktivierungen nach allogener HSCT?
- (3) Welchen Einfluss haben die Transplantationsparametern auf die Reaktivierung von CMV, EBV und AdV nach allogener HSCT?
- (4) Welchen Einfluss haben die Virusreaktivierungen auf schwerwiegende Transplantationskomplikationen nach allogener HSCT?
- (5) Welches ist das führende Virus hinsichtlich der schwerwiegenden Komplikationen?

4 Patienten und Methoden

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Analyse zu den Virusreaktivierungen CMV, EBV und AdV und ihren Komplikationen bei Kindern und Jugendlichen nach allogener, hämatopoetischer Stammzelltransplantation.

4.1 Patienten

In die Analyse einbezogen wurden 124 konsekutiv an der Charité im Zeitraum vom Dezember 1999 – August 2005 transplantierte Kinder und Jugendliche. Wegen der bekannt unterschiedlichen Risiken wurden die selteneren Transplantationen bei schweren kombinierten Immundefekten und Patienten im Endstadium ausgeschlossen. Das Patientenkollektiv setzte sich dabei aus 78 (63 %) Jungen und 46 (37 %) Mädchen zusammen. Das mediane Alter zum Zeitpunkt der HSCT betrug 9,4 Jahre (Range: 0,5 - 21,0 Jahre). Die Verteilung der Transplantationsindikationen ergibt sich aus **Tab. 1**.

Tab. 1 Transplantationsindikationen der untersuchten Patienten

Diagnose	Anzahl (N)	% Gesamtgruppe
Akute lymphoblastische Leukämie	39	31,5
Akute myeloische Leukämie	4	3,2
Myelodysplastisches Syndrom (MDS)	10	8,1
Chronische myeloische Leukämie (CML)	7	5,7
Fanconi Anämie (FA)	22	17,7
Wiskott-Aldrich-Syndrom (WAS)	1	0,8
Adrenoleukodystrophie (ALD)	19	15,3
Sonstige angeborene Erkrankungen (IE)	17	13,7
Schwere aplastische Anämie (SAA)	5	4,0
Gesamt	124	100

50 Patienten (40,3 %) wurden von einem Familienspender transplantiert, 74 Patienten (59,7 %) von einem unverwandten Spender. Bei 69 Patienten (55,7 %) wurde eine Knochenmarktransplantation (KMT) durchgeführt, bei 52 Patienten (41,9 %) eine periphere Blutstammzell-

Transplantation (PBSCT) und bei 3 Patienten (2,4 %) eine Nabelschnurblut-Transplantation (CBT). Details ergeben sich aus **Tab. 2**.

Tab. 2 Transplantationsvarianten bei den untersuchten Probanden

Spender-Transplantat-Art	Anzahl (N)	% Gesamtgruppe
MRD KM	42	33,9
MRD PBSC	2	1,6
MRD CB	1	0,8
MMRD KM	1	0,8
MMRD PBSC	4	3,2
MUD KM	26	21,0
MUD PBSC	46	37,1
MUD CB	2	1,6

MRD matched related donor; MUD matched unrelated donor; MMRD mismatched related donor; KM Knochenmark; PBSC periphere Blutstammzellen; CB Nabelschnurblut-Stammzellen

Bei 77 Patienten (62,1 %) war die HSCT im Beobachtungszeitraum kurativ. 34 Kinder (27,4 %) verstarben an therapieassoziierten Komplikationen. 13 Kinder (10,5 %) erlitten nach Transplantation ein Rezidiv ihrer Grunderkrankung. Von diesen verstarben 9 im weiteren Krankheitsverlauf, 4 konnten durch neuerliche Therapie bzw. Zweittransplantation gerettet werden.

Als Posttransplantations-Komplikation gewertet wurden akute und chronische GVHD, Virusreaktivierungen von CMV, EBV und AdV und verschiedene Komplikationen, die im Ergebnisteil detailliert benannt sind.

Die Behandlung aller Kinder und Jugendlicher erfolgte entsprechend ihrer Grunderkrankungen nach Standardprotokollen der Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie. Alle Patienten erhielten zur GVHD-Prophylaxe Ciclosporin A, Patienten mit unverwandten oder HLA-differenten Transplantationen auch Antithymozytenglobulin (ATG), wobei 27 Patienten das Kaninchen-ATG der Firma Merieux und 49 Patienten das Kaninchen-ATG der Firma Fresenius erhielten.

4.2 Virusnachweis-Methoden

Vor Transplantation wurden für alle Patienten und Spender serologische Untersuchungen (IgM- und IgG-Serostaten) für CMV, EBV, AdV, aber auch Herpes-simplex-Virus (HSV), Varicella-Zoster-Virus (VZV) und humanes Herpesvirus 6 (HHV6) durchgeführt.

Vor und in wöchentlichen Abständen nach allogener HSCT erfolgten im Rahmen klinischer Routine-Kontrollen PCR-Analysen bis zum Tag 200 für CMV, EBV, HHV6 im peripheren Blut und für AdV im Stuhl und Urin, gegebenenfalls auch im peripheren Blut. Diese Analysen wurden zunächst qualitativ, bei positivem Nachweis auch quantitativ durchgeführt. Für eine eindeutig positive Reaktivierung wurden wenigstens zwei aufeinander folgende positive Befunde gefordert.

Die virologische Analyse führte das Labor für Virusdiagnostik des Instituts für Virologie der Charité unter Standardbedingungen durch, AdV-PCR-Untersuchungen erfolgten zum Teil auch am Robert-Koch-Institut in Berlin.

In diese Arbeit wurden ausschließlich die qualitativen Virusnachweise in die Analyse einbezogen. Wichtig ist dabei, dass alle Nachweise unter standardisierten, prophylaktischen und präemptiven, antiviralen, therapeutischen Maßnahmen geführt wurden, die im Absatz 4.3 näher erklärt werden.

4.3 Supportive Therapien nach allogener HSCT

Alle Kinder erhielten nach allogener HSCT eine Aciclovir-Prophylaxe. Bei zweimaligem Nachweis eines der kritischen Viren wurde diese Prophylaxe durch eine präemptive Therapie ersetzt, und zwar bei CMV mit Ganciclovir, bei EBV mit Foscavir und bei AdV mit Cidofovir. Bei multiplem Virusnachweis wurden auch Kombinationen dieser Virustatika eingesetzt.

4.4 Datenerhebung und statistische Methoden

Diese Arbeit zur Bedeutung multipler Virusreaktivierungen nach HSCT besteht aus einem deskriptiven und einem analytischen Abschnitt. Zur Durchführung der statistischen Analysen wurden die Programme SPSS 11.0 (SPSS Inc., 1989-2001) und Statistica 7 (StatSoft, Inc. [2005] STATISTICA für Windows [Software-System für Datenanalyse] Version 7.1. www.statsoft.com) eingesetzt.

Im deskriptiven Teil wurden absolute und prozentuale Häufigkeiten für die verschiedenen Faktoren im potentiellen Zusammenhang mit den Virusreaktivierungen zusammengestellt. Der analytische Teil beschäftigte sich mit den Faktoren, die einen möglichen Einfluss auf die Virusreaktivierungen nach HSCT hatten und auf die potentiellen Zusammenhänge zwischen dem Posttransplantationsverlauf und der Anzahl der Virusreaktivierungen je Patient. Weiterhin wurde untersucht, welche Assoziationen zwischen CMV-, EBV- und AdV-Reaktivierungen und transplantationsassoziierten Komplikationen bestanden. Dafür wurden sowohl univariate als auch multivariate Analysen durchgeführt.

Die univariate Analyse von Zusammenhängen zwischen einzelnen Faktoren und Zielgrößen, setzte verschiedene Methoden ein:

- Überlebenswahrscheinlichkeitsschätzung mittels Kaplan-Meier-Methode und statistischer Vergleich von Überlebenskurven mit Hilfe des Logrank-Tests,
- Vergleich von Häufigkeiten mittels χ^2 -Quadrat-Test, bei Fallzahlen <5 in einer Zelle Verwendung des exakten Test nach Fisher.

Hinsichtlich eines Zusammenhangs zwischen Einflussfaktor und Zielgröße lag die vereinbarte Irrtumswahrscheinlichkeit bei $\alpha = 5\%$. Als Signifikanzniveau wurden Werte von $p < 0,05$ mit einer Power von 80% festgelegt. Lagen die Werte für p zwischen $0,05$ und $0,1$, wurde das Ergebnis als statistischer Trend gewertet.

Da klinische Ereignisse ein Zusammenspiel verschiedenster Faktoren sind, wurde zusätzlich eine multivariate Analyse durchgeführt. Verschiedene Modelle wurden gebildet, um unter Berücksichtigung aller erhobenen, potentiellen Einflussfaktoren die Wertigkeit des Zusammenhangs von Faktoren und Zielgröße zu bestimmen. Da es sich vorwiegend um nichtmetrische, nominal kodierte Parameter handelte und diese auch nicht normal verteilt waren, ist für alle Modelle der multivariaten Analyse die logistische Regression eingesetzt worden.

4.4.1 Univariate Analysen

Kaplan-Meier-Methode

Bei der Kaplan-Meier-Methode handelt es sich um eine statistische Methode, um Überlebenszeiten zu schätzen, wobei Anfangs- und Endpunkt genau definiert sein müssen. Ein Vorteil der Kaplan-Meier-Methode ist, dass möglichst alle Patienten berücksichtigt werden können, also auch diese, bei denen der definierte Endpunkt, aus welchem Grund auch immer, nicht erreicht wurde (43). Angaben von Patienten mit unterschiedlichen Beobachtungszeiträumen (44) und auch mit unvollständigen Angaben können in die Überlebenszeitanalyse mit einbezogen werden (45).

In der vorliegenden Arbeit war das Datum der allogenen HSCT der Anfangspunkt. Der Zeitraum zwischen Anfangs- und Endpunkt, der für die Überlebenszeitschätzung verwendet wurde, ergab sich aus dem ereignisfreien Überleben (Event-free-survival, EFS) vom Tag der HSCT an. Als Endpunkt wurde das Ausscheiden aus der klinischen Überwachung definiert, welcher spätestens zum Zeitpunkt des Studien Endes am 01.09.2007 erreicht war. Das kritische Endereignis war das Eintreten des „Therapietodes“.

Die Kaplan-Meier Methode erlaubt es auch, Überlebenszeiten in Abhängigkeit von sogenannten Gruppierungsvariablen zu schätzen. Für diese Arbeit sind Reaktivierungen von CMV, EBV und AdV als Gruppierungsvariablen verwendet worden.

Ob Reaktivierungen der drei Viren einen Einfluss auf die Überlebenszeiten hatten, wurde statistisch mit dem Logrank-Test ermittelt. Der Logrank-Test ist ein Verfahren, bei dem Überlebenskurven zweier Gruppen, die sich in einem definierten Merkmal unterscheiden, miteinander verglichen werden können. Wenn der Logrank-Test im Ergebnis signifikant ist, kann angenommen werden, dass die Gruppierungsvariable prognostisch relevant ist für das Überleben (45).

χ^2 -Heterogenitätstests

Die statistischen Analysen von positiv oder negativ assoziierten Einflussfaktoren mit Virusreaktivierungen nach HSCT sowie der Einfluss von Reaktivierungen einzelner Viren und multipler Viren auf den Therapieverlauf wurden mit Hilfe des χ^2 -Heterogenitätstests auf Grundlage von Vierfeldertafeln durchgeführt. Dies war notwendig, da es sich bei den untersuchten Variablen um nominal skalierte Merkmale handelte. Statistisch ist dabei folgende Formel einer Vierfeldertafel relevant:

$$\chi^2 = \frac{(a \times d - b \times c)^2 \times n}{[(a + b) \times (c + d) \times (a + c) \times (b + d)]}$$

	Faktor vorhanden	Faktor nicht vorhanden	Gesamt
Virus + nach HSCT	a	b	a + b
Virus - nach HSCT	c	d	c + d
	a + c	b + d	n = a + b + c + d

Gab es innerhalb einer Gruppe in der Vierfeldertafel weniger als fünf Fälle, wurde die Signifikanzberechnung mittels des exakten Tests nach Fisher durchgeführt, da in diesen Fällen die notwendigen Voraussetzungen für die Durchführung des χ^2 -Heterogenitätstest nicht gegeben waren (43;45).

4.4.2 Multivariate Analysen

Da die meisten Ereignisse, die in dieser Arbeit untersucht wurden, jedoch multiplen Einflüssen unterliegen, ist eine multivariate Analyse durchgeführt worden. Damit konnte analysiert werden, welche Einflussfaktoren positiv oder negativ mit Virusreaktivierungen nach HSCT assoziiert waren und welchen Einfluss Reaktivierungen einzelner Viren auf den Therapieverlauf unter Berücksichtigung gleichzeitigen Auftretens von anderen Faktoren hatten.

Das Regressionsmodell wurde gewählt, da dieses eine Ursache-Wirkungs-Beziehung abbildet. Es beschreibt die Assoziation zwischen einer Zielgröße und den möglicherweise beteiligten Einflussfaktoren und berechnet eine Funktion der Wahrscheinlichkeit, mit der die Zielgröße unter Beachtung der gegebenen Einflussfaktoren eintritt. Da es sich bei nahezu allen Variablen um dichotom kodierte, nominale Merkmale handelte, wurde eine logistische Regression durchgeführt (46). Mit Hilfe der logistischen Regression ist es möglich, eine funktionale Beziehung zwischen den Einflussfaktoren und der Zielgröße zu ermitteln. Sie ermöglicht auch eine Vorhersage über die Chancenverteilung zum Eintritt eines Ereignisses bei gegebener Merkmalskombination (46). Im Ergebnis liefert die logistische Regression Odds Ratios (OR). Diese beschreiben die Chance zu erkranken für jene Personen, die den Risikofaktoren unterliegen, verglichen mit jenen Personen, die eben nicht die Risikofaktoren aufweisen. Damit können Chancen für unterschiedliche Risiken quantifiziert werden. Zur Beurteilung der Stärke und Richtung der Assoziation zwischen den Einflussfaktoren und der Zielgröße wurden die für jede Einflussgröße im Modell errechneten ORs herangezogen. Eine OR kleiner 1 deutete auf eine Chancenverminderung um den OR-Faktor bei Vorliegen entsprechender Einflussfaktoren im Hinblick auf die Zielgröße hin. Eine OR größer 1 gab entsprechend eine Chancenerhöhung um den OR-Faktor für das Eintreten der Zielgröße bei Vorliegen der jeweiligen Einflussfaktoren im Modell an.

