

Aus der Klinik für Innere Medizin I
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
(Direktor: Prof. Dr. Dr. Philipp Staber)

ST2 als potentieller Biomarker für die Graft-versus-Host-Disease (GvHD)

**Zusammenhänge zwischen der Diversität des intestinalen Mikrobioms
und der Graft-versus-Host-Disease (GvHD)**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2025**

vorgelegt von: Katharina Maria Elisabeth Franke
geb. am: 06.06.1991 in München

Inhalt

1. Zusammenfassung	3
1.1. Zusammenfassung	3
1.2. Summary	4
2. Einleitung	6
2.1. Allogene Stammzelltransplantation.....	6
2.2. Mukositis	6
2.3. Graft-versus-Host-Disease (GvHD)	6
2.4. Mikrobiom.....	8
2.4.1. Mikrobiom und GvHD	8
2.5. Biomarker der GvHD	9
2.5.1. Zusammenhang zwischen ST2 und GvHD	10
2.6. Fragestellung	10
3. Material und Methodik.....	12
3.1. Patientenkollektiv	12
3.2. GvHD	13
3.3. Prophylaxe und Therapie bei Infektion	14
3.4. Mukositis	14
3.5. Mikrobiom.....	15
3.6. ST2	15
3.7. Statistische Datenanalyse	16
4. Ergebnisse	17
4.1. Quantitative Ergebnisse aus den Untersuchungen des Patientenkollektivs.....	17
4.1.1. Patienten-Charakteristika	17
4.1.2. Gesamtüberleben und Mortalität	17
4.1.3. Entwicklung einer GvHD	19
4.1.4. Therapie der GvHD	19
4.2. ST2 als möglicher Biomarker für GvHD	19
4.2.1. ST2 und Konditionierung	21
4.2.2. ST2 und schwere GvHD.....	22
4.2.3. ST2 und intestinale GvHD	24
4.2.4. ST2 und Ansprechen auf eine Steroidtherapie	25
4.2.5. ST2 und therapieassoziierte Mortalität (TRM)	27
4.3. Mikrobiom und GvHD	29

4.3.1.	Eukaryonten und allogene Stammzelltransplantation	29
4.3.2.	Prokaryonten und allogene Stammzelltransplantation	31
4.3.3.	Prokaryonten und Konditionierung	33
4.3.4.	Prokaryonten und Mukositis.....	36
4.3.5.	Prokaryonten und Engraftment.....	38
4.3.6.	Prokaryonten und schwere GvHD	40
4.3.7.	Prokaryonten und Mortalität.....	43
5.	Diskussion	46
5.3.	ST2 und GvHD.....	46
5.3.3.	Allgemeines zum ST2 Marker.....	47
5.3.4.	ST2 und Konditionierung	47
5.3.5.	ST2 und schwere GvHD.....	47
5.3.6.	ST2 und intestinale GvHD	48
5.3.7.	ST2 und Ansprechen auf eine Steroidtherapie	48
5.3.8.	ST2 und therapieassoziierte Mortalität (TRM)	49
5.3.9.	Zusammenfassung ST2 und GvHD.....	50
5.4.	Mikrobiom und GvHD	51
5.4.3.	Patientencharakteristika.....	51
5.4.4.	Eukaryonten und allogene Stammzelltransplantation	51
5.4.5.	Prokaryonten und allogene Stammzelltransplantation	51
5.4.6.	Prokaryonten und Konditionierung	52
5.4.7.	Prokaryonten und Mukositis.....	52
5.4.8.	Prokaryonten und Engraftment.....	53
5.4.9.	Prokaryonten und schwere GvHD	53
5.4.10.	Prokaryonten und Mortalität.....	54
6.	Verzeichnisse.....	55
6.1.	Abkürzungsverzeichnis	55
6.2.	Abbildungsverzeichnis	56
6.3.	Tabellenverzeichnis.....	57
6.4.	Literaturverzeichnis.....	59
7.	Publikation/ Dank.....	62
7.1.	Publikation.....	62
7.2.	Dank	62
8.	Lebenslauf	63

1. Zusammenfassung

1.1. Zusammenfassung

Die vorliegende Dissertation beschäftigt sich mit der Graft-versus-Host-Disease. Diese ist der relevante Faktor der therapieassoziierten Morbidität und Mortalität bei einer allogenen Stammzelltransplantation. Für die Studie wurden 50 adulte Probanden nach allogener Stammzelltransplantation eingeschlossen. Die klinischen und laborchemischen Daten wurden retrospektiv aus den klinischen Unterlagen gesammelt. Zusätzlich wurden zu festgelegten Zeitpunkten Stuhl- und Plasmaproben entnommen und zur Weiterverarbeitung aufbereitet. Die Weiterverarbeitung erfolgte durch Anne Kaysen (Luxembourg Centre for Systems Biomedicine, University of Luxembourg) und das Zentrallabor der Universitätsklinik des Saarlandes. Die statistische Analyse der Daten erfolgte mittels der Programme Excel und SPSS.

Untersucht wurde der lösliche ST2-Rezeptor („suppression of tumorigenicity-2“) als Biomarker für die Entwicklung einer schweren GvHD und für die therapieassoziierte Mortalität. Es konnte eine signifikante Korrelation des ST2-Wertes an Tag 28 nach Stammzelltransplantation mit einem steroidresistenten Verlauf der Graft-versus-Host-Disease festgestellt werden. Zudem zeigte sich ein Zusammenhang zwischen höheren ST2-Werten an Tag 14 und Tag 28 und der Entwicklung einer schweren Graft-versus-Host-Disease. Eine Korrelation des ST2-Wertes mit der therapieassoziierten Mortalität konnte nicht festgestellt werden, wir führen dies auf die geringe Fallzahl zurück. Bestätigt werden konnte hingegen der Einfluss des Konditionierungsregimes (regulär versus dosisreduziert) auf die ST2-Werte. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit der Entwicklung von angepassten Normwerten für ST2 an das jeweilige Konditionierungsregime.

Untersucht wurden zudem die Veränderungen der alpha-Diversität des intestinalen Mikrobioms unter der allogenen Stammzelltransplantation und in Hinblick auf die Entwicklung einer schweren Graft-versus-Host-Disease, einer schweren Mukositis und auf das Engraftment. In der eukaryonten Gemeinschaft ergaben sich während der allogenen Stammzelltransplantation keine relevanten Veränderungen. Die prokaryonte intestinale Gemeinschaft zeigte hingegen einen drastischen Einbruch der Diversität nach Stammzelltransplantation. Trotz einer gewissen Erholungstendenz blieb diese auch langfristig (Tag 100 bis 240) unter dem Diversitätsniveau vor Transplantation. Es ergab sich kein Zusammenhang mit dem Konditionierungsregime (regulär versus dosisreduziert). Auf der Ebene der Diversität zeigte sich kein Zusammenhang zwischen dem intestinalen Mikrobiom und der Entwicklung einer schweren Mukositis. Tendenziell zeigte sich, dass eine höhere Biodiversität der Prokaryonten in der ersten Woche nach Stammzelltransplantation mit einem schnelleren Engraftment zusammenhing. Aufgrund der zu geringen Datenlage konnte keine Aussage zum Zusammenhang zwischen der Biodiversität der Prokaryonten und der Entwicklung einer schweren Graft-versus-Host-Disease getroffen werden. Patienten mit einer niedrigeren Biodiversität zum Zeitpunkt des Engraftments zeigten tendenziell ein erhöhtes Mortalitätsrisiko.

Mit den Ergebnissen dieser Arbeit konnten die Stärken und Schwächen des löslichen ST2-Rezeptors als Marker der Graft-versus-Host-Disease in einer kleineren Kohorte getestet werden. Als alleiniger Marker scheint ST2 nicht auszureichen um Therapieentscheidungen zu beeinflussen.

Vielsprechender ist hier der durch das „Mount Sinai Acute GvHD International Consortium“ entwickelte Algorithmus aus ST2 und REG α (Regenerating islet-derived 3-alpha), welcher jedoch aus Kostengründen im klinischen Alltag noch wenig Anwendung findet. (Major-Monfried et al., 2018)

Die Ergebnisse dieser Arbeit bezüglich der Veränderungen des Mikrobioms können als Basis für weitere Forschung bezüglich der eng verknüpften Mikrobiom-Immunsystem- Beziehung dienen, die durch die allogene Stammzelltransplantation in ihren Grundfesten erschüttert wird. Es bleibt spannend, die komplexen immunologischen Zusammenhänge weiter zu erforschen. Das Ziel wäre hier die Risiken einer allogenen Stammzelltransplantation mittels eines gesunden Mikrobioms zu minimieren.

1.2. Summary

ST2 as a potential biomarker for GvHD

Links between the diversity of the intestinal microbiome and the Graft-versus-Host Disease (GvHD)

This dissertation is about the Graft-versus-Host Disease. The Graft-versus-Host Disease is the most important factor for therapy-associated morbidity and mortality of allogenic stem cell transplantation. 50 adult patients undergoing stem cell transplantation were included in this study. The clinical and biochemical data was extracted in retrospect from the medical files. Additionally, stool samples and plasma samples were taken at fixed time points and prepared for subsequent processing. The subsequent processing was carried out by Anne Kaysen (Luxembourg Centre for Systems Biomedicine, University of Luxembourg) and the central laboratory of the “Universitätsklinik des Saarlandes”. The data was statistically analyzed using the programs Excel and SPSS.

The soluble ST2 receptor (suppression of tumorigenivity-2) was analyzed as a biomarker for severe Graft-versus-Host Disease and therapy associated mortality. We found a significant correlation between the ST2 value on day 28 after stem cell transplantation and a steroid resistant development of the GvHD. We didn't find a correlation between ST2 and therapy associated mortality, most likely due to small case numbers. This study confirms the impact of the conditioning regime (regular versus reduced intensity) on ST2 values, proving it necessary to develop adapted standard values for different conditioning regimes.

Moreover we analyzed changes in the alpha diversity of the intestinal microbiome with regard to conditioning regime, severe mucositis, engraftment and severe Graft-versus-Host Disease. The eukaryotic community didn't present any relevant changes during the process of allogenic stem cell

transplantation. In contrast the diversity of the prokaryotic community dropped severely after stem cell transplantation. Even in the long term (day 100 – 240) diversity levels didn't reach pre-transplantation values, despite relevant recovery of the prokaryotic community. We didn't find correlations between the chosen conditioning regime (regular versus reduced intensity) and diversity levels of the microbiome. At the diversity level, no association was found between the state of health of the intestinal microbiome and the development of severe mucositis. There was a trend towards faster engraftment in patients with higher diversity levels in the first week after stem cell transplantation. Due to small case numbers we couldn't form a conclusion concerning the assumed connection between lower diversity levels and severe Graft-versus-host Disease. We observed a tendency for higher mortality risk in patients with lower biodiversity at engraftment.

In this study we tested the strengths and weaknesses of the soluble ST2-receptor as biomarker for the Graft-versus-host Disease in a smaller cohort. ST2 doesn't seem to be sufficient as a sole marker to influence treatment decisions. The algorithm of ST2 and REG α (Regenerating islet-derived 3-alpha) developed by the Mount Sinai Acute GvHD International Consortium is more promising. Due to cost-efficiency reasons this algorithm is still rarely used in the everyday clinical practice. (Major-Monfried et al., 2018)

The results of this study regarding changes in the intestinal microbiome can serve as a basis for further research into the closely linked microbiome immune system relations, which are fundamentally disrupted by the allogenic stem cell transplantation. It remains fascinating to further explore these complex immunological relations. The goal is to reduce the risks of allogenic stem cell transplantation by means of a healthy microbiome.

2. Einleitung

2.1. Allogene Stammzelltransplantation

Die allogene Stammzelltransplantation ist die Therapie für anderweitig nicht heilbare hämatologische Neoplasien. Bei der Auswahl des Spenders spielen neben den HLA-Loci noch weitere Faktoren wie das Geschlecht, die Blutgruppe und der CMV-Status eine wichtige Rolle. (Copelan, 2006)

Der allogenen Stammzelltransplantation voran geht die Konditionierung des Transplantatempfängers durch eine intensive Chemo-/Strahlentherapie. Ziel ist eine weitgehende Eliminierung der malignen Erkrankung, der Empfänger-Hämatopoese (Myeloablation) und des Empfängerimmunsystems (Immunablation). Erst durch diese Maßnahme wird das Anwachsen des Transplantats (Engraftment) ermöglicht. Zudem wird durch die Immunablation das Risiko einer Transplantatabstoßung vermindert. Die Zusammensetzung der Chemotherapie unterscheidet sich individuell, dabei werden die Grunderkrankung, das Alter und der Gesundheitszustand des Patienten berücksichtigt. Die Konditionierung kann jedoch grundsätzlich in ein reguläres und in ein intensitätsreduziertes Regime eingeteilt werden. (Gyurkocza & Sandmaier, 2014)

Nach Abschluss der Konditionierungsphase erfolgt die Transfusion der Spenderstammzellen. Diese siedeln sich im Knochenmark an und fangen innerhalb von ein bis drei Wochen an, erneut Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten zu produzieren (Engraftment).

Insgesamt ist die allogene Stammzelltransplantation aufgrund der Toxizität der Konditionierung, die unter anderem zu Müdigkeit, Haarausfall und Mukositis führt, eine sehr belastende Therapie. Hinzu kommt eine starke Infektanfälligkeit der Patienten aufgrund des wochenlang nicht vollständig funktionierenden Immunsystems, und der wegen der Mukositis gestörten Schleimhautbarriere. (Krüger et al., 1999)

2.2. Mukositis

Bei der Entwicklung einer Mukositis spielen, neben dem direkten toxischen Effekt der Konditionierung auf die Mukosazellen, die Immunantwort des Empfängers und der Gesundheitszustand des Mikrobioms eine wichtige Rolle. (Sonis, 2007)

Im Rahmen der allogenen Stammzelltransplantation kommt es in bis zu 80 % der Fälle zur schweren Mukositis mit schmerzhaften Ulzerationen. Oft ist eine parenterale Ernährung notwendig. Zudem werden Infektionen von gramnegativen Erregern durch die geschädigte Schleimhautbarriere begünstigt. Sie wird nach dem Common-Toxicity-Criteria (CTC) in fünf Grade eingeteilt. Siehe Tabelle 3 (Lalla et al., 2014)

2.3. Graft-versus-Host-Disease (GvHD)

Nach der erfolgreichen Rekonstitution des Immunsystems ist die GvHD der wesentliche Faktor der therapieassoziierten Morbidität und Mortalität. Die im Transplantat enthaltenen immunkompetenten

Zellen lösen eine allogene Immunreaktion gegen das Empfängerewebe aus. Dies führt zu einer systemischen entzündlichen Erkrankung, die sich insbesondere an Haut, Darm und Leber manifestiert. (Einsele, Kanz, 1999)

Es wird zwischen einer akuten Form, die in der Regel innerhalb der ersten 100 Tage nach Transplantation auftritt, und einer chronischen Form, die später auftritt, unterschieden. Das Grading der akuten GvHD erfolgt organspezifisch nach Glucksberg, mit Modifikationen nach Martin. Siehe Tabelle 1 und Tabelle 2. (Przepiorka et al., 1995)

Es gibt viele Faktoren die das Auftreten und den Schweregrad einer GvHD beeinflussen. Der stärkste Trigger ist ein Mismatch zwischen Empfänger und Spender bezüglich der HLAs. Hier besteht ein direkter Zusammenhang zwischen dem Ausmaß des Mismatches und dem Schweregrad der GvHD. Mit 30 bis 40% ist das GvHD-Risiko bei Transplantation von HLA-identischen Geschwistern am geringsten. (Petersdorf, 2013)

Bei HLA-identischer Transplantation spielen Minor-Histokompatibilitätsantigene (mHag) eine wichtige Rolle bei der Entstehung der GvHD. Die mHags sind Peptidstücke von intrazellulären Proteinen, die über MHC-1-Moleküle an Spender-T-Zellen präsentiert werden. Diese immunogenen Peptide entstehen aufgrund von vererbten nonsynonymen Einzelnukleotid-Polymorphismen in den kodierenden Regionen des Genoms, welche einen Aminosäureaustausch zur Folge haben, der die Funktion des Proteins nicht beeinflusst. (Warren et al., 2012) (Hudecek, Bartsch, Tschiedel, Niederwieser, 2008)

Zusätzlich zu den genetischen Auslösern der GvHD, müssen auch die Umstände beachtet werden, in denen sich die alloantigene Immunreaktion entwickelt.

Die Konditionierung greift das Epithel des Gastrointestinaltraktes an, hierdurch kommt es zum "leaky bowel syndrome". Durch die geschädigte Mukosa gelangen "pathogen-associated molecular patterns" (PAMPs) in den Körper, zudem senden geschädigte körpereigene Zellen „danger-associated molecular patterns“ (DAMPs) aus. Dies führt über die Toll-like-Rezeptoren (TLR) zu einer Aktivierung des angeborenen Immunsystems und zur Aufrechterhaltung des inflammatorischen Zustandes. (Zeiser, Penack, Holler, Idzko, 2011)

Über migrierende antigenpräsentierende Zellen werden Spender-T-Zellen aktiviert und für Allodiskrepanzen sensibilisiert. Die erworbene Immunreaktion wird normalerweise durch „CD4+CD25+“-regulatorische T-Zellen kontrolliert und reguliert. Bei GvHD können aktivierte Toll-like-Rezeptoren regulatorische T-Zellen blockieren und es kommt zu einer überschießenden Immunreaktion. Die Effektorphase der GvHD beginnt wenn zirkulierende T-Killer-Zellen, NK-Zellen, neutrophile Granulozyten und Makrophagen beginnen, Endorganschäden zu verursachen. Am meisten betroffen sind hiervon Gewebe, die viele APC-Zellen enthalten, wie die Haut, die Epithelien des

Gastrointestinaltraktes und die Gallengänge der Leber. (Copelan, 2006) (Holtan, Pasquini, Weisdorf, 2014)

2.4. Mikrobiom

Unter dem Begriff „humanes Mikrobiom“ werden die symbiotischen Organismen unseres Körpers zusammengefasst, dazu gehören Pilze, Viren und Bakterien. Insgesamt ist unser Körper von mehr als 10^{14} Mikroorganismen besiedelt. (Paul et al., 2015)

Die symbiotischen Bakterien können phylogenetisch anhand nuklearer Sequenzen der 16s-RNA klassifiziert werden. Zwei Hauptstämme dominieren das intestinale Mikrobiom: Firmicutes und Bacteroides. Daneben machen Proteobacteria, Verucomicrobia, Actinobacteria, Fusobacteria und Cyanobacteria nur kleinere Anteile aus. Interindividuell unterscheidet sich unser Mikrobiom auf Stammesebene meistens nur quantitativ. Betrachtet man jedoch die Spezies innerhalb dieser Stämme, so unterscheiden diese sich zwischen verschiedenen Personen deutlich. Interindividuelle Unterschiede gibt es auch bezüglich der Diversität, Anzahl und Verteilung der Bakterien. Für diese Unterschiede wird hauptsächlich die Ernährung verantwortlich gemacht. Es zeichnet sich jedoch ab, dass viele weitere Faktoren, wie etwa die Genetik, der BMI, das Alter und weitere Lebensumstände eine wesentliche Rolle bei der Zusammensetzung unseres Mikrobioms spielen. (Sekiroy, Russell, Antunes & Finlay, 2010)

Um den Zustand des Mikrobioms zu beschreiben wird häufig die alpha-Diversität verwendet, gemessen wird sie anhand des Simpsons, Inverse-Simpsons oder des Shannon-Indexes. Die alpha-Diversität bewertet den Zustand des Mikrobioms anhand der Anzahl der einzelnen Arten und der gleichmäßigen Verteilung ihrer Häufigkeiten. Nicht berücksichtigt wird hierbei, welche Arten diese Zusammensetzung ausmachen. (Peled et al., 2020)

2.4.1. Mikrobiom und GvHD

Zwischen dem Mikrobiom und der Darmmukosa besteht ein sensibles Gleichgewicht. Das mukosale Immunsystem toleriert symbiotische Bakterien, kontrolliert aber zeitgleich auch die intestinale Bakterienflora, um ein übermäßiges Wachstum zu verhindern. Im Gegenzug prägt das Mikrobiom die Entwicklung des Immunsystems, schützt vor pathogenen Keimen und macht dem Menschen unverdauliche Nahrungsmittel zugänglich. (Sekiroy et al., 2010)

Im Zuge der allogenen Stammzelltransplantation kommt es zu Veränderungen der Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms. Die Ursachen sind multifaktoriell. Durch den häufigen Gebrauch von Antibiotika im Laufe der Behandlung kommt es zur Selektion bestimmter Bakterienstämme. So entsteht eine Häufigkeit von Enterokokken, Streptokokken und verschiedenen Enterobacterales. Auch eine veränderte Diät und eine evtl. notwendige parenterale Ernährung wirken sich auf das Mikrobiom aus. Tritt eine Mukositis auf, führt dies zu einer Beeinträchtigung der Epithelbarriere und der Funktionsfähigkeit des intestinalen Immunsystems. Die Folge kann eine Überwucherung des

Gastrointestinaltraktes mit pathogenen Keimen und die Translokation der Pathogene in den Blutkreislauf sein (Staffas, Burgos da Silva, R.M. van den Brink, 2017). Das Einschwemmen bakterieller Toxine ins Blut kann durch die Induktion einer massiven Zytokinausschüttung das Risiko einer schweren GvHD erhöhen. (Hill , Ferrara, 2000)

Taur et al. und Peled et al. zeigten, dass der Verlust der Diversität des intestinalen Mikrobioms zum Zeitpunkt des Engraftments mit einer schlechteren Prognose hinsichtlich der Mortalität zusammenhängt. (Taur et al., 2014) (Peled et al., 2020)

Weitere Studien zeigen, dass das Auftreten und der Verlauf einer GvHD mit dem Gesundheitszustand des Mikrobioms verknüpft sind. So wird zum Beispiel beim Auftreten von GvHD häufig ein mikrobieller Shift von Clostridiales zu Lactobacilles oder Enterobacteriales beobachtet. Clostridiales fermentieren im gesunden Gastrointestinaltrakt unverdauliche Kohlenhydrate und regulieren regulatorische T-Zellen hoch, wodurch einer Inflammation entgegen gewirkt wird. Fehlen diese Einflüsse, trägt das zu dem entzündlichen Prozess der Darm-GvHD bei. (Taur et al., 2014) (Shono, Docampo, Peled, Perobelli, Jenq, 2015)

Darüber hinaus kann die Verarmung des intestinalen Mikrobioms auch Jahre nach der SZT bestehen bleiben. Neben den beschriebenen akuten Einflüssen auf die mikrobielle Gemeinschaft sind weitere tiefgreifende Zusammenhänge zwischen dem Mikrobiom und dem Immunsystem ursächlich für den langfristigen Diversitätsverlust. Das individuelle Mikrobiom wird durch das Zusammenspiel des sich entwickelnden Immunsystems und der Mikroben, denen wir im Laufe unseres Lebens begegnen, geformt. Nach allogener Stammzelltransplantation wird ein Pfeiler dieses sich seit Geburt entwickelnden Systems ausgetauscht. Die Wiederherstellung des neuen adaptiven Immunsystems dauert Monate bis Jahre, und kann die wechselseitige Interaktion und somit auch die Erholung des Mikrobioms erheblich beeinträchtigen. (Hino et al., 2023)

2.5. Biomarker der GvHD

Die „Chronic Graft-Versus-Host consensus Biomarker Working group“ des NIH (National Institutes of Health) definierte 2014 verschiedene Typen von Biomarkern (Ponce et al., 2015) :

1. **Diagnostische Biomarker** (Abgrenzen des Vorliegens der Krankheit von ähnlichen Symptomen)
2. **Prognostische Biomarker** (Wahrscheinlichkeit eines klinischen Ereignisses, Fortschreitens oder Rezidives der Krankheit)
3. **Prädiktive Biomarker** (Wahrscheinlichkeit einer positiven/ungünstigen Wirkung durch eine medizinische Therapie)
4. **„Response to treatment“-Biomarker** (Anzeigen einer Reaktion des Patienten auf eine medizinische Therapie)

Der meist untersuchte Plasmabiomarker ist „suppression of tumorigenivty-2“ (ST2). ST2 gehört zur Interleukin-1-Rezeptorfamilie und kommt in membrangebundener und in löslicher Form vor. Die lösliche Form korreliert mit therapieresistenter GvHD und der nicht-rezidiv-assoziierten Mortalität nach allogener Stammzelltransplantation. (Vander Lugt et al., 2013).

Weitere Biomarker sind in den letzten Jahren auf ihre klinische Relevanz untersucht worden. Zu den vielversprechendsten Kandidaten zählen „Regenerating islet-derived 3-alpha“ (REG3 α) und „T-cell immunoglobulin mucin-3“ (TIM3) als prognostische Biomarker einer höhergradigen intestinalen GvHD. (McDonald et al., 2015).

