

**Diplomarbeit**

**Virus-Screening bei Kindern unter Therapie einer akuten  
myeloischen Leukämie**

eingereicht von

**Dominik Baumgartner**

Geb.Dat.: 16.01.1988

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Klinische Abteilung für Pädiatrische Hämatologie/Onkologie**

**Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde**

**Medizinische Universität Graz**

unter der Anleitung von

**Ass. Prof. Priv. Doz. OA Dr. Volker Strenger**

**OÄ Dr. Daniela Sperl**

## *Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 10.09.2014*

### Anmerkung:

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird in der vorliegenden Arbeit auf eine geschlechterspezifische Differenzierung verzichtet. Jedoch möchte ich ausdrücklich festhalten, dass die bei Personen verwendete maskuline Form im Sinne der Gleichbehandlung grundsätzlich für beide Geschlechter gilt.

## Danksagungen

An erster Stelle möchte ich meinen Diplomarbeitsbetreuern, Dr. Volker Strenger und Dr. Daniela Sperl, für die liebevolle und geduldige Betreuung meiner Diplomarbeit danken!

Ohne ihre unermüdlichen Bemühungen und Korrekturen, wäre diese Arbeit in der vorliegenden Form mit Sicherheit nie zustande gekommen.

Anschließend gilt mein allerherzlichster Dank meiner Familie, vor allem meinen Eltern die mir mein Studium erst ermöglicht und mich in all meinen Entscheidungen immer unterstützt haben.

Meine Freunde sollen ebenfalls nicht unerwähnt bleiben, da sie meine Studienzeit einfach unvergesslich gemacht haben – ich werde unsere gemeinsame Zeit niemals vergessen!

# Zusammenfassung

## Hintergrund:

Da die Therapie der AML mit einer Myelodepression und begleitender Immundefizienz einhergeht, ist es wichtig während der Therapie auf mögliche Infektionen zu achten. Hier sind neben Bakterien und Pilzen auch Viren von Bedeutung. Wichtig ist es, Viren zu detektieren, die lebenslang im Körper persistieren, wie z.B. die Herpesviridae, um sowohl Erstinfektionen als auch Reaktivierungen rechtzeitig mit einer antiviralen Therapie behandeln zu können.

## Methoden:

An der pädiatrischen Hämato-/Onkologie (PHO) Graz werden während der stationären Chemotherapie wöchentliche PCR-Screenings auf Viren durchgeführt. Bei unserer retrospektiven monozentrischen Studie werteten wir die Befunde bzgl. ADV, CMV, EBV, HHV6, HSV, PVB19 und VZV aus.

Es lagen uns über 11.100 Befunde von 26 Kindern vor, die mit beschreibenden statistischen Verfahren dargestellt wurden.

## Ergebnisse:

Bei 24 der 26 Patienten konnte im Laufe der stationären Therapie eine Virusinfektion oder Reaktivierung festgestellt werden.

Bei jedem gescreenten Virus konnte im Rahmen der Studie mindestens einmalig eine Viruspositivität mittels PCR festgestellt werden.

Eine hämophagozytische Lymphohistiozytose (HLH), die laut Studien häufig mit Herpesviridae im Zusammenhang steht, wurde im Rahmen unserer Studie bei 6 der 26 Kinder festgestellt.

Die Graft-vs.-Host-Disease (GvHD) wird auch mit Virusinfektionen in Verbindung gebracht und konnte bei 6 der 10 Kinder nach allogener Stammzelltransplantation (alloSZT) festgestellt werden.

Diese 6 Kinder zeigten zum Zeitpunkt der GvHD eine Virus-(Re-)Aktivierung.

## Diskussion:

Virus-(Re-)Aktivierungen traten unter AML Therapie häufig auf und könnten mittels Screening detektiert werden. Die Patienten waren dabei teilweise

asymptomatisch, teilweise zeigten sie Exantheme, protrahierte Myelodpressionen, GvHD, HLH, eine hämorrhagische Cystitis, Pankreatitiden bzw. Hepatopathien, Nierenfunktionsstörungen, persistierendes Fieber u. Gerinnungsstörungen. Die HLH steht laut Studien mit Viren der Herpesfamilie in Verbindung. Dies konnte auch in unsere Studie bestätigt werden. Fälle von HLH wurden im Zusammenhang mit CMV, EBV, HHV6, HSV, PVB19 und ADV festgestellt.

# Abstract

## Background:

Children treated for acute myeloid leukemia (AML) are at increased risk for infections. Therefore, we evaluated frequency of selected virus infections/reactivations (Adenovirus, Cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, Human-Herpes simplex virus, Human-Herpesvirus 6, Parvo-B19 Virus, Varicella-Zoster Virus) during AML therapy.

## Methods:

In a retrospective monocentric analysis of 26 consecutive patients treated for AML we evaluated results of virological screening for 8 selected viruses (ADV, CMV, EBV, HHV-6, HSV, Polyomavirus BK, PVB19, and VZV) by polymerase chain reaction (PCR) which initially was performed intermittently and in recent years weekly during treatment and at follow-up examinations thereafter.

Pre-treatment serological examinations were evaluated to differentiate primary infection from reactivation.

In total we had more than 11.100 PCR-results to evaluate. The statistically analysis was performed with Microsoft Excel.

## Results:

24 out of 26 patients we evaluated had at least one virusinfection or virusreactivation. In our analysis every virus we analyzed had at least one positive PCR-result.

Reviewed studies of our literary research often showed a relation between HLH and viral infection especially with herpesviruses. We were able to detect HLH in 6 of 26 patients with active virus infection/reactivation.

GvHD is also often linked to viral infections and in our analysis we were able to detect GvHD in 6 out of 10 patients who underwent allogeneic stem-cell transplantation.

All of these 6 patients showed signs of virus-(re-)activation.

**Discussion:**

Virus-(re-)activation is often seen in patients who underwent AML-therapy, a virological screening could help to detect this before symptoms occur. Some of our patients were asymptomatic whilst others showed symptoms of exanthemas, prolonged myelodepressions, GvHD, HLH, cystitis, pancreatitis, hepatopathies, renal dysfunction, prolonged fever and coagulation disorder. HLH can be linked to primarily herpesvirus infections. In our analysis we detected HLH in 6 patients with CMV, EBV, HHV6, HSV, PVB19 and ADV infections.

GvHD was linked to infections with ADV, BKV, CMV, EBV, HHV6 and PVB19.

## Inhaltsverzeichnis

Virus-Screening bei Kindern unter Therapie einer akuten myeloischen Leukämie.	1
Danksagungen .....	ii
Zusammenfassung .....	iii
Abstract .....	v
Glossar und Abkürzungen .....	ix
Abbildungsverzeichnis .....	xii
Tabellenverzeichnis .....	xiii
1 Einleitung .....	15
2 Hintergrund .....	16
2.1 Akute myeloische Leukämie .....	16
2.1.1 Definition - Überblick .....	16
2.1.2 Epidemiologie .....	16
2.1.3 Pathogenese .....	17
2.1.4 Risikofaktoren .....	17
2.1.5 Diagnostik .....	18
2.1.6 Klassifikationen .....	19
2.1.7 Therapie .....	22
2.2 Viren .....	25
2.2.1 Viren Allgemeines .....	25
2.2.2 Primärinfektion und Replikation .....	27
2.2.3 Viruslatenz und Persistenz .....	30
2.2.4 Reaktivierungen .....	31
2.2.5 Adenovirus .....	33
2.2.6 Cytomegalievirus .....	34
2.2.7 Epstein-Barr-Virus .....	36
2.2.8 Humanes Herpesvirus Typ 6 .....	37
2.2.9 Parvovirus B19 .....	39
2.2.10 Varizella-Zoster-Virus .....	41
2.2.11 Polyoma BK-Virus .....	43
3 Material und Methoden .....	44
4 Ergebnisse – Resultate .....	47

4.1	Patientenkollektiv .....	49
4.2	Klassifikation der AML .....	50
4.3	Initiale Serologie .....	51
4.4	Adenovirus .....	52
4.5	Polyomavirus BK .....	53
4.6	Cytomegalievirus .....	55
4.7	Humanes Herpesvirus Typ 6 .....	56
4.8	Herpes Simplex-Virus .....	58
4.9	Epstein-Barr-Virus .....	58
4.10	Parvovirus B19 .....	60
4.11	Varizella-Zoster-Virus .....	61
4.12	Hämophagozytische Lymphohistiozytose .....	62
4.13	Graft-versus-Host Disease .....	64
4.14	Protrahierte Myeloaplasie .....	67
4.15	Hämorrhagische Cystitis .....	68
5	Diskussion .....	68
5.1	AML und Virusinfektionen .....	68
5.1.1	DNA-Viruspositivität der Patienten im Therapieverlauf .....	70
5.1.2	Klinische Symptome die während einer Virusaktivität beobachtet werden konnten .....	72
5.1.3	Virusinfektionen nach Stammzelltransplantation .....	77
5.2	Bewertung der Sinnhaftigkeit eines virologischen Screenings .....	78
6	Literaturverzeichnis .....	79

## Glossar und Abkürzungen

ABSTR	Abstrich
ADV	Adenovirus
aGvHD	akute Graft-versus-Host Disease
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
alloSZT	allogene Stammzelltransplantation
alloKMT	allogene Knochenmarkstransplantation
autoSZT	autologe Stammzelltransplantation
alloHSZT	allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation
ALL	akute lymphatischen Leukämie
AML	akute myeloische Leukämie
APL	akute Promyelozyten-Leukämie
BFM	Berlin / Frankfurt / Münster
BKV	Polyoma BK-Virus
BM	Biopsiematerialien
C	Cytosin
cAk	core-Antikörper
cGvHD	chronische Graft-versus-Host Disease
CMV	Cytomegalievirus
CD	Cluster of differentiation
DIC	disseminierte intravasale Koagulation
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EBV	Epstein Barr-Virus
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ER	endoplasmatische Retikulum
FAB	French-American-Britisch
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
FFP	fresh frozen plasma
FSME	Frühsommer-Meningoencephalitis
GVT	Graft-versus-Tumor
G	Guanin
GI	Gastrointestinal
haGvHD	hyperakute Graft-versus-Host Disease

HA	Harn
HC	hämorrhagische Cystitis
HCMV	humanes Cytomegalievirus
HHV6	humanes Herpesvirus Typ 6
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HLA	humanes Leukozyten Antigen
HSV	Herpes Simplex-Virus
IE-Region	immediate early-Region
IgG	Immunglobulin G
kb	Kilo-Basenpaare
KM	Knochenmark
LI	Liquor
MDS	myelodysplastisches Syndrom
MPN	myeloproliferatives Syndrom
MPO	Myeloperoxidase
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
NPM1	Nucleophosmin
NFκB	Nekrosefaktor-κB
NS	Nasensekret
PAS	Periodsäure-Schiff
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PHO	Pädiatrische Hämato-/Onkologie
PVB19	Parvovirus B19
RSF	Rachenspülflüssigkeit
RF	Rachenspülflüssigkeit
sAg	surface-Antigen
sAk	surface-Antikörper
S(0/1/2)	Sondermaterialien
SE	Serum
SP	Sputum
sIL-2-R	löslicher Interleukin-2-Rezeptor
TNFα	Tumornekrosefaktor-Alpa
VAHS	virusassoziierte hämophagozytische Lymphohistiozytose
VZV	Varizella Zoster-Virus

WHO Welt Gesundheitsorganisation  
ZNS Zentrales Nervensystem

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Schematische Darstellung des Herpes Virus .....	25
Abbildung 2. Illustration eines Ikosaeders (links) und zur besseren Übersicht, als zylindrischer Körper mit 10 Dreiecksflächen und 2 Enden mit jeweils 5 Dreiecksflächen (rechts) Quelle: (2) .....	26
Abbildung 3. Replikationszyklus eines RNA-Virus mit Hülle Quelle: (1) .....	29
Abbildung 4. Erythema infectiosum (Ringelröteln) verursacht durch ParvoB19 bei einem Patienten mit Mb. Hodgkin.....	40
Abbildung 5. Grafische Darstellung der Anzahl der diagnostizierten AML .....	51

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 - Klassifikation der AML nach WHO 2008 Schema .....	21
Tabelle 2 - Tabellarische Übersicht der untersuchten Proben .....	47
Tabelle 3 - Zusammenfassung des virologischen Screenings .....	47
Tabelle 4 - Vergleich zwischen der Reaktivierungs- und Primärinfektionswahrscheinlichkeit.....	48
Tabelle 5 - Klinische Symptome, die möglicherweise im Zusammenhang stehen mit Virusreaktivierung / -erstinfektion .....	48
Tabelle 6 - Überblick des Patientenkollektiv der an der Studie teilnehmenden Patienten .....	49
Tabelle 7 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven Adenovirus- Screeningbefunden .....	53
Tabelle 8 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven Polyomavirus BK- Screeningbefunden .....	54
Tabelle 9 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven Cytomegalievirus- Screeningbefunden .....	56
Tabelle 10 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven HHV6-Screeningbefunden	57
Tabelle 11 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven Herpes simplex- Screeningbefunden .....	58
Tabelle 12 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven EBV-Screeningbefunden..	59
Tabelle 13 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven Parvo B19- Screeningbefunden .....	60
Tabelle 14 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven Varizella Zoster- Screeningbefunden .....	61
Tabelle 15 - HLH-Episoden während des Screenings .....	63
Tabelle 16 - zeitlicher Verlauf zw. Virusreakt./-inf. und Auftreten der hämophagozytischen Lymphohistiozytose .....	63
Tabelle 17 – Zeitlicher Verlauf zw. Virusreakt./inf. und Auftreten der Graft vs. Host- Disease .....	66
Tabelle 18 - Zeitpunkt zw. Virusreakt./inf. Und Auftreten der korrelierten Myelosuppression .....	67

<b>Tabelle 19 - Häufigkeit der Virusreakt./-inf. während einer Myelosuppression .....</b>	<b>68</b>
<b>Tabelle 20 - Vergleich der prozentuellen Häufigkeit zwischen der von de Pagter et al.- und der Diplomarbeitsstudie.....</b>	<b>71</b>

# 1 Einleitung

Die akute myeloische Leukämie (AML) ist nach der akuten lymphatischen Leukämie (ALL) die zweithäufigste Leukämieform im Kindesalter.

Die Therapie der Wahl ist eine zytotoxische Chemotherapie. Da bei dieser nicht nur neoplastische Zellen geschädigt und zerstört werden, kommt es zum Auftreten von zahlreichen Nebenwirkungen. Eine häufige Nebenwirkung ist die Myelodepression mit begleitender Immundefizienz, welche die Patienten infektionsgefährdet macht.

Deshalb ist es wichtig, Infektionen in einem frühen Stadium zu detektieren. Mittels Screening hat man die Möglichkeit, schnell - noch vor Auftreten von Symptomen - mit einer entsprechenden virostatischen Therapie gegensteuern zu können.

In der vorliegenden Diplomarbeit wurden Screeningbefunde folgender Viren ausgewertet: ADV, EBV, CMV, HSV, HHV-6, Parvovirus B19, Polyomavirus BK und Varizella Zoster Virus.

Die Diplomarbeit soll eine Übersicht der häufigsten Virus-Infektionen bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) geben. Dafür wurden die Befunde der Virus-Screening-Untersuchungen aus dem Zeitraum von 2001 bis 2012 analysiert. Ein Ziel der Diplomarbeit war es zu untersuchen, ob ein Screening der selteneren Viren für die infektionsgefährdeten Patienten von Vorteil sein kann.

Im Rahmen der Diplomarbeit soll eine Übersicht der häufigsten Virusinfektionen bzw. -reaktivierungen während der Therapie einer AML gegeben werden.

Bei der Auswertung haben wir versucht zwischen Erstinfektion und Reaktivierung zu unterscheiden. Die Unterscheidung wird mittels spezifischer Antikörper festgestellt: Waren diese vor Therapiebeginn negativ, kann in weiterer Folge bei erstmalig positivem Nachweis von einer Erstinfektion ausgegangen werden.

Weiters haben wir versucht, die verschiedenen Virusinfektionen der Kinder in einen klinischen Zusammenhang zu bringen.

Das Hauptziel der Diplomarbeit ist, die Häufigkeit neu auftretender Virus-Infektionen bzw. deren Reaktivierungen während der Therapie zu erfassen und das Auftreten eventueller klinischer Komplikationen in einen Zusammenhang zum jeweiligen Virus zu bringen.

## **2 Hintergrund**

### **2.1 Akute myeloische Leukämie**

#### **2.1.1 Definition - Überblick**

Als akute myeloische Leukämie (AML) wird eine heterogene hämatologische Erkrankung bezeichnet, die definiert wird durch eine klonale Expansion von primitiven hämatopoetischen Stammzellen (Myeloblasten) im peripheren Blut, Knochenmark und anderen Geweben.(1)

Die Hämatopoese stellt einen komplexen Prozess dar, der von Transkriptionsfaktoren reguliert wird. Eine Imbalance der Aktivierung und Inhibierung solcher Faktoren, sind eine Grundvoraussetzung für die Entstehung von malignen hämatologischen Erkrankungen.(2)

Die AML entsteht primär durch genetische Ursachen, es kommt zu einer Fehlregulation von Wachstum, Differenzierung und Apoptose der hämatopoetischen Vorläuferzellen.

Dadurch kommt es zur Akkumulation funktionsuntüchtiger unreifer Zellen im Knochenmark und peripherem Blut, die letztendlich zur Verdrängung der normalen Blutbildung im Knochenmark führt.(3)

#### **2.1.2 Epidemiologie**

Akute Leukämien stellen die häufigsten malignen Erkrankungen im Kindesalter dar, vermutlich bedingt dadurch, dass die Hämatopoese vor allem während der fetalen Entwicklung und den ersten Lebensjahren besonders aktiv ist. (2) Bis zu 35% aller malignen Entitäten werden mit akuten Leukämien assoziiert, 15 bis 20 % der Leukämiefälle werden durch die AML verursacht.(4)

Die Inzidenzraten sind je nach Studien unterschiedlich. Sie werden unter anderem mit einer Erkrankungshäufigkeit von 7 pro 1.000.000 bei unter 15 Jährigen angegeben.(5)

Die höchste Inzidenzrate zeigt sich bei den 2 Jährigen mit bis zu 12 Neuerkrankungen pro 1 Million Kinder, die niedrigste Inzidenzrate findet man bei den 9 jährigen mit einer Rate von bis zu 3,8 Fällen pro 1 Million Kinder. Nach dem

16. Lebensjahr kommt es zu einem erneuten Anstieg der Inzidenz mit bis zu 9 Fällen pro 1 Million Kinder.(4)

Laut deutschem Kinderkrebsregister lag die Inzidenzrate für die AML im Jahr 2012 bei Kindern unter 15 Jahren bei 6,2 Neuerkrankungen pro 1.000.000 Einwohner.(6)

Im Erwachsenen Alter, steigt die Inzidenz der AML und des myelodysplastischen Syndroms (MDS) kontinuierlich an.(1)

Insgesamt ist die Erkrankungshäufigkeit auf beide Geschlechter gleich verteilt.(4)

### **2.1.3 Pathogenese**

Bezüglich der Pathogenese der AML gibt es verschiedene Hypothesen.

Eine Hypothese geht davon aus, dass sich die leukämische Stammzelle aus einer hämatopoetischen Progenitorzelle entwickelt. Diese leukämische Stammzelle teilt sich weiter und die aus ihr entstehenden transformierten Zellen bilden je nach erreichtem Reifungsgrad eine der bekannten Subtypen der AML.

Die AML entsteht in diesem Modell auf Basis einer leukämischen Stammzellebene und ist gekennzeichnet durch eine verstärkte Zellproliferation und eine fehlende Differenzierung der betroffenen Zelllinie.(4)

Dieses Modell erklärt auch die heterogene Morphologie der AML, je nach Entwicklungsstufe der betroffenen Zelle zeigen sich unterschiedliche Phänotypen.(3)

Die andere Theorie geht davon aus, dass sich die verschiedenen Typen der AML ausschließlich aus einer sehr frühen primitiven Stammzelle entwickeln kann, dass hier jedoch eher das verantwortliche Onkogen, die Art der AML prägt und nicht die betroffene ursprüngliche Stammzelle selbst.(4)

### **2.1.4 Risikofaktoren**

Wie oben bereits genannt, spielen genetische Aberrationen bei der Entwicklung einer AML eine wichtige Rolle.

Man geht davon aus, dass auf molekulargenetischer Ebene nicht nur eine einzelne Mutation ursächlich für eine AML ist.

Die erste Mutation verstärkt die Fähigkeit zur Proliferation und die zweite Mutation verhindert die Möglichkeit einer weiteren Differenzierung innerhalb einer Zellreihe.

Erst das Zusammentreffen beider Mutationen innerhalb einer hämatopoetischen Progenitorzelle ist verantwortlich für die Entstehung der AML.(4)

Es ist bekannt, dass Umwelteinflüsse das Risiko an einer AML oder an einem MDS zu erkranken erhöhen. Dazu gehören beispielsweise eine längere Exposition gegenüber Petrochemikalien, Lösungsmittel wie Benzole, Pestizide und ionisierende Strahlung.

Nach einer Tumorerkrankung, die mittels Chemotherapie therapiert wurde, ist die Inzidenzrate des MDS bzw. der akuten Leukämie ebenfalls deutlich erhöht.(1)

### **2.1.5 Diagnostik**

Bei der AML ist eine normale Reifung der myeloischen Zellreihe nicht möglich und es kommt zur Akkumulation von Myeloblasten im Knochenmark und peripherem Blut.

Um die Diagnose einer AML stellen zu können, müssen nach WHO-Definition quantitativ mindestens 20% Myeloblasten im Knochenmark oder peripherem Blut nachweisbar sein.

Die French-American-British (FAB) Klassifikation gibt die quantitative Grenze mit 30% Myeloblasten im Blut bzw. Knochenmark an, da sich diese Werte stark unterscheiden, scheint diese absoluten Grenzen recht willkürlich gewählt zu sein.(7)

An erster Stelle in der Diagnostik steht die quantitative Bestimmung der morphologisch abnormen Zellen im Knochenmark, um festzustellen ob die Blastenzahl die Grenze von 20% oder 30% überschreitet.(8)

Die Klassifikation akuter Leukämien hat sich von der French-American-British Klassifikation, die auf der Zellmorphologie basierte, zur WHO Klassifikation, die zusätzlich zur Morphologie noch eine Immunophänotypisierung, Zytogenetik und weitere molekulare Bestimmungen, weiterentwickelt.(8)

Neben der Myeloblastenzahl im Blut oder Knochenmark gibt es weitere Kriterien um eine AML diagnostizieren zu können.

- In Fällen mit den zytogenetischen Anomalien t(15;17), inv(16)/t(16;16) oder t(8;21) kann die Diagnose einer AML ohne Rücksicht auf die Myeloblastenzahl gestellt werden.

