

AUS DEM LEHRSTUHL FÜR INNERE MEDIZIN III
PROF. DR. MED. WOLFGANG HERR

DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**β-Defensine im Serum und Komplikationen nach allogener
Stammzelltransplantation**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Charlotte Mayer

2017

AUS DEM LEHRSTUHL FÜR INNERE MEDIZIN III
PROF. DR. MED. WOLFGANG HERR

DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**ß-Defensine im Serum und Komplikationen nach allogener
Stammzelltransplantation**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Charlotte Mayer

2017

Dekan: **Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert**

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Ernst Holler

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Thomas Hehlsgans

Tag der mündlichen Prüfung: 14.02.2018

INHALTSVERZEICHNIS

1 Einleitung.....	1
1.1 Allogene Stammzelltransplantation	1
1.2 Akute GvHD	4
1.3 Chronische GvHD	7
1.4 GvHD und das Mikrobiom	7
1.5 Humanes β -Defensin 2	10
1.6 Zielsetzung der Arbeit	13
2 Patienten und Methoden	13
2.1 Patientenkollektiv	15
2.2 Vorgehen der statistischen Auswertung.....	16
3 Ergebnisse.....	17
3.1 Verlaufskurven der β -Defensin 2- Werte.....	17
3.2 Einfluss von TRM, Konditionierung, Infektionen und ATG Gabe auf die β -Defensin 2-Werte	23
3.3 ATG-Dosisabhängigkeit des β -Defensin 2	26
3.4 CRP an Tag 0 bei Patienten mit bzw. ohne ATG-Gabe	28
3.5 Korrelation von CRP und β -Defensin 2 an Tag 0.....	29
3.6 CRP, LDH, ANC und β -Defensin 2	31
3.7 Grunderkrankungen und β -Defensin 2.....	33
3.8 β -Defensin 2 und Maximalgrad der akuten GvHD im Zeitraum d14-85	35
3.9 β -Defensin 2 und aGvHD der Haut, Leber, Darm im Zeitraum d14-85	38
3.10 Maximalwerte der β -Defensine im Zeitraum d180-360 und Maximalgrad der chronischen GvHD.....	42
3.11 β -Defensin 2-Werte und TRM	43
3.12 β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD und akute GvHD der Haut bei TRM ja/nein.....	44
4 Diskussion.....	46
4.1 Verlaufskurven des β -Defensin 2	46
4.2 β -Defensin 2 und GvHD	48
4.3 CRP und LDH	52
4.4 β -Defensin 2 und TRM	52

4.5	Nicht signifikante Ergebnisse	52
5	Zusammenfassung	53
6	Literaturverzeichnis.....	56
7	Anhang.....	62
7.1	Abkürzungsverzeichnis	62
7.2	Abbildungsverzeichnis	63
7.3	Tabellenverzeichnis	64
7.4	Danksagung	66

1 Einleitung

1.1 Allogene Stammzelltransplantation

Für eine Vielzahl von hämatologischen und nicht hämatologischen Erkrankungen ist die allogene Stammzelltransplantation (SZT) ein etablierter Therapieansatz und oftmals die einzige Möglichkeit für eine vollständige Heilung.¹

Laut Bericht der *European Society of Blood and Marrow Transplantation* (EBMT) wurden im Jahr 2014 16.946 allogene Stammzelltransplantationen gemeldet. Die häufigsten Indikationen waren Leukämien, lymphatische Neoplasien sowie solide Tumoren.²

1957 beschrieben Edward Donnall Thomas und Joseph Ferrebee den ersten Versuch einer allogenen Knochenmarktransplantation beim Menschen. Sechs Patienten erhielten nach Bestrahlung und Chemotherapie intravenös Knochenmark von Spendern. Nur zwei der Patienten hatten ein zeitweiliges Engraftment, keiner der Patienten überlebte länger als 100 Tage.^{3,4} Und trotzdem hielt Thomas an diesem radikal neuen Ansatz der Krebstherapie fest. Da wenig bekannt war über Histokompatibilität wurde nicht versucht Spender und Empfänger sorgfältig aufeinander abzustimmen. Erst Anfang der sechziger Jahre kam die erfolgreiche Idee des *Matchings* auf, sodass Thomas mit Kollegen schließlich begann eine rudimentäre Typisierung der Histokompatibilität am Hund zu entwickeln. Bei den meisten Hunden, die nach ausreichender Bestrahlung Grafts mit gematchten-Leukozyten-Antigenen von Wurfgeschwistern sowie eine kurze Phase der Immunsuppression erhielten, konnte ein Langzeitüberleben verzeichnet werden.⁴ Etwa zur gleichen Zeit, Mitte der 60er Jahre, wurden die ersten Methoden zur *human leukocyte antigen*-Bestimmung entwickelt. Dies bedeutete den Durchbruch für die heutige SZT.⁴

Voraussetzung für eine erfolgreiche Transplantation ist das Finden eines kompatiblen Spenders mit übereinstimmenden HLA-Merkmalen. Die humanen Leukozyten-Antigene sind richtungweisend für eine Abstoßung oder ein erfolgreiches Anwachsen eines Transplantats. Außerdem sind sie entscheidend für die *Graft-versus-Host-Disease* (GvHD) sowie die Graft-versus-Leukemia Reaktion.¹

Der Haupthistokompatibilitätskomplex („*major histocompatibility complex*“, MHC) wird beim Menschen als Humanes Leukozyten Antigen-System (HLA-System) bezeichnet und setzt sich aus einer Vielzahl von Genen zusammen.⁵

HLA-Antigene sind in der Lage zwischen körpereigenen und körperfremden Strukturen zu unterscheiden. Es gibt zwei Klassen von HLA-Molekülen: Die Peptidbindungsstelle der Klasse I-Antigene bindet hauptsächlich endogen synthetisierte Peptide wie Auto-Antigene oder virale Proteine, während die Klasse II-Antigene exogene Peptide binden. HLA-Klasse I Antigene befinden sich an der Oberfläche kernhaltiger Zellen und auf Thrombozyten, das Vorkommen der HLA-Klasse II Antigene ist weitestgehend auf B-Lymphozyten, Makrophagen und Dendritische Zellen beschränkt.^{6,7}

HLA-Klasse I Moleküle mit gebundenem Peptid werden von CD8⁺-zytotoxischen T-Zellen erkannt, beladene HLA-Klasse II Moleküle werden von CD4⁺-T-Helferzellen erkannt.¹

Jeder Mensch besitzt zwei – ein mütterliches und ein väterliches HLA-Merkmal – pro Genort. Dem HLA-System liegt ein außergewöhnlicher Polymorphismus zu Grunde. Dessen biologischer Sinn lässt sich wie folgt erklären: Liegen viele verschiedenen MHC Phänotypen vor, so ist die Spezies als Ganzes gesehen gegen sämtliche Erreger gewappnet, denn mit großer Wahrscheinlichkeit besitzt ein Individuum der Population die Fähigkeit das Peptid binden und somit das Antigen des Krankheitserregers dem Immunsystem präsentieren zu können.⁶

Für die Transplantationsmedizin birgt der Polymorphismus des HLA-Systems eine große Herausforderung. Unter Berücksichtigung der molekularbiologisch bisher erfassbaren Allele sind theoretisch 16.763.573.736.000 Genotypen denkbar. Im Median kann nach etwa 20 Tagen ein geeigneter Spender gefunden werden.¹ Bei der Suche nach einem Stammzellspender muss die serologische Bestimmung der HLA-Klasse I- und II- Merkmale des Patienten erfolgen.¹ In Deutschland bedarf es mindestens der molekularbiologischen Übereinstimmung der HLA-A und –B-Allele sowie der HLA-DRB1 und –DQB1-Allele von Spender und Empfänger.¹

Das Stammzelltransplantat kann aus drei verschiedenen Quellen gewonnen werden: aus Knochenmark, aus dem peripheren Blut nach Stimulation mit hämatopoetischen Wachstumsfaktoren und aus Nabelschnurblut.¹

Laut *Center for International Blood and Marrow Transplant Research Database* wurden von 2002 bis 2006 bei allogenen SZT von Patienten älter als 20 Jahre bei

74% peripheres Blut, bei 24% Knochenmark und bei 2% Nabelschnurblut als Stammzellquelle genutzt.⁸

Die Einführung der peripheren Blutstammzelltransplantation (PBSZT) 1986 hat die Knochenmarkstransplantation (KMT) bei allogenen Stammzelltransplantationen zu etwa 75% ersetzt.⁸

Der indirekte Beweis für die Migration von Stammzellen ins periphere Blut zeigte sich 1951 in so genannten „shielding experiments“; bei Experimenten an Mäusen konnte gezeigt werden, dass nach eigentlich tödlicher Ganzkörperbestrahlung Stammzellen aus dem mit Bleischildern abgeschirmten hämatopoetischen Gewebe der Milz wieder ins periphere Blut abgegeben wurden und schließlich das zerstörte Knochenmark wieder aufgebaut werden konnte.^{8–10} Experimentell stellte Goodmann 1962 die periphere Blutstammzelltransplantation in der Maus dar.¹¹

Doch klinisch realisierbar wurde die PBSZT erst mit der Entdeckung von *granulocyte colony-stimulating factor* (G-CSF). G-CSF – ursprünglich eingesetzt bei Neutropenien unter Chemotherapie – ist in der Lage den Pool an zirkulierenden hämatopoetischen Stammzellen anzureichern, indem es CD34⁺/38⁻ hämatopoetische Vorläuferzellen aus dem Knochenmark ins periphere Blut mobilisiert.¹²

Bis in die Mitte der neunziger Jahre wurde die allogene PBSZT trotzdem nicht als ernsthafte Alternative durchgeführt, da man annahm, dass das periphere Blut als Stammzellquelle mit 10-fach höherem Anteil an T-Zellen ein erhöhtes Risiko einer schweren GvHD barg. Außerdem zögerte man, gesunde Spender mit G-CSF zur Stammzellmobilisation zu behandeln, weil man das Auslösen einer malignen hämatologischen Erkrankung befürchtete.⁸

Die ersten klinischen Studien von erfolgreichen allogenen PBSZT zeigten 1995, dass Befürchtungen eine schwere GvHD auszulösen nicht bestätigt werden konnten, die Inzidenz der akuten GvHD (aGvHD) glich der von Patienten nach KMT. Ebenso konnte kein unvertretbares Risiko für mit hämatopoetischen Wachstumsfaktoren behandelte Spender gefunden werden.^{8,13–15} Allerdings geht die PBSZT mit einer leicht erhöhten Rate an chronischer GvHD einher.^{16–18}

1.2 Akute GvHD

Die akute *graft-versus-host disease* (GvHD) ist eine akute nach allogener Stammzelltransplantation auftretende Reaktion des Spenderimmunsystems („*graft*“) gegen das Gewebe des Empfängers („*host*“). Da bei der allogenen Stammzelltransplantation die blutbildenden Zellen und mit ihnen auch die Immunität des Spenders übertragen wird, besteht trotz bzw. nach Absetzen der immunsuppressiven Therapie die Gefahr einer GvHD, indem die Immunzellen des Spenders das Gewebe des Empfängers als immunologisch fremd erkennen. Die akute GvHD betrifft die Organsysteme Haut, Darm und Leber. Fast alle Zielorgane sowohl der akuten als auch der chronischen GvHD stellen epitheliale Barrieren dar. Histologisch liegt bei der akuten GvHD eine apoptotische Schädigung eben dieser Epithelzellen, nämlich von Keratinozyten, Darm- sowie Gallengangsepithel vor, begleitet von einer Infiltration durch Lymphozyten und inflammatorischen Zellen.¹

Typischerweise treten die Symptome der aGvHD bis Tag 100 nach Stammzelltransplantation auf, nach dosisreduzierter Konditionierung und nach Gabe von Spenderlymphozyten aber auch später („late-onset acute GvHD“). Meist fallen Beginn der aGvHD und *Engraftment* des Transplantats zeitlich zusammen.^{1,18–20}

Etwa 35%-50% der allogen Transplantierten entwickeln eine aGvHD.¹⁸ Der Grad der akuten GvHD wird anhand der Schwere der einzelnen Organmanifestation sowie der Kombination der betroffenen Organe ermittelt. Die Haut ist am häufigsten und meist auch als erstes Organ von der aGvHD betroffen, dies manifestiert sich mit makulopapulösen Ausschlägen bis hin zu Hautablösungen mit Blasenbildung.^{1,18,21}

Eine aGvHD, die sich gegen den Darm bzw. Gastrointestinaltrakt des Empfängers richtet, zeigt sich typischerweise in großvolumigen Diarrhöen. Ist die Leber Zielorgan der aGvHD, so liegen erhöhte Bilirubinwerte vor. Schwierig stellt sich häufig eine Abgrenzung zu anderen möglichen Differentialdiagnosen der aGvHD wie beispielsweise medikamentös-toxische Schädigungen (Arzneimittelinduziertes Exanthem, medikamenteninduzierte Cholestase) oder viralen Erkrankungen (Diarrhöen durch Enteroviren) dar, weshalb neben der klinischen Diagnose eine histologische Klärung anhand eines Biopsats nötig sein kann.^{1,18}

Organstadien sowie Gesamt-Grad der akuten GvHD werden nach Glucksberg festgelegt.²²

Tabelle 1: Organstadien der aGvHD nach Glucksberg

Stadium	Haut	Darm	Leber
0	Kein Exanthem	Diarrhöen <0,5l	Bilirubin <2mg/dl
1	Exanthem bis 25% der Körperoberfläche	Diarrhöen 0,5-1,0l	Bilirubin 2-3mg/dl
2	Exanthem 25-50%	Diarrhöen 1-1,5l	Bilirubin 3-6mg/dl
3	Generalisiertes Exanthem	Diarrhöen >1,5l	Bilirubin 6-15mg/dl
4	Hautablösungen mit Blasenbildung	Zusätzlich Koliken, Ileus und Blutungen	Bilirubin >15mg/dl

Tabelle 2: Gesamtgrad der aGvHD nach Glucksberg

Grad	Haut	Darm	Leber
I (leicht)	1-2	0	0
II (mäßig)	1-3	1	1
III (schwer)	2-3	2-3	2-3
IV (lebensbedrohlich)	2-4	2-4	2-4

Eine GvHD resultiert aus der Aktivierung von Donor-T-Lymphozyten. Der pathophysiologische Vorgang der aGvHD kann in drei Phasen eingeteilt werden. In Phase I kommt es durch die Konditionierung des Patienten zur Schädigungen am Gewebe des Empfängers. Dadurch werden sämtliche proinflammatorische Zytokine wie IL-6,-1 und TNFalpha ausgeschüttet, sodass die antigenpräsentierenden Zellen (APC) des Empfängers aktiviert werden. Dies führt zu Phase II, denn die APC aktivieren nun die Donor-T-Lymphozyten. In der dritten Phase wird durch die T-Zellen die Produktion weiterer gewebeschädigender Mediatoren wie zytotoxische T-Lymphozyten, TNFalpha etc. vorangetrieben. TNFalpha, hauptsächlich von Monozyten und Makrophagen produziert, ist ein wichtiger Akteur in der Pathophysiologie der GvHD: Der TNFalpha Rezeptor induziert die Apoptose des Zielgewebes; Makrophagen, Neutrophile, Eosinophile, B- sowie T-Zellen werden dadurch aktiviert, ebenso wie die Produktion inflammatorischer Zytokine weiter vorangetrieben wird. Daneben erfolgt eine direkte zytotoxische Epithelschädigung durch CD8⁺-Zellen und ihre zytotoxische Effektormoleküle Granzym und Perforin.^{1,18,21}

Da die Donor-T-Zellen Haupteffektorzellen einer GvHD sind, werden Methoden der T-Zell-Depletion genutzt, um die Last der T-Zellen im Transplantat zu verringern. Dies geschieht als GvHD-Prophylaxe seit Anfang der achtziger Jahre mit Hilfe von Anti-Thymozyten-Globulin (ATG) durch in-vivo T-Zell Depletion. ATG wird vor allem dann zur Prophylaxe eingesetzt, wenn durch die Verwendung nicht-HLA-identer Fremdspender eine erhöhte Gefahr der GvHD befürchtet wird. Eine Reduktion der Inzidenz von GvHD kann dadurch erreicht werden, auf der anderen Seite kommt es vermehrt zu Abstoßungsreaktionen des Transplantats und zur Verminderung des *Graft-versus-Leukemia* Effekts, der ebenfalls T-Zell vermittelt ist.^{1,23}

Schwere und Ausmaß der aGvHD sind von unterschiedlichen Faktoren abhängig. Dazu gehören Abweichungen im Histokompatibilität zwischen Spender und Empfänger, T-Zell Dosis, Art der Konditionierung und Immunsuppression. Hauptursache der Aktivierung des Immunsystems bei der GvHD sind Unterschiede im Histokompatibilitätskomplex von Donor und Empfänger. Aber auch Chemotherapie und Bestrahlung tragen zu dieser Aktivierung bei, indem sie durch die Schädigung des Darmepithels dazu führen, dass der Organismus mit mikrobiellen Produkten konfrontiert wird, die sich in der Regel im Inneren des Darmlumens befinden. Faktoren wie erhöhtes Alter sowohl des Empfängers als auch des Spenders, sowie unterschiedliches Geschlecht erhöhen ebenfalls das Risiko einer GvHD.^{18,21,24,25}

Zur Therapie der aGvHD ist eine zusätzliche immunsuppressive Therapie zur ohnehin bereits bestehenden Immunsuppression indiziert. Zur Primärtherapie wird Prednisolon eingesetzt, welches antiinflammatorisch und hemmend auf die Zytokinproduktion wirkt sowie zur Apoptose in Lymphozyten führt. Zur Zweitlinientherapie kommen weitere Immunsuppressiva wie Mycophenolatmofetil sowie polyklonale und monoklonale Antikörper zum Einsatz.¹

Wichtig zu beachten ist, dass die GvHD an sich in nur etwa 10-20% der GvHD-Fälle die Todesursache nach allogener Stammzelltransplantation darstellt. Vielmehr führt die GvHD zusammen mit der therapiebedingten Immunschwäche zu potenziell lebensbedrohlichen, schweren viralen und mykotischen Infektionen. So bedeutet eine Verschärfung der immunsuppressiven Therapie gleichzeitig auch immer eine Erhöhung des Risikos für schwerwiegende Infektionen durch Verstärkung der Immundefizienz. Entsprechend ist eine antivirale und mykotische prophylaktische Abdeckung unerlässlicher Bestanteil der GvHD-Therapie.¹

1.3 Chronische GvHD

Als Langzeitkomplikation nach allogener Stammzelltransplantation ist die chronische GvHD zu nennen. Sie ist die Hauptursache für *Nonrelapse Mortalität* von Patienten zwei Jahre nach SZT.²⁶ Von Patienten, die 100 Tage nach SZT leben, entwickeln bis zu 60% der Patienten, die HLA-identes Knochenmark von Geschwistern bekamen, und 70% der Patienten, die eine alternative Knochenmarkspende erhielten, eine cGVHD.^{26–28}

Die Unterscheidung zwischen akuter und chronischer GvHD kann nicht alleine anhand der Zeitspanne nach SZT gemacht werden, denn eine akute GvHD kann sich ohne die pathognomonischen Charakteristika der chronischen GvHD nach Tag 100 nach SZT manifestieren, so wie eine chronische GvHD auch vor Tag 100 nach SZT auftreten kann. Die mediane Zeit, nach der es zur Diagnose der cGvHD kommt, beträgt 4,5 Monate bei HLA-identer Geschwister-Transplantation und 4 Monate bei Transplantation Nicht-Verwandter.^{26,28}

Klinisch manifestiert sich die cGvHD hauptsächlich mit Dermatitis, Keratokonjunktivitis, Mukositis, Sicca-Symptomatik und Leberfunktionsstörungen. Bei schwerer Erkrankung können sich Malabsorption, ösophageale und vaginale Strikturen sowie pulmonale Schädigungen zeigen.^{29,30}

Die chronische GvHD kann sich aus einer akuten GvHD entwickeln, entweder im direkten Übergang (*progressive*) oder nach einem krankheitsfreiem Intervall (*quiescent*), aber auch eine Entstehung der cGvHD *de novo* ist möglich. Als Risikofaktoren für das Auftreten einer cGvHD gelten neben der akuten GvHD, das Patientenalter sowie der Einsatz von Blutstammzellen als Stammzellquelle anstelle von Knochenmark. Hohes Alter bei Erhalt der Stammzellen und eine bereits durchgemachte aGvHD sind die größten Risikofaktoren.^{1,21,29–31}

1.4 GvHD und das Mikrobiom

Das angeborenen Immunsystems (*innate immunity*) ist an der Pathophysiologie der Graft-versus-Host Erkrankung nach allogener Stammzelltransplantation maßgeblich beteiligt. Der erste Schritt ist dabei die Auseinandersetzung der Immunabwehr mit

der bakteriellen Flora: Physiologischerweise besteht hier eine tolerante Situation gegenüber den körpereigenen Bakterien, die aber bei vielen Erkrankungen, so auch nach allogener SZT, gestört ist und dann durch die Triggerung massiver Entzündungsreaktionen abgelöst wird.

