

**Aus der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin**

**(Department) Tübingen**

**Abteilung I**

**(Schwerpunkte: Allgemeine Pädiatrie, Hämatologie/ Onkologie)**

**Ärztlicher Direktor: Professor Dr. med. R. Handgretinger**

**Untersuchungen zur Inzidenz von Viruserkrankungen  
nach allogener Stammzelltransplantation bei Kindern**

**Inaugural- Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard- Karls- Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Friederike Luise Neuhäuser**

**aus**

**Pforzheim**

**2009**

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. P. Lang

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. W. Vogel

Für meine lieben Eltern





<b>1. Einleitung .....</b>	<b>5</b>
1.1. Entwicklung der hämatopoetischen Stammzelltransplantation .....	5
1.2. Arten der Stammzelltransplantation .....	6
1.2.1. Quellen der hämatopoetischen Stammzellen .....	6
1.2.1.1. Knochenmark.....	7
1.2.1.2. Periphere Blutstammzellen .....	7
1.2.1.3. Nabelschnurblut .....	8
1.2.2. Autologe und allogene Stammzelltransplantation.....	8
1.2.3. Spender.....	9
1.2.3.1. HLA-identische Geschwisterspender .....	10
1.2.3.2. HLA-identische Fremdspender .....	10
1.2.3.3. Haploidentische Familienspender .....	10
1.3. Indikationen.....	11
1.4. Engraftment und Immunregeneration.....	13
1.4.1. T-Zellen .....	13
1.4.2. NK-Zellen .....	14
1.5. Komplikationen.....	14
1.6. Virusinfektionen.....	15
1.6.1. Allgemeines.....	15
1.6.2. CMV .....	16
1.6.3. ADV .....	17
1.6.4. HHV6.....	19
1.6.5. EBV .....	19
1.6.6. BK-Virus .....	20
1.6.7. HSV .....	21
1.6.8. VZV .....	22
1.6.9. Parvo-B19-Virus .....	22
1.7. Fragestellung .....	23
<b>2. Patienten und Methoden .....</b>	<b>24</b>
2.1. Patientenkollektiv .....	24
2.1.1. Patientencharakteristika .....	26
2.2. Virologische Diagnostik.....	28

2.2.1. Allgemeine Verfahren der virologischen Diagnostik .....	28
2.2.1.1. Virus-Serologie .....	28
2.2.1.2. Virusanzucht .....	28
2.2.1.3. Antigennachweis .....	29
2.2.1.4. Polymerasekettenreaktion (PCR).....	29
2.2.2. Virologische Überwachung des Patientenkollektivs.....	29
2.3. Definitionen .....	31
2.3.1. Infektion .....	31
2.3.2. Erkrankung .....	31
2.4. Antivirale Therapie und Prophylaxe .....	32
2.5. Statistische Methoden.....	33
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>34</b>
3.1. Allgemein .....	34
3.2. CMV .....	37
3.2.1. CMV im Blut.....	38
3.2.2. CMV im Respirationstrakt.....	39
3.2.3. CMV im Urin .....	41
3.2.4. CMV-Erkrankung und CMV-bedingter Tod.....	42
3.3. ADV.....	44
3.3.1. ADV im Stuhl .....	44
3.3.2. ADV im Blut.....	45
3.3.3. ADV in sonstigem Untersuchungsmaterial .....	47
3.3.4. ADV-Disease und ADV-bedingter Tod .....	47
3.4. HHV6 .....	49
3.5. EBV .....	51
3.6. BK-Virus.....	53
3.7. HSV.....	55
3.8. VZV .....	55
3.9. Parvo-B19-Virus.....	56
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>57</b>
4.1. CMV .....	58
4.2. ADV.....	60

4.3. HHV6 .....	63
4.4. EBV .....	64
4.5. BK-Virus .....	65
4.6. HSV .....	67
4.7. VZV .....	68
4.8. PB19 .....	69
4.9. Schlussfolgerung.....	69
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>72</b>
<b>6. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>73</b>
<b>7. Anhang .....</b>	<b>86</b>
7.1. Tabellen und Abbildungen .....	86
7.1.1. Tabellenverzeichnis .....	86
7.1.2. Abbildungsverzeichnis .....	87
<b>8. Danksagung .....</b>	<b>88</b>
<b>9. Tabellarischer Lebenslauf .....</b>	<b>89</b>





# 1. Einleitung

## 1.1. Entwicklung der hämatopoetischen Stammzelltransplantation

Als hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSCT) wird jede Übertragung von blutbildenden Stammzellen auf ein Individuum unabhängig von der Art des Spenders und der Stammzellquelle bezeichnet. Ziel dieser Therapie ist es, das hämatopoetische System des Empfängers durch die Ansiedlung dieser Stammzellen in dessen Knochenmarksräumen zu ersetzen und nach Proliferation und Differenzierung dieser Zellen wieder eine funktionsfähige Blutbildung herzustellen (Urbano-Ispizua A et al. 2002).

Die Grundlagen für die HSCT wurden Ende der 40er Jahre und Anfang der 50er Jahre gelegt. Damals konnte gezeigt werden, dass Mäuse eine Ganzkörperbestrahlung in tödlicher Strahlendosis durch die Abschirmung ihrer Milz mittels Bleifolie überleben konnten (Jacobson et al., 1949). Ein Überleben derart bestrahlter Mäuse konnte in den folgenden Jahren auch durch eine der Bestrahlung folgende Infusion von Milz- oder Knochenmarkzellen syngener Tiere erzielt werden (Lorenz E et al., 1951). Der Beweis dafür, dass dieses Phänomen auf die übertragenen zellulären Bestandteile zurückzuführen ist, wurde durch den Nachweis zytogenetischer Charakteristika des Spenders im Empfänger erbracht (Ford CE et al., 1956).

Weitere wichtige Meilensteine in der Entwicklung der HSCT waren die Beschreibung und ursächliche Erklärung der Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD) (van Bekkum DW u. DeVries MJ, 1967, Barnes DW et al., 1956, Billingham RE u. Brent L, 1954) sowie die damit verbundene Entdeckung der Histokompatibilitätsantigene (MHC- oder HLA-Antigene) (Snell GD, 1992).

Ende der 50er Jahre wurden erstmals Stammzelltransplantationen am Menschen erfolgreich durchgeführt. 1959 wurde zunächst über die Übertragung von Stammzellen auf zwei Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie durch ihre jeweiligen Zwillinge berichtet (Thomas ED et al., 1959). Im Jahre 1968 gelangen die ersten Knochenmarkstransplantationen bei Patienten mit angeborenen Immundefekten durch Geschwisterspender unter Berücksichtigung ihrer entsprechenden HLA-Merkmale (Bach FH et al., 1968,

Gatti RA et al., 1968). In den folgenden Jahren konnte sich die HSCT klinisch auch unter Ausweitung der Indikationsstellung zunehmend etablieren. So stieg die Zahl der durchgeführten Transplantationen jährlich. Dieser Anstieg hält bis heute an, zumal aufgrund von neuen Entwicklungen vor allem in der Transplantatbearbeitung (Graft Manipulation) sowohl der Pool der möglichen Stammzellspender vergrößert als auch die transplantatbedingte Sterblichkeit und damit das Gesamtüberleben verbessert werden konnten (Locatelli F et al., 2002, Espigado I et al., 2005). 1990 wurden in Europa 4234 HSCTs durchgeführt, im Jahre 2000 waren es bereits über 19 000, 2005 über 24 000 (Gratwohl A et al., 2002, 2007). Besonders die Zahl allogener Transplantationen nimmt stark zu, während die der autologen konstant bleibt. Bis zum Jahr 2012 wird ein weiterer Zuwachs um 13% erwartet (Tan SS et al., 2007).

## **1.2. Arten der Stammzelltransplantation**

### **1.2.1. Quellen der hämatopoetischen Stammzellen**

Substrat jeder HSCT sind die pluripotenten hämatopoetischen Progenitorzellen, die nach Repopulation in den Knochenmarksräumen des Empfängers zu einer vollständigen Hämatopoese aller drei Zelllinien in der Lage sind. Als Marker für diese Zellen wird überwiegend deren Oberflächenantigen CD34 genutzt (Berenson RJ et al., 1988, Handgretinger R et al., 1998).

Der Oberflächenmarker CD133 ist Gegenstand aktueller Forschungen, da CD133<sup>+</sup> Zellen ebenfalls eine repopulierende Aktivität aufweisen und mögliche Vorläufer von CD34<sup>+</sup> Zellen sein können, die jedoch eine bessere klonogene Kapazität und Stammzell-Plastizität aufweisen als CD133<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> Zellen (Gordon PR et al., 2003, Kuci S et al., 2003).

Diese Progenitorzellen befinden sich normalerweise überwiegend in den Knochenmarksräumen, zu einem wesentlich geringeren Anteil aber auch im peripheren Blut oder im frischen Nabelschnurblut.

### **1.2.1.1. Knochenmark**

Die hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks werden durch Punktion des hinteren Beckenkamms und anschließender Aspiration des blutbildenden Gewebes gewonnen. Dabei werden beim Erwachsenen Spender etwa 1000 ml mit ca.  $1 \times 10^{10}$  MNC und einem Gehalt von ca. 0,5–1% CD34<sup>+</sup> Stammzellen gewonnen. Dies entspricht einer Menge von etwa  $50\text{--}100 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup> Stammzellen. Die Entnahme von Knochenmark ist in der Regel nur einmal möglich.

Das Knochenmark (KM) galt initial als Standard-Stammzellquelle, weil hier keine Behandlung des Spenders mit hämatopoetischen Wachstumsfaktoren nötig ist. Es wird aktuell aufgrund der guten Erfahrung mit den peripheren Blutstammzellen aber zunehmend seltener angewendet.

### **1.2.1.2. Periphere Blutstammzellen**

Dagegen gewinnt die Transplantation von peripheren Blutstammzellen (PBSC) weiter an Bedeutung und gilt heute als Haupt-Stammzellquelle (Bensinger WI et al., 2001).

Hierzu werden die Stammzellen durch Wachstumsfaktoren (z.B. G-CSF) ggf. in Kombination mit Chemotherapeutika aus dem Knochenmark mobilisiert und mittels Leukapherese aus dem peripheren Blut gewonnen (Handgretinger R et al., 1992, Lang P et al., 1993, Stachel D, 1999). Anhand ihres Oberflächenantigens CD34 werden die Stammzellen erkannt und können somit angereichert werden.

Bei der Apherese des Blutes eines gesunden Menschen können in der Regel etwa  $1\text{--}8 \times 10^{10}$  nukleäre Zellen gewonnen werden, die etwa  $100\text{--}400 \times 10^6$  CD34<sup>+</sup> Stammzellen enthalten (Lang P et al., 1999, Schumm M et al., 1999). Die Stammzellsammlung kann hier mehrmals durchgeführt werden, sodass bei diesem Verfahren eine deutlich höhere Zahl an Stammzellen zur Verfügung steht.

Insbesondere hochangereicherte CD34<sup>+</sup>-Transplantate spielen in der aktuellen Entwicklung der HSCT eine wichtige Rolle.

Zum einen zeichnen sie sich durch ein schnelleres Anwachsen (Engraftment) aus (Uchida N et al., 1998, Elmaagacli AH et al., 2002), zum anderen zeigte sich, dass sich durch eine sehr hohe Zellmenge gewisse HLA-Barrieren überwinden lassen und somit eine HLA-haploidentische Transplantation erlauben (Aversa F et al., 1998, Handgretinger R et al., 2001).

Durch CD34<sup>+</sup> Selektion kann die Zahl an CD3<sup>+</sup> T-Zellen gering gehalten werden, was sich in einer niedrigeren Inzidenz von akuter aber auch chronischer Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD) bemerkbar macht (Champlin RE et al., 2000).

Diese indirekte T-Zell-Depletion führt allerdings zu einer verspäteten Immunrekonstitution und damit, abhängig von der Grundkrankheit, zu häufigerem Auftreten von Transplantatversagen, Rezidiven, EBV-assoziiertes lymphoproliferativer Erkrankung und Infektionen. Dies ließ sich auch durch eine spätere Gabe von T-Zellen (T-Zell-Add-Back) nicht suffizient verhindern (Aversa F et al., 1998, Bornhäuser M et al., 2002).

Diese Problematik scheint jedoch bei pädiatrischen Patienten aufgrund der rascheren Immunregeneration, wohl infolge der höheren Stammzelldosis bezogen auf das Körpergewicht, insgesamt eine etwas geringere Rolle zu spielen (Handgretinger R et al., 2001, Eyrich M et al., 2001).

### **1.2.1.3. Nabelschnurblut**

Auch aus Nabelschnurvenenblut können hämatopoetische Stammzellen gewonnen werden. Diese Stammzellen werden dann verwendet, wenn unter Zeitdruck kein passender Spender gefunden werden kann, da hier eine HLA-Kompatibilität nicht unbedingt erforderlich ist.

Die Ausbeute an CD34<sup>+</sup> Zellen ist relativ gering (5-10 x 10<sup>6</sup> CD34<sup>+</sup> Zellen pro Plazenta), sodass dieses Verfahren bisher nur in der Pädiatrie oder als zusätzliche Stammzellquelle zu KM oder PBSC Verwendung findet. Allerdings sind diese Zellen durch ihre Unreife und damit höhere expansive Potenz gekennzeichnet (Kasai M, Masauzi N., 1998).

### **1.2.2. Autologe und allogene Stammzelltransplantation**

Im Gegensatz zur autologen HSCT, bei der zuvor gesammelte eigene Stammzellen z. B. nach Chemo- oder Strahlentherapie reinfundiert werden,

bedeutet die allogene Transplantation immer eine Übertragung von körperfremden Zellen. Dadurch ist die allogene Transplantation mit wesentlich gravierenderen therapiebedingten Komplikationen assoziiert. So können Abstoßungsreaktionen gegen das Transplantat oder aber Transplantat-gegen-Empfänger-Reaktionen (GvHD) auftreten. Sowohl diese als auch die dann oft nötige immunsuppressive Therapie können zu einer verzögerten Immunrekonstitution führen und sind somit Risikofaktoren für opportunistische Infektionen.

### **1.2.3. Spender**

Für die Auswahl des passenden Spenders bei allogener HSCT sind die Histokompatibilitätsantigene (MHC, major histocompatibility complex oder HLA, humane Leukozyten-Antigene) von entscheidender Bedeutung. Sie dienen dem Immunsystem dazu, zwischen körpereigenen und körperfremd zu unterscheiden. Die Gene dieser Antigene liegen auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 und zeichnen sich durch eine sehr große Vielfalt der Allele aus. Allerdings werden diese Allele meist gekoppelt vererbt, sodass Kinder von jedem Elternteil eine haploide Erbinformation erhalten, den so genannten Haplotyp (Schaefer UW, Beelen DW, 1989). Geschwister sind also mit einer Wahrscheinlichkeit von 0,25 HLA-identisch, Eltern und Kinder können in der Regel nur haploidentisch sein.

Die Antigene werden in drei Klassen eingeteilt. Während die MHC Klasse III-Antigene keine Rolle in der Gewebeerkenkung spielen, wird für die MHC Klasse I (A, B, C) und MHC Klasse II (DR, DP, DQ) für die Transplantation eine weitgehende Übereinstimmung der Antigene zwischen Spender und Empfänger gefordert, um eine Immunreaktion zwischen beiden zu verhindern (Giebel S et al., 2003).

Da der Grad der HLA-Identität stark von der Sensitivität der eingesetzten Typisierungsmethode und der Zahl der berücksichtigten Antigene abhängt, ist eine Definition hier schwierig. Momentan wird jedoch die Bestimmung der Allele von HLA-A, B, C, DRB1 und DQB1 empfohlen (El Kassir N et al., 2001, Mickelson EM et al., 2002).

### **1.2.3.1. HLA-identische Geschwisterspender**

Ist für einen Patienten ein gesunder HLA-identischer Geschwisterspender (MFD, matched family donor) vorhanden, so ist dieser der Spender der Wahl, da hier die größtmögliche HLA-Identität erreicht werden kann. Die transplantationsbedingte Mortalität gilt daher beim MFD als geringer als beim HLA-identischen Fremdspender (MUD, matched unrelated donor).

### **1.2.3.2. HLA-identische Fremdspender**

Aufgrund der sinkenden Geschwisterzahlen in Familien, dafür aber größer werdenden Fremdspenderdateien hat die HLA-identische-Fremdspender-Transplantation (MUD) wesentlich an Bedeutung gewonnen. Inzwischen kann für einen Patienten mit 80 % Wahrscheinlichkeit ein passender unverwandter Spender in den weltweiten Spenderregistern gefunden werden (Ottinger H et al., 1995).

### **1.2.3.3. Haploidentische Familienspender**

Kann in der zur Verfügung stehenden Zeit kein passender HLA-identischer Spender gefunden werden, besteht heutzutage vor allem bei Kindern die Möglichkeit, HLA-haploidentische Stammzellen eines Verwandten, in der Regel eines Elternteils, zu transplantieren. Dies ist insbesondere durch die Fortschritte auf dem Gebiet der CD34<sup>+</sup> hochangereicherten Transplantation möglich geworden. So konnte gezeigt werden, dass durch entsprechend hohe Dosen an hämatopoetischen Stammzellen gewisse HLA-Barrieren überwunden werden können und ein Anwachsen des Transplantats begünstigt wird. Durch die mit der CD34<sup>+</sup>Selektion verbundene indirekte T-Zell-Depletion wird die zu erwartende GvHD bei HLA-Mismatch weitgehend verhindert (Aversa F et al., 1998, Handgretinger R et al., 2001).

Der Vorteil dieser Methode ist, dass in kürzester Zeit zumindest für jedes Kind ein motivierter Spender vorhanden ist, der auch noch in der Zeit nach der Transplantation für eventuelle weitere Stammzellsammlungen zur Verfügung steht. Dies kann z.B. für einen Stammzell-Boost bei drohendem Transplantatversagen oder für eine Donor-Lymphozyten-Infusion (DLI) bei Rezidiv nötig werden.

Wie oben beschrieben ist jedoch durch die CD34<sup>+</sup>Selektion aufgrund der T-Zell-Depletion mit einer verzögerten Immunrekonstitution zu rechnen, die dann neben einer erhöhten Gefahr eines Non-Engraftments oder eines Rezidivs ein vermehrtes Infektionsrisiko mit sich bringt. Insbesondere ein häufigeres Auftreten fataler viraler und fungaler Infektionen wird vor allem für Erwachsene beschrieben (Aversa F et al., 1998).

### **1.3. Indikationen**

Zu den Indikationen der HSCT gehören sowohl maligne als auch nichtmaligne Erkrankungen des hämatopoetischen Systems. Zu den Standardindikationen zählen je nach Erkrankungsstadium und verfügbarem Spender die akute lymphatische Leukämie (ALL), die akute und chronische myeloische Leukämie (AML, CML), maligne Lymphome, das myelodysplastische Syndrom (MDS), angeborene Immundefekte (ID), aplastische Anämien (AA), bestimmte angeborene Stoffwechselstörungen und Hämoglobinopathien (Gratwohl A et al., 2002).

Einen Überblick über die aktuellen Empfehlungen der European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) zur allogenen Stammzelltransplantation bei Kindern geben Ljungman et al., zusammengefasst in Tabelle 1.1.

Mehrere Indikationen sind momentan Gegenstand klinischer Studien, eine Ausweitung der Indikationen ist nach derzeitigem Stand zu erwarten.

Aufgrund der bislang guten Erfahrungen mit haploidentischer Stammzell-Transplantation ist diese bei gegebener Indikation und fehlendem HLA-identischem Spender ebenfalls gerechtfertigt.



Tabelle 1.1 Indikationen zur allogenen HSCT bei Kindern  
(nach Ljungman P et al., 2006)

Erkrankung	Erkrankungsstadium	Geschwister-spender	MUD/ 1Ag- mismatched related	MMUD/ >1Ag- mismatched related
AML	CR1 (low risk)	NR	NR	NR
	CR1 (high risk)	S	CO	NR
	CR 1 (very high risk)	S	S	CO
	CR2	S	S	S
	> CR2	CO	D	D
ALL	CR1 (low risk)	NR	NR	NR
	CR1 (high risk)	S	CO	CO
	CR2	S	S	CO
	> CR2	S	S	CO
CML	Chronische Phase	S	S	D
	fortgeschritten	S	S	D
NHL	CR1 (low risk)	NR	NR	NR
	CR1 (high risk)	CO	CO	NR
	CR2	S	S	CO
M. Hodgkin	CR1	NR	NR	NR
	1. Rezidiv, CR2	CO	D	NR
MDS		S	S	D
ID		S	S	S
Thalassämie		S	CO	NR
Sichelzellanämie	High risk	S	CO	NR
Aplastische Anämie		S	S	CO
Blackfan-Diamond-/ Fanconi-Anämie		S	S	CO
Angeborene Stoffwechseldefekte	Je nach zugrunde liegender Erkrankung			
Solide Tumoren	Keimzelltumor	NR	NR	NR
	Ewing Sarkom	NR	NR	NR
	Weichteilsarkom	D	NR	NR
	Neuroblastom	CO	NR/D	NR/D
	Wilms Tumor	NR	NR	NR
	Osteosarkom	NR	NR	NR
	Hirntumoren	NR	NR	NR
Autoimmunerkrankungen		NR	NR	NR

Abkürzungen: MUD, HLA-ident. Fremdspender; MMUD, HLA-mismatched Fremdspender; ALL, akute lymphatische Leukämie; AML, akute myeloische Leukämie; CML, chronische myeloische Leukämie; NHL, Non-Hodgkin Lymphom; MDS, Myelodysplastisches Syndrom; CR, Komplett-Remission; S, Standardtherapie; CO, klinische Option; D, in Entwicklung; NR, nicht empfohlen

## **1.4. Engraftment und Immunregeneration**

Ein frühes Anwachsen des Transplantats (Engraftment) ist sowohl für das Wiedereinsetzen der Hämatopoese als auch für eine rasche Immunrekonstitution unabdingbar. Der Zeitpunkt des Engraftments ist definiert als der erste von drei aufeinander folgenden Tagen, an dem  $>500$  Neutrophile/ $\mu\text{l}$  im peripheren Blut festgestellt werden können.

Als Ursache für eine Transplantatabstoßung (Graftrejection), ein verzögertes Engraftment oder gar ein Nichtangehen des Transplantats (Nonengraftment, Graft failure) spielen verschiedene Faktoren eine Rolle. Hierzu gehören der Grad der HLA-Inkompatibilität und HLA-Sensibilisierung, eine unzureichende Stammzellmenge, T-Zell-Depletion, die Intensität der Konditionierung, die zugrunde liegende Diagnose sowie eine mögliche Myelosuppression durch Infektionen (Storb R et al., 1977, Martin PJ et al., 1985, Anasetti C, Hansen JA, 1994).

### **1.4.1. T-Zellen**

Das spezifische Immunsystem wird in erster Linie von T-Zellen repräsentiert, die über ihren Rezeptor genau ein Antigen erkennen können und somit antigenspezifisch sind. In der Abwehr viraler und fungaler Infektionen sowie von Protozoen und bekapselten Bakterien sind sie daher von großer Bedeutung.

Die Regeneration der T-Zellen nach HSCT kann auf zwei verschiedenen Wegen ablaufen:

1. Ausdifferenzierung der Spender-Vorläuferzellen und anschließende Prägung im Thymus.

Hierbei wird die Ontogenese der reifen T-Zelle praktisch wiederholt, autoreaktive T-Zellen werden im Thymus ausselektiert.

Da dieser Mechanismus von funktionsfähigem Thymusgewebe abhängig ist, ist er bei jungen Menschen leistungsfähiger.

Diese Zellen sind für die dauerhafte T-Zell-Immunität verantwortlich. (Godthelp BC et al., 1999)

2. Thymus unabhängige, periphere Expansion von im Transplantat befindlichen reifen Spender-T-Zellen (Mackall CL et al., 1996).

Diese Zellen bilden wahrscheinlich die erste Regenerationswelle nach Transplantation, bleiben dann aber nur vorübergehend vorhanden.

Sowohl die Zahl der T-Zellen wie auch ihre Funktion können nach Transplantation von unmanipuliertem Knochenmark bis zu 7 Monate erniedrigt sein, nach T-Zelldepletion bis zu 2 Jahre (Ho VT, Soiffer RJ, 2001).

Insbesondere bei Patienten mit T-Zell-depletierter HSCT von alternativen Spendern kann die Immunregeneration des T-Zell-Systems quantitativ und funktionell massiv gestört sein, was dann zu oben genannten Infektionen prädisponiert.