Das „Mount Sinai Acute GvHD International Consortium“ (MAGIC), bestehend aus 17 verschiedenen Zentren für allogene Stammzelltransplantation, stellte einen Algorithmus aus ST2 und REG3 α vor. Dieser stratifizierte Patienten mit steroidrefraktärem Verlauf einer GvHD, nach einer Woche systemischer Therapie, zuverlässig in zwei Gruppen mit deutlich unterschiedlichem Risiko für „non-relapse mortality“ (NRM) und Gesamtüberleben. (Major-Monfried et al., 2018)

2.5.1. Zusammenhang zwischen ST2 und GvHD

Im Rahmen der GvHD kommt es vor allem zu Schäden der Darmmukosa, des Hautepithels und des Lebergewebes. In den genannten Geweben kommt IL-33 vor, das bei nekrotischem Zelltod freigesetzt wird. IL-33 gehört zur Familie der Interleukin-1-Rezeptoren. Die Signalübertragung erfolgt über den spezifisch bindenden ST2-Rezeptor, der zur selben Interleukin-Rezeptor-Familie gehört. Der ST2-Rezeptor kommt in drei verschiedenen Isoformen vor: membrangebunden, löslich und in einer varianten Form. Die membrangebundene Form wird von verschiedenen Zellen des angeborenen und des erworbenen Immunsystems exprimiert. Über dieses Isotop wird eine Typ-2-Immunantwort ausgelöst und somit eine Gewebereparatur gefördert. Der lösliche ST2-Rezeptor (sST2) hat die gegenteilige Wirkung und fungiert als „decoy receptor“, wodurch er die Typ-2-Immunantwort abschwächt. (Garlanda, Dinarello, Mantovani, 2013)

Durch den Gewebeschaden im Rahmen der akuten GvHD kommt es zur Aktivierung der proinflammatorischen IL-33-Achse. Aufgrund der Beobachtung, dass ein höherer Schweregrad der GvHD mit einer Erhöhung des löslichen ST2-Rezeptors im Plasma einhergeht, postulieren Reichenbach et al., dass die erhöht gemessenen sST2-Level Ausdruck einer Gegenregulation des Immunsystems sind. (Reichenbach et al., 2015)

2.6. Fragestellung

Einen zuverlässigen Marker für den Verlauf der GvHD zu finden, ist ein zentraler Punkt der aktuellen Forschung. Mithilfe eines Markers, der frühzeitig das Risikoprofil des einzelnen Patienten anzeigt, könnte die Therapieplanung und somit die Patientenversorgung entscheidend verbessert werden. Ziel dieser Arbeit ist es, ST2 als Kandidat für einen solchen GvHD-Marker weiter zu untersuchen. Außerdem soll die Reproduzierbarkeit des Zusammenhangs zwischen erhöhten ST2-Werten und dem

Auftreten einer steroidrefraktären GvHD und der Nicht-Rezidiv-Mortalität geprüft werden.

Die Zusammensetzung des Mikrobioms scheint nicht nur den Schweregrad der GvHD widerzuspiegeln, sondern auch eine wichtige Rolle in der komplexen Pathophysiologie der akuten Graft-versus-Host-Disease zu spielen. Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit wird der Zusammenhang zwischen der alpha-Diversität des Mikrobioms und der GvHD weiter untersucht.

3. Material und Methodik

Die vorliegende Studie wurde von der Ethikkommission der Universität des Saarlandes (Referenznummer: 37/17 Amendment 1 und 2) und vom „Ethics Review Panel of the University of Luxembourg“ (Referenznummer: ERP-15-029) genehmigt. Kein kommerzieller Sponsor war involviert. Vor Einschluss in die Studie wurde von allen beteiligten Patienten eine schriftliche Einwilligungserklärung eingeholt.

3.1. Patientenkollektiv

In die vorliegende Studie wurden insgesamt 50 adulte Patienten eingeschlossen, die sich von März 2014 bis September 2015 im Universitätsklinikum des Saarlandes einer allogenen Stammzelltransplantation unterzogen.

Nach Einschluss in die Studie wurden folgende Daten der Patienten erhoben:

- Stammdaten (Geschlecht, Alter)
- Grunderkrankung
- Art der Konditionierung
- Datum der allogenen Stammzelltransplantation
- Spendertypus(Fremd-/Familienspender)
- HLA-Status Spender/Empfänger
- GvHD-Prophylaxe
- GvHD (Gradeinteilung)
- Ggf. notwendige Steroidtherapie mit Datum, Dosis und Ansprechen
- Rezidiv
- Transplantationsassoziierte Mortalität
- Überlebenszeit
- Mukositis (Gradeinteilung)

Zudem wurden laborchemische Parameter, die routinemäßig während des klinischen Aufenthaltes und der Nachsorgeuntersuchungen bestimmt wurden, retrospektiv gesammelt. Für die Studie berücksichtigt wurden Werte im Zeitraum von sieben Tagen vor der Stammzelltransplantation und 100 Tagen nach der Transplantation.

Allgemeine laborchemische Parameter:

- C-reaktives Protein
- Leukozytenzahl
- Thrombozytenzahl
- Kreatinin
- GPT (Glutamat-Pyruvat-Transaminase)
- LDH (Lactatdehydrogenase)

- Bilirubin
- BK-Virusanzahl im Urin (Humanes Polyomavirus 1)

Immunstatus:

- B-Lymphozyten
- CD4+ T-Zellen
- CD8+ T-Zellen
- NK-Zellen (natürliche Killerzellen)

Zudem wurden die während des stationären Aufenthaltes verabreichten Antibiotika erfasst.

Diese Daten wurden für die einzelnen Patienten in einem standardisierten Verfahren in einer Excel-Tabelle zusammengefasst.

3.2. GvHD

Die Gradeinteilung der GvHD erfolgte anhand der modifizierten Glucksberg-Kriterien. (Przepiorka et al., 1995)

Stadium	Haut	Leber	Gastrointestinal
0	Kein Exanthem	Bilirubin < 2mg/dl	< 500ml Diarrhoe/Tag
1	Makulopapulöses Exanthem < 25% der KÖF	Bilirubin 2-3mg/dl	500 - 999ml Diarrhoe/Tag oder Persistierende Übelkeit und Erbrechen oder Anorexie mit einer positiven Biopsie des oberen GI-Trakts
2	Exanthem 25-50% der KÖF	Bilirubin 3,1- 6mg/dl	1000 – 1500ml Diarrhoe/Tag
3	Generalisierte Erythrodermie >50% der KÖF	Bilirubin 6,1-15mg/dl	> 1500ml Diarrhoe/Tag
4	Generalisierte Erythrodermie mit Blasenbildung und Desquamation	Bilirubin > 15mg/dl	Schwerste abdominelle Schmerzen (mit oder ohne Ileussympomatik) oder signifikanter perianaler Blutabgang

Tabelle 1 Organspezifische Gradeinteilung der GvHD

Gesamtstadium der GvHD	
0	Stadium 0 aller Organe
1	Stadium 1 oder 2 der Haut, Leber und Gastrointestinaltrakt nicht beteiligt
2	Stadium 3 der Haut oder Stadium 1 der Leber oder Stadium 1 des Gastrointestinaltraktes
3	Hautstadium 0-3 mit Stadium 2-3 der Leber oder Hautstadium 0-3 mit Stadium 2-3 des Darms
4	Stadium 4 von Haut, Leber oder Gastrointestinaltrakt

Tabelle 2 Gesamtstadium der GvHD

Das Auftreten einer GvHD, sowie die Gradeinteilung wurden retrospektiv aus den Verlaufsbögen der Patienten entnommen und in einem standardisierten Verfahren in einer Excel-Tabelle zusammengefasst.

Die GvHD-Prophylaxe besteht aus der T-Zelldepletion und der T-Zellsuppression. Hierdurch wird eine weitestgehende Eliminierung von Spender- und Empfänger-T-Zellen sowie eine Hemmung alloreaktiver Spenderzellen erreicht. Die T-Zelldepletion erfolgte im Rahmen der Konditionierung mittels Antithymozytenglobulin (ATG). In den ersten 28 Tagen erhielten Patienten ohne HLA-Mismatch eine doppelte Immunsuppression aus Mycophenolat-Mofetil und einem Calcineurininhibitor (Cyclosporin oder Tacrolimus). Lag ein Mismatch vor, kam Maraviroc hinzu. Maraviroc ist ein CCR5-Inhibitor und verhindert vor allem die intestinale GvHD. Bis Tag 100 erfolgte dann die weitere immunsuppressive Therapie mit Cyclosporin oder Tacrolimus. (Ferrara, Levine, Reddy, Holler, 2009)

Erstlinientherapie der GvHD sind Steroide. Bei der Haut-GvHD wurde, neben pflegender und lokaler Therapie mit topischen Steroiden, ab Grad 2 eine systemische Therapie mit Prednisolon 2mg/kg Körpergewicht eingeleitet. Bei gastrointestinaler oder Leber-GvHD erfolgte die systemische Therapie ebenfalls ab Stadium 2 oder bei raschem Fortschreiten bereits ab Stadium 1 mittels Budesonid. (Zeiser et al., 2017)

Bei steroidrefraktärem Verlauf stehen verschiedene Therapieansätze zur Verfügung. Aufgrund der schlechten Studienlage gibt es keine eindeutige Therapieempfehlung. In unserem Zentrum besteht die Zweitlinienbehandlung aus einer extrakorporalen Photopherese mit Methoxysporalen und/oder aus der erneuten Gabe von ATG. Bei weiterhin refraktärem Verlauf kamen das weitere Alemtuzumab, Infliximab oder Ruxolitinib zum Einsatz.

Retrospektiv wurde aus den Verlaufsbögen der Patienten ermittelt ob eine GvHD-Therapie mittels systemischer Steroidtherapie erforderlich war, welche Steroiddosis verabreicht wurde und wie die Patienten auf die Therapie ansprachen. Diese Daten wurden für die einzelnen Patienten in einem standardisierten Verfahren in einer Excel-Tabelle zusammengefasst.

3.3. Prophylaxe und Therapie bei Infektion

Als prophylaktische Maßnahme erhielten die Patienten Fluorquinolone während der Phase der Leukopenie. Bei Auftreten von Infektionszeichen wurden die Patienten mit Piperacillin-Tazobactam behandelt, bei fehlendem Ansprechen wurde auf Meropenem und zusätzlich auf Vancomycin umgestellt. Alle Patienten erhielten Fluconazol als Candida-Prophylaxe. Bei Verdacht auf eine vorliegende Aspergillus-Infektion wurde mit liposomalem Amphotericin B, Voriconazol oder Caspofungin behandelt.

3.4. Mukositis

Der Grad der Mukositis wurde anhand der WHO-Kriterien bestimmt (World Health Organization, 1979). Die Kriterien berücksichtigen das subjektive Schmerzempfinden des Patienten, das objektive

Erscheinungsbild der Mukosa und die Funktionalität, d.h. inwiefern eine Nahrungsaufnahme möglich ist. Tabellarisch festgehalten wurde jeweils der höchste Grad, der im Verlauf der Krankheit auftrat.

Grad 0	Keine
Grad 1	Geringes wund sein, Erytheme oder schmerzlose Erosionen, feste Nahrung möglich
Grad 2	Mäßig schmerzhafte Erytheme, Ödeme oder Erosionen, feste Nahrung möglich
Grad 3	Stark schmerzhafte Erytheme, Ödeme oder Ulzera, flüssige Nahrung nötig
Grad 4	Enterale oder parenterale Ernährung nötig

Tabelle 3 Gradeinteilung der Mukositis nach WHO-Skala

3.5. Mikrobiom

Zur Beurteilung der Diversität des Mikrobioms wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten Stuhlproben sowie Vollblut- und Plasmaproben gesammelt.

Die Blutproben wurden in Sammelröhrchen mit EDTA-Zusatz entnommen (BD Vacutainer, 4ml, Ref. 368861). Für die Vollblutproben wurden dann 2ml Blut in Sarstedt Monovetten pipettiert und bei minus 80°C bis zum Transport gelagert.

Für die Plasmaproben wurden die entnommenen Blutproben direkt auf Eis gelagert. In einem ersten Schritt wurden die Proben mit 2.000g, für 10min bei 4°C/ brake 5 zentrifugiert. Im zweiten Schritt wurde mit 2000g, für 10min bei 4°C/ brake 9 zentrifugiert. Danach wurde das Plasma in 1ml Aliquots pipettiert. In einem dritten Schritt wurde mit 13.000rpm für 10min bei 4°C zentrifugiert. Lagerung und Transport erfolgten bei minus 80°C.

Die Stuhlproben wurden in Sarstedt 25ml Stuhl Röhrchen entnommen und in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Lagerung und Transport erfolgten bei minus 80 °C.

Die weitere Verarbeitung der Proben erfolgte durch Anne Kaysen, Luxembourg Centre for Systems Biomedicine, University of Luxembourg. (Kaysen et al., 2017a)

3.6. ST2

Die Proben für die ST2-Studie wurden am Tag der Transplantation (im Weiteren als Tag null definiert), an Tag 14 und an Tag 28 gesammelt. Die weitere Verarbeitung erfolgte durch das Zentrallabor der Universitätsklinik des Saarlandes mit dem „Human IL-1R4/ST2 Elisa Kit“ von der Firma Sigma-Aldrich (Produktnummer RAB0281).

Alle Reagenzien und Proben wurden zuerst auf Raumtemperatur gebracht. Je 100µl jedes Standards und 100µl der Plasmaproben wurden in die entsprechenden Vertiefungen pipettiert und für 2,5 Stunden bei Raumtemperatur unter sanftem Schütteln inkubiert. Dann wurde die Lösung verworfen und es folgte ein viermaliger Waschvorgang, bei dem jeweils 300µl des Waschpuffers auf jede

Vertiefung pipettiert und mittels einer Mehrkanalpipette wieder entfernt wurden. Im nächsten Schritt wurden 100µl des biotinylierten Detektions-Antikörpers in jede Vertiefung des Kits aufgebracht und bei Raumtemperatur und leichtem Schütteln für eine weitere Stunde inkubiert. Die Lösung wurde verworfen und es folgte ein erneuter, wie oben beschriebener Waschvorgang. Als nächstes wurden 100µl der HRP-Streptavidinlösung in jede Vertiefung aufgebracht und für 45min bei Raumtemperatur und leichtem Schütteln inkubiert. Nach einem erneuten Waschvorgang wie oben beschrieben, wurden 100µl der „ELISA Colorimetric TMB“-Reagenz in jede Vertiefung des Kits pipettiert und für 30min bei Raumtemperatur, leichtem Schütteln und in Dunkelheit inkubiert. Die Reaktion wurde durch das Aufbringen von je 50µl der Stopplösung beendet. Die Ergebnisse wurden mithilfe eines Mikrotiterplattenphotometers bei 450nm abgelesen.

3.7. Statistische Datenanalyse

Alle erhobenen Daten wurden in einer Datenbank zusammengefasst und unter Verwendung der SPSS Software (SPSS 29.0, IBM SPSS Statistics, Armonk, New York, USA) und der Microsoft Excel Software (Microsoft Office Excel 2007, Microsoft Corporation, Redmond, USA) computergestützt ausgewertet.

Die auszuwertenden Daten wurden zunächst mittels des Shapiro-Wilk-Testes auf Normalverteilung getestet. Bei $p > 0,05$ wurde von einer Normalverteilung der Daten ausgegangen.

4. Ergebnisse

4.1. Quantitative Ergebnisse aus den Untersuchungen des Patientenkollektivs

4.1.1. Patienten-Charakteristika

Alter (Jahren)		
Min. - Max.	22 – 72	
arithmetischer Mittelwert	52	
Geschlecht	Anzahl	Prozent
männlich	28	56
weiblich	22	44
Spender	Anzahl	Prozent
Fremd	36	72
Familie	14	28
HLA-Typus	Anzahl	Prozent
ident	39	78
different	11	22
Grunderkrankung	Anzahl	Prozent
Akute myeloische Leukämie (AML)	24	48
Lymphom	14	28
Myelodysplastisches Syndrom (MDS)	3	6
Chronische myeloische Leukämie (CML)	2	4
Akute lymphatische Leukämie (ALL)	2	4
Chronische lymphatische Leukämie (CLL)	1	2
Kutane AML	1	2
Multiples Myelom	1	2
Myeloproliferatives Syndrom a.e. PV	1	2
Post-Polycythaemia-vera-Myelofibrose	1	2
Konditionierung	Anzahl	Prozent
Hochdosischemotherapie	36	72
reduziertes Therapieschema	14	28
GvHD	Anzahl	Prozent
keine GvHD	20	40
GvHD Grad 1	14	28
GvHD Grad 2	5	10
GvHD Grad 3	9	18
GvHD Grad 4	2	4

Tabelle 4 Patienten-Charakteristika

4.1.2. Gesamtüberleben und Mortalität

Das letzte Follow-Up bezüglich des Überlebens erfolgte am 12.12.2017. Am Ende des Nachbeobachtungszeitraumes lebten 29 Patienten (58%). Der Nachbeobachtungszeitraum war im Mittel 23,5 Monate (Minimum null Monate (bzw. vier Tage), Maximum 45 Monate (bzw. 1.377 Tage)).

Vom Gesamtkollektiv verstarben im Nachbeobachtungszeitraum 21 Patienten (42%). Von den 21 verstorbenen Patienten erlagen sieben (14%) einem Rezidiv ihrer Erkrankung, 14 (28%) verstarben therapieassoziiert, da neun Patienten (18%) an einer Infektion und fünf (10%) an GvHD verstarben.

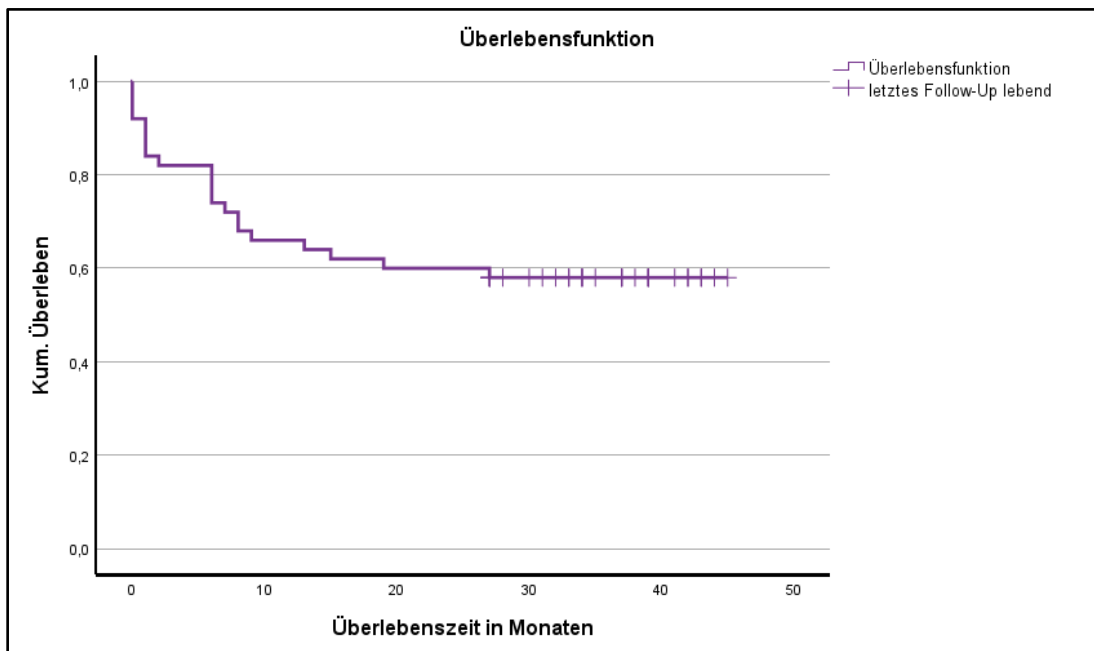


Abbildung 1 Gesamtüberleben nach Kaplan-Meier

Von den 50 eingeschlossenen Patienten verstarben 17 (34%) innerhalb der ersten 12 Monate nach Transplantation. Von diesen Patienten verstarben sieben (14%) an einer Infektion; fünf (10%) an einer therapieresistenten GvHD und fünf (10%) an einem Rezidiv.

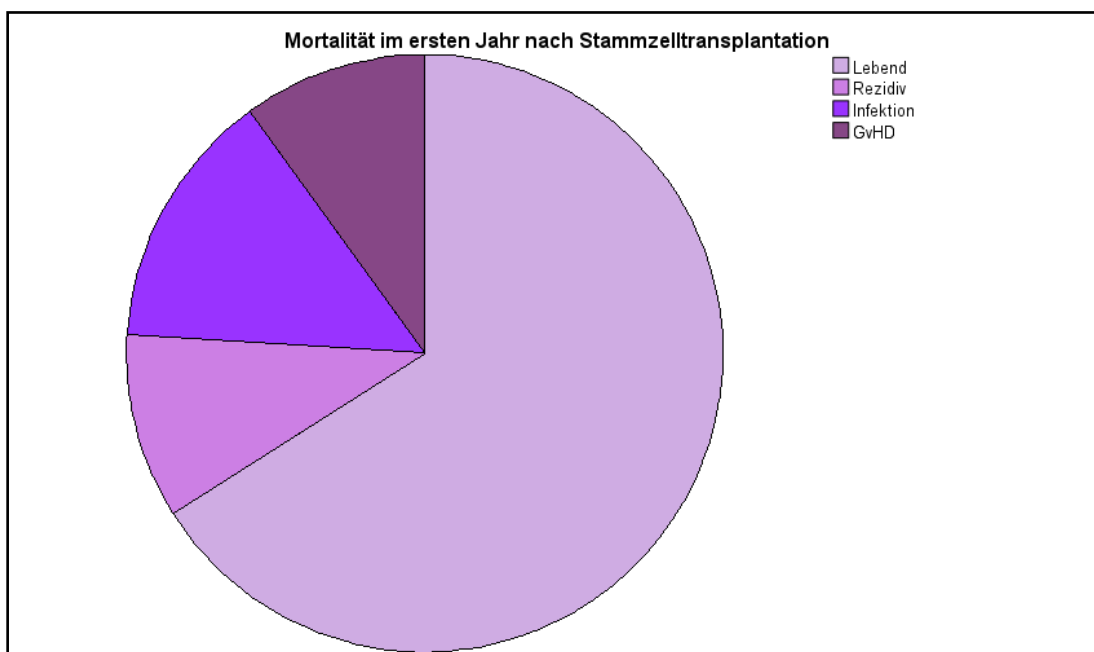


Abbildung 2 Kreisdiagramm zu den Ursachen der Mortalität in den ersten 12 Monaten nach Stammzelltransplantation

4.1.3. Entwicklung einer GvHD

Von den 50 eingeschlossenen Patienten entwickelten 30 (60%) im Beobachtungszeitraum eine GvHD. Es wurden 14 (28%) als Grad 1, fünf (10%) als Grad 2, neun (18%) als Grad 3 und zwei (4%) als Grad 4 eingestuft. Zudem wurde die GvHD nach Organsystemen aufgeschlüsselt. Die Einzelheiten hierzu entnehmen Sie bitte Tabelle 5.

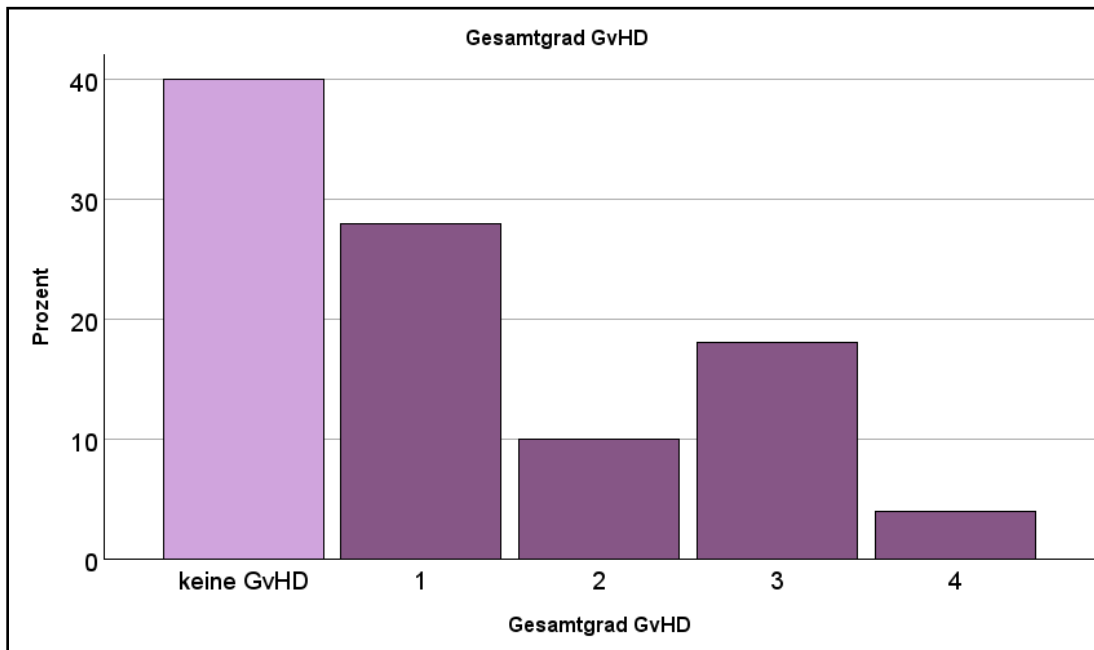


Abbildung 3 Gesamtgrad der GvHD

	kutane GvHD	intestinale GvHD	hepatische GvHD	pulmonale GvHD
Grad 1	9 (30%)	1 (3%)	0	0
Grad 2	14 (47%)	4 (13%)	1 (3%)	1(3%)
Grad 3	6 (20%)	5 (17%)	2 (7%)	0
Grad 4	1 (3%)	1 (3%)	0	0
Gesamt	30 (100%)	11 (37%)	3 (10%)	1 (3%)

Tabelle 5 Häufigkeiten der GvHD nach Organsystemen (Prozente bezogen auf alle Patienten mit GvHD)

4.1.4. Therapie der GvHD

Bei 83%, der von GvHD Betroffenen wurde eine systemische Therapie mit Steroiden durchgeführt. 48% der Patienten sprachen auf die Therapie an und die Symptome der GvHD bildeten sich zurück. In 32% der Fälle war die GvHD rückläufig, die Patienten wurden aber nicht komplett symptomfrei. Bei 20% verlief die GvHD refraktär.