Haut, Leber und Darm, die Zielorgane der aGvHD, sind alle gegenüber Mikroorganismen exponiert; sei es durch Epidermis, Darmschleimhaut oder die portalvenöse Blutzirkulation.³¹

Unter normalen Bedingungen hält das intestinale Epithel eine intakte Barriere aufrecht und verhindert so das Eindringen von Bakterien. Außerdem produzieren die Paneth-Zellen des Darms verschiedene antimikrobielle Proteine, beispielsweise alpha-Defensine, die Pathogene abtöten können. Diese intakte Barrierefunktion wird jedoch durch Ganzkörperbestrahlung (TBI) und Chemotherapie, im Rahmen der Konditionierung vor allogener SZT empfindlich getroffen und geschwächt. Darmbakterien und bakterielle Bestandteile (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) dringen so ins Gewebe ein.³²

Es konnte gezeigt werden, dass Entzündungsreaktionen des erworbenen Immunsystems wie die aGvHD durch die Interaktion zwischen den Mikrobiom-assoziierten molekularen Mustern, den sogenannten PAMPs, und PRRs (pathogen recognition receptors) beeinflusst werden. PAMPs sind charakteristisch für pathogene Erreger wie Bakterien, Viren und Pilze und werden durch PRRs wie *NOD-like* Rezeptoren (NLR) und *Toll-like* Rezeptoren (TLR) erkannt.³³ NLRs sind Bestandteil zahlreicher Signalkaskaden, die an der Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1 β sowie an der Zellapoptose beteiligt sind. Entscheidend für den Anstoß der Entzündungsreaktion im Rahmen einer aGvHD ist die Aktivierung von PRRs durch mikrobielle Produkte (PAMPs), die durch die intestinale Flora produziert werden. Die Stimulation der PRRs führt zur Transkription von inflammatorischen Genen und Produktion von Zytokinen, sodass eine Entzündungsreaktion, Leukozytenmigration, Präsentation von Host-Antigenen und schließlich eine „Antihost-Reaktion“ der Donor-T-Zellen folgt.³¹

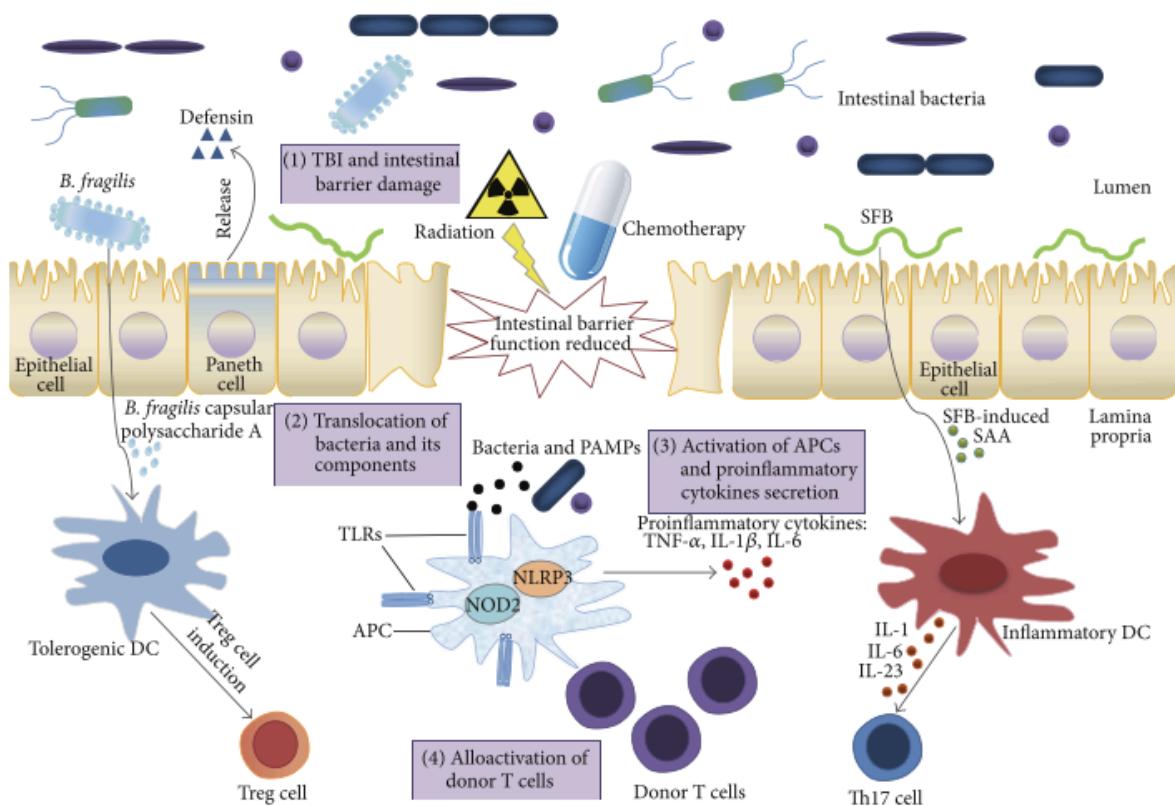


Abbildung 1: „Schematic of the role of microbiota in graft-versus-host disease in the gut“ aus Chen, Y., Zhao, Y., Cheng, Q., Wu, D. & Liu, H. The Role of Intestinal Microbiota in Acute Graft-versus-Host Disease. *J. Immunol. Res.* 2015, 145859 (2015)

Die Darmflora ist ein komplexes System, das eine wichtige Rolle in der Immunabwehr spielt. Studien zeigen, dass Abweichungen der Darmflora mit verschiedensten entzündlichen Erkrankungen verknüpft sind, auch die akute GvHD gehört dazu.^{32,34–37}

Das intestinale mikrobielle Milieu wird aktiv durch die Paneth-Zellen reguliert, indem diese antimikrobielle Peptide, hauptsächlich alpha-Defensine, produzieren.^{32,38}

Eriguchi et al. konnten 2012 am Mausmodell zeigen, dass sich die GvHD gegen Paneth-Zellen richtet. So zeigt sich eine deutliche Reduktion der Expression von antimikrobiellen Peptiden, was zu einem Verlust der Vielfalt der intestinalen, mikrobiellen Flora führt.³⁸ Es findet ein Shift von Kammensalen hin zu überwiegend gram-negativen Bakterien statt, die Infektionen und Sepsis verursachen können.³⁸

Jenq et al. befasste sich 2012 mit dem Einfluss von Entzündungsprozessen auf die intestinale, mikrobielle Flora nach allogener Knochenmarktransplantation. Sie stellten dar, dass Mäuse, die keine GvHD nach Knochenmarktransplantation erlitten, kaum Veränderungen in der Vielfalt der intestinalen Flora aufwiesen, bei Mäusen mit GvHD präsentierte sich jedoch ein dramatischer Verlust der bakteriellen

Vielfalt während der ersten zwei Wochen nach Knochenmarktransplantation.³⁹ Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch beim Menschen; Patienten mit GvHD wiesen ein Verlust der Breite der mikrobiellen Flora auf. Des Weiteren fand man eine Zunahme an Milchsäurebakterien (Lactobacillales) und einen Verlust von Clostridien. Patienten, die erst später eine GvHD entwickelten, zeigten aber schon früh nach KMT ein verändertes Mikrobiom. So schlussfolgert Jenq et al., dass eine frühe Veränderung der mikrobiellen Flora das Risiko für eine spätere GvHD erhöht.³⁹

1.5 Humanes β -Defensin 2

Das humane β -Defensin 2 gehört zur Familie der β -Defensine, eine Gruppe kleiner (4-6 kDa), kationischer Peptide.^{40,41} Als antimikrobielle Peptide sind β -Defensine Bestandteil des angeborenen Immunsystems. Die Produktion von hBD2 erfolgt im Gegensatz zur Produktion von hBD1 nicht konstitutiv sondern als Reaktion auf Mikroben und Entzündungen.^{42,43}

Humanes β -Defensin 2 wird von Epithelzellen der Haut, des Gastrointestinaltrakts, des Urogenitaltrakts und des Bronchialsystems produziert.^{41,42}

Duits et al. stellte 2002 dar, dass hBD2 von Alveolarmakrophagen sowie von aus Monozyten differenzierten Makrophagen gebildet wird. Auch die Annahme, dass Monozyten als Vorläufer der Alveolarmakrophagen Produktionsort des hBD2 sind, konnte von Duits et al bestätigt werden.⁴⁴ In der Haut sind die Keratinozyten der Epidermis der Hauptproduktionsort von hBD2.⁴⁵ Dort wird es von den Keratinozyten und Epithelzellen als Antwort auf proinflammatorische Stimuli wie IL-1, TNF α und Lipopolysaccharide (LPS) gebildet.⁴³ Als Produktionsorte des hBD2 sind also zusammenfassend Epithelzellen, Monozyten und Makrophagen zu nennen.

β -Defensine sind – ähnlich wie auch die Defensine der anderen Klassen – in der Lage mit den Zellwänden mikrobieller Organismen zu interagieren und diese zu schädigen. So können potenzielle pathogene Erreger wie gram-positive und gram-negative Bakterien, bekapselte Viren und Pilze abgetötet werden.⁴⁶ Die Zytokinsekretion von mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC) wird durch hBD2 induziert. So ist es in der Lage die Ausschüttung von IL-6, IL-8 und IL-10 zu fördern. Außerdem wird IL-1 β durch hBD2 hochreguliert, sodass eine weitere hBD2-Expression in den Epithelzellen stattfindet.⁴⁶ Des Weiteren induziert hBD2 die Aktivierung und Degranulation von Mastzellen, wodurch Histamin und Prostaglandin D₂ freigesetzt werden.⁴²

hBD2 wirkt außerdem chemotaktisch auf unreife Dendritische Zellen, T-Gedächtniszellen und TNF α markierte/aktivierte neutrophile Granulozyten. Dies geschieht hauptsächlich über den CC-chemokine receptor 6(CCR6).^{42,47,48}

β -Defensine sind also nicht nur Teil der angeborenen Immunreaktion, sondern stellen durch ihre Interaktion mit Dendritischen Zellen, T-Zellen und Neutrophilen eine wichtige Verbindung zwischen angeborenem- und erworbenem Immunsystem dar. So sind sie in der Lage, Komponenten des erworbenen Immunsystems bei Infektionen und Entzündungen zu mobilisieren und zu verstärken.⁴³⁻⁴⁷

Die Produktion von hBD2 wird durch das NOD2 Protein (Nucleotide-binding oligomerization domain protein) induziert.⁴¹ Das NOD2 Protein ist ein Bestandteil des angeborenen Immunsystems, indem es als PRR fungiert und insbesondere bakterielle Muramyl-Dipeptide erkennt.⁴¹ NOD2 wird hauptsächlich in APC wie Monozyten/Makrophagen produziert,^{41,49} jedoch auch in spezialisierten intestinalen Epithelzellen wie den Paneth-Zellen sowie in anderen Epithelzellen.^{41,50-53} Es besteht eine starke Assoziation zwischen Mutationen von SNPs des NOD2/CARD15 Gens und schwerer GvHD, GvHD des Darms und TRM nach allogener SBT.⁵⁴

Tabelle 3: Übersicht β -Defensine

Aktivität von β-Defensinen (hBD 1-3)
<ul style="list-style-type: none"> • antimikrobiell • Degranulation von Mastzellen, Induktion von Histamin und Prostaglandin D₂ Produktion ⁴² • Chemotaktische Wirkung auf <ul style="list-style-type: none"> ⇒ unreife dendritische Zellen ⁴² ⇒ T-Gedächtniszellen ⁴² ⇒ TNFα markierte Neutrophile ⁴⁷ • hBD2 induziert Zytokine ^{46 45} <ul style="list-style-type: none"> ⇒ IL-6,-8,-10,-1β
Produktions-/Induktionsorte von hBD2
<ul style="list-style-type: none"> • Monozyten ⁴⁴ • Makrophagen ⁴⁴ • Keratinozyten ⁴⁵ • Epithelzellen der Haut und Schleimhäute ⁴², Alveolarzellen/Alveolarmakrophagen ⁴⁴
hBD2 wird induziert durch proinflammatorische Stimuli
<ul style="list-style-type: none"> • IL-1 ⁴³ • IL-17 ^{41,55} und IL-22 ^{41,56} • TNFα ⁴³ • Lipopolysaccharide (LPS) ⁴³

1.6 Zielsetzung der Arbeit

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Beteiligung des angeborenen Immunsystems, insbesondere des humanen β -Defensin 2, an der Pathophysiologie der Graft-versus-Host Erkrankung nach allogener Stammzelltransplantation.

Die Immunabwehr muss sich mit der bakteriellen Flora auseinandersetzen: Physiologischerweise besteht hier eine tolerante Situation gegenüber den karmensalen Bakterien, die aber bei vielen Erkrankungen gestört ist und dadurch massive Entzündungsreaktionen ausgelöst werden. Auch bei der GvHD gibt es Hinweise, dass das Mikrobiom und eine dysregulierte Immunregulation gegen dieses einen ersten Schritt in der Pathophysiologie darstellt und diese gestörte antibakterielle Immunantwort ein höheres Risiko für eine schwere GvHD birgt.

Ein möglicher Mechanismus, der zu mehr Inflammation beitragen könnte, ist eine veränderte Produktion antibakterieller Peptide, so genannter Defensine, die im Epithel und von Entzündungszellen produziert werden und eine wichtige erste Abwehrreihe darstellen. Bereits erste Mauseexperimente weisen auf eine Verminderung der Defensine bei GvHD-Tieren hin.³⁸

Ziel dieser Arbeit ist es, die bisher wenig bekannte Bedeutung des humanen β -Defensin 2 in der allogenen Stammzelltransplantation zu untersuchen. Dabei sollen die Fragen welchen Einfluss Konditionierung, Vortherapie und Grunderkrankung auf die Defensinwerte haben sowie die Frage nach der Assoziation zwischen hBD2-Werten und Komplikationen wie Infektionen, akute GvHD, chronische GvHD und behandlungs-assoziierte Mortalität beantwortet werden.

2 Patienten und Methoden

In der vorliegenden Studie wurden 66 Patienten untersucht, bei denen im Zeitraum von März 2008 bis März 2010 eine allogene Stammzelltransplantation im Universitätsklinikum Regensburg in der Abteilung für Hämatologie und internistische Onkologie durchgeführt wurde. Drei Patienten wurden retransplantiert, sodass die Studie 69 Fälle umfasst.

Im Vorfeld wurde bei den Patienten das im Serum zirkulierende humane β -Defensin 2 mittels ELISA, beginnend vor der Konditionierung bis Tag 360 nach Stammzelltransplantation, gemessen. Alle β -Defensinwerte sind in pg/ml angegeben.

Folgende klinische und laborchemische Daten wurden retrospektiv aus standardisierten Verlaufsbögen erhoben:

- Patientenstammdaten (Alter bei Transplantation, Geschlecht)
- Grunderkrankung
- Datum der Stammzelltransplantation
- Art der Konditionierung
- ATG Dosis
- Steroiddosis
- CRP
- LDH
- ANC (absolute neutrophile count)
- TRM
- Gesamtgrad und Organstadium der akuten GvHD
- Gesamtgrad und Organstadium der chronischen GvHD
- Blutkultur positive, dokumentierte Infektion

Die Gradeinteilung der akuten GvHD erfolgte nach den Kriterien von Glucksberg.²² Es wurden die jeweiligen Zeiträume von d-10 (vor Konditionierung) und d360 nach Transplantation untersucht. Dabei wurden Zeitspannen zu normierten Tagen (dNorm) zusammengefasst:

- dNorm -10: vor Konditionierung
- dNorm 0: Tag der Stammzelltransplantation
- dNorm 7: umfasst die Tage 5-7
- dNorm 14: umfasst die Tage 12-16
- dNorm 21: umfasst die Tage 20-25
- dNorm 28: umfasst die Tage 27-30
- dNorm 44: umfasst die Tage 40-50
- dNorm 85: umfasst die Tage 69-100
- dNorm 180: umfasst die Tage 155-212
- dNorm 360: umfasst die Tage 260-473

Es wurde für jeden Fall der Maximalwert der β -Defensine in den Zeiträumen dNorm 7-21, dNorm 28-85 und dNorm 180-360 ermittelt.

