

**Stellenwert der Virus-PCR-Diagnostik aus Hautbiopsien bei akuten  
Exanthenen nach allogener Stammzelltransplantation**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Andreas Georg Schmidberger

Betreuer: apl. Prof. Dr. med. L.P. Müller

Gutachter: Prof. Dr. med. Cord Sunderkötter  
PD Dr. med. Udo Holtick, Köln

Datum der Verteidigung: 06.11.2024

## Referat

**Hintergrund:** Exantheme nach allogener Stammzelltransplantation (SZT) sind häufig die erste Manifestation von schweren Komplikationen wie akuter Graft-versus-host-Disease (aGvHD) und systemischen Virusreaktivierungen. Das Auftreten eines Exanthems steht damit im Zusammenhang mit der transplantationsassoziierten Mortalität (TRM). Je nach Genese des Exanthems ist eine spezifische Therapie notwendig. Bisher liegen wenige Studien zum Stellenwert der Hautbiopsie mit histologischer und Virus-PCR-Untersuchung sowie zu Virus-PCR-Untersuchungen aus dem peripheren Blut (pB) für die Therapieentscheidung vor.

**Zielsetzung:** Die Zielstellungen der Arbeit waren, das Patientenkollektiv und die Ergebnisse der Virus-PCR aus dem Biopsat deskriptiv zu beschreiben. Sowie die Assoziation dieser Virus-PCR-Befunde mit den klinischen Symptomen, den histologischen Ergebnissen, dem PCR-Befund aus dem peripheren Blut, den Therapieentscheidungen und dem Überleben der Patienten zu bestimmen.

**Methoden:** Hierfür wurden alle Hautbiopsien von 122 Patienten, die am Universitätsklinikum Halle (Saale) zwischen Juli 2005 bis Juni 2013 mit einer allogenen SZT behandelt wurden, retrospektiv ausgewertet.

**Ergebnisse:** Das Transplantations- und Patientenkollektiv war mit anderen Zentren vergleichbar. Bei 55 Patienten waren Hautbiopsien mit Virus-PCR-Bestimmung entnommen worden. Die detektierten Viren waren die Herpesviren CMV, EBV und HHV-6 sowie Parvovirus B19. Es zeigte sich keine Übereinstimmung zwischen dem histologischen Befund sowie klinischen Befund und der Virus-PCR der Hautbiopsien. Die Resultate der Herpesvirus-PCR jedoch nicht der Parvovirus-PCR in den Hautbiopsien korrelierten mit denen aus dem pB. Von 14 Patienten mit Nachweis von Herpesviren wurden 13 antiviral therapiert (92,8 %). Bei aufgrund des Exanthems initiiert oder fortgeführter immunsuppressiver Therapie und positiver Virus-PCR in der Biopsie zeigte sich eine höhere TRM ( $p=0,018$ ). Die Detektion von viraler DNA war mit einer niedrigeren TRM assoziiert. In der multivariaten Analyse konnte der Nachweis von Parvovirus B19 in der Hautbiopsie als Einflussfaktor auf die TRM identifiziert werden.

**Schlussfolgerung:** Die Virus-PCR-Analyse aus Hautbiopsien kann somit in der diagnostischen Entscheidung und in der prognostischen Abschätzung bei akuten Exanthemen nach allogener SZT helfen.

Schmidberger, Andreas: Stellenwert der Virus-PCR-Diagnostik aus Hautbiopsien bei akuten Exanthemen nach allogener Stammzelltransplantation, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 49 Seiten, 2024

## Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	V
Tabellenverzeichnis.....	VI
Abkürzungsverzeichnis .....	VII
1 Einleitung .....	1
1.1 Die allogene Stammzelltransplantation .....	1
1.1.1 Definition und Indikation der allogenen Stammzelltransplantation.....	1
1.1.2 Grundlagen und Ablauf der allogenen Stammzelltransplantation .....	1
1.2 Die transplantationsbedingte/ therapiebedingte Mortalität (TRM) .....	3
1.2.1 Hautexantheme nach allogener Stammzelltransplantation.....	5
1.2.2 Die akute GvHD und Exantheme aufgrund einer akuten GvHD der Haut.....	5
1.2.3 Exantheme durch Viren nach allogener Stammzelltransplantation .....	7
1.2.4 Cytomegalievirus (CMV) .....	7
1.2.5 Epstein-Barr-Virus (EBV) .....	8
1.2.6 HHV-6.....	9
1.2.7 Parvovirus B19 .....	10
1.3 Diagnostik einer Virusreaktivierung.....	11
2 Zielsetzung .....	12
3 Methodik.....	13
3.1 Studiendesign und Patienten .....	13
3.2 Variablen .....	13
3.3 Patienten-, Grunderkrankungs- und Transplantationscharakteristika .....	13
3.4 Auftreten einer GvHD.....	13
3.5 Akute Exantheme.....	14
3.6 Hautbiopsien.....	15
3.7 Virusreaktivierungen bzw. Virusinfektionen.....	15
3.8 Klinischer Verlauf.....	15
3.9 Statistik.....	16
4 Ergebnisse.....	17
4.1 Charakteristika der Patienten mit positiver Virus-PCR aus den Hautbiopsien ..	17
4.2 Ergebnisse der Histologie aus den Hautbiopsien .....	21
4.3 Klinische Charakteristika zum Zeitpunkt der Hautbiopsie .....	22
4.4 Vergleich der Ergebnisse der Virus-PCR aus der Hautbiopsie und dem peripheren Blut .....	25
4.5 Assoziation des Gesamtüberlebens und der transplantationsbezogenen Mortalität (TRM) mit dem Ergebnis der Virus-PCR aus der Hautbiopsie .....	26

4.6	Therapieänderung nach Virus-PCR-Befund in der Hautbiopsie.....	28
4.7	Assoziation von transplantationsbezogener Mortalität (TRM) und Gesamtüberleben mit einer Therapieänderung nach Hautbiopsie.....	29
4.7.1	Immunsuppressive Therapie in Abhängigkeit der Hautbiopsie .....	29
4.7.2	Antivirale Therapie in Abhängigkeit der Hautbiopsie .....	29
4.8	Multivariate Analyse der Assoziation von Ergebnissen der Hautbiopsie und anderen Faktoren mit der transplantationsbezogenen Mortalität (TRM) .....	31
5	Diskussion .....	32
5.1	Wesentliche Ergebnisse der Arbeit .....	32
5.2	Patienten- und Transplantationscharakteristika.....	33
5.3	Virus-PCR aus Hautbiopsien und aus dem peripheren Blut bei akuten Exanthenen nach allogener Stammzelltransplantation.....	35
5.4	Therapieänderungen nach Hautbiopsie-Entnahme und Virus-PCR-Bestimmung im peripheren Blut bei akuten Exanthenen nach allogener Stammzelltransplantation.....	37
5.5	Transplantationsbezogene Mortalität (TRM) und Gesamtüberleben nach Hautbiopsie bei akuten Exanthenen nach allogener Stammzelltransplantation .....	38
5.6	Stärken und Schwächen der Arbeit.....	39
6	Zusammenfassung und Ausblick .....	40
7	Literaturverzeichnis.....	42
8	Thesen der Dissertation.....	49
	Selbstständigkeitserklärung.....	IX

## **Abbildungsverzeichnis**

<b>Abb. 1:</b> Zeitlicher Ablauf der allogenen Stammzelltransplantation in Tagen .....	3
<b>Abb. 2:</b> Komplikationen der allogenen SZT im zeitlichen Verlauf .....	5
<b>Abb. 3:</b> Untersuchtes Patientenkollektiv .....	17
<b>Abb. 4:</b> Die Abschlussdiagnosen aus dem Arztbrief bei Detektion von viraler DNA in der Hautbiopsie .....	24
<b>Abb. 5:</b> Assoziation der TRM mit dem Ergebnis der Virus-PCR aus der Hautbiopsie..	27
<b>Abb. 6:</b> Assoziation der TRM mit dem Ergebnis für Parvovirus B19 aus der Hautbiopsie .....	27
<b>Abb. 7:</b> Überlebenswahrscheinlichkeit nach allogener SZT in Jahren in Abhängigkeit der immunsuppressiven Therapie bei positiver Virus-PCR aus der Hautbiopsie ..	30
<b>Abb. 8:</b> Überlebenswahrscheinlichkeit nach allogener SZT in Jahren in Abhängigkeit der immunsuppressiven Therapie bei positiver Virus-PCR aus dem pB.....	30

## **Tabellenverzeichnis**

<b>Tab. 1:</b> Ergebnisse der Virus-PCR-Analysen der 55 untersuchten Hautbiopsien .....	18
<b>Tab. 2:</b> Patienten und Transplantationscharakteristika .....	19
<b>Tab. 3:</b> Patienten und Transplantationscharakteristika bei pos. Virus-PCR.....	20
<b>Tab. 4:</b> Gegenüberstellung der histologischen Befunde und der Virus-PCR-Befunde aus den Hautbiopsien.....	21
<b>Tab. 5:</b> Klinische Parameter zum Zeitpunkt der Hautbiopsieentnahme .....	23
<b>Tab. 6:</b> Die mittels PCR untersuchten Viren in der Hautbiopsie und im pB 10 Tage vor und nach dem Biopsiezeitpunkt (n=55).....	25
<b>Tab. 7:</b> Vergleich der PCR-Ergebnisse aus den Hautbiopsien und dem pB .....	26
<b>Tab. 8:</b> Multivariate Cox-Regressionsanalyse für Risikofaktoren einer TRM .....	31

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
APC	antigenpräsentierende Zellen
ATG	Anti-Thymozyten-Globulin
aGvHD	Akute Graft-versus-Host Disease, akute Graft-versus-Host-Erkrankung
bzw.	beziehungsweise
CD	Cluster of Differentiation
CLL	Chronisch lymphatische Leukämie
CML	Chronisch myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalievirus
CSA	Ciclosporin
cGvHD	Chronische Graft-versus-Host-Disease
EBMT	European Society for Blood and Marrow Transplantation
EBV	Epstein-Barr-Virus
G-CSF	Granulocyte-Colony Stimulating Factor
GI-Trakt	Gastrointestinaltrakt
g/l	Gramm/ Liter
GvL	Graft-versus-Leukaemia-Effekt, Spender-gegen-Leukämie-Effekt
GvHD	graft-versus-host disease, Graft-versus-Host-Erkrankung
HHV-6	Humanes Herpesvirus 6
HCT-CI	Hematopoietic cell transplantation - specific comorbidity index
HLA	human leukocyte antigen, humane Leukozytenantigene, Histokompatibilitätsantigene
HSV	Herpes simplex Virus
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IS	Immunsuppression
IL-6	Interleukin-6
KG	Körpergewicht
KOF	Körperoberfläche
MA	Myeloablative conditioning regimen
MDS	Myelodysplastische Syndrome
Max.	Maximum

Min.	Minimum
MM	Multiplés Myelom
MMF	Mycophenolat Mofetil
MMRD	Mismatched related donor, verwandter nicht-HLA-identer Spender
MMUD	Mismatched unrelated donor, unverwandter nicht-HLA-identer Spender
MRD	Matched related donor, verwandter HLA-identer Spender
MTX	Methotrexat
MUD	Matched unrelated donor, unverwandter HLA-identer Spender
n	Anzahl der Patienten
NIH	National Institutes of Health (NIH) Consensus Conference
NMA	Non myeloablative conditioning regimen
Neg	Negativ
OS	Overall survival, Gesamtüberleben
pB	Peripheres Blut
p	p-value, Signifikanzwert
Parvo-B-19	Parvovirus B19
PLL	Prolymphozytenleukämie
RIC	reduced intensity conditioning
Pos	Positiv
SZT	Stammzelltransplantation
s.o.	siehe oben
s.u.	siehe unten
TBI	Total body irradiation
TRM	Transplant related mortality, transplantationsassoziierte Mortalität
u. a.	unter anderem
UKH	Universitätsklinikums Halle (Saale)
u./ o.	und/ oder
VOD	Veno-occlusive Hepatic Disease, Lebervenen-Verschlusskrankheit
vs.	versus
VZV	Varizella-Zoster-Virus
Tab.	Tabelle
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor-alpha
z. B.	zum Beispiel
ZKRD	Zentrale Knochenmarkspenderregister für Deutschland
DRST	Deutsches Register für Stammzelltransplantationen

# **1 Einleitung**

## **1.1 Die allogene Stammzelltransplantation**

### **1.1.1 Definition und Indikation der allogenen Stammzelltransplantation**

Die allogene Stammzelltransplantation (SZT) ist eine Therapie, bei der einem Patienten hämatopoetische Stammzellen eines anderen Menschen übertragen werden. Sie ist ein etabliertes Therapieverfahren für die Therapie maligner und nicht-maligner Krankheitsbilder. 2009 erfolgten nach dem Bericht der European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) 12.400 allogene SZT in 43 Ländern weltweit [1]. In Deutschland erfolgten im Jahr 2022 nach dem deutschen Register für Stammzelltransplantationen (DRST) 3005 allogene SZT [2]. Die Indikationen der Ersttransplantationen in Deutschland waren MDS, akute und chronische Leukämien mit einem Anteil von 85,3 %, Lymphome mit einem Anteil von 7,1 %, nicht-maligne Erkrankungen (7,4 %) und solide Tumoren (0,2 %) [2].

Das Therapiekonzept basiert auf der vorangehenden Chemo- bzw. Strahlentherapie zur Eliminierung der malignen Zellen sowie auf einer immunologischen Eliminierung von Krebszellen durch das neu etablierte Spenderimmunsystem durch den Spender-gegen-Leukämie-Effekt (Graft-versus-Leukaemia-Effekt; GvL).

### **1.1.2 Grundlagen und Ablauf der allogenen Stammzelltransplantation**

Nach klinischer Indikationsstellung für eine allogene SZT erfolgt die HLA-Typisierung des Patienten und die Suche nach einem geeigneten Spender. Als Spender kommt entweder ein HLA-identisches Geschwister (19,5%), ein Elternteil (haploidenter Spender, 8,5%) oder alternativ ein Fremdspender, welcher über das Zentrale Knochenmarkspenderregister für Deutschland (ZKRD) weltweit gesucht wird infrage [3,4].

HLA (human leukocyte antigen) sind Glykoproteine auf der Oberfläche von Körperzellen, die eine wichtige Rolle zur Unterscheidung der Immunzellen zwischen körpereigenen und körperfremden Geweben spielen. Je identischer die HL-Antigene von Spender und Empfänger sind, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit einer Abstoßung. „10/10-kompatibel“ bezeichnet ein vollständiges Übereinstimmen der HLA-A, -B, -C, -DRB1 und -DQB1 Allele bei Spender und Patient. Andernfalls spricht man von „n/10-teilkompatibel“ [5, 6, 7].

Als Stammzellquelle dient meist das periphere Blut (pB). Durch die Stimulation mit G-CSF und GM-CSF 4 bis 6 Tage vor Entnahme durch Apherese kann die Anzahl der

Stammzellen im pB des Spenders um das Hundertfache erhöht werden [8]. Seltener erfolgt die SZT durch ein Knochenmarkpunktat. Alternativ besteht auch die Möglichkeit Nabelschnurblut zu übertragen. Letzteres wird vor allem im angloamerikanischen Sprachraum in Form zweier verschiedener Nabelschnurpräparate (2 unit therapy) angewandt [2, 9].

Vor der Transplantation erhält der Empfänger eine Konditionierungstherapie. Durch die Konditionierung werden drei Ziele erreicht: 1. Es wird eine ausreichende Immunsuppression für das Engraftment (Anwachsen des Transplantats) gewährleistet. 2. Durch die Eradikation des Empfänger-Knochenmarks wird das patienteneigene Knochenmark gehemmt und das Anwachsen des Transplantats ermöglicht. 3. Es wird ein antitumoröser Effekt (abhängig von der Konditionierungsintensität) erzielt [9].

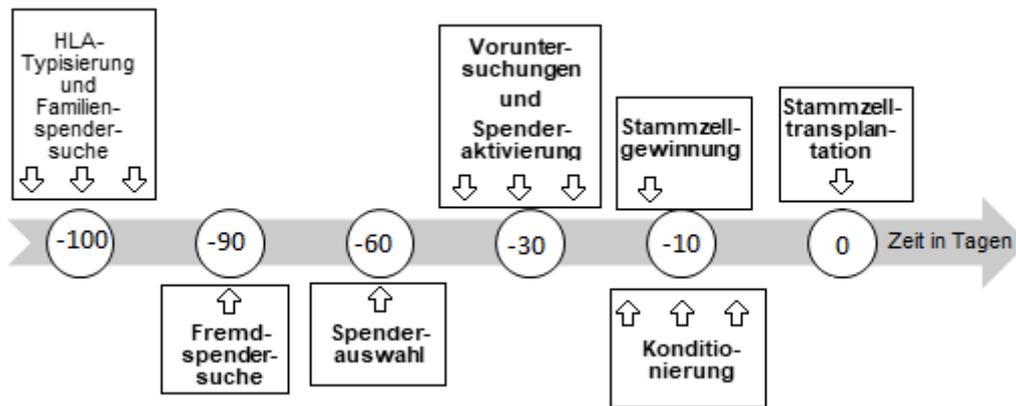
Für die klassische myeloablative Konditionierung stehen Ganzkörperbestrahlung (1200 cGy) und Zytostatika (Busulfan, Cyclophosphamid, Melphalan, Thiotepa, Treosulfan oder Etoposid) zur Verfügung [1,10]. Daneben stehen auch nicht-myeloablative Konditionierungsregime zur Verfügung, deren Effekt vor allem auf der Immunsuppression für das Engraftment der Spender-Hämatopoese besteht. Diese haben eine niedrigere therapiebedingte Frühmortalität. Allerdings ist das Risiko, ein Rezidiv der Grundkrankheit zu erleiden, bei diesen Regimen erhöht [11]. Daher eignen sie sich insbesondere für die Konditionierung älterer oder morbider Patienten. Die RIC-Regime (reduced intensity conditioning) stehen für Konditionierungsregime, welche nur teilweise myeloablativ sind und somit weder der myeloablativen noch der nicht-myeloablativen Konditionierung eindeutig zugeordnet werden können [12].

Das Transplantat wird venös transfundiert. Parallel zur SZT erfolgt eine immunsuppressive Therapie (Cyclosporin A und MTX) zur Prävention einer GvHD.

Ca. 10–25 Tage nach allogener SZT kommt es zum Engraftment (Neutrophilenzahl über 500/ $\mu$ l an drei Tagen hintereinander). Der Zeitpunkt ist abhängig von Konditionierung, Stammzellquelle, Grunderkrankung und Komplikationen während der SZT. Die Kontrolle des Anwachsens der Spender-Hämatopoese erfolgt mittels Chimärismusanalyse. Unter Chimärismus versteht man eine Mischung aus Spenderblutzellen und Empfänger-Körperzellen. Das Ziel ist eine Spender-Hämatopoese von 100 %. Ein gemischter Chimärismus kann ein Hinweis auf ein Graft-Versagen oder Rezidiv sein [13, 14, 15].

Durch einen Graft-versus-Leukämie-Effekt kommt es zu einer zytotoxischen Reaktion der Zellen aus dem Transplantat auf verbleibende Tumorzellen des Empfängers. Er gilt als ein Grund für den therapeutischen Erfolg der allogenen SZT [16, 17].

Abbildung 1 demonstriert die zeitliche Abfolge aller Schritte bis zur allogenen SZT.



