

Aus der Fakultät für Medizin der Universität Regensburg

Prof. Dr. Ernst Holler

Hämatologie und internistische Onkologie

Der Einfluss der akuten Darm-GvHD sowie sechs verschiedener direkt und indirekt
Mikrobiom-assoziiierter Parameter auf die Rezidivrate nach allogener
Stammzelltransplantation

Inaugural – Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fakultät für Medizin der Universität Regensburg

vorgelegt von

Sara Florschütz

2026

Aus der Fakultät für Medizin der Universität Regensburg

Prof. Dr. Ernst Holler

Hämatologie und internistische Onkologie

Der Einfluss der akuten Darm-GvHD sowie sechs verschiedener direkt und indirekt
Mikrobiom-assoziiierter Parameter auf die Rezidivrate nach allogener
Stammzelltransplantation

Inaugural – Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Fakultät für Medizin der Universität Regensburg

vorgelegt von

Sara Florschütz

2026

Dekan: Prof. Dr. Dirk Hellwig

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

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. André Gessner

Tag der mündlichen Prüfung: 13.07.2026

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung.....	6
1.1	Die Allogene Stammzelltransplantation.....	6
1.1.1	Definition.....	6
1.1.2	Ablauf der allogenen Stammzelltransplantation.....	6
1.1.3	Graft-versus-Host-Disease.....	8
1.1.4	Akute GvHD.....	9
1.1.5	Pathophysiologie der Chronischen GvHD.....	11
1.2	Rezidive.....	13
1.2.1	Definition und Diagnostik.....	13
1.2.2	Pathophysiologie.....	13
1.2.3	Abgeschwächter GvL-Effekt durch Toleranzausbildung des Immunsystems.....	13
1.2.4	Geringere immunologischen Kontrolle bei extramedullären Rezidiven.....	14
1.2.5	Veränderte HLA-Allele auf Tumorzellen als Auslöser für Rezidive.....	14
1.2.6	Einflussfaktoren auf das Rezidivrisiko bzw. den GvL-Effekt.....	14
1.2.7	Prognose und Therapie.....	16
1.3	Darmmikrobiom.....	17
1.3.1	Definition.....	17
1.3.2	Interaktion zwischen Mikrobiom und Host.....	18
1.3.3	Darm-Epithel.....	18
1.3.4	Paneth-Zellen und Reg-3-a.....	19
1.3.5	Wechselwirkung zwischen Immunsystem und Mikrobiom.....	20
1.3.6	UIS als neuer Mikrobiom-Parameter.....	20
1.3.7	Clostridium Cluster XIVa.....	21
1.3.8	Darmmikrobiom und allogene Stammzelltransplantation.....	22
1.4	Zielsetzung der vorliegenden Arbeit.....	25
2	Material und Methoden.....	26
2.1	Das Patient:innenkollektiv.....	26
2.2	Methoden zur Gewinnung und Auswertung der Mikrobiomparameter.....	29
2.3	Statistische Methoden.....	30
3	Auswertung und Ergebnisse.....	31
3.1	Outcome.....	31

3.1.1	Akute und chronische GvHD.....	31
3.1.2	TRM, Rezidive und Überleben.....	34
3.2	Ergebnisse der wichtigsten Mikrobiom-assoziierten Parameter und Festlegung der Auswertestrategie.....	38
3.2.1	Urinary 3-Indoxyl-Sulfat-Spiegel.....	38
3.2.2	Simpson-Diversitäts-Index.....	38
3.2.3	Clostridium Cluster XIVa.....	38
3.2.4	Antibiotika-Einsatz im Rahmen der Neutropenie.....	39
3.2.5	Darmdekontamination.....	39
3.2.6	Reg-3 α -Spiegel im Patient:innenserum.....	39
3.3	Kaplan-Meier-Analyse bzgl. des Auftretens eines rezidivs.....	41
3.3.1	Grunderkrankung.....	41
3.3.2	Erkrankungsstadium.....	42
3.3.3	DLIs.....	42
3.3.4	Akute Darm-GvHD.....	44
3.3.5	Chronische GvHD.....	46
3.3.6	Antibiotika-Risikogruppen.....	47
3.3.7	Darmdekontamination.....	48
3.3.8	Simpson-Index.....	49
3.3.9	UIS-Spiegel.....	50
3.3.10	Reg-3- α	51
3.3.11	Clostridium Cluster XIVa.....	52
3.4	Cox-Regression.....	53
4	Diskussion.....	55
4.1	Patientenkollektiv.....	55
4.2	Inzidenz der akuten und chronischen GvHD.....	55
4.3	Outcome.....	56
4.4	Einordnung von Ergebnissen, die im Widerspruch zur aktuellen Studienlage stehen.....	57
4.4.1	DLI-Einsatz.....	57
4.4.2	Allgemeine akute GvHD.....	58
4.4.3	Konditionierung.....	58
4.5	Diskussion der mittels Cox-Regression ermittelten unabhängigen Risikofaktoren für Rezidive.....	59
4.5.1	Nicht-myeloische Grunderkrankung.....	59