2.1 Patientenkollektiv

Tabelle 4: Patientencharakteristika

Beobachtungszeitraum: März 2008 bis März 2010

Fallzahl	69
Geschlecht	
Männlich	39 (56,5%)
Weiblich	30 (43,5%)
Alter bei Transplantation	17 - 66 Jahre (Mittel: 47,15 Jahre)
Grunderkrankung	
Akute Leukämie	38 (55,1%)
Chronische Leukämie	3 (4,3%)
Maligne Lymphome	21 (30,4%)
MDS	5 (7,2%)
MPS	2 (2,9%)
TRM	
Ja	18 (26,1%)
Nein	51 (73,9%)
Konditionierung	
RIC	53 (76,8%)
Standard	16 (23,2%)
ATG Gabe	
Ja	46 (66,7%)
nein	23 (33,3%)

2.2 Vorgehen der statistischen Auswertung

Die gesammelten Daten wurden in das Statistikprogramm SPSS 20 übertragen und damit statistisch ausgewertet.

Die Mittelwertunterschiede bei Gruppenvergleichen wurden mittels t-Test bzw. Mann-Whitney-Test für unverbundene Stichproben berechnet.

Als Signifikanzniveau wurde $\alpha=0,05$ festgelegt.

Es wurden Verlaufskurven der β -Defensinwerte von dNorm -10 bis dNorm 360 erstellt.

Die Daten wurden nach den Kriterien TRM, ATG Gabe, blutkulturpositive, dokumentierte Infektion und Art der Konditionierung in Gruppen aufgeteilt und die Mittelwerte der β -Defensinwerte jedes normierten Tages mittels t-Test verglichen.

Weiterhin wurde die ATG- Dosisabhängigkeit der β -Defensinwerte untersucht. Dafür wurden die Gruppen „keine ATG Gabe“, „ $\leq 30\text{mg/kg}$ “, „ $> 30\text{mg/kg}$ “ gebildet und die β -Defensinwerte der Gruppen durch den Mann-Whitney-Test verglichen.

Die β -Defensinwerte wurden im Hinblick auf CRP, LDH, absolute Neutrophilenzahl (ANC) und die bestehenden Grunderkrankungen der Patienten mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests untersucht. Die Korrelation von CRP und β -Defensin 2 wurde für den Tag 0 errechnet.

Weiter wurden die Werte des β -Defensin 2 im Bezug auf die akute und chronische GvHD nach Stammzelltransplantation betrachtet.

Dazu wurde zunächst für jeden Fall der maximal erreichte Grad der aGvHD ermittelt und so die Gruppen Maximalgrad 0/I, Maximalgrad II, Maximalgrad III/IV gebildet. Die β -Defensinwerte von dNorm 14-85 der einzelnen Gruppen wurden untereinander mittels Mann-Whitney-Test verglichen.

Außerdem wurden die β -Defensinwerte an den Tagen dNorm 14-85 hinsichtlich der Organbeteiligung der akuten GvHD untersucht. Gruppen wurden nach den Kriterien nach Glucksberg²² gebildet.

Ähnlich wurde mit der chronischen GvHD verfahren. Hier wurde als Maß des maximal erreichten Grades der chronischen GvHD die Behandlungsbedürftigkeit der

Patienten mit cGvHD herangezogen, sodass die Gruppen keine/milde cGvHD (=keine Behandlungsbedürftigkeit) und moderate/severe cGvHD (=Behandlungsbedürftigkeit) gebildet wurden. Nun wurden die Maxima der β -Defensinwerte im Zeitraum dNorm 180-360 der zwei Gruppen mit dem Mann-Whitney-Test verglichen.

Im Anschluss wurde die Art der TRM in folgende Gruppen unterschieden: GvHD, Infektion ohne GvHD, Lungenbeteiligung und andere Ursachen (toxisch, etc.). Die Maximalwerte des β -Defensin 2 im Zeitraum d28-85 wurden dann im Bezug auf die unterschiedlichen Arten der TRM mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests verglichen.

Abschließend wurden die β -Defensinwerte zu Beginn einer akuten GvHD bzw. einer akuten GvHD der Haut bei Patienten mit bzw. ohne TRM betrachtet. Es erfolgte eine Varianzanalyse (ANOVA) der β -Defensin 2- Werte zwischen den Gruppen TRM *ja/nein*.

3 Ergebnisse

3.1 Verlaufskurven der β -Defensin 2- Werte

In Abbildung 2 sind die β -Defensin 2-Mittelwerte, die beginnend vor der Konditionierung (dNorm-10) bis Tag 360 nach Stammzelltransplantation (dNorm 360) gemessen wurden, für jeden der normierten Tage dargestellt.

In den weiteren graphischen Darstellungen (Abbildungen 3 bis 5) wird der Verlauf der β -Defensinwerte an den einzelnen normierten Tagen im Bezug auf die Charakteristika TRM *ja/nein*, Art der erfolgten Konditionierung sowie ATG-Gabe *ja/nein* gezeigt. Bei der Art der Konditionierung wurde zwischen den Gruppen *R/C* (dosisreduzierte Konditionierung) und *Standard* unterschieden. Patienten, die eine Ganzkörperbestrahlung (TBI) mit einer Dosis von acht oder mehr Gray im Rahmen der Konditionierung erhalten haben, wurden in die Gruppe *Standard* aufgenommen. Patienten der Gruppe *R/C*, die also eine dosisreduzierte Konditionierung erhalten haben, wurden hauptsächlich mit FBM (N=24), Fludarabin plus Treosulfan (N=11) oder FLAMSA-RIC \pm TBI bis 4Gray (N=9) auf die allogene Stammzelltransplantation vorbereitet. Eine Übersicht über die angewandten Konditionierungen gibt Tabelle 5.

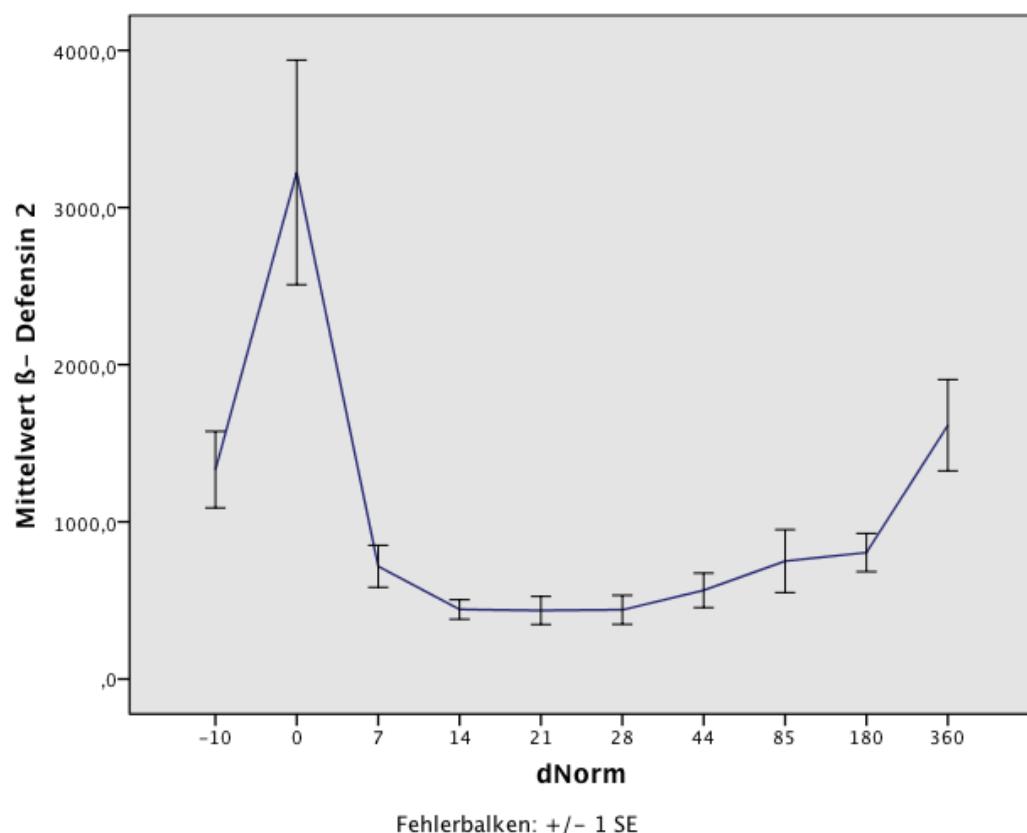


Abbildung 2: Verlaufskurve der β -Defensin 2- Werte

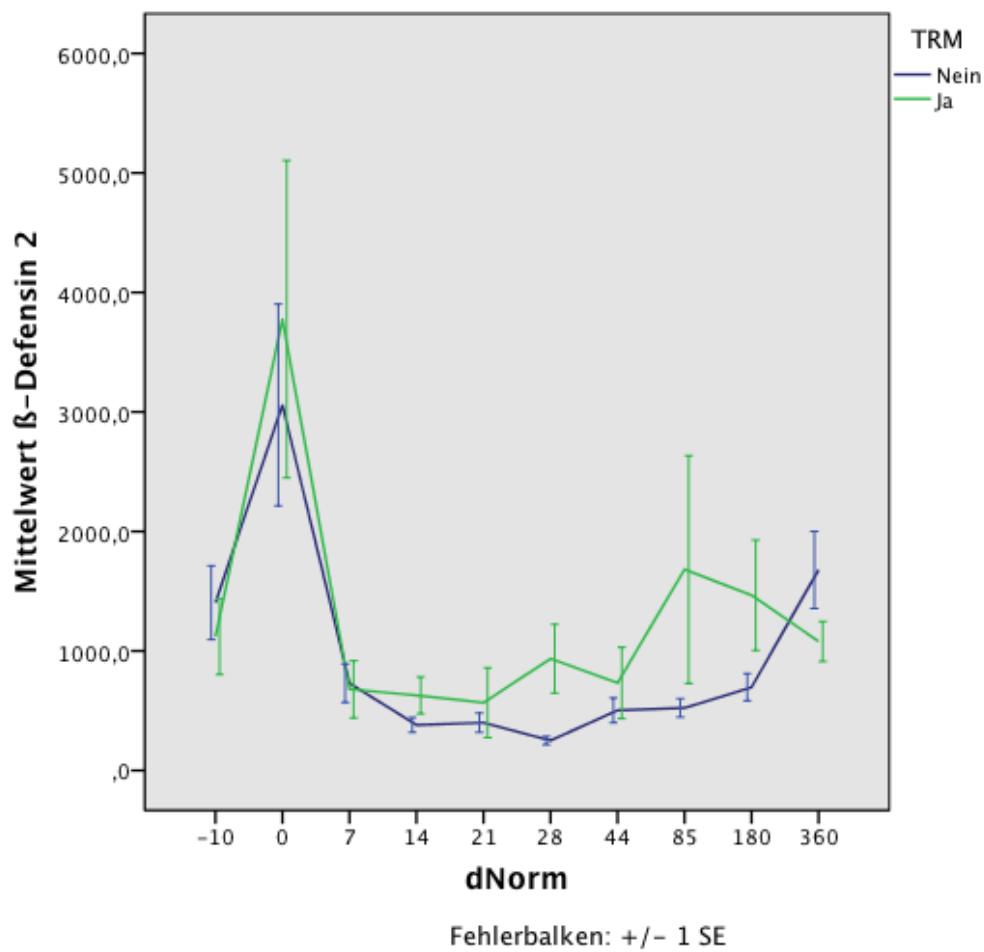


Abbildung 3: Verlaufskurve der β -Defensin 2-Werte und TRM Gabe

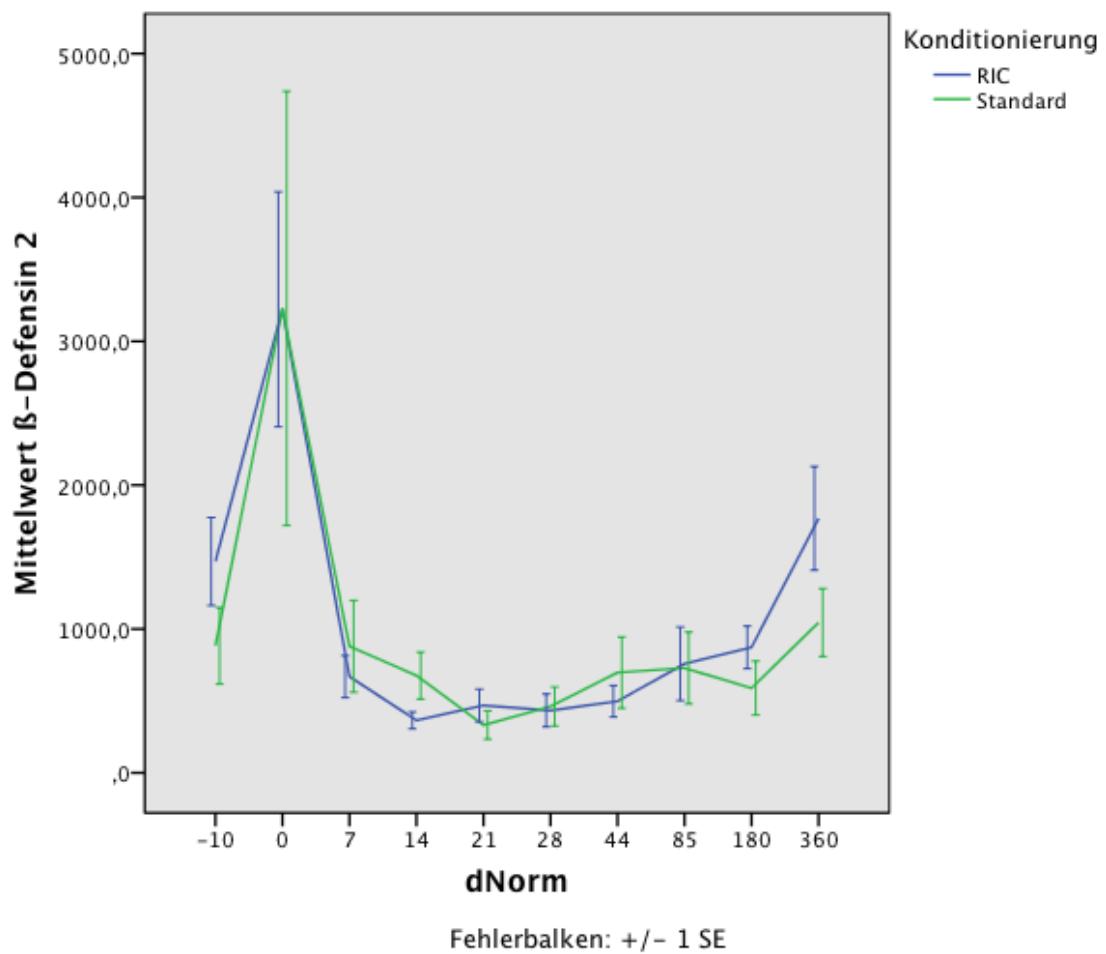


Abbildung 4: Verlaufskurve der β-Defensin-2-Werte und Konditionierung

Tabelle 5: Übersicht Konditionierung

Standard	
12 Gray TBI + Cyclophosphamid	N=4
12 Gray TBI + Etoposid (VP16)	N=2
8 Gray TBI + Fludarabin/F-ara	N=3
8 Gray TBI + Fludarabin + Cyclophosphamid	N=6
8 Gray TBI + Fludarabin + Melphalan	N=1
Gesamt	N=16
RIC	
FBM	N=24
FLAMSA RIC	N=9
FLAMSA-RIC + Cyclophosphamid + 4Gray TBI	N=2
FLAMSA-RIC + Busulfan	N=2
Fludarabin + Treosulfan	N=13
Fludarabin + Cyclophosphamid + 2Gray TBI	N=2
Fludarabin + Treosulfan + CyA/MTX	N=1
Gesamt	N=53

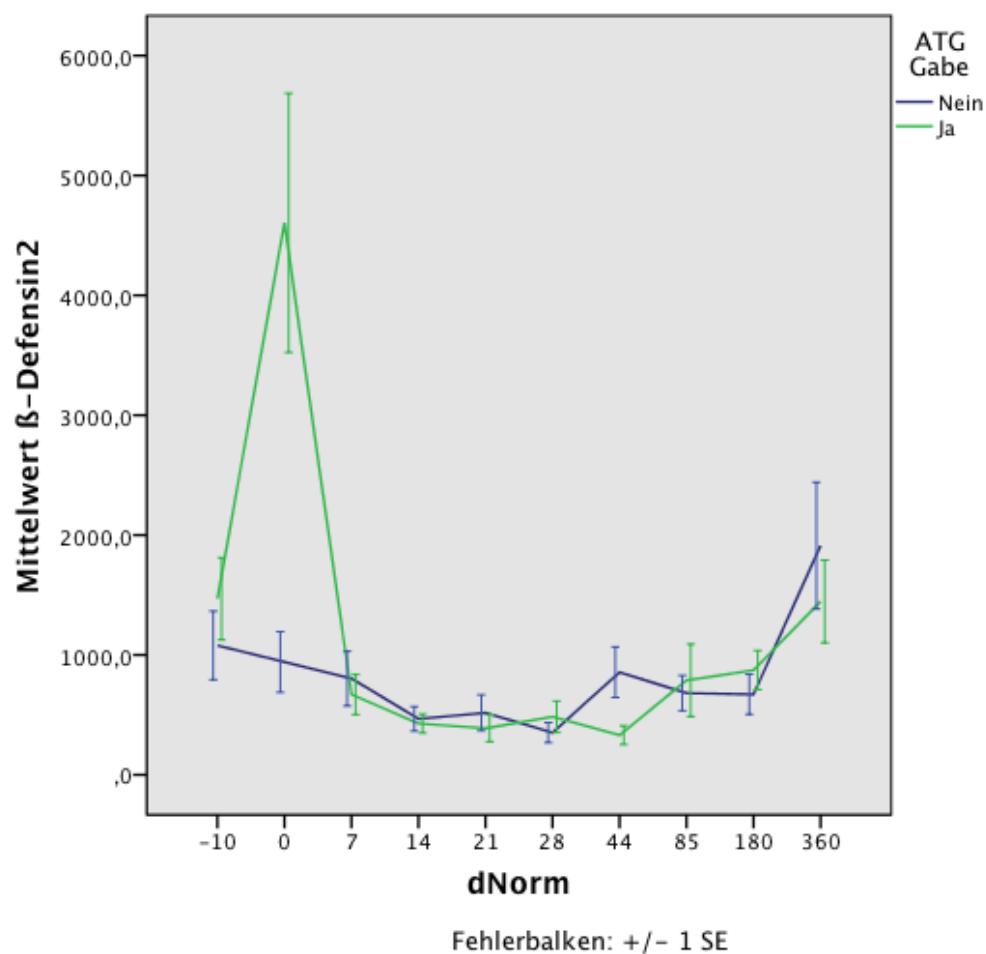


Abbildung 5: Verlaufskurve der β -Defensin 2-Werte und ATG Gabe

3.2 Einfluss von TRM, Konditionierung, Infektionen und ATG Gabe auf die β -Defensin 2-Werte

Die erhobenen Daten wurden in Gruppen anhand der Charakteristika Treatment-related mortality (TRM) *ja/nein*, Konditionierung RIC/Standard, blutkulturpositive, dokumentierte Infektion *ja/nein*, ATG-Gabe *ja/nein* eingeteilt, sodass anschließend Mittelwertunterschiede der β -Defensin 2-Werte an den einzelnen normierten Tage (dNorm) mittels t-Test errechnet werden konnten.