**Abb. 1:** Zeitlicher Ablauf der allogenen Stammzelltransplantation in Tagen  
HLA= Histokompatibilitätsantigene

## 1.2 Die transplantationsbedingte/ therapiebedingte Mortalität (TRM)

Die TRM ist definiert als Versterben nach Transplantation, welches nicht durch ein Rezidiv oder einen Progress der Grundkrankheit bedingt ist [18]. Bei der Transplantation durch einen HLA-identen Fremdspender liegt sie heute bei ca. 15 %. Es besteht allerdings eine hohe Variabilität abhängig vom Patientenkollektiv (v.a. abhängig vom HCT-CI Komorbiditätsindex) und von der Grunderkrankung, die zur allogenen SZT führt [19, 20]. Die Hauptursachen für die transplantationsbedingte Mortalität sind akute und chronische GvHD, Infektionen, Organtoxizitäten, Organdysfunktionen (z.B. Venenverschlusskrankheit, idiopathisches Pneumonie-Syndrom), Non-Engraftment (s.o.) und Graft-Abstoßung (Abb. 2) [18, 19].

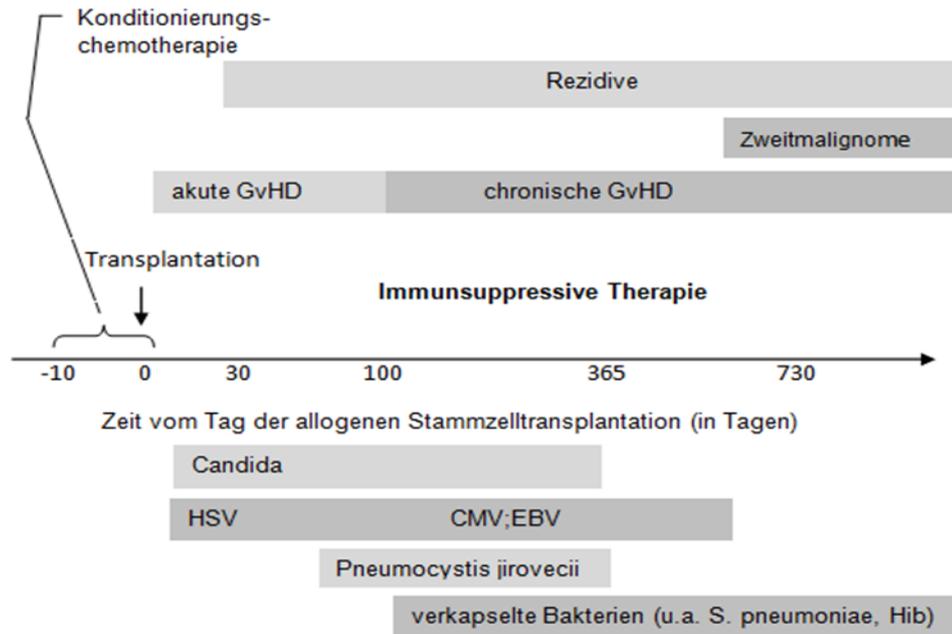
Zur Prävention wird regelhaft nach allogener SZT eine antibiotische und antimykotische Prophylaxe durchgeführt. Zudem erfolgen engmaschige Virusüberwachungen durch regelmäßige EBV- oder CMV-PCR-Untersuchungen aus dem pB sowie Dekontaminationsmaßnahmen. Zu diesen Dekontaminationsmaßnahmen zählen Unterbringung in Laminar-Air-Flow-Einheiten oder Umkehrisolierung der Patienten, keimarme Ernährung, Antibiotika zur Darmdekontamination und regelmäßige Reinigung und Rückfettung der Haut mit antimikrobiellen Waschlotionen und Fettcremes [21–23].

In der Prä-Engraftment-Phase bis Tag 30 werden vor allem durch die therapiebedingte Neutropenie, bakterielle Infektionen (z.B. Enterokokken, Staphylokokken, gramnegative Bakterien), Herpes-simplex-Virus-Infektionen und Infektionen durch Candida- und Aspergillen-Spezies beobachtet. Der Grund für die erhöhte Anfälligkeit liegt in der Neutropenie, welche durch die Konditionierung und GvHD-Prophylaxe verursacht wurde [24]. In dieser Phase kann es bereits zum Auftreten einer aGvHD kommen. Vor allem bei nicht-myeloablativen Konditionierungsregimen können aGvHD-Reaktionen schon

sehr früh nach allogener SZT auftreten (ab Tag 8–10 nach allogener SZT) [9]. Die im Rahmen der Konditionierung durchgeführte Hochdosischemotherapie und Strahlentherapie bedingen eine Organtoxizität. Es kann dadurch zu Übelkeit, Erbrechen, Fieberreaktionen, Diarrhoe und Hauterythemen kommen.

Ab der mittleren Posttransplantationsphase (Tag 30–100) gewinnen virale Infektionen aufgrund des persistierenden B- und T-Zelldefekts vermehrt an Bedeutung. Bei unkomplizierten Transplantationen ist eine Erniedrigung der B- und T-Zellfunktion für 6–12 Monate nachzuweisen. Zu diesen viralen Infektionen zählen vor allem Infektionen mit Herpesviren wie dem Cytomegalievirus (CMV), dem Epstein-Barr-Virus (EBV) und dem Humanen Herpesvirus 6 (HHV-6) [9]. Zudem kann es ab diesem Zeitpunkt zur Entstehung von Zweitmalignomen kommen. So kann es bereits wenige Monate nach der Transplantation zu einem EBV-assoziierten B-Zell-Lymphom kommen. Myelodysplasien, Lymphome und solide Tumoren können nach mehreren Jahren entstehen [9, 25, 26]. Die akute GvHD bedingt hierbei mit 40–50 % nach wie vor in den ersten Monaten nach der Transplantation den höchsten Anteil der TRM [27]. Die chronische GvHD ist eine Multisystemerkrankung, welche ab Tag 100 nach allogener SZT diagnostiziert werden kann. Die Inzidenz beträgt 30–60 %. Es kommt zu chronisch entzündlichen und fibrosierenden Prozessen in der Haut und in den inneren Organen. Dabei können die Haut (80–90 %), die Leber (30 %), der GI-Trakt (30 %), die Lunge, die Augen, der neuromuskuläre Apparat, die Nieren und das Genitale betroffen sein [21].

In den letzten Jahrzehnten konnte die TRM durch eine stetige Weiterentwicklung der allogenen SZT deutlich reduziert werden [28]. Zu diesen Weiterentwicklungen zählen die Reduktion der Toxizität der Konditionierung (z.B. nicht-myeloablative Regime), Verbesserung der antiinfektiven Prophylaxe (z.B. Aciclovir-Prophylaxe, Fluconazol-Prophylaxe), eine immunsuppressive Therapie mit Cyclophosphamid nach der allogenen SZT [9, 29] sowie Optimierungen zur schnelleren Detektion und Differenzierung zwischen GvHD und viralen Infektionen [9, 30]. Ebenso konnte ein junges Spenderalter als ein Einflussfaktor für eine niedrigere TRM nachgewiesen werden [31]. In der Studie von Gooley et al. wurde beschrieben, dass sich das Überleben nach zwei Jahren bei Patienten nach allogener SZT zwischen 2003 und 2007 im Vergleich zu solchen zwischen 1993 und 1997 um 60 % gesteigert hat [20].



**Abb. 2:** Komplikationen der allogenen SZT im zeitlichen Verlauf

GvHD=graft-versus-host disease; HSV=Herpes simplex Virus; CMV=Cytomegalievirus; EBV=Epstein-Barr-Virus; Hib=Haemophilus influenzae

### 1.2.1 Hautexantheme nach allogener Stammzelltransplantation

Exantheme werden häufig nach allogener SZT beobachtet und können erstes Symptom potenziell schwerer Komplikationen sein [32]. Differentialdiagnostisch ist es wichtig, virus- und arzneimittelbedingte Exantheme von einem Exanthem, bedingt durch eine aGvHD, schnell und richtig unterscheiden und behandeln zu können. Um die richtige Ursache für das Exanthem zu identifizieren, ist eine multifaktorielle Diagnostik unter Berücksichtigung des klinischen Erscheinungsbildes, des Ergebnisses von Histologie und Virus-PCR sowie des Ansprechens auf eine Therapie notwendig [32].

### 1.2.2 Die akute GvHD und Exantheme aufgrund einer akuten GvHD der Haut

Die aGvHD ist eine relevante Komplikation nach allogener SZT [32, 33]. Bei der aGvHD unterscheidet man eine klassische aGvHD (Auftreten bis Tag 100 nach Transplantation), eine late-onset aGvHD (nach Tag 100) und ein Overlap-Syndrom, bei dem keine scharfe Abgrenzung zwischen akuter und chronischer GvHD möglich ist [34, 35]. In Studien konnten als Risikofaktoren für das Auftreten einer aGvHD ein hohes Alter des Spenders oder Empfängers, HLA-Mismatch, ein keimbelastetes Darmmilieu des Empfängers und das Geschlecht (die Kombination weiblicher Spender und männlicher Empfänger) identifiziert werden [15, 36].

Pathophysiologisch wird heute von einem mehrstufigen Entstehungsmodell ausgegangen. Dieses Modell beinhaltet eine Zellschädigung ausgelöst durch die Konditionierung und damit verbunden ein erleichtertes Eindringen von Mikroorganismen (Phase 1). Dies verstärkt die Aktivierung der T- und NK-Zellen des Grafts (Phase 2). Dadurch kommt es zu einer Entzündungsreaktion (Phase 3) [37].

Die Hauptzielorgane der aGvHD sind die Haut, die Leber und der Darm. Der Schweregrad der aGvHD wurde 1974 von Glucksberg et al. nach der Ausprägung der Organmanifestation in 4 Schweregrade je nach Stadium der Exanthemausbreitung auf der Körperoberfläche, der Bilirubinerhöhung im Blut und der klinischen Ausprägung einer Diarrhoe eingeteilt [44].

Der Goldstandard für die Therapie einer schweren aGvHD ist Methylprednisolon 10 mg/kg KG initial, dann 2–4 mg/kg KG unter Zugabe von Beclomethason. Als Zweitlinientherapie stehen u.a. MMF, ATG, der monoklonale T-Zell-Antikörper gegen IL-2 (Daclizumab), Anti-CD52-Antikörper (Mabcampath), Infliximab, Etanercept, extrakorporale Photopherese und Infusionen von mesenchymalen Stammzellen zur Verfügung. 60–70 % der Patienten sprechen auf die Primärtherapie an. Die TRM liegt bei Ansprechen der Primärtherapie bei 20–30 %. Wenn eine Zweitlinientherapie benötigt wird, liegt die TRM bei 60–80 % [38–40]. Die Todesursache ist nur in 10–20 % die GvHD selbst, da die Patienten in den meisten Fällen an Infektionen bedingt durch den von ihr verursachten Immundefekt versterben [9].

Zu einer Hautbeteiligung kommt es in 90 % der aGvHD-Fälle, wobei die Haut typischerweise das initial betroffene Organ darstellt [41, 42]. Klinisch zeichnet sich eine Haut-aGvHD durch ein erythematöses, makulopapulöses Exanthem mit Schwellung aus. Prädilektionsstellen sind Gesicht, Hand- und Fußflächen sowie die Ohrhelizes. Es kann auch zu skarlatiniformen, morbilliformen, follikulitisartigen oder purpuriformen Hautveränderungen kommen [32]. Die klinische Symptomatik reicht von lokalisierten, selbstlimitierten Befunden bis hin zu einer lebensbedrohlichen, generalisierten Erythrodermie der Haut und Schleimhäute mit Blasenbildung, ähnlich einer toxisch epidermalen Nekrolyse. Begleitend kann ein umschriebener oder generalisierter Pruritus mit Dysästhesien oder Druckdolenz bestehen [32]. Das histologische Bild nach Hautbiopsie ist sehr variabel und verändert sich durch eine Therapie. Es entspricht dem Bild einer Interface-Dermatitis mit lymphozytärer Infiltration, Ballonierung der Basalzellen, Satellitenzellnekrosen (Einzelzellapoptosen mit umgebendem lymphozytären Ring) und Dyskeratose epidermaler Zellen [43].

### **1.2.3 Exantheme durch Viren nach allogener Stammzelltransplantation**

Zu den klinisch relevanten viralen Infektionen nach allogener SZT gehören Infektionen mit CMV, EBV, HHV-6, HSV, VZV, Polyoma BK Virus, Respiratory Syncytial Viren, Influenzaviren A/B, Parainfluenzaviren, Adenoviren und Rhinoviren. Dabei kann ein Exanthem vor allem durch Herpesviren (HSV, VZV, EBV, CMV, HHV-6) und Parvovirus B19 erzeugt werden [45–47].

### **1.2.4 Cytomegalievirus (CMV)**

Das Cytomegalievirus (CMV) gehört zur Familie der Herpesviren (HHV-5). Die Durchseuchung in Deutschland und anderen mitteleuropäischen Industrienationen beträgt im Erwachsenenalter 40–60 %. Die Viren werden durch eine Tröpfchen- oder Schmierinfektion, venerisch oder durch Bluttransfusionen übertragen. Ebenfalls ist eine Übertragung zwischen Mutter und Kind transplazentar über die Muttermilch oder während der Geburt möglich [48]. Wie alle Vertreter der Herpesviren persistiert es nach einer Infektion lebenslang im Körper, wobei der genaue Ort, an dem das Virus verweilt, bislang unbekannt ist [49].

Nach allogener SZT kann es zwischen Tag 30–100 nach Transplantation zu einer Erkrankung durch eine Reaktivierung bei vorliegendem CMV-positivem Spender und/oder Empfänger kommen [50]. Zudem sind Neuinfektionen möglich. Früher war die CMV-Infektion die häufigste Todesursache nach allogener SZT [51]. Die Letalität konnte durch bessere präventive Maßnahmen, Diagnostik und Therapie von 20–30 % im Jahr 1990 auf 5–10 % im Jahr 2000 gesenkt werden [52, 53]. Um das Risiko einer Reaktivierung bzw. Erkrankung abschätzen zu können, wird vor der Transplantation sowohl beim Spender als auch beim Empfänger der Immunstatus von Anti-CMV-IgG bestimmt [54]. Bei ca. 60–70 % der bereits vor der allogenen SZT seropositiven Patienten zeigt sich eine CMV-Reaktivierung nach dem Engraftment aufgrund des Immundefizits. Ohne medikamentöse präemptive oder prophylaktische Therapie besteht hierbei ein Risiko von 20–30 % eine manifeste CMV-Erkrankung zu entwickeln [55]. Risikofaktoren für eine CMV-Erkrankung sind ein positiver CMV-Serostatus von Spender oder Empfänger, HLA-Mismatch, Fremdspendertransplantation und das Auftreten einer aGvHD [55, 56]. Die Hauptmanifestationen einer CMV-Erkrankung nach allogener SZT sind Pneumonien, Knochenmarkschädigungen und Gastroenteritiden. Seltener kann es zu einer Retinitis oder einer Hepatitis kommen. Hautmanifestationen können sehr variabel sein und werden daher oft spät im Verlauf mit einer CMV-Infektion in Verbindung gebracht [57]. Die CMV-Pneumonie ist dabei mit einer Letalität von 50 % das gefährlichste Krankheitsbild [58]. Durch die Myelosuppression kann es zu einem

verzögerten Anwachsen und sogar zu einer Abstoßung des Transplantats (Graft Failure) kommen [59]. Zusätzlich wird durch den Immundefekt bei CMV-Infektion das Auftreten von opportunistischen Krankheiten und akuten Graft-versus-Host-Reaktionen erhöht [50, 56, 60].

Typische histologische Kriterien von mit CMV befallenen Zellen sind sog. Eulenaugen und Einschlusskörperchen. Mikrobiologisch werden Cytomegalieviren durch PCR, Virusisolation oder pp65-Nachweis (CMV-spezifisches Antigen aus dem Tegument der Viren) aus geeigneten Materialien wie EDTA-Blut oder bronchoalveoläre Lavage nachgewiesen. Mittels ELISA kann im Blut Anti-CMV-IgM nachgewiesen werden [61].

Zur Vermeidung des Auftretens einer CMV-Erkrankung nach allogener SZT stehen zwei Strategien zur Auswahl. Die eine Strategie besteht in der Gabe einer CMV-Prophylaxe (z.B. Valganciclovir) bei allen transplantierten Patienten für den Zeitraum der allogenen SZT bis zur Beendigung der Immunsuppression. Bei der präemptiven Therapiestrategie findet ein regelmäßiges CMV-Monitoring statt (z.B. zweimal pro Woche CMV-PCR-Diagnostik aus dem pB). Bei Nachweis von CMV im pB erfolgt präemptiv eine Therapie mit Ganciclovir oder Valganciclovir, um klinische Symptome zu vermeiden [62, 63]. Die Therapie der Wahl bei einer CMV-Infektion ist Ganciclovir für 14 Tage. Als Alternative kann Foscarnet zur Therapie verwendet werden, welches weniger myelotoxisch, dafür aber nephrotoxisch ist.

### **1.2.5 Epstein-Barr-Virus (EBV)**

Das Epstein-Barr-Virus (EBV) oder HHV-4 ist weltweit stark verbreitet. Über 90 % der erwachsenen Weltbevölkerung ist mit dem DNA-Virus infiziert [48]. Bereits in den ersten fünf Lebensjahren liegt die Durchseuchung bei 50 % [48]. Die Viren werden über den Speichel übertragen [64, 65]. Im Körper kommt es daraufhin zur Infektion von B-Lymphozyten [66]. Teilweise werden auch die Epithelzellen im Nasopharynx infiziert [67]. Nach der Infektion persistiert das Virus lebenslang in den B-Lymphozyten. Bei Kindern verläuft die Erstinfektion meist blande. Bei der Erstinfektion im Erwachsenenalter und bei Jugendlichen kommt es nach einer Inkubationszeit von 5–7 Wochen häufig zur infektiösen Mononukleose (Pfeiffersches Drüsenfieber, Kissing Disease) [68]. Hierbei kommt es zu einer ausgeprägten Lymphknotenschwellung und Tonsillitis (80–100 %) mit Fieber, Abgeschlagenheit und Kopfschmerzen. Mögliche zusätzliche Symptome sind Hepatomegalie (15–20 %), Ikterus (5–10 %), Milzvergrößerung (50–60 %), ein Enanthem (25–35 %) sowie ein Exanthem (5–10 %) [48]. In schweren Fällen kommt es zur Hepatitis, Arthritis, Enzephalitis oder sogar zur Milzruptur [69]. Die Erkrankung verläuft in der Regel selbstlimitierend. Nur in seltenen

Fällen persistieren die Symptome monate- oder jahrelang [70]. Das Epstein-Barr-Virus gilt zudem als karzinogen. Ihm konnte eine wichtige Rolle in der Pathogenese des Burkitt-Lymphoms, des Nasopharynxkarzinoms und des Morbus Hodgkin nachgewiesen werden [71, 72].