4.2. ST2 als möglicher Biomarker für GvHD

Eingeschlossen wurden 46 der oben beschriebenen 50 Patienten, Einschlusskriterium war eine Messung des ST2-Wertes an Tag null (Tag der Stammzelltransplantation) und/oder Tag 14 und/oder Tag 28.

Insgesamt lagen 42 Proben von Tag null, 45 Proben von Tag 14 und 29 Proben von Tag 28 vor. Zudem wurden 21 Proben zu späteren Zeitpunkten abgenommen. Zu allen Zeitpunkten lag, gemäß Shapiro-Wilk, keine Normalverteilung der ST2-Werte vor (p zu jedem Zeitpunkt $< 0,001$).

Im ersten Schritt wurden die ST2-Werte der verschiedenen Zeitpunkte miteinander verglichen. Es fiel auf, dass die ST2-Werte an Tag null deutlich höher lagen als an den anderen Tagen.

	Tag 0	Tag 14	Tag 28
ST2-Wert [pg/ml]	N = 42 Median: 1.466,050 Minimum: 162,4 Maximum: 6581,0	N = 45 Median: 211,7 Minimum: 13,0 Maximum: 1.667,1	N = 29 Median: 303,8 Minimum: 1,7 Maximum: 6.000,0

Tabelle 6 Deskriptive Statistik der ST2-Werte zu Tag null, 14 und 28

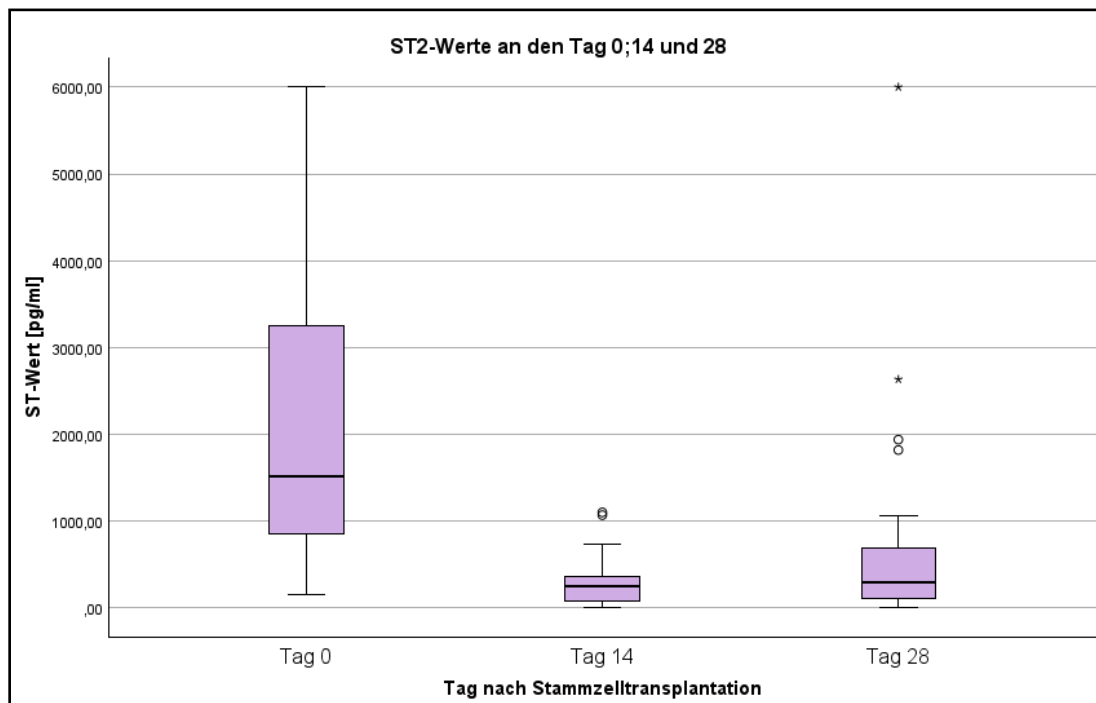


Abbildung 4 Boxplot der ST2-Werte [pg/ml] an den Tagen null, 14 und 28.

Dies wurde, aufgrund der nicht normal verteilten Daten, mittels der zweifaktoriellen Varianzanalyse nach Friedman bei verbundenen Stichproben untersucht. Hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit einem p -Wert von $< 0,001$ (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$). Im paarweisen Vergleich zeigte sich, dass die ST2-Werte an Tag null signifikant höher lagen als an Tag 14 und Tag 28.

	Tag 0 zu Tag 14	Tag 0 zu Tag 28	Tag 14 zu Tag 28
p-Werte	$p = < 0,001$	$p = < 0,001$	$p = 0,470$

Tabelle 7 p-Werte des paarweisen Vergleichs durch die zweifaktorielle Varianzanalyse nach Friedman bei verbundenen Stichproben der ST2-Werte (Signifikanz –Niveau $\alpha = 0,05$)

Wir führen die deutlich höheren ST2-Werte an Tag null auf die Antikörper vermittelte Immunaktivierung durch ATG zurück (GvHD-Prophylaxe). Aufgrund dessen wurden die ST2-Werte an Tag null in den nachfolgenden statistischen Berechnungen nicht berücksichtigt.

4.2.1. ST2 und Konditionierung

Im Folgenden wurde der Einfluss der Konditionierung auf den ST2-Wert untersucht. Aufgrund der nicht normalverteilten Daten wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. An Tag 14 wurden 45 Probanden eingeschlossen und an Tag 28 insgesamt 29 Probanden. Verglichen wurde die Gruppe „reguläre Konditionierung“ mit der Gruppe „dosisreduzierte Konditionierung“.

An Tag 14 zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. An Tag 28 zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

	Tag 14	Tag 28
p-Werte	p = 0,014	p = 0,279

Tabelle 8 p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests der ST2-Werte an Tag 14 und 28 bezogen auf das Konditionierungsregime; Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$.

	Gesamt	reguläre Konditionierung	Konditionierung mit reduzierter Intensität
Tag 14	N = 45 Median: 211,7 Minimum: 13,0 Maximum: 1.667,1	N = 32 Median: 200,1 Minimum: 49,3 Maximum: 1.667,1	N = 13 Median: 102,60 Minimum: 13,0 Maximum: 1.102,8
Tag 28	N = 29 Median: 303,8 Minimum: 1,7 Maximum: 6.000,0	N = 21 Median: 303,8 Minimum: 65,8 Maximum: 6.000,0	N = 8 Median: 220,8 Minimum: 1,7 Maximum: 1.820,5

Tabelle 9 Deskriptive Statistik (Häufigkeiten): ST2-Werte [pg/ml] von Tag 14 und 28 bezogen auf das Konditionierungsregime

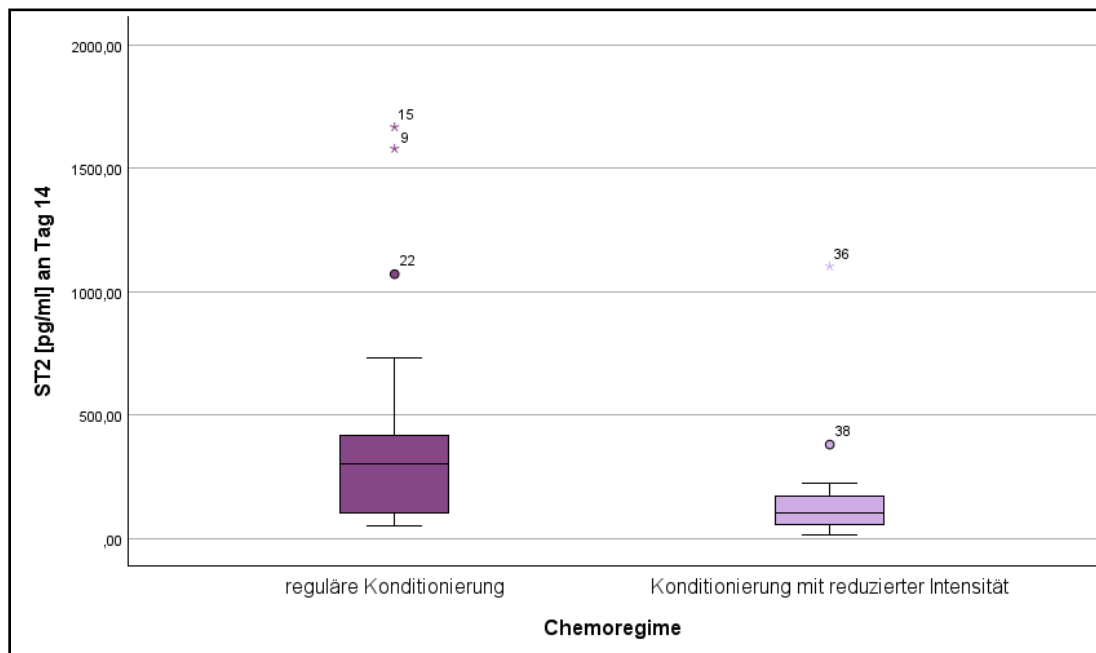


Abbildung 5 Boxplot der ST2-Werte [pg/ml] an Tag 14 bezogen auf das Konditionierungsregime

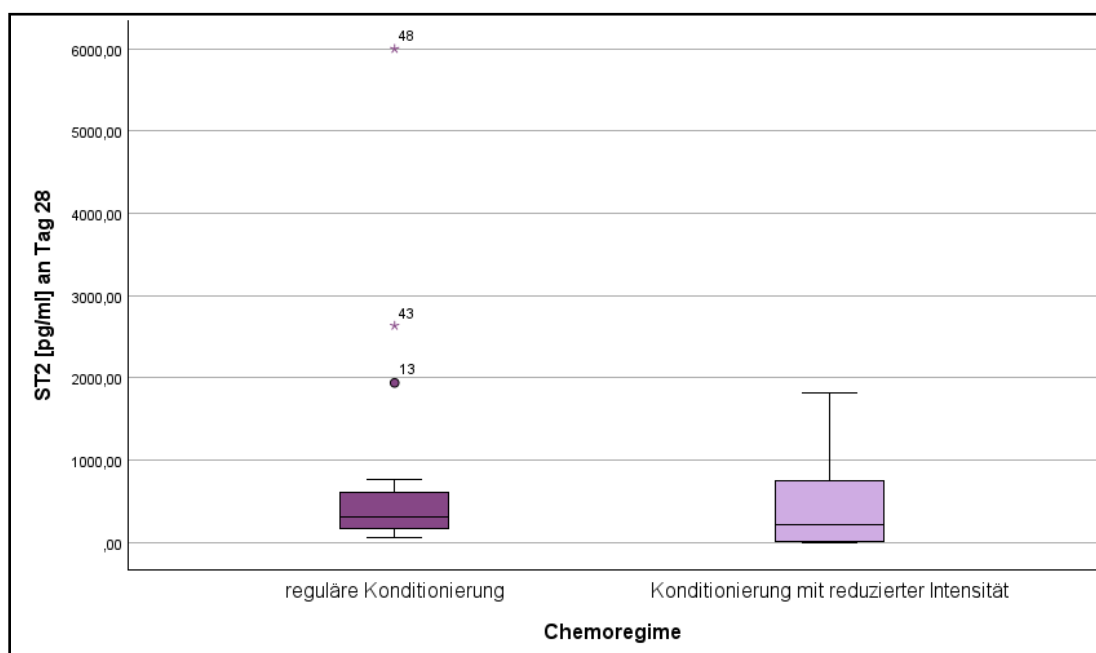


Abbildung 6 Boxplot der ST2-Werte an Tag 28 [pg/ml] bezogen auf das Konditionierungsregime

4.2.2. ST2 und schwere GvHD

Anschließend wurden die Patienten mit schwerer GvHD (d.h. Grad 3 oder 4) mit den Patienten ohne oder mit leichter GvHD (d.h. Grad 1 oder 2) verglichen. Aufgrund der nicht normalverteilten ST2-Werte wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Statistisch ergab sich hier zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied.

	Gesamt	keine/ leichte GvHD (Grad 0, 1 oder 2)	schwere GvHD (Grad 3 oder 4)
Tag 14	N = 45 Median: 211,7 Minimum: 13,0 Maximum: 1.667,1	N = 37 Median: 198,2 Minimum: 13,0 Maximum: 1.667,0	N = 8 Median: 275,6 Minimum: 59,9 Maximum: 733,5
Tag 28	N = 29 Median: 303,8 Minimum: 1,7 Maximum: 6.000,0	N = 21 Median: 253,8 Minimum: 1,7 Maximum: 1.940,1	N = 8 Median: 423,1 Minimum: 65,8 Maximum: 6000,0

Tabelle 10 Deskriptive Statistik (Häufigkeiten): ST2-Werte [pg/ml] von Tag 14 und 28 bezogen auf das Auftreten einer schweren GvHD

	Tag 14	Tag 28
p-Werte	p= 0,570	p = 0,301

Tabelle 11 p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests der ST2-Werte an Tag 14 und 28 bezogen auf die Entwicklung einer schweren GvHD (Signifikanz –Niveau $\alpha = 0,05$)

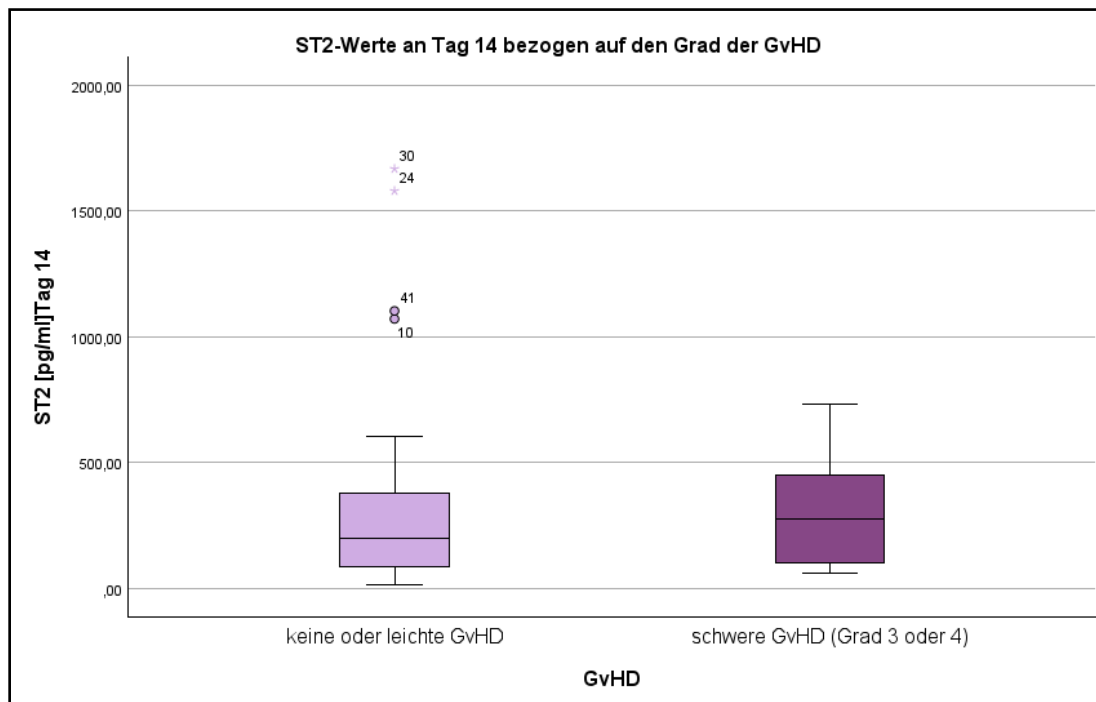


Abbildung 7 Boxplot der ST2-Werte an Tag 14 bezogen auf den Grad der GvHD

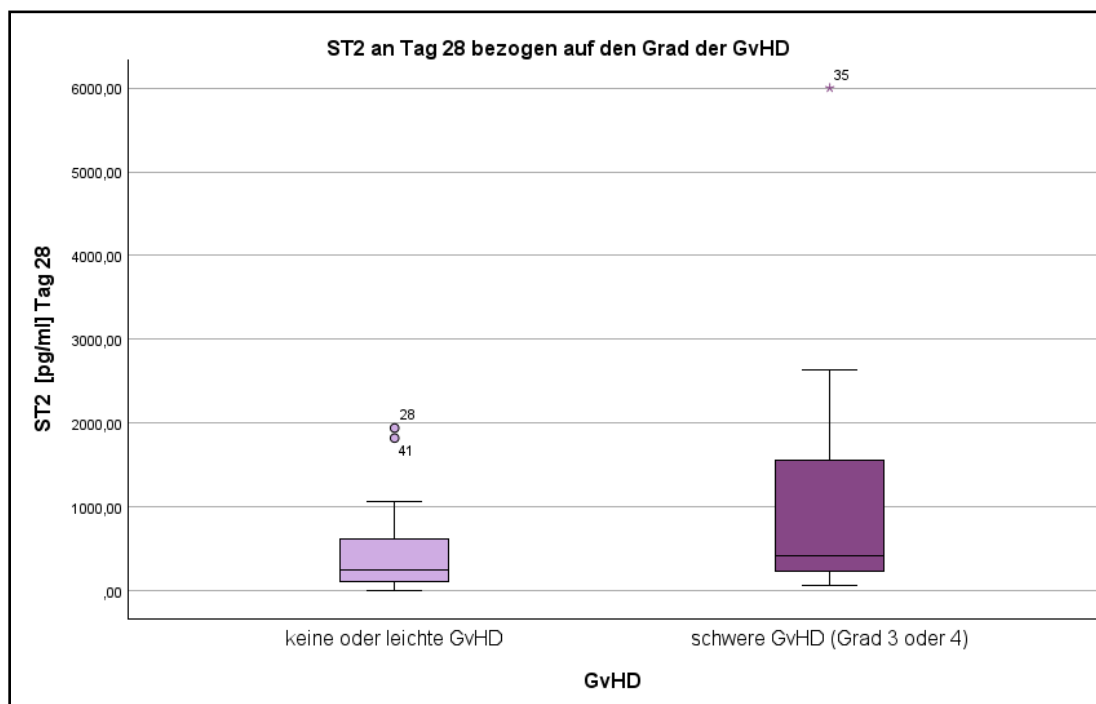


Abbildung 8 Boxplot der ST2-Werte an Tag 28 bezogen auf den Grad der GvHD

4.2.3. ST2 und intestinale GvHD

Um den Einfluss der intestinalen GvHD auf die ST2-Werte zu untersuchen, wurden die Patienten mit GvHD in zwei Gruppen eingeteilt: eine Gruppe ohne intestinale Beteiligung und eine Gruppe mit intestinaler Beteiligung. Bei fenicht normalverteilten Daten wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet.

	Gesamt	GvHD ohne intestinale Beteiligung	GvHD mit intestinaler Beteiligung
Tag 14	N = 45 Median: 211,7 Minimum: 13,0 Maximum: 1.667,1	N = 19 Median: 286,7 Minimum: 13,0 Maximum: 1.102,8	N = 8 Median: 275,6 Minimum: 59,9 Maximum: 733,5
Tag 28	N = 29 Median: 303,8 Minimum: 1,7 Maximum: 6.000,0	N = 15 Median: 253,8 Minimum: 1,7 Maximum: 1.820,5	N = 7 Median: 420,2 Minimum: 65,8 Maximum: 6.000,0

Tabelle 12 Deskriptive Statistik (Häufigkeiten): ST2-Werte [pg/ml] von Tag 14 und 28 bei intestinaler Beteiligung der GvHD

	Tag 14	Tag 28
p-Werte	p = 0,735	p = 0,332

Tabelle 13 p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests der ST2-Werte an Tag 14 und 28 bei intestinaler Beteiligung der GvHD ($\alpha = 0,05$)

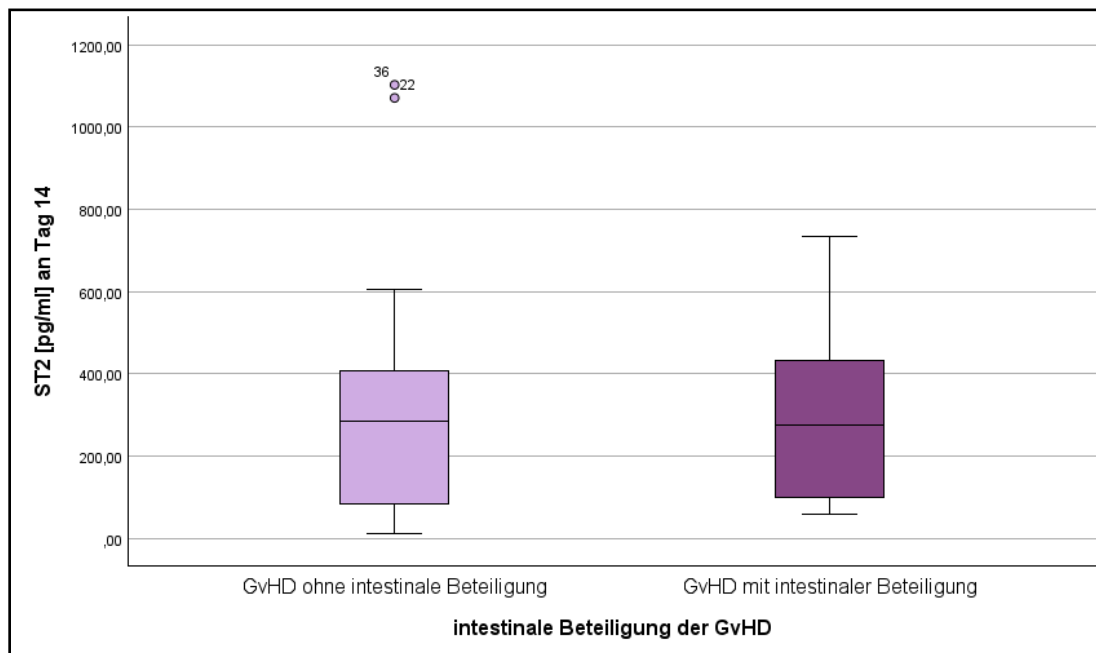


Abbildung 9 Boxplot der ST2-Werte an Tag 14 bei intestinaler Beteiligung der GvHD

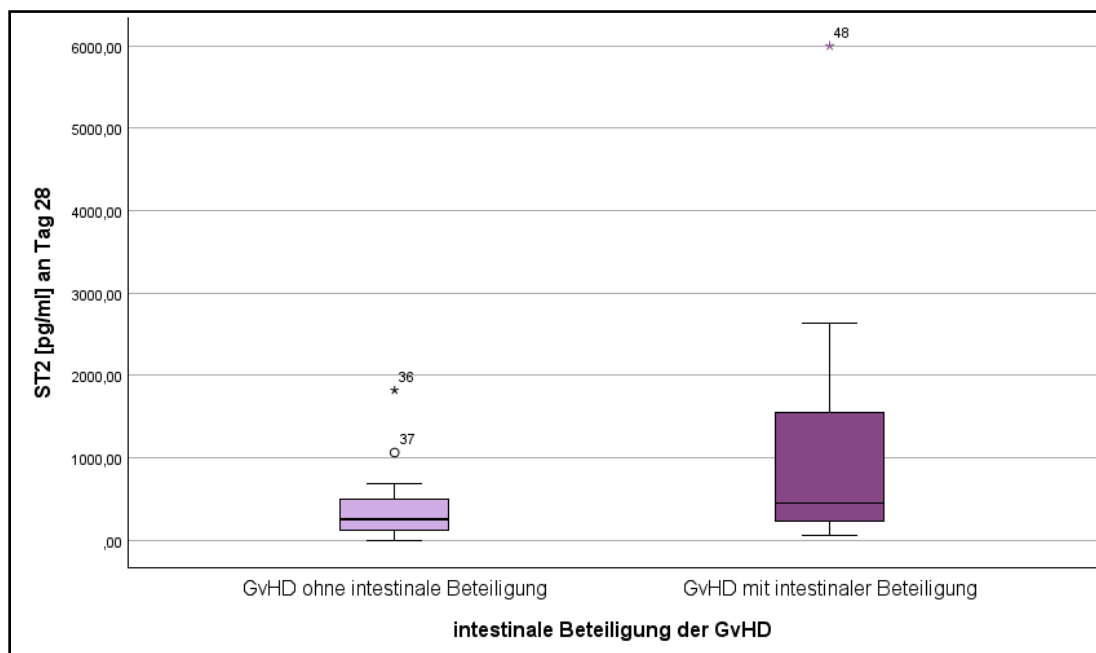


Abbildung 10 Boxplot der ST2-Werte an Tag 28 bei intestinaler Beteiligung der GvHD

4.2.4. ST2 und Ansprechen auf eine Steroidtherapie

Im nächsten Schritt wurde das Ansprechen auf eine durchgeführte Steroidtherapie im Zusammenhang mit den erhobenen ST2-Werten untersucht. Hierbei wurden 22 Patienten eingeschlossen.