Die Berechnung der Signifikanz des logistischen Modells kann nach unterschiedlichen Methoden erfolgen, wobei das Maximum-Likelihood-Verfahren am häufigsten, wie auch in dieser Arbeit, eingesetzt wird. Eine Assoziation zwischen den Einflussfaktoren und der Zielgröße wurde angenommen, wenn p kleiner 0,05 war. Somit gibt p die Unsicherheit für die jeweilige Wahrscheinlichkeit an, mit der die Zielgröße bei Vorliegen der unabhängigen Einflussgrößen vorhergesagt werden kann.

Außerdem werden in der vorliegenden Arbeit alle berechneten ORs mit dem jeweils zugehörigen 95 %-Konfidenzintervall (CI) angegeben. Enthielt das CI den Wert 1, wurde definitionsgemäß die OR als nicht signifikant betrachtet. Bei einer OR kleiner 1 lag Signifikanz vor, wenn die

obere Grenze des 95 %-CI ebenfalls kleiner 1 war. Umgekehrt, war die OR größer 1, so durfte die untere Grenze des 95 %-CI nicht kleiner oder gleich 1 sein, damit eine Signifikanz vorlag.

Verschiedene Modelle sind für diese Arbeit gebildet worden: Im ersten Teil der Multivarianzanalyse wurden wie bereits in der univariaten Analyse, Einflussfaktoren auf die Zielgröße „Reaktivierung von CMV, EBV und AdV“ untersucht. Im zweiten Teil wurden die Angaben zu CMV-, EBV- und AdV-Reaktivierungen als Einflussfaktoren in den Modellen zu therapieassoziierten Komplikationen verwendet, um die Bedeutung dieser auf den Posttransplantationsverlauf zu untersuchen. Untersuchte therapieassoziierte Komplikationen waren: TRM, akute und chronische GVHD und Komplikationen, die im Ergebnisteil ersichtlich sind.

5 Ergebnisse

5.1 Ergebnisse der univariaten Analysen

5.1.1 Virusreaktivierungen nach allogener HSCT

Zunächst wurde bei allen 124 Patienten das Auftreten der Einzelreaktivierungen von CMV, EBV und AdV nach HSCT untersucht. Die Ergebnisse sind **Tab. 3** aufgeführt.

Tab. 3 Reaktivierungen von CMV, EBV und AdV nach HSCT (% Gesamtkollektiv, N=124)

Virusreaktivierung	Positiv [N (%)]	Negativ [N (%)]
CMV	49 (39,5 %)	75 (60,5 %)
EBV	76 (61,0 %)	48 (39,0 %)
AdV	33 (26,6 %)	91 (73,4 %)

Die Verteilung multipler Virusreaktivierungen je Patient im untersuchten Patientenkollektiv ergibt sich aus **Tab 4**.

Tab. 4 Verteilung der multiplen Virusreaktivierungen je Patient nach HSCT (% Gesamtkollektiv, N=124)

Anzahl multipler Viren / Patient	N (%)
0	23 (18,6 %)
1	51 (41,1 %)
2	46 (37,1 %)
3	4 (3,2 %)

5.1.2 Einflussfaktoren auf Virusreaktivierungen

Als Einflussgrößen für die Reaktivierung von CMV oder EBV nach HSCT wurden folgende Parameter untersucht:

- Virusspezifische IgG des Patienten vor HSCT
- Virusspezifische IgG des Spenders vor Spende
- Kombinationen der Serostaten von Patient und Spender vor HSCT.

In **Tab. 5** sind die Virusreaktivierungen von CMV und EBV in Abhängigkeit der Empfänger- beziehungsweise Spenderserologie (IgG) für CMV und EBV wiedergegeben. Da davon auszugehen war, dass nahezu 100 % aller Menschen Kontakt zu AdV haben, wurde auf eine Analyse des Einflusses des AdV-Serostatus verzichtet.

Tab. 5 Virusreaktivierungen in Abhängigkeit vom Serostatus des Empfängers oder Spenders (% innerhalb der Serostatus-Gruppen)

Virus-Nachweis	Empfänger-Serologie		Spender-Serologie	
	IgG-	IgG+	IgG-	IgG+
CMV -	50 (83,3 %)	25 (39,1 %)	55 (77,5 %)	20 (37,7 %)
CMV +	10 (16,7 %)	39 (60,9 %)	16 (22,5 %)	33 (62,3 %)
EBV -	16 (41,0 %)	32 (37,6 %)	11 (68,8 %)	36 (33,6 %)
EBV +	23 (59,0 %)	53 (62,4 %)	5 (31,2 %)	71 (66,4 %)

Tab. 6 gibt die Virusreaktivierungen von CMV und EBV in Abhängigkeit der Kombination von Empfänger- und Spenderserologie (IgG) für CMV und EBV wieder.

Tab. 6 Virusreaktivierungen in Abhängigkeit von der Kombination der Serostaten von Empfänger (R) und Spender (D) (% innerhalb der Serostatus-Kombinationsgruppen)

R/D-Kombinationen	N der Kombination	Keine Reaktivierung	Reaktivierung
CMV: R-/D-	47 (100 %)	43 (91,5 %)	4 (8,5 %)
CMV: R-/D+	13 (100 %)	7 (53,8 %)	6 (46,2 %)
CMV: R+/D-	24 (100 %)	12 (50,0 %)	12 (50,0 %)
CMV: R+/D+	40 (100 %)	13 (32,5 %)	27 (67,5 %)
EBV: R-/D-	7 (100 %)	5 (71,4 %)	2 (28,6 %)
EBV : R-/D+	32 (100 %)	11 (34,4 %)	21 (65,6 %)
EBV : R+/D-	9 (100 %)	6 (66,7 %)	3 (33,3 %)
EBV : R+/D+	75 (100 %)	25 (33,3 %)	50 (66,7 %)

R- Empfänger-IgG negativ vor HSCT; R+ Empfänger-IgG positiv vor HSCT; D- Spender-IgG negativ vor HSCT; D+ Spender-IgG positiv vor HSCT

Für die Analysen wurden nur die Fälle berücksichtigt, bei denen sowohl Daten zur Empfänger- und Spenderserologie vor HSCT als auch entsprechende Daten zur Reaktivierung des jeweiligen Virus nach HSCT vorlagen.

Für das Auftreten von CMV standen 124 Fälle mit entsprechend kompletten Datensätzen zur Verfügung. Nach internationaler Übereinkunft gehört die CMV-Serologie zu den Kriterien, die bei der Spenderauswahl berücksichtigt werden. Insofern unterlagen die Kombinationen einer Präselektion.

Die Analyse zeigte, dass die CMV-Spenderserologie bei CMV-seronegativen Empfängern einen signifikanten Einfluss auf die CMV-Reaktivierung nach HSCT hatte, hingegen es für einen CMV-seropositiven Empfänger keine Rolle spielte, welchen Serostatus der Spender vor HSCT aufwies. Generell traten aber mehr Fälle von CMV-Reaktivierung nach HSCT auf, wenn der Patient CMV-seropositiv vor HSCT war. Dieser Zusammenhang ist in **Abb. 1** grafisch dargestellt.

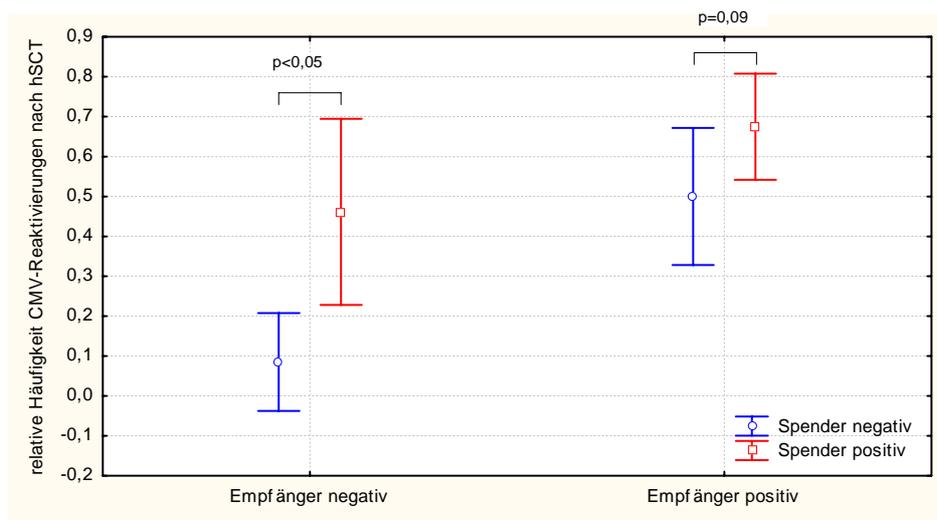


Abb. 1 Kombination von Empfänger- und Spenderserologie (IgG) für CMV vor HSCT bezogen auf CMV-Reaktivierung nach HSCT (Vertikale Balken entsprechen dem 0,95 Konfidenzintervall)

Für EBV lagen 123 Fälle mit vollständigem Datensatz zur EBV-Serologie von Empfängern und Spendern vor HSCT und entsprechende Daten zur EBV-Reaktivierung nach HSCT vor. Die EBV-Spenderserologie vor HSCT hatte sowohl bei EBV-seronegativen als auch EBV-seropositiven Empfängern einen signifikanten Einfluss auf EBV-Reaktivierungen. So traten für beide Gruppen von Empfängern in Bezug auf ihren EBV-Serostatus mehr Fälle von EBV-

Reaktivierung auf, wenn ein Transplantat von einem EBV-seropositiven Spender verwendet wurde. Dieser Zusammenhang ist in **Abb. 2** grafisch veranschaulicht.

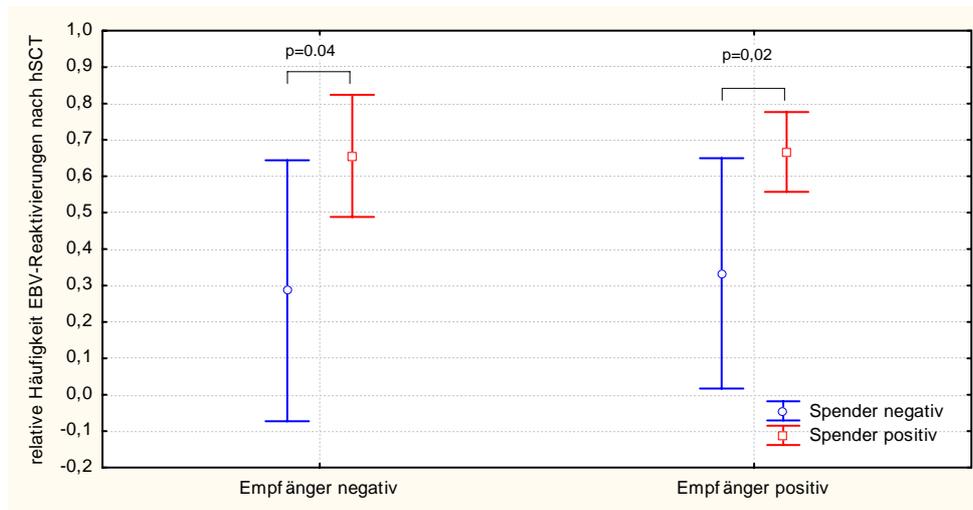


Abb. 2 Kombination von Empfänger- und Spenderserologie (IgG) für EBV vor HSCT bezogen auf EBV-Reaktivierung nach HSCT (Vertikale Balken entsprechen dem 0,95 Konfidenzintervall)

5.1.3 Einfluss der Viren auf transplantationsassoziierte Komplikationen

Mit Hilfe der univariaten Analyse wurde der Einfluss von CMV-, EBV- und AdV-Reaktivierungen auf folgende Komplikationen nach HSCT untersucht:

- Therapieassoziierte Mortalität (TRM) nach HSCT
- Akute Graft-versus-Host-Krankheit
- Chronische Graft-versus-Host-Krankheit
- Sonstige Komplikationen

Auf die Anzahl der therapieassoziierten Todesfälle hatte sowohl die Anzahl der Virusreaktivierungen je Patient, als auch die Art des reaktivierenden Virus einen Einfluss. Es wurden ausschließlich die Todesfälle berücksichtigt, die auf die Therapie und nicht auf die Grunderkrankung zurückzuführen waren. 34 Kinder verstarben in Folge solcher therapieassoziierten Komplikationen.

So traten signifikant mehr therapieassoziierte Todesfälle auf, wenn es zu zwei ($p=0,04$) oder 3 ($p=0,006$) Virusreaktivierungen je Patient kam, im Vergleich zu den Patienten ohne Virusreaktivierungen. **Abb. 3** zeigt die Verteilung von TRM Fällen in Bezug auf die Anzahl von Virusreaktivierungen je Patient nach HSCT mit Angabe der einzelnen p-Werte.

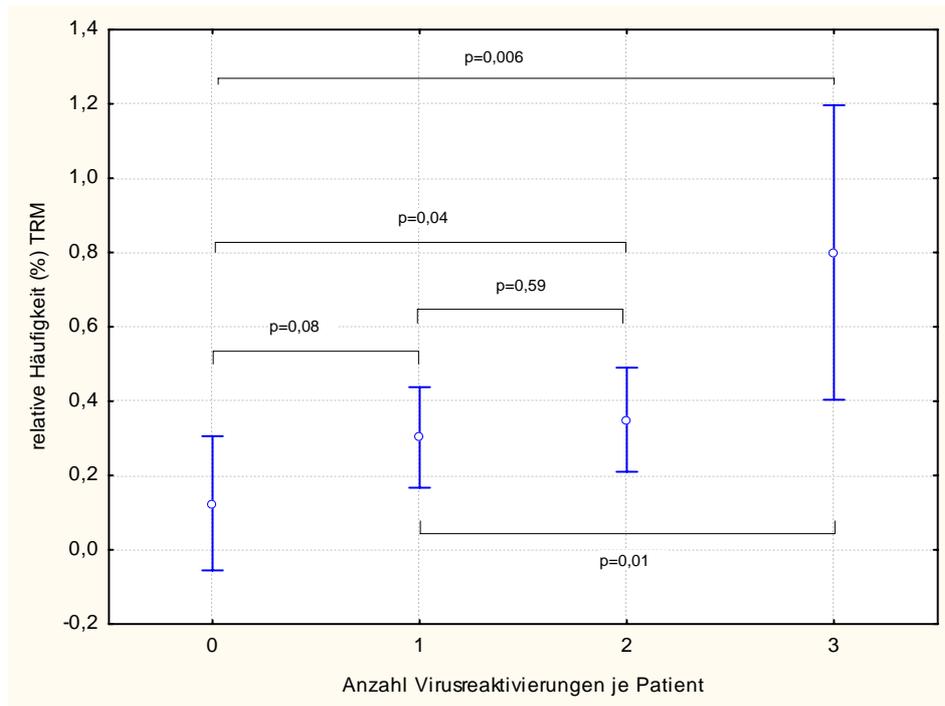


Abb. 3 Anzahl von Virusreaktivierungen je Patient nach HSCT bezogen auf die Todesfälle im untersuchten Patientenkollektiv (Vertikale Balken entsprechen dem 0,95 Konfidenzintervall)

Die Schätzung der Überlebenswahrscheinlichkeiten wurde mit der Kaplan-Meier-Methode durchgeführt. Betrachtete man die Überlebenskurven in Abhängigkeit von CMV-, EBV- oder AdV-Reaktivierungen nach HSCT, wurde ersichtlich, dass sie den deutlichsten Unterschied aufwiesen, wenn als Gruppierungsvariable AdV-Reaktivierung zu Grunde lag (siehe **Abb. 4**).

