

ПРОБЛЕМА ЭПШТЕЙНА–БАРР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Д.Н. Балашов^{1,2}, Л.Н. Шелихова^{1,2}, А.А. Демушкина², П.Е. Трахтман^{1,2}, Е.В. Скоробогатова^{1,2},
Д.В. Литвинов^{1,2}, Е.В. Райкина¹, А.А. Масчан¹

¹ФГУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии Минздрава России, Москва;

²Российская детская клиническая больница, Москва

Контакты: Дмитрий Николаевич Балашов bala8@yandex.ru

Эпштейна–Барр вирус (ЭБВ) является членом семейства герпес-вирусов. В настоящее время хорошо известно, что он может служить причиной широкого спектра лимфопролиферативных заболеваний. Данная проблема особенно серьезна в контексте пациентов после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Частота летальных исходов, связанных с этим осложнением, может достигать 50–90%. Факторами, компрометирующими развитие посттрансплантационных лимфопролиферативных синдромов (ПТЛС), являются: применение парциально совместимого трансплантата, Т-клеточная деплеция, наличие у пациента тяжелой острой реакции «трансплантат против хозяина», использование антилимфоцитарного глобулина и т. д. Тяжесть посттрансплантационных осложнений, ассоциированных с ЭБВ, а также ряд проблем, связанных с отсутствием четкого алгоритма проведения диагностики, профилактики и терапии ПТЛС – аргументы в пользу необходимости дальнейших исследований в данном направлении.

Ключевые слова: Эпштейна–Барр вирус, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, лимфопролиферативный синдром

EPSTEIN–BARR VIRUS INFECTION IN PATIENTS AFTER HEMATOPOIETIC STEM CELLS TRANSPLANTATION

D.N. Balashov^{1,2}, L.N. Shelikhova^{1,2}, A.A. Demushkina², P.E. Trakhtman^{1,2}, Ye.V. Skorobogatova^{1,2},
D.V. Litvinov^{1,2}, Ye.V. Raykina¹, A.A. Maschan¹

¹Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

²Russian Children Clinical Hospital, Moscow

Epstein–Barr virus (EBV) is a member of herpes-viruses family. Now it is well-known, that it can be a cause of wide spectrum lymphoproliferative disorders. The given problem is especially serious after hematopoietic stem cells transplantation (HSCT); frequency of death linked to this complication can achieve 50–90%. Risk factors for development of posttransplant lymphoproliferative syndromes (PTLS) are: using partially compatible graft, T-cell depletion, presence of severe acute graft-versus-host reaction (GVHD), using of antilymphocytic globulin, etc. Severity of associated with EBV posttransplant complications and problems relate to absence of clear diagnostic algorithm, PTLS prophylactic and therapy schedule are argument for necessity of the further studies.

Key words: Epstein–Barr virus, hematopoietic stem cell transplantation, lymphoproliferative syndroms

Введение

Эпштейна–Барр вирус (ЭБВ) является членом семейства герпес-вирусов. По аналогии с другими вирусами данной группы ЭБВ состоит из ДНК, которая окружена икосаэдрическим нуклеокапсидом и оболочкой вируса.

ЭБВ – первый вирус, отнесенный к группе онковирусов; в настоящее время известно, что он может стать причиной широкого спектра В-клеточных лимфопролиферативных заболеваний, таких как лимфома Беркитта, лимфома Ходжкина, ЭБВ-ассоциированные лимфомы у иммунокомпро-

мированных пациентов. В соответствии с существующей в настоящее время классификацией посттрансплантационные лимфопролиферативные синдромы (ПТЛС) делятся на ранние, представляющие собой ЭБВ-ассоциированные поликлональные пролиферации лимфоидной ткани, и истинные моноклональные заболевания, в том числе полиморфные и мономорфные ПТЛС, которые впоследствии могут дифференцироваться в лимфому Беркитта, Беркитт-подобную лимфому, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому и лимфому Ходжкина. В то время как ПТЛС, выявляемые на ран-

них этапах после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), как правило, ЭБВ-ассоциированы, поздние ПТЛС нередко не связаны с ЭБВ-инфекцией.