Einschlusskriterium war, neben einem vorliegenden ST2-Wert, das vollständige Vorliegen der Daten der erfolgten Steroidtherapie (Datum des Therapiebeginns, verabreichte Dosis und Ansprechen auf die Therapie).

Das Ansprechen auf die Steroidtherapie wurde anhand des klinischen Ansprechens beurteilt. 11 (50%) Patienten reagierten sensibel und die Symptome der GvHD bildeten sich zurück. Sieben (32%) Patienten reagierten bedingt sensibel, d.h. es kam zu einem deutlichen Rückgang der Symptome, eine vollständige Symptombefreiheit konnte jedoch nicht erlangt werden. Bei vier (18%) Patienten kam es zu einem refraktären Verlauf.

Erneut wurden zwei Gruppen gebildet: Gruppe 1, in der sich alle Patienten befanden, die entweder sensibel oder bedingt sensibel auf die Steroidtherapie reagierten und Gruppe 2, in der sich die Patienten befanden, die einen refraktären Verlauf zeigten.

	Gesamt	sensibel/ bedingt sensibel	refraktär
Tag 14	N = 22 Median: 323,5 Minimum: 51,2 Maximum: 1.102,8	N = 19 Median: 286,7 Minimum: 51,2 Maximum: 1.102,8	N = 3 Median: 413,2 Minimum: 223,0 Maximum: 733,5
Tag 28	N = 18 Median: 338,9 Minimum: 65,8 Maximum: 6.000,0	N = 15 Median: 279,2 Minimum: 65,8 Maximum: 1.820,5	N = 3 Median: 2635,0 Minimum: 395,9 Maximum: 6.000,0

Tabelle 14 Deskriptive Statistik (Häufigkeiten): ST2-Werte [pg/ml] von Tag 14 und 28 bezogen auf das Ansprechen auf eine Steroidtherapie

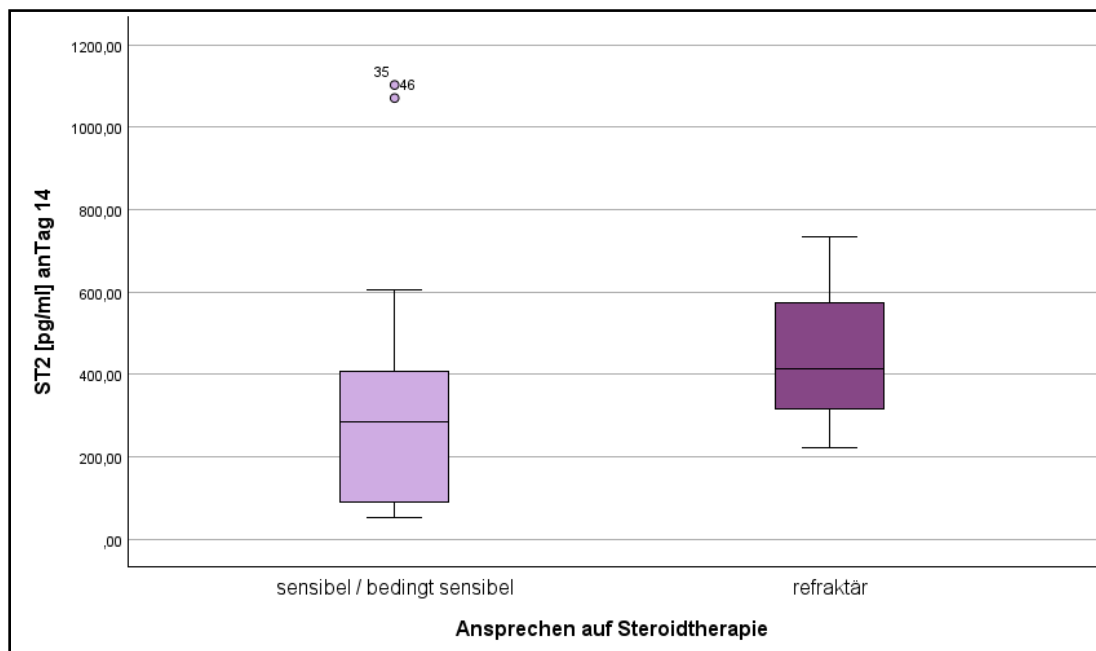


Abbildung 11 Boxplot der ST2-Werte an Tag 14 bezogen auf das Ansprechen auf eine Steroidtherapie

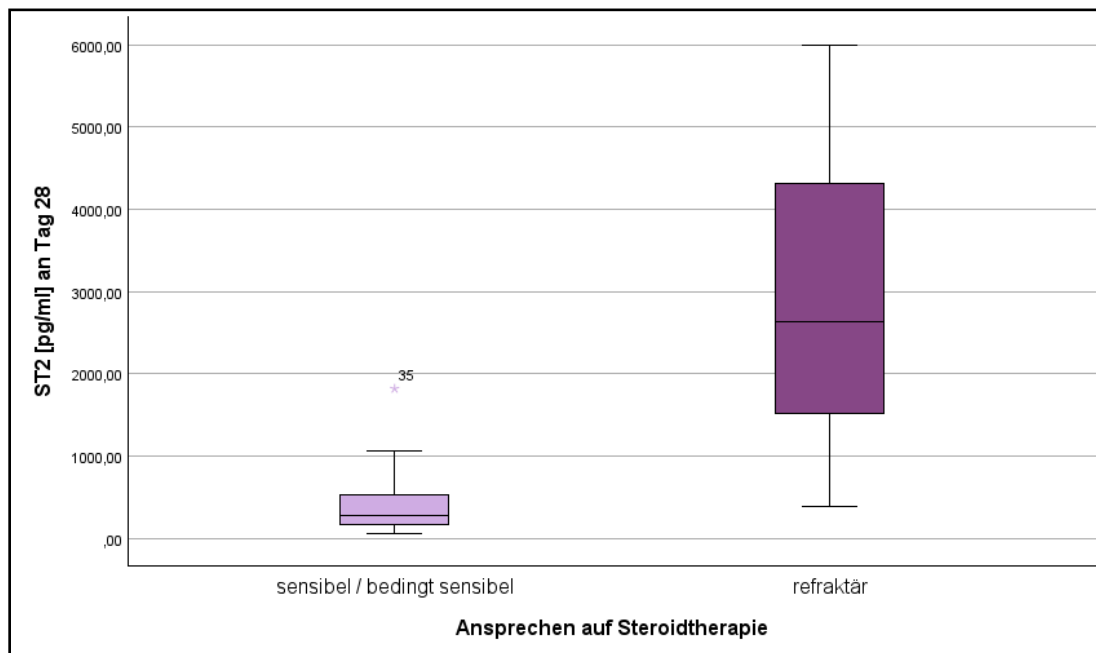


Abbildung 12 Boxplot der ST2-Werte an Tag 28 bezogen auf das Ansprechen auf eine Steroidtherapie

Die Analyse erfolgte mittels des Mann-Whitney-U-Tests. Dieser ergab an Tag 14 keinen signifikanten Unterschied. An Tag 28 zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bezüglich des Therapieansprechens.

	Tag 14	Tag 28
p-Werte	p = 0,265	p = 0,039

Tabelle 15 p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests der ST2-Werte an Tag 14 und 28 bezogen auf das Ansprechen auf eine Steroidtherapie ($\alpha = 0,05$)

4.2.5. ST2 und therapieassoziierte Mortalität (TRM)

Im nächsten Schritt wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen therapieassoziiierter Mortalität (TRM) und den ST2-Werten untersucht. In diesem Schritt wurden 45 Patienten eingeschlossen. Einschlusskriterium waren vorliegende ST2-Werte an Tag null und/oder an Tag 14 und/oder Tag 28. Verglichen wurde die Gruppe der Patienten, die innerhalb der ersten 12 Monate nach SZT therapieassoziiert verstarben (d.h. entweder an einer therapieresistenten GvHD oder an einer schweren Infektion) mit den restlichen Patienten (d.h. Überlebende und an Rezidiv verstorbene Patienten).

	Gesamt	therapieassoziiert verstorben	nicht verstorben/ Rezidiv-assoziiert verstorben
Tag 14	N = 45 Median: 211,7 Minimum: 13,0 Maximum: 1.667,1	N = 9 (davon 3 GvHD-assoziiert) Median: 223,9 Minimum: 56,7 Maximum: 1.667,1	N = 36 Median: 200,3 Minimum: 13,0 Maximum: 1.579,4
Tag 28	N = 29 Median: 303,8 Minimum: 1,7 Maximum: 6.000,0	N = 6 (davon 3 GvHD-assoziiert) Median: 324,85 Minimum: 65,9 Maximum: 6.000,0	N = 23 Median: 303,8 Minimum: 1,7 Maximum: 2.635,0

Abbildung 13 Deskriptive Statistik (Häufigkeiten): ST2-Werte [pg/ml] von Tag 14 und 28 bezogen auf die therapieassoziierte Mortalität

Aufgrund der nicht normalverteilten Daten wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet, in der Analyse ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

	Tag 14	Tag 28
p-Werte	p = 0,665	p = 0,854

Tabelle 16 p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests der ST2-Werte bezogen auf die therapieassoziierte Mortalität (Signifikanz –Niveau $\alpha = 0,05$)

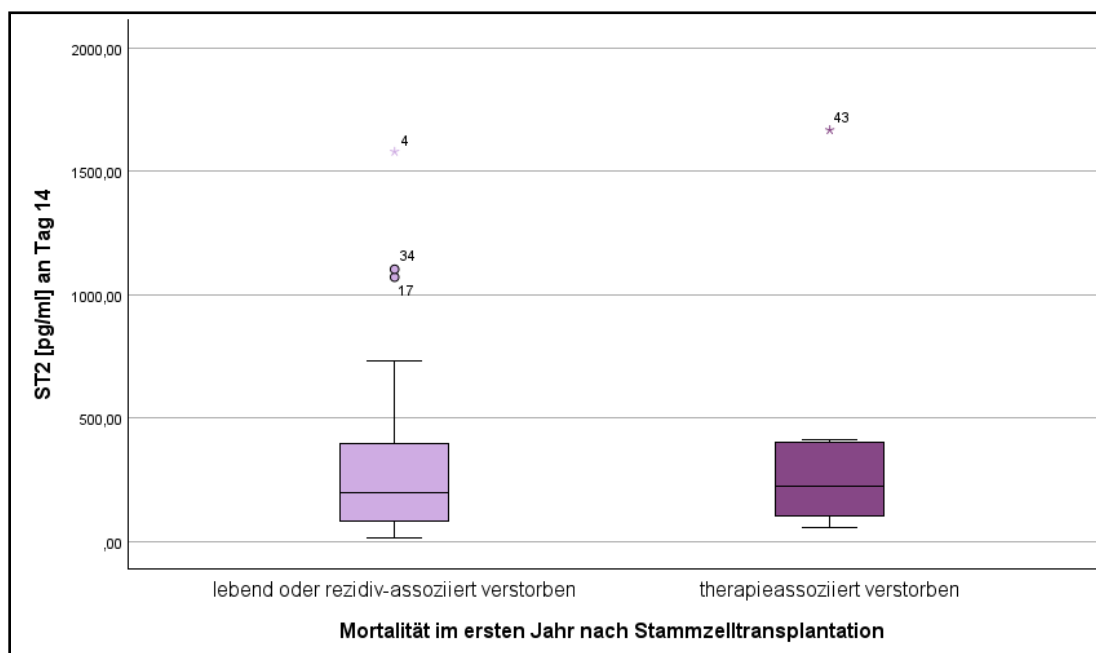


Abbildung 14 Boxplot der ST2-Werte an Tag 14 bezogen auf die therapieassoziierte Mortalität

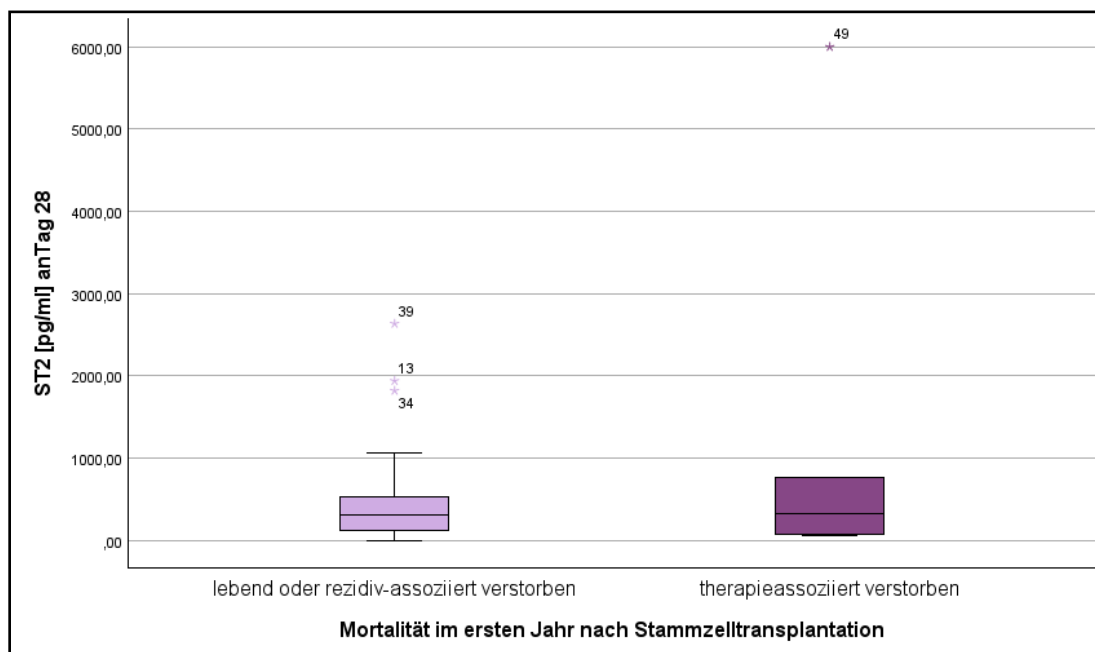


Abbildung 15 Boxplot der ST2-Werte an Tag 28 bezogen auf die therapieassoziierte Mortalität

4.3. Mikrobiom und GvHD

In diesem Teil der Studie wurden 78 Proben von 27 Patienten ausgewertet. Um die Veränderungen innerhalb des Mikrobioms über den Zeitraum der Transplantation auszuwerten, wurden die Proben vier verschiedenen Zeitpunkten zugeordnet, die wichtige Abschnitte im Verlauf der Transplantation darstellen. Diesen Zeitkategorien konnten 62 Proben von 24 Patienten zugeordnet werden.

TP 1	vor Stammzelltransplantation	Tag -14 bis Tag -1
TP 2	kurz nach Stammzelltransplantation	Tag 1 bis Tag 7
TP 3	Engraftment	Tag 21 bis 42
TP 4	spät nach Stammzelltransplantation	Tag 100 bis 260

Tabelle 17 Zeitpunkte der Mikrobiomprobenentnahme mit Tag null definiert als Tag der SZT

4.3.1. Eukaryonten und allogene Stammzelltransplantation

Die Auswertung beruht auf 52 Proben von 24 Patienten. Die Artenvielfalt wurde anhand des Chao1 Richness Estimator ermittelt. Die Biodiversität wurde anhand des Simpson Diversity Indexes beschrieben. Zur Definition der Zeitpunkte siehe Tabelle 17.

4.3.1.1. Biodiversität der Eukaryonten anhand des Simpson Diversity Indexes

Mittels des Shapiro-Wilk-Testes wurden die Daten auf Normalverteilung geprüft: Allein an TP2 lag eine Normalverteilung der Werte vor. Zum Vergleich der Datenverteilung des Simpson Diversity Indexes zu den verschiedenen Zeitpunkten wurde der Wilcoxon-Rangsummentest für verbundene Stichproben verwendet. Es zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zu den verschiedenen Zeitpunkten.

	TP1 zu TP2	TP1 zu TP3	TP1 zu TP4	TP2 zu TP3	TP2 zu TP4	TP3 zu TP4
p-Wert	0,929	0,790	0,753	0,917	0,180	0,144
Anzahl	11	11	6	6	2	4

Tabelle 18 Wilcoxon-Rangsummentest zur Biodiversität der Eukaryonten (Simpson Diversity Index): p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$) und Anzahl der verwerteten Proben, TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

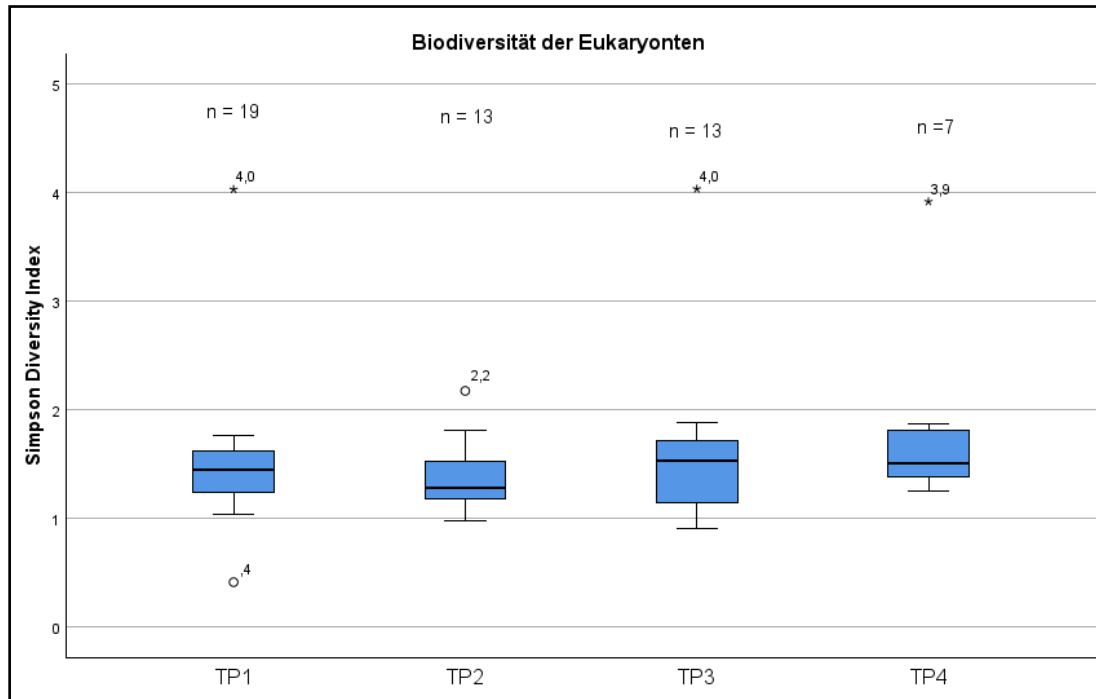


Abbildung 16 Boxplot zur Biodiversität der Eukaryonten anhand des Simpson Diversity Indexes; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

4.3.1.2. Artenvielfalt der Eukaryonten anhand des Chao1 Richness Estimator

Mittels des Shapiro-Wilk-Testes wurden die Daten auf Normalverteilung geprüft, nur an TP4 lag keine Normalverteilung der Daten vor.

Zum Vergleich der Artenvielfalt der Eukaryonten zu den verschiedenen Zeitpunkten wurde der Wilcoxon-Rangsummentest für verbundene Stichproben herangezogen. Hier zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

	TP1 zu TP2	TP1 zu TP3	TP1 zu TP4	TP2 zu TP3	TP2 zu TP4	TP3 zu TP4
p-Wert	1,0	0,859	0,463	0,917	0,655	0,068
Anzahl	11	11	6	6	2	4

Tabelle 19 Wilcoxon-Rangsummentest zur Artenvielfalt der Eukaryonten (Chao1 Richness Estimator): p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$) und Anzahl der verwerteten Proben; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

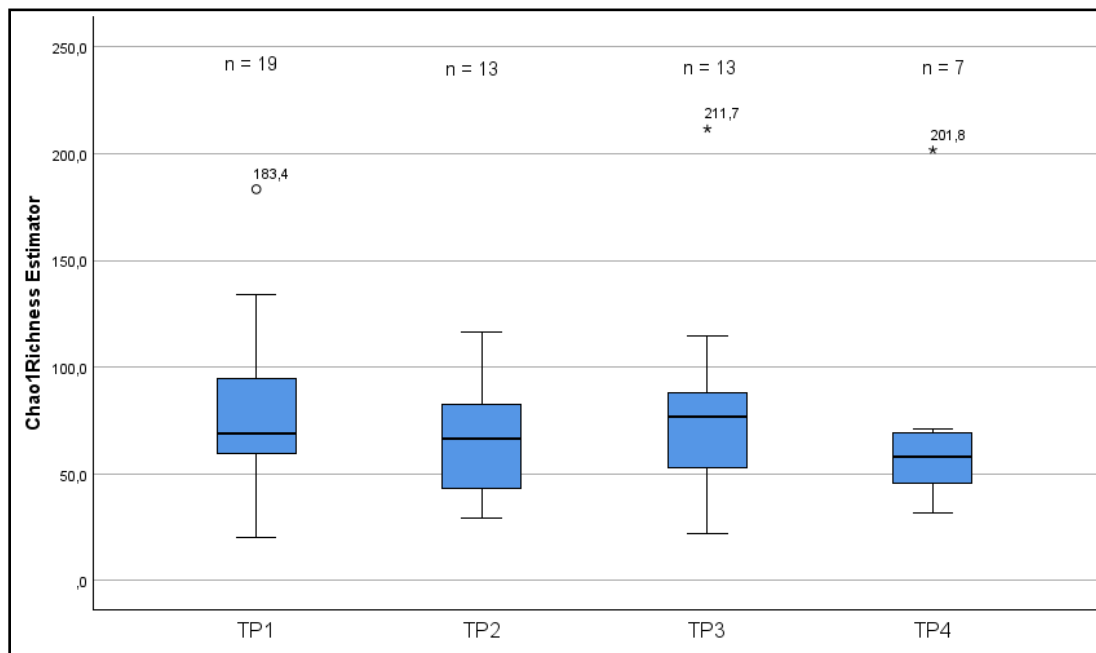


Abbildung 17 Boxplot zur Artenvielfalt der Eukaryonten anhand des Chao1 Richness Estimator, TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

4.3.2. Prokaryonten und allogene Stammzelltransplantation

Die Auswertung beruht auf 62 Proben von 24 Patienten. Die Artenvielfalt wurde anhand des Chao1 Richness Estimator ermittelt. Die Biodiversität wurde anhand des Simpson Diversity Indexes beschrieben. Definiert wurden vier Zeitpunkte, siehe Tabelle 17.

4.3.2.1. Artenvielfalt der Prokaryonten anhand des Chao1 Richness Estimator

Die Normalverteilung der Daten wurde anhand des Shapiro-Wilk-Testes überprüft, allein an TP3 waren die Daten nicht normalverteilt.

Zum Vergleich der Datenverteilung des Chao1 Richness Estimator zu den verschiedenen Zeitpunkten wurde der Wilcoxon-Rangsummentest für verbundene Stichproben verwendet.

Hier zeigte sich ein signifikanter Abfall der Artenvielfalt von Zeitpunkt 1 (Konditionierung) zu Zeitpunkt 2 (erste Woche nach Stammzelltransplantation). Sowie ein weiterer statistisch signifikanter Abfall von Zeitpunkt 2 (erste Woche nach Stammzelltransplantation) zu Zeitpunkt 3 (Engraftment).

	TP1 zu TP2	TP1 zu TP3	TP1 zu TP4	TP2 zu TP3	TP2 zu TP4	TP3 zu TP4
p-Wert	0,017	0,003	0,674	0,025	0,655	0,345
Anzahl	15	15	8	8	2	6

Tabelle 20 Wilcoxon-Rangsummentest zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator): p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$) und Anzahl der verwerteten Proben; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

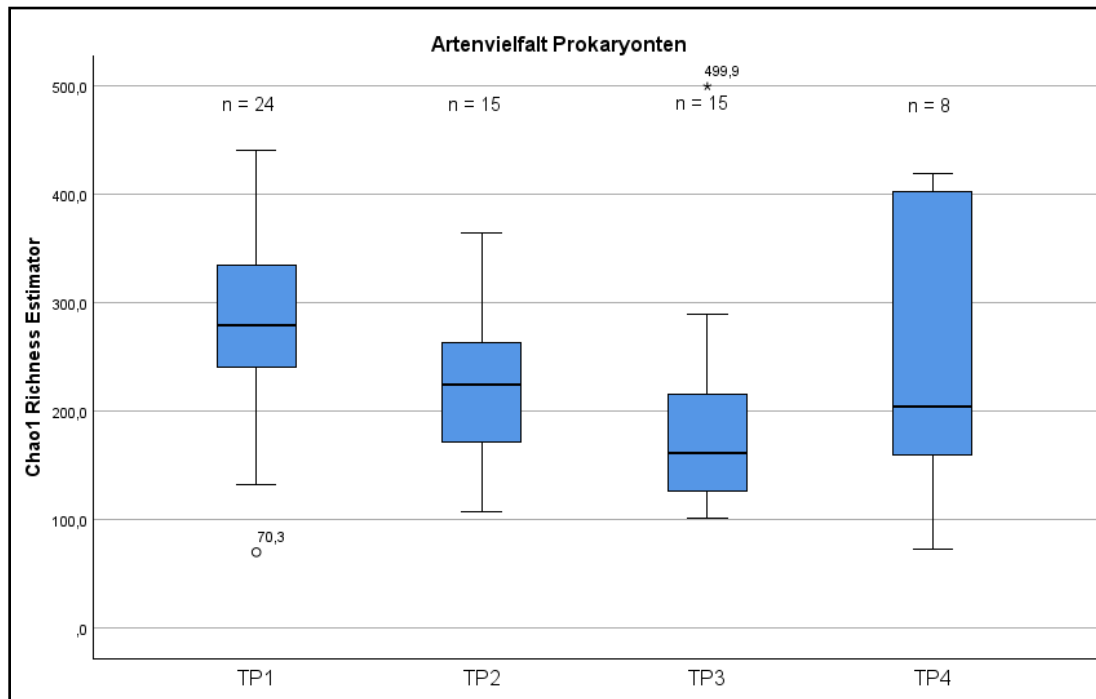


Abbildung 18 Boxplot zur Artenvielfalt der Prokaryonten anhand des Chao1 Richness Estimator; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

4.3.2.2. Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index)

Mittels des Shapiro-Wilk-Testes wurden die Daten auf Normalverteilung geprüft, die Daten waren zu allen Zeitpunkten normalverteilt. Um die statistischen Berechnungen dieser Arbeit einheitlich und vergleichbar zu halten wurde auch hier ein nichtparametrischer statistischer Test ausgewählt.