4.5.2	Stadium.....	59
4.5.3	Chronische GvHD.....	60
4.6	Diskussion der Ergebnisse zur Darm-GvHD.....	61
4.6.1	Chronische intestinale Entzündung beeinträchtigt Ausbildung des GvL-Effekts.....	61
4.6.2	Darm-GvHD-bedingte Schädigung des Mikrobioms und Auswirkung auf GvL-Effekt...	62
4.6.3	Mikrobiom und GvHD.....	62
4.6.4	GvL-Effekt durch Molekulares Mimikry, Antigen-Kreuzreaktion und Immunsystem-Modulation.....	63
4.6.5	Bakterien mit direktem protektivem Effekt hinsichtlich Rezidiven.....	65
4.6.6	Schlussfolgerungen zum möglichen positiven Zusammenhang zwischen akuter Darm-GvHD und Rezidiven mittels 'Bindeglied' Mikrobiom.....	66
4.6.7	Möglicher Zusammenhang zwischen akuter Darm-GvHD, chronischer GvHD und Rezidiven	66
4.6.8	Möglicher protektiver Effekt der akuten Darm-GvHD in Bezug auf Rezidive.....	67
4.7	Kritische Beurteilung der direkten und indirekten Mikrobiom-Parameter.....	68
4.7.1	Reg-3- α -Spiegel.....	68
4.7.2	Simpson-Index als Diversitäts-Marker.....	69
4.7.3	UIS-Spiegel.....	71
4.7.4	Clostridium Cluster XIV.....	72
4.7.5	Systemische Darmdekontamination vs. Rifaximin-Einsatz.....	73
4.7.6	Risikogruppen bezüglich des Antibiotika-Timings.....	74
4.8	Einschränkungen der vorliegenden Arbeit.....	75
4.8.1	Allgemeine Einschränkungen hinsichtlich des Studiendesigns.....	75
4.8.2	Schwächen in der Analyse des Darm-Mikrobioms.....	75
5	Zusammenfassung.....	79
6	Literatur.....	82
7	Danksagung.....	95

1 EINLEITUNG

1.1 DIE ALLOGENE STAMMZELLTRANSPLANTATION

1.1.1 Definition

Die allogene Stammzelltransplantation (alloSZT) ist ein Therapieverfahren in der Hämatookologie, welches bei schweren hämato- und lymphopoetischen Erkrankungen zum Einsatz kommt, die nicht mehr auf Standard-Chemotherapien oder eine autologe Stammzelltransplantation ansprechen (1). Häufig ist sie hier die einzige Therapieoption, mit der noch eine vollständige Remission erreicht werden kann. Die Indikation zur alloSZT wird unter Berücksichtigung verschiedener Faktoren wie „Spenderverfügbarkeit (...), Risiko der Grunderkrankung (...), vorhandene Begleiterkrankungen und Patientenwunsch“ (2) gestellt. Sie kann bei unterschiedlichen Stadien akuter und chronischer Leukämien, bei myelodysplastischen Syndromen, B- und T-Zell-Neoplasien sowie auch nicht-malignen hämatopoetischen Insuffizienzen gestellt werden (3). Weltweit am häufigsten kommt die alloSZT bei Leukämien, insbesondere der akuten myeloischen Leukämie (AML), zum Einsatz. Bei letzterer ist der Therapieanspruch häufig kurativ (4, 5).