- In Fällen der monozytären AML werden Promonozyten zu den Blasten in der prozentuellen Blastenzählung dazugerechnet.
- In Fällen, in denen die erythrozytären Elemente mindestens 50% der kernhaltigen Zellen im Knochenmark ausmachen und die Blasten zu 20% aus Nonerythrozyten bestehen, wird die Diagnose einer akuten Erythroleukämie gestellt.
- In Fällen der Erythroleukämie ersetzen undifferenzierte Erythroblasten das normale Knochenmark und ersetzen  $\geq 80\%$  der Zellen im KM, die Myeloblastenzahl ist dabei insgesamt nicht erhöht.(7)

Das diagnostische Vorgehen um die Diagnose einer AML stellen zu können umfasst die Bestimmungen der Zellmorphologie in Verbindung mit zytochemischen Untersuchungen, Karyotypisierung, Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) und einer molekular genetischen Untersuchung des Knochenmarkaspirates. Wenn eine Kontraindikation bezüglich einer Knochenmarksaspiration besteht, ist es - bei ausreichender Blastenzahl im peripheren Blut - auch möglich eine periphere Blutprobe zur Untersuchung heranzuziehen.(5)

### **2.1.6 Klassifikationen**

Klassifikationen sollten Erkrankungen beinhalten, die durch allgemein zugängliche Technologien diagnostizierbar sind, sich idealerweise gegenseitig ausschließen und klar definiert werden können. Außerdem sollten die Klassifikationen flexibel und änderbar sein, so dass durch laufenden Informationsgewinn neue Erkenntnisse in die Klassifikationen eingebaut und Änderungen bzw. Ergänzungen vorgenommen werden können.(9)

Ein Beispiel zeigt die Änderung der WHO-Klassifikation von 2001 zur aktuellen Klassifikation von 2008, in der das Vorhandensein von chromosomalen Aberrationen und Immunphänotypisierungen berücksichtigt wurden.(5)

### 2.1.6.1 FAB-Klassifikation

Anhand der FAB-Klassifikation wird die AML mittels Zytomorphologie und Zytochemie eingeteilt. Der Blastenanteil muss hier im Gegensatz zur WHO-Klassifikation bei mindestens 30% liegen und 3% der Zellen müssen Myeloperoxidase (MPO) positiv reagieren.(10)

Die AML wird in dieser Einteilung in 8 Subtypen (M0 bis M7) unterteilt. Der Grad der zellulären Differenzierung im Knochenmark, die unterschiedliche histochemische Anfärbbarkeit mit Myeloperoxidase bzw. Sudanschwarz, die PAS-Reaktion (Periodic acid-Schiff reaction) und die Histologie des Knochenmarks (z.B. Myelofibrose beim M7 Subtyp), macht eine Einteilung in eine der Subtypen möglich.

Anhand der WHO- und FAB-Klassifikation ist es möglich in über 90% der Fälle zwischen einer ALL und einer AML zu unterscheiden.(4)

Der größte Vorteil der FAB-Klassifikation gegenüber der WHO-Klassifikation liegt darin, dass sie sehr einfach anwendbar ist, die zytologischen Kriterien klar definiert sind, für die Bestimmung keine hochentwickelten Technologien gebraucht werden und sie somit in fast jedem Labor weltweit angewendet werden kann.(11)

Folgende Subklassen werden aufgrund des unterschiedlichen Differenzierungsgrades der Leukämiezellen unterschieden.

- AML-**M0** und AML-**M1** minimale bis keine Differenzierung bzw. Reifung
- AML-**M2** zeigt eine geringe Ausreifung mit granulozytärer Komponente
- AML-**M3** (akute Promyelozyten-Leukämie, APL) zeigt eine Akkumulation von Promyelozyten
- AML-**M4** und AML-**M5** zeigen eine myelomonozytäre Differenzierung
- AML-**M6** zeigt eine erythroblastäre/-zytische Differenzierung
- AML-**M7** ist die akute Megakaryoblasten-Leukämie.(12)

## 2.1.6.2 WHO-Klassifikation

Die WHO-Einteilung ergänzt die FAB-Einteilung durch zyto- und molekulargenetische Verfahren bzw. klinische Faktoren, sowie durch das Miteinbeziehen von Prognose und sich wiederholende genetische Anomalien. (10) Seit 2001 klassifiziert die Welt Gesundheitsorganisation (WHO) Neoplasien der Myelozellreihe aufgrund der genetischen Aberrationen, unter anderem mit dem Begriff der „wiederkehrenden zytogenetischen Anomalien“. In der neuen 2008 veröffentlichten Klassifikation wurden unter dieser Kategorie neue Entitäten hinzugefügt, unter anderen die AML mit mutiertem Nucleophosmin (NPM1), myeloische Proliferationen bei Down-Syndrom und die blastische plasmazytoide dendritische Zell-Neoplasien. (13)

<b>Tabelle 1 - Klassifikation der AML nach WHO 2008 Schema</b>	
<b>A) AML mit wiederkehrenden zytogenetischen Anomalien</b>	t(8;21)(q22;q22) inv(16)(p13.1q22) oder t(16;16)(p13.1;q22) <sup>1</sup> akute Promyelozyten-Leukämie mit t(15;17)(q22;q12) <sup>1</sup> t(9;11)(p22;q23) <sup>2</sup> andere 11q23 Anomalien und weiter Subtypen <sup>2</sup>
<b>A 1) Akute Promyelozyten-Leukämie</b>	mit t(15;17)(q22;q12) PML-RARA <sup>3</sup>
<b>A 2) AML mit t(9;11)(p22;q23)</b>	MLLT3-MLL andere 11q23 (MLL) Anomalien
<b>A 3) Neue Entitäten</b>	AML mit t(6;9)(p23;q34), DEK-NUP214 AML mit inv(3)(q21;q26.2) oder t(3;3)(q21;q26.2), RPN1-EVI1 AML (megakaryoblastisch) mit t(1;22)(p13;q13), RBM15-MKL1
<b>A 4) Neue provisorische Entitäten<sup>4</sup></b>	AML mit mutiertem NPM1 AML mit mutiertem CEBPA
<b>B) AML mit Myelodysplasie-verwandten Veränderungen</b>	Dazu zählen all jene AML die mit einem MDS bzw. einer myeloproliferativen Neoplasie MPN in Zusammenhang stehen, Myelodysplasie-verwandte zytogenetische Anomalien haben oder mindestens 50% der Zellen von 2 oder mehreren myeloischen Zelllinien dysplastisch sind.
<b>C) AML, therapiebedingt</b>	Hier erfolgt nun keine Einteilung mehr in AML/MDS nach Gabe von Alkylanzien, AML/MDS nach Therapie mit Topoisomerase-II-Inhibitoren und AML/MDS nach sonstiger Chemo-/Strahlentherapie.
<b>D) AML ohne weitere Kategorie</b>	Fälle die vor 2008 in diese Kategorie klassifiziert wurden mit folgenden Anomalien inv(3)(q21;q26.2) oder t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1 oder AML (megakaryoblastisch) mit t(1;22)(p13;q13); RBM15-

	<p>MKL1 sollten nun in die obigen passenden Kategorien eingeteilt werden.</p> <p>AML die im Zusammenhang mit einem Down-Syndrom stehen, werden nun zu dieser Kategorie nicht mehr hinzugezählt.</p>
<b>E) Myeloische Proliferationen bei Down-Syndrom</b>	<p>Unter dieser Kategorie werden alle AML, eine transiente anormale Myelopoese, sowie MDS, die im Zusammenhang mit einem Down-Syndrom stehen, zusammengefasst.</p>
<b>F) Blastische plasmazytoide dendritische Zell-Neoplasien</b>	<p>Eine neue Kategorie in der die blastischen NK-Zell Lymphome/Leukämien oder agranulären CD4+/CD56+ hämatodermalen Neoplasien dazugezählt werden.</p>

<sup>1</sup> Diese Entitäten sind unabhängig von einer Blastenzahl von 20% im Knochenmark.

<sup>2</sup> Im Unterschied zur vorherigen Klassifikation ist hier eine Blastenzahl von mindestens 20% nötig um als AML zu gelten.

<sup>3</sup> andere RARA-Translokationsvarianten, werden separat angeführt

<sup>4</sup> Obwohl nicht extra als Entität erfasst, wird stark dazu geraten nach FLT3-Anomalien bei einer sonst zytogenetisch unauffälligen AML zu suchen.

Quelle: (14)

## 2.1.7 Therapie

Zu Beginn dieses Kapitels soll ein Überblick über die multizentrische Therapieoptimierungsstudie AML-BFM 2004 gegeben werden.

Die Studie AML-BFM 2004 wurde in Deutschland, Österreich, Schweiz und in Tschechien durchgeführt.

Im Studiendesign werden die Patienten in eine Standardrisikogruppe oder eine Hochrisikogruppe stratifiziert und anschließend in unterschiedliche Therapiearme randomisiert.

Standardrisikopatienten sind nach FAB Klassifikation die in folgende Kategorien eingeteilt werden können, M1/M2 mit Auerstäbchen, FAB M4eo oder den zytogenetischen Veränderungen (t(8;21)/AML1-ETO oder inv(16) bzw. t(16;16) und/oder CBF/MYH1), die weniger als 5% residuelle Blasten im KM haben und alle M3 Patienten.

Alle Patienten die nicht in die oben genannten Kategorien eingeteilt werden können sind Hochrisikopatienten.(15)

Ungeachtet der Tatsache, dass es viele verschiedenen Subtypen der AML gibt und nicht für jeden Subtyp eine eigene Therapie existiert, haben sich die Erfolgsaussichten der AML-Therapie weitgehend verbessert. Verbesserte Pflegemaßnahmen, eine mögliche Adaptation der Therapie basierend auf das individuelle Ansprechen der Patienten bezüglich der Therapie und das Einsetzen einer intensivierten Chemotherapie oder hämatopoetischen

Stammzellentransplantation haben die allgemeine Überlebensrate auf mehr als 60% ansteigen lassen.(16)

Dies lässt sich auch auf die Intensivierung der Induktionsblöcke zurückführen.(15)

In der Behandlung der AML müssen im ersten Schritt dringende Notfälle identifiziert werden, wie eine Hyperleukozytose, Tumorlyse-Syndrom, akute Blutungen und lebensbedrohliche Infektionen.

Bei Fällen mit einer Leukozytenzahl von über 200.000 Zellen/ml, sollten eine Leukapherese oder Austauschtransfusionen durchgeführt werden um die Leukozytenzahl rasch zu reduzieren und gleichzeitig das Risiko eines Tumorlyse-Syndroms zu reduzieren.

Das Tumorlyse-Syndrom kann schwerwiegende Komplikationen verursachen, wie ein Nierenversagen oder Insulte. Deshalb sollte zusätzlich zur intravenösen Hydratation und der Alkalisierung des Urins, Allopurinol und/oder Rasburicase zur Prävention von Uratsäurekristallbildung eingesetzt werden.

Eine disseminierte intravasale Koagulation (DIC) sollte durch eine Transfusion mit frisch frozener Plasma (FFP) und Verabreichung von Thrombozytenkonzentraten behandelt werden, ob das Verabreichen von niedermolekularem Heparin von Vorteil ist, wird kontrovers diskutiert.

Zu beachten ist, egal um welche Art von Notfall es sich handelt, die Induktionstherapie sollte so früh wie möglich beginnen.(4)

Nach der Induktionstherapie folgen die Konsolidierungs- und die Intensivierungstherapie, und anschließend - um eine dauerhafte Remission zu ermöglichen - wird eine Erhaltungstherapie durchgeführt. Eine ZNS-gerichtete intrathekale Therapie gehört ebenfalls zur adäquaten Behandlung einer AML. Studien belegen, dass eine höhere Dosierung während der Intensivierungsphase mit einem verbesserten Outcome im Zusammenhang steht. Es darf sich jedoch auf keinen Fall die Toxizität der Zytostatika, hier vor allem die Kardiotoxizität, in Bezug auf das Langzeitergebnis, negativ auswirken.(5)

Es wird deshalb in der Induktionstherapie das weniger kardiotoxische liposomale Daunorubicin eingesetzt.(15)

Die Therapie der Standardrisikogruppe, hat insgesamt eine gute Prognose, es erfolgt die Aufnahme in ein Studienprotokoll mit anschließend 4 Blöcken Chemotherapie.

Die Induktionstherapie sollte in 2 Blöcken erfolgen und auf der Gabe von Anthracyklinen (Daunorubicin oder Idarubicin) und einem Nucleosidanalogen (Cytarabin) basieren, solange laut Studienprotokoll keine anderen Substanzen indiziert sind.

Standardmäßig werden 3 Tage lang Anthracykline (z.B. Daunorubicin  $\geq 60 \text{ mg/m}^2$ , Idarubicin  $10\text{-}12 \text{ mg/m}^2$  oder das Anthracendion Mitoxantron  $10\text{-}12 \text{ mg/m}^2$ ) und 7-10 Tage lang Cytarabin ( $100\text{-}200 \text{ mg/m}^2$ ) verabreicht. Mit diesem Therapieregime erreichen 80-90% der Patienten eine Remission.(15)

Nach der Induktion erfolgt die Konsolidierung, mit mittelhochdosiertem Cytarabin und Mitoxantron.(16)

Darauf folgt die Intensivierung mit hochdosiertem Cytarabin und Etoposid mit anschließender Erhaltungstherapie.

Die Erhaltungstherapie wird für 1 Jahr durchgeführt, hierbei wird auch ZNS gerichtet therapiert, in dem man Cytarabin intrathekal verabreicht.(15)

## 2.2 Viren

### 2.2.1 Viren Allgemeines

Viren sind makromolekulare Einheiten ohne eigenen Stoffwechsel, sie sind vom Wirtsstoffwechsel abhängig und können sich nur obligat intrazellulär vermehren.(17,18)

Sie enthalten entweder ein DNA- oder RNA-Genom, das von einer Proteinhülle umgeben ist.

Die Summe aus Virusgenom und Proteinhülle wird Nucleokapsid genannt.

Bei Viren, die von einer Hülle umgeben sind, ist diese Hülle von einer doppelten Lipidschicht der Wirtszelle aufgebaut. Zusätzlich zur Lipidschicht wird das fertige Virus von einer Hülle aus viralen Glykoproteinen umhüllt (Abb. 1).(18)

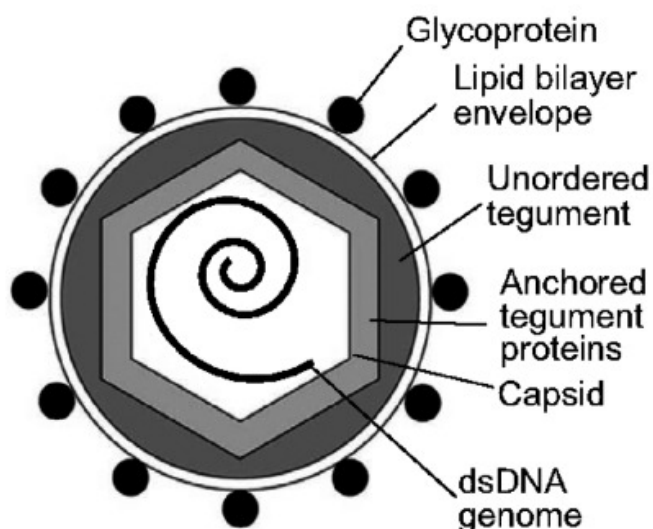


Abbildung 1. Schematische Darstellung des Herpes Virus  
Quelle: (1)

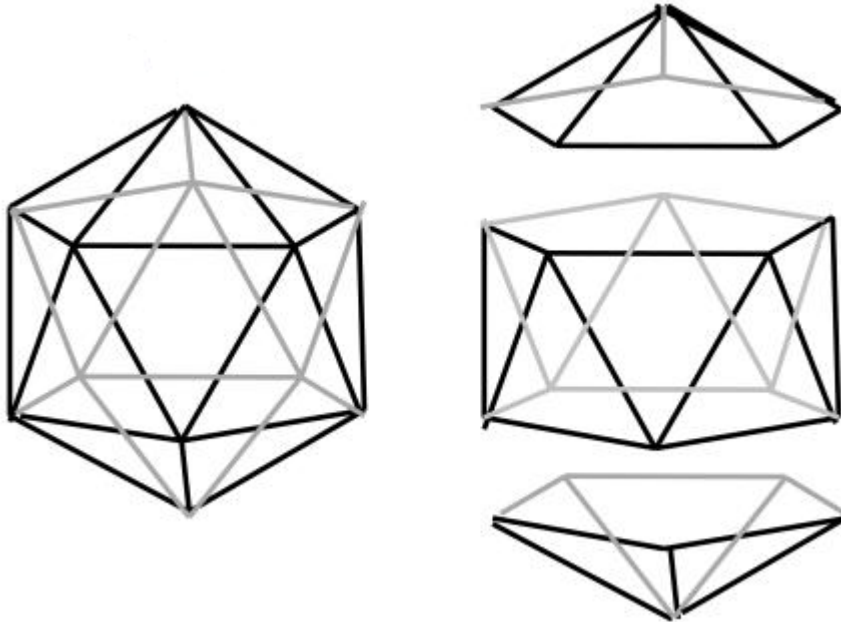
Es gibt zwei grundsätzliche Wege wie die Kapsidproteine und das virale Genom im Nucleokapsid untergebracht werden können.

Die einfachste Möglichkeit, RNA oder DNA zu umhüllen, ist in Form einer Proteinhelix.

Die zweite Möglichkeit besteht aus einem ikosaederförmigen Aufbau der Viren, das heißt, dass die Viren aus 20 identischen gleichseitigen Flächen aufgebaut sind. Ein ikosaederförmiges Virion besteht aus 20 gleichseitigen Dreiecksflächen und 12 Eckpunkten. An jedem Eckpunkt erzeugen 5 zusätzliche Untereinheiten

einen symmetrischen Kontakt, aufgrund dessen sind alle Proteinuntereinheiten in äquivalentem Kontakt miteinander.(19)

---



**Abbildung 2. Illustration eines Iksaeders (links) und zur besseren Übersicht, als zylindrischer Körper mit 10 Dreiecksflächen und 2 Enden mit jeweils 5 Dreiecksflächen (rechts) Quelle: (2)**

Viren sind nicht in der Lage selbstständig zu replizieren, sie sind auf die komplexen metabolischen und biosynthetischen Stoffwechselwege der Pro- und Eukaryonten angewiesen.(18,19)

Ein vollständiges Viruspartikel wird Virion genannt. Die Hauptfunktion eines Virions besteht darin, seine genetische Information in Form von DNA oder RNA in die Wirtszellen zu übertragen damit das Virusgenom, mit Hilfe des Metabolismus der Wirtszelle, transkribiert und translatiert werden kann.(18)

Die kleinsten Viren enthalten RNA oder DNA für die Codierung von 4 Proteinen, während die komplexen Viren genetische Information für bis zu 200 Proteine beinhalten.(19)

Zusätzlich beinhalten manche Viren eine Reverse Transkriptase, eine RNA Polymerase, verschiedene Kinasen und Proteine die für die folgenden Vorgänge wie Uncoating, Replikation sowie die ersten intrazellulären Schritte, benötigt werden.(20)

RNA Viren, die bis zu 70% aller Viren ausmachen, variieren stark in ihrer genetischen Struktur, da aufgrund der hohen Fehlerrate während der Replikation, diese Viren höhere Mutationsraten als DNA Viren aufweisen.

Die RNA ist entweder einsträngig oder doppelsträngig und kann aus einem Segment bestehen oder in zwei oder drei separate Segmente aufgeteilt sein.(18)  
Die meisten DNA Viren enthalten ein einzelnes Genom bestehend aus DNA. Die zweisträngige DNA dient als Vorlage für die mRNA und anschließende Translation.

Einsträngige lineare DNA, hat eine durchschnittliche Größe von 4-6 kb, diese Art der DNA findet man vorwiegend in der Familie der Parvoviridae die sich unter anderem aus Parvo-, Erythro- und Dependovirus zusammensetzt.(18)  
Strukturell unterscheiden sich Viren aufgrund der vielen verschiedenen Formen und Größen sehr stark voneinander, sie können nur bedingt systematisch klassifiziert werden.(21)

### **2.2.2 Primärinfektion und Replikation**

Die Vorgänge, die notwendig sind um eine Wirtszelle zu infizieren, sind streng reglementiert. Beginnend mit der Bindung an die Zielzelle, anschließender Endozytose und dem Transport in den Nukleolus. Ein weiterer Schritt stellt das Uncoating dar, bei dem die Lipidhülle des Virus abgebaut wird und das Kapsid eröffnet werden muss um das Virusgenom in die Wirtszelle freilassen zu können. Wenn das Genom einmal freigesetzt ist, kann es sich innerhalb der Zelle nur mehr begrenzt bewegen.(20)

Viren nutzen deshalb auf dem Weg durch die Wirtszelle das dort vorhandene Aktin und mikrotubuläre Transportsystem, um so bis in den Zellkern vordringen zu können.

Zu Beginn der Erstinfektion haftet sich das Virus an die Zellperipherie, der Plasmamembran, an. Danach erfolgt die Injektion und das Virusgenom hat die Möglichkeit ins Zellzentrum vordringen zu können, das Virus bedient sich dabei den wirtszellulären Transportvorgängen, ein Beispiel für einen solchen intrazellulären Transportvorgang wären die Endocytoseorganellen. Der Transport des Virusgenoms erfolgt entweder in das Zytoplasma oder in den Zellkern, je nachdem wo die Replikation erfolgen soll.(22)

Für die Replikation dringen DNA Viren in den Zellkern ein, wo hingegen RNA Viren im Cytosol replizieren können.(20)

Die synthetisierten viralen Proteine und Genome werden anschließend entweder direkt im Nucleus bzw. im Cytosol zusammengebaut. Die fertigen Viruspartikel benutzen unterschiedliche Möglichkeiten, um ihre Bestandteile wieder zurück zur Plasmamembran der Wirtszelle schleusen zu können. Es werden dabei die wirtszelleigenen Transportwege über das Endoplasmatische Retikulum, den Golgi Apparat oder Transportvesikel genutzt.(22)

Die Virusreplikation kann auf unterschiedliche Weise erfolgen, in der Regel läuft der Replikationszyklus in 4 verschiedenen Schritten ab.

1. Abbau des infektiösen Partikel
2. Replikation des viralen Genoms
3. Synthese der viralen Proteine durch die Wirtszelle (Translation)
4. Zusammenbau der Komponenten zu einem viralen Partikel

Anhand der folgenden Grafik, wird ein Replikationszyklus eines RNA-Virus in 12 Schritten dargestellt.