Основное этиологическое звено развития ПТЛС заключается в иммуносупрессивной терапии и снижении Т-клеточного ответа, что может приводить к неконтролируемой пролиферации В-клеток. Иначе говоря, риск реактивации ЭБВ значительно увеличивается при наличии у пациента достаточного количества В-клеток и снижении количества циркулирующих Т-лимфоцитов [1–3]. Существует также мнение, что для развития ЭБВ-ассоциированного ПТЛС (ЭБВ-ПТЛС) в лимфоblastных В-клетках должен произойти еще ряд событий, компрометирующих выживание клеток и развитие опухоли. В частности, ЭБВ-инфицированные В-клетки должны потерять способность выхода из клеточного цикла и перехода в состояние покоя. И, кроме того, пролиферирующие клетки могут в дальнейшем приобрести вторичные генетические изменения, предрасполагающие к развитию злокачественного клона [4].

В настоящее время количество летальных исходов, связанных с ПТЛС, составляет 50–90% [5, 6]. Несмотря на то что в общем частота развития ПТЛС невелика (1–3%) [7], такие факторы, как применение парциально совместимого трансплантата, Т-клеточная деплеция, наличие тяжелой острой реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ), использование анти timоцитарного глобулина (АТГ), могут увеличивать вероятность развития ПТЛС до 15–25% [8]. Наибольшее количество случаев ПТЛС приходится на первые 6 мес после ТГСК [9, 10].

Особенности проводимого режима кондиционирования перед трансплантацией по-разному влияют на вероятность развития ЭБВ-ассоциированного ПТЛС. К факторам, способствующим развитию ПТЛС после миелоаблативных режимов кондиционирования, относятся [11]: Т-клеточная деплеция, использование альтернативного донора (неродственного или парциально совместимого родственного), применение АТГ или анти-CD3 моноклональных антител для профилактики и лечения острой РТПХ. По данным Curtis и соавт. [11], при наличии 3 и более из вышеперечисленных факторов частота развития ЭБВ-ассоциированного ПТЛС достигает 22%. Van Esser и соавт. [12] продемонстрировали, что комбинация Т-клеточной деплеции и АТГ является наиболее значимым фактором риска развития ЭБВ-ПТЛС у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) (рис. 1).

Лишь небольшое количество публикаций посвящено развитию ЭБВ-ассоциированного ПТЛС после немиелоаблативных режимов кондиционирования. Наличие высокого уровня ДНК ЭБВ в крови, как правило, не считается предиктивным показателем для развития ПТЛС после ТГСК от HLA-идентичного

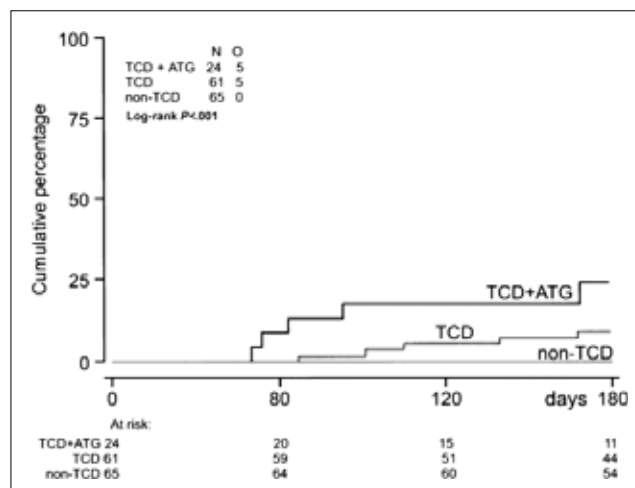


Рис. 1. Сравнение частоты развития ЭБВ-ПТЛС у пациентов после аллогенной ТГСК с использованием Т-клеточной деплеции в комбинации с АТГ во время кондиционирования, после Т-клеточной деплеции без АТГ, а также после ТГСК без Т-клеточной деплеции и АТГ [12]