Die alloSZT umfasst zwei unterschiedliche Behandlungsansätze, welche gemeinsam kombiniert einen starken antileukämischen Effekt entfalten können (Graft versus Leukämie-Effekt, GvL-Effekt). Die einzelnen Schritte der alloSZT werden im Folgenden noch näher dargestellt.

1.1.2 Ablauf der allogenen Stammzelltransplantation

1.1.2.1 Konditionierung

Vor der eigentlichen Stammzelltransplantation erfolgt zunächst eine Konditionierung mittels Chemotherapie und ggf. Bestrahlung. So soll bereits vor der Transplantation eine möglichst große Reduktion der Tumorlast erreicht werden. Gleichzeitig soll auch das körpereigene Immunsystem durch die toxischen Effekte der Konditionierung unterdrückt werden, sodass ein erfolgreiches Engraftment der fremden Spenderzellen möglich wird. Auch soll die so erreichte „Myeloablation (...) „Platz““ (6) für die Spenderzellen schaffen.

Das Konditionierungsverfahren bei alloSZT lässt sich grob in zwei Formen unterteilen. Als Standardverfahren gilt die myeloablativ Konditionierung (MAC) mittels hochdosiertem

Cyclophosphamid, welches mit Busulfan oder einer fraktionierten Ganzkörperbestrahlung kombiniert wird. Als Cyclophosphamid-Alternative kann auch Fludarabin eingesetzt werden. Die Konditionierung kann daneben auch in reduzierter Intensität erfolgen (RIC). Bestrahlungs- und Chemotherapie-Dosis können hier individuell variieren, sollen im Vergleich zur standardmäßig eingesetzten MAC allerdings um mindestens ein Drittel verringert sein (6). Dieses Verfahren bietet eine geringere Hämatotoxizität, soll dadurch schonender sein und deshalb insbesondere bei älteren, weniger belastbaren Patient:innen zum Einsatz kommen (2). Vergleiche zwischen Überlebensraten bei RIC und MAC zeigten bisher keine signifikanten Unterschiede, allerdings zeichnete sich ab, dass eine RIC-Anwendung das Rezidiv-Risiko erhöhen kann. Cyclophosphamid kann außerdem mit dem Mikrobiom wechselwirken, was wiederum Auswirkungen auf den GvL-Effekt haben könnte (7, 8). Diese Beobachtungen werden im Diskussionsteil nochmals aufgegriffen.

Außerdem wird der wesentliche antileukämische Effekt bei der alloSZT wohl nicht durch die Myeloablation selbst, sondern vielmehr durch die Spender-T-Zellen erzielt. Eine hochdosierte Konditionierung ist also für die Entwicklung des GvL-Effekts nicht unabdingbar (6).

1.1.2.2 Stammzellquellen und Spender-Eigenschaften

Die Stammzellen des Spenders können aus dem Knochenmark im Beckenkamm, dem peripheren Blut nach GCSF-Stimulation oder, in seltenen Fällen, aus Nabelschnurblut gewonnen werden. Um zu gewährleisten, dass die Stammzellen vom Empfänger toleriert werden, kommen als Spender nur Personen in Frage, deren Zellen möglichst ähnliche Oberflächenmerkmale zu denen des Empfängers aufweisen. Festgelegt wird dies durch die vorhandenen Human Leukozyte Antigens (HLA). Angestrebt wird ein Match der Typen HLA-A, -B, -C, -DRB1 und -DRQ1, darüber hinaus werden ggf. auch Kriterien wie „Geschlechterkonstellation (...) [,] Spenderalter (...) [, und] CMV-Konstellation“ (9) miteinbezogen. In der Regel stellt ein HLA-identisches Familienmitglied den Spender der ersten Wahl dar. Falls im Familienkreis keine HLA-Übereinstimmung gefunden wird, kommen auch unverwandte Spender mit einem HLA-Match von mindestens 9 von 10 in Frage. Alternativ können auch Zellen einer verwandten, haploidenten Person, einer unverwandten Person mit einem 8-von-10-HLA-Match oder Zellen aus Nabelschnur-Blut eingesetzt werden. Nachteile von Stammzellen unverwandter Spender sind allerdings ein erhöhtes Risiko für ein insuffizientes Engraftment, eine akute GvHD, Immunsuppressions-bedingte Infektionen und insgesamt eine höhere Gesamtmortalität (9, 10). Die Rezidivrate hingegen scheint bei

unverwandten Spenden bzw. HLA-Mismatch geringer zu sein, was im Rezidiv-Kapitel nochmals genauer behandelt wird (10) .

