

Aus der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Tumorimmunologie der
Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

Dissertation

**Virale ZNS-Infektionen nach allogener Transplantation
hämatopoetischer Stammzellen**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Julie Schwender

aus Berlin

Datum der Promotion: 22.06.2014

Inhaltsverzeichnis

Abstrakt	1
1 Einleitung	4
1.1 Grundlagen und Geschichte der Stammzelltransplantation	4
1.1.1 Majorhistokompatibilitätskomplex	5
1.2 Allogene Stammzelltransplantation	5
1.2.1 Indikationen	6
1.2.2 Auswahl der Stammzellquelle – periphere Blutstammzellen, Knochenmark und Nabelschnurblut	8
1.3 Komplikationen	9
1.3.1 Immunrekonstitution	9
1.3.2 Infektionen: Rekonstitution und typische Erreger	10
1.3.3 Toxizität der Konditionierung	12
1.3.4 Toxizität der Konditionierung mit reduzierter Intensität	13
1.3.5 Graft versus Host Disease	13
1.3.5.1 Akute GVHD	13
1.3.5.2 Chronische GVHD	14
1.3.5.3 Risikofaktoren für GVHD	15
1.3.5.4 Prophylaxe und Therapie der GVHD	15
1.3.5.5 Prognose	15
1.3.6 Neurologische Komplikationen nach allogener Stammzelltransplantation	15
1.3.6.1 Infektionen des zentralen Nervensystems	16
1.3.6.2 Häufigste Erreger von ZNS-Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation	16
1.3.6.3 Diagnose einer viralen Infektion des ZNS	17
1.4 Ziele dieser Arbeit	18
2 Material und Methoden	19
2.1 Studiendesign und -durchführung	19
2.2 Datenerhebung und Patientencharakteristika	19
2.3 Begriffsdefinitionen	24
2.4 Statistische Tests	24

3 Ergebnisse	26
3.1 Patientencharakteristika	26
3.2 Erregerspektrum und Serostatus	29
3.3 Zeitpunkt der Manifestation der viralen Enzephalitis	30
3.4 Klinische Symptomatik	31
3.5 Diagnostik	37
3.5.1 Cerebrale Bildgebung	37
3.5.2 EEG	39
3.5.3 Biopsien	39
3.5.4 Liquordiagnostik	39
3.6 Therapie der viralen Enzephalitis	40
3.7 Verlauf	41
4 Diskussion	42
5 Zusammenfassung	49
Abkürzungsverzeichnis	50
Abbildungsverzeichnis	53
Literaturverzeichnis	53
Erklärung	61
Lebenslauf	62
Publikationsliste	63
Danksagung	64

Abstrakt

Hintergrund: Die Entwicklung von Infektionen nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen beeinflusst das Überleben und die Lebensqualität der betroffenen Patienten. Insbesondere über Viren, die das ZNS angreifen, ist in diesem Zusammenhang wenig bekannt und die Diagnostik, Therapie und Erkennung von Risikofaktoren stellt noch immer eine Herausforderung dar.

Design und Methoden: Diese Arbeit beinhaltet Ergebnisse einer multizentrisch, retrospektiv angelegten Studie, in der Daten aus dem Zeitraum von 1999 bis 2009 von zehn deutschen Transplantationszentren ausgewertet wurden. Aus einer Kohorte von 2628 Patienten, die einer allogenen Stammzelltransplantation unterzogen wurden, sind 32 Patienten mit viraler Infektion des zentralen Nervensystems ermittelt worden. Dies ist nach publizierten Daten die größte Studie, die die virale Enzephalitis bei Patienten nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen auf verschiedene Charakteristika und Risikofaktoren untersucht.

Ergebnisse: 32 Patienten entwickelten eine virale Enzephalitis nach allogener Stammzelltransplantation (1.2 %, 95 % Konfidenzintervall 0.8 %-1.6 %). Die Entwicklung einer viralen Enzephalitis war signifikant mit der Applikation von CD-3 bzw. CD-52 Antikörpern assoziiert ($p < 0.001$) und wies eine erhöhte Sterblichkeit ($p = 0.011$) auf. Am häufigsten konnten cerebrale Infektionen mit HHV-6 (28 %) nachgewiesen werden, gefolgt von Infektionen durch andere Viren der Herpesfamilie EBV (19 %), HSV (13 %), CMV (6 %) und VZV (6 %). Zudem traten Enzephalitiden durch JC-Viren (9%) und Adenoviren (3 %) auf. Infektionen, die durch mehr als eine Virusart verursacht wurden, konnten in 16 % der Fälle dokumentiert werden. Die mittlere Dauer bis zum Ausbruch der Infektion betrug 106 Tage nach allogener Stammzelltransplantation. Die kürzeste Dauer konnte für Infektionen durch HHV-6, die längste Dauer bis zum Ausbruch der Erkrankung für die progressive multifokale Leukenzephalopathie verursacht durch JC-Virus dokumentiert werden. In 63 % der Fälle konnte ein dauerhafter Erfolg der Therapie (95 % Konfidenzintervall 44 %-82 %) festgestellt werden. Die mittlere Überlebensdauer betrug 94 Tage (95 % Konfidenz Intervall 36 - 152), allerdings ergaben sich große Unterschiede für die Fälle, die durch mehr als einen Erreger ausgelöst wurden. Kein Patient mit einer HSV assoziierten Enzephalitis verstarb.

Fazit: Unterschiede fanden sich für die Dauer bis zum Ausbruch der Infektion nach allogener Stammzelltransplantation, den Therapieerfolg und das Überleben der Patienten. Ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer viralen Enzephalitis wiesen Patienten auf, bei denen die Antikörper Muromonab (CD-3) bzw. Alemtuzumab (CD-52) zum Einsatz kamen. Zudem konnte diese Studie zeigen, dass die Entwicklung einer viralen Enzephalitis nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen zu einer erhöhten Sterblichkeit im Gegensatz zu Patienten ohne virale Enzephalitis führt.

Abstract

Background: The development of infections after allogeneic stem cell transplantation affects outcome and quality of life of the respective patients. In this context there is not much known about viral infections of the CNS and diagnosis, therapy and identification of risk factors is still challenging.

Design and Methods: This work includes the result of a multicenter, retrospective study in which data of 10 German institutes for stem cell transplantation from 1999 up to 2009 were analyzed. Of 2628 patients who underwent allogeneic stem cell transplantation 32 patients with viral encephalitis were identified. Referring to published data this is the largest investigation on viral encephalitis after allogeneic stem cell transplantation regarding different characteristics and risk factors.

Results: Viral encephalitis occurred in 32 patients (1.2 %, 95 % confidence interval 0.8 %-1.6 %) and was associated with the use of Muromonab or Alemtuzumab for T-cell depletion ($p < 0.001$) and an increased mortality ($p = 0.011$) in comparison to patients without viral encephalitis. Detected viruses included human herpesvirus-6 (28 %), Epstein-Barr virus (19 %), herpes simplex virus (13 %), JC virus (9%), varicella zoster virus (6 %), cytomegalovirus (6 %) and adenovirus (3 %). More than one virus was identified in 16 % of the patients. The median onset time was 106 days after allogeneic stem cell transplantation for the total group of 32 patients. Shortest onset times were seen in cases with human herpesvirus-6 encephalitis and longest in those with JC virus-associated progressive multifocal leukoencephalopathy. The probability of a sustained response to treatment was 63 % (95 % confidence interval 44 % - 82 %) with a median survival of 94 (95 % confidence interval 36-152) days after onset, but significant variation was found when considering different causative viruses. Patients with herpes simplex virus encephalitis had the most favorable outcome with no encephalitis-related deaths.

Conclusion: There were differences for the time of onset of infection after stem cell transplantation, success of therapy and survival. In patients receiving Muromonab (CD-3) or Alemtuzumab (CD-52) to prevent GVHD there was a significant increased risk for developing viral encephalitis. Furthermore this investigation demonstrates a higher mortality for patients with viral encephalitis compared to those without.

1 Einleitung

1.1 Grundlagen und Geschichte der Stammzelltransplantation

Stammzellen sind Zellen, die sich in verschiedene Körpergewebe differenzieren können und zeichnen sich durch ihre Fähigkeit zur Selbsterneuerung aus [1]. Die Stammzellen des blutbildenden Systems (hämatopoetische Stammzellen) zählen zu den am besten erforschten Stammzellen [2]. Nach ihren Eigenschaften in der Flowzytometrie werden sie auch als $CD34^+$ bezeichnet. Im gesunden Organismus werden im Knochenmark täglich $1,75 \times 10^{11}$ Erythrozyten und 7×10^{10} Leukozyten produziert [3].

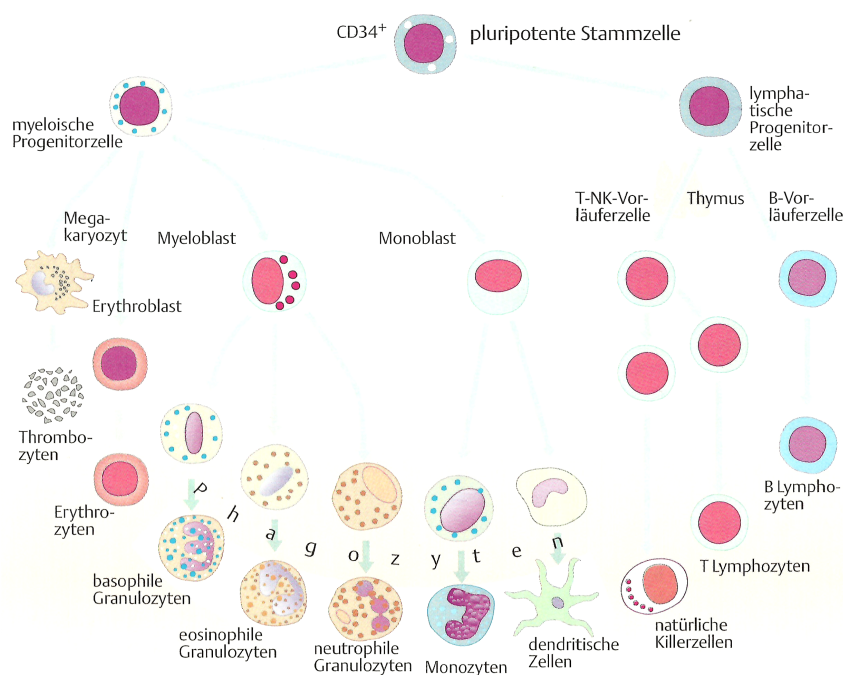


Abb. 1.1: Ursprung der Zellen des Immunsystems

aus: Pezzutto A, Ulrichs T, Burmester G R. Taschenatlas der Immunologie: Grundlagen, Labor, Klinik. Thieme, 2. Edition, Seite 3, November 2006

In Tierexperimenten während der 1950er Jahre zeigte sich, dass durch die Transfusion von Knochenmark eine Panzytopenie verhindert werden kann [4]. Daraus entstand die Idee, das blutbildende System von Patienten mit hämatologischen Erkrankungen

durch hämatopoetische Stammzellen eines gesunden Spenders zu ersetzen. Diese Stammzellen konnten 1963 das erste Mal durch Till und McCulloch im Tierexperiment nachgewiesen werden: Eine kleine Anzahl von Knochenmarkszellen einer Maus führte in der Milz einer zweiten Maus, deren Knochenmark zuvor bestrahlt wurde, zur Koloniebildung von myeloischen Zellen [5].

Die erste allogene Stammzelltransplantation erfolgte 1957 durch Thomas [6]. 1959 konnte er mit seiner Arbeitsgruppe bei einem Patienten mit akuter Leukämie durch Ganzkörperbestrahlung (TBI) und Transplantation von Stammzellen des Zwillingbruders eine Remission herbeiführen [7]. 1990 erhielt er dafür den Nobelpreis für Medizin.

1.1.1 Majorhistokompatibilitätskomplex

Eine wichtige Entdeckung, die den Erfolg von allogenen Transplantationen begründete, sind die nach ihrer Erstentdeckung auf menschlichen Leukozyten benannten humanen Leukozyten-Antigene (HLA). Transplantationsversuche von Thomas mit Hunden in den 1950er Jahren sowie später zwischen Mensch und Schimpanse [8] trugen zu Erkenntnissen bei: Es gelang der Nachweis von Oberflächenmolekülen auf jeder Körperzelle als individuelles Erkennungsmuster für körpereigene bzw. körperfremde Zellen. Diese allgemein als Major Histocompatibility Complex (MHC) bezeichneten Moleküle lieferten eine wichtige Erklärung für den Pathomechanismus von Abstoßungsreaktionen. Es gibt nach Genlokalisierung und Funktion zwei Klassen, sogenannte Klasse I (A,B,C) und II MHC (DP, DQ, DR) Merkmale. Idealerweise sollten Empfänger und Spender übereinstimmende Merkmale auf beiden Genloki mit beiden Allelen jedes Locus haben [9]. Die größte HLA Übereinstimmung gibt es unter Geschwistern. Durch die weltweit steigende Anzahl an Stammzellendatenbanken können jedoch immer mehr HLA-identische unverwandte Spender (matched unrelated donor, MUD) gefunden werden. Bei der Transplantation hämatopoetischer Stammzellen ist die graft-versus-host disease (GVHD), also die Reaktion der Spender- gegen die Empfängerzellen, von besonderer Bedeutung. Bei der Transplantation von soliden Organen spielt die host-versus- graft disease (HVGD), also die Reaktion der Empfänger- gegen die Spenderzellen, eine größere Rolle.

1.2 Allogene Stammzelltransplantation

Das Präfix „allo“ stammt aus dem Griechischen und bedeutet „anders“. Der Patient erhält im Gegensatz zur autologen Transplantation nicht seine eigenen Zellen sondern die eines verwandten oder unverwandten Spenders.

Die Vorbereitungsphase des Patienten, die sogenannte „Konditionierungsphase“, dient

der Bekämpfung der malignen Erkrankung, einer maximalen Immunsuppression (Myeloablation) des Empfängers, um das Risiko einer Abstoßung des Transplantats zu minimieren und dem "Platz schaffen" für das neue hämatopoetische System. Die Blutgruppe des Spenders wird zur neuen Blutgruppe des Empfängers [10]. Dennoch ist eine Blutgruppenkompatibilität zu bevorzugen, um eine Hämolyse zu verhindern.

Die verwendeten Verfahren von Myeloablation sind verschiedene Kombinationen von Chemotherapie und Ganzkörperbestrahlung (total body irradiation, TBI). Die verwendeten Substanzen sind Cyclophosphamid, Busulfan, Cytosine Arabinoside, Carmustin und Melphalan [11, 12, 13, 14]. Üblicherweise werden 120mg/kgKG Cyclophosphamid in Kombination mit 12 Gy TBI appliziert [11, 12]. Dies ist der "Goldstandard" eines myeloablativen Verfahrens, an dem alle anderen Schemata gemessen werden [11].

1.2.1 Indikationen

In den letzten Jahren zeigte sich eine stetig steigende Anzahl an allogenen Transplantationen (siehe Abbildung 1.2). In Deutschland wurden laut Deutschem Stammzellregister im Jahr 2011 insgesamt gut 3000 Transplantationen durchgeführt, wobei sich die Zahl in den letzten 10 Jahren etwa verdoppelt hat [15]. Insgesamt wurden seit dem Jahr 2000 ca. 20.000 allogene Transplantationen hämatopoetischer Stammzellen realisiert [15]. Hauptindikationen sind maligne hämatologische Erkrankungen wie die akute myeloische Leukämie und das myelodysplastische Syndrom mit jeweils ca. 15 %, Non-Hodgkin-Lymphome (ca. 10%) und das multiple Myelom (ca. 7 %). Für nicht maligne hämatologische Erkrankungen wie Hämoglobinopathien, die schwere aplastische Anämie, Immundefekte sowie Autoimmunerkrankungen zeigen sich die Fallzahlen niedrig stabil (zwischen 0,5-2,5%). Für die Therapie solider Tumore spielt die allogene Transplantation keine Rolle.

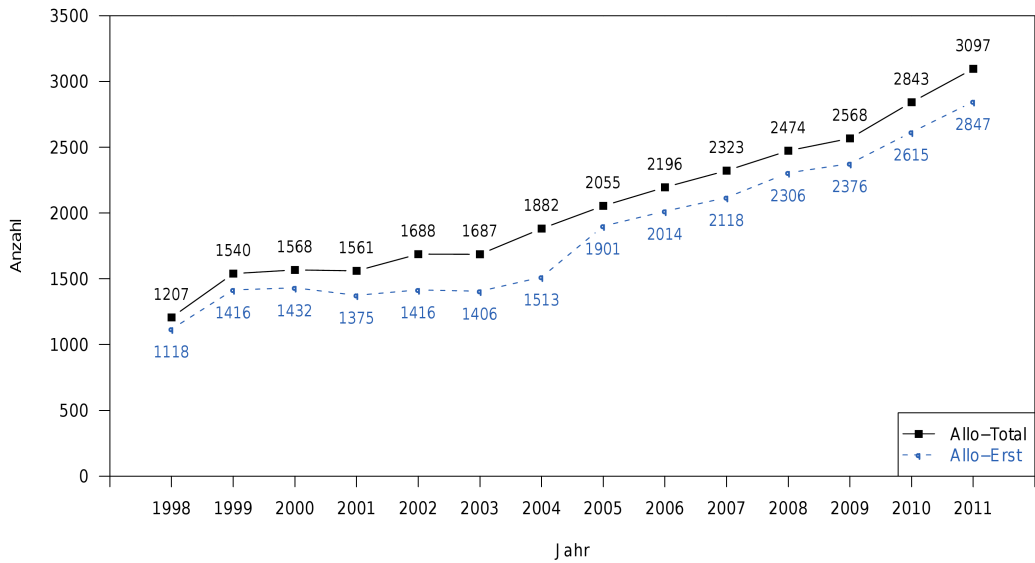


Abb. 1.2: Anzahl der allogenen Transplantationen in Deutschland von 1998 bis 2011

aus: Jahresbericht 2011, Vorsitzende Beelen D W, Mytilineos J, Deutsches Stammzellregister, Seite 21

Nach Einführung der Therapie mit Tyrosinkinaseinhibitoren zeigt sich eine deutliche Abnahme der allogenen Transplantationen als Strategie zur Behandlung der CML (siehe Abbildung 1.3). Dennoch bleibt die allogene Transplantation bis dato die einzige Therapie zur Heilung der CML [11].