сiblingа [13]. В ряде исследований была выявлена относительно высокая частота развития поздних ЭБВ-ассоциированных ПТЛС (1–3%) после немиелоаблативных режимов кондиционирования с применением алемтосузаба, что объяснялось медленной реконституцией ЭБВ-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов [14, 15]. В то же время J. Cohen и соавт. [16] продемонстрировали, что частота развития ЭБВ-ПТЛС при деплеции Т-клеток *in vivo* посредством применения АТГ может быть весьма высокой (15%) и даже превосходить вероятность развития ПТЛС, выявляемую при миелоаблативных режимах. Частота развития ЭБВ-вириемии была также значительно выше в группе пациентов, получавших АТГ (15 из 43 пациентов; 35%), по сравнению с группой, получавшей алемтосузаб (12 из 73; 16,4%; $p < 0,05$). По мнению E. Meijer и соавт. [17], меньшая частота развития ЭБВ-ПТЛС при миелоаблативных режимах (по сравнению с немиелоаблативными режимами) может объясняться химиоаблацией В-клеток у пациента.

Учитывая вышеизложенное, можно говорить о том, что частота развития ЭБВ-ПТЛС невысока, а применение АТГ и использование ГСК от альтернативного донора служат наиболее важными компрометирующими факторами развития ЭБВ-инфекции и ЭБВ-ПТЛС [17].

Мониторинг ЭБВ-ПТЛС

В 1994 г. появились первые публикации, посвященные анализу эффективности диагностики ЭБВ-инфекции посредством определения ДНК ЭБВ у пациента [18, 19].

В настоящее время с точки зрения интерпретации результатов наиболее точным и правильным является метод количественной ПЦР «в реальном времени» («*real time*» ПЦР). Wagner и соавт. [20] опу-

бликовали результаты исследования, посвященного оценке роли «real-time» ПЦР в периферической крови и плазме в контексте ЭБВ-инфекции. Это исследование было выполнено на пациентах после трансплантации почки и здоровых добровольцах. Чувствительность в обоих случаях составляла 100%, хотя специфичность определения ДНК ЭБВ в мононуклеарах составила 89%, а в плазме — 100%. В случае достижения ремиссии со стороны ЭБВ-ПТЛС плазма крови более эффективно санировалась от ЭБВ по сравнению с мононуклеарной фракцией крови, что дало возможность предположить, что измерение ДНК ЭБВ в плазме лучше отражает эффективность проводимой терапии. Van Esser и соавт. [12] опубликовали результаты проспективного исследования, посвященного анализу прогностической ценности тестирования ДНК ЭБВ посредством количественной «real-time» ПЦР. В исследование вошли 85 ЭБВ-серопозитивных реципиентов Т-деплементированных ГСК и 65 ЭБВ-серопозитивных реципиентов неманипулированных ГСК. Вероятность развития ЭБВ-виремии (более 50 копий/мл) была высокой как после неманипулированного, так и после Т-деплементированного трансплантата (31% и 65% соответственно), однако развитие ПТЛС определялось исключительно после проведения Т-клеточной деплеции. Вероятность развития ЭБВ-ПТЛС при различном уровне виремии после Т-деплементированной ТГСК была также проанализирована в данном исследовании. Прогностическая ценность выявления 1000 копий ДНК ЭБВ/мл составила 39%, а 10 000 копий ДНК ЭБВ/мл — 50% (табл. 1).

Таблица 1. Частота развития ЭБВ-ПТЛС после ТГСК с Т-деплецией в зависимости от вирусной нагрузки [12]

ЭБВ нагрузка (копий ДНК ЭБВ/мл)	Число больных со специфической реактивацией	Число больных с ЭБВ-ПТЛС	Прогностическая ценность, %	
			Позитивная	Негативная
100	41	10	24	100
1000	26	10	39	100
10 000	14	7	50	96
100 000	7	5	71	94
500 000	1	1	100	89

В настоящее время существует мнение о правильности интерпретации рисков развития ЭБВ-ПТЛС исходя не только из уровня ДНК ЭБВ в крови, но и из соотношения количества ДНК ЭБВ и количества нуклеарных клеток у пациента. В частности, по мнению ряда авторов, максимально допустимой вирусной нагрузкой является 1000 копий ДНК вируса в периферической крови на 10^5 нуклеарных клеток [4]. По данным A. Dominetto и соавт. [21], риск развития ПТЛС выше

у пациентов с виремией, превышающей 1000 копий ДНК ЭБВ/ 10^5 нуклеарных клеток (33%) по сравнению с пациентами, у которых количество ДНК ЭБВ было 1000 копий/ 10^5 клеток (2%).