1.1.2.3 Transplantation und GvL-Effekt

Die Spender-Zellen werden nach stattgefundener Konditionierung infundiert. Ziel ist das „Engraftment“, also ein erfolgreiches „Anwachsen“ des Transplantats und eine langfristige Etablierung des neuen Immunsystems im Körper. Zudem sollen die neuen Immunzellen einen Graft-versus-Leukämie-Effekt ausbilden, sodass restliche, der Konditionierung entgangene Tumorzellen erfolgreich eliminiert werden können. Eine Schlüsselrolle hinsichtlich des GvL-Effekts spielen dabei die T-Lymphozyten des Grafts. Dies wurde deutlich, als ab den 80er Jahren T-Zell-depletierte Grafts zum Einsatz kamen. Diese senkten zwar wie erhofft das Risiko von TRM und GvHD, führten langfristig aber zu einer starken Zunahme an Rezidiven, weshalb sich die T-Zell-Depletion als Standardmethode letztlich nicht durchsetzte (11) .

Die größte Beteiligung am GvL-Effekt haben neben den T-Lymphozyten die Natürlichen Killer-Zellen, welche nach einer alloSZT möglicherweise die ersten Immunzellen sind, die einen GvL-Effekt ausbilden. Daneben spielen auch B- und dendritische Zellen eine Rolle (12–14) . Auch das Mikrobiom scheint am GvL-Effekt beteiligt zu sein, was später noch ausführlicher dargestellt wird.

1.1.3 Graft-versus-Host-Disease

1.1.3.1 Definition

Richten sich die Spender-Zellen jedoch nicht nur gegen die Tumor-, sondern auch gutartige körpereigene Zellen, spricht man von der ‘Graft-versus-Host-Disease’ (GvHD). Sie kann sich an Körperstellen wie Haut, Augen, Leber und Gastrointestinaltrakt manifestieren und ist eine potentiell schwerwiegende Komplikation der alloSZT: Neben dem Rezidiv ist sie die zweithäufigste Todesursache bei einer alloSZT (15) .

Die Einteilung der GvHD erfolgt in die Kategorien ‘akut’ und ‘chronisch’ (Manifestation bis 100 Tage postTx vs. Auftreten ab Tag 100 postTx). Diese Klassifikation wird allerdings zunehmend als zu ungenau kritisiert, weshalb sie um die Kategorie der ‘verspäteten akuten’ (delayed acute) GvHD ergänzt wurde. Zu einer verspäteten, aber noch akuten GvHD kann es bspw. unter dem Einsatz von DLIs und einer RIC kommen. Diese Therapieregime können die Manifestation einer akuten GvHD-Reaktion zeitlich zunächst hinauszögern, sodass diese auch erst nach den ersten 100 Tagen postTx auftreten kann (15) .

Bezüglich der Inzidenz der aGvHD variieren die Literaturangaben stark, da sich die Patientenkollektive der dazu vorhandenen Studien häufig in Faktoren wie Grunderkrankung, Spender-Art und Mismatch-Ausprägung sowie der gewählten GvHD-Prophylaxe unterscheiden, was sich wiederum unterschiedlich auf die aGvHD-Inzidenz auswirkt (16). Die DAG-KBT-Leitlinie nennt einen Inzidenzbereich von „30 - 60%“ (17).

1.1.3.2 Darm-GvHD

Für die vorliegende Arbeit ist insbesondere die Darm-GvHD von Interesse, weshalb im Folgenden noch näher auf diese eingegangen wird.