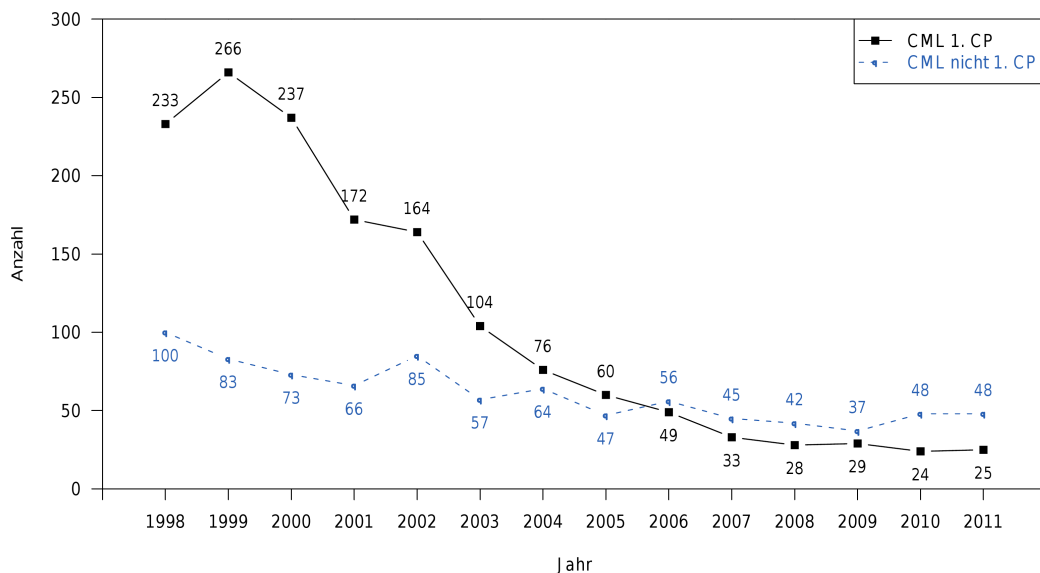


Abb. 1.3: Anzahl der allogenen Ersttransplantationen bei CML in Deutschland von 1998 bis 2011

aus: Jahresbericht 2011, Vorsitzende Beelen D W, Mytilineos J, Deutsches Stammzellregister, Seite 24

1.2.2 Auswahl der Stammzellquelle – periphere Blutstammzellen, Knochenmark und Nabelschnurblut

Übertragen werden hämatopoetische Zellen aus Knochenmark, peripherem Blut (periphere Blutstammzellen, PBSZ) oder Nabelschnurblut (umbilical cord blood, UCB). Statistisch zeigt sich eine kontinuierliche Zunahme der Transplantation von peripheren Blutstammzellen im Gegensatz zum Rückgang der Transplantation von Knochenmark (siehe Abbildung 1.4). Die Transplantation von peripheren Blutstammzellen führt im Vergleich zu Knochenmark zu einem schnelleren Anwachsen des Transplantats. Die PBSZ weisen ein höheres Risiko für akute und chronische GVHD und ein niedrigeres Risiko für Rezidive auf [16]. Das schnellere Anwachsen des Transplantats wird durch den von Anfang an höheren Gehalt an reifen Zellen der myeloischen und lymphatischen Reihe im peripheren Blut erklärt. Die niedrigere Rezidivrate hängt mit der höheren Anzahl an T-Lymphozyten zusammen, welche eine Transplantat gegen Leukämie Reaktion (graft-versus-leukemia, GVL) hervorrufen [17]. Das bedeutet, dass sich die T-Lymphozyten des Spenders gegen die Tumorzellen des Empfängers richten. In Studien mit Patienten im Rezidiv nach allogener Transplantation, die Transfusionen von Spenderlymphozyten erhielten, konnte ein Rückgang der Erkrankung festgestellt werden, in einigen Fällen wurde sogar eine Heilung beobachtet [9].

Die Daten des Deutschen Stammzellregisters zeigen, dass bei malignen Grunderkrankungen die Transplantation von peripheren Stammzellen aufgrund der GVL bevorzugt wird. Umgekehrt konnte für nicht-maligne Erkrankungen eine höhere Zahl an Knochenmarkstransplantationen nachgewiesen werden, um das Risiko einer GVHD zu vermeiden.

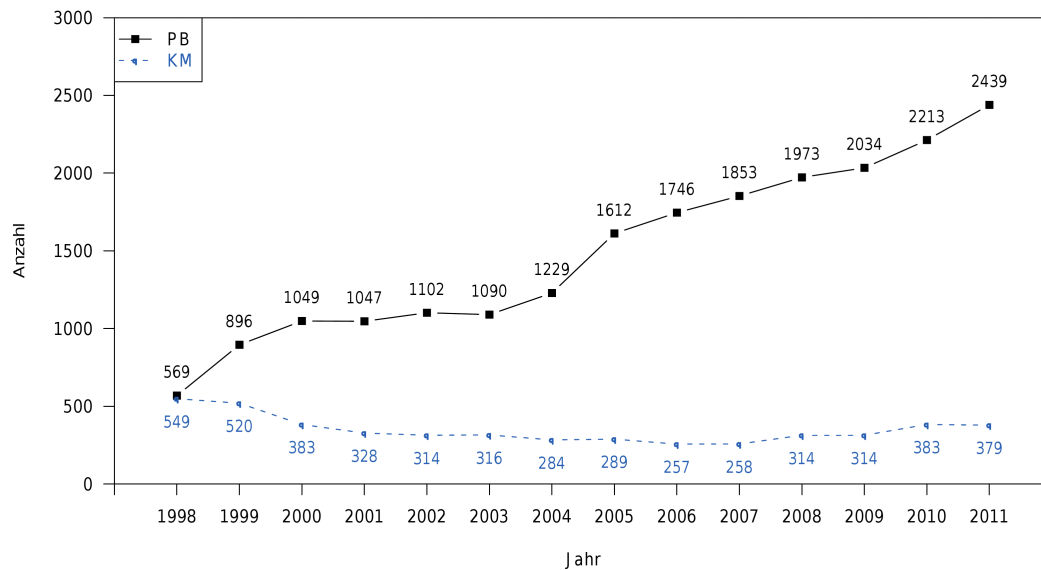


Abb. 1.4: Allogene Ersttransplantationen in Deutschland: Nutzung von Knochenmark (KM) und peripherem Blut (PB) als Stammzellquelle zwischen 1998 und 2011

aus: Jahresbericht 2011, Vorsitzende Beelen D W, Mytilineos J, Deutsches Stammzellregister, Seite 25

Die Stammzelltransplantation aus Nabelschnurblut nahm in den letzten zwei Jahren weltweit deutlich zu [15]. Der Nachteil des Nabelschnurbluts ist der vergleichsweise geringe Gehalt an CD 34+ Zellen und der somit längeren Zeitdauer bis zur kompletten Rekonstitution [18]. Aufgrund vieler Vorteile, wie beispielsweise geringerem Auftreten von GVHD und niedrigerer Transmission von Infektionen, bleibt Nabelschnurblut allerdings eine interessante Alternative [19].

1.3 Komplikationen

Nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen gibt es eine Vielzahl an Komplikationen, die das Überleben und die Lebensqualität der betroffenen Patienten beeinflussen. Bei der Diagnostik müssen insbesondere das gewählte Konditionierungsregime, die Rekonstitution des Immunsystems und die Entwicklung von Infektionen sowie das Auftreten einer GVHD bzw. eines Rezidivs berücksichtigt werden. Eine besondere Herausforderung in der Diagnostik stellen neurologische Auffälligkeiten nach Stammzelltransplantation dar, da die Symptomatik meist unspezifisch verläuft und eine Vielzahl an Differentialdiagnosen in Betracht gezogen werden müssen.

1.3.1 Immunrekonstitution

Die komplette Rekonstitution des Immunsystems nach Transplantation hämatopoetischer Stammzellen dauert Jahre und hängt von vielen verschiedenen Faktoren ab: Alter

und Geschlecht des Empfängers sowie Spenders, HLA-Kompatibilität, Grunderkrankung, Konditionierungsschema, Stammzellquelle, Auftreten von Infektionen und/oder GVHD etc. [20]. Die Rekonstitution verlängert sich bei älteren Patienten (über 65 Jahre), da auch das lymphatische Gewebe altert, dies gilt sowohl für die Empfänger- als auch die Spenderzellen [21, 22]. Die Phase der Aplasie verlängert sich ebenfalls bei Patienten, die Nabelschnurblut als Stammzellquelle erhalten. Am kürzesten ist sie bei der Transplantation von PBSZ aufgrund des vielfach höheren Gehalts an funktionsfähigen Lymphozyten.

Wichtig für die Rekonstitution ist die Funktion und Synthesefähigkeit der transplantierten myeloischen und lymphatischen Zellen. Mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) können bestimmte DNS-Sequenzen von Spendergenen bereits sehr früh nach Transplantation nachgewiesen werden. Mit diesen sogenannten Chimärismusanalysen kann das Anwachsen des Transplantats frühzeitig erkannt und überwacht werden.

Die Zellen des Immunsystems benötigen unterschiedlich lange zur Rekonstitution. Die Zellen des unspezifischen Immunsystems erholen sich schneller: Die Anzahl der Neutrophilen beträgt nach 2 Wochen durchschnittlich 0.5/nl. Natürliche Killerzellen erholen sich zahlenmäßig meist 3-6 Wochen nach Transplantation [23]. Die Zellen der spezifischen Abwehr, B- und T-Zellen steigen nach 2-3 Monaten an und zahlenmäßig normale Level werden nach einem Jahr gesehen, allerdings bleibt auch die Funktion noch mehrere Jahre eingeschränkt [24].

1.3.2 Infektionen: Rekonstitution und typische Erreger

Nach Daten des IBMTR (International Bone Marrow Transplant Registry) waren weltweit zwischen 2008 und 2009 12 % (bei Patienten mit MRD) bzw. 16 % (MUD) der Todesfälle nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen durch Infektionen bedingt [25]. Die Entwicklung von Infektionen und die Anfälligkeit für bestimmte Erreger hängt mit der unterschiedlich langen Dauer der Rekonstitution des spezifischen und unspezifischen Immunsystems zusammen (siehe Abbildung 1.5). Es werden drei Phasen unterschieden: Frühe Infektionen treten in der sogenannten Aplasiaphase auf, dies ist die Phase nach Konditionierung bis zum Anwachsen des Transplantats und dauert im Durchschnitt ca. 2-4 Wochen bei myeloablativen Regime [26]. Durch die absolute Neutropenie prädisponiert diese Phase für bakterielle Infektionen, Pilzinfektionen besonders durch *Candida* und *Aspergillus* Spezies sowie HSV-Reaktivierungen [20, 27]. Mukosiden und Infektionen über periphere oder zentrale Venenkatheter sind häufige Transmissionswege [14].

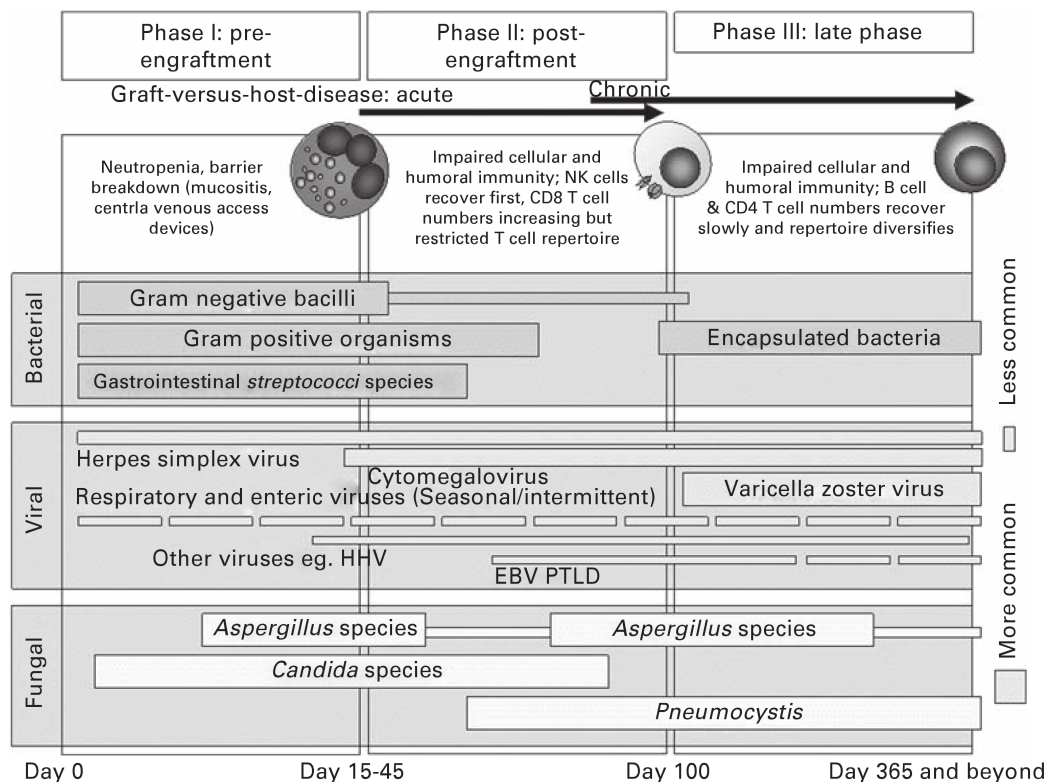


Abb. 1.5: Anfälligkeit für bestimmte Erreger in Abhängigkeit von der Immunrekonstitution in Tagen nach Transplantation (Tag 0 = Tag der Transplantation)

aus: Mackall C, Fry T, Gress R et al. Background to hematopoietic cell transplantation, including post transplant immune recovery. Bone Marrow Transplant, 44(8):461, 2009

Die zweite Phase der Rekonstitution ist geprägt durch den anhaltenden Mangel an spezifischen Abwehrzellen, in dieser Phase sind die Patienten daher für Infektionen durch virale Erreger, insbesondere Herpesviren und Reaktivierungen gefährdet. Ein unterschiedlicher Immunstatus zwischen Empfänger und Spender birgt ein hohes Risiko für Reaktivierungen: für einen seropositiven Empfänger, der das Transplantat eines seronegativen Spenders erhält, ist die Prognose schlechter, da er nach der Konditionierung keine Antikörper mehr besitzt. Für Reaktivierungen durch CMV konnte zwar eine höhere Inzidenz bei seropositiven Empfängern mit seropositiven Spendern gefunden werden, jedoch waren bei seropositiven Empfängern mit seronegativen Spendern die Schwere und Mortalität der Infektion ausgeprägter und die Dauer der antiviralen Therapie verlängert [28]. Hieraus entstand die Erkenntnis, dass CMV-spezifische T-Zellen des Spenders die Reaktivierung mildern bzw. verhindern können.

Die letzte Phase der Rekonstitution beginnt in etwa 4 Monate nach Transplantation und wird durch das Vorhandensein einer GVHD bestimmt. Nach Regime mit reduzierter

Intensität (RIC) ist die Dauer bis zur Rekonstitution durch die mildere Konditionierung meist verkürzt und somit das Risiko für frühe Infektionen verringert, jedoch steigt das Risiko eine GVHD und somit eine späte, sogenannte "post-transplant" Infektion zu entwickeln [24]. So weisen Patienten nach RIC eine niedrigere Inzidenz an frühen Infektionen auf, jedoch ist die Gesamtinzidenz und Mortalität im Vergleich zu den Patienten, die ein myeloablatives Regime erhalten durch komplizierende Faktoren wie das Auftreten einer GVHD in etwa gleich [27].

Die Entwicklung einer akuten bzw. chronischen GVHD führt zu einer Verlängerung der Immunsuppression: Die anhaltende Verabreichung von Kortikosteroiden und Ciclosporin resultiert in einer verlängerten T- und B-Zell Rekonstitution, so dass die Patienten auch nach Jahren noch ein erhöhtes Risiko für Infektionen aufweisen [29]. Diese Patienten haben in erster Linie ein erhöhtes Risiko für Infektionen durch bekapselte Erreger wie beispielsweise Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenza, Klebsiella pneumonia und Neisseria meningitidis [24]. Dabei korreliert das Ausmaß der GVHD mit der Dauer und Schwere der Infektionen.