Ранняя терапия ЭБВ-ПТЛС

Существуют, как минимум, 2 основных подхода к проведению ранней терапии. Одним из них является упреждающая терапия, которая основана на тщательном и регулярном мониторинге уровня ДНК ЭБВ и начале лечения до развития ПТЛС. Вторым подходом является так называемая безотлагательная терапия, которая проводится с учетом эскалации уровня ДНК ЭБВ, но только при наличии очевидных клинических признаков прогрессии ПТЛС.

Под упреждающей терапией подразумевают отмену или редукцию иммуносупрессивной терапии [22], использование ритуксимаба (анти-CD20) [23], а также инфузию ЭБВ-специфических цитотоксических лимфоцитов [24].

S. Cesaro и соавт. [25] исследовали эффективность редукции иммуносупрессивной терапии у 79 детей, получивших ТГСК (совместимый родственный донор, $n=22$; неродственный донор, $n=57$) после миелоаблативного кондиционирования. Мониторинг ДНК ЭБВ осуществлялся с помощью количественной ПЦР. У 28 из 79 пациентов после выявления не менее 300 копий ДНК ЭБВ/ 10^5 в периферической крови иммуносупрессивная терапия была либо редуцирована ($n=11$), либо отменена ($n=17$). В результате у всех больных произошла негативизация ДНК ЭБВ в крови. Таким образом, редукция иммуносупрессии является одним из возможных вариантов контроля ЭБВ-инфекции у пациентов после ТГСК. Естественно, что, принимая решение о таком подходе, необходимо оценить и другие возможные варианты развития событий, связанных с отменой иммуносупрессии (РТПХ, отторжение трансплантата и т. д.).

Одним из возможных вариантов упреждающей терапии служит также превентивное введение ритуксимаба. Van Essen и соавт. [23] провели проспективное исследование данного подхода у пациентов после ТГСК с Т-деплецией. Только у 1 больного из группы, получавшей ритуксимаб (при > 1000 копий ДНК ЭБВ/мл), в дальнейшем было диагностировано развитие ЭБВ-ПТЛС. В группе исторического контроля, не получавшей упреждающую терапию при > 1000 копий ДНК ЭБВ/мл, ЭБВ-ПТЛС было диагностировано у 10 из 26 пациентов (38,5%). Это исследование продемонстрировало важность мониторинга ЭБВ у пациентов высокого риска, а также возможность терапии ритуксимабом.

«Безотлагательная» терапия, предложенная и описанная Wagner и соавт. [26], также оказалась весьма эффективной. Она не является стандартным подходом, поэтому использовалась исключительно в качестве исследовательского протокола у пациентов

с высоким титром ДНК ЭБВ и клинической симптоматикой (лихорадка, лимфаденопатия, данные визуализирующих методов исследования, характерные для ЭБВ-ПТЛС). В исследование вошло 85 больных после ТГСК от неродственного/парциально совместимого донора с Т-деплецией трансплантата. Шестнадцать из них имели вирусную > 4000 копий ЭБВ-ДНК/мл, а 8 из этих 16 — клиническую симптоматику, характерную для ПТЛС. Ритуксимаб получили 5 пациентов, 2 — специфические цитотоксические Т-лимфоциты, а 1 — и то, и другое. Все больные продемонстрировали разрешение клинической симптоматики и нормализацию титра ДНК ЭБВ.

Таким образом, количественный мониторинг ДНК ЭБВ в крови пациентов высокого риска и ранние терапевтические меры служат достаточно эффективным методом, способствующим снижению заболеваемости и смертности пациентов от ЭБВ-ПТЛС. Естественно, что у каждой из методик (упреждающей и безотлагательной) есть свои положительные и отрицательные стороны. К сожалению, до настоящего момента не было проведено ни одного исследования, посвященного сравнительному анализу эффективности данных подходов. Недостаток упреждающей терапии — вероятность переоценки проблемы и, как следствие, проведение ненужной терапии. Однако в исследовании Van Essen и соавт. [12] было продемонстрировано, что однократное применение ритуксимаба не является причиной развития каких-либо побочных эффектов (в том числе причиной развития оппортунистических инфекций). С другой стороны, ЭБВ-ПТЛС может развиваться агрессивно и быстро, что может потребовать интенсивной терапии с несколькими применениями ритуксимаба, применением инфузии донорских лимфоцитов и т. д. Естественно, что идеальное решение вопроса о приоритетной терапии — проведение проспективного рандомизированного исследования. Однако, учитывая эффективность этих подходов, статистически значимые результаты могут быть получены только после исследования, включающего значительное число пациентов.