#### **1.4.2. NK-Zellen**

Im Gegensatz zu den T-Zellen regenerieren NK-Zellen bereits innerhalb des ersten Monats nach allogener Transplantation (Kook H et al., 1996). Insbesondere nach Gabe von T-Zell-depletierten Transplantaten von alternativen Spendern stellen NK-Zellen die prädominante Lymphozytenpopulation über 3-6 Monate dar (Lamb LS Jr et al., 1998). Diese Lymphozytenpopulation ist dem unspezifischen Immunsystem zuzurechnen und zeichnet sich dadurch aus, spontan ohne vorherige Sensibilisierung bestimmte Tumoren, leukämische Blasten und Lymphome sowie virusinfizierte Zellen lysieren zu können (Ljunggren HG, Karre K, 1990, Baraz L et al., 1999).

Es ist somit davon auszugehen, dass den frühzeitig regenerierenden NK-Zellen während der T-Zell-freien ersten Wochen oder Monate nach Transplantation eine besondere Bedeutung zukommt, sowohl für die Kontrolle einer eventuell noch vorhandenen Leukämiebelastung (Graft-versus-Leukämie-Effekt, GvL) als auch für die Abwehr einer Infektion.

Dabei scheinen NK-Zellen nicht in Zusammenhang mit einer GvHD zu stehen, sodass sie hier auch weitere therapeutische Optionen bieten können (Jiang YZ et al., 1997).

#### **1.5. Komplikationen**

In der Zeit nach einer allogenen Stammzelltransplantation sind die Patienten durch eine Reihe zum Teil schwerwiegender Komplikationen gefährdet.

Hierzu zählen ein Rezidiv oder das Fortschreiten der Grunderkrankung, ein Transplantatversagen, die akute und chronische GvHD und die Organtoxizität der eingesetzten Konditionierungstherapie (Schaefer UW, Beelen DW, 1989).

Nicht zuletzt können opportunistische Infektionen das Leben der Patienten massiv bedrohen. Man unterscheidet hier drei aufeinander folgende Phasen, in denen der Patient durch jeweils bestimmte Pathogene besonders gefährdet ist.

Frühe Posttransplantationsphase:

Sie entspricht ungefähr der Zeit bis zum Engraftment und ist damit durch die ausgeprägte Neutropenie gekennzeichnet. 90% der Infektionen werden hier bakteriell ausgelöst. Besonders gramnegative Infektionen zeigen einen schweren Verlauf. Ebenfalls gefährliche Erreger in dieser Phase sind Pilze.

Mittlere Posttransplantationsphase:

Sie dauert von der hämatopoetischen Rekonstitution bis zum Tag 100 nach Transplantation an. Typisch ist hier der anhaltende schwere T- und B-Zell-Defekt, der besonders zu fungalen und viralen Infektionen sowie Virusreaktivierungen prädisponiert.

Späte Posttransplantationsphase:

Ab Tag 100 ist ein Patient ohne chronische GvHD und ohne immunsuppressive Therapie bei einer CD4-Zahl  $> 200/\mu\text{l}$  Blut als immunkompetent zu betrachten. Vor allem bei Patienten mit cGvHD können aber auch in dieser Phase noch schwerwiegende Infektionen, nun vor allem mit bekapselten Bakterien oder *Pneumocystis carinii* auftreten (Einsele H et al., 2001).

Auf die Virusinfektionen wird im Folgenden noch einmal gesondert eingegangen.

## **1.6. Virusinfektionen**

### **1.6.1. Allgemeines**

Virale Infektionen stellen ein großes Problem nach allogener Stammzelltransplantation dar. Trotz wesentlicher Fortschritte in der antiviralen Prophylaxe und Therapie sind sie mit einer erheblichen Morbidität und Mortalität

verbunden (Zaia JA et al., 1990, Wasserman R et al., 1988, Maltezou HC et al., 2000).

Vor allem die Reaktivierung latenter Infektionen mit humanpathogenen Herpesviren ist eine viel beschriebene Komplikation. Hierzu zählen in erster Linie das humane Cytomegalievirus (CMV), das Herpes simplex-Virus (HSV) und das Varizella-zoster-Virus (VZV). In jüngerer Zeit gewinnen hier vor allem das humane Herpesvirus 6 (HHV6) und das Epstein-Barr-Virus (EBV) an Bedeutung.

Von ebenfalls steigendem Interesse sind Adenoviren (ADV), Polyomaviren, insbesondere das BK-Virus, Rotaviren und das Respiratory syncytial Virus (RSV) (Benjamin DK Jr et al., 2002).

### **1.6.2. CMV**

Das Cytomegalie-Virus (CMV) war über Jahre hinweg die häufigste Todesursache durch Infektionserkrankungen nach HSCT. Heute ist es sicher das am besten untersuchte Virus in diesem Zusammenhang. Allein hierdurch konnten in den letzten Jahren große Erfolge in der Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der CMV-Infektion erzielt werden. Doch obwohl die CMV-bedingte Gesamtmorbidität und –mortalität gesenkt werden konnte, bleibt CMV weiterhin ein Problem in der Posttransplantationsphase. Vor allem bei manifester CMV-Erkrankung liegt die Mortalität immer noch bei ungefähr 50% (Ljungman P, Einsele H, 1994).

CMV gehört zur Gruppe der Herpesviren und ist mit einer Seroprävalenz von ungefähr 50% in der Bevölkerung der Industrieländer vorhanden. Die Primärinfektion verläuft meist asymptomatisch oder subklinisch, das Virus persistiert aber lebenslang latent im Körper. Bei Immunsuppression kann es dann zu einer Reaktivierung kommen.

Die CMV-Infektion nach HSCT stellt meist eine solche Reaktivierung dar, selten ist eine Neuinfektion, z. B. über den Stammzellspender oder Blutprodukte, oder eine Zweitinfektion ursächlich.

Klinisch manifestiert sich die CMV-Infektion mit Fieber, evtl. kombiniert mit einer Knochenmarkssuppression. Als häufigste und schwerste Organmanifestation gilt die interstitielle Pneumonie mit extrem hoher Mortalität. Auch andere

Manifestationen z.B. in Form von Hepatitis, Encephalitis oder Enteritis sind beschrieben und eindeutig definiert (Ljungman P et al., 2002).

Während bislang eine CMV-Erkrankung meist im 2. oder 3. Monat nach Transplantation auftrat, nimmt in den letzten Jahren die Zahl der so genannten Late-onset-CMV-Erkrankung, d.h. eine Erkrankung nach Tag 100 nach Transplantation, zu. Dies ist am ehesten auf den Einsatz der antiviralen Prophylaxe in der frühen und mittleren Posttransplantationsphase zurückzuführen (Razonable RR, 2005).

Als Risikofaktoren für die Entwicklung einer CMV-Infektion und –Erkrankung nach allogener HSCT gelten (Übersicht in Razonable RR, 2005):

- CMV-Serologie (v. a. Empfänger positiv)
- akute und chronische GvHD
- begleitende Virusinfektionen, z. B. HHV6
- immunsuppressive Therapie, z. B. Corticosteroide u. a.
- intensive Konditionierungstherapie
- T-Zell-Depletion
- verzögerte Immunrekonstitution

### **1.6.3. ADV**

Adenoviren (ADV) sind hüllenlose DNA-Doppelstrangviren und für eine Vielzahl von Infektionserkrankungen vor allem im Kindesalter verantwortlich. Es wird geschätzt, dass bis zu 25% der Atemwegsinfektionen und 10-15% der gastrointestinalen Infektionen bei Kindern durch sie hervorgerufen werden. Daneben können aber auch kardiale, neurologische, kutane, lymphatische und urologische Erkrankungen auftreten.

Die Prognose ist in der Regel gut, es treten aber zum Teil schwere Verläufe bei Neugeborenen und Säuglingen sowie bei Immunsupprimierten auf (Forster J, 2003).

Heute lassen sich ca. 50 verschiedene Serotypen bestimmen, die jeweils unterschiedliche Erkrankungen hervorrufen. Dies gibt Tabelle 1.2 wieder.

Tabelle 1.2 Klassifizierung humaner Adenoviren (nach Forster J, 2003)

Subgruppen	Typ	Infektionsort und Krankheitsbild
A	12, 18, 31	Gastroenteritis
B1	3, 7, 16, 21	Atem, Auge, Darm
B2	11, 14, 34, 35	Harnwege (v. a. bei Immunsupprimierten) und Atemwege
C	1, 2, 5, 6	Atemwege und generalisiert (v. a. mit Hepatitis) bei Immunsupprimierten
D	8-10, 13, 15, 17, 19, 20, 22-30, 32, 33, 36-39, 42-49	Augeninfektion allgemein, gastrointestinale Krankheiten bei Immunsupprimierten
E	4	Augen und Atemwege
F	40, 41	Gastroenteritis

Bei Patienten nach HSCT stellt die ADV-Infektion ein zunehmendes Problem dar (Blanke C et al., 1995). Hier wurden sehr schwer verlaufende, disseminierte Infektionen mit schwerer Organbeteiligung wie hämorrhagischer Zystitis, Gastroenteritis, Pneumonie, Enzephalitis, Pankreatitis, Nephritis und fulminanter Hepatitis beschrieben (Flomenberg P et al., 1994, Bertheau P et al., 1996, Runde V et al., 2001). Insbesondere bei Kindern ist die ADV-Infektion in der Posttransplantationsphase eine häufige und oft lebensbedrohliche Komplikation.

Bisher ist unklar, ob diese Erkrankungen auf eine primäre Infektion oder auf die Reaktivierung einer latenten Viruspersistenz zurückzuführen sind. Das häufigere und frühere Auftreten einer Adenovirus-Erkrankung bei immunsupprimierten Kindern verglichen mit Erwachsenen legt die Vermutung nahe, dass es sich hierbei um eine Primärinfektion handelt (Carrigan DR, 1997). Da aber eine Virusausscheidung bei asymptomatischen Patienten bei Viruslatenz möglich ist, wird die Reaktivierung einer früher durchgemachten ADV-Infektion diskutiert. Ein weiteres Argument für eine Reaktivierung nach HSCT ist die Virusausscheidung zu einem Zeitpunkt ähnlich einer CMV-Infektion in der mittleren Posttransplantationsphase (Bowden RA, 1999).

Risikofaktoren für eine ADV-Infektion nach HSCT sind ein jüngeres Alter (Flomenberg P et al., 1994, Howard DS et al., 1999), eine GvHD (Shields AF et al., 1985) und eine T-Zell-Depletion (Chakrabarti S et al., 2002).

Ein besonderes Problem der ADV-Infektion nach HSCT ist, dass bisher keine suffiziente antivirale Therapie etabliert ist. Aktuell wird intravenöses Ribavirin als Standardtherapie empfohlen (Forster J, 2003), wobei die Ergebnisse vor

allem bei disseminierter Infektion enttäuschend sind. In neueren Studien konnten bessere Erfolge mit Cidofovir und adaptiver Immuntherapie erzielt werden (Bordigoni P et al., 2001, Nagafuji K, et al., 2004).

#### **1.6.4. HHV6**

Das humane Herpesvirus Typ 6 (HHV6) gehört zu den  $\beta$ -Herpesviren und zeichnet sich durch seine hohe Seroprävalenz aus (80-100%). Die meisten Infektionen erfolgen bereits in den ersten 12 Lebensmonaten. Das Virus persistiert dann lebenslang vor allem in den Makrophagen. Es besteht beim Immunkompetenten eine lebenslange Immunität. Für die Bewältigung der HHV6-Infektion scheinen vor allem zytotoxische  $CD8^+$ -T-Zellen verantwortlich zu sein.

Typische Manifestation von HHV6 ist das Exanthema subitum, häufig treten auch Fieberkrämpfe auf. Komplizierend kann es nach HHV6-Infektion auch zu Meningoenzephalitiden, Guillain-Barré-Syndrom, mononukleoseähnlicher Symptomatik oder einem virusassoziierten Hämophagozytosesyndrom kommen (Schuster V, Kreth HW, 2003a).

Nach HSCT kommt es in ungefähr 40% der Fälle zu einer Reaktivierung von HHV6. Klinische Manifestationen sind dann vor allem Fieber und Exantheme (Yoshikawa T et al., 1991). HHV6 führt zu einem verschlechterten und verspäteten Engraftment und ist mit dem Auftreten einer GvHD assoziiert. Neben der Knochenmarksuppression treten auch hier Hämophagozytosesyndrome auf. Weitere Komplikationen sind interstitielle Pneumonien und Enzephalitiden. Insgesamt ist eine HHV6-Reaktivierung mit einer erhöhten Gesamtmortalität verbunden (Yoshikawa T et al., 2002, Zerr DM et al., 2005).

Bei Patienten mit schweren Komplikationen kann ein Therapieversuch mit Foscarnet und/oder Ganciclovir unternommen werden.

#### **1.6.5. EBV**

Das Epstein-Barr-Virus (EBV) gehört ebenfalls zur Gruppe der Herpesviren und ist der Erreger der infektiösen Mononukleose. Die Erkrankung tritt besonders im



Jugend- und Adoleszentenalter auf, bei Kindern verläuft die Infektion oft grippeähnlich oder asymptomatisch.

Durch die Infektion mit EBV werden B-Lymphozyten transformiert und immortalisiert, wodurch es zu einem lymphoproliferativen Krankheitsbild kommt. Bei Immunkompetenten werden diese Zellen allerdings schnell durch zytotoxische CD8<sup>+</sup>-T-Zellen eliminiert. EBV persistiert lebenslang latent in den B-Zellen des Knochenmarks.

Bei Immunsuppression können diese Viren reaktiviert werden und zur so genannten EBV-assoziierten lymphoproliferativen Krankheit (LPD) und zu Lymphomen führen (Schuster V, Kreth HW, 2003b).

Vor allem nach T-Zell-depletierter HSCT stellt dies ein zunehmendes Problem dar (Meijer E et al., 2002), da hier die Kontrolle der proliferierenden B-Zellen durch das weitgehende Fehlen von T-Zellen entfällt.

Die LPD tritt meist im ersten Jahr nach HSCT auf, die höchste Inzidenz zeigt sie im 2.-3. Monat nach Transplantation. Sie präsentiert sich als disseminierte Erkrankung mit Fieber, Lymphknotenschwellung, Lungenbeteiligung und Zeichen einer Hepatitis (Zutter MM et al., 1988, Curtis RE et al., 1999, Gross TG, Loechelt BJ, 2003).

#### **1.6.6. BK-Virus**

Das Polyomavirus Typ1, nach den Initialen des ersten erkrankten Patienten BK-Virus genannt, ist ein hüllenloses DNA-Doppelstrangvirus mit sehr hoher Prävalenz in der Gesamtbevölkerung (>70%). Die Erstinfektion findet meist im frühen Kindesalter wohl durch aerogene Infektion statt und führt zu einer Latenz des Virus, v. a. in den Urothelialzellen (Hirsch HH, Steiger J, 2003, Knowles WA et al., 2003). Die Erstinfektion verläuft meist asymptomatisch oder mit grippeähnlicher Symptomatik mit Affektion des oberen Respirationstraktes oder des Urogenitaltraktes. Selten sind schwere Erkrankungen mit hämorrhagischer Zystitis, Pneumonie, Meningoencephalitis, Hepatis o. ä. Ein mögliches onkogenes Potential des Virus wird diskutiert (White MK, Khalili K, 2004).

Die größte Bedeutung kommt dem BK-Virus jedoch im Rahmen einer Reaktivierung unter Immunsuppression zu. Hier spielen vor allem die tubulointerstitielle Nephritis nach Nierentransplantation mit der Gefahr des

Transplantatversagens, eine neu auftretende Uretherstenose sowie die hämorrhagische Zystitis (HC) nach Stammzelltransplantation eine Rolle (Hirsch HH, Steiger J, 2003, Arthur RR et al., 1986).

Letztere tritt ab ca. 2 Wochen nach Stammzelltransplantation, meist nach dem Engraftment, auf und ist mit einer Inzidenz von bis zu 25% bei diesen Patienten sehr häufig und mit einer hohen Morbidität verbunden. Als Co-Faktoren für die Entstehung einer hämorrhagischen Zystitis unter BKV-Reaktivierung wird vor allem der Spendertyp, die notwendige Immunsuppression sowie das Konditionierungsschema diskutiert (Giraud G et al., 2006). Das Auftreten der HC scheint mit der einsetzenden Immunrestitution in Zusammenhang zu stehen (Leung AY et al., 2005).

#### **1.6.7. HSV**

Die beiden Herpes-simplex-Viren Typ 1 und 2 gehören zu den  $\alpha$ -Herpesviren und zeichnen sich wie alle Herpesviren dadurch aus, dass sie nach Erstinfektion lebenslang in den Spinalganglien latent persistieren und bei veränderter Immunsituation jederzeit reaktiviert werden können. Die Erstinfektion mit HSV1 verläuft meist inapparent, kann sich aber auch mit dem Bild einer Stomatitis aphthosa, einer Keratokonjunktivitis oder mononukleose-ähnlich darstellen. Als schweres Krankheitsbild kann eine Herpesenzephalitis auftreten. HSV2 verursacht den Herpes genitalis, kann aber insbesondere bei Neugeborenen schwere disseminierte Infektionen hervorrufen.

Nach Stammzelltransplantation ist vor allem in der Frühphase eine HSV-Reaktivierung häufig, die dann neben einer häufig auftretenden Mukositis auch oft zu schweren klinischen Krankheitsbildern mit Ösophagitis, Hepatitis, Enzephalitis oder Pneumonie führen. Mit Aciclovir steht heute eine effektive Prophylaxe- und Therapie-Option einer HSV-Reaktivierung zur Verfügung, sodass schwere Krankheitsverläufe insgesamt seltener geworden sind, im Rahmen von Infektionen mit Acyclovir-resistenten Stämmen aber weiterhin auftreten (Einsele H et al., 2001, Ljungman P, 1998).

### **1.6.8. VZV**

Das Varizella-Zoster-Virus (VZV) gehört zu den humanen Herpesviren und verursacht bei Primärinfektion die Varizellen (Windpocken). Eine Reaktivierung des in den Spinalganglien persistierenden Virus äußert sich in Form des Herpes zoster.

Nach HSCT kann es sowohl zu einer Primärinfektion bei seronegativen Patienten kommen, als auch zu einer Reaktivierung bei seropositiven. Besonders schwer verlaufen disseminierte Infektionen mit Organbeteiligungen wie Pneumonie, Hepatitis oder Enzephalitis mit ungünstiger Prognose.

Auch wenn die Mortalität durch VZV dank des Einsatzes von Acyclovir reduziert werden konnte, führt das Virus auch heute noch zu einer bedeutenden Morbidität, vor allem in der späten Posttransplantationsphase (Feldmann S et al., 1975, Kawasaki H et al., 1996, Schuchter LM et al., 1989, Leung TF et al., 2000).

### **1.6.9. Parvo-B19-Virus**

Das Parvovirus B19 ist ein hüllenloses Einzelstrang-DNA-Virus. Es ist eine typische Infektion des Kindes- und Jugendalters und hinterlässt normalerweise eine lebenslange Immunität.

Die Infektion verläuft oft asymptomatisch oder grippeähnlich, typisch mit darauf folgendem Erythema infectiosum. Im Erwachsenenalter äußert sich die Infektion häufig als Arthralgie oder Arthritis. Eine intrauterine Infektion kann zum Hydrops fetalis führen.

Da das Virus eine besondere Affinität zu den Erythroblasten zeigt, kommt es durch die Infektion zu einem mehrtägigen Stopp der Erythropoese, der bei hämatologisch Gesunden aber nicht in Erscheinung tritt.

Gefährdet sind allerdings Patienten mit chronisch-hämolytischen Anämien bei denen B19 zu aplastischen Krisen führen kann.

Zusätzlich ist bei humoralem Immundefekt die Viruselimination beeinträchtigt, was dann in einer chronisch-persistierenden B19-Infektion resultieren kann (Kreth HW, Schuster V, 2003, Young NS, Brown KE, 2004).

In diesem Sinne sind auch Patienten nach HSCT durch das Parvovirus B19 gefährdet. Die häufigste Manifestation ist hier die aplastische Anämie, zum Teil auch kombiniert mit einer Leukopenie oder Thrombopenie, oder ein Transplantatversagen. In einigen Fällen wurde auch über B19-assoziierte Hepatits, Myocarditis, Vaskulitis, Encephalitis oder Lungenbeteiligung berichtet (Broliden K, 2001, Klumpen HJ et al., 2004).

Eine spezifische antivirale Therapie gegen Parvovirus B19 existiert nicht, bei schweren Verläufen werden aktuell Immunglobulingaben eingesetzt.

### **1.7. Fragestellung**

Die allogene Stammzelltransplantation hat sich in den letzten Jahrzehnten als Standardverfahren in der Therapie verschiedener maligner und non-maligner pädiatrischer Erkrankungen etabliert. Insbesondere durch die Möglichkeit der Selektion CD34<sup>+</sup>Blutstammzellen und die damit verbundene indirekte T-Zell-Depletion hat sich das mögliche Spender-Spektrum deutlich hin zu alternativen Spendern wie HLA-identischen Fremd Spendern oder haploidentischen Familienspendern erweitert. Für wesentlich mehr Kinder ist somit ein passender Spender verfügbar. Allerdings ist diese Art der Stammzelltransplantation mit einer erhöhten transplantationsbedingten Morbidität und Mortalität verbunden. Aufgrund der verzögerten Immunrekonstitution durch die T-Zell-Depletion kommt es häufiger zu einem Non-Engraftment oder einer Graft-Rejektion. Nicht zuletzt wird ein erhöhtes Infektionsrisiko insbesondere für virale und fungale Infektionen angegeben (Aversa F et al., 1998).

Ziel dieser Arbeit war es, die Häufigkeit viraler Infektionen und virus-assoziiertes Erkrankungen in Abhängigkeit zum Spendertyp und der Graft Manipulation zu untersuchen. Besonderes Augenmerk galt der Frage, ob Patienten mit CD34<sup>+</sup> angereicherter, haploidentischer Transplantation vermehrt von Virusinfektionen oder Erkrankungen betroffen sind.

## **2. Patienten und Methoden**

### **2.1. Patientenkollektiv**

Die Studie umfasst 109 pädiatrische Patienten, die im Zeitraum zwischen Mai 1998 und Juli 2003 eine allogene Stammzelltransplantation in der Universitätskinderklinik Tübingen erhielten.

Die klinischen Daten wurden retrospektiv aus den stationären und ambulanten Krankenblättern der Universitätskinderklinik erhoben und in einer Excel-Tabelle festgehalten. Die Beobachtungsdauer betrug im Median 1,07 Jahre nach Transplantation (Range 1 Monat–5 Jahre).

Das Alter der Patienten variierte zwischen 2 Monaten und 39 Jahren, der Median lag bei 9 Jahren. 40% der Patienten waren weiblich (n=44), 60% männlich (n=65).

Die Indikationen zur allogenen Stammzelltransplantation ergaben sich aus unterschiedlichen malignen und non-malignen Grunderkrankungen, wie akuter lymphatischer Leukämie (ALL), akuter myeloischer Leukämie (AML), chronischer myeloischer Leukämie (CML), myelodysplastischem Syndrom (MDS), Lymphomen (LYM), soliden Tumoren (ST), angeborenen Stoffwechselstörungen (IBE), Immundefekten (ID), aplastischen Anämien (AA) und myeloproliferativem Syndrom (MPS). Die allogene Stammzelltransplantation stellte bei diesen Patienten die einzige therapeutische Möglichkeit dar.

Je nach Verfügbarkeit eines passenden Spenders wurden diese Patienten mittels HLA-identem Geschwisterspender (MFD) oder HLA-identem Fremdspender (MUD) transplantiert. Konnte kein HLA-identer Spender gefunden werden, griff man auf einen haploidenten Familienspender, meist ein Elternteil, zurück. Insgesamt erhielten 14 Patienten Stammzellen von einem HLA-identen Geschwisterspender, 56 Patienten von einem HLA-identen Fremdspender und 39 Patienten von einem haploidenten Familienspender.

Die myeloablative Konditionierung basierte entweder auf einer Ganzkörperbestrahlung (TBI, 6 x 2 Gy) oder der oralen bzw. intravenösen Gabe von Busulfan (Gesamtdosis 16 bzw. 12,8 mg/kgKG < 3 Lebensjahre, 20 bzw 16

mg/kgKG > 3 Lebensjahre). Je nach zugrunde liegender Diagnose, Vorbehandlung und Alter des Patienten wurde sie um Cyclophosphamid und Thiothepa oder Cyclophosphamid und Fludarabin erweitert. Als Prophylaxe gegen eine Transplantatabstoßung erhielten die Patienten Anti-Thymozyten-Globulin (ATG) oder den T-Zell-Antikörper OKT3.