Zu einer Darmbeteiligung kommt es bei etwa der Hälfte aller Patienten mit GvHD (18). Klinisch kann sich die Darm-GvHD in Übelkeit und Erbrechen, wässrig-grünlichen, ggf. auch blutigen Durchfällen, Bauchschmerzen oder sogar als Ileus äußern (16, 19). Das histologische Korrelat dieser Symptome sind Apoptosen im Epithel bis hin zu Epithelablösungen. Diese treten hauptsächlich im Bereich der Kryptenbasis auf, Zielstruktur sind hier epitheliale Stammzellen (20). Diese Stammzellen tragen maßgeblich zur Darmregeneration nach den teils sehr aggressiven alloSZT-Regimen und ggf. vorhandener Darm-GvHD bei. Werden die Stammzellen im Rahmen der Darm-GvHD geschädigt oder über verschiedene Mechanismen letztlich apoptotisch, kann dies die Darmregeneration verzögern und eine bereits bestehende GvHD wiederum im Sinne eines Teufelskreises verstärken (21, 22).

1.1.4 Akute GvHD

1.1.4.1 Pathophysiologie der akuten GvHD

Die aGvHD kann in drei Phasen eingeteilt werden und beginnt mit der afferenten Phase. In dieser werden Antigen-präsentierende Zellen (APCs) des Empfängers und teilweise auch des Spenders durch eine überschießende Entzündungsreaktion aktiviert (23). Interessanterweise überleben viele der Empfänger-APCs eine myeloablative Konditionierung und finden sich nach alloSZT insbesondere in der Darmmukosa wieder (12, 24).

Eine solche überschießende Entzündung kann entstehen, wenn das Empfänger-Gewebe im Rahmen der bestehenden Erkrankung, durch Konditionierung oder Infektionen geschädigt wird. Infolgedessen kommt es zur Aktivierung der angeborenen und erworbenen Achse des Immunsystems, was wiederum zur Präsentation von Allo-Antigenen insbesondere durch Empfänger-APCs führt. Darauf folgt die zweite Phase der aGvHD, auch efferente Phase

genannt. Hier werden die präsentierten Allo-Antigene von Spender-T-Zellen erkannt. Die Spender-T-Zellen werden geprimed, aktiviert und proliferieren, was wiederum zu einer Verstärkung der bereits bestehenden Entzündungsreaktion führt. Im Verlauf dieser Reaktion kann es dann zu einer weiteren Eskalation dieser Entzündung kommen, insbesondere verursacht durch zytotoxische Spender-T-Zellen, natürliche Killerzellen und verschiedene lösliche Entzündungsmediatoren wie Interferon- γ . Letzteres stimuliert wiederum Makrophagen und Monozyten und führt zur Freisetzung weiterer Zytokine wie TNF- α und Interleukin-1. Auf diese Weise können ausgedehnte Schäden am Empfänger-Gewebe entstehen. Dieser Vorgang kennzeichnet die letzte Phase der aGvHD, die sogenannte Effektorphase (19) .

Die akute GvHD wird mithilfe des von Thomas ergänzten Glucksberg-Scores in die Schweregrade 0 bis 4 unterteilt (25–27) . Der Glucksberg-Score berücksichtigt die Schwere und Anzahl der Organmanifestationen im Rahmen einer aGvHD sowie den vorliegenden Karnofsky-Index. Er ist hinsichtlich der Prognose des frühen Überlebens nach alloSZT dem später entwickelten IBMTR-Score überlegen und ist in Tabelle 3 dargestellt.

Gesamtschweregrad der akuten GvHD	Grad der aGvHD je nach betroffenem Organ			Karnofsky-Index
	Darm	Leber	Haut	
0	0	0	0	100 %
Grad I	0	0	1 – 2	80 %
	0 - 1	0 – 1	0	
Grad II	1	0 – 1	0	70
	0-1	1	1 – 3	
	0	0	3	
Grad III	2 - 3	2 – 3	2 – 3	60
Grad IV	2 - 4	2 - 4	2 - 4	40 - 50

Tabelle 1: Einteilung des Schweregrades der akuten GvHD in Abhängigkeit von der Beteiligung verschiedener Organsysteme

1.1.4.2 Risikofaktoren der akuten GvHD

Zu den möglichen Risikofaktoren einer aGvHD zählen einerseits fortgeschrittenes Alter und unterschiedliches Geschlecht von Spender und Empfänger, eine ineffektive GvHD-Prophylaxe und eine hohe Konditionierungsintensität vor Tx (15) .