Тем не менее совокупность имеющихся данных склоняет большинство клиницистов в пользу проведения исключительно упреждающей терапии пациентов высокого риска после аллогенной ТГСК [17].

Лечение ЭБВ-ПТЛС после аллогенной ТГСК проводится, как правило, с помощью ритуксимаба и/или адоптивной Т-клеточной иммунотерапии. Необходимость проведения специфической противовирусной терапии до настоящего времени остается предметом дискуссии.

Противовирусная терапия

Ганцикловир и ацикловир (нуклеозидные аналоги) — наиболее часто используемые вирусостатические препараты для лечения ЭБВ. Посредством вирусных энзимов (тимидин киназа в случае ЭБВ-инфекции)

нуклеозиды конвертируются в монофосфаты. С помощью клеточных киназ происходит 2-е и 3-е фосфорилирование. Трифосфаты ганцикловира и ацикловира встраиваются в вирусную ДНК с помощью ДНК-полимеразы, что в конечном итоге приводит к нарушению репликации вирусной ДНК [27]. Однако объективных статистически значимых данных, свидетельствующих об эффективности использования этих препаратов в качестве одного из компонентов терапии ЭБВ-ПТЛС, до настоящего времени не получено, а эффективность таких препаратов, как сидововир и фоскарнет, в контексте ЭБВ-ПТЛС до настоящего времени вообще не исследовалась.

Анти-В-клеточная терапия

Применение ритуксимаба (анти-CD20 моноклональных антител) в качестве терапии ЭБВ-ПТЛС показало свою эффективность в ряде исследований. Ответ на терапию регистрировался в 66–100% случаев [28–30] (табл. 2). Ритуксимаб применялся от 1 до 9 раз в дозе 375 мг/м² с интервалом в 7 дней. Тяжелых побочных эффектов при проведении терапии не наблюдалось.

Первое проспективное исследование эффективности ритуксимаба было недавно проведено у пациентов после трансплантации солидных органов [31]. В исследование вошли 43 больных с ЭБВ-ПТЛС, не ответивших на редукцию или отмену иммуносупрессии. Все больные получили 4 введения препарата в дозе 375 мг/м² с интервалом в 7 дней. Через 360 дней после начала терапии частота ответа на ритуксимаб составила 68%.

Безусловно, эти результаты не могут быть напрямую экстраполированы на пациентов после ТГСК. Тем не менее они являются свидетельством эффективности терапии ритуксимабом при лечении ЭБВ-ПТЛС.

Адоптивная Т-клеточная иммунотерапия

Т-клеточная иммунотерапия — одна из эффективных опций для лечения ЭБВ-ПТЛС у пациентов после ТГСК. O'Reilly и соавт. [32] опубликовали результаты лечения 18 реципиентов ГСК с ЭБВ-ПТЛС, которым проводились трансфузии неселектированных донорских лимфоцитов. У 16 из 18 больных была достигнута полная ремиссия (ПР) ЭБВ-ПТЛС. В настоящее время живы и находятся в ПР по ПТЛС 10 из 18 больных. Трое пациентов умерли от РТПХ, 1 — от прогрессии ЭБВ-ПТЛС. Эти данные весьма обнадеживают по сравнению с исследованием Lucas и соавт. [33], где ПР достигли только 4 из 13 больных, а выжили 2 пациента (4 — погибли от тяжелой РТПХ).