Für AdV ergab sich dabei mittels Logrank-Test der Trend, dass bei AdV-Reaktivierung mehr Patienten verstarben, als dies ohne Reaktivierung der Fall war. Detaillierte Angaben zu den TRM-Häufigkeiten gruppiert nach AdV-Reaktivierung sind in **Tab. 7** wiedergegeben.

Tab. 7 TRM Häufigkeit in Abhängigkeit einer AdV-Reaktivierung nach HSCT

Virusnachweis	Total	TRM [N (%)]
AdV -	84 (100 %)	21 (25,0 %)
AdV +	29 (100 %)	13 (44,8 %)
Logrank-Test	$p = 0,075$	

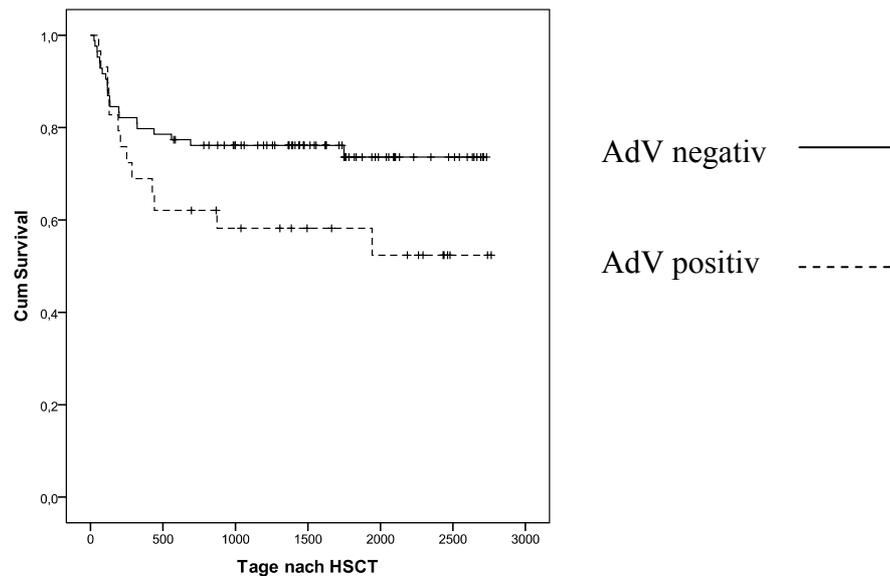


Abb. 4 Kumulative Überlebenszeit nach der Kaplan-Meier-Methode in Bezug auf eine AdV-Reaktivierung nach HSCT (N=113)

Ähnlich verhielt es sich bei der kumulativen Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von EBV-Reaktivierungen nach HSCT (siehe **Abb. 5**). Die Verwendung von EBV-Reaktivierung nach HSCT als Gruppierungsvariable führte zu einem deutlichen Unterschied zwischen den Überlebenskurven. Für EBV ergab sich dabei mittels Logrank-Test der Trend, dass bei EBV-Reaktivierung mehr Patienten verstarben, als dies ohne Reaktivierung der Fall war. Detaillierte Angaben zu den TRM-Häufigkeiten gruppiert nach EBV-Reaktivierung sind in **Tab. 8** wiedergegeben.

Tab. 8 TRM Häufigkeit in Abhängigkeit einer EBV-Reaktivierung nach HSCT

Virusnachweis	Total	TRM [N (%)]
EBV -	44 (100 %)	9 (20,5 %)
EBV +	69 (100 %)	25 (36,2 %)
Logrank-Test	p = 0,083	

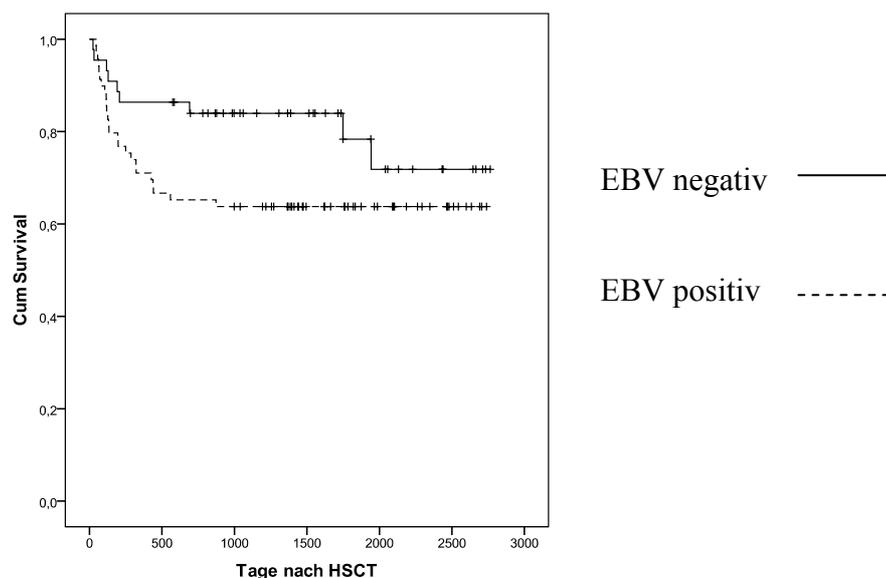


Abb. 5 Kumulative Überlebenszeit nach der Kaplan-Meier-Methode in Bezug auf eine EBV-Reaktivierung nach HSCT (N=113)

Die Schätzung der kumulativen Überlebenswahrscheinlichkeit nach HSCT gruppiert nach CMV-Reaktivierungen ergab, dass diese unter Einsatz einer präemptiven Therapie keinen Einfluss auf die Überlebenszeit hatten. So verlaufen die Kurven für die Gruppen mit und ohne CMV-Reaktivierung nach HSCT nahezu gleich (siehe **Abb. 6**). Auch rechnerisch ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen diesen Gruppen. Detaillierte Angaben zu den TRM-Häufigkeiten gruppiert nach CMV-Reaktivierung sind in **Tab. 9** angegeben.

Tab. 9 TRM Häufigkeit in Abhängigkeit einer CMV-Reaktivierung nach HSCT

Virusnachweis	Total	TRM [N (%)]
CMV -	67 (100 %)	19 (28,4 %)
CMV +	46 (100 %)	15 (32,6 %)
Logrank-Test	p = 0,651	

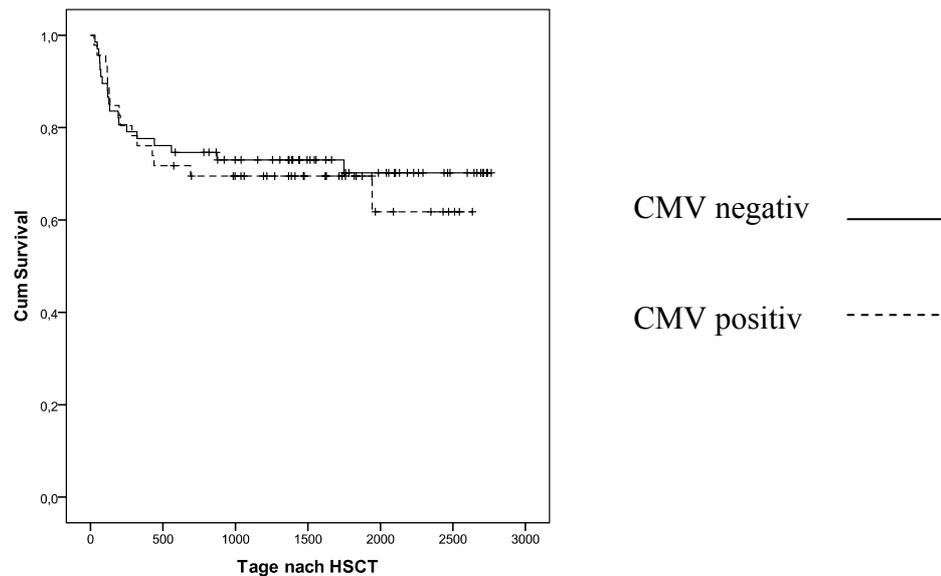


Abb. 6 Kumulative Überlebenszeit nach der Kaplan-Meier-Methode in Bezug auf eine CMV-Reaktivierung nach HSCT (N=113)

Um zu untersuchen, ob eine Assoziation zwischen dem Schweregrad der akuten bzw. chronischen GVHD und viralen Reaktivierungen bestand, wurde

1. der Zusammenhang zwischen GVHD-Schweregrad und Anzahl von Virusreaktivierungen je Patient und
2. der Zusammenhang zwischen GVHD-Schweregrad und Reaktivierung von CMV, EBV und AdV mit Hilfe der univariaten Analyse analysiert.

Auf Grund der geringen Fallzahlen in den einzelnen Gruppen wurden die Schweregrade in die Gruppen aGVHD 0-I, aGVHD II und aGVHD III-IV zusammengefasst.

Dabei war die Anzahl der Virusreaktivierungen je Patient im Trend mit dem Schweregrad der aGVHD assoziiert. So traten prozentual mehr Fälle einer höhergradigen aGVHD auf, wenn 2 oder 3 Viren bei einem Patienten reaktivierten. Im zweiten Analyseschritt zeigte sich, dass EBV-Reaktivierungen nach HSCT signifikant mit dem Schweregrad der aGVHD assoziiert waren. Kam es zu einer EBV-Reaktivierung, traten signifikant mehr Fälle einer höhergradigen aGVHD auf im Vergleich zu der Gruppe ohne EBV-Reaktivierung. AdV-Reaktivierungen hingegen waren nur im Trend, CMV gar nicht mit dem Schweregrad der aGVHD positiv assoziiert.

Der Zusammenhang zwischen Anzahl der Virusreaktivierungen je Patient beziehungsweise der Einzelnachweise der Viren und dem Schweregrad der aGVHD sind in **Tab. 10** und **Tab. 11** dargestellt.

Tab. 10 Anzahl positiver Virusreaktivierungen je Patient in Bezug auf den Schweregrad der aGVHD (Gesamt-N=123)

Viren/ Patient	N (%)	aGVHD 0-I	aGVHD II	aGVHD III-IV	p-Wert
0 Viren	23 (100 %)	22 (95,7 %)	1 (4,3 %)	0	p=0,055
1 Virus	50 (100 %)	42 (84,0 %)	3 (6,0 %)	5 (10,0 %)	
2 Viren	46 (100 %)	29 (63,1 %)	6 (13,0 %)	11 (23,9 %)	
3 Viren	4 (100 %)	3 (75,0 %)	0	1 (25,0 %)	

Tab. 11 CMV-, EBV- und AdV-Einzelreaktivierungen in Bezug auf den Schweregrad der aGVHD (Gesamt-N=123)

Virusnachweis	N (%)	aGVHD 0-I	aGVHD II	aGVHD III-IV	p-Wert
CMV -	74 (100%)	61 (82,4%)	3 (4,1%)	10 (13,5%)	p = 0,118
CMV +	49(100%)	35 (71,4%)	7 (14,3%)	7 (14,3%)	
EBV -	48 (100%)	43 (89,6%)	2 (4,2%)	3 (6,2%)	p = 0,047
EBV +	75 (100%)	53 (70,7%)	8 (10,7%)	14 (18,6%)	
AdV -	90 (100%)	72 (80,0%)	9 (10,0%)	9 (10,0%)	p = 0,076
AdV +	33 (100%)	24 (78,0%)	1 (8,2%)	8 (13,8%)	

Für die Analyse eines Zusammenhangs zwischen cGVHD und Anzahl von Virusreaktivierungen je Patient sowie Einzelreaktivierungen von CMV, EBV und AdV wurden 14 Fälle ausgeschlossen, die vor Tag 100 nach HSCT verstarben und somit definitionsgemäß keine cGVHD aufweisen konnten. Auch bei dieser Analyse wurde auf Grund der kleinen Fallzahlen die Schweregrade der cGVHD in die Gruppen cGVHD 0-I und cGVHD II zusammengefasst. Bei dieser Analyse war die Anzahl der Virusreaktivierungen je Patient nicht mit dem Schweregrad der cGVHD assoziiert. Auch CMV- und EBV-Reaktivierungen wiesen keine Assoziation mit der cGVHD auf (CMV: p=0,265; EBV: p=1,000). AdV-Reaktivierungen hingegen waren mit einer höhergradigen cGVHD hoch signifikant assoziiert (p= 0,001).

Der Zusammenhang zwischen Anzahl der Virusreaktivierungen je Patient bzw. der Einzelnachweise der Viren und dem Schweregrad der cGVHD sind in **Tab. 12** und **Tab. 13** dargestellt.

Tab. 12 Anzahl positiver Virusreaktivierungen je Patient in Bezug auf den Schweregrad der cGVHD (Gesamt-N=110)

Viren/Patient	N (%)	cGVHD 0-I	cGVHD II	p-Wert
0 Viren	21 (100 %)	18 (85,7 %)	3 (14,3%)	p=0,155
1 Virus	44 (100 %)	42 (95,5 %)	2 (4,5 %)	
2 Viren	41 (100 %)	32 (78,0 %)	9 (22,0 %)	
3 Viren	4 (100 %)	3 (75,0 %)	1 (25,0 %)	

Tab. 13 CMV-, EBV- und AdV-Einzelreaktivierungen in Bezug auf den Schweregrad der cGVHD (Gesamt-N=110)

Virusnachweis	N (%)	cGVHD 0-I	cGVHD II	p-Wert
CMV -	64 (100 %)	53 (82,8 %)	11 (17,2 %)	p = 0,265
CMV +	46 (100 %)	42 (91,3 %)	4 (8,7 %)	
EBV -	44 (100 %)	38 (86,4 %)	6 (13,6 %)	p = 1,000
EBV +	66 (100 %)	57 (86,4 %)	9 (13,6 %)	
AdV -	82 (100 %)	76 (92,7 %)	6 (7,3 %)	p = 0,001
AdV +	28 (100 %)	19 (67,9 %)	9 (32,1 %)	

Nach Transplantation traten weitere Komplikationen auf, die im Zusammenhang mit den Virusinfektionen stehen konnten. Hierzu konnten Daten von 112 Patienten analysiert werden. Folgende Komplikationen wurden nach allogener HSCT beobachtet:

- Pneumonie (24 Fälle)
- Pleuritis (3 Fälle)
- Bronchiolitis obliterans (2 Fälle)
- Niereninsuffizienz (14 Fälle)
- Zystitis (29 Fälle)
- Hepatopathie (19 Fälle)

- Enteropathie (34 Fälle)
- Pankreatitis (9 Fälle)
- Venookklusive Erkrankung (1 Fall)
- Enzephalopathie (2 Fälle)
- Posttransplantations-Lymphoproliferative Erkrankung (PTLPD) (13 Fälle)
- Multiorganversagen (18 Fälle)

Die relativen und absoluten Häufigkeiten dieser Komplikationen sind in **Abb. 7** grafisch dargestellt.