Zum Vergleich der Datenverteilung des Simpson Diversity Indexes zu den verschiedenen Zeitpunkten wurde der Wilcoxon-Rangsummentest für verbundene Stichproben verwendet.

Hier zeigte sich ein signifikanter Abfall der Diversität von Zeitpunkt 1 (Konditionierung) zu Zeitpunkt 2 (erste Woche nach Stammzelltransplantation).

	TP1 zu TP2	TP1 zu TP3	TP1 zu TP4	TP2 zu TP3	TP2 zu TP4	TP3 zu TP4
p-Wert	0,01	0,001	0,401	0,484	0,655	0,917
Anzahl	15	15	8	8	2	6

Tabelle 21 Wilcoxon-Rangsummentest zur Diversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index): p-Werte (Signifikanz –Niveau $\alpha = 0,05$) und Anzahl der verwerteten Proben; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

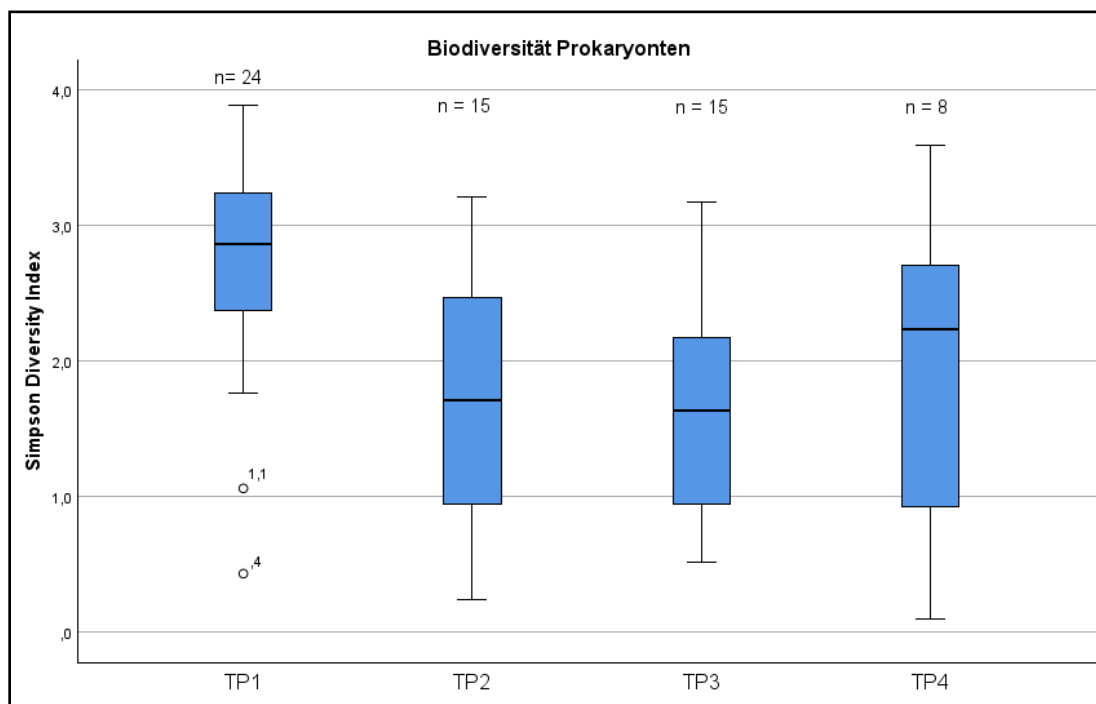


Abbildung 19 Boxplot zur Biodiversität der Prokaryonten anhand des Simpson Diversity Indexes; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

4.3.3. Prokaryonten und Konditionierung

4.3.3.1. Biodiversität der Prokaryonten und Intensität der Konditionierung

Es wurden Patienten mit reduzierter versus myeloablativer Konditionierung verglichen.

Zur Beschreibung der Biodiversität wurde der Simpson Diversity Index herangezogen.

	Gesamt	reguläre Konditionierung	Konditionierung mit reduzierter Intensität
TP 1 (Konditionierung)	N = 24 Median: 2,86 Minimum: 0,43 Maximum: 3,89	N = 19 Median: 2,94 Minimum: 0,43 Maximum: 3,89	N = 5 Median: 2,51 Minimum: 1,76 Maximum: 3,51
TP 2 (erste Woche nach SZT)	N = 15 Median: 1,71 Minimum: 0,24 Maximum: 3,21	N = 12 Median: 1,95 Minimum: 0,24 Maximum: 3,21	N = 3 Median: 1,59 Minimum: 0,87 Maximum: 1,71
TP3 (Engraftment)	N = 15 Median: 1,64 Minimum: 0,51 Maximum: 3,17	N = 11 Median: 1,62 Minimum: 0,52 Maximum: 3,17	N = 4 Median: 1,89 Minimum: 1,55 Maximum: 2,47
TP4 (> 100 Tage nach SZT)	N = 8 Median: 2,23 Minimum: 0,97 Maximum: 3,58	N = 6 Median: 1,89 Minimum: 0,10 Maximum: 3,59	N = 2 Median: 2,45 Minimum: 2,38 Maximum: 2,51

Tabelle 22 Biodiversität der Prokaryonten anhand des Simpson Diversity Indexes und Konditionierungsregime; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

Es war keine Normalverteilung in den Gruppen gegeben, so dass zum Vergleich des Simpson Diversity Indexes der Mann-Whitney-U-Test verwendet wurde. Zu keinem der vier untersuchten Zeitpunkte zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied.

	TP1	TP2	TP3	TP4
p-Wert	p = 0,406	p = 0,448	p = 0,489	p = 0,643

Tabelle 23 Mann Whitney-U-Test zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den beiden Gruppen reguläre Konditionierung und Konditionierung mit reduzierter Intensität: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha=0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment ;TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

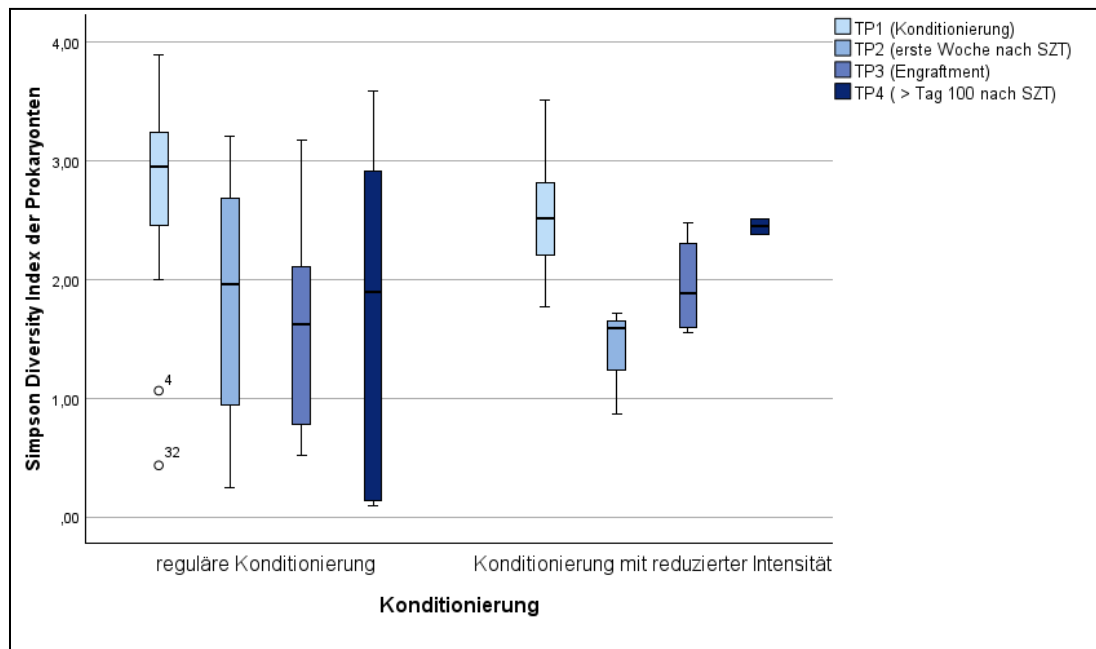


Abbildung 20 Boxplot zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den beiden Gruppen reguläre Konditionierung und Konditionierung mit reduzierter Intensität zu TP 1,2,3 und 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

4.3.3.2. Artenvielfalt der Prokaryonten und Intensität der Konditionierung

Es wurden Patienten mit reduzierter versus myeloablativer Konditionierung verglichen. Zur Beschreibung der Richness wurde der Chao1 Richness Estimator herangezogen.

	Gesamt	reguläre Konditionierung	Konditionierung mit reduzierter Intensität
TP 1 (Konditionierung)	N = 24 Median: 279,7 Minimum: 70,3 Maximum: 441,1	N = 19 Median: 271,0 Minimum: 70,3 Maximum: 441,1	N = 5 Median: 293,5 Minimum: 244,4 Maximum: 368,0
TP 2 (erste Woche nach SZT)	N = 15 Median: 225,0 Minimum: 107,5 Maximum: 364,6	N = 12 Median: 228,8 Minimum: 107,5 Maximum: 364,6	N = 3 Median: 175,5 Minimum: 137,0 Maximum: 249,1
TP3 (Engraftment)	N = 15 Median: 161,8 Minimum: 102,1 Maximum: 499,9	N = 11 Median: 180,9 Minimum: 102,1 Maximum: 499,9	N = 4 Median: 146,0 Minimum: 123,5 Maximum: 220,4
TP4 (> 100 Tage nach SZT)	N = 8 Median: 204,0 Minimum: 72,6 Maximum: 420,0	N = 6 Median: 191,9 Minimum: 72,6 Maximum: 414,4	N = 2 Median: 313,4 Minimum: 206,8 Maximum: 420,0

Tabelle 24 Artenvielfalt der Prokaryonten und Konditionierungsregime; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

Es war keine Normalverteilung in den Gruppen gegeben, so dass zum Vergleich des Chao1 Richness Estimators der beiden Gruppen der Mann-Whitney-U-Test verwendet wurde. Zwischen den beiden Gruppen bestand hinsichtlich der Verteilung der Werte des Chao 1 Richness Estimators zu keinem der vier untersuchten Zeitpunkte ein statistisch signifikanter Unterschied.

	TP1	TP2	TP3	TP4
p-Wert	p = 0,406	p = 0,448	p = 0,753	p = 0,286

Tabelle 25 Mann Withney-U-Test zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) zwischen den beiden Gruppen reguläre Konditionierung und Konditionierung mit reduzierter Intensität: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha=0,05$) zu TP1,2,3 und 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

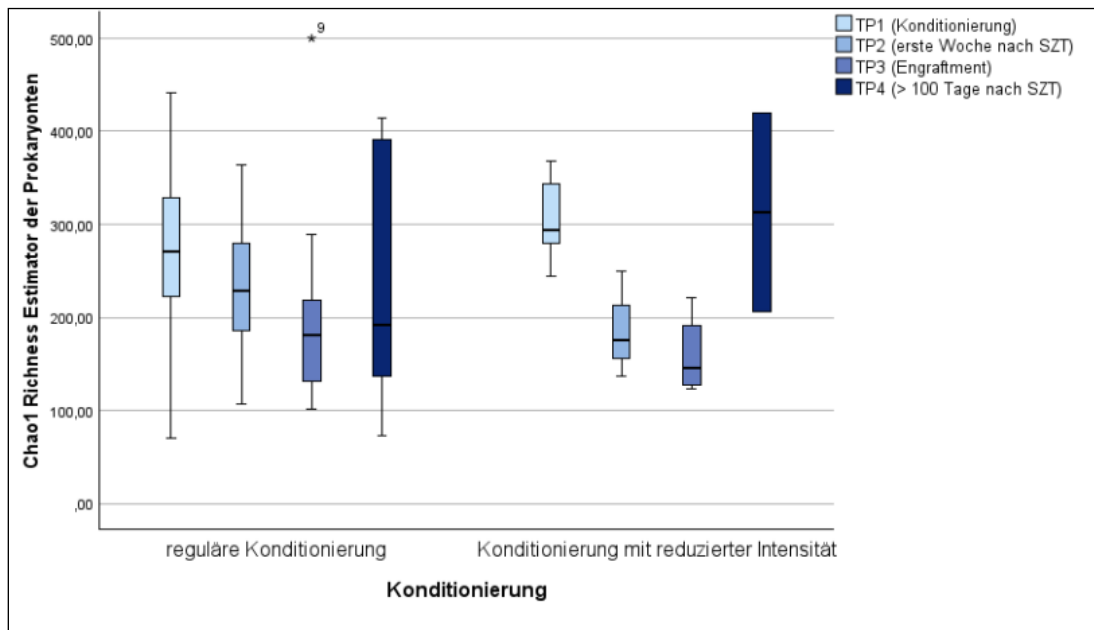


Abbildung 21 Boxplot zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) zwischen den beiden Gruppen reguläre Konditionierung und Konditionierung mit reduzierter Intensität zu TP 1,2,3 und 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

4.3.4. Prokaryonten und Mukositis

4.3.4.1. Mukositis und Biodiversität der Prokaryonten

Im Folgenden wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der Biodiversität der Prokaryonten und dem Auftreten bzw. dem Schweregrad einer Mukositis besteht. Verglichen wurden hierbei Patienten ohne oder mit leichter Mukositis (Grad 0 bis 2) und Patienten mit schwerer Mukositis (Grad 3 bis 4). Zur Beschreibung der Biodiversität wurde der Simpson Diversity Index verwendet. Es war keine Normalverteilung in den Gruppen gegeben, so dass zum Vergleich des Simpson Diversity Indexes der beiden Gruppen der Mann-Whitney-U Test verwendet wurde. Es ergab sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

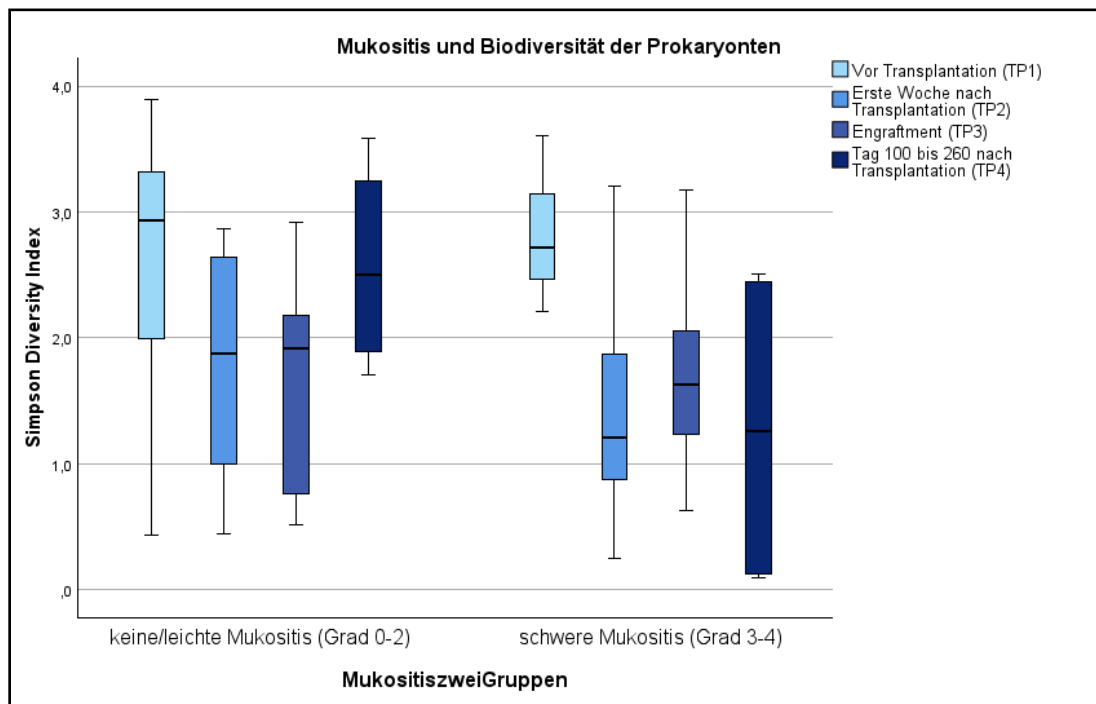


Abbildung 22 Boxplot zur Biodiversität der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator), gruppiert anhand des Mukositisgrades an den Zeitpunkten eins bis vier; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

	TP1	TP2	TP3	TP4
p-Wert	p = 0,796	p = 0,513	p = 1,000	p = 0,343

Tabelle 26 p-Werte des Mann-Whitney U Testes zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Index) in Bezug auf den Grad der Mukositis; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

4.3.4.2. Mukositis und Artenvielfalt der Prokaryonten

Im Folgenden wurde untersucht ob ein Zusammenhang zwischen der Artenvielfalt der Prokaryonten und dem Auftreten bzw. dem Schweregrad einer Mukositis besteht. Auch hier wurden eine Gruppe mit leichter Mukositis (Grad 1 bis 2) und eine Gruppe mit schwerer Mukositis (Grad 3 bis 5) verglichen. Zur Beschreibung der Artenvielfalt wurde der Chao1Richness Estimator herangezogen. Es war keine Normalverteilung in den Gruppen gegeben, so dass zum Vergleich des Chao1 Richness Estimators der beiden Gruppen der Mann-Whitney-U Test verwendet wurde. Es ergab sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

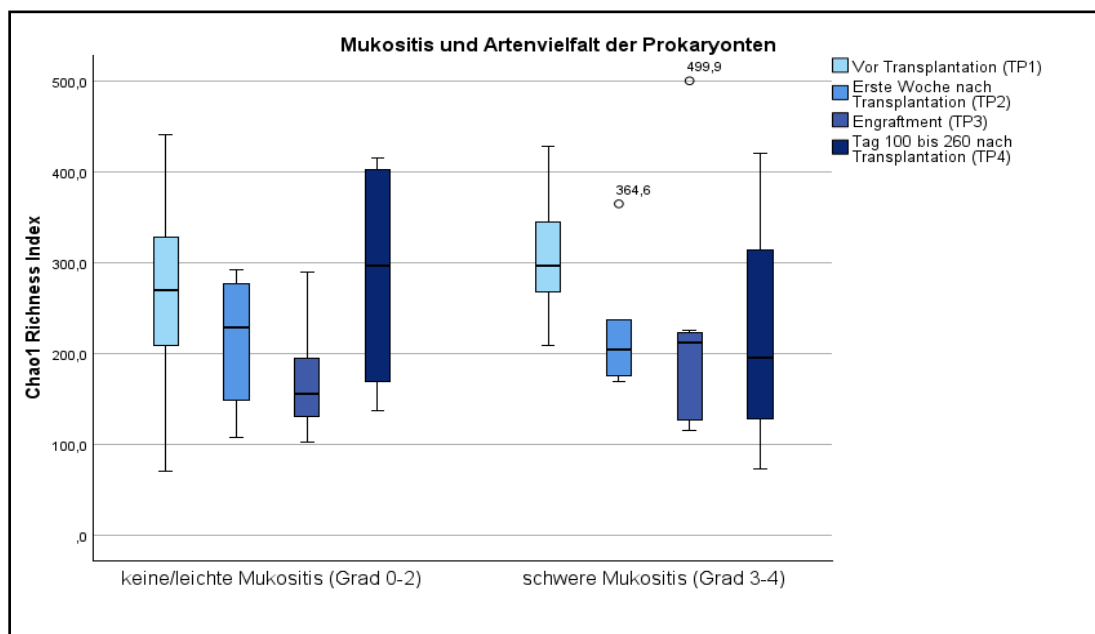


Abbildung 23 Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator), leichte versus schwere Mukositis TP 1 bis 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

	TP1	TP2	TP3	TP4
p-Wert	p = 0,235	p = 1,000	p = 0,536	p = 0,886

Tabelle 27 p-Werte des Mann-Whitney U Testes zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1Richness Estimators) je nach Grad der Mukositis; TP1 = Vor SZT; TP2 = Nach SZT; TP3 = Engraftment, TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

4.3.5. Prokaryonten und Engraftment

4.3.5.1. Hämatologische Rekonstitution der Leukozyten und Biodiversität der Prokaryonten

Im Folgenden wurde untersucht, ob die Biodiversität der Prokaryonten zu den Zeitpunkten 1 - 3 mit dem Zeitpunkt der hämatologischen Rekonstitution der Leukozyten zusammenhängt. Die hämatologische Rekonstitution wurde durch ein Erreichen von Leukozytenzahlen über 1000/µl definiert. Von den 50 eingeschlossenen Patienten erreichten 45 die Hämatologische Rekonstitution. Von den fünf Patienten, die die hämatologische Rekonstitution nicht erreichten, lagen bedauerlicherweise keine Proben in ausreichender Qualität vor. Insgesamt konnten 24 Proben zu TP1 (bis zu zwei Wochen vor der SZT) und jeweils 15 Proben zu TP2 (erste Woche nach der SZT) und TP3 (Engraftment, Woche 3 - 6 nach der SZT) ausgewertet werden. Aufgrund der geringen Probenanzahl zu TP4 (Tag 100 bis 260 nach SZT) wurde dieser nicht ausgewertet.

Die Patienten wurden in eine Gruppe mit niedriger Biodiversität und in eine Gruppe mit hoher Biodiversität eingeteilt. Aufgrund der nicht normal verteilten Daten wurde zur Einteilung in die Gruppen der Median des Simpson Indexes zu den jeweiligen Zeitpunkten verwendet.

	TP1	TP2	TP3
Median des Simpson Index der Prokaryonten	2,86	1,71	1,64

Tabelle 28 Mediane des Simpson Index der Prokaryonten zu TP1, TP2, TP3; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Abbildung 24 zeigt eine Kaplan-Meier-Kurve mit dem Zensurpunkt der hämatologischen Rekonstitution zu TP2 (erste Woche nach SZT) verglichen mittels Log-Rank-Test.

	TP1	TP2	TP3
p-Wert	p = 0,859	p = 0,163	p = 0,559

Tabelle 29 Log-Rank-Test zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den zwei Gruppen Low Diversity und High Diversity bis zum Erreichen der hämatologischen Rekonstitution der Leukozyten (Signifikanz-Niveau $\alpha=0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

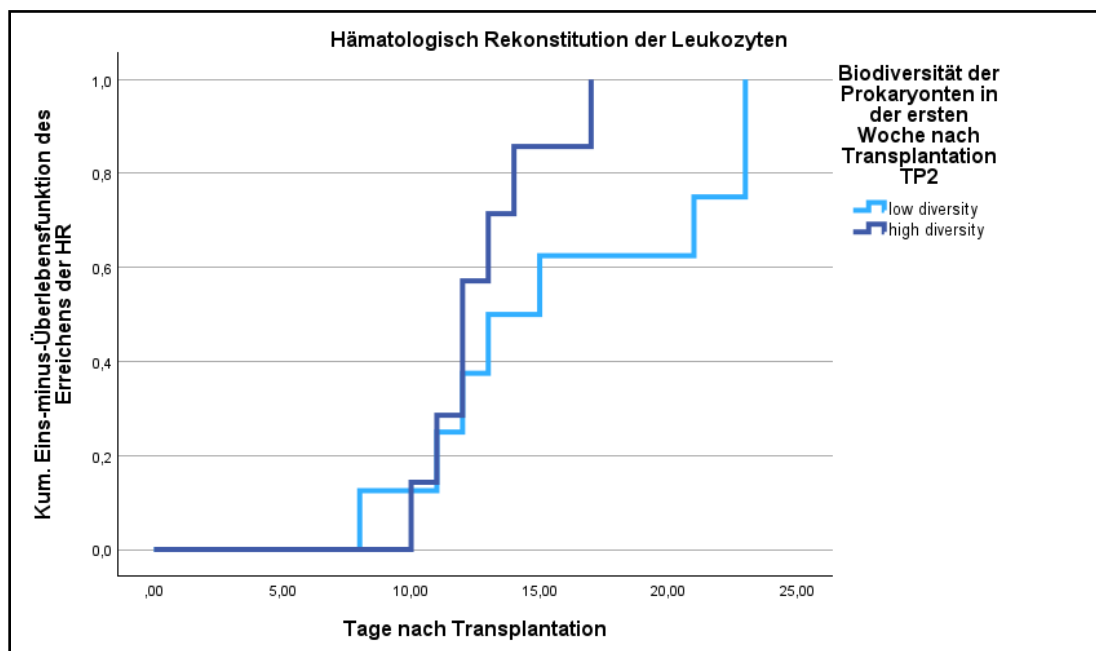


Abbildung 24 Kaplan-Meier Kurve zur hämatologischen Rekonstitution der Leukozyten nach niedriger und hoher Biodiversität in der ersten Woche nach Transplantation (TP2); low diversity definiert als Simpson Index zwischen 0,43 und 1,71; high diversity definiert als Simpson Index zwischen 1,72 und 3,89; TP 2 entspricht der ersten Woche nach Transplantation (Tag 1 bis Tag 7)

4.3.5.2. Hämatologische Rekonstitution der Leukozyten und Artenvielfalt der Prokaryonten

Im Folgenden wurde untersucht, ob die Artenvielfalt der Prokaryonten zu den Zeitpunkten TP1 (bis zu zwei Wochen vor der Transplantation), TP2 (erste Woche nach der Transplantation) und TP3 (Engraftment, Woche 3 - 6 nach SZT) Einfluss auf die hämatologische Rekonstitution der Leukozyten hat. Die hämatologische Rekonstitution wurde durch ein Erreichen von Leukozytenzahlen über 1000/ μ l definiert. Die Einteilung der Patienten erfolgte erneut in die Gruppen niedrige und hohe

Artenvielfalt entlang der Mediane zu den jeweiligen Zeitpunkten. Es ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Abbildung 25 zeigt eine Kaplan-Meier-Kurve mit dem Zensurpunkt der hämatologischen Rekonstitution verglichen mittels Log-Rank-Test zu TP3 (Engraftment).