Die hämatopoetischen Stammzellen wurden entweder aus dem Knochenmark (KM, n = 21) gewonnen und dann meist unangereichert infundiert oder nach Stimulation mit G-CSF durch Leukapherese aus dem peripheren Blut gewonnen (PBSC, n = 88), mittels SuperMACS oder CliniMACS angereichert und als CD34<sup>+</sup> hochangereicherte Stammzellgabe zugeführt. Die Dosis der CD34<sup>+</sup>Zellen betrug dabei im Median 10,7 x 10<sup>6</sup> Zellen/kg Körpergewicht, die der CD3<sup>+</sup>T-Zellen 6 x 10<sup>3</sup> /kg Körpergewicht. 15 Patienten mit HLA-identem Spender erhielten zusätzlich zur CD34<sup>+</sup>Stammzellgabe 10 Mio. CD3<sup>+</sup>T-Zellen.

### 2.1.1. Patientencharakteristika

Tabelle 2.1 Patientencharakteristika

			Anzahl der Patienten	
Diagnose	maligne	ALL (n = 51)	CR1	17
			CR2	22
CR3	7			
		AML (n = 11)	NR	5
			CR1	4
			CR2	4
			PR	1
		CML (n = 9)	NR	2
			CP	7
			CR1	1
		LYM (n = 3)	NR	1
			NHL	2
		MDS (n = 8)	M. Hodgkin	1
			RA	3
			RAEB-T	2
		ST	JMML	3
			Rhabdomyosarkom-Rezidiv	1
	nonmaligne	MPS	PV	1
		ID (n = 8)	Wiskott-Aldrich	3
			SCID	2
		IBE (n = 10)	Histiozytose	3
			Osteopetrose	4
			x-ALD	2
			metachromatische LD	1
			M. Günther	1
			Sichelzellanämie	1
			Thalassämie	1
		AA (n = 7)	SAA	4
			Blackfan-Diamond	3
Alter (Jahre)	Median ( Range)			9 (0,2-39)
Gewicht (kg)	Median ( Range)			29,9 (3,7-98)
Geschlecht			weiblich	44
			männlich	65

Abkürzungen: ALL, akute lymphatische Leukämie; AML, akute myeloische Leukämie; CML, chronische myeloische Leukämie; LYM, Lymphom; NHL, Non-Hodgkin Lymphom; MDS, Myelodysplastisches Syndrom; RA, Refraktäre Anämie; RAEB-T, Refraktäre Anämie mit Blastenüberschuss in Transformation; JMML, juvenile myelomonocytäre Leukämie; MPS, Myeloproliferatives Syndrom; PV, Polyzytämia vera; ST, Solider Tumor; CR, Komplett-Remission; PR, Partielle Remission; NR, Non-Remission; CP, Chronische Phase; ID, Immunodeficiency; SCID, Severe combined Immunodeficiency; IBE, Inborn Error; x-ALD, x-linked Adrenoleukodystrophie; LD, Leukodystrophie; AA, Aplastische Anämie; SAA, Schwere Aplastische Anämie

Tabelle 2.2 Spender und Transplantat

Stammzellquelle		
KM		21
PBSC		88
Spender		
MFD (n = 14)	nicht angereichert	9
	CD34 <sup>+</sup> angereichert	3
	CD34 <sup>+</sup> angereichert + 10 Mio.T-Zellen (CD3 <sup>+</sup> )	2
MUD (n = 56)	nicht angereichert	7
	CD34 <sup>+</sup> angereichert	36
	CD34 <sup>+</sup> angereichert + 10 Mio.T-Zellen (CD3 <sup>+</sup> )	13
Haploident (n = 39)	CD34 <sup>+</sup> angereichert	39
Transplantierte Zellen bei CD34 <sup>+</sup> angereicherter Transplantation		
CD34 <sup>+</sup> Stammzellen (x10 <sup>6</sup> /kgKG)	Median (Range)	10,7 (1,9-70,4)
CD3 <sup>+</sup> T-Zellen (x10 <sup>3</sup> /kgKG)	Median (Range)	6 (0,3-52)

Abkürzungen: KM, Knochenmark; PBSC, Periphere Blut Stammzellen; MFD, Matched family Donor; MUD, Matched unrelated Donor;

Die Patienten wurden auf Grundlage der Kriterien „Spendertyp“ und „Zellanreicherung“ zu folgenden Vergleichsgruppen zusammengefasst:

- FS0: MUD, nicht angereichert; insgesamt 7 Patienten
- FS1: MUD, CD34<sup>+</sup> angereichert sowie  
MFD, CD34<sup>+</sup> angereichert; insgesamt 39 Patienten
- FS2: MUD, CD34<sup>+</sup> angereichert +10 Mio T-Zellen sowie  
MFD, CD34<sup>+</sup> angereichert +10 Mio T-Zellen; insgesamt 15 Patienten
- Geschw: MFD, nicht angereichert; insgesamt 9 Patienten
- Haplo: Haploidentischer Spender, CD34<sup>+</sup> angereichert;  
insgesamt 39 Patienten



## **2.2. Virologische Diagnostik**

### **2.2.1. Allgemeine Verfahren der virologischen Diagnostik**

#### **2.2.1.1. Virus-Serologie**

Die Virus-Serologie beinhaltet die Bestimmung von spezifischen IgM- und IgG-Antikörpern gegen das zu untersuchende Virus im Blut des Patienten mittels ELISA (Enzyme-linked immunosorbent Assay).

Nach einer Virusinfektion kommt es aufgrund der spezifischen humoralen Immunreaktion beim immunkompetenten Patienten zunächst zur Bildung von spezifischen IgM-Antikörpern, die somit ein Zeichen einer akuten Infektion oder Reaktivierung sind. Im weiteren Verlauf werden IgG-Antikörper gebildet, die über Jahre hinweg nachweisbar bleiben und eine stattgehabte immunologische Auseinandersetzung mit diesem Virus anzeigen.

Die Virus-Serologie ist ein häufig angewandtes Verfahren zur Diagnostik von Virusinfektionen. Bei Patienten nach Stammzelltransplantation ist sie allerdings nur eingeschränkt aussagekräftig, da sie ein funktionsfähiges Immunsystem voraussetzt, welches aber bei diesen Patienten oft therapiebedingt supprimiert ist.

Ihren Stellenwert hat die Serologie aber im Vorfeld der Transplantation zur Bestimmung des Antikörper-Status sowohl des Stammzell-Empfängers als auch des Spenders. Insbesondere der CMV-Träger-Status ist hier von Bedeutung, da es im Zuge der Immunsuppression bei Positivität sowohl des Empfängers als auch des Spenders vermehrt zu Reaktivierungen mit oft schwerwiegenden Folgen kommen kann.

#### **2.2.1.2. Virusanzucht**

Hierzu wird das zu untersuchende Probenmaterial, z.B. Blut, Urin oder Rachenspülwasser auf humane embryonale Fibroblasten aufgeimpft und bis zu vier Wochen kultiviert.

Die Virusanzucht dient vor allem dem Nachweis von CMV, das sich durch seinen charakteristischen zytopathischen Effekt (CPE) auf die Fibroblasten identifizieren lässt. Zusätzlich kann nach 48-stündiger Bebrütung durch

Inokulation von monoklonalen Antikörpern gegen das CMV-Immediate Early Antigen die Expression dieses viralen Antigens und damit das Vorhandensein von CMV nachgewiesen werden.

Eine positive Virusanzucht im Blut bedeutet eine Virämie, d.h. es befinden sich infektiös- und vermehrungsfähige Viren im Blut. Die Virämie ist von der DNA-ämie und der Antigenämie abzugrenzen, bei denen sich zwar die nachgewiesenen Virusbestandteile im Blut befinden, diese aber nicht zwingend replikationsfähig sind.

#### **2.2.1.3. Antigennachweis**

Verschiedene Virusantigene können durch Inkubation mit den entsprechenden monoklonalen Antikörpern durch Enzym-Immunoassay qualitativ nachgewiesen werden. Hierzu zählen neben dem bereits erwähnten CMV-Immediate Early Antigen auch das CMV-pp65-Antigen, sowie ADV- und RSV-Antigene.

Wird das CMV-pp65-Antigen im Blut nachgewiesen, spricht man von einer CMV-Antigenämie.

#### **2.2.1.4. Polymerasekettenreaktion (PCR)**

Die PCR dient dem Nachweis von Virus-DNA oder -RNA. Dazu muss die DNA oder RNA zunächst isoliert und amplifiziert werden. Danach kann sie durch Slot-Blot-Hybridisierung oder Gelelektrophorese qualitativ und quantitativ bestimmt werden. Eine positive Blut-PCR bedeutet eine DNA-ämie.

#### **2.2.2. Virologische Überwachung des Patientenkollektivs**

Alle in dieser Studie ausgewerteten Patientenproben wurden im Institut für Medizinische Virologie und Epidemiologie der Viruskrankheiten oder am Institut für Pathologie, Abteilung für Molekulare Pathologie, beide am Universitätsklinikum Tübingen, analysiert. Hierbei wurden Proben zu Virusanzuchten, Antigennachweisen, Virusserologien und PCR-Untersuchungen an das Institut für Virologie gesendet. Am Institut für Pathologie fanden ebenfalls PCR-Untersuchungen statt. Ausgewertet wurden die retrospektiv erhobenen Daten sowohl der routinemäßig durchgeführten Screening-Untersuchungen als auch zusätzliche, aufgrund der Klinik

angeordnete Untersuchungen. Ein wöchentliches Screening gab es für CMV, ADV, HHV6, EBV und BK-Virus, Untersuchungen auf HSV, VZV und Parvo-B19-Virus wurden bei unklarem Fieber und klinischem Verdacht veranlasst.

Die Untersuchungen im Einzelnen waren wie folgt:

#### CMV

- Serologische CMV-Status-Bestimmung von Spender und Empfänger vor TP
- wöchentliches Screening des Blutes durch PCR (Leukozyten und Plasma), teils mit Virusanzucht, sowie Bestimmung des Immediate Early Antigen sowie des pp65 Antigen bis Tag 100, danach je nach Klinik
- wöchentliches Screening des Urins und des Rachenspülwassers durch PCR, teils mit Virusanzucht, sowie Bestimmung des Immediate Early Antigen bis Tag 100, danach je nach Klinik
- bei Verdacht PCR aus anderen Materialien wie Stuhl, Bronchiallavage (BAL) oder Biopsien

#### ADV

- wöchentliches Screening des Stuhls durch Antigen-Nachweis und PCR bis Tag 100, danach je nach Klinik
- bei Positivität erweitertes wöchentliches Screening durch PCR aus dem Blut (Leukozyten und Plasma), ggf. Urin, Rachenspülwasser oder anderen Materialien
- ggf. Identifizierung des ADV-Typs durch PCR

#### BKV und JCV

- wöchentliches Screening des Urins durch PCR bis Tag 100, danach je nach Befund

#### HHV6

- PCR aus Blut, Rachenspülwasser, Sputum, BAL oder Biopsiematerial bei klinischem Verdacht
- Ab dem Jahr 2000 wöchentliches PCR-Screening im Blut (Leukozyten und Plasma) bei den meisten Patienten

## EBV

- PCR aus Blut, Rachenspülwasser, Sputum, BAL oder Biopsiematerial bei klinischem Verdacht
- Ab dem Jahr 2000 wöchentliches PCR-Screening im Blut (Leukozyten und Plasma) bei den meisten Patienten

## HSV

- PCR aus Blut, Rachenspülwasser, Sputum, BAL oder Biopsiematerial bei klinischem Verdacht

## VZV

- PCR aus Blut, Rachenspülwasser, Sputum, BAL oder Biopsiematerial bei klinischem Verdacht

## Parvo-B19-Virus

- PCR aus Blut, Rachenspülwasser, Sputum, BAL oder Biopsiematerial bei klinischem Verdacht

Die Daten wurden in eine Acces-Datenbank aufgenommen und mit Hilfe von Excel tabellarisch dargestellt. Insgesamt wurden die Patienten dieser Studie im Median 199 Tage nach Transplantation virologisch überwacht (Range 21-1391 Tage).

## **2.3. Definitionen**

### **2.3.1. Infektion**

Als Virus-Infektion oder -Reaktivierung wurde der mindestens einmalige Nachweis der entsprechenden Virus-DNA bzw. -RNA mittels PCR oder der Nachweis des jeweiligen Virus-Antigens im untersuchten Medium gewertet.

### **2.3.2. Erkrankung**

Als Virus-Erkrankung wurde generell das Auftreten der entsprechenden klinischen Symptome gewertet, wenn möglich bei vorliegender und entsprechend serologisch gesicherter Infektion bzw. Reaktivierung.

Eine CMV-Erkrankung wurde wie von Ljungman et al. beschrieben definiert (Ljungman P et al., 2002). Für eine ADV-Erkrankung wurde die Definition von

Flomenberg P et al. herangezogen (Flomenberg P et al., 1994). Von einer BK-Virus-assoziierten Erkrankung wurde beim Auftreten einer spät einsetzenden hämorrhagischen Zystitis mit entsprechendem Virusnachweis im Urin ausgegangen (Hirsch HH, 2005). Bezüglich einer klinischen Manifestation einer HHV6-Infektion wurden die von Yoshikawa beschriebenen Krankheitsbilder gewertet (Yoshikawa T, 2003). Als Definition der EBV-assoziierten Lymphoproliferativen Erkrankung wurden die von Paya veröffentlichten Leitlinien zugrunde gelegt (Paya CV et al., 1999). Die Diagnose einer HSV- und VZV-Erkrankung wurde zum einen beim Vorliegen der typischen Herpes-labialis bzw. -zoster-Effloreszenzen, zum anderen beim Vorliegen einer disseminierten Organbeteiligung mit Virusnachweis gestellt. Von einer Parvo-B19 assoziierten Erkrankung wurde beim Auftreten der von Broliden dargestellten Symptome in Verbindung mit einem positiven Virus-Nachweis ausgegangen (Broliden K, 2001).

#### **2.4. Antivirale Therapie und Prophylaxe**

Als antivirale Prophylaxe erhielten alle Kinder Acyclovir. Zusätzlich erfolgte die wöchentliche Immunglobulin-G-Gabe bis Tag 100 nach Transplantation. Die meisten Kinder, die zwischen 1998 und 2002 transplantiert wurden, erhielten außerdem prophylaktisch G-CSF. Bei Patienten mit positivem CMV-Serostatus oder CMV-positivem Spender wurde die Chemoprophylaxe mit Hochdosis-Acyclovir durchgeführt.

Seit 2002 wurde zusätzlich als Prophylaxe gegen ADV-Infektionen Ribavirin verabreicht.

Im Falle eines positiven Virus-PCR-Nachweises wurde eine spezifische antivirale Therapie mit Gancyclovir, Foscarnet, Cidofovir oder Ribavirin oder einer Kombination aus diesen begonnen. Bei schwerem Verlauf einer CMV-Infektion wurde die antivirale Therapie um Hyperimmunglobulin (Cytoglobin) ergänzt.

## **2.5. Statistische Methoden**

Die Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit Hilfe des Programms Excel sowie des Statistikprogramms GraphPad Prism 3.0.

Zur deskriptiven Darstellung von Zeitpunkt und Dauer der Infektionen bzw. Erkrankungen wurden jeweils Minimum, Maximum und Median ermittelt.

Mittels der Kaplan-Meier-Methode wurden die Survivalkurven bzw. die Kurven der kumulativen Inzidenz berechnet und graphisch dargestellt. Mit Hilfe des Log-rank-Tests wurden diese Kurven verglichen und das Ergebnis über den Chi<sup>2</sup>-Test auf Signifikanz geprüft. Das Ergebnis ist jeweils in Form des P-Wertes angegeben. Als Signifikanzniveau wurden Werte von  $< 0,05$  festgelegt. Werte von 0.001 bis 0.01 gelten als hochsignifikant,  $< 0,001$  als höchst signifikant.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Allgemein

Insgesamt wurden 109 Patienten im Alter zwischen 2 Monaten bis 39 Jahre (Median 9 Jahre) über einen Zeitraum von 1 Monat bis 5 Jahre (Median 1,07 Jahre) nach Stammzelltransplantation klinisch nachuntersucht sowie zwischen 21 Tagen und 3,8 Jahren (Median 201 Tage) virologisch überwacht.

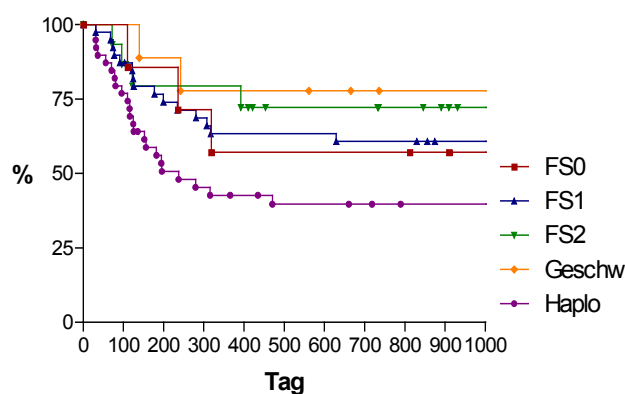
7 Patienten erhielten nicht-angereicherte Stammzellen eines MUD (FS0), 39 Patienten CD34<sup>+</sup> angereicherte Stammzellen eines MUD oder MFD (FS1), 15 Patienten CD34<sup>+</sup> angereicherte Stammzellen eines MUD oder MFD plus 10 Mio. T-Zellen (FS2), 9 Patienten erhielten nicht-angereicherte Stammzellen eines Geschwister-Spenders (Geschw) und 39 Patienten wurden haploidentisch mit CD34<sup>+</sup> angereicherten Stammzellen eines Elternteils transplantiert.

In oben genanntem Zeitraum verstarben insgesamt 48 der 109 Patienten, somit ergibt sich nach der Kaplan-Meier-Methode eine 3-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 56%. Die kumulative Inzidenz letaler Virusinfektionen lag ein Jahr nach HSCT bei 16% (n=18), zwei Kinder verstarben allerdings noch bis zu zwei Jahre nach Transplantation an einer Viruserkrankung. Lediglich in der Gruppe der Geschwisterspender trat kein virusassoziierter Todesfall auf. Die genauen Daten gibt Tabelle 3.1 sowie die Survivalkurven der 5 Gruppen im Vergleich wieder.

Tabelle 3.1 Mortalität nach Transplantation

	Zahl der Patienten	Tod	Virustod	Rezidiv
gesamt	109	48 (44)	18 (17)	15 (14)
FS0	7 (6)	3 (43)	2 (29)	0
FS1	39 (36)	16 (41)	7 (18)	6 (15)
FS2	15 (14)	4 (27)	4 (27)	1 (7)
Geschwister	9 (8)	2 (22)	0	0
Haploidentisch	39 (36)	23 (60)	5 (13)	8 (21)

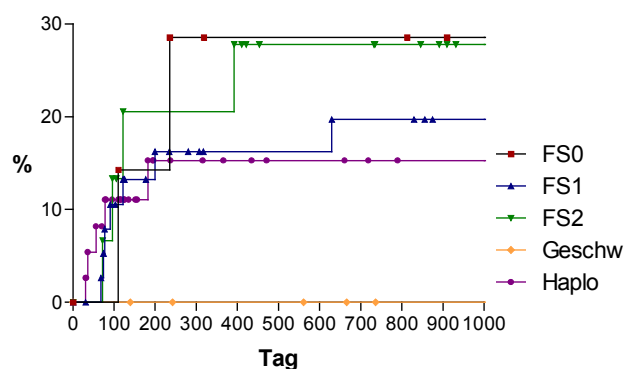
Zahlen in Klammern: Prozent



Logrank-Test		Gesamt-Überleben	
		p-Wert	
FS0	vs. FS1		0,9700
FS0	vs. FS2		0,5638
FS0	vs. Geschw.		0,3967
FS0	vs. Haplo		0,3125
FS1	vs. FS2		0,5082
FS1	vs. Geschw.		0,3463
FS1	vs. Haplo		0,0642
FS2	vs. Geschw.		0,7053
FS2	vs. Haplo		0,0553
Geschw.	vs. Haplo		0,0515

Abbildung 3.1 3-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit

FS0 57%, FS1 61%, FS2 72%, Geschw. 78%, Haplo 40%



Logrank-Test		virusbedingte Mortalität	
		p-Wert	
FS0	vs. FS1		0,6319
FS0	vs. FS2		0,9812
FS0	vs. Geschw.		0,1056
FS0	vs. Haplo		0,5341
FS1	vs. FS2		0,5218
FS1	vs. Geschw.		0,1815
FS1	vs. Haplo		0,8256
FS2	vs. Geschw.		0,1051
FS2	vs. Haplo		0,4408
Geschw.	vs. Haplo		0,2336

Abbildung 3.2 Kumulative Inzidenz der virusbedingten Mortalität

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 29%, FS1 16%, FS2 21%, Geschw. 0%, Haplo 15%

Insgesamt ist hier das Gesamtüberleben der haploidentisch transplantierten Patienten schlechter, ein signifikanter Unterschied konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Insbesondere besteht keine erhöhte Mortalität aufgrund von virus-bedingten Todesursachen, vielmehr ist in der haploidentisch transplantierten Gruppe die Rezidivrate sowie die Häufigkeit der Komplikationen durch die Induktionstherapie sowie die Immunsuppression wie VOD (Veno-Occlusive-Disease), TEN (Toxische epidermale Nekrolyse) und BOOP



(Bronchiolitis obliterans mit organisierender Pneumonie) höher als in den Vergleichsgruppen.

Die Häufigkeit der Virusinfektionen sowie die der virus-assoziierten Erkrankungen innerhalb der jeweiligen Gruppen wird im Folgenden erläutert.

Die Häufigkeit sowie den zeitlichen Verlauf der Infektion der einzelnen Viren im Gesamtkollektiv gibt Abbildung 3.3 wieder.

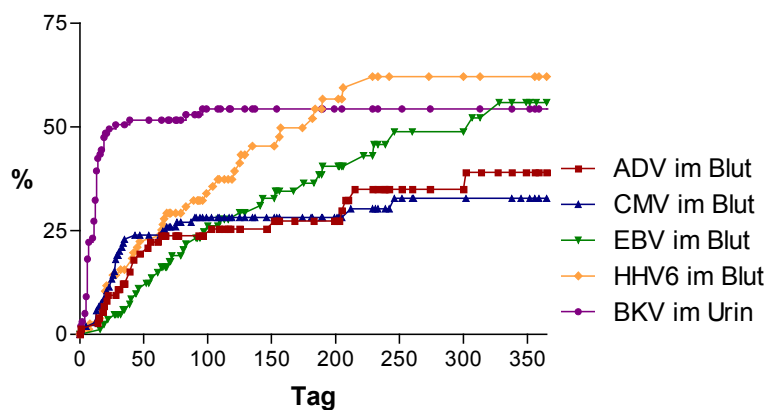


Abbildung 3.3 Kumulative Inzidenz der Virusinfektionen

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: ADV 40%, CMV 35%, EBV 56%, HHV6 62%, BKV 55%

Deutlich wird hier, dass Infektionen mit dem BK-Virus mit einer Infektionsrate von 57% zum einen sehr häufig sind und zum anderen deutlich früher auftreten als die der anderen Viren, im Median bereits am Tag 10,5 nach Transplantation. Zeitlich folgend treten CMV- und ADV-Infektionen bzw. Reaktivierungen auf, deren Kurven sich ebenfalls noch durch einen raschen Anstieg mit bald folgendem Plateau auszeichnen. Im Weiteren folgt HHV6 mit ähnlich steilem, jedoch deutlich längerem Anstieg. Zuletzt treten EBV-Reaktivierungen mit einem erstmaligen PCR-Nachweis im Median an Tag 83 nach Transplantation auf. Zu beachten ist, dass die hohe Inzidenz von HHV6- und EBV-Infektionen dadurch zu erklären ist, dass hier eine Diagnostik initial nur bei klinischem Verdacht durchgeführt wurde.

### 3.2. CMV

Bei den 109 untersuchten Kindern trat bei 39 (36%) während des Untersuchungszeitraums eine CMV-Reaktivierung oder Neuinfektion auf. Insgesamt lag in 33 Fällen eine Reaktivierung vor, davon 14 bei lediglich CMV-positivem Empfänger, 19 bei positivem Empfänger und Spender. In sechs Fällen trat eine Neuinfektion auf, allerdings eine bei CMV-positivem Spender. Bei den fünf Kindern mit sowohl CMV-negativem Spender und Empfänger konnte nur jeweils einmal eine positive PCR dokumentiert werden. Keines dieser Kinder entwickelte CMV-assoziierte Symptome.