1.3.3 Toxizität der Konditionierung

Für die TBI gilt eine Abhängigkeit des Auftretens von Nebenwirkungen von der Dosisrate, der Fraktionierung und der insgesamt verabreichten Strahlendosis [11]. Hohe Dosisraten führen zu interstitieller Pneumonitis und gastrointestinalen Nebenwirkungen, so dass eine geringere Dosisrate bevorzugt wird [11].

Für die Fraktionierung der TBI konnte ein geringeres Auftreten der Venenverschlusskrankheit (veno-occlusive Disease, VOD) der Leber, eine erniedrigte Rezidivrate und eine insgesamt verbesserte Überlebensrate nachgewiesen werden [11]. Das Abdecken von Organen wie Augen oder Lunge während der Bestrahlung wird in den meisten Zentren zum Schutz vor organspezifischen Bestrahlungsschäden (Katarakt, Pneumonitis) durchgeführt. Einige Autoren warnen vor einem erhöhtem Rezidivrisiko, da auch Tumorzellen in den geschützten Körperarealen verbleiben können [30, 14].

Eine erwünschte Wirkung von Cyclophosphamid ist die Immunsuppression, unerwünschte Wirkungen sind mögliche Infertilität und hämorrhagische Zystitis, dosislimitierend ist die hämorrhagische Myokarditis [14, 11]. Busulfan hat myeloablativ Eigenschaften und kann zu hepatischer VOD, hämorrhagischer Zystitis und zu anhaltender Alopezie führen.

Insgesamt hängt das Ausmaß der Nebenwirkungen von der jeweiligen Kombination der Chemotherapie bzw. Dosierung und der Grundkonstitution des Patienten ab. Patienten

über 65 Jahre, multimorbide Patienten und solche in fortgeschrittenen Krankheitsstadien eignen sich nur bedingt für ein myeloablatives Verfahren, da das Risiko für die Entwicklung einer Komplikation und somit die Transplantations-assoziierte Mortalität (Transplant related mortality, TRM) unverhältnismäßig steigt [31].

1.3.4 Toxizität der Konditionierung mit reduzierter Intensität

Das durchschnittlich steigende Alter der Patienten mit hämatologischen Erkrankungen sowie die Erfolge mit Spenderlymphozyteninfusionen bei Patienten im Rezidiv führten zur Suche nach weniger toxischen Konditionierungsregime, um zum einen komorbiden, meist älteren Patienten (> 65 Jahre) einen kurativen Therapieansatz bieten zu können und zum anderen die Transplantations-assoziierte Mortalität (TRM) zu senken [11, 9, 32, 33]. Bei nahezu der Hälfte aller allogenen Stammzelltransplantationen wird mittlerweile eine Konditionierung mit reduzierter Intensität verwendet [34]. Das zugrundeliegende Konzept dieser Konditionierungsschemata beruht auf der Reaktion der im Transplantat enthaltenen Spender T-Zellen gegen die Tumorzellen des Empfängers (GVL) [11, 12]. Hauptsächlich bestehen diese Konditionierungsschemata aus Fludarabin-basierten Regime mit reduzierter TBI oder in Kombination mit Busulfan, Antithymozytenglobulin (ATG) oder Fludarabin in Kombination mit Cyclophosphamid oder Melphalan [11, 12, 32].

Der Nachteil besteht in der höheren Rezidivrate und GVHD. Die zusätzliche Applikation von Antikörpern wie Alemtuzumab oder ATG bewirkt eine T-Zell Depletion des Transplantats und senkt das Risiko, eine GVHD zu entwickeln [9].

1.3.5 Graft versus Host Disease

Eine wichtige Funktion des Immunsystems ist es, fremde Zellen und Systeme zu erkennen und zu bekämpfen. Ein besonderes und häufiges Problem für das Langzeitüberleben, die Lebensqualität und die Länge des Krankenhausaufenthaltes stellt in der Stammzelltransplantation die GVHD dar. In seltenen Fällen gibt es auch bei der Stammzelltransplantation eine HVGD, diese äußert sich typischerweise im Ausbleiben der Rekonstitution des hämatopoetischen Systems und im Transplantatversagen.

1.3.5.1 Akute GVHD

Nach der „National Institutes of Health (NIH) Consensus Conference“ erfolgt eine Unterscheidung der akuten GVHD zwischen „klassischer“ (innerhalb der ersten 100 Tage nach Transplantation) und „late onset“ (verzögerten) sowie dem parallelen Auftreten

von Symptomen einer akuten und chronischen GVHD, dem sogenannten „overlap“-Syndrom [35, 14]. Nach Glucksberg gibt es zusätzlich eine Einteilung für den Schweregrad: Der klinische Performancestatus des Patienten kombiniert mit dem jeweiligen Organbefund ergibt Grad I-IV wobei IV den ausgeprägtesten Befund darstellt [36]. Letztlich ist die Diagnose der akuten GVHD eine histologische, die nach Biopsie der entsprechenden Organe Haut, Leber oder Gastrointestinaltrakt sowie klinischem Verlauf gestellt werden kann.

Die Pathomechanismen der akuten Erkrankung sind besser verstanden als die der chronischen [11]: Es läuft eine Kaskade von 3 Schritten ab, die zum einen durch die Konditionierungstherapie bzw. Aktivierung von Donor T-Zellen zur Ausschüttung von inflammatorischen Zytokinen wie TNF- α , IFN- γ , IL-1 und IL-2 führt [37]. Typische klinische Symptome bzw. laborchemische Veränderungen entsprechen den jeweils betroffenen Organen: Anstieg der Cholestasewerte mit oder ohne Schmerzen, wässrige bis blutige Diarrhoen mit oder ohne Krämpfe, Übelkeit oder Gewichtsverlust, sowie makulo-papulöse Exantheme der Hände/Füße bzw. des gesamten Integuments mit oder ohne Pruritus oder Entwicklung von Bullae [14].

1.3.5.2 Chronische GVHD

Die Inzidenz der chronischen GVHD ist in den letzten Jahren durch vermehrte Anwendung von RIC-Protokollen und die zusätzliche Verabreichung von Spender Lymphozyten Infusionen (donor lymphocyte infusionen, DLI) stetig angestiegen [34, 38]. Nach wie vor ist wenig über die Pathogenese der chronischen GVHD bekannt, obwohl sie aufgrund des zunehmenden Einsatzes von RIC und DLI verstärkt auftritt [39]. Vermutet wird aber neben einer T-Zell- auch eine B-Zell-Beteiligung [40].

Eingeteilt wird die chronische GVHD nach klassischer oder „overlap“ Erkrankung, also als Mischbild mit akuter GVHD; ausschlaggebend ist das klinische Bild. Die NIH unterteilt weiter in „diagnostische“ (=sichere), „distinctive“ (=wahrscheinliche) und „not specific“ (=nicht sichere) Charakteristika. Zudem wird eine Einteilung nach Schweregrad von „0“ bis „3“, wobei „3“ eine ausgeprägte Symptomatik bedeutet, empfohlen [14].

Die chronische GVHD tritt normalerweise in einem Zeitintervall von 3 bis 36 Monaten auf, oft als Folge akuter GVHD und manifestiert sich klinisch als Mukositis, Sicca Syndrom, Strikturen des Ösophagus/Vagina, Bronchiolitis obliterans, Muskelkrämpfen, Arthralgien und allgemeiner Schwäche.

1.3.5.3 Risikofaktoren für GVHD

Haupttrisikofaktoren für die Entwicklung einer GVHD sind aufgrund der erhöhten Immunogenität ein HLA-mismatch, aber auch Geschlechter-mismatch (weiblicher Spender zu männlichem Empfänger; insbesondere bei Multipara, denn hier besteht ebenfalls eine höhere Immunogenität), die Art der Stammzellquelle, ein hohes Alter des Empfängers und einige Konditionierungsregime (RIC, DLI). Eine sehr hohe Anzahl an CD34+ Zellen (10^7) scheint ebenfalls ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer GVHD zu bergen [40].

1.3.5.4 Prophylaxe und Therapie der GVHD

Hauptsächlich wird in Deutschland der Calcineurininhibitor Ciclosporin verwendet, zusätzlich wird meist Methotrexat oder Prednisolon verabreicht. Für die Therapie der akuten GVHD wird die hochdosierte Prednisolongabe und bei Ansprechen ab Tag 7-14 ein Ausschleichen empfohlen. Für die Zweitlinientherapie werden monoklonale Antikörper wie Basiliximab (CD25-Antikörper), Infliximab (TNF- α -Antikörper), Muromonab (CD3-Antikörper), Alemtuzumab (CD52-Antikörper) u.a., sowie ATG und Calcineurininhibitoren, falls noch nicht angewendet, eingesetzt [14].

Für die Therapie der chronischen GVHD werden Ciclosporin und Prednisolon eingesetzt [41]. Weitere Medikamente sind u.a. Mycophenolatmofetil (MMF), Sirolimus, Tacrolimus (in den USA), Everolimus und Rituximab [42, 43].

1.3.5.5 Prognose

Nach Zahlen der IBMTR (International Bone Marrow Transplant Registry) waren zwischen 2008 und 2009 ca. 15 % der Todesfälle von Patienten mit MUD, bzw. MRD nach allogener Transplantation durch eine GVHD bedingt. Die Einteilung der GVHD spielt eine wichtige Rolle für die Prognose des Patienten. Hierbei gilt für eine ausgeprägte chronische GVHD direkt im Anschluss an eine akute GVHD eine schlechtere Prognose als für eine neu aufgetretene [39, 9]. In mehreren Studien konnte zudem gezeigt werden, dass Patienten mit anhaltender Thrombozytopenie, Hautbefall, niedrigem Karnofsky-Index sowie gastrointestinaler Beteiligung eine schlechtere Prognose haben [39].

1.3.6 Neurologische Komplikationen nach allogener Stammzelltransplantation

Für das Auftreten neurologischer Symptome nach allogener Stammzelltransplantation gibt es eine Vielzahl an Risikofaktoren und es treten in bis zu 70% der Fälle neurologische Komplikationen auf [44]. Ein großer Teil dieser Komplikationen ist bedingt

durch die Verabreichung neurotoxischer Medikamente wie Ciclosporin und äußert sich klinisch in milden Verlaufsformen wie beispielsweise Tremor oder peripheren Neuropathien [44, 45].

Indes finden sich bei bis zu 25 % der Patienten nach Stammzelltransplantation schwerwiegende neurologische Dysfunktionen, die in Form von Bewusstseinsveränderungen, Psychosen, motorischen Defiziten, epileptischen Anfällen bis hin zum Koma, symptomatisch werden. Insbesondere für diese Fälle konnte eine signifikante Verkürzung der Überlebenszeit nachgewiesen werden [44, 45, 46, 47].

Bemerkenswerterweise treten neurologische Symptome häufiger bei Patienten nach allogener als nach autologer Stammzelltransplantation auf. Dies ist möglicherweise durch das drastischere Konditionierungsschema bzw. die Notwendigkeit der längeren Immunsuppression im Rahmen von GVHD-Prophylaxe bei allogenen im Vergleich zu autologen Transplantationen bedingt. Die Existenz einer cerebralen GVHD ist umstritten und wird von den meisten Autoren verneint.

1.3.6.1 Infektionen des zentralen Nervensystems

Infektionen des zentralen Nervensystems stellen eine der häufigsten Ursachen für die Entwicklung von schwerwiegenden neurologischen Komplikationen dar [44, 46, 47, 48]. Sie treten insbesondere bei akuter GVHD im Rahmen der verlängerten Immunsuppression mit Kortikosteroiden und Ciclosporin gehäuft auf und sind mit erhöhter Morbidität und Mortalität z.B. im Rahmen von septischem Multiorgan- oder Transplantatversagen assoziiert [47, 48].

1.3.6.2 Häufigste Erreger von ZNS-Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation

Die häufigsten Erreger sind *Toxoplasma gondii* und *Aspergillus* spp., die typischerweise im Rahmen von Abszessen oder Ischämien als lokale parenchymatöse Läsionen des zentralen Nervensystems imponieren [47, 48, 49]. Infektionen des zentralen Nervensystems durch Viren bei Patienten nach Stammzelltransplantation sind bis dato selten dokumentiert. Bei Immunkompetenten der westlichen Welt zählen virale Infektionen, insbesondere Herpesviren, allerdings zu den häufigsten Verursachern von akuter Enzephalitis [47, 37, 50, 51, 52]. Die größte veröffentlichte Studie zu viralen Enzephalitiden nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen umfasst 23 Patienten mit HHV-6 Enzephalitis [51].

1.3.6.3 Diagnose einer viralen Infektion des ZNS

Die Diagnose einer viralen Infektion des zentralen Nervensystems stellt prinzipiell eine große Herausforderung dar. Dies liegt zum einen an der oft unspezifischen klinischen Symptomatik wie z.B. epileptiforme Anfälle, Bewusstseins-/Persönlichkeitsveränderungen, gestörte oder veränderte Sinneswahrnehmung, komatöse Zustände und zum anderen an der schwierigen Nachweisbarkeit mittels bildgebender Verfahren wie cCT oder cMRT, histologischer Sicherung bzw. laborchemischer Veränderungen [53, 49].

Die Mehrheit der veröffentlichten Studien zu viralen ZNS-Infektionen nach allogener Stammzelltransplantation beziehen sich auf HHV-6, wohingegen wenig über andere verursachende Viren wie Herpes simplex, Cytomegalie, Varizella Zoster, Epstein-Barr, JC- oder Adenoviren bei dieser speziellen Patientenkohorte dokumentiert wurde. Zudem basiert in den meisten Studien die Diagnose der viralen Infektion nicht auf einem positiven Liquornachweis mittels PCR. Diese Technik gilt bei Immunkompetenten als Goldstandard zum Nachweis einer viralen Infektion des ZNS mit einer Sensitivität und Spezifität von bis zu 90 % für den Großteil aller Virustypen.

1.4 Ziele dieser Arbeit

Eine Vielzahl von Faktoren beeinflussen das Überleben von Patienten nach allogener Stammzelltransplantation, eine bedeutende Komplikation stellen die Infektionen dar. Nur wenig ist bisher in diesem Zusammenhang über Viren bekannt, die das zentrale Nervensystem angreifen.

Ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer viralen systemischen Infektion durch z.B. CMV konnte bereits für die T-Zell Depletion mit Alemtuzumab (CD-52 Antikörper), die GVHD-Prophylaxe mit Mycophenolatmofetil (MMF) sowie Fludarabin-basierte Konditionierungsregime (RIC) nachgewiesen werden [54, 55]. Das Risiko für die Entwicklung von viral bedingten Enzephalitiden wurde im Zusammenhang mit diesen Variablen bisher noch nicht untersucht. Ziel dieser Arbeit soll daher die Klärung folgender Fragen sein:

- Wie hoch ist die Inzidenz von viralen Enzephalitiden nach allogener Stammzelltransplantation?
- Welche Viren verursachen Infektionen des ZNS nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen?
- In welchem Zeitraum nach Transplantation treten virale Enzephalitiden auf?
- Gibt es spezifische Symptome für virale Infektionen des ZNS?
- Welche diagnostischen Mittel dienen dem sicheren Nachweis einer viralen Enzephalitis?
- Welche Therapien werden eingesetzt und mit welchem Ergebnis?
- Gibt es Risikofaktoren für die Entwicklung einer viralen ZNS Infektion?
- Beeinflussen virale Infektionen das Überleben nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen?

2 Material und Methoden

In diesem Kapitel sollen das Studiendesign und die Durchführung der Datenerhebung näher erläutert werden. Zudem werden Begriffe definiert und verwendete statistische Tests benannt. In den Abbildungen 2.1, 2.2, 2.3 finden sich die verwendeten Dokumentationsbögen.

2.1 Studiendesign und -durchführung

Es handelt sich bei dieser Dissertationsschrift um eine retrospektive, multizentrisch angelegte Studie. Die zu Grunde liegenden Daten wurden im Zeitraum April 2008 bis Januar 2010 retrospektiv erhoben und statistisch ausgewertet. Beteiligt sind insgesamt zehn deutsche Stammzelltransplantationszentren mit jeweils einem bis acht Patienten. Das deutsche Register für Stammzelltransplantation stellte freundlicherweise Daten von Patienten ohne virale Enzephalitis, die im gleichen Zeitraum und Zentrum transplantiert wurden, bereit. Mittels eines Vergleichs dieser Daten wurde eine Risikofaktorenanalyse durchgeführt. Anhand dieses retrospektiven, multizentrischen Studiendesigns konnte eine besonders große Anzahl an Patientendaten verglichen werden.

2.2 Datenerhebung und Patientencharakteristika

”Nach Transplantation hämatopoetischer Stammzellen sind die Empfänger vielen potentiellen Ursachen für neurologische Komplikationen durch Prä- und Posttransplantations-therapie, Panzytopenie assoziierten Infektionen und sekundäres Multiorganversagen im Rahmen akuter GVHD, ausgesetzt” [45].

Zunächst wurde an der Charité Campus Benjamin Franklin anhand bisheriger Forschungsergebnisse ein standardisierter Dokumentationsbogen (siehe Abbildungen 2.1, 2.2, 2.3) konzipiert und die Einschlusskriterien der Patienten definiert. Da der positive Virusnachweis im Liquor durch PCR als Goldstandard in der Diagnostik der viralen Enzephalitis bei nicht-immunsupprimierten Patienten gilt, stellt dieser ein entscheidendes Einschlusskriterium für unsere Studie dar [56, 57]. Des weiteren wurden ausschließlich Patienten mit folgenden Charakteristika in die Studie aufgenommen: der viralen ZNS-Infektion vorausgegangene allogene Transplantation hämatopoetischer Stammzellen und das Vorhandensein neurologischer Symptome, die nicht vollständig durch andere Ursachen als die virale Enzephalitis erklärt werden konnten.

