

Πρόληψη-αντιμετώπιση ιογενών λοιμώξεων: φαρμακολογικές και κυτταρικές θεραπείες

Ιφιγένεια Α. Τζάννου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Οι ιογενείς λοιμώξεις είναι μια από τις σημαντικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας μετά από αλλογενή μεταμόσχευση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (αλλοΜΑΚ). Λόγω της βαριάς ανοσοκαταστολής, οι ασθενείς είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς σε λοιμώξεις τόσο από ιούς που βρίσκονται σε λανθάνουσα κατάσταση στον οργανισμό, όσο και από ιούς της κοινότητας. Τα τελευταία 20 χρόνια, με την εισαγωγή στην κλινική πράξη νέων διαγνωστικών μεθόδων και φαρμακευτικών παραγόντων, η αντιμετώπιση των ιογενών λοιμώξεων έχει βελτιωθεί σημαντικά. Σήμερα υπάρχουν αποτελεσματικοί φαρμακευτικοί παράγοντες για την πρόληψη και αντιμετώπιση των περισσότερων ερπητοϊών, όπως και για τους ιούς της γρίπης. Όπου τα αντι-ϊικά φάρμακα δεν είναι αποτελεσματικά ή δεν μπορούν να χορηγηθούν λόγω τοξικότητας ή ανθεκτικότητας του ιού, μπορεί εναλλακτικά να χρησιμοποιηθεί η υιοθετούμενη ανοσοθεραπεία. Η χορήγηση T λεμφοκυττάρων με ειδικότητα αντιγόνου εφαρμόζεται για όλο και περισσότερους ιούς και παρέχει προστασία, χωρίς αλλοδραστικότητα.

Haema 2016; 7(2): 191-202 Copyright EAE

Εισαγωγή

Οι ιογενείς λοιμώξεις αποτελούν συνεχώς αυξανόμενο αίτιο νοσηρότητας σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε αλλοΜΑΚ, ενώ 30% της σχετιζόμενης με λοιμώξεις θνητότητας οφείλεται σε ιούς.¹ Για τουλάχιστον ένα έτος μετά τη μεταμόσχευση, πρακτικά όλοι οι ασθενείς είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς στις από ιογενείς λοιμώξεις. Το διάστημα αυτό, όμως, μπορεί να είναι πολύ μεγαλύτερο, ανάλογα με την ηλικία του ασθενή, τη φάση της νόσου κατά τη μεταμόσχευση, το είδος του δότη και την πηγή του μοσχεύματος, το σχήμα προετοιμασίας, την ανοσοκατασταλτική θεραπεία και κυρίως την παρουσία ή μη νόσου μοσχεύματος έναντι ξενιστή (GvHD).

Ιοί που μετά την πρωτολοίμωξη παραμένουν στον οργανισμό σε λανθάνουσα κατάσταση, όπως ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV), ο ιός Epstein-Barr (EBV), ιοί απλού έρπητα (HSV) 1/2, ο ερπητοϊός 6 (HHV-6), ο ιός ανεμευλογιάς-έρπητα ζωστήρα (VZV) και ο ιός BK, ενεργοποιούνται σε 90% των ενηλίκων ασθενών μετά από αλλοΜΑΚ. Επεισοδιακές λοιμώξεις μετά από έκθεση σε αναπνευστικούς ιούς της κοινότητας, όπως ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV), ιοί γρίπης, παραϊνφλουένζας,

αδενοϊοί (AdV) κ.λπ. παρατηρούνται σε μικρότερα ποσοστά, έως 15%.² Παρά τη σημαντική πρόοδο που έχει συντελεστεί αναφορικά με τις μεθόδους παρακολούθησης και την υποστηρικτική αγωγή των μεταμοσχευμένων ασθενών, η αντιμετώπιση των ιογενών λοιμώξεων παραμένει συχνά προβληματική. Οι δύο βασικές στρατηγικές πρόληψης και θεραπείας στηρίζονται στη χορήγηση αντι-ϊικών φαρμάκων, και στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος και ειδικότερα της ειδικής κυτταρικής ανοσίας έναντι των ιών.

Φαρμακολογικές θεραπείες

Με δεδομένη την περιορισμένη διαθεσιμότητα αποτελεσματικών αντι-ϊικών φαρμάκων, έγινε κατανοητή η σημασία του περιορισμού της εμφάνισης των ιογενών λοιμώξεων. Για το λόγο αυτόν, εκτός από τη θεραπεία, δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στην προφυλακτική και την έγκαιρη προληπτική χορήγηση των αντι-ϊικών παραγόντων.

Κυτταρομεγαλοϊός (CMV)

Ο CMV είναι ερπητοϊός -β που προκαλεί ασυμπτωματική λοίμωξη σε 70-80% των ανοσοεπαρκών ατόμων και στη συνέχεια παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση

στα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα. Ενεργοποίηση του ιού σε μεταμοσχευμένους ασθενείς, μπορεί να οδηγήσει σε σύνδρομο CMV, δηλαδή εμπύρετο απουσία άλλων συμπτωμάτων, ή σε CMV νόσο με προσβολή τελικών οργάνων, που εκδηλώνεται ως πνευμονία, γαστρίτιδα/κολίτιδα, ηπατίτιδα, εγκεφαλίτιδα και αμφιβληστροειδίτιδα.³

Η **προφυλακτική θεραπεία** για τον CMV σε οροθετικούς ασθενείς περιλαμβάνει χορήγηση αντι-ικών φαρμάκων από την εγκατάσταση του μοσχεύματος έως και 100 ημέρες μετά τη μεταμόσχευση, ανεξάρτητα από την ανίχνευση του ιού στο αίμα. Στα πλαίσια της προφυλακτικής θεραπείας, έχουν μελετηθεί η ακυκλοβίρη, η γκανσικλοβίρη και η βαλγκανσικλοβίρη. Οι Prentice και συν σε μια τυχαίοποιημένη μελέτη 310 ασθενών, έδειξαν ότι οι ασθενείς που έλαβαν ενδοφλέβια ακυκλοβίρη σε δόση 500mg/m²×3 από την ημέρα -5 έως την ημέρα +30 της αλλοΜΑΚ και στη συνέχεια 800mg×4 po για 6 μήνες εμφάνισαν CMV ιαμία αργότερα από τις ομάδες ελέγχου. Η συνολική επίπτωση της λοίμωξης δε διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων, αλλά παρατηρήθηκε αύξηση της επιβίωσης 1 έτους κατά 19% στους ασθενείς που έλαβαν υψηλές δόσεις ακυκλοβίρης.⁴ Όμως η προφύλαξη με ακυκλοβίρη δε φάνηκε αποτελεσματική σε ασθενείς που έλαβαν μόσχευμα μετά από αφαίρεση T λεμφοκυττάρων. Συγκεκριμένα, 83% των ασθενών αυτών ενεργοποίησαν τον ιό, έναντι 41% εκείνων που έλαβαν μόσχευμα χωρίς επεξεργασία.⁵ Η ενδοφλέβια γκανσικλοβίρη επίσης οδήγησε σε μείωση της επίπτωσης της CMV λοίμωξης και νόσου σε σχέση με εικονικό φάρμακο, χωρίς όμως να αυξάνεται η συνολική επιβίωση.⁶ Η γκανσικλοβίρη συγκρίθηκε με την ακυκλοβίρη σε μια προοπτική τυχαίοποιημένη μελέτη. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην αθροιστική επίπτωση CMV νόσου μεταξύ των δύο θεραπευτικών ομάδων, παρόλο που διαπιστώθηκε τάση συχνότερης εμφάνισης CMV ιαμίας στους ασθενείς που έλαβαν ακυκλοβίρη.⁷ Σημαντικό μειονέκτημα της γκανσικλοβίρης αποτελεί η μυελοτοξικότητα και ειδικότερα η ουδετεροπενία, με επακόλουθη αύξηση της συχνότητας βακτηριακών και μυκητιασικών λοιμώξεων. Σε μεγάλη πολυκεντρική μελέτη των Winston και συν, η γκανσικλοβίρη συγκρίθηκε με το από του στόματος προφάρμακό της, τη βαλακυκλοβίρη στην προφυλακτική θεραπεία του CMV. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ενεργοποίηση του ιού και στην CMV νόσο, ούτε όμως και στην εμφάνιση μικροβιακών και μυκητιασικών λοιμώξεων.⁸ Ακόμα και σε μεταμοσχεύσεις υψηλού κινδύνου, όπως από ομφαλοπλακουντιακό αίμα (ΟΠΑ) η βαλγκανσικλοβίρη και η γκανσικλοβίρη ήταν εξίσου αποτελεσματικές, ενώ παρόμοιο ήταν και το προφίλ ασφάλειας.⁹ Ο ρόλος της φוסκαρνέτης στην προφυλακτική αντιμετώπιση του CMV έχει μελετηθεί μόνο σε μικρές σειρές ασθενών. Το όφελος από την προφυλακτική χορήγηση της φוסκαρ-

νέτης ήταν δοσοεξαρτώμενο. Όμως το υψηλό ποσοστό ανεπιθύμητων ενεργειών και κυρίως νεφροτοξικότητας και ηλεκτρολυτικών διαταραχών (έως 81%) καθιστά το φάρμακο ακατάλληλο για προφυλακτική χρήση.^{10,11} Δύο νέοι παράγοντες από του στόματος, που μελετήθηκαν πρόσφατα ως προφυλακτική θεραπεία έναντι του CMV, είναι η μαριμπαβίρη και η λετερμοβίρη. Η μαριμπαβίρη είχε δείξει αυξημένη δραστηριότητα *in vitro*, ακόμα και έναντι ανθεκτικών στη γκανσικλοβίρη στελεχών. Ενώ τα αποτελέσματα της κλινικής μελέτης φάσης 2 ήταν ιδιαίτερα ενθαρρυντικά, η μελέτη φάσης 3 απέτυχε να δείξει υπεροχή της μαριμπαβίρης έναντι του εικονικού φαρμάκου όταν δόθηκε προφυλακτικά μετά την εγκατάσταση του μοσχεύματος.¹² Τελευταία, δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα της μελέτης φάσης 2, για τη λετερμοβίρη, σε 131 ασθενείς. Η συχνότητα αποτυχίας της προφυλακτικής αγωγής ήταν αντιστρόφως ανάλογη της δόσης, ώστε στην ομάδα της λετερμοβίρης 240mg×1, η συχνότητα των λοιμώξεων ήταν 32%, έναντι 64% και 48% με δόση 60mg×1 ή εικονικό φάρμακο αντίστοιχα. Αξίζει να σημειωθεί ότι η λετερμοβίρη ήταν εξίσου ασφαλής με το εικονικό φάρμακο, χωρίς καμία ένδειξη αιματολογικής ή νεφρικής τοξικότητας.¹³ Με βάση τις παραπάνω μελέτες, τα αντι-ικά φάρμακα δεν έχουν τεκμηριωμένο όφελος στην προφύλαξη έναντι του CMV.