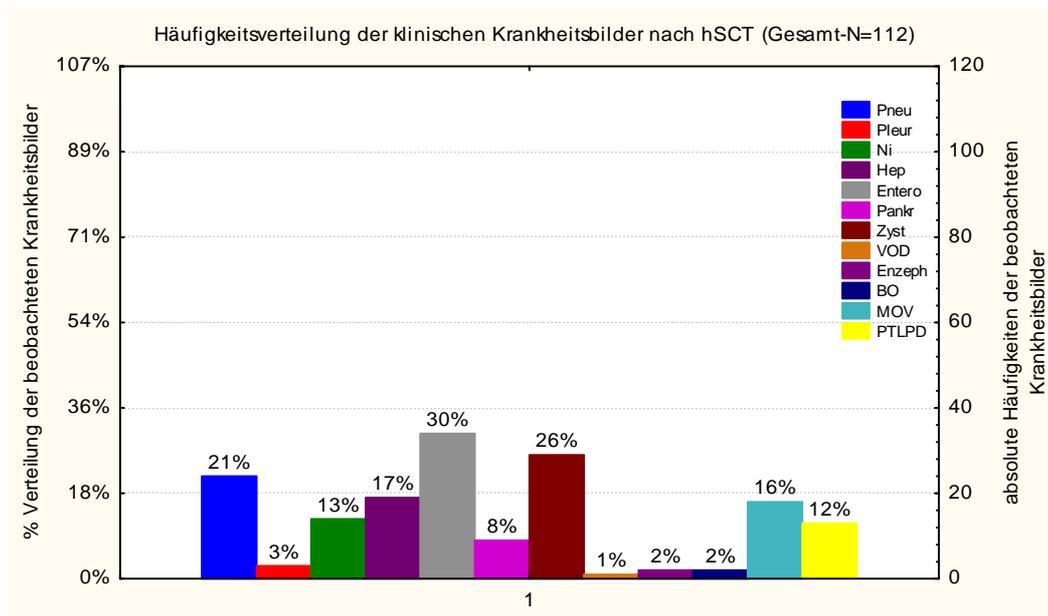


Abb. 7 Häufigkeitsverteilung der nach HSCT aufgetretenen Komplikationen (Linke Ordinate: relative Häufigkeiten, rechte Ordinate: absolute Häufigkeiten)

Pneu Pneumonie, Pleur Pleuritis, Ni Niereninsuffizienz, Hep Hepatopathie, Entero Enteropathie, Pankr Pankreatitis, Zyst Zystitis, VOD Venookklusive Erkrankung, Enzeph Enzephalopathie, BO Bronchiolitis obliterans, MOV Multiorganversagen, PTLPD Posttransplantations-Lymphoproliferative Erkrankung

Für jede Komplikation wurde untersucht, ob es einen Zusammenhang mit der Reaktivierung von CMV, EBV und AdV gab. Dabei wurden sowohl Zusammenhänge zwischen diesen Komplikationen und Reaktivierungen einzelner Viren als auch Zusammenhänge zwischen den Komplikationen und multiplen Virusreaktivierungen je Patient untersucht. Auf Grund der geringen Fallzahl von Pleuritis, venookklusiver Erkrankung, Enzephalopathie und Bronchiolitis obliterans wurden diese von der Analyse ausgeschlossen.

Es zeigten sich signifikante Zusammenhänge zwischen dem Auftreten einer Pneumonie und der gemeinsamen Reaktivierung von CMV und AdV, zwischen Zystitis und dem gemeinsamen Nachweis von CMV, EBV und AdV und erwartungsgemäß zwischen einer PTLPD und einer EBV-Reaktivierung. Die Details sind in **Tab. 14** zusammengefasst.

Tab. 14 Ergebnisse (p=Werte) des univariaten Zusammenhangs zwischen Komplikationen und Virusreaktivierungen.

p-Wert Krankheitsbild	CMV +	EBV +	AdV +	CMV + EBV +	CMV + AdV +	EBV + AdV +	CMV + EBV + AdV +
Pneumonie	0,089	0,345	0,813	0,745	0,004	0,704	0,318
Niereninsuffizienz	0,040	0,669	0,577	0,669	0,119	0,434	0,434
Hepatopathie	0,522	0,865	0,478	0,779	0,041	0,149	0,920
Enteropathie	0,618	0,197	0,429	0,575	0,429	0,862	0,365
Pankreatitis	0,170	0,091	0,606	0,883	0,921	0,083	0,185
Zystitis	0,897	0,457	0,232	0,082	0,319	0,123	0,025
Multiorganversagen	0,578	0,904	0,871	0,309	0,290	0,510	0,811
PTLPD	0,119	0,017	0,439	0,119	0,105	0,439	0,105

5.2 Ergebnisse der multivariaten Analysen

5.2.1 Einflussfaktoren auf Virusreaktivierungen

Da klinische Ereignisse immer von einem Zusammenspiel verschiedener Faktoren abhängen, wurde eine multivariate Analyse mit Hilfe der logistischen Regression durchgeführt, um die Wertigkeit des Einflusses verschiedener Faktoren auf Reaktivierungen von CMV, EBV und AdV nach HSCT zu untersuchen.

Für jedes Virus wurde die gleiche Gruppe an Faktoren zusammengestellt, wobei folgende potentielle Einflussgrößen untersucht wurden:

- Alter des Empfängers
- Geschlecht des Empfängers
- Diagnose der Grunderkrankung (ALL, AML, MDS, CML, Fanconi Anämie, WAS, ALD, sonstige IE, SAA)

- Spendertyp: Verwandter Spender versus unverwandter Spender
- Transplantattyp: Knochenmark (KM) versus Periphere Blutstammzellen (PBSC)
- Gabe und Art des verwendeten Antithymozytenglobulin (ATG): Kein ATG; ATG Merieux Kaninchen; ATG Fresenius Kaninchen
- Serostatus von Empfänger und Spender vor HSCT für das jeweilige Virus
- Schweregrad der aGVHD (aGVHD 0-I versus aGVHD II-IV)
- Schweregrad der cGVHD (cGvHD 0-I versus cGvHD II)
- Reaktivierung der jeweils anderen beiden Viren

Die einzelnen Ergebnisse für jeden untersuchten Einflussfaktor mit Angabe der Odds Ratio (OR), des 95 %-Konfidenzintervalls (95 % CI) und des p-Wertes sind in **Tab. 15** wiedergegeben.

Tab. 15 Multivariate logistische Regression: Modell „Beeinflussung von CMV-Reaktivierungen nach HSCT“ (Gesamtmodell p-Niveau = <0,001)

	p-Wert	OR	95 % CI	
			-95 % CI	+95 % CI
Empfängeralter	0,449	1,0	0,9	1,1
Empfängergeschlecht (weiblich)	0,299	0,7	0,2	1,7
Grundkrankheit	0,141	1,1	1,0	1,3
Spendertyp (unverwandt)	0,162	3,2	0,6	16,1
Transplantattyp (PBSC)	0,904	0,9	0,3	3,3
Kein ATG verwendet	0,261	2,8	0,5	17,7
ATG Merieux Kaninchen verwendet	0,847	1,2	0,2	5,7
ATG Fresenius Kaninchen verwendet	0,749	0,8	0,2	3,1
aGVHD II-IV	0,004	13,2	2,2	79,2
cGVHD II	0,125	0,2	0	1,7
Empfänger seropositiv vor HSCT	<0,001	9,4	2,8	31,3
Spender seropositiv vor HSCT	0,028	3,5	1,1	11,1
EBV-Reaktivierung	0,325	0,5	0,6	1,9
AdV-Reaktivierung	0,459	0,6	0,2	2,2

Die multivariate Analyse zeigte, dass sowohl der Empfänger- als auch der Spender-Serostatus einen signifikanten Einfluss auf die CMV-Reaktivierung hatte. Dabei erhöhte sich das Risiko einer CMV-Reaktivierung nach HSCT um den Faktor 9,4 bei positivem Empfänger-Serostatus

und um den Faktor 3,5 bei positivem Spender-Serostatus. Das multivariate Modell zeigte weiterhin, dass der Schweregrad der aGVHD signifikant mit einer CMV-Reaktivierung assoziiert war. So war das Risiko einer CMV-Reaktivierung bei einer schweren aGVHD um den Faktor 13,2 erhöht im Vergleich zu Patienten mit geringer aGVHD Ausprägung. Dabei ist anzumerken, dass diese hohe OR und die ebenfalls großen Konfidenzintervalle offensichtlich der geringen Fallzahl zuzuschreiben sind. Alle weiteren Faktoren hatten keinen Einfluss im Sinne einer Risikoerhöhung für CMV-Reaktivierungen. Das gleiche multivariate Modell für die EBV-Reaktivierungen nach HSCT ergab signifikante Zusammenhänge zwischen Geschlecht des Patienten bzw. Spendertyp mit einer EBV-Reaktivierung. So war das Risiko einer EBV-Reaktivierung um den Faktor 0,3 verringert bei allen weiblichen verglichen zu den männlichen Patienten und um den Faktor 8,6 erhöht bei Verwendung eines unverwandten Spenders im Vergleich zu einem verwandten Spender. Beim Spender-Serostatus konnte nur ein Trend im Hinblick auf eine EBV-Reaktivierung gezeigt werden. Die Ergebnisse für alle Faktoren im Modell sind in **Tab. 16** angegeben.

Tab. 16 Multivariate logistische Regression: Modell „Beeinflussung von EBV-Reaktivierungen nach HSCT“ (Gesamtmodell p-Niveau = <0,001)

	p-Wert	OR	95 % CI	
			-95 % CI	+95 % CI
Empfängeralter	0,575	1,0	0,9	1,2
Empfängergeschlecht (weiblich)	0,042	0,3	0,1	1,0
Grundkrankheit	0,592	1,0	0,9	1,2
Spendertyp (unverwandt)	0,002	8,62	2,22	33,5
Transplantattyp (PBSC)	0,158	0,4	0,1	1,51
Kein ATG verwendet	0,167	0,3	0	1,8
ATG Merieux Kaninchen verwendet	0,254	2,4	0,5	10,7
ATG Fresenius Kaninchen verwendet	0,459	1,7	0,4	6,3
aGVHD II-IV	0,170	3,5	0,6	21,4
cGVHD II	0,981	1,0	0,2	6,8
Empfänger seropositiv vor HSCT	0,456	1,6	0,5	5,1
Spender seropositiv vor HSCT	0,051	5,0	1,0	25,6
EBV-Reaktivierung	0,431	0,6	0,2	2,0
AdV-Reaktivierung	0,424	0,6	0,2	2,1

In der multifaktoriellen Analyse „AdV-Reaktivierung nach HSCT“ wurden die gleichen Einflussfaktoren wie in den vorangehenden Modellen für CMV und EBV unter Auslassung des AdV-Serostatus vor Transplantation verwendet. Ein signifikanter Zusammenhang ergab sich zunächst zwischen der Verabreichung von ATG und AdV-Reaktivierung. So war das Risiko der Virusreaktivierung bei Gabe des Merieux-ATG's um den Faktor 4,4 gegenüber der Gabe von Fresenius-ATG oder keinem ATG erhöht. Außerdem bestätigte sich das Ergebnis der univariaten Analyse im Hinblick auf die Assoziation zwischen dem Schweregrad der cGVHD und der AdV-Reaktivierung. So war das Risiko einer Virusreaktivierung um den Faktor 10,1 bei einer schweren cGVHD gegenüber einer leichten Form erhöht. Dabei ist ebenfalls anzumerken, dass die hohe OR und die ebenfalls großen Konfidenzintervalle offensichtlich wiederum der geringen Fallzahl zuzuschreiben sind. Alle weiteren Faktoren hatten keinen Einfluss auf das Auftreten von AdV-Reaktivierungen nach HSCT. Detailliert sind die Ergebnisse für die einzelnen Faktoren in **Tab. 17** aufgeführt.

Tab. 17 Multivariate logistische Regression: Modell „Beeinflussung von AdV-Reaktivierungen nach HSCT“ (Gesamtmodell p-Niveau = 0,078)

	p-Wert	OR	95 % CI	
			-95 % CI	+95 % CI
Empfängeralter	0,777	1,0	0,9	1,1
Empfängergeschlecht (weiblich)	0,829	1,1	0,4	3,3
Grundkrankheit	0,273	1,1	1,0	1,2
Spendertyp (unverwandt)	0,558	1,5	0,4	6,2
Transplantattyp (PBSC)	0,614	0,7	0,2	2,4
Kein ATG verwendet	0,832	0,8	0,1	5,2
ATG Merieux Kaninchen verwendet	0,037	4,4	1,1	17,9
ATG Fresenius Kaninchen verwendet	0,555	1,5	0,4	5,9
aGVHD II-IV	0,597	0,7	0,1	3,3
cGVHD II	0,005	10,1	2,0	51,1
CMV-Reaktivierung	0,423	0,7	0,2	1,9
EBV-Reaktivierung	0,424	0,6	0,2	2,1

5.2.2 Einfluss der Viren auf transplantationsassoziierte Komplikationen

Mit Hilfe der multivariaten Analyse wurde in verschiedenen Modellen berechnet, welchen Einfluss die Einzelreaktivierungen von CMV, EBV und AdV auf transplantationsassoziierte Komplikationen hatten.

Dabei wurden Komplikationen untersucht, die weitestgehend unabhängig von der Diagnose der Grunderkrankung nach HSCT auftreten konnten. Dazu zählten:

- Therapieassoziierte Mortalität nach HSCT
- Auftreten und Schweregrad der aGVHD
- Auftreten und Schweregrad der cGVHD
- Auftreten von Komplikationen, welche im Zusammenhang mit einem der drei Viren stehen konnten.

Um den Einfluss von CMV-, EBV- und AdV-Reaktivierungen auf die TRM zu untersuchen, wurde eine logistische Regression mit allen drei Viren als mögliche Einflussfaktoren durchgeführt. Daten von 113 Patienten, von denen 34 im Rahmen einer TRM verstarben, flossen in das Modell ein. Unter Berücksichtigung aller aufgetretener Virusreaktivierungen zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang nur zwischen TRM und AdV-Reaktivierung. Das Risiko zu versterben war bei Patienten mit AdV-Reaktivierung um den Faktor 2,6 erhöht gegenüber Patienten ohne eine solche Virusreaktivierung. Bei EBV-Reaktivierungen ergab sich lediglich ein Trend für eine höhere TRM. Für CMV-Reaktivierungen konnte kein Zusammenhang mit der TRM gezeigt werden. Die Details finden sich in **Abb. 8** und **Tab. 18**.