Nach allogener SZT treten gehäuft Virusreaktivierungen auf (ca. 68 %) [73]. Diese führen oft zu ähnlichen Symptomen wie bei der Primärinfektion (Exanthem, Enanthem, Lymphknotenschwellung, Hepatosplenomegalie, allgemeinem Krankheitsgefühl, Fieber). Zudem werden in einigen Fällen das Gehirn, das Knochenmark, die Nieren, die Leber, der Dünndarm und die Milz miteinbezogen [74, 75]. Gefürchtet ist das Auftreten eines EBV-assoziierten lymphoproliferativen Syndroms (Post-transplant lymphoproliferative disease, PTLD). Hierbei kommt es zu Zellexpansionen infizierter B-Zellen und klonalen, häufig letalen B-Zellproliferationen (Letalität 80 %). Die Inzidenz liegt bei 1 %, wobei ein Auftreten bereits in den ersten Monaten nach Transplantation möglich ist [76, 77]. Diagnostisch gesichert wird die Verdachtsdiagnose durch eine PCR gegen das Virusgenom aus Blut, Plasma, Rachenspülwasser und Biopsien. Um eine EBV-Reaktivierung und eine PTLD frühzeitig zu detektieren, wird regelmäßig die EBV-DNA quantitativ mittels PCR im pB bestimmt [78]. Als Risikofaktoren für das Auftreten einer PTLD gelten eine Transplantation durch einen nichtverwandten Spender, T-Zell-depletierte Transplantate und eine intensiviert Immunsuppression aufgrund einer GvHD [79]. Die wichtigsten therapeutischen Maßnahmen sind eine Reduktion der Immunsuppression und eine Therapie mit Rituximab. Zudem wurden Erfolge bei der Therapie mit Anti-IL-6 Antikörpern und durch die Gabe von EBV-spezifischen zytotoxischen T-Zellen des Spenders erzielt [80–82].

### **1.2.6 HHV-6**

Das Humane Herpesvirus 6 (HHV-6) ist weltweit mit einer hohen Durchseuchung in der Bevölkerung verbreitet. Mindestens 90 % der Erwachsenen sind mit dem Virus infiziert. Die Primärinfektion erfolgt in den ersten zwei Lebensjahren und ist durch ein drei Tage andauerndes, rezidivierendes Fieber sowie durch ein feinfleckiges, konfluierendes Exanthem gekennzeichnet (Exanthema subitum, Dreitagefieber) [61, 83, 84]. Die Erkrankung verläuft selbstlimitierend, wobei die Viren lebenslang in T-Lymphozyten persistieren [61, 85].

Nach allogener SZT kommt es häufig, meist nach 2–4 Wochen, zur Virusreaktivierung (Inzidenz 48 %) [50, 84, 86]. Meistens verläuft die Virusreaktivierung asymptomatisch [50]. Die HHV-6-Reaktivierung konnte als Auslöser für Hautexantheme, interstitielle Pneumonien, Ösophagitis, Gastritis, Lebererkrankungen, Meningoenzephalitis und

Knochenmarksuppression identifiziert werden [61]. Die Myelosuppression wurde in vitro nachgewiesen und kann zu einem verzögerten Engraftment führen [87]. Als Risiken für eine Reaktivierung konnten eine Fremdspondertransplantation sowie Knochenmark als Stammzellquelle erkannt werden [88]. Die PCR aus dem pB und aus Hautbiopsien gilt als sehr schnelle und zuverlässige Nachweismethode [89, 90]. Da die virale DNA mittels der PCR allerdings lebenslang im Sputum nachzuweisen ist, sind falsch positive Ergebnisse bei der Bestimmung aus dem Sputum möglich [89]. Eine kulturelle Anzucht stellt ebenfalls eine sehr genaue Nachweismethode dar. Auf sie wird allerdings aufgrund des sehr zeitintensiven Verfahrens in der Klinik kaum zurückgegriffen [90]. Therapiert wird eine Infektion mit Ganciclovir, Foscarnet oder Cidofovir [91]. Durch eine Aciclovir-Prophylaxe konnte eine Verminderung der Virusreaktivierungen festgestellt werden [92].

### **1.2.7 Parvovirus B19**

Das Parvovirus B19 ist ein humanpathogenes Virus, welches zur Familie der Parvoviridae gehört. Zur Replikation benötigt es erythropoetische Progenitorzellen aus dem Knochenmark [93–96]. Das Virus ist weltweit verbreitet. Die Prävalenz in der Bevölkerung liegt bis zum 15. Lebensjahr bei 50 % und steigt bis zum 70. Lebensjahr auf 85 % an [97, 98, 99]. Übertragen werden die Viren per Tröpfcheninfektion, über Blutprodukte und vertikal von der Mutter auf das Kind [100, 101]. Es wird vermutet, dass die Viren nach der Primärinfektion lebenslang im Körper persistieren. Mittels PCR konnte virale DNA auch noch nach vielen Jahren im Knochenmark, in Synovialmembranen, in der Haut, in der Leber und im Myokard nachgewiesen werden [102–104]. 30 % der Primärinfektionen mit Parvovirus B19 verlaufen asymptomatisch [105]. 1983 konnte der Erreger mit der Kinderkrankheit Ringelröteln (*Erythema infectiosum*, Fifth disease) in Verbindung gebracht werden [106]. Hierbei kommt es durch die Ablagerung von Antigen/Antikörperkomplexen zu einem girlandenförmigen, makulopapulösen Exanthem, welches an den Wangen beginnt und sich daraufhin über den Stamm und die Extremitäten ausbreitet. Das Exanthem kann mit febrilen Temperaturen einhergehen [107]. Bei der Erstinfektion im Erwachsenenalter kommt es zu Arthralgien und Arthritiden. Diese weisen meist ein symmetrisches Befallsmuster mit einem häufigen Befall der Handgelenke auf [108]. Seltener wurden Fälle beschrieben, bei denen es zu aplastischen Krisen, Hepatitiden, Myokarditiden und Enzephalitiden kam [109–113]. Die Parvovirus B19 Infektion verläuft ansonsten bei immunkompetenten Individuen selbstlimitierend.

Bei Patienten nach allogener SZT treten aufgrund der therapiebedingten reduzierten humoralen und zellulären Immunantwort persistierende Knochenmarkssuppressionen

auf [114]. Es wird vermutet, dass etwa 1–2 % der TRM durch eine Parvovirus B19 Infektion bedingt ist. Die Symptome einer Erkrankung können auch unspezifisch imponieren und dadurch zu Fehldiagnosen führen [115]. Man geht davon aus, dass es nach allogener SZT neben Primärinfekten häufig auch zur Virusreaktivierung kommt [116, 117]. Mittels PCR kann virale DNA sehr sensitiv in Biopsien und im pB identifiziert werden. Zudem besteht die Möglichkeit, die genaue Parvovirus B19-DNA-Konzentration zu bestimmen. Die PCR kann jedoch auch noch nach Monaten und Jahren nach der Primärinfektion positiv sein, wodurch falsch positive Ergebnisse möglich sind [118, 119]. Serologisch können bei immunkompetenten Individuen 7 bis 10 Tage nach der Infektion virusspezifische IgM-Antikörper bestimmt werden [120]. Therapeutisch steht die Gabe von intravenösen Immunglobulinen (IVIg) zur Verfügung [121].

### **1.3 Diagnostik einer Virusreaktivierung**

Neben der Virusisolierung und der IgG- und IgM-Bestimmung mittels ELISA wird die PCR aus dem pB zusammen mit anderen geeigneten Materialien zur Diagnostik von Herpesvirus und Parvovirus B19 Reaktivierungen verwendet [122]. Zusätzlich findet die RT-PCR aus dem pB bei der Kontrolle von Virusausscheidung und Viruslast Anwendung. In der Literatur wird die Multiplex-PCR als Untersuchung mit hoher Aussagekraft für die Detektion von Virusreaktivierungen nach SZT beschrieben. 2015 wurde dies von Inazawa et al. für die Diagnostik von Virusreaktivierungen im pB nach SZT bestätigt [123]. Speziell für die Diagnostik von Herpesviren im pB nach SZT wurde von Gomes de Oliveira in einer Veröffentlichung 2015 ein hoher Nutzen in der Multiplex-PCR gesehen [124]. In dieser Studie konnten durch ein regelmäßiges Herpesvirus PCR-Monitoring aus den pB nach SZT zuverlässig Virusreaktivierungen erkannt werden.

## 2 Zielsetzung

Ein wesentliches Symptom nach SZT ist das Exanthem. Dieses kann insbesondere durch aGvHD und/ oder Virusinfektionen hervorgerufen werden. Die entsprechenden Therapieansätze sind zum Teil gegensätzlich. Für die Sicherung einer kutanen aGvHD sollte eine Hautbiopsie erfolgen. Es ist unklar, inwiefern ein PCR-basierter Virusnachweis aus der Haut im Zusammenhang mit dem Ergebnis der PCR für das jeweilige Virus aus dem pB zu werten ist. Insbesondere ist unklar, ob durch ein negatives PCR-Ergebnis im pB ein Virusexanthem ebenfalls ausgeschlossen werden kann. Zudem ist unklar, inwieweit die PCR-Ergebnisse aus der Hautbiopsie einen positiven Effekt auf die weitere Therapie des Exanthems haben.

Der Arbeit liegt die Hypothese zugrunde, dass die Analyse der Virus-PCR aus erfolgter Hautbiopsie bei nach allogener SZT aufgetretenem Exanthem im Zusammenhang mit dem Ergebnis einer erfolgten Virus-PCR aus dem pB die Differenzialdiagnose und die daraus sich ergebende Therapieentscheidung verbessert.

Um diese Hypothese zu stützen, wurden 6 Zielstellungen definiert:

1. Es sollte eine deskriptive Analyse der Gesamtkohorte hinsichtlich Exanthems, Durchführung von Hautbiopsien und Ergebnisse der Virus-PCR aus der Haut sowie aus dem pB im Zeitraum +/- 10 Tage zur Hautbiopsie erfolgen.
2. Es sollten klinische Charakteristika der Exantheme mit positiver Virus-PCR beschrieben werden.
3. Es sollten die histologischen Befunde der Hautbiopsien mit den Virus-PCR-Befunden verglichen werden.
4. Die Übereinstimmung der Ergebnisse der Virus-PCR im pB (im Zeitraum +/- 10 Tage zur Hautbiopsie) mit dem Ergebnis der Virus-PCR aus der Hautbiopsie sollte ermittelt werden.
5. Es sollte eine Analyse des Einflusses der Ergebnisse von der Virus-PCR aus der Haut auf die Therapieentscheidung erfolgen.
6. Die Assoziation des Gesamtüberlebens und der TRM mit dem Ergebnis der Virus-PCR aus der Hautbiopsie sollte ermittelt werden.

Die Ergebnisse werden damit beitragen, die Rolle der Hautbiopsie bei Exanthemen nach allogener SZT und die Relevanz einer Virus-PCR aus dem pB und der Haut in dieser Situation einzuschätzen. Sie werden damit helfen, die allogene SZT für Patienten sicherer durchzuführen.

### **3 Methodik**

#### **3.1 Studiendesign und Patienten**

Diese Arbeit ist eine retrospektive, monozentrische Studie, die auf den Daten der Klinik für Hämatologie und Onkologie des Universitätsklinikums Halle (Saale) basiert. Es wurden Daten aller 122 Patienten verwendet, bei denen zwischen Juli 2005 und Juni 2013 am Universitätsklinikum Halle eine allogene SZT durchgeführt wurde. Für die Datenerhebung standen die archivierten Patientenakten mit Arztbriefen, Originalbefunden und Tagesverlaufsprotokollen der stationären und ambulanten Aufenthalte zur Verfügung. Zusätzlich wurde auf die Daten aus den digitalen Datenerfassungssystemen des Universitätsklinikums zugegriffen (u. a. Orbis, xserv, megamanager).

#### **3.2 Variablen**

Um die Daten zu erfassen und statistisch auswerten zu können, wurden 146 Variablen definiert und erhoben. Die erhobenen Daten wurden in einer SPSS-Datenbank gespeichert.

#### **3.3 Patienten-, Grunderkrankungs- und Transplantationscharakteristika**

Die Patientencharakteristika umfassen das Alter, das Geschlecht und das Geburtsdatum der Patienten sowie die Vorerkrankungen. Die körperliche Verfassung vor der Transplantation wurde mit dem Karnofsky-Index bestimmt. Es wurde die zur Transplantation führende Grunderkrankung erhoben. Des Weiteren wurde der Zeitpunkt der Transplantation, die Konditionierungsregime (MA, RIC, NMA) sowie die ATG- und TBI-Gabe erfasst. Da Patientennamen in der SPSS-Datenbank miterfasst wurden, wurde die Zustimmung der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg eingeholt.

#### **3.4 Auftreten einer GvHD**

Bei der ersten akuten und ersten chronischen GvHD wurden der Zeitpunkt des Auftretens nach allogener SZT und die Organbeteiligungen erfasst. Für die aGvHD wurden das GvHD-Stadium und der aGvHD-Grad nach Glucksberg [44] verwendet. Bei der GvHD-Therapie wurde zwischen hoch dosierter Steroidgabe (über 1 mg/kg KG), niedrig dosierter Steroidgabe (unter 1 mg/kg KG), Cyclosporin A-Gabe und „anderer GvHD-Therapie“ unterschieden.

### **3.5 Akute Exantheme**

Die Exanthemausprägung wurde anhand der Neunerregel nach Wallace [125] bestimmt. Bei Exanthemaufreten wurde das Vorhandensein von Fieber, Lymphknotenschwellung, Hepatosplenomegalie und das GvHD-Organstadium ausgewertet.

Falls eine Hautbiopsie beim Auftreten eines Exanthems entnommen wurde, wurde diese genauer charakterisiert. Erhoben wurden der initiale und der maximale GvHD-Grad bei Entnahme der Probeexzision. Des Weiteren wurden für die Diagnose des biopsierten Exanthems die klinische Verdachtsdiagnose und die Abschlussdiagnose, welche im abschließenden Arztbrief steht, gesondert erfasst. In den abschließenden Arztbriefen wurde in Zusammenschau der klinischen Verdachtsdiagnose, dem weiteren klinischen Verlauf, den histologischen und PCR-Ergebnissen aus der Biopsie sowie dem Ansprechen auf eine Therapie eine endgültige Diagnose formuliert. Diese wurde in der vorliegenden Arbeit als Abschlussdiagnose bezeichnet.

In weiteren Variablen wurden die durchgeführte Therapie des Exanthems und das Ansprechen auf diese erhoben. Um die Therapie und deren Ansprechen nach der Biopsie genau auswerten zu können, wurden sowohl GvHD-spezifische Therapien (Beginn einer immunsuppressiven Therapie) als auch antivirale Therapien (Erniedrigung der Immunsuppression und/ oder Virostatika) erhoben. Das Therapieansprechen wurde danach kategorisiert, ob das Exanthem im Anschluss an die Therapie komplett regredient war oder ein Therapieversagen (Notwendigkeit einer Zweitlinientherapie oder Versterben mit aktivem Exanthem) vorlag.

### **3.6 Hautbiopsien**

Die Gewebeproben aus der Haut wurden mittels 4 mm Stanzbiopsien entnommen. Die Stanzbiopsien wurden für die histologische Beurteilung in Formalin fixiert. Die histopathologische Auswertung erfolgte entweder durch das Institut für Pathologie oder durch die Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.

Für die PCR-Analyse wurde ein weiteres Biopsat in einer 0,9-prozentigen NaCl-Lösung gewaschen, um Verunreinigungen durch Blut zu minimieren. Die Virus-PCR-Analyse erfolgte mittels Multiplex-PCR. Sie wurde vom Institut für medizinische Mikrobiologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg mit handelsüblichen PCR-Systemen (CMV: Quiagen Artus Kit: 4503265, EBV: Quiagen Artus Kit: 4501065, HHV-6: Tib molbiol (Roche) Kit 40-0282-32, Parvovirus B19: Roche Kit 03 246 809 001) durchgeführt.

### **3.7 Virusreaktivierungen bzw. Virusinfektionen**

Zusätzlich zu den Virus-PCR-Analysen in den Hautbiopsien wurden Virus-PCR-Analysen im pB untersucht. Im Zeitraum von 10 Tagen vor bis 10 Tagen nach dem Tag, an dem die Hautbiopsie entnommen wurde, wurde die Durchführung (ja/ nein) und das Ergebnis (positiver/ negativer Virusgenomnachweis) einer Virus-PCR im pB dokumentiert. Falls innerhalb dieser 20 Tage eine Virus-PCR-Diagnostik erfolgte, wurden die Ergebnisse dokumentiert.

Antivirale Therapien erfolgten durch Gabe von Ganciclovir 5mg/kg KG und/oder Valganciclovir (CMV, HHV-6, HHV-8), Aciclovir 800 mg (HSV, VZV), intravenöse Immunglobuline (30g) und/ oder einer Reduktion der immunsuppressiven Therapie.

### **3.8 Klinischer Verlauf**

Es wurden für alle Patienten mit Exanthem und durchgeführter Virus-PCR-Daten zum weiteren klinischen Verlauf erhoben. Erfasst wurden ein Abheilen des Exanthems, erneute Virusreaktivierungen und aGvHDs. Beim weiteren klinischen Verlauf nach SZT wurden Daten bezüglich des insgesamten Zeitraums des Überlebens der Patienten nach Transplantation sowie der Todesursache im Falle des Versterbens erhoben.

### 3.9 Statistik

Es erfolgte eine deskriptive Auswertung der Daten mit Angabe von Häufigkeiten, Prozentsen, Mediane, Mittelwerte, der Standardabweichung sowie Minimum/ Maximum. Graphisch wurden die Ergebnisse mittels Balken- und Liniendiagrammen dargestellt.

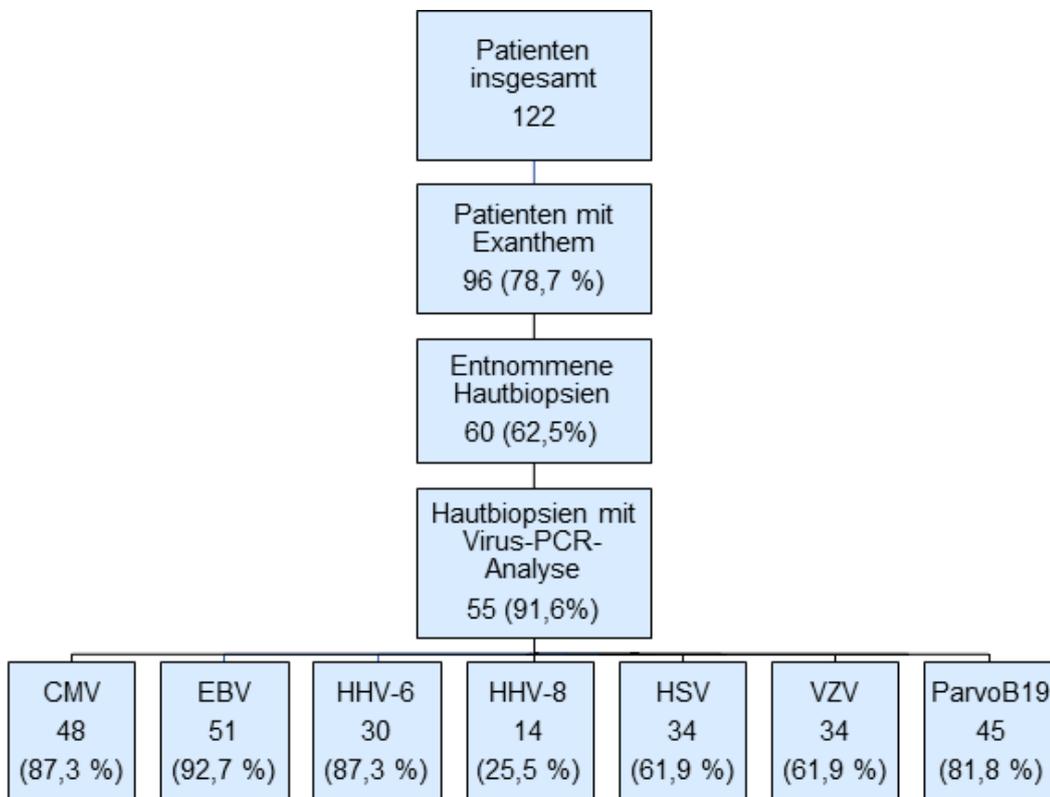
Für die Untersuchung von Assoziationen zwischen nominalverteilten Variablen wurde der Chi-Quadrat-Test nach Pearson verwendet. Bei Variablen mit einem Ausprägungsniveau unter 5 wurde der exakte Test nach Fisher genutzt. Um Mittelwertunterschiede bei Gruppenvergleichen normalverteilter Gruppen bestimmen zu können, wurde der t-Test für unverbundene Stichproben verwendet. Unterschiede zwischen Rangreihen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test untersucht. Die TRM und das Gesamtüberleben von Probanden mit unterschiedlicher Merkmalsausprägung wurde mit Kaplan-Meier Kurven visualisiert und Unterschiede in der Überlebenschance der Probanden wurden mittels Log-Rank-Test bestimmt. Um den Einfluss mehrerer Variablen auf die TRM/ Gesamtüberlebenszeit zu untersuchen erfolgte eine multivariate Analyse mittels Cox-Regression. Für alle Patienten wurde die TRM im Follow-up-Zeitraum inklusive einer Landmark-Analyse an Tag 100 bestimmt.