Der Unterschied der hBD2-Mittelwerte zwischen den Gruppen TRM *ja/nein* ist an d28 signifikant mit P=0,032 (Tabelle 6).

Ein signifikanter Unterschied (P=0,003) der hBD2-Werte zwischen den Gruppen ATG *ja/nein* ist an d0 erkennbar (Tabelle 9).

Tabelle 6: β -Defensinwerte bei TRM *ja/nein*

dNorm	β -Defensin 2 Mittelwerte bei TRM			Signifikanz (p-Wert)
	ja	N=15	1119,813	
-10	ja nein	N=45	1403,693	0,618
0	ja nein	N=14 N=47	3776,279 3058,932	0,677
7	ja nein	N=16 N=49	679,744 730,173	0,873
14	ja nein	N= 16 N=48	628,394 380,966	0,154
21	ja nein	N=13 N=46	566,785 399,435	0,442
28	ja nein	N=15 N=39	935,360 249,821	0,032
44	ja nein	N=12 N=33	732,725 503,282	0,359
85	ja nein	N=11 N=45	1681,873 523,047	0,253
180	ja nein	N=7 N=43	1467,129 696,819	0,157
360	ja nein	N=5 N=42	1079,560 1678,400	0,530

Tabelle 7: β -Defensinwerte bei Konditionierung RIC/Standard

dNorm	β -Defensin 2 Mittelwerte bei Konditionierung			Signifikanz (p-Wert)
-10	RIC Standard	N=46 N=14	1469,352 883,800	0,314
0	RIC Standard	N=49 N=12	3222,208 3229,125	0,997
7	RIC Standard	N=50 N=15	669,160 879,760	0,512
14	RIC Standard	N=48 N=16	364,943 676,463	0,088
21	RIC Standard	N=45 N=14	468,682 332,250	0,521
28	RIC Standard	N=41 N=13	433,298 462,169	0,895
44	RIC Standard	N=30 N=15	497,980 697,440	0,395
85	RIC Standard	N=42 N=14	758,031 728,600	0,950
180	RIC Standard	N=38 N=12	872,732 589,108	0,325
360	RIC Standard	N=37 N=10	1768,646 1045,070	0,313

Tabelle 8: β -Defensinwerte bei Blutkultur positiver, dokumentierter Infektion ja/nein

dNorm	β -Defensin 2 Mittelwerte bei blutkulturpositiver, dokumentierter Infektion			Signifikanz (p-Wert)
7	ja nein	N=11 N=52	509,636 711,238	0,575
14	ja nein	N=8 N=54	500,963 410,540	0,625
21	ja nein	N=8 N=49	891,175 336,382	0,291
28	ja nein	N=10 N=42	328,810 454,048	0,603
44	ja nein	N=13 N=31	441,008 630,748	0,443
85	ja nein	N=15 N=40	1234,440 571,915	0,371
180	ja nein	N=11 N=35	536,836 835,966	0,277
360	ja nein	N=5 N=42	566,880 1739,433	0,216

Tabelle 9: β -Defensinwerte bei ATG Gabe ja/nein

dNorm	β -Defensin 2 Mittelwerte bei ATG Gabe				Signifikanz (p-Wert)
0	ja	N=40	4387,64		0,003
	nein	N=21	1006,29		
7	ja	N=43	670,67		0,639
	nein	N=22	803,76		
14	ja	N=42	428,15		0,762
	nein	N=22	467,28		
21	ja	N=39	388,21		0,490
	nein	N=20	517,20		
28	ja	N=37	484,43		0,402
	nein	N=17	351,89		
44	ja	N=27	331,17		0,028
	nein	N=18	856,09		
85	ja	N=38	788,96		0,800
	nein	N=18	681,77		
180	ja	N=35	939,24		0,438
	nein	N=15	688,65		
360	ja	N=31	1445,91		0,446
	nein	N=16	1912,54		

3.3 ATG-Dosisabhängigkeit des β -Defensin 2

Nachdem ein signifikanter Unterschied der β -Defensin Werte der Gruppen ATG *ja/nein* an d0 festgestellt wurde (Tabelle 9), wurde die ATG-Dosisabhängigkeit auf hBD2 an Tag 0 betrachtet.

An Tag 0 liegen insgesamt 61 β -Defensinwerte vor. Es wurden die Gruppen keine ATG Gabe (N=23), $\leq 30\text{mg/kg}$ (N=21) und $> 30\text{mg/kg}$ (N=16) gebildet. Außerdem liegt eine kleine Gruppe (N=1) vor, die den monoklonalen Antikörper Campath erhalten hat. Die unterschiedlichen Dosisgruppen wurden dann mittels Mann-Whitney U-Test verglichen. Der Unterschied zwischen den Gruppen ohne ATG Gabe und denen mit $\leq 30\text{mg/kg}$ sowie $> 30\text{mg/kg}$ ist signifikant (Tabelle 11).

Tabelle 10: Häufigkeitstabelle ATG Dosis und β -Defensinwerte

ATG Dosis	N	β -Defensin 2-Werte an d0						
		Mittelwert	Standard-abweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum
					Unter-grenze	Obergrenze		
Keine ATG Gabe	23	940,76	1211,36	252,59	416,93	1464,60	92,6	4007,0
$\leq 30\text{mg/kg}$	21	4861,32	7698,28	1679,90	1357,10	8365,54	254,9	24146,0
$> 30\text{mg/kg}$	16	4499,46	5449,55	1360,14	1600,40	7398,53	106,2	19923,0
Andere (Campath)	1	(921,10)	-	-	-	-	(921,1)	(921,1)
Gesamt	61	3223,57	5581,34	714,62	1794,12	4653,02	92,6	24146,0

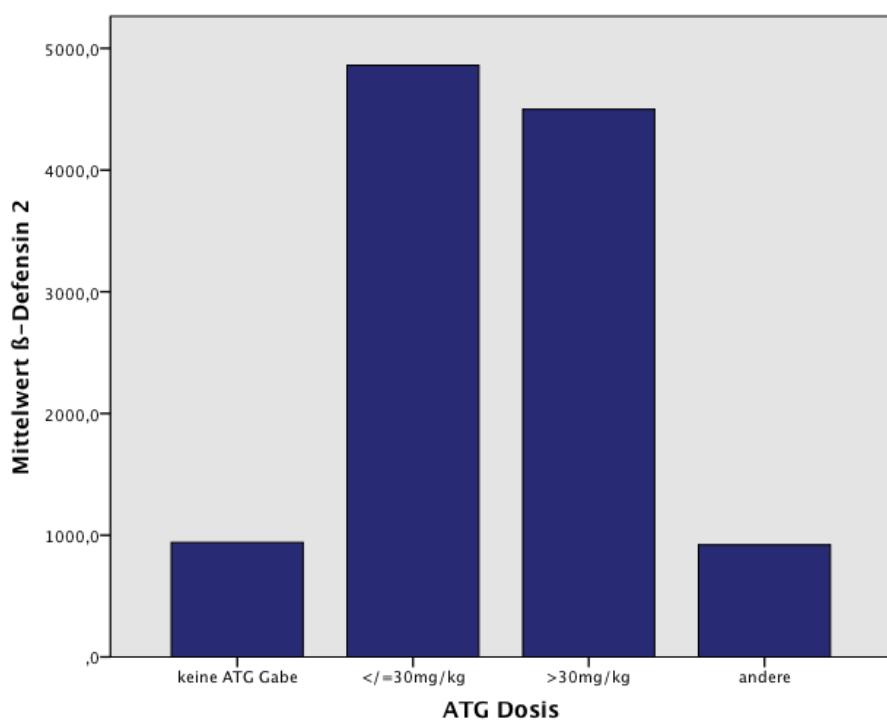
**Abbildung 6: ATG-Dosisabhängigkeit des β -Defensin 2 (d0)**

Tabelle 11: ATG-Dosisabhängigkeit der β -Defensin 2-Werte an d0, Mann-Whitney-U

ATG Gabe	Mann-Whitney-U Test für β-Defensinwerte an d0
keine ATG Gabe $\leq 30\text{mg/kg}$	U=111,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,002
keine ATG Gabe > 30mg/kg	U=80,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,003
$\leq 30\text{mg/kg}$ > 30mg/kg	U=150,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,581

3.4 CRP an Tag 0 bei Patienten mit bzw. ohne ATG-Gabe

Vergleicht man an Tag 0 die CRP-Mittelwerte (in mg/l) der Patienten, die ATG erhalten haben mit denen, die keines erhalten haben, so zeigt sich, dass bei Patienten mit ATG-Gabe an Tag 0 im Mittel signifikant höhere CRP-Werte vorliegen.

Tabelle 12: CRP an Tag 0 bei ATG ja/nein

dNorm	CRP Mittelwerte bei ATG Gabe			Signifikanz (p-Wert)
0	ja nein	N=41 N=19	46,95 14,50	0,008

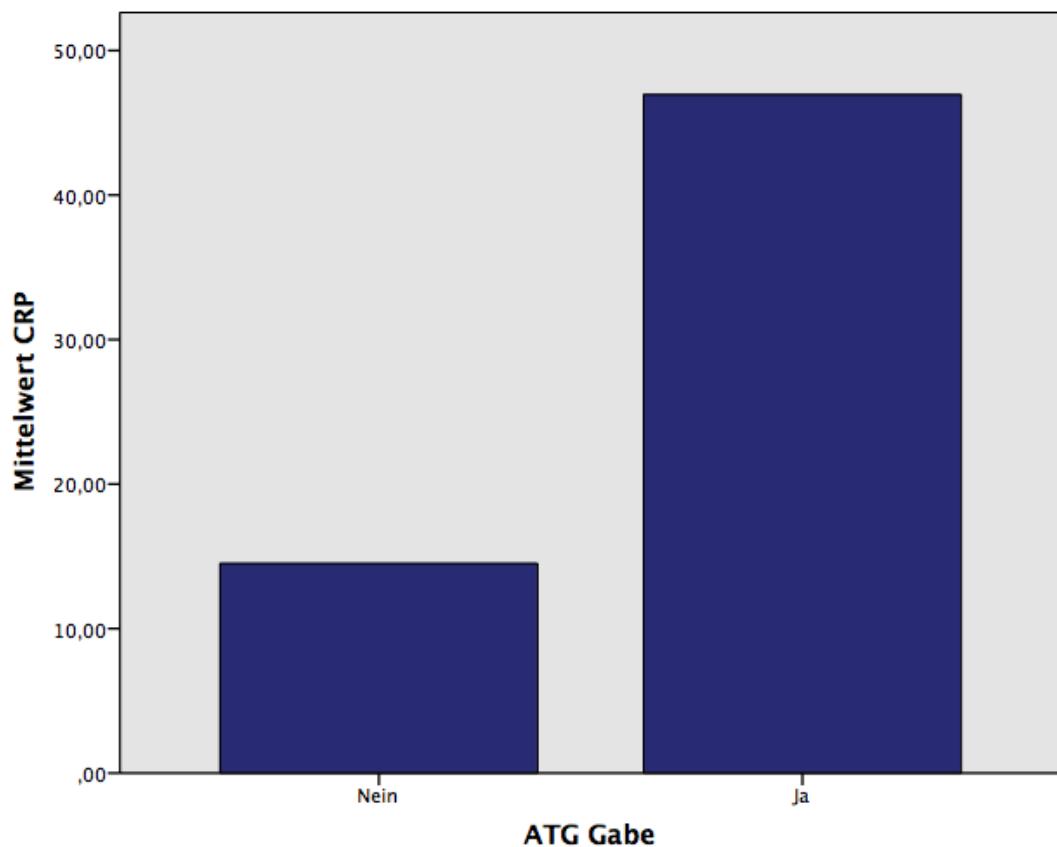
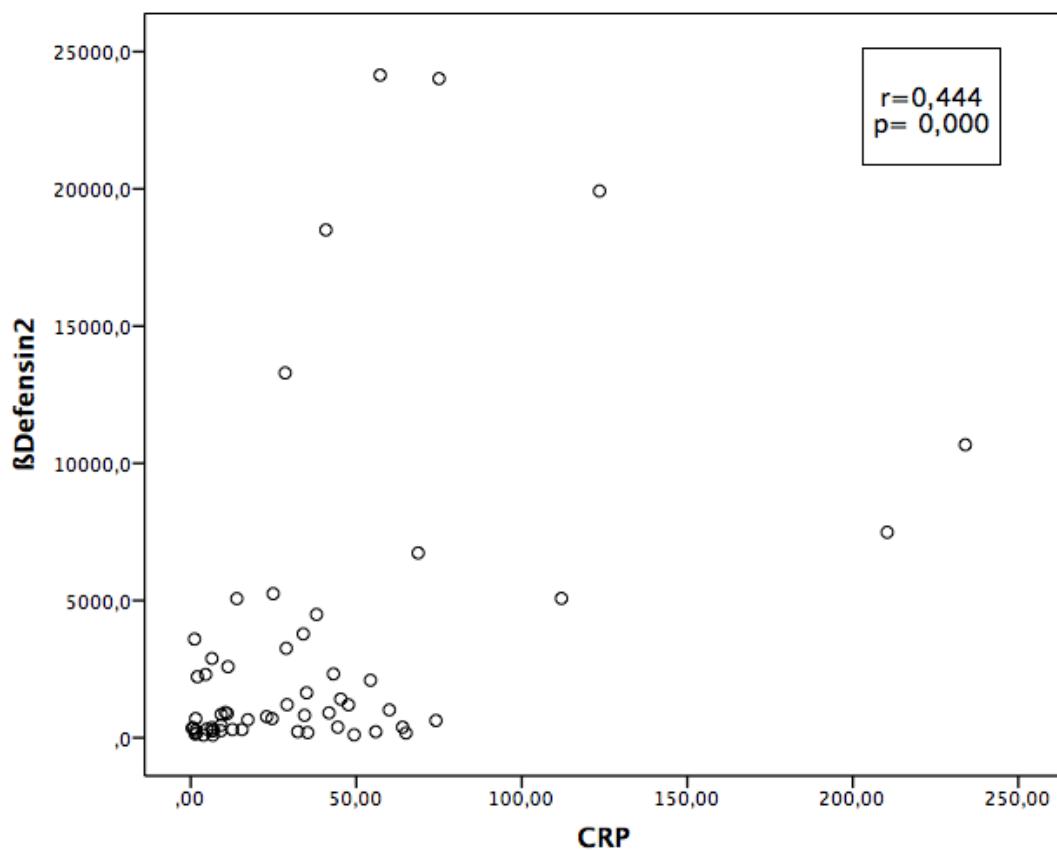


Abbildung 7: CRP an Tag 0 bei ATG ja/nein, CRP-Mittelwert bei ATG ja: 46,95, SD 49,27, CRP-Mittelwert bei ATG nein: 14,50, SD 20,74, P= 0,008

3.5 Korrelation von CRP und β -Defensin 2 an Tag 0

Die Korrelation von CRP und β -Defensin 2 wurde für den Tag 0 errechnet. Ein zweiseitiger Signifikanztest wurde hierbei durchgeführt. Es besteht eine mittlere positive Beziehung zwischen Höhe der CRP- und Defensinwerte. Die Koeffizienten sind bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von kleiner als 0,1% höchst signifikant.

Abbildung 8: Streudiagramm β -Defensinwerte und CRP an Tag 0Tabelle 13: Korrelation CRP und β -Defensin 2 an Tag 0

		CRP	β Defensin2
CRP	Korrelation nach Pearson	1	,444 **
	Signifikanz (2-seitig)		,000
	N	60	59
βDefensin2	Korrelation nach Pearson	,444 **	1
	Signifikanz (2-seitig)	,000	
	N	59	61

**. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

3.6 CRP, LDH, ANC und β -Defensin 2

Betrachtet man die β -Defensinwerte an den Tagen, an denen die Patienten erhöhte CRP Werte von $\geq 10\text{mg/l}$ bzw. $\geq 50\text{mg/l}$ aufweisen, so fällt auf, dass auch erhöhte β -Defensinspiegel vorliegen. Bei CRP-Werten $<10\text{mg/l}$ liegt im Mittel ein β -Defensinwert von $m=820,49$ vor, bei Patienten mit CRP $\geq 50\text{mg/l}$ wurden β -Defensinwerte von $m=2286,89$ gemessen. Wie Tabelle 15 zu entnehmen ist, ist im Mann-Whitney-U Test der Unterschied zwischen den Gruppen CRP $<10/\geq 10\text{mg/l}$ bzw. $<50/\geq 50\text{mg/l}$ signifikant.

Ähnlich verhält es sich bei Patienten mit erhöhten LDH Werten. Bei LDH Werte $\geq 500 \text{ U/l}$ liegen β -Defensinwerte von $m=1482,67$ (Median=677,90) vor. Bei LDH-Werten $<500 \text{ U/l}$ beträgt der β -Defensinmittelwert $m=1169,00$ (Median=358,45). Der Unterschied beider Gruppen ist in der statistischen Testung mit $p=0,029$ signifikant (Tabelle 17).

In Tabelle 18 werden β -Defensinwerte bezüglich der nach Stammzelltransplantation ermittelten absoluten Neutrophilenzahl (ANC) dargestellt. Haben Patienten einen ANC von ≥ 500 erreicht, so liegen β -Defensinwerte von $m=878,96$ vor. Bei ANC <500 sind die β -Defensinwerte im Mittel höher ($m=1331,66$). Der Unterschied der Gruppen ANC $</\geq 500$ ist im Mann-Whitney-U Test nicht signifikant($p=0,060$).