	TP1	TP2	TP3
p-Wert	p = 0,994	p = 0,889	p = 0,172

Tabelle 30 Log-Rank-Test zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) zwischen den zwei Gruppen niedrige Artenvielfalt und hohe Artenvielfalt bezogen auf den Endpunkt des Erreichens der hämatologischen Rekonstitution der Leukozyten (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

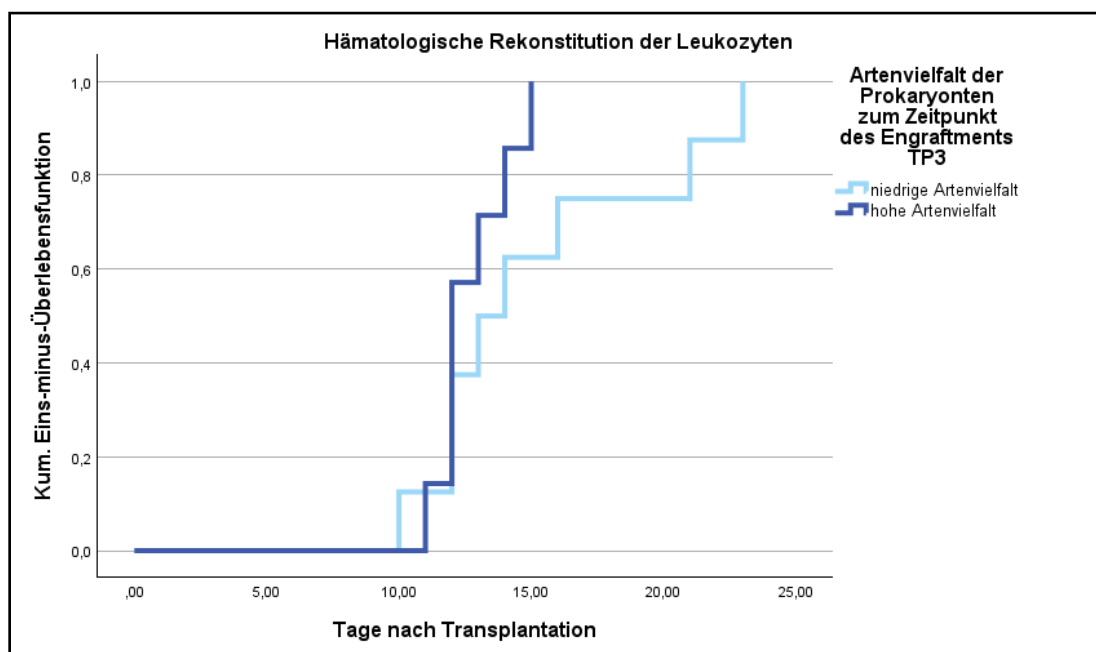


Abbildung 25 Kaplan-Meier Kurve zur hämatologischen Rekonstitution der Leukozyten gruppiert nach der Artenvielfalt der Prokaryonten zum Zeitpunkt des Engraftments (TP3); niedrige Artenvielfalt (Chao1 Richness Estimator 102,1 – 161,8) hohe Artenvielfalt (Chao1RichnessEstimator 161,9 – 499,9); TP 3 Engraftment (Tag 21 bis 42)

4.3.6. Prokaryonten und schwere GvHD

4.3.6.1. Biodiversität der Prokaryonten und schwere GvHD

Um den Zusammenhang zwischen der Biodiversität der Prokaryonten und der Entwicklung einer schweren GvHD zu untersuchen wurden die Patienten zwei Gruppen zugeordnet. Die erste Gruppe enthielt alle Patienten, die über den Beobachtungszeitraum hin, keine oder eine leichte (d.h. Grad 1 oder Grad 2) GvHD entwickelten. Die andere Gruppe enthielt alle Patienten, die eine schwere (d.h. Grad 3 oder 4) GvHD entwickelten.

	Gesamt	keine/leichte GvHD (Grad 0, 1 oder 2)	schwere GvHD (Grad 3 oder 4)
TP 1 (Konditionierung)	N = 24 Median: 2,86 Minimum: 0,43 Maximum: 3,89	N = 16 Median: 2,88 Minimum: 1,06 Maximum: 3,89	N = 8 Median: 2,77 Minimum: 0,43 Maximum: 3,32
TP 2 (erste Woche nach SZT)	N = 15 Median: 1,71 Minimum: 0,24 Maximum: 3,21	N = 11 Median: 1,59 Minimum: 0,44 Maximum: 3,21	N = 4 Median: 2,52 Minimum: 0,24 Maximum: 2,87
TP3 (Engraftment)	N = 15 Median: 1,64 Minimum: 0,52 Maximum: 3,17	N = 10 Median: 1,82 Minimum: 0,55 Maximum: 3,17	N = 5 Median: 1,62 Minimum: 0,52 Maximum: 2,47
TP4 (> 100 Tage nach SZT)	N = 8 Median: 2,23 Minimum: 0,14 Maximum: 3,59	N = 5 Median: 2,38 Minimum: 0,97 Maximum: 3,59	N = 3 Median: 2,08 Minimum: 0,14 Maximum: 2,51

Tabelle 31 Diversität der Prokaryonten anhand des Simpson Diversity Indexes und Schweregrad der GvHD; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

Es war keine Normalverteilung in den Gruppen gegeben, sodass zum Vergleich des Simpson Diversity Indexes der Mann-Whitney-U-Test verwendet wurde. Zu keinem der vier untersuchten Zeitpunkte zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied.

	TP1	TP2	TP3	TP4
p-Wert	p = 0,787	p = 0,412	p = 0,440	p = 0,786

Tabelle 32 Mann Withney-U-Test zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den Gruppen leichte/keine GvHD und schwere GvHD: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

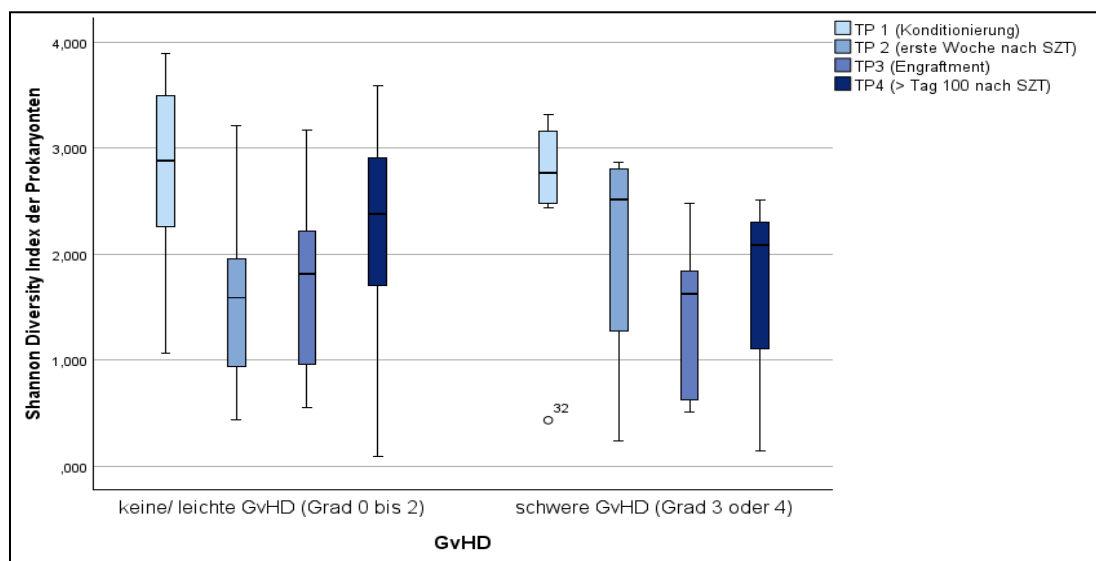


Abbildung 26 Boxplot zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den beiden Gruppen keine/leichte GvHD und schwere GvHD zu TP 1,2,3 und 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

4.3.6.2. Artenvielfalt der Prokaryonten und schwere GvHD

Um zu prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen der Artenvielfalt und der Entwicklung einer schweren GvHD besteht, wurden dieselben zwei Gruppen wie zuvor verwendet. Zur Beschreibung der Artenvielfalt wurde der Chao1 Richness Estimator herangezogen.

	Gesamt	keine oder leichte GvHD (Grad 1 oder 2)	schwere GvHD (Grad 3 oder 4)
TP 1 (Konditionierung)	N = 24 Median: 279,68 Minimum: 70,25 Maximum: 441,07	N = 16 Median: 285,62 Minimum: 132,27 Maximum: 441,07	N = 8 Median: 269,25 Minimum: 70,25 Maximum: 342,39
TP 2 (erste Woche nach SZT)	N = 15 Median: 225,04 Minimum: 107,46 Maximum: 364,37	N = 11 Median: 211,18 Minimum: 107,46 Maximum: 364,37	N = 4 Median: 228,84 Minimum: 168,40 Maximum: 281,44
TP3 (Engraftment)	N = 15 Median: 161,75 Minimum: 102,06 Maximum: 499,89	N = 10 Median: 171,33 Minimum: 119,18 Maximum: 499,89	N = 5 Median: 149,00 Minimum: 102,06 Maximum: 220,43
TP4 (> 100 Tage nach SZT)	N = 8 Median: 204,03 Minimum: 72,60 Maximum: 420,00	N = 5 Median: 206,80 Minimum: 72,60 Maximum: 414,39	N = 3 Median: 182,50 Minimum: 136,38 Maximum: 420,00

Tabelle 33 Artenvielfalt der Prokaryonten anhand des Chao1 Richness Estimator und Schweregrad der GvHD; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

Es war keine Normalverteilung in den Gruppen gegeben, so dass zum Vergleich des Chao1 Richness Estimator der Mann-Whitney-U-Test verwendet wurde. Zu keinem der vier untersuchten Zeitpunkte zeigte sich ein signifikanter Unterschied.

	TP1	TP2	TP3	TP4
p-Wert	p = 0,528	p = 0,851	p = 0,440	p = 1,000

Tabelle 34 Mann Withney-U-Test zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) zwischen den beiden Gruppen leichte/keine GvHD und schwere GvHD: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

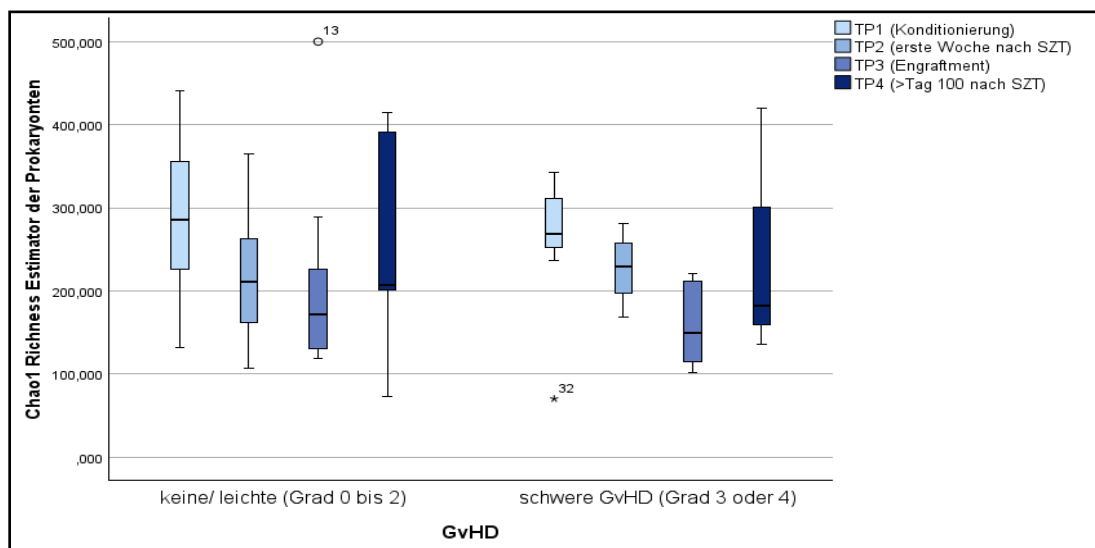


Abbildung 27 Boxplot zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) der beiden Gruppen keine/leichte GvHD und schwere GvHD zu TP 1,2,3 und 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

4.3.7. Prokaryonten und Mortalität

4.3.7.1. Biodiversität der Prokaryonten und Mortalität

Für die nachfolgenden Berechnungen wurden die Patienten in eine Gruppe mit niedriger Biodiversität der Prokaryonten und in eine Gruppe mit hoher Biodiversität der Prokaryonten aufgeteilt. Aufgrund der nicht normal verteilten Daten wurde zur Einteilung in die zwei Gruppen der Median des Simpson Indexes zu den jeweiligen Zeitpunkten als Trennlinie verwendet. TP4 wurde aufgrund der geringen Anzahl der Proben nicht berechnet. Siehe Tabelle 28.

Zum Vergleich der Gruppen wurden Kaplan-Meier Kurven erstellt und mittels Log-Rank Testes verglichen. Vor Transplantation und in der ersten Woche nach Transplantation ergaben sich keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bezüglich der Gesamtmortalität.

Zum Zeitpunkt des Engraftments lagen insgesamt 15 Proben vor. Nach der oben beschriebenen Einteilung zeigten acht (53,5%) eine niedrige Biodiversität des intestinalen Mikrobioms, während bei sieben (46,7%) Patienten eine hohe Diversität erhalten blieb. Patienten, die zu diesem Zeitpunkt zur Gruppe der niedrigen Diversität gehörten hatten tendenziell ein höheres Mortalitätsrisiko.

	TP1	TP2	TP3
p-Wert	p = 0,987	p = 0,808	p = 0,170

Tabelle 35 p-Werte des Log Rank Test zur Mortalität bezogen auf die Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den beiden Gruppen niedrige und hohe Diversität: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha=0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

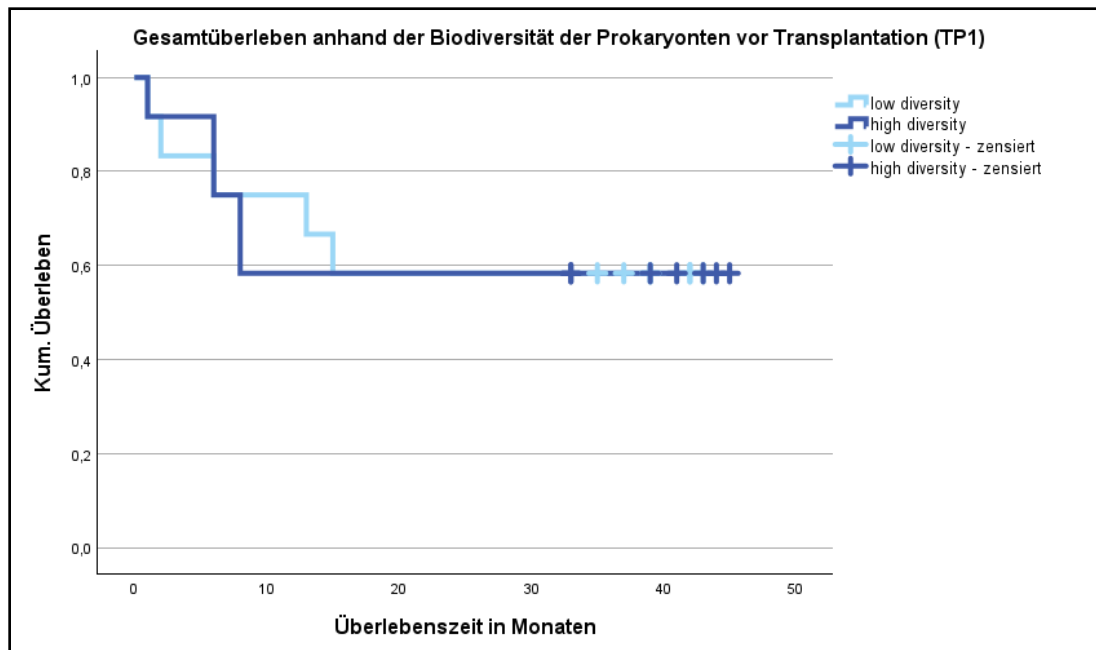


Abbildung 28 Kaplan-Meier Kurve zur Gesamtmortalität nach niedriger und hoher Biodiversität vor Transplantation (TP1); low diversity definiert als Simpson Index zwischen 0,43 und 2,86; high diversity definiert als Simpson Index zwischen 2,87 und 3,89. TP1 entspricht der Woche vor Stammzelltransplantation (Tag -7 bis Tag -1)

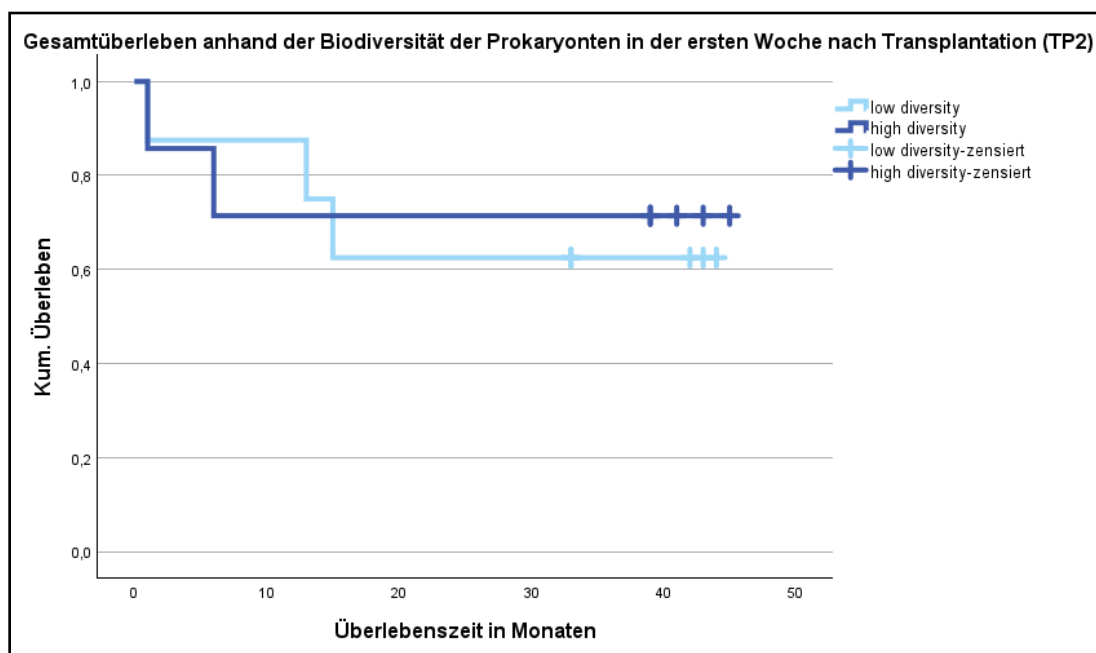


Abbildung 29 Kaplan-Meier Kurve zur Gesamtmortalität gruppiert nach niedriger und hoher Biodiversität in der ersten Woche nach Transplantation (TP2) low diversity definiert als Simpson Index zwischen 0,43 und 1,71; high diversity definiert als Simpson Index zwischen 1,72 und 3,89; TP2 entspricht der Woche nach Transplantation (Tag 1 bis Tag 7)

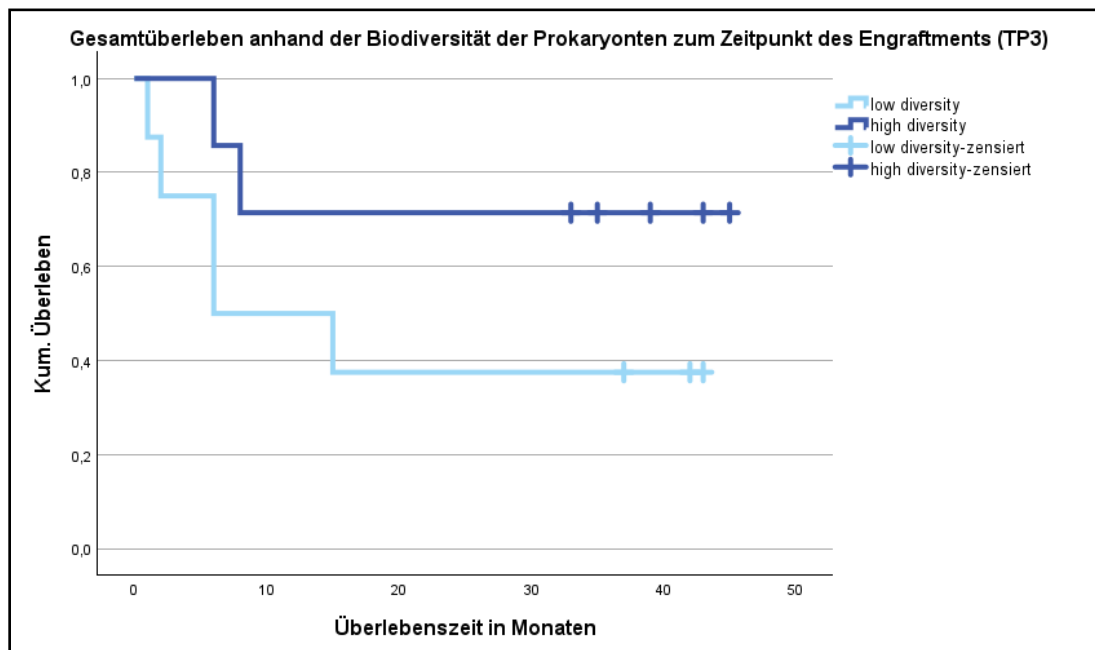


Abbildung 30 Kaplan-Meier Kurve zur Gesamt mortalität gruppiert nach niedriger und hoher Biodiversität zum Zeitpunkt des Engraftments: low diversity definiert als Simpson Index zwischen 0,43 und 1,64; high diversity definiert als Simpson Index zwischen 1,65 und 3,89, TP 3 entspricht der Periode des Engraftments (Tag 21 bis 42)

4.3.7.2. Artenvielfalt der Prokaryonten und Mortalität

Für die nachfolgenden Berechnungen wurden die Patienten erneut in zwei Gruppen unterteilt. Analog zu den vorangegangenen Berechnungen erfolgte die Aufteilung entlang der Mediane des Chao1 Richness Estimators zu den jeweiligen Zeitpunkten in eine Gruppe mit niedriger Artenvielfalt und in eine Gruppe mit hoher Artenvielfalt. TP4 wurde aufgrund der geringen Anzahl der Proben nicht berechnet.

	TP1	TP2	TP3
Median des Chao1 Richness Estimators der Prokaryonten	279,7	225,0	161,8

Tabelle 36 Mediane des Chao1 Richness Estimator der Prokaryonten zu den Zeitpunkten TP1, TP2 und TP3; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

Die beiden Gruppen wurden mittels Log Rank Test verglichen, es zeigte sich keine Unterschiede hinsichtlich der Gesamt mortalität. Aufgrund der deutlich nicht-signifikanten p-Werte wurde auf eine Visualisierung mittels Kaplan-Meier-Kurven an dieser Stelle verzichtet.

	TP1	TP2	TP3
p-Wert	p = 0,915	p = 0,808	p = 0,816

Tabelle 37 p-Werte des Log Rank Tests zur Mortalität bezogen auf die Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) zwischen den beiden Gruppen niedrige und hohe Artenvielfalt: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha=0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.

5. Diskussion

5.3. ST2 und GvHD

Die untersuchte Kohorte war betreffend der allgemeinen Charakteristika, vergleichbar mit anderer Studien wie denen von Major-Monfried et al. oder Vander Lugt et al. (Major-Monfried et al., 2018), (Vander Lugt et al., 2013). Ein großer Unterschied war, dass in der vorliegenden Studie prospektiv alle adulten Patienten eingeschlossen wurden, die sich einer allogenen Stammzelltransplantation unterzogen, während in den beiden oben genannten Studien nur Patienten eingeschlossen wurden die eine GvHD entwickelten.