Für alle statistischen Tests verwendeten wir ein zweiseitiges Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$ . Da es sich um eine primär hypothesengenerierende Studie handelte, wurde auf eine Bonferroni-Korrektur bei multiplen Paarvergleichen verzichtet.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Charakteristika der Patienten mit positiver Virus-PCR aus den Hautbiopsien

Bei den 122 untersuchten Patienten trat bei 96 (78,7 %) ein Hautexanthem auf. Insgesamt wurde dabei in 60 Fällen (49,2 % vom gesamten Patientenkollektiv) eine Hautbiopsie entnommen. Alle diese Hautbiopsien wurden histologisch befundet. Eine zusätzliche PCR-Diagnostik auf das Vorhandensein von viraler DNA erfolgte bei 55 Biopsien. Bei 51 Biopsien wurde das Vorhandensein von EBV-DNA untersucht. Nach CMV-DNA wurde bei 48, nach HHV-6 bei 30, nach HHV-8 bei 14, nach HSV bei 34, nach VZV bei 34 und nach Parvovirus B19 bei 45 Biopsien gesucht (Abb. 3).



**Abb. 3:** Untersuchtes Patientenkollektiv

CMV= Anzahl der durchgeführten Cytomegalievirus Analysen, EBV=Anzahl der durchgeführten Epstein-Barr-Virus Analysen, HHV-6=Anzahl der Durchgeführten Herpesvirus 6 Analysen, HHV-8=Anzahl der durchgeführten Herpesvirus 8 Analysen, HSV=Anzahl der durchgeführten Herpes Simplex Virus Analysen, VZV=Anzahl der durchgeführten Varizella-Zoster-Virus Analysen; ParvoB19= Anzahl der durchgeführten Parvovirus B19 Analysen PCR=Polymerase Chain Reaction (Die Prozentangaben beziehen sich auf den darüber befindlichen Kasten.)

Die Ergebnisse der Virus-PCR-Analysen ergaben insgesamt 23 Hautbiopsien mit Detektionen von viraler DNA. Parvovirus B19 konnte in 12 von 45, CMV in 6 von 48, EBV in 6 von 51 und HHV-6 in 3 von 30 untersuchten Präparaten nachgewiesen werden. HHV-8 und HSV konnten in den Hautbiopsien nie detektiert werden. Es zeigte sich nur ein einziges positives Ergebnis für VZV, daher wurden HHV-8, HSV und VZV für die weiteren Analysen ausgeschlossen. In 3 Biopsaten konnten mehrere Viren nachgewiesen werden. Die Virus-PCR-Befunde der 23 Hautbiopsien mit Virus-PCR-Detektion zeigt Tabelle 1.

Die Patienten- und Transplantationscharakteristika der 55 Patienten mit Virus-PCR-Diagnostik aus den Hautbiopsien werden in Tab. 2 und Tab. 3 aufgelistet. Diese Gruppe zeigte keine wesentlichen Unterschiede in den Patienten- und Transplantationscharakteristika im Vergleich zu der Gruppe an Patienten mit Exanthem ohne durchgeführter Hautbiopsie.

**Tab. 1:** Ergebnisse der Virus-PCR-Analysen der 55 untersuchten Hautbiopsien

<b>Virusart</b>	<b>positiver DNA-Nachweis</b>
Parvovirus B19	9
CMV	5
EBV	3
HHV-6	3
Parvovirus B19 + EBV	2
Parvovirus B19 + CMV + EBV + VZV	1

CMV=Cytomegalievirus, EBV=Epstein-Barr-Virus, HHV-6=Humanes Herpesvirus 6, VZV=Varizella-Zoster-Virus

**Tab. 2:** Patienten und Transplantationscharakteristika

		Hautbiopsien mit Virus-PCR-Analyse	Hautbiopsien mit negativem Virus-PCR-Befund	Hautbiopsien mit positivem Virus-PCR-Befund
<b>Anzahl</b>	n	55	32	23
<b>Alter (Jahre)</b>	Mittelwert	52	56	48
	Min.–Max.	(45–62)	(46–56)	(36–58)
<b>Geschlecht</b>	m/w	34/21	21/11	13/10
<b>Karnofsky</b>	>80 %	39 (70,9 %)	24 (75 %)	15 (65,2 %)
<b>HCT-CI</b>	0	18 (32,7 %)	9 (28,1 %)	9 (39,1 %)
	1-2	15 (27,3 %)	10 (31,3 %)	5 (21,7 %)
	>2	22 (40 %)	13 (40,6 %)	9 (39,1 %)
<b>Grundkrankheit</b>	AML/MDS	31 (56,4 %)	19 (59,4 %)	12 (52,2 %)
	CLL/NHL	14 (25,5 %)	12 (37,5 %)	2 (8,7 %)
	MM	5 (9,1 %)	0	5 (21,7 %)
	ALL	5 (9,1 %)	1 (3,1 %)	4 (17,4 %)
<b>HLA-Match</b>	MRD	15 (27,3 %)	11 (34,4 %)	4 (17,4 %)
	MUD	33 (60 %)	19 (59,4 %)	14 (60,9 %)
	MMUD	6 (10,9 %)	2 (6,3 %)	4 (17,4 %)
	Haplo	1 (1,8 %)	0	1 (4,3 %)
<b>CMV-Status</b>	neg. in neg.	9 (16,4 %)	7 (21,9 %)	3 (13 %)
	andere	46 (83,6 %)	25 (78,1 %)	20 (87 %)
<b>Konditionierung</b>	MA	15 (27,3 %)	8 (25 %)	8 (34,8 %)
	RIC/NMA	40 (72,7 %)	24 (75 %)	15 (65,2 %)
<b>GvHD-Prophylaxe</b>	CsA + MTX	13 (23,6 %)	7 (21,9 %)	16 (69,6 %)
	CsA + MMF	41 (74,5 %)	25 (78,1 %)	6 (26,1 %)
	andere	1 (1,8 %)	0	1 (4,3 %)

n=Anzahl, Min=Minimum, Max=Maximum, m=männlich, w=weiblich, HCT-CI=hematopoietic stem cell transplantation comorbidity index, Karnovsky=Karnovsky-Index, AML=akute myeloische Leukämie, MDS=myelodysplastisches Syndrom, CLL=chronisch lymphatische Anämie, NHL=Non-Hodgkin Lymphom, MM= multiples Myelom, ALL=akute lymphatische Leukämie, HLA= Histokompatibilitätsantigen, MRD=HLA-identer Familienspender, MUD=HLA-identer Fremdspender, MMUD=nicht-HLA-identer Fremdspender, Haplo=haploidentischer Spender, MA=myeloablativ, RIC=reduced intensity conditioning regimen, GvHD=Graft versus host disease, CSA=Cyclosporin A, MTX= Methotrexat, MMF=Mycofenolat Mofetil, CMV=Cytomegalievirus, EBV=Epstein-Barr-Virus, HHV-6=Herpesvirus 6, PCR=Polymerase Chain Reaction, neg.=negativ

**Tab. 3:** Patienten und Transplantationscharakteristika bei pos. Virus-PCR

		Positiver CMV PCR-Befund	Positiver EBV PCR-Befund	Positiver HHV-6 PCR-Befund	Positiver Parvo B19 Befund
<b>Anzahl</b>	n	6	6	3	12
<b>Alter (Jahre)</b>	Mittelwert	53	45	61	37
	Min.–Max.	(42–66)	(33–54)	(58–61)	(30–46)
<b>Geschlecht</b>	m/w	2/4	4/2	2/1	8/4
<b>Karnofsky</b>	>80 %	3 (50 %)	5 (83,3 %)	3 (100 %)	6 (50 %)
	0	3 (50 %)	2 (33,3 %)	1 (33,3 %)	6 (50 %)
<b>HCT-CI</b>	1-2	1 (16,7 %)	1 (16,7 %)	1 (33,3 %)	2 (16,7 %)
	>2	2 (33,3 %)	3 (50 %)	1 (33,3 %)	4 (33,3 %)
<b>Grund-krankheit</b>	AML/MDS	5 (83,3 %)	4 (66,7 %)	2 (66,7 %)	5 (41,7 %)
	CLL/NHL	0	0	0	1 (8,3 %)
	MM	1 (16,7 %)	2 (33,3 %)	1 (33,3 %)	2 (16,7 %)
	ALL	0	0	0	4 (33,3 %)
<b>HLA-Match</b>	MRD	1 (16,7 %)	1 (16,7 %)	1 (33,3 %)	1 (8,3 %)
	MUD	5 (83,3 %)	4 (66,7 %)	1 (33,3 %)	7 (58,3 %)
	MMUD	0	1 (16,7 %)	0	4 (33,3 %)
	Haplo	0	0	1 (33,3 %)	0
<b>CMV-Status</b>	neg. in neg.	2 (33,3 %)	4 (66,7 %)	1 (33,3 %)	1 (8,3 %)
	andere	4 (66,7 %)	2 (33,3 %)	2 (66,7 %)	11 (91,7 %)
<b>Konditionierung</b>	MA	2 (33,3 %)	2 (33,3 %)	1 (33,3 %)	5 (41,7 %)
	RIC/NMA	4 (66,6 %)	4 (66,7 %)	2 (66,7 %)	7 (58,3 %)
<b>GvHD-Prophylaxe</b>	CsA+MTX	1 (16,7 %)	0	0	6 (50 %)
	CsA+MMF	5 (83,3 %)	4 (66,7 %)	2 (66,7 %)	6 (50 %)
	andere	0	2 (33,3 %)	1 (33,3 %)	0

n=Anzahl, Min=Minimum, Max=Maximum, m=männlich, w=weiblich, HCT-CI=hematopoietic stem cell transplantation comorbidity index, Karnovsky=Karnovsky-Index, AML=akute myeloische Leukämie, MDS=myelodysplastisches Syndrom, CLL=chronisch lymphatische Anämie, NHL=Non-Hodgkin Lymphom, MM=multiples Myelom, ALL=akute lymphatische Leukämie, HLA= Histokompatibilitätsantigen, MRD=HLA-identer Familienspender, MUD=HLA-identer Fremdspender, MMUD=nicht-HLA-identer Fremdspender, Haplo=haploidentischer Spender, MA=myeloablativ, RIC=reduced intensity conditioning regimen, GvHD=Graft versus host disease, CSA=Cyclosporin A, MTX= Methotrexat, MMF=Mycofenolat Mofetil, CMV=Cytomegalievirus, EBV=Epstein-Barr-Virus, HHV-6=Herpesvirus 6, Parvo B19=Parvovirus B19; PCR=Polymerase Chain Reaction

## 4.2 Ergebnisse der Histologie aus den Hautbiopsien

Bei den 55 Hautbiopsien mit Virus-PCR-Diagnostik waren die histologischen Diagnosen bei 30 Biopsien aGvHD (54,5 %), bei 10 Biopsien Virusexanthem (18,2 %), bei 5 Biopsien Arzneimittelexanthem (9,1 %), bei 6 Biopsien eine andere dermatologische Erkrankung (10,9 %) und bei 2 Biopsien ein unauffälliger Hautbefund (3,6 %). Bei 2 Biopsien war eine histologische Befundung nicht möglich (3,6 %). Beim Vergleich der Ergebnisse der Virus-PCR-Befunde mit den histologischen Ergebnissen zeigten sich keine signifikanten Übereinstimmungen ( $p=0,29$ ). Nur bei 6 der 23 Hautbiopsien mit PCR-Nachweis von viraler DNA (26,1 %) wurde histologisch die Diagnose Virusexanthem gestellt. Die übrigen 17 Biopsien hatten andere histologische Diagnosen (11 aGvHD, 2 Arzneimittelexanthem, 3 uneindeutiger Befund, 1 unauffälliger Befund). Innerhalb der 32 Hautbiopsien mit negativem Virus-PCR-Befund wurden bei 4 die histologische Diagnose eines Virusexanthems gestellt. Die histologischen Diagnosen zeigten innerhalb der Hautbiopsien mit positivem Virus-PCR-Befund für CMV, EBV, HHV-6 und Parvovirus B19 keine signifikante Übereinstimmung ( $p=0,477$ ;  $p=0,268$ ;  $p=0,061$ ;  $p=0,443$ ). Alle Biopsien mit negativem PCR-Befund für CMV (7/7), EBV (10/10) und Parvovirus B19 (6/6) hatten auch in der immunhistochemischen Bestimmung ein negatives Ergebnis. Bei den Hautbiopsien mit positivem CMV PCR-Befund wiesen 3 ein positives immunhistochemisches Ergebnis auf. EBV- und Parvovirus B19 positive Hautbiopsien zeigten keinen positiven immunhistochemischen Befunde. Tab. 4 zeigt die histologischen Ergebnisse innerhalb der Hautbiopsien mit positivem Virus-PCR-Befund.

**Tab. 4:** Gegenüberstellung der histologischen Befunde und der Virus-PCR-Befunde aus den Hautbiopsien

	Virus PCR (n=55)		CMV PCR (n=48)		EBV PCR (n=51)		HHV-6 PCR (n=30)		Parvo B19 PCR (n=45)	
	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
Histologie: Virus- exanthem	6	4	1	8	1	8	2	4	3	5
Histologie: anderes Exanthem*	17	28	5	34	5	37	1	23	9	28

GvHD=Graft versus host disease, CMV=Cytomegalievirus, EBV=Epstein-Barr-Virus, HHV-6=Herpesvirus 6, Parvo B19=Parvovirus B19, PCR=Polymerase Chain Reaction, histolog. Befund=histologischer Befund

\*GvHD, Arzneimittelexanthem, normale Haut, nicht eindeutiger Befund

### **4.3 Klinische Charakteristika zum Zeitpunkt der Hautbiopsie**

Es wurden Daten bezüglich der klinischen Verfassung, in der sich die Patienten zum Zeitpunkt der Hautbiopsieentnahme befanden, ausgewertet. Zudem wurden ab dem Transplantationszeitpunkt die Tage bis zur Biopsieabnahme und dem Exanthemaufreten analysiert. Tabelle 5 listet die Resultate hierfür auf.

Bei den 55 Patienten mit Virus-PCR-Diagnostik in der Hautbiopsie wurde im Zeitraum des Auftretens des akuten Exanthems in 44 (80 %) Fällen das Vorhandensein einer aGvHD dokumentiert. Die restlichen Patienten hatten keine aGvHD (11 Patienten, 20 %). Es wurden leichte aGvHD Befunde (Grad I-II) bei 33 (60 %) und schwere aGvHDs (Grad III-IV) bei 11 (20 %) Patienten verzeichnet. Dabei trat bei allen 44 Patienten mit aGvHD auch eine Haut-aGvHD auf. Bei 14 (25,5 %) Patienten trat eine Darm-aGvHD und bei 12 (21,8 %) Patienten eine Leber-aGvHD auf. Es gab keine Unterschiede beim maximalen aGvHD Ausprägungsgrad zwischen Patienten mit positivem und negativem Virusbefund in der Hautbiopsie ( $p=0,867$ ). Ebenso konnten keine Unterschiede im Vergleich der einzelnen Ausprägungsgrade der Haut-aGvHD ( $p=0,948$ ), Darm-aGvHD ( $p=0,287$ ) und Leber-aGvHD ( $p=0,640$ ) festgestellt werden. Beim Vergleich der maximalen Ausprägungsgrade der Exantheme auf der Körperoberfläche (1–50 % der KOF vs. 51–100 % der KOF) zeigte sich ein niedrigerer Ausprägungsgrad bei Exanthemen mit PCR-Nachweis von viraler DNA in der Hautbiopsie ( $p = 0,026$ ). Beim Vergleich des Erstauftretens des Exanthems ( $p=0,886$ ) und dem Vorhandensein von Allgemeinsymptomen bei Hautbiopsieentnahme ( $p=0,587$ ) zeigten sich keine Zusammenhänge.

**Tab. 5:** Klinische Parameter zum Zeitpunkt der Hautbiopsieentnahme

	<b>Neg. Virus-PCR</b>	<b>Pos. Virus-PCR</b>	<b>Pos. CMV PCR</b>	<b>Pos. EBV PCR</b>	<b>Pos. HHV-6 PCR</b>	<b>Pos. Parvo-B19 PCR</b>
n	32	23	6	6	3	12
Tage bis zum Auftreten des Exanths (Median)	23	37	47,5	41	13	32
Biopsieentnahme (Median der Tage nach Exanthemaufreten)	3	2	3	6	4	2
Haut-aGvHD-Stadium						
Stadium 1 - 2	12/ 37,5 %	9/ 39,1 %	5/ 83,3 %	5/ 83,3 %	3/ 100 %	9/ 75 %
Stadium 3 - 4	16/ 50 %	7/ 30,4 %	1/ 16,7 %	1/ 16,7 %	0	3/ 25 %
Vorhandensein von klinischen Symptomen*	12/ 37,5 %	7/ 30,4 %	1/ 16,7 %	3/ 50 %	1/ 33,3 %	5/ 41,7 %
Initiierung oder Erhöhung einer immunsuppressiven Therapie nach Hautbiopsie	26/ 81,3 %	12/ 52,2 %	3/ 50 %	3/ 50 %	2/ 66,7 %	5/ 41,7 %
Erhöhung oder Initiierung einer antiviralen Therapie nach Hautbiopsie	5/ 15,6 %	13/ 56,5 %	5/ 83,3 %	6/ 100 %	3/ 100 %	3/ 25 %
positives Ansprechen auf die Therapieänderung**	26/ 81,3 %	20/ 87 %	5/ 83,3 %	5/ 83,3 %	3/ 100 %	7/ 58,3 %

n=Anzahl, SZT=Stammzelltransplantation, CMV=Cytomegalievirus, EBV=Epstein-Barr-Virus, HHV-6=Herpesvirus 6, Parvo B19=Parvovirus B19, PCR=Polymerase Chain Reaction, aGvHD=acute Graft versus host disease

Die Prozentzahlen beziehen sich auf die Anzahl n der jeweiligen Spalte.