Aufgrund der zahlreichen Differentialdiagnosen neurologischer Defizite bei immunsupprimierten Patienten definierten wir weitere Kriterien: Erhoben wurden neben den oben genannten weitere 84 Patientencharakteristika, u.a. waren dies Grunderkrankung, Konditionierungsschema, Vorhandensein von akuter oder chronischer GVHD, Dauer der Neutropenie etc. (siehe Tabelle 3.1) Die akute bzw. chronische GVHD wurde anhand bereits publizierter Kriterien eingestuft [58].

Zunächst wurden vorwiegend mit Hilfe eines elektronischen Datensystems der mikrobiologischen Abteilung des jeweiligen Transplantationszentrums alle Patienten mit positiver Virus-PCR des Liquors nach allogener Stammzelltransplantation erfasst. Der betrachtete Zeitrahmen aus dem geeignete Patienten rekrutiert wurden, wurde jeweils von den beteiligten Zentren bestimmt. Die Überprüfung der weiteren Einschlusskriterien (s.o.) führte ein Mitarbeiter des Koordinierungszentrums (Charité Campus Benjamin Franklin) bzw. ein Mitarbeiter des betreffenden Zentrums durch. Die Dokumentation der Daten erfolgte persönlich während eines Aufenthaltes in dem jeweiligen Zentrum.

Dokumentationsbogen - virale ZNS-Infektionen nach allo-Tx

Pat.-No.....Name:.....Geb.-Datum.....Zentrum.....

I. Patienten- und Transplantationscharakteristika

Geschlecht (w/m)..... Diagnose/Stadium

Datum alloTx:..... Alter bei Tx:..... Datum Erstdiagnose.....

Krankheitsstadium vor Tx.....(PD, SD; PR oder CR)

Spender (MRD/MUD/MMUD, MMRD/ Geschlecht:

Stammzellquelle (KM/PBSZ):

Konditionierung: Substanzen Dosierung Datum/Tage

GvHD-Prophylaxe: Substanzen Dosierung Datum/Tage

Chemotherapie: Substanzen Dosierung Datum/Tage

II. Risikofaktoren

Neutropenie (ja/nein;Zeitraum):

Neutropenie zum Zeitpkt. Diagnose ZNS-Infektion (ja/nein):

akute GvHD: Organ Grad Zeitraum

chronische GvHD Organ Grad Zeitraum

GvHD zum Zeitpkt. Diagnose ZNS-Infektion (ja/nein):

in-vitro TCD.....

Dosierung Datum/Tage

ATG.....

Campath.....

Antivirale Prophylaxe

Serologie prä-Tx

CMV- Spender Empfänger

HSV-Spender Empfänger

HHV-6 Spender Empfänger

EBV-AK Spender Empfänger

EBNA1/2-AK Spender Empfänger

EBV-EA Spender Empfänger

Abb. 2.1: Dokumentationsbogen Seite 1

Dokumentationsbogen - virale ZNS-Infektionen nach allo-Tx

Pat.-No.....Name:.....Geb.-Datum.....Zentrum.....

Weitere serologische Angaben: _____

Virale Infektionen prä-Tx: Organsysteme/ Zeitraum

IVIG post-Tx: Dosierung/ Zeitraum

Glukokortikoide post-Tx: Dosierung/ Zeitraum

Immunsuppression zum Zeitpkt. Diagnose ZNS-Infektion (CsA, MMF, Steroide):

Substanz/ Dosierung/ Zeitraum

TBI/Radiatio Neurokranium (Ja/Nein und Zeitraum):

III. Virale ZNS Infektion post-Tx

ED (Tag post allo-Tx, Datum):

Erreger:

Erreger Nachweis aus:
unter antiviraler Prophylaxe aufgetreten:

Substanzen	Dosierung	Zeitraum
------------	-----------	----------

Fieber (ja/nein/Zeitraum)

Rash (ja/nein)

Diagnostik (serielle Untersuchungen, z.B. Liquor, bitte alle angeben)

1. MRT Neurokranium(done, not done, Befund, Datum).....

2. CT Neurokranium

3. Liquor (Datum:.....)Eiweiß:.....Zellzahl:.....

Diff:.....Glukose:.....PCR:.....

Lymphos/Neutros.....

Serologie: CRP:.....Gluc:.....Virusnachweis/-reaktivierung:.....

weitere Angaben: z.B. Kultur, AG etc.....

4. Weitere (z.B. Hirnbiopsie, SPECT etc)

EEG:.....

Abb. 2.2: Dokumentationsbogen Seite 2

Dokumentationsbogen - virale ZNS-Infektionen nach allo-Tx

Pat.-No.....Name:.....Geb.-Datum.....Zentrum.....

5. Extrazerebrale Diagnostik (z.B. Biopsie Herpeseffloreszenzen)

ZNS-Symptomatik

Bewusstseinsveränderung (ja/nein)

Eindeutig neurologisches Defizit (ja/nein)

Krampfanfall (ja/nein)

Extrazerebrale Symptomatik (z.B. Herpeseffl.)

Therapie (Substanzen/Zeitraum)

Therapiewirksamkeit:

IV. Follow-up

Tod (ja/nein):

Todesdatum und-ursache:

Lebend (ja/nein)

Datum des last-follow-up:

Obduktion (done/not done/not applicant):

Bemerkungen:

Abb. 2.3: Dokumentationsbogen Seite 3

Bedingt durch das retrospektive Design der Studie erfolgten die Transplantationsvorbereitung, -durchführung und -nachsorge wie beispielsweise Konditionierungsschemata, GVHD- oder antivirale Prophylaxe sowie diagnostische und therapeutische Maßnahmen, z.B. PCR Analyse oder antivirale Therapie, nach den lokalen Standards des jeweiligen Zentrums. Zur Inzidenzberechnung wurde pro Zentrum die Gesamtzahl aller allogenen Transplantierten im jeweils betrachteten Zeitraum ermittelt und durch die Anzahl der in die Studie aufgenommenen Patienten dividiert.

Insgesamt wiesen von 2628 Patienten, die einer allogenen Stammzelltransplantation unterzogen wurden, 32 Patienten die definierten Charakteristika auf und konnten in diese Studie eingeschlossen werden.

2.3 Begriffsdefinitionen

Der „Zeitraum bis zum Nachweis einer viralen ZNS-Infektion“ bezeichnet die Dauer von Tag 0 der allogenen Stammzelltransplantation bis zum Tag der Lumbalpunktion. Bei Patienten, die mehrmals einer allogenen Stammzelltransplantation unterzogen wurden, galt jeweils der Zeitpunkt der letzten Stammzelltransplantation vor positiver Virus-PCR des Liquors als Tag 0.

Zur Berechnung von „Überleben bei Nachweis einer viralen ZNS-Infektion“ wurde der Zeitpunkt der ersten positiven Virus-PCR des Liquors als Tag 0 gewählt und der Zeitraum bis zum Tod oder letzten Follow-up des entsprechenden Patienten ermittelt. Dabei bezieht sich die Bezeichnung „Zeitraum zwischen Nachweis der viralen ZNS-Infektion und Tod durch virale Enzephalitis“ nur auf diejenigen Fälle, in denen ein direkter Zusammenhang zwischen viraler Enzephalitis und Tod des Patienten gestellt werden konnte (beispielsweise durch Biopsien oder Verschlechterung des Patienten trotz umfassender antiviraler Therapiemaßnahmen und Ausschluss anderer Ursachen).

2.4 Statistische Tests

Für kategoriale Daten wie beispielsweise Geschlecht, Konditionierungsschema oder Grunderkrankung wurden absolute und relative Häufigkeiten ermittelt. Für quantitative Daten wie Lymphozyten- oder Zellzahl des Liquors wurde mit Hilfe von Excel Median, Range, Mittelwert und Standardabweichung errechnet.

Gruppenvergleiche im Hinblick auf Häufigkeitsverteilungen wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests bzw. des Exakten Fisher-Tests (exakter Chi-Quadrat-Test) durchgeführt.

Unterschiede von kontinuierlichen Merkmalen wurden mit dem Wilcoxon-Mann-Whitney-Test verglichen. Die Überlebenszeitanalyse wurde mit der Kaplan-Meier-Methode berechnet (Konfidenzintervalle (KI) = 95%). Die statistischen Analysen wurden mit Hilfe der handelsüblichen Software SPSS/PASW Statistics 18 für Windows XP durchgeführt.

3 Ergebnisse

Im Folgenden werden die Ergebnisse dieser Arbeit unterteilt in Patientencharakteristika, Erregerspektrum und Serostatus, Manifestation der Enzephalitis, klinische Symptomatik, Diagnostik, Therapie und Verlauf dargestellt. Detaillierte Auflistungen für die Patientencharakteristika und klinische Symptomatik finden sich auch in den Tabellen 3.1 und 3.2; für CCT Bilder von Patienten siehe Abbildungen 3.3 und 3.4.

3.1 Patientencharakteristika

Aus insgesamt 10 deutschen Transplantationszentren (Berlin Charité Campus Benjamin Franklin, Berlin Charité Campus Virchow, Hamburg Universitätsklinikum Eppendorf, Universitätsklinikum Würzburg, Klinikum Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt a.M., Universitätsmedizin Greifswald, Universitätsmedizin Leipzig, Universitätsmedizin Rostock, Universitätsmedizin Göttingen, Universitätsklinikum Münster) wurden aus einem Pool von insgesamt 2628 Patienten die Daten von 32 Patienten, die die Kriterien einer viralen Enzephalitis nach allogener Stammzelltransplantation erfüllten, ausgewählt. Der mediane Betrachtungszeitraum pro Patient betrug 4 Jahre (Range 1-9 Jahre). Es wurden die Daten von Patienten mit Ersttransplantation und letztem Follow-up bzw. Tod zwischen 1999 und 2009 in die Studie aufgenommen.

Das Medianalter (46.5 Jahre) war ähnlich verteilt wie die Werte in der Kontrollgruppe ohne virale Enzephalitis. Der jüngste Patient war in der Fallgruppe zum Zeitpunkt der Transplantation 5 Monate, der Ältteste 73 Jahre alt. Insgesamt wurden 6 Kinder in die Studie eingeschlossen.

Die häufigste Indikation zur Transplantation waren in der Gruppe mit viraler Enzephalitis wie auch in der Kontrollgruppe die akute myeloische Leukämie bzw. das Myelodysplastische Syndrom (40 %), gefolgt von der akuten lymphatischen Leukämie (21.9 %/12.3 %) und den Non Hodgkin Lymphomen (15.6 %/11.4 %).

Fludarabin basierte Regime (RIC) und konventionelle Konditionierung (Cyclophosphamid mit Busulfan oder 12 Gy TBI) wurden in der Fallgruppe gleich oft verwendet (je 18.8 %).

Konventionelle Regime sind in der Kontrollgruppe im Gegensatz zu Fludarabin basierten Schemata weniger häufig verwendet worden (10.4 % zu 27.6 %), dennoch nicht signifikant unterschiedlich.

Als GVHD-Prophylaxe wurde in beiden Gruppen am häufigsten Ciclosporin in Kombination mit Mycophenolatmofetil (MMF) verwendet (43 %). Ciclosporin und MTX wurde in der Fallgruppe weniger häufig angewendet, wenn auch ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich (33.3 % zu 44.5 % in der Kontrollgruppe).

Ebenfalls vergleichbare Ergebnisse zwischen Fall- und Kontrollgruppe fanden sich bei der Betrachtung des Spendertyps (MRD/MUD/MMRD/MMUD), des Verhältnisses weiblicher Spender/männlicher Empfänger und des Typs der Stammzellquelle. Am häufigsten wurden die Stammzellen von unverwandten Spendern verwendet (19 Patienten, entspricht 59 %), gefolgt von verwandten Spendern (zehn Patienten, entspricht 31 %). Nicht HLA-identische Transplantate wurden in drei Fällen verwendet. Die Transplantation von Stammzellen eines weiblichen Spenders zu einem männlichem Empfänger wurde in sechs Fällen durchgeführt.

Am häufigsten wurden periphere Blutstammzellen als Stammzellquelle verwendet (27 Patienten, entspricht 84 %). Knochenmarkzellen erhielten fünf Patienten (16 %), Nabelschnurblut erhielt kein Patient der Fallgruppe.

Zum Zeitpunkt der viralen Enzephalitis hatten 17 von 31 Patienten (55 %) eine akute GVHD Grad II-IV oder chronische GVHD. In der Kontrollgruppe konnten akute GVHD Grad II bis IV bei 802 von 2324 (35 %) und chronische GVHD und in 555 von 1082 (51 %) diagnostiziert werden. Daten zur medikamentösen Therapie der GVHD in der Kontrollgruppe lagen nicht vor.

Insgesamt erhielten 28 Patienten eine antivirale Prophylaxe mit Aciclovir und einer mit Valaciclovir. Während der Prophylaxe entwickelten zehn Patienten eine virale ZNS-Infektion. 14 von 28 Patienten erhielten Glukokortikoide zum Zeitpunkt der viralen Enzephalitis.

Signifikante Unterschiede ergaben sich bei der in-vivo T-Zell Depletion: in der Gruppe mit viraler Enzephalitis wurde signifikant häufiger ($p < 0.001$) eine in-vivo T-Zell Depletion mit Alemtuzumab oder Muromonab durchgeführt. Dies konnte für Antithymozytenglobulin bzw. Antilymphozytenglobulin nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 3.1: Patientencharakteristika der Fallgruppe im Vergleich mit der Kontrollgruppe in absoluten und relativen (in Klammern) Zahlen

	mit viraler Enzephalitis n=32	ohne virale Enzephalitis n=2596	P-Wert
Mittelwert Alter z.Zpkt. allo-SZ-Tx, in Jahren (Range)	46.5 (0.5-73)	47.6 (0.2-77)	n.s.
Männer, n (%)	19 (59)	n.b.	n.s.
Grunderkrankung, n (%)			
AML/MDS	13 (40.6)	1162 (44.9)	n.s.
ALL (auch prä-T-ALL)	7 (21.9)	319 (12.3)	n.s.
NHL (auch CLL)	5 (15.6)	295 (11.4)	n.s.
andere	7 (22)	814 (31.4)	n.s.
Konditionierung, n (%)	20 (62.5)	950 (62)	n.s.
Fludara basiert	6 (18.8)	423 (27.6)	n.s.
Konventionell (Cy + Bu oder 12 Gy TBI)	6 (18.8)	160 (10.4)	n.s.
Andere	4 (12.5)	144 (9.4)	n.s.
mit Treosulfan	10 (31.3)	502 (32.7)	n.s.
In vivo TCD, n (%)			
ATG/ALG	13 (41.9)	1004 (65.9)	n.s.
Alemtuzumab	4 (12.9)	10 (0.7)	p< 0.001
Muromonab	5 (16.1)	10 (0.7)	p< 0.001
keine	9 (29)	509 (33.2)	n.s.
Spender, n (%)			
MRD	10 (31.25)	854 (33.2)	n.s.
alle anderen Spendertypen	22 (68.8)	1720 (66.8)	n.s.
Spender/Empfänger Geschlecht, n (%)			
weiblich/männlich	6 (20.7)	445 (18.7)	n.s.
jede andere Kombination	17 (59)	1929 (81.3)	n.s.
Stammzellquelle, n (%)			
KM	5 (15.6)	363 (14.2)	n.s.
PBSZ	27 (84)	2191 (85.8)	n.s.

GVHD Prophylaxe, n (%)			
CyA+MTX	10 (33.3)	637 (44.5)	n.s.
CyA+MMF	13 (43.3)	612 (42.7)	n.s.
Andere	7 (23.3)	184 (12.8)	n.s.
GVHD Prophylaxe mit MMF	17 (56.7)	682 (47.6)	n.s.
Sterblichkeit lebend/tot beim letzten Follow-up	11/21 (34/66)	1495/1100 (58/42)	p=0.011
Median Zeitpunkt letztes Follow-up (in Tagen nach Stammzell-Tx)	231(47-2533)	235 (0-4028), n=2573	n.s.

3.2 Erregerspektrum und Serostatus

Der Nachweis von viraler DNS via PCR aus Liquor erbrachte hauptsächlich Erreger aus der Gruppe der Herpesviren: HHV-6/7, EBV, HSV, CMV, VZV sowie JC-Virus und Adenovirus (siehe auch Abbildung 3.1). Der größte Teil der Patienten wies Infektionen mit HHV-6 (9 Patienten) auf, gefolgt von EBV-Infektionen bei sechs Patienten. Im Liquor von vier Patienten war die DNS von Herpes simplex Virus nachweisbar, bei drei Patienten das JC- Virus sowie bei jeweils zwei Patienten eine CMV bzw. VZV Infektion. Infektionen mit mehr als einem Erreger konnten bei fünf Patienten nachgewiesen werden, wobei wiederum drei Patienten zusätzlich eine HHV-6 Infektion aufwiesen und ein Patient auch positiv für HHV-7 war.