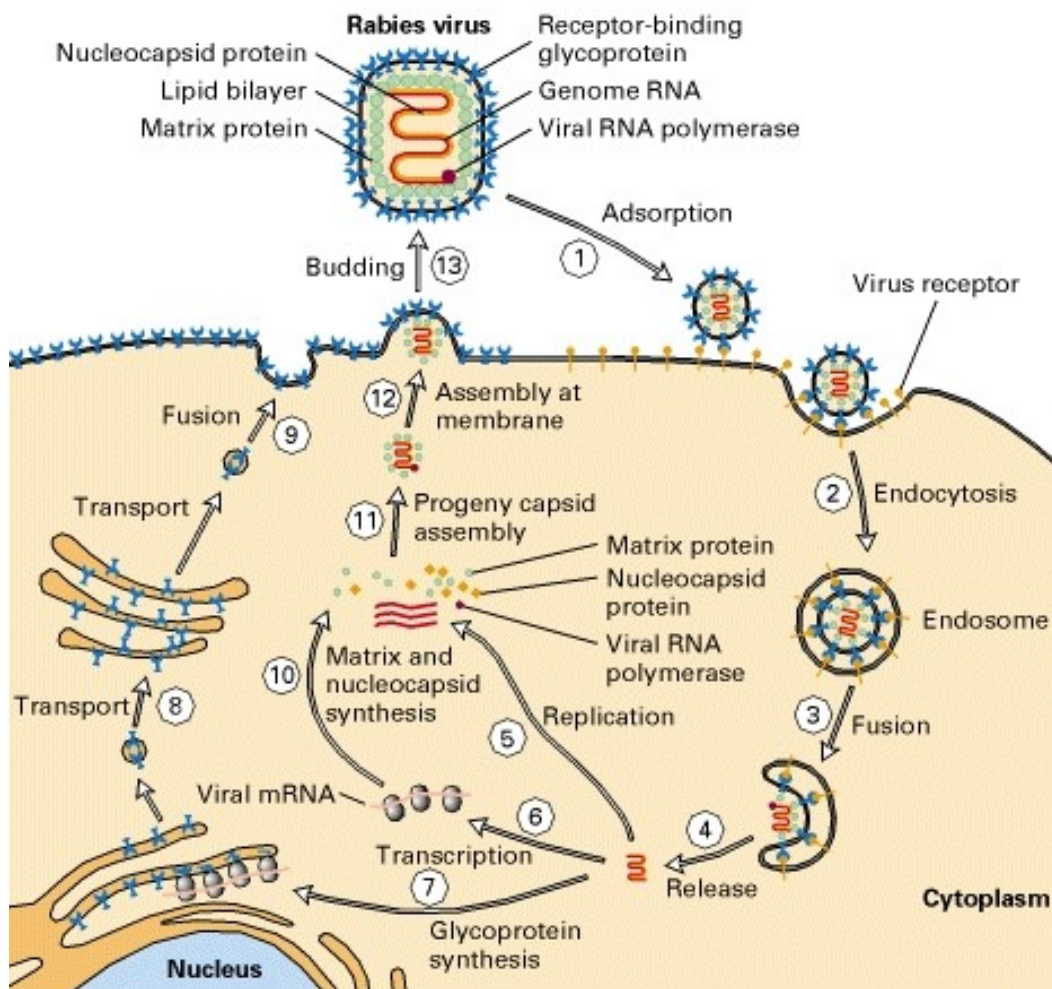


Abbildung 3. Replikationszyklus eines RNA-Virus mit Hülle Quelle: (19)

Im ersten Schritt erfolgt die Anheftung des Virions an die Zelloberfläche, durch Andockung an spezifische Membranproteine der Wirtszelle (Adsorption) [1].

Danach folgt die Endophagozytose des Virions in die Zelle (Injektion), das Virion befindet sich in einem Endosom [2].

Es erfolgt die Fusion des Endosoms mit der Virushülle, das im Virion befindliche Nukleokapsid wird in das Cytopsol freigesetzt [3,4].

Anschließend wird durch die virale RNA Polymerase das Genom repliziert [5] und virale mRNA synthetisiert [6].

Die virale mRNA, die den Informationsträger der viralen Glykoproteine darstellt, wird zum endoplasmatischen Retikulum (ER) transportiert, dort von ER-Ribosomen gebunden, die anschließend die Glykoproteine synthetisieren. [7].

Im ER werden Kohlenhydratketten an die Glykoproteine angeheftet, die von der ER-Membran umgeben sind. Die so gebildeten Komplexe werden beim Passieren des Golgi Apparates modifiziert [8].

Diese fertigen Vesikel werden zur Zellmembran transportiert, fusionieren dort mit der Zellmembran und positionieren so die viralen Glykoproteine an der Zellmembranoberfläche [9].

Parallel dazu erfolgt die Translation viraler mRNA, von Ribosomen der Wirtszelle, zu Nucleokapsidproteinen, Matrixproteinen und viraler RNA Polymerase [10].

Die translatierten Proteine werden mit dem replizierten viralen Genom zu einem Nucleokapsid zusammengebaut [11], das dann zur Zellmembran transportiert wird [12]. Die Zellmembran mit den viralen Glykoproteinen umhüllt das Nucleokapsid und kann letztendlich als neues Virus die Wirtszelle verlassen [13].(19)

Ein einziges Virion, das eine Zelle infiziert, kann auf diesem Wege tausende neue Viruspartikel produzieren.

Dadurch kann die Wirtszelle zerstört werden, sie lysiert und die neu gebildeten Viruspartikel können die angrenzenden Zellen erreichen und infizieren. Klinische Ausprägungen der viralen Infektionen können durch diese lytischen Effekte der Viren entstehen. Das klinische Bild des Herpes labialis, der durch HSV-1 oder -2 ausgelöst wird, entsteht durch den Untergang von epidermalen infizierten Zellen.(21)

### **2.2.3 Viruslatenz und Persistenz**

Nach der Infektion mit einem Virus aus der Familie der Herpesviridae wird dieses im Wirt latent und etabliert eine lebenslange asymptomatische Infektion, in der das Virusgenom in ruhenden B-Gedächtniszellen (EBV), Ganglienzellen (VZV) oder in neuronalen Strukturen u. Speicheldrüsen (HHV6) nachgewiesen werden kann.

Die Anzahl der infizierten Zellen ist gering und auch die Viruslast wird durch das zelluläre und humorale Immunsystem des Wirtes gering gehalten.(23)

Die Voraussetzung für eine latente Virusinfektion ist, dass das gesamte virale Genom in der Wirtszelle bleibt, aber die Genexprimierung beschränkt ist, sodass nur wenig virale Antigene und virale Partikel gebildet werden.(24)

Zusätzlich dürfen Gene, die für die Lyse der Wirtszelle verantwortlich sind, nur mehr gering vom latenten Virus exprimiert werden.(25)

Herpesviridae teilen sich viele Eigenschaften in Bezug auf ihr vorhandenes Chromatin. Die virale DNA ist nicht methyliert und Gene, die für die Lyse verantwortlich sind, befinden sich gebunden an Histone im Heterochromatin, während die Gene die während der Latenz bedenkenlos exprimiert werden können an Histone im Euchromatin gebunden sind.(26)

Während der latenten Phase von Herpesviridae ist, wie oben erwähnt, die Genexpression weitgehend herabgesetzt, es gibt jedoch einige Gene die vom latenten Virusgenom exprimiert werden.

Einige dieser Latenzgene modulieren die Signalwege der Wirtszelle und am meisten wird der Nekrosefaktor NF $\kappa$ B beeinflusst, womit die Fähigkeit zur Latenz stark erhöht wird.(24)

Das EBV nutzt den Vorteil der Methylierung der DNA - insofern, dass sich durch die inaktivierte virale Genexpression das Virus fast ungehindert in den noch naiven B-Gedächtniszellen des Immunsystems verbreiten kann, da es einen Tropismus zu den ruhenden naiven B-Gedächtniszellen hat.

Das Virus kann dann aktiv die weitere Differenzierung dieser B-Zellen vorantreiben, ohne dass der verantwortliche Rezeptor oder eine CD4+-T-Zelle die infizierte B-Zelle aktiviert.

Latente Viren beeinflussen neben dem NF $\kappa$ B noch zusätzlich das Protein RBP-J $\kappa$ /CBF-1/CSL, das ebenfalls für die Regulierung von Signalwegen verantwortlich ist. (24)

RBP-J $\kappa$ /CBF-1/CSL ist ein Repressorprotein, das die virale Genexpression herabsetzt, die angeborene und erworbene Immunität, die virale Latenz und letztendlich auch die virale Reaktivierung beeinflusst.(26)

#### **2.2.4 Reaktivierungen**

Unter Virusreaktivierung versteht man das erneute Auftreten einer aktiven viralen Infektion nach einer latenten Phase.(27)

Prinzipiell stellt die Reaktivierung aus Sicht des Virus eine kritische Situation dar. Die aktive Replikation setzt in der Wirtszelle eine Aktivierung des Immunsystems oder intrazelluläre Signalwege in Gang, die zum Zelltod der infizierten Zelle führen können.(28)

Wenn man davon ausgeht, dass in der viralen Latenzphase das virale Genom als Heterochromatin vorliegt, muss es zur Reaktivierung neu organisiert werden.

Geschieht dies wird das inaktive Heterochromatin zum Euchromatin und im viralen Chromatin kommt es in der IE-Region (immediate early), zur vermehrten Expression der Proteine IE-1 und IE-3.

Dies wurde für CMV gezeigt und trifft für andere Viren in ähnlicher Weise zu. IE-1 Proteine sind verantwortlich dafür, der angeborenen Immunität entgegenzuwirken und IE-3 ist für die virale Replikation verantwortlich. Eine durch Transkription reaktivierte Genexpression der IE-Region, führt vermutlich zu einer Remodellierung des viralen Chromatins.(28)

Die Hauptfunktion der erwähnten immediate-early Proteine ist, Lysegene zu exprimieren. Es gibt verschiedene Endprodukte der exprimierten Lysegene, jene am Anfang und jene am Ende einer Reaktivierung. Zu Beginn der Expressierung, haben die entstandenen Proteine vielseitige Funktionen. Sie regeln die Replikation, den Metabolismus und Blockieren die Aufbereitung von Antigenen. Die Proteine der später exprimierten Lysegene, haben eher strukturelle Funktionen, da sie für die Anordnung von Kapsid- und Glykoproteinen in der viralen Hülle verantwortlich sind.

Weitere Produkte der späten Lysegene, wie BCRF1, helfen beispielsweise dem EBV das Immunsystem zu umgehen.(28)

#### **2.2.4.1 Ursachen einer latenten Virusreaktivierung**

Die Reaktivierung wird am Beispiel von CMV beschrieben, findet aber in ähnlicher Form auch bei anderen Viren statt. Im Falle vom CMV kommt es bei bis zu 42% der Patienten mit positiven IgG, bei einer Immunschwäche unabhängig von der Ätiologie, zu einer Reaktivierung der latenten Virusinfektion.

Die häufigsten Ursachen für die Reaktivierung einer latenten CMV-Virusinfektion sind die Immunsuppression und die immunsuppressive Therapie aufgrund von Organtransplantationen. Eine fortgeschrittene HIV-Infektion kann auch ein prädisponierender Faktor für eine CMV-Reaktivierung darstellen.

Bei Immunkompetenten kann es zu einer Reaktivierung bei vermehrtem Stress, bei Sepsis, anderen inflammatorischen Krankheitsbildern und sogar bei erhöhter Ausschüttung von endogenen Katecholamine kommen.

Auch das Verabreichen von Steroiden kann mit einer CMV-Reaktivierung vergesellschaftet sein.(27)

Lokale Traumata, wie sie bei einer Operation ausgelöst werden, können ebenfalls einen begünstigenden Faktor einer Reaktivierung darstellen.

Das Wiederauftreten von Herpes labialis nach HSV Primärinfektion wird ebenfalls begünstigt durch vermehrten Stress, psychische Angespanntheit, chronischem Fatigue-Syndrom und einer vermehrten UV-Exposition.(28)

## **2.2.5 Adenovirus**

### **2.2.5.1 Allgemeines**

Adenoviren gehören zur Familie der Doppelstrang-DNA-Viren, insgesamt sind 51 verschiedene Serotypen bekannt, die in 6 Spezies (A bis F) eingeteilt werden.(29)

Die Einteilung der Spezies erfolgt aufgrund der Onkogenität, der Fähigkeit zur Hämagglutination und der Morphologie.

Im Kapsid befindet sich die lineare doppelsträngige DNS mit einem Molekulargewicht von ~35 kb. Das Virusgenom besteht hauptsächlich aus den beiden Nukleinbasen Guanin und Cytosin (G+C).

Das Adenovirus ist hüllenlos und misst im Durchmesser 70 bis 90 nm. Seine Kapsidproteine sind ikosaederförmig strukturiert, mit 20 Dreiecksflächen und 12 Eckpunkten. Jedes Viruspartikel besteht aus 240 Hexon- und 12 Pentonkapsomeren, wobei jedes Pentonkapsomer aus einer Basis und einem faserförmigen Fortsatz aufgebaut ist.(30)

### **2.2.5.2 Symptome**

#### **2.2.5.2.1 *immunkompetenter Patient***

Die durch das Adenovirus verursachten Erkrankungen hängen vom Virusserotyp, dem betroffenen Organsystem und dem Alter der Patienten ab.(30)

Adenovirusinfektionen des oberen Respirationstraktes kommen häufig vor und verlaufen eher subklinisch, mögliche Symptome sind Rhinitis, Pharyngitis, Tonsillitis, Otitis media und Konjunktivitis.

Pertussis-ähnliche Symptome kommen ebenso vor wie Pseudokrapp, Bronchiolitis, exsudative Tonsillitis, Pneumonie, hämorrhagische Cystitis und Gastroenteritis.

Adenovirusinfektionen der Augen zeigen das Bild einer folliculären Konjunktivitis oder das der epidemischen Keratokonjunktivitis.(29)

#### **2.2.5.2.2 *immunsupprimierter Patient***

Bis zu 27% der Morbiditäts- und Mortalitätsfälle, bei Kindern nach einer Stammzellentransplantation, können mit einer Adenovirusinfektion in Verbindung gebracht werden.

Zwei wesentliche prädisponierende Faktoren für eine Adenovirusinfektion sind ein T-Zell Mangel und eine Lymphopenie.(31)

Bei immunsupprimierten Patienten und Neugeborenen kommt es zum Auftreten von disseminierten Infektionen, schweren Pneumonien, Hepatitis, Meningitis und Encephalitis, Colitis und hämorrhagischer Cystitis.(29,31)

### **2.2.6 Cytomegalievirus**

#### **2.2.6.1 Allgemeines**

Das humane Cytomegalievirus (HCMV), auch humanes Herpesvirus Typ 5 genannt, gehört zur Familie der Herpesviridae. Die Cytomegalieviren werden in Untertypen unterteilt, das HCMV gehört zur Familie der Beta-Herpesviren.

Das Genom der Cytomegalieviren besteht aus doppelsträngiger DNA.

Das CMV ist speziesspezifisch, nur das humane CMV kann Erkrankungen im menschlichen Organismus auslösen.(32)

Der Infektionsweg erfolgt horizontal, vertikal, über Transfusionen und auch über Transplantationen (Organ oder Knochenmark), insgesamt sind 70% der Weltbevölkerung mit dem Virus infiziert.(32)

Das Virus persistiert nach der ersten Infektion und Jahre später kommt es zur symptomatischen Reaktivierung besonders bei Patienten mit Immunsuppression.(32)

Das Genom des Cytomegalievirus ist das größte unter den Herpesviridae mit 230 kb, es codiert ein Proteom, welches aus 167 viralen Proteinen besteht.

Das Virus besitzt die Fähigkeit, latent in Progenitorzellen des Knochenmarks zu verweilen, deshalb ist es ihm möglich, in einer Vielzahl von unterschiedlichen Zellen und Geweben zu replizieren.

Das Virus codiert verschiedenste Proteine um die Klasse-I-HLA-Antwort zu manipulieren, Apoptosesignalwege zu inhibieren und Entzündungswege zu modulieren.(33)

## **2.2.6.2 Symptome**

### **2.2.6.2.1 *immunkompetenter Patient***

Am häufigsten kommt es zu asymptomatischen Infektionen v.a. bei Kindern. Es kommt zum Auftreten von infektiösen mononukleoseähnlichen Syndromen mit prolongiertem Fieber und milder Hepatitis.(32)

Beim immunkompetenten Patienten ist der Verlauf einer CMV-Infektion benigne und oft selbstlimitierend.

Es kann jedoch auch zum Auftreten von schwerwiegenderen Verläufen kommen, die sämtliche Organsysteme betreffen können.

Klinisch zeigt sich dies in GI-Symptome, ZNS-, Hämatologische- und Lungen-Manifestationen.(34)

### **2.2.6.2.2 *immunsupprimierter Patient***

Bei immunsupprimierten Patienten können CMV-Infektionen verschiedene klinische Bilder bis zu bleibenden Schäden verursachen.

Eine funktionelle Unreife des Immunsystems sowie eine Beeinträchtigung der T-Zellen können die Immunabwehr der CMV-Infektionen massiv behindern. Es kommt zu einer verstärkten viralen Replikation mit einer daraus resultierenden erhöhten Morbidität und Mortalität.(35)

CMV-Infektionen verursachen schwerwiegende Erkrankungen beim immunsupprimierten Patienten einerseits durch die Reaktivierung einer latenten CMV-Infektion, andererseits durch eine entsprechende Erstinfektion. Klinische Syndrome die beobachtet wurden sind Encephalitis, Pneumonie, Hepatitis, Uveitis, Retinitis, Colitis und eine Graft-versus-Host Disease.

Beim Embryo, welcher ein unreifes Immunsystem hat, kommt es zu Mikrocephalie, geistige Retardierung, spastischer Paralyse, Hepatosplenomegalie, Anämie, Thrombozytopenie, Taubheit und N. Opticus-Atrophie, die zur Erblindung führen kann.(34)

## 2.2.7 Epstein-Barr-Virus

### 2.2.7.1 Allgemeines

Das Epstein-Barr-Virus enthält eine lineare doppelsträngige DNA und ist von einem Proteinkapsid umhüllt. Das Epstein-Barr-Virus ist ein Gammaherpesvirus (Herpesvirus Typ 4) und besteht aus einem 172 kb DNA-Genom, dieses besteht aus ca. 100 Genen. Mehr als 90% der Weltbevölkerung sind mit dem Virus infiziert.(36,37)

Das Virus infiziert B-Lymphozyten, bevorzugt dabei die ruhenden B-Zellen, persistiert und repliziert dort. Wenn sich das Nucleokapsid in der Zelle befindet, zerfällt es und das virale Genom wird in den Nucleus transportiert. Dort wird es von der DNA-Polymerase repliziert.

Nach der Erstinfektion folgt das Stadium der Latenz, während dieser Zeit persistiert das EBV hauptsächlich in den B-Gedächtniszellen.

Die genauen molekularen pathways der Reaktivierung infizierter B-Zellen sind unbekannt. Es wird vermutet, dass kürzlich infizierte B-Zellen auf Antigene reagieren, diese dann durch eine Rezeptorstimulation aktiviert werden und mit der Replikation von Viren beginnen.(37)

### 2.2.7.2 Symptome

#### 2.2.7.2.1 *immunkompetenter Patient*

Eine EBV-Infektion zeigt klinisch das Bild einer infektiösen Mononukleose.

Symptome sind Fieber, Pharyngitis, Petechien, Lymphadenopathie, Hepatosplenomegalie und Lymphozytose.

Exantheme findet man besonders im Zusammenhang mit einer Penicillingabe.

ZNS Komplikationen sind Meningitis, Encephalitis, Myelitis, Opticusneuritis, transverse Myelitis und Guillain-Barré Syndrom.

Hämatologische Komplikationen sind Milzruptur, Thrombozytopenie,

Agranulozytose, hämolytische Anämie und Hämophagozytose Syndrom.(38)

### **2.2.7.2.2 *immunsupprimierter Patient***

Bei immunsupprimierten Patienten kommt es vermehrt zum Auftreten von lymphoproliferativen Erkrankungen. Die Bandbreite reicht dabei vom vergrößerten Lymphknoten bis hin zum monoklonalen Lymphom.

Weitere Neoplasien sind Burkitt Lymphom, nasopharyngeale Tumore, Hodgkin- und Non-Hodgkin Lymphom, Magenkarzinom und andere epitheliale Tumore.(38)

## **2.2.8 Humanes Herpesvirus Typ 6**

### **2.2.8.1 Allgemeines**

Das humane Herpesvirus 6 (HHV6) gehört zur Familie der Herpesviridae, es weist deren typische morphologische Charakteristika auf, Doppelstrang-DNA, ikosaederähnliche Struktur und einen Durchmesser von 160-200 nm.(39)

Das Humane Herpesvirus 6 (HHV6), ist ein lymphotropes Virus, das lebenslang persistierende Infektionen verursacht. Vom HHV6 existieren 2 Subgruppen, A und B, postnatale Infektionen werden durch den B-Erregerstamm und kongenitale Infektionen werden zu einem Drittel vom Stamm A verursacht.(40)

Die Herpesviridae sind weltweit verbreitet. Die Seroprävalenz von IgG-Antikörpern gegen HHV6 beträgt in der erwachsenen Bevölkerung über 90%.

Die Primärinfektion erfolgt in der frühen Kindheit, wobei sich die meisten Infektionen zwischen dem 6. und 9. Lebensmonat beobachten lassen.(39)

In einer Notfallambulanz können etwa 20% der Aufnahmen die aufgrund eines Fieberschubes erfolgen, bei Kindern im Alter zwischen 6 und 12 Monate, auf eine HHV6 Infektion zurückgeführt werden.(40)

Insgesamt wird das HHV6-A häufiger bei Patienten mit einer Immunschwäche nachgewiesen.

Der Übertragungsweg ist unklar, am wahrscheinlichsten kommt die Tröpfcheninfektion infrage, da HHV6 im Speichel nachweisbar ist und in epithelialen Zellen replizieren kann.

Kongenitale Infektionen kommen in ca. 1% aller Schwangerschaften vor, diese sind harmlos. Eine Übertragung von der Mutter auf das ungeborene Kind scheint möglich zu sein, wo hingegen die sexuelle Übertragung des HHV6 unwahrscheinlich ist.(39)

## **2.2.8.2 Symptome**

### **2.2.8.2.1 *immunkompetenter Patient***

HHV6 Primärinfektionen bei Kindern verursachen das Exanthema subitum (Dreitagefieber), nach einer dreitägigen hohen Fieberepisode kommt es zum Auftreten eines Hautausschlages.

Dieses Exanthem kommt in 17% der Fälle vor, bei den übrigen kommt es lediglich zu kurzzeitigem Fieber ohne Hautaffektionen.(39)

Eine HHV6-Infektion präsentiert sich klinisch häufig als cervicale bzw. occipitale Lymphadenopathie, als Zeichen einer gastrointestinalen bzw. respiratorischen Mitbeteiligung und einem entzündeten Trommelfell.

Bis zu 15% der Kinder mit Primärinfektion erleiden einen Fieberkrampf, andere neurologische Symptome sind eine vorgewölbte Fontanelle, Enzephalopathie bzw. Enzephalitis. Eine Hepatitis war in manchen Fällen beobachtbar.(40)

### **2.2.8.2.2 *immunsupprimierter Patient***

Eine Reaktivierung des HHV6 mit korrelierender Klinik wurde vor allem bei immunsupprimierten Patienten nachgewiesen.

In diesem Patientenkollektiv kam es zum Auftreten von Fieber, Ausschlag, Hepatitis, Knochenmarksdepression, Transplantatsabstoßung, Pneumonie und Encephalitis.(40)

Für AIDS-Erkrankte, stellt HHV6 ein potentes Pathogen dar, hier kann nach einer Erstinfektion bzw. Reaktivierung mit dem Auftreten einer Pneumonie, Encephalitis, Retinitis und einer HHV6-Dissemination der Organe gerechnet werden.

Nach 2-3 Wochen kann es, bei Knochenmarkstransplantierten zu 50% und bei Organtransplantierten zu 20-30%, zum Auftreten einer HHV6 Erstinfektion oder Reaktivierung kommen.(39)

## 2.2.9 Parvovirus B19

### 2.2.9.1 Allgemeines

Das humane Parvovirus B19 hat einen simplen Aufbau, es besteht aus 2 Proteinen, einem linearen einsträngigen DNA Molekül und es ist hüllenlos. Durch das Fehlen der Hülle ist das Virus resistent gegen physikalische Einflüsse, wie beispielsweise Hitze.

Die Viruspartikel haben einen Durchmesser von 22 bis 24 nm und zeigen eine ikosaederförmige Symmetrie.(41,42)

Es gehört zur Familie der Parvoviridae, die zu den Erythroviren gehören, da sich das Virus in den schnell wachsenden erythropoetischen Vorläuferzellen repliziert. Diese Zellen finden sich im Knochenmark, der fetalen Leber, Nabelschnur und auch im peripheren Blut.