Таким образом, для лечения ЭБВ-ПТЛС может быть использована анти-В-клеточная терапия (ритуксимаб), адоптивная Т-клеточная иммунотерапия, а также комплексное применение методов. Учитывая имеющиеся данные относительно эффективности и безопасности адоптивной Т-клеточной терапии, ритуксимаб на сегод-

Таблица 2. Эффективность терапии ритуксимабом у больных с ЭБВ-ПТЛС

Исследование	Число больных	Полная ремиссия, %	Общая выживаемость, %	Средний срок наблюдения, мес
Kuehnle и соавт. [28]	3	10	100	8 (7–9)
Milpied и соавт. [29]	6	83	66	8 (1–16)
Fayei соавт. [30]	12	66	83	24 (12–34)

нышний день является терапией 1-й линии при лечении ЭБВ-ПТЛС. В качестве дополнительной лечебной опции для пациентов, не ответивших на терапию ритуксимабом, необходимо принятие решения о проведении инфузии ЭБВ-специфических Т-клеток.

Клиническое наблюдение

В январе 2007 г. в отделении трансплантации костного мозга Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии на базе Российской детской клинической больницы г. Москвы была выполнена ТГСК от неродственного донора мальчику с диагнозом «острый нелимфобластный лейкоз (M7 по FAB классификации), первый ранний рецидив, рефрактерное течение». На момент проведения трансплантации возраст пациента составлял 2 года.

Учитывая сверхвысокий риск неудачного лечения, ребенку проведена инфузия препарата гемтузумаб в дозе 6 мг/м², затем кондиционирование по протоколу: треосульфат 42 г/м², флударабин 100 мг/м², тимоглобулин 10 мг/кг. Источником ГСК служил костный мозг. Количество нуклеарных клеток (NC) в трансплантате составило 9×10⁸/кг веса реципиента, CD34+ – 7×10⁶/кг веса реципиента.

Профилактика острой РТПХ проводилась посредством комбинированного использования препаратов такролимус (с -1 дня) и микофенолата мофетила (с +1 дня).

Приживление нейтрофилов констатировано на +30 день, тромбоцитов – на +25 день.

На +66 день у ребенка регистрировалась ЭБВ-виремия (до 100 тыс. копий ЭБВ ДНК/мл), сопровождающаяся увеличением парааортальных и мезентериальных лимфатических узлов, что было интерпретировано как течение ЭБВ-ПТЛС. Проводилась терапия ритуксимабом в стандартной дозе 375 мг/м² еженедельно. После 4 введений препарата достигнуты разрешение виремии и нормализация размеров пораженных лимфатических узлов.

На +100 день у ребенка появилась неврологическая симптоматика, фебрилитет. При вирусологическом исследовании ликвора обнаружен ЭБВ в количестве 32 400 копий/мл; уровень ЭБВ в крови составил 4200 копий/мл. При проведении компьютерной томографии и магнитно-резонансного исследования верифицированы множественные очаги в различных участках головного мозга: субкортикально в белом веществе мозга, в стволе, в ножках мозга, в области подкорко-

вых ядер слева (рис. 2). Учитывая имеющиеся данные, у мальчика было диагностировано ЭБВ-поражение головного мозга. Начата терапия ритуксимабом: 4 введения в дозе 375 мг/м² в/в и 3 интратекальных введения в дозе 15 мг с интервалом в 7 дней. На фоне проводимой терапии достигнуто снижение титра ЭБВ в ликворе до 1396 копий/мл. Несмотря на это, состояние ребенка ухудшалось, появились новые неврологические очаговые нарушения. Кроме того, был диагностирован костномозговой рецидив острого нелимфобластного лейкоза и смещение химеризма в пользу собственных клеток (79%). Начаты цитостатическая терапия и трансфузии донорских лимфоцитов с целью попытки достижения ремиссии.

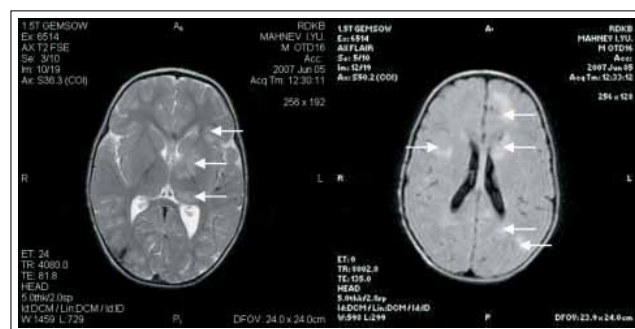


Рис. 2. Типичное для первичных лимфом ЦНС-перивентрикулярное поражение с вовлечением базальных ганглиев, таламуса и мозолистого тела. Больной М. (2 года). МРТ 1,5T System. Аксиальные срезы T2–И4 и FLAIR. Визуализируются множественные гиперинтенсивные зоны поражения с акцентом в подкорковых ядрах, мозолистом теле; с «размытыми» контурами и умеренно выраженным объемным воздействием на передний рог левого бокового желудочка

Несмотря на проводимую терапию, на +182 день ребенок умер от прогрессии полиорганной недостаточности на фоне рецидива основного заболевания и сохраняющихся неврологических нарушений.