Tabelle 14: Deskriptive Statistik β -Defensin 2 und CRP

CRP	β -Defensin 2-Werte d-10-360							Min.	Max.		
	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standard-fehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert						
					Untergrenze	Obergrenze					
$<10\text{mg/l}$	369	820,49	2566,7439	133,6193	557,735	1083,241	26,1	44105,0			
$\geq 10\text{mg/l}$	245	1716,09	5105,8032	326,1978	1073,563	2358,608	45,0	60877,5			
Gesamt	614	1177,85	3811,0852	153,8029	875,807	1479,896	26,1	60877,5			
$<50\text{mg/l}$	549	1011,52	3539,8988	151,0792	714,750	1308,280	26,1	60877,5			
$\geq 50\text{mg/l}$	75	2286,89	5115,5373	590,6914	1109,914	3463,871	62,9	24146,0			
Gesamt	624	1164,81	3781,9248	151,3982	867,493	1462,118	26,1	60877,5			

Tabelle 15: CRP und β -Defensin 2, Mann-Whitney-U

CRP	Mann-Whitney-U Test
<10mg/l ≥10mg/l	U=39592,50 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,009
<50mg/l ≥50mg/l	U=17211,50 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,021

Tabelle 16: Deskriptive Statistik β -Defensin-2 und LDH

LDH U/I	β -Defensin 2-Werte d-10 bis 360							
	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standard-fehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Min.	Max.
					Untergrenze	Obergrenze		
<500	566	1169,00	3741,3504	157,2607	860,114	1477,888	26,1	60877,5
≥500	33	1482,67	3457,9250	601,9475	256,543	2708,797	67,6	20185,0
Gesamt	599	1186,28	3724,2767	152,1698	887,430	1485,134	26,1	60877,5

Tabelle 17: LDH und β -Defensin 2, Mann-Whitney-U

LDH	Mann-Whitney-U Test
<500 U/I ≥500 U/I	U=7228,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,029

Tabelle 18: Deskriptive Statistik β -Defensin-2 und ANC

ANC	β -Defensin 2-Werte d-10-360							
	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standard-fehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Min.	Max.
					Untergrenze	Obergrenze		
ANC <500	225	1331,66	3266,3450	217,7563	902,543	1760,769	36,2	24146,0
ANC \geq500	381	878,96	3328,2851	170,5132	543,693	1214,228	26,1	60877,5
Gesamt	606	1047,04	3309,9627	134,4580	782,979	1311,102	26,1	60877,5

Tabelle 19: ANC und β -Defensin 2, Mann-Whitney-U

ANC	Mann-Whitney-U Test
<500 \geq 500	U=38941,50 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,060

3.7 Grunderkrankungen und β -Defensin 2

Die β -Defensin 2-Werte wurden im Bezug auf die bestehende Grunderkrankung der Patienten untersucht. Hierzu wurden die Werte an Tag -10 (vor Konditionierung) betrachtet.

Es wurden die Gruppen Akute Leukämie (N=32), Chronische Leukämie bzw. CML (N=3), Maligne Lymphome (N=20), MDS (N=3) und MPS (N=2) gebildet.

Der Vergleich der β -Defensinwerte der einzelnen Gruppen erfolgte mittels Mann-Whitney U-Test (Tabelle 21). Allerdings ließ sich kein signifikanter Unterschied bezüglich des β -Defensinwerts zwischen den Gruppen feststellen

Tabelle 20: Deskriptive Statistik β -Defensin 2-Werte an d-10 und Grunderkrankungen

Grunderkrankungen	β -Defensin 2-Werte an d-10							
	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standard-fehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Min.	Max.
					Unter-grenze	Ober-grenze		
Akute Leukämie	32	1244,37	1998,6867	353,32	523,77	1964,98	45,4	9942,0
Chronische Leukämie	3	1458,83	1910,9888	1103,31	-3288,33	6205,99	166,8	3654,0
Maligne Lymphome	20	1499,62	1942,8831	434,44	590,32	2408,91	127,6	7889,3
MDS	3	1460,97	1624,3034	937,79	-2574,03	5495,96	393,8	3330,3
MPS	2	695,90	830,2848	587,10	-6763,91	8155,71	108,8	1283,0
Gesamt	60	1332,72	1889,0548	243,88	844,73	1820,72	45,4	9942,0

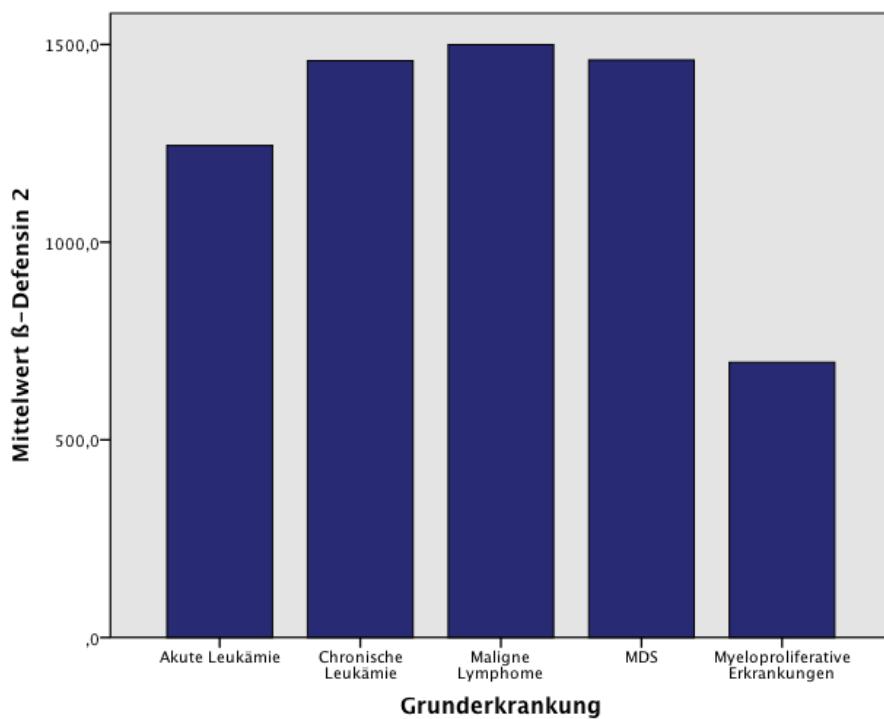
**Abbildung 9: Grunderkrankungen und β -Defensin 2 an d-10 (vor Konditionierung)**

Tabelle 21: Grunderkrankungen und β -Defensin 2-Werte an d-10 (vor Konditionierung), Mann-Whitney-U

Grunderkrankung	Mann-Whitney-U Test für β-Defensinwerte an d-10
Akute Leukämie	U=47,00
Chronische Leukämie	Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,953
Akute Leukämie	U=280,00
Maligne Lymphome	Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,452
Akute Leukämie	U=37,00
MDS	Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,517
Akute Leukämie	U=27,00
MPS	Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,714
Chronische Leukämie	U=29,00
Maligne Lymphome	Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,927

3.8 β -Defensin 2 und Maximalgrad der akuten GvHD im Zeitraum d14-85

Für jeden der 69 Fälle wurde der maximal erreichte Grad der akuten GvHD im Zeitraum dNorm 14-85 ermittelt und die Gruppen Maximalgrad 0/I (N=49), Maximalgrad II (N=13), Maximalgrad III/IV (N=7) gebildet.

Nun wurden die β -Defensinwerte der Gruppen untereinander mit Hilfe des Mann-Whitney-Test verglichen. Der Unterschied der Gruppen Maximalgrad 0/I und III/IV ist mit p=0,017 signifikant (Tabelle 24).

Tabelle 22: Maximalgrad der aGvHD

Maximalgrad der aGvHD	Häufigkeit	Prozent
Grad 0/I	49	71,0
Grad II	13	18,8
Grad III/IV	7	10,1
Gesamt	69	100,0

Tabelle 23: Deskriptive Statistik β -Defensin 2-Werte von d14-85

Maximalgrad der aGvHD	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Min.	Max.
					Unter-grenze	Ober-grenze		
Grad 0/I	195	454,60	617,1993	44,1986	367,426	541,769	30,8	4004,5
Grad II	50	519,40	696,9376	98,5619	321,329	717,463	26,1	3583,0
Grad III/IV	33	929,66	1891,1576	329,2083	259,082	1600,233	52,7	10772,5
Gesamt	278	522,64	888,1882	53,2700	417,778	627,509	26,1	10772,5

Tabelle 24: Maximalgrad der aGvHD und β -Defensin 2 im Zeitraum d14-85, Mann-Whitney-U

Maximalgrad der aGvHD	Mann-Whitney-U Test für β -Defensinwerte d14-85
Grad 0/I Grad II	U=4553,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,471
Grad 0/I Grad III/IV	U=2378,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,017
Grad II Grad III/IV	U=653,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,1107

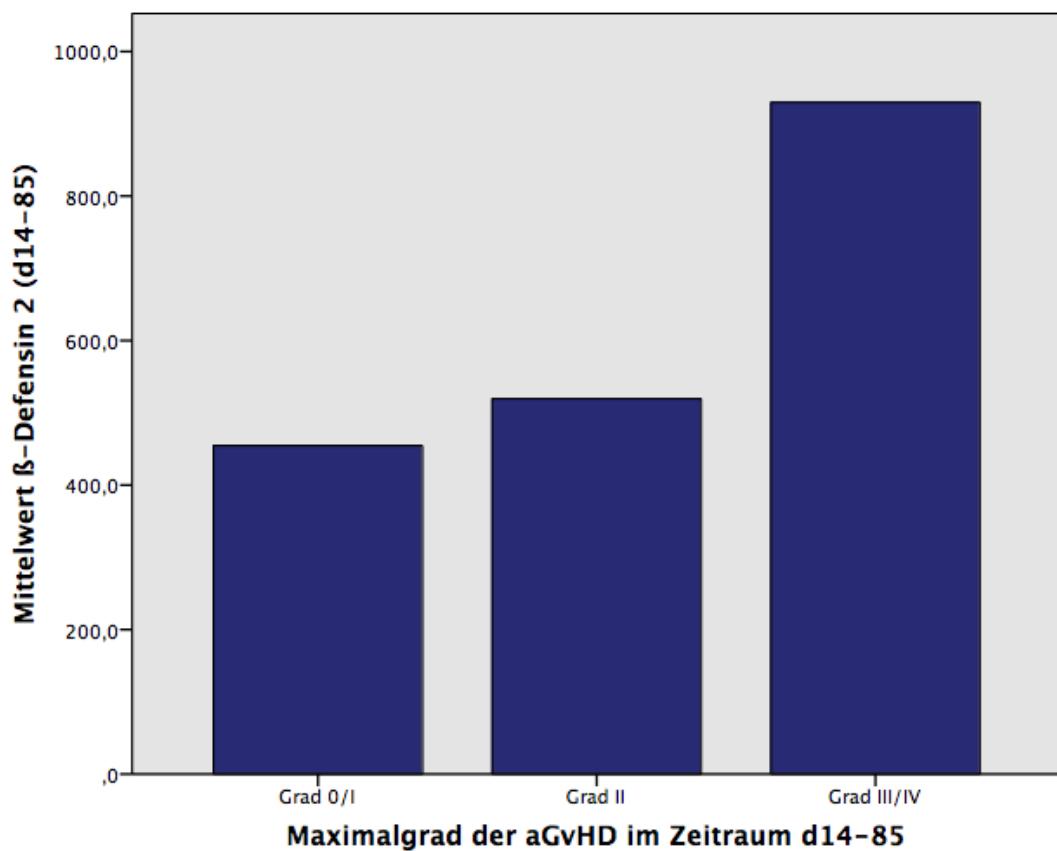


Abbildung 10: Erreichter Maximalgrad der aGvHD im Zeitraum d14-85

3.9 β-Defensin 2 und aGvHD der Haut, Leber, Darm im Zeitraum d14-85

Die Einteilung der Organstadien der akuten GvHD erfolgte anhand der Kriterien nach Glucksberg.²²

Im Folgenden wurden die β-Defensin 2-Werte von dNorm 14 bis 85 für die Organmanifestationen Haut, Leber und Darm untersucht. Für Leber und Darm wurden die β-Defensinwerte der Gruppen *ja/nein* verglichen (Tabelle 28 und 29). Die aGvHD der Haut wurde weiter in die Organstadien 0-4 unterteilt und die β-Defensinwerte der Gruppen untereinander verglichen (Tabelle 26). Die Unterschiede der β-Defensin 2-Werte zwischen den Gruppen *Kein Exanthem* und *Generalisiertes Exanthem* sind hoch signifikant ($p=0,000$). Ebenso die Unterschiede zwischen den Gruppen *Exanthem bis 25% der KOF* und *Generalisiertes Exanthem* ($p=0,002$) sowie *Exanthem 25-50% der KOF* und *Generalisiertes Exanthem* ($p=0,008$).

Tabelle 25: Deskriptive Statistik der β-Defesnin 2-Werte von d14-85 bei aGvHD der Haut

aGvHD Haut	β-Defensin 2-Werte von d14-85							
	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standard-fehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Min.	Max.
					Unter-grenze	Ober-grenze		
kein Exanthem	226	443,12	588,180	39,125	366,020	520,218	26,1	4004,5
Exanthem bis 25% der Körperoberfläche	28	532,29	755,436	142,764	239,366	825,220	40,2	3583,0
Exanthem 25-50%	15	665,22	871,523	225,026	182,590	1147,856	137,7	3280,0
generalisiertes Exanthem	6	2995,02	3849,902	1571,716	-1045,208	7035,241	722,9	10772,5
Gesamt	275	519,99	888,670	53,590	414,489	625,493	26,1	10772,5

Tabelle 26: akute GvHD der Haut und β -Defensin 2 im Zeitraum d14-85, Mann-Whitney-U

aGvHD Haut	Mann-Whitney-U Test für β -Defensinwerte d14-85
keine GvHD Haut GvHD Haut	U=4504,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,041
Kein Exanthem Generalisiertes Exanthem	U=91 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,000
Kein Exanthem Exanthem bis 25% d. KOF	U=3054,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,764
Kein Exanthem Exanthem 25-50% der KOF	U=1359,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,199
Exanthem bis 25% d. KOF Generalisiertes Exanthem	U=15,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,002
Exanthem 25-50% der KOF Generalisiertes Exanthem	U=11,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,008
Exanthem bis 25% d. KOF Exanthem 25-50% der KOF	U=182,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,476

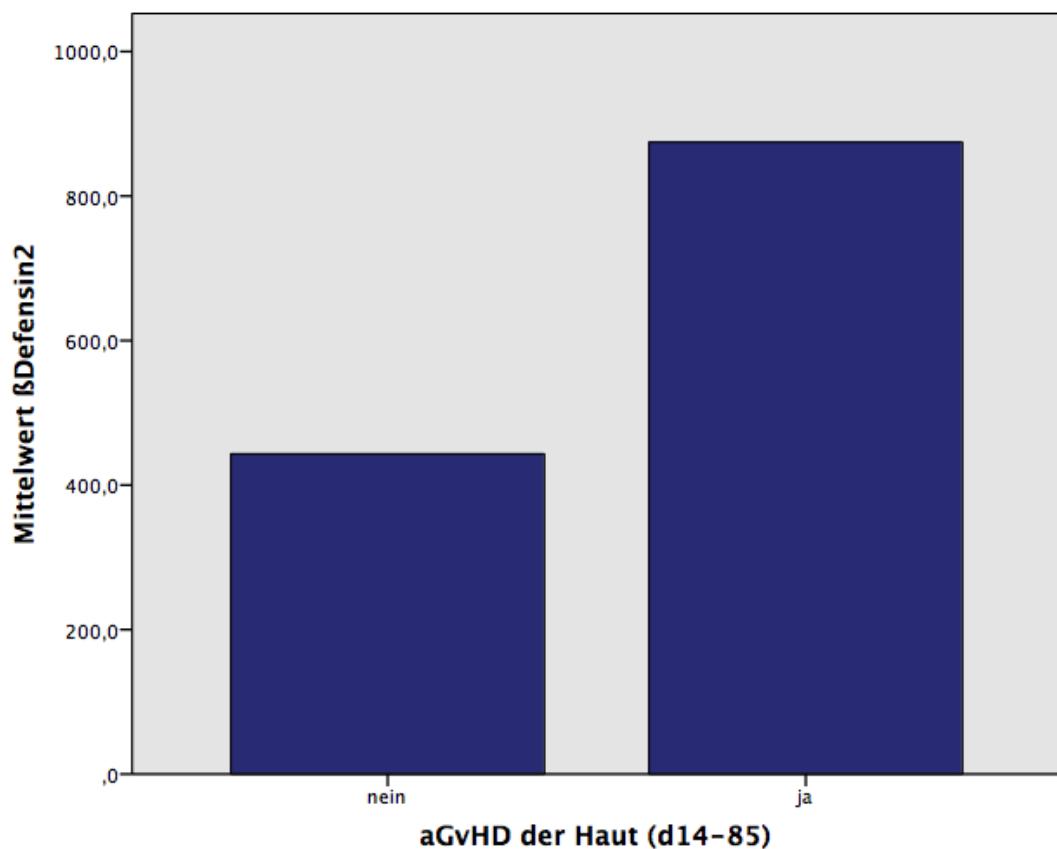
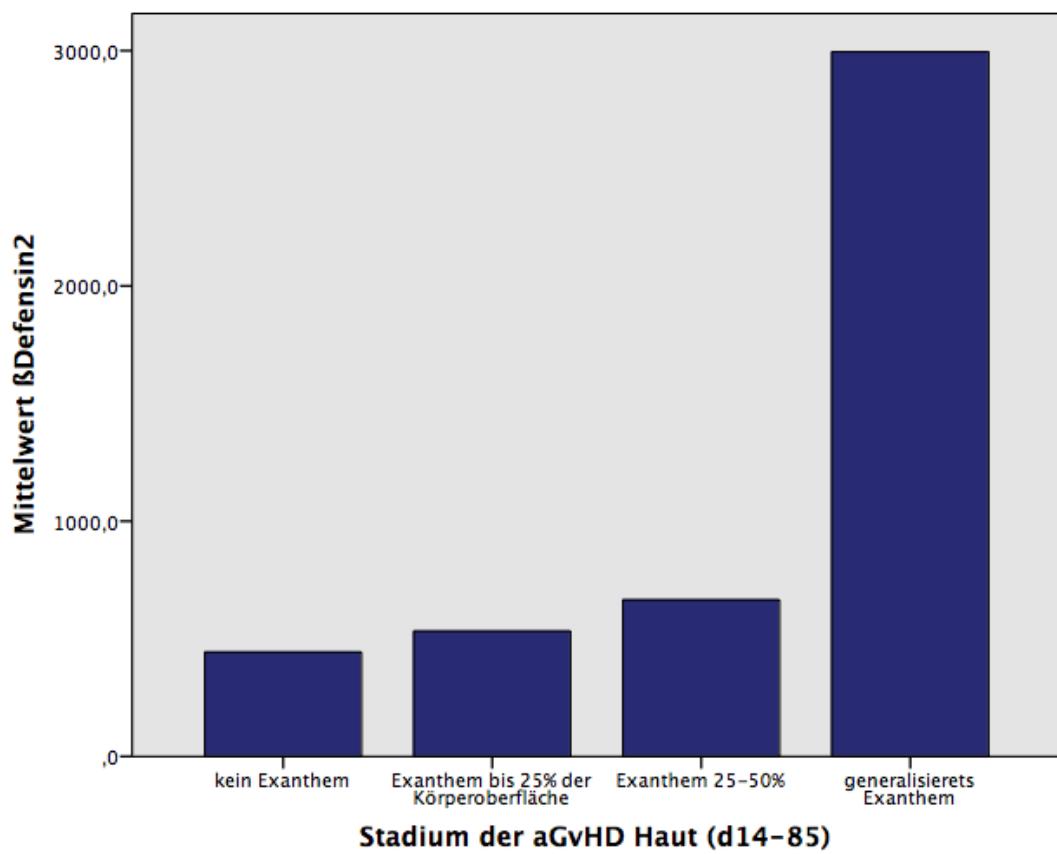
Abbildung 11: akute GvHD der Haut und β -Defensin 2 im Zeitraum d14-85Abbildung 12: Stadium der aGvHD der Haut und β -Defensin 2 im Zeitraum d14-85

Tabelle 27: Deskriptive Statistik β -Defensin 2-Werte und aGvHD Darm und Leber im Zeitraum d14-85

	β -Defensin 2-Werte von d14-85							
	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standard-fehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Min.	Max.
					Untergrenze	Obergrenze		
Darm								
ja	5	925,10	1331,87	595,6287	-728,630	2578,830	137,7	3280,0
nein	270	512,49	880,33	53,5753	407,009	617,969	26,1	10772,5
Gesamt	275	519,99	888,70	53,5906	414,489	625,493	26,1	10772,5
Leber								
ja	4	434,25	256,96	128,4803	25,368	843,132	154,9	663,3
nein	271	521,26	894,79	54,3544	414,244	628,269	26,1	10772,5
Gesamt	275	519,99	888,70	53,5906	414,489	625,493	26,1	10772,5

Tabelle 28: β -Defensin 2-Werte und aGvHD des Darms im Zeitraum d14-85, Mann-Whitney-U

aGvHD Darm		Mann-Whitney-U Test für β -Defensinwerte d14-85
ja nein		U=537,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,434

Tabelle 29: β -Defensin 2-Werte und aGvHD der Leber im Zeitraum d14-85, Mann-Whitney-U

aGvHD Leber		Mann-Whitney-U Test für β -Defensinwerte d14-85
ja nein		U=434,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,494

3.10 Maximalwerte der β -Defensine im Zeitraum d180-360 und Maximalgrad der chronischen GvHD

Die Maximalwerte des β -Defensin 2 im Zeitraum d180-360 wurden im Hinblick auf die chronische GvHD untersucht. Dazu wurden die Gruppen keine/milde cGvHD (=kein Behandlungsbedürftigkeit) und moderate/severe cGvHD (=Behandlungsbedürftigkeit) gebildet. Die Patienten mit behandlungsbedürftiger cGvHD wiesen höhere β -Defensinwerte ($m=2606,68$) als Patienten mit nicht-behandlungsbedürftiger cGvHD auf ($m=1446,12$). Der Mann-Whitney-U Test zeigt einen signifikanten Unterschied der Gruppen mit $p=0,032$ (Tabelle 31).