Die GvHD wurde ebenfalls nach den modifizierten Glucksbergkriterien (Przepiorka et al., 1995) beurteilt. Siehe auch Tabelle 1 und Tabelle 2.

	Vorliegende Dissertation	Studie der Autoren (Major-Monfried et al., 2018)
GvHD	60%	100% (Einschlusskriterium)
GvHD 1	46,7%	30,9 – 39,6%
GvHD 2	16,7%	44,2 – 45,1%
GvHD 3	30%	10,8 – 21,8%
GvHD 4	6,7%	3,4 – 5,6%
Gesamtüberlebensrate	58% (im Mittel 23,5 Monate)	56,9 – 72,2% (nach 12 Monaten)
therapieassoziiert verstorben	28%	20,5 – 31,3%

Tabelle 38 Kerndatenvergleich der vorliegenden Dissertation mit der Studie der Autoren Major-Monfried et al., 2018

Auffallend ist, dass in dieser Kohorte deutlich weniger Patienten von Grad 2 GvHD betroffen sind, dafür mehr Patienten von Grad 1 und Grad 3 GvHD. Dieser Unterschied ist vermutlich durch das abweichende Studiendesign bedingt. In den Studien von Major-Monfried et al. und Vander Lugt et al. wurde der Grad der GvHD bei Diagnosestellung vermerkt, während in der vorliegenden Studie jeweils der höchste erreichte Grad der GvHD im Beobachtungszeitraum festgehalten wurde (Major-Monfried et al., 2018) (Vander Lugt et al., 2013).

Die vorliegende Dissertation demonstriert erneut, dass die Graft-versus-Host-Disease der stärkste negative Prädiktor für ein Überleben nach erfolgter allogener Stammzelltransplantation ist (Pasquini, 2008). Somit ist es eines der wichtigsten Ziele der aktuellen Forschung, geeignete Marker für die schweren Verläufe der GvHD zu finden, um frühzeitig handeln zu können. Diese Arbeit untersucht den löslichen ST2-Rezeptor („suppression of tumorigenicity 2“) auf seine Eignung als Biomarker für schwere GvHD, steroidresistente Verläufe der GvHD und die nicht-rezidiv-assoziierte Mortalität im ersten Jahr nach Stammzelltransplantation.

5.3.3. Allgemeines zum ST2 Marker

Bei der Auswertung der ST2-Werte fiel auf, dass sie an Tag null signifikant höher waren als an Tag 14 und Tag 28 ($p = < 0,001$). Wir führen diese deutlich höheren ST2-Werte auf den regelhaften Einsatz von Antithymoglobulin (ATG) im Rahmen der Stammzelltransplantation zurück.

ATG ist ein gereinigtes polyklonales Immunglobulin (IgG), dessen Einsatz zu einer T-Zell-Depletion und einer Modulation der T-Zell-Aktivierung führt. Aufgrund dieser Eigenschaften wird es in der GvHD-Prophylaxe verwendet. (Popow et al., 2013)

Die immunmodulatorischen Eigenschaften von ATG führen jedoch auch zu einem Kapillarleck und zu einem Zytokinfreisetzungs-Syndrom. Im Zuge dessen wird vermehrt IL-33 aus den Endothelien freigesetzt und vermehrt ST2 exprimiert. (Cayrol, Girard, 2022)

Aufgrund dieser Überlegungen gehen wir davon aus, dass ST2 an Tag null, nach Einsatz von ATG, nicht zur Bewertung der GvHD geeignet ist. In der weiteren statistischen Auswertung wurden nur die ST2-Werte von Tag 14 und Tag 28 nach Stammzelltransplantation berücksichtigt.

5.3.4. ST2 und Konditionierung

In der wissenschaftlichen Literatur wurde der Einfluss der Konditionierung auf die ST2-Werte bereits untersucht (Vander Lugt et al., 2013), (Ponce et al., 2015). Diese Studien identifizierten signifikante Unterschiede zwischen den ST2-Werten von Personen, die einer regulären und solchen, die einer dosisreduzierten Konditionierung unterzogen wurden. Unsere Ergebnisse unterstützen diese Feststellungen.

An Tag 14 konnten wir einen statistisch signifikanten p-Wert von 0,014 im Vergleich der beiden Gruppen feststellen, was auf einen signifikanten Einfluss des Konditionierungsregimes hinweist. An Tag 28 zeigt die Boxplot-Visualisierung einen Trend zu höheren ST2-Werten bei der regulären Konditionierung, jedoch ist der p-Wert von 0,279, vermutlich aufgrund der kleinen Fallzahl, nicht signifikant.

Aufgrund der insgesamt kleinen Fallzahl der Studie konnte der verzerrende Faktor der Konditionierung in den folgenden Berechnungen nicht berücksichtigt werden.

5.3.5. ST2 und schwere GvHD

Verschiedene Autoren beschrieben bereits den Zusammenhang zwischen einer Erhöhung der ST2-Werte und dem Auftreten einer schweren GvHD. So konnten Ito und Barret multivariat nachweisen, dass ein erhöhter ST2-Wert ($>33,9$ ng/mL) an Tag 28 ein unabhängiger prognostischer Faktor für Grad 3 oder Grad 4 GvHD ist. Auch Ponce et al. stießen in ihrer Studie von Patienten mit Transplantation von Stammzellen aus Nabelschnurblut auf erhöhte ST2-Werte an Tag 28 bei nachfolgendem Auftreten einer GvHD Grad 2 – 4. (Ponce et al., 2015) (Ito, Barrett, 2015)

Zusammenfassend wurde in den verschiedenen Studien nachgewiesen, dass der Parameter ST2, gemessen an Tag 14 und/oder Tag 28 nach Stammzelltransplantation, zu einem gewissen Grad schwere Verläufe einer GvHD prognostizieren kann. Auch wenn Autoren wie Mc Donald et al. der Ansicht sind, dass andere Marker wie etwa IL6, TIM3 und sTNFR1 einen besseren prognostischen Vorhersagewert, bezüglich des Auftretens einer schweren aGvHD haben. (McDonald et al., 2015b)

Die Ergebnisse unserer Studie sind hier nicht so eindeutig wie die Literatur. In der Visualisierung der ST2-Werte an Tag 14 und Tag 28 mittels Boxplots, lässt sich die Tendenz zu höheren ST2-Werten in der Gruppe der Patienten mit schwerer GvHD deutlich erkennen. In der nicht-parametrischen Analyse mittels Kruskal-Wallis Test bleibt diese Tendenz jedoch nicht-signifikant. Dies kann durchaus an der kleinen Fallzahl liegen, die die größte Limitation der vorliegenden Untersuchungen ist.

5.3.6. ST2 und intestinale GvHD

Um genauer zu verstehen ob, die ST2-Werte allein mit dem Grad der GvHD korrelieren oder ob die intestinale Beteiligung ausschlaggebend ist, wurde in der vorliegenden Arbeit zudem der Zusammenhang zwischen ST2 und der intestinalen GvHD untersucht.

An Tag 14 zeigt sich in der Boxplot-Visualisierung kein relevanter Unterschied der beiden Gruppen. An Tag 28 zeigt sich eine Tendenz zu höheren ST2-Werten in der Gruppe der Patienten mit intestinaler Beteiligung.

Eine GvHD kann in den meisten Fällen erst nach Tag 14 diagnostiziert werden. Wenn wir davon ausgehen, dass die Erhöhung des löslichen ST2-Rezeptors Ausdruck einer immunologischen Gegenregulation darstellt, wie von Reichenbach et al. postuliert, spielt das intestinale Immunsystem hierbei eine entscheidende Rolle. Bei anhaltender intestinaler GvHD würden die ST2-Werte weiter ansteigen und somit die Korrelation zwischen dem Grad der GvHD und erhöhten ST2-Werten deutlicher werden. (Reichenbach et al., 2015)

Aufgrund der sehr geringen Fallzahl in dieser Studie bleibt dies jedoch vorerst eine Hypothese. Um die beobachtete Tendenz zu bestätigen und die komplexen immunologischen Prozesse besser zu verstehen, sind weitere Studien mit größeren Patientenzahlen erforderlich.

5.3.7. ST2 und Ansprechen auf eine Steroidtherapie

In den letzten Jahren hat sich ST2 als ein vielversprechender Biomarker für steroidrefraktäre Verläufe der akuten Graft-versus-Host-Disease herauskristallisiert, also als „response-to-treatment“-Biomarker.

Die meisten Studien gehen bezüglich des Endpunktes „Ansprechen auf Steroidtherapie“ ereignisgesteuert vor, wie etwa die Studie von Vander Lugt et al.. Hier zeigten Patienten mit hohen ST2-Werten zu Beginn der Steroidtherapie ein 2,3fach erhöhtes Risiko für einen refraktären Verlauf der aGvHD. (Vander Lugt et al., 2013).

Im Unterschied zu der Studie von Vander Lugt et al. wurde ST2 in unserer Studie nicht ereignisorientiert sondern kalenderorientiert untersucht. (Vander Lugt et al., 2013)

Bereits an Tag 14 zeigte sich eine deutliche Tendenz zu höheren ST2-Werten in der Gruppe der Patienten mit steroidrefraktären Verläufen. Diese Tendenz wurde an Tag 28 durch einen statistisch signifikanten p-Wert von 0,039 untermauert.

Es ist bemerkenswert, dass in der hier untersuchten Patientenkohorte der Endpunkt „steroidrefraktärer Verlauf“ am stärksten mit der Höhe der gemessenen ST2-Werte korreliert. Somit können wir den Nutzen von ST2 als prädiktiver Biomarker für steroid-resistente Verläufe bestätigen, insbesondere auch für die kalendergesteuerte Untersuchung.

5.3.8. ST2 und therapieassoziierte Mortalität (TRM)

Der Marker ST2 ist in den vergangenen Jahren in verschiedenen Studien auf seinen prognostischen Vorhersagewert bezüglich der therapieassoziierten Mortalität hin untersucht worden.

Vander Lugt et al. zeigten als Erste eine deutliche Korrelation des ST2-Wertes, gemessen noch vor dem Auftreten klinischer Zeichen einer GvHD, mit der therapieassoziierten Mortalität nach sechs Monaten. Ito und Barret konnten ebenfalls einen hohen ST2-Wert an Tag 28 als unabhängigen prognostischen Faktor für eine therapieassoziierte Mortalität an Tag 180 in einer multivarianten Analyse bestätigen. (Ito, Barrett, 2015) (Vander Lugt et al., 2013)

Weitere Studien mit insgesamt ca. 3.000 teilnehmenden Patienten ((Hartwell et al., 2017; McDonald et al., 2015; Zaid et al., 2017) haben die Korrelation zwischen der Höhe des ST2-Wertes, gemessen 2-3 Wochen nach Transplantation, mit der therapieassoziierten Mortalität validiert.

In der vorliegenden Dissertation kann diese klare Korrelation nicht nachvollzogen werden. Die statistische Auswertung zeigt keine signifikanten Unterschiede.

Im Vergleich mit allen oben genannten Studien, ist die Schwäche der vorliegenden Arbeit die kleinere Fallzahl. In den meisten größeren Studienkohorten, wie etwa bei Vander Lugt et al. oder bei Major-Monfried et al. wurden lediglich Patienten eingeschlossen, die eine GvHD entwickelten. (Vander Lugt et al., 2013) (Major-Monfried et al., 2018)

Wohingegen in der vorliegenden Dissertation prospektiv alle Patienten, die sich einer Stammzelltransplantation unterzogen, eingeschlossen wurden. Erschwerend kommt hinzu, dass in der Gruppe der therapieassoziiert verstorbenen Patienten an Tag 14 der Anteil der an Infektion Verstorbenen deutlich überwiegt und an Tag 28 die Hälfte der Gruppe ausmacht. Die sich hieraus ergebenden unterschiedlichen Vortestwahrscheinlichkeiten könnten eine gewisse Diskrepanz erklären. Aufgrund der ohnehin kleinen Fallzahlen war eine weitere Differenzierung zur statistischen Auswertung jedoch nicht sinnvoll.

5.3.9. Zusammenfassung ST2 und GvHD

Die Korrelation der ST2-Werte mit dem Konditionierungsregime (regulär vs. dosisreduziert) und die damit verbundene Notwendigkeit angepasster ST2-Werte konnte in dieser Studie bestätigt werden.

Das Bemerkenswerteste an der hier vorliegenden Untersuchung ist, dass trotz geringer Fallzahlen an Tag 28 eine klare und statistisch signifikante Korrelation mit steroidresistenten Verläufen der GvHD nachgewiesen werden konnte.

ST2 als prädiktiver Biomarker für schwere Verläufe der GvHD konnte in der Tendenz sowohl an Tag 14 als auch an Tag 28 bestätigt werden. In der Untersuchung zu den ST2-Werten im Zusammenhang mit dem Auftreten einer intestinalen GvHD zeigte sich interessanterweise eine deutlichere Korrelation an Tag 28 als an Tag 14. Wir führen dies darauf zurück, dass bei anhaltender intestinaler GvHD die ST2-Werte weiter steigen und somit die Korrelation deutlicher wird.

Im Gegensatz zur Literatur konnte jedoch in der vorliegenden Dissertation keine Korrelation des ST2-Wertes mit der therapieassoziierten Mortalität festgestellt werden. Dies mag an der kleinen Fallzahl und den Einschlusskriterien liegen und auch an der damit nicht möglichen Elimination verschiedener verzerrender Faktoren, wie etwa dem Konditionierungsregime.

Zudem stellt sich die Frage der „Number needed to test“. Auch weil die Korrelation mit dem Auftreten einer schweren GvHD, trotz erkennbarer Tendenz, keine Signifikanz zeigte. Somit zeigt die vorliegende Arbeit auf, dass der Marker ST2 wertvolle Informationen zum Verlauf einer GvHD nach SZT liefern kann, aber zur Risikostratifizierung allein nicht ausreicht.

Bereits 2018 hatten Major Monfried et al. einen Algorithmus aus ST2 und REG α genutzt um die Patienten mit GvHD sieben Tage nach Beginn der Steroidtherapie bzgl. des NRM-Risikos zu stratifizieren. Hier zeigt sich, dass der Algorithmus der zwei MAGIC-Biomarker (ST2 und REG α) den bislang klinisch genutzten Scores (Minnesota-risk und Steroidsensibilität nach sieben Tagen) signifikant überlegen ist. (Major-Monfried et al., 2018)

Srinagesh et al. zeigten, dass der durch das „Mount Sinai Acute GVHD International Consortium“ entwickelte Algorithmus MAP (auf Grundlage der beiden Biomarker ST2 und REG α) besser geeignet ist, das langfristige Outcome einer GvHD hervorzusehen als das klinische Ansprechen auf die Therapie. (Srinagesh et al., 2019)

Auch weitere potenzielle prognostische Faktoren wie IL6, TIM3 und sTNFR1 und TIM3, könnten in Kombination helfen, den Algorithmus zu stärken. Der Einschluss von mehr als zwei Markern in einen solchen Algorithmus ist jedoch aus Kostengründen in der Klinik nicht umsetzbar.

5.4. Mikrobiom und GvHD

5.4.3. Patientencharakteristika

Von den 24 untersuchten Patienten entwickelten vier (17%) keine GvHD, 20 (83%) entwickelten eine GvHD. Die Patientencharakteristika einer Vergleichsstudie von Jenq et al. sind im Folgenden tabellarisch der vorliegenden Dissertation gegenübergestellt. Bei Jenq et al wurden für die beiden Gruppen GvHD/keine GvHD etwa die gleiche Anzahl an Fällen ausgewertet, sodass der in unserer Studie deutlich höhere Anteil der GvHD auf das unterschiedliche Studiendesign zurückzuführen ist (Jenq et al., 2012).

	Vorliegende Dissertation		Jenq et al. 2012	
	Keine GvHD	GvHD	Keine GvHD	GvHD
Patienten	4 (17%)	20 (83%)	10	8
weiblich	1 (25%)	7 (35%)	4 (40%)	4 (50%)
männlich	3 (75%)	13 (65%)	6 (60%)	4 (50%)
Alter (Jahre)	46,5 (30-58)	54,9 (43 – 67)	58 (32-70)	52 (26-64)
Myeloablative Konditionierung	3 (75%)	16 (80%)	1 (10%)	3 (37,5%)
Reduzierte Konditionierung	1 (25%)	4 (20%)	6 (60%)	4 (50%)
Nichtmyeloablative Konditionierung	-	-	3 (30%)	1 (12,5%)

Tabelle 39 Patientencharakteristika im Vergleich mit der Studie (Jenq et al., 2012).

5.4.4. Eukaryonten und allogene Stammzelltransplantation

Die intestinale mikroeukaryontische Gemeinschaft zeigte in unserer Studie keine relevanten Unterschiede in der Biodiversität oder der Artenvielfalt zwischen den verschiedenen Zeitpunkten.

5.4.5. Prokaryonten und allogene Stammzelltransplantation

Die Diversität der Prokaryonten des intestinalen Mikrobioms verarmt im Laufe der allogenen Stammzelltransplantation. Der signifikante Abfall der Diversität des intestinalen Mikrobioms, früh nach allogener Stammzelltransplantation, häufig verbunden mit der Dominanz eines einzelnen Bakterientaxons, wurde bereits 2012 von Jenq et al. beschrieben. (Jenq et al., 2012) Taur et al. und Holler et al. konnten diese drastischen Veränderungen bestätigen. (Taur et al., 2014), (Holler et al., 2016)

Hino et al zeigten auf, dass die Verarmung des intestinalen Mikrobioms lange andauern kann. Auch 10 Jahre nach Stammzelltransplantation war das intestinale Mikrobiom der Patienten, im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe, signifikant weniger divers. Im zeitlichen Verlauf bis zu 10 Jahre nach Transplantation zeigte sich keine Verbesserung der Diversität. Das Mikrobiom der ehemaligen

Patienten blieb jedoch stabil gegenüber dem Einsatz von Antibiotika und gegenüber dem Einsatz von Probiotika. (Hino et al., 2023)

Unsere Ergebnisse untermauern diese in der Literatur beschriebenen Veränderungen der Diversität des intestinalen Mikrobioms im Rahmen der allogenen Stammzelltransplantation. Der drastische Diversitätsverlust zeigte sich bereits in der ersten Woche nach Stammzelltransplantation, mit einem p-Wert von 0,01 im Vergleich zum Niveau vor der Transplantation. Anschließend blieb das mikrobielle Diversitätsniveau stabil bis zum Zeitpunkt des Engraftments. Und zeigte anschließend eine leichte Erholungstendenz nach Tag 100, aber auch hier blieb die intestinale Diversität deutlich geringer als vor Transplantation.

Dies verdeutlicht erneut die Komplexität des Zusammenspiels des individuellen Mikrobioms mit dem Immunsystem. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die bereits bei der Geburt beginnende Auseinandersetzung der beiden Systeme, auch Jahre nach der Stammzelltransplantation nicht aufgeholt werden können.

5.4.6. Prokaryonten und Konditionierung

Taur et al. zeigten, dass Patienten, die eine myeloablative Konditionierung erhielten eine geringere Diversität aufwiesen als Patienten, die eine dosisreduzierte Konditionierung erhielten. Die Autoren konnten jedoch keinen Zusammenhang zwischen einem spezifischen Pharmakon oder der TBI (total body irradiation) und dem Gesundheitszustand des intestinalen Mikrobioms nachweisen. (Taur et al., 2014)

In der vorliegenden Studie wurde kein statistischer Zusammenhang zwischen der Art der Konditionierung (reduzierte vs. myeloablative Konditionierung) und der Diversität des intestinalen Mikrobioms festgestellt. Die fehlenden Zusammenhänge sind vermutlich auf die geringe Anzahl der Probanden in der Gruppe mit reduzierter Konditionierung zurückzuführen.

5.4.7. Prokaryonten und Mukositis

Wie in der Einleitung bereits beschrieben, hebt Sonis in seinem Modell zur Entwicklung einer Mukositis den Gesundheitszustand des Mikrobioms als wichtigen Faktor hervor. (Sonis, 2007)

Frey-Furtado et al. zeigen in ihrem Review, dass Patienten mit schwerer oraler Mukositis signifikante Veränderungen in der Zusammensetzung des oralen Mikrobioms aufweisen. Shouval et al. belegen, dass ein dysbiotischer Zustand mit reduzierter alpha-Diversität die Entwicklung einer schweren oralen Mukositis kennzeichnet. Beide Studien kommen zu der Schlussfolgerung, dass für die Entwicklung einer Mukositis die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft entscheidender ist als die alpha-Diversität. Die Autoren von Shouval et al. postulieren, dass es eine „bakterielle Signatur“ mit

Beteiligung von Pathobionten gibt, die die Entwicklung einer schweren Mukositis fördert. (Shouval et al., 2020) (Frey-Furtado et al., 2023).

Bislang fehlen publizierte Studien zu Veränderungen des Darmmikrobioms im Zusammenhang mit schwerer Mukositis. In unserer Studie wurde zum ersten Mal der mögliche Zusammenhang zwischen der alpha-Diversität des Darmmikrobioms und der Entwicklung einer Mukositis untersucht. Auf der Ebene der Diversität ergaben sich hierbei keine signifikanten Zusammenhänge. Die wissenschaftliche Literatur zum oralen Mikrobiom lässt vermuten, dass die alpha-Diversität nicht der optimale Parameter ist, um die vermuteten Zusammenhänge aufzudecken. Weitere Studien, die das intestinale Mikrobiom auf Stammesebene untersuchen, sind hierzu notwendig.

5.4.8. Prokaryonten und Engraftment

Es gibt ein enges Zusammenspiel des intestinalen Mikrobioms mit dem Immunsystem. Hieraus ergibt sich die Frage, inwiefern die Gesundheit der mikrobiellen Gemeinschaft und ein gelungenes Engraftment nach allogener Stammzelltransplantation zusammenhängen.

Taur et al. fanden keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Diversität des Mikrobioms und der Dauer bis zum Engraftment. Allerdings konnten die Autoren Verteilungsunterschiede des intestinalen Mikrobioms mit einem erfolgreichen Engraftment korrelieren. (Taur et al., 2014)

In der hier vorliegenden Studie konnte ebenfalls kein Zusammenhang zwischen der Biodiversität vor Stammzelltransplantation und der zeitlichen Dauer bis zum Engraftment festgestellt werden. Die Biodiversität in der ersten Woche nach Stammzelltransplantation zeigt jedoch einen Trend dahingehend, dass eine höhere Diversität des Mikrobioms mit einem schnelleren Engraftment zusammenhängen könnte ($p = 0,16$). Betrachtet man die Artenvielfalt, zeigte sich keine Korrelation in der Woche vor und nach der Stammzelltransplantation mit der Zeitspanne bis zum Engraftment. Betrachtet man jedoch die Artenvielfalt des intestinalen Mikrobioms zum Zeitpunkt des Engraftments, zeigt sich auch hier der Trend zu einer höheren Artenvielfalt bei den Patienten mit schnellerem Engraftment ($p = 0,17$).

Somit ergeben sich in der vorliegenden Studie deutliche Hinweise auf ein Zusammenspiel zwischen der Gesundheit des Mikrobioms und dem Engraftment. Ob nun ein guter Verlauf mit schnellem Engraftment eine schnellere Erholung des Mikrobioms nach sich zieht, oder ob ein gesünderes Mikrobiom zu einem schnelleren Engraftment führt, ist aus unseren Daten nicht ersichtlich. Um die gesehenen Tendenzen zu verifizieren, wären größere Studien oder eine ggf. auch eine Interventions-Studie notwendig.

5.4.9. Prokaryonten und schwere GvHD

In der Biodiversität des Mikrobioms zum Zeitpunkt der Transplantation zeigte sich bei Jenq et al. kein Unterschied zwischen jenen Patienten, die später eine GvHD entwickeln und jenen, die keine

entwickeln. Ab Tag 25 nach SZT war die alpha-Diversität des intestinalen Mikrobioms der Patienten mit GvHD deutlich reduziert. (Jenq et al., 2012)

In unserer Studie ergaben sich bezüglich der Diversität und der Artenvielfalt des intestinalen Mikrobioms zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen Patienten, die eine schwere GvHD (d.h. Grad 3 oder 4) entwickelten und Patienten, die eine leichte (d.h. Grad 1 oder 2) oder keine GvHD entwickelten.

Es gibt mehrere bekannte Risikofaktoren für die Entwicklung einer GvHD, hierzu gehören zum Beispiel die Anzahl der HLA-Mismatches und das Alter und Geschlecht des Patienten. Aufgrund der sehr geringen Anzahl von Patienten mit schwerer GvHD in unserer Studie konnten diese Faktoren jedoch in der Analyse nicht berücksichtigt werden.

Aufgrund der wenigen Daten, die wir zu diesem Teil der Studie erheben konnten, ist abschließend keine Aussage möglich, weder für noch gegen die Hypothese, dass die GvHD mit einer Reduktion der alpha-Diversität des intestinalen Mikrobioms zusammenhängt.