Προληπτική θεραπεία: Αντίθετα με την προφυλακτική, η προληπτική (pre-emptive) θεραπεία έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα αποτελεσματική για την πρόληψη της CMV νόσου. Η έναρξη της προληπτικής θεραπείας γίνεται όταν υπάρχει ένδειξη ενεργοποίησης του ιού, όταν δηλαδή διαπιστώνεται pp65 αντιγοναιμία ή όταν ανιχνεύεται το DNA του ιού με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).¹⁴ Προληπτική θεραπεία χορηγείται για τουλάχιστον 2 εβδομάδες, μέχρι να μηδενιστεί το ιικό φορτίο. Στα περισσότερα κέντρα ως θεραπεία 1ης γραμμής χρησιμοποιείται η γκανσικλοβίρη σε δοσολογία 5mg/kg×2 *iv*.¹⁵ Η βαλγκανσικλοβίρη αποτελεί ελκυστική εναλλακτική επιλογή, καθώς χορηγείται από το στόμα. Μάλιστα, σε δοσολογία 900mg×2, η βιοδιαθεσιμότητα του ενεργού φαρμάκου ήταν μεγαλύτερη από της ενδοφλέβιας γκανσικλοβίρης.¹⁶ Δεν υπάρχουν μεγάλες προοπτικές τυχαίοποιημένες μελέτες που να συγκρίνουν τους δύο παράγοντες, όμως στοιχεία από μικρές μελέτες δείχνουν ότι είναι εξίσου ασφαλείς και αποτελεσματικοί όσον αφορά στη μείωση του ικού φορτίου και την πρόληψη της CMV νόσου.¹⁷⁻¹⁹ Η χρησιμότητα της φוסκαρνέτης στην CMV ιαμία εξετάστηκε σε μια τυχαίοποιημένη πολυκεντρική μελέτη του EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation), όπου 213 μεταμοσχευμένοι ασθενείς έλαβαν φוסκαρνέτη (n= 110) ή γκανσικλοβίρη, (n= 103). Η συχνότητα CMV νόσου και η ελεύθερη συμβαμάτων επιβίωση ήταν παρόμοιες μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών. Στην ομάδα της φוסκαρνέτης παρατη-

ρήθηκε αυξημένη νεφρική τοξικότητα, ενώ στην ομάδα της γκανσικλοβίρης ήταν συχνότερη η ουδετεροπενία.²⁰ Παρά το γεγονός ότι τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνονται και από άλλες μελέτες, η φוסκαρνέτη χρησιμοποιείται κατά κύριο λόγο ως προληπτική θεραπεία δεύτερης γραμμής. Τέλος, η σιντοφοβίρη σε εβδομαδιαία δόση 1-5 mg/kg iv δόθηκε σε 82 ασθενείς με CMV λοίμωξη ή νόσο. Μετά από διάμεσο χρόνο χορήγησης 3 εβδομάδων η λοίμωξη ελέγχθηκε σε 66% των ασθενών που έλαβαν σιντοφοβίρη ως θεραπεία 1ης γραμμής και σε 62% μετά από αποτυχία άλλου παράγοντα. Την ευρεία χρήση της σιντοφοβίρης στην προληπτική θεραπεία του CMV, περιορίζει η σοβαρή και συχνά μη αναστρέψιμη νεφροτοξικότητα.²¹ Τέλος, οι συνδυασμοί αντι-ιικών φαρμάκων στη CMV ενεργοποίηση φαίνεται ότι αυξάνουν την τοξικότητα, χωρίς να είναι περισσότερο αποτελεσματικοί από τη μονοθεραπεία.²²

Αντιμετώπιση CMV νόσου: Η θεραπευτική προσέγγιση της CMV νόσου διαφοροποιείται ανάλογα με το προσβεβλημένο όργανο. Σε γενικές γραμμές, η γκανσικλοβίρη είναι το φάρμακο εκλογής στη θεραπεία πρώτης γραμμής της de novo CMV νόσου. Η διάρκεια χορήγησης είναι τουλάχιστον 3 εβδομάδες, ενώ συχνά απαιτείται παρατεταμένη θεραπεία συντήρησης.¹⁵ Ειδικά για τη CMV πνευμονία, χορηγείται επιπλέον ενδοφλέβια ανοσοσφαιρίνη.²⁴ Παρά τη θεραπεία, η θνητότητα της CMV πνευμονίας παραμένει ιδιαίτερα υψηλή και αναφέρεται έως 70%. Επίσης, η αμφιβληστροειδίτιδα απαιτεί ειδική αντιμετώπιση, με ενδοφθάλμιες εγχύσεις αντι-ιικού φαρμάκου.²⁵ Η φוסκαρνέτη και η σιντοφοβίρη, λόγω του επιβαρυσμένου προφίλ τοξικότητας δε χορηγούνται ως θεραπεία 1ης γραμμής, μπορούν όμως να χρησιμοποιηθούν επί μη ανταπόκρισης στη γκανσικλοβίρη ή όταν η νόσος αναπτύσσεται ενώ ο ασθενής βρίσκεται υπό προληπτική αγωγή λόγω αιμιάς.¹⁵

Ιός Epstein-Barr (EBV)

Ο EBV ανήκει στην ομάδα των ερπητοϊών-γ. Περισσότεροι από 90% των ενηλίκων έχουν προσβληθεί από τον ιό, ο οποίος μετά την πρωτοπαθή λοίμωξη παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση στα B-λεμφοκύτταρα και τα επιθηλιακά κύτταρα του ρινοφάρυγγα. Στους ασθενείς μετά από αλλοΜΑΚ, ο ιός μπορεί να ενεργοποιηθεί όταν διαταράσσεται η ισορροπία μεταξύ B-λεμφοκυττάρων που φέρουν τον ιό και των EBV ειδικών T-λεμφοκυττάρων.²⁶ Η ενεργοποίηση εκδηλώνεται με πυρετό, προσβολή τελικών οργάνων (πνευμονία, ηπατίτιδα, εγκεφαλίτιδα/μυελίτιδα) και τελικά λεμφοϋπερπλαστική διαταραχή μετά από μεταμόσχευση (PTLD). Ως παράγοντες κινδύνου έχουν αναγνωριστεί η ηλικία >50, η in vivo ή ex vivo αφαίρεση **T λεμφοκυττάρων** από το μόσχευμα, η απλοταυτόσημη μεταμόσχευση, η μεταμόσχευση ΟΠΑ και η παρ-

σία GvHD.^{27,28} Ανάλογα με τους παράγοντες κινδύνου, η συχνότητα της PTLD κυμαίνεται μεταξύ 1 και 22%. Η διάγνωση τεκμηριώνεται από την παρουσία λεμφώματος σε συνδυασμό με την ανίχνευση αντιγόνων ή RNA του EBV στον προσβεβλημένο ιστό.

Τα αντι-ιικά φάρμακα δεν έχουν θέση στην προφύλαξη της EBV ενεργοποίησης. Παρόλο που η γκανσικλοβίρη ελαττώνει το ρυθμό πολλαπλασιασμού του ιού in vitro, η προφυλακτική χορήγηση γκανσικλοβίρης/φוסκαρνέτης ή σιντοφοβίρης δε φάνηκε να έχει καμία επίδραση στην συχνότητα εμφάνισης PTLD.²⁹

Προληπτική θεραπεία: Στους ασθενείς υψηλού κινδύνου θεωρείται σκόπιμη η τακτική παρακολούθηση του ιικού φορτίου στο αίμα, ώστε σε περίπτωση αιμιάς, να γίνει άμεση έναρξη προληπτικής αγωγής. Οι van Esser και συν πρώτοι δημοσίευσαν τα αποτελέσματα της προληπτικής αγωγής με rituximab 375mg/m² σε 1-2 εβδομαδιαίες δόσεις σε 17 ασθενείς υψηλού κινδύνου με ιικό φορτίο ≥ 1000 geq/mL. Η συχνότητα εμφάνισης PTLD ήταν 18%±9% έναντι 49%±11% στην ιστορική ομάδα ελέγχου, ενώ η θνητότητα σχετιζόμενη με PTLD στους 6 μήνες ήταν 0% έναντι 26%±10%, αντίστοιχα.³⁰ Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και σε άλλες μελέτες.³¹ Εναλλακτικά του rituximab, σε ασθενείς χαμηλού κινδύνου προτείνεται η μείωση ή διακοπή της ανοσοκαταστολής. Σε 79 ασθενείς με EBV ενεργοποίηση έγινε μείωση ή διακοπή της ανοσοκατασταλτικής αγωγής και μόνο 1% εμφάνισαν PTLD, χωρίς αύξηση στη συχνότητα εμφάνισης GvHD.³²

Θεραπεία PTLD: Παρότι δεν υπάρχουν στοιχεία από τυχαίοποιημένες μελέτες, το rituximab έχει καθιερωθεί ως θεραπεία εκλογής στην 1η γραμμή αντιμετώπισης της PTLD. Επιπλέον θεωρείται χρήσιμη η μείωση της ανοσοκατασταλτικής αγωγής, εφόσον είναι εφικτή.²⁹ Το 1998 περιγράφηκε η πρώτη περίπτωση PTLD με εντόπιση στην αμυγδαλή και τη σύστοιχο τραχηλική χώρα σε ασθενή 13 ετών, που αντιμετωπίστηκε με εβδομαδιαίες εγχύσεις rituximab 375mg/m². Μετά από 4 δόσεις διαπιστώθηκε πλήρης ύφεση.³³ Σε μια μετα-ανάλυση 48 μελετών, αναφέρεται συνολική ανταπόκριση στο rituximab σε ποσοστό 63%.³⁴ Πρόσφατη αναδρομική μελέτη του EBMT παρουσίασε τα αποτελέσματα της θεραπείας με rituximab με ή χωρίς διακοπή της ανοσοκαταστολής σε 144 παιδιά και ενηλίκους με PTLD. Πραγματοποιήθηκαν 1-16 εβδομαδιαίες εγχύσεις (διάμεση τιμή 3). Η συνολική επιβίωση ήταν 69,4% και η συνολική ανταπόκριση 61% μόνο με rituximab και 84% με σύγχρονη μείωση της ανοσοκαταστολής.³⁵ Η θεραπεία με rituximab φαίνεται ότι είναι καλά ανεκτή. Στοχεύοντας, όμως, όλα τα CD20+ κύτταρα, είναι δυνατόν να προκαλέσει απλασία των B-λεμφοκυττάρων διάρκειας 6-9 μηνών, αυξάνοντας τον κίνδυνο λοιμώξεων σε αυτούς τους ήδη βαριά ανοσοκατασταλμένους ασθενείς.³⁶

