

Aus der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie – Plastische
Operationen
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Die Veränderung der Konzentrationen von sekretorischem Immunglobulin A, Interleu-
kin-6 und Interleukin-8 im Speichel von Patienten innerhalb eines Jahres nach allo-
gener hämatopoetischer Stammzelltransplantation

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Zahnmedizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Leonie Casser
aus Bamberg

Mainz, 2024

Wissenschaftlicher Vorstand:

1. Gutachter: PD Dr. med. Dr. med. dent. habil. Julia Heider

2. Gutachter:

Tag der Promotion: 19. Juni 2024

Inhalt

I.	Abkürzungsverzeichnis	I
I.	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis.....	II
1.	Einleitung und Ziel der Dissertation.....	1
1.1.	Einleitung.....	1
1.2.	Ziele	2
2.	Literaturdiskussion.....	3
2.1.	Allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation	3
2.1.1.	Graft-versus-host disease (GvHD)	4
2.1.2.	Orale GvHD und Schubert Skala.....	5
2.2.	Biomarker für die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation.....	6
2.2.1.	Immunglobulin A	9
2.2.2.	Interleukin-6	13
2.2.3.	Interleukin-8	15
3.	Material und Methoden	17
3.1.	Das Patientenkollektiv	17
3.2.	Voruntersuchungen	18
3.2.1.	Die Speichelfließrate	18
3.2.2.	Die Biomarker im Blutserum.....	19
3.3.	Die Untersuchungen der vorliegenden Studie.....	21
3.3.1.	Durchführung der ELISA	21
3.4.	Statistische Auswertung.....	22
4.	Ergebnisse.....	24

4.1.	Untersuchungsergebnisse von Untersuchungstermin U1.....	25
4.1.1.	Sekretorisches Immunglobulin A	25
4.1.2.	Interleukin-6	26
4.1.3.	Interleukin-8	27
4.2.	Untersuchungsergebnisse von Untersuchungstermin U2.....	28
4.2.1.	Immunglobulin A	28
4.2.2.	Interleukin-6	29
4.2.3.	Interleukin-8	30
4.3.	Untersuchungsergebnisse von Untersuchungstermin U3.....	31
4.3.1.	Immunglobulin A	31
4.3.2.	Interleukin-6	32
4.3.3.	Interleukin-8	33
4.4.	Untersuchungsergebnisse von Untersuchungstermin U4.....	34
4.4.1.	Immunglobulin A	34
4.4.2.	Interleukin-6	35
4.4.3.	Interleukin-8	36
4.5.	Untersuchungsergebnisse im Verlauf U1-U4	37
4.5.1.	Verlauf: IL-6	38
4.5.2.	Verlauf: IL-8	39
4.5.3.	Vergleich des Verlaufs der Biomarker im Speichel und im Blutserum.....	40
4.5.3.1.	Immunglobulin A.....	40
4.5.3.2.	Interleukin-6.....	42
4.5.3.3.	Interleukin-8.....	44

4.5.4.	Die Konzentrationen der Biomarker im Speichel und die orale GvHD	46
4.5.4.1.	slgA.....	46
5.	Diskussion	49
5.1.	Studienaufbau	49
5.2.	Veränderung der Konzentrationen von slgA, IL-6 und IL-8	51
5.2.1.	slgA.....	51
5.2.2.	IL-6.....	52
5.2.3.	IL-8.....	54
5.3.	Zusammenhang zwischen den Konzentrationen des Immunglobulins slgA, der Zytokine IL-6 und IL-8 im Speichel und den Konzentrationen von IgA, IL-6 und IL-8 im Blutserum.....	55
5.3.1.	slgA.....	55
5.3.2.	IL-6.....	55
5.3.3.	IL-8.....	56
5.4.	Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von slgA, IL-6 und IL-8 im Speichel und dem Schweregrad einer oralen GvHD.....	57
5.4.1.	slgA.....	57
5.4.2.	IL-6.....	58
5.4.3.	IL-8.....	58
5.5.	Limitierungen der Studie.....	59
6.	Zusammenfassung	60
7.	Danksagung	62
8.	Literaturverzeichnis.....	63
9.	Tabellarischer Lebenslauf.....	71

I. Abkürzungsverzeichnis

aGvHD: akute Graft-versus-host disease

aHSZT: allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation

APC: antigenpräsentierende Zellen

Bspw.: beispielsweise

Bzw.: beziehungsweise

cGvHD: chronische Graft-versus-host disease

GvHD: Graft-versus-host disease

HSZT: hämatopoetische Stammzelltransplantation

HLA: human leukocyte antigens

IgA: Immunglobulin A

IL6: Interleukin 6

IL8: Interleukin 8

pIgR: Polyimmunglobulin-Rezeptor

SC: sekretorische Komponente

SP: Speichelproben

SFR: Speichelfließrate

slgA: sekretorisches Immunglobulin A

I. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anzahl der untersuchten Patienten zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten	18
Abbildung 2: Anzahl der untersuchten Speichelproben zu den Untersuchungszeitpunkten U1-U4.....	24
Abbildung 3: sIgA-Konzentration im Speichel zu U1	25
Abbildung 4: IL-6-Konzentration im Speichel zu U1	26
Abbildung 5: IL-8-Konzentration im Speichel zu U1	27
Abbildung 6: sIgA-Konzentration im Speichel zu U2	28
Abbildung 7: IL-6-Konzentration im Speichel zu U2	29
Abbildung 8: IL-8-Konzentration im Speichel zu U2	30
Abbildung 9: sIgA-Konzentration im Speichel zu U3	31
Abbildung 10: IL-6-Konzentration im Speichel zu U3	32
Abbildung 11: IL-8-Konzentration im Speichel zu U3	33
Abbildung 12: sIgA-Konzentration im Speichel zu U4	34
Abbildung 13: IL-6-Konzentration im Speichel zu U4	35
Abbildung 14: IL-8-Konzentration im Speichel zu U4	36
Abbildung 15: sIgA-Konzentration im Speichel im Verlauf U1-U4	37
Abbildung 16: IL-6-Konzentration im Speichel im Verlauf U1-U4	38
Abbildung 17: IL-8-Konzentration im Speichel im Verlauf U1-U4.	39
Abbildung 18: IgA aus dem Blutserum und sIgA aus dem Speichel im Verlauf U1-U4.	40

Abbildung 19: Korrelation zwischen IgA (Blutserum) und sIgA (Speichel)	41
Abbildung 20: IL-6 aus dem Blutserum und IL-6 aus dem Speichel im Verlauf U1-U4	42
Abbildung 21: Korrelation IL-6 (Blutserum) und IL-6 (Speichel).....	43
Abbildung 22: IL-8 aus dem Blutserum und IL-8 aus dem Speichel im Verlauf U1-U4	44
Abbildung 23: Korrelation zwischen IL-8 (Blutserum) und IL-8 (Speichel)	45
Abbildung 24: Korrelation zwischen der sIgA-Konzentration im Speichel und der Schubert-Skala	46
Abbildung 25: Korrelation zwischen der IL-6-Konzentration im Speichel und der Schubert-Skala	47
Abbildung 26: Korrelation zwischen der IL-8-Konzentration im Speichel und der Schubert-Skala	48
Tabelle 1: Schubert-Skala zur Einteilung einer oralen GvHD	6
Tabelle 2: Studien zu sIgA im Speichel nach HSZT	12
Tabelle 3: Studien zu IL-6 im Speichel nach HSZT	15
Tabelle 4: Studien zu IL-8 im Speichel nach HSZT	17
Tabelle 5: Geschlechterverteilung der Patienten.....	18
Tabelle 6: Ergebnisse für die Speichelfließrate von Fischer [2020]	19
Tabelle 7: Referenzwerte der Biomarker im Blutserum	19
Tabelle 8: Ergebnisse für den IgA-Serumspiegel von Fischer [2020]	20
Tabelle 9: Ergebnisse für den IL-6-Serumspiegel von Fischer [2020]	20

Tabelle 10: Ergebnisse für den IL-8-Serumspiegel von Fischer [2020]	21
---------------------------------------------------------------------------	----

1. Einleitung und Ziel der Dissertation

1.1. Einleitung

Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (aHSZT) stellt eine bedeutende Therapie bei der Behandlung einer Vielzahl von hämatologischen Erkrankungen dar. Dies umfasst nicht-maligne, sowie maligne Grunderkrankungen, wie zum Beispiel die akute myeloische Leukämie, die lymphatische Leukämie und die Knochenmarkinsuffizienz (1). Die häufigste Indikation für eine allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation ist laut der Europäischen Organisation für Blut- und Knochenmarktransplantation (EBMT) die akute myeloische Leukämie (1).

In den letzten Jahrzehnten konnte die transplantationsbedingte Mortalität nach aHSZT dank fortschreitender medizinischer Erkenntnisse deutlich verringert werden (2, 3). Dennoch sehen sich Patienten und Ärzte nach wie vor mit schweren Komplikationen dieser Therapie, wie Infektionen, chemotherapie-induzierten Schäden und der Entwicklung einer Graft-versus-Host Disease (GvHD), konfrontiert (4).

Um den Erfolg einer aHSZT vorhersagen zu können, werden fortlaufend klinisch relevante Biomarker erforscht. Durch deren Analyse soll es ermöglicht werden, Risikopatienten zu identifizieren, Komplikationen frühestmöglich zu diagnostizieren, zu behandeln und prognostische Einschätzungen zu treffen. Ein mehrstufiger Prozess ist notwendig, damit ein Biomarker als solcher identifiziert, verifiziert und sein standardisierter Einsatz gerechtfertigt werden kann. Am Anfang dieses Prozesses stehen kleine Studien, die potenzielle Biomarker untersuchen und die Richtung für größere Studien vorgeben.

Die Rolle von sekretorischem Immunglobulin A (sIgA) aus dem Speichel von stammzelltransplantierten Patienten und dessen Zusammenhang mit einer GvHD wurde bereits in einigen wenigen Studien thematisiert [32, 35, 36]. Dahingegen gibt es kaum Untersuchungen von IL-6 und IL-8 im Speichel von Patienten nach aHSZT. Als Zytokine spielen sie eine Rolle in der Pathophysiologie entzündlicher Prozesse und Krankheiten (5, 6). Es gibt Hinweise darauf, dass proinflammatorische Zytokine, wie IL-6 und IL-8, maßgeblich an der Entstehung einer GvHD beteiligt sind und als prognostische Biomarker dienen können (7, 8). SIgA wird auf den Schleimhäuten exprimiert und ist zuständig für den Schutz des Körpers vor fremden Pathogenen. Eine Verminderung dieses Immunglobulins ist assoziiert mit respiratorischen und gastrointestinalen Infekten, sowie Autoimmunerkrankungen (9). Speichel ist reich an Informationen über lokale und systemische Prozesse im Körper und leicht

zugänglich für Untersuchungen (10). Aus diesen Gründen ist die Erforschung potenzieller Biomarker im Speichel, die das Outcome nach aHSZT bezüglich GvHD vorhersagen können, sinnvoll.

In der vorliegenden Promotionsarbeit soll die Veränderung der Konzentrationen des Immunglobulins sekretorisches Immunglobulin A (sIgA), sowie der Zytokine Interleukin-6 (IL-6) und Interleukin-8 (IL-8) im Speichel von Patienten im Verlauf eines Jahres nach aHSZT untersucht werden.

1.2. Ziele

Hauptfragestellung:

Verändert sich die Konzentration des Immunglobulins sekretorisches Immunglobulin A (sIgA) und der Zytokine Interleukin-6 (IL-6) und Interleukin-8 (IL-8) im Speichel von Patienten innerhalb eines Jahres nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation?

Nebenfragestellungen:

Besteht ein Zusammenhang zwischen den Konzentrationen des Immunglobulins sIgA, der Zytokine IL-6 und IL-8 im Speichel und den Konzentrationen von IgA, IL-6 und IL-8 im Blutserum?

Besteht ein Zusammenhang zwischen den gemessenen Konzentrationen von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel und dem Schweregrad einer oralen GvHD?

2. Literaturdiskussion

2.1. Allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation

Die hämatopoetische allogene Stammzelltransplantation (aHSZT) ist eine anerkannte Therapie, die darin besteht, funktionell beeinträchtigte oder maligne entartete Blutzellen eines Erkrankten durch die gesunden Blutstammzellen eines kompatiblen Spenders zu ersetzen (4). Die transplantierten Blutstammzellen siedeln sich im Knochenmark des Empfängers an, vermehren sich dort und entwickeln sich zu reifen Blutzellen, die in die periphere Blutstrombahn auswandern. Ist dieser Prozess erfolgreich, entsteht ein neues, funktionsfähiges lympho-hämatopoetisches System, welches potenziell die Heilung des Erkrankten bedeuten kann (4). Dieser Therapie geht eine vorbereitende Behandlung voran, welche Konditionierung genannt wird. Ziel der Konditionierung ist zum einen die Eliminierung der zugrundeliegenden Erkrankung und zum anderen die Suppression des Immunsystems (11). Beide stellen Voraussetzungen für den Erfolg einer aHSZT dar. Die Konditionierung besteht aus einer Chemo- und/oder Radiotherapie (11). Neben hochdosierten Konditionierungsregimen, welche myeloablativ genannt werden, kommen auch weniger intensive, sogenannte nicht-myeloablativ Konditionierungsregime zur Anwendung (11). Die Wahl des Konditionierungsschemas und deren Intensität wird individuell getroffen und ist von Faktoren abhängig wie der Grunderkrankung des Patienten, dem Alter, Komorbiditäten und dem Rezidivrisiko (11).

Im Falle einer allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation erhält der Patient, anders als bei einer autologen Stammzelltransplantation, die Blutstammzellen von einem Familien- oder Fremdspender. Die Auswahl des passenden Spenders erfolgt auf Grundlage des Histokompatibilitätskomplexes (12). Dieser besteht aus einer Gruppe von Genen, die für bestimmte Proteine, die humanen Leukozytenantigene (HLA), codieren (12). Diese HLA-Proteine befinden sich auf den Oberflächen von Körperzellen und haben die Aufgabe, Peptide aus dem Cytoplasma an T-Zellen zu präsentieren. Je nach HLA-Typ, werden diese von CD8+-T-Zellen oder CD4+-T-Zellen erkannt (12). Auf diese Weise ist eine Unterscheidung zwischen körperfremden und körpereigenen Geweben möglich. Erkennen die T-Zellen die Antigene als nicht kompatibel, kann dies zu einer Abstoßungsreaktion im Körper des Empfängers führen (13). Um solch eine Abstoßung zu vermeiden, wird vor der allogenen Stammzelltransplantation eine HLA-Typisierung von Empfänger und Spender durchgeführt. Je mehr Übereinstimmung es zwischen den HLA-Molekülen von Spender und Empfänger gibt, desto geringer ist das Risiko für eine Abstoßungsreaktion (14).

In manchen Fällen wird der Mechanismus der Abstoßung ausgenutzt, um verbliebene maligne Zellen im Patienten durch die T-Zellen des Spenders zu eliminieren. Dieser Effekt wird Graft-

versus-Leukemia-Effekt genannt (GvL) (15). Bei der Optimierung des Stammzelltransplantats muss die HLA-Übereinstimmung zwischen Spender und Empfänger und die Konditionierungsintensität berücksichtigt werden. Ziel ist es das Stammzelltransplantat so zu konstruieren, dass die T-Zellen einen GvL-Effekt ausüben können bei minimalem Risiko für eine Graft-versus-host disease (GvHD) (15).

Auch bei hoher Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger, kommt es nach aHSZT häufig zu Komplikationen. Die frühesten stellen sich als Nebenwirkungen der Chemo- und/oder Radiotherapie dar und beinhalten Infektionen, gastrointestinale Beschwerden, Organdysfunktionen und Panzytopenien (4). Im weiteren Verlauf nach aHSZT kann es zu Abstoßungsreaktionen in Form einer akuten oder chronischen Graft-versus-host disease kommen, sowie Infektionen mit Bakterien, Viren oder Pilzen (4). Neben diesen Komplikationen besteht außerdem immer das Risiko, ein Rezidiv der Grunderkrankung zu erleiden (4).

2.1.1. Graft-versus-host disease (GvHD)

In der Zeit unmittelbar nach der aHSZT kann sich eine akute Graft-versus-host disease (aGvHD) entwickeln. Diese Erkrankung findet sich ausschließlich bei der allogenen Stammzelltransplantation und kann als klassische aGvHD, late-onset aGvHD, und zusammen mit einer chronischen GvHD als Overlap-Syndrom auftreten (16). Die T-Zellen des Blutstammzellen-Spenders erkennen das Gewebe des Empfängers als fremdartig an und lösen eine Immunreaktion aus, welche zur Erkrankung des Patienten führt (17). Pathophysiologisch kann dies in drei Stufen eingeteilt werden: durch die Konditionierungstherapie kommt es zunächst zu Gewebeverletzungen im Körper des Empfängers, wodurch proinflammatorische Zytokine, wie Interleukin-1, IL-6 und Tumornekrosefaktor, ausgeschüttet werden. Diese Zytokine aktivieren wiederum antigenpräsentierende Zellen (APC). Anschließend aktivieren diese APCs die T-Zellen des Spenders. Im letzten Schritt kommt es durch zelluläre und inflammatorische Prozesse zur Schädigung unterschiedlicher Organe (18). Betroffen sind hierbei meist der Gastrointestinaltrakt, die Haut und die Leber (19). Die Haut ist das am häufigsten betroffene Organ und bildet ein charakteristisches juckendes makulopapulöses Exanthem aus, welches den gesamten Körper befallen kann (20). In schweren Fällen kann es zu Blasenbildung und starken Schmerzen auf der Haut kommen (20). Gastrointestinale Symptome umfassen Durchfall, Übelkeit, Erbrechen, Anorexie und Bauchschmerzen (20). Anzeichen für eine Beteiligung der Leber sind die Entwicklung eines Ikterus, eine Erhöhung der alkalischen Phosphatase und

von Bilirubin im Blut (20).

Um das Auftreten einer GvHD zu verhindern, wird den Patienten üblicherweise eine Prophylaxe verabreicht, die in die Aktivierung der Spender-T-Zellen eingreift. In den meisten Fällen besteht sie aus einer Kombination von Calcineurin-Inhibitoren wie Cyclosporin A oder Tacrolimus mit Methotrexat oder Mycophenolat Mofetil (21). Die Dauer und Intensität der GvHD-Prophylaxe wird individuell für jeden Patienten entschieden und berücksichtigt Faktoren wie den Remissionsstatus, das Alter des Patienten und den Grad an HLA-Kompatibilität zwischen Spender und Empfänger (21).

Im späteren Verlauf nach allogener Stammzelltransplantation besteht das Risiko einer chronischen Graft-versus-host disease (cGvHD) (22). Etwa 50% der Patienten erleiden diese Komplikation nach aHSZT (21). Die akute GvHD stellt einen Risikofaktor für die Entwicklung einer chronischen GvHD dar. Pathophysiologisch beruht die cGvHD vor allem auf gestörten Toleranzmechanismen (21). Es können eine Reihe von Organen betroffen sein, darunter die Haut, die Mundschleimhaut, die Leber, der Gastrointestinaltrakt und die Speichel- und Tränendrüsen (22). Die Symptome der cGvHD ähneln denen von verschiedensten Autoimmunerkrankungen und anderen immunologischen Erkrankungen, wie dem Sjögren Syndrom oder der primären biliären Cholangitis (16).

2.1.2. Orale GvHD und Schubert Skala

Die Mundschleimhaut ist eine der am häufigsten betroffenen Organe der GvHD (21, 23). Sowohl bei der akuten als auch bei der chronischen GvHD können eine Mukositis, Gingivitis, Schmerzen und Erytheme auftreten (16). Typische Merkmale für die cGvHD sind lichenoiden Veränderungen, Leukoplakien und sklerotische Veränderungen, die zu einer Einschränkung der Mundöffnung und der oralen Einfuhr führen können (16). Des Weiteren kann es zur Xerostomie, zu Mukozelen, Atrophien und Ulzerationen kommen (16).

Die Schubert-Skala dient der Bestimmung des Schweregrades einer oralen GvHD (oGvHD). Die Mundschleimhaut des Patienten wird hierbei auf typische Veränderungen durch eine GvHD untersucht: Erytheme, lichenoiden Veränderungen, Ulzerationen und Mukozelen (24). Es erfolgt eine Einteilung in „keine“, „mild“, „moderat“ oder „schwer“, je nach Ausprägung des Krankheitsbildes (24). Jedem Schweregrad wird ein Punktwert zugeteilt. Je höher der

Schweregrad der oralen GvHD, desto mehr Punkte werden auf der Punktebewertung von 0-15 Punkten erreicht (siehe Tabelle 1).

Mundschleimhautveränderung	keine		mild		moderat		schwer	
	keine	0	<25%	1	Leichtes Erythem > 25 % oder starkes Erythem < 25 %	2	Starkes Erythem >25%	3
Erytheme	keine	0	<25%	1	Leichtes Erythem > 25 % oder starkes Erythem < 25 %	2	Starkes Erythem >25%	3
Lichenoide Veränderungen	keine	0	25-50%	1	25-50%	2	>50%	3
Ulzerationen	keine	0	keine	0	<20%	3	>20%	6
Mukozelen	keine	0	1-5	1	6-10	2	>10	3

Tabelle 1: Schubert-Skala zur Einteilung einer oralen GvHD

2.2. Biomarker für die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation

Biomarker sind biologische Beobachtungen, beispielsweise Messungen, die einen Indikator für normale biologische oder pathologische Prozesse, sowie therapeutische Interventionen darstellen (25). Sie werden für viele Zwecke eingesetzt, unter anderem für die Diagnose oder Verlaufsbeobachtung von Krankheiten, Überwachung von Medikamentenwirkungen oder zur prognostischen Beurteilung (25). Für Krankheiten relevante Biomarker zeichnen sich dadurch aus, dass sie in die Pathophysiologie der betreffenden Prozesse involviert sind (25). Anforderungen an Biomarker sind unter anderem ihre Spezifität für die Krankheit, eine nicht-invasive Testung, Genauigkeit, Reproduzierbarkeit und Schnelligkeit. Oft ist ein einzelner Biomarker nicht ausreichend, um eine verlässliche Aussage über den Status einer Erkrankung oder deren Verlauf treffen zu können. Ist dies der Fall, müssen mehrere unterschiedliche Biomarker herangezogen werden (25).

Es werden fortlaufend Biomarker erforscht, mit deren Hilfe Vorhersagen über den Verlauf einer aHSZT gemacht werden können. Mit aussagekräftigen Biomarkern können Patienten, die ein hohes Risiko für Komplikationen besitzen, identifiziert und ihre Prognose beurteilt werden (26). Biomarker können dabei helfen, Komplikationen einer aHSZT noch vor deren Auftreten zu

erkennen und wegweisend in deren Therapie sein. Das Ziel der Erforschung von geeigneten Biomarkern ist demnach, die Mortalitäts- und Morbiditätsrate nach aHSZT zu senken (26).

Neben dem Risiko ein Rezidiv zu entwickeln, stehen nach aHSZT vor allem die akute und chronische GvHD sowie Infektionen als Komplikationen im Vordergrund (27). Vor allem für die GvHD, die meist nur anhand von klinischen Symptomen und Biopsien diagnostiziert wird, sind Biomarker von Bedeutung. Für die GvHD konnte inzwischen eine Vielzahl an Biomarkern im Blut identifiziert werden, darunter MicroRNAs, zelluläre Biomarker und Proteine (28, 29). MicroRNAs (MiRs) können verschiedene proinflammatorische Zielgene regulieren und sind im Blutserum messbar. In Studien konnte gezeigt werden, dass vor allem die MiRs miR-155 und miR-146a mit dem Risiko für die Entstehung einer aGvHD korrelieren (30, 31). Bestimmte regulatorische T-Zellen (Tregs) konnten als diagnostische und prädiktive zelluläre Biomarker für eine GvHD identifiziert werden. Patienten, die wenige Tregs im Blut aufwiesen, entwickelten eher eine aGvHD als jene mit mehr Tregs im Blut (32-34). Proteine, die als Biomarker für eine GvHD verifiziert wurden, umfassen unter anderem Elafin, Hepatozyten-Wachstumsfaktor und REG3a (28).

Speichel bietet als diagnostisches Medium einige Vorteile gegenüber Blut- oder Urinproben und hat in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. Speichelprobenentnahmen sind kostengünstig und einfach durchzuführen. Sie stellen eine nicht-invasive Methode dar, um Biomarker zu untersuchen und sind mit wenig Stress für Patienten und Personal verbunden. Dies erlaubt mehrfache Entnahmen bei schwer kranken oder beeinträchtigten Patienten, ohne diese zu gefährden (35).