Заключение

Проблема ЭБВ-инфекции, наряду с другими посттрансплантационными проблемами, является чрезвычайно актуальной. Ее недооценка может ключевым образом повлиять на результаты трансплантаций потенциально curaбельных пациентов. Тяжесть посттрансплантационных осложнений, ассоциированных с ЭБВ, а также ряд проблем, связанных с отсутствием четкого алгоритма проведения диагностики, профилактики и терапии ЭБВ, – весомые аргументы в пользу необходимости дальнейших исследований в данном направлении.

Л и т е р а т у р а

1. Babcock G.J., Decker L.L., Volk M., Thorley-Lawson D.A. EBV persistence in memory B cells in vivo. *Immunity* 1998;9:395–404.
2. Murray R.J., Kurilla M.G., Brooks J.M., Thomas W.A., Rowe M., Kieff E. et al. Identification of target antigens for the human cytotoxic T-cell response to Epstein–Barr virus (EBV): implications for the immune control of EBV-positive malignancies. *J Exp Med* 1992;176:157–68.
3. Khanna R., Burrows S.R. Role of cytotoxic T-lymphocytes in Epstein–Barr virus-associated diseases. *Annu Rev Microbiol* 2000;54:19–48.
4. Bacigalupo A. Antithymocyte globuline for prevention of graft-versus-host disease. *Curr Opin Hematol* 2005;12:457–62.
5. Markasz L., Stuber G., Flaberg E., Jernberg A.G., Eksborg S., Olah E. et al. Cytotoxic drug sensitivity of Epstein–Barr virus transformed lymphoblastoid B-cells. *BMC Cancer* 2006;6:265.
6. Bower M. The management of lymphoma in the immunosuppressed patient. *Best Pract Res Clin Haematol* 2002;15:517–32.
7. Meijer E. and Cornelissen J.J. Epstein–Barr virus-associated lymphoproliferative disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: molecular monitoring and early treatment of high-risk patients *Current Opinion in Hematology* 2008;15:576–85.
8. Juvonen E., Aalto S., Tarkkanen J. et al. Retrospective evaluation of serum Epstein–Barr virus DNA levels in 406 allogeneic stem cell transplant patients. *Haematologica* 2007;92:819–25.
9. Ocheni S., Kroeger N., Zabelina T. et al. EBV reactivation and post transplant lymphoproliferative disorders following allogeneic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2008;43:181–6.
10. Sundin M., Le Blanc K., Ringden O. et al. The role of HLA mismatch, splenectomy and recipient Epstein–Barr virus seronegativity as risk factors in posttransplant lymphoproliferative disorder following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2006;91:1059–67.
11. Curtis R.E., Travis L.B., Rowlings P.A. et al. Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multiinstitutional study. *Blood* 1999;94:2208–16.
12. Van Esser J.W., van der Holt B., Meijer E. et al. Epstein–Barr virus (EBV) reactivation is a frequent event after allogeneic stem cell transplantation (SCT) and quantitatively predicts EBV-lymphoproliferative disease following T-cell-depleted SCT. *Blood* 2001;98:972–8.
13. Meijer E., Dekker A.W., Lokhorst H.M. et al. Low incidence of infectious complications after nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Transpl Infect Dis* 2004;6:171–8.
14. Chakrabarti S., Milligan D.W., Pillay D. et al. Reconstitution of the Epstein–Barr virus-specific cytotoxic T-lymphocyte response following T-cell-depleted myeloablative and nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2003;102:839–42.
15. Snyder M.J., Stenzel T.T., Buckley P.J. et al. Posttransplant lymphoproliferative disorder following nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation. *Am J Surg Pathol* 2004;28:794–800.
16. Cohen J., Gandhi M., Naik P. et al. Increased incidence of EBV-related disease following paediatric stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning. *Br J Haematol* 2005;129:229–39.