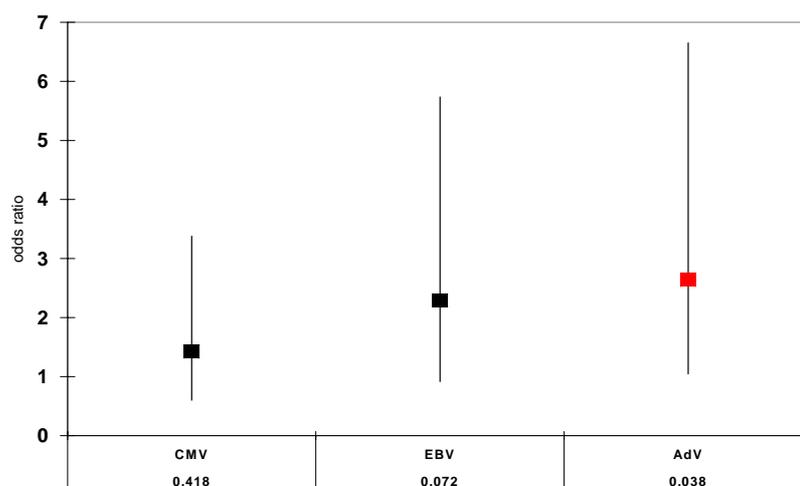


Abb. 8 Viraler Einfluss auf die therapieassoziierte Mortalität (Vertikale Balken entsprechen dem 95 % -CI)

Tab. 18 Analyse zum Einfluss der Viren auf die TRM (Gesamtmodell p-Niveau = 0,050)

	p-Wert	OR	95 % CI	
			-95 % CI	+95 % CI
CMV + Gruppe	0,418	1,4	0,6	3,4
EBV + Gruppe	0,072	2,3	0,9	5,7
AdV + Gruppe	0,038	2,6	1,0	6,7

Um multifaktorielle Einflüsse auf den Schweregrad der aGVHD zu untersuchen, wurden folgende Faktoren eingeschlossen:

- Alter des Patienten
- Geschlecht des Patienten
- Diagnose der Grunderkrankung (ALL, AML, MDS, CML, Fanconi Anämie, WAS, ALD, sonstige IE, SAA)
- Transplantattyp (KM versus PBSC)
- Spendertyp (verwandt versus unverwandt)
- CMV-Reaktivierung
- EBV-Reaktivierung
- AdV-Reaktivierung

Die Ergebnisse dieses Modells sind in **Tab. 19** zusammengefasst.

Tab. 19 Multivariate logistische Regression: Modell „Beeinflussung des Schweregrads der aGVHD“ (Gesamtmodell p-Niveau = 0,011)

	p-Wert	OR	95 % CI	
			-95 % CI	+95 % CI
Empfängeralter	0,013	1,2	1,0	1,3
Empfängergeschlecht (weiblich)	0,478	1,4	0,5	3,9
Grunderkrankung	0,795	1,0	0,9	1,2
Transplantattyp (PBSC)	0,964	1,0	0,4	2,9
Spendertyp (unverwandt)	0,501	1,5	0,4	5,2
CMV-Reaktivierung	0,089	2,4	0,9	6,6
EBV-Reaktivierung	0,028	4,0	1,1	13,8
AdV-Reaktivierung	0,289	1,8	0,6	5,0

Auf Grund der kleinen Fallzahlen wurden für die Berechnung der logistischen Regression die Daten in zwei Gruppen zusammengefasst: aGVHD 0-I und aGVHD II-IV. Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Empfängeralter und dem Schweregrad der aGVHD. So stieg das Risiko einer schweren aGVHD um den Faktor 1,2 pro Lebensjahr. Außerdem waren EBV-Reaktivierungen mit dem Auftreten einer schweren aGVHD assoziiert. CMV-Reaktivierungen waren allenfalls im Trend assoziiert. Mit der AdV-Reaktivierung bestand kein Zusammenhang.

Das gleiche Modell wurde für den Schweregrad der cGVHD untersucht. Als zusätzlicher Faktor wurde der Schweregrad der vorangehenden aGVHD (Grad 0-I versus Grad II-IV) in das Modell aufgenommen. Für die logistische Regression wurde die cGVHD in zwei Gruppen unterteilt: cGVHD 0-I und cGVHD II. **Tab. 20** zeigt die Ergebnisse im Detail.

Tab. 20 Multivariate logistische Regression: Modell „Beeinflussung des Schweregrads der cGVHD“ (Gesamtmodell p-Niveau = <0,001)

	p-Wert	OR	95 % CI	
			-95 % CI	+95 % CI
Empfängeralter	0,154	1,1	1,0	1,4
Empfängergeschlecht (weiblich)	0,688	0,7	0,1	3,7
Grunderkrankung	0,697	1,0	0,8	1,2
Transplantattyp (PBSC)	0,534	1,7	0,3	10,2
Spendertyp (unverwandt)	0,075	0,2	0,0	1,2
CMV-Reaktivierung	0,050	0,2	0,0	1,0
EBV-Reaktivierung	0,984	1,0	0,1	6,7
AdV-Reaktivierung	0,010	9,5	1,7	53,3
aGVHD II-IV	<0,001	47,7	7,0	322,4

Es fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer schweren cGVHD und einer AdV-Reaktivierung, womit sich das Ergebnis der univariaten Analyse bestätigte. Für CMV bestand allenfalls ein schwacher, für EBV keinerlei Zusammenhang. Zusätzlich bestand erwartungsgemäß eine Assoziation zwischen einer vorangegangenen, schweren aGVHD und einer cGVHD. Das Risiko einer schweren cGVHD stieg um den Faktor 9,5 bei einer AdV-Reaktivierung und um den Faktor 47,7 bei einer schweren aGVHD, wiederum mit der

Anmerkung, dass die hohen ORs und die großen Konfidenzintervalle den geringen Fallzahlen zuzuschreiben sind.

Schließlich wurde der Einfluss von CMV-, EBV- und AdV-Reaktivierungen auf folgende Komplikationen analysiert:

- Pneumonie
- Niereninsuffizienz
- Hepatopathie
- Enteropathie
- Pankreatitis
- Zystitis
- Multiorganversagen

Das Auftreten einer Pleuritis, venookklusiven Erkrankung, Enzephalopathie und PTLPD konnte auf Grund der kleinen Fallzahlen nicht in der multifaktoriellen Analyse berücksichtigt werden. Die detaillierten Ergebnisse sind in **Tab. 21** angegeben.

Tab. 21 Multivariate Modelle zum Einfluss der Virusreaktivierungen von CMV, EBV und AdV und dem Auftreten von Komplikationen nach HSCT

	p-Werte				OR			95 % CI					
	Gesamtmodell	CMV	EBV	AdV	CMV	EBV	AdV	CMV - 95 % CI	CMV + 95 % CI	EBV - 95 % CI	EBV + 95 % CI	AdV - 95 % CI	AdV + 95 % CI
Pneu	0,808	0,833	0,769	0,362	0,9	0,9	1,6	0,4	2,3	0,3	2,2	0,6	4,3
NI	0,381	0,161	0,827	0,484	0,4	1,1	1,5	0,1	1,5	0,3	3,8	0,5	5,2
Hep	0,277	0,355	0,196	0,191	1,6	2,1	2,1	0,6	4,6	0,7	6,5	0,7	6,1
Enter	0,066	0,212	0,064	0,099	1,7	2,4	2,2	0,7	4,1	0,9	5,9	0,7	5,5
Pankr	0,429	0,271	0,265	0,468	2,2	2,5	1,8	0,5	9,4	0,45	13,4	0,4	8,1
Zyst	0,008	0,299	0,017	0,020	1,6	3,5	3,2	0,6	4,2	1,2	10,1	1,2	8,4
MOV	0,613	0,994	0,284	0,447	1,0	1,8	1,5	0,4	2,7	0,6	5,7	0,5	4,7

Pneu Pneumonie, Ni Niereninsuffizienz, Hep Hepatopathie, Enter Enteropathie, Pankr Pankreatitis, Zyst Zystitis, MOV Multiorganversagen

CMV-Reaktivierungen waren mit keinem der untersuchten Krankheitsbilder statistisch assoziiert. Reaktivierungen von EBV und AdV zeigten hingegen einen signifikanten Zusammenhang mit dem Auftreten einer Zystitis. So war die Chance einer Zystitis um den Faktor 3,5 bei EBV-Reaktivierung und um den Faktor 3,2 bei AdV-Reaktivierung erhöht. Im Trend waren

EBV- und AdV-Reaktivierungen mit dem Auftreten einer Enteropathie assoziiert und führten zu einer Risikoerhöhung für diese Komplikation um den Faktor 2,4 (EBV) und 2,2 (AdV).

6 Diskussion

Die Prognose für Kinder und Jugendliche nach HSCT hat sich in den letzten 10 Jahren stetig gebessert (2). Dennoch ist die HSCT mit einer Reihe von transplantationsassoziierten Komplikationen verbunden, die nennenswert zum Mortalitäts- und Morbiditätsrisiko beitragen. Für einige Grunderkrankungen ist das Therapierisiko größer als das Rezidivrisiko der Grunderkrankung. Aus diesem Grund ist es besonders wichtig, die mit dem Therapieverfahren einer HSCT assoziierten Komplikationen zu minimieren und auf diesem Weg die Prognose zu verbessern. Diese Arbeit beschäftigte sich mit Reaktivierungen der besonders kritischen Viren CMV, EBV und AdV nach allogener HSCT, welche heute immer noch trotz präemptiver Therapiestrategien einen großen Einfluss auf die Mortalität und Morbidität haben (1;24). Um die Bedeutung von Virusreaktivierungen nach HSCT zu analysieren, sind in dieser Arbeit ausschließlich qualitative Daten verwendet worden. Zahlreiche Arbeiten haben bereits die Bedeutung von Reaktivierungen dieser Viren auf den Posttransplantationsverlauf nach HSCT untersucht, jedoch meist nur unter Betrachtung singulärer Viren (3;5-9;47-50). In der Realität, wie in dieser Arbeit gezeigt, weist aber ein signifikanter Anteil von mehr als 40 % der Kinder und Jugendlichen nach allogener Transplantation mehr als ein Virus auf. Daher beschäftigte sich diese Arbeit mit multiplen Virusreaktivierungen nach HSCT und untersuchte vergleichend die Auswirkung aller drei Viren auf weitere transplantationsassoziierte Komplikationen. Hierzu liegen nur spärliche Voruntersuchungen vor (51). Aber auch umgekehrt wurde untersucht, welche Transplantationsparameter ihrerseits die Virusreaktivierungen beeinflussten.

Die hier vorgelegte Arbeit konnte Zusammenhänge aufweisen zwischen einzelnen Viren bzw. der Zahl der Viren je Patient und Transplantationsparametern sowie –Komplikationen nach allogener HSCT. So hatten Serostaten, Geschlecht, Spenderwahl und ATG-Gaben Einfluss auf Virusreaktivierungen. Umgekehrt hatten die Virusreaktivierungen einen Einfluss auf die Therapie-Mortalität, die akute und chronische GVHD sowie diverse, sonstige Komplikationen. Bei Kindern und Jugendlichen sind eindeutig die Adenoviren besonders kritisch hinsichtlich Mortalität und Morbidität. Diese Zusammenhänge werden im Folgenden diskutiert.

6.1 Prävalenzen von Virusreaktivierungen nach HSCT

Diese Arbeit fand bei mehr als 40 % der Patienten multiple Virusreaktivierungen. Bei 39,5 % aller untersuchten Patienten konnte eine CMV-, bei 61,0 % eine EBV- und bei 26,6 % eine AdV-Reaktivierung nachgewiesen werden. In der Literatur wird angegeben, dass die Häufigkeiten von CMV-Reaktivierungen abhängig vom Serostatus des Empfängers und Spenders sind. CMV-seropositive Patienten und CMV-seronegative Patienten mit -seropositiven Spender weisen CMV-Reaktivierungsraten von 60-70 % auf (24;52). Dies entspricht in etwa den Ergebnissen dieser Arbeit, so war bei 60,9 % aller seropositiver Patienten eine CMV-Reaktivierung nachweisbar. In der Gruppe der seronegativen Empfänger mit seropositivem Spender lag die Rate der CMV-Reaktivierungen bei 46,2 %, also etwas niedriger als in der Literatur angegeben. EBV-Reaktivierungen sind ein sehr häufiges Ereignis nach HSCT und sicher zum Teil durch die Verwendung von ATG oder die Verwendung alternativer Spender bedingt (49;53). In einer Studie von Faraci et al. wurde gezeigt, dass bei 63 % aller untersuchten pädiatrischen HSCT-Patienten EBV-Reaktivierungen nachgewiesen werden konnten (54). Dabei ist es sicher von Bedeutung, ab welchem Schwellenwert Befunde als positiv gewertet werden. AdV-Reaktivierungen spielen bei pädiatrischen Patienten eine größere Rolle als in der Erwachsenen-Transplantation. Für Kinder und Jugendliche werden Reaktivierungsraten von ca. 30 % angegeben, wohingegen sie bei Erwachsenen nur zwischen 3 -13 % liegen (50;55). Die Prävalenzrate für AdV-Reaktivierungen in dieser Arbeit lag der Literatur entsprechend bei 26,6 %.

Zusammenfassend können die in dieser Arbeit gefundenen Prävalenzen von Virusreaktivierungen als repräsentativ und vergleichbar zu anderen Arbeiten gewertet werden.

6.2 Einflussfaktoren auf Virusreaktivierungen nach HSCT

Die Ursache für Virusreaktivierungen nach HSCT liegt am Mangel an virusspezifischen T-Zellen während der ersten 6 Monate nach HSCT (52). Für CMV, EBV und AdV sind zur Beherrschung der Infektionsverläufe funktionsfähige CD8 und CD4 positive T-Zellen nötig. Das Risiko einer virusbedingten Komplikation hängt von der Balance zwischen Viruslast einerseits und spezifischer Immunität andererseits ab. Da die Immunsuppression ein unumgänglicher Bestandteil der allogenen HSCT ist, bedarf es guter und risikoangepasster, prophylaktischer und präemptiver Therapien, um das Risiko zu minimieren. Obwohl alle Patienten virustatisch

behandelt werden, können Virusreaktivierungen dennoch nicht vermieden werden und zu transplantationsassoziierten Komplikationen und Todesfällen führen (24;56). Daher ist es wichtig zu klären, welche Patienten ein besonders hohes Risiko für eine Reaktivierung dieser Viren haben, und welche Faktoren dabei eine Rolle spielen.