Bei Vergleich der Serostatus von Empfänger und Spender vor Stammzelltransplantation wurden bei Datenerhebung HHV-6, HSV, CMV und EBV berücksichtigt, die anderen Serostatus lagen zur Dokumentation nicht vor. Fünf Patienten mit CMV-assoziiertes Enzephalitis (auch die Fälle, in denen mehr als ein Erreger nachweisbar war) waren vor Transplantation CMV-positiv, während die Spender in vier Fällen eine negative CMV-Serologie aufwiesen. Vier von fünf Patienten mit EBV-Enzephalitis waren EBV-positiv vor der Stammzelltransplantation und hatten ebenfalls EBV-positive Spender. Ein Empfänger war EBV-negativ und hatte einen EBV-positiven Spender. Vier von neun Patienten mit HHV-6 Enzephalitis wiesen eine HHV-6 positive Serologie vor Transplantation auf. Patienten mit HSV-Enzephalitis waren vor Transplantation in drei

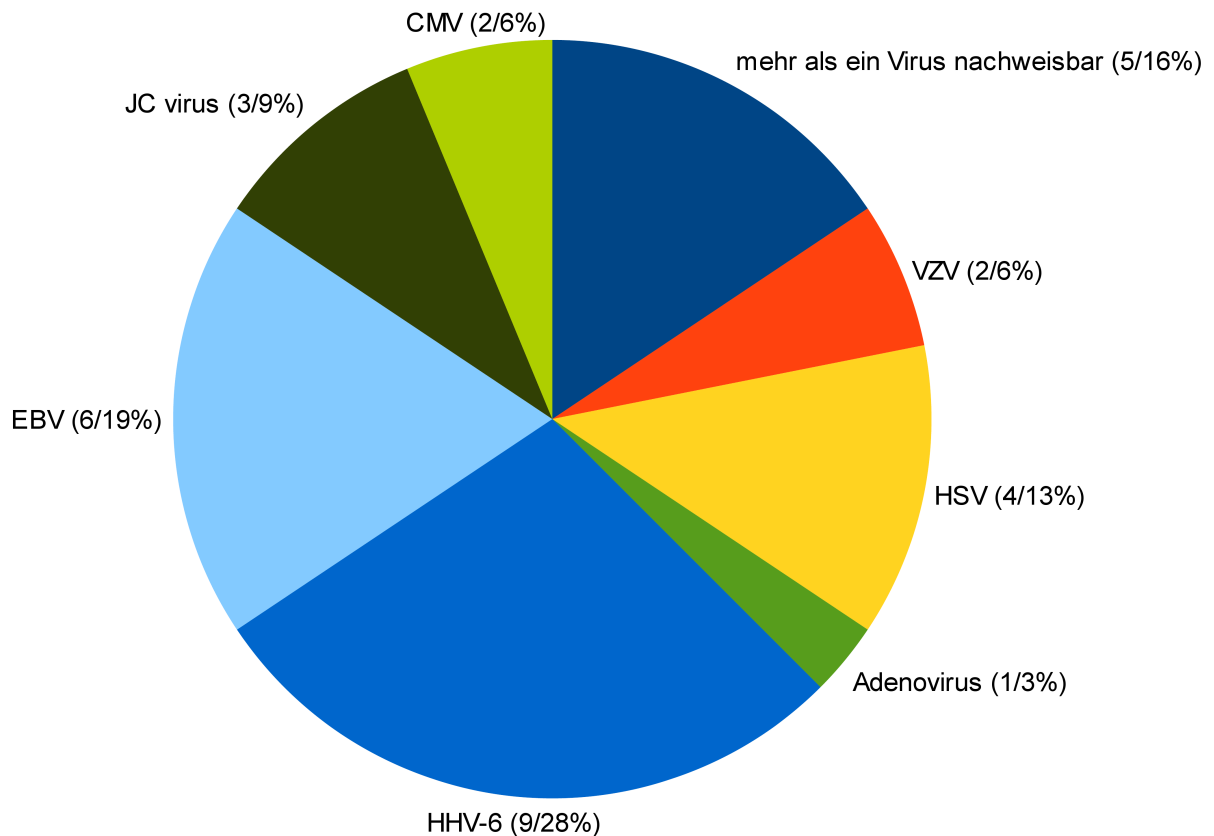


Abb. 3.1: Spektrum der Viren und Prävalenz, n = 32 (Anzahl der Patienten in absoluten und relativen Zahlen in Klammern)

Fällen seropositiv sowie seronegativ in einem Fall. Letzterer erhielt die Zellen eines HSV-positiven Spenders, alle anderen HSV-Serostatus der Spender waren nicht verfügbar.

3.3 Zeitpunkt der Manifestation der viralen Enzephalitis

Der Zeitpunkt des Nachweises der viralen Enzephalitis lag im Median 106 Tage nach allogener Stammzelltransplantation (Range: 27 - 1340 Tage), siehe Abbildung 3.2. Bei den HHV-6-assoziierten Enzephalitiden zeigten sich die frühesten Manifestationen (median 62 Tage, Range: 27 - 689 Tage) im Vergleich zu den Enzephalitiden ohne HHV-6-Nachweis (114 Tage, Range: 37 - 1340 Tage, $p = 0.059$). Es folgten HSV-assoziierte Infektionen mit einem Median von 66 Tagen (Range: 42 - 189 Tage), EBV mit 93 Tagen (Range: 37 - 437 Tage), CMV mit 105 Tagen (Range: 95 - 114 Tage) und VZV mit 234 Tagen (Range: 207 - 261 Tage) bis zum Beginn der Erkrankung. Der Patient mit Adenovirusnachweis entwickelte die Enzephalitis an Tag 105 nach Stammzelltransplantation. Die Manifestation in den Fällen mit JC-Virus-assoziiierter Enzephalitis lag im Median bei 334 Tagen (Range: 107 - 1340 Tage).

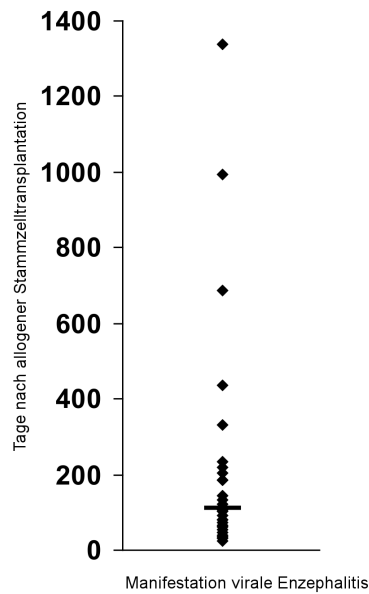


Abb. 3.2: Klinische Manifestation der viralen Enzephalitis in Tagen nach allogener Stammzelltransplantation

3.4 Klinische Symptomatik

Die detaillierten Beschreibungen der einzelnen klinischen Symptome zum Zeitpunkt der Enzephalitis aufgeschlüsselt nach den verursachenden Viren finden sich in unten stehender Tabelle (siehe Tabelle 3.2). Am häufigsten zeigten sich Bewusstseinsveränderungen im Sinne von Vigilanzminderung (26 Patienten), gefolgt von Fieber (19 Patienten), Krampfanfällen (11 Patienten) sowie psychiatrische Auffälligkeiten im Sinne von Verwirrtheitszuständen, psychotischen Phasen oder Persönlichkeitsveränderungen (9 Patienten), außerdem Lähmungserscheinungen (8 Patienten) sowie Hyp- oder Dysästhesien (6 Patienten).

Tabelle 3.2: Klinische Symptomatik, bildgebende Befunde, Therapie und Überleben aufgelistet nach Erreger

Nr.	Virus	Klinische Symptomatik	Therapie und Ansprechen	Überlebensstatus letztes follow-up (Tage nach Manifestation der viralen Enzephalitis, Todesursache)
1	HHV-6	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Krampfanfälle, Lähmungen, Dysästhesie, Hypästhesie, Blickbewegungsstörungen. Fokale Läsionen rechter Insel- und linker Temporallappen (cMRT)	Foscarnet/ Aciclovir: keine Besserung	11, tot (Virusenzephalitis)
2	HHV-6	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Verwirrtheit, Aggressivität, Desorientierung. Minimale und vermutlich unspezifische Läsionen der weißen Substanz (cMRT)	Foscarnet: keine Besserung	93, tot (Virusenzephalitis und GVHD assoziiertes MOV)
3	HHV-6	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Persönlichkeitsstörung, Verwirrtheit, Myoklonien. Keine Bildgebung.	Foscarnet	200, lebt
4	HHV-6	Bewusstseinsstörungen (Stupor), Fieber, Verwirrtheit, Persönlichkeitsstörung. cMRT ohne pathologischen Befund.	Foscarnet: komplette Remission der Symptomatik	218, lebt
5	HHV-6	Fieber, Ptosis. cCT ohne pathologischen Befund.	Foscarnet: Besserung	70, tot (Amyloid assoziiertes Herzversagen)

6	HHV-6	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Krampfanfälle, Agitation. Vereinzelt punktförmige Demyelinisierung im periventrikulären Marklager und rechter Capsula interna (cMRT).	Foscarnet: geringe Besserung	22, tot (Toxoplasmosis gondii assoziierte Pneumonie und Virusenzephalitis)
7	HHV-6	Hypästhesie, Schwindel. cMRT ohne pathologischen Befund.	Foscarnet/ Ganciclovir: Besserung (negative PCR Liquor)	434, lebt
8	HHV-6	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Krampfanfälle, Verwirrtheit, Hypästhesie. cCT ohne pathologischen Befund.	Foscarnet/ Ganciclovir: Besserung	183, tot (AML Rezidiv)
9	HHV-6	Bewusstseinsstörungen (Stupor), Krampfanfälle, Fieber, Verwirrtheit, Hypästhesie. Signalanhebung ohne KM-Enhancement Hippocampus (cMRT).	Foscarnet/ Ganciclovir: Besserung (negative PCR Liquor)	81, tot (extracerebrale PTLD und Adenovirus Reaktivierung)
10	EBV	Bewusstseinsstörungen bis zum zentralen Koma, Fieber, Krampfanfälle, Verwirrtheit. Intracerebrales Ödem, bihemisphärisch fokale Läsionen der weißen Substanz und Inkarzeration (cCT).	Ganciclovir: keine Besserung	23, tot (Virusenzephalitis)
11	EBV	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Desorientierung, Agitation. cCT ohne pathologischen Befund.	Foscarnet: keine Besserung	2, tot (Sepsis, möglicherweise durch virale Enzephalitis begünstigt)

12	EBV	Bewusstseinstörungen. Bi-hemisphärisch periventriculäre Läsionen der weißen Substanz (cMRT).	Ganciclovir/ Rituximab/ Aciclovir/ Foscarnet: komplette Remission der Symptomatik	56, tot (MOV nach Transplantatversagen)
13	EBV	Cephalgie, Schwindel, Übelkeit. cMRT ohne pathologischen Befund.	Aciclovir: Besserung	1340, lebt
14	EBV	Bewusstseinsstörungen, Fieber, generalisierter Krampfanfall. cMRT ohne pathologischen Befund.	Foscarnet + Rituximab: Besserung (negative PCR Liquor)	94, tot (MOV, möglicherweise nicht Enzephalitis bedingt)
15	EBV	Bewusstseinsstörung, Krampfanfälle. Cerebelläre punktförmige Läsionen nach KM-Applikation, weitere Auffälligkeiten durch hereditäre Leukodystrophie bedingt (cMRT).	Aciclovir	127, tot (MOV im Rahmen einer GVHD, in Obduktion schwere Pankreatitis und Kolitis)
16	CMV, HHV-6, JC-Virus	Bewusstseinsstörung, Fieber, Krampfanfälle, Dysästhesie, Gangstörung. Fokale Läsionen Marklager (cMRT)	Foscarnet/ Ganciclovir/ Brivudin	109, tot (Pneumonie, Virusenzephalitis hat möglicherweise zum Tod geführt)
17	HHV-6, HHV-7	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Gangstörungen, Wortfindungsstörungen. cCT ohne pathologischen Befund.	Foscarnet	53, tot (Neurotoxoplasmosse, Virusenzephalitis hat möglicherweise zum Tod geführt)
18	CMV, HHV-6	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Gangstörungen. Multiple punktförmige Läsionen nach KM-Applikation (cMRT).	Ganciclovir/ Foscarnet/ CMV spezifische T-Zellen: geringe Besserung; negative PCR Liquor für CMV	175, tot (massives Hirnödem, möglicherweise durch HHV-6 Enzephalitis bedingt)

19	HSV, EBV	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Cephalgie, Desorientierung. Milde Ventrikelerweiterung (cMRT).	Aciclovir/ Foscarnet: Besserung, negative PCR Liquor	1365, lebt
20	CMV, VZV, HSV, EBV	Bewusstseinsstörungen, Desorientierung. Signalanhebung in Regionen des Marklagers mit bitemporaler Betonung; kein KM-Enhancement (cMRT/cCT).	Aciclovir/ Ganciclovir/ Foscarnet: keine Besserung.	34, tot (Virusenzephalitis und Pneumonie)
21	HSV	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Diplopie (Lähmung des M. obliquus), Krampfanfälle, Übelkeit, Schwindel, Cephalgie. cCT und cMRT ohne pathologischen Befund.	Aciclovir: Besserung	47, tot (Obduktion zeigt massive kardiale Ischämie)
22	HSV	Bewusstseinsstörungen, Paraparese, Dysästhesie, Hypästhesie. cCT und cMRT ohne pathologischen Befund.	Aciclovir: komplette Remission der Symptomatik, negative PCR Liquor	1070, lebt
23	HSV	Diplopie (Lähmung des N. abducens), Cephalgie, Schwindel, Erbrechen. cMRT ohne pathologischen Befund.	Acyclovir/ Foscarnet/ Aciclovir: komplette Remission der Symptomatik, negative PCR Liquor	98, lebt
24	HSV	Bewusstseinsstörungen, sekundärer generalisierter Krampfanfall. Verdacht auf low-grade Gliom, ansonsten keine weiteren Auffälligkeiten (cMRT).	Aciclovir: Besserung, negative PCR Liquor	485, lebt

25	JC-Virus (PML)	Bewusstseinsstörungen, Fieber, fokale und generalisierte Krampfanfälle. Signalanhebungen in einigen Regionen des frontalen Marklagers (cMRT).	keine antivirale Therapie	25, tot (PML)
26	JC-Virus (PML)	Bewusstseinsstörungen, Athetose, Hemiparese rechts, Inkontinenz. Multiple Demyelinisierungen in Regionen der weißen Substanz und Kortex (cMRT).	Cidofovir: Besserung, negative PCR Liquor für JC-Virus	1256, lebt
27	JC-Virus (PML)	homonyme Hemianopsie. Signalanhebungen in Regionen der weißen Substanz mit Aussparungen der grauen Substanz, kein KM-Enhancement (cMRT und cCT).	Cidofovir: keine Besserung, weiterhin positiver PCR Nachweis von JC-Virus aus Liquor	35, tot (PML, Sepsis und akutes Nierenversagen)
28	CMV	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Delir, Psychose. Mikroangiopathische Veränderungen ohne enzephalitische Läsionen (cMRT).	Ganciclovir + Foscarnet: geringe Besserung	54, tot (Virusenzephalitis, Leberversagen)
29	CMV	Bewusstseinsstörungen, Fieber, Amaurosis (nekrotisierende Chorioretinitis). Ausgeprägte Ventrikelerweiterung (cMRT).	Ganciclovir/ Cidofovir/ Foscarnet: keine Besserung	84, tot (systemische CMV Infektion mit cerebralem Befall)
30	VZV	Bewusstseinsstörungen, Krampfanfälle, Aphasie. Signalanhebung des cerebellären Kortex (cMRT).	Aciclovir: Besserung	1343, lebt

31	VZV	Fieber, Hemiparese rechts, Hypästhesie, Cephalgie. Ausgeprägte Leukenzephalopathie (cMRT).	Aciclovir: Besserung.	705, tot (Herzversagen)
32	Adenovir.	Bewusstseinsstörungen, Cephalgie. Keine Bildgebung durchgeführt.	Ganciclovir: Besserung, negative PCR Liquor	2428, lebt

3.5 Diagnostik

Die diagnostischen Maßnahmen, die zum Zeitpunkt der ZNS-Infektion erhoben wurden, beinhalten bildgebende Befunde aus CCT/MRT, EEG, Biopsien und laborchemische Untersuchungen des Liquors und Serums (Eiweißgehalt, Zellzahl, Differentialzellbild, absoluter Lymphozytengehalt des Liquors, Glukoselevel).

3.5.1 Cerebrale Bildgebung

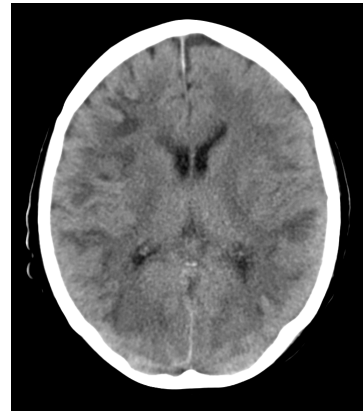
Die Befunde der cerebralen Bildgebung mittels cCT und/oder cMRT finden sich in Tabelle 3.2 sowie CCT Bilder von in die Studie eingeschlossenen Patienten unter Abbildung 3.3 und 3.4. Zum Zeitpunkt der viralen Enzephalitis wurde in 30 Fällen eine bildgebende Diagnostik durchgeführt.