Speichel enthält eine Vielzahl an diagnostisch relevanten Bestandteilen, wie Hormone, Antikörper, Zytokine, Chemokine, Proteine und Nukleinsäuren. Diese stammen lokal aus den Speicheldrüsen sowie aus dem systemischen Kreislauf (36). Die Zusammensetzung des Speichels ist interindividuell unterschiedlich und wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Neben Alter, Geschlecht, zirkadianem Rhythmus und Blutperfusion, können auch Medikamente die Speichelzusammensetzung verändern (37). Auch durch Erkrankungen kann der Speichel in seiner Menge und in seiner Zusammensetzung verändert sein. Die Testung von Speichelproben erlaubt demnach Rückschlüsse auf lokale sowie auf systemische Prozesse (36). Speichel kann als Gesamtspeichel entnommen werden oder aus einzelnen Speicheldrüsen. Gesamtspeichel enthält Speichel aus den kleinen und großen Speicheldrüsen sowie orale Epithelzellen, Leukozyten, Mikroorganismen und Flüssigkeit aus dem gingivalen Sulkus (38). Aufgrund seiner nicht-exokrinen Komponenten eignet sich Gesamtspeichel vor allem zur Gewinnung

von Informationen aus dem systemischen Kreislauf (38).

Es existieren verschiedene Methoden zur Speichelprobengewinnung. Bei der passiven Drainage und der Spuckmethode wird der Speichel in einem dafür geeigneten Behälter aufgefangen. Der Speichel kann allerdings auch durch Aspiration oder Drainage der Speicheldrüsen-Ausgänge gewonnen werden. Eine weitere Methode ist die Absorption des Speichels durch Wattebausche oder ähnliche Materialien (39). Speichelproben können stimuliert oder unstimuliert entnommen werden. Die Exkretion von stimuliertem Speichel wird durch gustatorische, mastikatorische, pharmakologische oder mechanische Reizung herbeigeführt (37).

Die Analyse von Speichelproben findet bereits in einigen Bereichen Anwendung. Die Messung von Cortisol oder Melatonin im Speichel und deren zirkadianem Verlauf dient beispielsweise der Diagnose von zirkadianen Störungen und hormonellen Erkrankungen (38). In der Zahnmedizin wird die Speicheldiagnostik zur Erfassung von oralen Erkrankungen, wie Karies, Paradontitis oder oraler Candidiasis verwendet (10, 38). Auch bei der Krebsdiagnostik spielt die Untersuchung von Speichel eine Rolle. Es konnten bereits einige Biomarker für verschiedene Krebsarten im Speichel identifiziert werden. Diese umfassen unter anderem Mammakarzinome, Eierstockkrebs, Speicheldrüsenkrebs und Bauchspeicheldrüsenkrebs (40). Die Untersuchung von Speichel für die Diagnostik von oralen Tumoren ist deshalb von besonderem Interesse, da die Speichelflüssigkeit in direktem Kontakt mit den Tumorzellen steht. Das Plattenepithelkarzinom stellt die häufigste Form von malignen Tumoren im Mundraum dar und weist nach wie vor eine hohe Mortalitätsrate auf (40, 41). Inzwischen konnten Biomarker für das orale Plattenepithelkarzinom im Speichel unter anderem in Form von Proteinen, DNA, RNA und mikroRNAs identifiziert werden (40, 42).

Des Weiteren können durch die Speichelanalyse Biomarker für die Diagnostik von Autoimmunerkrankungen bestimmt werden. Wie bereits beschrieben, ähnelt die Symptomatik der cGvHD verschiedenen Autoimmunerkrankungen, wie beispielsweise dem Sjögren's Syndrom (16). Die Konzentrationen der Interleukine IL-6 und IL-2 sind im Speichel erhöht bei einer Erkrankung mit dem Sjögren's Syndrom, während die sIgA-Konzentration im Speichel erniedrigt ist (10).

Die Erforschung von Biomarkern für eine orale GvHD im Speichel von Patienten ist naheliegend, da auch bei dieser Erkrankung der Speichel in direkter Interaktion mit dem betroffenen Gewebe steht. Zudem bestehen Parallelen in der Symptomatik zwischen einer GvHD und

bestimmten Autoimmunerkrankungen, wie dem Sjögren's Syndrom, für die bereits Biomarker im Speichel identifiziert werden konnten (10).

2.2.1. Immunglobulin A

Die Immunglobuline A (IgA) bilden eine Klasse von Antikörpern, die sowohl im Blutserum als auch an den Schleimhäuten des Gastrointestinaltraktes, des Respirationstraktes und des Urogenitaltraktes zu finden sind (43). IgA wird von Plasmazellen im Knochenmark und von B-Zellen des lymphatischen Gewebes produziert (44). Es wird beim Menschen weiter in die Subklassen IgA1 und IgA2 unterteilt (43). Zudem wird zwischen Serum-IgA (IgA) und sekretorischem IgA (sIgA) unterschieden. sIgA befindet sich in Körpersekreten wie dem Speichel, der Muttermilch und der Tränenflüssigkeit. IgA findet sich dagegen im Blutserum (43). Die Synthese von sIgA in den Körpersekreten findet unabhängig von der IgA-Synthese im Blut statt. Während IgA in Plasmazellen des lymphatischen Gewebes produziert wird, findet die Synthese von sIgA in lokalen Plasmazellen von Speichel-, Tränen-, Brust- und intestinalen Drüsen statt (45).

Das IgA-Monomer hat einen für Immunglobuline typischen Y-förmigen Aufbau aus zwei identischen schweren Ketten und zwei identischen leichten Ketten. Diese Struktur kann in zwei Fab-Fragmente und ein Fc-Fragment unterteilt werden. Die Ketten, sowohl leichte als auch schwere, besitzen jeweils eine variable und eine konstante Domäne. Die Fab-Fragmente des Immunglobulins sind für die Antigenbindung zuständig, während das gelenkartig verbundene Fc-Fragment eine Effektorfunktion übernimmt (43).

Serum-IgA kommt als Monomer vor, während man sekretorisches IgA als Polymer, hauptsächlich als Dimer, vorfindet (43). Die Verbindung der Monomere zu einem Dimer erfolgt über ein Polypeptid, die sogenannte J-Kette. Zusätzlich besitzt das sIgA eine sekretorische Komponente (SC). Diese Komponente entstammt dem Polyimmunglobulin-Rezeptor (pIgR), der für den Transport von sIgA in die Körpersekrete verantwortlich ist. Der pIgR befindet sich in der basolateralen Wand von Epithelzellen an Schleimhäuten und bindet das polymere IgA. Durch Transzytose wandert der pIgR-IgA-Komplex durch die Zelle an deren apikale Wand, wird dort gespalten und als sIgA freigesetzt (43).

An Schleimhäuten sezerniert, besitzt sIgA als vorherrschendes Immunglobulin die Aufgabe, Pathogene zu binden und diese zu eliminieren (43). So spielt es unter anderem eine Rolle bei der Entwicklung von Neugeborenen, die über die Muttermilch sIgA aufnehmen und somit Schutz gegen Bakterien und Viren adaptieren (46). Die Antikörper können, von der Mutter

übertragen, Infektionen im Gastrointestinal- und im Respirationstrakt des Neugeborenen verhindern, indem sie die Adhäsion und Penetration von Pathogenen an der Schleimhaut blockieren (46). Weitere Funktionen von sIgA sind die Neutralisation von Pathogenen, das Aufrechterhalten der bakteriellen Homöostase und die Sekretion von Antigenen (47).

Zu sIgA bei hämatopoetischer Stammzelltransplantation (HSZT) sind unterschiedliche Werte veröffentlicht. Bisherige Studien, die sIgA im Speichel von Patienten vor und bis zu 1 Jahr nach der Stammzelltransplantation untersucht haben, konnten einen Konzentrationsabfall dieses Immunglobulins feststellen (48-50). Gebri et al. untersuchten den unstimulierten Gesamtspeichel von 8 Patienten vor autologer HSZT, am Tag der HSZT, 7 Tage und 14 Tage nach der HSZT (48). Imanguli et al. untersuchten den stimulierten Speichel der großen Speicheldrüsen von 41 Patienten vor aHSZT, einen Monat, 2 Monate und 6 Monate nach aHSZT (49). Dens et al. untersuchten 42 Patienten, die eine autologe oder eine allogene HSZT erhielten und entnahmen stimulierte Gesamtspeichelproben einen Monat vor HSZT, zum Zeitpunkt der HSZT, einen Monat und zwei Monate nach der HSZT (50). In einer Studie von Steinbrenner et al. wurde der unstimulierte Gesamtspeichel von 35 jungen Patienten (3-27 Jahre) nach autologer oder allogener HSZT im monatlichen Abstand bis hin zu 18 Monate nach der HSZT untersucht (51). In den aufgeführten Studien konnte ein Abfall der sIgA-Konzentration im Speichel der Patienten nach HSZT nachgewiesen werden.

Andererseits gibt es auch Studien, die keine Veränderung von sIgA im Speichel bei Patienten nach HSZT nachweisen konnten (52). In einer Studie von Nagler et al. mit 30 Patienten, die eine autologe oder allogene HSZT erhielten, wurde der unstimulierte Gesamtspeichel untersucht. Die Speichelprobenentnahmen fanden vor HSZT, am Tag der HSZT, am Tag des Entgraftments, 1 Monat nach HSZT und jeden Monat für 3-7 Monate nach HSZT statt (52). In diesem Zeitraum konnte keine Veränderung der sIgA-Konzentration im Speichel der Patienten beobachtet werden (52).

Weitere Studien untersuchten den Zusammenhang zwischen der sIgA-Konzentration im Speichel von Patienten nach HSZT und dem Vorliegen einer GvHD. Es konnte mehrfach eine Verminderung der sIgA-Konzentration im Speichel beim Vorliegen einer GvHD nachgewiesen werden (49, 53, 54). Izutsu et al. untersuchten den stimulierten Gesamtspeichel von 12 Patienten nach aHSZT, die eine cGvHD entwickelten und von 10 Patienten, die eine allogene oder syngene HSZT erhielten und keine GvHD entwickelten (55). Die Speichelprobenentnahmen fanden 100 Tage und 365 Tage nach HSZT statt. Es konnte eine verminderte sIgA-Konzentration im Speichel der Patienten mit einer cGvHD nachgewiesen werden im Vergleich zur

Patientengruppe ohne GvHD. In einer weiteren Studie von Izutsu et al. zwei Jahre später wurden 114 Patienten nach aHSZT, 3 Patienten nach autologer HSZT und 3 Patienten nach syngener HSZT 90 Tage und ein Jahr nach HSZT untersucht (54). Diesmal untersuchten sie den stimulierten Speichel der Labial-Speicheldrüsen. Sie fanden erneut eine verminderte sIgA-Konzentration im Speichel der Patienten mit GvHD, sowie eine negative Korrelation zwischen der sIgA-Konzentration im Speichel und der Ausprägung einer GvHD (54). Imanguli et al. konnten bei 41 Patienten 6 Monate nach aHSZT eine Korrelation zwischen einer verminderten sIgA-Konzentration im Speichel und dem Vorliegen einer aGvHD feststellen (49).

In der Promotionsarbeit von Fischer, in der das IgA im Blutserum von Patienten nach aHSZT untersucht wurde, konnte ein Abfall dieses Immunglobulins nach aHSZT beobachtet werden (56). Abedi et al. berichten in einer Studie von ähnlichen Ergebnissen (57). Sie entnahmen Blutproben von 134 stammzelltransplantierten Patienten 3, 6, 12 und 24 Monate nach allogener oder syngener HSZT. Es war eine Verminderung der IgA-Konzentration 3 und 6 Monate nach HSZT zu beobachten und daraufhin ein signifikanter Anstieg der IgA-Konzentration nach einem Jahr. Zudem konnte eine Korrelation zwischen erniedrigten IgA-Blutserumwerten und der Ausprägung einer GvHD festgestellt werden (57).

Abrahamsen et al. konnten in einer Studie an 47 Patienten ebenfalls eine Verminderung der IgA-Konzentration im Blut nach HSZT bei Vorliegen einer GvHD feststellen (58). Sie entnahmen Proben 3, 6, 9 und 12 Monate nach HSZT und verglichen die IgA-Konzentrationen im Blut von Patienten mit GvHD mit der IgA-Konzentration im Blut von Patienten, die keine oder nur eine sehr milde GvHD entwickelten. Für alle vier Untersuchungszeitpunkte konnte eine signifikant niedrigere IgA-Konzentration im Blut von Patienten mit GvHD beobachtet werden, im Vergleich zu Patienten, die keine, oder eine sehr milde Form der GvHD entwickelten ($p < 0.02$) (58).

Eine Übersicht über die Studien zu sIgA im Speichel befindet sich auf der folgenden Seite in tabellarischer Auflistung (siehe Tabelle 2).

Autor, Jahr	Patientenanzahl	Art der HSZT	Untersuchungszeitpunkte	Art des Speichels	Ergebnisse
Izutsu [1983]	22	Allogenen, syngen	100 Tage, 365 Tage nach HSZT	Stimulierter Gesamtspeichel	sigA ↓ bei Pat. mit GvHD
Izutsu [1985]	120	Allogenen, autolog, syngen	90 Tage, 365 Tage nach HSZT	Stimulierter Labialdrüsen-Speichel	sigA ↓ bei Pat. mit GvHD
Dens [1996]	42	Allogenen, autolog	Ab 1 Monat vor HSZT monatlich bis 3 Monate nach HSZT	Stimulierter Gesamtspeichel	Vor HSZT sigA in allen Proben detektierbar Nach HSZT in 29% der Proben kein sigA mehr detektierbar und Verringerung der sigA-Konzentration um 87% 4 Monate nach HSZT immer noch sigA Reduktion von 82% im Vergleich zu vor der HSZT Kein Unterschied zwischen Pat. mit/ohne GvHD
Steinbrenner [2005]	35	Allogenen, autolog	Nach HSZT im monatlichen Abstand bis hin zu 18 Monate nach HSZT	Unstimulierter Gesamtspeichel	sigA ↓ nach HSZT Tiefpunkt nach 3 und 4 Monaten nach HSZT 2/3 der Pat. hatten Erholung der sigA Konzentration 1 Jahr nach HSZT
Nagler [2006]	30	Allogenen, autolog	Vor HSZT, am Tag der HSZT, am Tag des Engraftments, 1 Monat nach HSZT, monatlich bis 3-7 Monate nach HSZT	Unstimulierter Gesamtspeichel	sigA-Konz. hat sich nicht verändert
Imanquili [2007]	41	allogenen	Vor aHSZT, 1, 2 und 6 Monate nach aHSZT	Stimulierter Speichel der gr. Speicheldrüsen	sigA ↓ 1 Monat nach HSZT Anstieg des sigA nach 6 Monaten (bis auf Pre-transplantations-Level) Korrelation zw. aGvHD und ↓sigA nach 6 Monaten
Gebri [2020]	8	autolog	10 Tage vor HSZT, Tag 0, Tag 7 und Tag 14 nach HSZT	Unstimulierter Gesamtspeichel	sigA ↓ nach HSZT und im Vergleich zu vor HSZT und im Vergleich zu Kontrollen

Tabelle 2: Studien zu sigA im Speichel nach HSZT

2.2.2. Interleukin-6

Interleukin-6 (IL-6) ist ein Zytokin mit einem breiten Spektrum an biologischen Aktivitäten. Es kann von einer Vielzahl von Zellen produziert werden, darunter Epithelzellen, Muskelzellen, mononukleäre Phagozyten, Makrophagen und Lymphozyten (59). Dies geschieht hauptsächlich nach Stimulation dieser Zellen durch eine Infektion oder eine Verletzung (59). Zytokine regulieren im Allgemeinen die lokale und systemische Immunabwehr, indem sie über Oberflächenrezeptoren auf Immunzellen wirken. Die Funktion von IL-6 besteht unter anderem aus der Stimulation von Endothelzellen, T- und B-Lymphozyten und der Aktivierung der Synthese von Akute-Phase-Proteine in der Leber (59). IL-6 kann über den membrangebundenen IL-6-Rezeptor (IL-6R) den klassischen Signalweg aktivieren und somit antiinflammatorisch wirken (60). Auf Zellen, die keinen IL-6-Rezeptor exprimieren, wirkt IL-6 über den löslichen IL-6-Rezeptor (sIL-6R), der zusammen mit dem Membranprotein gp130 einen Komplex auf Zelloberflächen bildet (60). Dieser Signalweg, genannt trans-signalling, ist verantwortlich für die proinflammatorischen, also die entzündungsfördernden Eigenschaften von IL-6 (60). Des Weiteren spielt IL-6 eine Rolle bei der Krebsentstehung. Es reguliert nahezu alle Aspekte von Krebs, wie beispielsweise die Inhibition der Apoptose und die Proliferation von Tumorzellen (61). IL-6 ist einer der am stärksten exprimierten Entzündungsmarker in der Tumorregion (61). Hohe Konzentrationen dieses Zytokins konnten mit einer Reihe von verschiedenen Krebsarten in Verbindung gebracht werden, darunter Darm- und Leberkrebs (62). Auch bei verschiedenen Leukämieformen, besonders der AML, konnte eine erhöhte Produktion von IL-6 nachgewiesen werden (63).

Die Rolle von IL-6 bei der Entstehung einer GvHD ist bisher nicht endgültig geklärt. Die Konditionierung vor aHSZT verursacht Gewebeschäden mit einem Anstieg von proinflammatorischen Zytokinen, wie IL-6, TNF α und IL-1 α im Blut (64). Diese sind im weiteren Verlauf für die Aktivierung von Spender-T-Zellen verantwortlich. IL-6 bewirkt in Anwesenheit des transformierenden Wachstumsfaktors beta (TGF- β) die Differenzierung von naiven T-Zellen zu Th17-Zellen, welche autoimmune Gewebeschäden verursachen (65, 66). Ohne IL-6 kommt es zur Differenzierung der naiven T-Zellen zu regulatorischen T-Zellen (Treg), welche für die Regulierung der Selbsttoleranz des Immunsystems verantwortlich sind und so die Entstehung von Autoimmunerkrankungen verhindern (67).

Es gibt mehrere Studien, die einen Zusammenhang zwischen erhöhten IL-6-Konzentrationen im Blut und dem Vorkommen einer GvHD feststellen konnten (68-70). Ebenso konnte in

Studien gezeigt werden, dass der Einsatz des humanisierten IL-6R-Antikörpers Tocilizumab womöglich zu einem verminderten Auftreten einer GvHD führt (71, 72).

Die Studienlage zur IL-6-Konzentration im Speichel von Patienten nach aHSZT ist dürftig. Es gibt zwei Studien, die IL-6 im Speichel von Patienten nach HSZT in einem kurzen Zeitraum untersuchten, um dieses mit dem Vorkommen einer oralen Mukositis in Verbindung zu bringen. Aufgrund der kurzen Untersuchungszeiträume und der Fragestellungen nach einer oralen Mukositis, sind diese Studien jedoch nur bedingt mit der vorliegenden Studie vergleichbar. Pereira et al. untersuchten 82 Patienten, die eine autologe oder allogene HSZT erhielten, zu 4 Zeitpunkten (73). Es wurden Speichelproben am Tag der Aufnahme, nach HSZT, 12-20 Tage nach der Konditionierung und am Tag der Entlassung entnommen und die IL-6-Konzentration mittels ELISA gemessen. In diesem Zeitraum konnte keine signifikante Veränderung der IL-6-Konzentration im Speichel der Patienten festgestellt werden ($p=0,245$) (73). Silva et al. untersuchten 30 Patienten mit autologer oder allogener HSZT, um den Effekt einer Lasertherapie auf die orale Mukositis von Patienten nach Konditionierung zu testen (74). Zu diesem Zweck wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt: Patienten mit Lasertherapie und eine Kontrollgruppe ohne Lasertherapie. Es wurden Speichelproben entnommen und die Konzentrationen der enthaltenen Entzündungsmediatoren mittels ELISA gemessen. Die Entnahmen fanden zu 5 Zeitpunkten statt: Am Tag der Patientenaufnahme, 1 Tag vor HSZT, Tag 3 und 7 nach HSZT und am Tag des Engraftments. Es konnte beobachtet werden, dass die IL-6-Konzentration im Speichel bis zu Tag 7 nach HSZT anstieg und bis zum Tag des Engraftments wieder abfiel. Dieser Verlauf folgte dem Verlauf der Ausprägung der oralen Mukositis. Es konnte kein signifikanter Unterschied der IL-6-Konzentrationen zwischen der laserbehandelten Gruppe und der Kontrollgruppe festgestellt werden ($p > 0,05$) (74).

Nur eine Studie untersuchte die Korrelation zwischen der IL-6-Konzentration im Speichel von Patienten und dem Schweregrad einer oralen GvHD (75). Fall-Dickson et al. untersuchten 42 Patienten, die eine orale GvHD nach HSZT entwickelten zu einem Zeitpunkt. Die IL-6-Konzentration im stimulierten Speichel der Patienten zeigte eine Korrelation mit der Ausprägung einer oralen GvHD ($r= 0,49$; $p<0.01$).

Eine Übersicht über die Studien zu IL-6 im Speichel befindet sich auf der folgenden Seite in tabellarischer Auflistung (siehe Tabelle 3).

Autor, Jahr	Patientenanzahl	Art der HSZT	Untersuchungszeitpunkte	Art des Speichels	Ergebnisse
Pereira, 2018	82	Autolog, allogene	Bei Patientenaufnahme, am Tag der HSZT, 12 und 20 Tage nach Beginn der Konditionierung, bei Patientenentlassung	Stimulierter Gesamtspeichel	Kein signifikanter Unterschied der IL-6-Konzentration zwischen den vier Untersuchungszeitpunkten
Silva, 2014	30	Autolog, allogene	Bei Patientenaufnahme, einen Tag vor HSZT, 3 Tage nach HSZT, 7 Tage nach HSZT, am Tag des Engraftments Pat. mit und ohne Lasertherapie	Unstimulierter Gesamtspeichel	IL-6-Konzentration stieg von Patientenaufnahme bis zu Tag 7 nach HSZT an; Abnahme der IL-6-Konzentration am Tag des Engraftments; keine signifikanten Unterschiede zw. Pat. mit und ohne Lasertherapie IL-6-Konzentration folgte dem Verlauf der Chemotherapie induzierten oralen Mukositis
Fall-Dickson, 2010	42	Allogene	Zu nur einem Zeitpunkt nach HSZT	Stimuliert, submandibulärer/sublingualer Speichel	Pat. mit cGvHD hatten signifikant höhere IL-6-Konzentrationen im Vergleich zu Kontrollgruppe IL-6-Konzentration korrelierte positiv mit Vorkommen eines Erythems + oraler Mukositis

Tabelle 3: Studien zu IL-6 im Speichel nach HSZT

2.2.3. Interleukin-8

Interleukin-8 (IL-8), auch CXCL8 genannt, ist ein proinflammatorisches Chemokin und als solches zuständig für die Chemotaxis von Neutrophilen und anderen Leukozyten am Infektionsort. IL-8 wird von einer Vielzahl von Zellen gebildet, hauptsächlich von Monozyten und Makrophagen (76). Der Stimulus zur Freisetzung wird durch andere proinflammatorische Zytokine, wie Tumornekrosefaktor (TNF) oder Interleukin-1 (IL-1), durch Lipopolysaccharide oder Bakterien gegeben (77). IL-8 wirkt über die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren CXCR1 und CXCR2, welche wiederum eine Signaltransduktionskaskade auslösen. CXCR1 und CXCR2

werden auf Neutrophilen, Monozyten, CD8+-T-Zellen, Mastzellen und weiteren Leukozyten exprimiert (78).

Neben seiner Fähigkeit Neutrophile zu rekrutieren, besitzt IL-8 außerdem pro-angiogenetische Effekte (79, 80). IL-8 kann von Tumorzellen freigesetzt werden und deren Progression und Metastasierung fördern (81). Die Expression von IL-8 konnte auch auf Leukämieblasten nachgewiesen werden (82).

Ein Anstieg der IL-8-Konzentration im Blut von Patienten nach aHSZT konnte mit einer erhöhten Mortalität in Verbindung gebracht werden (83). Die gemeinsame Messung von IL-8, Interleukin-2-Rezeptor alpha (IL-2R α), TNF-Rezeptor 1 (TNFR1) und Hepatozyten-Wachstumsfaktor (HGF) im Blut kann Studien zufolge Patienten mit GvHD identifizieren und deren Ansprechen auf eine GvHD-Therapie vorhersagen (8, 84). Des Weiteren konnte ein Anstieg der IL-8-Konzentration im Blut von Patienten beobachtet werden, die nach HSZT eine Lebervenenverschlusskrankheit (VOD) entwickelten (85, 86).