Außerdem besteht eine direkte Korrelation zwischen aGvHD und HLA-Inkompatibilität: Je größer das HLA-Mismatch, desto wahrscheinlicher ist eine aGvHD. (19) . Ähnlich verhält es sich mit Minor-Histokompatibilitäts-Antigenen (HA). Diese werden von zahlreichen Zellreihen exprimiert, fließen allerdings nicht in die Spender- bzw. Empfängertypisierung ein, da sie sich außerhalb der HLA-Loci befinden. Ein Mismatch auf Ebene der Minor-Histokompatibilitäts-Antigene kann die Spender-T-Zell-Aktivität jedoch ebenfalls erhöhen. Dies erklärt, warum es trotz HLA-identischer Spenden dennoch fast in 50% der Fälle zur Entwicklung einer aGvHD kommt. Je nach HA-Typ kann ein Mismatch allerdings nicht nur die GvHD verstärken, sondern auch einen besseren GvL-Effekt hervorrufen (19) .

1.1.5 Pathophysiologie der Chronischen GvHD

Die cGvHD kann in Abhängigkeit von ihrer Manifestationsdauer unterschiedliche Pathomechanismen aufweisen, welche im nächsten Absatz thematisiert werden. Im Allgemeinen lässt sich die chronische GvHD jedoch ähnlich wie die akute GvHD in drei Phasen einteilen: Zu Beginn kommt es zu einer Gewebeverletzung und -entzündung. Diese chronifiziert im weiteren Verlauf, führt zu einer zunehmend dysregulierten Immunantwort und endet häufig in einer Fibrosierung des betroffenen Gewebes, welche wohl aus einem für die cGvHD charakteristischen Kapillar-Verlust resultiert (28) .

Die cGvHD kann einerseits eine alloreaktive Komponente aufweisen, an welcher verschiedene Zelltypen beteiligt sein können: So können alloreaktive Antikörper und T-Zell aktivierende APCs eine chronische GvHD begünstigen, darüber hinaus kann es aber auch zu einem relativen Überschuss von Effektor-Zellen gegenüber regulatorischen Zellen kommen. Zu den Effektor-Zellen gehören bspw. Th1-, Th17- und aktivierte B-Zellen, zu den Zellen mit regulatorischer Wirkung u.a. T-, B- und NK-Zellen. Ein Ungleichgewicht zwischen Effektor- und regulatorischen T-Zellpopulationen kann besonders innerhalb der ersten drei Monate nach alloSZT entstehen. In dieser Zeit findet die frühe Regeneration verschiedener T-Zell-Typen statt. Diese kann durch verschiedene Faktoren gestört werden: So kann z.B. eine GvHD-bedingte Thymusschädigung fälschlicherweise zur Ausreifung von T-Zellen führen, welche

sich gegen das Host-Gewebe richten, und im gleichen Zug die Ausschüttung funktionsfähiger T-Zellen verringern. Die Effektor-T-Zellen werden auf diese Weise zum dominierenden T-Zell-Typ und führen zu einer erhöhten Entzündungsaktivität im Empfänger-Gewebe. Das Immunsystem des Spenders kann somit langfristig keine Toleranz gegenüber dem Host-Gewebes aufbauen, sondern bekämpft es stattdessen chronisch (28, 29) .

Neben dem alloreaktiven kann auch ein autoreaktives Geschehen zur Entwicklung einer cGvHD beitragen: Hier bekämpfen Spender-Immunzellen z.B. die im Transplantat enthaltenen Thrombo- und Erythrozyten und halten so ebenfalls eine chronische Entzündung aufrecht (28) .

Zur Beurteilung der chronischen GvHD wurden in der vorliegenden Arbeit die Kriterien des NIH-Konsensus aus dem Jahr 2014 verwendet, welche die cGvHD in die Stadien 0 bis 3 einteilen. Sie beziehen sich, ähnlich wie der Karnofsky-Index, auf Anzahl und Schwere der Organmanifestationen.