6.2.1 Einfluss der Empfänger- und Spenderserologie auf CMV- und EBV-Reaktivierungen

Für CMV und EBV wurde untersucht, ob Reaktivierungen nach HSCT durch virusspezifische Serostaten vor Transplantation beeinflusst werden. Da ein Kontakt mit AdV bereits sehr früh im Leben mit einem Infektionspeak zwischen 6 Monaten und 5 Jahren stattfindet (34;57), konnte davon ausgegangen werden, dass bereits ab frühem Alter eine weitestgehende Durchseuchung stattgefunden hat (35). Auch im hier vorliegenden Datensatz wiesen alle Spender und nahezu alle Empfänger eine positive IgG-Serologie für AdV auf. Daher wurde in dieser Arbeit auf eine Analyse der AdV-Reaktivierung in Abhängigkeit des Serostatus verzichtet.

CMV-Reaktivierungen

In der univariaten Analyse konnte gezeigt werden, dass es selbst bei vermeintlich seronegativen Patienten mit seronegativen Spender in etwa 8 % zum CMV-Nachweis nach Transplantation kam. Bei allen anderen Kombinationen lag die Reaktivierungsrate bei 50 – 70 %. In der multivariaten Analyse gab es einen Zusammenhang zwischen Empfänger- und Spenderserologie mit CMV-Reaktivierungen. Das war insofern schwer interpretierbar, da die Kombination der CMV-Serostaten von Empfängern und Spendern nicht in das Modell einfließen konnte, aber in Realität die Wahl nicht zufällig war. Der CMV-Serostatus von Empfänger und Spender gehört zu den Kriterien, die bei der Auswahl eines passenden Spenders - wenn möglich - berücksichtigt werden. Dabei sollte ein CMV-seronegativer Empfänger ein Transplantat von einem CMV-seronegativen Spender und ein CMV-seropositiver Empfänger ein Transplantat von einem CMV-seropositivem Spender erhalten (15;58). Auch für die hier untersuchten Patienten wurde dies berücksichtigt. In der Literatur ist der Zusammenhang zwischen CMV Empfänger- und Spenderserologie mit dem Risiko einer CMV-Reaktivierung vielfältig beschrieben worden. So beschreibt Nichols das höchste Risiko für CMV-Reaktivierungen bei CMV-seropositiven Empfängern, unabhängig vom Serostatus des Spenders, gefolgt von CMV-seronegativen Empfängern mit seropositiven Spendern. Das geringste Risiko fand sich in der Gruppe der seronegativen Empfänger mit seronegativen Spender (59). Eine Studie von Hazar et al. mit 105

Kindern und Erwachsenen zeigte, dass das Risiko für eine CMV-Reaktivierung nach HSCT steigt, wenn sowohl Spender als auch Empfänger CMV-seropositiv waren (60).

EBV-Reaktivierungen

Für EBV-Reaktivierungen sind in der Literatur verschiedene Risikofaktoren beschrieben worden. Gegenüber CMV existieren jedoch deutlich weniger Informationen über den Einfluss der EBV-Serostaten auf die EBV-Reaktivierungen nach HSCT (61). Die univariate Analyse in dieser Arbeit zeigte, dass signifikant mehr EBV-Reaktivierungen auftraten, wenn das Transplantat von einem EBV-seropositiven Spender stammte, unabhängig vom Serostatus des Empfängers. Auch die multivariate Analyse bestätigte im Trend den Einfluss der Spender-Serologie auf die Rate von EBV-Reaktivierungen nach HSCT. Dabei ist aber davon auszugehen, dass ähnlich wie bei AdV eine hohe Durchseuchungsrate in der Bevölkerung schon in jungen Jahren vorliegt (30;61). Auch in dem in dieser Arbeit untersuchten Patientenkollektiv wiesen 87 % aller Spender bereits eine positive EBV-Serologie auf. Insgesamt würde man nach diesen Analysen einen EBV-seronegativen Spender bei allen Patienten bevorzugen müssen, unabhängig von der Patienten-Serologie, wenn es die Spenderzahl erlauben würde.

6.2.2 Einfluss weiterer Faktoren auf Virusreaktivierungen

CMV-Reaktivierungen

Das multivariate Modell ergab neben dem bereits erwähnten Einfluss der CMV-Serologie auch eine Assoziation zwischen einer schweren aGVHD und einer CMV-Reaktivierung. In der Literatur wird dieser Zusammenhang zwischen aGVHD und CMV-Reaktivierung bestätigt (62;63). Aus dieser Analyse kann noch kein Rückschluss auf Ursache und Wirkung dieser beiden Faktoren getroffen werden. Im Abschnitt 6.4 wird dieses näher diskutiert.

EBV-Reaktivierungen

In dieser Arbeit zeigte sich ein univariater Zusammenhang zwischen Schweregrad der aGVHD und EBV-Reaktivierung, ohne dass auch hier der zeitliche Zusammenhang geklärt werden kann. (siehe Abschnitt 6.4). Im multivariaten Modell hatten weiterhin das Geschlecht des Empfängers als auch der Spendertyp einen signifikanten Einfluss auf eine EBV-Reaktivierung. Das Risiko einer EBV-Reaktivierung war für weibliche Patienten niedriger als für männliche und stieg für Patienten mit einem unverwandten gegenüber einem verwandten Spender. Naheliegend war, der

Literatur entsprechend, die Ursache hierfür in der generellen Gabe von ATG bei unverwandten Spendern zu sehen (49;64;65). Überraschenderweise zeigte die multivariate Analyse aber keinen Zusammenhang zwischen ATG oder der Art des ATG's und einer EBV-Reaktivierung. Allerdings wurde nicht analysiert, welchen Einfluss das ATG auf schwere EBV-assoziierte Komplikationen wie der PTLPD hatte. Dieser Einfluss ist in der Literatur gut dokumentiert (66;67).

AdV-Reaktivierungen

Bei der AdV-Reaktivierung zeigte das multivariate Modell einen Zusammenhang mit der cGVHD, wie später noch diskutiert wird, aber auch mit der Verwendung von ATG, und zwar ausschließlich mit der Verwendung von Merieux-ATG. Heemskerk et al. konnten in einer prospektiven Studie zeigen, dass ATG grundsätzlich zu den Risikofaktoren für AdV-Reaktivierungen gehört, jedoch handelte es sich dabei um eine kleinere Studie mit 48 Kindern (68). Für EBV und CMV konnte in der Literatur gut gezeigt werden, dass es auch auf die Art und Dosis der ATGs hinsichtlich des Risikos einer Virusreaktivierung ankam (65). Alle anderen untersuchten Faktoren hatten in dieser Arbeit keinen Einfluss auf AdV-Reaktivierungen nach HSCT.

6.3 Einfluss von Virusreaktivierungen auf die therapieassoziierte Mortalität (TRM)

Virusreaktivierungen nach HSCT können zu schwerwiegenden Komplikationen bis hin zu therapieassoziierten Todesfällen führen. Dies ist bereits in der Literatur gut beschrieben (24;56). Viele Studien haben sich mit dem Einfluss von CMV- oder EBV- oder AdV-Reaktivierungen beschäftigt, wobei für jedes der Viren bekannt ist, dass dessen Einzelreaktivierung zu einem Anstieg der TRM führen kann (1;48;52;69). Diese Arbeit beschäftigte sich im Unterschied zu anderen Studien mit multiplen Virusreaktivierungen nach HSCT und deren Einfluss auf die TRM. Dabei wurde die Assoziation von CMV-, EBV- und AdV-Reaktivierung auf die TRM untersucht. Neben Reaktivierungen der einzelnen Viren ist in den Analysen auch der Einfluss multipler Virusreaktivierungen berücksichtigt worden. Bei der Interpretation der Ergebnisse ist zu beachten, dass alle Patienten prophylaktische und präemptive, antivirale Therapien erhielten. Es konnte gezeigt werden, dass die Anzahl der Virusreaktivierungen je Patient einen Einfluss auf die TRM hatte. So führte bereits das Auftreten einer Virusreaktivierung zu dem noch nicht statistisch-signifikanten Trend einer TRM-Zunahme, bei Nachweis von drei Viren ergab sich

jedoch eine hochsignifikante Assoziation mit tödlichen, transplantationsassoziierten Komplikationen.

Bemerkenswert ist, dass sich dieser Unterschied schon auf der Basis von qualitativen Daten ergab, die die Quantifizierung der Viruslasten nicht berücksichtigte. Dies bestärkt die Annahme, dass die absolute Höhe einer Viruslast weniger relevant ist, als die Balance zwischen Viruslast und Funktionalität der spezifischen T-Zell-Abwehr.

Hinsichtlich der Einzelviren zeigte die multivariate Analyse, dass die AdV-Reaktivierung das signifikant größte TRM Risiko hatte, gefolgt von EBV, für das ein Trend ersichtlich war, während bei CMV-Reaktivierung keinerlei erhöhtes Risiko bestand. Diese Untersuchungen wurden unterstützt durch die Überlebensanalysen nach Kaplan-Meier, bei denen sich für die Wertigkeit der Viren ein vergleichbarer Trend ergab. Dass AdV mit einem erhöhten Mortalitätsrisiko besonders bei Kindern assoziiert ist, wurde in der Literatur mehrfach beschrieben (6;8;34;50;55;56). Dies ist umso problematischer, als diese Virusgruppe im Vergleich zu CMV und EBV schlechter zu behandeln ist, nachdem die eingesetzten Virustatika Ribavirin und Cidofovir nur eingeschränkt wirksam und nebenwirkungsreich sind (70). Für die Zukunft ist es deshalb von hoher Dringlichkeit, bessere und wirksamere Strategien zur Prophylaxe und Therapie dieser AdV-Infektionen zu entwickeln. Ein Ansatz ist die adoptive Therapie mit AdV-spezifischen, zytotoxischen T-Zellen (34;42;71;72).

Obwohl EBV und CMV für sich alleine nicht das gleiche Risiko wie die Adenoviren aufweisen und auch bessere virustatische Möglichkeiten für diese Viren bestehen, zeigt die Analyse der multiplen Viren, dass EBV und CMV in Kombination mit AdV durchaus das TRM-Risiko erhöhen können (73).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass in der hier untersuchten Patientengruppe AdV-Reaktivierungen das höchste Risiko hinsichtlich der TRM aufwiesen. EBV und am wenigsten CMV können aber zu Komorbiditäten führen.

6.4 Einfluss von Virusreaktivierungen auf weitere Komplikationen nach HSCT

Nicht nur die TRM wird durch Virusreaktivierungen beeinflusst. Auch weitere Komplikationen zeigen nach HSCT einen Zusammenhang mit den Virusreaktivierungen. Diese Arbeit untersuchte daher die Assoziation von CMV-, EBV- und AdV-Reaktivierungen mit folgenden Komplikationen: aGVHD, cGVHD und verschiedene, organbezogene Komplikationen.

Schwere akute und chronische GVHD gehören zu den klassischen Komplikationen nach allogener HSCT. Sie sind Ausdruck der T-zellulären Reaktion des Spenders gegen den immundefizienten Empfänger (74). Zur Prophylaxe und gegebenenfalls Behandlung einer GVHD sind Immunsuppressiva notwendig, die zweifellos die Zeit der Immuninsuffizienz verlängern und das Risiko von Infektionen erhöhen.

Diese Arbeit konnte zeigen, dass Virusreaktivierungen signifikant mit einer schweren aGVHD assoziiert sind. Da in die statistische Analyse kein zeitlicher Faktor eingeschlossen wurde, ist es schwierig, die Ergebnisse der uni- und multivariaten Analyse in einen Ursache-Wirkungs-Zusammenhang zu bringen. Die Ergebnisse können lediglich so interpretiert werden, dass ein inhaltlicher Zusammenhang besteht. Auch wenn hier nicht explizit untersucht, spricht sehr viel dafür, dass die Virusreaktivierungen der aGVHD in der Regel vorausgehen. Signifikant war der Zusammenhang zwischen EBV, weniger CMV, und schwerer aGVHD. Aber auch Reaktivierungen multipler Viren waren mit einer schweren aGVHD im Trend assoziiert. Adenoviren hatten keinen Einfluss auf die aGVHD, aber signifikant auf die cGVHD. Hier darf allemal angenommen werden, dass die AdV-Infektion der cGVHD vorausging, da der Erstdachweis einer AdV-Reaktivierung im Mittel bei 30 Tagen nach allogener HSCT liegt (34;42;75), die cGVHD jedoch erst definitionsgemäß 100 Tage nach HSCT auftreten kann.

Auch in der Literatur ist der Zusammenhang zwischen Virusreaktivierungen und GVHD beschrieben, am ehesten für CMV. So konnten Miller et al. in einer Studie mit Kindern und Erwachsenen zeigen, dass ein Zusammenhang zwischen CMV-Reaktivierung und Schweregrad der aGVHD bestand, wobei hier eher angenommen wurde, dass die GVHD der Virusreaktivierung vorausging und die Virusinfektion Folge der GVHD-Therapie war (76). Hochkomplex und die Interpretation erschwerend zu diesem Zusammenhang sind die Interaktionen der Viren selbst hinsichtlich immunmodulatorischer Effekte (77).

Die Pathophysiologie der cGVHD ist komplizierter (78). Einer der wichtigsten Risikofaktoren für eine schwere cGVHD ist zweifellos eine vorangehende aGVHD (79). Besonders

eindrucksvoll war in der univariaten Analyse und im multivariaten Modell dieser Arbeit der signifikante Zusammenhang zwischen AdV-Reaktivierung und schwerer cGVHD. Verschiedene Studien haben den Zusammenhang zwischen aGVHD und AdV untersucht. Einige von ihnen konnten eine Assoziation zwischen einer aGVHD und AdV-Reaktivierungen herstellen, die in den meisten Fällen auf die immunsuppressive Behandlung der aGVHD zurückgeführt wurde (9;34;47). So zeigten Robin et al., dass eine vorangegangene aGVHD ein Risikofaktor für eine disseminierte AdV-Infektion darstellt (75). Andere Studien fanden jedoch keinen solchen Zusammenhang (4;6;8;80).

Neben der GVHD traten aber auch andere transplantationsassoziierte Komplikationen auf. In dieser Arbeit wurde analysiert, ob ein Zusammenhang zwischen diesen überwiegend organspezifischen Komplikationen und den Virusreaktivierungen bestand.