Η αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα του rituximab, αλλά και η αυξημένη τοξικότητα των χημειοθεραπευτικών σχημάτων, οδήγησε τη χημειοθεραπεία στη θεραπεία 2ης γραμμής. Τα σχετικά δεδομένα προέρχονται από μελέτες σε ασθενείς μετά από μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων.^{37,38} Το κλασικό σχήμα CHOP-21 (κυκλοφωσφαμίδη, δοξορουβικίνη, βινκριστίνη και πρεδνιζόνη κάθε 21 ημέρες) μελετήθηκε αναδρομικά από τους Trappe και συν σε μια μελέτη 10 ασθενών με PTLD ανθεκτική στο rituximab. Πέντε ασθενείς είχαν πλήρη ανταπόκριση στη θεραπεία, ενώ η διάμεση επιβίωση ήταν 46,5 μήνες. Σε αυτή τη μελέτη σημειώθηκε 1 τοξικός θάνατος, ενώ 2 ασθενείς χρειάστηκε να λάβουν εναλλακτική θεραπεία, λόγω τοξικότητας.³⁹

Τα αντι-ικά φάρμακα δεν έχουν, προς το παρόν θέση στη θεραπεία της EBV λοίμωξης. Τα νουκλεοσιδικά ανάλογα δεν είναι δραστικά, λόγω της χαμηλής έκφρασης της κινάσης της θυμιδίνης κατά τη λυτική φάση του ιού και την απουσία έκφρασης της όταν ο ιός βρίσκεται σε λανθάνουσα κατάσταση. Σε μια μελέτη φάσης 1/2, μελετήθηκε ο συνδυασμός γκανσυκλοβίρης με τον αναστολέα της αποακετυλάσης των ιστονών, βουτυρική αργινίνη. Η δράση της προκαλεί μεταγραφή της EBV κινάσης της θυμιδίνης, με αποτέλεσμα τα κύτταρα που βρίσκονται σε λυτικό κύκλο να γίνονται ευαίσθητα στην γκανσυκλοβίρη. Ο συνδυασμός των δύο παραγόντων ήταν σχετικά καλά ανεκτός και οδήγησε σε σημαντικές ανταποκρίσεις 10 από τους 15 ασθενείς με EBV λεμφικές κακοήθειες. Απαιτούνται, όμως, περαιτέρω μελέτες για την ευρεία εφαρμογή αυτής της προσέγγισης.⁴⁰

Άλλοι ερπητοϊοί

Η κλινική χρησιμότητα της ακυκλοβίρης στη θεραπεία λοιμώξεων από ιό απλού έρπητα (HSV1/2) και στην πρόληψή τους στους οροθετικούς ασθενείς έχει τεκμηριωθεί ήδη από τη δεκαετία του 1980.^{41,42} Δεδομένου ότι ενεργοποίηση του HSV μπορεί να συμβεί τόσο στην πρώιμη όσο και στην όψιμη φάση της μεταμόσχευσης οι Egard και συν εξέτασαν την αποτελεσματικότητα της παρατεταμένης χορήγησης ακυκλοβίρης. Η πιθανότητα εμφάνισης HSV λοίμωξης στα 2 έτη βρέθηκε 31,6% για τους ασθενείς που έλαβαν προφύλαξη έως την ημέρα +30, έναντι 3,9% και 0% για τους ασθενείς που έλαβαν ακυκλοβίρη για 1 έτος ή >1 έτος αντίστοιχα.⁴³ Κατ' αναλογία, η παρατεταμένη προφύλαξη με ακυκλοβίρη ή βαλακυκλοβίρη για 1 έτος ή περισσότερο, παρουσία GvHD ή συνεχιζόμενης ανοσοκατασταλτικής αγωγής, φάνηκε ευεργετική και στην περίπτωση του ιού ανεμευλογιάς-έρπητα ζωστήρα (VZV).⁴⁴ Επίσης, το εμβόλιο από ζώντα εξασθενημένο ιό VZV φαίνεται ότι μπορεί να χορηγείται με ασφάλεια 2 έτη μετά την αλλοΜΑΚ, με <2% των ασθενών να εμφανίζουν αυτοπεριοριζόμενο εξάνθημα.^{45,46} Η ενδοφλέβια

ακυκλοβίρη παραμένει θεραπεία εκλογής στην αντιμετώπιση βαριάς στοματίτιδας ή συστηματικής νόσου από HSV, καθώς και για την ανεμευλογιά και τον έρπητα ζωστήρα. Η από του στόματος ακυκλοβίρη, η βαλακυκλοβίρη και η φαμισκυλοβίρη μπορούν να δοθούν σε λιγότερο σοβαρές περιπτώσεις. Σε περίπτωση ανθεκτικών στελεχών, συνιστάται φוסκαρνέτη ή σινοφοβίρη.²⁹

Ιαμμία από ερπητοϊό 6 (HHV 6) μετά από αλλοΜΑΚ παρατηρείται σε ποσοστό έως 50%. Πολύ σπάνια εκδηλώνεται κλινικά με συμπτώματα εγκεφαλίτιδας ή μυελοκαταστολή. Μικρές κλινικές μελέτες έδειξαν ότι η προφυλακτική χορήγηση γκανσυκλοβίρης, μπορεί να είναι ωφέλιμη.^{47,48} Όμως λόγω της τοξικότητας που προκαλεί και της σπανιότητας της νόσου από HHV-6, δεν έχει καθιερωθεί στην κλινική πρακτική. Με βάση στοιχεία από αναφορές περιπτώσεων και μικρές αναδρομικές μελέτες, για τη θεραπευτική αντιμετώπιση της εγκεφαλίτιδας συνιστάται χορήγηση φוסκαρνέτης ή γκανσυκλοβίρης.¹⁵

Ιός BK (BKV)

Ανήκει στην ομάδα των polyoma ιών και προσβάλλει έως και 100% του γενικού πληθυσμού. Η πρωτολοίμωξη συμβαίνει στην παιδική ηλικία και είναι ασυμπτωματική. Στη συνέχεια ο ιός παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση στα ουροεπιθηλιακά κύτταρα, αλλά και σε άλλους ιστούς. Μετά από αλλοΜΑΚ, ο ιός μπορεί να ενεργοποιηθεί με αποτέλεσμα BK ιουρία ή νόσο. Η νόσος προσβάλλει κατά κύριο λόγο το ουροποιητικό σύστημα, με συχνότερη εκδήλωση την αιμορραγική κυστίτιδα.⁴⁹ Το φάσμα των συμπτωμάτων είναι ευρύ και περιλαμβάνει ασυμπτωματική αιματοουρία, σπανιότερα ουρητηρίτιδα ή διάμεση νεφρίτιδα, μαζική αιμορραγία και οξεία νεφρική ανεπάρκεια.

Προφύλαξη: Οι κινολόνες είναι δραστικές in vitro έναντι του BKV, αναστέλλοντας τη DNA γυράση και τον πολλαπλασιασμό του ιού. Οι Leung και συν μελέτησαν την προφυλακτική χορήγηση σιπροφλοξασίνης σε μια μη τυχαιοποιημένη μελέτη, όπου 68 ασθενείς μετά από αλλο-ΜΑΚ έλαβαν σιπροφλοξασίνη (500mg×2 per os ή 200mg×2 iv) ή κεφαλοσπορίνη. Παρατηρήθηκε ότι το φορτίο του ιού στα ούρα ήταν σημαντικά χαμηλότερο στην ομάδα της σιπροφλοξασίνης με διάμεση τιμή 3×10^5 c/mL έναντι $2,6 \times 10^9$ c/mL που ήταν για την ομάδα της κεφαλοσπορίνης. Το αποτέλεσμα ήταν ανεξάρτητο από τη σύγχρονη χορήγηση ή μη κορτικοστεροειδών. Παρόλα αυτά, η συχνότητα σοβαρής αιμορραγικής κυστίτιδας δε διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων.⁵⁰ Αργότερα οι Miller και συν, σε μια αναδρομική μελέτη 92 ασθενών, έδειξαν ότι παρατεταμένη προφύλαξη με σιπροφλοξασίνη (έως την ημέρα +60 μετά τη μεταμόσχευση) μειώνει σημαντικά τη συχνότητα εμφάνισης BK κυστίτιδας βαθμού 3-4 (2,6% έναντι 20,9% στους ασθενείς που δεν έλαβαν προφύλαξη), χωρίς να αυξάνεται η επίπτωση δι-

αρροϊκού συνδρόμου από *Clostridium difficile*. Παρεπιπτόντως, διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς που έλαβαν προφύλαξη με κινολόνη ωφελήθηκαν και ως προς την εμφάνιση βακτηριαμίας.⁵¹

Η **θεραπεία της ΒΚ αιμορραγικής κυστίτιδας** είναι κυρίως συμπτωματική, καθώς μέχρι σήμερα δεν υπάρχει εγκεκριμένη αντι-ική θεραπεία. Επί εμμονής των συμπτωμάτων, φαίνεται ότι είναι σκόπιμη η χορήγηση σιντοφοβίρης εκτός ενδείξεων. Η αναδρομική μελέτη του EBMT σε 62 ασθενείς με ΒΚ κυστίτιδα, έδειξε ότι 67% ανταποκρίθηκαν πλήρως στην εβδομαδιαία ενδοφλέβια χορήγηση σιντοφοβίρης (0,5-1mg/kg). Σε νεότερη μελέτη της ομάδας, παρατηρήθηκε ότι η κλινική βελτίωση συνοδεύεται από σημαντική μείωση του ιικού φορτίου στο αίμα. Συγκεκριμένα, σε όλους τους ασθενείς που παρουσίασαν πλήρη ύφεση, παρατηρήθηκε μείωση του φορτίου του ιού κατά τουλάχιστον 1 λογάριθμο, 2 εβδομάδες μετά την έναρξη της θεραπείας με σιντοφοβίρη.⁵³ Η βέλτιστη δοσολογία της σιντοφοβίρης δεν έχει διευκρινιστεί, ενώ σοβαρό πρόβλημα παραμένει η σημαντική νεφροτοξικότητα, παρά την προφυλακτική χορήγηση προβενεσίδη.