Tabelle 3.2 CMV-Status

CMV- Status		Zahl der Patienten	Zahl der Infektionen
Spender	Empfänger		
n	n	33 (33)	5 (15)
p	p	23 (21)	19 (83)
p	n	23 (21)	1 (4)
n	p	28 (27)	14 (50)
unbekannt		2 (2)	

Zahlen in Klammern: Prozent  
n negativ, p positiv

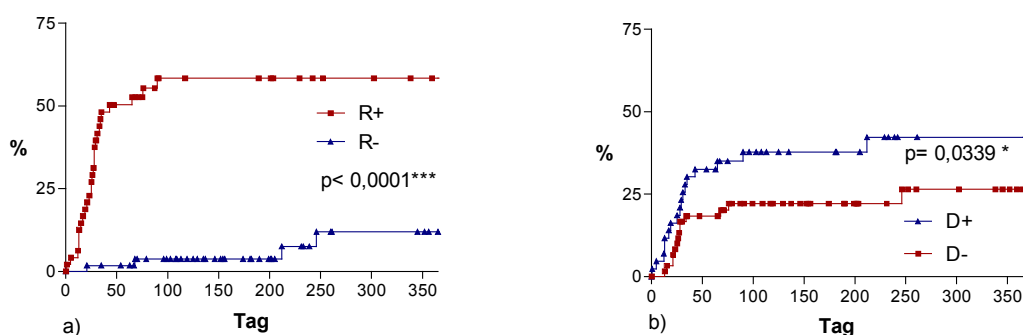


Abbildung 3.4 Kumulative Inzidenz einer CMV-DNAämie in Abhängigkeit vom Serostatus a) des Empfängers und b) des Spenders

R+ Empfänger CMV positiv  
R- Empfänger CMV negativ

D+ Spender CMV positiv  
D- Spender CMV negativ

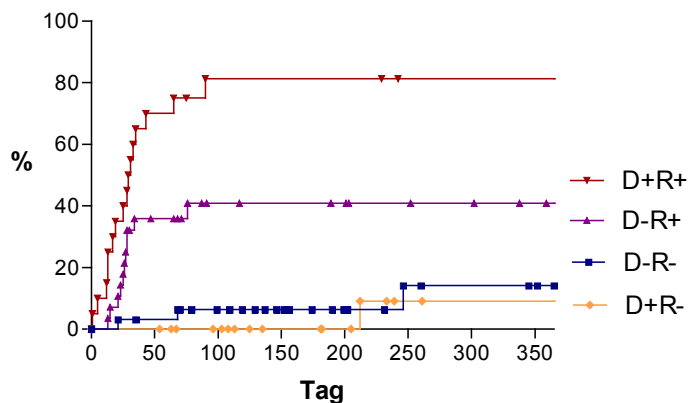


Abbildung 3.5 Kumulative Inzidenz einer CMV-DNAämie in Abhängigkeit vom Serostatus des Spenders und Empfängers

D+R+ Spender/Empfänger CMV positiv, D-R- Spender/Empfänger CMV negativ,  
 D+R- Spender positiv/Empfänger negativ, D-R+ Spender negativ/Empfänger positiv

Es besteht jeweils ein höchst signifikanter Unterschied in der Inzidenz einer CMV-DNAämie zwischen der Gruppe mit sowohl CMV-positivem Spender als auch Empfänger gegenüber den beiden Gruppen mit CMV-negativem Empfänger ( $p < 0,0001$ ). Einen hochsignifikanten Einfluss hat auch der Serostatus des Spenders bei seropositivem Empfänger ( $p = 0,0013$ ). Bei CMV-negativem Empfänger ist der Spender-Status unerheblich ( $p = 0,3237$ ).

### 3.2.1. CMV im Blut

Bei insgesamt 33 Kindern konnte im routinemäßig durchgeführten Screening CMV mittels PCR im Blut nachgewiesen werden. Ebenfalls als Screening-Untersuchung eingesetzt wurden hier das pp65 Antigen und das Immediate Early Antigen. Da der Antigen-Nachweis beim untersuchten Kollektiv immer mit einer positiven PCR einherging, wurde hier auf eine gesonderte Auswertung verzichtet. Ebenfalls verzichtet wurde auf die Berücksichtigung der Virusanzucht, da hier nur bei einem Kind ein positiver Nachweis geführt werden konnte. Ein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen bestand bezüglich der Inzidenz einer CMV-Infektion nicht. Die Daten sind im Einzelnen in den folgenden Tabellen sowie im Schaubild dargestellt.

Tabelle 3.3 CMV-Infektion im Blut

	Zahl der Patienten	CMV-Infektion	
		untersucht	pos PCR im Blut
gesamt	109	109 (100)	33 (30)
FS0	7 (6)	7 (100)	2 (29)
FS1	39 (36)	39 (100)	14 (36)
FS2	15 (14)	15 (100)	3 (20)
Geschwister	9 (8)	9 (100)	4 (44)
Haploidentisch	39 (36)	39 (100)	10 (27)

Zahlen in Klammern: Prozent

Tag der ersten positiven PCR im Blut	Median	25
	Min	-9
	Max	246

Dauer der CMV-Positivität im Blut (in Tagen)	Median	40
	Min	1
	Max	267

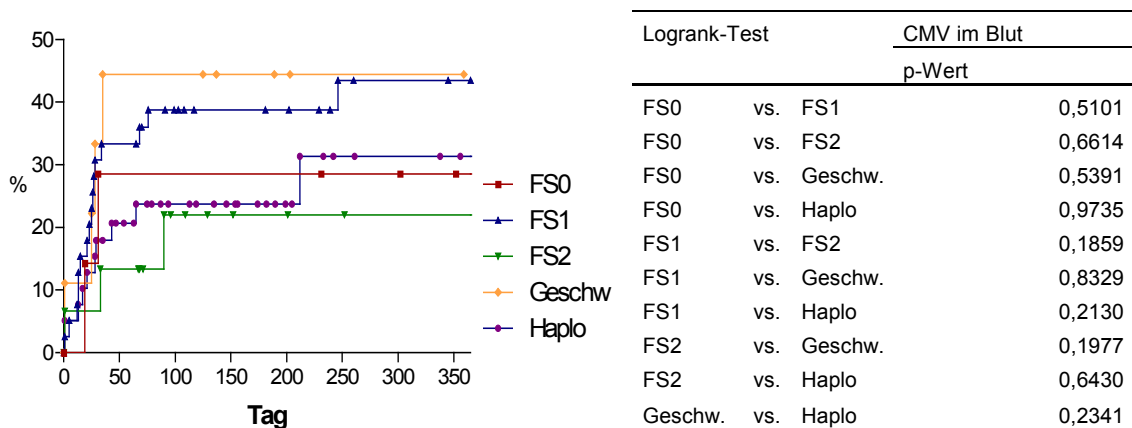


Abbildung 3.6 Kumulative Inzidenz der CMV-DNAämie

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 29%, FS1 43%, FS2 22%, Geschw. 44%, Haplo 31%

### 3.2.2. CMV im Respirationstrakt

Anhand der durchgeführten PCR-Untersuchungen konnte bei insgesamt 23 Patienten eine CMV-Infektion im Respirationstrakt nachgewiesen werden. Berücksichtigt sind hier PCR-Untersuchungen aus Rachenspülwasser, Sputum sowie Bronchiallavage (BAL). Wie auch im Blut war ein positiver Antigennachweis immer mit einer positiven PCR vergesellschaftet, sodass

keine gesonderte Auswertung erfolgte. Eine Virusanzucht gelang nur in vier Fällen.

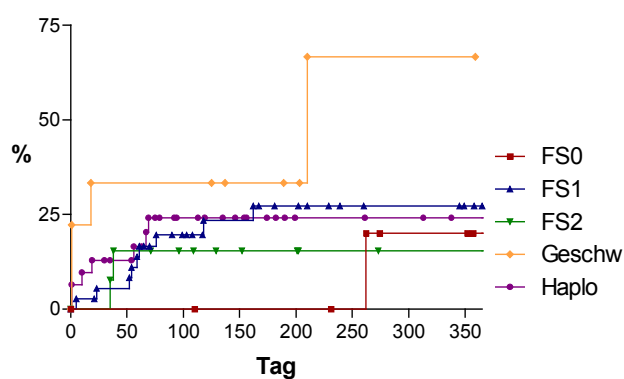
Auch hier konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen dargestellt werden. Die Ergebnisse sind im Folgenden tabellarisch dargestellt. Das Schaubild zeigt die kumulative Inzidenz der Infektionen im Bereich des Respirationstrakts.

Tabelle 3.4 CMV-Infektion im Respirationstrakt

	Zahl der Patienten	CMV-Infektion	
		untersucht	pos PCR im Respirationstrakt
gesamt	109	97 (89)	23 (24)
FS0	7 (6)	7 (100)	1 (14)
FS1	39 (36)	37 (95)	9 (24)
FS2	15 (14)	13 (87)	2 (15)
Geschwister	9 (8)	9 (100)	4 (44)
Haploidentisch	39 (36)	31 (79)	7 (23)

Zahlen in Klammern: Prozent

Tag der ersten positiven PCR im Respirationstrakt	Median	52
	Min	-14
	Max	262
Dauer der CMV-Positivität im Respirationstrakt (in Tagen)	Median	7
	Min	1
	Max	64



Logrank-Test		CMV im Rachen	
		p-Wert	
FS0	vs. FS1		0,4337
FS0	vs. FS2		0,6803
FS0	vs. Geschw.		0,0543
FS0	vs. Haplo		0,4083
FS1	vs. FS2		0,5583
FS1	vs. Geschw.		0,1684
FS1	vs. Haplo		0,9206
FS2	vs. Geschw.		0,1272
FS2	vs. Haplo		0,5340
Geschw.	vs. Haplo		0,2201

Abbildung 3.7 Kumulative Inzidenz der CMV-Infektion im Respirationstrakt

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 20%, FS1 27%, FS2 15%, Geschw. 67%, Haplo 24%

### 3.2.3. CMV im Urin

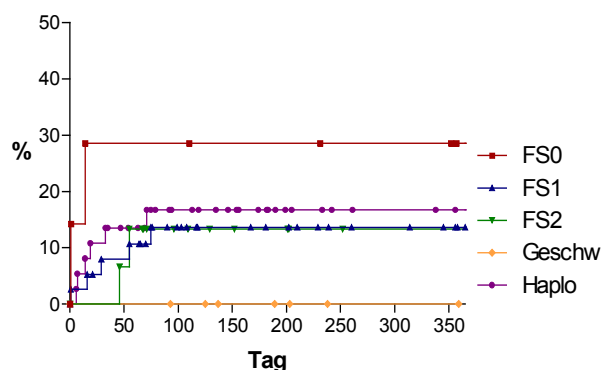
Ebenfalls als Screening-Untersuchung wurde die wöchentliche PCR auf CMV im Urin durchgeführt. Wie bereits oben erwähnt sind in die Auswertung die im Rahmen des Screenings durchgeführten Untersuchungen auf das Immediate Early Antigen mit eingeschlossen. Nur bei einem Kind konnte CMV zusätzlich mittels Virusanzucht nachgewiesen werden. Insgesamt konnte bei 18 Kindern eine CMV-Infektion/-Reaktivierung im Urin dokumentiert werden. Die Ergebnisse der einzelnen Gruppen differierten nicht signifikant.

Tabelle 3.5 CMV-Infektion im Urin

	Zahl der Patienten	CMV-Infektion	
		untersucht	pos PCR im Urin
gesamt	109	107 (98)	18 (17)
FS0	7 (6)	7 (100)	2 (29)
FS1	39 (36)	38 (97)	5 (13)
FS2	15 (14)	15 (100)	2 (13)
Geschwister	9 (8)	9 (100)	2 (22)
Haploidentisch	39 (36)	38 (97)	7 (18)

Zahlen in Klammern: Prozent

Tag der ersten positiven PCR im Urin	Median	15
	Min	-19
	Max	75
Dauer der CMV-Positivität im Urin (in Tagen)	Median	10
	Min	1
	Max	228



Logrank-Test		CMV im Urin	
		p-Wert	
FS0	vs. FS1		0,2549
FS0	vs. FS2		0,3243
FS0	vs. Geschw.		0,1413
FS0	vs. Haplo		0,3901
FS1	vs. FS2		0,9927
FS1	vs. Geschw.		0,3143
FS1	vs. Haplo		0,6785
FS2	vs. Geschw.		0,3255
FS2	vs. Haplo		0,7340
Geschw.	vs. Haplo		0,2616

Abbildung 3.8 Kumulative Inzidenz der CMV-Infektion im Urin

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 29%, FS1 14%, FS2 13%, Geschw. 0%, Haplo 17%

### 3.2.4. CMV-Erkrankung und CMV-bedingter Tod

Während des Beobachtungszeitraums entwickelten insgesamt elf Kinder eine CMV-Erkrankung. Als Manifestation bot sich achtmal eine interstitielle Pneumonie, eine Hepatitis, eine Knochenmarkinsuffizienz, ein Kind wurde mit CMV-assoziiertes Enzephalitis sowie Mundschleimhautläsionen symptomatisch. Sechs der acht an einer CMV-Pneumonie Erkrankten starben an dieser (75%), ebenfalls das Kind mit der CMV-Hepatitis. Bei weiteren fünf Kindern traten Symptome auf, die eine CMV-Assoziation als möglich erscheinen lassen. Ein eindeutiger Zusammenhang war hier aber nicht nachweisbar (interstitielle Pneumonie, Hepatitis, KM-Insuffizienz).

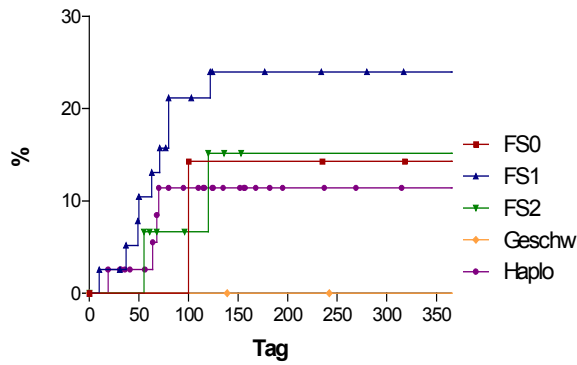
Tabelle 3.6 CMV-Erkrankung und CMV-bedingter Tod

	Zahl der Patienten	CMV-Erkrankung		CMV als Todesursache
		gesichert	möglich	gesichert
gesamt	109	11 (10)	5 (5)	7 (6)
FS0	7 (6)	1 (14)	0	1 (14)
FS1	39 (36)	7 (18)	2 (5)	3 (8)
FS2	15 (14)	1 (7)	1 (7)	1 (7)
Geschwister	9 (8)	0	0	0
Haploidentisch	39 (36)	2 (5)	2 (5)	2 (5)

Zahlen in Klammern: Prozent

Tag der ersten klinischen Symptome	Median	64
	Min	10
	Max	120

CMV-bedingter Tod (Tag nach TP)	Median	91
	Min	31
	Max	122



Logrank-Test		CMV- Disease
		p-Wert
FS0	vs. FS1	0,5422
FS0	vs. FS2	0,9421
FS0	vs. Geschw.	0,2568
FS0	vs. Haplo	0,8984
FS1	vs. FS2	0,4551
FS1	vs. Geschw.	0,1187
FS1	vs. Haplo	0,1876
FS2	vs. Geschw.	0,2346
FS2	vs. Haplo	0,8150
Geschw.	vs. Haplo	0,2999

Abbildung 3.9 Kumulative Inzidenz der CMV-Erkrankungen

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 14%, FS1 24%, FS2 15%, Geschw. 0%, Haplo 11%



### 3.3. ADV

Insgesamt konnten bei 46 der 109 untersuchten Patienten eine ADV-Reaktivierung bzw. Infektion im Stuhl, Blut und/oder in anderen Untersuchungsmaterialien wie Biopsien, Rachenspülwasser oder BAL nachgewiesen werden. Bei 26 Patienten ist eine Virus-Typisierung erfolgt, dies ist in folgender Tabelle dargestellt:

Tabelle 3.7 Häufigkeit der ADV-Infektion nach ADV-Typen

Subgruppen	Zahl der Pat.	ADV-Typ	
			Zahl der Patienten
A	4 (15)	12	3 (11)
		31	1 (4)
B1	1 (4)	3	1 (4)
C	19 (73)	1	3 (11)
		2	11 (42)
		5	1 (4)
		6	4 (15)
E	1 (4)	4	1 (4)
F	2 (8)	40	1 (4)
		41	1 (4)

Zahlen in Klammern: Prozent

Typisierungen insges: 26 Pat.; ein Pat. Reaktivierung von Typ 2 und 6

#### 3.3.1. ADV im Stuhl

Eine ADV-Infektion im Stuhl konnte insgesamt bei 42 Patienten nachgewiesen werden, genaueres gibt folgende Tabelle wieder:

Tabelle 3.8 ADV-Infektion im Stuhl

	Zahl der Patienten	ADV-Infektion	
		untersucht	pos PCR/ AG-Nachweis im Stuhl
gesamt	109	93 (85)	42 (45)
FS0	7 (6)	7 (100)	6 (85)
FS1	39 (36)	31 (79)	12 (39)
FS2	15 (14)	15 (100)	8 (53)
Geschwister	9 (8)	9 (100)	3 (33)
Haploidentisch	39 (36)	31 (79)	13 (42)

Zahlen in Klammern: Prozent

Tag des ersten positiven PCR/ AG-Nachweises im Stuhl	Median	33
	Min	-6
	Max	258

Dauer der ADV-Positivität im Stuhl (in Tagen)	Median	10
	Min	1
	Max	224

Insgesamt konnte anhand der kumulativen Inzidenz ein signifikanter Unterschied der 4 untersuchten Gruppen nur zwischen den nicht-angereicherten Fremd Spendern und den CD34<sup>+</sup>Fremd Spendern nachgewiesen werden (p-Wert 0,0355).

Die jeweilige Inzidenz ist dem folgenden Schaubild zu entnehmen:

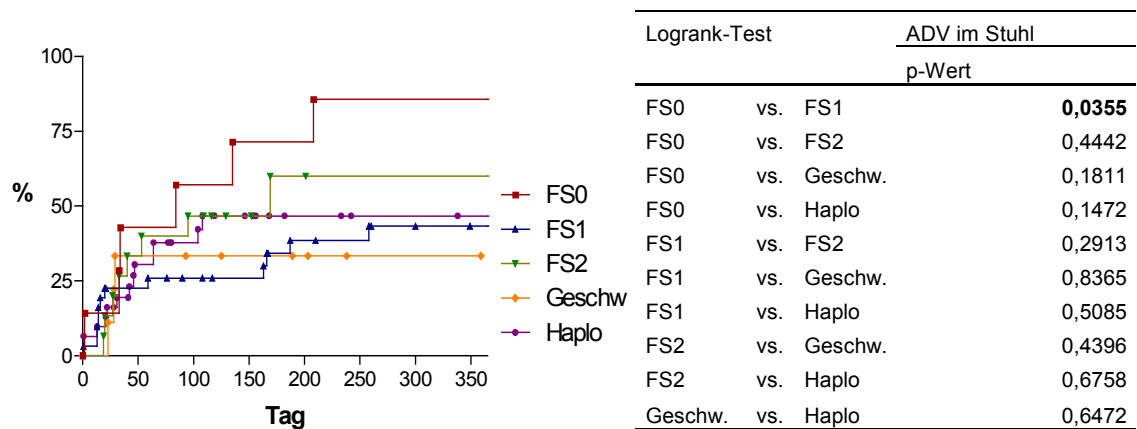


Abbildung 3.10 Kumulative Inzidenz der ADV-Infektion im Stuhl

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 85%, FS1 43%, FS2 60%, Geschw. 33%, Haplo 47%

### 3.3.2. ADV im Blut

Mittels PCR konnten bei insgesamt 24 Kindern eine ADV-Infektion in den Leukozyten und/ oder im Plasma nachgewiesen werden. (siehe Tabelle 3.9 )

Tabelle 3.9 ADV-Infektion im Blut

	Zahl der Patienten	ADV-Infektion	
		untersucht	pos PCR im Blut
gesamt	109	75 (69)	24 (32)
FS0	7 (6)	7 (100)	5 (71)
FS1	39 (36)	23 (59)	6 (26)
FS2	15 (14)	14 (93)	4 (29)
Geschwister	9 (8)	8 (89)	2 (25)
Haploidentisch	39 (36)	23 (59)	7 (30)

Zahlen in Klammern: Prozent

Tag der ersten positiven PCR im Blut	Median	40,5
	Min	-1
	Max	302

Dauer der ADV-Positivität im Blut (in Tagen)	Median	20
	Min	1
	Max	185

Wie auch im Stuhl zeigt sich im Blut eine signifikant höhere kumulative Inzidenz der ADV-Infektionen bei den nicht-angereicherten Fremd Spendern gegenüber den CD34<sup>+</sup>Fremd Spendern (p-Wert 0,0366). Für die übrigen Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

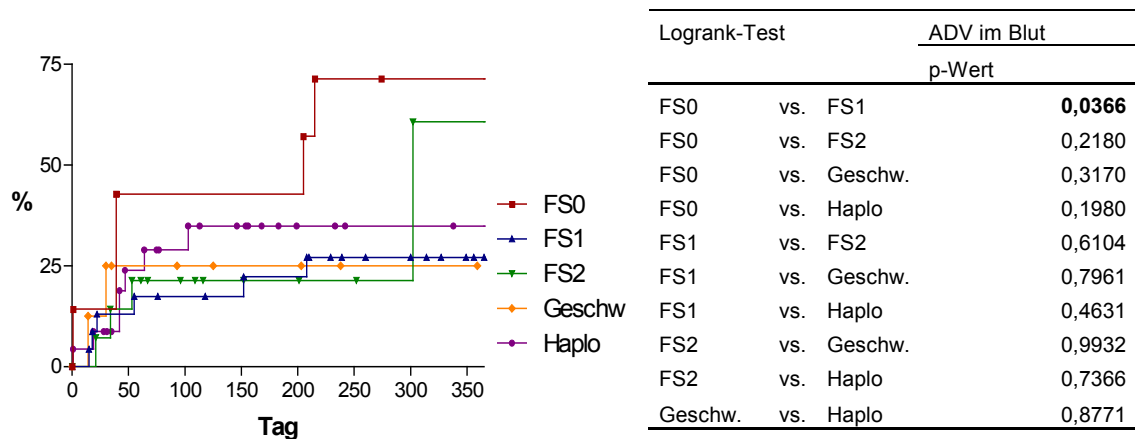


Abbildung 3.11 Kumulative Inzidenz der ADV-Infektion im Blut

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 71%, FS1 27%, FS2 61%, Geschw. 25%, Haplo 35%

### 3.3.3. ADV in sonstigem Untersuchungsmaterial

Bei insgesamt 18 Kindern ließ sich ADV zusätzlich in anderen Untersuchungsmaterialien wie Urin, Rachenspülwasser, BAL oder Biopsiematerial nachweisen. Untersuchungen fanden hier nicht routinemäßig sondern nur bei klinischem Verdacht statt.

Eine Berechnung der kumulativen Inzidenz ist deshalb nicht sinnvoll.

Tabelle 3.10 ADV-Nachweis in sonstigem Untersuchungsmaterial

	Zahl der Patienten	ADV-Infektion
		sonstige pos PCR
gesamt	109	18 (17)
FS0	7 (6)	2 (29)
FS1	39 (36)	7 (18)
FS2	15 (14)	4 (27)
Geschwister	9 (8)	2 (22)
Haploidentisch	39 (36)	3 (8)

Zahlen in Klammern: Prozent

Tag der ersten sonstigen positiven PCR	Median	64,5
	Min	7
	Max	385

### 3.3.4. ADV-Disease und ADV-bedingter Tod

Symptomatisch wurden insgesamt 24 Kinder, wovon bei 18 eine eindeutige ADV-Disease bestand. Ein signifikanter Unterschied bezüglich einer ADV-assoziierten Erkrankung konnte nur zwischen nicht-angereicherten Fremd Spendern und den Geschwisterspendern nachgewiesen werden. 6 Kinder boten das Bild einer Enteritis, 3 ein Ulcus duodeni oder eine gastrointestinale Blutung. In 7 Fällen manifestierte sich die ADV-Erkrankung als Hepatitis. Eine Pneumonie zeigte sich bei 5 Kindern, ein Kind erlitt im Rahmen einer fulminanten Infektion eine Enzephalitis. Eine hämatologische Beeinträchtigung lag in 5 Fällen in Form einer Knochenmarkinsuffizienz, einer refraktären Anämie oder einer gesteigerten Hämophagozytose-Aktivität vor. 4 Kinder entwickelten ein ADV-assoziiertes Exanthem.

Ein sicher ADV-bedingter Tod lag bei insgesamt 7 Kindern im Rahmen einer fulminanten Infektion vor, bei 3 weiteren Kindern muss zumindest von einer Mitbeteiligung von ADV ausgegangen werden.