Erwartungsgemäß zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen EBV-Reaktivierung und PTLPD, was der Literatur entspricht (32;61;81;82). Zusätzlich gab es einen Zusammenhang zwischen gemeinsamer CMV- und AdV-Reaktivierungen und interstitiellen Pneumonien. Letztere war mit einer erhöhten Therapieletalität verbunden. Beides ist in der Literatur beschrieben worden (27;35). Reaktivierungen von CMV, EBV und AdV bei einem Patienten waren in der univariaten Analyse mit dem Auftreten einer Zystitis assoziiert. Im multivariaten Modell hatten nur EBV- und AdV-Reaktivierungen einen Einfluss auf eine, in der Regel hämorrhagische Zystitis. AdV-Reaktivierungen sind als Risikofaktor für solche Zystitiden nach HSCT bekannt (38;83). Aber auch andere Faktoren können in dieser Situation zu Zystitiden führen, wie CMV-Reaktivierungen, BK-Virus-Infektionen oder Medikamentennebenwirkungen der Zytostatika und Virustatika (84;85).

Für alle anderen Komplikationen konnten keine statistisch signifikanten Zusammenhänge mit CMV-, EBV- oder AdV-Reaktivierungen nachgewiesen werden. Auch hier ergab sich also, dass die AdV-Reaktivierungen den führenden Einfluss auf den Verlauf der HSCT haben.

6.5 Bewertung der Virus-assoziierten Komplikationen im Vergleich zu weiteren Infektionskomplikationen

Das Risiko für eine Infektion nach HSCT ist von der Grundkrankheit und von weiteren transplantationsassoziierten Faktoren abhängig, wie der Spenderauswahl, der Immunsuppression und Immunrekonstitution nach allogener HSCT. Die meisten Infektionen treten in den ersten 6

Monaten nach HSCT auf, bakterielle Infektionen in den ersten 2 – 3 Wochen der Neutropenie-Phase, Pilz- und Virusinfektion abhängig von der lymphozytären Funktion in den folgenden Wochen (25). Bei vielen Patienten kommt es aber auch zu Mischinfektionen, die sich gegenseitig beeinflussen. So konnten Nichols et al. zeigen, dass Patienten mit frischer CMV-Infektion ein zusätzliches Risiko durch Bakterien und Pilze hatten, für das ursächlich eine Virus- oder Virustatika-bedingte Neutropenie verantwortlich war (86). Auch für die Aspergillose sind neben vielen weiteren Risikofaktoren Assoziationen mit vorangehenden Reaktivierungen von CMV und EBV in der Literatur beschrieben worden (87). Dadurch wird deutlich, dass sich virale und fungale Infektionen negativ beeinflussen und den HSCT-Verlauf zusätzlich verschlechtern können.

Neben CMV, EBV und AdV können weitere Viren zu Infektionen nach allogener HSCT führen. Dazu gehören unter anderem das Herpes simplex Virus (HSV), das Varizella-Zoster Virus (VZV), das Humane Herpesvirus 6 (HHV6) sowie zahlreiche respiratorische Viren, wie das Respiratory-Syncytial-Virus und Enteroviren. Der Einfluss auf die TRM ist dabei je nach Virus unterschiedlich. Am besten verhütbar wurden die HSV- und VZV-Reaktivierungen durch die generelle Einführung einer Aciclovir-Prophylaxe (88).

HHV 6 gehört als ein Vertreter aus der Familie der Herpesviren ebenfalls zu den Viren, welche nach stattgefundener Erstinfektion endogen reaktivieren können. Bei bis zu 75 % aller Patienten kommt es innerhalb der ersten 30-40 Tage nach HSCT zu einer HHV6-Reaktivierung, wobei Pneumonien und Meningoenzephalitiden die häufigsten klinischen Korrelate darstellen (59), aber auch Hepatitiden und Knochenmarkssuppressionen können durch HHV6 verursacht sein. HHV6-assoziierte Enzephalitiden weisen eine Mortalitätsrate von bis zu 58 % auf (83). Ganciclovir und Foscavir besitzen *in vitro* und *in-vivo* eine Wirksamkeit gegen HHV6 (88), jedoch werden hier in der Regel keine generellen Prophylaxen durchgeführt (59). Auch HHV6 prädisponiert durch Unterdrückung der T-Zell-Funktion für weitere Virusreaktivierungen (83). So sind Koinfektionen mit CMV und AdV in der Literatur beschrieben worden (89) und HHV6 ermöglicht auf diesem Weg fatale Verläufe einer allogenen HSCT. Es darf angenommen werden, dass neben den erwähnten Viren eine Vielzahl anderer bekannter und unbekannter Viren einen Einfluss auf den Transplantationsverlauf haben können.

7 Zusammenfassung

Die allogene HSCT wird erfolgreich bei verschiedenen malignen und nicht-malignen Erkrankungen im Kindes- und Jugendalter eingesetzt. Dennoch bleibt ein transplantations-assoziiertes Risiko auf Grund unterschiedlicher Komplikationen bestehen, die unabhängig von der eigentlichen Grunderkrankung auftreten können. Dazu gehören neben dem Transplantatversagen, das Auftreten einer GVHD sowie Infektionen durch Bakterien, Pilze und Viren. Alle genannten Komplikationen sind mit einem nennenswerten Mortalitätsrisiko verbunden, wobei sie häufig multifaktoriell bedingt sind und Toxizitäten, Infektionen und GVHD gleichzeitig zu diesen Komplikationen beitragen.

Im Gegensatz zu vielen publizierten Studien, die die Bedeutung von Einzelviren untersucht haben, war es das Anliegen dieser Arbeit, der Bedeutung multipler Virusreaktivierungen auf den Verlauf einer allogenen HSCT in einem ausschließlich pädiatrischen Patientenkollektiv mit 124 Kindern und Jugendlichen nachzugehen. Außerdem wurde der Einfluss von Transplantationsparametern auf Virusreaktivierungen untersucht. Für die retrospektive Datenauswertung wurden sowohl univariate als auch multivariate Analysen durchgeführt.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass die therapieassoziierte Mortalität (TRM) im Zusammenhang mit der Anzahl von Virusreaktivierungen je Patient stand. Je mehr Virusreaktivierungen pro Patient auftraten, desto höher war das Risiko zu versterben. Dabei kam den Adenoviren (AdV) unter den drei transplantationsrelevantesten und hier auch mittels PCR regelmäßig untersuchten Viren - CMV, EBV und AdV - die größte Bedeutung für die TRM zu. Weniger bedeutsam für die TRM waren EBV-Reaktivierungen, wohingegen CMV-Reaktivierungen keinerlei Einfluss auf die TRM hatten.

Weiterhin wurde untersucht, welche Zusammenhänge zwischen den Virusreaktivierungen und Transplantationskomplikationen bestanden. Es bestand eine Assoziation sowohl univariat als auch multivariat zwischen der akuten GVHD und EBV-Reaktivierung. Multivariat zeigt sich im Trend auch ein Zusammenhang zwischen aGVHD und CMV-Reaktivierung. Die chronische Form der GVHD hingegen war ausschließlich in allen durchgeführten Analysen mit AdV-Reaktivierungen assoziiert. Gleichzeitige CMV- und AdV-Reaktivierungen stellten ein erhöhtes Risiko für eine interstitielle Pneumonie dar. Für das Auftreten einer Zystitis nach HSCT konnte ein univariater Zusammenhang mit dem gleichzeitigen Nachweis einer CMV, EBV- und AdV-Reaktivierung und ein multivariater Zusammenhang mit EBV- und AdV-Reaktivierung gezeigt werden. Außerdem konnte der in der Literatur gut beschriebene Zusammenhang zwischen EBV-Reaktivierung und Posttransplantations-Lymphoproliferative Erkrankung (PTLPD) bestätigt

werden. Hinsichtlich des Einflusses verschiedener Transplantationsparameter zeigte sich, dass Assoziationen zwischen Serostaten, Geschlecht, Spenderwahl und ATG-Gaben und den Virusreaktivierungen bestanden.

Zu beachten ist, dass in dieser Arbeit lediglich qualitative Daten von Virusreaktivierungen erhoben und keine Daten zu quantitativen Viruslasten in die Analysen eingeschlossen wurden. Zudem ist bei der Interpretation aller Ergebnisse weiterhin zu beachten, dass es sich um Daten einer begrenzten Stichprobe eines Zentrums handelte. Ob die gefundenen Ergebnisse auf alle betroffenen Patienten dieser Altersgruppe übertragbar sind, muss in folgenden Studien unter Einschluss einer größeren Anzahl von Patienten, wenn möglich aus unterschiedlichen Zentren, im prospektiven Design bestätigt werden.

8 Literaturverzeichnis

- (1) Talano JA, Margolis DA. Recent molecular and cellular advances in pediatric bone marrow transplantation. *Pediatr Clin North Am* 2006; 53:685-698.
- (2) Ebell W. Hämatopoetische Stammzelltransplantation. In: Helmut Gadner, Gerhard Gaedicke, Charlotte Niemeyer, Jörg Ritter (Hrsg.), editors. *Pädiatrische Hämatologie und Onkologie*. Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2006: 66-85.
- (3) Wang FZ, Dahl H, Linde A, Brytting M, Ehrnst A, Ljungman P. Lymphotropic herpesviruses in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1996; 88:3615-3620.
- (4) van Tol MJD, Kroes ACM, Schinkel J, Dinkelaar W, Claas ECJ, Jol-van der Zijde CM et al. Adenovirus infection in paediatric stem cell transplant recipients: increased risk in young children with a delayed immune recovery. *Bone Marrow Transplantation* 2005; 36:39-50.
- (5) Broers AEC, van der Holt B, van Esser JWJ, Gratama JW, Henzen-Logmans S, Kuenen-Boumeester V et al. Increased transplant-related morbidity and mortality in CMV-seropositive patients despite highly effective prevention of CMV disease after allogeneic T-cell-depleted stem cell transplantation. *Blood* 2000; 95:2240-2245.
- (6) Hale GA, Heslop HE, Krance RA, Brenner MA, Jayawardene D, Srivastava DK et al. Adenovirus infection after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23:277-282.
- (7) Lion T, Baumgartinger R, Watzinger F, Matthes-Martin S, Suda M, Preuner SA et al. Molecular monitoring of adenovirus in peripheral blood after allogeneic bone marrow transplantation permits early diagnosis of disseminated disease. *Blood* 2003; 102:1114-1120.
- (8) Runde V, Ross S, Trenchel R, Lagemann E, Basu O, Renzing-Köhler K et al. Adenoviral infection after allogeneic stem cell Transplantation (SCT): report on 130 patients from a single SCT unit involved in a prospective multi center surveillance study. *Bone Marrow Transplant* 2001; 28:51-57.

- (9) Yusuf U, Hale GA, Carr J, Gu Z, Benaim E, Woodard P et al. Cidofovir for the treatment of adenoviral infection in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients. *Transplantation* 2006; 81:1398-1404.
- (10) Maeda Y, Teshima T, Yamada M, Harada M. Reactivation of human herpesviruses after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation and bone marrow transplantation. *Leuk Lymphoma* 2000; 39:229-239.
- (11) Battiwalla M, Wu Y, Bajwa RPS, Radovic M, Almyroudis NG, Segal BH et al. Ganciclovir inhibits lymphocyte proliferation by impairing DNA synthesis. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13:765-770.
- (12) Matthes-Martin S, Pötschger U, Bergmann K, Frommlet F, Brannath W, Bauer P et al. Risk-adjusted outcome measurement in pediatric allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood and Marrow Transplant* 2008; 14:335-343.
- (13) Handgretinger R, Kurtzberg J, Egeler RM. Indications and donor selections for allogeneic stem cell transplantation in children with hematologic malignancies. *Pediatr Clin North Am* 2008; 55:71-96.
- (14) Appelbaum FR, für die deutsche Ausgabe Mapara MY, Dörken B. Knochenmark- und Stammzelltransplantation. In: Dietel M, Dudenhausen J, Suttorp N, eds. *Harrisons Innere Medizin Teil 1 Deutsche Ausgabe in Zusammenarbeit mit der Charité*. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag GmbH, 2003: 817-822.
- (15) Ottinger HD, Müller CR, Goldmann SF, Albert E, Arnold R, Beelen DW et al. Second German consensus on immunogenetic donor search for allotransplantation of hematopoietic stem cells. *Ann Hematol* 2001; 80:706-714.
- (16) Anderson D, DeFor T, Burns L, McGlave P, Miller J, Wagner J et al. A comparison of related donor peripheral blood and bone marrow transplants: importance of late-onset chronic graft-versus-host disease and infections. *Biol Blood and Marrow Transplant* 2003; 9:52-59.
- (17) Ottinger HD, Beelen DW, Scheulen B, Schaefer UW, Grosse-Wilde H. Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow. *Blood* 1996; 88:2775-2779.

- (18) Zecca M, Prete A, Rondelli R, Lanino E, Balduzzi A, Messina C et al. Chronic graft-versus-host disease in children: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Blood* 2002; 100:1192-1200.
- (19) Koreth J, Antin JH. Current and future approaches for control of graft-versus-host disease. *Expert Rev Hematol* 2008; 23:111.
- (20) Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18:295-304.
- (21) Gassas A, Sung L, Saunders EF, Doyle J. Graft-versus-leukemia effect in hematopoietic stem cell transplantation for pediatric acute lymphoblastic leukemia: significantly lower relapse rate in unrelated transplantations. *Bone Marrow Transplant* 2007; 40:951-955.
- (22) Martino R, Romero P, Subira M, Bellido M, Altes A, Sureda A et al. Comparison of the classic Glucksberg criteria and the IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease following HLA-identical sibling stem cell transplantation. *International Bone Marrow Transplant Registry. Bone Marrow Transplant* 1999; 24:283-287.
- (23) Arora M, Burns LJ, Davies SM, MacMillan ML, Defor TE, Miller WJ et al. Chronic graft-versus-host disease: a prospective cohort study. *Biol Blood and Marrow Transplant* 2003; 9:38-45.
- (24) Hebart H, Einsele H. Specific infectious complications after stem cell transplantation. *Support Care Cancer* 2004; 12:80-85.
- (25) Einsele H, Bertz H, Beyer J, Kiehl MG, Runde V, Kolb HJ 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):175-185.
- (26) Bienz KA. Viren als Krankheitserreger. DNA-Viren Herpesviren. In: Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM, eds. *Medizinische Mikrobiologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag Stuttgart New York, 1998: 425-432.