Αναπνευστικοί ιοί της κοινότητας

Οι αναπνευστικοί ιοί της κοινότητας, αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV), ιοί γρίπης, ιοί παραϊνφλουέτζας, αδενοϊός (AdV), ρινοϊοί, κοροναϊοί, μεταπνευμονοϊοί, bocavirus προκαλούν λοίμωξη σε ποσοστό έως 30% των ασθενών μετά από αλλοΜΑΚ. Ενώ στους ανοσοεπαρκείς, οι αναπνευστικοί ιοί προκαλούν κατά κανόνα ήπια συμπτώματα από το ανώτερο αναπνευστικό, στους μεταμοσχευμένους ασθενείς λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού αναφέρονται σε ποσοστό 5-50% και συνοδεύονται από υψηλή θνητότητα, έως 50%.⁵⁴

Διαθέσιμο εμβόλιο για την πρόληψη των ιογενών αναπνευστικών λοιμώξεων, υπάρχει μόνο για τους ιούς της γρίπης. Οι κατευθυντήριες οδηγίες του ECIL-4 συνιστούν εμβολιασμό όλων των ασθενών 3-6 μήνες μετά τη μεταμόσχευση και σε ετήσια βάση, κατά την έναρξη της επιδημικής περιόδου.⁵⁵ Η αποτελεσματικότητα του εμβολιασμού είναι σε γενικές γραμμές μικρότερη απ' ό,τι στο γενικό πληθυσμό.⁵⁶ Σε μια μελέτη, όμως, των Avetyasian και συν, όπου οι ασθενείς εμβολιάστηκαν 6 μήνες μετά την αλλο-ΜΑΚ, μόνο 20% νόσησαν από γρίπη.⁵⁷ Αντίστοιχα, δεν υπάρχουν εγκεκριμένα αντι-ικά φάρμακα για τους περισσότερους αναπνευστικούς ιούς, με εξαίρεση τους αναστολείς νευραμινιδάσης, με κύριο εκπρόσωπο την οσελταμιβίρη, που δρουν ενάντια στο ιό της γρίπης. Οι αναστολείς της νευραμινιδάσης μπορούν να χορηγηθούν προφυλακτικά μετά από έκθεση στον ιό της γρίπης. Θεραπευτικά, η έγκαιρη έναρξη της χορήγησης, εντός 24-48 ωρών από την έναρξη των συμπτωμάτων, οδηγεί σε έλεγχο της ίωσης σε 46-100% των περιπτώσεων.^{58,59}

Για την αντιμετώπιση RSV λοίμωξης, μπορεί να χορηγηθεί, εκτός ενδείξεων, ριμπαβιρίνη σε εισπνεόμενη μορφή ή συστηματικά από του στόματος ή ενδοφλέβια. Σε μια αναδρομική μελέτη, παρατηρήθηκε ότι οι ασθενείς που έλαβαν ριμπαβιρίνη είχαν καλύτερη έκβαση από εκείνους που δεν έλαβαν, ανεξάρτητα από τη συνοδό χορήγηση ανοσοτροποποιητικών παραγόντων. Συγκεκριμένα, λοίμωξη κατώτερου αναπνευστικού εμφάνισε 16% των ασθενών που έλαβαν ριμπαβιρίνη έναντι 45% της ομάδας ελέγχου, ενώ η θνητότητα ήταν 35% και 70% αντίστοιχα.⁶⁰ Η προφυλακτική χορήγηση του μονοκλωνικού αντισώματος Palivizumab, που αναστέλλει την είσοδο του ιού στο αναπνευστικό επιθήλιο, έχει ένδειξη σε παιδιά ηλικίας <2 ετών. Άλλοι δύο παράγοντες με αντίστοιχη δράση, motalizumab και ALN-RSV01 εξετάζονται σε κλινικές μελέτες.⁶¹

Οι αδενοϊοί αποτελούν σημαντικό αίτιο θνητότητας μετά από αλλοΜΑΚ, κυρίως στα παιδιά. Για την αντιμετώπιση της λοίμωξης χρησιμοποιούνται η ριμπαβιρίνη και η σιντοφοβίρη. Περισσότερα δεδομένα υπάρχουν για τη σιντοφοβίρη, η οποία αν και αποτελεσματική, πρέπει να χορηγείται με προσοχή, λόγω αυξημένης τοξικότητας. Στην αναδρομική μελέτη του EBMT 45 ασθενείς έλαβαν σιντοφοβίρη για τεκμηριωμένη (n=16), πιθανή (n=13) λοίμωξη ή ασυμπτωματική AdV ιαμμία (n=16) και 69% (10 ασθενείς από κάθε ομάδα) ανταποκρίθηκαν πλήρως στη θεραπεία.⁶²

Κυτταρικές θεραπείες

Παρόλο που για αρκετούς από τους ιούς που προσβάλλουν τους μεταμοσχευμένους ασθενείς υπάρχουν διαθέσιμα αντι-ικά φάρμακα, συχνά η αποτελεσματικότητά τους περιορίζεται από την τοξικότητα και την ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών του ιού. Άλλοι ιοί, όπως οι αδενοϊοί και οι polyoma ιοί δε φαίνεται να ανταποκρίνονται σε φαρμακευτικούς αντι-ικούς παράγοντες. Για τις παραπάνω περιπτώσεις, προτείνεται εναλλακτικά η υιοθετούμενη ανοσοθεραπεία που στοχεύει στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων, μέσω της αποκατάστασης της κυτταρικής ανοσίας έναντι των ιών.

Έγχυση λεμφοκυττάρων δότη (DLI)

Η πρώτη μέθοδος που μελετήθηκε προς αυτήν την κατεύθυνση ήταν η έγχυση λεμφοκυττάρων δότη. Η χορήγηση DLI ήταν αποτελεσματική σε ασθενείς με EBV-PTLD⁶³ και λοίμωξη από CMV⁶⁴, λόγω της μεγάλης συγκέντρωσης στο προϊόν T-λεμφοκυττάρων ειδικών έναντι των ιών που παραμένουν σε λανθάνουσα κατάσταση μετά την πρωτολοίμωξη. Ωστόσο, το ποσοστό των αλλο-αντιδραστικών κυττάρων στο DLI είναι υψηλό- έως 10%, με αποτέλεσμα η συχνότητα εμφάνισης αντίδρασης μοσχεύματος έναντι

ξενιστή (GvHD) να είναι συχνά δυσανάλογη του οφέλους. Στην προσπάθεια περιορισμού της αλλοδραστικότητας, μελετήθηκαν η εκλεκτική απομάκρυνση ή η ανεργοποίηση των T-αλλοδραστικών κυττάρων.

Απομάκρυνση/ανεργοποίηση αλλοδραστικών κυττάρων

Για την απομάκρυνση των αλλοαντιδραστικών T-λεμφοκυττάρων *ex vivo*, πριν την έγχυση του κυτταρικού προϊόντος στον ασθενή, τα λεμφοκύτταρα το δότη καλλιεργούνται παρουσία αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων του λήπτη. Τα ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα πολλαπλασιάζονται και εκφράζουν δείκτες ενεργοποίησης, όπως CD25, CD69, CD71, CD134, CD137 και HLA-DR. Με βάση τους δείκτες αυτούς, τα αλλοδραστικά κύτταρα μπορούν να αφαιρεθούν από το προϊόν με ανοσολογικές μεθόδους. Πρώτοι οι Van Dijk και συν μετά από ενεργοποίηση των αλλοδραστικών κυττάρων, χρησιμοποίησαν για την απομάκρυνσή τους μαγνητικά σφαιρίδια συνδεδεμένα με CD25, CD69, CD71 και HLA-DR μεμονωμένα ή σε συνδυασμό. Κατόπιν διέλευσης του προϊόντος από μαγνητικό πεδίο, διαπιστώθηκε μείωση των T-αλλοαντιδραστικών κυττάρων κατά 10 φορές.⁶⁵ Αργότερα, στα πλαίσια κλινικών μελετών, χορηγήθηκαν DLI μετά από επεξεργασία με αντι-CD25 συνδεδεμένο με άνοση τοξίνη. Τα DLI έλαβαν παιδιά και ενήλικες ασθενείς μετά από απλοταυτώση ή μεταμόσχευση από ιστοσυμβατό αδερφό και παρατηρήθηκε αποκατάσταση της κυτταρικής ανοσίας έναντι των CMV και EBV, με αποδεκτή συχνότητα εμφάνισης GvHD.^{66,67} Πρόσφατα, χρησιμοποιήθηκε και η μέθοδος της φωταφαίρεσης. Η μέθοδος βασίζεται στο ότι τα ενεργοποιημένα αλλοαντιδραστικά T λεμφοκύτταρα απορροφούν τη χρωστική TH9402, αλλά σε αντίθεση με τα μη ενεργοποιημένα κύτταρα, δεν μπορούν να την αποβάλλουν. Όταν κύτταρα που περιέχουν τη χρωστική εκτίθενται στο ορατό φως, αποπίπτουν. Όμως τα αποτελέσματα της χορήγησης DLI μετά από φωταφαίρεση ήταν απογοητευτικά, με αυξημένη συχνότητα οξείας και χρόνιας GvHD και σοβαρές ιογενείς, βακτηριακές και μυκητιασικές λοιμώξεις, έτσι ώστε η μελέτη διεκόπη.⁶⁸

Σε μια άλλη προσέγγιση, τα T λεμφοκύτταρα του δότη τροποποιούνται, ώστε να εκφράζουν ένα “γονίδιο αυτοκτονίας”. Στην περίπτωση που ο λήπτης εμφανίσει GvHD, υπάρχει δυνατότητα ενεργοποίησης του συγκεκριμένου γονιδίου, με αποτέλεσμα την απόπτωση του κυττάρου. Το περισσότερο μελετημένο γονίδιο είναι αυτό της κινάσης της θυμιδίνης του ιού του απλού έρπητα (HSV-tk). Το προϊόν του γονιδίου αυτού καταλύει τη φωσφορυλίωση της γκανσικλοβίρης στο ενεργό φάρμακο, υπό την επίδραση του οποίου τα διαιρούμενα κύτταρα αποπίπτουν. Σε μια μελέτη φάσης 1/2 χορηγήθηκαν HSV-tk τροποποιημένα κύτταρα δότη σε 28 ασθενείς μετά από απλοταυτώση

ΜΑΚ. Σε 22/28 ασθενείς παρατηρήθηκε ταχεία αποκατάσταση της κυτταρικής ανοσίας και στην ομάδα αυτή η επίπτωση των ιογενών λοιμώξεων ήταν μόλις 9%. Δέκα ασθενείς παρουσίασαν GvHD και έλαβαν γκανσικλοβίρη. Παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των HSV-tk T λεμφοκυττάρων (40-93%) και πλήρης υποχώρηση της GvHD, χωρίς άλλη θεραπεία.⁶⁹ Βασικό μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι το γονίδιο HSV-tk, προερχόμενο από ιό, μπορεί να προκαλέσει ανοσολογική απάντηση και άρα πρόωμη απόπτωση των κυττάρων που το φέρουν. Επίσης σε ασθενείς που έχουν λάβει HSV-tk κύτταρα, πρακτικά αποκλείεται η θεραπευτική επιλογή της γκανσικλοβίρης για την αντιμετώπιση λοιμώξεων μετά από αλλοΜΑΚ.