Tabelle 30: Deskriptive Statistik der β -Defensin 2-Maxima d180-360 und Maximalgrad cGvHD

behandlungsbedürftige cGvHD (Maximalgrad)	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Min.	Max.
					Untergrenze	Obergrenze		
ja (moderate, severe)	22	2606,68	2760,59	588,56	1382,70	3830,66	118,60	10910,70
nein (keine, mild)	30	1446,12	1738,07	317,33	797,10	2095,11	167,20	7825,00
Gesamt	52	1937,12	2278,37	315,95	1302,82	2571,42	118,60	10910,70

Tabelle 31: Maxima der β -Defensin 2-Werte und Maximalgrad der cGvHD im Zeitraum d180-360, Mann-Whitney-U

behandlungsbedürftige cGvHD (Maximalgrad)	Mann-Whitney-U Test für β -Defensinwerte d14-85
ja (moderate, severe) nein (keine, mild)	U=214,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): $p=0,032$

3.11 β -Defensin 2-Werte und TRM

In 18 der 69 betrachteten Fälle trat eine *Treatment related mortality* auf.

Die Arten der TRM wurden noch weiter unterschieden, darüber gibt Tabelle 32 einen Überblick.

Die Maximalwerte des β -Defensin 2 im Zeitraum d28-85 wurden im Bezug auf TRM *ja/nein* sowie auf die unterschiedlichen Arten der TRM untersucht. Signifikant ist der Unterschied zwischen den Gruppen mit und ohne TRM ($P=0,009$). Die Patienten mit TRM hatten im Mittel einen höheren β -Defensinmittelwert ($m=7589,96$) als die Patienten ohne TRM ($m=624,62$). Die an einer GvHD verstorbenen Patienten weisen einen höheren β -Defensinmittelwert ($m=15979,11$) auf als Patienten mit einer TRM anderer Genese.

Tabelle 32: Deskriptive Statistik der Maximalwerte β -Defensin 2 und Art der TRM von d28-85

TRM	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standard-fehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Min.	Max.
					Unter-grenze	Obergrenze		
keine TRM	51	624,62	642,49	89,97	443,91	805,32	30,80	3330,50
TRM (gesamt)	16	7589,96	17819,83	4454,96	-1905,56	17085,47	137,70	60877,50
Lungen-beteiligung	1	922,00	-	-	-	-	922,00	922,00
GvHD	7	15979,11	25431,67	9612,27	-7541,25	39499,48	211,40	60877,50
Infektion ohne GvHD	5	1315,74	1093,09	488,84	-41,50	2672,98	230,70	2959,00
andere (toxisch, etc.)	3	694,93	785,71	453,63	-1256,88	2646,75	137,70	1593,60

Tabelle 33: Maximalwert des β -Defensin 2 im Zeitraum d28-85 und Art der TRM, Mann-Whitney-U

TRM	Mann-Whitney-U Test für β-Defensinwerte d28-85
Keine TRM TRM	U=238,00 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,009
GvHD Infektion ohne GvHD	U=13,0 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,465
GvHD andere (toxisch, etc.)	U=5,0 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,210
Infektion ohne GvHD andere (toxisch, etc.)	U=4,0 Asymptotische Signifikanz (2-seitig): p=0,297

3.12 β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD und akute GvHD der Haut bei TRM ja/nein

Es wurden die β -Defensinwerte zu Beginn einer akuten GvHD bei Patienten mit bzw. ohne TRM ermittelt. Die Patienten mit TRM hatten im Mittel höhere β -Defensin 2-Werte zu Beginn der aGvHD ($m=1015,32$) als Patienten ohne TRM ($m=489,51$). Zwischen diesen Gruppen ist die Varianzanalyse mit $p=0,049$ signifikant. Weiter wurden die β -Defensinwerte zu Beginn einer akuten GvHD der Haut untersucht. Die Patienten mit TRM hatten zu Beginn der aGvHD der Haut β -Defensinwerte von $m=826,77$, Patienten ohne TRM von $m= 485,99$. Die Ergebnisse der Varianzanalyse gestaltete sich hier nicht signifikant.

Tabelle 34: Deskriptive Statistik der β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD bei TRM ja/nein

		β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD						
TRM	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum
					Unter-grenze	Obergrenze		
Nein	26	489,51	476,7216	93,4928	296,954	682,058	35,1	1986,3
Ja	11	1015,32	1105,9451	333,4550	272,334	1758,302	84,7	3597,0
Gesamt	37	645,83	746,2841	122,6883	397,005	894,652	35,1	3597,0

Tabelle 35: Einfaktorielle ANOVA, β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD bei TRM ja/nein

	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Zwischen den Gruppen	2137105,575	1	2137105,575	4,176	,049
Innerhalb der Gruppen	17912732,358	35	511792,353		
Gesamt	20049837,933	36			

Tabelle 36: Deskriptive Statistik der β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD der Haut bei TRM ja/nein

		β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD der Haut						
TRM	N	Mittelwert	Standard-abweichung	Standardfehler	95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum
					Unter-grenze	Obergrenze		
Nein	25	485,99	483,9296	96,7859	286,238	685,750	35,1	1986,3
Ja	9	826,77	746,9415	248,9805	252,617	1400,917	84,7	2239,0
Gesamt	34	576,20	573,4327	98,3480	376,108	776,289	35,1	2239,0

Tabelle 37: Einfaktorielle ANOVA, β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD der Haut bei TRM ja/nein

	Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Signifikanz
Zwischen den Gruppen	768480,951	1	768480,951	2,439	,128
Innerhalb der Gruppen	10083881,9	32	315121,309		
Gesamt	10852362,8	33			

4 Diskussion

Ziel der Arbeit war es, die bisher wenig bekannte Bedeutung des humanen β -Defensin 2 in der allogenen Stammzelltransplantation zu untersuchen. Dabei sollen die Fragen, welchen Einfluss Konditionierung, Vortherapie und Grunderkrankung auf die Defensinwerte haben sowie die Frage nach der Assoziation zwischen hBD2-Werten und Komplikationen wie Infektionen, akute GvHD, chronische GvHD und behandlungs-assoziierte Mortalität näher betrachtet werden. Unsere Ergebnisse werden im Folgenden mit Daten aus der Literatur verglichen und diskutiert. Bisher gibt es aber nur wenige Autoren, die sich mit hBD2 nach Stammzelltransplantation beschäftigen.

4.1 Verlaufskurven des β -Defensin 2

In den Verlaufskurven der β -Defensin-2 Werte, die beginnend vor der Konditionierung bis Tag 360 nach Stammzelltransplantation gemessen wurden (Abbildung 2), zeigt sich ein deutlicher Peak des hBD2 an Tag 0, also dem Tag der SZT. Die hBD2-Werte fallen wieder ab, steigen dann aber ab Tag 28 wieder an, um an Tag 360 nach SZT wieder etwa beim Ausgangsniveau von Tag -10, vor der Konditionierung, zu liegen.

Auffällig ist, dass bei Patienten, welche kein Antithymozyten-Globulin (ATG) erhielten, an Tag 0 kein Anstieg des hBD2 zu verzeichnen ist, stattdessen liegen die Werte bei diesen Patienten am Tag der SZT etwa so hoch wie vor der Konditionierung (Abbildung 5). Der Unterschied der β -Defensin Werte zwischen den Gruppen ATG ja/nein ist an Tag 0 signifikant mit P=0,003 (Tabelle 9).

Im Folgenden sollen mögliche Ursachen der erhöhten β -Defensinwerte durch ATG diskutiert werden.

ATG wird als polyklonaler Antikörper zur *in vivo* T-Zell Depletion während der Konditionierung eingesetzt, um so das Risiko der GvHD zu minimieren. Schließlich sind die T-Lymphozyten des Spenders Haupteffektorzellen einer GvHD, sodass man sich bemüht durch eine Reduktion der T-Zell Last im Transplantat das Risiko einer GvHD zu verringern.^{1,23,57,58} Kröger et al. beobachteten eine erhöhte Hauttoxizität bei Patienten, die ATG erhielten (48% in der ATG-Gruppe vs. 22%, p=0,009), was unmittelbar mit einem ATG-induzierten Erythem, welches sich aber innerhalb einer Woche nach Beendigung der ATG-Gabe vollständig zurückbilde, zusammen hänge.²³ Eine hBD2 Erhöhung bei entzündlichen Veränderungen der Haut ist bereits in der Literatur gut bekannt,^{59,60} was im Folgenden noch näher diskutiert wird.

Der signifikante Unterschied der β -Defensinwerte zwischen den Gruppen ATG *ja/nein* an Tag 0 lässt sich jedoch vor allem damit erklären, dass ATG ein *Cytokine release Syndrome* (CRS) durch Makrophagenaktivierung auslöst. Beim *Cytokine release Syndrome* kommt es zunächst zu einem Anstieg von TNF alpha und im Folgendem zu einer vermehrten Ausschüttung von IFN γ , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 und IL-10.⁶¹⁻⁶³ Durch TNF alpha und IL-1 wird die Produktion von hBD2 induziert, womit die signifikant höheren hBD2-Werte bei Patienten nach ATG-Gabe an Tag 0 zu erklären sind.⁴³

Ebenso wird durch IL-6 die Expression des Akut-Phase-Proteins CRP vermehrt angeregt.⁶⁴ Vergleicht man an Tag 0 die CRP-Mittelwerte der Patienten, die ATG erhalten haben mit denen, die keines erhalten haben, so zeigt sich, dass bei Patienten mit ATG-Gabe an Tag 0 im Mittel signifikant höhere CRP-Werte vorliegen. β -Defensin 2 wiederum induzierte eine weitere Ausschüttung von IL-6. In dieser Arbeit wurde ebenfalls die Korrelation von CRP und β -Defensin 2 für den Tag 0 errechnet, wo sich eine mittlere positive Beziehung zwischen Höhe der CRP- und Defensinwerte zeigt.

Nachdem ein signifikanter Unterschied der β -Defensinwerte der Gruppen ATG *ja/nein* an d0 festgestellt wurde (Tabelle 9), wurde die ATG-Dosisabhängigkeit auf das β -Defensin 2 an Tag 0 betrachtet. Eine ATG-Dosisabhängigkeit lässt sich anhand unserer statistischen Berechnungen nicht erkennen. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Induktion von hBD2 durch ATG so stark ist, dass sie bei Dosen von <30mg/kg schon maximal ist.

4.2 β -Defensin 2 und GvHD

In der Haut sind die Keratinozyten der Epidermis der Hauptproduktionsort von hBD2.

⁴⁵ Dort wird das hBD2 von den Keratinozyten und Epithelzellen als Antwort auf proinflammatorische Stimuli wie IL-1, TNF α und Lipopolysaccharide (LPS) gebildet.⁴³ Keratinozyten spielen eine wesentliche Rolle in der angeborenen Immunabwehr: Sie funktionieren nicht nur als Barriere, sondern sind auch in der Lage, Pathogene zu erkennen und als Antwort auf diese antimikrobielle Peptide und inflammatorische Zytokine zu produzieren.^{45,60}

In dieser Arbeit wurden die β -Defensin 2-Werte von Tag 14 bis 85 für die aGVHD der Haut anhand der Organstadien 0-4 nach Glucksberg²² verglichen. Hier zeigten sich beim generalisierten Exanthem signifikant höhere ($P=0,000$) β -Defensinwerte als bei Patienten ohne Exanthem. Ebenso verhielten sich die Unterschiede zwischen den Gruppen *Exanthem bis 25% der KOF* und *Generalisiertes Exanthem* ($P=0,002$) sowie *Exanthem 25-50% der KOF* und *Generalisiertes Exanthem* ($P=0,008$). Hohe β -Defensin 2-Level im Serum sind bei inflammatorischen Prozessen der Haut bereits in der Literatur beschrieben. Kanda et al. untersuchten hBD2 und Zytokine im Serum bei Patienten mit Atopischer Dermatitis und zeigten, dass Serumlevel von hBD2 bei an Atopischer Dermatitis Erkrankten höher lagen als bei Nicht-Erkrankten.⁵⁹ Kanda et al. schlussfolgerten, dass das humane β -Defensin 2 im Serum möglicherweise ein Biomarker für Entzündungen der Haut darstellt.⁵⁹ Während die humanen β -Defensinklassen 1 und 3 kontinuierlich in der gesunden Haut gebildet werden, wird das hBD2 in der „normalen“ gesunden Haut nicht exprimiert, in der Haut von Psoriasis-Erkrankten hingegen vermehrt.^{59,65,66} Jansen et al. konnten zeigen, dass im Epithel produziertes hBD2 auch im Serum nachweisbar ist, da es die Basalmembran passieren und in die Blutbahn gelangen kann, sodass es im Serum mittels ELISA gemessen werden kann.⁶⁶ Jansen et al. demonstrierten, dass bei Patienten, die an Psoriasis leiden, hohe hBD2 Spiegel im Serum vorliegen, die Werte waren um das 400-fache erhöht bei schwer erkrankten Patienten.⁶⁶

Da es auch bei der aGVHD zu einer Schädigung der Haut durch apoptotische Epithellschädigung mit einwandernden Lymphozyten und inflammatorischen Zellen kommt,^{1,18,21} lassen sich die erhöhten hBD2-Werte im Serum bei Patienten mit generalisiertem Exanthem bei aGvHD gut erklären und decken sich mit unseren Beobachtungen.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich ein signifikanter Unterschied der β -Defensin 2-Werte ($P=0,017$) zwischen den Gruppen der Patienten mit Maximalgrad 0/I und III/IV der aGvHD. Das hBD2 zeigte sich bei den Patienten mit Maximalgrad III/IV höher als bei Patienten mit Maximalgrad 0/I der aGvHD. Oder anders ausgedrückt; je schwerer die maximale Ausprägung der aGvHD, desto höher lagen im Mittel die β -Defensin-2 Werte im Serum (siehe Tabellen 23, 24).

Ähnlich verhält es sich bei Patienten mit chronischer GvHD. Die Patienten mit behandlungsbedürftiger cGvHD wiesen signifikant höhere β -Defensinwerte ($m=2606,68$) als Patienten mit nicht-behandlungsbedürftiger cGvHD auf ($m=1446,12$) (siehe Tabelle 31).

Bei einer aGvHD kommt es zu einer massiven Zytokinproduktion, es werden sämtliche proinflammatorische Zytokine wie IL-6,-1 und TNFalpha ausgeschüttet. Durch diese proinflammatorischen Stimuli wird vermehrt hBD2 freigesetzt.⁴³

Ein möglicher Mechanismus, der zu mehr Inflammation im Rahmen der GvHD beitragen könnte, ist eine veränderte Produktion antibakterieller Peptide, der Defensine, die im Epithel und von Entzündungszellen produziert werden und eine wichtige erste Abwehrreihe darstellen.

Der Einfluss des Mikrobioms auf die GvHD ist bekanntermaßen signifikant.³⁹ Studien zeigen eine enge Beziehung zwischen Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms und Schwere der aGvHD.^{32,38,39,67}

Die intestinale Flora – das Mikrobiom – wird neben der Ernährung⁶⁸ und antibiotischen Therapien⁶⁹ durch entzündliche Prozesse im Gastrointestinaltrakt beeinflusst.^{34,39} Da auch die GvHD des Darms eine Entzündung des Gastrointestinaltrakts darstellt, liegt es nahe, dass auch hier eine Veränderung des Mikrobioms zu beobachten ist.