\* Hepatosplenomegalie, Lymphknotenschwellung oder Fieber bei Biopsieentnahme (3 Tage vor bis 3 Tage nach Exanthemaufreten)

\*\*Therapieerfolg wurde mit Abheilen des Exanths definiert. Kein Therapieerfolg wurde definiert durch kein Abheilen des Exanths bzw. Umstellung der Ersttherapie.

In 60,9 % der Fälle mit positivem Virus-PCR-Ergebnis wurde abschließend auch ein Virusexanthem diagnostiziert. In 8 Fällen mit positivem Virus-PCR-Ergebnis (34,8 %) erfolgte aufgrund des Ansprechens auf eine immunsuppressive Therapie oder aufgrund des klinischen Verdachts einer GvHD mit passendem histologischem Ergebnis die Diagnose aGvHD. Im Detail sprach bei einem Patienten das histologische Ergebnis für das Vorliegen einer aGvHD. Vier weitere Patienten sprachen auf eine immunsuppressive Therapie an, wobei bei einem Patienten zusätzlich der klinische Verdacht und bei zwei sowohl ein klinischer als auch ein histologischer Verdacht auf das Vorliegen einer aGvHD vorlag. Drei Patienten wiesen ein typisches histologisches und klinisches Bild einer aGvHD auf. Von den 32 Patienten mit negativem Virus-PCR-Befund diagnostizierte man aufgrund der Klinik bei 2 (6,2 %) Patienten trotzdem ein Virusexanthem. Abbildung 4 listet die genauen Diagnosen der endgültigen Arztbriefe bei positivem und negativem Virus-PCR-Befund in der Hautbiopsie auf.

<p>Positiver Virusnachweis in der Hautbiopsie n=23</p>	<p><b>•Abschlussdiagnose</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Virusexanthem <b>6 (26,1 %)</b></li> <li>•Virusexanthem und aGvHD <b>8 (34,8 %)</b></li> <li>•aGvHD <b>8 (34,8 %)</b></li> <li>•Anderes Exanthem <b>1 (4,3 %)</b></li> </ul>
<p>Negativer Virus-PCR-Befund in der Hautbiopsie n=32</p>	<p><b>•Abschlussdiagnose</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Virusexanthem <b>2 (6,2 %)</b></li> <li>•Virusexanthem und aGvHD <b>0</b></li> <li>•aGvHD <b>28 (87,5 %)</b></li> <li>•Anderes Exanthem <b>2 (6,2 %)</b></li> </ul>

**Abb. 4:** Die Abschlussdiagnosen aus dem Arztbrief bei Detektion von viraler DNA in der Hautbiopsie

aGvHD=akute Graft versus Host Reaktion (In der linken Spalte ist das PCR-Ergebnis aus den Hautbiopsien aufgelistet, die rechte Spalte listet die Abschlussdiagnosen aus dem Arztbrief auf).

#### 4.4 Vergleich der Ergebnisse der Virus-PCR aus der Hautbiopsie und dem peripheren Blut

Bei jedem Patienten, der eine Hautbiopsie mit Virus-PCR-Diagnostik erhielt, erfolgte auch eine Virus-PCR-Bestimmung im pB (10 Tage vor der Hautbiopsie bis 10 Tage nach der Hautbiopsie). Hierbei konnte bei 26 Patienten im pB virale DNA nachgewiesen werden. Allerdings wurden nicht immer dieselben Viren wie in den Hautbiopsien analysiert. Tabelle 6 zeigt die absolute Anzahl der Virus-PCR-Untersuchungen im pB und in den Hautbiopsien.

**Tab. 6:** Die mittels PCR untersuchten Viren in der Hautbiopsie und im pB 10 Tage vor und nach dem Biopsiezeitpunkt (n=55).

	<b>Analysierte Viren insgesamt im pB</b>	<b>Analysierte Viren insgesamt in der Hautbiopsie</b>
<b>CMV</b>	52	48
<b>EBV</b>	50	51
<b>HHV-6</b>	17	30
<b>Parvo B19</b>	16	45

CMV=Cytomegalievirus, EBV=Epstein-Bar Virus, HHV-6=Humanes Herpesvirus 6, pB=peripheres Blut

Es wurden für CMV 45 Patienten, für EBV 46 Patienten, für HHV-6 10 Patienten und für Parvovirus B19 13 Patienten identifiziert, welche sowohl eine Virus-PCR-Analyse im pB als auch in der Hautbiopsie erhielten. Die Ergebnisse der Virus-PCR-Analysen aus dem pB und den Hautbiopsien zeigten deutliche Übereinstimmungen bei den Herpesviren ( $p=0,016$  für CMV;  $p<0,001$  für EBV,  $p=0,067$  für HHV-6). Im pB kam es etwas häufiger zu positiven Herpesvirusresultaten als in den Hautbiopsien (Tab. 7).

Parvovirus B19 konnte im pB allerdings nie nachgewiesen werden (Tab.7).

**Tab. 7:** Vergleich der PCR-Ergebnisse aus den Hautbiopsien und dem pB

	PCR Biopsie (n=55)		PCR aus Biopsie für CMV		PCR aus Biopsie für EBV		PCR aus Biopsie für HHV-6		PCR aus Biopsie für Parvo-B19	
	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
<b>Pos. PCR im pB</b>	18	11	4	6	6	7	2	1	0	0
<b>Neg. PCR im pB</b>	5	21	2	33	0	33	0	7	3	10
<b>p-Wert</b>	<0,001		0,016		<0,001		0,067		k.A.	

pB=peripheres Blut, k.A.=keine Assoziation, CMV=Cytomegalovirus, EBV=Epstein-Barr-Virus, HHV-6=Herpesvirus 6, Parvo B19=Parvovirus B19, PCR=Polymerase Chain Reaction

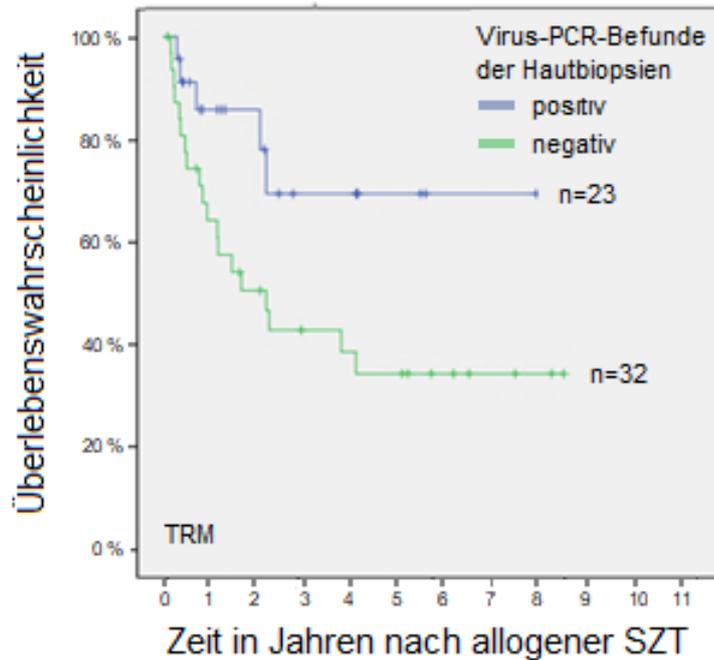
#### **4.5 Assoziation des Gesamtüberlebens und der transplantationsbezogenen Mortalität (TRM) mit dem Ergebnis der Virus-PCR aus der Hautbiopsie**

Von den 55 Patienten, die eine Hautbiopsie mit Virus-PCR-Diagnostik erhielten, starben 15 (27,3 %) Patienten im ersten Jahr und weitere 4 (10 %) Patienten im zweiten Jahr aufgrund einer transplantationsbezogenen Ursache (TRM). Es zeigte sich eine geringere TRM bei den Patienten mit positivem Virus-PCR-Ergebnis in der Hautbiopsie ( $p=0,035$ ). Abbildung 5 zeigt die Kaplan-Maier Kurve von Patienten mit positivem und negativem Virus-PCR-Befund.

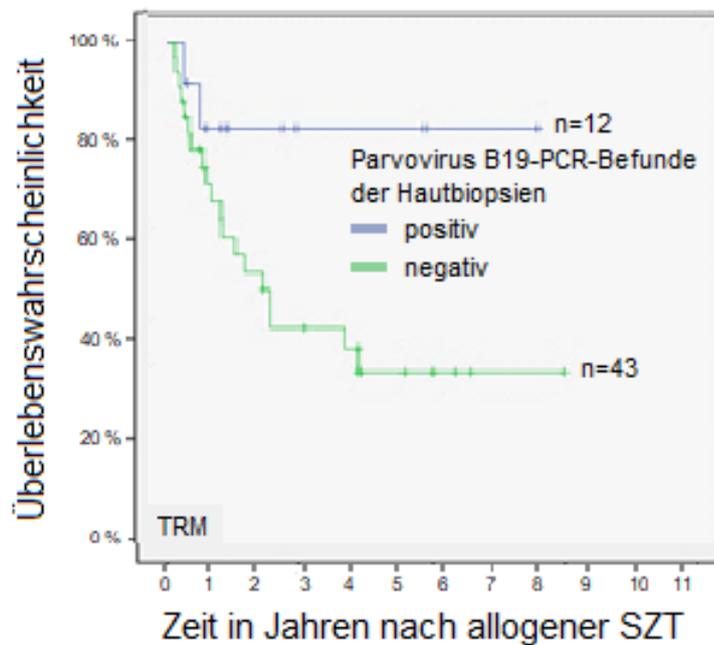
Beim Vergleich des Gesamtüberlebens (TRM + Versterben aufgrund eines Rezidivs oder eines Progresses der Grunderkrankung) zeigte sich allerdings kein Unterschied zwischen Patienten mit positivem und negativem Virusbefund in der Hautbiopsie ( $p=0,674$ ).

Patienten mit positivem Parvovirus B19 PCR-Befund hatten eine niedrigere TRM als Patienten ohne positiven Parvovirus B19 Befund ( $p=0,066$ ; Abbildung 6).

Bei dem Vergleich zwischen Patienten mit positivem und negativem PCR-Befund in der Hautbiopsie für CMV, EBV und HHV-6 zeigte sich keine Unterschiede in der TRM ( $p=0,268$  für CMV,  $p=0,372$  für EBV,  $p=0,367$  für HHV-6).



**Abb. 5:** Assoziation der TRM mit dem Ergebnis der Virus-PCR aus der Hautbiopsie  
 $p=0,035$ ; TRM=Transplant related mortality, transplantationsassoziierte Mortalität,  
 PCR=Polymerase Chain Reaction, n=Anzahl, SZT=Stammzelltransplantation,  
 Überlebenswahrscheinlichkeit=Wahrscheinlichkeit für keinen Tod durch TRM



**Abb. 6:** Assoziation der TRM mit dem Ergebnis für Parvovirus B19 aus der Hautbiopsie  
 $p=0,066$ , TRM=Transplant related mortality, transplantationsassoziierte Mortalität,  
 PCR=Polymerase Chain Reaction, n=Anzahl, SZT=Stammzelltransplantation,  
 Überlebenswahrscheinlichkeit=Wahrscheinlichkeit für keinen Tod durch TRM

#### **4.6 Therapieänderung nach Virus-PCR-Befund in der Hautbiopsie**

Von den 23 Patienten mit positivem Virusbefund wurden 12 (52,2 %) immunsuppressiv und 13 (56,5 %) antiviral therapiert. Dabei erhielten 7 (30,4 %) dieser Patienten sowohl eine antivirale als auch eine immunsuppressive Therapie.

Von den 12 Patienten mit positivem Ergebnis für Parvovirus B19 wurden 5 immunsuppressiv und 3 antiviral therapiert. Ein Patient wurde antiviral und immunsuppressiv therapiert.

Von den 14 Patienten, bei denen Herpesvirus-DNA in der Hautbiopsie detektiert wurde, wurde in 13 Fällen antiviral und in 8 Fällen immunsuppressiv therapiert. Bei 7 Patienten wurde sowohl antiviral als auch immunsuppressiv therapiert.

5 von 6 Patienten mit einem positivem CMV PCR-Befund, 6 von 6 Patienten mit einem positivem EBV PCR-Befund und 3 von 3 Patienten mit einem positivem HHV-6 PCR-Befund erhielten eine antivirale Therapie.

Bei den 12 Patienten mit positiven Parvovirus B19 Befunden und den 14 Patienten mit positiven Herpesvirus PCR-Befunden zeigte sich in 87,5 % bzw. 85,7 % ein Therapieerfolg. Als Therapieerfolg wurde ein Abheilen des Exanthems ohne notwendige Zweitlinientherapie gewertet.

Die 32 Patienten mit negativer Virus-PCR erhielten in 26 Fällen eine immunsuppressive und in 5 Fällen eine antivirale Therapie. In diesen 5 Fällen bestand eine systemische Virusinfektion.

## **4.7 Assoziation von transplantationsbezogener Mortalität (TRM) und Gesamtüberleben mit einer Therapieänderung nach Hautbiopsie**

### **4.7.1 Immunsuppressive Therapie in Abhängigkeit der Hautbiopsie**

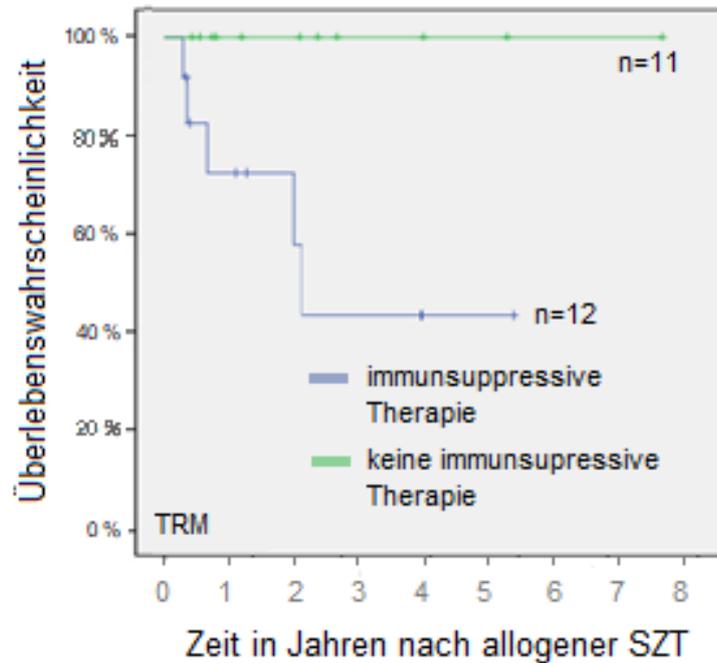
Patienten mit positiver Virus-PCR in der Hautbiopsie, welche nach Entnahme der Hautbiopsie eine immunsuppressive Therapie erhielten, zeigten eine deutlich höhere TRM ( $p=0,018$ , Abb. 7). In der Untersuchung der einzelnen Virengruppen bestätigte sich dies als Trend für Parvovirus B19 ( $p=0,089$ ). Bei den Herpesviren zeigte sich kein Zusammenhang ( $p=0,175$ ). Das Gesamtüberleben war in dieser Gruppe nicht erniedrigt ( $p=0,184$ ). Bei positiver Virus-PCR im pB (10 Tage vor und nach Hautbiopsie-Entnahme) und nachfolgender immunsuppressiver Therapie konnten eine höhere TRM ( $p=0,003$ , Abb. 8) und ein niedrigeres Gesamtüberleben ( $p=0,023$ ) nachgewiesen werden.

Eine immunsuppressive Therapie nach der Hautbiopsie bei negativer Virus-PCR in der Hautbiopsie oder im pB (10 Tage vor und nach Hautbiopsie-Entnahme) führte zu keiner Veränderung der TRM oder im Gesamtüberleben (Gesamtüberleben Hautbiopsie:  $p=0,977$ , TRM Hautbiopsie:  $p=0,776$ , Gesamtüberleben pB:  $p=0,364$ , TRM pB:  $p=0,895$ ).

### **4.7.2 Antivirale Therapie in Abhängigkeit der Hautbiopsie**

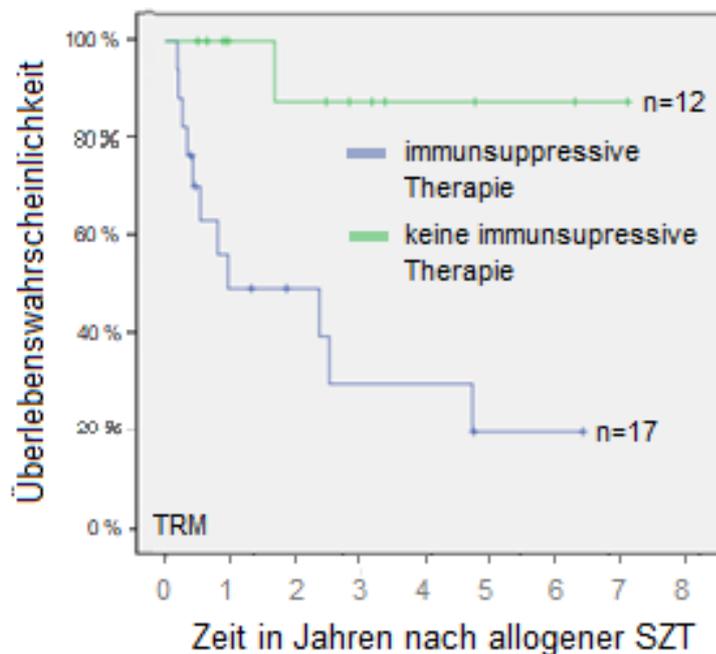
Bei positiver Virus-PCR in der Hautbiopsie oder im pB (10 Tage vor und nach Hautbiopsie-Entnahme) zeigte sich keine Änderung der TRM oder des Gesamtüberlebens, falls eine antivirale Therapie folgte (TRM Hautbiopsie:  $p=0,991$ , TRM pB:  $p=0,727$ , Gesamtüberleben Hautbiopsie:  $p=0,375$ , Gesamtüberleben pB:  $p=0,836$ ).

Bei negativer Virus-PCR in der Hautbiopsie oder im pB (10 Tage vor und nach Hautbiopsie-Entnahme) konnte bei anschließender antiviraler Therapie ebenfalls kein signifikanter Effekt auf die TRM oder das Gesamtüberleben nachgewiesen werden (Gesamtüberleben Hautbiopsie:  $p=0,354$ , Gesamtüberleben pB:  $p=0,467$ , TRM Hautbiopsie:  $p=0,185$ , TRM pB:  $p=0,738$ ).