Es konnte nur eine Studie gefunden werden, die IL-8 im Speichel von stammzelltransplantierten Patienten untersuchte (87). In dieser Studie wurde der Fragestellung nachgegangen, wie sich IL-8 im Speichel derjenigen Patienten verändert, die eine Lasertherapie zur Behandlung einer chemotherapie-induzierten oralen Mukositis erhielten. Der Untersuchungszeitraum umfasste den Tag der Patientenaufnahme bis hin zum Tag der Patientenentlassung (87). Zu diesem Zweck teilten sie 51 Patienten in zwei Gruppen ein, von denen eine Gruppe eine Lasertherapie erhielt und die andere die Kontrollgruppe darstellte. Sie entnahmen Speichelproben am Tag der Aufnahme, 7 Tage nach der HSZT und am Tag der Entlassung. Bei den Patienten, die eine Lasertherapie erhielten, konnte eine signifikante Reduktion der IL8-Konzentration und eine Reduktion der Ausprägung der oralen Mukositis beobachtet werden. Salvador et al. stellten die Hypothese auf, dass es durch die Lasertherapie zu einer Reduktion an IL-8 kommt, welche wiederum zu weniger Chemotaxis von Entzündungszellen und somit zu einer verminderten Ausprägung der oralen Mukositis führt. Währenddessen zeigt sich ein deutlicher Anstieg der IL8-Konzentration bei Patienten der Kontrollgruppe, die eine orale Mukositis entwickelten und keine Lasertherapie erhielten (87).

In der Promotionsarbeit von Fischer konnte bis auf einen Abfall des IL-8-Spiegels zwischen Tag 200 und Tag 365 nach aHSZT keine Veränderung des IL-8-Spiegels im Blutserum der Patienten zwischen den Untersuchungszeitpunkten festgestellt werden (56).

Eine Übersicht über die Studien zu IL-8 im Speichel befindet sich auf der folgenden Seite in tabellarischer Auflistung (siehe Tabelle 4).

Autor, Jahr	Patientenanzahl	Art der HSZT	Untersuchungszeitpunkte	Art des Speichels	Ergebnisse
Salvador, 2017	51	Allogen, autolog	Bei Patientenaufnahme, 7 Tage nach HSZT, bei Patientenentlassung	Unstimulierter Gesamtspeichel	Anstieg des IL-8 bei Patienten, die keine Lasertherapie erhielten und eine orale Mukositis entwickelten

Tabelle 4: Studien zu IL-8 im Speichel nach HSZT

3. Material und Methoden

3.1. Das Patientenkollektiv

In der Promotionsarbeit von Marcel Fischer (2021) wurden prospektiv Daten zu dem Zusammenhang zwischen der mundgesundheitsbezogenen Lebensqualität und der Speichelfließrate vor und nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation erhoben (56). Darüber hinaus wurden die Zusammenhänge zwischen der Speichelfließrate, der mundgesundheitsbezogenen Lebensqualität und des psychischen Befindens der Patienten untersucht (Ethikvotum (873.205.06(5303))).

An der Studie nahmen 40 Patienten teil (siehe Tabelle 5). Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation wurde in der III. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt. Die Untersuchung erfolgte an 4 Untersuchungszeitpunkten: vor der aHSZT (U1) sowie 100 Tage (U2), 200 Tage (U3) und 365 Tage (U4) nach der allogenen Stammzelltransplantation (56).

Geschlecht	Anzahl absolut	Anzahl in Prozent %
Männlich	23	57,5 %
Weiblich	17	42,5 %
Gesamt	40	100 %

Tabelle 5: Geschlechterverteilung der Patienten

Von anfangs 40 untersuchten Patienten (U1) verstarben 9 Patienten im Verlauf nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation, 4 Patienten erlitten ein Rezidiv und 4 Patienten brachen die Studie ab (siehe Abbildung 1).

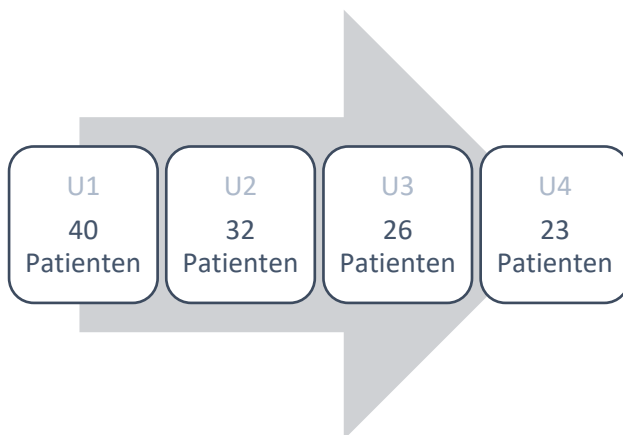


Abbildung 1: Anzahl der untersuchten Patienten zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten

3.2. Voruntersuchungen

3.2.1. Die Speichelfließrate

Die Speichelfließrate (ml/min) wurde über 5 Minuten unstimuliert bestimmt. Die Entnahme des Gesamtspeichels erfolgte über passive Drainage (56). Eine Unterteilung erfolgte in

SFR > 0,25 ml/min; SFR 0,1 - 0,25 ml/min; SFR < 0,1 ml/min; SFR = 0,00 ml/min (88). Die Ergebnisse stellten sich wie folgt dar (siehe Tabelle 6):

Untersuchung	Median	Minimum	Maximum	Q1	Q3
1 (vor aHSZT)	0,39 ml/min	0,00 ml/min	2,80 ml/min	0,12 ml/min	0,61 ml/min
2 (100 Tage nach aHSZT)	0,24 ml/min	0,00 ml/min	1,10 ml/min	0,03 ml/min	0,48 ml/min
3 (200 Tage nach aHSZT)	0,34 ml/min	0,00 ml/min	1,0 ml/min	0,06 ml/min	0,53 ml/min
4 (365 Tage nach aHSZT)	0,38 ml/min	0,00 ml/min	1,9 ml/min	0,14 ml/min	0,73 ml/min

Tabelle 6: Bestimmung der Speichelfließrate aus der Promotionsarbeit von Fischer [2021]

Es konnte im Median bei n = 22 Patienten eine Abnahme der Speichelfließrate/min zum Zeitpunkt vor der HSCT (U1) zu der Untersuchung an Tag 100 nach der HSCT (U2) beobachtet werden. Am Tag 200 nach der HSCT hatte die Speichelfließrate (ml/min) den Ausgangswert von vor der HSCT erreicht und blieb auch zum Zeitpunkt 356 Tage nach HSCT stabil. (siehe Tabelle 6).

Die Speichelproben wurden nach Messung der Speichelfließrate bei -20°C eingelagert.

3.2.2. Die Biomarker im Blutserum

Zur Bestimmung der Biomarker IgA, IL-6 und IL-8 im Blutserum erfolgten Blutentnahmen zu allen vier Untersuchungszeitpunkten. Die Analyse der Blutproben wurde durch das Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der UM Mainz durchgeführt (siehe Tabelle 7).

Biomarker	Referenzwert im Blutserum
IgA	0,63-5,81 g/l
Interleukin-6	<27 pg/ml
Interleukin-8	<62 pg/m

Tabelle 7: Referenzwerte der Biomarker im Blutserum

Zu den Untersuchungszeitpunkten zeigten sich folgende Werte:

3.2.2.1. IgA

Es zeigt sich ein Abfall des IgA-Serumspiegels von U1 zu U2 (1,43 g/l und 0,70 g/l) (Wilcoxon-Test; $p = 0,000$). Die IgA-Serumspiegel von U3 und U4 lagen mit 0,73 g/l und 0,82 g/l beide statistisch signifikant unter dem IgA-Serumspiegel von U1 ($p < 0,001$ bzw. $p < 0,001$) (siehe Tabelle 8).

Untersuchung	Median	Minimum	Maximum	Q1	Q3
1 (vor aHSZT)	1.43 g/l	0.13 g/l	3.80 g/l	1.22 g/l	1.97 g/l
2 (100 Tage nach aHSZT)	0.70 g/l	0.05 g/l	1.97 g/l	0.45 g/l	0.70 g/l
3 (200 Tage nach aHSZT)	0.73 g/l	0.11 g/l	1.51 g/l	0.58 g/l	0.99 g/l
4 (365 Tage nach aHSZT)	0.82 g/l	0.08 g/l	1.62 g/l	0.58 g/l	1.09 g/l

Tabelle 8: Ergebnisse für den IgA-Serumspiegel von Fischer [2021]

3.2.2.2. IL-6

Es zeigte sich keine statistisch signifikante Veränderung des IL-6-Serumspiegels zwischen den Untersuchungszeitpunkten U1-U4 (siehe Tabelle 9).

Untersuchung	Median	Minimum	Maximum	Q1	Q3
1 (vor aHSZT)	5.00 pg/ml	0.00 pg/ml	35.00 pg/ml	3.00 pg/ml	9.25 pg/ml
2 (100 Tage nach aHSZT)	6.00 pg/ml	1.00 pg/ml	41.00 pg/ml	3.00 pg/ml	6.00 pg/ml
3 (200 Tage nach aHSZT)	6.00 pg/ml	3.00 pg/ml	98.00 pg/ml	3.00 pg/ml	12.00 pg/ml
4 (365 Tage nach aHSZT)	5.00 pg/ml	2.00 pg/ml	31.00 pg/ml	3.00 pg/ml	11.50 pg/ml

Tabelle 9: Ergebnisse für den IL-6-Serumspiegel von Fischer [2021]

3.2.2.3. IL-8

Eine Änderung des IL-8 Serumspiegels zeigte sich erst an dem Untersuchungszeitpunkt 200 Tage nach HSCT (U3) zu 356 Tage nach HSCT (U4). Es zeigte sich ein Abfall des IL-8-Serumspiegels von U3 zu U4. Ansonsten zeigten sich keine Veränderungen des IL-8-Serumspiegels zwischen den Untersuchungszeitpunkten (siehe Tabelle 10).

Untersuchung	Median	Minimum	Maximum	Q1	Q3
1 (vor aHSZT)	14.20 pg/ml	2.20 pg/ml	104.50 pg/ml	5.30 pg/ml	28.00 pg/ml
2 (100 Tage nach aHSZT)	15.00 pg/ml	2.50 pg/ml	88.10 pg/ml	7.65 pg/ml	15.80 pg/ml
3 (200 Tage nach aHSZT)	14.00 pg/ml	2.00 pg/ml	481.20 pg/ml	10.35 pg/ml	25.18 pg/ml
4 (365 Tage nach aHSZT)	10.60 pg/ml	2.00 pg/ml	481.20 pg/ml	6.20 pg/ml	25.35 pg/ml

Tabelle 10: Ergebnisse für den IL-8-Serumspiegel von Fischer [2021]

3.3. Die Untersuchungen der vorliegenden Studie

3.3.1. Durchführung der ELISA

Die Speichelproben wurden aufgetaut und für 15 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. Danach erfolgte die Bestimmung der Konzentrationen der Biomarker sIgA, IL-6 und IL-8 in den Speichelproben mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay nach Herstelleranweisung. Jeder ELISA besitzt eine für das jeweilige Antigen (sIgA, IL-6, IL-8) spezifische Nachweisgrenze. Die Nachweisgrenze entspricht dem Konzentrationsbereich des Antigens, der durch das ELISA Verfahren akkurat gemessen werden kann. Konzentrationen, die außerhalb dieser Nachweisgrenze liegen, können somit nicht präzise berechnet werden. Die Konzentration des Antigens in einer Probe wird mit einer Standardkurve errechnet.

Zur Anwendung kamen IgA Saliva Kits der Firma LDN (Katalog-Nr. SA E-6800) mit einer Nachweisgrenze von 0,5 – 400 µg/ml. Für die Bestimmung der Konzentrationen von IL-6 und IL-8 im Speichel wurden die Human IL-6 DuoSet ELISA Kits (R&D Systems, Katalog-Nr. DY206-05) mit einer Nachweisgrenze von 9.4 - 600 pg/mL und Human IL-8 Duo Set ELISA Kits (R&D Systems, Katalog Nr. DY208-05) mit einer Nachweisgrenze von 31.2 - 2,000 pg/mL verwendet. Für die Durchführung der IgA Saliva ELISA wurde eine Verdünnung der Proben von 1:3000 bzw. 1:2000 mit destilliertem Wasser vorgenommen. Für die Durchführung der Human IL-6

ELISA wurden die Proben unverdünnt aufgetragen und für die Durchführung der Human IL-8 ELISA wurden die Proben zuerst mit einer Verdünnung von 1:3 verwendet und im weiteren Verlauf, nach Anpassung, ebenfalls unverdünnt aufgetragen.

Die Auslesung der ELISA-Mikroplatten erfolgte durch einen Mikroplatten-Reader (SpectraMax iD5, Firma: Molecular Devices) mittels Absorption bei einer Wellenlänge von 450 nm und 620 nm. Jede Speichelprobe wurde auf drei Wells verteilt, also folglich drei Mal getestet. Die Software (SoftMax® Pro 7 Software, Molecular Devices, USA) errechnete aus den drei Konzentrationsergebnissen eine mittlere Konzentration. Messungen, die kein verwertbares Ergebnis hervorbrachten, da die Konzentrationen nicht innerhalb der Nachweisgrenze lagen, wurden unter Anpassung der Verdünnung wiederholt. Lagen die Ergebnisse erneut unter der Nachweisgrenze, wurde bei den betroffenen Speichelproben eine Konzentration von 0 angenommen. Ergaben sich ungewöhnlich hohe Messwerte, wurden diese ausgeklammert und nicht in die statistische Auswertung einbezogen. Somit ergaben sich für Untersuchungszeitpunkt 2 eine Messwertanzahl für die sIgA-Konzentration von 14 und für die Konzentrationen von IL-6 und IL-8 jeweils eine Anzahl von 15 Messwerten. Bei Speichelproben, die nicht genug Flüssigkeit aufwiesen, um eine Testung auf die Konzentration aller drei Biomarker durchzuführen, wurde lediglich die sIgA-Konzentration bestimmt. Durch diese Verfahren kam es zu einer unterschiedlichen Anzahl von Messwerten für die Konzentrationen von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel zu Untersuchungszeitpunkt 1. Es konnte eine sIgA-Konzentration für 30 Speichelproben ermittelt werden, während sich nur für 29 Speichelproben eine IL-6- und IL-8-Konzentration errechnen ließ.

3.4. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mittels SPSS 27 in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik (IMBEI) der Johannes Gutenberg-Universitätsmedizin Mainz.

Zunächst erfolgte eine Testung auf Normalverteilung mit dem Shapiro-Wilk-Test. Bei nicht-normalverteilten Daten wurden in der deskriptiven Analyse Median sowie 1. und 3. Quartil angegeben. Für die Analyse der Konzentrationen der drei Biomarker im Verlauf (U1-U4) wurden gemischte lineare Modelle erstellt mit paarweisen Vergleichen nach Bonferroni. Die bivariate Korrelationsanalyse bei kardinalskalierten Daten erfolgte durch den Pearson-Korrelationskoeffizienten. Bei ordinalskalierten Daten erfolgte die bivariate Korrelationsanalyse anhand Rangkorrelationsanalyse nach Spearman.

Als signifikant wurden Unterschiede mit $p < 0.05$ bezeichnet. Da es sich um eine explorative Analyse handelt, wurde keine Korrektur für multiples Testen vorgenommen.

4. Ergebnisse

Es konnten 76 Speichelproben (SP) von 35 Patienten in die Untersuchung eingeschlossen werden. Von den eingeschlossenen Speichelproben stammten 30 Speichelproben von Untersuchungszeitpunkt 1 (U1 = vor HSZT), 15 Speichelproben von Untersuchungszeitpunkt 2 (U2 = 100 Tage nach HSZT), 19 Speichelproben von Untersuchungszeitpunkt 3 (U3 = 200 Tage nach HSZT) und 12 Speichelproben von Untersuchungszeitpunkt 4 (U4 = 365 Tage nach HSZT) (siehe Abbildung 2).

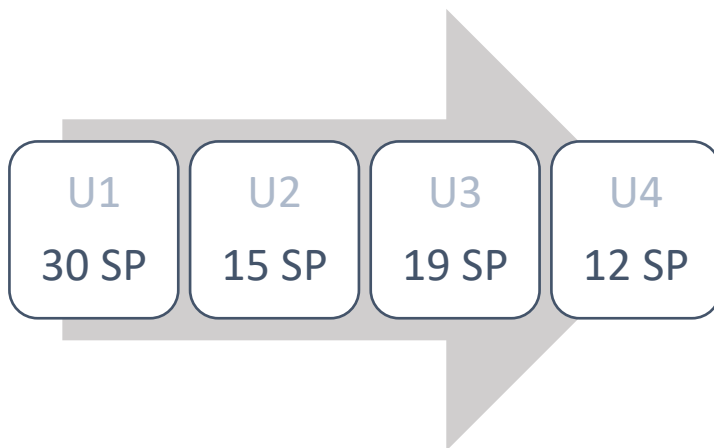


Abbildung 2: Anzahl der untersuchten Speichelproben zu den Untersuchungszeitpunkten U1-U4; SP = Speichelproben; U1 = vor HSZT, U2 = 100 Tage nach HSZT, U3 = 200 Tage nach HSZT, U4 = 365 Tage nach HSZT

4.1. Untersuchungsergebnisse von Untersuchungstermin U1

4.1.1. Sekretorisches Immunglobulin A

Von Untersuchungszeitpunkt 1 konnte für 30 Speichelproben (n=30) eine sIgA-Konzentration errechnet werden. Der Median der sIgA-Konzentration im Speichel lag zu diesem Zeitpunkt bei 0,00287 g/l (Min.: 0,0004 g/l; Max.: 0,8572 g/l; Q1: 0,001283 g/l; Q3: 0,008575) (siehe Abbildung 3).

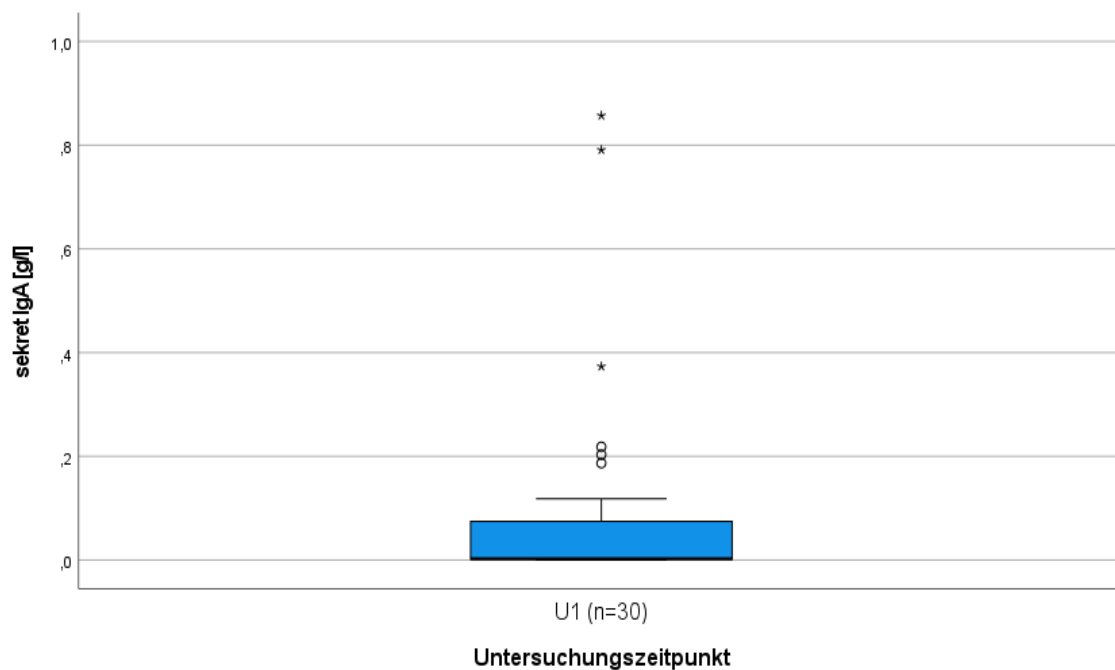


Abbildung 3: sIgA-Konzentration im Speichel zu U1 (Untersuchungszeitpunkt 1 = vor HSZT), SekretIgA = sekretorisches IgA

4.1.2. Interleukin-6

Von Untersuchungszeitpunkt 1 konnte für 29 Speichelproben (n=29) eine IL-6-Konzentration errechnet werden. Die IL-6-Konzentration im Speichel lag zu diesem Zeitpunkt bei einem Median von 6,039 pg/ml (Min.: 0,0 pg/ml; Max.: 109,61 pg/ml; Q1: 4,4120 pg/ml; Q3: 9,2790 pg/ml) (siehe Abbildung 4).

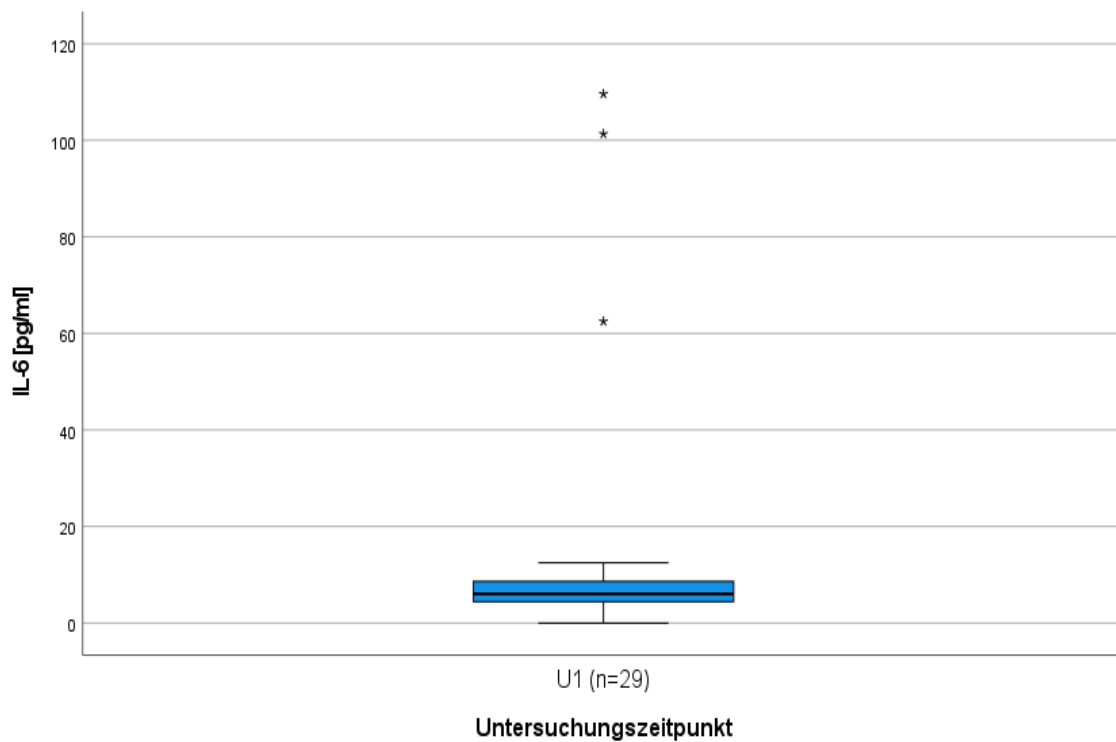


Abbildung 4: IL-6-Konzentration im Speichel zu U1 (Untersuchungszeitpunkt 1 = vor HSZT)

4.1.3. Interleukin-8

Von Untersuchungszeitpunkt 1 konnte für 29 Speichelproben (n=29) eine IL-8-Konzentration werden. Der Median der IL-8-Konzentration lag zu diesem Zeitpunkt bei 166,3520 pg/ml (Min.: 0,0 pg/ml; Max.: 1870,21 pg/ml; Q1: 22,5745 pg/ml; Q3: 549,7935 pg/ml) (siehe Abbildung 5).