17. Meijer E. and Cornelissen J.J. Epstein–Barr virus-associated lymphoproliferative disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: molecular monitoring and early treatment of high-risk patients. *Current Opinion in Hematology* 2008;15:576–85.
18. Meijer E., Dekker A.W., Weersink A.J. et al. Prevention and treatment of Epstein–Barr virus-associated lymphoproliferative disorders in recipients of bone marrow and solid organ transplants. *Br J Haematol* 2002;119:596–607.
19. Weinstock D.M., Ambrossi G.G., Brennan C. et al. Preemptive diagnosis and treatment of Epstein–Barr virus-associated post transplant lymphoproliferative disorder after hematopoietic stem cell transplant: an approach in development. *Bone Marrow Transplant* 2006;37:539–46.
20. Wagner H.J., Wessel M., Jabs W. et al. Patients at risk for development of posttransplant lymphoproliferative disorder: plasma versus peripheral blood mononuclear cells as material for quantification of Epstein–Barr viral load by using real-time quantitative polymerase chain reaction. *Transplantation* 2001;72:1012–9.
21. Dominetto A., Tedone E., Soracco M. et al. Epstein–Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplant based on molecular monitoring is predictive of lymphoproliferative disease. *Bone Marrow Transplantation*. 2004;33(Suppl 1):192.
22. Meerbach A., Wutzler P., Hafer R. et al. Monitoring of Epstein–Barr virus load after hematopoietic stem cell transplantation for early intervention in posttransplant lymphoproliferative disease. *J Med Virol* 2008;80:441–54.
23. Van Esser J.W., Niesters H.G., 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;99:4364–9.
24. Gustafsson A., Levitsky V., Zou J.Z. et al. Epstein–Barr virus (EBV) load in bone marrow transplant recipients at risk to develop posttransplant lymphoproliferative disease: prophylactic infusion of EBV-specific cytotoxic T-cells. *Blood* 2000;95:807–14.
25. Cesaro S., Murrone A., Mengoli C. et al. The real-time polymerase chain reaction-guided modulation of immunosuppression enables the preemptive management of Epstein–Barr virus reactivation after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 2005;128:224–33.
26. Wagner H.J., Cheng Y.C., Huls M.H. et al. Prompt versus preemptive intervention for EBV lymphoproliferative disease. *Blood* 2004;103:3979–81.
27. Ljungman P. Prophylaxis against herpesvirus infections in transplant recipients. *Drugs* 2001;61:187–96.
28. Kuehnle I., Huls M.H., Liu Z. et al. CD20 monoclonal antibody (rituximab) for therapy of Epstein–Barr virus lymphoma after hemopoietic stem-cell transplantation. *Blood* 2000;95:1502–5.
29. Milpied N., Vasseur B., Parquet N. et al. Humanized anti-CD20 monoclonal antibody (Rituximab) in post transplant B-lymphoproliferative disorder: a retrospective analysis on 32 patients. *Ann Oncol* 2000;11(Suppl 1):113–6.
30. Faye A., Quartier P., Reguerre Y. et al. Chimaeric anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) in posttransplant B-lymphoproliferative disorder following stem cell transplantation in children. *Br J Haematol* 2001;115:112–8.
31. Choquet S., Leblond V., Herbrecht R. et al. Efficacy and safety of rituximab in B-cell posttransplantation lymphoproliferative disorders: results of a prospective multicenter phase 2 study. *Blood* 2006;107:3053–7.
32. O'Reilly R.J., Small T.N., Papadopoulos E. et al. Biology and adoptive cell therapy of Epstein–Barr virus-associated lymphoproliferative disorders in recipients of marrow allografts. *Immunol Rev* 1997;157:195–216.
33. Lucas K.G., Burton R.L., Zimmerman S.E. et al. Semiquantitative Epstein–Barr virus (EBV) polymerase chain reaction for the determination of patients at risk for EBV-induced lymphoproliferative disease after stem cell transplantation. *Blood* 1998;91:3654–61.