**Abb. 7:** Überlebenswahrscheinlichkeit nach allogener SZT in Jahren in Abhängigkeit der immunsuppressiven Therapie bei positiver Virus-PCR aus der Hautbiopsie

$p=0,018$ , TRM=Transplant related mortality, transplantationsassoziierte Mortalität, PCR=Polymerase Chain Reaction, n=Anzahl, SZT=Stammzelltransplantation, Überlebenswahrscheinlichkeit=Wahrscheinlichkeit für keinen Tod durch TRM



**Abb. 8:** Überlebenswahrscheinlichkeit nach allogener SZT in Jahren in Abhängigkeit der immunsuppressiven Therapie bei positiver Virus-PCR aus dem pB

$p=0,003$ , TRM=Transplant related mortality, transplantationsassoziierte Mortalität, PCR=Polymerase Chain Reaction, n=Anzahl, SZT=Stammzelltransplantation, Überlebenswahrscheinlichkeit=Wahrscheinlichkeit für keinen Tod durch TRM

#### 4.8 Multivariate Analyse der Assoziation von Ergebnissen der Hautbiopsie und anderen Faktoren mit der transplantationsbezogenen Mortalität (TRM)

Patienten mit Parvovirus B19 Detektion in der Hautbiopsie hatten insgesamt eine erniedrigte TRM jedoch bei nachfolgend durchgeführter immunsuppressiver Therapie eine erhöhte TRM. Der Einfluss auf die TRM war bei Parvovirus B19 Nachweis ausgeprägter als bei den anderen Viren. Bei Parvovirus B19 erfolgte seltener eine immunsuppressive Therapie als bei den anderen Viren. Um weitere Parameter mit Einfluss auf die TRM zu identifizieren, wurde eine multivariate Analyse durchgeführt. Es wurden neben Biopsien mit Parvovirus B19 Nachweis andere aus der Literatur bekannte Risikofaktoren für eine Erhöhung der TRM (siehe Kapitel 1.2) wie GvHD-Grad, immunsuppressive Therapie, Spender/ Empfänger-CMV-Status, HLH-Mismatch, Konditionierungstherapie und HCT-CI Status in diese Analyse eingeschlossen. Hierbei zeigte die Detektion von Parvovirus B19 DNA in der Hautbiopsie und ein GvHD Grad von III-IV einen Einfluss auf die TRM. Im Gegensatz dazu waren eine immunsuppressive Therapie, ein positiver CMV Status, ein HLA-Mismatch, der HCT-CI Score und die Konditionierungstherapie nicht mit der TRM assoziiert (Tabelle 8).

**Tab. 8:** Multivariate Cox-Regressionsanalyse für Risikofaktoren einer TRM

Variablen	Kategorien	HR (95% KI)	p-Wert
<b>Detektion von Parvovirus B19 in der Hautbiopsie</b>	ja   nein	0,12	0,019
<b>GvHD Grad</b>	I-II   III-IV	5,11	0,008
<b>Initiierung einer Immunsuppression</b>	ja   nein	1,2	0,845
<b>HCT-CI</b>	0   > 1	0,48	0,209
<b>CMV Serostatus</b>	neg. in neg   andere	4,5	0,067
<b>HLA</b>	10/10 ident   andere	1,76	0,516
<b>Konditionierungstherapie</b>	myeloablativ   andere	0,06	0,058

HR=hazard ratio, KI=Konfidenzintervall, HCT-CI=hematopoietic stem cell transplantation comorbidity index CMV=Cytomegalievirus, GvHD=Graft versus host disease, HLA= Histokompatibilitätsantigen, neg.=negativ

## **5 Diskussion**

Patienten nach allogener SZT entwickeln häufig ein Exanthem. Exantheme sind häufig das erste klinische Symptom teilweise schwerer Erkrankungen nach SZT wie Virusreaktivierungen und GvHD, die mit einer hohen Letalität verbunden sind. Diese Erkrankungen sind initial klinisch und histopathologisch nicht immer sicher voneinander zu unterscheiden und die Therapie ist zum Teil gegensätzlich.

Diese Arbeit untersuchte, ob der PCR-Nachweis von viraler Nukleinsäure durch Hautbiopsien aus akut aufgetretenen Exanthenen nach allogener SZT einen Nutzen für die Diagnostik, Therapie und Prognose dieser Exantheme besitzt.

Die Zielstellungen waren:

1. Die Patienten-, Grunderkrankungs- und Transplantationscharakteristika des Patientenkollektivs deskriptiv zu beschreiben.
2. Die klinischen Exanthemcharakteristika bei positiver Virus-PCR in der Biopsie zu beschreiben.
3. Die histologischen Biopsieergebnisse mit den Ergebnissen der Virus-PCR Bestimmung zu vergleichen.
4. Die Virus-PCR-Ergebnisse der Hautbiopsien mit den PCR-Ergebnissen aus dem pB 10 Tage vor und nach der Biopsieentnahme zu vergleichen.
5. Den Einfluss der Virus-PCR auf die Therapie zu bewerten.
6. Die Assoziation des Gesamtüberlebens und der TRM mit dem Ergebnis der Virus-PCR aus der Hautbiopsie zu ermitteln.

Hierfür erfolgte eine retrospektive Auswertung der Daten aller Patienten, welche sich am UKH zwischen Juli 2005 und Juni 2013 einer allogenen SZT unterzogen hatten.

### **5.1 Wesentliche Ergebnisse der Arbeit**

Es zeigte sich eine erniedrigte TRM bei positivem Virus-Befund in der Hautbiopsie.

Patienten, welche eine immunsuppressive Therapie nach einem Exanthem mit Nachweis von viraler DNA in der Hautbiopsie oder im pB erhielten, hatten eine erhöhte TRM. Bei antiviraler Therapie nach positiver Virus-PCR in der Hautbiopsie oder im pB zeigte sich keine Veränderung der TRM.

Mittels multivariater Analyse konnte Parvovirus B19 in der Hautbiopsie und eine aGvHD Grad III-IV als Einflussfaktoren auf die TRM bestätigt werden.

Die deskriptive Auswertung des Transplantationssettings, der Grunderkrankungen und des Patientenkollektivs in dieser Arbeit zeigte vergleichbare Ergebnisse mit anderen Kohorten von Patienten nach allogener SZT.

Die histologischen Auswertungen der Hautbiopsien zeigten hinsichtlich der Unterscheidung Virusexanthem/ kein Virusexanthem keine Übereinstimmungen mit den Virusdetektionen der PCR-Untersuchung der Hautbiopsien.

Ein vermehrtes Auftreten von Allgemeinsymptomen bei den Patienten mit positiver Virus-PCR in der Hautbiopsie konnte nicht nachgewiesen werden. Die Ausprägung der Exantheme auf der Körperoberfläche war allerdings geringer als bei Patienten ohne Detektion von viraler DNA.

Bei dem Vergleich der Virus-PCR aus den Hautbiopsien mit der Virus-PCR aus dem pB 10 Tage vor und nach der Hautbiopsie-Entnahme fiel auf, dass Parvovirus B19 im pB nie nachgewiesen werden konnte. Bei EBV, CMV und HHV-6 zeigten sich deutliche Übereinstimmungen zwischen den Ergebnissen der Hautbiopsien und dem pB. Herpesviren wurden im pB häufiger detektiert als in den Hautbiopsien.

60,9 % der Exantheme mit positiver Virus-PCR in der Hautbiopsie wurden abschließend als virusbedingtes Exanthem gewertet. Diese Exantheme erhielten alle eine antivirale oder symptomatische Therapie und nie eine immunsuppressive Therapie.

## **5.2 Patienten- und Transplantationscharakteristika**

In unserer Auswertung betrug das mediane Patientenalter zum Zeitpunkt der allogenen SZT 56,5 Jahre. Der jüngste Patient war 18 und der älteste 72 Jahre alt. Im Vergleich zu den von Passweg et al. und Gratwohl et al [126, 127] publizierten Daten zeigte sich ein höheres medianes Lebensalter zum Zeitpunkt der Transplantation. Passweg et al. werteten die Transplantationscharakteristika von 654 Transplantationszentren in 48 Ländern im Zeitraum von 1990 bis 2010 aus. In der Arbeit von Gratwohl et al. wurden die Daten von 592 Zentren in 42 Ländern bei Patienten nach allogener SZT aufgrund einer CML aufgelistet. Darin zeigte sich ein medianes Transplantationsalter von 39 bzw. 33 Jahren. Gratwohl et al. konnte ein über die Jahre steigendes Transplantationsalter feststellen. Somit ist das höhere mediane Alter bei allogener SZT in der vorliegenden Arbeit möglicherweise zum Teil mit dieser Entwicklung assoziiert. Im Vergleich des Geschlechterverhältnisses zeigte sich annähernd dieselbe Verteilung wie bei anderen publizierten Arbeiten. So lag das Verhältnis zwischen Männern und Frauen bei 38,5 % Frauen und 61,5 % Männern. Im Vergleich der 654 Transplantationszentren in der Arbeit von Passweg et al. lag der Anteil von Frauen bei 39 % und von Männern bei 61 % [126]. Hinsichtlich des Stammzellspenders zeigten sich mehr unverwandte Spender als in

anderen Arbeiten. Der Anteil an MRD lag bei 23,8 % und der Anteil an MUD und MMUD bei 63,9 % bzw. 10,7 %. Im Vergleich der Transplantationszentren in der Arbeit von Passweg et al. waren im Mittel 46,65 % der Patienten verwandt und 53 % nicht verwandt [126, 128]. Dieser Unterschied kann auf das höhere mediane Transplantationsalter in dem Patientenkollektiv dieser Arbeit zurückgeführt werden. Bei älteren Patienten ist die Wahrscheinlichkeit, einen verwandten Spender (v.a. Geschwister) zu finden, geringer. Der Anteil an RIC- und NMA-Konditionierungsregimen lag bei 50,8 % bzw. 18 %. Dies ist vergleichbar mit anderen Zentren. In publizierten Arbeiten liegt der Anteil für NMA- und RIC-Konditionierung bei 60 % [129]. Hinsichtlich des Karnofsky-Indexes und somit des Allgemeinzustandes der Patienten vor Transplantation ergaben sich nur geringe Abweichungen zu dem Patientenkollektiv in der Untersuchung von Sorrow et al. an 341 Patienten [130].

Die Diagnosen, welche zu einer allogenen SZT geführt hatten, waren in absteigender Reihenfolge AML, CLL und andere Non-Hodgkin-Lymphome, Multiples Myelom, ALL, MDS sowie andere seltener Indikationen wie Osteomyelofibrose, aplastische Anämie, M. Hodgkin und CML. Wie bei der Arbeit von Passweg et al. war die AML mit 29,57 % die häufigste Indikation für eine Transplantation. Die Gruppe der akuten lymphatischen Leukämien waren mit 15,04 % fast doppelt so häufig vertreten, wobei NHL (8,0 %) und MM (4,09 %) im Vergleich zu dem Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit seltener zur allogenen SZT führten. Das Gesamtüberleben betrug 39,34 %, bei einem medianen Follow-Up der Überlebenden von 3,92 Jahren. Die TRM nach 2 Jahren lag bei 34,5 %. In dem internationalen Vergleich von Passweg et al. [126] betrug das Gesamtüberleben 60 %, bei einer Follow-Up-Zeit von einem Jahr. Die TRM nach 2 Jahren lag bei 20 %. In der Studie von Gooley et al. [20] wurde ein Gesamtüberleben von 47 % nach 7 Jahren verzeichnet. Das im Vergleich zu diesen Arbeiten niedrigere Gesamtüberleben und die erhöhte TRM nach 2 Jahren ist ebenfalls auf das höhere Patientenalter bei Transplantation zurückzuführen, da die TRM mit zunehmendem Alter der Patienten steigt [15, 36, 131].

Insgesamt entsprach das für die Analysen genutzte Kollektiv im Hinblick auf die erhobenen Patienten- und Transplantationscharakteristika bis auf das höhere Patientenalter bei SZT und dem damit verbundenen höheren Anteil an unverwandten Spendern und niedrigerem Gesamtüberleben sowie einem höheren Anteil an ALL als Grunderkrankung somit großen publizierten Patientenkollektiven.

### **5.3 Virus-PCR aus Hautbiopsien und aus dem peripheren Blut bei akuten Exanthemen nach allogener Stammzelltransplantation**

In der vorliegenden Arbeit wurde die Virus-PCR-Untersuchung aus Hautbiopsien von Exanthemen nach allogener SZT analysiert. Damit ist die Arbeit eine der ersten Studien, welche die Virus-PCR bei Hautbiopsien zur Diagnostik von Exanthemen nach einer SZT evaluierte. Es wurden zusätzlich die Virus-PCR-Ergebnisse aus dem pB im Zeitraum von 10 Tagen vor und nach den Hautbiopsien untersucht. In den Hautbiopsien konnte am häufigsten Parvovirus B19, gefolgt von CMV, EBV und HHV-6 nachgewiesen werden. Da HHV-8 und HSV nie detektiert wurden und nur ein einziges positives PCR-Ergebnis für HHV-8 vorlag, wurden diese Viren aus der Analyse ausgeschlossen. Im pB zeigten sich bei Herpesviren vergleichbare Ergebnisse wie in den Hautbiopsien. Parvovirus B19 konnte im pB nie nachgewiesen werden.

Technisch ist eine Bestimmung von Parvovirus B19-DNA mittels PCR im pB möglich, wie eine Arbeit von Musiani M et al. zeigt [132]. Ob eine Reaktivierung in der Haut ohne Virusreaktivierung im pB einhergeht, ist in der Literatur nicht beschrieben. Vuorinen T. et al. vermutete in einer Veröffentlichung 2002, dass die Viren in der gesunden Haut persistieren [118].

In einem Fallbericht von Muethering et al. (2007) wurden bereits 2 Patienten des vorliegenden Patientenkollektivs mit selbstlimitierenden Parvovirus B19 Exanthemen nach allogener SZT beschrieben. Im pB konnten IgG-, aber keine IgM-Antikörper gegen Parvovirus B19 nachgewiesen werden. Parvovirus B19 Exantheme wurden als mögliche Differentialdiagnose bei akuten Exanthemen nach allogener SZT diskutiert [133].

Hentrich et al. veröffentlichten 2005 eine prospektive Studie bei der 228 Patienten nach allogener SZT wöchentlich mittels PCR aus dem pB und teilweise auch aus Hautbiopsien auf HHV-6 DNA untersucht wurden [134]. Es zeigten insgesamt 56,5 % der Patienten eine HHV-6 Virusreaktivierung in einem der untersuchten Materialien. Darunter waren sechs Hautbiopsien positiv für HHV-6, wobei zwei davon gleichzeitig ein positives Ergebnis für Parvovirus B19 aufwiesen. Vier der sechs Patienten hatten zudem ein positives HHV-6 PCR-Ergebnis im pB. Somit zeigten sich hier ebenfalls deutlich mehr positive Virus-PCR-Befunde im pB als in der Hautbiopsie. Ein negativer HHV-6 Virus-PCR-Befund im pB konnte in der Arbeit von Hentrich et al. im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit nicht auf einen negativen Virus-PCR-Befund in der Hautbiopsie schließen lassen.

2011 wurde von Sawada A et al. eine retrospektive Studie veröffentlicht, bei welcher Herpesreaktivierungen im pB, in Hautbiopsien und im Liquor nach allogener SZT

untersucht wurde [32]. Es wurden insgesamt 22 Proben im pB, 5 Hautbiopsien und 6 Liquorproben entnommen. Die 5 Hautbiopsien wurden bei hochgradigem Infektionsverdacht aus der Lippe, aus der Vulva und aus dem Mund- und Rachenraum entnommen. Somit sind diese nur eingeschränkt mit den Hautbiopsien der vorliegenden Arbeit vergleichbar, welche ausschließlich aus akuten Exanthenen entnommen wurden. Ein direkter Erregernachweis im infizierten Gewebe wurde in der Arbeit von Sawada A et al. als beweisend für eine Infektion angesehen, wohingegen ein Virusnachweis im pB oft nur nach Nachweis einer entsprechend hohen Viruslast einen Krankheitswert besitzen würde [32]. Ein frühzeitiger Nachweis von Virus-DNA im pB auch schon vor Überschreiten eines pathologischen Viruslast wäre ein möglicher Grund, warum sich in unserer Arbeit häufiger ein positiver Virusbefund im pB als in der Hautbiopsie zeigte. Dies würde ebenfalls dafürsprechen, dass mittels Virus-PCR-Analyse im pB ein Virusexanthem frühzeitig ausgeschlossen werden kann.

In einer Analyse von 105 Patienten, welche zwischen September 2010 und Oktober 2012 im Krankenhaus von Hokkaido in Japan eine allogene SZT erhielten, erfolgte wöchentlich (bis Tag 365 nach allogener SZT) eine Untersuchung auf Virus-DNA im pB mittels PCR [123]. Insgesamt zeigten 71,4 % der Patienten mindestens eine Virus-Reaktivierung im Verlauf. Die am häufigsten im pB nachgewiesenen Viren waren HHV-6 (60 %), EBV (10,5 %) und CMV (10,5 %) und unterschieden sich somit in Bezug auf die Häufigkeitsverteilung von den Virusdetektion aus den Hautbiopsien in der vorliegenden Arbeit. Wie in der vorliegenden Arbeit, konnte Parvovirus B19 nie im pB detektiert werden. Die Autoren stellten fest, dass die Multiplex-PCR aus dem pB aussagekräftig für den Nachweis von Virusreaktivierungen im pB ist [123].

2016 wurde von Gomes de Oliveira et al. eine ähnliche Multicenterstudie aus 3 großen Transplantationszentren in Brasilien veröffentlicht [124]. Es handelte sich um eine prospektive Analyse, bei der bis Tag 100 nach allogener SZT wöchentlich Herpesvirus PCR-Untersuchungen aus dem pB von Patienten nach allogener SZT durchgeführt wurden. Hierbei zeigte sich bei 44 % der 98 untersuchten Patienten ein positives Ergebnis für CMV, in 18 % eines für HHV-6. In lediglich 3 % der Proben konnte EBV nachgewiesen werden. In dieser Studie konnten im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit ein gehäuftes Auftreten von Allgemeinsymptomen bei Virusreaktivierung festgestellt werden [124].

#### **5.4 Therapieänderungen nach Hautbiopsie-Entnahme und Virus-PCR-Bestimmung im peripheren Blut bei akuten Exanthenen nach allogener Stammzelltransplantation**

In der vorliegenden Arbeit wurden 13 der 14 Patienten mit einem positivem Herpesvirus PCR-Resultat in der Hautbiopsie antiviral therapiert. 8 dieser 14 Patienten erhielten eine immunsuppressive Therapie. Die 12 Patienten mit positiver Virus-PCR für Parvovirus B19 erhielten in 3 Fällen eine antivirale und in 5 Fällen eine immunsuppressive Therapie. Daher zeigte sich für Herpesviren ein direkter Zusammenhang zwischen antiviraler Therapie und Hautbiopsie-Ergebnis. Es konnte eine erhöhte TRM bei immunsuppressiver Therapie nach positivem Virus-PCR-Befund in der Hautbiopsie und eine erhöhte TRM und erniedrigtes Gesamtüberleben bei positivem Virus-PCR-Befund im pB festgestellt werden. Dies zeigte sich insbesondere bei Detektion von Parvovirus B19 in der Hautbiopsie.

In der Studie von Sawada A et al. [32] konnte nur bei Nachweis einer CMV-Reaktivierung im pB mittels PCR ein klinischer Nutzen nachgewiesen werden, da dieser eine spezifische Therapie erforderlich mache. Virusreaktivierungen der übrigen Viren waren laut dieser Studie entweder nicht therapiebedürftig (HHV-6, HSV-1/2) oder standen nicht im Zusammenhang zu einer schweren virusbedingten Erkrankung (EBV, VZV).