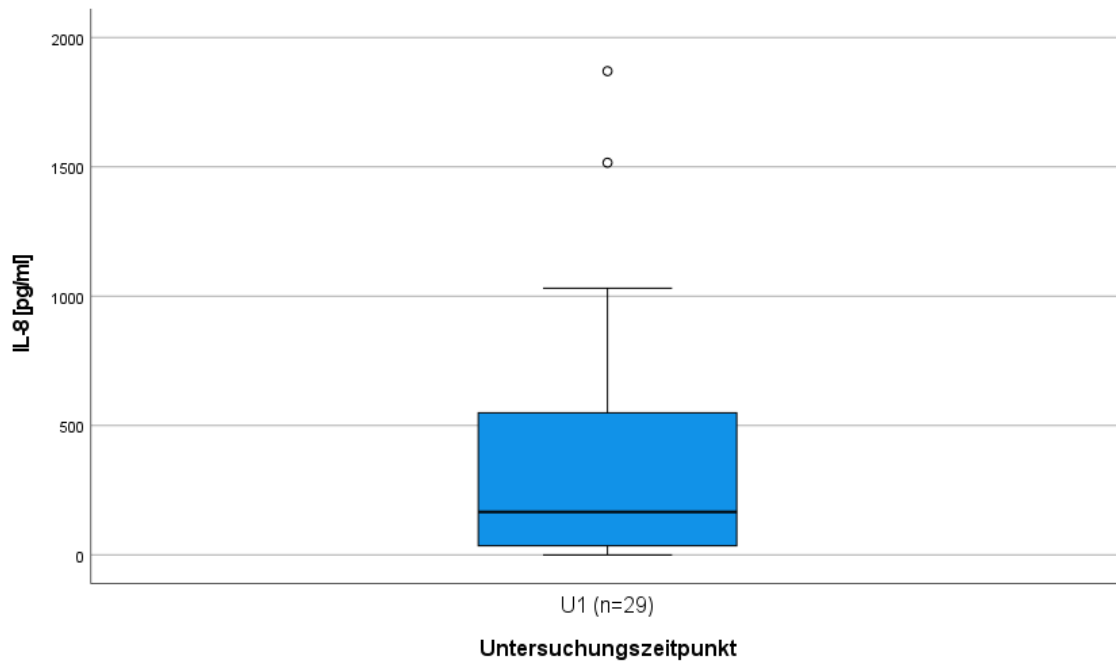


Abbildung 5: IL-8-Konzentration im Speichel zu U1 (Untersuchungszeitpunkt 1 = vor HSZT)

4.2. Untersuchungsergebnisse von Untersuchungstermin U2

4.2.1. Immunglobulin A

Von Untersuchungszeitpunkt 2 konnte für 14 Speichelproben (n=14) eine sIgA-Konzentration werden. Die Konzentration des sIgA im Speichel lag zu diesem Zeitpunkt bei einem Median von 0,00585 g/l (Min.:0,0 g/l; Max.: 0,1092 g/l; Q1: 0,000286; Q3: 0,05566) (siehe Abbildung 6).

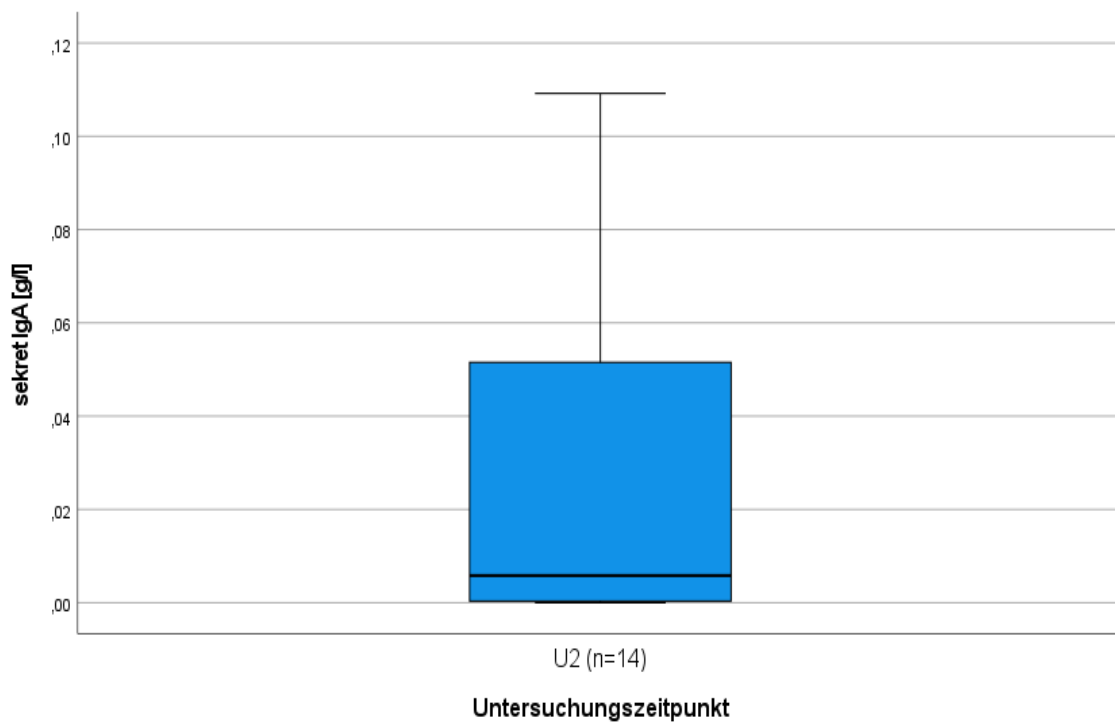


Abbildung 6: sIgA-Konzentration im Speichel zu U2 (Untersuchungszeitpunkt 2 = 100 Tage nach aHSZT)

4.2.2. Interleukin-6

Von Untersuchungszeitpunkt 2 konnte für 15 Speichelproben (n=15) eine IL-6-Konzentration errechnet werden. Der Median der IL-6-Konzentration lag zu diesem Zeitpunkt bei 5,664 pg/ml (Min.: von 0,0 pg/ml; Max.: 96,9 pg/ml; Q1: 1,664 pg/ml; Q3: 34,867 pg/ml) (siehe Abbildung 7).

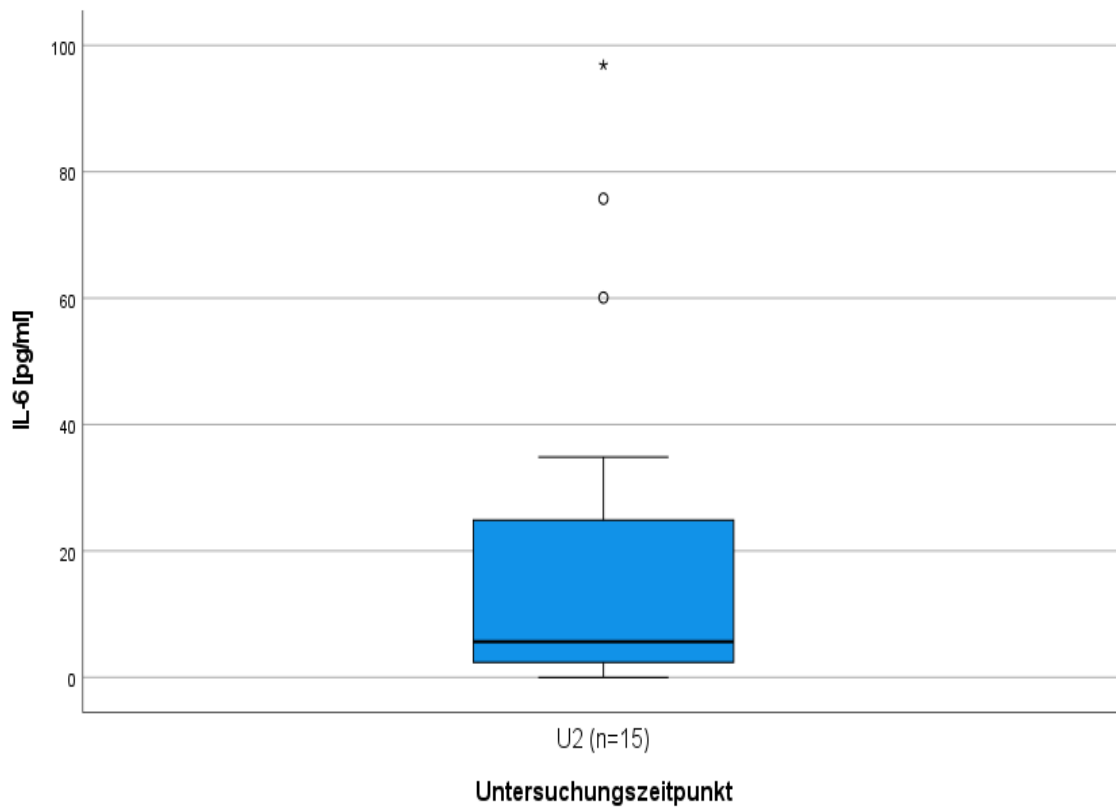


Abbildung 7: IL-6-Konzentration im Speichel zu U2 (Untersuchungszeitpunkt 2 = 100 Tage nach aHSZT)

4.2.3. Interleukin-8

Von Untersuchungszeitpunkt 2 konnte für 15 Speichelproben (n=15) eine IL-8-Konzentration errechnet werden. Der Median der IL-8-Konzentration lag zu diesem Zeitpunkt bei 465,04 pg/ml (Min.: 0,0 pg/ml; Max.: 1709,59 pg/ml; Q1: 112,46 pg/ml; Q3: 632,40 pg/ml) (siehe Abbildung 8).

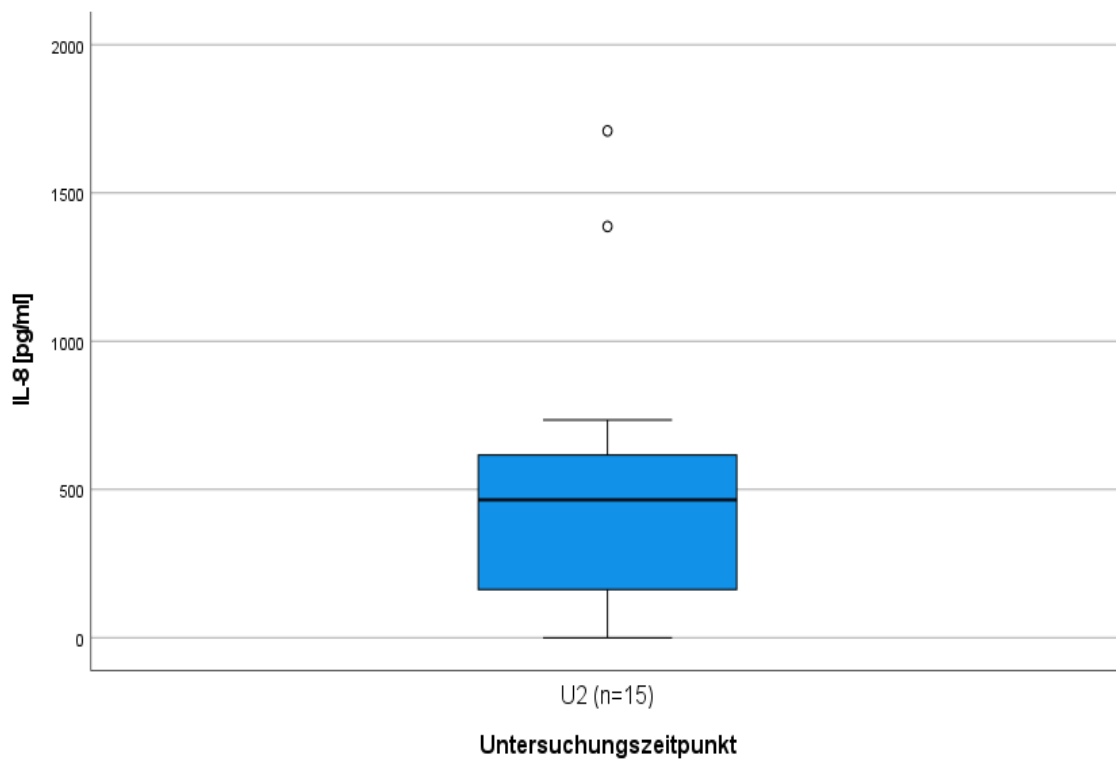


Abbildung 8: IL-8-Konzentration im Speichel zu U2 (Untersuchungszeitpunkt 2 = 100 Tage nach aHSZT)

4.3. Untersuchungsergebnisse von Untersuchungstermin U3

4.3.1. Immunglobulin A

Von Untersuchungszeitpunkt 3 konnte für 19 Speichelproben (n= 19) eine sIgA-Konzentration errechnet werden. Der Median der sIgA Konzentration im Speichel lag bei 0,016 g/l (Min.: 0,0 g/l; Max.: 0,770 g/l; Q1: 0,001 g/l; Q3: 0,197 g/l) (siehe Abbildung 9).

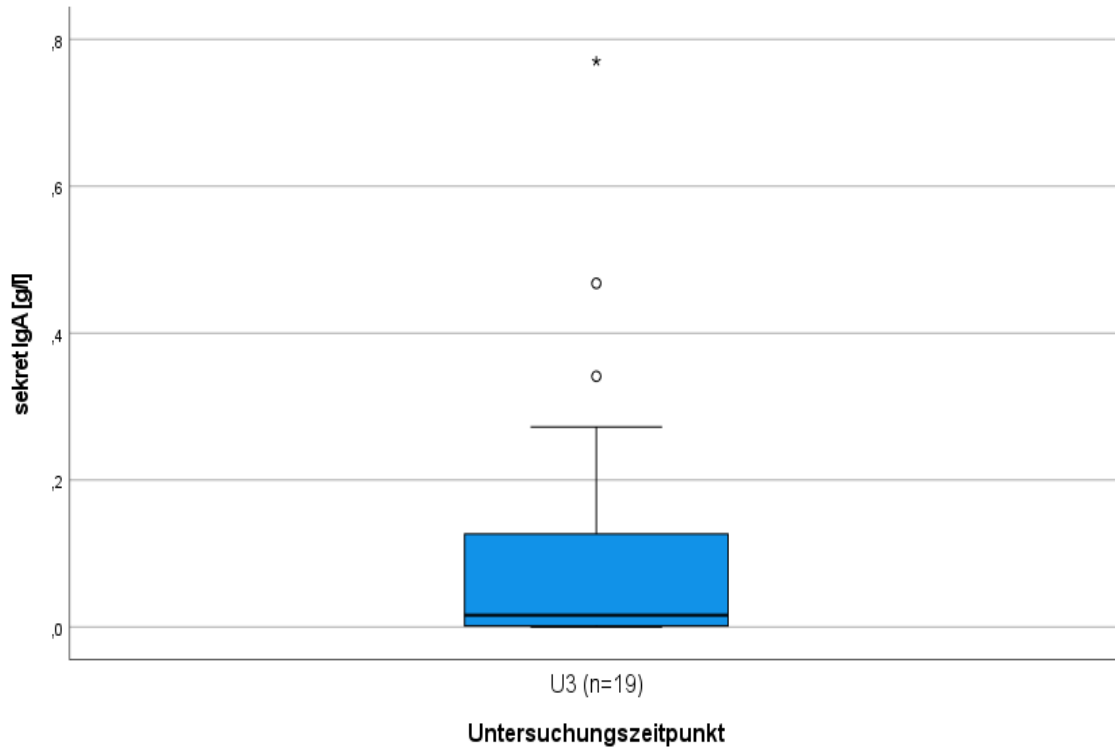


Abbildung 9: sIgA-Konzentration im Speichel zu U3 (Untersuchungszeitpunkt 3 = 200 Tage nach aHSZT)

4.3.2. Interleukin-6

Von Untersuchungszeitpunkt 3 konnte für 19 Speichelproben (n=19) eine IL-6-Konzentration errechnet werden. Der Median der IL-6-Konzentration lag zu diesem Zeitpunkt bei 4,3940 pg/ml (Min.: 0,0 pg/ml; Max.: 47,27 pg/ml; Q1: 0,0 pg/ml; Q3: 8,47 pg/ml) (siehe Abbildung 10).

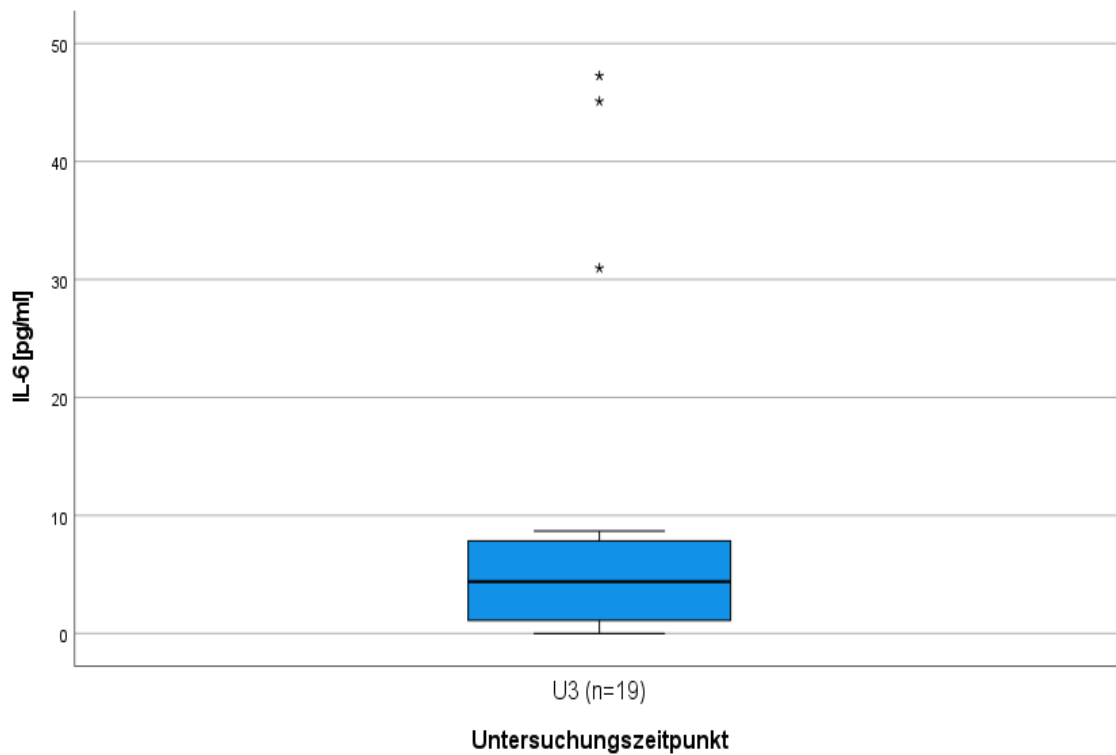


Abbildung 10: IL-6-Konzentration im Speichel zu U3 (Untersuchungszeitpunkt 3 = 200 Tage nach aHSZT)

4.3.3. Interleukin-8

Von Untersuchungszeitpunkt 3 konnte für 19 Speichelproben (n=19) eine IL-8-Konzentration errechnet werden. Der Median der IL-8-Konzentration lag zu diesem Zeitpunkt bei 435,5520 pg/ml (Min.: 119,98 pg/ml; Max.: 3232,30 pg/ml; Q1: 201,840 pg/ml; Q3: 1271,0530 pg/ml) (siehe Abbildung 11).

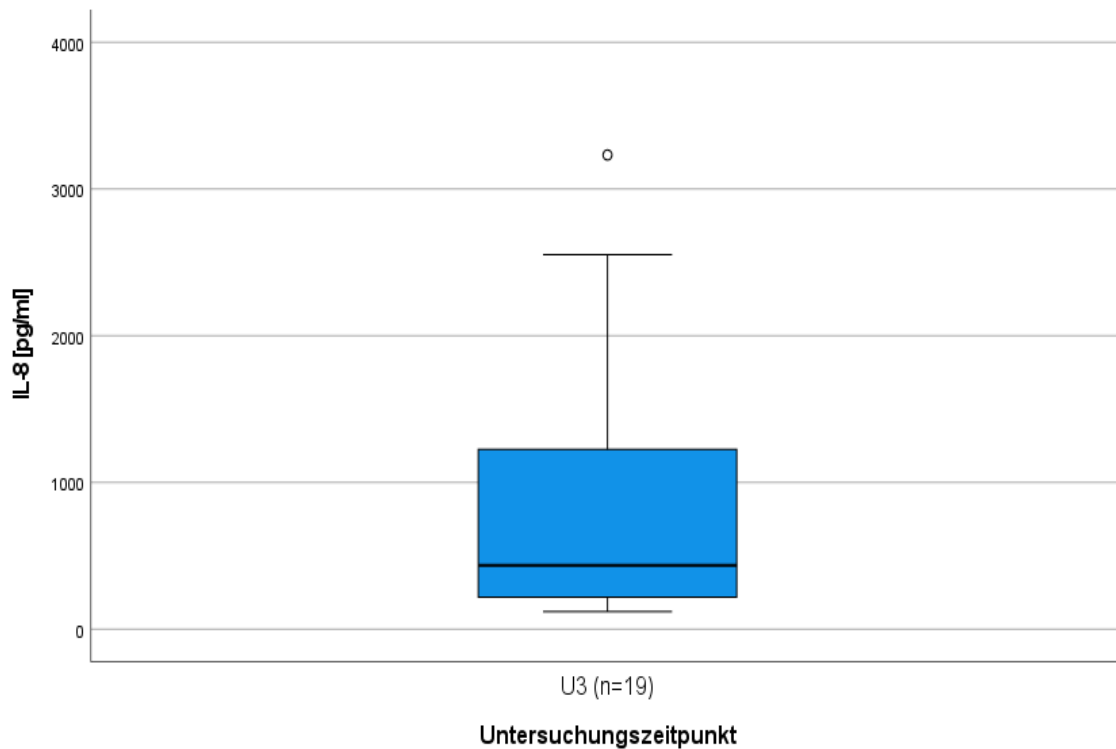


Abbildung 11: IL-8-Konzentration im Speichel zu U3 (Untersuchungszeitpunkt 3 = 200 Tage nach aHSZT)

4.4. Untersuchungsergebnisse von Untersuchungstermin U4

4.4.1. Immunglobulin A

Von Untersuchungszeitpunkt 4 konnte für 12 Speichelproben (n=12) eine sIgA-Konzentration errechnet werden. Der Median der sIgA-Konzentration im Speichel lag zu diesem Zeitpunkt bei 0,06705 g/l (Min.: 0,0 g/l; Max.: 0,3187 g/l; Q1: 0,0441 g/l; Q3: 0,20542 g/l) (siehe Abbildung 12).

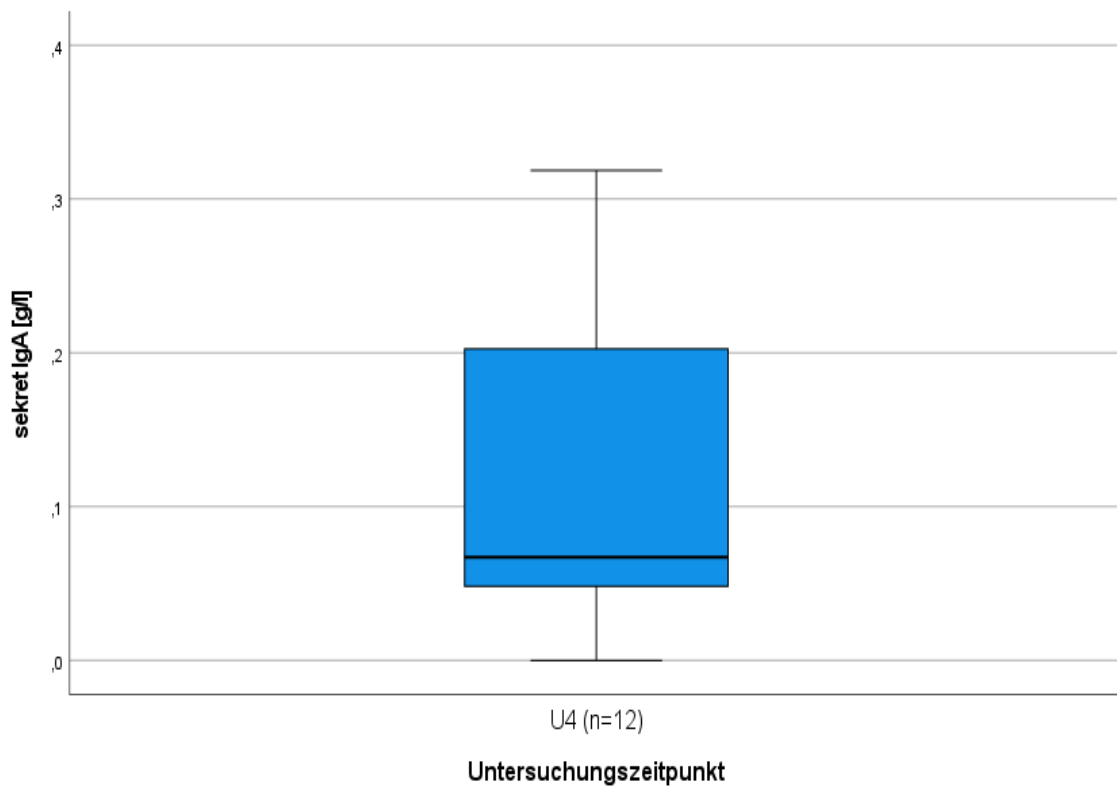


Abbildung 12: sIgA-Konzentration im Speichel zu U4 (Untersuchungszeitpunkt 4 = 365 Tage nach aHSZT)

4.4.2. Interleukin-6

Von Untersuchungszeitpunkt 4 konnte für 12 Speichelproben (n=12) eine IL-6-Konzentration errechnet werden. Der Median der IL-6-Konzentration lag zu diesem Zeitpunkt bei 0,0 pg/ml (Min.: von 0,0 pg/ml; Max.: 72,18 pg/ml; Q1: 0,0 pg/ml; Q3: 0,6585 pg/ml) (siehe Abbildung 13).