Εναλλακτικά, δοκιμάστηκε η εισαγωγή στα T-λεμφοκύτταρα του γονιδίου της κασπάσης 9 (iC9), το οποίο δεν είναι ανοσογόνο. Το προϊόν του γονιδίου διμερίζεται παρουσία του παράγοντα CID (Chemical Inducer of Dimerization) και οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο. Η μέθοδος εφαρμόστηκε κλινικά σε παιδιά μετά από απλοταυτώση ΜΑΚ. Επί εμφάνισης GvHD, δόθηκε αγωγή με CID και σε 30% περισσότερα από 90% των τροποποιημένων κυττάρων οδηγήθηκαν σε απόπτωση. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα υπολειπόμενα iC9-T λεμφοκύτταρα πολλαπλασιάστηκαν εκ νέου και διατήρησαν την αντιική τους δραστηριότητα.⁷⁰

Η ενεργοποίηση του T λεμφοκυττάρου απαιτεί σύνδεση του αντιγόνου με τον υποδοχέα του και στη συνέχεια αλληλεπίδραση του CD28 υποδοχέα του λεμφοκυττάρου με τα μόρια B7.1 και B7.2 ενός αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου. Οι Davies και συν εκμεταλεύονται την παραπάνω γνώση, εξέθεσαν μυελικό μόσχευμα από απλοταυτώση δότη σε μονοκύτταρα του λήπτη παρουσία της υβριδικής πρωτεΐνης CTLA-Ig (n=19) ή μονοκλωνικού αντισώματος anti-B7 (n=5). Οι παράγοντες αυτοί εμποδίζουν την αλληλεπίδραση των μερικώς ενεργοποιημένων αλλοαντιδραστικών κυττάρων του μοσχεύματος με τα αντιγονοπαρουσιαστικά, οδηγώντας τα πρώτα σε ανεργία. Πράγματι, παρά την υψηλή δόση CD3+ κυττάρων, 5 ασθενείς παρουσίασαν GvHD \geq III. Παρατηρήθηκε ταχεία αποκατάσταση της T κυτταρικής ανοσίας με συνοδό έκπτυξη CMV ειδικών κυττάρων.⁷¹

Τέλος, οι Di Ianni και συν χορήγησαν T-ρυθμιστικά κύτταρα (Tregs), σε 28 ασθενείς, 4 ημέρες πριν υποβληθούν σε απλοταυτώση ΜΑΚ, ταυτόχρονα με DLI. Η ανασταλτική δράση των Tregs στα ενεργοποιημένα αλλοδραστικά T λεμφοκύτταρα *in vivo* είχε ως αποτέλεσμα να εμφανίσουν GvHD μόνο 2 ασθενείς, ενώ τα T λεμφοκύτταρα έναντι ειδικών παθογόνων πολλαπλασιάστηκαν ταχέως.⁷²

Ταχεία επιλογή T λεμφοκυττάρων με ειδικότητα αντιγόνου

Η ταχεία επιλογή ειδικών T λεμφοκυττάρων έναντι

ιών από το περιφερικό αίμα μετά από έκθεσή τους στο ειδικό αντιγόνο και απ' ευθείας έγχυση στον ασθενή έχει κερδίσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητικών ομάδων. Οι δύο πιο αποτελεσματικές μέθοδοι επιλογής που φαίνεται ότι μπορούν να έχουν κλινική εφαρμογή είναι η επιλογή με HLA-πολυμερή και η επιλογή T λεμοφοκυττάρων που παράγουν κυτταροκίνες.

Τα HLA-πολυμερή αποτελούνται από πεπτιδία πρωτεϊνών του ιού (επίτοπους) που αλληλεπιδρούν με συγκεκριμένα μόρια HLA τάξης I. Αυτά συνδέονται με ειδικά έναντι του συγκεκριμένου επίτοπου CD8+ T λεμοφοκύτταρα, τα οποία στη συνέχεια επιλέγονται με μαγνητικά σφαιρίδια. Οι Cobbolt και συν χρησιμοποίησαν CMV ειδικά τετραμερή για να απομονώσουν CD8+ T λεμοφοκύτταρα έναντι του ιού σε μόλις 4 ώρες. Τα κύτταρα χορηγήθηκαν σε 9 ασθενείς με CMV ενεργοποίηση και παρά τη χαμηλή δόση, πολλαπλασιάστηκαν *in vivo* και κατάφεραν να ελέγξουν τη λοίμωξη. Το φορτίο του ιού μηδενίστηκε σε 8/9 ασθενείς, ενώ κανείς δεν παρουσίασε CMV νόσο.⁷³ Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν με επιτυχία πενταμερή για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από CMV, EBV και αδενοϊό.⁷⁴ Τελευταία εφαρμόστηκε η τεχνολογία των επταμερών (streptamers), τα οποία, αντίθετα με τα τετραμερή και τα πενταμερή, συνδέονται με τα T λεμοφοκύτταρα με τρόπο αντιστρεπτό. Έτσι τα T λεμοφοκύτταρα του τελικού προϊόντος έχουν ακριβώς τα ίδια φαινοτυπικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά με αντίστοιχα κύτταρα που δεν έχουν υποστεί καμία επεξεργασία.⁷⁵ CD8+ T λεμοφοκύτταρα έναντι CMV που απομονώθηκαν με αυτή τη μέθοδο, χορηγήθηκαν σε 2 ασθενείς με πολυθεραπευμένη, μη ανταποκρινόμενη CMV λοίμωξη. Μετά από μία έγχυση κυττάρων, το φορτίο του ιού μηδενίστηκε, χωρίς να χρειαστεί άλλη αντι-ιική θεραπεία και χωρίς εμφάνιση GvHD.⁷⁶

Κατά τη δεύτερη τεχνική τα ειδικά T λεμοφοκύτταρα εκτίθενται για 12-16 ώρες στο ειδικό αντιγόνο με αποτέλεσμα να παράγουν ιντερφερόνη γ (IFN γ). Τα κύτταρα σημαίνονται με αντίσωμα έναντι της IFN γ και στη συνέχεια επιλέγονται με μαγνητικά σφαιρίδια συνδεδεμένα με αντίσωμα αντι-IFN γ . Εφόσον η μέθοδος είναι ανεξάρτητη του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας, επιλέγονται τόσο CD8+ όσο και CD4+ T λεμοφοκύτταρα έναντι του ειδικού αντιγόνου. Οι Feuchtinger et al χρησιμοποίησαν τη μέθοδο επιλογής με IFN γ για τη θεραπεία 9 παιδιών με συστηματική λοίμωξη από αδενοϊό μετά από αλλοΜΑΚ. Μετά από έγχυση μόλις $1,2 \times 10^3 - 5 \times 10^4$ CD3+ T κυττάρων/kg, 5 από τα 6 παιδιά που εκτιμήθηκαν παρουσίασαν κλινικό όφελος. Αργότερα, η ίδια ομάδα εφάρμοσε με επιτυχία την μέθοδο επιλογής T κυττάρων με IFN γ σε 18 ασθενείς, για την αντιμετώπιση ανθεκτικής CMV νόσου. Σε 83% των περιπτώσεων, μεταξύ των οποίων δύο ασθενείς με CMV εγκεφαλίτιδα, το φορτίο του ιού μηδενίστηκε ή μειώθηκε κατά τουλάχιστον 1 λο-

γάριθμο.⁷⁷ Στη μελέτη φάσης I/II των Peggs και συν, σε όλους τους ασθενείς που έλαβαν τα κύτταρα προφυλακτικά διαπιστώθηκε *in vivo* έκπτωση των CMV ειδικών T λεμοφοκυττάρων, παρά τη συνοδό χορήγηση ανοσοκατασταλαλτατικής αγωγής.⁷⁸

T λεμοφοκύτταρα ειδικά έναντι του EBV που απομονώθηκαν με αντι-IFN γ μετά από έκθεση σε 23 EBV πεπτιδία-επίτοπους και χορηγήθηκαν σε ασθενείς με EBV-PTLD. Τρεις ασθενείς με πρώιμη νόσο πέτυχαν πλήρη ύφεση, ενώ 3 με νόσο τελικού σταδίου δεν ανταποκρίθηκαν.⁷⁹ Η ομάδα του Feuchtinger, χρησιμοποίησε την πρωτεΐνη EBNA1 ως αντιγονικό ερέθισμα. Σε 8/10 ασθενείς με PTLD, τα ειδικά T λεμοφοκύτταρα έναντι της EBNA1 πρωτεΐνης εκπύχθηκαν *in vivo*, με συνοδό κλινική ανταπόκριση σε 7 ασθενείς.⁸⁰ Στις παραπάνω μελέτες η έγχυση επιλεγμένων κυτταροτοξικών T λεμοφοκυττάρων με ειδικότητα αντιγόνου αποδείχθηκε ασφαλής όσον αφορά στην τοξικότητα και την ανάπτυξη GvHD.