Die Inflammation des Darms durch eine aGvHD geht einher mit Veränderungen in der Zusammensetzung des intestinalen Mikrobioms.^{37,39,70} Es konnte gezeigt werden, dass nach der Transplantation ein Shift der Darmflora hin zu Enterokokken stattfindet, vor allem bei Patienten, die im Verlauf eine GvHD des Darms entwickelt haben oder bereits unter einer aGvHD des Darms litten.³⁷ Möglicherweise beeinflusst ein früher Shift des Mikrobioms sowie ein Verlust der Vielfalt des Mikrobioms nach allogener SZT Entzündungsreaktionen des GI-Trakts.³⁷

Die Ergebnisse erster Mausexperimente weisen auf eine Verminderung der Defensine bei GvHD-Tieren hin.³⁸ Ein Verlust von alpha-Defensinen wurde bei

Mäusen festgestellt, die eine GvHD des GI-Trakts entwickelten.³⁸ Eriguchi et al. konnten feststellen, dass eine Schädigung von Paneth-Zellen durch GvHD zu einer deutlichen Reduktion von alpha-Defensinen im Dünndarm führt. Paneth-Zellen stellen eine natürliche Immunabwehr des Organismus dar, indem sie antimikrobielle Peptide im Dünndarmepithel, wo sie am Grund der Krypten zu finden sind, sezernieren.⁷ Werden Paneth-Zellen zur Zielscheibe der GvHD, kommt es durch die beeinträchtigte Produktion von antimikrobiellen Peptiden, den Defensinen, zu einem Verlust in der Vielfalt der Darmflora. Es findet ein Shift von Kommensalen hin zu überwiegend gram-negativen Bakterien wie *E.coli* statt, die häufig Infektionen und Sepsis verursachen.³⁸ Die Produktion von hBD2 wird durch das NOD2 Protein (Nucleotide-binding oligomerization domain protein) induziert, welches unter anderem in Paneth-Zellen produziert wird.^{41,50–53}

Während alpha-Defensine vor allem in Paneth-Zellen produziert werden,^{71–73} werden β-Defensine ubiquitär, so auch im Colonepithel, produziert.^{41,42,44,74} In der Literatur ist bereits bekannt, dass alpha-Defensine als Konsequenz der Schädigung der Paneth-Zellen im Rahmen der GvHD erniedrigt sind,^{38,75} während aktuelle Forschungsarbeiten des Labors für experimentelle allogene KMT der Uniklinik Regensburg zeigen, dass β-Defensine hingegen bei GvHD deutlich erhöht sind.⁷⁶ Auch die Daten dieser Arbeit zeigen einen Anstieg des hBD2 bei einer aGvHD und signifikant höhere hBD2-Werte bei Patienten mit einem Maximalgrad der aGvHD von III/IV im Vergleich zu Patienten, die maximal an einer aGvHD Grad 0/I litten. Dies könnte damit zu erklären sein, dass durch das vermehrte Auftreten von gram-negativen Bakterien auch vermehrt Lipopolysaccharide (LPS) -als Bestandteil der äußeren Membran der gram-negativen Bakterien- in die Blutbahn gelangen, wodurch es zur Sekretion von TNF-alpha und IL-1 kommt, welche einerseits die GvHD weiter befeuern und andererseits die Produktion von hBD2 anregen. Ein fataler Feedback-Mechanismus entsteht so durch Dysbiose und GvHD.^{38,77–80}

Neben der Gesamt-GvHD wurde in unserer Arbeit auch das humane β-Defensin 2 im Zusammenhang mit der aGvHD des Darms im Zeitraum d14-85 untersucht. Dafür wurden die β-Defensinwerte der Gruppen aGvHD des Darms *ja/nein* verglichen (siehe Tabelle 27 und 28). Der Mittelwert der β-Defensin 2 Werte lag bei den Patienten mit aGvHD des Darms ($m=925,10$) höher als bei Patienten ohne aGvHD des Darms ($m=512,49$). Wir konnten allerdings keinen signifikanten Unterschied zwischen β-Defensin-2 Werten bei Patienten mit bzw. ohne aGvHD des Darms

zeigen. Jedoch ist zu bemerken, dass lediglich fünf β -Defensinwerte ($m=925,10$, $SD=1331,8$) bei aGvHD des Darms zwischen d14-85 vorlagen, wohingegen 270 β -Defensinwerte aus der Gruppe, die keine aGvHD des Darms hatten ($m=512,49$, $SD=880,33$), zwischen d14-85 in die Berechnungen eingingen. In weiterführenden Arbeiten wäre es interessant nicht nur ein Vergleich zwischen einer aGvHD des Darms *ja/nein* bezüglich der β -Defensinwerte zu untersuchen, sondern Vergleiche zwischen einzelnen Gruppen je nach Schwere der akuten GvHD des Darms durchzuführen.

Wie bereits dargelegt zeigten unsere Daten einen Anstieg des hBD2 bei einer aGvHD. Auch bei anderen entzündlichen Erkrankungen sind bereits erhöhte hBD2-Werte beschrieben.^{60,81-83} Wir konnten erhöhte β -Defensinwerte bei Patienten mit aGvHD des Darms beobachten und auch in der Literatur sind erhöhte Spiegel bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) beschrieben. Bei Kindern mit CED konnten Zilbauer et al. ebenfalls eine Induktion der Produktion der β -Defensine 2 und 3 im entzündeten terminalen Ileum und Colon ascendens sehen. Ebenso zeigte er eine starke Korrelation von hBD2 und 3 und den proinflammatorischen Zytokinen IL-8 und TNF-alpha.⁸³ Kübler et al. fanden eine Zunahme von hBD2 im Colonepithel bei Patienten mit aktivem Morbus Crohn, insbesondere bei Patienten der „high inflammation group“.⁸⁴

Bei Patienten mit systemischem Lupus erythematoses liegt ein erhöhter Serumlevel an humanem β -Defensin 2 und den *human neutrophil peptides* (HNPs) vor, was mit der Hautbeteiligung bei SLE zusammenhängen könnte.⁸²

4.3 CRP und LDH

Die Beobachtung, dass eine Erhöhung des hBD2 bei entzündlichen Prozessen vorliegt, wird unterstrichen durch unsere Untersuchungen bezüglich C-reaktivem Protein (CRP) und hBD2.

CRP ist erhöht bei inflammatorischen Prozessen und gilt als unspezifischer Entzündungsmarker.^{64,85} Da es ein Akute-Phase-Protein ist, steigt die Blutkonzentration des CRP im Rahmen entzündlicher Erkrankungen an.^{64,85} In der vorliegenden Arbeit wurden die hBD2-Werte an den Tagen, an denen die Patienten erhöhte CRP Werte aufwiesen (CRP $\geq 10\text{mg/l}$ bzw. $\geq 50\text{mg/l}$) untersucht. Bei CRP-Werten $<10\text{mg/l}$ liegen die hBD2-Werte im Mittel bei 820,49pg/ml. Höher liegen die hBD2-Werte bei Patienten mit CRP $\geq 50\text{mg/l}$ ($m=2286,89$). Der Unterschied zwischen den Gruppen CRP $<10/\geq 10\text{mg/l}$ bzw. $<50/\geq 50\text{mg/l}$ ist signifikant ($P= 0,009$ bzw- $P=0,021$).

Ähnlich verhält es sich bei Patienten mit erhöhten LDH Werten. LDH steigt an bei erhöhtem Zellumsatz des Organismus, also bei einer vermehrten Schädigung von Zellen. Bei LDH Werte $\geq 500 \text{ U/l}$ liegen im Mittel höhere β -Defensinwerte als bei LDH-Werten $<500 \text{ U/l}$ vor. Der Unterschied beider Gruppen ist im statistischen Test signifikant ($P=0,029$)

4.4 β -Defensin 2 und TRM

Wir konnten in unserer Arbeit beobachten, dass die Patienten mit TRM im Mittel signifikant höheren β -Defensinwerte aufwiesen als die Patienten ohne TRM ($m=7589,96$ vs. $m=624,62$ $P=0,009$). Insbesondere bei an GvHD verstorbenen Patienten konnten höhere β -Defensinmittelwerte gemessen werden als bei Patienten mit TRM anderer Genese. Interessant wäre es deshalb, in Zukunft die β -Defensinwerte bei Beginn der GvHD im Hinblick auf die Prognose der GvHD zu beurteilen.

4.5 Nicht signifikante Ergebnisse

Die hBD2-Werte wurden im Hinblick auf bestehende blutkulturpositive, dokumentierte Infektion betrachtet, zwischen den Gruppen (*ja/nein*) zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Da ansonsten in dieser Arbeit ein Zusammenhang von erhöhtem hBD2

und inflammatorischen Prozessen (aGvHD) gezeigt werden konnte und auch –wie bereits oben beschrieben- ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen CRP <10/ \geq 10mg/l bzw. >50/ \geq 50mg/l besteht ($P= 0,009$ bzw- $P=0,021$), deutet dies drauf hin, dass die zytokin- und damit GvHD bedingte Induktion von CRP und β -Defensin stärker als die rein durch bakterielle Toxine getriggerte Induktion ist.

In der vorliegenden Arbeit fand sich kein signifikantes Ergebnis hinsichtlich der hBD2-Werte und der bestehenden Grunderkrankung.

Ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse fanden sich in der vorliegenden Arbeit hinsichtlich hBD2 und aGvHD der Leber.

Die hBD2-Werte wurden im Hinblick auf die nach Stammzelltransplantation ermittelten absoluten Neutrophilenzahl (ANC) betrachtet. Bei Patienten mit ANC von ≥ 500 liegen β -Defensinwerte von $m=878,96$ vor, bei ANC <500 sind die β -Defensinwerte im Mittel höher ($m=1331,66$). Der Unterschied der Gruppen ANC </ \geq 500 zeigte sich im Mann-Whitney-U Test nicht signifikant($p=0,060$).

Hinsichtlich hBD2 und Konditionierungsschema (RIC vs. Standard) zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse.

5 Zusammenfassung

Ziel unserer Studie war es, die bisher wenig bekannte Bedeutung des humanen β -Defensin 2 in der allogenen Stammzelltransplantation zu untersuchen. Dabei sollen die Fragen, welchen Einfluss Konditionierung und Grunderkrankung auf die Defensinwerte haben sowie die Frage nach der Assoziation zwischen hBD2-Werten und Komplikationen wie Infektionen, akute GvHD, chronische GvHD und TRM beantwortet werden. Hierzu wurden 66 Patienten untersucht, bei denen im Zeitraum von März 2008 bis März 2010 eine allogene Stammzelltransplantation im Universitätsklinikum Regensburg in der Abteilung für Hämatologie und internistische Onkologie durchgeführt wurde. Drei Patienten wurden retransplantiert, sodass die Studie 69 Fälle umfasst.

Im Vorfeld wurde bei den Patienten das im Serum zirkulierende humane β -Defensin 2 mittels ELISA, beginnend vor der Konditionierung bis Tag 360 nach Stammzelltransplantation, gemessen.

Als antimikrobielle Peptide sind β -Defensine Bestandteil des angeborenen Immunsystems. Die Immunabwehr muss sich mit der bakteriellen Flora auseinandersetzen: Physiologischerweise besteht hier eine tolerante Situation gegenüber den körpereigenen Bakterien, die aber bei Erkrankungen gestört und dadurch eine massive Entzündungsreaktionen ausgelöst werden kann. Auch bei der GvHD gibt es Hinweise, dass das Mikrobiom und eine dysregulierte Immunreaktion gegen dieses einen ersten Schritt in der Pathophysiologie darstellen und diese gestörte antibakterielle Immunantwort ein höheres Risiko für eine schwere GvHD birgt. In Mauseexperimenten gibt es Hinweise auf eine Verminderung der alpha-Defensine bei GvHD-Tieren.³⁸ In dieser Arbeit konnten wir zeigen, dass die β -Defensin-2 Werte im Serum im Mittel höher lagen, je schwerer die maximale Ausprägung der aGvHD war. So konnte ein signifikanter Unterschied der hBD2-Werte ($P=0,017$) zwischen den Gruppen der Patienten mit Maximalgrad 0/I und III/IV der aGvHD gezeigt werden.

Eine signifikante Erhöhung des hBD2 konnten wir besonders feststellen bei aGVHD der Haut (*Exanthem bis 25% der KOF und Generalisiertes Exanthem $P=0,002$, Exanthem 25-50% der KOF und Generalisiertes Exanthem $P=0,008$*).

Bei an GvHD verstorbenen Patienten stellten wir signifikant höhere hBD2-Werte als bei Patienten mit TRM anderer Genese fest. In 18 der 69 betrachteten Fälle trat eine *Treatment related mortality* auf. Insgesamt zeigt sich, dass Patienten mit TRM im untersuchten Zeitraum von Tag 28 bis Tag 85 im Vergleich zu Patienten ohne TRM signifikant höhere β -Defensinmittelwerte aufwiesen ($P=0,009$). Die signifikant höheren Werte bei TRM lassen sich insbesondere durch die erhöhten β -Defensinwerte bei Patienten mit aGvHD erklären, welche eine der Genesen der TRM darstellt.

Kein signifikantes Ergebnis bzw. Unterschied fand sich jedoch hinsichtlich hBD2 und aGvHD des Darms und der Leber.

Bei den Patienten mit aGvHD des Darms lagen die hBD2-Mittelwerte höher ($m=925,10$) als bei Patienten ohne aGvHD des Darms ($m=512,49$). Auch wenn sich kein signifikanter Unterschied zeigt, so lässt sich dennoch ein Trend abbilden, dass bei Beteiligung des Darms ein Anstieg der β -Defensinspiegel im Serum vorliegt.

Eine Erhöhung des hBD2 bei Inflammation, wie sie auch bei der GvHD besteht, ist bereits in der Literatur bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen beschrieben.^{60,81-83}

Auch wir konnten zeigen, dass bei Patienten mit erhöhten CRP-Werten ebenfalls erhöhte hBD2-Werte gemessen werden konnten.

In den Verlaufskurven der β -Defensin-2 Werte, die beginnend vor der Konditionierung bis Tag 360 nach Stammzelltransplantation gemessen wurden, zeigt sich insgesamt ein deutlicher Peak des hBD2 an Tag 0. Bei Patienten, welche jedoch kein Antithymozyten-Globulin (ATG) im Rahmen der Konditionierung erhielten, zeigte sich an Tag 0 kein Anstieg des hBD2, stattdessen liegen die Werte bei diesen Patienten am Tag der SZT etwa so hoch wie vor der Konditionierung. Der Unterschied der hBD2-Werte an Tag 0 ist zwischen den Gruppen *ATG ja/nein* signifikant ($P=0,003$). Dies lässt sich damit erklären, dass davon auszugehen ist, dass ATG ein *Cytokine release Syndrome* (CRS) durch Makrophagenaktivierung auslöst. Durch das *Cytokine release Syndrome* wird TNF alpha und schließlich IFN γ , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 und IL-10 ausgeschüttet.^{61–63} Es kommt durch TNF alpha und IL-1 zur Induktion der Produktion von hBD2, sodass signifikant höhere hBD2-Werte bei Patienten nach ATG-Gabe an Tag 0 zu messen sind. Ebenfalls liegen bei Patienten, die ATG erhielten, an Tag 0 im Mittel signifikant höhere CRP-Werte vor. Hier greift wieder der oben genannte Mechanismus; zum einen wird durch IL-6 die Expression des Akut-Phase-Proteins CRP vermehrt angeregt, zum anderen induziert das durch die Zytokinproduktion vermehrt exprimierte β -Defensin-2 wiederum eine weitere Ausschüttung von IL-6, sodass es zum CRP-Anstieg kommt. Zusammenfassend konnten wir in dieser Analyse eine eindeutige Assoziation der systemischen HBD2 Freisetzung mit inflammatorischen Komplikationen der allogenen Stammzelltransplantation (GvHD und Zytokin Release-Syndrom unter ATG) nachweisen. Durch eine nachfolgende prospektive Studie der HBD2 Serumwerte könnte und sollte abgesichert werden, ob sich HBD2 als evtl auch prognostischer Biomarker bei Patienten mit allogener Stammzelltransplantation eignet.

6 Literaturverzeichnis

1. Kröger, N. & Zander, A. R. *Allogene Stammzelltherapie- Grundlagen, Indikationen und Perspektiven.* (2011).
2. *EBMT Annual Report 2015.*
3. Thomas, E. D., Lochte, H. L., Lu, W. C. & Ferrebee, J. W. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* **257**, 491–6 (1957).
4. Appelbaum, F. R. Hematopoietic-cell transplantation at 50. *N. Engl. J. Med.* **357**, 1472–5 (2007).
5. HLA-System: Organisation, Genetik, Struktur, Funktion und klinische Bedeutung. Verfügbar unter: http://www.medizin.uni-tuebingen.de/uktmedia/EINRICHTUNGEN/Kliniken/Medizinische+Klinik/Innere+Medizin+II/Sektion+fuer+Transplantationsimmunologie+und+Immunhaematologie/PDF_Archiv/HLA_System-port-10011-p-7629.pdf. (Zugegriffen: 26. April 2017)
6. Kiefel, V. *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie: Grundlagen: Therapie: Methodik.* (Springer-Verlag, 2011).
7. Lüllmann-Rauch, R. *Taschenlehrbuch Histologie.* (2009).
8. Körbling, M. & Freireich, E. J. Twenty-five years of peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* **117**, 6411–6 (2011).
9. Jacobson, L. O., Simmons, E. L., Marks, E. K. & Eldredge, J. H. Recovery from radiation injury. *Science* **113**, 510–11 (1951).
10. Lorenz, E., Uphoff, D., Reid, T. R. & Shelton, E. Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J. Natl. Cancer Inst.* **12**, 197–201 (1951).
11. Goodman, J. W. & Hodgson, G. S. Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice. *Blood* **19**, 702–14 (1962).
12. Welte, K., Gabrilove, J., Bronchud, M. H., Platzer, E. & Morstyn, G. Filgrastim (r-metHuG-CSF): the first 10 years. *Blood* **88**, 1907–29 (1996).
13. Körbling, M. *u. a.* Allogeneic blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma: potential advantage of blood over marrow allografts. *Blood* **85**, 1659–65 (1995).
14. Bensinger, W. I. *u. a.* Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony stimulating factor. *Stem Cells* **14**, 90–105 (1996).
15. Schmitz, N. *u. a.* Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilized by filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor). *Blood* **85**, 1666–72 (1995).
16. Schrezenmeier, H. *u. a.* Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood* **110**, 1397–400 (2007).