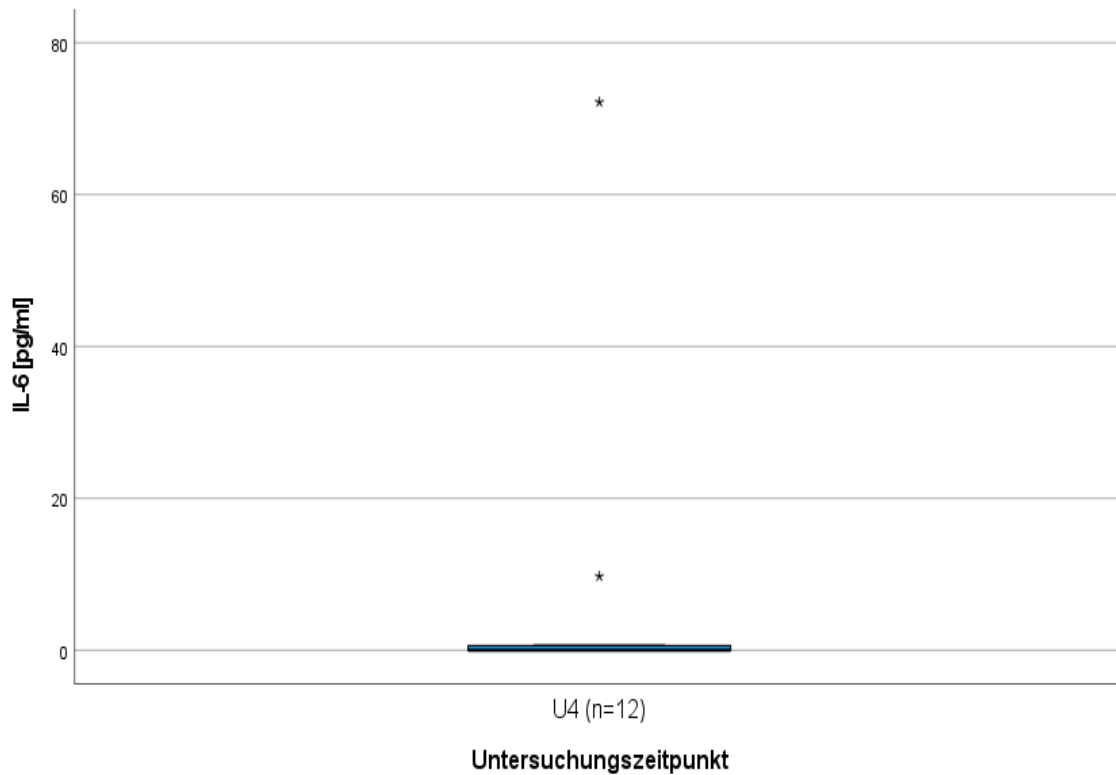


Abbildung 13: IL-6-Konzentration im Speichel zu U4 (Untersuchungszeitpunkt 4 = 365 Tage nach aHSZT)

4.4.3. Interleukin-8

Von Untersuchungszeitpunkt 4 konnte für 12 Speichelproben ($n = 12$) eine IL-8-Konzentration errechnet werden. Der Median der IL-8-Konzentration lag zu diesem Zeitpunkt bei 529,1390 pg/ml (Min.: 0,0 pg/ml; Max.: 3214,73 pg/ml; Q1: 158,2633 pg/ml; Q3: 1719,4688 pg/ml) (siehe Abbildung 14).

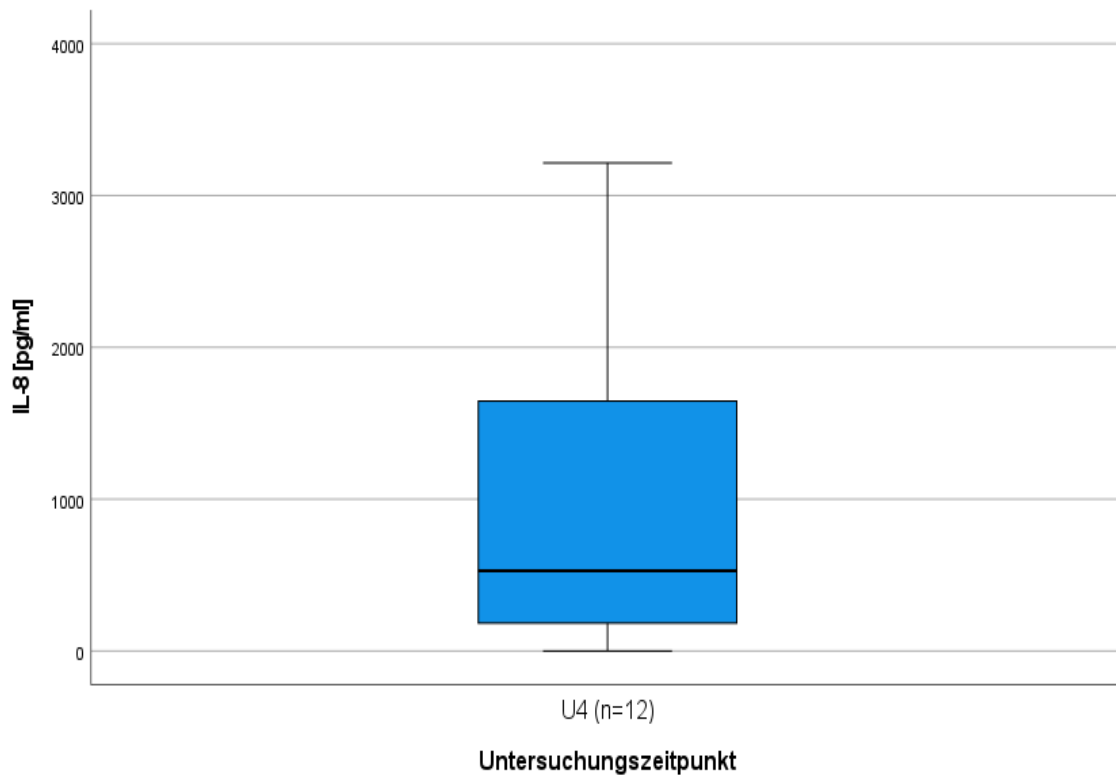


Abbildung 14: IL-8-Konzentration im Speichel zu U4 (Untersuchungszeitpunkt 4 = 365 Tage nach aHSZT)

4.5. Untersuchungsergebnisse im Verlauf U1-U4

Im Untersuchungsverlauf konnte keine signifikante Veränderung der sIgA-Konzentration im Speichel zwischen den Untersuchungszeitpunkten U1 – U4 festgestellt werden ($p=0,152$) (siehe Abbildung 15). Es kam zu einer Abnahme der sIgA-Konzentration von vor der allogenen Stammzelltransplantation zu dem Untersuchungszeitpunkt 100 Tage nach aHSZT. Danach stieg die sIgA-Konzentration im Speichel wieder an bis sie 200 Tage nach aHSZT und 365 Tage nach aHSZT den Ausgangswert von vor der aHSZT überstiegen. Diesen Veränderungen konnte allerdings keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden (paarweise Vergleiche nach Bonferroni).

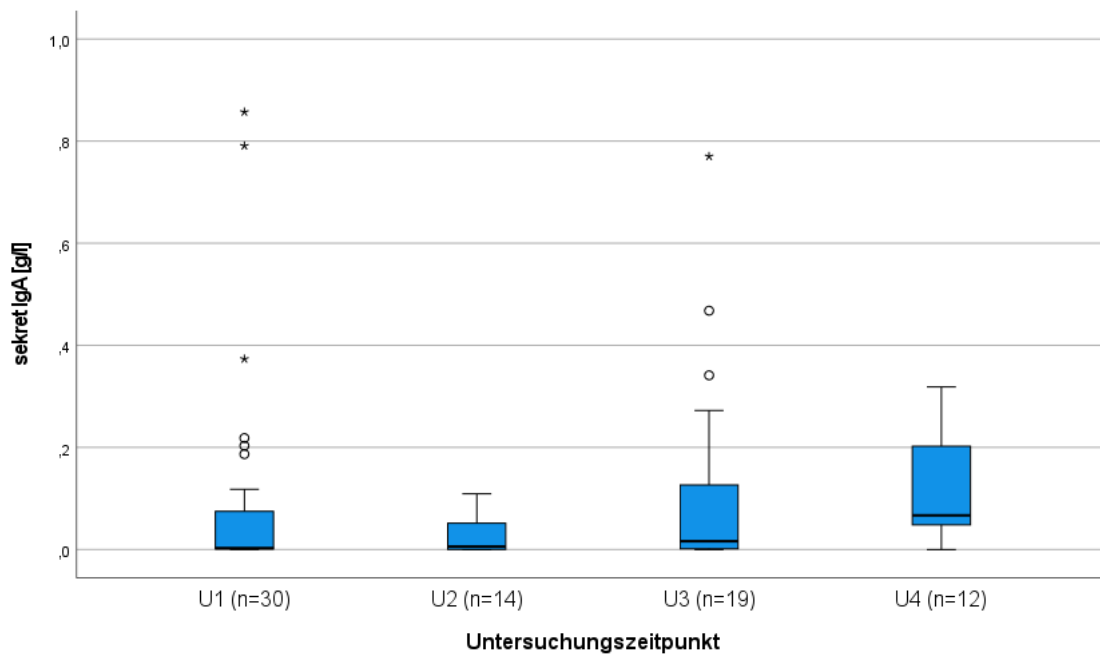


Abbildung 15: sIgA-Konzentration im Speichel im Verlauf U1-U4

4.5.1. Verlauf: IL-6

Bei der Analyse des Verlaufs der IL-6-Konzentration im Speichel von U1 – U4 konnte eine Zunahme von U1 (vor HSZT) zu U2 (100 Tage nach HSZT) und dann eine Abnahme zu U3 (200 Tage nach HSZT) und U4 (365 Tage nach HSZT) festgestellt werden. Diese Veränderungen wiesen allerdings keine statistische Signifikanz auf (paarweise Vergleiche nach Bonferroni) (siehe Abbildung 16).

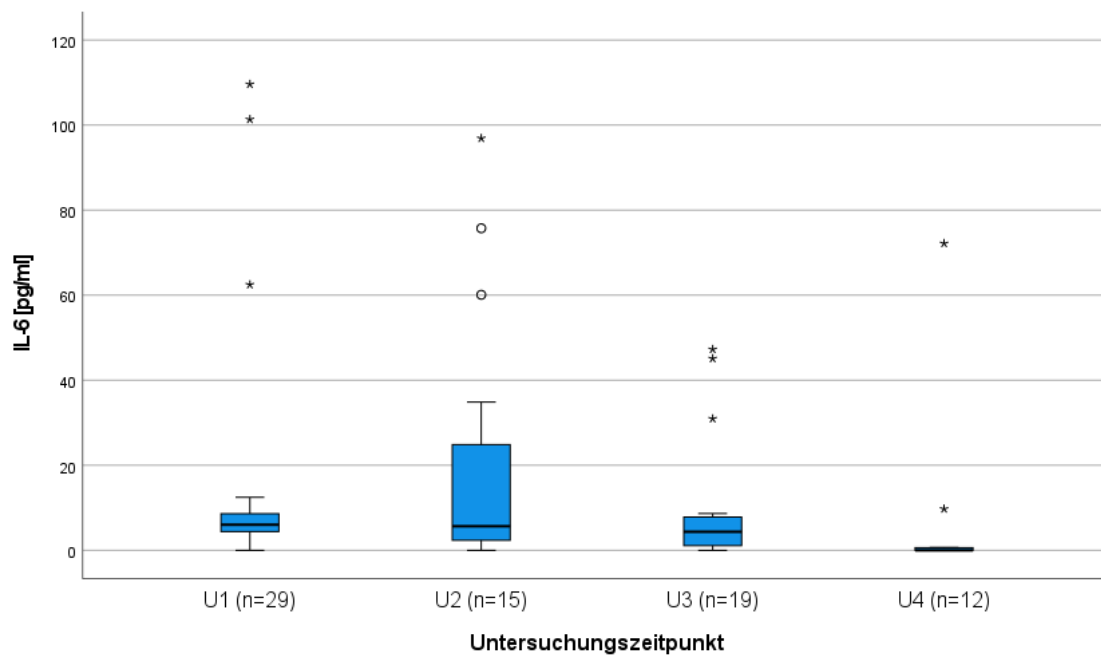


Abbildung 16: IL-6-Konzentration im Speichel im Verlauf U1-U4

4.5.2. Verlauf: IL-8

Es zeigte sich insgesamt ein signifikanter Anstieg der IL-8 Konzentration im Speichel im Verlauf der Untersuchung von vor der HSCT (U1) bis 356 Tage nach HSCT (U4) ($p < 0,001$) (paarweise Vergleiche nach Bonferroni).

Im Vergleich der Konzentrationen zeigte sich dieser Anstieg der IL-8 Konzentration im Speichel von vor der HSCT (U1) zu dem Untersuchungszeitpunkt 200 (U3 ($p = 0,019$)), und 356 Tage nach HSCT (U4 ($p = 0,002$)) besonders stark. Ebenso zeigte sich ein Anstieg der IL-8-Konzentration im Speichel von dem Untersuchungszeitpunkt 200 Tage nach HSCT (U2) zu dem Untersuchungszeitpunkt 356 Tage nach HSCT (U4 ($p = 0,03$)) (paarweise Vergleiche nach Bonferroni) (siehe Abbildung 17).

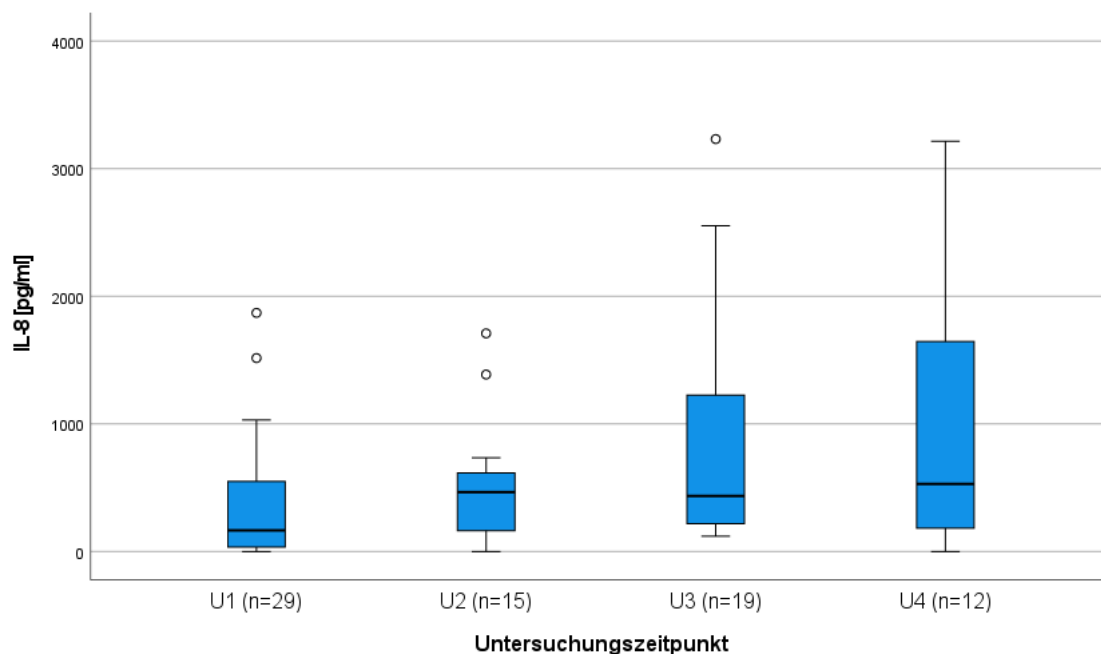


Abbildung 17: IL-8-Konzentration im Speichel im Verlauf U1-U4.

4.5.3. Vergleich des Verlaufs der Biomarker im Speichel und im Blutserum

4.5.3.1. Immunglobulin A

Die Untersuchung der IgA-Spiegel im Blutserum und der sIgA-Konzentrationen im Speichel auf Korrelation miteinander konnte diese nicht bestätigen (Gesamtverlauf: Pearson-Korrelationskoeffizient (r) = -0,123; $p=0,305$) (U1: $r=-0,255$; U2: $r=0,040$; U3: $r=0,035$; U4: $r=-0,112$). Weder zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten noch im Gesamtverlauf über U1 – U4 konnte eine Korrelation zwischen den gemessenen Konzentrationen im Blutserum zu denen im Speichel festgestellt werden (siehe Abbildung 18 und Abbildung 19).

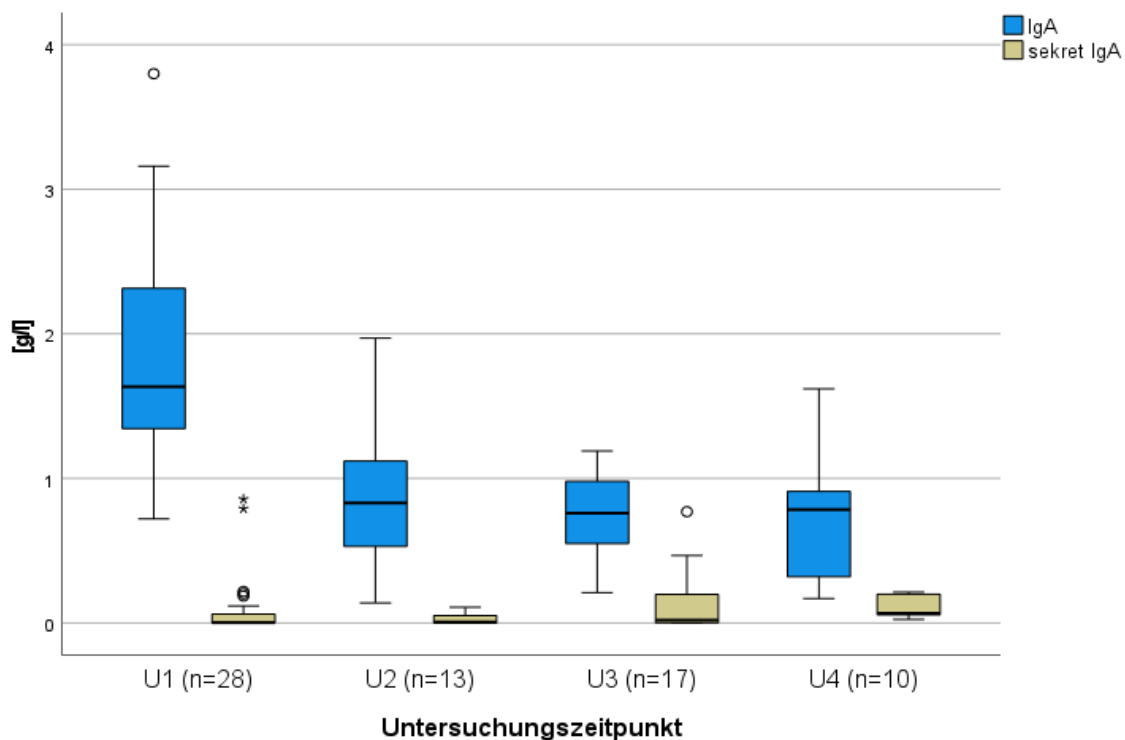


Abbildung 18: IgA aus dem Blutserum und sIgA aus dem Speichel im Verlauf U1-U4. Die blauen Balken stellen die IgA-Konzentration im Blutserum zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt dar. Die gelben Balken zeigen die Konzentrationen des sekretorischen IgA zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt.

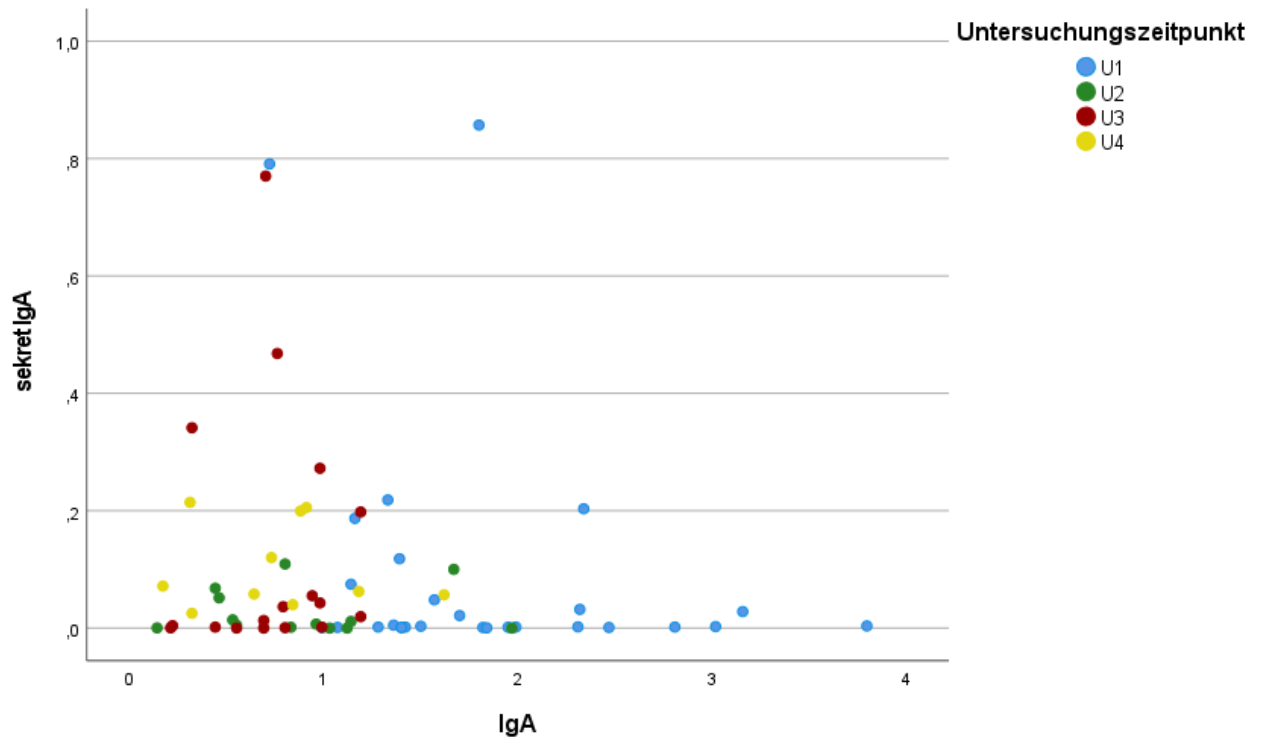


Abbildung 19: Korrelation zwischen IgA (Blutserum) und sIgA (Speichel)

4.5.3.2. Interleukin-6

Die Untersuchung der IL-6-Spiegel im Blutserum und der IL-6-Konzentrationen im Speichel auf Korrelation miteinander konnte diese nicht bestätigen (Gesamtverlauf: Pearson-Korrelationskoeffizient (r) = 0,180; $p=0,166$) (U1: $r=0,196$; U2: $r=-0,012$; U3: $r=0,399$; U4: $r=0,362$) (siehe Abbildung 20 und Abbildung 21). Weder zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten noch im Gesamtverlauf über U1 – U4 konnte eine Korrelation zwischen den gemessenen Konzentrationen im Blutserum zu denen im Speichel festgestellt werden.