2013 veröffentlichte Oana Paun et al. eine Arbeit, in der 430 Hautbiopsien aus akut aufgetretenen Exanthenen von 192 Patienten ausgewertet wurden, welche sich im Zeitraum von Januar 2005 bis Dezember 2012 im University Hospital Case Medical Center in Cleveland/ Ohio einer autologen oder allogenen SZT unterzogen [135]. Die klinischen und histologischen Exanthem-Diagnosen unterschieden sich bei 240 (56 %) Patienten und führten bei 69 (16 %) zu einer Änderung der Therapien. Daher wurde der Entnahme von Hautbiopsien nach allogener SZT aufgrund eines signifikanten Unterschiedes der klinischen und histologischen Diagnosen und einer erfolgreichen Therapieänderung nach Biopsieentnahme ein hoher Nutzen für die Diagnostik von Hautexanthenen nach allogener SZT zugesprochen [135]. Die histologischen Befunde (Virusexanthem/ kein Virusexanthem) zeigten in der vorliegenden Arbeit keine Übereinstimmung mit den Virus-PCR-Befunden aus den Hautbiopsien. Allerdings erfolgte bei Nachweis von Herpesvirus-DNA in der Hautbiopsie in 13 von 14 Fällen eine entsprechende antivirale Therapie.

## **5.5 Transplantationsbezogene Mortalität (TRM) und Gesamtüberleben nach Hautbiopsie bei akuten Exanthemen nach allogener Stammzelltransplantation**

In der multivariaten Cox Regression konnten ein Parvovirus B19 Nachweis in der Hautbiopsie und eine GvHD Grad III-IV als Einflussfaktoren auf die TRM identifiziert werden. Eine immunsuppressive Therapie, ein positiver CMV Status, ein HLA-Mismatch, der HCT-CI-Score und die Konditionierungstherapie waren im Gesamtkollektiv nicht mit der TRM assoziiert. Bei positivem Virus-PCR-Befund in der Hautbiopsie konnte eine niedrigere TRM festgestellt werden. Die Gesamtmortalität blieb allerdings unverändert. Ein Grund für das unveränderte Gesamtüberleben trotz deutlich verschlechterter TRM könnte ein Fehlen des Graft-versus-Leukämie-Effekts bei fehlender GvHD sein. Bei PCR-Nachweis von viraler DNA im pB konnte keine Veränderung des Gesamtüberlebens oder der TRM verzeichnet werden.

In einer retrospektiven, monozentrischen Analyse von HHV-6 Reaktivierungen an 236 Patienten nach allogener SZT mittels PCR wurden bei 58,5 % der Patienten eine HHV-6 Reaktivierung nachgewiesen [136]. Bei diesen Patienten konnte im Gegensatz zu den Ergebnissen in der vorliegenden Arbeit eine höhere TRM und ein niedrigeres Gesamtüberleben nachgewiesen werden. Des Weiteren zeigte sich bei Aoki J et al. gleichzeitig mit einer HHV-6 Reaktivierung im pB ein erhöhtes Auftreten von Grad 2, 3 und 4 aGvHDs sowie eine erhöhte Rate an CMV Reaktivierungen [136]. Im Jahr 2000 wurde von Zhou et al. eine retrospektive Studie veröffentlicht, in der die Ergebnisse von 51 Hautbiopsien von Patienten mit Exanthemen nach allogener SZT ausgewertet wurden. In dieser Studie konnte kein Benefit für den weiteren Krankheitsverlauf und die TRM durch die Biopsieentnahme mit histologischer Auswertung festgestellt werden. Daher wurden den Hautbiopsien in dieser Arbeit nur eine untergeordnete Rolle in der Diagnostik von Hautexanthemen nach allogener SZT zugesprochen [137].

## 5.6 Stärken und Schwächen der Arbeit

Diese Arbeit stellt eine der ersten Studien dar, welche die Virus-PCR-Befunde aus den Hautbiopsien nach allogener SZT bewertet. Daher existieren sehr wenig Studien, mit denen unsere Ergebnisse verglichen werden konnten. Die Hautbiopsien wurden bei der Entnahme immer gründlich mit NaCl gespült. Dennoch sind auch hier Verunreinigungen durch Blut möglich. Die PCR-Kits, welche bei der Untersuchung der Hautbiopsien verwendet wurden, sind für Plasma und Vollblut validiert worden. Daher erfolgten in der vorliegenden Arbeit nur qualitative und keine quantitativen PCR-Analysen der Hautbiopsien.

Die Stärke der Studie besteht in einer guten Datenqualität der Basisdaten. Es konnte auf die Daten der allogenen SZT seit Juli 2005 am Universitätsklinikum Halle zurückgegriffen werden. Die multiplen statistischen Tests und der Verzicht auf eine Bonferroni-Korrektur erhöhten die Möglichkeit, dass in dieser Arbeit die als statistisch signifikant beschriebene Zusammenhänge nicht auf Zufällen basieren. Die Schwächen der vorliegenden Arbeit sind einem retrospektiven Studiendesign geschuldet. Die Erhebung von untersucherabhängigen Primärdaten (Beurteilung Exanthem, Zeitpunkt der Hautbiopsie-Entnahme) könnte Daten-Inhomogenitäten verursacht haben. Zudem war unser untersuchter Stichprobenumfang mit 122 Patienten klein. Dadurch wurde erschwert, dass Gruppenunterschiede präzise auf die Virusdetektion zurückgeführt werden konnten. Es wurden nicht alle Hautbiopsien mittels Virus-PCR untersucht. Von den 60 entnommenen Hautbiopsien wurden nur 55 mittels Virus-PCR untersucht.

## **6 Zusammenfassung und Ausblick**

Akut auftretende Exantheme nach allogener SZT stellen eine relevante Komplikation dar, da diese oft die erste klinische Manifestation einer schweren Komplikation wie aGvHD und Virusreaktivierungen sind. Das Auftreten eines Exanthems nach allogener SZT kann daher zu einer Veränderung der TRM und der Gesamtmortalität führen. Die Differenzierung zwischen einer akuten Haut-GvHD, einem Virusexanthem und einem Exanthem, bedingt durch eine andere Ursache, ist klinisch nicht immer sicher möglich. Die jeweiligen Therapien der Exanthem-Ursachen sind sehr unterschiedlich und oft sogar gegensätzlich. Für die Diagnostik der Exantheme stehen die Entnahme von Hautbiopsien mit histologischer und Virus-PCR-Auswertung sowie die Virus-PCR-Bestimmungen aus dem pB zur Verfügung. Bisher wurden kaum Studien zur Hautbiopsie-Entnahme und Virus-PCR-Bestimmung bei akuten Exanthemen nach allogener SZT publiziert. Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive, monozentrische Studie. Die Zielstellungen der Arbeit waren, das untersuchte Patientenkollektiv deskriptiv statistisch zu beschreiben, die Virus-PCR-Befunde aus dem Biopsat mit denen aus dem pB zu vergleichen, Therapieänderungen nach Biopsieentnahme zu erfassen und die Mortalitätsänderungen je nach Virus-PCR-Resultat aus dem Biopsat und dem pB zu erfassen. Die patienten- und transplantationsbezogenen Daten in der vorliegenden Arbeit lieferten mit anderen Zentren vergleichbare Ergebnisse. Bei 45 % der Patienten erfolgte eine Hautbiopsie-Entnahme mit Virus-PCR-Diagnostik im Exanthem und parallel im pB. Herpesvirus-DNA wurde bei 25,5 % und Parvovirus B19 DNA bei 21,8 % der biopsierten akuten Exantheme nachgewiesen. Die detektierten Viren in den Hautbiopsien waren Parvovirus B19, CMV, EBV und HHV-6. Der Nutzen der histologischen Begutachtung der Hautbiopsien für die weitere Therapie wurde in anderen Arbeiten kontrovers diskutiert. In der vorliegenden Arbeit zeigte sich eine deutliche Diskrepanz der histologischen und der Virus-PCR-Befunde. Bei Herpesvirusdetektion in den Hautbiopsien zeigte sich in der vorliegenden Arbeit allerdings eine entsprechende antivirale Therapie. Im Gegensatz zu anderen Studien bestanden in der vorliegenden Arbeit nicht vermehrt Allgemeinsymptome bei den Patienten bei Detektion von viraler DNA in den Hautbiopsien. Im pB konnte nie Parvovirus B19 nachgewiesen werden. In anderen Arbeiten konnte ebenfalls nie Parvovirus B19 bei Auftreten von akuten Exanthemen nach SZT im pB detektiert werden. Bei den Herpesvirus PCR-Befunden zeigten sich deutliche Übereinstimmungen zwischen dem pB und den Hautbiopsien. In anderen Studien konnten ebenfalls ähnliche Resultate im pB und in der Hautbiopsie für HHV-6 bei Exanthemen nach SZT festgestellt werden. Die TRM war bei positivem Virus-PCR-Befund niedriger. In anderen Studien wurde bei HHV-6 Nachweis im pB im Gegensatz

dazu eine erhöhte TRM festgestellt. Bei immunsuppressiver Therapie nach positiver Virusdetektion, vor allem bei Detektion von Parvovirus B19 zeigte sich eine erhöhte TRM. Eine GvHD Grad III-IV und eine Parvovirus B19 Infektion konnten in der multivariaten Analyse als Einflussfaktoren auf die TRM bestätigt werden. Eine immunsuppressive Therapie, ein positiver CMV Status, ein HLA-Mismatch, der HCT-CI Score und die Konditionierungstherapie zeigten sich im Gegensatz zu anderen Studien in der multivariaten Analyse nicht als Einflussfaktoren.

Parvovirus B19 Exantheme konnten als Einflussfaktoren auf die TRM identifiziert werden. Die Virus-PCR-Diagnostik aus Hautbiopsien, aber nicht aus dem pB bei akuten Exanthenen nach allogener SZT kann helfen Parvovirus B19 Exantheme zu identifizieren. Herpesviren konnten im Gegensatz dazu öfter im pB als in der Hautbiopsie diagnostiziert werden. In der abschließenden Bewertung der Resultate der vorliegenden Arbeit zeigt sich somit ein Nutzen in der Hautbiopsie-Entnahme mit gleichzeitiger Virus-PCR-Bestimmung in der Hautbiopsie und dem pB bei akuten Exanthenen nach allogener SZT.

In der Literatur wird die Entnahme von Hautbiopsien bei akuten Exanthenen nach allogener SZT kontrovers diskutiert. In einer Veröffentlichung von Firoz et al. 2006 wird dies verdeutlicht [138]. In dieser Arbeit wurden Experten aus mehreren Transplantationszentren anhand eines Fragebogens zu ihrem Vorgehen bei einem Patienten mit klinischem Verdacht auf eine aGvHD befragt. Nach der Auswertung zeigte sich, dass 25 % keine Hautbiopsie entnehmen würden. 31 % hätten eine Hautbiopsie entnommen und auf das Ergebnis gewartet. 44 % der Befragten hätten dagegen sofort eine Therapie eingeleitet und je nach Ergebnis der Biopsie diese angepasst.

In der vorliegenden Arbeit konnte durch die Virus-PCR-Bestimmung aus Hautbiopsie und aus dem pB ein Nutzen für die Diagnostik und auch für die prognostische Abschätzung bei akuten Exanthenen nach SZT gezeigt werden.

Durch prospektive Studien wäre eine genauere Beschreibung der Hautexantheme und eine quantitative PCR-Auswertung möglich. Durch eine größere Patientenkohorte könnte die Virus-PCR-Diagnostik im Zusammenhang mit akuten Exanthenen nach allogener SZT ebenfalls noch genauer beurteilt werden.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Gyurkocza B, Rezvani A, Storb RF. Allogeneic hematopoietic cell transplantation: the state of the art. *Expert Rev Hematol* 2010;3:285–99.
2. Deutsches Register für Stammzelltransplantationen e. V.: Jahresbericht 2022 <https://www.drst.de/drst/download/jb2022.pdf> (last accessed on februar 2024).
3. Association WMDA. 2022. [www.wmda.info](http://www.wmda.info) (last accessed on februar 2024).
4. Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C, et al.: Impact of the SARS-CoV-2 pandemic on hematopoietic cell transplantation and cellular therapies in Europe 2020: a report from the EBMT activity survey. *Bone Marrow Transplant* 2022; 57: 742–52 CrossRef MEDLINE PubMed Central.
5. Ducreux S, Dubois V, Amokrane K, et al. HLA-DRB3/4/5 mismatches are associated with increased risk of acute GVHD in 10/10 matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Am J Hematol*. 2018.
6. Gooptu M, Romee R, St Martin A, et al.: HLA-haploidentical vs matched unrelated donor transplants with posttransplant cyclophosphamide-based prophylaxis. *Blood* 2021; 138: 273–82 CrossRef MEDLINE PubMed Central.
7. Deutscher Konsensus 2013 zur immungenetischen Spenderauswahl für die allogene Stammzelltransplantation. *Transfusionsmedizin* 2014;4:190–6.
8. Kröger N, Zeller W, Hassan H, et al. Steady-State Mobilization of Peripheral Blood Progenitor Cells by Cytokines Alone in Patients with Solid Tumors or Hematological Malignancies. *Transfusion medicine and hemotherapy* 1999;26:85–90.
9. Kröger N, Zander AR, Ayuk F. *Allogene Stammzelltherapie: Grundlagen, Indikationen und Perspektiven*, 1st ed. Bremen: UNI-MED; 2004.
10. Powles RL, Milliken S, Helenglass G, et al. The use of melphalan in conjunction with total body irradiation as treatment for acute leukaemia. *Transplant Proc* 1989;21:2955–7.
11. Blaise D, Tabrizi R, Boher J-M, et al. Randomized study of 2 reduced-intensity conditioning strategies for human leukocyte antigen-matched, related allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: prospective clinical and socioeconomic evaluation. *Cancer* 2013;119:602–11.
12. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, et al. Defining the intensity of conditioning regimens: working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009;15:1628–33.
13. Ozdemir, Z.N., & Civriz Bozdağ, S., 2018. Graft failure after allogeneic 128 hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus. Apher. Sci.* 57, 163–167. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2018.04.014>
14. Kröger N, Zagrivnaja M, Schwartz S, et al. Kinetics of plasma-cell chimerism after allogeneic stem cell transplantation by highly sensitive real-time PCR based on sequence polymorphism and its value to quantify minimal residual disease in patients with multiple myeloma. *Exp Hematol* 2006;34:688–94.
15. McCann SR, Crampe M, Molloy K, Lawler M. Hemopoietic chimerism following stem cell transplantation. *Transfus Apher Sci* 2005;32:55–61.
16. Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, et al. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. *N Engl J Med* 1979;300:1068–73.
17. Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood* 1995;86:2041–50.
18. Miano M, Labopin M, Hartmann O, et al. Haematopoietic stem cell transplantation trends in children over the last three decades: a survey by the paediatric diseases working party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007;39:89–99.
19. Bacigalupo A, Sormani MP, Lamparelli T, et al. Reducing transplant-related mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2004;89:1238–47.

20. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, et al. Reduced mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *N Engl J Med* 2010;363:2091–101.
21. Travnik R, Beckers M, Wolff D, Holler E, Landthaler M, Karrer S. [Graft-versus-Host Disease (GvHD) - an update : Part 1: Pathophysiology, clinical features and classification of GvHD]: [Graft-versus-host disease (GvHD) - an update. Part 2: prognosis and therapy of GvHD]. *Hautarzt* 2011;62:229-37; quiz 238-9.
22. Krüger WH, Zöllner B, Kaulfers P-M, Zander AR. Effective protection of allogeneic stem cell recipients against Aspergillosis by HEPA air filtration during a period of construction--a prospective survey. *J Hematother Stem Cell Res* 2003;12:301–7.
23. Daeschlein G. Hygienic safety of reusable tap water filters (Germlyser®) with an operating time of 4 or 8 weeks in a haematological oncology transplantation unit. *BMC infectious diseases* 2007;7:1–7.
24. Einsele H, Bertz H, Beyer J, et al. [Epidemiology and interventional treatment strategies of infectious complications after allogeneic stem-cell transplantation]. *Dtsch Med Wochenschr* 2001;126:1278–84.
25. Tabbara IA, Zimmerman K, Morgan C, Nahleh Z. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: complications and results. *Arch Intern Med* 2002;162:1558–66.
26. Wingard JR, Vogelsang GB, Deeg HJ. Stem cell transplantation: supportive care and long-term complications. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2002:422–44.
27. Jalali A, Alimoghaddam K, Mahmoudi M, et al. The EBMT Risk Score in the Presence of Graft Versus Host Disease in Allogeneic Stem Cell Transplantation in Adult Acute Myelogenous Leukemia: A Multistate Model for Competing Risks. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res* 2014;8:1–11.
28. Auletta JJ, Kou J, Chen M, Shaw BE: Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR US summary slides, 2021.
29. Rashidi A, Hamadani M, Zhang MJ, et al.: Outcomes of haploidentical vs matched sibling transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission. *Blood Adv* 2019; 3: 1826–36 [CrossRef](#) [MEDLINE](#) [PubMed Central](#).
30. Alyea EP, Kim HT, Ho V, et al. Comparative outcome of nonmyeloablative and myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for patients older than 50 years of age. *Blood* 2005;105:1810–4.
31. Guru Murthy GS, Kim S, Hu ZH, et al.: Relapse and disease-free survival in patients with myelodysplastic syndrome undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation using older matched sibling donors vs younger matched unrelated donors. *JAMA Oncol* 2022; 8: 404–11 [CrossRef](#) [MEDLINE](#) [PubMed Central](#)
32. Sawada A, Koyama-Sato M, Yasui M, et al. Multiplex polymerase chain reaction for six herpesviruses after hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Int* 2011;53:1010–7.
33. Hymes SR, Turner ML, Champlin RE, Couriel DR. Cutaneous manifestations of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006;12:1101–13.
34. Brazzelli V, Grasso V, Muzio F, et al. Narrowband ultraviolet B phototherapy in the treatment of cutaneous graft-versus-host disease in oncohaematological paediatric patients. *Br J Dermatol* 2010;162:404–9.
35. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005;11:945–56.
36. Bader P, Niethammer D, Willasch A, Kreyenberg H, Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? *Bone Marrow Transplant* 2005;35:107–19.
37. Sun Y, Tawara I, Toubai T, Reddy P. Pathophysiology of Acute Graft-vs-Host Disease: Recent Advances. *Transl Res* 2007;150:197–214.