- (27) Hirsch MS, für die deutsche Ausgabe Khatamzas E SN. 185 Zytomegalievirus und humanes Herpesvirus Typ 6, 7 und 8. In: Dietel M, DJ, Suttorp N, editors. *Harrisons Innere Medizin 1. Deutsche Ausgabe in Zusammenarbeit mit der Charite*. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag GmbH, 2003: 1223-1226.
- (28) de la Hoz RE, Stephens G, Sherlock C. Diagnosis and treatment approaches of CMV infections in adult patients. *J Clin Virol* 2002; 25:S1-S12.
- (29) Boeckh M, Ljungman P. How I treat cytomegalovirus in hematopoietic cell transplant recipients. *Blood* 2009;(113):5711-5719.
- (30) Cohen JI, für die deutsche Ausgabe Khatamzas E SN. 184 Epstein-Barr-Virusinfektion; Infektiöse Mononukleose. In: Dietel M, Dudenhausen J, Suttorp N, editors. *Harrisons Innere Medizin 1. Deutsche Ausgabe in Zusammenarbeit mit der Charite*. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag GmbH, 2003: 1220-1222.
- (31) Hale GA, Waldmann H. Risks of developing Epstein-Barr virus-related lymphoproliferative disorders after T-cell-depleted marrow transplants. *CAMPATH Users*. *Blood* 1998; 91:3079-3083.
- (32) van Esser JWJ, Niesters HGM, van der Holt B, Meijer E, Osterhaus ADE, Gratama JW et al. Prevention of Epstein-Barr virus-lymphoproliferative disease by molecular monitoring and preemptive rituximab in high-risk patients after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2002; 99:4364-4369.
- (33) Echavarria M. Adenoviruses in immunocompromised hosts. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21:704-715.
- (34) Walls T, Shankar AG, Shingadia D. Adenovirus: an increasingly important pathogen in paediatric bone marrow transplant patients. *Lancet, Infect Dis* 2003; 3:79-86.
- (35) Dolin R, für die deutsche Ausgabe Hanf G SN. 189 Häufige Virusinfektionen der Atemwege; Adenovirusinfektionen. In: Dietel M, DJ, Suttorp N, eds. *Harrisons Innere Medizin 1. Deutsche Ausgabe in Zusammenarbeit mit der Charite*. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag GmbH, 2003: 1236-1237.

- (36) Munoz F, Piedra P, Demmler G. Disseminated adenovirus disease in immunocompromised and immunocompetent children. *Clin Infect Dis* 1998; 27:1194-2000.
- (37) Bienz KA. Viren als Krankheitserreger. DNA-Viren Adenoviren. In: Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM, eds. *Medizinische Mikrobiologie*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag Stuttgart New York, 1998: 423-425.
- (38) Akiyama H, Kurosu T, Sakashita C, Inoue T, Mori SI, Ohashi K. Adenovirus is a key pathogen in hemorrhagic cystitis associated with bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1325-1330.
- (39) Echavarría M, Forman M, van Tol M, Vossen J, Charache P, Kroes A. Prediction of severe disseminated adenovirus infection by serum PCR. *Lancet* 2001; 358:384-385.
- (40) Chakrabarti S, Collingham KE, Fegan CD, Pillay D, Milligan DW. Adenovirus infections following haematopoietic cell transplantation: is there a role for adoptive immunotherapy? *Bone Marrow Transplant* 2000; 26:305-307.
- (41) Hromas R, Cornetta K, Srour E, Blanke C, Broun R. Donor leukocyte infusion as therapy of life-threatening adenovirus infections after T-cell depleted bone marrow transplant. *Blood* 1994; 84:1689-1690.
- (42) Leen AM, Bollard CM, Myers GD, Rooney CM. Adenoviral infections in hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplant* 2006; 12:243-251.
- (43) Weiß C. *Induktive Statistik, Das Schätzen von Überlebenszeiten. Basiswissen Medizinische Statistik*. Berlin Heidelberg: Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, 1999: 187-190.
- (44) Ziegler A, Lange S, Bender R. Überlebenszeitanalyse: Eigenschaften der Kaplan-Meier-Methode. *Dtsch Med Wochenschr* 2002; 127:T14-T16.
- (45) Weiß C. *Basiswissen Medizinische Statistik*. 3 ed. Heidelberg: Springer Medizin Verlag, 2005.
- (46) Wernecke KD. *Medizinische Biometrie Planung und Auswertung medizinischer Studien Scriptum zur Vorlesung "Biomathematik/ Biometrie" für Humanmediziner*. Berlin:

Institut für Medizinische Biometrie Universitätsklinikum Charité der Humboldt-Universität zu Berlin, 2003.

- (47) Feuchtinger T, Lang P, Handgretinger R. Adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma* 2007; 48 (2):244-255.
- (48) Paris C, Kopp K, King A, Santolaya ME, Zepeda AJ, Palma J. Cytomegalovirus infection in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation in Chile. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53:453-458.
- (49) Annels NE, Kalpoe JS, Bredius RGM, Claas EC, Kroers ACM, Hislop AD et al. Management of Epstein-Barr Virus (EBV) reactivation after allogeneic stem cell transplantation by simultaneous analysis of EBV DNA load and EBV-specific T cell reconstitution. *Clin Infect Dis* 2006; 42:1743-1748.
- (50) Feuchtinger T, Richard C, Pfeiffer M, Neuhäuser F, Lücke J, Handgretinger R et al. Adenoviral infections after transplantation of positive selected stem cells from haploidentical donors in children: an update. *Klin Pädiatr* 2005; 217:339-344.
- (51) Olkinuora HA, Taskinen MH, Saarinen-Pihkala UM, Vettenranta KK. Multiple viral infections post-hematopoietic stem cell transplantation are linked to the appearance of chronic GVHD among pediatric recipients of allogeneic grafts. *Pediatr Transplant* 2010; 14(2): 242-248.
- (52) Bollard CM, Kuehnle I, Leen AM, Rooney CM, Heslop HE. Adoptive immunotherapy for posttransplantation viral infections. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; 10:143-155.
- (53) Brunstein CG, Weisdorf DJ, DeFor T, Barker JN, Tolar J, van Burik JHA et al. Marked increased risk of Epstein-Barr virus-related complications with the addition of antithymocyte globulin to a nonmyeloablative conditioning prior to unrelated umbilical cord blood transplantation. *Blood* 2006; 108:2874-2880.
- (54) Faraci M, Caviglia I, Morreale G, Lanino E, Cuzzubbo D, Giardino S et al. Viral-load and B-lymphocyte monitoring of EBV reactivation after allogeneic hemopoietic SCT in children. *Bone Marrow Transplant* 2009; 26.

- (55) Howard D, Phillips G, Reece D et al. Adenovirus infections in haematopoietic stem cell recipients. *Clin Infect Dis* 1999; 29:1494-1501.
- (56) Ison MG, Hayden FG. Viral infections in immunocompromised patients: what's new with respiratory viruses? *Cur Opin Infect Dis* 2002; 15:355-367.
- (57) Suparno C, Milligan DW, Moss PA, Mautner V. Adenovirus infections in stem cell transplant recipients: recent developments in understanding of pathogenesis, diagnosis and management. *Leuk Lymphoma* 2004; 45:873-885.
- (58) Ljungman P, Reusser P, de la Camara R, Einsele H, Engelhard D, Ribaud P et al. Management of CMV infections: recommendations from the infectious diseases working party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33:1075-1081.
- (59) Nichols WG. Management of infectious complications in the hematopoietic stem cell transplant recipient. *J Intensive Care Med* 2003; 18 (6):295-312.
- (60) Hazar V, Ugur A, Colak D, Tezcan G, Kupesiz A, Karadogan I et al. Cytomegalovirus antigenemia and outcomes of patients undergoing allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: effects of long-term high-dose acyclovir prophylaxis and preemptive ganciclovir treatment. *Jpn J Infect Dis* 2006; 59:216-221.
- (61) Claviez A, Tiemann M, Wagner HJ, Dreger P, Suttorp M. Epstein-Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disease after bone marrow transplantation mimicking graft-versus-host-disease. *Pediatr Transplant* 2000; 4:151-155.
- (62) Haastrup E, Müller K, Baekgaard H, Heilmann C. Cytomegalovirus infection after stem cell transplant in children. *Pediatr Transplant* 2005; 9(6):734-740.
- (63) Zaucha-Prazmo A, Wójcik B, Drabko K, Choma M, Kowalczyk JR. Cytomegalovirus (CMV) infections in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Hematol Oncol* 2005; 22(4):271-276.
- (64) Clave E, Agbalika F, Bajzik V, Peffault de Latour R, Trillard M, Rabian C et al. Epstein-Barr Virus (EBV) reactivation in allogeneic stem-cell transplantation: relationship between viral load, EBV-specific T-Cell reconstitution and rituximab therapy. *Transplantation* 2004; 77:76-84.

- (65) Seidel MG, Fritsch G, Matthes-Martin s, Lawitschka A, Lion T, Pötschger U et al. Antithymocyte globulin pharmacokinetics in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005; 27(10):532-536.
- (66) Bakker NA, van Imhoff GW. Post-transplant lymphoproliferative disorders: from treatment to early detection and prevention? *Haematologica* 2007; 92(11):1447-1450.
- (67) Meijer E, Cornelissen JJ. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: molecular monitoring and early treatment of high-risk patients. *Curr Opin Hematol* 2008; 15(6):578-585.
- (68) Heemskerk B, Lankester AC, van Vreeswijk T et al. Immunoreconstitution and clearance of human adenovirus viremia in pediatric stem-cell recipients. *J Infect Dis* 2005; 191(520):530.
- (69) Hanley PJ, Cruz CR, Savoldo B, Leen AM, Stanojevic M, Khalil M et al. Functionally active virus-specific T cells that target CMV, adenovirus, and EBV can be expanded from naive T-cell populations in cord blood and will target a range of viral epitopes. *Blood* 2009; 114:1958-1967.
- (70) Nichols WG, Campbell AJP, Boeckh M. Respiratory viruses other than influenza virus: impact and therapeutic advances. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21:274-290.
- (71) Myers GD, Bollard CM, Wu M-F, et al. Reconstitution of adenovirus-specific cell-mediated immunity in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39:677-686.
- (72) Feuchtinger T, Richard C, Joachim S, et al. Clinical grade generation of hexon-specific T cells for adoptive T-cells for adoptive T-cell transfer as treatment of adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *J Immunol* 2008; 31:199-206.
- (73) Regn S, Raffegerst S, Chen X, Schendel D, Kolb H-J, Roskrow M. Ex vivo generation of cytotoxic T lymphocytes specific for one or two distinct viruses for the prophylaxis of patients receiving an allogeneic bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27:53-64.

- (74) Jacobsohn DA, Vogelsang GB. Acute graft versus host disease. *Orphanet J Rare Dis* 2007; 4.
- (75) Robin M, Marque-Juillet S, Scieux C, Peffault de Latour R, Ferry C, Rocha V et al. Disseminated adenovirus infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors and outcome. *Haematologica* 2007; 92(9):1254-1257.
- (76) Miller W, Flynn P, McCullough J, Balfour HH Jr, Goldman A, Haake R et al. Cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation: an association with acute graft-v-host disease. *Blood* 1986; 67:1162-1167.
- (77) Boeckh M, Nichols WG. Immunosuppressive effects of beta-herpesviruses. *Herpes* 2003; 10.
- (78) Filipovich AH. Diagnosis and manifestation of chronic graft-versus-host disease. *Best Pract Res Clin Haematol* 2008; 21(2):251-257.
- (79) Lee JW, Deeg HJ. Prevention of chronic GVHD. *Best Pract Res Clin Haematol* 2008; 21:259-270.
- (80) Chakrabarti S, Mautner V, Osman H, Collingham KE, Fegan CD, Klapper PE et al. Adenovirus infections following allogeneic stem cell transplantation: incidence and outcome in relation to graft manipulation immunosuppression, and immune recovery. *Blood* 2002; 100, Number 5:1619-1627.
- (81) Hale GA, Waldmann H. Risks of developing Epstein-Barr Virus-related lymphoproliferative disorders after T-cell-depleted marrow transplants. *Blood* 1998; 91:3079-3083.
- (82) van Esser JWJ, van der Holt B, Meijer E, Niesters HGM, Trenchel R, Thijsen SFT 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, Number 4:972-978.
- (83) Fischer SA. Emerging viruses in transplantation: there is more to infection after transplant than CMV and EBV. *Transplantation* 2008; 86(10):1327-1339.

- (84) Hale GA, Rochester RJ, Heslop HE, Krance RA, Gingrich JR, Benaim E et al. Hemorrhagic cystitis after allogeneic bone marrow transplantation in children: clinical characteristics and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003; 9:698-705.
- (85) Xu Lan-ping, Zhang Hong-yu, Huang Xiao-jun, Liu Kai-yan, Liu Dai-hong, Han Wei et al. Hemorrhagic cystitis following hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors and association with CMV reactivation and graft-versus-host disease. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120(19):1666-1671.
- (86) Nichols WG, Corey L, Gooley T, Davis C, Boeckh M. High risk of death due to bacterial and fungal infection among cytomegalovirus (CMV)-seronegative recipients of stem cell transplants from seropositive donors: evidence for indirect effects of primary CMV infection. *J Infect Dis* 2002; 185(3):273-282.
- (87) Mikulska M, Raiola AM, Bruno B, Furfaro E, Van Lint MT, Bregante S et al. Risk factors for invasive aspergillosis and related mortality in recipients of allogeneic SCT from alternative donors: an analysis of 06 patients. *Blood* 2009;1-10.
- (88) Ljungman P. Prevention and treatment of viral infections in stem cell transplant recipients. *Br J Haematol* 2002; 118:44-57.
- (89) Singh N, Carrigan DR. Human herpesvirus-6 in transplantation: an emerging pathogen. *Ann Intern Med* 1996; 124:1065-1071.

9 Danksagung

Herrn Prof. Dr. G. Gaedicke, Direktor der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, möchte ich für die Möglichkeit der Anfertigung meiner Dissertation an der von ihm geleiteten Klinik danken.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. W. Ebell, Leiter der Pädiatrischen Knochenmarktransplantation am Otto-Heubner-Centrum der Charité für die Überlassung des Themas, seine Unterstützung bei der klinischen Bewertung und für seine Hilfe.

Für die Überlassung der Virusdaten und die kritische Beratung danke ich Frau Dr. H. Meisel und Herrn Dr. J. Hofmann aus dem Labor für Virusdiagnostik des Instituts für Virologie der Charité und Herrn Dr. H. Ellerbrock, Frau Dr. B. Chmielewicz und Herrn Dr. S. Voigt vom Robert-Koch-Institut in Berlin.

Darüber hinaus möchte ich meinem Vater danken, Prof. Dr. O. Herbarth, Umweltmedizin und Hygiene, Medizinische Fakultät, Universität Leipzig für die Beratung zur Statistik. Nicht zuletzt und ganz besonders möchte ich mich auch bei meinem Mann und meinen Eltern bedanken für ihre große Unterstützung, ohne die vieles unmöglich gewesen wäre.

10 Tabellarischer Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

11 Erklärung

Ich, Adine Marquis, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Bedeutung multipler Virusreaktivierungen nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation bei Kindern und Jugendlichen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Die vorgelegte Dissertation ist ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und es sind auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt.

Ort, Datum

(Adine Marquis)