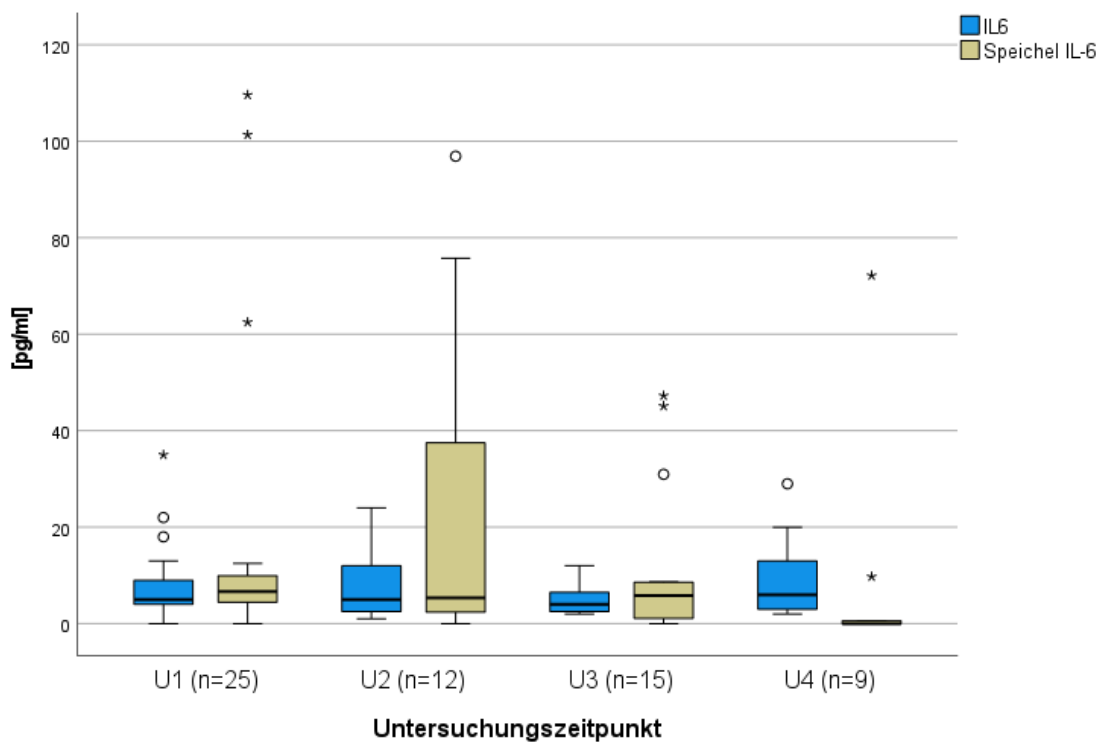


Abbildung 20: IL-6 aus dem Blutserum und IL-6 aus dem Speichel im Verlauf U1-U4

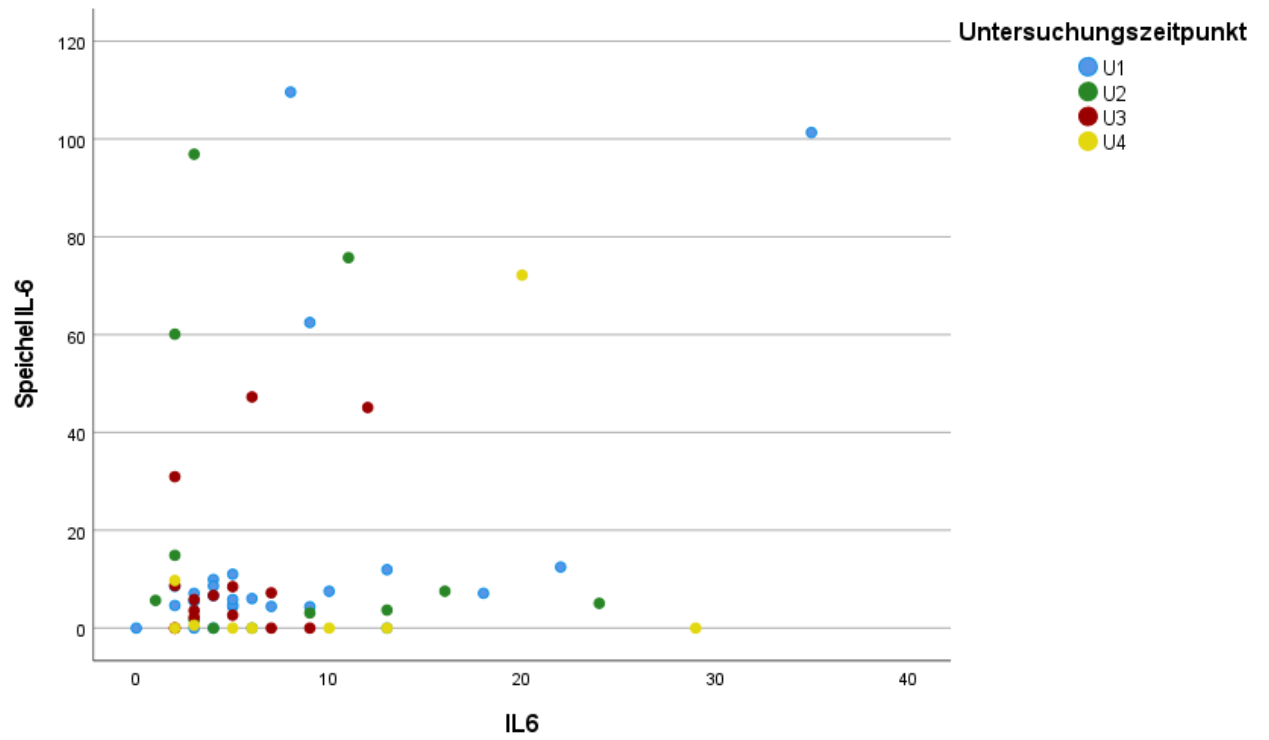


Abbildung 21: Korrelation IL-6 (Blutserum) und IL-6 (Speichel)

4.5.3.3. Interleukin-8

Die Untersuchung der IL-8-Spiegel im Blutserum und der IL-8-Konzentrationen im Speichel auf Korrelation miteinander konnte diese nicht bestätigen (Gesamtverlauf: Pearson-Korrelationskoeffizient (r) = -0,096; $p=0,845$) (U1: $r=0,251$; U2: $r=-0,073$; U3: $r=-0,114$; U4: $r=-0,427$). Weder im Verlauf von U1 – U4, noch zu den einzelnen Untersuchungszeitpunkten zeigte sich ein Zusammenhang zwischen den beiden Konzentrationsspiegeln (siehe Abbildung 22 und Abbildung 23).

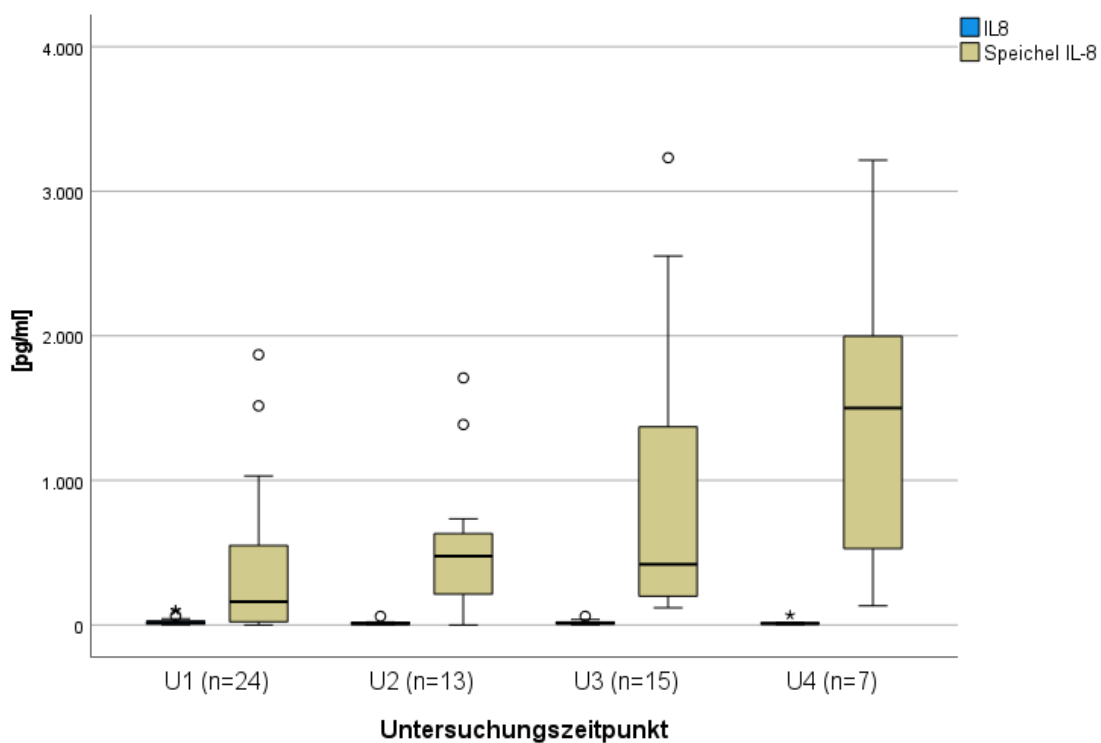
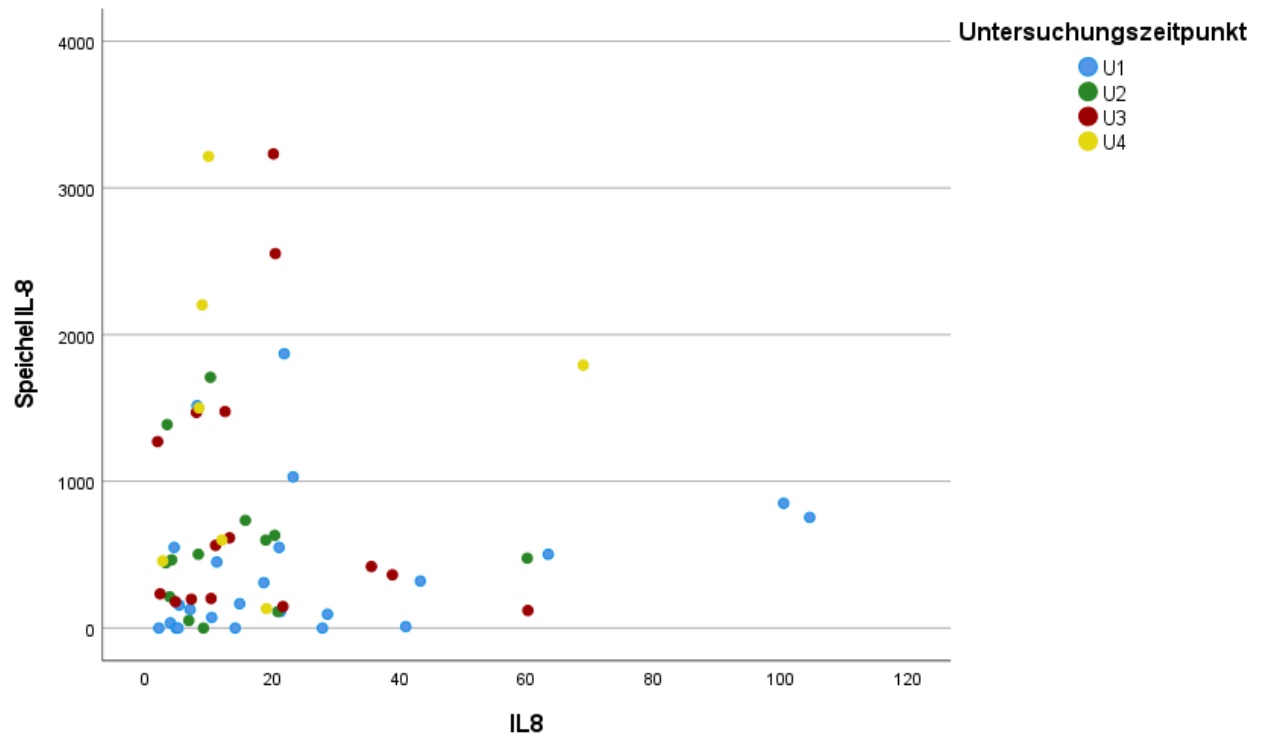


Abbildung 22: IL-8 aus dem Blutserum und IL-8 aus dem Speichel im Verlauf U1-U4



4.5.4. Die Konzentrationen der Biomarker im Speichel und die orale GvHD

4.5.4.1. sIgA

Bei der Untersuchung der sIgA-Konzentration im Speichel und der Schubert Skala auf Korrelation miteinander konnte diese bestätigt werden (Spearman-Korrelation $r=-0,304$; $p=0,012$) (siehe Abbildung 24). Somit ergibt sich eine negative Korrelation zwischen der Ausprägung einer oralen GvHD, die mittels der Schubert Skala beschrieben wurde, und der sIgA-Konzentration im Speichel. Je stärker der Schweregrad der oralen GvHD, desto niedriger ist die Konzentration von sIgA im Speichel.

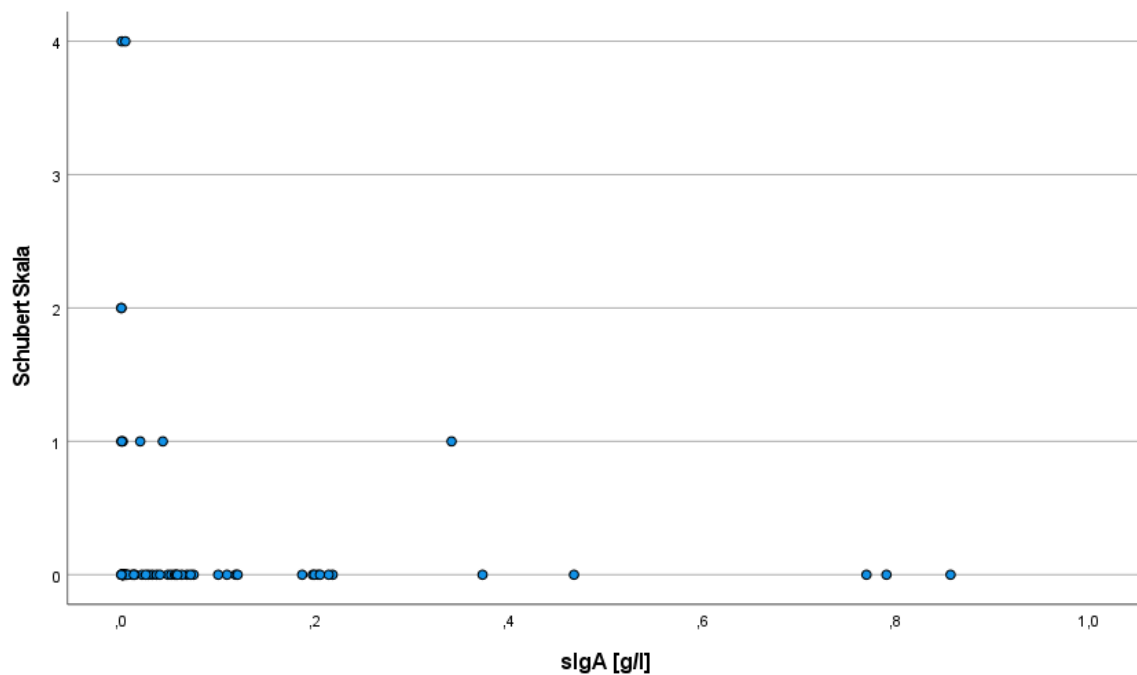


Abbildung 24: Korrelation zwischen der sIgA-Konzentration im Speichel und der Schubert-Skala

4.5.4.2. IL-6

Es konnte keine Korrelation zwischen der IL-6-Konzentration im Speichel und der Schubert Skala nachgewiesen werden (Spearman-Korrelation $r=-0,132$; $p=0,295$) (siehe Abbildung 25).

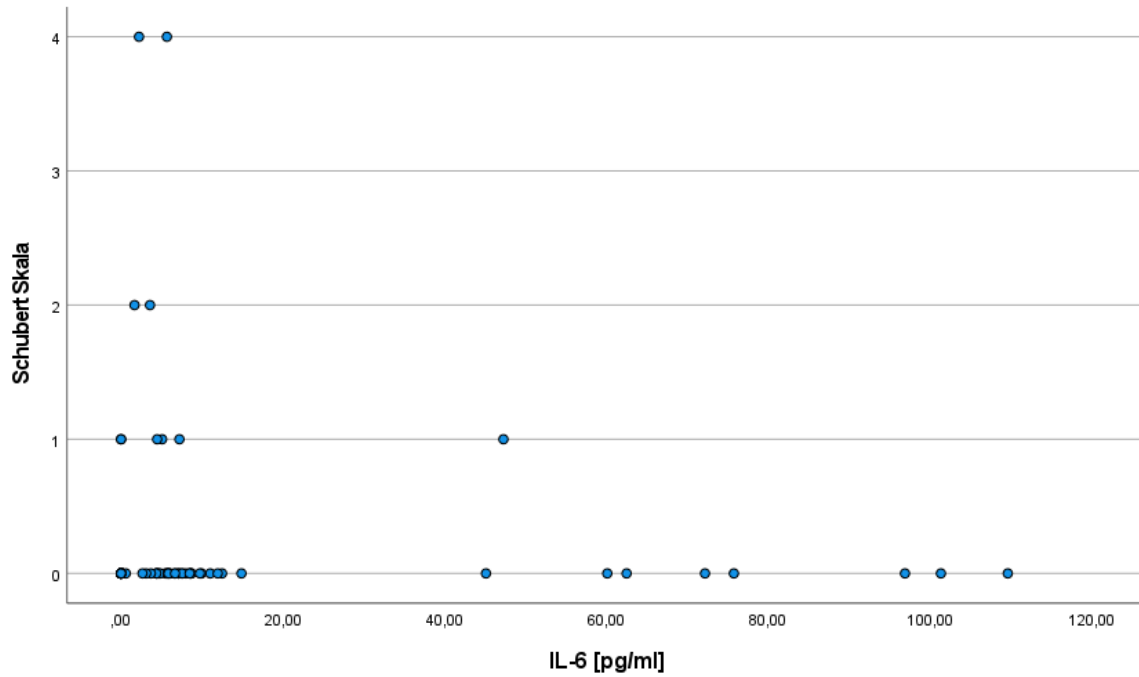


Abbildung 25: Korrelation zwischen der IL-6-Konzentration im Speichel und der Schubert-Skala

5. Diskussion

In der vorliegenden Studie zur Untersuchung von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel von Patienten vor bis hin zu 365 Tage nach aHSZT konnte keine signifikante Veränderung der sIgA- oder der IL-6-Konzentration festgestellt werden. Es zeigten sich signifikante Erhöhungen der IL-8-Konzentration von vor der HSZT (U1) zu 200 Tagen nach HSZT (U3) sowie von vor der HSZT (U1) zu 365 Tagen nach HSZT (U4) und von 100 Tagen nach HSZT (U2) zu 365 Tagen nach HSZT (U4).

Des Weiteren konnte keine Korrelation zwischen den Konzentrationen von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel und den Konzentrationen von IgA, IL-6 und IL-8 im Blutserum festgestellt werden. Allerdings zeigte sich ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer GvHD und der sIgA Konzentration im Speichel zu den unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten. Es ergab sich eine negative Korrelation zwischen der sIgA-Konzentration im Speichel und dem Schweregrad einer oralen GvHD. Für IL-6 und IL-8 im Speichel konnte dieser Zusammenhang nicht nachgewiesen werden.

5.1. Studienaufbau

Die vorliegende Studie weist mit 35 untersuchten Patienten eine mittlere Größe auf. Vergleichbare Studien, die ebenfalls die Konzentrationen von sIgA, IL-6 oder IL-8 im Speichel von Patienten nach HSZT untersuchten, geben ein Patientenkollektiv von 12 bis zu 114 Patienten an (53, 54). Ein Großteil dieser Studien untersuchte ebenfalls den Verlauf der Konzentrationen von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel nach aHSZT.

In vielen vergleichbaren Studien werden die verschiedenen Typen der Stammzelltransplantation, autolog, allogene und syngene, in einem Patientenkollektiv untersucht (50, 52, 54, 73). In der vorliegenden Arbeit handelt es sich ausschließlich um Patienten, die eine allogene Stammzelltransplantation erhielten. Dies erzeugt ein homogeneres Patientenkollektiv und somit eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den Patienten.

In dieser Studie wurde auf eine Kontrollgruppe verzichtet, da vor allem die Veränderung der Biomarker im Speichel innerhalb eines Jahres und nicht deren mediane Konzentration im Vergleich zu gesunden Individuen im Mittelpunkt der Untersuchung stand. Einige vergleichbare Studien bezogen gesunde Menschen als Kontrollgruppe mit ein (48, 51, 54). Es gibt auch Studien, die den Zusammenhang zwischen sIgA, IL-6 oder IL-8 und dem Vorkommen einer GvHD untersuchten und eine Kontrollgruppe aus stammzelltransplantierten Patienten

bildeten, die keine GvHD nach aHSZT entwickelten (52, 53).

Um den Einfluss exogener und endogener Faktoren möglichst gering zu halten, wurde in der vorliegenden Studie ein standardisiertes Entnahmeprotokoll für den gesamten Studienverlauf angewandt. Allerdings unterscheiden sich die Entnahmeprotokolle für die Gewinnung von Speichelproben in der Literatur deutlich, da es keinen allgemein etablierten Standard gibt. In einer Studie von Nakonieczna-Rudnicka et al. wurde die sIgA-Konzentration in Proben von unstimuliertem und stimuliertem Speichel miteinander verglichen. Es konnte eine signifikant höhere Konzentration von sIgA in Speichelproben nachgewiesen werden, die unstimuliert entnommen wurden, im Vergleich zu Proben von stimuliertem Speichel (89). Aufricht et al. untersuchten den Einfluss der Entnahmemethode auf die gemessene sIgA-Konzentration im Speichel von 6 Kindern (90). Sie entnahmen dafür insgesamt 54 Speichelproben mit drei unterschiedlichen Methoden: der Spuck-Methode, der Aufsaugemethode und mit einem Saugrollen-System (Salivette®). Sie konnten feststellen, dass die gemessenen Konzentrationen von sIgA bedeutend niedriger in den Speichelproben waren, die mit Hilfe einer Saugrolle (Salivette®) entnommen worden waren, verglichen mit den Speichelproben der zwei anderen Entnahmemethoden. Dies zeigt, dass die unterschiedlichen Entnahmemethoden einen Einfluss auf die Konzentrationen der Bestandteile im Speichel haben können. Die in der vorliegenden Studie angewandte Methode der passiven Drainage von unstimuliertem Gesamtspeichel wird in der Literatur zur allgemeinen Speichelanalyse empfohlen (37, 91).

Die Lagerung der Speichelproben auf Eis und das Einfrieren sind wichtige Verfahren, die dazu dienen, der Degradation von Proteinen entgegenzuwirken (92). Selbst unter diesen Bedingungen sind manche Speichelbestandteile auf Dauer jedoch nicht stabil (93). In der vorliegenden Studie wurde die Kühlung der Speichelproben auf Eis zwar durchgehend gewährleistet, allerdings erfolgte die Messung von sIgA, IL-6 und IL-8 erst nachdem die Proben mehrere Monate bei -20° Celsius eingefroren waren. Einige vergleichbare Studien führten eine unverzügliche Analyse der Speichelproben nach Entnahme durch (52, 54). Des Weiteren gibt es Studien, die zeigen, dass eine Lagerung bei mindestens -80° C ratsam ist, um einer Proteolyse entgegenzuwirken (92, 94).

Zusammenfassend ist zu vermerken, dass die Durchführungen vergleichbarer Studien in der Literatur variieren. Inhomogene Entnahmeprotokolle und die unterschiedliche Verarbeitung der Speichelproben ermöglichen eine nur bedingte Vergleichbarkeit und müssen bei der Bewertung der Ergebnisse berücksichtigt werden. Zur Beurteilung der Relevanz von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel als Biomarker für eine allogene Stammzelltransplantation sind weitere Studien mit vergleichbaren Versuchsbedingungen erstrebenswert.

Studien, die IL-6 und IL-8 im Speichel von Patienten nach HSZT untersuchten, befassten sich vor allem mit der Entstehung einer oralen Mukositis als Folge der Konditionierungstherapie und umfassten dementsprechend kurze Untersuchungszeiträume (74, 87). Für die Untersuchung von IL-6 und IL-8 im Speichel im Zusammenhang mit der Entstehung einer GvHD sind weitere Studien nötig, die, ähnlich wie die vorliegende Studie, längere Zeiträume nach HSZT umfassen. Da gezeigt werden konnte, dass die angewandten Entnahmemethoden und Arten des Speichels einen Einfluss auf die gemessenen Konzentrationen in den Speichelproben haben können, ist die Etablierung standardisierter Entnahmeprotokolle für zukünftige Studien sinnvoll. So kann eine bessere Vergleichbarkeit der Untersuchungsergebnisse gewährleistet werden (89, 90).