17. Schmitz, N. *u. a.* Transplantation of mobilized peripheral blood cells to HLA-identical siblings with standard-risk leukemia. *Blood* **100**, 761–7 (2002).
18. Jacobsohn, D. A. & Vogelsang, G. B. Acute graft versus host disease. *Orphanet J. Rare Dis.* **2**, 35 (2007).
19. Filipovich, A. H. *u. a.* National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **11**, 945–56 (2005).
20. Mielcarek, M. *u. a.* Graft-versus-host disease after nonmyeloablative versus conventional hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* **102**, 756–62 (2003).
21. Ferrara, J. L. M., Levine, J. E., Reddy, P. & Holler, E. Graft-versus-host disease. *Lancet* **373**, 1550–61 (2009).
22. Glucksberg, H. *u. a.* Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* **18**, 295–304 (1974).
23. Kröger, N. *u. a.* In vivo T cell depletion with pretransplant anti-thymocyte globulin reduces graft-versus-host disease without increasing relapse in good risk myeloid leukemia patients after stem cell transplantation from matched related donors. *Bone Marrow Transplant.* **29**, 683–689 (2002).
24. Clift, R. A. *u. a.* Allogeneic marrow transplantation in patients with acute myeloid leukemia in first remission: a randomized trial of two irradiation regimens. *Blood* **76**, 1867–71 (1990).
25. Miller, K. B. *u. a.* A novel reduced intensity regimen for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation associated with a reduced incidence of graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* **33**, 881–9 (2004).
26. Lee, S. J., Vogelsang, G. & Flowers, M. E. D. Chronic graft-versus-host disease. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **9**, 215–33 (2003).
27. Goerner, M. *u. a.* Morbidity and mortality of chronic GVHD after hematopoietic stem cell transplantation from HLA-identical siblings for patients with aplastic or refractory anemias. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **8**, 47–56 (2002).
28. Lee, S. J. *u. a.* Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse. *Blood* **100**, 406–14 (2002).
29. Sullivan, K. M. *u. a.* Chronic graft-versus-host disease in 52 patients: adverse natural course and successful treatment with combination immunosuppression. *Blood* **57**, 267–76 (1981).
30. Carlens, S. *u. a.* Risk factors for chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation: a retrospective single centre analysis. *Bone Marrow Transplant.* **22**, 755–61 (1998).
31. Penack, O., Holler, E. & Van Den Brink, M. R. M. Graft-versus-host disease: Regulation by microbe-associated molecules and innate immune receptors. *Blood* **115**, 1865–72 (2010).
32. Chen, Y., Zhao, Y., Cheng, Q., Wu, D. & Liu, H. The Role of Intestinal Microbiota in Acute Graft-versus-Host Disease. *J. Immunol. Res.* **2015**, 145859 (2015).

33. Ramadan, A. & Paczesny, S. Various forms of tissue damage and danger signals following hematopoietic stem-cell transplantation. *Front. Immunol.* **6**, 14 (2015).
34. Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M. & Finlay, B. B. Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.* **90**, 859–904 (2010).
35. Dalal, S. R. & Chang, E. B. The microbial basis of inflammatory bowel diseases. *J. Clin. Invest.* **124**, 4190–6 (2014).
36. Blaser, M. J. The microbiome revolution. *J. Clin. Invest.* **124**, 4162–5 (2014).
37. Holler, E. *u. a.* Metagenomic analysis of the stool microbiome in patients receiving allogeneic stem cell transplantation: loss of diversity is associated with use of systemic antibiotics and more pronounced in gastrointestinal graft-versus-host disease. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **20**, 640–5 (2014).
38. Eriguchi, Y. *u. a.* Graft-versus-host disease disrupts intestinal microbial ecology by inhibiting Paneth cell production of α -defensins. *Blood* **120**, 223–31 (2012).
39. Jenq, R. R. *u. a.* Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation. *J. Exp. Med.* **209**, 903–911 (2012).
40. Diamond, G. *u. a.* Tracheal antimicrobial peptide, a cysteine-rich peptide from mammalian tracheal mucosa: peptide isolation and cloning of a cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **88**, 3952–3956 (1991).
41. Voss, E. *u. a.* NOD2/CARD15 mediates induction of the antimicrobial peptide human beta-defensin-2. *J. Biol. Chem.* **281**, 2005–11 (2006).
42. Yang, D., Biragyn, A., Kwak, L. W. & Oppenheim, J. J. Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal. *Trends Immunol.* **23**, 291–6 (2002).
43. Oppenheim, J. J., Biragyn, A., Kwak, L. W. & Yang, D. Roles of antimicrobial peptides such as defensins in innate and adaptive immunity. *Ann. Rheum. Dis.* **62 Suppl 2**, ii17-21 (2003).
44. Duits, L. A., Ravensbergen, B., Rademaker, M., Hiemstra, P. S. & Nibbering, P. H. Expression of beta-defensin 1 and 2 mRNA by human monocytes, macrophages and dendritic cells. *Immunology* **106**, 517–25 (2002).
45. Kanda, N. *u. a.* Human β -defensin-2 enhances IFN- γ and IL-10 production and suppresses IL-17 production in T cells. *J. Leukoc. Biol.* **89**, 935–44 (2011).
46. Boniotto, M. *u. a.* Human beta-defensin 2 induces a vigorous cytokine response in peripheral blood mononuclear cells. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 1433–41 (2006).
47. Niyonsaba, F., Ogawa, H. & Nagaoka, I. Human beta-defensin-2 functions as a chemotactic agent for tumour necrosis factor-alpha-treated human neutrophils. *Immunology* **111**, 273–81 (2004).
48. Yang, D. *u. a.* Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science* **286**, 525–8 (1999).
49. Ogura, Y. *u. a.* Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *J. Biol. Chem.* **276**, 4812–8 (2001).
50. Rosenstiel, P. *u. a.* TNF-alpha and IFN-gamma regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* **124**, 1001–9 (2003).
51. Ogura, Y. Expression of NOD2 in Paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis.

- Gut **52**, 1591–1597 (2003).
52. Lala, S. u. a. Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterology* **125**, 47–57 (2003).
53. Gutierrez, O. u. a. Induction of Nod2 in myelomonocytic and intestinal epithelial cells via nuclear factor-kappa B activation. *J. Biol. Chem.* **277**, 41701–5 (2002).
54. Holler, E. u. a. Both donor and recipient NOD2/CARD15 mutations associate with transplant-related mortality and GvHD following allogeneic stem cell transplantation. *Blood* **104**, 889–94 (2004).
55. Kao, C.-Y. u. a. IL-17 Markedly Up-Regulates -Defensin-2 Expression in Human Airway Epithelium via JAK and NF- B Signaling Pathways. *J. Immunol.* **173**, 3482–3491 (2004).
56. Wolk, K. u. a. IL-22 increases the innate immunity of tissues. *Immunity* **21**, 241–54 (2004).
57. Bacigalupo, A. u. a. Thymoglobulin prevents chronic graft-versus-host disease, chronic lung dysfunction, and late transplant-related mortality: long-term follow-up of a randomized trial in patients undergoing unrelated donor transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **12**, 560–5 (2006).
58. Duléry, R. u. a. Antithymocyte globulin before allogeneic stem cell transplantation for progressive myelodysplastic syndrome: a study from the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **20**, 646–54 (2014).
59. Kanda, N. & Watanabe, S. Increased serum human β-defensin-2 levels in atopic dermatitis: relationship to IL-22 and oncostatin M. *Immunobiology* **217**, 436–45 (2012).
60. Underwood, M. A. & Bevins, C. L. Defensin-barbed innate immunity: clinical associations in the pediatric population. *Pediatrics* **125**, 1237–47 (2010).
61. Lee, D. W. u. a. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood* **124**, 188–95 (2014).
62. Pihusch, R. u. a. The impact of antithymocyte globulin on short-term toxicity after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* **30**, 347–354 (2002).
63. Maude, S. L., Barrett, D., Teachey, D. T. & Grupp, S. A. Managing cytokine release syndrome associated with novel T cell-engaging therapies. *Cancer J.* **20**, 119–22 (2014).
64. Pearson, T. A. Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: A Statement for Healthcare Professionals From the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* **107**, 499–511 (2003).
65. Harder, J. & Schröder, J.-M. Antimicrobial peptides in human skin. *Chem. Immunol. Allergy* **86**, 22–41 (2005).
66. Jansen, P. A. M. u. a. Beta-defensin-2 protein is a serum biomarker for disease activity in psoriasis and reaches biologically relevant concentrations in lesional skin. *PLoS One* **4**, e4725 (2009).
67. Gerbitz, A. u. a. Probiotic effects on experimental graft-versus-host disease: let them eat yogurt. *Blood* **103**, 4365–7 (2004).

68. Kau, A. L., Ahern, P. P., Griffin, N. W., Goodman, A. L. & Gordon, J. I. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature* **474**, 327–36 (2011).
69. Willing, B. P., Russell, S. L. & Finlay, B. B. Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nat. Rev. Microbiol.* **9**, 233–43 (2011).
70. Taur, Y. u. a. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* **124**, 1174–82 (2014).
71. Erickson, B., Wu, Z., Lu, W. & Lehrer, R. I. Antibacterial activity and specificity of the six human {alpha}-defensins. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 269–75 (2005).
72. Jones, D. E. & Bevins, C. L. Defensin-6 mRNA in human Paneth cells: implications for antimicrobial peptides in host defense of the human bowel. *FEBS Lett.* **315**, 187–92 (1993).
73. Cunliffe, R. N. & Mahida, Y. R. Expression and regulation of antimicrobial peptides in the gastrointestinal tract. *J. Leukoc. Biol.* **75**, 49–58 (2004).
74. Dong, H., Lv, Y., Zhao, D., Barrow, P. & Zhou, X. Defensins: The Case for Their Use against Mycobacterial Infections. *J. Immunol. Res.* **2016**, 7515687 (2016).
75. Holler, E. & Weber, D. Fit for cure? Microbiota and GVHD. *Blood* **128**, (2016).
76. Weber, D. u. a. The association between acute graft-versus-host disease and antimicrobial peptide expression in the gastrointestinal tract after allogeneic stem cell transplantation. *PLoS One* **12**, e0185265 (2017).
77. Ayabe, T. u. a. Secretion of microbicidal alpha-defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. *Nat. Immunol.* **1**, 113–8 (2000).
78. Nestel, F. P., Price, K. S., Seemayer, T. A. & Lapp, W. S. Macrophage priming and lipopolysaccharide-triggered release of tumor necrosis factor alpha during graft-versus-host disease. *J. Exp. Med.* **175**, 405–13 (1992).
79. Hill, G. R. & Ferrara, J. L. 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**, 2754–9 (2000).
80. Cooke, K. R. u. a. LPS antagonism reduces graft-versus-host disease and preserves graft-versus-leukemia activity after experimental bone marrow transplantation. *J. Clin. Invest.* **107**, 1581–9 (2001).
81. Tewary, P. u. a. β -Defensin 2 and 3 promote the uptake of self or CpG DNA, enhance IFN- α production by human plasmacytoid dendritic cells, and promote inflammation. *J. Immunol.* **191**, 865–74 (2013).
82. Vordenbäumen, S. u. a. Elevated levels of human beta-defensin 2 and human neutrophil peptides in systemic lupus erythematosus. *Lupus* **19**, 1648–53 (2010).
83. Zilbauer, M. u. a. Expression of human beta-defensins in children with chronic inflammatory bowel disease. *PLoS One* **5**, e15389 (2010).
84. Kübler, I. u. a. Influence of standard treatment on ileal and colonic antimicrobial defensin expression in active Crohn's disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **30**, 621–633 (2009).

85. Schwarz, G. *Das C-Reaktive Protein*. (Springer-Verlag, 2013).

7 Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

aGvHD	<i>akute Graft versus Host Disease</i>
ANC	<i>absolute neutrophile count</i>
APC	<i>antigenpräsentierende Zellen</i>
ATG	<i>Antithymozytenglobulin</i>
CCR6	<i>CC-chemokine receptor 6</i>
CED	<i>Chronisch entzündliche Darmerkrankungen</i>
cGvHD	<i>chronische Graft verus Host Disease</i>
CyA	<i>Cyclosporin A</i>
d	<i>Tag</i>
dNorm	<i>normierter Tag</i>
EBMT	<i>European Society of Blood and Marrow Transplantation</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
etc.	<i>et cetera</i>
FBM	<i>Fludarabi, BCNU, Melphalan</i>
FLAMSA	<i>(FL)udarabine, (A)ra-C, (AMSA)crine</i>
G-CSF	<i>granulocyte colony stimulating factor</i>
GI	<i>Gastrointestinal</i>
GvHD	<i>Graft versus Host Disease</i>
hBD	<i>humanes β-Defensin</i>
HLA	<i>Human leukocyte antigen</i>
IL	<i>Interleukin</i>
kDa	<i>Kilodalton</i>
KMT	<i>Knochenmarkstransplantation</i>
KOF	<i>Körperoberfläche</i>
LDH	<i>Laktat Dehydrogenase</i>
LPS	<i>Lipopolysaccharide</i>
MDS	<i>myelodysplastisches Syndrom</i>
MHC	<i>major histocompatibility complex</i>
MPS	<i>myeloproliferatives Syndrom</i>
MTX	<i>Methotrexat</i>
NLR	<i>NOD-like Rezeptor</i>
NOD	<i>Nucleotide-binding oligomerization domain protein</i>

PAMP	<i>pathogen-associated molecular pattern</i>
PBMC	<i>Peripheral Blood Mononuclear Cell/mononukleäre Zellen des peripheren Blutes</i>
PBSZT	<i>periphere Blutstammzelltransplantation</i>
PRR	<i>pathogen recognition receptor</i>
RIC	<i>reduced-intensity conditioning</i>
SLE	Systemischer Lupus erythematoses
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SZT	<i>Stammzelltransplantation</i>
TBI	<i>total body irradiation/Ganzkörperbestrahlung</i>
TLR	<i>Toll-like Rezeptor</i>
TNF	<i>Tumonekrosefaktor</i>
TRM	<i>Treatment Related Mortality</i>

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: „Schematic of the role of microbiota in graft-versus-host disease in the gut“ aus Chen, Y., Zhao, Y., Cheng, Q., Wu, D. & Liu, H. The Role of Intestinal Microbiota in Acute Graft-versus-Host Disease. <i>J. Immunol. Res.</i> 2015, 145859 (2015)	9
Abbildung 2: Verlaufskurve der β -Defensin 2- Werte	18
Abbildung 3: Verlaufskurve der β -Defensin 2-Werte und TRM Gabe.....	19
Abbildung 4: Verlaufskurve der β -Defensin-2-Werte und Konditionierung	20
Abbildung 5: Verlaufskurve der β -Defensin 2-Werte und ATG Gabe	22
Abbildung 6: ATG-Dosisabhängigkeit des β -Defensin 2 (d0)	27
Abbildung 7: CRP an Tag 0 bei ATG ja/nein, CRP-Mittelwert bei ATG ja: 46,95, SD 49,27, CRP-Mittelwert bei ATG nein: 14,50, SD 20,74, P= 0,008	29
Abbildung 8: Streudiagramm β -Defensinwerte und CRP an Tag 0	30
Abbildung 9: Grunderkrankungen und β -Defensin 2 an d-10 (vor Konditionierung)..	34
Abbildung 10: Erreichter Maximalgrad der aGvHD im Zeitraum d14-85	37
Abbildung 11: akute GvHD der Haut und β -Defensin 2 im Zeitraum d14-85.....	40
Abbildung 12: Stadium der aGvHD der Haut und β -Defensin 2 im Zeitraum d14-85	40

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Organstadien der aGvHD nach Glucksberg	5
Tabelle 2: Gesamtgrad der aGvHD nach Glucksberg	5
Tabelle 3: Übersicht β -Defensine	12
Tabelle 4: Patientencharakteristika.....	15
Tabelle 5: Übersicht Konditionierung	21
Tabelle 6: β -Defensinwerte bei TRM ja/nein	23
Tabelle 7: β -Defensinwerte bei Konditionierung RIC/Standard	24
Tabelle 8: β -Defensinwerte bei Blutkultur positiver, dokumentierter Infektion ja/nein	25
Tabelle 9: β -Defensinwerte bei ATG Gabe ja/nein	26
Tabelle 10: Häufigkeitstabelle ATG Dosis und β -Defensinwerte	27
Tabelle 11: ATG-Dosisabhängigkeit der β -Defensin 2-Werte an d0, Mann-Whitney-U	28
Tabelle 12: CRP an Tag 0 bei ATG ja/nein	28
Tabelle 13: Korrelation CRP und β -Defensin 2 an Tag 0	30
Tabelle 14: Deskriptive Statistik β -Defensin 2 und CRP	31
Tabelle 15: CRP und β -Defensin 2, Mann-Whitney-U	32
Tabelle 16: Deskriptive Statistik β -Defensin-2 und LDH.....	32
Tabelle 17: LDH und β -Defensin 2, Mann-Whitney-U	32
Tabelle 18: Deskriptive Statistik β -Defensin-2 und ANC	33
Tabelle 19: ANC und β -Defensin 2, Mann-Whitney-U.....	33
Tabelle 20: Deskriptive Statistik β -Defensin 2-Werte an d-10 und Grunderkrankungen	34
Tabelle 21: Grunderkrankungen und β -Defensin 2-Werte an d-10 (vor Konditionierung), Mann-Whitney-U	35
Tabelle 22: Maximalgrad der aGvHD	36
Tabelle 23: Deskriptive Statistik β -Defensin 2-Werte von d14-85	36
Tabelle 24: Maximalgrad der aGvHD und β -Defensin 2 im Zeitraum d14-85, Mann- Whitney-U	36
Tabelle 25: Deskriptive Statistik der β -Defesnin 2-Werte von d14-85 bei aGvHd der Haut	38
Tabelle 26: akute GvHD der Haut und β -Defensin 2 im Zeitraum d14-85, Mann- Whitney-U	39

Tabelle 27: Deskriptive Statistik β -Defensin 2-Werte und aGvHD Darm und Leber im Zeitraum d14-85	41
Tabelle 28: β -Defensin 2-Werte und aGvHD des Darms im Zeitraum d14-85, Mann-Whitney-U	41
Tabelle 29: β -Defensin 2-Werte und aGvHD der Leber im Zeitraum d14-85, Mann-Whitney-U	41
Tabelle 30: Deskriptive Statistik der β -Defensin 2-Maxima d180-360 und Maximalgrad cGvHD	42
Tabelle 31: Maxima der β -Defensin 2-Werte und Maximalgrad der cGvHD im Zeitraum d180-360, Mann-Whitney-U	42
Tabelle 32: Deskriptive Statistik der Maximalwerte β -Defensin 2 und Art der TRM von d28-85	43
Tabelle 33: Maximalwert des β -Defensin 2 im Zeitraum d28-85 und Art der TRM, Mann-Whitney-U	44
Tabelle 34: Deskriptive Statistik der β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD bei TRM ja/nein.....	45
Tabelle 35: Einfaktorielle ANOVA, β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD bei TRM ja/nein	45
Tabelle 36: Deskriptive Statistik der β -Defensin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD der Haut bei TRM ja/nein.....	45
Tabelle 37: Einfaktorielle ANOVA, β -Defesnin 2-Werte zu Beginn einer akuten GvHD der Haut bei TRM ja/nein.....	46

7.4 Danksagung

Ich möchte mich insbesondere bei Prof. Dr. Holler bedanken, der mir jederzeit mit größtem Fachwissen und Lösungsvorschlägen geduldig zur Seite stand und mir die Möglichkeit gab, diese Dissertation in der Abteilung für Hämatologie/Onkologie durchzuführen.

Mein Dank gilt weiter meiner Familie und meinen Freunden, die mich während des gesamten Studiums und der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.