Pathologische cerebrale Veränderungen, die sicher der viralen Infektion zuzuordnen waren, fanden sich in 16 Fällen. Hierbei konnten in elf Fällen fokale und in vier Fällen diffuse cerebrale bzw. cerebelläre Veränderungen nachgewiesen werden. In einem Fall zeigten sich diffuse und fokale Auffälligkeiten in Kombination. Bei drei von acht Patienten mit HHV-6 Enzephalitis zeigten sich pathologische Veränderungen im MRT, die eindeutig der Virusinfektion zugeordnet werden konnten. Diese beinhalteten fokale Läsionen des rechten Insel- und Temporallappens, Zeichen der Demyelinisierung periventrikulär und im Bereich der rechten Kapsula interna, sowie vermehrte Signalanhebung im Bereich des Hippocampus.

Bei drei von sechs EBV-Enzephalitis assoziierten Fällen (50 %) konnten CT- bzw. MRT morphologische Veränderungen nachgewiesen werden: Zweimal fanden sich fokale bihemisphärische Läsionen der weißen Substanz sowie einmal diffuse cerebelläre punktförmige Läsionen nach KM-Applikation (siehe auch Abbildung 3.3).



(a) Patient 1



(b) Patient 1

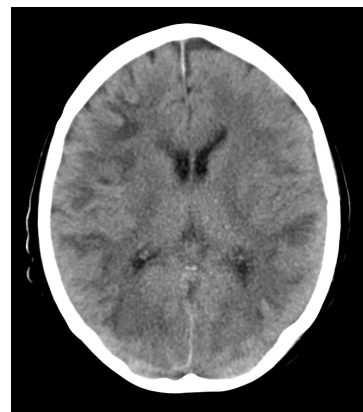


(c) Patient 1

Abb. 3.3: CCT von Patient mit EBV-assoziiertes Enzephalitis: deutlich zunehmendes Hirnödeme und bihemisphärische Marklagerveränderungen; zuletzt massives Hirnödeme mit Einklemmung und multiplen intraparenchymatösen und subarachnoidalen Einblutungen.



(a) Patient 2



(b) Patient 2

Abb. 3.4: CCT von Patient mit VZV-assoziiertes Enzephalitis: verstrichene Gyri als Zeichen des beginnenden Hirnödems.

Quelle: Charité Campus Benjamin Franklin, 2005.

In keinem der HSV-assoziierten Fälle imponierten spezifische MRT oder CT- morphologische Veränderungen, dies sind typischerweise Läsionen des Temporallappens bzw. limbischen Kortex.

Bei den JC-assoziierten Infektionen konnten in allen drei Fällen Auffälligkeiten in der cerebralen Bildgebung im Sinne einer progressiven multifokalen Leukenzephalopathie nachgewiesen werden.

In drei Fällen waren die pathologischen Veränderungen der cerebralen Bildgebung einer anderen Ursache zuzuordnen (Blutung, Gliom). In elf (37%) Fällen zeigte sich ein unauffälliger Befund der cerebralen Bildgebung.

3.5.2 EEG

Elektroenzephalogramme wurden zum Zeitpunkt der cerebralen Infektion bei zehn Patienten aufgezeichnet und zeigten abnorme Veränderungen im Rahmen von milden bis starken slow-waves oder sogenannten Deltawellen bei sechs Patienten sowie spitze Wellen in drei Fällen.

3.5.3 Biopsien

Bei einem von 30 Patienten wurde eine Hirnbiopsie entnommen, hier konnten lymphozytäre Zellen nachgewiesen werden.

3.5.4 Liquordiagnostik

Bei der laborchemischen Diagnostik des Liquors wurden folgende Parameter erhoben: Zellzahl, Eiweiß, Differentialzellbild mit absoluter Lymphozytenzahl, Glukosegehalt und Virusnachweis mittels PCR.

Von 29 dokumentierten Fällen lag die Zellzahl des Liquors zum Zeitpunkt der viralen Enzephalitis im Median bei $3/\mu\text{l}$ (Range: 0 - $1952/\mu\text{l}$), eine erhöhte Zellzahl (Normalwert 0 - $4/\mu\text{l}$) konnte im Liquor von 14 Patienten nachgewiesen werden. Ein Differentialzellbild war bei elf von diesen 14 Patienten verfügbar, hier zeigten sich überwiegend Lymphozyten (Median: $19/\mu\text{l}$, Range: 2.4 - $638/\mu\text{l}$). Bei zwei von sieben Patienten mit HHV-6 assoziierter Infektion konnte eine erhöhte Liquorzellzahl nachgewiesen werden, sowie bei zwei von sechs Patienten mit EBV-assoziiierter Infektion, bei vier von fünf Patienten mit mehr als einem Virusnachweis und in drei von vier Patienten mit HSV-assoziiierter Enzephalitis.

Der Median der Glukosekonzentration lag in 21 dokumentierten Fällen im Normbereich (Normalwert: 34 - 90mg/dl) bei 65mg/dl (Range: 24 - 118mg/dl), war in fünf Fällen erhöht, in einem Fall erniedrigt und in 15 Fällen normal.

Der Eiweißgehalt lag bei 28 erhobenen Fällen im Median bei 45mg/dl (Range: 15 - 154mg/dl), Normalwerte (15 - 45mg/dl) zeigten sich bei 15 Patienten und erhöhte Eiweißkonzentrationen bei 13 Patienten.

3.6 Therapie der viralen Enzephalitis

Die Therapiestrategien, die Wirksamkeit, das Überleben und die Todesursachen sind detailliert für jeden Patienten in der oben stehenden Tabelle (Tabelle 3.2) aufgeführt. In 27 Fällen konnte die Wirksamkeit der Therapie untersucht werden, in den verbleibenden fünf Fällen war dies nicht möglich: In 17 Fällen trat eine stabile und klinisch signifikante Besserung ein (Mittel 63 %, 95 % KI 44 % - 82 %), in 10 Fällen war die antivirale Therapie nicht erfolgreich.

Alle neun Patienten mit HHV-6-assoziiertes Enzephalitis erhielten Foscarnet, drei Patienten erhielten zusätzlich Ganciclovir. Eine signifikante klinische Besserung konnte bei fünf von acht Patienten (63 %) erzielt werden, inklusive der drei Patienten, die zusätzlich Ganciclovir erhielten.

Die antivirale Therapie mit Foscarnet, Ganciclovir, Aciclovir und Rituximab war in verschiedenen Kombinationen effizient bei drei von fünf Patienten mit EBV-assoziiertes Enzephalitis.

Alle fünf Patienten mit mehr als einer nachgewiesenen Virusart erhielten Foscarnet in unterschiedlichen Dosierungen sowie zusätzliche Substanzen (Ganciclovir, Aciclovir, Brivudin) oder CMV-spezifische T-Zellen. Es verstarben 80 % (vier Patienten).

Bei allen vier Patienten mit HSV-assoziiertes Enzephalitis kam es nach Therapie mit Aciclovir zur klinischen Besserung; bei drei Patienten konnte die Wirksamkeit der antiviralen Therapie durch eine negative HSV-PCR des Liquors bestätigt werden.

Bei den zwei Patienten mit JC-Virus assoziiertes PML profitierte ein Patient von der Therapie mit Cidofovir, der andere erlag der Infektion am Tag 35 post transplantationem.

Die zwei Patienten mit CMV-Enzephalitis wurden jeweils mit Ganciclovir, Focarnet bzw. zusätzlich Cidofovir behandelt, beide verstarben bei Ausbleiben der klinischen

Besserung. Die beiden Patienten mit VZV-assoziiertes Enzephalitis erhielten Aciclovir, was bei beiden Patienten zu einer klinischen Besserung führte, der Liquor wurde nicht erneut untersucht.

Der Patient mit Adenovirus-Enzephalitis wurde mit Ganciclovir behandelt und wies schließlich eine negative Liquor PCR auf.

3.7 Verlauf

Die mediane Überlebenszeit nach Ausbruch der viralen Infektion des ZNS, berechnet nach der Kaplan-Meier-Methode, betrug 94 Tage (95 % KI 36 - 152 Tage) und war vergleichbar zwischen Patienten mit HHV-6-assoziiertes und nicht HHV-6-assoziiertes Enzephalitis (93 Tage, 95 % KI 58 - 128 Tage versus 109 Tage, 95 % KI 45 - 173 Tage; $p= 0.864$).

Die geschätzte Enzephalitis-assoziiertes Überlebenszeit betrug 55% (Standardfehler 9.5 %) ein Jahr nach Ausbruch der Infektion mit einem nicht erreichten Median beim letzten follow-up.

Die Gesamtsterblichkeitsrate nach Ausbruch einer viralen Enzephalitis für die häufigsten Erreger war: 67 % für HHV-6, 83 % für EBV, 80 % für die Gruppe mit Infektionen mit mehr als einem Erreger, 25 % für HSV und 67 % für JC-Virus. Die Sterblichkeitsrate war 33 %, 33 %, 80 %, 0 % und 67 % für diese Gruppen wenn ausschließlich die virale Infektion selbst als Todesursache gewertet wurde.

4 Diskussion

Wir haben aus einer Kohorte von 2628 Patienten, die einer allogenen Transplantation hämatopoetischer Stammzellen unterzogen wurden, 32 Patienten mit viraler Infektion des zentralen Nervensystems ermittelt. Es gibt noch immer nicht ausreichend genaue Daten zur Inzidenz viraler Enzephalitiden bei Patienten nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen: Die bestehenden Studien beinhalten nur kleine Patientengruppen, die zumeist auch Patienten ohne positiven Liquornachweis mit einschließen. Insgesamt ist die Anzahl der betroffenen Patienten gering, dies bestätigt auch unsere Studie (Mittel 1.2 %, 95 % KI 0.8 % - 1.6 %), scheint aber im Vergleich mit anderen Studien nicht unterrepräsentiert zu sein. Dennoch ist eine Unterschätzung der Inzidenz aufgrund des retrospektiven Designs und der strengen Einschlusskriterien möglich: Bei manchen Patienten ist die Liquorentnahme beispielsweise nicht möglich (niedrige Thrombozytenzahl, schlechter klinischer Zustand des Patienten, etc.). Trotz dieser geringen Inzidenz stellt die virale Enzephalitis nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen in Bezug auf die Mortalität, Morbidität und Länge der Hospitalisierung (Rehabilitation zur Wiedererlangung von neurologischen Funktionen bzw. psychiatrische/ psychologische Therapie) eine nicht zu unterschätzende Komplikation dar [59, 60]. Die Kosten einer autologen bzw. allogenen Transplantation werden durch die Dauer des Krankenhausaufenthaltes und die Entwicklung von Komplikationen bestimmt (siehe Abbildung 4.1). Durch Komplikationen wird die Hospitalisierung verlängert und die Kosten der Therapie steigen [61]. Des Weiteren gibt es Autoren, die eine Zunahme von cerebralen Infektionen bei Patienten nach PBSZ bedingt durch therapieresistente Viren befürchten [37].

Zwei kleine prospektiv angelegte Studien ermittelten eine 65 %ige bzw. 56 %ige Wahrscheinlichkeit nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen eine neurologische Störung zu entwickeln. Eine virale Enzephalitis konnte in nur 4 % (drei Patienten mit Verdacht auf Meningoenzephalitis aus untersuchten 71 Fällen) bzw. 0 % (aus 115 Fällen) nachgewiesen werden [44, 45]. Neurologische Defizite wurden überwiegend durch eine metabolische Enzephalopathie im Rahmen eines akuten Leber- oder Nierenversagens bzw. einer respiratorischen Insuffizienz ausgelöst, welche signifikant mit einer GVHD assoziiert waren [45]. In unserer Studie wiesen 18 von 31 Patienten (58 %) zum Zeitpunkt der viralen Enzephalitis eine akute oder chronische GVHD auf. Eine retrospektiv angelegte Studie aus Japan untersuchte eine Kohorte von 197 Patienten, die einer allogenen Stammzelltransplantation unterzogen wurden, auf

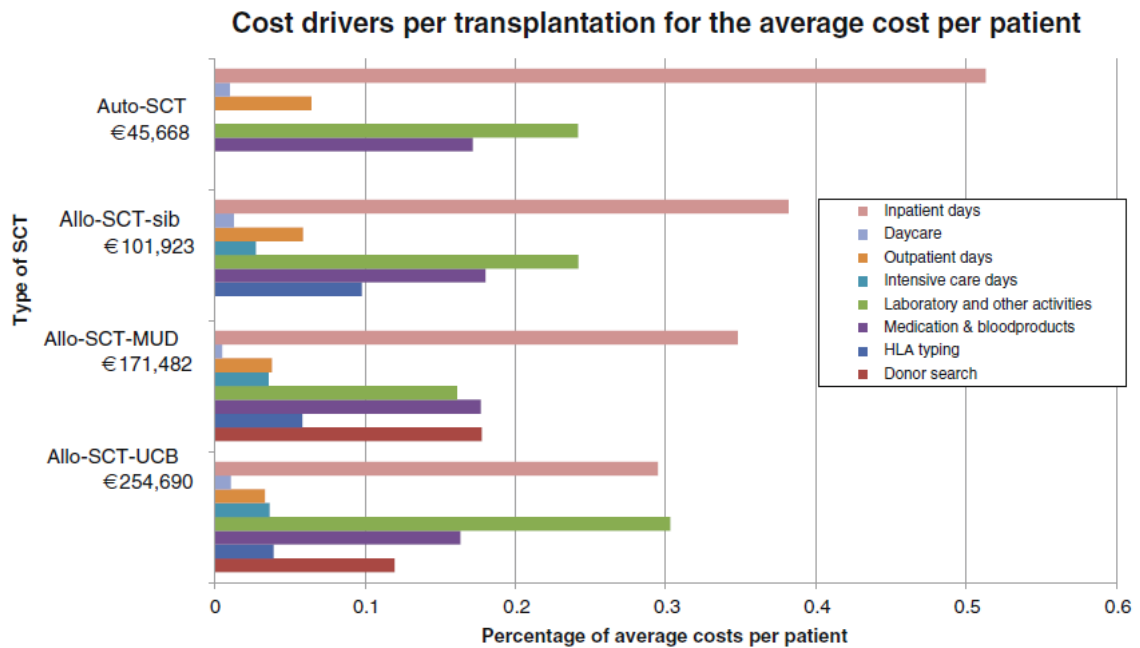


Abb. 4.1: Kosten einer autologen/allogenen Stammzelltransplantation aufgereiht nach stationärem Aufenthalt, Pflege, ambulanter Betreuung, Intensivaufenthalt, laborchemischer Diagnostik, Applikation von Medikamenten und Blutprodukten, HLA Typisierung sowie Spendersuche.

aus: Blommestein HM, Verelst SGR, Huijgens P C et al. Real-world costs of autologous and allogeneic stem cell transplantations for haematological diseases: a multicentre study, *Annals of Hematology* (2012), Seite 6

HHV-6 Enzephalitis [60]. Als signifikanter Risikofaktor konnte die Transplantation von Stammzellen aus Nabelschnurblut ermittelt werden. In dieser Studie konnte bei fünf von acht Patienten zum Zeitpunkt der viralen Enzephalitis eine akute GVHD festgestellt werden. Es wurden acht Patienten (4 %) mit positivem Liquornachweis in die Studie eingeschlossen. Dies bedeutet in der Zusammenschau, dass die Inzidenz (Mittel 1.2 %, 95 % KI 0.8 % - 1.6 %), die in unserer Studie ermittelt wurde im Vergleich mit den viel kleiner angelegten Studien repräsentativ erscheint.

Die Mehrzahl der viralen Enzephalitiden wurde durch HHV-6 verursacht, gefolgt von EBV, HSV, JC, CMV, VZV und Adenovirus. Dieses Spektrum der Erreger unterscheidet sich wesentlich von dem bei immunkompetenten Patienten, bei denen cerebrale Infektionen vor allem durch HSV und VZV ausgelöst werden [59]. In Studien, die Patienten mit Immundefizienzsyndromen (z.B. HIV) einschlossen, konnte wiederum ein anderes Erregerspektrum ermittelt werden mit einer Prävalenz für CMV, gefolgt von VZV, JC und HHV-6 Infektionen [52, 62, 63, 64, 65].

Der früheste Beginn für die virale Enzephalitis konnte bei Patienten mit HHV-6 Infektionen gefunden werden (Median 60 Tage nach allogener Stammzelltransplantation). Dies entspricht den Ergebnissen einer Serie von HHV-6 Enzephalitiden mit einem Median von 60 Tagen, war aber später als in einer anderen Studie zu HHV-6 Enzephalitis, in der eine Manifestation der Erkrankung im Median 24 Tage bzw. 41 Tage nach allogener Stammzelltransplantation festgestellt werden konnte [51, 66, 60]. Möglicherweise liegt dies an der höheren Anzahl an Patienten, die mit Fludarabin basierten Regime konditioniert wurden im Vergleich zur Studie von Muta et al und Sakai et al (67 % zu 30 % bzw. 12.5 %). Für andere virale Infektionen wie z.B. CMV konnte bereits gezeigt werden, dass bei der Anwendung von RIC verglichen mit konventionellen myeloablativen Regime die Infektion lediglich verzögert auftritt [67].

Der Ausbruch der viralen Infektion war in den Fällen mit HHV-6-assoziiierter Enzephalitis früher als in den nicht HHV-6 bedingten Fällen, der späteste Ausbruch konnte für die JC-assoziierte PML dokumentiert werden (Median 334 Tage). Die Gründe hierfür sind unklar, diskutiert werden Empfänger bedingte Faktoren wie zum Beispiel die spezifische T-Zell Rekonstitution [37], aber auch Virus spezifische Charakteristika wie Replikationskinetik oder Neurovirulenz.