Έκπτωση κυτταροτοξικών T λεμοφοκυττάρων *ex vivo*

Η *ex vivo* έκπτωση T λεμοφοκυττάρων ειδικών έναντι ιών επιτρέπει την ανάκτηση μεγάλου αριθμού ειδικών T κυττάρων προς έγχυση, συγκριτικά με την ταχεία επιλογή, χωρίς ταυτόχρονα να αυξάνεται ο αριθμός των αλλοδραστικών κυττάρων στο προς έγχυση προϊόν.⁸¹

Ιός Epstein Barr

Η έγχυση EBV ειδικών T λεμοφοκυττάρων δότη έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στην αντιμετώπιση EBV λοίμωξης μετά από αλλοΜΑΚ και αποτελεί θεραπεία εκλογής για την πρόληψη και τη θεραπεία της EBV-PTLD (σύσταση CII).²⁹ Στις αρχές της δεκαετίας του 1990 οι Rooney και συν χρησιμοποίησαν EBV λεμοβλαστοειδή κύτταρα του δότη (EBV-LCL) για την ενεργοποίηση και έκπτυξη των EBV ειδικών T λεμοφοκυττάρων *ex vivo*. Το τελικό προϊόν περιείχε τόσο CD8+ όσο και CD4+ κύτταρα. Τα κύτταρα χορηγήθηκαν σε δόση $2 \times 10^7/m^2$ σε 26 μεταμοσχευμένους ασθενείς και ήταν ασφαλή και αποτελεσματικά στην πρόληψη και την αντιμετώπιση της EBV-PTLD.⁸² Η ίδια ομάδα δημοσίευσε το 2009 τα αποτελέσματα από την έγχυση EBV ειδικών κυττάρων δότη, προληπτικά σε 100 ασθενείς υψηλού κινδύνου και θεραπευτικά σε 13 ασθενείς με PTLD. Από τους ασθενείς που έλαβαν τα κύτταρα προληπτικά, κανείς δεν εκδήλωσε PTLD, ενώ στην ομάδα ελέγχου η συχνότητα εμφάνισης της νόσου ήταν 11,5%. Επίσης, 11/13 ασθενείς που έλαβαν τα κύτταρα θεραπευτικά, πέτυχαν πλήρη και σταθερή ύφεση της νόσου.⁸³ Αντίστοιχα αποτελέσματα προκύπτουν από αρκετές άλλες μελέτες.^{84,85} Παρόλα αυτά, η διαθεσιμότητα

τητα της μεθόδου παραμένει περιορισμένη, λόγω του ότι είναι ιδιαίτερα χρονοβόρα, καθώς απαιτούνται 4 εβδομάδες καλλιέργειας για τα EBV-LCL και επιπλέον 3 για την έκπτυξη των EBV ειδικών κυττάρων.

Κυτταρομεγαλοϊός

Τα πρώτα κλινικά δεδομένα για τη χρήση CMV ειδικών κυττάρων που εκπύχθηκαν *ex vivo* δημοσιεύθηκαν από τους Walters και συν το 1995. Για την ενεργοποίηση και έκπτυξη των κυττάρων του δότη, χρησιμοποίησαν αυτολόγους ινοβλάστες ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, τους οποίους είχαν διαμολύνει με τον ιό. CD8+ CMV ειδικά λεμφοκύτταρα χορηγήθηκαν προφυλακτικά σε 14 ασθενείς. Οι εγχύσεις ήταν ασφαλείς και κανένας ασθενής δεν παρουσίασε CMV λοίμωξη. Τα CD8+ CMV ειδικά λεμφοκύτταρα ανιχνεύονταν στο περιφερικό αίμα του λήπτη έως και 8 εβδομάδες μετά το τέλος της θεραπείας, αλλά μετέπειτα μειώνονταν στην περίπτωση που δεν είχε συμβεί ενδογενής αποκατάσταση των CD4+ CMV ειδικών λεμφοκυττάρων.⁸⁶

Οι Einsele και συν κατάφεραν να ξεπεράσουν αυτό το πρόβλημα και να εκπύξουν CD4+ και CD8+ CMV ειδικά T λεμφοκύτταρα, χρησιμοποιώντας μονοπύρρινα κύτταρα δότη, τα οποία υπέβαλαν σε επανειλημμένο αντιγονικό ερεθισμό. Τα κύτταρα αυτά χορηγήθηκαν σε 8 ασθενείς με CMV λοίμωξη μη ανταποκρινόμενη στα αντι-ικά φάρμακα. Όλοι οι ασθενείς που αναλύθηκαν στη μελέτη, παρουσίασαν μείωση του ιικού φορτίου.⁸⁷

Άλλοι ερευνητές χρησιμοποίησαν δενδριτικά κύτταρα ως αντιγονοπαρουσιαστικά για την ενεργοποίηση και έκπτυξη των CMV ειδικών κυττάρων, με εξίσου καλά αποτελέσματα.^{88,89}

Κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα έναντι πολλαπλών ιών

Οι Leen και συν κατάφεραν να δημιουργήσουν ένα προϊόν το οποίο στοχεύει ταυτόχρονα τον CMV, EBV και AdV, χρησιμοποιώντας ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, μονοκύτταρα και EBV-LCL που τροποποίησαν γενετικά χρησιμοποιώντας αδενοϊκό φορέα, που εκφράζει το γονίδιο pp65 του CMV. Τα ειδικά έναντι των ιών T λεμφοκύτταρα χορηγήθηκαν σε 14 ασθενείς μετά από αλλοΜΑΚ. Δεν παρατηρήθηκε GvHD, ενώ τα κύτταρα πολλαπλασιάστηκαν *in vivo*, ελέγχοντας την ιογενή λοίμωξη σε όλες τις περιπτώσεις. CMV και EBV ειδικά T λεμφοκύτταρα ανιχνεύθηκαν στο περιφερικό αίμα όλων των ασθενών, ενώ κύτταρα έναντι AdV ανιχνεύθηκαν μόνο στους ασθενείς με ενεργό λοίμωξη από AdV.⁹⁰ Τελευταία, δημοσιεύθηκαν τα αποτελέσματα από μια κλινική μελέτη της ίδιας ομάδας που στοχεύει σε 5 ιούς (EBV,

CMV, AdV, HHV-6 και BKV). Στη μελέτη αυτή τα κύτταρα προς έγχυση παρασκευάστηκαν σε μόλις 10 ημέρες, χρησιμοποιώντας για την ενεργοποίηση των T ειδικών λεμφοκυττάρων πεπτιδία που αντιπροσωπεύουν τις περισσότερες ανοσογόνες πρωτεΐνες των 5 ιών. Τα κύτταρα χορηγήθηκαν προληπτικά (n=3) ή θεραπευτικά (n=8) σε παιδιά και ενήλικες μετά από αλλο-ΜΑΚ. Οι εγχύσεις ήταν ασφαλείς και μόνο ένας ασθενής εμφάνισε *de novo* GvHD δέρματος. Συνολικά αντιμετωπίστηκαν 18 επεισόδια λοιμώξεων από τους 5 ιούς και η ανταπόκριση στη θεραπεία ήταν 94%. Η μείωση του ιικού φορτίου συνοδεύτηκε σε όλες τις περιπτώσεις από αύξηση των T λεμφοκυττάρων με ειδικότητα έναντι του υπεύθυνου για τη λοίμωξη ιού.⁹¹

Εφαρμογή της μεθόδου σε ασθενείς χωρίς διαθέσιμο δότη για υιοθετούμενη ανοσοθεραπεία

Αν ο ασθενής έχει υποβληθεί σε αλλοΜΑΚ από δότη που δεν έχει εκτεθεί στους συγκεκριμένους ιούς ή από ΟΠΑ, η δημιουργία προϊόντος για υιοθετούμενη ανοσοθεραπεία από τον ίδιο δότη είναι πρακτικά αδύνατη. Σε τέτοιες περιπτώσεις μπορούν να χρησιμοποιηθούν κυτταρικές σειρές από τρίτο δότη. Σε μια πρόσφατη μελέτη, η αναζήτηση μερικώς ιστοσυμβατών ειδικών T λεμφοκυττάρων από τράπεζα ήταν επιτυχής για το 90% των ασθενών. Η κυτταρική θεραπεία ήταν ασφαλής και αποτελεσματική στον έλεγχο των ανθεκτικών EBV, CMV και AdV λοιμώξεων, με αποδεδειγμένο κλινικό όφελος στο 74% των ασθενών.⁹²

Ειδικά για τους ασθενείς που λαμβάνουν ομφάλιο μόσχευμα, οι Hanley και συν έδειξαν ότι είναι δυνατόν να παρασκευαστούν T λεμφοκύτταρα με ειδικότητα τριών ιών (EBV, CMV, AdV), χρησιμοποιώντας το 20% του μοσχεύματος. Τέτοια κύτταρα χορηγήθηκαν σε 7 ασθενείς 63-146 ημέρες μετά την αλλο-ΜΑΚ και ήταν αποτελεσματικά στην πρόωση της ανοσιακής αποκατάστασης.⁹³

Συμπεράσματα

Καθώς η συχνότητα των ιογενών λοιμώξεων μετά από αλλοΜΑΚ συνεχώς αυξάνεται, η ανάγκη βελτίωσης των θεραπειών γίνεται ολοένα και πιο επιτακτική. Τα τελευταία 20 χρόνια, η εισαγωγή της γκανσικλοβίρης και του rituximab στην κλινική πράξη, άλλαξαν τα δεδομένα για τη θεραπεία της CMV και EBV λοίμωξης αντίστοιχα στους ασθενείς μετά από αλλοΜΑΚ, ενώ για πολλούς άλλους ιούς δεν υπάρχει ακόμη αποτελεσματικά φάρμακα. Σήμερα, δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στην προφυλακτική και την προληπτική θεραπεία των ιογενών λοιμώξεων, όμως υπάρχουν σημαντικά περιθώρια

βελτίωσης όσον αφορά κυρίως στην ασφάλειά των αντιικών παραγόντων. Εναλλακτικά, η υιοθετούμενη ανοσοθεραπεία στοχεύει στην αποκατάσταση της κυτταρικής ανοσίας έναντι των ιών. Έχει αποδειχθεί κλινικά αποτελεσματική στην προφύλαξη και τη θεραπεία λοιμώξεων

από CMV, EBV, HHV-6, AdV και BKV. Το φάσμα των ιών-στόχων αναμένεται να επεκταθεί, ενώ η δημιουργία τραπεζών κυττάρων από τρίτους δότες καθιστά τις κυτταρικές θεραπείες προσιτές σε περισσότερους ασθενείς.