Die Analyse der Speichelproben sollte unverzüglich nach der Entnahme erfolgen, um eine Veränderung der Speichelbestandteile zu vermeiden. Ist dies nicht möglich, ist eine unverzügliche Lagerung der Speichelproben bei mindestens -80°C ratsam (92, 94).

5.2. Veränderung der Konzentrationen von sIgA, IL-6 und IL-8

In dieser Studie wurden die Konzentrationsveränderungen von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel von Patienten nach aHSZT über den Zeitraum eines Jahres untersucht.

5.2.1. sIgA

Es konnte keine Veränderung der sIgA-Konzentration im Verlauf von U1 – U4 festgestellt werden. Diese Beobachtung deckt sich mit einer Studie von Nagler et al., in der 30 Patienten, die eine autologe oder allogene Stammzelltransplantation erhielten, untersucht worden waren (52). Die Speichelprobenentnahmen erfolgten vor der HSZT und danach in regelmäßigen Abständen bis zu 7 Monaten nach der HSZT. In diesem Untersuchungszeitraum konnte keine Veränderung der sIgA-Konzentration im unstimulierten Gesamtspeichel der Patienten beobachtet werden (52). Allerdings handelte es sich im Vergleich zur vorliegenden Studie um einen kürzeren Untersuchungszeitraum.

Im Gegensatz dazu beschreiben die meisten Studien einen Abfall der sIgA-Konzentration im Speichel von Patienten nach HSZT (48-51). In einer Studie von Imanguli et al. wurde der stimulierte Speichel der großen Speicheldrüsen von 41 Patienten vor und nach allogener HSZT

untersucht (49). In der ersten Messung der sIgA-Konzentration einen Monat nach aHSZT konnte ein Abfall des sIgA festgestellt werden verglichen mit der sIgA-Konzentration vor aHSZT ($p=0.019$). Nach 6 Monaten war eine Erholung der sIgA-Konzentration feststellbar, die das Konzentrationslevel vor aHSZT wieder erreichte (49). Dens et al. untersuchten den stimulierten Gesamtspeichel von 42 Patienten vor und nach autologer oder allogener SZT (50). Die Messungen der sIgA-Konzentration erfolgte monatlich ab einem Monat vor HSZT bis 4 Monate nach HSZT. Vor HSZT war in allen Speichelproben eine sIgA-Konzentration detektierbar. In der ersten Untersuchung nach HSZT waren in 29% der Proben keine sIgA-Konzentration mehr detektierbar und die sIgA-Konzentration war insgesamt um 87% gesunken. In der dritten Untersuchung nach HSZT war die sIgA-Konzentration immer noch um 82% verringert im Vergleich zu vor der HSZT (50). Aufgrund der kürzeren Untersuchungszeiträume und der Verwendung von stimuliertem Speichel können diese Studien nur bedingt mit der vorliegenden verglichen werden. In den beschriebenen Studien von Imanguli et al. und Dens et al. wurden monatliche Untersuchungsintervalle gewählt und eine Erholung bzw. Tendenz zur Erholung der sIgA-Konzentration beschrieben. In der vorliegenden Studie fand die erste Untersuchung nach aHSZT erst 100 Tage nach aHSZT statt. Womöglich konnte eine Veränderung der sIgA-Konzentration in diesem Zeitraum nicht registriert werden.

Eine Studie, die ebenfalls unstimulierten Gesamtspeichel über einen längeren Zeitraum untersuchte, stammt von Steinbrenner et al (51). In dieser Studie wurden monatlich bis zu 6 Monate nach HSZT unstimulierter Gesamtspeichel entnommen und daraufhin 9, 12 und 18 Monate nach HSZT. Es konnte ein Abfall der sIgA-Konzentration mit einem Tiefpunkt 3 und 4 Monate nach HSZT beobachtet werden und daraufhin ein erneuter Anstieg der sIgA-Konzentration. Zwei Drittel der Patienten hatte 1 Jahr nach HSZT wieder normale sIgA-Konzentrationen im Speichel erreicht (51).

Eine mögliche Erklärung für die Reduktion der sIgA-Konzentration stellt die Konditionierung vor aHSZT dar. Diese führt, neben dem Untergang des bestehenden Immunsystems, zu einer Verletzung des Speicheldrüsengewebes, die mit einer Reduktion der Speichelfließrate und der im Speichel enthaltenen Immunglobuline einhergehen kann (95-97).

5.2.2. IL-6

Es konnte keine Veränderung der IL-6-Konzentration im Speichel der Patienten im Verlauf von vor der aHSZT bis zu einem Jahr nach aHSZT festgestellt werden.

In der der Literatur gibt es nur zwei Studien zur Konzentrationsänderung von IL-6 im Speichel nach HSZT. Beide dieser Studien untersuchten in kurzen Untersuchungszeiträumen die Auswirkungen der Konditionierungstherapie auf die IL-6-Konzentration im Speichel. Aus diesem Grund sind sie nicht direkt mit der vorliegenden Studie vergleichbar. In der ersten Studie von Pereira et al. wurden 82 Patienten, die eine autologe oder allogene HSZT erhielten, zu 4 Zeitpunkten untersucht (73). Es wurden Speichelproben am Tag der Aufnahme, nach HSZT, 12-20 Tage nach der Konditionierung und am Tag der Entlassung entnommen und die IL-6-Konzentration mittels ELISA gemessen. In diesem Zeitraum konnte keine signifikante Veränderung der IL-6-Konzentration im Speichel der Patienten festgestellt werden ($p=0.245$) (73). Alle Patienten, die an der Studie von Pereira et al. teilnahmen, erhielten eine präventive Lasertherapie, um der Entstehung einer oralen Mukositis vorzubeugen. Dies könnte die IL-6-Konzentration im Speichel der Patienten beeinflusst haben. Dem steht jedoch eine Studie von Silva et al. gegenüber, die keine Veränderung der IL-6-Konzentration im Speichel durch eine Lasertherapie nachweisen konnte (74). Sie untersuchten 30 Patienten mit autologer oder allogener HSZT, um den Effekt einer Lasertherapie auf die orale Mukositis von Patienten nach Konditionierung zu testen. Zu diesem Zweck wurden die Patienten in zwei Gruppen unterteilt: Patienten mit Lasertherapie und eine Kontrollgruppe ohne Lasertherapie. Es wurden Speichelproben entnommen und die Konzentrationen der enthaltenen Entzündungsmediatoren mittels ELISA gemessen. Die Entnahmen fanden zu 5 Zeitpunkten statt: Am Tag der Patientenaufnahme, 1 Tag vor HSZT, Tag 3 und 7 nach HSZT und am Tag des Engraftments. Es konnte beobachtet werden, dass die IL-6-Konzentration im Speichel bis zu Tag 7 nach HSZT anstieg und bis zum Tag des Engraftments wieder abfiel. Dieser Verlauf folgte dem Verlauf der Ausprägung der oralen Mukositis. Es konnte kein signifikanter Unterschied der IL-6-Konzentrationen zwischen der laserbehandelten Gruppe und der Kontrollgruppe festgestellt werden ($p > 0.05$) (74). Silva et al. schlossen aus diesen Beobachtungen, dass IL-6 womöglich einen prognostischen Biomarker für die orale Mukositis nach aHSZT darstellt (74). Zwar sind die Studiendurchführungen von Pereira et al. und Silva et al. mit dem Aufbau der vorliegenden Studie vergleichbar, jedoch unterscheiden sie sich in der Länge der Untersuchungszeiträume und in der Länge der Untersuchungsintervalle. Da in diesen Studien die direkten Folgen der Konditionierungstherapie im Vordergrund standen, sind die kurzen und eng getakteten Untersuchungszeiträume sinnvoll. Um den Zusammenhang zwischen IL-6 im Speichel und dem Entstehen einer oralen GvHD zu untersuchen, sind Studien notwendig, welche die Veränderung dieses Zytokins im Speichel über einen längeren Zeitraum untersuchen, so wie in der vorliegenden Arbeit.

5.2.3. IL-8

In der vorliegenden Studie konnte eine signifikante Erhöhung der IL-8-Konzentrationen im Speichel der Patienten von U1 zu U3, von U1 zu U4 und von U2 zu U4 beobachtet werden.

Es konnte nur eine Studie in der Literatur gefunden werden, die eine Konzentrationsveränderung von IL-8 im Speichel nach HSZT untersuchte. Ähnlich wie bei den Untersuchungen zu IL-6 im Speichel nach HSZT, umfasst diese Studie nur einen kurzen Zeitraum nach HSZT, der einen direkten Vergleich mit unserer Studie erschwert. Salvador et al. untersuchten den Effekt einer Laserbehandlung auf die orale Mukositis von Patienten nach allogener und autologer SZT (87). Zu diesem Zweck teilten sie 51 Patienten in zwei Gruppen ein, von denen eine Gruppe eine Lasertherapie erhielt und die andere die Kontrollgruppe darstellte. Sie entnahmen Speichelproben am Tag der Aufnahme, 7 Tage nach der SZT und am Tag der Entlassung. Bei den Patienten, die eine Lasertherapie erhielten, konnte eine signifikante Reduktion der IL-8-Konzentration und eine Reduktion der Ausprägung der oralen Mukositis beobachtet werden. Salvador et al. stellten die Hypothese auf, dass es durch die Lasertherapie zu einer Reduktion an IL-8 kommt, welche wiederum zu weniger Chemotaxis von Entzündungszellen und somit zu einer verminderten Schwere der oralen Mukositis führt (87). Währenddessen zeigt sich ein deutlicher Anstieg der IL-8-Konzentration bei Patienten der Kontrollgruppe, die eine orale Mukositis entwickelten und keine Lasertherapie erhielten (87).

Die in der vorliegenden Studie beobachteten Anstiege der IL-8-Konzentration im Speichel könnten auf lokale inflammatorische Prozesse zurückgeführt werden, die sich nach aHSZT im Mundraum der Patienten entwickelten. Es konnte keine Korrelation zwischen der IL-8-Konzentration im Speichel und der Ausprägung einer oGvHD gezeigt werden. Dies schließt jedoch nicht aus, dass andere pathologische Prozesse, die als Folge der Chemotherapie auftreten können, eine Veränderung der IL-8-Konzentration ausgelöst haben. Diese umfassen unter anderem eine orale Mukositis, Ulzerationen, Infektionen oder weitere oropharyngealen Symptome (98-100).

5.3. Zusammenhang zwischen den Konzentrationen des Immunglobulins sIgA, der Zytokine IL-6 und IL-8 im Speichel und den Konzentrationen von IgA, IL-6 und IL-8 im Blutserum

5.3.1. sIgA

In der vorliegenden Studie konnte keine Korrelation zwischen dem IgA-Spiegel im Blutserum und der sIgA-Konzentration im Speichel festgestellt werden.

Es konnte nur eine Studie gefunden werden, die einen Zusammenhang zwischen der IgA-Konzentration im Blut und der sIgA-Konzentration im Speichel untersuchte (54). Izutsu et al. untersuchten die Konzentrationen von IgA im Blutserum und sIgA im Speichel von 114 Patienten, die eine allogene, autologe oder syngene HSZT erhalten hatten. Sie entnahmen Blutproben und stimulierte Speichelproben der Lippen-Speicheldrüsen an Tag 90 nach HSZT, ein Jahr nach HSZT und danach im jährlichen Abstand. Die Entnahme der Speichelproben erfolgte, indem die Unterlippe umgestülpt und somit die Öffnungen der kleinen Speicheldrüsen freigelegt wurden. Danach wurden die durch Stimulation entstehenden Speicheltropfen mittels Filterpapier aufgefangen, bis dieses gesättigt war. Sie konnten eine geringgradige, aber signifikante Korrelation zwischen der sIgA-Konzentration im Speichel und der IgA-Konzentration im Serum der Patienten 1 Jahr nach HSZT feststellen (Pearson: 0,39; $p = 0.0001$).

Wie bereits beschrieben, findet die Synthese von sIgA in den Körpersekreten unabhängig von der IgA-Synthese im Blut statt (45). Eine Reduktion des IgA-Spiegels im Blutserum geht folglich nicht automatisch mit einem Mangel an sIgA im Speichel einher. Dies stellt möglicherweise eine Erklärung dafür dar, dass in dieser Studie keine signifikante Korrelation zwischen dem IgA im Blutserum und der sIgA-Konzentration im Speichel festgestellt werden konnte.

5.3.2. IL-6

Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen den IL-6-Blutserumwerten und den Konzentrationen von IL-6 im Speichel gezeigt werden. Demnach ist es nicht möglich, anhand der IL-6-

Konzentration im Speichel Rückschlüsse auf den IL-6-Spiegel im Blutserum der Patienten zu ziehen.

In der Studie von Fischer konnte, ebenso wie in der vorliegenden Studie, keine Veränderung des IL-6 im Blutserum oder im Speichel nachgewiesen werden (56). Es gibt keine Studien, die eine Korrelation zwischen IL-6 im Blutserum und im Speichel untersuchten. Da IL-6 an einer Reihe von inflammatorischen Prozessen beteiligt ist und womöglich über die Differenzierung von Th17-Zellen die Entstehung einer GvHD begünstigt, ist eine weitere Untersuchung dieses Zytokins als Biomarker im Blutserum sowie im Speichel sinnvoll (65, 66).

5.3.3. IL-8

In dieser Studie konnte keine signifikante Korrelation zwischen dem IL-8-Spiegel im Blutserum und der IL-8-Konzentration im Speichel nachgewiesen werden.

Dieses Ergebnis indiziert, dass es nicht möglich ist, anhand der IL-8-Konzentration im Speichel Rückschlüsse auf die IL-8-Konzentration im Blutserum zu ziehen und somit Prognosen über das Outcome einer aHSZT zu machen. Ein Anstieg der IL-8-Konzentration im Blut konnte in vorangegangenen Studien als Biomarker für eine erhöhte Mortalität nach aHSZT identifiziert werden, sowie das Ansprechen auf eine GvHD-Therapie (83, 101).

Zusammenfassend konnte in dieser Studie keine signifikante Korrelation zwischen den Biomarkern IgA, IL-6 und IL-8 im Blutserum und den dazugehörigen Konzentrationen von IgA, IL-6 und IL-8 im Speichel gezeigt werden. Eine fehlende Korrelation zwischen den Konzentrationen im Blutserum und denen im Speichel spricht jedoch nicht automatisch dafür, dass sich die Untersuchung der Biomarker im Speichel weniger eignet, um Aussagen über die Folgen einer HSZT zu machen. Fischer konnte in seiner Promotionsarbeit bspw. keine Veränderung der Konzentration von IL-8 im Blutserum der Patienten nachweisen. In der Untersuchung der IL-8-Konzentration im Speichel konnten dahingegen signifikante Anstiege registriert werden, und die Konzentrationen von IL-8 waren im Speichel allgemein höher als die Konzentrationen von IL-8 im Blutserum. Dies könnte dafürsprechen, dass sich die Untersuchung von IL-8 im Speichel besser eignet, bezogen auf die zu untersuchende Fragestellung.

5.4. Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel und dem Schweregrad einer oralen GvHD

5.4.1. sIgA

In dieser Studie konnte eine Korrelation zwischen der sIgA-Konzentration im Speichel und der Ausprägung einer oralen GvHD nachgewiesen werden ($r=-0,304$, $p=0,012$).

Die Literatur präsentiert zu dieser Fragestellung unterschiedliche Ergebnisse. Izutsu et al. konnten in einer Studie an 12 Patienten nach aHSZT zeigen, dass die sIgA-Konzentration im Gesamtspeichel bei Entwicklung einer cGvHD im Vergleich zu Transplantierten, die keine GvHD entwickelten, vermindert ist ($p<0,05$) (53). In einer darauffolgenden Studie, in der Izutsu et al. den Labialspeichel von 114 Patienten nach HSZT untersuchten, konnte dieses Ergebnis repliziert werden (54). Es zeigte sich eine signifikante Verminderung der sIgA-Konzentration im Speichel von Patienten mit cGvHD verglichen mit gesunden Transplantierten und Kontrollen ($p=0,0003$) (54). Im Gegensatz dazu konnten Dens et al. bei 57 untersuchten Patienten keinen Unterschied in der Reduktion der sIgA-Konzentration zwischen Patienten mit GvHD und ohne GvHD feststellen (50). In einer Studie von Nagler et al. mit 30 Patienten konnte keine signifikante Veränderung der sIgA-Konzentration im Speichel von stammzelltransplantierten Patienten mit GvHD beobachtet werden (52). Es gibt Studien, die den Zusammenhang zwischen der IgA-Konzentration im Blutserum und einer GvHD untersuchten. Es konnten dabei verminderte Konzentrationen von IgA im Blutserum bei Patienten festgestellt werden, die eine GvHD entwickelten (57, 102). Fujimaki et al. untersuchten die Dauer der Wiederherstellung des Immunsystems nach aHSZT im Blutserum bei 91 Patienten. Sie konnten beobachten, dass die Erholung der IgA-Konzentration, im Gegensatz zu IgM und IgG, bis zu 5 Jahre nach HSZT dauerte (102). Des Weiteren stellten sie fest, dass die Entwicklung einer cGvHD die Erholung der IgA-Konzentration im Blutserum negativ beeinflusste (102).

5.4.2. IL-6

Es konnte keine Korrelation zwischen der IL-6-Konzentration im Speichel der Patienten und der Ausprägung einer oralen GvHD gezeigt werden. Die Erfassung der IL-6-Konzentration im Speichel eignet sich den Ergebnissen dieser Studie zufolge nicht, um Rückschlüsse auf das Vorliegen einer oralen GvHD zu ziehen.

Bisher gibt es nur eine Studie, die eine Korrelation zwischen der IL-6-Konzentration im Speichel von Patienten und dem Schweregrad einer oralen GvHD untersuchte (75). Fall-Dickson et al. untersuchten 42 Patienten, die eine orale GvHD entwickelten zu einem Zeitpunkt nach HSZT. Die IL-6-Konzentration im stimulierten Speichel der Patienten zeigte eine Korrelation mit der Ausprägung einer oralen GvHD ($r= 0,49$; $p<0.01$) (75). Die Rolle von IL-6 bei der Entstehung einer GvHD ist nicht endgültig geklärt. IL-6 bewirkt in Anwesenheit von TGF- β die Entstehung von Th17-Zellen, welche autoimmune Gewebeschäden verursachen und könnte über diesen Mechanismus an der Entstehung einer GvHD beteiligt sein (65, 66). In manchen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen erhöhten IL-6-Konzentrationen im Blut und der Entstehung einer GvHD gezeigt werden (68, 69).

5.4.3. IL-8

Es konnte in der vorliegenden Studie keine Korrelation zwischen der IL-8-Konzentration im Speichel und der Ausprägung einer oralen GvHD nachgewiesen werden. Diesem Ergebnis zufolge eignet sich die IL-8-Konzentration im Speichel nicht als Biomarker für eine orale GvHD. Es gibt bisher keine anderen Studien, die den Zusammenhang zwischen IL-8 im Speichel und einer oralen GvHD untersucht haben.

Da gezeigt werden konnte, dass die IL-8-Konzentration im Blut einen geeigneten Biomarker für eine GvHD darstellt, ist die weitere Erforschung von IL-8 im Speichel und dessen Zusammenhang mit einer GvHD erstrebenswert (8, 84). Zwar konnte in der vorliegenden Studie keine Korrelation zwischen den Blutserumwerten und den Speichelkonzentrationen von IL-8 beobachtet werden, jedoch braucht es weitere Studien unter angepassten Versuchsbedingungen, um eine solche Korrelation auszuschließen oder zu bestätigen.

5.5. Limitierungen der Studie

In dieser Studie wurden sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel von Patienten innerhalb eines Jahres nach aHSZT untersucht und deren Zusammenhang mit einer oGvHD. Die Speichelprobenentnahmen fanden vor aHSZT, 100 Tage, 200 Tage und 365 Tage nach aHSZT statt. Die Intervalle zwischen den Patientenuntersuchungen wurden passend gewählt, um die mögliche Entwicklung einer GvHD zu erfassen. Ein Nachteil dieses Vorgehens ist, dass diese Intervalle zwar für eine cGvHD sinnvoll sind, jedoch die Beurteilung einer aGvHD einschränken. Die ersten 100 Tage nach aHSZT sind meist kritisch für die Entstehung einer aGvHD und die vorliegende Studie liefert keine Daten über die Konzentrationen der Biomarker in diesem Zeitraum (16). Für zukünftige Studien wären enger getaktete Untersuchungen, beispielsweise monatliche Untersuchungen, innerhalb der ersten 100 Tagen nach aHSZT geeigneter.

Ein weiterer Optimierungsschritt wäre die Testung der Speichelproben unmittelbar nach der Entnahme und in zeitlichem Zusammenhang mit der Testung der Blutserumproben. Eine Limitierung dieser Studie stellt die zeitverzögerte Testung der Speichelproben dar, wodurch eine Veränderung der Speichelbestandteile durch bspw. Proteolyse nicht ausgeschlossen werden kann. Eine unverzügliche Verarbeitung der Speichelproben und eine adäquate Lagerung bei mindestens -80° C stellen Lösungen für diese möglichen Fehlerquellen dar. Eine weitere Limitierung dieser Studie stellt das Fehlen einer Kontrollgruppe dar. Diese wurde damit begründet, dass der Fokus der Untersuchung auf der Veränderung von sIgA, IL-6 und IL-8 innerhalb eines Jahres nach aHSZT lag und deren Zusammenhang mit der Entstehung einer GvHD. Der Vergleich der Biomarker-Konzentrationen zwischen stammzelltransplantierten Patienten und gesunden Individuen, die keine HSZT erhielten, wären für diese Fragestellung nur bedingt von Vorteil gewesen. In vergleichbaren Studien wurden Kontrollgruppen aus Patienten gebildet, die eine andere Art der Stammzelltransplantation erhielten oder aus stammzelltransplantierten Patienten, die keine GvHD entwickelten (52, 53).

6. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, den Konzentrationsverlauf des Immunglobulins sIgA und der Zytokine IL-6 und IL-8 im Speichel von Patienten nach aHSZT zu untersuchen und somit deren klinische Relevanz als Biomarker zu testen. Zu diesem Zweck wurden Speichelproben, die von 35 stammzelltransplantierten Patienten zu vier Untersuchungszeitpunkten gesammelt worden waren, untersucht. Der erste Untersuchungszeitpunkt (U1) fand vor aHSZT statt, der zweite Untersuchungszeitpunkt (U2) 100 Tage nach aHSZT, der dritte Untersuchungszeitpunkt (U3) 200 Tage nach aHSZT und der letzte Untersuchungszeitpunkt (U4) 365 Tage nach aHSZT.

Es konnte keine signifikante Veränderung der sIgA-Konzentration im Speichel der Patienten zwischen den vier Untersuchungszeitpunkten U1-U4 festgestellt werden. Ebenso konnte keine signifikante Veränderung der IL-6-Konzentration über die vier Untersuchungszeitpunkte beobachtet werden.

Bei der Analyse der IL-8-Konzentrationen über die Untersuchungszeitpunkte konnte eine signifikante Erhöhung von U1 zu U3 ($p=0,019$), von U1 zu U4 ($p=0,002$) und von U2 zu U4 ($p=0,03$) festgestellt werden.

Des Weiteren wurde das Vorliegen einer Korrelation zwischen den Konzentrationen von sIgA, IL-6 und IL-8 aus dem Speichel und den Konzentrationen von IgA, IL-6 und IL-8 aus dem Blutserum untersucht. Weder für sIgA, noch für IL-6 und IL-8 konnte eine solche Korrelation festgestellt werden. Diesen Ergebnissen zufolge kann durch Analyse der Konzentrationen von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel kein Rückschluss auf die Konzentrationen von IgA, IL-6 und IL-8 im Blutserum gezogen werden. Diese Ergebnisse bedeuten jedoch nicht, dass die Messung der Biomarker im Speichel für die Untersuchung einer HSZT ungeeignet ist. Die Speichelanalyse könnte zwar für die Erfassung systemischer Folgeerkrankungen nach HSZT unpassend sein, aber bezogen auf lokale inflammatorische Prozesse in der Mundhöhle, stellt sie eine potenzielle Alternative dar.