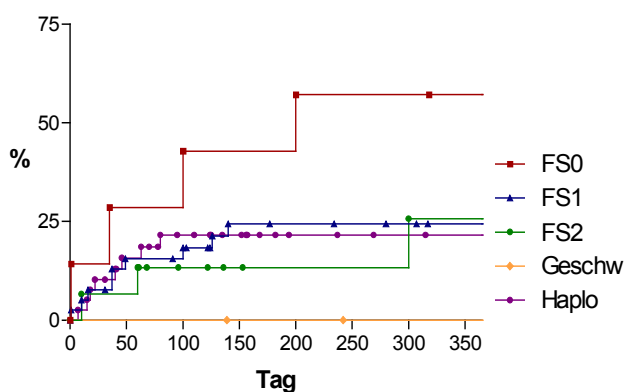
Tabelle 3.11 ADV-Erkrankung und ADV-bedingter Tod

	Zahl der Patienten	ADV-Disease		ADV als Todesursache	
		gesichert	möglich	gesichert	möglich
gesamt	109	18 (17)	6 (6)	7 (6)	3 (3)
FS0	7 (6)	3 (43)	1 (14)	1 (14)	1 (14)
FS1	39 (36)	6 (15)	3 (8)	2 (5)	2 (5)
FS2	15 (14)	2 (13)	1 (7)	2 (13)	0
Geschwister	9 (8)	0	0	0	0
Haploidentisch	39 (36)	7 (18)	1 (3)	2 (5)	0

Zahlen in Klammern: Prozent

Tag der ersten klinischen Symptome	Median	36
	Min	-3
	Max	126

ADV-bedingter Tod (Tag nach TP)	Median	72
	Min	36
	Max	392



Logrank-Test		ADV-Disease
		p-Wert
FS0	vs. FS1	0,0749
FS0	vs. FS2	0,2336
FS0	vs. Geschw.	<b>0,0107</b>
FS0	vs. Haplo	0,0792
FS1	vs. FS2	0,8641
FS1	vs. Geschw.	0,1183
FS1	vs. Haplo	0,9220
FS2	vs. Geschw.	0,1363
FS2	vs. Haplo	0,8658
Geschw.	vs. Haplo	0,1420

Abbildung 3.12 Kumulative Inzidenz einer ADV-Erkrankung

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 57%, FS1 24%, FS2 26%, Geschw. 0%, Haplo 22%

### 3.4. HHV6

Ein routinemäßiges PCR-Screening auf HHV6 ist nur im Blut erfolgt, PCR-Untersuchungen aus dem Respirationstrakt sind nur bei 41 Kindern (38%) durchgeführt worden. Bei jeweils mehr als der Hälfte der untersuchten Kinder konnte im Beobachtungszeitraum zumindest vorübergehend HHV6 mittels PCR im Blut oder im Respirationstrakt nachgewiesen werden, sodass von einer hohen Reaktivierungsrate ausgegangen werden muss. Die kumulative Inzidenz ein Jahr nach Transplantation lag für eine DNAämie in Leukozyten oder Plasma bei 62%, für einen Virusnachweis im Respirationstrakt bei 72%. Allerdings war bei vielen Kindern diese Reaktivierung nur kurz, z. T. nur einmalig nachweisbar. Ein signifikanter Unterschied zwischen den Untersuchungsgruppen bestand nicht.

Tabelle 3.12 HHV6-Infektion

	Zahl der Patienten	HHV6-Infektion im Blut		HHV6-Infektion im Rachen	
		untersucht	pos PCR im Blut	untersucht	pos PCR im Rachen
gesamt	109	81 (74)	42 (52)	41 (38)	23 (56)
FS0	7 (6)	7 (100)	6 (86)	2 (29)	1 (50)
FS1	39 (36)	22 (56)	16 (72)	12 (31)	8 (67)
FS2	15 (14)	15 (100)	4 (27)	10 (67)	7 (70)
Geschwister	9 (8)	9 (100)	4 (44)	3 (33)	1 (33)
Haploidentisch	39 (36)	28 (72)	12 (42)	14 (36)	6 (43)

Zahlen in Klammern: Prozent

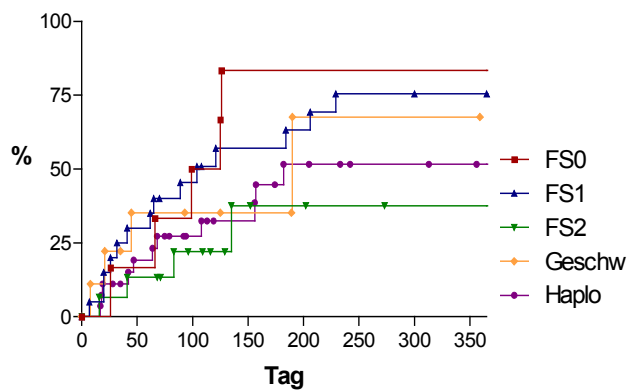
Der Zeitpunkt der erstmalig positiven PCR lag um Tag 50 nach Transplantation (Blut: Tag 54,5; Rachen: Tag 57), und damit im für Virus-Reaktivierungen typischen Zeitraum.

Tag der ersten positiven PCR im Blut	Median	54,5
	Min	-13
	Max	229
Dauer der HHV6-Positivität im Blut (in Tagen)	Median	5
	Min	1
	Max	258
Tag der ersten positiven PCR im Rachen/Sputum	Median	57
	Min	-10
	Max	308

Dauer der HHV6-Positivität im Sputum/Rachen (in Tagen)

Median 21  
 Min 1  
 Max 108

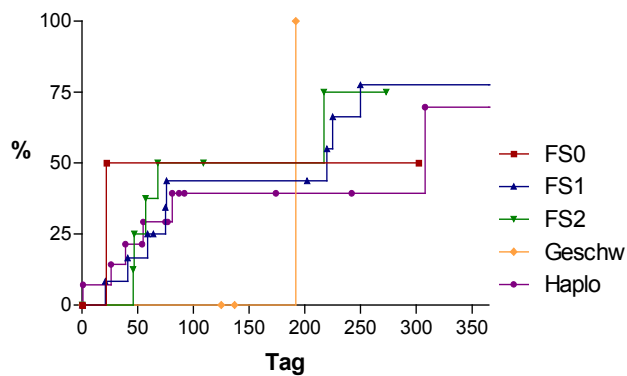
Die folgenden Schaubilder stellen die kumulative Inzidenz von HHV6 im Blut und im Respirationstrakt dar.



Logrank-Test		HHV6 im Blut	
		p-Wert	
FS0	vs. FS1		0,8148
FS0	vs. FS2		0,0608
FS0	vs. Geschw.		0,4598
FS0	vs. Haplo		0,1394
FS1	vs. FS2		0,0788
FS1	vs. Geschw.		0,5759
FS1	vs. Haplo		0,1615
FS2	vs. Geschw.		0,3773
FS2	vs. Haplo		0,5359
Geschw.	vs. Haplo		0,7138

Abbildung 3.13 Kumulative Inzidenz der HHV6-Infektion im Blut

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 83%, FS1 75%, FS2 38%, Geschw. 68%, Haplo 52%



Logrank-Test		HHV6 im Rachen	
		p-Wert	
FS0	vs. FS1		0,7582
FS0	vs. FS2		0,9318
FS0	vs. Geschw.		0,8864
FS0	vs. Haplo		0,6122
FS1	vs. FS2		0,6499
FS1	vs. Geschw.		0,7232
FS1	vs. Haplo		0,6284
FS2	vs. Geschw.		0,5557
FS2	vs. Haplo		0,4279
Geschw.	vs. Haplo		0,7344

Abbildung 3.14 Kumulative Inzidenz der HHV6-Infektion im Respirationstrakt

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 50%, FS1 78%, FS2 75%, Geschw. 100%, Haplo 70%

Eine HHV6-assoziierte Erkrankung konnte in fünf Fällen gesichert werden, wobei jeweils zwei Kinder an einem Hämophagozytosesyndrom sowie an einem Exanthem erkrankten, ein Kind an einer Enzephalitis. Die Symptome manifestierten sich zwischen Tag 24 und 187 nach Transplantation (Median 118). Bei neun weiteren Patienten mit interstitieller Pneumonie, Exanthem oder Knochenmarkinsuffizienz ist eine Beteiligung von HHV6 möglich.

Ein Kind starb im Rahmen einer disseminierten Virusinfektion mit hoher HHV6- und ADV-Viruslast und HHV6-Enzephalitis. Ein weiteres Kind verstarb an einer Aspergillose bei chronischer GvHD, möglicherweise auf dem Boden einer HHV6-Reaktivierung.

Tabelle 3.13 HHV6-Erkrankung und HHV6-bedingter Tod

	Zahl der Patienten	HHV6-Disease		HHV6 als Todesursache	
		gesichert	möglich	gesichert	möglich
gesamt	109	6 (5)	9 (8)		
FS0	7 (6)	1 (14)		1 (14)	
FS1	39 (36)	3 (8)	2 (5)		1 (3)
FS2	15 (14)	1 (7)	2 (13)		
Geschwister	9 (8)		1 (11)		
Haploidentisch	39 (36)		4 (10)		

Zahlen in Klammern: Prozent

Tag der ersten klinischen Symptome	Median	118
	Min	26
	Max	187

### 3.5. EBV

Bei insgesamt 33 Kindern konnte während des Beobachtungszeitraums EBV mittels PCR im Blut nachgewiesen werden. Im Rachenspülwasser oder in einer BAL gelang der Virusnachweis bei vier Kindern, weitere vier positive PCR-Ergebnisse erbrachten Untersuchungen aus sonstigem Untersuchungsmaterial wie Biopsien oder Liquorpunktion. Allgemein traten die EBV-Reaktivierungen bzw. -Infektionen verhältnismäßig spät auf, im Median an Tag 83 nach Transplantation. Ein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen konnte nicht nachgewiesen werden.



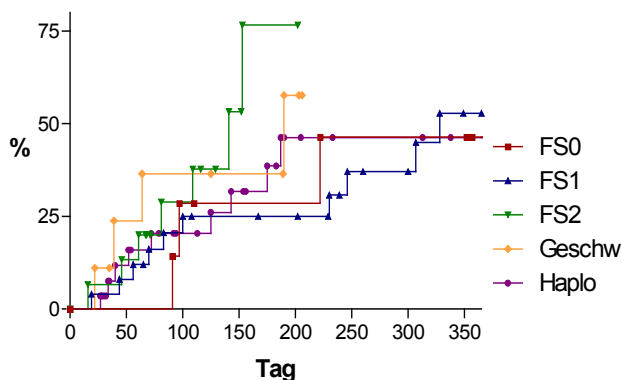
Sechs Kinder zeigten EBV- assoziierte Symptome, im Median an Tag 115, drei lediglich mit Fieber und/oder Lymphadenitis, eines mit Hepatitis und Pneumonie. In zwei Fällen kam es jedoch zu einer EBV-assoziierten lymphoproliferativen Erkrankung. Ein Kind starb infolge der Erkrankung, das andere entwickelte ein malignes Non-Hodgkin-Lymphom, überlebte aber bis zum Ende der Beobachtungsdauer.

Tabelle 3.14 EBV-Infektion und EBV-Erkrankung

	Zahl der Patienten	EBV-Infektion		EBV-Klinik	
		untersucht	pos PCR im Blut	EBV-Disease	EBV-bedingter Tod
gesamt	109	84 (77)	33 (30)	6 (6)	1 (1)
FS0	7 (6)	7 (100)	3 (43)	0	
FS1	39 (36)	25 (64)	10 (26)	3 (8)	
FS2	15 (14)	15 (100)	7 (47)	2 (13)	1 (7)
Geschwister	9 (8)	9 (100)	4 (44)	0	
Haploidentisch	39 (36)	28 (72)	9 (32)	1 (3)	

Zahlen in Klammern: Prozent

Tag der ersten positiven PCR im Blut	Median	83
	Min	16
	Max	328
Dauer der EBV-Positivität im Blut (in Tagen)	Median	68
	Min	2
	Max	257
Tag der ersten klinischen Symptome	Median	115
	Min	31
	Max	1000



Logrank-Test		EBV im Blut	
		p-Wert	
FS0	vs. FS1		0,9269
FS0	vs. FS2		0,1948
FS0	vs. Geschw.		0,3337
FS0	vs. Haplo		0,8523
FS1	vs. FS2		0,0801
FS1	vs. Geschw.		0,1590
FS1	vs. Haplo		0,7014
FS2	vs. Geschw.		0,6527
FS2	vs. Haplo		0,1194
Geschw.	vs. Haplo		0,6344

Abbildung 3.15 Kumulative Inzidenz der EBV-Infektion im Blut

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 46%, FS1 53%, FS2 77%, Geschw. 58%, Haplo 46%

### 3.6. BK-Virus

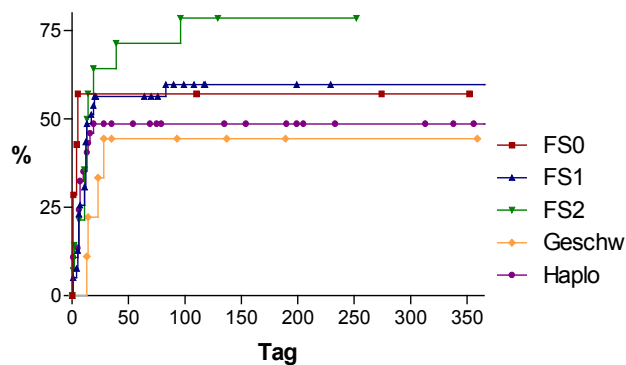
Bei insgesamt 60 Kindern (57%) und damit relativ häufig kam es zu einer BK-Virus-Reaktivierung bzw. Infektion. Diese traten sehr früh nach Transplantation auf, im Median am Tag 10,5 nach Transplantation. 21 Kinder wurden in Form einer hämorrhagischen Zystitis symptomatisch. Ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Häufigkeit einer Infektion oder klinischen Manifestation konnte zwischen den zu untersuchenden Gruppen nicht nachgewiesen werden. Anhand der hier erhobenen Daten scheint jedoch das Auftreten einer hämorrhagischen Zystitis (HC) in den Gruppen der haploidentisch Transplantierten und der Geschwisterspender seltener zu sein. Genaueres geben die folgenden Tabellen und Schaubilder wieder.

Tabelle 3.15 BKV-Infektionen und BKV-assoziierte hämorrhagische Zystitis

	Zahl der Patienten	BK-Virus-Infektion		BK-Virus-Klinik	
		untersucht	pos PCR im Urin	untersucht	Hämorrhagische Zystitis
gesamt	109	106	60 (57)	109 (100)	21 (19)
FS0	7 (6)	7 (100)	4 (57)	7	2 (29)
FS1	39 (36)	39 (100)	23 (59)	39	10 (26)
FS2	15 (14)	14 (93)	11 (79)	15	4 (27)
Geschwister	9 (8)	9 (100)	4 (44)	9	1 (11)
Haploidentisch	39 (36)	37 (94)	18 (49)	39	4 (10)

Zahlen in Klammern: Prozent

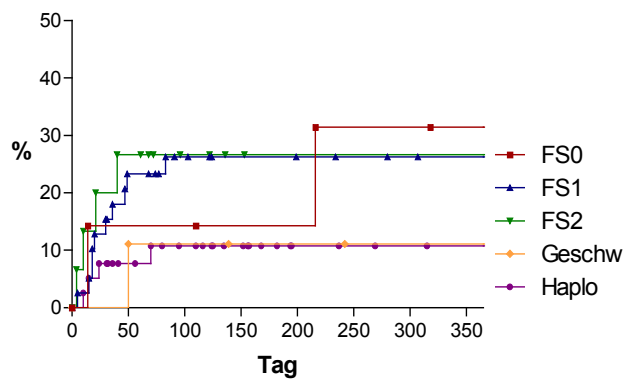
Tag der ersten positiven PCR	Median	10,5
	Min	-10
	Max	96
Dauer der BKV-Positivität (in Tagen)	Median	29
	Min	8
	Max	197
Tag der ersten klinischen Symptome	Median	21
	Min	4
	Max	216



Logrank-Test		BKV-Infektion	
		p-Wert	
FS0	vs. FS1		0,5633
FS0	vs. FS2		0,8297
FS0	vs. Geschw.		0,3101
FS0	vs. Haplo		0,3521
FS1	vs. FS2		0,3763
FS1	vs. Geschw.		0,2416
FS1	vs. Haplo		0,5178
FS2	vs. Geschw.		0,0859
FS2	vs. Haplo		0,1666
Geschw.	vs. Haplo		0,5220

Abbildung 3.16 Kumulative Inzidenz der BKV-Infektion im Urin

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 57%, FS1 60%, FS2 79%, Geschw. 44%, Haplo 49%



Logrank-Test		BKV-Disease	
		p-Wert	
FS0	vs. FS1		0,9327
FS0	vs. FS2		0,8592
FS0	vs. Geschw.		0,3824
FS0	vs. Haplo		0,2792
FS1	vs. FS2		0,8612
FS1	vs. Geschw.		0,3246
FS1	vs. Haplo		0,0970
FS2	vs. Geschw.		0,3373
FS2	vs. Haplo		0,1180
Geschw.	vs. Haplo		0,9910

Abbildung 3.17 Kumulative Inzidenz der BKV-assoziierten HC

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 31%, FS1 26%, FS2 27%, Geschw. 11%, Haplo 11%

Fasst man allerdings alle Patienten, die Stammzellen eines verwandten Spenders erhielten, zusammen und vergleicht sie mit allen Empfängern von Fremdsponder-Transplantaten, zeigt sich ein signifikanter Unterschied bezüglich des Auftretens einer HC (11% vs. 25%,  $p=0,0462$ ), während sich die Häufigkeit einer BK-Virurie auch in diesen Gruppen nicht signifikant unterscheidet (48% vs. 64%,  $p=0,1288$ ).

### 3.7. HSV

Ein Screening auf HSV mit mindestens zweimaliger PCR während des Überwachungszeitraums ist bei lediglich 53 Kindern im Blut und 35 Kindern im Respirationstrakt durchgeführt worden. Eine statistische Auswertung ist deshalb nicht möglich. Unter den untersuchten Kindern zeigten sieben eine Reaktivierung im Plasma, neun im Respirationstrakt. Es handelte sich bei allen Isolaten um HSV Typ1. Sechs Kinder entwickelten klinische Symptome im Sinne einer Mukositis oder eines Herpes labialis. Ein Kind starb im Zuge einer disseminierten HSV-Erkrankung.

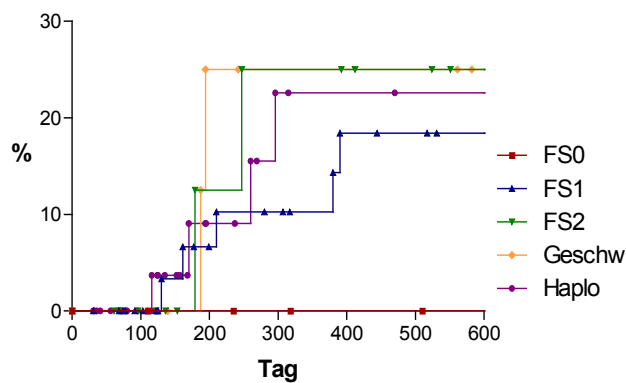
Tag der ersten klinischen Symptome	Median	80
	Min	20
	Max	297

### 3.8. VZV

Die Screening-Untersuchungen auf VZV wurden nicht routinemäßig durchgeführt, sondern nur bei klinischem Verdacht auf eine VZV-assoziierte Erkrankung. Insgesamt konnte bei drei Kindern VZV-DNA im Blut nachgewiesen werden. Ein Kind erlitt eine schwere disseminierte VZV-Erkrankung mit Retinitis und Enzephalitis und verstarb daran. Ein Kind erkrankte an einer Ösophagitis, die wahrscheinlich im Zusammenhang mit der VZV-Reaktivierung stand. Bei insgesamt 12 Kinder trat ein Herpes zoster auf, im Median an Tag 202 nach Transplantation.

Tag der ersten klinischen Symptome

Median 194  
 Min 116  
 Max 390



Logrank-Test		VZV- Disease	
		p-Wert	
FS0	vs. FS1		0,3150
FS0	vs. FS2		0,2263
FS0	vs. Geschw.		0,2051
FS0	vs. Haplo		0,2495
FS1	vs. FS2		0,6909
FS1	vs. Geschw.		0,6050
FS1	vs. Haplo		0,6600
FS2	vs. Geschw.		0,9600
FS2	vs. Haplo		0,9186
Geschw.	vs. Haplo		0,8050

Abbildung 3.18 Kumulative Inzidenz einer VZV-Erkrankung

Ein Jahr nach Stammzelltransplantation: FS0 0%, FS1 10%, FS2 25%, Geschw. 25%, Haplo 23%

### 3.9. Parvo-B19-Virus

Bezüglich des Parvo-B19-Virus ist bei diesem Patientenkollektiv kein routinemäßiges Screening während des Beobachtungszeitraums erfolgt. Eine PCR im Blut oder aus Biopsiematerial ist nur bei klinischem Verdacht auf eine Parvo-B19-assoziierte Erkrankung durchgeführt worden. Insgesamt ergaben die durchgeführten Untersuchungen nur bei zwei Kindern eine positive PCR im Blut. Bei einem der beiden Kinder konnte zeitgleich Parvo-B19-DNA im Knochenmark nachgewiesen werden. Bei histologisch ausgeprägter Hämophagozytose und klinischer Zytopenie bestand bei diesem Kind der Verdacht auf eine Assoziation mit der PB19-Infektion bei allerdings vorbestehender hämophagozytischer Lymphohistiozytose. Bei drei weiteren Kindern konnte das Parvo-B19-Virus mittels Hautbiopsie bei Exanthem gesichert werden, bei einem Kind zusätzlich in einer Rektumbiopsie.

## 4. Diskussion

In den letzten Jahren hat sich die Transplantation hochangereicherter CD34<sup>+</sup> und damit indirekt T-Zell-depletierter peripherer Blutstammzellen als Methode etabliert, die das Risiko einer akuten oder chronischen GvHD auch bei nicht vollständiger HLA-Identität des Spenders minimiert. So ist zum einen die Möglichkeit einer haploidentischen Transplantation durch ein Elternteil möglich geworden, zum anderen kann meist auf eine Immunsuppression als GvHD-Prophylaxe nach Transplantation verzichtet werden, ohne das Risiko einer schweren GvHD in Kauf zu nehmen (Handgretinger R et al., 2001, Lang P et al., 2003).

Allerdings besteht nach CD34<sup>+</sup>angereicherter Stammzelltransplantation aufgrund der T-Zell-Depletion die Gefahr einer verspäteten Immunrekonstitution und damit, abhängig von der Grundkrankheit, ein häufigeres Auftreten von Transplantatversagen, Rezidiven, EBV-assoziiertes lymphoproliferatives Erkrankung und Infektionen (Aversa F et al., 1998, Bornhäuser M et al., 2002). Besonders während dieser Phase der Immunrekonstitution mit fehlender T-Zell-Immunität sind die Patienten durch schwere virale Infektionen gefährdet (Ljungman P, 1998). Vor allem nach haploidentischer Transplantation wird ein erhöhtes Infektionsrisiko aufgrund der verzögerten T-Zell-Regeneration angenommen.

Anhand der hier ausgewerteten Daten ergab sich für das gesamte Kollektiv eine Wahrscheinlichkeit einer letalen Virusinfektion innerhalb des ersten Jahres nach Transplantation von 16%. Dies entspricht auch dem Ergebnis in den Gruppen der CD34<sup>+</sup>angereicherten Fremdspender (16%) und der haploidentisch Transplantierten (15%). Somit ergibt sich keine signifikant erhöhte virus-assoziierte Mortalität gegenüber nicht-angereicherten Fremdspendern (29%) oder CD34<sup>+</sup>angereicherten Fremdspendern mit T-Zell-Add-Back (21%). Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch Martino R et al., die in ihrer Arbeit ebenfalls keinen signifikanten Unterschied in der Häufigkeit eines virus-assoziierten Todes zwischen unmanipuliertem und CD34<sup>+</sup>angereichertem Fremdspendertransplantat nachweisen konnten (Martino R et al, 2001). Auch

Crippa et al. beschreiben dies, wenn auch für autologe Transplantationen (Crippa F et al., 2002). Allerdings scheinen virus-bedingte Todesfälle in der Gruppe der HLA-identischen Geschwisterspender deutlich seltener zu sein, wenn auch hier, möglicherweise aufgrund der geringen Gruppengröße, nicht signifikant. Die anhand dieser Daten erhobene Wahrscheinlichkeit eines virus-assoziierten Todes lag ein Jahr nach Transplantation bei 0%. Gratwohl veröffentlichte Daten mit einer Wahrscheinlichkeit von 1,4% (Gratwohl A et al., 2005).