Das Spektrum der klinischen Manifestation beinhaltete zum größten Teil unspezifische Symptome wie Vigilanzminderung, Fieber und epileptische Anfälle. Psychiatrische Auffälligkeiten konnten bei 67 % der Patienten dokumentiert werden und fanden sich vermehrt bei Patienten mit HHV-6 bedingter Enzephalitis. Diese Symptome sind typischerweise bei Befall des limbischen Kortex nachweisbar und konnten bereits in mehreren Studien für HHV-6 Enzephalitiden dokumentiert werden [60, 68]. Ein Kardinalsymptom der limbischen Enzephalitis ist der Verlust des Kurzzeitgedächtnis, dieses Symptom ist in unserer Studie möglicherweise aufgrund des retrospektiven Designs unterrepräsentiert. Eindeutige Symptome für eine virale Enzephalitis gibt es demnach nicht, dennoch muss bei neurologischen Defiziten eine virale Infektion des ZNS differentialdiagnostisch in Betracht gezogen werden.

Der Nachweis von viraler DNS aus Liquor via PCR gilt als Goldstandard in der Diagnostik der viralen Enzephalitis bei nicht immunsupprimierten Patienten und wird ebenfalls für Patienten nach PBSZ mit Verdacht auf HSV, VZV oder EBV assoziierter Enzephalitis empfohlen [56, 57]. Insbesondere bei immunsupprimierten Patienten mit neurologischen Defiziten sollte der Ausschluss einer viralen Enzephalitis mittels PCR zeitnah erfolgen, da bei dieser Patientengruppe infolge der Grunderkrankung eine atypische Klinik zu erwarten ist [69]. Häufigste verursachende Viren bei immunkompetenten

Patienten sind HSV und VZV, bei immunsupprimierten Patienten sollte der Liquor zusätzlich auf EBV, CMV, HHV-6 und -7 untersucht werden [59]. Die hohe Sensitivität von einigen PCR Assays erschwert die Bedeutung eines positiven EBV oder CMV Nachweises aus Liquorproben, in diesen Fällen sollte ein Vergleich mit Serum via real time PCR angestrebt werden: Bei einer höheren Viruslast des Liquors ist von einer frischen Infektion auszugehen [59].

Die laborchemische Untersuchung des Liquors ist ein wesentlicher Schritt in der Diagnostik einer Enzephalitis. Untersucht werden die Glukose- und Proteinkonzentration, die Zellzahl und das Differentialzellbild. Die Ergebnisse werden um die klinische Beurteilung wie Liquorbeschaffenheit (trüb, klar, eitrig, hämorrhagisch) ergänzt und geben wertvolle Informationen über den verursachenden Erreger: Bei viralen Infektionen erwartet man üblicherweise eine leicht erhöhte Zellzahl mit erhöhtem Lymphozytenanteil bei normalem Glukose – und Proteingehalt, zudem ist der Liquor klar [59].

Die Liquorzellzahl und Proteinkonzentration war normal bei 52 % und 54 % der Patienten. Allerdings konnten interessante Eigenschaften einiger Viren festgestellt werden: Eine lymphozytäre Pleozytose konnte bei der Mehrzahl der Patienten mit HSV-assoziiertes Enzephalitis und bei denen mit mehreren Erregern (70 - 80 %) nachgewiesen werden, in den Fällen mit EBV- bzw. HHV-6-assoziiertes Enzephalitis trat dies dagegen weniger häufig auf (33 - 29 %).

Die morphologischen Veränderungen des Hirnparenchyms, die durch eine virale Enzephalitis ausgelöst werden, stellen sich in cCT und cMRT meist unspezifisch dar: Häufig sind fokale oder diffuse cerebrale Ödeme nachweisbar, bzw. eine Hirnatrophie in chronischen Stadien [70]. Pathognomonische Veränderungen sind für HSV Infektionen bekannt, hier sind vor allem Regionen des limbischen Kortex bzw. Temporallappens betroffen. Generell ist die Diagnostik via cMRT sensitiver für die Identifizierung von viralen Enzephalitiden als das cCT, insbesondere via FLAIR-Sequenz (fluid attenuated inversion recovery) können bereits geringe Veränderungen des Hirnparenchyms in frühen Stadien der Infektion dargestellt werden [71].

In unserer Studie konnten in 53 % der Fälle Erreger spezifische Veränderungen via cCT oder cMRT festgestellt werden. Diese relativ niedrige Anzahl an pathognomonischen Befunden mag an der Tatsache liegen, dass einige Patienten nur cCTs unterzogen wurden. Typische cerebrale Veränderungen demaskieren sich beispielsweise bei HHV-6 Infektionen nur MRT-morphologisch [72]: Hier erwartet man üblicherweise eine kortikal betonte Hyperintensität des Hirnparenchyms [70].

Überraschenderweise konnten bei keinem der Patienten mit HSV-Infektion pathologische Befunde in der bildgebenden Diagnostik gefunden werden, obwohl bei der HSV Enzephalitis bei immunkompetenten Erkrankten sowohl MRT- als auch CT-morphologisch typische Befunde zu erwarten sind [72, 70]. Demzugrunde liegt möglicherweise die anhaltende Leukopenie und somit das Ausbleiben einer lokalen Immunreaktion.

Bei der durch das JC-Virus ausgelösten progressiven multifokalen Leukenzephalopathie findet man größtenteils Läsionen der weißen Substanz insbesondere im Bereich des Parietal- bzw. Occipitallappens [70]. In allen 3 Fällen mit JC-assoziiierter PML konnten typische „white matter“ Läsionen dokumentiert werden, in einem Fall war jedoch auch graue Substanz betroffen. Dies bestätigt die Ergebnisse anderer Autoren, dass PML-assoziierte Läsionen nicht ausschließlich auf die weiße Substanz beschränkt sind [42].

Bisher gilt die Empfehlung immunsupprimierte Patienten mit HHV-6 assoziierter Enzephalitis mit Ganciclovir oder Foscarnet zu behandeln, eine Überlegenheit eines der beiden Virostatika konnte nicht belegt werden [73, 74]. Es wird allerdings diskutiert, dass die Kombination von beiden Medikamenten zur Behandlung der HHV-6 Enzephalitis der Monotherapie überlegen ist. In unserer Studie wurden alle Patienten mit HHV-6 assoziierter Enzephalitis mit Foscarnet behandelt, was zu einer Heilung in 63 % der Fälle führte. Die Therapie war in all jenen Fällen (3 Patienten), die zusätzlich mit Ganciclovir behandelt wurden, erfolgreich. Die Foscarnet Monotherapie führte in allen 3 Fällen nicht zur Heilung. Dies stützt die oben genannte These einer Empfehlung, die beiden Virostatika zu kombinieren.

Auch in der Therapie der CMV Enzephalitis wird eine Kombination aus Ganciclovir und Foscarnet empfohlen, da eine Zunahme von Resistenzen gegenüber der Monotherapie mit Ganciclovir bei CM-Viren beobachtet wurde [73].

Die amerikanische Gesellschaft für Infektionskrankheiten gibt keine klare Therapie-strategie zur Behandlung der EBV-assoziierten Enzephalitis an. Eine Therapie mit Aciclovir wird nicht empfohlen, die symptomatische Therapie mit Kortikoiden sollte im Einzelfall geprüft werden [74]. Die Gesellschaft für Neurologie hält in ihren Leitlinien einen Therapieversuch mit Ganciclovir für gerechtfertigt. Andere Autoren empfehlen Aciclovir oder Ganciclovir [50, 53, 74]. In unserer Studie führte die Therapie mit Foscarnet, Ganciclovir, Aciclovir und Rituximab in verschiedenen Kombinationen bei 3 von 5 Patienten zum Erfolg. Hier werden weitere Studien nötig sein, um eine konsequente Therapiestrategie zu entwickeln und validierte Empfehlungen geben zu können.

Einer von drei Patienten mit PML profitierte von der Therapie mit Cidofovir. Die Deutsche Gesellschaft für Neurologie rät zur Therapie mit Cidofovir, wobei eine gesicherte Empfehlung ebenfalls nicht vorliegt. Es gab andere Therapieversuche, beispielsweise mit Mefloquin, einem Therapeutikum, das zur Prophylaxe der Malaria eingesetzt wird, doch eindeutige Empfehlungen stehen bislang aus [75, 76].

Bei immunkompetenten Patienten mit HSV-Enzephalitis wird Aciclovir empfohlen. Besteht der Verdacht auf eine HSV-assoziierte Infektion sollte unverzüglich mit der Therapie begonnen werden, da so die Letalität um bis zu 20 % gesenkt werden kann [52, 73]. Auch in unserer Studie konnte bei allen HSV-assoziierten ZNS-Infektionen eine Aciclovir-basierte Therapie zur Heilung führen.

Vier der fünf Patienten mit CMV-assoziiierter Enzephalitis waren CMV-seropositive Empfänger mit CMV-seronegativen Spendern. Diese Konstellation stellt ein großes Risiko für die Entwicklung einer CMV-Enzephalitis dar. Interessanterweise waren jeweils ein Patient mit HSV- und ein Patient mit EBV-Enzephalitis seronegativ für das betreffende Virus und erhielten die Stammzellen von seropositiven Spendern. Im Hinblick auf die Spenderübertragung müssen diese Viren also selbst bei seronegativen Empfängern als ursächlich für eine Enzephalitis gesehen werden.

Die Entwicklung einer viralen Enzephalitis war in unserer Studie signifikant mit der Applikation von Alemtuzumab und Muromonab assoziiert. Die monoklonalen Antikörper binden an CD-52 bzw. CD-3 Rezeptoren von Lymphozyten und zerstören diese. Die Antikörper werden zur Ergänzung der Therapie non-myeloablativer Regime eingesetzt, dadurch soll eine GVHD verhindert werden. Zudem werden sie zur Therapie der chronisch lymphatischen Leukämie bzw. bei Steroid refraktärer GVHD angewendet. Aktuell soll Alemtuzumab zur Therapie der multiplen Sklerose eingeführt werden. Das erhöhte Risiko für virale (vor allem CMV und EBV), bakterielle sowie für Aspergillus assoziierte Infektionen konnte insbesondere für Alemtuzumab gezeigt werden. Es wird vermutet, dass die durch den Antikörper verursachte Langzeitsuppression von CD-4+ und CD-8+ Zellen mit einem erhöhten Infektionsrisiko in Zusammenhang steht [54, 55, 77]. Eine Studie aus den USA untersuchte die Komplikationen einer MMF-Therapie bei Patienten mit Myasthenia Gravis und konnte ebenfalls eine erhöhte Infektionsrate bei diesen Patienten feststellen (sieben Patienten mit Infektionen in der MMF-Gruppe zu drei Patienten ohne MMF-Therapie) [78].

Das Überleben nach allogener Transplantation hängt von vielen Faktoren ab: Grunderkrankung, Konstitution des Patienten vor Transplantation, vorherige Therapien, Konditionierungsschema u.v.a. Die Mortalität in der Gruppe mit viraler Enzephalitis war höher

als in der Gruppe ohne Enzephalitis, der Median der Überlebensdauer nach Ausbruch der viralen Enzephalitis betrug 94 Tage. Die Mortalität der Enzephalitis war abhängig vom Erreger: So führte beispielsweise in den HSV-Fällen keine einzige Infektion zum Tod, dafür allerdings verstarben 80 % der Patienten mit Enzephalitis, die durch mehrere Erreger verursacht war. Ob die Enzephalitis als Haupttodesursache verantwortlich gemacht werden kann, ist im Rahmen einer retrospektiv angelegten Studie nicht sicher zu beurteilen. Viele Patienten verstarben im Zuge eines sekundären Multiorganversagens bei GVHD oder Sepsis ohne eindeutigen Erregernachweis. Zusammenfassend trägt die Entwicklung einer viralen Enzephalitis nach PBSZ zur Kompromittierung des betroffenen Patienten bei: Die Mortalität steigt durch die virale Infektion sowie das Risiko, weitere Komplikationen bzw. sekundäre Infektionen zu entwickeln.

5 Zusammenfassung

Aus einer Kohorte von 2628 Patienten, die einer allogenen Transplantation hämatopoetischer Stammzellen unterzogen wurden, wurden 32 Patienten mit viraler Infektion des zentralen Nervensystems ermittelt. Es handelt sich bei dieser Arbeit um eine multizentrische, retrospektiv angelegte Studie, in der die Daten aus dem Zeitraum von 1999 bis 2009 von insgesamt 10 deutschen Transplantationszentren ausgewertet wurden.

Nach publizierten Daten ist dies die erste Studie, die die virale Enzephalitis bei Patienten nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen auf verschiedene Charakteristika und Erreger untersucht und insgesamt die größte Studie die bis dato zu diesem Thema veröffentlicht wurde. Indes ist die Anzahl an viralen Enzephalitiden noch immer sehr gering und eine Unterschätzung der Inzidenz kann letztlich aufgrund des retrospektiven Designs nicht komplett ausgeschlossen werden. Allerdings sind die Zahlen gegenüber den Ergebnissen von drei kleineren prospektiv angelegten Studien vergleichbar [79, 44, 60].

Diese Studie konnte zeigen, dass das Auftreten einer viralen Enzephalitis nach allogener Stammzelltransplantation signifikant mit der Gabe der Antikörper Muromonab bzw. Alemtuzumab assoziiert ist. Diese Antikörper führen zu einer T-Zell Depletion und werden in der allogenen Stammzelltransplantation zur Verhinderung einer GVHD eingesetzt.

Am häufigsten konnten cerebrale Infektionen mit humanem Herpesvirus 6 nachgewiesen werden, gefolgt von anderen Viren der Herpesfamilie wie EBV, HSV, CMV, VZV sowie Infektionen durch JC-Viren und Adenoviren. Es ergaben sich große Unterschiede für den Zeitpunkt des Ausbruchs der Erkrankung, die klinische Symptomatik, den diagnostischen Nachweis, das Überleben der Patienten, die Therapiestrategie etc. Letztlich ist jedoch das Leben der betroffenen Patienten mit Enzephalitis nach allogener Stammzelltransplantation deutlich eingeschränkt und verkürzt.

Abkürzungsverzeichnis

AML Akute myeloische Leukämie

ALL Akute lymphatische Leukämie

Bu Busulfan

CD Differenzierungsantigene (cluster of differentiation)

CLL Chronisch lymphatische Leukämie

CMV Cytomegalievirus

CyA Ciclosporin (cyclosporin A)

Cy Cyclophosphamid

DLI Spender Lymphozyten Infusion (donor lymphocyte infusion)

DNS Desoxyribonukleinsäure

EBV Epstein-Barr-Virus

EEG Elektroenzephalogramm

FLAIR Fluid attenuated inversion recovery

Fludara Fludarabin

G-CSF Granulozyten-Kolonie stimulierender Faktor (granulocyte-colony stimulating factor)

GVHD Transplantat gegen Empfänger Reaktion (graft-versus-host disease)

GVL Transplantat gegen Leukämie Reaktion (graft-versus-leukemia)

HVGD Empfänger gegen Transplantat Reaktion (host-versus-graft disease)

HHV-6 Humanes Herpesvirus-6

HHV-7 Humanes Herpesvirus-7

HLA Humane Leukozyten-Antigene

HSV Herpes-simplex-Virus

IBMTR Internationales Register für Knochenmarkstransplantation (International Bone Marrow Transplant Registry)

JC John Cunningham

KI Konfidenzintervall

MDS Myelodysplastisches Syndrom

MHC Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex)

MMF Mycophenolatmofetil

MMRD Nicht HLA-identischer verwandter Spender (mismatched related donor)

MMUD Nicht HLA-identischer unverwandter Spender (mismatched unrelated donor)

MRD HLA-identischer verwandter Spender (matched related donor)

MTX Methotrexat

MUD HLA-identischer unverwandter Spender (matched unrelated donor)

NHL Non-Hodgkin-Lymphom

NIH Nationale Gesundheitsinstitute (der USA) (National Institutes of Health)

PBSZ Periphere Blutstammzellen

PCR Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction)

PML Progressive multifokale Leukenzephalopathie

RIC Konditionierung mit reduzierter Intensität (reduced intensity conditioning)

SCT Stammzelltransplantation (stem cell transplantation)

sib Geschwister (sibling)

TBI Ganzkörperbestrahlung (total body irradiation)

TCD T-Zell-Depletion (T-cell depletion)

TRM Transplantationsassoziierte Mortalität (transplant related mortality)

Tx Transplantation

UCB Nabelschnurblut (umbilical cord blood)

VOD Venenverschlusskrankheit (veno-occlusive disease)