Prophylaxis and treatment for viral infections - pharmacological and cellular therapies

by Ifigenia A. Tzannou

Baylor College of Medicine, Houston, TX, USA

ABSTRACT: Viral infections remain a significant cause of morbidity and mortality after hematopoietic stem cell transplantation. Due to profound immunosuppression, transplant patients are susceptible to both latent and community acquired viruses. Over the past 20 years great progress has been made to rapidly detect viral infections, while new antiviral pharmacological agents have been investigated. Effective prophylaxis and treatment is currently available for most herpesviruses and influenza viruses. However, antiviral agents are not effective for many other viruses. Even when pharmacological therapies are available, they may cause significant toxicity or lead to resistant mutants. Adoptive immunotherapy with antigen-specific T cells is an effective alternative providing protection against viruses, without causing alloreactivity.

Βιβλιογραφία

1. Gratwohl A, Brand R, Frassoni F, et al. Cause of death after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in early leukaemias: an EBMT analysis of lethal infectious complications and changes over calendar time. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 36:757-769.
2. Marr KA. Delayed opportunistic infections in hematopoietic stem cell transplantation patients: a surmountable challenge. *Hematology.* 2012; 265-270.
3. Boeckh M, Erard V, Zerr D, et al. Emerging viral infections after hematopoietic cell transplantation. *Pediatr Transplant.* 2005; 9:Suppl 7:48-54.
4. Prentice HG, Gluckman E, Powles RL, et al. Impact of long-term acyclovir on cytomegalovirus infection and survival after allogeneic stem cell transplantation. *The Lancet.* 1994; 343:749-753.
5. Nakamura R, Corte K, Solomon, et al. High-dose acyclovir and pre-emptive ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease in myeloablative and non-myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2002; 30:235-242.
6. Goodrich JM, Fisher BL, Keller C, et al. Ganciclovir prophylaxis to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic marrow transplant. *Ann. Intern. Med.* 1993; 118:173-178.
7. Burns LJ, Miller W, Kandaswamy C, et al. Randomized clinical trial of ganciclovir vs acyclovir for prevention of cytomegalovirus antigenemia after allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2002; 30:945-951.
8. Winston DJ, Yeager AM, Chandrasekar PH, et al. Randomized comparison of oral valganciclovir and intravenous ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis.* 2003; 36:749-758.
9. Montesinos P, Sanz J, Cantero S, et al. Incidence, risk factors, and outcome of cytomegalovirus infection and disease in patients receiving prophylaxis with oral valganciclovir or intravenous ganciclovir after umbilical cord blood transplantation. *Biol Blood and Marrow Transplant.* 2009; 15:730-740.
10. Bacigalupo A, Tedone E, Van Lint MT. CMV prophylaxis with foscarnet in allogeneic bone marrow transplant recipients at high risk of developing CMV infections. *Bone Marrow Transplant.* 1994; 13:783-788.
11. Bregante S, Bertelson S, Tedone E, et al. Foscarnet prophylaxis of cytomegalovirus infections in patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation (BMT): a dose-finding study. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26:23-29.
12. Marty FM, Ljungman P, Papanicolaou GA. Maribavir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus disease in recipients of allogeneic stem-cell transplants: a phase 3, double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *Lancet Infect Dis.* 2011; 11:284-292.
13. Chemaly RF, Ullmann AJ, Stoelben S, et al. Letermovir for cytomegalovirus prophylaxis in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2014; 370:1781-1789.
14. Boeckh M, Ljungman P. How I treat cytomegalovirus in hematopoietic cell transplant recipients. *Blood.* 2009; 113:5711-5719.
15. Ljungman P, de la Camara R, Cordonnier C, et al. Management of CMV, HHV-6, HHV-7 and Kaposi-sarcoma

- herpesvirus (HHV-8) infections in patients with hematological malignancies and after SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2008;42:227–240.
16. Lim ZY, Cook G, Johnson PR, et al. Results of a phase I/II British Society of Bone Marrow Transplantation study on PCR-based pre-emptive therapy with valganciclovir or ganciclovir for active CMV infection following alemtuzumab-based reduced intensity allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia Res.* 2009; 33:244–249.
 17. Einsele H, Reusser P, Bornhauser M, et al. Oral valganciclovir leads to higher exposure to ganciclovir than intravenous ganciclovir in patients following allogeneic stem cell transplantation. *Blood.* 2006; 107:3002–3008.
 18. van der Heiden PL, Kalpoe JS, Barge RM, et al. Oral valganciclovir as pre-emptive therapy has similar efficacy on cytomegalovirus DNA load reduction as intravenous ganciclovir in allogeneic stem cell transplantation recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2006; 37:693–698.
 19. de la Cruz-Vicente F, Cerezuela Martinez P, Gil-Esparraga E, et al. Preemptive therapy for cytomegalovirus disease in allogeneic stem cell transplant recipients. *Transplant Proc.* 2008; 40:3102–3103.
 20. Reusser P, Einsele H, Lee J, et al. Randomized multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Blood.* 2002; 99:1159–1164.
 21. Ljungman P, Deliliers GL, Platzbecker U, et al. Cidofovir for cytomegalovirus infection and disease in allogeneic stem cell transplant recipients. The Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood.* 2001; 97:388–392.
 22. Bacigalupo A, Bregante S, Tedone E, et al. Combined foscarnet-ganciclovir treatment for cytomegalovirus infections after allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. *Transplantation.* 1996; 62:376–380.
 23. Mattes FM, Hainsworth EG, Geretti AM, et al. A randomized, controlled trial comparing ganciclovir to ganciclovir plus foscarnet (each at halfdose) for preemptive therapy of cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Infect Dis.* 2004; 189:1355–1361.
 24. Ljungman P, Engelhard D, Link H, et al. Treatment of interstitial pneumonitis due to cytomegalovirus with ganciclovir and intravenous immune globulin: experience of European Bone Marrow Transplant Group. *Clin Infect Dis.* 1992;14:831–835.
 25. Larsson K, Lonnqvist B, Ringde'n O, et al. CMV retinitis after allogeneic bone marrow transplantation; a report of five cases. *Transpl Infect Dis.* 2002; 4:75–79.
 26. Hislop AD, Taylor GS, Sauce D, et al. Cellular responses to viral infection in humans: lessons from Epstein-Barr virus. *Annu Rev Immunol.* 2007; 25:587–617.
 27. Heslop H. How I treat EBV lymphoproliferation. *Blood* 2009; 114:4002–4008.
 28. Rasche L, Kapp M, Einsele H, et al. EBV-induced post transplant lymphoproliferative disorders: a persisting challenge in allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49:163–167.
 29. Styczynski J, Reusser P, Einsele H, et al. Management of HSV, VZV and EBV infections in patients with hematological malignancies and after SCT: guidelines from the Second European Conference on Infections in Leukemia. *Bone Marrow Transplantat.* 2009; 43:757–770.
 30. van Essen JW, Niesters HG, van der Holt B, et al. Prevention of Epstein-Barr virus-lymphoproliferative disease by molecular monitoring and preemptive rituximab in high-risk patients after allogeneic stem cell transplantation. *Blood.* 2002; 99:4364–4369.
 31. Cohen JM, Cooper N, Chakrabarti S, et al. EBV-related disease following haematopoietic stem cell transplantation with reduced intensity conditioning. *Leuk Lymphoma.* 2007; 48:256–269.
 32. Cesaro S, Murrone A, Mengoli C. The real-time polymerase chain reaction-guided modulation of immunosuppression enables the pre-emptive management of Epstein-Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation *Br J Haematol.* 2005; 128:224–233.
 33. Faye A, Van Den Abeele T, Peuchmaur M, et al. Anti-CD20 monoclonal antibody for post-transplant lymphoproliferative disorders. *Lancet.* 1998; 352:1285.
 34. Styczynski J, Einsele H, Gil L, et al. Outcome of treatment of Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in hematopoietic stem cell recipients: a comprehensive review of reported cases. *Transpl Infect Dis.* 2009;11:383–392.
 35. Styczynski J, Gil L, Tridello G, et al. Response to rituximab-based therapy and risk factor analysis in Epstein Barr Virus-related lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplant in children and adults: a study from the Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Clin Infect Dis.* 2013; 57:794–802.
 36. Choquet S, Leblond V, Herbrecht R. Efficacy and safety of rituximab in B-cell post-transplantation lymphoproliferative disorders: results of a prospective multicenter phase 2 study. *Blood.* 2006;107:3053–3057.
 37. Choquet S, Trappe R, Leblond V, et al. CHOP-21 for the treatment of post-transplant lymphoproliferative disorders (PTLD) following solid organ transplantation. *Haematologica.* 2007; 92:273–274.
 38. Elstrom RL, Andreadis C, Aqui NA, et al. Treatment of PTLN with rituximab or chemotherapy. *Am J Transplant.* 2006; 6:569–576.
 39. Trappe R, Riess H, Babel N, et al. Salvage chemotherapy for refractory and relapsed posttransplant lymphoproliferative disorders (PTLD) after treatment with single-agent rituximab. *Transplant.* 2007;83:912–918.
 40. Perrine SP, Hermine O, Small T, et al. A phase 1/2 trial of arginine butyrate and ganciclovir in patients with Epstein-Barr virus-associated lymphoid malignancies. *Blood.* 2007; 109:2571–2578.
 41. Shepp DH, Dandliker PS, Flournoy N, et al. Sequential intravenous and twice-daily oral acyclovir for extended prophylaxis of herpes simplex virus infection in marrow transplant patients. *Transplantation.* 1987; 43:654–658.