#### **4.1. CMV**

CMV-Infektion bzw. -Reaktivierung und CMV-Erkrankung ist eine seit vielen Jahren bekannte schwere Komplikation nach Stammzelltransplantation. Dank großer Fortschritte auf dem Gebiet der antiviralen Prophylaxe und Therapie, insbesondere mit Acyclovir und Ganciclovir, und besserer diagnostischer Möglichkeiten konnte die Inzidenz sowohl von Infektion und Reaktivierung als auch von symptomatischer Erkrankung und Tod deutlich reduziert werden. Durch die zunehmende Zahl zum einen an Hoch-Risikopatienten, zum anderen an Patienten, die ein T-Zell-depletiertes Transplantat eines alternativen Spenders erhalten, bleibt die Gefahr durch CMV allerdings weiterhin aktuell. Insbesondere der Late-onset-CMV-Erkrankung nach Beendigung der Aciclovir-Prophylaxe kommt eine wachsende Bedeutung zu (Boeckh M et al., 2003). Eine CMV-Infektion nach allogener HSCT wird in der Literatur in Abhängigkeit vom Spendertyp und Graft Manipulation mit einer Häufigkeit von 24-45% beschrieben (Martino R et al., 2003, Matthes-Martin S, et al., 2003, Miller W et al., 1986). Insbesondere für T-Zell-depletierte Transplantationen wird ein erhöhtes Risiko beschrieben (Couriel D et al., 1996).

In dieser Arbeit konnte bei insgesamt 39 der 109 Patienten (36%) mindestens einmalig ein positiver CMV-Nachweis in mindestens einem Untersuchungsmaterial geführt werden. In 33 Fällen handelte es sich um eine CMV-Reaktivierung bei sero-positivem Empfänger (R+), ein Kind wurde CMV-positiv nach Transplantation durch sero-positiven Spender (D+). Bei 5 initial sero-negativen Kindern wurde trotz ebenfalls negativem Spender passager einmalig eine positive CMV-PCR im Blut (4x) oder im Urin (1x) dokumentiert.

Insgesamt konnte höchstsignifikant häufiger eine CMV-DNAämie bei CMV-positiven Empfängern gegenüber sero-negativen nachgewiesen werden (61% vs. 14%,  $p < 0,0001$ ).

Bei CMV-negativem Empfänger ergab sich in dieser Arbeit kein Unterschied bezüglich einer CMV-Neuinfektion in Abhängigkeit vom Spender-Status ( $p=0,3237$ ). Ähnliches wird auch von Kollman beschrieben, während Nichols eine höhere Sterblichkeit bei D+/R- -Transplantation aufgrund von bakteriellen und fungalen Infektionen schildert (Nichols WG et al., 2002, Kollman C et al., 2001). Eine Erklärung für die Beobachtung, dass bei positivem Spender nicht wesentlich mehr Neuinfektionen auftraten, ist möglicherweise die Tatsache, dass aufgrund der CD34<sup>+</sup>Anreicherung die Zahl der transplantierten, potentiell infizierten Leukozyten extrem gering war. Denkbar wäre auch, dass Stammzellen per se nicht von CMV infiziert werden können.

Einen hochsignifikanten Einfluss hatte der Sero-Status des Spenders bei seropositivem Empfänger ( $p= 0,0013$ ). Signifikant häufiger fand sich eine DNAämie bei Transplantation eines sero-positiven Empfängers durch einen sero-positiven gegenüber einem sero-negativen Spender (84% vs. 41%).

Während in der Literatur Einigkeit über das erhöhte Risiko einer CMV-Reaktivierung bei CMV-positivem Empfänger besteht, sind die Daten uneinheitlich, ob das Risiko durch einen sero-positiven Spender erhöht oder reduziert wird. Entgegen den hier ermittelten Ergebnissen zeigen Matthes-Martin et al., dass eine Reaktivierung bei D+/R+-Transplantation verglichen mit D-/R+ signifikant seltener ist (Matthes-Martin S, et al., 2003). Möglicherweise liegt die Differenz der Ergebnisse daran, dass bei Matthes-Martin nicht-T-Zell-depletierte Transplantate verabreicht wurden, in dieser Arbeit aber vornehmlich CD34<sup>+</sup> angereicherte und damit T-Zell-depletierte. Geht man von einem Immun-Transfer durch die Transplantation aus, wie er von Nichols für HSV beschrieben wurde (Nichols WG et al., 2003), ist dieser Effekt bei CD34<sup>+</sup> angereicherten Transplantaten möglicherweise geringer.

Bezüglich der Inzidenz einer CMV-Erkrankung oder Tod bestand in dieser Arbeit kein Unterschied in Abhängigkeit vom Sero-Status.



Die kumulative Inzidenz einer CMV-DNAämie betrug an Tag 100 nach Transplantation 31%, ein Jahr nach Transplantation 35%. Die erste positive PCR trat im Median an Tag 25 nach SCT auf. Insgesamt 24% der untersuchten Kinder zeigten eine CMV-Reaktivierung im Respirationstrakt im Median an Tag 52 nach SCT, 17% im Urin im Median an Tag 15. Ein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen bezüglich Spendertyp und Graft Manipulation konnte nicht nachgewiesen werden.

Insgesamt ist im untersuchten Kollektiv die Inzidenz einer CMV-Reaktivierung trotz aggressiver T-Zell-Depletion und teils HLA-haploidentischer Transplantation sehr gering und entspricht fast der von Matthes-Martin beschriebenen Inzidenz von 24% bei nicht T-Zell-depletiert transplantierten Kindern (Matthes-Martin S, et al., 2003), obwohl vielfach ein erhöhtes Risiko durch T-Zell-Depletion beschrieben wurde (Couriel D et al., 1996). Möglicherweise ist diese dennoch niedrige Inzidenz durch eine rasche Regeneration von NK-Zellen nach CD34<sup>+</sup> angereicherter Transplantation zu erklären. Diese Zellen regenerieren deutlich früher als die T-Zellen und besitzen eine antivirale Aktivität, die die Zeit bis zur T-Zell-Regeneration überbrücken kann (Handgretinger R et al., 2001, Lang P et al., 2003 u. 2004).

10% (n=11) der Kinder entwickelten eine manifeste CMV-Erkrankung, im Median an Tag 64 nach SCT (Range 10-120). Acht Kinder erkrankten an einer CMV-Pneumonie, jeweils eines an einer Hepatitis, einer Enzephalitis und einer Knochenmarkinsuffizienz. Sechs der acht an Pneumonie erkrankten Kinder starben (75%), ebenso das Kind mit Hepatitis. Die Gesamt-Mortalität durch CMV lag in diesem Kollektiv bei 6%, die Mortalität bei manifester CMV-Erkrankung betrug 55%. Eine Late-onset CMV-Erkrankung oder dauerhafte DNAämie nach Tag 100 konnte nicht beobachtet werden.

#### **4.2. ADV**

Eine Adenovirusinfektion ist bei pädiatrischen Patienten nach allogener Stammzelltransplantation eine häufige und besonders gefürchtete Komplikation, die in den vergangenen Jahren zunehmend an Bedeutung gewann, zumal bei disseminierter Infektion oder schwerer manifester ADV-Erkrankung eine Therapie mit den gängigen antiviralen Chemotherapeutika wie Ribavirin und

Cidofovir oftmals ineffektiv ist (Flomenberg P et al., 1994, Chuang YY et al., 2003, Hoffman JA et al., 2001, Bordigoni P et al., 2001).

In dieser Arbeit konnte bei insgesamt 46 der 109 untersuchten Patienten (42%) innerhalb des Untersuchungszeitraums eine ADV-Infektion mindestens einmalig in einem untersuchten Medium nachgewiesen werden, was den von Hoffman et al. veröffentlichten Ergebnissen eines rein pädiatrischen Kollektivs entspricht (Hoffman JA et al., 2001). Für die mit einem alternativen Spender (Fremdspender, haploidentischer Elternteil oder Nabelschnurblut) transplantierten Kinder betrug die Inzidenz einer ADV-Infektion dort sogar 62 %. Diese Daten stehen einer vielfach veröffentlichten, wesentlich niedrigeren Inzidenz von bis zu 21% gegenüber (Flomenberg P et al., 1994, Hale GA et al., 1999, Howard DS et al., 1999, Bordigoni P et al., 2001, Chakrabarti S et al., 2002). Dieser Unterschied ist dadurch zu begründen, dass es sich bei dem Kollektiv dieser Arbeit um ein rein pädiatrisches handelt und dafür deutlich höhere Infektionsraten im Vergleich zu Erwachsenen vorbeschrieben sind (Flomenberg P et al., 1994). Außerdem wurden in vielen Studien autologe Transplantationen mit einbezogen, die ebenfalls ein niedrigeres Infektionsrisiko haben (Hale GA et al., 1999, Howard DS et al., 1999). Des Weiteren ist der Anteil an Kindern, die Stammzellen eines HLA-identischen Geschwisterspenders erhielten, in dieser Arbeit sehr gering. Auch für sie wird in allen oben genannten Studien eine niedrigere Infektionsrate beschrieben. Dieser Trend ist auch in dieser Arbeit zu erkennen, wenn auch möglicherweise aufgrund der kleinen Patientenzahl weniger ausgeprägt. Nicht zuletzt ist die häufigere Detektion von ADV möglicherweise im Rahmen von sensitiveren Nachweismethoden und erhöhter Aufmerksamkeit gegenüber einer möglichen ADV-Infektion zu interpretieren. Eine symptomatische ADV-Erkrankung trat bei insgesamt 18 Kindern (17%) auf, d. h. bei 39% der infizierten Kinder. Einen ADV-assoziierten Tod erlitten 7 Kinder (6%). Trotz der erhöhten Infektionsrate liegt damit die anhand unserer Daten erhobene Mortalitätsrate unter den bislang veröffentlichten Ergebnissen von 7- 38% (Flomenberg P et al., 1994, Hale GA et al., 1999, Howard DS et al., 1999)

Bei insgesamt 26 Patienten ist eine Virus-Typisierung erfolgt. Der weitaus häufigste war der ADV-Typ 2 (42%), gefolgt von Typ 6 (15%), die beide der Subgruppe C angehören und v. a. bei Immunsupprimierten häufig mit generalisierten Verläufen einhergehen (Foster J, 2003). Bereits Chakrabarti und Bordigini beschreiben in ihren Kollektiven Typ 2 als besonders häufig (Chakrabarti S et al., 2002, Bordigoni P et al., 2001), der von Flomenberg als häufig beschriebene Typ 35 trat hier nicht auf (Flomenberg P et al., 1994).

Der erstmalige ADV-Nachweis mittels PCR im Blut lag im Median an Tag 41 nach Transplantation, mittels PCR bzw. Antigen-Nachweis im Stuhl an Tag 33 und entspricht damit dem von Flomenberg beschriebenen deutlich früheren Auftreten einer ADV-Infektion bei transplantierten Kindern verglichen mit Erwachsenen.

Der Einfluss des Spendertyps und der Graft Manipulation auf das Auftreten einer ADV-Infektion bzw. -Erkrankung nach allogener Stammzell-Transplantation wird in der Literatur unterschiedlich bewertet. Während Hoffman und Bordigoni einen signifikanten Unterschied zwischen Geschwisterspendern und HLA-identischen Fremdspendern bzw. haploidentischen Spendern beschreiben, bestand in den Studien von Hale und Howard kein Unterschied zwischen diesen Gruppen. Chakrabarti diskutiert ein erhöhtes Risiko bei T-Zell-depletierten Transplantationen.

Die Daten dieser Arbeit ergaben ein signifikant häufigeres Auftreten einer ADV-Infektion sowohl im Blut ( $p=0,0366$ ) als auch im Stuhl ( $p=0,0355$ ) in der Gruppe der Empfänger nicht-angereicherter Fremdsponder-Stammzellen gegenüber denen von  $CD34^+$ angereicherten Fremdspendern. In dieser Gruppe war ebenfalls eine ADV-Erkrankung häufiger, signifikant allerdings nur gegenüber den Empfängern HLA-identischen Geschwisterspendern ( $p=0,0107$ ), in deren Gruppe keine ADV-Erkrankung auftrat. Allerdings trat die ADV-Erkrankung bei zumindest einem der vier erkrankten Kinder dieser Gruppe bei zusätzlicher schwerer cGVHD zu einem eher späten Zeitpunkt auf, ein zweites Kind entwickelte die ADV-Erkrankung unter persistierendem Non-Engraftment. Festzuhalten ist zusätzlich, dass die Gruppe der durch nicht-angereicherte Fremdsponder Transplantierten sehr klein und deshalb für Fehler sehr anfällig

war. Ein häufigeres Auftreten einer ADV-Infektion bzw. -Erkrankung bei haploidentisch transplantierten Kindern konnte hier nicht nachgewiesen werden. Dies steht im Einklang mit neueren Studien, die vor allem die Wichtigkeit der T-Zell-Regeneration nach Stammzelltransplantation zur effektiven ADV-Bekämpfung in den Mittelpunkt stellen. Feuchtinger et al. konnten auch nach haploidentischer Transplantation eine rasche T-Zell-Regeneration nachweisen (Feuchtinger T et al., 2005a).

### **4.3. HHV6**

Für HHV6 werden nach SCT sehr hohe Reaktivierungsraten beschrieben. Diese liegen zwischen 33 und 48% (Yoshikawa T et al., 1991, 2002, Ihira M et al., 2002, Zerr DM et al., 2005, Yamane A et al., 2007). Die Reaktivierung findet meist zwei bis vier Wochen nach Transplantation statt. Neben einer Knochenmarksuppression oder Hämophagozytosesyndromen treten zunehmend die HHV6-assoziierte interstitielle Pneumonie und Encephalitis in den Mittelpunkt des Interesses.

Im hier vorliegenden Kollektiv betrug die kumulative Inzidenz einer DNAämie ein Jahr nach SCT 62%. Dies scheint sehr hoch. Berücksichtigt man allerdings, dass in dieser Arbeit sowohl ein PCR-Nachweis im Plasma als auch in den Leukozyten gewertet wurde, verwundert die hohe Inzidenz nicht. Wird allein das Plasma betrachtet, liegt die Inzidenz bei 32% und ist damit eher niedrig. Eine auf HHV6 positive PCR in den Leukozyten ist nämlich bei sensitivem Verfahren auch bei immunkompetenten Gesunden möglich und entspricht dann dem Nachweis des latent vorliegenden Virus und damit einem falsch positiven Ergebnis. Hingegen spricht eine positive PCR im Plasma für eine aktive Virus-Replikation bzw. -Infektion (Zerr DM et al., 2005, Yoshikawa T et al., 2002). Dagegen ist eine ansteigende Viruszahl auch in den Leukozyten ein guter Parameter, diese wurde in dieser Arbeit jedoch nicht erfasst.

Ein signifikanter Unterschied konnte zwischen den Gruppen nicht dargestellt werden, insbesondere zeigte sich keine erhöhte Inzidenz einer HHV6-Reaktivierung in der Gruppe der haploidentisch transplantierten Kinder. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von Yamane et al., die eine

Transplantation durch einen HLA-mismatched Spender als Risikofaktor beschreiben. Auch die hohe Inzidenz einer HHV6-Enzephalitis von 11,6% nach T-Zell-Depletion durch Atemtuzumab wurde in diesem Kollektiv trotz indirekter T-Zell-Depletion durch CD34<sup>+</sup> Anreicherung bei einer Großzahl der Patienten nicht dokumentiert. Lediglich ein Kind entwickelte eine Enzephalitis und verstarb in deren Verlauf.

Insgesamt konnte in dieser Arbeit keine erhöhte Morbidität oder Mortalität weder aufgrund des HLA-Mismatch der haploidentisch Transplantierten noch aufgrund der CD34<sup>+</sup> Anreicherung nachgewiesen werden.

#### **4.4. EBV**

EBV-Reaktivierung insbesondere mit EBV-assoziiertes lymphoproliferativer Erkrankung (LPD) ist eine schwerwiegende Komplikation nach allogener Stammzelltransplantation (Zutter et al., 1988). Insbesondere mit Einführung der T-Zell-depletierten Transplantation ist die Häufigkeit einer LPD von ungefähr 1-2% bei Transplantation unmanipulierter Stammzellen (Zutter et al., 1988) auf bis zu 20% angestiegen (Gross TG et al, 1999, Curtis RE et al., 1999, Meijer E et al., 2002, Juvonen E et al., 2003). Eine manifeste LPD geht mit einer extrem hohen Mortalität von bis zu 90% einher (Gross TG et al., 1999, van Esser JW et al., 2001).

Im hier untersuchten Kollektiv betrug die kumulative Inzidenz einer EBV-Reaktivierung ein Jahr nach Stammzelltransplantation 56%. Alle Reaktivierungen traten innerhalb des ersten Jahres auf, ein signifikanter Unterschied zwischen den fünf Untersuchungsgruppen konnte nicht nachgewiesen werden. Insbesondere zeigte sich auch nach T-Zell-depletierter oder haploidentischer Transplantation keine höhere Inzidenz (56% bei T-Zell-Depletion, 57% ohne T-Zell-Depletion, 44% bei Haploidentischen). Dies steht im Widerspruch zu den von van Esser veröffentlichten Daten, die, allerdings bei einem prä-Transplantation rein sero-positiven Kollektiv, eine signifikant höhere Reaktivierungsrate nach T-Zell-Depletion beschreiben (65% vs. 31%) (van Esser JW et al., 2001). Eine Korrelation mit der transplantierten CD34<sup>+</sup>-Menge,

die van Esser ebenfalls als Risikofaktor beschreibt, wurde hier nicht explizit untersucht.

Bezüglich des Auftretens einer LPD führen die Daten dieser Arbeit jedoch zu einem vergleichbaren Ergebnis. Eine EBV-Erkrankung entwickelten auch hier nur Kinder, die ein T-Zell-depletiertes Transplantat erhielten. Drei Kinder entwickelten ein mononukleose-ähnliches Krankheitsbild mit Fieber und/ oder Lymphadenitis, ein Kind eine Pneumonie und Hepatitis, zwei weitere Kinder eine manifeste LPD (1,8%). Die Symptome traten im Median an Tag 115 nach Transplantation auf. Ein Kind starb im Rahmen der LPD mit zusätzlicher EBV-Pneumonie, ein weiteres Kind entwickelte ein malignes Non-Hodgkin-Lymphom, war aber zum Ende des Beobachtungszeitraumes 400 Tage nach Erstdiagnose am Leben. Beide Kinder hatten ein CD34<sup>+</sup> angereichertes Fremdspender-Transplantat erhalten, das verstorbene Kind zusätzlich ein T-Zell-Add-Back.

Insgesamt konnte hier somit kein erhöhtes Risiko einer EBV-LPD nach haploidentischer Transplantation dargestellt werden. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch Lynch et al., die ebenfalls kein erhöhtes Risiko nach HLA-Mismatch Transplantation durch einen Verwandten beschreiben (Lynch BA et al., 2003).

Mit 2,2% liegt die Inzidenz einer EBV-LPD unter allen CD34<sup>+</sup>Angereicherten dieses Kollektivs weit unter dem Wert, der sonst bei rein T-Zell-depletierten Kollektiven beobachtet wurde. Daher kann angenommen werden, dass die indirekte Depletion von B-Zellen im Rahmen der CD34<sup>+</sup>-Positivanreicherung eine ausreichende Prophylaxe gegenüber einer EBV-LPD darstellt.

#### **4.5. BK-Virus**

Nachdem in den 1980er Jahren erstmals die Assoziation zwischen dem BK-Virus und der hämorrhagischen Zystitis (HC) nach Knochenmarkstransplantation beschrieben wurde (Arthur RR et al., 1986), gewinnt das BK-Virus in den letzten Jahren zunehmend Bedeutung als häufiges Pathogen nach Organtransplantation und hämatopoetischer Stammzelltransplantation, zumal es mit einer hohen Morbidität und teils auch

Mortalität verbunden ist. Generell wird die Inzidenz einer BK-Virurie nach SCT mit bis über 50% beschrieben (Bedi A et al., 1995, Chakrabarti S et al., 2003), erste Studien zur Inzidenz einer Virämie geben Werte bis 35% an (Erard V et al., 2004). Die Häufigkeit einer HC liegt zwischen 10 und 40% (Erard V et al., 2004, Arthur RR et al., 1986, Hirsch HH et al., 2003, Bedi A et al., 1995, El-Zimaity M et al., 2004, Leung AY et al., 2001, Giraud G et al., 2006).

Mögliche Risikofaktoren für die Reaktivierung des Virus sowie für die Manifestation als HC werden derzeit noch kontrovers diskutiert. Während Leung und Chakrabarti ein signifikant häufigeres Auftreten einer HC bei schwerer akuter GvHD beschreiben, sehen Bedi, Erard und El-Zimaity hier keinen Zusammenhang. Ebenso uneinheitlich ist die Datenlage bezüglich allogener gegenüber autologer Transplantation. Leung weist signifikant häufiger ein HC bei allogenen Transplantierten nach, Bedi schätzt das Risiko in beiden Gruppen gleich ein. Zum Effekt einer T-Zell-Depletion sind Daten äußerst rar, lediglich Chakrabarti vermutet dadurch eine höhere Inzidenz einer BK-Urie. Erard konnte eine zusätzlich CMV-Reaktivierung als Risikofaktor nachweisen.

Das mediane Auftreten einer HC wird in den oben angeführten Studien zwischen Tag 9-23 nach SCT beschrieben.

In jüngerer Zeit vermehren sich die Hinweise, dass Empfänger von Stammzellen unverwandter Spender ein höheres Risiko einer BK-Reaktivierung und einer HC tragen (Giraud G et al., 2006, El-Zimaity M et al., 2004, Chakrabarti S et al., 2003).

In der hier vorliegenden Arbeit lag die kumulative Inzidenz einer Virurie am Tag 100 nach SCT bei 55%, die Virurie trat im Median an Tag 10,5 auf (Range -10 bis 95). Zeitlich verzögert mit einem Median an Tag 21 trat bei 19% aller Kinder eine HC auf. In den für diese Arbeit zusammengestellten Untersuchungsgruppen ergab sich hier kein signifikanter Unterschied weder für die Reaktivierung noch für die HC. Fasst man allerdings alle Patienten, die Stammzellen eines verwandten Spenders erhielten, zusammen und vergleicht sie mit allen Empfängern von Fremdspender-Transplantaten, zeigt sich ein signifikanter Unterschied bezüglich des Auftretens einer HC (11% vs. 25%,  $p=0,0462$ ). Ein Unterschied zeichnet sich in diesen Gruppen auch hinsichtlich

einer BK-Virurie ab, ist aber nicht signifikant (48% vs. 64%,  $p=0,1288$ ). Dieses Ergebnis deckt sich mit den von El-Zimaity und Erard veröffentlichten Daten. Eine Erklärung hierfür steht bislang noch aus, sodass eine weitergehende Aufklärung des Pathomechanismus der BK-induzierten HC notwendig ist.

Der Einfluss einer T-Zell-Depletion des Transplantates auf die BKV-Reaktivierung und Erkrankung konnte hier aufgrund der geringen Patientenzahl der nicht-angereicherten Gruppe nicht explizit untersucht werden. Insgesamt scheint aber eine T-Zell-Depletion keine wesentliche Rolle zu spielen. Um diese Annahme zu stützen sind aber weitere Untersuchungen nötig.

#### **4.6. HSV**

Obwohl HSV-Reaktivierungen vor allem in der frühen Phase nach Stammzelltransplantation früher mit über 80% bei sero-positiven Empfängern sehr häufig waren und schwere disseminierte Verläufe verursachen können, sind diese dank der Möglichkeit einer effektiven antiviralen Prophylaxe und Therapie mit Acyclovir heute selten (Einsele H et al., 2001, Ljungman P, 1998, Wade JC et al., 1984). Hin und wieder treten allerdings Acyclovir-resistente Stämme auf, die dann zu Komplikationen führen können (Ljungman P et al., 1990, Wade JC et al., 1983).

Inzidenzen von HSV-Mukositis von 8% und schwere Verläufe mit disseminierter Infektion von 2 % werden weiterhin beschrieben (Maltezou HC et al., 2000, van Kraaij MG et al., 2002). Für Empfänger alternativer Spender (Fremdspender oder HLA-Mismatch) werden dort sogar Inzidenzen bis 13% beschrieben.

Eine HSV-Reaktivierung trat in diesem Kollektiv bei neun von 35 (26%) untersuchten Kindern im Speichel oder Respirationstrakt auf, bei sieben von 53 (13%) im Plasma. Insgesamt sechs Kinder (5,5%), alle aus den sowohl angereicherten als auch nicht-angereicherten Fremdspendergruppen, entwickelten eine HSV-Mukositis oder einen Herpes labialis. Ein haploidentisch transplantiertes Kind (0,9%) erlitt eine disseminierte HSV-Infektion und verstarb in deren Verlauf.