5.4.10. Prokaryonten und Mortalität

In der Studie von Taur et al. wurden die Patienten, anhand der intestinalen Diversität zum Zeitpunkt des Engraftments, in drei Gruppen aufgeteilt. Das Gesamtüberleben nach drei Jahren war zwischen den Gruppen signifikant unterschiedlich ($p = 0,19$, Log-Rank-Test) mit 36%, 60% und 67% für die niedrige, intermediäre und hohe Diversitäts-Gruppe. (Taur et al., 2014). Die bislang größte internationale Studie zu diesem Thema konnte den Zusammenhang zwischen einer niedrigen Diversität zum Zeitpunkt des Engraftments und einem erhöhten Mortalitätsrisiko ebenfalls bestätigen. (Peled et al., 2020)

In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass Patienten mit niedrigerer Diversität zum Zeitpunkt des Engraftments einen Trend zu höherer Gesamtmortalität aufwiesen ($p = 0,17$). Die Biodiversität vor und in der ersten Woche nach der Stammzelltransplantation hatte keinen Einfluss auf die Gesamtmortalität. Diese Ergebnisse bestätigen, trotz kleiner Fallzahl, die in der Literatur bereits dokumentierte Korrelation zwischen der intestinalen Diversität zum Zeitpunkt des Engraftments und der Gesamtmortalität.

6. Verzeichnisse

6.1. Abkürzungsverzeichnis

HLA	Humanes Leukozyten Antigen
CMV	Cytomegalovirus
CTC	Comon Toxicity Criteria
GvHD	Graft-versus-Host Disease
mHag	Minor-Histokompatibilitätsantigen
MHC	Major-Histokompatibilitätsantigen
PAMP	Pathogen-associated molecular pattern
DAMP	Danger-associated molecular pattern
TLR	Toll-like Rezeptoren
NK-Zelle	Natürliche Killerzelle
RNA	Ribonukleinsäure
BMI	Body-Mass-Index
GI-Trakt	Gastrointestinaltrakt
SZT	Stammzelltransplantation
NIH	National Institutes of Health
REG3 α	Regenerating islet-derived 3-alpha
TIM3	T-cell immunoglobulin mucin-3
ST2	Suppression of tumorigenivity-2
sST2	Löslicher ST2-Rezeptor
aGvHD	Akute Graft-versus-Host Disease
MAGIC	Mount Sinai Acute GvHD International Consortium
MAP	Mount Sinai Acute GVHD International Consortium Algorithm Probability
NRM	Non-relapse mortality
IL-33	Interleukin 33
CRP	C-reaktives Protein
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
LDH	Lactatdehydrogenase
BK-Virus	Humanes Polyomavirus 1
KÖF	Körperoberfläche
ATG	Antithymozytenglobulin
WHO	World Health Organisation
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ml	Milliliter
g	Gramm
min	Minuten
°C	Grad Celsius
rpm	Revolutions per minute
μ l	Mikroliter
HRP	Meerrettichperoxidase
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
TMB	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin
nm	Nanometer
AML	Akute myeloische Leukämie
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
CML	Chronische myeloische Leukämie
ALL	Akute lymphatische Leukämie
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
PV	Polycythaemia vera
a.e.	am ehesten
d.h.	das heißt
pg	Pikogramm
vs	versus
TP	Zeitpunkt, Time Point
HR	Hämatologische Rekonstruktion
bzgl	bezüglich
TBI	Total Body Irradiation
sTNFR1	Soluble tumor necrosis factor receptor 1
IL6	Interleukin 6
CD	Cluster of Differentiation

6.2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Gesamtüberleben nach Kaplan-Meier	18
Abbildung 2 Kreisdiagramm zu den Ursachen der Mortalität in den ersten 12 Monaten nach Stammzelltransplantation	18
Abbildung 3 Gesamtgrad der GvHD.....	19
Abbildung 4 Boxplot der ST2-Werte [pg/ml] an den Tagen null, 14 und 28.....	20
Abbildung 5 Boxplot der ST2-Werte [pg/ml] an Tag 14 bezogen auf das Konditionierungsregime	22
Abbildung 6 Boxplot der ST2-Werte an Tag 28 [pg/ml] bezogen auf das Konditionierungsregime	22
Abbildung 7 Boxplot der ST2-Werte an Tag 14 bezogen auf den Grad der GvHD.....	23
Abbildung 8 Boxplot der ST2-Werte an Tag 28 bezogen auf den Grad der GvHD.....	24
Abbildung 9 Boxplot der ST2-Werte an Tag 14 bei intestinaler Beteiligung der GvHD.....	25
Abbildung 10 Boxplot der ST2-Werte an Tag 28 bei intestinaler Beteiligung der GvHD.....	25
Abbildung 11 Boxplot der ST2-Werte an Tag 14 bezogen auf das Ansprechen auf eine Steroidtherapie	26
Abbildung 12 Boxplot der ST2-Werte an Tag 28 bezogen auf das Ansprechen auf eine Steroidtherapie	27
Abbildung 13 Deskriptive Statistik (Häufigkeiten): ST2-Werte [pg/ml] von Tag 14 und 28 bezogen auf die therapieassoziierte Mortalität.....	28
Abbildung 14 Boxplot der ST2-Werte an Tag 14 bezogen auf die therapieassoziierte Mortalität.....	28
Abbildung 15 Boxplot der ST2-Werte an Tag 28 bezogen auf die therapieassoziierte Mortalität.....	29
Abbildung 16 Boxplot zur Biodiversität der Eukaryonten anhand des Simpson Diversity Indexes; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	30
Abbildung 17 Boxplot zur Artenvielfalt der Eukaryonten anhand des Chao1 Richness Estimator, TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	31
Abbildung 18 Boxplot zur Artenvielfalt der Prokaryonten anhand des Chao1 Richness Estimator; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	32
Abbildung 19 Boxplot zur Biodiversität der Prokaryonten anhand des Simpson Diversity Indexes; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	33
Abbildung 20 Boxplot zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den beiden Gruppen reguläre Konditionierung und Konditionierung mit reduzierter Intensität zu TP 1,2,3 und 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	34
Abbildung 21 Boxplot zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) zwischen den beiden Gruppen reguläre Konditionierung und Konditionierung mit reduzierter Intensität zu TP 1,2,3 und 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	36
Abbildung 22 Boxplot zur Biodiversität der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator), gruppiert anhand des Mukositisgrades an den Zeitpunkten eins bis vier; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	37
Abbildung 23 Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator), leichte versus schwere Mukositis TP 1 bis 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17. ...	38
Abbildung 24 Kaplan-Meier Kurve zur hämatologischen Rekonstitution der Leukozyten nach niedriger und hoher Biodiversität in der ersten Woche nach Transplantation (TP2); low diversity definiert als Simpson Index zwischen 0,43 und 1,71; high diversity definiert als Simpson Index zwischen 1,72 und 3,89; TP 2 entspricht der ersten Woche nach Transplantation (Tag 1 bis Tag 7).....	39
Abbildung 25 Kaplan-Meier Kurve zur hämatologischen Rekonstitution der Leukozyten gruppiert nach der Artenvielfalt der Prokaryonten zum Zeitpunkt des Engraftments (TP3); niedrige Artenvielfalt (Chao1 Richness Estimator 102,1 – 161,8) hohe Artenvielfalt (Chao1RichnessEstimator 161,9 – 499,9); TP 3 Engraftment (Tag 21 bis 42).....	40
Abbildung 26 Boxplot zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den beiden Gruppen keine/leichte GvHD und schwere GvHD zu TP 1,2,3 und 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	41
Abbildung 27 Boxplot zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) der beiden Gruppen keine/leichte GvHD und schwere GvHD zu TP 1,2,3 und 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	43
Abbildung 28 Kaplan-Meier Kurve zur Gesamt mortalität nach niedriger und hoher Biodiversität vor Transplantation (TP1); low diversity definiert als Simpson Index zwischen 0,43 und 2,86; high diversity	

definiert als Simpson Index zwischen 2,87 und 3,89. TP1 entspricht der Woche vor Stammzelltransplantation (Tag -7 bis Tag -1)	44
Abbildung 29 Kaplan-Meier Kurve zur Gesamtmortalität gruppiert nach niedriger und hoher Biodiversität in der ersten Woche nach Transplantation (TP2) low diversity definiert als Simpson Index zwischen 0,43 und 1,71; high diversity definiert als Simpson Index zwischen 1,72 und 3,89; TP2 entspricht der Woche nach Transplantation (Tag 1 bis Tag 7)	44
Abbildung 30 Kaplan-Meier Kurve zur Gesamtmortalität gruppiert nach niedriger und hoher Biodiversität zum Zeitpunkt des Engraftments: low diversity definiert als Simpson Index zwischen 0,43 und 1,64; high diversity definiert als Simpson Index zwischen 1,65 und 3,89, TP 3 entspricht der Periode des Engraftments (Tag 21 bis 42)	45

6.3. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Organspezifische Gradeinteilung der GvHD	13
Tabelle 2 Gesamtstadium der GvHD	13
Tabelle 3 Gradeinteilung der Mukositis nach WHO-Skala	15
Tabelle 4 Patienten-Charakteristika	17
Tabelle 5 Häufigkeiten der GvHD nach Organsystemen (Prozente bezogen auf alle Patienten mit GvHD)	19
Tabelle 6 Deskriptive Statistik der ST2-Werte zu Tag null, 14 und 28	20
Tabelle 7 p-Werte des paarweisen Vergleichs durch die zweifaktorielle Varianzanalyse nach Friedman bei verbundenen Stichproben der ST2-Werte (Signifikanz –Niveau $\alpha = 0,05$)	20
Tabelle 8 p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests der ST2-Werte an Tag 14 und 28 bezogen auf das Konditionierungsregime; Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$	21
Tabelle 9 Deskriptive Statistik (Häufigkeiten): ST2-Werte [pg/ml] von Tag 14 und 28 bezogen auf das Konditionierungsregime	21
Tabelle 10 Deskriptive Statistik (Häufigkeiten): ST2-Werte [pg/ml] von Tag 14 und 28 bezogen auf das Auftreten einer schweren GvHD	23
Tabelle 11 p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests der ST2-Werte an Tag 14 und 28 bezogen auf die Entwicklung einer schweren GvHD (Signifikanz –Niveau $\alpha = 0,05$)	23
Tabelle 12 Deskriptive Statistik (Häufigkeiten): ST2-Werte [pg/ml] von Tag 14 und 28 bei intestinaler Beteiligung der GvHD	24
Tabelle 13 p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests der ST2-Werte an Tag 14 und 28 bei intestinaler Beteiligung der GvHD ($\alpha = 0,05$)	24
Tabelle 14 Deskriptive Statistik (Häufigkeiten): ST2-Werte [pg/ml] von Tag 14 und 28 bezogen auf das Ansprechen auf eine Steroidtherapie	26
Tabelle 15 p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests der ST2-Werte an Tag 14 und 28 bezogen auf das Ansprechen auf eine Steroidtherapie ($\alpha = 0,05$)	27
Tabelle 16 p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests der ST2-Werte bezogen auf die therapieassoziierte Mortalität (Signifikanz –Niveau $\alpha = 0,05$)	28
Tabelle 17 Zeitpunkte der Mikrobiomprobenentnahme mit Tag null definiert als Tag der SZT	29
Tabelle 18 Wilcoxon-Rangsummentest zur Biodiversität der Eukaryonten (Simpson Diversity Index): p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$) und Anzahl der verwerteten Proben, TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	30
Tabelle 19 Wilcoxon-Rangsummentest zur Artenvielfalt der Eukaryonten (Chao1 Richness Estimator): p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$) und Anzahl der verwerteten Proben; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	30
Tabelle 20 Wilcoxon-Rangsummentest zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator): p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$) und Anzahl der verwerteten Proben; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	31
Tabelle 21 Wilcoxon-Rangsummentest zur Diversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index): p-Werte (Signifikanz –Niveau $\alpha = 0,05$) und Anzahl der verwerteten Proben; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	32

Tabelle 22 Biodiversität der Prokaryonten anhand des Simpson Diversity Indexes und Konditionierungsregime; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	33
Tabelle 23 Mann Whitney-U-Test zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den beiden Gruppen reguläre Konditionierung und Konditionierung mit reduzierter Intensität: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha=0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment ;TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	34
Tabelle 24 Artenvielfalt der Prokaryonten und Konditionierungsregime; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	35
Tabelle 25 Mann Withney-U-Test zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) zwischen den beiden Gruppen reguläre Konditionierung und Konditionierung mit reduzierter Intensität: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha=0,05$) zu TP1,2,3 und 4; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	35
Tabelle 26 p-Werte des Mann-Withney U Testes zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Index) in Bezug auf den Grad der Mukositis; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	37
Tabelle 27 p-Werte des Mann-Whitney U Testes zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1Richness Estimators) je nach Grad der Mukositis; TP1 = Vor SZT; TP2 = Nach SZT; TP3 = Engraftment, TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	38
Tabelle 28 Mediane des Simpson Index der Prokaryonten zu TP1, TP2, TP3; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	39
Tabelle 29 Log-Rank-Test zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den zwei Gruppen Low Diversity und High Diversity bis zum Erreichen der hämatologischen Rekonstitution der Leukozyten (Signifikanz-Niveau $\alpha=0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	39
Tabelle 30 Log-Rank-Test zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) zwischen den zwei Gruppen niedrige Artenvielfalt und hohe Artenvielfalt bezogen auf den Endpunkt des Erreichens der hämatologischen Rekonstitution der Leukozyten (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	40
Tabelle 31 Diversität der Prokaryonten anhand des Simpson Diversity Indexes und Schweregrad der GvHD; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	41
Tabelle 32 Mann Withney-U-Test zur Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den Gruppen leichte/keine GvHD und schwere GvHD: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	41
Tabelle 33 Artenvielfalt der Prokaryonten anhand des Chao1 Richness Estimator und Schweregrad der GvHD; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment;a TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	42
Tabelle 34 Mann Withney-U-Test zur Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) zwischen den beiden Gruppen leichte/keine GvHD und schwere GvHD: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha = 0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.....	42
Tabelle 35 p-Werte des Log Rank Test zur Mortalität bezogen auf die Biodiversität der Prokaryonten (Simpson Diversity Index) zwischen den beiden Gruppen niedrige und hohe Diversität: p-Werte (Signifikanz-Niveau $\alpha=0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17. .	43
Tabelle 36 Mediane des Chao1 Richness Estimator der Prokaryonten zu den Zeitpunkten TP1, TP2 und TP3; TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	45
Tabelle 37 p-Werte des Log Rank Tests zur Mortalität bezogen auf die Artenvielfalt der Prokaryonten (Chao1 Richness Estimator) zwischen den beiden Gruppen niedrige und hohe Artenvielfalt: p-Werte (Signifikanz- Niveau $\alpha=0,05$); TP1 = vor SZT; TP2 = nach SZT; TP3 = Engraftment; TP4 = Tag 100, siehe auch Tabelle 17.	45
Tabelle 38 Kerndatenvergleich der vorliegenden Dissertation mit der Studie der Autoren Major-Monfried et al., 2018.....	46
Tabelle 39 Patientencharakteristika im Vergleich mit der Studie (Jenq et al., 2012).....	51

6.4. Literaturverzeichnis

1. Cayrol, C., Girard, J. P. (2022). Interleukin-33 (IL-33): A critical review of its biology and the mechanisms involved in its release as a potent extracellular cytokine. *Cytokine* 156: 155891.
2. Copelan, E. A. (2006). Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *New England Journal of Medicine*: 354: 1813–1826.
3. Einsele, H., Kanz, L. (1999). Allogene Stammzelltransplantation. *Internist* 40: 1249-1256
4. Ferrara, J. L. M., Levine, J. E., Reddy, P., Holler, E. (2009). Graft-versus-host disease. *Lancet (London, England)* 373: 1550–1561.
5. Frey-Furtado, L., Magalhães, I., Sampaio-Maia, B., & Azevedo, M. J. (2023). Oral microbiome characterization in oral mucositis patients—A systematic review. *Journal of Oral Pathology and Medicine* 52: 911-918
6. Garlanda, C., Dinarello, C. A., Mantovani, A. (2013). The Interleukin-1 Family: Back to the Future. *Immunity* 39: 1003-1018
7. Gyurkocza, B., Sandmaier, B. M. (2014) Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: One size does not fit all. *Blood* 124: 344-353
8. Hartwell, M. J., Özbek, U., Holler, E., Renteria, A. S., Major-monfried, H., Reddy, P., ... Ferrara, J. L. M. (2017). An early-biomarker algorithm predicts lethal graft-versus-host disease and survival. *JCI insight* 3: 124015
9. Hill, G. R., Ferrara, J. L. M. (2000). The primacy of the gastrointestinal tract as a target organ of acute graft-versus-host disease: Rationale for the use of cytokine shields in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 95: 2754–2759
10. Hino, A., Fukushima, K., Kusakabe, S., Ueda, | Tomoaki, Sudo, T., Fujita, J., Hosen, N. (2023). Prolonged gut microbial alterations in post-transplant survivors of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol* 201: 725–737. 64
11. Holler, E., Butzhammer, P., Schmid, K., Hundsruker, C., Peter, K., Zhu, W., ... Oefner, P. J. (2016). Metagenomic Analysis of the Stool Microbiome in Patients Receiving Allogeneic Stem Cell Transplantation: Loss. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 20: 640–645.
12. Holtan, S. G., Pasquini, M., Weisdorf, D. J. (2014). Acute graft-versus-host disease: a bench-to bedside update. *Blood* 124: 363–373.
13. Hudecek, M., Bartsch, K., Tschiedel, S., Niederwieser, D. (2008). Kleine Antigene – große Wirkung. *DMW - Deutsche Medizinische Wochenschrift*. 133: 1511–1516.
14. Ito, S., Barrett, A. J. (2015). ST2: The biomarker at the heart of GVHD severity. *Blood* 125: 10 11.
15. Jenq, R. R., Ubeda, C., Taur, Y., Menezes, C. C., Khanin, R., Dudakov, J. A., ... van den Brink, M. R. M. (2012). Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation. *Journal of Experimental Medicine* 209: 903–911.
16. Kaysen, A., Heintz-Buschart, A., Muller, E. E. L., Narayanasamy, S., Wampach, L., Laczny, C. C., ... Schneider, J. G. (2017). Integrated meta-omic analyses of the gastrointestinal tract microbiome in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Translational Research* 186: 79-94
17. Krüger, W., Rüssmann, B., Kröger, N., Salomon, C., Ekopf, N., Elsner, H.-A., ... Zander, A. R. (1999). Early infections in patients undergoing bone marrow or blood stem cell transplantation-a 7 year single centre investigation of 409 cases. *Bone Marrow Transplantation* 23: 589-597
18. Lalla, R. V., Bowen, J., Barasch, A., Elting, L., Epstein, J., Keefe, D. M., ... Zadik, Y. (2014). MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. *Cancer* 120: 1453-1461
19. Major-Monfried, H., Renteria, A. S., Pawarode, A., Reddy, P., Ayuk, F., Holler, E., Levine, J. E. (2018). MAGIC biomarkers predict long-term outcomes for steroid-resistant acute GVHD. *Blood* 131: 2846–

20. McDonald, G. B., Tabellini, L., Storer, B. E., Lawler, R. L., Martin, P. J., Hansen, J. A. (2015). Plasma biomarkers of acute GVHD and nonrelapse mortality: Predictive value of measurements before GVHD onset and treatment. *Blood* 126: 113–120.
21. McDonald, G. B., Tabellini, L., Storer, B. E., Lawler, R. L., Martin, P. J., & Hansen, J. A. (2015). Plasma biomarkers of acute GVHD and nonrelapse mortality: Predictive value of measurements before GVHD onset and treatment. *Blood* 126: 113–120.
22. Paczesny, S. (2021). Post-haematopoietic cell transplantation outcomes : why ST2 became a ‘ golden nugget ’ biomarker. *British Journal of Haematology* 192: 951–967.
23. Pasquini, M. C. (2008). Impact of graft-versus-host disease on survival. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 21: 193–204.
24. Paul, B., Barnes, S., Demark-Wahnefried, W., Morrow, C., Salvador, C., Skibola, C., Tollefsbol, T. O. (2015). Influences of diet and the gut microbiome on epigenetic modulation in cancer and other diseases. *Clinical Epigenetics* 7: 112.
25. Peled, J. U., Gomes, A. L. C., Devlin, E. R., Littmann, E. R., Taur, Y., Sung, A. D., ... Hashimoto, D. (2020). Microbiota as Mortality Predictor in Allogeneic Hematopoietic-Cell Transplantation. *The New England journal of medicine* 382: 822-834
26. Petersdorf, E. W. (2013). The major histocompatibility complex: a model for understanding graft versus-host disease. *Blood* 122: 1863–1872. 65
27. Ponce, D. M., Hilden, P., Mumaw, C., Devlin, S. M., Lubin, M., Giral, S., Barker, J. N. (2015). High day 28 ST2 levels predict for acute graft-versus-host disease and transplant-related mortality after cord blood transplantation. *Blood* 125: 199–205.
28. Popow, I., Leitner, J., Grabmeier-Pfistershammer, K., Majdic, O., Zlabinger, G. J., Kundi, M., Steinberger, P. (2013). A comprehensive and quantitative analysis of the major specificities in rabbit antithymocyte globulin preparations. *American Journal of Transplantation* 13: 3103–3113.
29. Przepiorka, D., Weisdorf, D., Martin, P., Klingemann, H. G., Beatty, P., Hows, J., Thomas, E. D. (1995). 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplantation* 15: 825–828.
30. Reichenbach, D. K., Schwarze, V., Matta, B. M., Tkachev, V., Lieberknecht, E., Liu, Q., ... Blazar, B. R. (2015). The IL-33/ST2 axis augments effector T-cell responses during acute GVHD. *Blood* 125: 3183-3192
31. Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M., Finlay, B. B. (2010). Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiological Reviews* 90: 859–904
32. Shono, Y., Docampo, M. D., Peled, J. U., Perobelli, S. M., Jenq, R. R. (2015). Intestinal microbiota-related effects on graft-versus-host disease. *International Journal of Hematology* 101: 428-437
33. Shouval, R., Eshel, A., Dubovski, B., Kuperman, A. A., Danylesko, I., Fein, J. A., ... Koren, O. (2020). Patterns of salivary microbiota injury and oral mucositis in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood advances* 4: 2912-2917
34. Sonis ST. (2007) Pathobiology of oral mucositis: novel insights and opportunities. *The journal of supportive oncology* 5: 3-11
35. Srinagesh, H. K., Kapoor, U., Ayuk, F., Aziz, M., Ben-David, K., Choe, H. K., ... M Ferrara, J. L. (2019). The MAGIC algorithm probability is a validated response biomarker of treatment of acute graft-versus-host disease. *Blood advances* 3: 4034-4042
36. Staffas, A., Burgos da Silva, M., R.M. van den Brink, M. (2017) The intestinal microbiota in allogeneic hematopoietic cell transplant and graft-versus-host disease. *Blood* 129: 927-933
37. Taur, Y., Jenq, R. R., Perales, M.-A., Littmann, E. R., Morjaria, S., Ling, L., ... Pamer, E. G. (2014). The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 124: 1174–1182.

38. Vander Lugt, M. T., Braun, T. M., Hanash, S., Ritz, J., Ho, V. T., Antin, J. H., ... Paczesny, S. (2013). ST2 as a Marker for Risk of Therapy-Resistant Graft-versus-Host Disease and Death. *New England Journal of Medicine* 369: 529–539.
39. Warren, E. H., Zhang, X. C., Li, S., Fan, W., Storer, B. E., Chien, J. W., ... Hansen, J. A. (2012). Effect of MHC and non-MHC donor/recipient genetic disparity on the outcome of allogeneic HCT. *Blood* 120: 2796–2806.
40. World Health Organization. (1979). WHO Handbook for reporting results of cancer Treatment. Geneva: WHO.
41. Zaid, M. A., Wu, J., Wu, C., Logan, B. R., Yu, J., Cutler, C., ... Choi, S. W. (2017). Plasma biomarkers of risk for death in a multicenter phase 3 trial with uniform transplant characteristics post-allogeneic HCT. *Blood* 129: 162-170.
42. Zeiser, R., Penack, O., Holler, E., Idzko, M. (2011). Danger signals activating innate immunity in graft-versus-host disease. *Journal of Molecular Medicine* 89: 833–845. 66
43. Zeiser, R., & Blazar, B. R. (2017). Acute Graft-versus-Host Disease - Biologic Process, Prevention, and Therapy. *The New England journal of medicine* 377: 2167–2179.

7. Publikation/ Dank

7.1. Publikation

Teile der hier verwendeten Daten zur Auswertung des Mikrobioms sind bereits in der Studie „Integrated meta-omic analyses of the gastrointestinal tract microbiome in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation“ publiziert worden. (Kaysen et al., 2017)

7.2. Dank

An dieser Stelle möchte ich mich bei Allen bedanken, die zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen haben insbesondere:

PD Dr. med. Jörg Bittenbring der mir das Thema zu dieser Dissertation überließ. Seine Begeisterung für dieses Thema, seine Diskussionsbereitschaft und Geduld waren mir eine große Hilfe.

Zudem möchte ich mich bei Dr. Anne Kaysen für die gute Zusammenarbeit bedanken. Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Dipl.-Stat. Gudrun Wagenpfeil, Manuela Faust und Sigrun Clausen für die kompetente Beratung und Unterstützung. Mein herzlicher Dank gilt auch den Patient*Innen die an dieser Studie teilgenommen haben.

Mein persönlicher Dank gilt meiner Familie, ohne deren Unterstützung und Motivation während der letzten Jahre wäre diese Dissertation nicht möglich gewesen.

8. Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

Tag der Promotion: 10.04.2026

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Matthias Hannig

Berichterstatter: PD Dr. Jörg Bittenbring

Prof. Dr. Martina Sester