42. Shepp DH, Newton BA, Dandliker PS, et al. Oral acyclovir therapy for mucocutaneous herpes simplex virus infections in immunocompromised marrow transplant recipients. *Ann Intern Med.* 1985; 102:783–785.
43. Erard V, Wald A, Corey L, et al. Use of long-term suppressive acyclovir after hematopoietic stem cell transplantation: impact on herpes simplex virus (HSV) disease and drug-resistant HSV disease. *J Infect Dis.* 2007; 196:266–270.
44. Erard V, Guthrie KA, Varley C, et al. One-year acyclovir prophylaxis for preventing varicella-zoster virus disease after hematopoietic cell transplantation: no evidence of rebound varicella-zoster virus disease after drug discontinuation. *Blood.* 2007; 110:3071–3077.
45. Chou JF, Kernan NA, Prockop S, et al. Safety and immunogenicity of the live attenuated varicella vaccine following T replete or T cell-depleted related and unrelated allogeneic hematopoietic cell transplantation (alloHCT) *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011; 17:1708-1713.
46. Issa NC, Marty FM, Leblebjian H, et al. Live attenuated varicella-zoster vaccine in hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014; 20:285-287.
47. Zerr DM. Human herpesvirus 6 and central nervous system disease in hematopoietic cell transplantation. *J Clin Virol.* 2006; 37(Suppl 1):S52–S56.
48. Ljungman P, Singh N. Human herpesvirus-6 infection in solid organ and stem cell transplant recipients. *J Clin Virol.* 2006; 37(Suppl 1):S87–S91.
49. Harkensee C, Vasdev N, Gennery AR, et al. Prevention and management of BK-virus associated haemorrhagic cystitis in children following haematopoietic stem cell transplantation – a systematic review and evidence-based guidance for clinical management. *Br J Haematol.* 2008;142:717–731.
50. Leung, AY, Chan, MT, Yuen, KY, et al. Ciprofloxacin decreased polyoma BK virus load in patients who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2005; 40:528–537.
51. Miller A, Glode A, Hogan KR, et al. Efficacy and safety of ciprofloxacin for prophylaxis of polyomavirus BK virus-associated hemorrhagic cystitis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17:1176-1181.
52. Cesaro S, Hirsch HH, Faraci M, et al. Cidofovir for BK virus-associated hemorrhagic cystitis: a retrospective study. *Clin Infect Dis.* 2009; 49:233–240.
53. Cesaro S, Pillon M, Tridello G, et al. Relationship between clinical and BK virological response in patients with late hemorrhagic cystitis treated with cidofovir: a retrospective study from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2013; 48:809–813.
54. Hirsch HH, Martino R, Ward KN, et al. Fourth European Conference on Infections in Leukaemia (ECIL-4): Guidelines for diagnosis and treatment of Human Respiratory Syncytial Virus, Parainfluenza Virus, Metapneumovirus, Rhinovirus, and Coronavirus. *Clin Infect Dis.* 2013; 56:258–266.
55. Engelhard D, Mohty B, de la Camara R, et al. European guidelines for prevention and management of influenza in hematopoietic stem cell transplantation and leukemia patients: summary of ECIL-4 (2011), on behalf of ECIL, a joint venture of EBMT, EORTC, ICHS, and ELN *Transpl Infect Dis.* 2013; 15:219–232.
56. Machado CM, Cardoso MR, da Rocha IF, et al. The benefit of influenza vaccination after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 36:897–900.
57. Avetisyan G, Aschan J, Hassan M, et al. Evaluation of immune responses to seasonal influenza vaccination in healthy volunteers and in patients after stem cell transplantation. *Transplantation.* 2008; 86:257–263.
58. Chemaly RF, Torres HA, Aguilera EA, et al. Neuraminidase inhibitors improve outcome of patients with leukemia and influenza: an observational study. *Clin Infect Dis.* 2007; 44:964–967.
59. Fraaij PL, van der Vries E, Beersma MF, et al. Evaluation of the antiviral response to zanamivir administered intravenously for treatment of critically ill patients with pandemic influenza A (H1N1) infection. *J Infect Dis.* 2011; 204:777–782.
60. Shah JN, Chemaly RF. Management of RSV infections in adult recipients of hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2011; 117:2755-2763.
61. Shah DP, Ghantaji SS, Mulanovich VE, et al. Management of respiratory viral infections in hematopoietic cell transplant recipients. *Am J Blood Res.* 2012; 2:203-218.
62. Ljungman P, Ribaud P, Eyrich M, et al. Cidofovir for adenovirus infections after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a survey by the Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2003; 31:481-486.
63. Papadopoulos EB, Ladanyi M, Emanuel D, et al. Infusions of donor leukocytes to treat Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders after allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1994; 330:1185-1191.
64. Hromas R, Cornetta K, Srour E, et al. Donor leukocyte infusion as therapy of life threatening adenoviral infections after T-cell-depleted bone marrow transplantation. *Blood.* 1994; 84:1689-1690.
65. Van Dijk AM, Kessler FL, Stadhouders-Keet SAE, et al. Selective depletion of major and minor histocompatibility antigen reactive T cells: towards prevention of acute graft versus-host disease. *Br J of Haem.* 1999; 107:169-175.
66. Solomon SR, Mielke S, Savani BN, et al. Selective depletion of alloreactive donor lymphocytes: a novel method to reduce the severity of graft-versus-host disease in older patients undergoing matched sibling donor stem cell transplantation. *Blood.* 2005; 106:1123–1129.
67. Amrolia PJ, Muccioli-Casadei G, Huls H, et al. Adoptive immunotherapy with allodepleted donor T-cells improves immune reconstitution after haploidentical stem cell transplantation. *Blood.* 2006; 108:1797–808.
68. Mielke S, McIver Z, Shenoy A, et al. Selectively T cell depleted allografts from HLA-matched donors followed by low-dose post transplant immunosuppression to improve transplant outcome in patients with hematological malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011; 17:1855–1861.
69. Ciceri F, Bonini C, Stanghellini MT, et al. Infusion of

- suicide-gene-engineered donor lymphocytes after family haploidentical haemopoietic stem-cell transplantation for leukaemia (the TK007 trial): a non-randomised phase I-II study. *Lancet Oncol.* 2009; 10:489-500.
70. Di Stasi A, Tey SK, Dotti G, et al. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy. *N Engl J Med.* 2011; 365:1673-1683.
 71. Davies JK, Gribben JG, Brennan LL, Yuk D, Nadler LM, Guinan EC. Outcome of alloanergized haploidentical bone marrow transplantation after ex vivo costimulatory blockade: results of 2 phase 1 studies. *Blood.* 2008; 112:2232-2234.
 72. Di Ianni M, Falzetti F, Carotti A, et al. Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. *Blood.* 2011; 117:3921-3928.
 73. Cobbold M, Khan N, Pourgheysari B, et al. Adoptive transfer of cytomegalovirus-specific CTL to stem cell transplant patients after selection by HLA-peptide tetramers. *J Exp Med.* 2005; 202:379-386.
 74. Uhlin M, Gertow J, Uzunel M, et al. Rapid salvage treatment with virus-specific T cells for therapy-resistant disease. *Clin Infect Dis.* 2012; 55:1064-1073.
 75. Neudorfer J, Schmidt B, Huster KM, et al. Reversible HLA multimers (Streptamers) for the isolation of human cytotoxic T lymphocytes functionally active against tumor- and virus-derived antigens. *J Immunol Methods* 2007; 320:119-131.
 76. Schmitt A, Tonn T, Busch DH, et al. Adoptive transfer and selective reconstitution of streptamer-selected cytomegalovirus-specific CD8+ T cells leads to virus clearance in patients after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Transfusion.* 2011; 51:591-599.
 77. Feuchtinger T, Matthes-Martin S, Richard C, et al. Safe adoptive transfer of virus-specific T-cell immunity for the treatment of systemic adenovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haem.* 2006; 134:64-76.
 78. Peggs KS, Thomson K, Samuel E, et al. Directly selected Cytomegalovirus-reactive donor T cells confer rapid and safe systemic reconstitution of virus-specific immunity following stem cell transplantation. *Clin Infect Dis.* 2011; 52:49-57.
 79. Moosmann A, Bigalke I, Tischer J, et al. Effective and long-term control of EBV PTLD after transfer of peptide-selected T cells. *Blood.* 2010; 115:2960-2970.
 80. Icheva V, Kayser S, Wolff D, et al. Adoptive transfer of Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen 1-specific T cells as treatment for EBV reactivation and lymphoproliferative disorders after Allogeneic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol.* 2013; 31:39-48.
 81. Melenhorst JJ, Leen AM, Bollard CM, et al. Allogeneic virus-specific T cells with HLA alloreactivity do not produce GVHD in human subjects. *Blood.* 2010; 116:4700-4702.
 82. Rooney CM, Smith CA, Ng C, et al. Use of gene-modified virus-specific T lymphocytes to control Epstein-Barr virus-related lymphoproliferation. *Lancet.* 1995; 345:9-13.
 83. Heslop HE, Slobod KS, Pule MA, et al. Long-term outcome of EBV-specific T-cell infusions to prevent or treat EBV-related lymphoproliferative disease in transplant recipients. *Blood.* 2010; 115:925-935.
 84. Comoli P, Basso S, Zecca M, et al. Preemptive therapy of EBV-related lymphoproliferative disease after pediatric haploidentical stem cell transplantation. *Am J Transplant.* 2007; 7:1648-1655.
 85. Doubrovina E, Oflaz-Sozmen B, Prockop SE, et al. Adoptive immunotherapy with unselected or EBV-specific T cells for biopsy-proven EBV+ lymphomas after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 2012; 119:2644-2656.
 86. Walter EA, Greenberg PD, Gilbert MJ, et al. Reconstitution of cellular immunity against cytomegalovirus in recipients of allogeneic bone marrow by transfer of T-cell clones from the donor. *New Eng J Med.* 1995; 333:1038-1044.
 87. Einsele H, Roosnek E, Rufier N, et al. Infusion of cytomegalovirus (CMV)-specific T cells for the treatment of CMV infection not responding to antiviral chemotherapy. *Blood.* 2002; 99:3916-3922.
 88. Peggs K, Verfuether S, Mackinnon S. Induction of cytomegalovirus (CMV)-specific T-cell responses using dendritic cells pulsed with CMV antigen: a novel culture system free of live CMV virions. *Blood.* 2001; 97:994-1000.
 89. Blyth E, Clancy L, Simms R, et al. Donor-derived CMV-specific T cells reduce the requirement for CMV-directed pharmacotherapy after allogeneic stem cell transplantation. *Blood.* 2013; 121:3745-3758.
 90. Leen AM, Myers GD, Sili U, et al. Monoculture-derived T lymphocytes specific for multiple viruses expand and produce clinically relevant effects in immunocompromised individuals. *Nat Med.* 2006; 12:1160-1166.
 91. Papadopoulou A, Gerdemann U, Katari UL, et al. Activity of broad-spectrum T cells as treatment for AdV, EBV, CMV, BKV, and HHV6 infections after HSCT. *Sci Transl Med.* 2014; 6:242ra83.
 92. Leen AM, Bollard CM, Mendizabal AM, et al. Multicenter study of banked third party virus-specific T-cells to treat severe viral infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2013; 121:5113-5123.
 93. Hanley PJ, Cruz CR, Savoldo B, et al. Functionally active virus-specific T cells that target CMV, adenovirus, and EBV can be expanded from naive T-cell populations in cord blood and will target a range of viral epitopes. *Blood.* 2009; 114:1958-1967.