Um infektiös zu werden, haftet sich das ParvoB19 Virus an einen P-Antigen-Rezeptor an.(42,43)

Das Parvovirus B19 ist eine häufige Ursache für Infektionen im Schulkindalter. Die Seropositivität einer stattgehabten Infektion steigt mit dem Alter zwischen 5 und 15 Jahren. Im Erwachsenenalter sind 30 – 60% seropositiv. Nach einer stattgehabten Infektion ist man lebenslang, solange das Immunsystem intakt ist, immun.(44)

Die Hauptübertragungswege des Virus sind die Sekrete des Respirationstraktes, sowohl bei den Immunsupprimierten als auch bei den Immunkompetenten, ein weiterer Übertragungsweg stellt die vertikale Transmission von Mutter zu Fetus dar. Eine Transmission über Blut oder Blutprodukte ist auch möglich.(43,44)

#### 2.2.9.1.1 *immunkompetenter Patient*

Bei den meisten Patienten äußert sich eine Infektion asymptomatisch oder milde im Sinne von unspezifischen „grippeähnlichen“ Symptomen.(42)

Eine Infektion mit PVB19 äußert sich häufig als Ringelröteln, wobei der typische girlandenförmige Ausschlag zu diesem Namen geführt hat.

Eine Arthralgie und Arthritis kommt bei weniger als 10% der Kinder vor, ist jedoch bei Erwachsenen, insbesondere bei Frauen, häufiger.

Abgesehen von unspezifischen Symptomen kommt es auch zu Zeichen einer respiratorischen Infektion, einem atypischen rubellaformen oder auch petechialen

Ausschlag, schmerzhaftem papulösem Ausschlag mit petechialen Blutungen der Hände und Füße sowie Polyarthropathien.(43)

### **2.2.9.1.2 *immunsupprimierter Patient***

Bei Immunsuppression verursacht durch eine zytostatische Therapie kann es zu einem vermehrten Auftreten von prolongierter Myelodepression, Erythroplastopenie und einer virusassoziierten hämophagozytischen Lymphohistiozytose (VAHS; HLH) kommen.(45)

VAHS ist charakterisiert durch eine Hyperplasie von Histozyten, ausgeprägter Hämophagozytose und Zytopenie im Zusammenhang mit einer systemischen virusassoziierten Symptomatik. Das Hämophagozytosesyndrom ist hier jedoch normalerweise benigne und selbstlimitierend.(41)

Auch möglich ist das Auftreten einer transienten aplastischen Krise, vor allem im Patientenkollektiv mit vorbestehender niedriger Hämoglobinkonzentration aufgrund einer hämolytischer Anämie, ausgeprägter allgemeinen Anämie und Thalassämie.(43)



**Abbildung 4. Erythema infectiosum (Ringelröteln) verursacht durch ParvoB19 bei einem Patienten mit Mb. Hodgkin.**

**(Quelle: PHO – Medizinische Universität Graz)**

## **2.2.10 Varizella-Zoster-Virus**

### **2.2.10.1 Allgemeines**

Das Varizella-Zoster-Virus (VZV) gehört zur Familie der Herpesviridae, zur Alphaherpesfamilie und besteht aus einem Nucleokapsid, das die lineare doppelsträngige DNA umhüllt.(46,47) Ein Proteintegument trennt das Kapsid von der umgebenden Lipidhülle, die die viralen Glykoproteine enthält.(46)

Das VZV wird charakterisiert durch einen schnellen Reproduktionszyklus, schneller Zell zu Zell Transfer und die latente Infektion von sensorischen Ganglienzellen.

Einzigartig unter den Herpesviren ist, dass das VZV über die Inhalation von Viruspartikeln weiterverbreitet wird. Dies ist dadurch möglich, dass das VZV, im Gegensatz zum Herpes Simplex Virus, unter Umweltbedingungen biologisch stabil ist.

Nach der Inhalation dringt das VZV in die mukösen Membranen des Respirationstraktes ein. Danach breitet sich das Virus in die regionalen Lymphknoten aus, wo es repliziert. Es folgt das Stadium der zellassozierten Virämie, während der sich das Virus in den peripheren mononukleären Zellen ausbreitet. Das Virus zeigt Tropismen zu Hautzellen und sensorischen Neuronen. Das Virus bleibt nach der Primärinfektion latent und kann reaktivieren.(48)

Die reaktivierte Form des VZV, als Herpes Zoster, kommt nur bei Patienten mit stattgehabter Primärinfektion vor. Herpes Zoster ist häufig bei Patienten mit Immunsuppression bei Malignomen, nach Knochenmarkstransplantation, Organtransplantationen und bei HIV-Infektionen. Gehäuft kommt es bei Leukämie, Morbus Hodgkin und Non-Hodgkin-Lymphomen zur Reaktivierung des Virus. VZV ist weltweit verbreitet und jährliche Epidemien haben eine höhere Prävalenz in gemäßigten Klimazonen, wobei Infektionen insgesamt vermehrt im Winter und Frühling auftreten.

In den Tropen sind Varizellen als Kinderkrankheit weniger häufig. Die Erstinfektion mit VZV erfolgt in den ersten 5 bis 10 Lebensjahren.(46)

## **2.2.10.2 Symptome**

### **2.2.10.2.1 immunkompetenter Patient**

Das Prodromalstadium der Infektion äußert sich klinisch durch Fieber, Unwohlsein, Cephalaea und abdominellen Beschwerden. Diese prodromalen Symptome dauern 24 bis 48 Stunden an, ehe sich die ersten Hautläsionen bemerkbar machen.(46)

Primärinfektionen des VZV manifestieren sich klinisch in der ersten Phase als generalisierte juckende erythematöse Makulae. Danach folgt die makulopapuläre Phase, die in eine vesikuläre Phase übergeht. In dieser zeigen sich kleine flüssigkeitsgefüllte Vesikel (in der Anzahl variierend von 250 bis 500) inmitten der Makulae. 24 bis 48 Stunden nach Auftreten der Vesikel erfolgt deren Verkrustung.(46,47)

Mögliche Komplikationen sind, die bakterielle Superinfektion der Läsionen, Pneumonie, eine Beteiligung des zentralen Nervensystems (ZNS) die sich als akute cerebelläre Ataxie und Enzephalitis äußert. Thrombozytopenie, Glomerulonephritis, Arthritis und Hepatitis stellen insgesamt rare Komplikationen dar.(47)

### **2.2.10.2.2 immunsupprimierter Patient**

Vor der Verwendung antiviraler Therapieformen kam es bei bis zu 50% der Patienten zu einer Dissemination, 20% bekamen eine Pneumonie und bei bis zu 17% der Patienten endete eine Infektion tödlich.(46)

Bei Patienten mit Immunsuppression kommt es zu schweren Krankheitsverläufen, mit kontinuierlicher Eruption von Läsionen und persistierendem hohem Fieber das über 1 Woche anhält. Es kann auch zum Auftreten von Enzephalitis, Hepatitis, disseminierter intravasculärer Koagulopathie und Pneumonie kommen.

Eine hämorrhagische Varizella-Zoster-Infektion ist in diesem Patientengut auch weit häufiger, wobei die hämorrhagischen Läsionen ein deutliches Kennzeichen eines schweren Krankheitsverlaufes darstellen.

Kinder mit einer HIV-Infektion können rezidivierende Reaktivierungen oder einen disseminierten Herpes Zoster entwickeln. Das Auftreten einer Myocarditis,

Nephritis, Pancreatitis, nekrotisierender Splenitis, Ösophagitis und Enterocolitis sind sehr seltene Komplikationen einer disseminierten VZV-Infektion.(46,47)  
Kinder die einer hoch dosierten Corticosteroiddosis ausgesetzt waren (mehr als 2 mg/kg Körpergewicht Prednisolon) zeigten schwere und sogar tödliche Verläufe.(47)

## **2.2.11 Polyoma BK-Virus**

### **2.2.11.1 Allgemeines**

Das Polyma BK-Virus (BKV) wurde erstmals 1971 von Gardner et al. bei einem sudanesischen Patienten nach Nierentransplantation sowohl im Urin als auch im ureteralen Epithel nachgewiesen. Das Virus wurde nach den Initialen dieses Patienten benannt.(49)

Es misst im Durchmesser 45 nm, hat keine Hülle und sein Genom ist aus einer doppelsträngigen zirkulären DNA aufgebaut.

Seine DNA-Sequenz zeigt bis zu 75% Ähnlichkeit mit anderen Polyomaviren, wie beispielsweise dem JC-Virus oder Simian-Virus 40.(50)

Das BKV kommt ubiquitär vor und bis zu 90% der Erwachsenen sind damit infiziert. Beim Immunkompetenten kann es zu einer asymptomatischen Reaktivierung kommen und wird anschließend bei 10-15% der Fälle über den Harn ausgeschieden.

Bei ca. 25% aller Schwangeren kann das BKV ebenfalls nachgewiesen werden.  
(51)

Eine Transmission über den Respirationstrakt wird angenommen, da bei 65-90% der 10-Jährigen eine BKV DNA-Positivität in Gewebeproben der Tonsillen nachweisbar ist.(52,53)

Andererseits kann eine Transmission fäkal-oral, urino-oral, transplazentar und über Transfusionen erfolgen.(51)

## **2.2.11.2 Symptome**

### **2.2.11.2.1 immunkompetenter Patient**

Bei immunkompetenten Kindern verläuft eine BKV-Infektion in der Regel asymptomatisch.(54)

Durch das BKV verursachte Nierenschädigungen konnten beim Immunkompetenten noch nicht direkt mit dem Virus in Verbindung gebracht werden. Lediglich bei 0,3% der Patienten wird eine BKV-Infektion durch eine symptomatische Cystitis manifest. (55)

### **2.2.11.2.2 immunsupprimierter Patient**

Beim immunsupprimierten Patienten kann eine BKV-Infektion häufiger mit Erkrankungen in Verbindung gebracht werden.

Bei Patienten nach SZT kann eine BKV-Infektion durch eine hämorrhagische Cystitis manifest werden.

Nach einer Nierentransplantation kann es sowohl zum Auftreten einer interstitiellen Nephritis als auch ureteralen Stenose kommen.(54)

Das BKV besitzt möglicherweise onkogenetisches Potential und konnte im Rahmen von Tumorerkrankungen isoliert werden. Eine definitive Assoziation zwischen dem BKV und einem spezifischen Tumor wurde bis jetzt jedoch noch nicht gefunden.(50)

## **3 Material und Methoden**

In einer retrospektiven monozentrischen Studie analysierten wir 26 Patienten, die im Zeitraum von 2001 bis 2012 aufgrund einer AML an der Klinischen Abteilung für pädiatrische Hämato-/Onkologie des Univ. Klinikum Graz (PHO Graz) therapiert wurden (Durchschnittsalter bei Diagnosestellung: 0,5-17 a, Median: 12 a).

Das in unsere Studie analysierte Screening wurde wöchentlich durchgeführt.

In den ersten Jahren des Screenings, wurden weniger Viren gescreent:

In den ersten Jahren unsere Auswertung wurde auf ADV, CMV, EBV, HHV6, PVB19 und intermittierend auch auf VZV gescreent.

In den letzten Jahren unserer Auswertung wurden zusätzlich auch BKV und HSV gescreent.

Viren die regelmäßig aus Blutproben gescreent wurden waren alle ausgewerteten Viren (ADV, CMV, EBV, HHV6, HSV, PVB19, VZV).

Viren die regelmäßig durch Rachenspülflüssigkeit (RSF) gescreent wurden waren ADV und CMV.

Viren die regelmäßig durch Harn (HA) gescreent wurden waren BKV, ADV, CMV. Bei klinischem Verdacht werden zusätzliche Virus-PCR-Untersuchungen durchgeführt.

So wird in Einzelfällen aufgrund einer protrahierter Myeloaplasie eine Knochenmarkspunktion durchgeführt und auf Virus-DNA untersucht.

Auch bei Routine-Knochenmarkspunktionen wird gelegentlich – je nach klinischem Verdacht bzw. Vorbefunden - eine Virusauswertung durchgeführt.

Befunde aus dem Liquor, Nasensekret, Sputum sowie Abstriche werden bei speziellem Verdacht (Meningitis, respiratorische Symptome, Lokalreaktionen (Herpes, VZV)) entnommen. Probeentnahmen aus Schleimhäuten werden mitunter bei Verdacht auf eine GvHD entnommen und stellen weitere untersuchte Materialien dar.

Es wurde die initiale Serologie (Bestimmung der IgG) vor dem ersten Therapieblock und vor einer Immunglobulinsubstitution mit den PCR-Befunden der einzelnen Viren verglichen umso zwischen Erstinfektion und Reaktivierung unterscheiden zu können.

Während der Erstellung der Diplomarbeit wurde regelmäßig eine Literaturrecherche mit Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) durchgeführt und relevante Publikationen gesammelt.

Einige verwendete Suchbegriffe waren, „AML Virusinfection“, „pediatric acute leukemia“, „acute leukemia therapy“, „AML review“, „Herpesvirus infection“ und ähnliche relevante Begriffe.

Als erster Schritt der Datenerhebung wurde mittels MEDOCS die bestehende Excel-Liste vervollständigt und ergänzt.

Die Excel Liste beinhaltet die Namen der Patienten, Geburtsdatum, Entnahmedatum der auszuwertenden Probe, durchzuführende Untersuchung, Probenmaterial und Ergebnis der durchgeführten Untersuchung.

Die Liste umfasst Daten im Zeitraum von April 2001 bis Jänner 2011 und wurde uns freundlicherweise von Prof. Dr. Stephan Aberle, Virus-Referenzlabor der Medizinischen Universität Wien zur Verfügung gestellt.

Die elektronisch gespeicherten einzelnen PCR-Befunde (im pdf-Format) wurden durchgesehen, gespeichert und in die Excel-Tabelle übertragen.

Es erfolgte die Erhebung von über 3000 Datensätzen. Die Daten für die Auswertung setzen sich aus über 11.100 PCR-Befunden zusammen.

Die gesammelten Daten wurden in einer Tabelle aufgelistet. Die Auswertung erfolgte mit deskriptiven statistischen Verfahren.

An der Abteilung der Pädiatrischen Hämato-/Onkologie wird ein initialer Serostatus auf folgende Viren bestimmt:

Adenovirus, Coxsackie A / B, Cytomegalie, Enteroviren, Epstein-Barr-Virus, FSME, HIV, Humanes Herpesvirus Typ 6, Herpes Simplex Virus, Influenza A / B, Maser, Mumps, Parainfluenza 1 / 2 / 3, ParvoB 19, Röteln, Varizella Zoster Virus;

Initial bestimmte Hepatitis Serologie:

Hepatitis A, Hepatitis B sAg / sAk / cAk, Hepatitis C.

Die in der Studie ausgewerteten Viren und auch wöchentlich durch eine PCR bestimmte Viren sind,

- Adenovirus
- Cytomegalie
- Epstein-Barr-Virus
- Humanes Herpesvirus Typ 6
- Herpes Simplex Virus
- ParvoB 19
- Varizella Zoster Virus
- Polyomavirus-BK

## 4 Ergebnisse – Resultate

Tabelle 2 gibt einen Überblick über das untersuchte Probenmaterial, sowie die Anzahl der pos. Befunde im Zusammenhang mit den insgesamt untersuchten Befunden.

<b>Tabelle 2 - Tabellarische Übersicht der untersuchten Proben</b>			
Probenmaterial	Anz. d. pos. Befunde	Anz. d. Befunde insges.	Prozentangabe pos. Befunde / Befunde insges.
Abstrich	1	13	7,69%
Biopsiematerialien	10	53	18,87%
EDTA-Blut	109	1404	7,76%
EDTA Blut / Plasma <sup>1</sup>	83	1325	6,26%
EDTA-Plasma	59	4213	1,40%
Harn	196	1413	13,87%
Knochenmark	22	421	5,23%
Liquor	1	65	1,54%
Nasensekret	3	45	6,67%
Rachenspül-flüssigkeit	46	1429	3,22%
S0, S1, S2 <sup>2</sup>	27	283	9,54%
Serum	5	425	1,18%
Sputum	1	42	2,38%

<sup>1</sup>EDTA - keine Unterscheidung zw. Blut u. Plasma möglich; <sup>2</sup>S0, S1, S2 - Sondermaterial meist Biopsien;

Tabelle 3 gibt einen Überblick der durchgeführten initialen serologischen Untersuchungen, dem durchgeführten Screening und eine zusammenfassende Interpretation der Ergebnisse.

<b>Tabelle 3 - Zusammenfassung des virologischen Screenings</b>		<b>ADV<sup>1</sup></b>	<b>BKV<sup>2</sup></b>	<b>CMV<sup>3</sup></b>	<b>EBV<sup>4</sup></b>	<b>HHV6<sup>5</sup></b>	<b>HSV<sup>6</sup></b>	<b>PVB19<sup>7</sup></b>	<b>VZV<sup>8</sup></b>
initiale Serologie	Pat. pos. /	9 / 16	0 / 0 <sup>10</sup>	11 / 25	15 / 19	8 / 17	8 / 16	13 / 19	11 / 14
	Pat. getestet (%)	56,25%	0,00%	44,00%	78,95%	47,06%	50,00%	68,42%	78,57%
	nicht verfügbar	10	26	1	7	9	10	7	12
PCR-Screening	Prob. <sup>9</sup> pos. /	30 / 1616	139 / 688	60 / 1922	107 / 1011	97 / 931	3 / 709	30 / 910	2 / 481
	Prob. getestet (%)	1,86%	20,20%	3,12%	10,58%	10,42%	0,42%	3,30%	0,42%
	Pat. pos. /	9 / 26	14 / 22	6 / 26	13 / 26	15 / 26	1 / 23	8 / 26	2 / 21
	Pat. getestet (%)	34,62%	63,64%	23,08%	50,00%	57,69%	4,35%	30,77%	9,52%
	getestete Pat.	26	22	26	26	26	23	26	21
Interpretation der	Reaktivierungen	5	14 <sup>11</sup>	5	6	4	0	4	2
	Primärinfekt.	1	14 <sup>11</sup>	1	1	6	1	0	0

Ergebnisse	pos. Screening, keine Serologie verfügbar	3	14	0	6	5	0	4	0
------------	---	---	----	---	---	---	---	---	---

<sup>1</sup>ADV - Adenovirus; <sup>2</sup>BKV - Polyomavirus BK; <sup>3</sup>CMV - Cytomegalievirus; <sup>4</sup>EBV - Epstein Barr-Virus; <sup>5</sup>HHV6 - humanes Herpesvirus Typ 6; <sup>6</sup>HSV - Herpes Simplex Virus; <sup>7</sup>PVB19 - Parvovirus B19; <sup>8</sup>VZV - Varizella Zoster Virus; <sup>9</sup>Prob. - Proben; <sup>10</sup>für das BKV wurde nie eine initiale Serologie bestimmt; <sup>11</sup>aufgrund der fehlenden initialen Serologie kann nicht genauer zw. Erstinfektion und Reaktivierung differenziert werden;

Tabelle 4 gibt einen Überblick bezüglich der im Screening festgestellten Reaktivierungen / Primärinfektionen, das BKV konnte dabei nicht berücksichtigt werden, da bei diesem Virus keine initiale Serologie bestimmt wurde.

Tabelle 4 - Vergleich zwischen der Reaktivierungs- und Primärinfektionswahrscheinlichkeit							
	ADV <sup>1</sup>	CMV <sup>3</sup>	EBV <sup>4</sup>	HHV6 <sup>5</sup>	HSV <sup>6</sup>	PVB19 <sup>7</sup>	VZV <sup>8</sup>
Häufigkeit d. Reakt. in %	19,23%	19,23%	23,08%	15,38%	keine Reakt.	15,38%	9,52%
Häufigkeit d. Primärf. in %	4,21%	3,85%	3,85%	23,08%	4,35%	keine Primärf.	keine Primärf.

<sup>1</sup>ADV - Adenovirus; <sup>2</sup>BKV - Polyomavirus BK; <sup>3</sup>CMV - Cytomegalievirus; <sup>4</sup>EBV - Epstein Barr-Virus; <sup>5</sup>HHV6 - humanes Herpesvirus Typ 6; <sup>6</sup>HSV - Herpes Simplex Virus; <sup>7</sup>PVB19 - Parvovirus B19; <sup>8</sup>VZV - Varizella Zoster-Virus;

Tabelle 5 gibt einen Überblick über die im Rahmen der Diplomarbeit bei 7 der 8 Viren (87,50%) beobachteten klinischen Symptome.

Tabelle 5 - Klinische Symptome, die möglicherweise im Zusammenhang stehen mit Virusreaktivierung / -erstinfektion								
Symptom	ADV <sup>3</sup>	BKV <sup>4</sup>	CMV <sup>5</sup>	EBV <sup>6</sup>	HHV6 <sup>7</sup>	HSV <sup>8</sup>	PVB19 <sup>9</sup>	VZV <sup>10</sup>
GvHD <sup>1</sup>	+	+	+	+	+		+	
HLH <sup>2</sup>	+	+	+	+	+	+	+	
Myelo-suppression	+	+	+	+	+		+	
Exantem	+		+				+	
Zystitis		+						
Pankreatitis		+	+	+				
Hepatopat.								
Blasten-persistenz / progredienz	+			+	+			
Nierenf.-störung		+				+		
protr.					+			

Mucositis	
persist.	+
Fieber	
Gerinn.- störung	+

<sup>1</sup>GvHD - Graft vs. Host-Disease; <sup>2</sup>HLH - Hämophagozytische Lymphohistiozytose; <sup>3</sup>ADV - Adenovirus; <sup>4</sup>BKV - Polyomavirus BK; <sup>5</sup>CMV - Cytomegalievirus; <sup>6</sup>EBV - Epstein Barr-Virus; <sup>7</sup>HHV6 - humanes Herpesvirus Typ 6; <sup>8</sup>HSV - Herpes Simplex Virus; <sup>9</sup>PVB19 - Parvo B19 Virus; <sup>10</sup>VZV - Varizella Zoster Virus;

## 4.1 Patientenkollektiv

Insgesamt konnten in die vorliegende Studie 26 Patienten eingeschlossen werden, Tabelle 6 gibt einen gesamt Überblick der 26 Patienten.

10 von 26 Patienten waren männlichen Geschlechts (38,46%) und 16 der 26 waren weiblichen Geschlechts (61,54%).

Das Alter der Patienten bei Diagnosestellung lag Median bei 10 Jahren, der jüngste Patient war 0,5 Jahre und der Älteste 17,0.

Eine Knochenmarks-/Stammzellentransplantation erfolgte bei 12 der 26 Patienten (46,15%).