Insgesamt scheint somit das Risiko einer HSV-Erkrankung unter  $CD34^+$  angereicherten Transplantat-Empfängern verglichen mit den oben genannten



Arbeiten nicht erhöht zu sein. Die Frage, ob das Risiko unter haploidentisch Transplantierten erhöht ist, lässt sich aufgrund der insgesamt niedrigen Inzidenz nicht sicher beantworten. Mit 2,5% liegt aber auch die Inzidenz allein unter den Haploidentischen im Bereich der Werte, die in oben genannten Studien für das Gesamtkollektiv beschrieben wurden.

#### **4.7. VZV**

Das Auftreten einer VZV-Infektion oder Reaktivierung im Sinne eines Herpes Zoster oder als Windpocken ist eine häufig beschriebene Komplikation nach Stammzelltransplantation. Die Häufigkeit einer VZV-Erkrankung nach Stammzelltransplantation wird mit 12-73% beschrieben (Leung TF et al., 2000, Maltezou HC et al., 2000, Martino R et al., 2001, Leung AY et al., 2002). Die Erkrankung tritt meist zwischen dem vierten bis sechsten Monat nach Transplantation auf.

In dieser Arbeit erkrankten insgesamt 12 Kinder an einem Herpes Zoster, ein Kind erlitt eine schwere Ösophagitis, die wahrscheinlich VZV-assoziiert war. Damit beträgt die kumulative Inzidenz ein Jahr nach Transplantation 16%. Im Median trat die Erkrankung an Tag 194 nach Transplantation auf (Range 116 - 390). Ein Kind mit initialem Herpes zoster entwickelte einen letalen Verlauf einer disseminierten VZV-Erkrankung mit Enzephalitis. Bei diesem und zwei weiteren Kindern konnte VZV mittels PCR im Blut nachgewiesen werden.

Insgesamt ist die Inzidenz einer VZV-Erkrankung in diesem Kollektiv verglichen mit den oben genannten Studien eher niedrig. Ein signifikanter Unterschied zwischen Empfängern CD34<sup>+</sup>angereicherter gegenüber unmanipulierter Stammzellen, wie Martino ihn beschreibt (19 vs. 12%, p=0,05), konnte hier nicht nachgewiesen werden, obwohl unter den Empfängern nicht-angereicherter Fremdspender-Stammzellen keine VZV-Erkrankung auftrat. Aufgrund der geringen Patientenzahl ist die Aussage hier aber eingeschränkt.

#### **4.8. PB19**

Eine Infektion durch das Parvo-B19-Virus ist eine seltene, aber oftmals schwerwiegende Komplikation nach Stammzelltransplantation. Neben Anämie, Leukopenie und Thrombopenie werden auch Fälle einer Hepatitis, Pneumonie oder Myocarditis, teils mit Todesfolge beschrieben (Schleuning M et al., 1999, Broliden K et al., 2001, Eid AJ et al., 2006). Insbesondere Eid beschreibt in seinem Kollektiv eine hohe Inzidenz einer BP19-Infektion mit 15% bei einer Mortalität von 7%. Ob es sich bei PB19-Infektionen um Neu-Infektionen oder um eine Virus-Reaktivierung handelt, ist aktuell noch Gegenstand wissenschaftlicher Diskussion (Broliden K et al., 2001).

In diesem Kollektiv war die Inzidenz einer PB19-Infektion sehr gering. Eine DNAämie konnte nur bei zwei der 109 Kinder nachgewiesen werden, allerdings war hier kein routinemäßiges Screening erfolgt, eine Untersuchung erfolgte nur bei klinischem Verdacht. Bei einem der beiden Kinder konnte zusätzlich PB19-DNA mittels PCR im Knochenmark nachgewiesen werden. Ob die klinisch bestehende Panzytopenie mit erhöhter Hämophagozytoseaktivität bei vorbestehender sekundärer hämophagozytischer Lymphohistiozytose im Rahmen der PB19-Infektion agraviert wurde, ist nicht eindeutig zu klären. Bei weiteren drei Kindern wird die Genese eines Exanthems bei positivem DNA-Nachweis in der Hautbiopsie dem Parvo-B19-Virus zugeschrieben. Ob Empfänger eines T-Zell-depletierten oder haploidentischen Transplantats ein höheres Risiko einer PB19-Infektion tragen, ist hier aufgrund der ohnehin niedrigen Inzidenz nicht beantwortbar.

#### **4.9. Schlussfolgerung**

Die Transplantation von hochangereicherten CD34<sup>+</sup> Stammzellen von haploidentischen Spendern ist inzwischen ein etabliertes Verfahren mit guten Ergebnissen bezüglich Engraftment und Langzeitüberleben, sodass eine derartige Transplantation immer dann in Erwägung gezogen werden sollte, wenn kein anderer passender Spender verfügbar ist (Lang P et al., 2004). Auch hinsichtlich virus-assoziierte Morbidität oder Mortalität ließ sich in dieser Arbeit

insbesondere im Vergleich zu CD34<sup>+</sup>angereicherten HLA-identischen Fremd Spendern kein erhöhtes Risiko nachweisen.

Für CMV konnte auch für die CD34<sup>+</sup>angereichert transplantierten Kinder eine bemerkenswert niedrige Inzidenz einer DNAämie von 31% sowie eine Mortalität von nur 6% nachgewiesen werden.

Mit einer Inzidenz von 42%, einer Morbidität von 17% und einer Mortalität von 6% tragen Adenovirus-Infektionen wesentlich zur transplantationsbedingten Morbidität und Mortalität bei pädiatrischen Patienten bei. Für die haploidentische Transplantation konnte jedoch kein erhöhtes Infektionsrisiko gegenüber der CD34<sup>+</sup>angereicherten Fremdspender-Transplantation nachgewiesen werden. Verglichen mit anderen pädiatrischen Kollektiven ergab sich auch kein erhöhtes Risiko der CD34<sup>+</sup>angereicherten Transplantat-Empfänger insgesamt.

Trotz T-Zell-Depletion war die Inzidenz einer EBV-LPD bemerkenswert gering. HHV6, HSV, VZV sowie das ParvoB19-Virus zeigten in diesem Kollektiv verglichen mit anderen Studien eine eher geringe Inzidenz einer Erkrankung. Ein erhöhtes Risiko durch die CD34<sup>+</sup>Anreicherung oder haploidentische Transplantation ergab sich nicht.

Auch für das BK-Virus konnte kein gehäuftes Auftreten einer Infektion oder Erkrankung bei haploidentisch transplantierten Kindern nachgewiesen werden, vielmehr erkrankten signifikant mehr Kinder an einer BK-assoziierten hämorrhagischen Zystitis, die Stammzellen eines Fremdspenders, gleich welcher Graft Manipulation, und nicht von einem Familienmitglied erhielten. Eine weitere Aufklärung des Pathomechanismus der BK-HC könnte dieses Phänomen ursächlich klären.

Eine signifikant erhöhte virus-assoziierte Morbidität und Mortalität in der Gruppe der haploidentisch oder der allgemein CD34<sup>+</sup>angereichert transplantierten Kinder konnte hier für keines der Viren nachgewiesen werden.

Dennoch ist ein engmaschiges virologisches Screening notwendig, um in Verbindung mit weiteren Fortschritten auf dem Gebiet der antiviralen Therapie die Morbidität durch virale Infektionen weiter zu senken. Hier sind vor allem

Ergebnisse mit adoptivem T-Zell-Transfer, insbesondere auch in der Prophylaxe und Therapie der CMV- und ADV-Infektion, erfolg versprechend.

## 5. Zusammenfassung

Die Transplantation von hochangereicherten CD34<sup>+</sup> Stammzellen von haploidentischen Spendern ist inzwischen ein etabliertes Verfahren mit guten Ergebnissen bezüglich Engraftment und Langzeitüberleben. Virusinfektionen bleiben jedoch ein wesentlicher Grund von Morbidität und Mortalität bei diesen Patienten.

Ziel dieser Arbeit war es, die Häufigkeit von Virusinfektionen in Abhängigkeit vom Spendertyp und von der Graft-Manipulation zu untersuchen.

Für das untersuchte Kollektiv ergab sich eine 3-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von 56%, letale Virusinfektionen traten mit einer kumulativen Inzidenz von 16% ein Jahr nach HSCT auf. Eine signifikante Differenz zwischen den untersuchten Gruppen konnte jeweils nicht nachgewiesen werden.

Sowohl für allgemein CD34<sup>+</sup> angereicherte als auch für haploidentisch transplantierte Kinder konnte hier eine geringe Inzidenz einer CMV-DNAämie (31%) sowie eine geringe CMV-Mortalität (6%) nachgewiesen werden.

Von zunehmender Bedeutung nach T-Zell-depletierter Transplantation ist eine ADV-Infektion mit einer Inzidenz von 42% und einer Mortalität von ebenfalls 6%. HHV6, HSV, VZV sowie das ParvoB19-Virus zeigten jeweils eine geringe Erkrankungs-Inzidenz. Trotz T-Zell-Depletion war die Inzidenz einer EBV-LPD bemerkenswert gering.

Die Inzidenz einer BK-Virurie betrug 55%, die einer BK-assoziierten hämorrhagischen Zystitis 19%.

Es stellte sich insgesamt kein signifikant erhöhtes Infektionsrisiko oder eine erhöhte Mortalität unter den haploidentisch oder CD34<sup>+</sup> angereichert transplantierten Kindern dar. Trotzdem ist ein engmaschiges virologisches Screening notwendig, um Infektionen entsprechend frühzeitig zu behandeln.

## 6. Literaturverzeichnis

**Anasetti C, Hansen JA (1994)**

Effect of HLA incompatibility in marrow transplantation from unrelated and HLA-mismatched related donors.

*Transfus Sci* 15:221-30

**Arthur RR, Shah KV, Baust SJ, Santos GW, Saral R (1986)**

Association of BK viraemia with hemorrhagic cystitis in recipients of bone marrow transplants.

*N Engl J Med* 315:230-4

**Aversa F, Tabilio A, Velardi A, Cunningham I, Terenzi A, Falzetti F, Ruggeri L, Barbabietola G, Aristei C, Latini P, Reisner Y, Martelli MF (1998)**

Treatment of high-risk acute leukaemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype.

*N Engl J Med* 339:1186-93

**Bach FH, Albertini RJ, Joo P, Anderson JL, Bortin MM (1968)**

Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome.

*Lancet* 2:1364-6

**Baraz L, Khazanov E, Condiotti R, Kotler M, Nagler A (1999)**

Natural killer (NK) cells prevent virus production in cell culture.

*Bone Marrow Transplant* 24:179-89

**Barnes DW, Corp MJ, Loutit JF, Neal FE (1956)**

Treatment of murine leukaemia with X rays and homologous bone marrow; preliminary communication.

*Br Med J* 32:626-7

**Bedi A, Miller CB, Hanson JL, Goodman S, Ambinder RF, Charache P, Arthur RR, Jones RJ (1995)**

Association of BK virus with failure of prophylaxis against hemorrhagic cystitis following bone marrow transplantation.

*J Clin Oncol* 13:1103-9

**Benjamin DK Jr, Miller WC, Bayliff S, Martel L, Alexander KA, Martin PL (2002)**

Infections diagnosed in the first year after pediatric stem cell transplantation.

*Pediatr Infect Dis J* 21:227-34

**Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, Clift R, Forman SJ, Negrin R, Kashyap A, Flowers ME, Lilleby K, Chauncey TR, Storb R, Appelbaum FR. (2001)**

Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancer.

*N Engl J Med* 344:175-81

**Berenson RJ, Andrews RG, Bensinger WI, Kalamasz D, Knitter G, Buckner CD, Bernstein ID (1988)**

Antigen CD34+ marrow cells engraft lethally irradiated baboons.

*J Clin Invest* 81:951-5

**Bertheau P, Parquet N, Ferchal F, Gluckman E, Brocheriou C (1996)**

Fulminant adenovirus hepatitis after allogeneic bone marrow transplantation.

*Bone Marrow Transplant* 17:295-8

**Billingham RE, Brent L (1954)**

Quantitative studies on tissue transplantation immunity. IV. Induction of tolerance in newborn mice and studies on the phenomenon of runt disease.

*Philos Trans RSoc Lond B Biol Sci* 242:

**Blanke C, Clark C, Broun ER, Tricot G, Cunningham I, Cornetta K, Hedderman A, Hromas R (1995)**

Evolving pathogens in allogeneic bone marrow transplantation: increased fatal adenoviral infections.

*Am J Med* 99:326–8

**Boeckh M, Leisenring W, Riddell SR, Bowden RA, Huang ML, Myerson D, Stevens-Ayers T, Flowers ME, Cunningham T, Corey L (2003)**

Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity.

*Blood* 101:407-14

**Bordigoni P, Carret AS, Venard V, Witz F, Le Faou A (2001)**

Treatment of adenovirus infections in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

*Clin Infect Dis* 32:1290–7

**Bornhäuser M, Platzbecker U, Theuser C, Hölig K, Ehninger G (2002)**

CD34+-enriched peripheral blood progenitor cells from unrelated donors for allografting of adult patients: high risk of graft failure, infection relapse despite donor lymphocyte add-back.

*Br J Haematol* 118:1095-103

**Bowden RA (1999)**

Other viruses after hematopoietic cell transplantation. Kapitel 55:618-626

in: Thomas ED, Blume KG, Forman S: Hematopoietic cell transplantation, 2. Auflage, Blackwell Science, Oxford Boston Melbourne Paris Berlin Tokyo

**Broliden K (2001)**

Parvovirus B19 infection in pediatric solid-organ and bone marrow transplantation.

*Pediatr Transplantation* 5:320-30 Review

**Carrigan DR (1997)**

Adenovirus infections in immunocompromised patients.

*Am J Med* 102:71-4

**Chakrabarti S, Mautner V, Osman H, Collingham KE, Fegan CD, Klapper PE, Moss PAH, Milligan DW (2002)**

Adenovirus infections following allogeneic stem cell transplantation: incidence and outcome in relation to graft manipulation, immunosuppression, and immune recovery.

*Blood* 100:1619-27

**Chakrabarti S, Osman H, Collingham K, Milligan DW (2003)**

Polyoma viruria following T-cell-depleted allogeneic transplants using Campath-1H: incidence and outcome in relation to graft manipulation, donor type and conditioning.

*Bone Marrow Transplant* 31:379-86

**Champlin RE, Schmitz N, Horowitz MM, Chapuis B, Chopra R, Cornelissen JJ, Gale RP, Goldman JM, Loberiza FR Jr, Hertenstein B, Klein JP, Montserrat E, Zhang MJ, Ringdén O, Tomany SC, Rowlings PA, Van Hoef ME, Gratwohl A (2000)**

Blood stem cells compared with bone marrow as a source of hematopoietic cells for allogeneic transplantation.

IBMTR Histocompatibility and Stem Cell Sources Working Committee and the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT).

*Blood*. 95:3702-9

**Chuang YY, Chiu CH, Wong KS, Huang JG, Huang YC, Chang, LY, Lin TY (2003)**

Severe adenovirus infection in children.

*J Microbiol Immunol Infect* 36:37-40

**Couriel D, Canosa J, Engler H, Collins A, Dunbar C, Barrett AJ (1996)**

Early reactivation of cytomegalovirus and high risk of interstitial pneumonitis following T-depleted BMT for adults with hematological malignancies.

*Bone Marrow Transplant* 18:347-53

**Crippa F, Holmberg L, Carter RA, Hopper H, Marr KA, Bensinger W, Chauncey T, Corey L, Boeckh M (2002)**

Infectious complications after autologous CD34-selected peripheral blood stem cell transplantation.

*Biol Blood Marrow Transplant* 8:281-9

**Curtis RE, Travis LB, Rowlings PA, Socie G, Kingma DW, Banks PM, Jaffe ES, Sale GE, Horowitz MM, Wiherspoon RP, Shriner DA, Weisdorf DJ, Kolb HJ, Sullivan KM, Sobocinski KA, Gale, RP, Hoover RN, Fraumeni JF Jr, Deeg HJ (1999)**

Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multi-institutional study.

*Blood* 94:2208-16

**Drobyski WR, Klein J, Flomenberg N, Pietryga D, Vesole DH, Margolis DA, Keever-Taylor CA (2002)**

Superior survival associated with transplantation of matched unrelated versus one-antigen-mismatched unrelated or highly human leukocyte antigen-disparate haploidentical family donor marrow grafts for the treatment of hematologic malignancies: establishing a treatment algorithm for recipients of alternative donor grafts.

*Blood* 99:806-14

**Eid AJ, Brown RA, Patel R, Razonable RR (2006)**

Parvovirus B19 infection after transplantation: a review of 98 cases.

*Clin Infect Dis* 43:40-8. Review

**Einsele H, Bertz H, Beyer J, Kiehl MG, Runde V, Kolb HJ, Holler E, Beck R, Schwerdfeger R, Schumacher U, Hebart H, Martin H, Kienast J, Ullmann AJ, Maschmeyer G, Krüger W, Link H, Schmidt CA, Oettle H, Klingebiel T (2001)**

Epidemiologie und interventionelle Therapiestrategien infektiöser Komplikationen nach allogener Stammzelltransplantation.

*Dtsch Med Wochenschr* 126:1278-84

**El Kassar N, Legouvello S, Joseph CM, Salesses P, Rieux C, Cordonnier C, Vernant JP, Farcet JP, Bierling P, Kuentz M (2001)**

High resolution HLA class I and II typing and CTLp frequency in unrelated donor transplantation: a single institution retrospective study of 69 BMTs.

*Bone Marrow Transplant* 27:35-43



**Elmaagacli AH, Basoglu S, Peceny R, Trenchel R, Ottinger H, Lollert A, Runde V, Grosse-Wilde H, Beelen DW, Schaefer UW (2002)**

Improved disease-free-survival after transplantation of peripheral blood stem cells as compared with bone marrow from HLA-identical unrelated donors in patients with first chronic phase chronic myeloid leukemia.

*Blood* 99:1130-5

**El-Zimaity M, Saliba R, Chan K, Shahjahan M, Carrasco A, Khorshid O, Caldera H, Couriel D, Giralt S, Khouri I, Ippoliti C, Champlin R, de Lima M (2004)**

Hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: donor type matters.

*Blood* 103:4674-80

**Englund JA, Anderson LJ, Rhame FS (1991)**

Nosocomial transmission of respiratory syncytial virus in immunocompromised adults.

*J Clin Microbiol* 29:115-9

**Erard V, Storer B, Corey L, Nollkamper J, Huang ML, Limaye A, Boeckh M (2004)**

BK virus infection in hematopoietic stem cell transplant recipients: frequency, risk factors, and association with postengraftment hemorrhagic cystitis.

*Clin Infect Dis* 39:1861-5

**Espigado I, Marin-Niebla A, Perez-Hurtado JM, Rios E, Carmona M, Plaza E, Vaquero A, Campo T, Perez de Soto I, Martino ML, Parody R, Rodriguez-Fernandez JM (2005)**

Hemopoietic stem cell transplantation in childhood: Reduction in mortality and survival over the years.

*Transplant Proc* 37:1555-6

**Eyrich M, Lang P, Lal S, Bader P, Handgretinger R, Klingebiel T, Niethammer D, Schlegel PG (2001)**

A prospective analysis of the pattern of immune reconstitution in a paediatric cohort following transplantation of positively selected human leucocyte antigen-disparate haematopoietic stem cells from parental donors.

*Brit J Haematol* 114:422-32

**Feldman S, Hughes W, Daniel C (1975)**

Varicella in children with cancer: 77 cases.

*Pediatrics* 80:388-97

**Feuchtinger T, Lücke J, Hamprecht K, Richard C, Handgretinger R, Schumm M, Greil J, Bock T, Niethammer D, Lang P (2005b)**

Detection of adenovirus-specific T cells in children with adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation.

*Br J Haematol* 128:503-9

**Flomenberg P, Babbitt J, Drobyski WR, Ash RC, Carrigan DR, Sedmak GV, McAuliffe T, Camitta B, Horowitz MM, Bunin N, et al. (1994)**

Increasing incidence of adenovirus disease in bone marrow transplant recipients.

*J Infect Dis* 169:775-81

**Ford CE, Hamerton JL, Barnes DW, Loutit JF (1956)**

Cytological identification of radiation-chimaeras.

*Nature* 177:452-4

**Forster J(2003)**

Adenovirus-Infektionen. Kapitel 99.1:774-5

In: Lentze MJ, Schaub J, Schulte FJ Spranger J: Pädiatrie, Grundlagen und Praxis;  
2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York

**Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD, Hong R, Good RA (1968)**

Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency.  
*Lancet* 2:1366-9

**Giebel S, Giorgiani G, Martinetti M, Zecca M, Maccario R, Salvaneschi L, Holowiecki J, Locatelli F (2003)**

Low incidence of severe acute graft-versus-host disease in children given haematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors prospectively matched for HLA class I and II alleles with high-resolution molecular typing.  
*Bone Marrow Transplant* 31:987-93

**Giraud G, Bogdanovic G, Priftakis P, Remberger M, Svahn BM, Barkholt L, Ringden O, Winiarski J, Ljungman P, Dalianis T (2006)**

The incidence of hemorrhagic cystitis and BK-viruria in allogeneic hematopoietic stem cell recipients according to intensity of the conditioning regimen.  
*Haematologica* 91:401-4

**Godthelp BC, van Tol MJ, Vossen JM, van Den Elsen PJ (1999)**

T-Cell immune reconstitution in pediatric leukemia patients after allogeneic bone marrow transplantation with T-cell-depleted or unmanipulated grafts: evaluation of overall and antigen-specific T-cell repertoires.  
*Blood* 94:4358-69

**Gordon PR, Leimig T, Babarin-Dorner A, Houston J, Holladay M, Mueller I, Geiger T, Handgretinger R (2003)**

Large-scale isolation of CD133+ progenitor cells from G-CSF mobilized peripheral blood stem cells.  
*Bone Marrow Transplant* 31:17-22

**Gratwohl A, Baldomero H, Horisberger B, Schmid C, Passweg J, Urbano-Ispizua A (2002)**

Current trends in hematopoietic stem cell transplantation in Europe.  
*Blood* 100:2374-86

**Gratwohl A, Brand R, Frassoni F, Rocha V, Niederwieser D, Reusser P, Einsele H, Cordonnier C; Acute and Chronic Leukemia Working Parties; Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (2005)**

Cause of death after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in early leukaemias: an EBMT analysis of lethal infectious complications and changes over calendar time.  
*Bone Marrow Transplant* 36:757-69

**Gratwohl A, Baldomero H, Frauendorfer K, Urbano-Ispizua A, Niederwieser D; Joint Accreditation Committee of the International Society for Cellular Therapy ISCT; European Group for Blood and Marrow Transplantation EBMT (2007)**

Results of the EBMT activity survey 2005 on haematopoietic stem cell transplantation: focus on increasing use of unrelated donors.  
*Bone Marrow Transplant* 39:71-87

**Gross TG, Loechelt BJ (2003)**

Epstein-Barr virus associated disease following blood or marrow transplant.  
*Pediatr Transplant* 7[Suppl3]:44-50 Review

**Gross TG, Steinbuch M, DeFor T, Shapiro RS, McGlave P, Ramsay NK, Wagner JE, Filipovich AH (1999)**

B cell lymphoproliferative disorders following hematopoietic stem cell transplantation: risk factors, treatment and outcome.  
*Bone Marrow Transplant* 23:251-8. Review

**Hale GA, Heslop HE, Krance RA, Brenner MA, Jayawardene D, Srivastava DK, Patrick CC (1999)**

Adenovirus infection after pediatric bone marrow transplantation.  
*Bone Marrow Transplant* 23:277-82. Review

**Handgretinger R, Klingebiel T, Lang P, Schumm M, Neu S, Geiselhart A, Bader P, Schlegel PG, Greil J, Stachel D, Herzog RJ, Niethammer D (2001)**

Megadose transplantation of purified peripheral blood CD34<sup>(+)</sup> progenitor cells from HLA-mismatched parental donors in children.  
*Bone Marrow Transplant* 27:777-83

**Handgretinger R, Lang P, Schumm M, Taylor G, Neu S, Koscielnak E, Niethammer D, Klingebiel T (1998)**

Isolation and transplantation of autologous peripheral CD34<sup>+</sup> progenitor cells highly purified by magneticactivated cell sorting.  
*Bone Marrow Transplant* 21:987-93.