VZV Varizella-Zoster-Virus

ZNS Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

1.1	Ursprung der Zellen des Immunsystems	4
1.2	Anzahl der allogenen Transplantationen in Deutschland von 1998 bis 2011	7
1.3	Anzahl der allogenen Ersttransplantationen bei CML in Deutschland von 1998 bis 2011	7
1.4	Allogene Ersttransplantationen in Deutschland: Nutzung von Knochenmark (KM) und peripherem Blut (PB) als Stammzellquelle zwischen 1998 und 2011	9
1.5	Anfälligkeit für bestimmte Erreger in Abhängigkeit von der Immunrekonstitution in Tagen nach Transplantation (Tag 0 = Tag der Transplantation)	11
2.1	Dokumentationsbogen Seite 1	21
2.2	Dokumentationsbogen Seite 2	22
2.3	Dokumentationsbogen Seite 3	23
3.1	Spektrum der Viren und Prävalenz, n = 32 (Anzahl der Patienten in absoluten und relativen Zahlen in Klammern)	30
3.2	Klinische Manifestation der viralen Enzephalitis in Tagen nach allogener Stammzelltransplantation	31
3.3	CCT von Patient mit EBV-assoziiertes Enzephalitis: deutlich zunehmendes Hirnödeme und bihemisphärische Marklagerveränderungen; zuletzt massives Hirnödeme mit Einklemmung und multiplen intraparenchymatösen und subarachnoidalen Einblutungen.	38
3.4	CCT von Patient mit VZV-assoziiertes Enzephalitis: verstrichene Gyri als Zeichen des beginnenden Hirnödems.	38
4.1	Kosten einer autologen/allogenen Stammzelltransplantation aufgereiht nach stationärem Aufenthalt, Pflege, ambulanter Betreuung, Intensivaufenthalt, laborchemischer Diagnostik, Applikation von Medikamenten und Blutprodukten, HLA Typisierung sowie Spendersuche.	43

Literaturverzeichnis

- [1] Morrison SJ, Shah NM und Anderson DJ. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell*, 88(3):287–298, Februar 1997.
- [2] Wilson A und Trumpp A. Bone marrow haematopoietic stem cell niches. *Nature reviews. Immunology*, 6(2):93–106, Februar 2006.
- [3] Pezzutto A, Ulrichs T und Burmester GR. *Taschenatlas der Immunologie: Grundlagen, Labor, Klinik*. Thieme, 2 edition, November 2006.
- [4] Till J und McCulloch EA. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res*, 14:213–22, 1961.
- [5] Becker AJ, McCulloch EA und Till JE. Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature*, 197(4866):452–454, Februar 1963.
- [6] Thomas ED, Lochte HL, Lu WC *et al.* Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *The New England journal of medicine*, 257(11):491–496, September 1957.
- [7] Thomas ED, Lochte HL, Cannon JH *et al.* Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J Clin Invest*, 38:1709–16, 1959.
- [8] Reemtsma K, McCracken BH, Schlegel JU *et al.* Reversal of early graft rejection after renal heterotransplantation in man. *JAMA*, 187:691–6, 1964.
- [9] Hart DP und Peggs KS. Current status of allogeneic stem cell transplantation for treatment of hematologic malignancies. *Clin Pharmacol Ther*, 82(3):325–9, 2007.
- [10] Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M *et al.* Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in europe. *Bone Marrow Transplant*, 37(5):439–49, 2006.
- [11] Aschan J. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: current status and future outlook. *Br Med Bull*, 77–78:23–36, 2006.
- [12] Schmid C und Kolb HJ. Allogeneic stem cell transplantation in the management of acute myeloid leukemia. *Med Klin (Munich)*, 102(4):317–23, 2007.

- [13] Shapira MY, Hai AA, Tsirigotis P *et al.* Hematopoietic stem cell therapy for malignant diseases. *Ann Med*, 39(6):465–73, 2007.
- [14] Apperley J, Carreras E, Gluckman E *et al.* *The EBMT-ESH Handbook*. European Group for Blood and Marrow Transplantation/ Forum Service Editore, 2008.
- [15] Beelen DW und Mytilineos J. Jahresbericht 2011. *Deutsches Stammzellregister*, pages 1–35, 2011.
- [16] Pidala J, Anasetti C, Kharfan-Dabaja MA *et al.* Decision analysis of peripheral blood versus bone marrow hematopoietic stem cells for allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 15(11):1415–21, November 2009.
- [17] Abrahamsen IW, Sømme S, Heldal D *et al.* Immune reconstitution after allogeneic stem cell transplantation: the impact of stem cell source and graft-versus-host disease. *Haematologica*, 90(1):86–93, 2005.
- [18] Gluckman E und Rocha V. Cord blood transplantation: state of the art. *Haematologica*, 94(4):451–4, 2009.
- [19] Kurtzberg J. Update on umbilical cord blood transplantation. *Curr Opin Pediatr*, 21(1):22–9, 2009.
- [20] Mackall C, Fry T, Gress R *et al.* Background to hematopoietic cell transplantation, including post transplant immune recovery. *Bone Marrow Transplant*, 44(8):457–62, 2009.
- [21] Dorshkind K, Montecino-Rodriguez E und Signer R. The ageing immune system: is it ever too old to become young again? *Nature Reviews Immunology*, 9(1):57–62, 2009.
- [22] Kollman C, Howe C, Anasetti C *et al.* Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood*, 98(7):2043–51, 2001.
- [23] Storek J. Immunological reconstitution after hematopoietic cell transplantation - its relation to the contents of the graft. *Expert Opin Biol Ther*, 8(5):583–97, 2008.
- [24] Hiemenz JW. Management of infections complicating allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Semin Hematol*, 46(3):289–312, 2009.
- [25] International Blood Cfor und Research MT. Current uses and outcomes of hematopoietic stem cell transplantation, summary slides worldwide. 2011.

- [26] Seggewiss R und Einsele H. Immune reconstitution after allogeneic transplantation and expanding options for immunomodulation: an update. *Blood*, 115(19):3861–8, 2010.
- [27] Kim SH, Kee SY, Lee DG *et al.* Infectious complications following allogeneic stem cell transplantation: reduced intensity vs. myeloablative conditioning regimes. *Transpl Infect Dis*, 15:49–59, 2013.
- [28] Pietersma FL, Dorp Svan , Minnema MC *et al.* Influence of donor cytomegalovirus (cmv) status on severity of viral reactivation after allogeneic stem cell transplantation in cmv-seropositive recipients. *Clin Infect Dis*, 52(7):e144–8, 2011.
- [29] Corre E, Carmagnat M, Busson M *et al.* Long-term immune deficiency after allogeneic stem cell transplantation: B-cell deficiency is associated with late infections. *Haematologica*, 95(6):1025–9, 2010.
- [30] Anderson JE, Appelbaum FR, Schoch G *et al.* Relapse after allogeneic bone marrow transplantation for refractory anemia is increased by shielding lungs and liver during total body irradiation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 7(3):163–70, 2001.
- [31] Ringdén O, Horowitz MM, Gale RP *et al.* Outcome after allogeneic bone marrow transplant for leukemia in older adults. *JAMA*, 270(1):57–60, 1993.
- [32] Baron F, Maris MB, Sandmaier BM *et al.* Graft versus tumor effects after allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *J Clin Oncol*, 23(9):1993–2003, 2005.
- [33] Valcárcel D und Martino R. Reduced intensity conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in myelodysplastic syndromes and acute myelogenous leukemia. *Curr Opin Oncol*, 19(6):660–6, 2007.
- [34] Jenq RR und Brink MRMvan den . Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: individualized stem cell and immune therapy of cancer. *Nat Rev Cancer*, 10(3):213–21, 2010.
- [35] Travnik R, Beckers M, Wolff D *et al.* Graft versus host disease (gvhd) - an update : Part 1: Pathophysiology, clinical features and classification of gvhd. *Hautarzt*, 2011.
- [36] Glucksberg H, Storb R, Fefer A *et al.* Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from hla-matched sibling donor. *Transplantation*, 18:295–304, 1974.
- [37] Reddy SM, Winston DJ, Territo MC *et al.* Cmv central nervous system disease in stem-cell transplant recipients: an increasing complication of drug-resistant cmv

- infection and protracted immunodeficiency. *Bone Marrow Transplant*, 45(6):979–84, 2010.
- [38] Akpek G. Clinical grading in chronic graft versus host disease: is it time for change? *Leuk Lymphoma*, 43(6):1211–20, 2002.
- [39] Lee SJ, Vogelsang G und Flowers ME. Chronic graft versus host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 9(4):215–33, April 2003.
- [40] Inamoto Y und Flowers MED. Treatment of chronic graft versus host disease in 2011. *Curr Opin Hematol*, 18(6):414–20, 2011.
- [41] Sullivan KM, Witherspoon RP, Storb R *et al.* Alternating day ciclosporine and prednisone for treatment of high-risk chronic graft versus host disease. *Blood*, 72(2):555–61, 1988.
- [42] Kharfan-Dabaja MA, Ayala E, Greene J *et al.* Two cases of progressive multifocal leukoencephalopathy after allogeneic hematopoietic cell transplantation and a review of the literature. *Bone Marrow Transplant*, 39(2):101–7, 2007.
- [43] Kharfan-Dabaja MA und Cutler CS. Rituximab for prevention and treatment of graft versus host disease. *International Journal of Hematology*, 93(5):578–585, Mai 2011.
- [44] Sostak P, Padovan CS, Yousry TA *et al.* Prospective evaluation of neurological complications after allogeneic bone marrow transplantation. *Neurology*, 60(5):842–8, 2003.
- [45] Antonini G, Ceschin V, Morino S *et al.* Early neurologic complications following allogeneic bone marrow transplant for leukemia: a prospective study. *Neurology*, 50(5):1441–5, 1998.
- [46] Graus F, Saiz A, Sierra J *et al.* Neurologic complications of autologous and allogeneic bone marrow transplantation in patients with leukemia: a comparative study. *Neurology*, 46(4):1004–9, 1996.
- [47] Denier C, Bourhis JH, Lacroix C *et al.* Spectrum and prognosis of neurologic complications after hematopoietic transplantation. *Neurology*, 67(11):1990–7, 2006.
- [48] Maschke M, Dietrich U, Prumbaum M *et al.* Opportunistic CNS infection after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 23(11):1167–76, 1999.

- [49] Roemer E, Blau IW, Basara N *et al.* Toxoplasmosis, a severe complication in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: successful treatment strategies during a 5-year single-center experience. *Clin Infect Dis*, 32(1):E1–8, 2001.
- [50] Schmidt-Hieber M, Zweigner J, Uharek L *et al.* Central nervous system infections in immunocompromised patients: update on diagnostics and therapy. *Leuk Lymphoma*, 50(1):24–36, 2009.
- [51] Muta T, Fukuda T und Harada M. Human herpesvirus-6 encephalitis in hematopoietic sct recipients in japan: a retrospective multicenter study. *Bone Marrow Transplant*, 43(7):583–5, 2009.
- [52] Whitley RJ. Herpes simplex encephalitis: Adolescents and adults. *Antiviral Research*, 71(2-3):141–148, September 2006.
- [53] Pruitt AA. Central nervous system infections in cancer patients. *Semin Neurol*, 4:435–52, 2004.
- [54] Chakrabarti S, Mackinnon S, Chopra R *et al.* High incidence of cytomegalovirus infection after nonmyeloablative stem cell transplantation: potential role of campath-1h in delaying immune reconstitution. *Blood*, 99(12):4357–63, 2002.
- [55] Schmidt-Hieber M, Schwarck S, Stroux A *et al.* Immune reconstitution and cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation: the important impact of in vivo t cell depletion. *Int J Hematol*, 91(5):877–85, 2010.
- [56] Boivin G. Diagnosis of herpesvirus infections of the central nervous system. *Herpes*, 11 Suppl 2:48A–56A, 2004.
- [57] Styczynski J, Reusser P, Einsele H *et al.* Management of hsv, vzv and ebv infections in patients with hematological malignancies and after sct: guidelines from the second european conference on infections in leukemia. *Bone marrow transplantation*, 43(10):757–770, Mai 2009.
- [58] Carson KR, Evens AM, Richey EA *et al.* Progressive multifocal leukoencephalopathy after rituximab therapy in hiv-negative patients: a report of 57 cases from the research on adverse drug events and reports project. *Blood*, 113(20):4834–40, 2009.
- [59] Solomon T, Hart IJ und Beeching NJ. Viral encephalitis: a clinician's guide. *Practical Neurology*, 7(5):288–305, Oktober 2007.
- [60] Sakai R, Kanamori H, Motohashi K *et al.* Long-term outcome of human herpesvirus-6 encephalitis after allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 17:1389–1394, 2011.

- [61] Blommestein HM, Verelst SGR, Huijgens PC *et al.* Real-world costs of autologous and allogeneic stem cell transplantations for haematological diseases: a multicentre study. *Ann Hematol*, 2012.
- [62] Koskiniemi M, Rantalaiho T, Piiparinen H *et al.* Infections of the central nervous system of suspected viral origin: a collaborative study from finland. *journal of neurovirology*, 7(5):400–408, Oktober 2001.
- [63] Quereda C, Corral I, Laguna F *et al.* Diagnostic utility of a multiplex herpesvirus pcr assay performed with cerebrospinal fluid from human immunodeficiency virus-infected patients with neurological disorders. *J Clin Microbiol*, 38(8):3061–7, 2000.
- [64] Broccolo F, Iuliano R, Careddu AM *et al.* Detection of lymphotropic herpesvirus dna by polymerase chain reaction in cerebrospinal fluid of aids patients with neurological disease. *Acta Virol*, 44(3):137–43, 2000.
- [65] Zelman IB und Mossakowski MJ. Opportunistic infections of the central nervous system in the course of acquired immune deficiency syndrome (aids). morphological analysis of 172 cases. *Folia Neuropathol*, 36(3):129–44, 1998.
- [66] Vu T, Carrum G, Hutton G *et al.* Human herpesvirus-6 encephalitis following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 39(11):705–9, 2007.
- [67] Junghanss C, Boeckh M, Carter RA *et al.* Incidence and outcome of cytomegalovirus infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic stem cell transplantation, a matched control study. *Blood*, 99(6):1978–85, 2002.
- [68] Seeley WW, Marty FM, Holmes TM *et al.* Post-transplant acute limbic encephalitis: clinical features and relationship to hhv6. *Neurology*, 69(2):156–65, 2007.
- [69] Meyding-Lamadé U und Strank C. Herpesvirus infections of the central nervous system in immunocompromised patients. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 5(5):279–96, September 2012.
- [70] Hähnel S. Viral encephalitis. *Medical Radiology. Diagnostic Imaging*, pages 1–12, 2012.
- [71] Steiner I, Budka H, Chaudhuri A *et al.* Viral encephalitis: a review of diagnostic methods and guidelines for management. *Eur J Neurol*, 12(5):331–43, 2005.
- [72] Noguchi T, Yoshiura T, Hiwatashi A *et al.* Ct and mri findings of human herpesvirus 6-associated encephalopathy: comparison with findings of herpes simplex virus encephalitis. *AJR Am J Roentgenol*, 194(3):754–60, 2010.

- [73] Zamora MR. Dna viruses (cmv, ebv, and the herpesviruses). *Semin Respir Crit Care Med*, 32(4):454–70, 2011.
- [74] Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC *et al.* The management of encephalitis: Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america. *Clinical Infectious Diseases*, 47(3):303–327, August 2008.
- [75] Beppu M, Kawamoto M, Nukuzuma S *et al.* Mefloquine improved progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient with systemic lupus erythematosus. *Internal Medicine*, 51(10):1245–1247, 2012.
- [76] Moenster RP und Jett RA. Mirtazapine and mefloquine therapy for progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient infected with human immunodeficiency virus. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 69(6):496–8, März 2012.
- [77] Junya K, Lopez RD und Rizzieri DA. Alemtuzumab for the prevention and treatment of graft versus host disease. *International Journal of Hematology*, 93(5):586–593, Mai 2011.
- [78] Termsarasab P und Katirji B. Opportunistic infections in myasthenia gravis treated with mycophenolate mofetil. *Journal of Neuroimmunology*, 249:83–85, August 2012.
- [79] Antonini G, Ceschin V, Morino S *et al.* Early neurologic complications following allogeneic bone marrow transplant for leukemia: a prospective study. *Neurology*, 50(5):1441–5, 1998.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Julie Schwender, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Virale ZNS-Infektionen nach allogener Transplantation hämatopoetischer Stammzellen* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet. Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet. Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum, Unterschrift

Lebenslauf

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

Publikationsliste

Schmidt-Hieber M, Schwender J, Heinz W, Zabelina T, Kuehl J, Mousset S, Schuettrumpf S, Junghanss C, Silling G, Basara N, Neuburger S, Thiel E, and Blau IW. Viral encephalitis after allogeneic stem cell transplantation: a rare complication with distinct characteristics of different causative agents. *Haematologica*. Vol 96(1):142-149, Januar 2011.

Danksagung

Mein Dank für die enorme Unterstützung und Präsenz bei der Erstellung meiner Doktorarbeit geht vor allem an meinen Doktorvater Herrn PD Dr. med. Igor Wolfgang Blau und meinen Betreuer Herrn PD Dr. med. Martin Schmidt-Hieber. Dank ihrer großen Leidenschaft und erheblichen wissenschaftlichen Kompetenz konnte ich mich für dieses Themenfeld begeistern und diese Arbeit erfolgreich fertigstellen. Dabei waren sie jederzeit erreichbar und haben sich in vielerlei Hinsicht für mich und meine Belange wie selbstverständlich und unbürokratisch eingesetzt, so dass ich mich ausgezeichnet betreut fühlte.

Außerdem möchte ich mich bei meinen Eltern, meiner Schwester und meinem Schwager für ihren fachlichen Beistand, die konstruktive Kritik und ihre stete Zusprache bedanken. Insbesondere danke ich meinem Freund für seine präzise Kritik, unerschöpfliche Unterstützung und sein bei mir sein.