Tabelle 6 - Überblick des Patientenkollektiv der an der Studie teilnehmenden Patienten					
AML (FAB					
Pat.nr.	Geb.datum	Geschl.	Klassifikation)	Therapieregime	Stammzelltransplantation
1	24.04.1994	W	AML FAB M2	AML-BFM 2004	Knochenmarktransplantation (allogen, HLA-ident)
2	21.05.2006	W	AML FAB M4Eo	AML BFM-2004	nein
3	04.09.2010	M	AML FAB M5	AML-BFM 2004	nein
4	31.01.1987	M	AML FAB M5a	AML-BFM 2004	Knochenmarktransplantation (allogen, HLA-ident)
5	04.11.1988	M	AML FAB M3	AML-BFM 2004	nein
6	31.01.1984	M	AML FAB M1	AML-BFM-98	nein
6a	31.01.1984	M	AML Rezidiv FAB-M1	AML-2000/01	periphere Stammzelltransplantation (autologer Stammzell-Rescue)
7	18.12.2003	M	AML FAB M4	AML-BFM-2004	periphere Stammzelltransplantation (allogen, HLA-ident)
8	22.01.1992	W	AML FAB M2	AML-BFM-2004	Periphere Stammzelltransplantation (allogen, HLA-ident)
9	16.02.1986	M	AML FAB M3	AML-BFM-98	nein
9a	16.02.1986	M	Sekundärleukämie FAB M4 nach AML-FAB M3	AML BFM-2001	Knochenmarkstransplantation (allogen, HLA-ident)

10	24.02.1996	M	ALL-AML FAB M5	AML-BFM-2004	Knochenmarktransplantation (allogen, HLA-ident)
11	11.06.1993	W	AML FAB M4	AML-BFM-2001	Knochenmarktransplantation (allogen, HLA-ident)
12	27.08.1994	M	Sekundärleukämie FAB M2 nach C-ALL	AML-BFM-98	Knochenmarkstransplantation (allogen, HLA-ident)
13	01.02.2004	W	AML FAB M4eo	AML-BFM-2004	nein
14	13.08.1988	M	AML FAB M2	AML-BFM-2004	nein
15	07.05.1990	W	AML FAB M1	AML-BFM-2004	nein
16	07.02.1994	W	AML FAB M2	AML-BFM-2004	nein
17	05.10.2004	W	AML FAB M1	AML-BFM-2004	periphere Stammzelltransplantation (allogen, haploident)
17a	05.10.2004	W	1. Rezidiv der AML FAB M1	Reinduktionschemotherapie (FLAG + DMX) sowie Flamsa	Stammzell-Boost (allogen, haploident)
17b	05.10.2004	W	2. Rezidiv der AML FAB M1	Reinduktionschemotherapie	nein
18	01.01.1993	W	AML FAB M3v	AML-BFM-2004	nein
19	23.12.2009	W	AML FAB 5a	AML-BFM-2004	nein
20	14.06.2000	W	Kongenitale hypoplastische Anämie mit Übergang in eine AML FAB M2	AML-BFM-98	Knochenmarkstransplantation (allogen, HLA-ident Schwester)
21	08.01.1999	W	AML FAB M5	AML-BFM-2004	nein
22	06.07.1992	W	AML-FAB M2	AML-BFM-98	nein
23	10.09.2001	W	AML FAB-M4/EO	AML-BFM-2004	nein
24	06.03.1990	W	AML FAB M2	AML-BFM-2004	nein
25	25.07.1991	M	AML FAB M3	AML-BFM-2004	nein
26	22.07.2008	W	AML-FAB M1	AML-BFM-2004	periphere Stammzelltransplantation (allogen, HLA-ident)

AML - akute myeloische Leukämie; FAB - French, American, British; BFM - Berlin, Münster, Frankfurt; HLA - humanes leukozyten Antigen;

## 4.2 Klassifikation der AML

Die Klassifikation der AML an der PHO Graz wird nach den FAB-Kategorien vorgenommen, siehe dazu Kapitel 2.1.4

- Bei 5 Patienten (19,23%) wurde eine AML FAB-M1 diagnostiziert, wobei 2 Patienten ein AML-Rezidiv erlitten.

- Bei 8 Patienten (30,77%) wurde eine AML FAB-M2 diagnostiziert, einer dieser Fälle stellt eine Sekundär-AML, ein halbes Jahr nach C-ALL dar.
- Bei 4 Patienten (15,38%) wurde eine AML FAB-M3 diagnostiziert.
- Bei 6 Patienten (23,08%) wurde eine AML FAB-M4 diagnostiziert, hier handelt es sich bei einem Fall um eine Sekundärleukämie 5 Jahre nach AML FAB-M3.
- Bei 5 Patienten (19,23%) wurde eine AML FAB-M5 diagnostiziert.
- Eine AML FAB-0, FAB-6 sowie FAB-7 wurde bei keinem Patienten diagnostiziert.

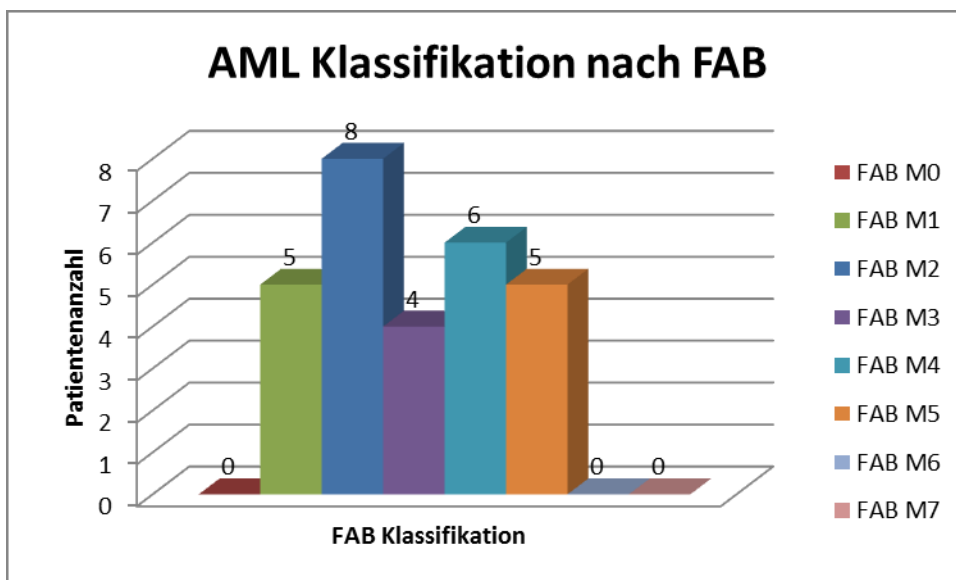


Abbildung 5. Grafische Darstellung der Anzahl der diagnostizierten AML

### 4.3 Initiale Serologie

Vor dem Beginn der antileukämischen Therapie bzw. Immunglobulinsubstitution wird bei jedem Patienten eine initiale Serologie bestimmt um festzustellen mit welchem Virus ein Patient bereits infiziert war.

Bei den 26 Patienten wurden serologische Untersuchungen auf folgende Viren initial durchgeführt:

- Adenovirus wurde bei 16 der 26 Patienten bestimmt (61,5%).
- Cytomegalie-Virus wurde bei 25 der 26 Patienten bestimmt (96,1%).

- EBV wurde bei 19 der 26 Patienten bestimmt (73,0%).
- HHV-6 wurde bei 17 der 26 Patienten bestimmt (57,6%).
- HSV wurde bei 16 der 26 Patienten bestimmt (61,54%).
- PVB19 wurde bei 19 der 26 Patienten bestimmt (73,0%).
- VZV wurde bei 14 der 26 Patienten bestimmt (53,85%).
- Polyomavirus BK wurde bei keinem Patienten bestimmt.

Für nähere Informationen, siehe Tabelle 3 im Anfangskapitel 4.

#### **4.4 Adenovirus**

Initial wurde bei 16 der 26 Patienten (61,54%) eine Serologie auf Adenoviren durchgeführt. Diese war bei 9/16 (56,25%) positiv. Insgesamt lagen uns 1616 Adenovirus-PCR-Screeningbefunde bei 26 Patienten vor (6-232, median 46,5 Befunde pro Patient), wobei 6/26 Patienten (23,08%) mit 30 Befunden (1,86%) einen positiven PCR DNA-Nachweis hatten.

1. Bei 5 der 26 Patienten (19,23%) wurde dies als Adenovirusreaktivierung interpretiert, da hier eine positive Initialserologie auf Adenovirus-IgG vorhanden war.
2. Bei einem Patienten (3,84%) wurde dies als Erstinfektion interpretiert, da die vorliegende Initialserologie auf Adenovirus-IgG negativ war.
3. Bei 3 Patienten (11,54%) konnte nicht zwischen einer Reaktivierung und einer Erstinfektion unterschieden werden, da keine initiale Serologie durchgeführt worden war.
4. 17 von 26 Patienten (65,38%) waren während des Screenings ohne einen Virus-DNA positiven PCR-Befund.

Tabelle 7 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven Adenovirus-Screeningbefunden							
Pat.nr.	Initiale Serologie	PCR-Screening-dauer <sup>8</sup>	Anz. PCR-Screeningbef.			Probenmat. der pos. Befunde	Klinik <sup>10</sup>
			gesamt	pos.	% pos.		
1	positiv	36	52	7	13,46%	EP <sup>1</sup> , KM <sup>2</sup>	2 pos. Befunde ohne Klinik 5 pos. Befund <sup>12</sup> mit cGVHD <sup>11</sup>
3	negativ	30	61	1	1,64%	RF <sup>3</sup>	1 pos. Befund ohne Klinik
8	n.d. <sup>9</sup>	31	232	1	0,43%	KM	1 pos. Befund bei Myeloaplasie und therapierefraktärer Blastenpersistenz
15	n.d.	13	143	11	7,69%	KM, EP, HA <sup>4</sup> , RF	9 pos. Befunde bei HLH <sup>7</sup> (2 Episoden) 2 pos. Befunde ohne Klinik
16	n.d.	32	123	1	0,81%	EP	1 pos. Befund ohne Klinik
17	positiv	21	206	6	2,28%	ED, RF, EDTA <sup>5</sup> , HA	1 pos. Befund bei Myeloaplasie und therapierefraktärer Blastenpersistenz 5 Befunde ohne Klinik
19	positiv	19	98	1	3,06%	EDTA, RF	1 pos. Befund bei vesiculopapil. Exanthem
21	positiv	3	118	1	0,85%	HA	1 pos. Befund bei Myeloaplasie u nachfolgender HLH
23	positiv	5	18	1	5,56%	NS <sup>6</sup>	1 pos. Befund ohne Klinik

<sup>1</sup>EP - Plasma-EDTA; <sup>2</sup>KM - Knochenmark; <sup>3</sup>RF - Rachenspülflüssigkeit; <sup>4</sup>HA - Harn; <sup>5</sup>EDTA - keine Unterscheidung zw. Blut u Plasma möglich; <sup>6</sup>NS - Nasensekret; <sup>7</sup>HLH - hämophagotytisch Lymphohistiozytose; <sup>8</sup>Screeningdauer angegeben in Monaten; <sup>9</sup>n.d. - Initiale Serologie nicht durchgeführt; <sup>10</sup>Klinik - Versuch einer Korrelation der pos. PCR-Befunde zu klinischen Symptomen; <sup>11</sup>GVHD - Graft vs. Host-Disease; <sup>12</sup>zur Diagnosesicherung wurden Biopsien von Leber, Schleimhäuten (Mund, Ösophagus, Magen, Rektum) und Knochenmark durchgeführt; mittels PCR waren in allen Biopsiepräparaten Viren in geringer Menge nachweisbar;

#### 4.5 Polyomavirus BK

Initial wurde bei keinem der 26 Patienten eine Serologie auf BK-Virus IgG durchgeführt.

Insgesamt lagen uns 688 BKV-PCR-Screeningbefunde bei 22 Patienten vor (1-125, median 12,5 Befunde pro Patient), wobei 14/22 Patienten (68,18%) mit 127 positiven Harnuntersuchungen und 12 positiven EDTA-Plasma Untersuchungen (139/688 Befunden; 20,20%), einen positiven PCR DNA-Nachweis hatten.

Diese 688 BKV-PCR-Screeningbefunde setzten sich aus 354

Harnuntersuchungen (51,45%) sowie 286 EDTA-Blut/Plasma Untersuchungen (41,60%) zusammen (die übrigen 6,95% kommen durch Biopsiematerialien, KM-, Liquor-, etc. -Befunde zustande).

Von den 354 Harnuntersuchungen waren 127 Harnbefunde (35,88%) positiv.

Von den 286 EDTA-Blut-/Plasmabefunden waren 12 Befunde (4,20%) positiv.

Beim Patienten 8 wurde 7-mal sowohl im Harn als im EDTA-Plasma gleichzeitig eine Viruspositivität festgestellt, ähnliches gilt für Patient 15 bei dem 4-mal eine gleichzeitige Viruspositivität in Harn und EDTA-Plasma festgestellt wurde.

Bei Pat. 20 wurde nur im EDTA-Plasma 1 positiver BK-Virusbefund bei fehlendem Harnbefund festgestellt.

1. Bei 14 der 22 Patienten (63,64%) konnte nicht zwischen einer Reaktivierung und einer Erstinfektion unterschieden werden, da keine initiale Serologie durchgeführt worden war.
2. 8 von 22 Patienten (36,37%) waren während des Screenings ohne einen Virus-DNA positiven PCR-Befund.

Pat.nr.	Initiale Serologie	PCR Screening -dauer <sup>1</sup>	Anz. PCR-Screeningbef.			Probenmat. der pos. Befunde	Klinik <sup>2</sup>
			gesamt	pos.	% pos.		
1	n.d. <sup>8</sup>	33	11	6	54,55%	HA <sup>3</sup>	1 pos. Befund mit hämorrhagische Cystitis 5 pos. Befunde ohne Klinik
2	n.d.	1	9	1	11,11%	HA	1 pos. Befund ohne Klinik
6	n.d.	2	49	1	2,04%	HA	1 pos. Befund ohne Klinik
8	n.d.	31	125	64	51,20%	HA, EP <sup>4</sup>	2 pos. Befunde bei hämorrhagischer Cystitis 8 pos. Befunde bei Pankreatitis 12 pos. Befunde bei cGVHD <sup>6</sup> , bei Immundefizienz nach allogener SZT 3 pos. Befunde bei cGVHD 1 pos. Befund bei multilokulärem Rezidiv (multiple Myelosarkome) 7 pos. Befunde bei sek. HLH <sup>5</sup> 6 pos. Befunde bei Pankreatitis u. Hepatopathie 25 pos. Befunde ohne Klinik
12	n.d.	1	6	5	83,33%	HA	1 pos. Befund bei aGVHD <sup>7</sup> 1 pos. Befund ohne Klinik 3 pos. Befunde bei milder Hämolyse
13	n.d.	4	36	5	13,89%	HA	5 pos. Befunde ohne Klinik 2 pos. Befunde bei protrahierter Leukopenie 1 pos. Befund während therapiebed. Myelodepression
15	n.d.	13	73	31	42,47%	HA, EP	15 pos. Befunde bei 2 Episoden einer HLH 13 pos. Befunde ohne Klinik
16	n.d.	10	66	4	6,06%	HA	4 pos. Befunde ohne Klinik
17	n.d.	22	74	12	16,22%	HA	1 pos. Befund bei HLH

							11 pos. Befunde ohne Klinik
19	n.d.	4	59	2	3,39%	HA	2 pos. Befund ohne Klinik
20	n.d.	1	2	1	50,00%	EP	1 pos. Befund bei therapieassoziierter Myeloaplasie
21	n.d.	10	80	2	2,50%	HA	2 pos. Befunde bei HLH
22	n.d.	1	1	1	100,00%	HA	passagere Nierenfunktionseinschränkung
25	n.d.	11	36	3	8,33%	HA	1 pos. Befund bei Myelodepression (nach hAM <sup>9</sup> -Block)
							1 pos. Befund ohne Klinik
26	n.d.	13	54	1	1,85%	HA	1 pos. Befund bei Haut-GVHD

<sup>1</sup>Screeningdauer angegeben in Monaten; <sup>2</sup>Klinik - versuchte klinische Korrelation der pos. PCR-Befunde; <sup>3</sup>HA - Harn; <sup>4</sup>EP - Plasma-EDTA; <sup>5</sup>HLH - hämophagotytisch Lymphohistiozytose; <sup>6</sup>cGVHD - chron. Graft vs. Host-Disease; <sup>7</sup>aGVHD - akute Graft vs. Host-Disease; <sup>8</sup>n.d. - nicht durchgeführt; <sup>9</sup>hAM – mittelhochdosiertes Cytarabin u. Mitoxantron;

## 4.6 Cytomegalievirus

Initial wurde bei 25 der 26 Patienten (96,15%) eine Serologie auf Cytomegalievirus durchgeführt. Diese war bei 11/25 (44,00%) positiv.

Insgesamt lagen uns 1922 Cytomegalievirus-PCR-Screeningbefunde bei 26 Patienten vor (6-232, median 46,5 Befunde pro Patient), wobei 6/26 Patienten (23,08%) mit 60/1922 Befunden (3,12%) einen positiven PCR DNA-Nachweis hatten.

1. Bei 5 der 26 Patienten (19,23%) wurde dies als Cytomegalieaktivierung interpretiert, da hier eine positive Initialserologie auf Cytomegalievirus-IgG vorhanden war.
2. Bei 1 Patienten (3,85%) wurde dies als Erstinfektion interpretiert, da die vorliegende Initialserologie auf Cytomegalievirus-IgG negativ war.
3. Bei 3 Patienten (11,54%) konnte nicht zwischen einer Reaktivierung und einer Erstinfektion unterschieden werden, da keine initiale Serologie durchgeführt worden war.
4. 20 von 26 Patienten (76,92%) waren während des Screenings ohne einen Virus-DNA positiven PCR-Befund.

Tabelle 9 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven Cytomegalievirus-Screeningbefunden							
Pat.nr.	Initiale Serologie	Screeningdauer <sup>1</sup>	Anz. PCR-Screeningbef.			Probenmat. der pos. Befunde	Klinik <sup>2</sup>
			gesamt	pos.	% pos.		
7	positiv	6	12	2	16,67%	EP <sup>3</sup> , SO <sup>4</sup>	1 pos. Befund bei aGVHD <sup>5</sup> 1 pos. Befund ohne Klinik
8	positiv	31	449	23	5,12%	SP <sup>6</sup> , RF <sup>7</sup> , HA <sup>8</sup> , EP	2 pos. Befunde bei protrahierter Myelodepression (nach dem AI-Block <sup>9</sup> ) 2 pos. Befunde bei GVHD 19 pos. Befunde ohne Klinik
10	positiv	11	47	3	6,38%	RF	1 pos. Befund bei Hepatopathie 2 pos. Befunde ohne Klinik
17	negativ	21	204	3	1,47%	HA, RF	3 pos. Befunde ohne Klinik
21	positiv	10	118	17	14,41%	RF, HA, EP, KM <sup>10</sup>	1 pos. Befund bei prolong. Myelodepression 16 pos. Befunde <sup>13</sup> bei Myelodepression mit HLH <sup>11</sup>
26	positiv	13	92	12	13,04%	EP, HA	1 pos. Befund bei HLH 1 pos. Befund bei aGVHD 1 pos. Befund bei Haut-GVHD-Rezidiv 9 pos. Befunde ohne Klinik

<sup>1</sup>Screeningdauer angegeben in Monaten; <sup>2</sup>Klinik - versuchte klinische Korrelation der pos. PCR-Befunde; <sup>3</sup>EP - Plasma-EDTA; <sup>4</sup>SO - Sondermaterialien (Biopsien); <sup>5</sup>aGVHD - akute Graft vs. Host-Disease; <sup>6</sup>SP - Sputum; <sup>7</sup>RF - Rachenspülflüssigkeit; <sup>8</sup>HA - Harn; <sup>9</sup>AI-Block - Cytarabin, Idarubicin; <sup>10</sup>KM - Knochenmark; <sup>11</sup>HLH - hämophagozytische Lymphohistiozytose;

<sup>13</sup>Ursache des immer wieder aufflackernden Hämophagozytose-/Makrophagenaktivierungssyndroms mit ausgeprägter Myelodepression und intermittierender CMV-Reaktivierung ist eine schwere Immundefizienz unter AML-Erhaltungstherapie, wobei die Cytomegalie sowohl für die Panzytopenie wie auch die HLH mitverantwortlich sein dürfte; THERAPIESTOPP: Nach Rücksprache mit der AML-BFM-Studienzentrale war eine weitere Fortführung der Erhaltungstherapie mit der Gefahr eines überbordenden Hämophagozytosesyndroms, das in vielen Fällen letal endet, nicht mehr indiziert;

## 4.7 Humanes Herpesvirus Typ 6

Initial wurde bei 17 der 26 Patienten (65,38%) eine Serologie auf HHV6 durchgeführt. Diese war bei 8/17 (47,06%) positiv.

Insgesamt lagen uns 931 HHV6-PCR-Screeningbefunde bei 17 Patienten vor (7-114, median 32 Befunde pro Patient), wobei 15 der 17 Patienten (88,24%) mit 97 Befunden (10,42%) einen positiven PCR DNA-Nachweis hatten.

1. Bei 4 der 26 Patienten (15,38%) wurde dies als HHV6-Reaktivierung interpretiert, da hier eine positive Initialserologie auf HHV6-IgG vorhanden war.
2. Bei 6 Patienten (19,23%) wurde dies als Erstinfektion interpretiert, da die vorliegende Initialserologie auf Adenovirus-IgG negativ war.

3. Bei 5 Patienten (19,23%) konnte nicht zwischen einer Reaktivierung und einer Erstinfektion unterschieden werden, da keine initiale Serologie durchgeführt worden war.
4. 2 von 17 Patienten (11,76%) waren während des Screenings ohne einen Virus-DNA positiven PCR-Befund.

**Tabelle 10 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven HHV6-Screeningbefunden**

Pat.nr.	Initiale Serologie	Screeningdauer <sup>1</sup>	Anz. PCR-Screeningbef.			Probenmat. der pos. Befunde	Klinik <sup>2</sup>
			gesamt	pos.	% pos.		
1	positiv	36	52	6	11,54%	ED <sup>3</sup> , BM <sup>4</sup> , SO <sup>5</sup>	2 pos. Befunde bei prothraierter Myeloaplasie 3 pos. Befunde in Biopsien von Leber, Duodenum u. Magen bei cGVHD <sup>6</sup> 1 pos. Befund ohne Klinik
2	negativ	1	11	3	27,27%	EDTA <sup>7</sup>	3 pos. Befunde ohne Klinik
3	negativ	3	25	11	44,00%	EDTA, KM <sup>8</sup>	11 pos. Befunde bei 2 Episoden einer HLH
4	n.d.	10	39	1	2,56%	ED	1 pos. Befund ohne Klinik
6	negativ	32	49	1	2,04%	ED	1 pos. Befund bei prothraierter Myelodepression
8	n.d.	31	114	2	1,75%	S1, S2 <sup>10</sup>	2 pos. Befunde <sup>14</sup> bei cGVHD <sup>11</sup> u. Hepatosplenomegalie
9	n.d.	4	18	1	5,56%	ED	1 pos. Befund bei passagerer Nierenfunktionseinschränkung
11	n.d.	69	57	36	63,16%	ED, RS <sup>12</sup> , SO, KM, EP, S1	1 pos. Befund bei Blastenpersistenz nach 2. Induktionsblock 35 pos. Befunde nach Übertragung von ciHHV-6 durch allogene SZT (siehe Kapitel 5.2.3) mit verzögertem Engraftment und prothraierter Mucositis sowie ausgeprägter Neuropathie
15	n.d.	13	53	9	16,98%	ED, KM, S2	9 pos. Befunde bei HLH
17	positiv	20	86	2	2,33%	EDTA	2 pos. Befunde ohne Klinik
19	negativ	11	38	3	7,89%	EDTA	3 pos. Befunde ohne Klinik
20 <sup>16</sup>	negativ	3	16	12	75,00%	ED, RS	12 pos. Befunde bei persistierender Infektion mit Myelodepression, Darmmotilitätsstörung u. rezidivierendem Erbrechen, Thrombopenie, interstitieller Pneumonie, konsekutiver pulmonaler Hypertension sowie pulm. Hochdruckkrisen und resultierendem exitus letalis <sup>15</sup>
22	negativ	7	30	1	3,33%	ED	1 pos. Befund ohne Klinik
23	positiv	5	17	5	29,41%	ED, RS	5 pos. Befunde ohne Klinik
26	positiv	13	39	4	10,26%	ED, KM, RS	4 pos. Befunde ohne Klinik

<sup>1</sup>Screeningdauer angegeben in Monaten; <sup>2</sup>Klinik - versuchte klinische Korrelation der pos. PCR-Befunde; <sup>3</sup>EP - Plasma-EDTA; <sup>4</sup>BM - Biopsiematerial; <sup>5</sup>SO - Sondermaterialien (Biopsien); <sup>6</sup>cGVHD - chronische Graft vs. Host-Disease; <sup>7</sup>EDTA - keine Unterscheidung zw. Blut u Plasma möglich; <sup>8</sup>KM -

Knochenmark; <sup>9</sup>HLH - hämophagozytische Lymphohistiozytose; <sup>10</sup>S1,S2 - Sondermaterialien (Biopsien); <sup>11</sup>cGVHD - chronische Graft vs. Host-Disease; <sup>12</sup>RS - Rachenspülflüssigkeit;  
<sup>13</sup> im Rahmen der Chemotherapien und unter HHV-6 Positivität kam es zu mehreren Wochen anhaltenden Myeloaplasiephasen;  
<sup>14</sup> endoskopische biopsische Untersuchungen des Magen/Darmtraktes und der Mundschleimhaut zeigten im Bereich der Mundschleimhaut Zeichen einer cGVHD, die restliche Schleimhaut des GI-Traktes war unauffällig;  
<sup>15</sup> therapierefraktäre Asystolie aufgrund einer akuten pulmonalen Hochdruckkrise;  
<sup>16</sup> eine chromosomale Integration von HHV6 (siehe Kapitel 5.3.3) konnte mittels intermittierend negativen PCR-Screeningbefunden, sowohl vor als auch nach der alloKMT, ausgeschlossen werden.