38. Hockenbery DM, Cruickshank S, Rodell TC, et al. A randomized, placebo-controlled trial of oral beclomethasone dipropionate as a prednisone-sparing therapy for gastrointestinal graft-versus-host disease. *Blood* 2007;109:4557–63.
39. Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation* 2006;81:1390–7.
40. Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet* 2008;371:1579–86.
41. Hill GR, Krenger W, Ferrara JL. The role of cytokines in acute graft-versus-host disease. *Cytokines Cell Mol Ther* 1997;3:257–66.
42. Rupec RA, Plewig G. Graft-versus-Host-Disease: Ein interdisziplinäres Problem aus der Sicht des Dermatologen. *J Dtsch Dermatol Ges* 2004;2:249–59.
43. Karrer S. Graft-versus-Host Disease, der Haut. *Hautarzt* 2003;54:465-80; quiz 481-2.
44. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 1974;18:295–304.
45. Einsele H, Bertz H, Beyer J, et al. Infectious complications after allogeneic stem cell transplantation: epidemiology and interventional therapy strategies: Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO). *Annals of hematology* 2003;82:S175-S185.
46. Akpek G, Joseph R, Günay C, et al. Frequent detection of herpes simplex virus antigen in skin and peripheral blood CD34+ mononuclear cells from patients with graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:529–37.
47. Yoshikawa T, Ihira M, Ohashi M, et al. Correlation between HHV-6 infection and skin rash after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001;28:77–81.
48. Doerr HW, Gerlich WH. *Medizinische Virologie*, 2nd ed. s.l.: THIEME; 2010.
49. Zheng QY, Huynh KT, van Zuylen WJ, Craig ME, Rawlinson WD. Cytomegalovirus infection in day care centres: A systematic review and meta-analysis of prevalence of infection in children. *Rev Med Virol.* 2019 Jan
50. Griffiths PD, Clark DA, Emery VC. Betaherpesviruses in transplant recipients. *J Antimicrob Chemother* 2000;45 Suppl T3:29–34.
51. Dziejczak, M., Sadowska-Krawczenko, I. & Styczynski, J. 2017. Risk Factors for Cytomegalovirus Infection After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Malignancies: Proposal for Classification. *Anticancer Res*, 37, 6551.
52. Meyers JD, Flournoy N, Thomas ED. Risk factors for cytomegalovirus infection after human marrow transplantation. *J Infect Dis* 1986;153:478–88.
53. Zaia JA. Prevention and management of CMV-related problems after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:633–8.
54. Kröger N, Zabelina T, Krüger W, et al. Patient cytomegalovirus seropositivity with or without reactivation is the most important prognostic factor for survival and treatment-related mortality in stem cell transplantation from unrelated donors using pretransplant in vivo T-cell depletion with anti-thymocyte globulin. *Br J Haematol* 2001;113:1060–71.
55. Hebart H, Einsele H. Clinical aspects of CMV infection after stem cell transplantation. *Hum Immunol* 2004;65:432–6.
56. Boeckh M, Nichols WG, Papanicolaou G, Rubin R, Wingard JR, Zaia J. Cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients: Current status, known challenges, and future strategies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003;9:543–58.
57. Kaiser MO, Kirwan RM, Stratton GM, et al. Cutaneous manifestations of cytomegalovirus disease in renal transplant recipients: a case series. *Transpl Infect Dis* 2008;10:209–13.

58. Ljungman P, Bock R de, Cordonnier C, et al. Practices for cytomegalovirus diagnosis, prophylaxis and treatment in allogeneic bone marrow transplant recipients: a report from the Working Party for Infectious Diseases of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 1993;12:399–403.
59. Steffens HP, Podlech J, Kurz S, Angele P, Dreis D, Reddehase MJ. Cytomegalovirus inhibits the engraftment of donor bone marrow cells by downregulation of hemopoietin gene expression in recipient stroma. *J Virol* 1998;72:5006–15.
60. Rubin RH. The indirect effects of cytomegalovirus infection on the outcome of organ transplantation. *JAMA* 1989;261:3607–9.
61. Schuster FR, Simon A, Laws H-J, et al. [Viral infections in pediatric cancer patients]. *Klin Padiatr* 2005;217 Suppl 1:S67-84.
62. Boeckh M, Leisenring W, Riddell SR, et al. Late cytomegalovirus disease and mortality in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants: importance of viral load and T-cell immunity. *Blood* 2003;101:407–14.
63. Zaia JA, Sissons JP, Riddell S, et al. Status of Cytomegalovirus Prevention and Treatment in 2000. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2000:339–55.
64. Damania B, Kenney SC, Raab-Traub N, Epstein-Barr virus: Biology and clinical disease. *Cell* 2022 Sep 29;185(20):3652-3670.
65. Chang RS, Lewis JP, Abildgaard CF. Prevalence of oropharyngeal excretors of leukocyte-transforming agents among a human population. *N Engl J Med* 1973;289:1325–9.
66. Nemerow GR, Cooper NR. Early events in the infection of human B lymphocytes by Epstein-Barr virus: the internalization process. *Virology* 1984;132:186–98.
67. Greenspan JS, Greenspan D, Lennette ET, et al. Replication of Epstein-Barr virus within the epithelial cells of oral "hairy" leukoplakia, an AIDS-associated lesion. *N Engl J Med* 1985;313:1564–71.
68. Young LS, Rickinson AB. Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer* 2004;4:757–68.
69. Straus SE, Cohen JI, Tosato G, Meier J. NIH conference. Epstein-Barr virus infections: biology, pathogenesis, and management. *Ann Intern Med* 1993;118:45–58.
70. Straus SE. The chronic mononucleosis syndrome. *J Infect Dis* 1988;157:405–12.
71. EPSTEIN MA, ACHONG BG, BARR YM. VIRUS PARTICLES IN CULTURED LYMPHOBLASTS FROM BURKITT'S LYMPHOMA. *Lancet* 1964;1:702–3.
72. Chapman AL, Rickinson AB. Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 1998;9 Suppl 5:S5-16.
73. Greenfield HM, Gharib MI, Turner AJL, et al. The impact of monitoring Epstein-Barr virus PCR in paediatric bone marrow transplant patients: can it successfully predict outcome and guide intervention? *Pediatr Blood Cancer* 2006;47:200–5.
74. Gottschalk S, Rooney CM, Heslop HE. Post-transplant lymphoproliferative disorders. *Annu Rev Med* 2005;56:29–44.
75. Kutok JL, Wang F. Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases. *Annu Rev Pathol* 2006;1:375–404.
76. Merlo A, Turrini R, Dolcetti R, et al. The interplay between Epstein-Barr virus and the immune system: a rationale for adoptive cell therapy of EBV-related disorders. *Haematologica* 2010;95:1769–77.
77. Patel R. Infections in recipients of kidney transplants. *Infect Dis Clin North Am* 2001;15:901-52, xi.
78. Stevens SJ, Verschuuren EA, Pronk I, et al. Frequent monitoring of Epstein-Barr virus DNA load in unfractionated whole blood is essential for early detection of posttransplant lymphoproliferative disease in high-risk patients. *Blood* 2001;97:1165–71.

79. Landgren O, Gilbert ES, Rizzo JD, et al. Risk factors for lymphoproliferative disorders after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2009;113:4992–5001.
80. Jenkins D, DiFrancesco L, Chaudhry A, et al. Successful treatment of post-transplant lymphoproliferative disorder in autologous blood stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2002;30:321–6.
81. Green M, Webber SA. EBV viral load monitoring: unanswered questions. *Am J Transplant* 2002;2:894–5.
82. Haddad E, Paczesny S, Leblond V, et al. Treatment of B-lymphoproliferative disorder with a monoclonal anti-interleukin-6 antibody in 12 patients: a multicenter phase 1-2 clinical trial. *Blood* 2001;97:1590–7.
83. Ihira M, Yoshikawa T, Suzuki K, et al. Monitoring of active HHV-6 infection in bone marrow transplant recipients by real time PCR; comparison to detection of viral DNA in plasma by qualitative PCR. *Microbiol Immunol* 2002;46:701–5.
84. Dockrell DH. Human herpesvirus 6: molecular biology and clinical features. *J Med Microbiol* 2003;52:5–18.
85. Aimola G, Beythien G, Aswad A, Kaufer BB, et al. Current understanding of human herpesvirus 6 (HHV-6) chromosomal integration. *Antiviral research* Vol. 176; April 2020
86. Clark DA, Emery VC, Griffiths PD. Cytomegalovirus, human herpesvirus-6, and human herpesvirus-7 in hematological patients. *Semin Hematol* 2003;40:154–62.
87. Knox KK, Carrigan DR. In vitro suppression of bone marrow progenitor cell differentiation by human herpesvirus 6 infection. *J Infect Dis* 1992;165:925–9.
88. Ljungman P, Wang FZ, Clark DA, et al. High levels of human herpesvirus 6 DNA in peripheral blood leucocytes are correlated to platelet engraftment and disease in allogeneic stem cell transplant patients. *Br J Haematol* 2000;111:774–81.
89. Campadelli-Fiume G, Mirandola P, Menotti L. Human Herpesvirus 6: An Emerging Pathogen. *Emerg Infect Dis* 1999;5:353–66.
90. Peiris M. Human herpesvirus-6 (HHV-6) and HHV-7 infections in bone marrow transplant recipients. *Crit Rev Oncol Hematol* 1999;32:187–96.
91. Yoshikawa T. Human herpesvirus 6 infection in hematopoietic stem cell transplant patients. *Br J Haematol* 2004;124:421–32.
92. Wang FZ, Dahl H, Linde A, Brytting M, Ehrnst A, Ljungman P. Lymphotropic herpesviruses in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1996;88:3615–20.
93. O'Sullivan MG, Anderson DC, Fikes JD, et al. Identification of a novel simian parvovirus in cynomolgus monkeys with severe anemia. A paradigm of human B19 parvovirus infection. *J Clin Invest* 1994;93:1571–6.
94. Yoo BC, Lee DH, Park SM, et al. A novel parvovirus isolated from Manchurian chipmunks. *Virology* 1999;253:250–8.
95. Green SW, Malkovska I, O'Sullivan MG, Brown KE. Rhesus and pig-tailed macaque parvoviruses: identification of two new members of the erythrovirus genus in monkeys. *Virology* 2000;269:105–12.
96. Brown KE, Hibbs JR, Gallinella G, et al. Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen). *N Engl J Med* 1994;330:1192–6.
97. Garcia R, Leon LA, et al. Human parvovirus B19: a review of clinical and epidemiological aspect in Brazil. *Future Microbiol.* 2021 Jan; 16 (1): 37-50
98. Anderson LJ, Tsou C, Parker RA, et al. Detection of antibodies and antigens of human parvovirus B19 by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1986;24:522–6.
99. Cohen BJ, Buckley MM. The prevalence of antibody to human parvovirus B19 in England and Wales. *J Med Microbiol* 1988;25:151–3.
100. Azzi A, Morfini M, Mannucci PM. The transfusion-associated transmission of parvovirus B19. *Transfus Med Rev* 1999;13:194–204.

101. Anderson LJ, Gillespie SM, Torok TJ, Hurwitz ES, Tsou CJ, Gary GW. Risk of infection following exposures to human parvovirus B19. *Behring Inst Mitt* 1990;60–3.
102. Kuethe F, Lindner J, Matschke K, et al. Prevalence of parvovirus B19 and human bocavirus DNA in the heart of patients with no evidence of dilated cardiomyopathy or myocarditis. *Clin Infect Dis* 2009;49:1660–6.
103. Hokynar K, Söderlund-Venermo M, Pesonen M, et al. A new parvovirus genotype persistent in human skin. *Virology* 2002;302:224–8.
104. Zakrzewska K, Azzi A, Biasi E de, et al. Persistence of parvovirus B19 DNA in synovium of patients with haemophilic arthritis. *J Med Virol* 2001;65:402–7.
105. Woolf AD, Campion GV, Chishick A, et al. Clinical manifestations of human parvovirus B19 in adults. *Arch Intern Med* 1989;149:1153–6.
106. Anderson MJ, Jones SE, Fisher-Hoch SP, et al. Human parvovirus, the cause of erythema infectiosum (fifth disease)? *Lancet* 1983;1:1378.
107. Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, et al. Experimental parvoviral infection in humans. *J Infect Dis* 1985;152:257–65.
108. Moore TL. Parvovirus-associated arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12:289–94.
109. Erol I, Alehan F, Yalçın K. Refractory status epilepticus owing to human parvovirus B19 encephalitis in a child. *J Child Neurol* 2006;21:820–2.
110. Eid AJ, Brown RA, Patel R, Razonable RR. Parvovirus B19 infection after transplantation: a review of 98 cases. *Clin Infect Dis* 2006;43:40–8.
111. Klepfish A, Rachmilevitch E, Schattner A. Parvovirus B19 reactivation presenting as neutropenia after rituximab treatment. *Eur J Intern Med* 2006;17:505–7.
112. Modrow S. Parvovirus B19: the causative agent of dilated cardiomyopathy or a harmless passenger of the human myocard? *Ernst Schering Res Found Workshop* 2006:63–82.
113. Hanada T, Koike K, Hirano C, et al. Childhood transient erythroblastopenia complicated by thrombocytopenia and neutropenia. *Eur J Haematol* 1989;42:77–80.
114. Brown T, Anand A, Ritchie LD, Clewley JP, Reid TM. Intrauterine parvovirus infection associated with hydrops fetalis. *Lancet* 1984;2:1033–4.
115. Broliden K. Parvovirus B19 infection in pediatric solid-organ and bone marrow transplantation. *Pediatr Transplant* 2001;5:320–30.
116. Gallinella G, Manaresi E, Venturoli S, Grazi GL, Musiani M, Zerbini M. Occurrence and clinical role of active parvovirus B19 infection in transplant recipients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:811–3.
117. Heegaard ED, Petersen BL, Heilmann CJ, Hornsleth A. Prevalence of parvovirus B19 and parvovirus V9 DNA and antibodies in paired bone marrow and serum samples from healthy individuals. *J Clin Microbiol* 2002;40:933–6.
118. Vuorinen T, Lammintausta K, Kotilainen P, Nikkari S. Presence of parvovirus B19 DNA in chronic urticaric and healthy human skin. *J Clin Virol* 2002;25:217–21.
119. Saldanha J, Lelie N, Yu MW, Heath A. Establishment of the first World Health Organization International Standard for human parvovirus B19 DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang* 2002;82:24–31.
120. Schwarz TF, Roggendorf M, Deinhardt F. Human parvovirus B19: ELISA and immunoblot assays. *J Virol Methods* 1988;20:155–68.
121. Parsyan A, Addo-Yobo E, Owusu-Ofori S, Akpene H, Sarkodie F, Allain J-P. Effects of transfusion on human erythrovirus B19-susceptible or -infected pediatric recipients in a genotype 3-endemic area. *Transfusion* 2006;46:1593–600.
122. Modrow S, Falke D, Truyen U, Schätzl H. *Molecular Virology*. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg; 2013.
123. Inazawa N, Hori T, Hatakeyama N, et al. Large-scale multiplex polymerase chain reaction assay for diagnosis of viral reactivations after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Med Virol* 2015;87:1427–35.

124. Gomes de Oliveira PGA, Ueda MYH, Real JM, et al. Simultaneous Quantification of the 8 Human Herpesviruses in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplantation* 2016;100:1363–70.
125. WALLACE AB. The exposure treatment of burns. *Lancet* 1951;1:501–4.
126. Passweg J, Baldomero H, Stern M, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in Switzerland: a comprehensive quality control report on centre effect. *Swiss Med Wkly* 2010;140:326–34.
127. Gratwohl A, Brand R, Apperley J, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for chronic myeloid leukemia in Europe 2006: transplant activity, long-term data and current results. An analysis by the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Haematologica* 2006;91:513–21.
128. Passweg JR, Baldomero H, Gratwohl A, et al. The EBMT activity survey: 1990-2010. *Bone Marrow Transplant* 2012;47:906–23.
129. Passweg JR, Baldomero H, Bregni M, et al. Hematopoietic SCT in Europe: data and trends in 2011. *Bone Marrow Transplant* 2013;48:1161–7.
130. Sorrow M, Storer B, Sandmaier BM, et al. Hematopoietic cell transplantation-comorbidity index and Karnofsky performance status are independent predictors of morbidity and mortality after allogeneic nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation. *Cancer* 2008;112:1992–2001.
131. Forcina A, Rancoita PMV, Marcatti M, et al. A New Clinicobiological Scoring System for the Prediction of Infection-Related Mortality and Survival after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017;23:2151–8.
132. Musiani M, Zerbini M, Gentilomi G, Plazzi M, Gallinella G, Venturoli S. Parvovirus B19 clearance from peripheral blood after acute infection. *J Infect Dis* 1995;172:1360–3.
133. Mütherig, A.; Christopheit, M.; Müller, L. P., et al. Human parvovirus B19 infection with GvHD-like erythema in two allogeneic stem cell transplant recipients. <http://www.nature.com/bmt/journal/v39/n5/full/1705589a.html>.
134. Hentrich M, Oruzio D, Jäger G, et al. Impact of human herpesvirus-6 after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2005;128:66–72.
135. Paun O, Phillips T, Fu P, et al. Cutaneous complications in hematopoietic cell transplant recipients: impact of biopsy on patient management. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:1204–9.
136. Aoki J, Numata A, Yamamoto E, Fujii E, Tanaka M, Kanamori H. Impact of Human Herpesvirus-6 Reactivation on Outcomes of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:2017–22.
137. Zhou Y, Barnett MJ, Rivers JK. Clinical significance of skin biopsies in the diagnosis and management of graft-vs-host disease in early postallogeneic bone marrow transplantation. *Arch Dermatol* 2000;136:717–21.
138. Firoz BF, Lee SJ, Nghiem P, Qureshi AA. Role of skin biopsy to confirm suspected acute graft-vs-host disease: results of decision analysis. *Arch Dermatol* 2006;142:175–82.

## 8 Thesen der Dissertation

1 Die Daten der vorliegenden Studie entsprechen den Patienten- und Transplantationscharakteristika anderer Zentren und liefern somit für die statistische Datenauswertung repräsentative Ergebnisse.

2 Es besteht keine Assoziation zwischen klinischen Allgemeinsymptomen und Virus-PCR-Ergebnis der Hautbiopsien von akut aufgetretenen Exanthenen nach allogener SZT, weshalb die alleinige klinische Exanthembewertung unsicher ist.

3 Die Biopsie-Befunde der histologischen Auswertung und der Virus-PCR-Bestimmung bei akut aufgetretenen Exanthenen nach allogener SZT stimmen hinsichtlich der Aussage Virusexanthem/ kein Virusexanthem nicht überein, weshalb eine Virus-PCR-Bestimmung aus den Hautbiopsien für die Diagnosestellung sinnvoll ist.

4 Bei akut aufgetretenen Exanthenen nach allogener SZT ist eine positive/negative Herpes-Virus-PCR-Bestimmung aus dem pB mit einem positivem/negativen Herpes-Virus-PCR-Befund aus der Hautbiopsie assoziiert und ist daher diagnostisch hilfreich.

5 Parvovirus B19 kann im pB bei Auftreten eines akuten Exanthenen nach allogener SZT nicht nachgewiesen werden, daher ist eine PCR-Bestimmung im pB nicht sinnvoll.

6 Die Herpes-Virus-PCR-Ergebnisse aus den Hautbiopsien bei akuten Exanthenen nach allogener SZT stehen in positiven Zusammenhang mit der antiviralen Therapie und haben daher einen therapeutischen Nutzen.

7 Eine immunsuppressive Therapie bei positiver Virus-PCR in einer Hautbiopsie bei akuten Hautexanthem nach allogener SZT ist mit einer höheren TRM assoziiert und sollte daher vorsichtig eingesetzt werden.

8 Die Detektion von viraler DNA in Hautbiopsien nach allogener SZT ist mit einer niedrigeren TRM assoziiert und daher für die prognostische Einschätzung hilfreich.

9 Parvovirus B19 Detektion in Hautbiopsien bei akuten Exanthenen nach allogener SZT ist mit der TRM assoziiert und daher für die prognostische Einschätzung hilfreich.

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit erkläre ich wahrheitsgemäß, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet wurden. Ich versichere weiterhin, dass die aus anderen Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen unter Angabe der Autoren als solche gekennzeichnet und vollständig angegeben wurden.

Gerzen, 2024

Andreas Schmidberger

## **Erklärung über frühere Promotionsversuche**

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Dissertationsschrift an keiner anderen Universität oder Hochschule zur Promotion eingereicht wurde. Weiterhin versichere ich, dass an keiner anderen Medizinischen Fakultät ein Promotionsverfahren anhängig ist oder war.

Gerzen, 2024

Andreas Schmidberger