Abschließend wurde der Fragestellung nachgegangen, ob es einen Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel der Patienten nach aHSZT und dem Vorliegen einer oralen GvHD gibt. Für sIgA konnte eine geringgradige Korrelation mit der Ausprägung einer oGvHD beobachtet werden ($r=-0,304$, $p=0,012$). Für IL-6 und IL-8 konnte kein Zusammenhang zwischen der Speichelkonzentration und der Ausprägung einer oGvHD festgestellt werden.

Zusammenfassend konnte in dieser Studie keine eindeutige klinische Relevanz für sIgA, IL-6

und IL-8 im Speichel als Biomarker für die aHSZT und für eine oGvHD gezeigt werden. Nichtsdestotrotz konnten Ansätze für weitere Untersuchungen identifiziert und Optimierungsvorschläge für derartige Studien herausgearbeitet werden. Speichel ist ein einfach zugängliches Untersuchungsmaterial und bietet einige Vorteile gegenüber Blutproben. Es wird bereits in Bereichen, wie der Hormonbestimmung und Krebsdiagnostik, eingesetzt (38, 42). Der Einsatz der Speicheldiagnostik zur Biomarker-Bestimmung ist auch im Bereich der Stammzelltransplantation denkbar. Vor allem für die Diagnose und Verlaufsbeobachtung von Folgeerkrankungen in der Mundhöhle, wie einer oralen Mukositis oder der oralen GvHD, ist der Einsatz von Speichel naheliegend. Zum jetzigen Zeitpunkt existieren jedoch große Unterschiede in der Entnahme und Verarbeitung von Speichelproben, die zu großen Diskrepanzen und zur erschwerten Vergleichbarkeit zwischen den Ergebnissen vorhandener Studien führen. Für zukünftige Untersuchungen ist es demnach erforderlich, standardisierte Entnahmeprotokolle zu etablieren und eine optimierte Lagerung und Verarbeitung der Speichelproben zu gewährleisten. Erst, wenn genügend solcher standardisierten Studien durchgeführt wurden, kann eine zuverlässige Aussage über die klinische Relevanz von sIgA, IL-6 und IL-8 im Speichel als Biomarker für eine aHSZT getätigt werden.

7. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei meiner Doktormutter, PD Dr. Julia Heider, bedanken, die mich immer wieder aufs Neue zum Schreiben dieser Arbeit motiviert und mir mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat. Sie ist eine wahrhafte Powerfrau, die für mich nicht nur fachlich, sondern auch menschlich in den letzten Jahren ein Vorbild war. Des Weiteren möchte ich meiner Familie ein großes Danke zukommen lassen für ihre endlose und vielfältige Unterstützung, die ich nicht nur im Rahmen dieses Projektes, sondern auch in jedem anderen Aspekt meines Lebens tagtäglich erfahre. Ebenso danke ich meinem Freund, den ich zu meiner Familie zähle und der für mich ein unermüdlicher Zuhörer, Freund und Partner beim Verfassen dieser Doktorarbeit war. Zu guter Letzt möchte ich meinen verstorbenen Großeltern danken und ihnen diese Arbeit widmen. Sie wurden nie müde uns mit den Worten zu motivieren: Man muss sein Leben lang lernen.

8. Literaturverzeichnis

1. Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C, Basak GW, de la Camara R, Corbacioglu S, et al. Hematopoietic cell transplantation and cellular therapy survey of the EBMT: monitoring of activities and trends over 30 years. *Bone Marrow Transplant.* 2021;56(7):1651-64.
2. Horan JT, Logan BR, Agovi-Johnson MA, Lazarus HM, Bacigalupo AA, Ballen KK, et al. Reducing the risk for transplantation-related mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation: how much progress has been made? *J Clin Oncol.* 2011;29(7):805-13.
3. Hahn T, McCarthy PL, Jr., Hassebroek A, Bredeson C, Gajewski JL, Hale GA, et al. Significant improvement in survival after allogeneic hematopoietic cell transplantation during a period of significantly increased use, older recipient age, and use of unrelated donors. *J Clin Oncol.* 2013;31(19):2437-49.
4. Bazinet A, Popradi G. A general practitioner's guide to hematopoietic stem-cell transplantation. *Curr Oncol.* 2019;26(3):187-91.
5. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6(10):a016295.
6. Baggiolini M, Clark-Lewis I. Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. *FEBS Lett.* 1992;307(1):97-101.
7. Choe H, Ferrara JLM. New therapeutic targets and biomarkers for acute graft-versus-host disease (GVHD). *Expert Opin Ther Targets.* 2021;25(9):761-71.
8. Paczesny S, Krijanovski OI, Braun TM, Choi SW, Clouthier SG, Kuick R, et al. A biomarker panel for acute graft-versus-host disease. *Blood.* 2009;113(2):273-8.
9. Yel L. Selective IgA deficiency. *J Clin Immunol.* 2010;30(1):10-6.
10. Kaczor-Urbanowicz KE, Martin Carreras-Presas C, Aro K, Tu M, Garcia-Godoy F, Wong DT. Saliva diagnostics - Current views and directions. *Exp Biol Med (Maywood).* 2017;242(5):459-72.
11. Nagler A, Shimoni A. Conditioning. In: th, Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kroger N, editors. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies.* Cham (CH)2019. p. 99-107.
12. Khaddour K, Hana CK, Mewawalla P. *Hematopoietic Stem Cell Transplantation.* StatPearls. Treasure Island (FL)2022.
13. Spierings E, Fleischhauer K. Histocompatibility. In: th, Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kroger N, editors. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies.* Cham (CH)2019. p. 61-8.
14. Howard CA, Fernandez-Vina MA, Appelbaum FR, Confer DL, Devine SM, Horowitz MM, et al. Recommendations for donor human leukocyte antigen assessment and matching

for allogeneic stem cell transplantation: consensus opinion of the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN). *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(1):4-7.

15. Xu ZL, Huang XJ. Optimizing allogeneic grafts in hematopoietic stem cell transplantation. *Stem Cells Transl Med*. 2021;10 Suppl 2:S41-S7.
16. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005;11(12):945-56.
17. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet*. 2009;373(9674):1550-61.
18. Ghimire S, Weber D, Mavin E, Wang XN, Dickinson AM, Holler E. Pathophysiology of GvHD and Other HSCT-Related Major Complications. *Front Immunol*. 2017;8:79.
19. Holler E, Greinix H, Zeiser R. Acute Graft-Versus-Host Disease. In: th, Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kroger N, editors. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*. Cham (CH)2019. p. 323-30.
20. Vogelsang GB, Lee L, Bensen-Kennedy DM. Pathogenesis and treatment of graft-versus-host disease after bone marrow transplant. *Annu Rev Med*. 2003;54:29-52.
21. (DAG-KBT) DAfK-uB. GvHD-Prophylaxe und Therapie 2016 [Available from: https://www.dag-kbt.de/Leitlinie_zur_allogenen_SCT.html].
22. Wolff D, Lawitschka A. Chronic Graft-Versus-Host Disease. In: th, Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kroger N, editors. *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*. Cham (CH)2019. p. 331-45.
23. Kuzmina Z, Greinix HT, Weigl R, Kormoczi U, Rottal A, Frantal S, et al. Significant differences in B-cell subpopulations characterize patients with chronic graft-versus-host disease-associated dysgammaglobulinemia. *Blood*. 2011;117(7):2265-74.
24. Schubert MM, Williams BE, Lloid ME, Donaldson G, Chapko MK. Clinical assessment scale for the rating of oral mucosal changes associated with bone marrow transplantation. Development of an oral mucositis index. *Cancer*. 1992;69(10):2469-77.
25. Aronson JK, Ferner RE. Biomarkers-A General Review. *Curr Protoc Pharmacol*. 2017;76:9 23 1-9 17.
26. Mrazek F. Systemic biomarkers of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation outcome-Brief introduction. *HLA*. 2019;94 Suppl 2:25-9.
27. Styczynski J, Tridello G, Koster L, Iacobelli S, van Biezen A, van der Werf S, et al. Death after hematopoietic stem cell transplantation: changes over calendar year time, infections and associated factors. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55(1):126-36.

28. Chen S, Zeiser R. Novel Biomarkers for Outcome After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol.* 2020;11:1854.
29. Adom D, Rowan C, Adeniyani T, Yang J, Paczesny S. Biomarkers for Allogeneic HCT Outcomes. *Front Immunol.* 2020;11:673.
30. Atarod S, Ahmed MM, Lendrem C, Pearce KF, Cope W, Norden J, et al. miR-146a and miR-155 Expression Levels in Acute Graft-Versus-Host Disease Incidence. *Front Immunol.* 2016;7:56.
31. Xie LN, Zhou F, Liu XM, Fang Y, Yu Z, Song NX, et al. Serum microRNA155 is increased in patients with acute graft-versus-host disease. *Clin Transplant.* 2014;28(3):314-23.
32. Magenau JM, Qin X, Tawara I, Rogers CE, Kitko C, Schlough M, et al. Frequency of CD4(+)CD25(hi)FOXP3(+) regulatory T cells has diagnostic and prognostic value as a biomarker for acute graft-versus-host-disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16(7):907-14.
33. Hoffmann P, Ermann J, Edinger M, Fathman CG, Strober S. Donor-type CD4(+)CD25(+) regulatory T cells suppress lethal acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *J Exp Med.* 2002;196(3):389-99.
34. Zorn E, Kim HT, Lee SJ, Floyd BH, Litsa D, Arumugarajah S, et al. Reduced frequency of FOXP3+ CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with chronic graft-versus-host disease. *Blood.* 2005;106(8):2903-11.
35. Pfaffe T, Cooper-White J, Beyerlein P, Kostner K, Punyadeera C. Diagnostic potential of saliva: current state and future applications. *Clin Chem.* 2011;57(5):675-87.
36. Kaufman E, Lamster IB. The diagnostic applications of saliva--a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(2):197-212.
37. Amado F, Calheiros-Lobo MJ, Ferreira R, Vitorino R. Sample Treatment for Saliva Proteomics. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1073:23-56.
38. Boroumand M, Olianias A, Cabras T, Manconi B, Fanni D, Faa G, et al. Saliva, a bodily fluid with recognized and potential diagnostic applications. *J Sep Sci.* 2021;44(19):3677-90.
39. Chojnowska S, Baran T, Wilinska I, Sienicka P, Cabaj-Wiater I, Knas M. Human saliva as a diagnostic material. *Adv Med Sci.* 2018;63(1):185-91.
40. Khurshid Z, Zafar MS, Khan RS, Najeeb S, Slowey PD, Rehman IU. Role of Salivary Biomarkers in Oral Cancer Detection. *Adv Clin Chem.* 2018;86:23-70.
41. Panarese I, Aquino G, Ronchi A, Longo F, Montella M, Cozzolino I, et al. Oral and Oropharyngeal squamous cell carcinoma: prognostic and predictive parameters in the etiopathogenetic route. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2019;19(2):105-19.

42. Chamoli A, Gosavi AS, Shirwadkar UP, Wangdale KV, Behera SK, Kurrey NK, et al. Overview of oral cavity squamous cell carcinoma: Risk factors, mechanisms, and diagnostics. *Oral Oncol.* 2021;121:105451.
43. Woof JM, Kerr MA. The function of immunoglobulin A in immunity. *J Pathol.* 2006;208(2):270-82.
44. Leong KW, Ding JL. The unexplored roles of human serum IgA. *DNA Cell Biol.* 2014;33(12):823-9.
45. Kumar N, Arthur CP, Ciferri C, Matsumoto ML. Structure of the secretory immunoglobulin A core. *Science.* 2020;367(6481):1008-14.
46. Hanson LA, Korotkova M. The role of breastfeeding in prevention of neonatal infection. *Semin Neonatol.* 2002;7(4):275-81.
47. Li Y, Jin L, Chen T. The Effects of Secretory IgA in the Mucosal Immune System. *Biomed Res Int.* 2020;2020:2032057.
48. Gebri E, Kovacs Z, Meszaros B, Toth F, Simon A, Jankovics H, et al. N-Glycosylation Alteration of Serum and Salivary Immunoglobulin a Is a Possible Biomarker in Oral Mucositis. *J Clin Med.* 2020;9(6).
49. Imanguli MM, Atkinson JC, Harvey KE, Hoehn GT, Ryu OH, Wu T, et al. Changes in salivary proteome following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol.* 2007;35(2):184-92.
50. Dens F, Boogaerts M, Boute P, Declerck D, Demuyneck H, Vinckier F. Quantitative determination of immunological components of salivary gland secretion in transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 1996;17(3):421-3.
51. Steinbrenner M, Hafer R, Gruhn B, Muller A, Fuchs D, Hermann J, et al. T-cell independent production of salivary secretory IgA after hematopoietic stem cell transplantation in children. *Oral Microbiol Immunol.* 2005;20(5):282-8.
52. Nagler R, Barness-Hadar L, Lieba M, Nagler A. Salivary antioxidant capacity in graft versus host disease. *Cancer Invest.* 2006;24(3):269-77.
53. Izutsu KT, Sullivan KM, Schubert MM, Truelove EL, Shulman HM, Sale GE, et al. Disordered salivary immunoglobulin secretion and sodium transport in human chronic graft-versus-host disease. *Transplantation.* 1983;35(5):441-6.
54. Izutsu KT, Menard TW, Schubert MM, Ensign WY, Sullivan K, Truelove EL, et al. Graft versus host disease-related secretory immunoglobulin A deficiency in bone marrow transplant recipients. Findings in labial saliva. *Lab Invest.* 1985;52(3):292-7.
55. Izutsu KT, Schubert MM, Truelove EL, Shulman HM, Sale GE, Morton TH, et al. The predictive value of elevated labial saliva sodium concentration: its relation to labial gland pathology in bone marrow transplant recipients. *Hum Pathol.* 1983;14(1):29-35.

56. Fischer M. Der Zusammenhang zwischen der Speichelfließrate und der mundgesundheitsbezogenen Lebensqualität vor und nach einer allogenen Stammzelltransplantation: Johannes-Gutenberg Universität 2021.
57. Abedi MR, Hammarstrom L, Ringden O, Smith CI. Development of IgA deficiency after bone marrow transplantation. The influence of acute and chronic graft-versus-host disease. *Transplantation*. 1990;50(3):415-21.
58. Abrahamsen IW, Somme S, Heldal D, Egeland T, Kvale D, Tjonnfjord GE. Immune reconstitution after allogeneic stem cell transplantation: the impact of stem cell source and graft-versus-host disease. *Haematologica*. 2005;90(1):86-93.
59. Lotz M. Interleukin-6. *Cancer Invest*. 1993;11(6):732-42.
60. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1813(5):878-88.
61. Kumari N, Dwarakanath BS, Das A, Bhatt AN. Role of interleukin-6 in cancer progression and therapeutic resistance. *Tumour Biol*. 2016;37(9):11553-72.
62. Grivennikov SI, Karin M. Inflammatory cytokines in cancer: tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage. *Ann Rheum Dis*. 2011;70 Suppl 1:i104-8.
63. Sugiyama H, Inoue K, Ogawa H, Yamagami T, Soma T, Miyake S, et al. The expression of IL-6 and its related genes in acute leukemia. *Leuk Lymphoma*. 1996;21(1-2):49-52.
64. Xun CQ, Thompson JS, Jennings CD, Brown SA, Widmer MB. Effect of total body irradiation, busulfan-cyclophosphamide, or cyclophosphamide conditioning on inflammatory cytokine release and development of acute and chronic graft-versus-host disease in H-2-incompatible transplanted SCID mice. *Blood*. 1994;83(8):2360-7.
65. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*. 2006;441(7090):235-8.
66. Serody JS, Hill GR. The IL-17 differentiation pathway and its role in transplant outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18(1 Suppl):S56-61.
67. Akkaya B, Shevach EM. Regulatory T cells: Master thieves of the immune system. *Cell Immunol*. 2020;355:104160.
68. Symington FW, Symington BE, Liu PY, Viguet H, Santhanam U, Sehgal PB. The relationship of serum IL-6 levels to acute graft-versus-host disease and hepatorenal disease after human bone marrow transplantation. *Transplantation*. 1992;54(3):457-62.
69. Imamura M, Hashino S, Kobayashi H, Kubayashi S, Hirano S, Minagawa T, et al. Serum cytokine levels in bone marrow transplantation: synergistic interaction of interleukin-6, interferon-gamma, and tumor necrosis factor-alpha in graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*. 1994;13(6):745-51.

70. Barak V, Levi-Schaffer F, Nisman B, Nagler A. Cytokine dysregulation in chronic graft versus host disease. *Leuk Lymphoma*. 1995;17(1-2):169-73.
71. Kennedy GA, Varelias A, Vuckovic S, Le Texier L, Gartlan KH, Zhang P, et al. Addition of interleukin-6 inhibition with tocilizumab to standard graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic stem-cell transplantation: a phase 1/2 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(13):1451-9.
72. Drobyski WR, Szabo A, Zhu F, Keever-Taylor C, Hebert KM, Dunn R, et al. Tocilizumab, tacrolimus and methotrexate for the prevention of acute graft-versus-host disease: low incidence of lower gastrointestinal tract disease. *Haematologica*. 2018;103(4):717-27.
73. Pereira NF, Silva P, Fukuoka CY, Michel-Crosato E, Goncalves AS, Alves FA, et al. Measurement of oral health quality of life among patients who underwent haematopoietic stem-cell transplantation. *Braz Oral Res*. 2018;32:e78.
74. Silva GB, Sacono NT, Othon-Leite AF, Mendonca EF, Arantes AM, Bariani C, et al. Effect of low-level laser therapy on inflammatory mediator release during chemotherapy-induced oral mucositis: a randomized preliminary study. *Lasers Med Sci*. 2015;30(1):117-26.
75. Fall-Dickson JM, Mitchell SA, Marden S, Ramsay ES, Guadagnini JP, Wu T, et al. Oral symptom intensity, health-related quality of life, and correlative salivary cytokines in adult survivors of hematopoietic stem cell transplantation with oral chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16(7):948-56.
76. Remick DG. Interleukin-8. *Crit Care Med*. 2005;33(12 Suppl):S466-7.
77. Standiford TJ, Kunkel SL, Basha MA, Chensue SW, Lynch JP, 3rd, Toews GB, et al. Interleukin-8 gene expression by a pulmonary epithelial cell line. A model for cytokine networks in the lung. *J Clin Invest*. 1990;86(6):1945-53.
78. Russo RC, Garcia CC, Teixeira MM, Amaral FA. The CXCL8/IL-8 chemokine family and its receptors in inflammatory diseases. *Expert Rev Clin Immunol*. 2014;10(5):593-619.
79. Hu DE, Hori Y, Fan TP. Interleukin-8 stimulates angiogenesis in rats. *Inflammation*. 1993;17(2):135-43.
80. Koch AE, Polverini PJ, Kunkel SL, Harlow LA, DiPietro LA, Elner VM, et al. Interleukin-8 as a macrophage-derived mediator of angiogenesis. *Science*. 1992;258(5089):1798-801.
81. Liu Q, Li A, Tian Y, Wu JD, Liu Y, Li T, et al. The CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2016;31:61-71.
82. Vinante F, Rigo A, Vincenzi C, Ricetti MM, Marrocchella R, Chilosi M, et al. IL-8 mRNA expression and IL-8 production by acute myeloid leukemia cells. *Leukemia*. 1993;7(10):1552-6.
83. Schots R, Kaufman L, Van Riet I, Ben Othman T, De Waele M, Van Camp B, et al. Proinflammatory cytokines and their role in the development of major transplant-related

complications in the early phase after allogeneic bone marrow transplantation. *Leukemia*. 2003;17(6):1150-6.

84. Berger M, Signorino E, Muraro M, Quarello P, Biasin E, Nesi F, et al. Monitoring of TNFR1, IL-2Ralpha, HGF, CCL8, IL-8 and IL-12p70 following HSCT and their role as GVHD biomarkers in paediatric patients. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48(9):1230-6.

85. Remberger M, Ringden O. Serum levels of cytokines after bone marrow transplantation: increased IL-8 levels during severe veno-occlusive disease of the liver. *Eur J Haematol*. 1997;59(4):254-62.

86. Doring M, Cabanillas Stanchi KM, Mezger M, Erbacher A, Feucht J, Pfeiffer M, et al. Cytokine serum levels during post-transplant adverse events in 61 pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *BMC Cancer*. 2015;15:607.

87. Salvador DRN, Soave DF, Sacono NT, de Castro EF, Silva GBL, LP ES, et al. Effect of photobiomodulation therapy on reducing the chemo-induced oral mucositis severity and on salivary levels of CXCL8/interleukin 8, nitrite, and myeloperoxidase in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a randomized clinical trial. *Lasers Med Sci*. 2017;32(8):1801-10.

88. Nederfors T. Xerostomia and hyposalivation. *Adv Dent Res*. 2000;14:48-56.

89. Nakonieczna-Rudnicka M, Bachanek T, Piekarczyk W, Kobylecka E. Secretory immunoglobulin A concentration in non-stimulated and stimulated saliva in relation to the status of smoking. *Przegl Lek*. 2016;73(10):704-7.

90. Aufricht C, Tenner W, Salzer HR, Khoss AE, Wurst E, Herkner K. Salivary IgA concentration is influenced by the saliva collection method. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1992;30(2):81-3.

91. Szabo YZ, Slavish DC. Measuring salivary markers of inflammation in health research: A review of methodological considerations and best practices. *Psychoneuroendocrinology*. 2021;124:105069.

92. de Jong EP, van Riper SK, Koopmeiners JS, Carlis JV, Griffin TJ. Sample collection and handling considerations for peptidomic studies in whole saliva; implications for biomarker discovery. *Clin Chim Acta*. 2011;412(23-24):2284-8.

93. Fabian TK, Fejerdy P, Csermely P. Salivary Genomics, Transcriptomics and Proteomics: The Emerging Concept of the Oral Ecosystem and their Use in the Early Diagnosis of Cancer and other Diseases. *Curr Genomics*. 2008;9(1):11-21.

94. Schipper R, Loof A, de Groot J, Harthoorn L, Dransfield E, van Heerde W. SELDI-TOF-MS of saliva: methodology and pre-treatment effects. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2007;847(1):45-53.

95. Eisen D, Essell J, Broun ER. Oral cavity complications of bone marrow transplantation. *Semin Cutan Med Surg*. 1997;16(4):265-72.

96. Wong HM. Oral complications and management strategies for patients undergoing cancer therapy. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:581795.
97. Epstein JB, Tsang AH, Warkentin D, Ship JA. The role of salivary function in modulating chemotherapy-induced oropharyngeal mucositis: a review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2002;94(1):39-44.
98. Dreizen S, McCredie KB, Bodey GP, Keating MJ. Quantitative analysis of the oral complications of antileukemia chemotherapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1986;62(6):650-3.
99. Treister NS, Woo SB, O'Holleran EW, Lehmann LE, Parsons SK, Guinan EC. Oral chronic graft-versus-host disease in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005;11(9):721-31.
100. Epstein JB, Schubert MM. Oral mucositis in myelosuppressive cancer therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999;88(3):273-6.
101. Levine JE, Logan BR, Wu J, Alousi AM, Bolanos-Meade J, Ferrara JL, et al. Acute graft-versus-host disease biomarkers measured during therapy can predict treatment outcomes: a Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network study. *Blood*. 2012;119(16):3854-60.
102. Fujimaki K, Maruta A, Yoshida M, Kodama F, Matsuzaki M, Fujisawa S, et al. Immune reconstitution assessed during five years after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2001;27(12):1275-81.

9. Tabellarischer Lebenslauf

Seit Februar 2023 Zahnärztin in Vorbereitungszeit bei der Medi+ Praxisklinik in Mainz Bretzenheim

März 2023 Ehrenamtlicher Hilfseinsatz mit Zahnärzte ohne Grenzen (DWLF) in Sambia, Afrika

Ausbildung

Oktober 2016 – November 2021 Studium der Zahnmedizin und Approbation an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

Abschluss: Staatsexamen

September 2007 - März 2016 Allgemeine Hochschulreife am Theresianum Gymnasium Mainz

September 2011 - Juni 2012 Schulisches Auslandsjahr Pembroke School Adelaide, Australien

Nebentätigkeiten

November 2019 - Juli 2021 Hilfswissenschaftlerin in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Universitätsmedizin Mainz

April 2018 - Juli 2018 Hilfswissenschaftlerin im Institut für mikroskopische Anatomie und Neurobiologie JGU Mainz

Praktika

Mai 2016 Zahnärztliche Assistenz bei Praxis Dr. med. dent. Henkel-Gutjahr, Mainz

Dezember 2013 Soziales Pflegepraktikum in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der Universitätsmedizin Mainz