## 4.8 Herpes Simplex-Virus

Initial wurde bei 17 der 26 Patienten (65,38%) eine Serologie auf HSV durchgeführt. Diese war bei 8/17 (47,06%) positiv.

Insgesamt lagen uns 709 HSV-PCR-Screeningbefunde bei 23 Patienten vor (1-172, median 14 Befunde pro Patient), wobei 1 der 23 Patienten (4,35%) mit 3/709 Befunden (0,42%) einen positiven PCR DNA-Nachweis hatten.

1. Bei 1 Patienten (5,88%) wurde dies als Erstinfektion interpretiert, da die vorliegende Initialserologie auf HSV-IgG negativ war.
2. 7 von 23 Patienten (30,43%) waren während des Screenings ohne einen Virus-DNA positiven PCR-Befund.

Pat.nr.	Initiale Serologie	Screening-dauer <sup>1</sup>	Anz. PCR-Screeningbef.			Probenmat. der pos. Befunde	Klinik <sup>2</sup>
			gesamt	Pos.	% pos.		
3	negativ	4	52	3	5,77%	EDTA <sup>3</sup> , KM <sup>4</sup> , ABSTR <sup>5</sup>	3 pos. Befunde bei HLH <sup>6</sup>

<sup>1</sup>Screeningdauer angegeben in Monaten; <sup>2</sup>Klinik - versuchte klinische Korrelation der pos. PCR-Befunde; <sup>3</sup>EDTA - EDTA Plasma/Blut; <sup>4</sup>BM - Knochenmark; <sup>5</sup>ABSTR - Abstrich; <sup>6</sup>HLH - hämophagozytische Lymphohistiozytose;

## 4.9 Epstein-Barr-Virus

Initial wurde bei 19 der 26 Patienten (73,08%) eine Serologie auf EBV durchgeführt. Diese war bei 15/19 (78,95%) positiv.

Insgesamt lagen uns 1011 EBV-Screeningbefunde bei 26 Patienten vor (7-114, median 35,5 Befunde pro Patient), wobei 13 der 26 Patienten (50,00%) mit 107/1011 Befunden (10,58%) einen positiven PCR DNA-Nachweis hatten.

1. Bei 5 der 26 Patienten (19,23%) wurde dies als EBV-Reaktivierung interpretiert, da hier eine positive Initialserologie auf EBV-IgG vorhanden war.
2. Bei 1 Patienten (3,85%) wurde dies als Erstinfektion interpretiert, da die vorliegende Initialserologie auf Adenovirus-IgG negativ war.
3. Bei 7 Patienten (26,92%) konnte nicht zwischen einer Reaktivierung und einer Erstinfektion unterschieden werden, da keine initiale Serologie durchgeführt worden war.
4. 13 von 26 Patienten (50,00%) waren während des Screenings ohne einen Virus-DNA positiven PCR-Befund.

**Tabelle 12 - Zusammenfassung der Patienten mit positiven EBV-Screeningbefunden**

Pat.nr.	Initiale Serologie	Screening-dauer <sup>1</sup>	Anz. PCR-Screeningbef.			Probenmat. der pos. Befunde	Klinik <sup>2</sup>
			gesamt	pos.	% pos.		
1	negativ	36	49	6	12,24%	ED <sup>3</sup> , SO4	1 pos. Befund <sup>17</sup> bei cGVHD <sup>5</sup> 5 pos. Befunde ohne Klinik
4	n.d. <sup>6</sup>	10	38	1	2,63%	ED	keine Klinik 2 pos. Befunde bei Myelodepression 4 pos. Befunde bei aGVHD <sup>19</sup> u. persist. Fieber
8	n.d.	31	114	19	16,67%	ED, S1, S2, KM <sup>7</sup>	2 pos. Befunde <sup>18</sup> bei cGVHD 1 pos. Befund bei Pankreatitis 10 pos. Befunde ohne Klinik
10	positiv	12	27	1	3,70%	ED	1 pos. Befund bei Blastenregeneration nach Induktionsblock
11	positiv	24	74	9	12,16%	ED, KM	9 pos. Befunde ohne Klinik
12	n.d.	6	12	2	16,67%	ED	1 pos. Befund bei milder Hämolyse 1 pos. Befund ohne Klinik
15	n.d.	13	69	13	18,84%	ED, HA <sup>8</sup> , KM, RF <sup>9</sup> , SE <sup>10</sup> , EP <sup>11</sup>	13 pos. Befunde bei HLH <sup>12</sup>
16	n.d.	32	57	4	7,02%	ED	1 pos. Befund bei Hepatopathie sowie Thrombopenie 3 pos. Befunde ohne Klinik
17	positiv	21	82	23	28,05%	EDTA <sup>13</sup> , KM,	4 pos. Befunde bei ha/paGVHD <sup>14</sup> 3 pos. Befunde bei Auftreten des 2. Rezidivs der AML 16 pos. Befunde ohne Klinik
18	positiv	1	7	2	28,57%	ED	1 pos. Befund bei Verbrauchskoagulopathie u. Hirnmassenblutung als Komplikation der Grunderkrankung
19	positiv	6	43	21	48,84%	EDTA, KM,	1 pos. Befund ohne Klinik 12 pos. Befunde bei ausgeprägter

						LI <sup>15</sup>	Gerinnungsstörung u. HLH 9 pos. Befunde ohne Klinik
24	n.d.	6	21	1	4,76%	ED	1 pos. Befund bei therapiebedingter Myelodepression
26	positiv	13	39	5	12,82%	ED, RS <sup>16</sup>	5 pos. Befunde ohne Klinik

<sup>1</sup>Screeningdauer angegeben in Monaten; <sup>2</sup>Klinik - versuchte klinische Korrelation der pos. PCR-Befunde; <sup>3</sup>ED - EDTA-Blut; <sup>4</sup>S0, S1, S2 - Sondermaterialien (meist Biopsien); <sup>5</sup>cGVHD - chronische Graft vs. Host-Disease; <sup>6</sup>n.d. - Initiale Serologie nicht durchgeführt; <sup>8</sup>HA - Harn; <sup>9</sup>RF - Rachenspülflüssigkeit; <sup>10</sup>SE - Serum; <sup>11</sup>EP - EDTA-Plasma; <sup>12</sup>HLH - hämophagozytische Lymphohistiozytose; <sup>13</sup>EDTA - keine Unterscheidung zw. Blut u Plasma möglich; <sup>14</sup>ha/paGVHD - hyperakute/perakute Graft vs. Host-Disease; <sup>15</sup>LI - Liquor; <sup>16</sup>RS - Rachenspülflüssigkeit; <sup>19</sup>aGvHD – akute Graft vs. Host-Disease;  
<sup>17</sup>Magenbiopsie (EBV positiv);  
<sup>18</sup>endoskopische bioptische Untersuchungen des Magen/Darmtraktes sowie der Mundschleimhaut zeigten im Bereich der Mundschleimhaut Zeichen einer cGVHD, die restliche Schleimhaut des GI-Traktes war unauffällig;

#### 4.10 Parvovirus B19

Initial wurde bei 19 der 26 Patienten (73,08%) eine Serologie auf PVB19 durchgeführt. Diese war bei 13/19 (68,42%) positiv

Insgesamt lagen uns 910 PVB19-PCR-Screeningbefunde bei 26 Patienten vor (7-107, median 32 Befunde pro Patient), wobei 8 der 26 Patienten (30,77%) mit 30/910 Befunden (3,30%) einen positiven PCR DNA-Nachweis hatten.

1. Bei 4 der 26 Patienten (15,38%) wurde dies als PVB19-Reaktivierung interpretiert, da hier eine positive Initialserologie auf PVB19-IgG vorhanden war.
2. Bei keinem Patienten konnte eine Erstinfektion festgestellt werden.
3. Bei 4 Patienten (15,38%) konnte nicht zwischen einer Reaktivierung und einer Erstinfektion unterschieden werden, da keine initiale Serologie durchgeführt worden war.
4. 18 von 26 Patienten (69,23%) waren während des Screenings ohne einen Virus-DNA positiven PCR-Befund.

Pat.nr.	Initiale Serologie	Screeningdauer <sup>1</sup>	Anz. PCR-Screeningbef.			Probenmat. der pos. Befunde	Klinik <sup>2</sup>
			gesamt	pos.	% pos.		
1	positiv	36	53	8	15,09%	S0 <sup>3</sup> , BM <sup>4</sup> , KM <sup>5</sup>	1 pos. Befund bei late graft failure 7 pos. Befunde 12 bei cGVHD6
4	n.d. <sup>7</sup>	10	37	2	5,41%	S0 <sup>3</sup> , EP <sup>8</sup>	1 pos. Befund bei verzögertem Engraftment 1 pos. Befund ohne Klinik
8	n.d.	31	107	1	0,93%	S2 <sup>3</sup>	1 pos. Befund bei aGVHD <sup>9</sup>

10	positiv	12	23	1	4,35%	EP	1 pos. Befund bei protrahierter Aplasiephase nach HAM-Block
12	positiv	6	11	3	27,27%	SE <sup>10</sup> , EP	1 pos. Befund bei milder Hämolyse 2 pos. Befunde ohne Klinik
13	positiv	4	20	5	25,00%	EP, S1 <sup>3</sup> , S2 <sup>3</sup>	4 pos. Befunde bei protrahierter Myelodepression
15	n.d.	13	53	1	1,89%	EP	1 pos. Befund bei HLH <sup>11</sup> 2 pos. Befunde bei makulopapulösem urticariellem Exanthem, gefolgt von einer Phase der protrahierten Myelosuppression
22	positiv	7	30	9	30,00%	EP	7 pos. Befunde bei protrahierter Myelodepression

<sup>1</sup>Screeningdauer angegeben in Monaten; <sup>2</sup>Klinik - versuchte klinische Korrelation der pos. PCR-Befunde; <sup>3</sup>S0, S1, S2 - Sondermaterialien (Mundschleimhaut, Knochenmarkstanze, Leberbiopsie, Rectum-/Ösophagusbiopsie, Duodenalbiopsie, Magenbiopsie); <sup>4</sup>BM - Biopsiematerial (Knochenmarkbiopsie, Beckenkammstanze); <sup>5</sup>KM - Knochenmark; <sup>6</sup>cGVHD - chronische Graft vs. Host-Disease; <sup>7</sup>n.d. - initiale Serologie nicht bestimmt; <sup>8</sup>EP - EDTA Plasma; <sup>9</sup>aGVHD - akute Graft vs. Host-Disease; <sup>10</sup>SE - Serum; <sup>11</sup>HLH - hämophagozytische Lymphohistiozytose;

<sup>12</sup>Magenbiopsie (EBV positiv);

<sup>18</sup>endoskopische biopsische Untersuchungen des Magen/Darmtraktes sowie der Mundschleimhaut zeigten im Bereich der Mundschleimhaut Zeichen einer cGVHD, die restliche Schleimhaut des GI-Traktes war unauffällig;

#### 4.11 Varizella-Zoster-Virus

Initial wurde bei 15 der 26 Patienten (57,69%) eine Serologie auf VZV durchgeführt. Diese war bei 11/15 (73,33%) positiv.

Insgesamt lagen uns 481 VZV-Screeningbefunde bei 21 Patienten vor (4-86, median 19 Befunde pro Patient), wobei 2 der 21 Patienten (9,52%) mit 2 von 481 Befunden (0,42%) einen positiven PCR DNA-Nachweis hatten.

1. Bei 2 der 21 Patienten (9,52%) wurde dies als VZV-Reaktivierung interpretiert, da hier eine positive Initialserologie auf VZV-IgG vorhanden war.
2. Bei keinem Patienten konnte eine Erstinfektion festgestellt werden.
3. 19 von 21 Patienten (90,47%) waren während des Screenings ohne einen Virus-DNA positiven PCR-Befund.

Pat.nr.	Initiale Serologie	Screeningdauer <sup>1</sup>	Anz. PCR-Screeningbef.		Probenmat. der pos. Befunde	Klinik <sup>2</sup>
			gesamt	pos. % pos.		
19	positiv	6	41	1 2,44%	EDTA <sup>3</sup>	1 pos. Befund ohne Klinik
22	positiv	7	24	1 4,17%	EP <sup>4</sup>	1 pos. Befund ohne Klinik

## **4.12 Hämophagozytische Lymphohistiozytose**

Unter der hämophagozytischen Lymphohistiozytose (HLH) versteht man eine Erkrankung der Histozyten, die gekennzeichnet ist durch eine non-maligne Expansion von Makrophagen aufgrund einer verstärkten Ausschüttung von Zytokinen und einer ausgelösten Hämophagozytose.(56,57)

Es handelt sich dabei um eine ineffektive systemische inflammatorische Reaktion auf ein Antigen, die bei den primären Formen auf einem Perforindefekt von aktivierten CD8+ T-Zellen oder natürlichen Killerzellen beruht.

Weitere pathophysiologischen Grundmechanismen beruhen auf einer Hyperproliferation und Aktivierung von zytotoxischen T-Lymphozyten und Makrophagen sowie einer Hyperzytokinämie.(56)

Die HLH wird in eine primäre und eine sekundäre Form eingeteilt.

Die primäre HLH wird typischerweise bei Kinder manifest, die unter einer Funktionsstörung der natürlichen Killerzellen und T-Zellen leiden, welche durch genetische Veränderungen verursacht werden.

Die sekundäre Form tritt bei Infektionen oder bei malignen Erkrankungen auf, ohne dass eine genetische Komponente gefunden werden kann.(58)

Veränderte Laborbefunde, die auf eine HLH hinweisen, sind unter anderem eine Hypertriglyzeridämie, vor allem erhöhte Werte von Ferritin, TNF- $\alpha$ , löslichem Interleukin-2-Rezeptor (sIL-2-R) sowie eine Zytopenie.

Guidelines weisen darauf hin, dass HLH gefährdete Patienten (hämato-/onkologische Patienten) auf antivirale Antigen wie EBV, CMV, PVB19 und HHV6 gescreent werden sollten.(59)

In unserer Studie wurden alle oben genannte Viren und zusätzlich ADV, HSV und VZV gescreent.

Bis auf VZV konnten alle anderen gescreenten Viren mit HLH-Episoden in Verbindung gebracht werden.

<b>Tabelle 15 - HLH-Episoden während des Screenings</b>		
<b>Virus<sup>1</sup></b>	<b>Pat.nr.<sup>2</sup></b>	<b>Anzahl der HLH Episoden</b>
Adenovirus	15	2
	17	2
	21	1
Polyoma BK-Virus	8	1
	15	2
	17	2
Cytomegalie-Virus	21	1
	26	1
	Humanes Herpesvirus Typ 6	3
15		1
Herpes Simplexvirus		3
Epstein-Barr Virus	15	1
	19	1
Parvovirus B19	15	1
Varizella Zoster Virus	0	0

Das BK-Virus konnte bei 4 Patienten während einer Viruspositivität mit einer HLH in Verbindung gebracht werden.

Das ADV wurde bei 3 Patienten während einer HLH-Episode festgestellt.

Mit einer Viruspositivität bei 2 Patienten konnte das HHV6 in unsere Studie am Dritthäufigsten mit einer HLH assoziiert werden.

Bei 1 Patienten zeigten CMV, HSV, EBV, und PVB19 eine Viruspositivität.

<sup>1</sup>Alle in der Studie gescreenten Viren

<sup>2</sup>Patienten die bei denen eine HLH-Episode festgestellt werden konnte

Tabelle 16 gibt einen Überblick des Zeitpunktes der Virusreaktivierung/-infektion bezogen auf das Auftreten einer HLH.

<b>Tabelle 16 - zeitlicher Verlauf zw. Virusreakt./-inf. und Auftreten der hämophagozytischen Lymphohistiozytose</b>			
<b>Pat.nr.</b>	<b>Viren</b>	<b>Virusinf./-reaktivierung</b>	<b>Zeitpunkt d. Reakt./Inf.<sup>9</sup></b>
3	HHV6 <sup>1</sup>	infiziert	davor
	HSV <sup>2</sup>	infiziert	davor
8	BKV <sup>3</sup>	keine init. Serologie <sup>8</sup>	davor
15	ADV <sup>4</sup>	keine init. Serologie	danach
	BKV	keine init. Serologie	davor

	HHV6	keine init. Serologie	danach
	EBV <sup>5</sup>	keine init. Serologie	davor
	PVB19 <sup>6</sup>	keine init. Serologie	davor
	ADV	reaktiviert	davor
21	BKV	keine init. Serologie	danach
	CMV <sup>7</sup>	reaktiviert	davor

<sup>1</sup>HHV6 - humanes Herpesvirus Typ 6; <sup>2</sup>HSV - Herpes Simplex-Virus; <sup>3</sup>BKV - Polyoma BK-Virus; <sup>4</sup>ADV - Adenovirus; <sup>5</sup>EBV - Epstein Barr-Virus; <sup>6</sup>PVB19 - Parvovirus B19; <sup>7</sup>CMV - Cytomegalievirus; <sup>8</sup>keine initiale Serologie - Unterscheidung zw. Reaktivierung u. Erstinfektion nicht möglich; <sup>9</sup>Zeitpunkt d. Reakt./Inf. - bezogen auf das Auftreten einer HLH;

### 4.13 Graft-versus-Host Disease

Eine Therapieoption bei malignen hämatologischen Erkrankungen ist die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (alloHSZT).

Dabei wird das Knochenmark des Patienten durch jenes des Spenders ersetzt.

Das neue Immunsystem erkennt Tumorzellen und versucht diese auch zu zerstören (Graft-versus-Tumor Reaktion, GVT).

Eine mögliche Komplikation stellt jedoch die GvHD dar, bei der das Spenderimmunsystem körpereigene Gewebe und Zellen als fremd erkennt und angreift.(60)

Eine GvHD stellt ein schwerwiegendes Krankheitsbild dar und ist bei 40 bis 60 % der Pat. nach erfolgter SZT für damit verbundene Komplikationen verantwortlich.(61)

Die akute GvHD befällt den GI-Trakt, die Leber und die Haut, als Ursache wird eine Störung der Spender-T-Lymphozyten und der Spender-/Empfänger T-Helferzellen diskutiert.

Wenn sich eine GvHD am Tag 100 nach SZT manifestiert, spricht man von einer chronischen GvHD. Auch bei dieser Form der GvHD sind die ursächlichen Mechanismen noch nicht vollständig geklärt, vermutet wird u.a. das Zusammenspiel der durch Th1- und Th17-Zellen ausgeschütteten Zytokine mit Autoantikörpern.(62)

Vor kurzem hat das National Institute of Health (NIH) die GvHD in weitere Unterkategorien unterteilt.

Die akute GvHD wird nun in die klassische akute GvHD (Erythem, GI-Symptome, Hepatitis) und die late-onset GvHD, die 100 Tage nach einer SZT auftreten kann, eingeteilt.

Die chronische GvHD wird in die klassische GvHD, die weiterhin mit den typischen chronischen GvHD Symptomen assoziiert ist (Veränderungen der Mundschleimhaut, Lunge, Nägel u. Haare, etc.), eingeteilt und in ein Overlap Syndrom, bei dem Symptome der klassischen akuten sowie chronischen GvHD auftreten können.(63)

Ob eine GvHD als chronisch oder akut eingeteilt wird, ist nun letztendlich eine reine klinische Diagnose.

Neben anderen Immunsuppressiva (Interleukin-2-Rezeptorblocker, Anti-TNF $\alpha$ -Antikörper, Methotrexat, etc.) bleibt die Gabe von Steroiden ein wichtiger Bestandteil bei der Therapie einer GvHD. Spezifischere Therapieoptionen werden jedoch dringend benötigt, vor allem wegen der häufig steroidresistenten cGvHD. Initial sollte eine höhere Steroiddosierung erfolgen, die anschließend wieder reduziert werden kann. Guidelines bezüglich der optimalen Dosisreduktion existieren leider noch nicht.(64)

Die fragliche Effektivität einer Langzeitgabe von Prednisolon konnte widerlegt werden.(65)

Die aktuelle Therapie basiert also auf einem globalen Eingriff des T-Zellsystems und zeigt negative Auswirkungen auf die graft-versus-tumor (GVT) Reaktion und die Wiederherstellung eines funktionellen Spenderimmunsystems.

Daher sollte nach selektiveren Therapiestrategien, beispielsweise durch eine Modulation der alloreaktiven T-Zellaktivierung, geforscht werden um die globale Immunsuppression bei einer systemischen Steroidgabe zu verhindern.

Ziel der GvHD-Therapie ist deren Suppression ohne dabei die GVT-Reaktion zu beeinflussen.(66)

Die GvHD ist mit Virusinfektionen assoziiert (67) und konnte auch im Rahmen unserer Studie bei 6 der 26 Patienten (23,08%) diagnostiziert werden, wobei bei 5 Patienten zeitgleich eine Virusreaktivierung/-erstinfektion festgestellt werden konnte.

- zwei Patienten (33%) hatten eine akute GvHD
  - Pat. 12: Bei Reaktivierung/Erstinfektion von BKV (Unterscheidung wegen unvollständige Initialserologie nicht möglich)

- Pat. 26: Bei Reaktivierung von CMV, sowie Reaktivierung/Erstinfektion von BKV
- ein Patient (17%) hatten eine hyper-/perakute GvHD
  - Pat. 17: Bei Reaktivierung von EBV
- drei Patienten (50%) hatten eine chronische GvHD
  - Pat.1: Bei Reaktivierung von ADV, HHV6 und PVB19
  - Pat. 7: Bei Reaktivierung von CMV
  - Pat. 8: Bei Reaktivierung von CMV, sowie Reaktivierung/Erstinfektion von BKV, EBV, HHV6 und PVB19 (unvollständige Initialserologie)
- ein Patient (Pat. 15) der übrigen 20 Patienten (5%) zeigte ohne mögliche Virusassoziation Zeichen einer GvHD (akute bzw. chronische Haut-GvHD)

Tabelle 17 gibt einen Überblick darüber ob eine Virusreaktivierung/-infektion vor oder nach dem Auftreten einer GvHD beobachtet werden konnte.