**Handgretinger R., Klingebiel T., Bader B., Faleyras C., Siedner R., Wendt S., Dopfer R., Niethammer D (1992)**

Stem cell mobilisation, collection and transplantation in patients with pediatric tumors.  
*Cancer Research Therapy and Control* 3:43-8

**Hirsch HH (2005)**

BK Virus: Opportunity Makes a Pathogen.  
*Clin Infect Dis* 41:354-60

**Hirsch HH, Steiger J (2003)**

Polyomavirus BK.  
*Lancet Infect Dis* 3:611-23. Review

**Ho VT, Soiffer RJ (2001)**

The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.  
*Blood* 98:3192-204

**Hoffman JA, Shah AJ, Ross LA, Kapoor N (2001)**

Adenoviral infections and a prospective trial in pediatric hematopoietic stem cell transplantation.  
*Biol Blood Marrow Transplant* 7:388-94

**Howard DS, Phillips II GL, Reece DE, Munn RK, Henslee-Downey J, Pittard M, Barker M, Pomeroy C (1999)**

Adenovirus infections in hematopoietic stem cell transplant recipients.  
*Clin Infect Dis* 29:1494-501

**Ihira M, Yoshikawa T, Suzuki K, Ohashi M, Suga S, Horibe K, Tanaka N, Kimura H, Kojima S, Kato K, Matsuyama T, Nishiyama Y, Asano Y (2002)**

Monitoring of active HHV-6 infection in bone marrow transplant recipients by real time PCR; comparison to detection of viral DNA in plasma by qualitative PCR.  
*Microbiol Immunol* 46:701-5

**Jacobson LO, Marks EK, Robson MJ (1949)**

Effect of spleen protection on mortality following X-irradiation.  
*J Lab Clin Med* 34:1538

**Jiang YZ, Barrett AJ, Goldman JM, Mavroudis DA (1997)**

Association of natural killer cell immune recovery with a graft-versus-leukemia effect independent of graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation.  
*Ann Hematol* 74:1-6

**Juvonen E, Aalto SM, Tarkkanen J, Volin L, Mattila PS, Knuutila S, Ruutu T, Hedman K (2003)**

High incidence of PTLD after non-T-cell-depleted allogeneic haematopoietic stem cell transplantation as a consequence of intensive immunosuppressive treatment.  
*Bone Marrow Transplant* 32:97-102.

**Kasai M, Masauzi N (1998)**

The characteristics of umbilical cord blood (UCB) and UCB transplantation.  
*Semin Thromb Hemost* 24:491-5

**Kawasaki H, Takayama J, Ohira M (1996)**

Herpes zoster infection after bone marrow transplantation in children.  
*J Pediatr* 128:353-6

**Klumpen HJ, Petersen EJ, Verdonck LF (2004)**

Severe multiorgan failure after parvovirus B19 infection in an allogeneic stem cell transplant recipient.  
*Bone Marrow Transplant* 34:469-70

**Knowles WA, Pipkin P, Andrews N, Vyse A, Minor P, Brown DW, Miller E (2003)**

Population-based study of antibody to the human polyomaviruses BKV and JCV and the simian polyomavirus SV40.  
*J Med Virol* 71:115-23

**Kollman C, Howe CW, Anasetti C, Antin JH, Davies SM, Filipovich AH, Hegland J, Kamani N, Kernan NA, King R, Ratanatharathorn V, Weisdorf D, Confer DL (2001)**

Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age.  
*Blood* 98:2043-51.

**Kook H, Goldman F, Padley D, Giller R, Rumelhart S, Holida M, Lee N, Peters C, Comito M, Huling D, Trigg M (1996)**

Reconstruction of the immune system after unrelated or partially matched T-cell-depleted bone marrow transplantation in children: immunophenotypic analysis and factors affecting the speed of recovery.  
*Blood* 88:1089-97

**Kreth HW, Schuster V (2003)**

Parvovirus-B19-Infektionen. Kapitel 99.14:789-91  
In: Lentze MJ, Schaub J, Schulte FJ Spranger J: Pädiatrie, Grundlagen und Praxis;  
*2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York*

**Kuçi S, Wessels JT, Bühring HJ, Schilbach K, Schumm M, Seitz G, Löffler J, Bader P, Schlegel PG, Niethammer D, Handgretinger R (2003)**

Identification of a novel class of human adherent.  
*Blood* 101:869-76

**Lamb LS Jr, Gee AP, Henslee-Downey PJ, Geier SS, Hazlett L, Pati AR, Godder K, Abhyankar SA, Turner MW, Lee C, Harris WG, Parrish RS (1998)**

Phenotypic and functional reconstitution of peripheral blood lymphocytes following T cell-depleted bone marrow transplantation from partially mismatched related donors.  
*Bone Marrow Transplant* 21:461-71

**Lang P, Griesinger A, Hamprecht K, Feuchtinger T, Schumm M, Neuhäuser F, Greil J, Martin D, Handgretinger R, Niethammer D (2004)**

Antiviral activity against CMV-infected fibroblasts in pediatric patients transplanted with CD34(+)-selected allografts from alternative donors.  
*Hum Immunol* 65:423-31

**Lang P, Handgretinger R, Niethammer D, Schlegel PG, Schumm M, Greil J, Bader P, Engel C, Scheel-Walter H, Eyrich M, Klingebiel T (2003)**

Transplantation of highly purified CD34+ progenitor cells from unrelated donors in pediatric leukemia.  
*Blood* 101:1630-6

**Lang P, Schumm M, Taylor G, Klingebiel T, Neu, S, Geiselhart A, Kuci S, Niethammer D, Handgretinger R (1999)**

Clinical scale isolation of highly purified peripheral CD34<sup>+</sup>progenitors for autologous and allogenic transplantation in children.  
*Bone Marrow Transplant* 24:583-9

**Lang P., Klingebiel T., Handgretinger R., Herter M., Dopfer R., Niethammer D (1993)**

Einsatz von G-CSF bei der Stammzellmobilisation für die autologe KMT bei Kindern.  
*Monatsschrift für Kinderheilkunde* 141:192-6

**Leung AY, Suen CK, Lie AK, Liang RH, Yuen KY, Kwong YL (2001)**

Quantification of polyoma BK viruria in hemorrhagic cystitis complicating bone marrow transplantation.  
*Blood* 98:1971-8

**Leung AY, Yuen KY, Cheng VC, Lie AK, Liang R, Kwong YL (2002)**

Clinical characteristics of and risk factors for herpes zoster after hematopoietic stem cell transplantation.  
*Haematologica* 87:444-6

**Leung AY, Yuen KY, Kwong YL (2005)**

Polyoma BK virus and haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplantation: a changing paradigm.  
*Bone Marrow Transplant* 36:929-37. Review

**Leung TF, Chik KW, Li CK, Lai H, Shing MMK, Chan PKS, Lee V, Yuen PMP (2000)**

Incidence, risk factors and outcome of varicella-zoster virus infection in children after haematopoietic stem cell transplantation.  
*Bone Marrow Transplant* 25:167-72

**Ljunggren HG, Karre K (1990)**

In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition.  
*Immunol Today* 11:237-44

**Ljungman P, Ellis MN, Hackman RC, Shepp DH, Meyers JD (1990)**

Acyclovir-resistant herpes simplex virus causing pneumonia after marrow transplantation.  
*J Infect Dis* 162:244-8.

- Ljungman P (1998)**  
Immune reconstitution and viral infections after stem cell transplantation.  
*Bone Marrow Transplant* 21:S72-S74
- Ljungman P, Einsele H (1994)**  
Cytomegalovirus infection.  
*Curr Opin Hematol* 1:418-22. Review
- Ljungman P, Griffiths P, Paya C (2002)**  
Definitions of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients.  
*Clin Infect Dis* 34:1094-7
- Ljungman P, Urbano-Ispizua A, Cavazzana-Calvo M, Demirer T, Dini G, Einsele H, Gratwohl A, Madrigal A, Niederwieser D, Passweg J, Rocha V, Saccardi R, Schouten H, Schmitz N, Socie G, Sureda A, Apperley J; European Group for Blood and Marrow (2006)**  
Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe.  
*Bone Marrow Transplant* 37:439-49
- Locatelli F, Zecca M, Messina C, Rondelli R, Lanino E, Sacchi N, Uderzo C, Fagioli F, Conter V, Bonetti F, Favre C, Porta F, Giorgiani G, Pession A (2002)**  
Improvement over time in outcome for children with acute lymphoblastic leukemia in second remission given hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors.  
*Leukemia* 16:2228-37
- Lorenz E, Uphoff D, Reid TR, Shelton E (1951)**  
Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections.  
*J Natl Cancer Inst* 12:197-201
- Lynch BA, Vasef MA, Comito M, Gilman AL, Lee N, Ritchie J, Rumelhart S, Holida M, Goldman F (2003)**  
Effect of in vivo lymphocyte-depleting strategies on development of lymphoproliferative disorders in children post allogeneic bone marrow transplantation.  
*Bone Marrow Transplant* 32:527-33
- Mackall CL, Bare CV, Granger LA, Sharrow SO, Titus JA, Gress RE (1996)**  
Thymic-independent T cell regeneration occurs via antigen-driven expansion of peripheral T cells resulting in a repertoire that is limited in diversity and prone to skewing.  
*J Immunol* 156:4609-16
- Maltezou HC, Kafetzis DA, Abisaid D, Mantzouranis EC, Chan KW, Rolston KVI (2000)**  
Viral infections in children undergoing hematopoietic stem cell transplant.  
*Pediatr Infect Dis J* 19:307-12
- Martin PJ, Hansen JA, Buckner CD et al. (1985)**  
Effects of in vitro depletion of T cells in HLA-identical allogeneic marrow grafts.  
*Blood* 66:664- 72
- Martino R, Rovira M, Carreras E, Solano C, Jorge S, De La Rubia J, Caballero MD, de Oteyza JP, Zuazu J, Moraleda JM, Ojeda E, Ferrá C, Serrano D, De La Cámara R, Urbano-Ispizua A, Brunet S; AlloPBSCT and Infectious/Non-infectious Complications Subcommittees of the Grupo Español de Trasplante Hematopoyético (GETH) (2001)**  
Severe infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: a matched-pair comparison of unmanipulated and CD34+ cell-selected transplantation.  
*Haematologica* 86:1075-86

**Matthes-Martin S, Lion T, Aberle SW, Fritsch G, Lawitschka A, Bittner B, Frommlet F, Gadner H, Peters C (2003)**

Pre-emptive treatment of CMV DNAemia in paediatric stem cell transplantation: the impact of recipient and donor CMV serostatus on the incidence of CMV disease and CMV-related mortality.

*Bone Marrow Transplant* 31:803-8

**Meijer E, Slaper-Cortenbach IC, Thijsen SF, Dekker AW, Verdonck LF (2002)**

Increased incidence of EBV-associated lymphoproliferative disorders after allogeneic stem cell transplantation from matched unrelated donors due to a change of T cell depletion technique.

*Bone Marrow Transplant* 29:335-9

**Mickelson EM, Petersdorf EW, Hansen JA (2002)**

HLA matching and hematopoietic cell transplant outcome.

*Clin Transpl* 263-71

**Miller W, Flynn P, McCullough J, Balfour HH Jr, Goldman A, Haake R, McGlave P, Ramsay N, Kersey J (1986)**

Cytomegalovirus infection after bone marrow transplantation: an association with acute graft-v-host disease.

*Blood* 67:1162-7

**Nagafuji K, Aoki K, Henzan H, Kato K, Miyamoto T, Eto T, Nagatoshi Y, Ohba T, Obama K, Gondo H, Harada M (2004)**

Cidofovir for treating adenoviral hemorrhagic cystitis in hematopoietic stem cell transplant recipients.

*Bone Marrow Transplant* 34:909-14

**Nichols WG, Boeckh M, Carter RA, Wald A, Correy L (2003)**

Transferred herpes simplex virus immunity after stem-cell transplantation: clinical implications.

*J Infect Dis* 187:801-8

**Nichols WG, Corey L, Gooley T, Davis C, Boeckh M (2002)**

High risk of death due to bacterial and fungal infection among cytomegalovirus (CMV)-seronegative recipients of stem cell transplants from seropositive donors: evidence for indirect effects of primary CMV infection.

*J Infect Dis* 185:273-82

**Ottinger H, Schulze-Rath R, Schmitz A, Grosse-Wilde H (1995)**

Progress of unrelated bone marrow donor search at the University Hospital of Essen (1991-1994).

*Ann Hematol* 71:71-5

**Paya CV, Fung JJ, Nalesnik MA, Kieff E, Green M, Gores G, Habermann TM, Wiesner PH, Swinnen JL, Woodle ES, Bromberg JS (1999)**

Epstein-Barr virus-induced posttransplant lymphoproliferative disorders. ASTS/ASTP EBV-PTLD Task Force and The Mayo Clinic Organized International Consensus Development Meeting.

*Transplantation* 68:1517-25

**Platzbecker U, Ehninger G, Bornhäuser M (2004)**

Allogeneic transplantation of CD34+ selected hematopoietic cells--clinical problems and current challenges.

*Leuk Lymphoma* 45:447-53. Review

**Razonable RR (2005)**

Epidemiology of cytomegalovirus disease in solid organ and hematopoietic stem cell transplant recipients.

*Am J Health Syst Pharm* 62:S7-13

**Runde V, Ross S, Trenchel R, Lagemann E, Basu O, Renzing-Köhler K, Schaefer UW, Roggendorf M, Holler E (2001)**

Adenoviral infection after allogeneic stem cell transplantation (SCT): report on 130 patients from a single SCT unit involved in a prospective multi center surveillance study.

*Bone Marrow Transplant* 28:51-7

**Schaefer UW, Beelen DW (1989)**

Knochenmarktransplantation.

*Germering/München: Karger*

**Schleuning M, Jäger G, Holler E, Hill W, Thomssen C, Denzlinger C, Lorenz T, Ledderose G, Wilmanns W, Kolb HJ (1999)**

Human parvovirus B19-associated disease in bone marrow transplantation.

*Infection* 27:114-7

**Schuchter LM, Wingard JR, Piantadosi S, Burns WH, Santos GW, Saral R (1989)**

Herpes zoster infection after autologous bone marrow transplantation.

*Blood* 74:1424-1427

**Schumm M, Lang P, Taylor G, Kuci S, Klingebiel T, Buring HJ, Geiselhart A, Niethammer D, Handgretinger R (1999)**

Isolation of highly purified peripheral CD34<sup>+</sup> cells using the CliniMACS device.

*J Hematother* 8:209-18

**Schuster V, Kreth HW (2003a)**

Herpesvirus-Typ-6-Infektionen. Kapitel 99.11:787-8

In: Lentze MJ, Schaub J, Schulte FJ Spranger J: Pädiatrie, Grundlagen und Praxis; 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York

**Schuster V, Kreth HW (2003b)**

Epstein-Barr-Virus-Infektionen. Kapitel 99.18:796-9

In: Lentze MJ, Schaub J, Schulte FJ Spranger J: Pädiatrie, Grundlagen und Praxis; 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York

**Shields AF, Hackman RC, Fife KH, Corey L, Meyers JD (1985)**

Adenovirus infections in patients undergoing bone-marrow transplantation.

*N Engl J Med* 312:529-33

**Snell GD (1992)**

The Nobel Lectures in Immunology. Lecture for the Nobel Prize for Physiology or Medicine, 1980: Studies in histocompatibility.

*Scand J Immunol* 36:513-26

**Stachel D (1999)**

Stammzelltransplantation.

*Monatsschrift für Kinderheilkunde* 147:707-15

**Storb R, Prentice RL, Thomas ED (1977)**

Marrow transplantation for treatment of aplastic anemia. An analysis of factors associated with graft rejection.

*N Engl J Med* 296:61-6



- Tan SS, Uyl-de Groot CA, Huijgens PC, Fibbe WE (2007)**  
Stem cell transplantation in Europe: Trends and prospects.  
*Eur J Cancer* 43:2359-65
- Thomas ED, Lochte HL Jr., Cannon JH, Sahler OD, Ferrebee JW (1959)**  
Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man.  
*J Clin Invest* 38:1709-16
- Uchida N, Tsukamoto A, He D, Frieri AM, Scollay R, Weissman IL (1998)**  
High doses of purified stem cells cause early hematopoietic recovery in syngeneic and allogeneic hosts.  
*J Clin Invest* 101:961-6
- Urbano-Ispzua A, Schmitz N, de Witte T, Frassoni F, Rosti G, Schrezenmeier H, Gluckmann E, Friedrich W, Cordonnier C, Socie G, Tyndall A, Niethammer D, Ljungman P, Gratwohl A, Apperley J, Niederwieser D, Bacigalupo A ; European Group for Blood and Marrow Transplantation. (2002)**  
Special report: Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumors and immune disorders: definitions and current practice in Europe.  
*Bone Marrow Transplant* 29:639-46
- van Bekkum DW, DeVries MJ (1967)**  
Radiation Chimeras.  
N.Y., Academic Press, New York
- van Esser JW, van der Holt B, Meijer E, Niesters HG, Trensche R, Thijsen SF, van Loon AM, Frassoni F, Bacigalupo A, Schaefer UW, Osterhaus AD, Gratama JW, Löwenberg B, Verdonck LF, Cornelissen JJ (2001)**  
Epstein-Barr virus (EBV) reactivation is a frequent event after allogeneic stem cell transplantation (SCT) and quantitatively predicts EBV-lymphoproliferative disease following T-cell--depleted SCT.  
*Blood* 98:972-8.
- van Kraaij MG, Verdonck LF, Rozenberg-Arska M, Dekker AW. (2002)**  
Early infections in adults undergoing matched related and matched unrelated/mismatched donor stem cell transplantation: a comparison of incidence.  
*Bone Marrow Transplant* 30:303-9
- Wade JC, McLaren C, Meyers JD (1983)**  
Frequency and significance of acyclovir-resistant herpes simplex virus isolated from marrow transplant patients receiving multiple courses of treatment with acyclovir.  
*J Infect Dis* 148:1077-82
- Wade JC, Newton B, Flournoy N, Meyers JD (1984)**  
Oral acyclovir for prevention of herpes simplex virus reactivation after marrow transplantation.  
*Ann Intern Med* 100:823-8
- Wasserman R, August CS, Plotkin SA (1988)**  
Viral infections in pediatric bone marrow transplant patients.  
*Pediatr Infect Dis J* 7:109-15
- White MK, Khalili K (2004)**  
Polyomaviruses and human cancer: molecular mechanisms underlying patterns of tumorigenesis.  
*Virology* 324:1-16. Review

**Yamane A, Mori T, Suzuki S, Mihara A, Yamazaki R, Aisa Y, Nakazato T, Shimizu T, Ikeda Y, Okamoto S (2007)**

Risk factors for developing human herpesvirus 6 (HHV-6) reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation and its association with central nervous system disorders.

*Biol Blood Marrow Transplant* 13:100-6.

**Yoshikawa T (2001)**

Human herpesvirus 6 infection in transplantation.

*Nagoya J Med Sci* 64:11-8 Review

**Yoshikawa T (2003)**

Human herpesvirus-6 and-7 infections in transplantation.

*Pediatr Transplant* 7:11-7. Review

**Yoshikawa T, Asano Y, Ihira M, Suzuki K, Ohashi M, Suga S, Kudo K, Horibe K, Kojima S, Kato K, Matsuyama T, Nishiyama Y (2002)**

Human herpesvirus 6 viremia in bone marrow transplant recipients: clinical features and risk factors.

*J Infect Dis* 185:847-53

**Yoshikawa T, Suga S, Asano Y, Nakashima T, Yazaki T, Sobue R, Hirano, M, Fukuda M, Kojima S, Matsuyama T (1991)**

Human herpesvirus-6-infection in bone marrow transplantation.

*Blood* 78:1381-4

**Young NS, Brown KE (2004)**

Mechanisms of disease: Parvovirus B19.

*N Engl J Med* 350:586-97 Review

**Zaia JA (1990)**

Viral infections associated with bone marrow transplantation.

*Hematol Oncol Clin North Am* 4:603-23. Review

**Zerr DM, Corey L, Kim HW, Huang ML, Nguy L, Boeckh M (2005)**

Clinical outcomes of human herpesvirus 6 reactivation after hematopoietic stem cell transplantation.

*Clin Infect Dis* 40:932-40

**Zutter MM, Martin PJ, Sale GE, Shulman HM, Fisher L, Thomas ED, Durnam DM (1988)**

Epstein-Barr virus lymphoproliferation after bone marrow transplantation.

*Blood* 72:520-9

## 7. Anhang

### 7.1. Tabellen und Abbildungen

#### 7.1.1. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1	Indikationen zur allogenen HSCT bei Kindern .....	12
Tabelle 1.2	Klassifizierung humaner Adenoviren (nach Forster J, 2003) .....	18
Tabelle 2.1	Patientencharakteristika.....	26
Tabelle 2.2	Spender und Transplantat.....	27
Tabelle 3.1	Mortalität nach Transplantation.....	34
Tabelle 3.2	CMV-Status.....	37
Tabelle 3.3	CMV-Infektion im Blut .....	39
Tabelle 3.4	CMV-Infektion im Respirationstrakt.....	40
Tabelle 3.5	CMV-Infektion im Urin.....	41
Tabelle 3.6	CMV-Erkrankung und CMV-bedingter Tod .....	42
Tabelle 3.7	Häufigkeit der ADV-Infektion nach ADV-Typen.....	44
Tabelle 3.8	ADV-Infektion im Stuhl.....	44
Tabelle 3.9	ADV-Infektion im Blut.....	46
Tabelle 3.10	ADV-Nachweis in sonstigem Untersuchungsmaterial .....	47
Tabelle 3.11	ADV-Erkrankung und ADV-bedingter Tod.....	48
Tabelle 3.12	HHV6-Infektion.....	49
Tabelle 3.13	HHV6-Erkrankung und HHV6-bedingter Tod .....	51
Tabelle 3.14	EBV-Infektion und EBV-Erkrankung .....	52
Tabelle 3.15	BKV-Infektionen und BKV-assoziierte hämorrhagische Zystitis ...	53

### 7.1.2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 3.1 3-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit .....	35
Abbildung 3.2 Kumulative Inzidenz der virusbedingten Mortalität.....	35
Abbildung 3.3 Kumulative Inzidenz der Virusinfektionen .....	36
Abbildung 3.4 Kumulative Inzidenz einer CMV-DNAämie in Abhängigkeit vom Serostatus a) des Empfängers und b) des Spenders .....	37
Abbildung 3.5 Kumulative Inzidenz einer CMV-DNAämie in Abhängigkeit vom Serostatus des Spenders und Empfängers .....	38
Abbildung 3.6 Kumulative Inzidenz der CMV-DNAämie .....	39
Abbildung 3.7 Kumulative Inzidenz der CMV-Infektion im Respirationstrakt ....	40
Abbildung 3.8 Kumulative Inzidenz der CMV-Infektion im Urin.....	42
Abbildung 3.9 Kumulative Inzidenz der CMV-Erkrankungen .....	43
Abbildung 3.10 Kumulative Inzidenz der ADV-Infektion im Stuhl.....	45
Abbildung 3.11 Kumulative Inzidenz der ADV-Infektion im Blut.....	46
Abbildung 3.12 Kumulative Inzidenz einer ADV-Erkrankung .....	48
Abbildung 3.13 Kumulative Inzidenz der HHV6-Infektion im Blut .....	50
Abbildung 3.14 Kumulative Inzidenz der HHV6-Infektion im Respirationstrakt.	50
Abbildung 3.15 Kumulative Inzidenz der EBV-Infektion im Blut.....	53
Abbildung 3.16 Kumulative Inzidenz der BKV-Infektion im Urin .....	54
Abbildung 3.17 Kumulative Inzidenz der BKV-assoziierten HC .....	54
Abbildung 3.18 Kumulative Inzidenz einer VZV-Erkrankung .....	56

## 8. Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt

- Herrn PD Dr. med. Peter Lang für die Überlassung des Themas sowie die Betreuung der Arbeit
- Herrn Dr. med. vet. Michael Schumm für die Unterstützung in datentechnischen und statistischen Fragen
- Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. K. Hamprecht und
- Herrn PD Dr. rer. nat. C.-Th. Bock für die Zurverfügungstellung der virologischen und pathologischen Daten
- den Mitarbeitern des KMT- Labors für ihre endlose Geduld
- und nicht zuletzt meiner Familie und meinen Freunden für die Hilfe in Computerfragen, für Kritik und Korrektur und vor allem für moralische Unterstützung, Motivation und ein offenes Ohr

## 9. Tabellarischer Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: **Friederike Luise Neuhäuser**  
Geburtsdatum/ -ort: 08.07.1978 in Pforzheim  
Eltern: Dr. Ingrid und Dr. Horst Neuhäuser

### Schullaufbahn

1985- 1989 Grundschole in Pforzheim  
1989- 1998 Reuchlin-Gymnasium in Pforzheim  
06/1998 Allgemeine Hochschulreife

### Studium

10/1998 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der  
Eberhard-Karls-Universität in Tübingen  
09/2000 Physikum  
08/2001 1. Staatsexamen  
04/2004 2. Staatsexamen  
04/2004 - 03/2005 Praktisches Jahr am Klinikum am Steinenberg  
in Reutlingen  
04/2005 3. Staatsexamen

### Berufstätigkeit

seit 07/2005 Assistenzärztin in der Medizinischen Klinik  
Klinikum am Steinenberg in Reutlingen