<b>Tabelle 17 – Zeitlicher Verlauf zw. Virusreakt./inf. und Auftreten der Graft vs. Host-Disease</b>			
<b>Pat.nr.</b>	<b>Viren</b>	<b>Virusinf./-reaktivierung</b>	<b>Zeitpunkt d. Reakt./Inf.<sup>8</sup></b>
1	ADV <sup>1</sup>	reaktiviert	danach
	HHV6 <sup>2</sup>	reaktiviert	danach
	PVB19 <sup>3</sup>	reaktiviert	danach
7	CMV <sup>4</sup>	reaktiviert	danach
8	BKV <sup>5</sup>	keine init. Serologie <sup>7</sup>	danach
	CMV	reaktiviert	danach
	HHV6	keine init. Serologie	danach
	EBV <sup>6</sup>	keine init. Serologie	danach
	PVB19	keine init. Serologie	danach
12	BKV	keine init. Serologie	davor
17	EBV	reaktiviert	danach
26	BKV	keine init. Serologie	danach
	CMV	reaktiviert	danach

<sup>1</sup>ADV - Adenovirus; <sup>2</sup>HHV6 - humanes Herpesvirus Typ 6; <sup>3</sup>PVB19 - Parvovirus B19; <sup>4</sup>CMV - Cytomegalievirus; <sup>5</sup>BKV -

Polyoma BK-Virus; <sup>6</sup>EBV - Epstein Barr-Virus; <sup>7</sup>keine initiale Serologie - Unterscheidung zw. Reaktivierung u. Erstinfektion nicht möglich; <sup>8</sup>Zeitpunkt d. Reakt./Inf. - bezogen auf das Auftreten einer GvHD;

#### 4.14 Protrahierte Myeloaplasie

Eine Chemotherapie wirkt direkt auf Stammzellen und resultiert daher häufig in einer Anämie, Thrombopenie und Leukopenie. Was einen limitierenden oder sogar tödlichen Faktor im Rahmen einer Tumortherapie darstellen kann.(68)

Eine Studie von Blay et al. hat gezeigt, dass die Knochenmarkstoxizität der Chemotherapie vor allem von der Dosierung stark abhängig ist.(31)

Die protrahierte Myelosuppression wird nicht nur allein durch die Chemotherapie verursacht, sondern es sind weitere supprimierende Mechanismen beteiligt. (69)

Eine von Broxmeyer et al. durchgeführte Studie konnte verschiedene Chemokine identifizieren, die nicht nur am Migrations- und Proliferationsprozess beteiligt sind, sondern die zusätzlich durch supprimierende Aktivität die HPSZ beeinflussen können.(70)

Im Rahmen unserer Studie konnten wir bei 12 der ausgewerteten 26 Patienten (46,15%) eine protrahierte Myelosuppression im Zusammenhang mit Virusreaktivierungen feststellen (siehe Tabelle 17).

Tabelle 18 zeigt den Versuch eine Korrelation zwischen Zeitpunkt der Virusreaktivierung/-infektion und dem Auftreten der Myelosuppression.

In Tabelle 19 wird die Häufigkeit der Virusreaktivierung/-infektion während einer Myelosuppression gezeigt.

<b>Tabelle 18 - Zeitpunkt zw. Virusreakt./inf. Und Auftreten der korrelierten Myelosuppression</b>			
<b>Pat.nr.</b>	<b>Viren</b>	<b>Virusinf./-reaktivierung</b>	<b>Zeitpunkt d. Reakt./Inf.<sup>8</sup></b>
1	HHV6 <sup>1</sup>	reaktiviert	vorher
	PVB19 <sup>2</sup>	reaktiviert	vorher
6	HHV6	infiziert	nachher
8	ADV <sup>3</sup>	keine init. Serologie <sup>7</sup>	vorher
	CMV <sup>4</sup>	reaktiviert	vorher

	EBV <sup>5</sup>	keine init. Serologie	vorher
10	PVB19	reaktiviert	vorher
13	PVB19	reaktiviert	vorher
15	BKV <sup>6</sup>	keine init. Serologie	vorher
17	ADV	reaktiviert	nachher
	HHV6	infiziert	nachher
20	BKV	keine init. Serologie	nachher
21	ADV	reaktiviert	vorher
	CMV	reaktiviert	vorher
22	PVB19	reaktiviert	vorher
24	EBV	keine init. Serologie	nachher
25	BKV	keine init. Serologie	nachher

<sup>1</sup>HHV6 - humanes Herpesvirus Typ 6; <sup>2</sup>PVB19 - Parvovirus B19; <sup>3</sup>ADV - Adenovirus; <sup>4</sup>CMV - Cytomegalievirus; <sup>5</sup>EBV - Epstein Barr-Virus; <sup>6</sup>BKV - Polyoma BK-Virus; <sup>7</sup>keine init. Serologie - keine Unterscheidung zw. Reaktivierung/Erstinfektion möglich; <sup>8</sup>Zeitpunkt d. Reakt./Inf. - bezogen auf die Myelosuppressionsphasen;

**Tabelle 19 - Häufigkeit der Virusreakt./-inf. während einer Myelosuppression**

Virus	Häufigkeit d. Reakt./Inf.	Pat.nr.
ADV1	3	8, 17, 21
CMV2	2	8, 21
BKV3	3	15, 20, 25
HHV64	3	1, 6, 20
EBV5	2	8, 24
PVB196	4	1, 10, 13, 22

<sup>1</sup>ADV - Adenovirus; <sup>2</sup>CMV - Cytomegalievirus; <sup>3</sup>BKV - Polyoma BK-Virus; <sup>4</sup>HHV6 - humanes Herpesvirus Typ 6; <sup>5</sup>EBV - Epstein Barr-Virus; <sup>6</sup>PVB19 - Parvovirus B19;

## 4.15 Hämorrhagische Cystitis

In unserer Studie konnte bei einem (Patient 8) der 26 Patienten (3,85%) eine hämorrhagische Cystitis bei St. p. allogener SZT und zeitgleicher BK-Viruspositivität im Harn festgestellt werden. Zu diesem Zeitpunkt wurden bei diesem Patienten keine BKV-DNA-Blutuntersuchungen durchgeführt, weitere Virusinfektionen/-reaktivierungen wurden nicht bei HC gefunden.

## 5 Diskussion

### 5.1 AML und Virusinfektionen

Ziel der Diplomarbeit war es, zu untersuchen, wie oft bestimmte Viren unter der laufenden Therapie nachgewiesen werden konnten, ob Symptome mit viralen Infektionen und Reaktivierungen korreliert werden können und in wieweit ein Screening auf virale Aktivität sinnvoll ist.

Da sowohl die AML als auch die AML-Therapie zu einer Immundefizienz führen, ist es naheliegend, dass es konsekutiv zum Auftreten von Virusinfektionen/-reaktivierungen kommt.

Durch das an der PHO durchgeführte Screening, konnte untersucht werden wie oft bei unserem Patientengut Viren reaktiviert/erstinfiziert wurden. Wie im Kapitel Ergebnisse in den einzelnen Viruskapiteln bereits gezeigt wurde, kommt es während der Therapiedauer sehr häufig zu Reaktivierungen / (Erst-)Infektionen. Im Rahmen unserer Studie konnte zwischen klinischen Symptomen und Virusinfektionen ein Zusammenhang gesehen werden (GvHD, HLH, Myelodepression, hämorrhagische Cystitis und weitere).

Obwohl der Zusammenhang zwischen Virusinfektionen/-reaktivierungen als Kausalitätsfaktor der assoziierten einzelnen klinischen Zustandsbildern leider weiterhin unklar bleibt.

Es bleibt also fraglich ob die klinischen Zustandsbilder durch die gescreenten Viren getriggert werden oder ob die kl. Symptome eine Virusinfektion/-reaktivierung begünstigen können.

Die GvHD, HLH, protrahierte Myeloaplasie sowie hämorrhagische Cystitis stellen schwerwiegende Komplikationen dar und wurden im Rahmen unserer Studie bei mehreren Pat. beobachtet.

Im Rahmen dieser Komplikationen kann es auch zu Todesfällen kommen. Entweder aufgrund einer durch Viren getriggerten Komplikation mit folgender Verschlechterung des Allgemeinzustandes oder auch wegen einer deshalb notwendigen Therapieunterbrechung/-verzögerung.

Wobei die hämorrhagische Cystitis ein prinzipiell eher weniger bedrohliches Zustandsbild darstellt.

Ein weiteres zu beachtendes Merkmal im Sinne der wirtschaftlichen Rechtfertigung stellt die Frage nach der Finanzierbarkeit eines wöchentlich durchgeführten Screenings dar. Im Rahmen des durchgeführten Screening konnte bei unklaren Allgemeinzustandsverschlechterungen oder Blutbildveränderungen aufgrund von neu aufgetretenen Virus-DNA-Positivitäten bei sonst unauffälligen Befunden frühzeitig mit supportiven antiviralen Therapiestrategien reagiert werden, was sich letztendlich durch eine Verbesserung der klinischen Situation/Outcomes unserer Patienten auswirken kann.

Es gibt jedoch leider keine Richtlinien bzw. Daten, ab welchem Zeitpunkt bzw. mit welchen Medikamenten am besten therapiert werden sollte. Hier kann lediglich basierend aufgrund von Erfahrungswerten und einzelnen Fallberichten eine für den individuell vorliegenden Fall optimale Therapiestrategie herangezogen werden.

Wenn es an Abteilungen, welche virologisches Screening nicht routinemäßig durchführen, zu oben angeführten klinischen Komplikationen oder zum Auftreten von korrelierten Symptomen kommt, sollte in jedem Fall an eine mögliche Virusinfektion/-reaktivierung gedacht und eine entsprechende Diagnostik eingeleitet werden.

### **5.1.1 DNA-Viruspositivität der Patienten im Therapieverlauf**

24 der 26 Patienten (92,31%) hatten mindestens einen positiven Virusbefund während des Therapieverlaufs.

Nur bei zwei der 26 Patienten (7,69%) wurde im Screening während der Therapie kein Virus nachgewiesen.

Bezüglich der Häufigkeitsverteilung konnte im Screening gezeigt werden, dass das BKV am häufigsten mittels PCR nachgewiesen wurde (14-mal bei 22 (63,64%) Patienten).

Gefolgt vom HHV6, das am zweithäufigsten nachgewiesen werden konnte (15-mal bei 26 (57,69%) Patienten).

Am dritthäufigsten wurde in unserem Screening das EBV nachgewiesen (13-mal bei 26 (50%) Patienten).

Eine ähnliche Häufigkeitsverteilung konnte bei ADV (9-mal bei 26 (34,62%) Patienten), PVB19 (8-mal bei 26 (30,77%) Patienten) und CMV (6-mal bei 26 (23,08% der Patienten) nachgewiesen werden.

Am seltensten wurde VZV (2-mal bei 21 (9,52%) Patienten) und HSV (1-mal bei 23 (4,35%) Patienten) nachgewiesen, wobei diese 2 Viren generell am wenigsten häufig gescreent wurden.

In einer von de Pagter et al. publizierten Studie, wurde das Auftreten von viralen Reaktivierungen bei 58 Patienten, im Gegensatz zu unserer Studie, nur nach SZT untersucht. In dieser prospektiven Studie wurde CMV, EBV, HHV6 und ADV-Virus DNA mittels PCR wöchentlich bis 16 Wochen nach SZT bestimmt.

De Pagter et al. konnten für die meisten Viren ähnliche Häufigkeiten feststellen wie wir in unserer Analyse, lediglich bei BKV zeigte sich in unserer Kohorte eine höhere Nachweis-Rate (siehe Tabelle 20).(67)

<b>Tabelle 20 - Vergleich der prozentuellen Häufigkeit zwischen der von de Pagter et al.- und der Diplomarbeitstudie</b>		<b>ADV<sup>1</sup></b>	<b>BKV<sup>2</sup></b>	<b>CMV<sup>3</sup></b>	<b>EBV<sup>4</sup></b>	<b>HHV6<sup>5</sup></b>
Häufigkeit	de Pagter et al. <sup>6</sup>	22%	28%	33%	48%	67%
d. Reakt. in %	Diplomarbeit- studie	19,23%	63,64% <sup>7</sup>	19,23%	23,08%	15,38%

<sup>1</sup>ADV - Adenovirus; <sup>2</sup>BKV - Polyomavirus BK; <sup>3</sup>CMV - Cytomegalievirus; <sup>4</sup>EBV - Epstein Barr-Virus; <sup>5</sup>HHV6 - humanes Herpesvirus Typ 6; <sup>6</sup>in der Studie von de Pagter et al. wurden trotz fehlendem Serostatus pos. PCR-Befunde als Reaktivierung gewertet; <sup>7</sup>pos. BKV-Befunde wurden von uns ebenfalls als Reaktivierung gewertet;

Im Gegensatz zur Studie von de Pagter, bei der ohne Berücksichtigung des initialen Serostatus alle pos. PCR-Befunde als Reaktivierung gewertet wurden, wird in unserer Studie deutlich, dass es im Therapieverlauf wesentlich häufiger zur Reaktivierungen als zu Primärinfektionen kommt (siehe Tabelle 4, Kapitel 4). Lediglich bei HHV6 kam es häufiger zu Primärinfektionen als zu Reaktivierungen. Vor allem mit einer BKV-Reaktivierung/-Erstinfektion kann im Laufe einer Therapie gerechnet werden (in ca. 63%). Eine EBV-Reaktivierung, als auch die Reaktivierung von ADV und CMV können laut Studienergebnissen in relativ ähnlicher Wahrscheinlichkeit (in ca. 19-23% der Fälle) angenommen werden. Eine Reaktivierung von HHV6, PVB19 und VZV scheinen eher seltener (in ca. 9-15% der Fälle) vorzukommen. Obwohl jedoch das HHV6 eine Ausnahme unter allen gescreenten Viren darstellt, hier ist die Primärinfektion gegenüber der Reaktivierung vorherrschend. Für das HSV konnten wir keine einzige Reaktivierung feststellen, vergleichbar konnten für PVB19 und VZV keine Primärinfektionen festgestellt werden. Die Häufigkeit der positiven Virusnachweise zeigt die Relevanz von Virus-Infektionen bzw. Reaktivierungen während der Therapie einer AML.

## **5.1.2 Klinische Symptome die während einer Virusaktivität beobachtet werden konnten**

Eine *HLH*, *GvHD* und *Myelosuppression* konnten mehrfach mit einer Viruspositivität korreliert werden.

### **5.1.2.1 Hämophagozytische Lymphohistiozytose**

Ein Zusammenhang zwischen Infektionen und den Vorkommen von HLH gilt, neben anderen Ursachen, als wahrscheinlich. Besonders gut untersucht ist der Zusammenhang zwischen einer EBV-Infektion und einer HLH.

In einer von Fisman D.N. et al. spricht der Autor von einer EBV-assoziierten klonalen Proliferation von T-Lymphozyten, mit einer darauf folgenden exzessiven Aktivierung von Makrophagen, welches schwierig von einem T-Zelllymphom abzugrenzen ist und somit auch eine maligne Erkrankung imitieren kann.(59)

Eine in Japan von Suzuki N. et al. durchgeführte Studie, konnte sogar einen Zusammenhang zwischen HSV-Infektionen und HLH bei Neugeborenen feststellen.(71)

Weitere Viren, die mit einer HLH assoziiert werden konnten, sind Hepatitis Viren, Adenoviren, Masern, Mumps, Röteln, Dengue- und Hantaviren.(72)

Es ist also möglich eine HLH mit viralen Infektionen v.a. aus der Familie der Herpesviridae in Verbindung zu bringen, dabei sind CMV und EBV als triggernde Viren vorherrschend.(58)

Im Rahmen unserer Studie konnten wir immerhin bei zwei EBV-PCR-positiven Patienten eine HLH beobachten.

Außerdem konnten wir die von Suzuki N., Rouphael N.G. und Rosado F.G. (58) beobachteten Assoziation zwischen Virusinfektionen (HSV, ADV, CMV sowie EBV) und einer HLH bei unseren Patienten mit ADV-, CMV-, EBV- HSV- Infektion/Reaktivierung ebenfalls bestätigen, da in unserem Screening analog zu den oben genannten Studien bei ADV, CMV, EBV, und HSV sowie zusätzlich bei BKV, HHV6 und PVB19 eine Virusaktivität während einer HLH-Episode beobachtet werden konnte. Die HLH konnte somit bei 7 von 8 gescreenten Viren (87,50%) häufig mit einer Virusreaktivierung/-infektion in Verbindung gebracht werden.

Bezüglich der Häufigkeitsverteilung der einzelnen Viren, sei auf Tabelle 14 im Kapitel 4.12 Hämophagozytische Lymphohistiozytose verwiesen.

Karras A. et al. und Abdelkefi A. et al. konnten in ihren Studien eine Assoziation zwischen HLH und iatrogener Immunsuppression nach Nierentransplantation und Stammzellentransplantation feststellen.(73,74)

Im Rahmen unserer Studie konnte bei 3 der 12 Patienten, die eine Stammzellentransplantation erhielten, eine HLH diagnostiziert werden.

Wichtig ist zu beachten, dass wir im Gegensatz zur aktuellen Literatur im Rahmen unserer Studie insgesamt sogar bei 4 der 26 Patienten (15,38%) eine BKV-Infektion/-Reaktivierung in Assoziation mit einer HLH beobachten konnten.

Soweit es uns bekannt ist, wird eine solche Assoziation in der Literatur bisher nur in 2 Einzelfallberichten bei Zustand nach Nierentransplantation berichtet.(75,76)

Überraschend war doch die relativ häufige BKV-Virusaktivität (bei Patient 8 waren von 125 BKV-Befunden sogar 64 Befunde positiv (davon 57 positive Harnbefunde (89,06%) und immerhin 7 positive Plasmabefunde (10,94%)), was folgend mit 51,2% sogar mehr als die Hälfte entspricht;

bei Patient 15 waren ähnlich zu Patient 8 von 73 BKV-Befunden 31 Befunde positiv (hier ergaben sich 27 Harnbefunde (87,10%) und 4 positive Plasmabefunde (12,90%));

bei Patient 17 waren von 74 Befunden nur 12 Befunde (16,22%) positiv, wobei davon alle 12 Befunde positive Harnbefunde waren;

bei Patient 21 lagen uns 80 Befunde vor, wovon lediglich 2 Befunde (2,5%) positiv waren, wie bei Patient 17 lagen uns auch hier nur Harnbefunde vor).

Obwohl das BKV in Verbindung mit einer HLH in der Literatur noch kaum beschrieben ist, ist es aufgrund der relativen Häufigkeit bei unserer Kohorte - gerechtfertigt, bei einem positiven BKV-Screeningbefund an die Möglichkeit eines möglichen Triggers einer HLH zu denken.

Interessant ist auch die Tatsache, dass bei allen HLH-Patienten die Viruspositivität überwiegend vor dem Auftreten der HLH beobachtet werden konnte, was eine mögliche Triggerung durch Viren nur weiter unterstreicht.

Zusammenfassend sei gesagt, dass es wichtig ist, das ursprünglich infektiöse Antigen rechtzeitig zu erkennen und zu therapieren, um dem Fortschreiten der HLH entgegenzuwirken zu können.(59)

### **5.1.2.2 Graft-versus-Host Disease**

Virusaktivität während einer GvHD zeigten die Viren ADV, BKV, CMV, EBV, HHV6 und PVB19 (6 der 8 gescreenten Viren, 75%).

Eine GvHD wurde bei 6 der 26 Patienten (23,08%) mit Virusassoziation diagnostiziert.

Ein Patient hatte ohne Virusassoziation eine GvHD, dem gegenüber stehen die oben genannten 6 Patienten mit einer nachgewiesenen Virusaktivität.

Neben der Myelosuppression, die ja prinzipiell durch die zytostatische Therapie verursacht wird, war die GvHD das häufigste Krankheitsbild, das wir in unserer Studie im Zusammenhang mit einer Virus-(Re-)Aktivierung beobachten konnten. Eine Assoziation zwischen GvHD und Herpesviridae, die ja ebenfalls bekannt ist, konnten wir uns unserer Studie ebenfalls sehen.

Bei 2 Patienten, die eine chronische GvHD (cGvHD) entwickelten, war eine mehrfache Virusaktivität beobachtbar, eine mögliche Kausalität zwischen mehrfachen Virusreaktivierungen/-infektionen und der Entstehung einer cGvHD wäre durchaus denkbar, bei einem Pat. war eine gleichzeitig in unterschiedlichen Biopsaten nachgewiesene Virusisolierung möglich, was in diesem Fall einen Begleitfaktor für die diagnostizierte cGvHD darstellte. Die übrigen GvHD-Fälle waren alle mit einzelnen Virusreaktivierungen/-infektionen korrelierbar.

Wichtig ist zu beachten, dass hier im Gegensatz zur HLH eine Virusaktivität nach dem Auftreten der GvHD überwiegt, d.h. eine direkte virale Triggerung durch Viren scheint insgesamt eher unwahrscheinlich zu sein.

Es wäre aber denkbar, dass eine GvHD Virusreaktivierungen/-(erst)infektionen eventuell begünstigen kann.

### **5.1.2.3 Myelosuppression**

Virusaktivität während einer Myelosuppression zeigten die Viren ADV, BKV, CMV, EBV, HHV6 und PVB19 (6 der 8 gescreenten Viren, 75%).

Eine Myelosuppression mit einer assoziierten Virusaktivität konnte bei 12 der 26 Patienten (46,15%) beobachtet werden. Hier ist jedoch schon aufgrund einer Zytostatikatherapie mit einer Myelosuppression zu rechnen. In unserer Studie haben wir uns deshalb auf protrahierte Myelosuppression/-aplasiephasen konzentriert.

Wir konnten beobachten, dass länger andauernde Myelosuppressionen häufig mit Viren in Verbindung gebracht werden können.

Zusätzlich wurde hier ähnlich zur HLH eine Virusaktivität eher vor dem Auftreten der protrahierten Myeloaplasiephasen beobachtet.

Was ein erstes virales Screening schon vor Beginn der einzelnen Chemotherapieblöcke sinnvoll erscheinen lässt, damit man sich auf mögliche länger andauernde Aplasiephasen im Vorhinein einstellen bzw. wenn notwendig virustatisch therapieren kann um so die Aplasiephase verkürzen zu können.

#### **5.1.2.4 Hämorrhagische Cystitis**

Die hämorrhagische Cystitis (HC) stellt eine gängige Komplikation nach einer allogenen SZT dar.(77)

Darunter versteht man eine Inflammation der Blase, infektiöser oder non-infektiöser Genese, die mit einer Blutung der Blasenmucosa einhergeht.(78)

Die Symptome variieren je nach Ausprägung zwischen einer Mikrohämaturie, Schmerzen der Blase, Schmerzen während der Miktion, massiver Hämaturie und Nierenversagen.(79)

Neben einer SZT gibt es verschieden medikamentöse Ursachen die zur einer HC führen können, darunter sind beispielsweise Cyclophosphamid, Ifosfamid, Busulphan und Thiotepa.(78)

Aufgrund der SZT ist eine langfristige Immunsuppression notwendig, welche die Patienten anfällig für Infektionen macht, so dass auch virale Pathogene eine HC auslösen können.(77)

Besonders häufig wird die HC dabei durch das Polyoma BK-Virus ausgelöst.(80,81)

Um die HC zu vermeiden, wird eine kontinuierliche Spülung der Blase empfohlen, damit die Blasenwand nicht ständig durch toxische Medikamente angegriffen werden kann.

Als weitere prophylaktische Maßnahmen stehen, die Medikamente Mesna (2-Mercaptoethansulfonat-Natrium), Ciprofloxacin und Cidovovir zur Verfügung. (77)

Eine hämorrhagische Cystitis wurde während einer BKV-Aktivität beobachtet (1 der 8 gescreenten Viren, 12,5%). Es wurde somit bei 1 der 26 Patienten (3,85%) eine HC diagnostiziert.

Die HC wird vorwiegend mit dem BKV in Verbindung gebracht, es hat uns folglich nicht überrascht, dass bei einem Patienten mit BKV-Aktivität eine HC auftrat.

#### **5.1.2.5 Weitere Symptome mit DNA-Viruspositivität**

Eine Pankreatitis / Hepatopathie wurde bei BKV, CMV und EBV Aktivität beobachtet (3 der 8 gescreenten Viren, 37,5%).

Es konnte immerhin bei 3 der 26 Patienten (11,54%) eine Hepatopathie (in einem Fall mit begleitender Pankreatitis) diagnostiziert werden. Was somit ein recht häufiges Zustandsbild im Therapieverlauf darstellt (bei 1 dieser Patienten trat 2 Jahre zuvor eine akute Leber-GvHD auf).

Exantheme konnten bei ADV, CMV und PVB19 beobachtet werden (3 der 8 gescreenten Viren, 37,5%).

Während einer Blastenpersistenz /-progredienz konnte für ADV, EBV und HHV6 eine Virusaktivität festgestellt werden (3 der 8 gescreenten Viren, 37,5%).

Insgesamt kam es leider bei 4 der 26 Patienten (15,38%) zur Blastenpersistenz/-progredienz, was leider eine recht häufige Komplikation bei einer Virus-DNA-Positivität darstellte.

Eine Nierenfunktionsstörung wurde in Assoziation mit Virusaktivitäten bei BKV und HHV6 (2 der 8 gescreenten Viren, 25%) festgestellt.

Eine protrahierte Mucositis konnte während einer HHV6 Aktivität beobachtet werden (1 der 8 gescreenten Viren 12,5%).

Zu einer persistierenden Fieberepisode und einer Gerinnungsstörung kam es während einer EBV Aktivität (1 der 8 gescreenten Viren 12,5%).

Die Ergebnisse der Studie bezogen auf die Kausalitätsfindung bezüglich der oben dargestellten Krankheitsbilder ist leider eher inkonklusiv.

Ob eine Virusreaktivierung/-infektion eher Ursache eines der oben genannten Zustandsbilder ist oder ob sie Folge einer solchen ist, bleibt fraglich.

Dass eine Myeloaplasie virale Reaktivierungen begünstigt, ist eine logische Schlussfolgerung, wie wir in unserer Studie feststellen konnten, könnte eine Myeloaplasie/-suppression aber auch durch virale Einflüsse u. U. sogar aggraviert werden.

### 5.1.3 Virusinfektionen nach Stammzelltransplantation

Wichtig ist zu beachten, dass es nach SZT zum vermehrten Auftreten einer Viruspositivität bzw. zur viralen Reaktivierungen kommt.

Besonders häufig wird diese Art der Virusinfektion für das HHV6 beobachtet.

In einer bereits erwähnten, von de Pagter et al. durchgeführten Studie, wurde das Auftreten von viralen Reaktivierungen nach SZT untersucht.

In dieser Studie konnte für HHV6 bei 67% der Patienten nach SZT eine HHV6-DNA-Viruspositivität festgestellt werden.

Eine Virusreaktivierung in diesem Patientenkollektiv ist häufig und sie konnte auch mit schwerwiegenden Komplikationen assoziiert werden, immerhin wurde bei 83% der in der Studie untersuchten Verstorbenen (15 von 18 verstorbenen Patienten) eine HHV6-Viruspositivität nachgewiesen.(67). In unserer Studie war eine HHV6-Viruspositivität mit graft failure, verzögertem Engraftment, GvHD und Pneumonitis vergesellschaftet.

Ein besonderes Phänomen von HHV-6 ist die Eigenschaft in das humane Genom chromosomal integriert werden zu können (ciHHV-6). ciHHV-6 kann von einem Elternteil (oder auch beiden) vererbt werden. Das Genom findet sich dann in jeder Körperzelle. Die Prävalenz von ciHHV beträgt zwischen 0,2-5 Prozent. Eine von Strenger et al. publizierte Fallbericht konnte bei einem auch in dieser Studie inkludierten Patienten (Pat.nr. 11) eine vermeintliche durch SZT übertragene HHV6 Infektion feststellen. Nach dem Engraftment kam es zu einer persistierenden HHV6 Viruspositivität im durchgeführten PCR-Screening. Es handelte sich dabei jedoch um die Übertragung von Stammzellen eines ciHHV-6 positiven Spenders auf die Empfängerin. In der Studie konnte in allen von dieser ciHHV6 positiven hämatopoetischen Stammzelle abstammenden Zellen, eine HHV6-DNA-Positivität nachgewiesen werden. Sogar Jahre nach abgeschlossener Behandlung, wird im peripheren Blut die HHV6 DNA mit etwa  $10^5$  Kopien/ml nachgewiesen.(82) Auch wenn es Hinweise gibt, dass die integrierte virale DNA transkribiert werden kann (Strenger CMI 2014), ist die klinische Bedeutung dieses Phänomens noch unklar. Der DNA Nachweis alleine ist bei diesen Patienten jedoch sicher nicht bzw. nicht immer mit einer HHV-6 Infektion gleich zu setzen.

## **5.2 Bewertung der Sinnhaftigkeit eines virologischen Screenings**

Unsere Studie hat gezeigt, dass es während einer Therapie sehr häufig zu einer Virusaktivität kommt und das an der PHO durchgeführte Screening daher sinnvoll sein könnte.

Das Screening konzentriert sich vor allem die nach Primärinfektion persistierenden Viren, da diese während einer Immunsupprimierung (Chemotherapie, GvHD-Therapie) reaktivieren können.

Ein so umfassendes Screening, wie es an der PHO in Graz durchgeführt wird, ist im internationalen Vergleich unüblich, wir konnten im Rahmen der Literaturrecherche für pädiatrische Patienten nur eine ähnliche Studie finden (67). Die oben genannten Erkrankungen (GvHD, HLH, hämorrh. Cystitis) stellen schwerwiegende Komplikationen nach einer Chemotherapie bzw. SZT dar und sind nicht selten mit Virusinfektionen assoziiert. Ein kausaler Zusammenhang kann jedoch im Einzelfall nur vermutet werden.

Unabhängig davon, ob es sich um die Ursache oder die Folge klinischer Komplikationen handelt, können durch diese Form des virologischen Screenings virale Infektionen bereits in einem sehr frühen Stadium erkannt werden. So kann frühzeitig eine spezifische antivirale Therapie eingeleitet werden, was Komplikationen verhindern soll. Andererseits gibt es für die meisten viralen Erkrankungen keine allgemeine Guidelines, wann und womit eine Therapie durchgeführt werden soll, da die Wirksamkeit vieler antiviraler Therapien nicht in großen randomisierten Studien belegt ist.

Außerdem hilft das Screening, Viren als mögliche Trigger für spezifische Krankheitsbilder (HLH oder GvHD) zu identifizieren.

Es ist dann möglich, eine durch bestimmte Virusinfektionen getriggerte GvHD oder HLH nicht nur mit Immunsuppressiva zu therapieren, sondern das auslösende Pathogen durch eine antivirale Therapie zu behandeln.

Die Summe dieser maximalen supportiven Maßnahmen soll dazu beitragen, die Prognose von akuten Leukämien und anderen malignen Erkrankungen zu verbessern. Die weitere Verbesserung der Prognose stellt das Hauptziel in der Behandlung maligner Erkrankungen dar und wird wesentlich durch Supportivmaßnahmen wie das Infektionsmanagement beeinflusst.

## 6 Literaturverzeichnis

- (1) O'Donnell MR, Abboud CN, Altman J, Appelbaum FR, Arber DA, Attar E, et al. Acute myeloid leukemia. *J Natl Compr Canc Netw* 2012 Aug;10(8):984-1021.
- (2) Pui CH, Schrappe M, Ribeiro RC, Niemeyer CM. Childhood and adolescent lymphoid and myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004:118-145.
- (3) Christ O, Feuring-Buske M, Hiddemann W, Buske C. Pathobiology of acute myeloid leukemia. *Med Klin (Munich)* 2007 Apr 15;102(4):290-295.
- (4) Cheng J, Sakamot KM. Topics in pediatric leukemia--acute myeloid leukemia. *MedGenMed* 2005 Mar 21;7(1):20.
- (5) Creutzig U, van den Heuvel-Eibrink MM, Gibson B, Dworzak MN, Adachi S, de Bont E, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012 Oct 18;120(16):3187-3205.
- (6) Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz. Deutsches Kinderkrebsregister. Available at: <http://www.kinderkrebsregister.de/dkkr/veroeffentlichungen/auswertungen-im-detail/leukaemien/akute-myeloische-leukaemien/dam110d.html>. Accessed 7/5/2014, 2014.
- (7) Hasserjian RP. Acute myeloid leukemia: advances in diagnosis and classification. *Int J Lab Hematol* 2013 Jun;35(3):358-366.
- (8) Betz BL, Hess JL. Acute myeloid leukemia diagnosis in the 21st century. *Arch Pathol Lab Med* 2010 Oct;134(10):1427-1433.
- (9) Vardiman JW. The World Health Organization (WHO) classification of tumors of the hematopoietic and lymphoid tissues: an overview with emphasis on the myeloid neoplasms. *Chem Biol Interact* 2010 Mar 19;184(1-2):16-20.

- (10) Heilmeyer B, Buske C, Spiekermann K, Bohlander S, Feuring-Buske M, Hiddemann W, et al. Diagnostics, classification and prognostic criteria of acute myeloid leukemia. *Med Klin (Munich)* 2007 Apr 15;102(4):296-308.
- (11) McKenna RW. Multifaceted approach to the diagnosis and classification of acute leukemias. *Clin Chem* 2000 Aug;46(8 Pt 2):1252-1259.
- (12) Bruserud O, Gjertsen BT. New strategies for the treatment of acute myelogenous leukemia: differentiation induction--present use and future possibilities. *Stem Cells* 2000;18(3):157-165.
- (13) Falini B, Tiacci E, Martelli MP, Ascani S, Pileri SA. New classification of acute myeloid leukemia and precursor-related neoplasms: changes and unsolved issues. *Discov Med* 2010 Oct;10(53):281-292.
- (14) Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009 Jul 30;114(5):937-951.
- (15) Creutzig U, Zimmermann M, Bourquin JP, Dworzak MN, Fleischhack G, Graf N, et al. Randomized trial comparing liposomal daunorubicin with idarubicin as induction for pediatric acute myeloid leukemia: results from Study AML-BFM 2004. *Blood* 2013 Jul 4;122(1):37-43.
- (16) Rubnitz JE. How I treat pediatric acute myeloid leukemia. *Blood* 2012 Jun 21;119(25):5980-5988.
- (17) Prasad BV, Schmid MF. Principles of virus structural organization. *Adv Exp Med Biol* 2012;726:17-47.
- (18) Gelderblom HR. Structure and Classification of Viruses - Medical Microbiology - NCBI Bookshelf  
Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 41. Available at:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8174/>. Accessed 3/17/2014, 2014.

- (19) Lodish H, Berk A, Zipursky SL, et al. Viruses: Structure, Function, and Uses - Molecular Cell Biology - NCBI Bookshelf  
Molecular Cell Biology. 4th edition. New York: W. H. Freeman; 2000. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21523/>. Accessed 3/17/2014, 2014.
- (20) Smith AE, Helenius A. How viruses enter animal cells. *Science* 2004 Apr 9;304(5668):237-242.
- (21) Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. Molecular Biology of the Cell. 4th edition. Introduction to Pathogens - Molecular Biology of the Cell - NCBI Bookshelf  
New York: Garland Science; 2002. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26917/>. Accessed 3/17/2014, 2014.
- (22) Radtke K, Dohner K, Sodeik B. Viral interactions with the cytoskeleton: a hitchhiker's guide to the cell. *Cell Microbiol* 2006 Mar;8(3):387-400.
- (23) Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, et al. Maintenance and replication during latency - Human Herpesviruses - NCBI Bookshelf Available at: <http://han.medunigraz.at/han/redbookonline/www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK47400/>. Accessed 3/19/2014, 2014.
- (24) Speck SH, Ganem D. Viral latency and its regulation: lessons from the gamma-herpesviruses. *Cell Host Microbe* 2010 Jul 22;8(1):100-115.
- (25) Nicoll MP, Proenca JT, Efstathiou S. The molecular basis of herpes simplex virus latency. *FEMS Microbiol Rev* 2012 May;36(3):684-705.
- (26) Liu XF, Wang X, Yan S, Zhang Z, Abecassis M, Hummel M. Epigenetic control of cytomegalovirus latency and reactivation. *Viruses* 2013 May 23;5(5):1325-1345.
- (27) Cook CH, Trgovcich J. Cytomegalovirus reactivation in critically ill immunocompetent hosts: a decade of progress and remaining challenges. *Antiviral Res* 2011 Jun;90(3):151-159.

- (28) Grinde B. Herpesviruses: latency and reactivation - viral strategies and host response. *J Oral Microbiol* 2013 Oct 25;5:10.3402/jom.v5i0.22766. eCollection 2013.
- (29) American Academy of Pediatrics. Adenovirus Infections — Red Book® Online Available at:  
<http://aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC133.short>. Accessed 3/13/2014, 2014.
- (30) Hierholzer JC. Adenoviruses in the immunocompromised host. *Clin Microbiol Rev* 1992 Jul;5(3):262-274.
- (31) Wy Ip W, Qasim W. Management of adenovirus in children after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Adv Hematol* 2013;2013:176418.
- (32) American Academy of Pediatrics. Cytomegalovirus Infection — Red Book® Online Available at:  
<http://aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC173.short>. Accessed 3/11/2014, 2014.
- (33) Emery VC. Cytomegalovirus: recent progress in understanding pathogenesis and control. *QJM* 2012 May;105(5):401-405.
- (34) Rafailidis PI, Mourtzoukou EG, Varbobitis IC, Falagas ME. Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virology* 2008 Mar 27;5:47-422X-5-47.
- (35) La Rosa C, Diamond DJ. The immune response to human CMV. *Future Virology* 2012 Mar 1;7(3):279-293.
- (36) Chen MR. Epstein-barr virus, the immune system, and associated diseases. *Front Microbiol* 2011 Jan 26;2:5.
- (37) Odumade OA, Hogquist KA, Balfour HH, Jr. Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. *Clin Microbiol Rev* 2011 Jan;24(1):193-209.

(38) American Academy of Pediatrics. Epstein-Barr Virus Infections — Red Book® Online Available at:  
<http://aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC178.short>. Accessed 3/13/2014, 2014.

(39) Caselli E, Di Luca D. Molecular biology and clinical associations of Roseoloviruses human herpesvirus 6 and human herpesvirus 7. *New Microbiol* 2007 Jul;30(3):173-187.

(40) American Academy of Pediatrics. Human Herpesvirus 6 (Including Roseola) and 7 — Red Book® Online Available at:  
<http://aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC200.body>. Accessed 3/13/2014, 2014.

(41) Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev* 2002 Jul;15(3):485-505.

(42) Servey JT, Reamy BV, Hodge J. Clinical presentations of parvovirus B19 infection. *Am Fam Physician* 2007 Feb 1;75(3):373-376.

(43) American Academy of Pediatrics. Parvovirus B19 — Red Book® Online Available at:  
<http://aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC231.body>. Accessed 3/13/2014, 2014.

(44) American Journal of Transplantation. Human parvovirus B19. *Am J Transplant* 2004 Nov;4 Suppl 10:92-94.

(45) Lackner H, Sovinz P, Benesch M, Aberle SW, Schwinger W, Schmidt S, et al. The spectrum of parvovirus b19 infection in a pediatric hemato-oncologic ward. *Pediatr Infect Dis J* 2011 May;30(5):440-442.

(46) Arvin AM. Varicella-zoster virus. *Clin Microbiol Rev* 1996 Jul;9(3):361-381.

(47) American Academy of Pediatrics. Varicella-Zoster Infections — Red Book® Online Available at:

<http://aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC289.body>. Accessed 3/13/2014, 2014.

(48) Quinlivan M, Breuer J. Molecular studies of Varicella zoster virus. *Rev Med Virol* 2006 Jul-Aug;16(4):225-250.

(49) Gardner SD, Field AM, Coleman DV, Hulme B. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation *Lancet* 1971 Jun 19;1(7712):1253-1257.

(50) van Aalderen MC, Heutinck KM, Huisman C, ten Berge IJ. BK virus infection in transplant recipients: clinical manifestations, treatment options and the immune response *Neth J Med* 2012 May;70(4):172-183.

(51) Jiang M, Abend JR, Johnson SF, Imperiale MJ. The role of polyomaviruses in human disease *Virology* 2009 Feb 20;384(2):266-273.

(52) Goudsmit J, Wertheim-van Dillen P, van Strien A, van der Noordaa J. The role of BK virus in acute respiratory tract disease and the presence of BKV DNA in tonsils *J Med Virol* 1982;10(2):91-99.

(53) Knowles WA. Discovery and epidemiology of the human polyomaviruses BK virus (BKV) and JC virus (JCV) *Adv Exp Med Biol* 2006;577:19-45.

(54) American Academy of Pediatrics. Polyomaviruses (BK Virus and JC Virus) — Red Book® Online Available at:  
<http://han.medunigraz.at/han/redbookonline/aapredbook.aappublications.org/content/1/SEC131/SEC244.body>. Accessed 9/9/2014, 2014.

(55) Hirsch HH. BK virus: opportunity makes a pathogen *Clin Infect Dis* 2005 Aug 1;41(3):354-360.

(56) Tang YM, Xu XJ. Advances in hemophagocytic lymphohistiocytosis: pathogenesis, early diagnosis/differential diagnosis, and treatment. *ScientificWorldJournal* 2011 Mar 22;11:697-708.

- (57) Kilari D, Venci N, Friedberg J, Bennett JM. Hemophagocytic lymphohistiocytosis masquerading as progressive chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res Rep* 2013 Jan 5;2(1):4-6.
- (58) Rosado FG, Kim AS. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an update on diagnosis and pathogenesis. *Am J Clin Pathol* 2013 Jun;139(6):713-727.
- (59) Fisman DN. Hemophagocytic syndromes and infection. *Emerg Infect Dis* 2000 Nov-Dec;6(6):601-608.
- (60) Sung AD, Chao NJ. Concise review: acute graft-versus-host disease: immunobiology, prevention, and treatment. *Stem Cells Transl Med* 2013 Jan;2(1):25-32.
- (61) Jagasia M, Arora M, Flowers ME, Chao NJ, McCarthy PL, Cutler CS, et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2012 Jan 5;119(1):296-307.
- (62) Nishimori H, Maeda Y, Tanimoto M. Chronic graft-versus-host disease: disease biology and novel therapeutic strategies *Acta Med Okayama* 2013;67(1):1-8.
- (63) Socie G, Ritz J. Current issues in chronic graft-versus-host disease *Blood* 2014 Jul 17;124(3):374-384.
- (64) Qian L, Wu Z, Shen J. Advances in the treatment of acute graft-versus-host disease *J Cell Mol Med* 2013 Aug;17(8):966-975.
- (65) Hings IM, Filipovich AH, Miller WJ, Blazar BL, McGlave PB, Ramsay NK, et al. Prednisone therapy for acute graft-versus-host disease: short- versus long-term treatment. A prospective randomized trial *Transplantation* 1993 Sep;56(3):577-580.
- (66) Blazar BR, Murphy WJ, Abedi M. Advances in graft-versus-host disease biology and therapy *Nat Rev Immunol* 2012 May 11;12(6):443-458.
- (67) de Pagter PJ, Schuurman R, Visscher H, de Vos M, Bierings M, van Loon AM, et al. Human herpes virus 6 plasma DNA positivity after hematopoietic stem

cell transplantation in children: an important risk factor for clinical outcome *Biol Blood Marrow Transplant* 2008 Jul;14(7):831-839.

(68) Ouyang Z, Peng D, Dhakal DP. Risk factors for hematological toxicity of chemotherapy for bone and soft tissue sarcoma *Oncol Lett* 2013 May;5(5):1736-1740.

(69) Lu H, Zhu S, Qian L, Xiang D, Zhang W, Nie A, et al. Activated expression of the chemokine Mig after chemotherapy contributes to chemotherapy-induced bone marrow suppression and lethal toxicity *Blood* 2012 May 24;119(21):4868-4877.

(70) Broxmeyer HE, Kim CH, Cooper SH, Hangoc G, Hromas R, Pelus LM. Effects of CC, CXC, C, and CX3C chemokines on proliferation of myeloid progenitor cells, and insights into SDF-1-induced chemotaxis of progenitors *Ann N Y Acad Sci* 1999 Apr 30;872:142-62; discussion 163.

(71) Suzuki N, Morimoto A, Ohga S, Kudo K, Ishida Y, Ishii E, et al. Characteristics of hemophagocytic lymphohistiocytosis in neonates: a nationwide survey in Japan. *J Pediatr* 2009 Aug;155(2):235-8.e1.

(72) Roupael NG, Talati NJ, Vaughan C, Cunningham K, Moreira R, Gould C. Infections associated with haemophagocytic syndrome. *Lancet Infect Dis* 2007 Dec;7(12):814-822.

(73) Karras A, Thervet E, Legendre C, Groupe Cooperatif de transplantation d'Ile de France. Hemophagocytic syndrome in renal transplant recipients: report of 17 cases and review of literature. *Transplantation* 2004 Jan 27;77(2):238-243.

(74) Abdelkefi A, Ben Jamil W, Torjman L, Ladeb S, Ksouri H, Lakhal A, et al. Hemophagocytic syndrome after hematopoietic stem cell transplantation: a prospective observational study. *Int J Hematol* 2009 Apr;89(3):368-373.

(75) Yaich S, Charfeddine K, Hsairi D, Zaghdane S, Kammoun K, Makni S, et al. BK virus-associated hemophagocytic syndrome in a renal transplant recipient *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2014 May;25(3):610-614.

- (76) Esposito L, Hirsch H, Basse G, Fillola G, Kamar N, Rostaing L. BK virus-related hemophagocytic syndrome in a renal transplant patient *Transplantation* 2007 Feb 15;83(3):365.
- (77) Gargiulo G, Orlando L, Alberani F, Crabu G, Di Maio A, Duranti L, et al. Haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplantation (HSCT): a prospective observational study of incidence and management in HSCT centres within the GITMO network (Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo) *Ecancermedicalscience* 2014 Apr 10;8:420.
- (78) Manikandan R, Kumar S, Dorairajan LN. Hemorrhagic cystitis: A challenge to the urologist *Indian J Urol* 2010 Apr;26(2):159-166.
- (79) Gaziev J, Paba P, Miano R, Germani S, Sodani P, Bove P, et al. Late-onset hemorrhagic cystitis in children after hematopoietic stem cell transplantation for thalassemia and sickle cell anemia: a prospective evaluation of polyoma (BK) virus infection and treatment with cidofovir *Biol Blood Marrow Transplant* 2010 May;16(5):662-671.
- (80) Ali N, Shaikh MU, Hasan S. BK Virus Associated Late Onset Haemorrhagic Cystitis After Allogeneic Peripheral Blood Stem Cell Transplant *Indian J Hematol Blood Transfus* 2011 Sep;27(3):177-179.
- (81) Erard V, Storer B, Corey L, Nollkamper J, Huang ML, Limaye A, et al. BK virus infection in hematopoietic stem cell transplant recipients: frequency, risk factors, and association with postengraftment hemorrhagic cystitis *Clin Infect Dis* 2004 Dec 15;39(12):1861-1865.
- (82) Strenger V, Urban C, Schwinger W, Nacheva EP, Aberle SW. Transmission of chromosomally integrated HHV-6 by bone marrow transplantation *Pediatr Blood Cancer* 2011 Jan;56(1):171.