Gesamtgrad der chronischen GvHD	Zahl und Grad der beteiligten Organe			
	Darm	Leber	Haut	Lunge
Mild	maximal 2 Organe mit je max. Grad 1			immer Grad 0
Moderat	mind. 3 Organe mit je max. Grad 1			
	mind. 1 Organ mit Grad 2			immer Grad 0
	beliebig			Grad 1
Schwer	mind. 1 Organ mit Grad 3			
	beliebig			Grad 2 oder 3

Tabelle 2: Einteilung der Schweregrade der chronischen GvHD anhand der Organsystem-Beteiligung

1.2 REZIDIVE

1.2.1 Definition und Diagnostik

Ein Rezidiv ist definiert als "erneute(r) Krankheitsnachweis, nachdem zuvor eine komplette Remission erreicht wurde" (30) . Es ist die häufigste Ursache für das Versagen einer alloSZT und manifestiert sich je nach Grunderkrankung bei „10% und 50%“ (30) der Patient:innen. Kommt es zu einem Rezidiv, bedeutet dies im Umkehrschluss, dass in der Phase nach der alloSZT kein ausreichend wirksamer GvL-Effekt aufgebaut werden konnte. Um einschätzen zu können, wie stark die Wirksamkeit des GvL-Effektes nach einer alloSZT ist, können bei bestimmten Erkrankungen molekulare Marker eingesetzt werden, die eine Differenzierung zwischen einer molekularen und hämatologischen Remission ermöglichen. Ebenso ist es möglich, im Falle eines Rezidivs zwischen einer molekularen und hämatologischen Form zu unterscheiden. Auf molekularer Ebene kann ein Rezidiv bereits in einem frühen Stadium detektiert werden, klinische Hinweise können in dieser Phase noch vollständig fehlen. Deshalb ist diese Art der Diagnostik mit einer besseren Prognose verbunden als die klinische (30) . Die vorliegende Arbeit bezieht sich nur auf Rezidive, die sich hämatologisch manifestieren.

1.2.2 Pathophysiologie

Der folgende Absatz fasst die bisherigen Theorien und Erkenntnisse zur Pathophysiologie von Rezidiven kurz zusammen. Insgesamt gibt es erst wenige Studien zu diesem Thema und darüber hinaus seien laut Barrett et al. die Patient:innenkollektive der entsprechenden Arbeiten häufig noch sehr klein, was die Aussagekraft der Studien deutlich schwächere (31) .

1.2.3 Abgeschwächter GvL-Effekt durch Toleranzausbildung des Immunsystems

Je effektiver die Wiederherstellung des Immunsystems nach alloSZT, desto stärker ausgeprägt ist der GvL-Effekt. Allerdings scheint dieser mit der Zeit wieder abzunehmen: Während das Immunsystem in der frühen Phase nach alloSZT eine sehr hohe Alloreaktivität und somit auch GvL-Aktivität aufweist, kommt es im Verlauf zu einer höheren Toleranz gegenüber dem Empfängerewebe. Diese Entwicklung ist zwar einerseits erwünscht, da sich sonst eine chronische GvHD ausbilden würde, andererseits könnte sie aber auch zu einer Abnahme des GvL-Effekts führen. Zudem steigt die Zahl regulatorischer T-Zellen (Tregs) in der Phase der Immunrekonstitution wieder an, was sich ebenfalls negativ auf den GvL-Effekt auswirken könnte: So konnte beobachtet werden, dass Stammzellspenden mit einer besonders großen Menge an Tregs eine schwächere GvL-Aktivität induzierten. Dies liegt möglicherweise daran,

dass Tregs die GvHD abschwächen können und somit auch die GvHD-bedingte Induktion einer ausreichenden GvL-Aktivität reduziert wird (31) .

1.2.4 Geringere immunologischen Kontrolle bei extramedullären Rezidiven

Rezidive manifestieren sich nicht ausschließlich im Knochenmark, sondern können auch extramedullär auftreten. Häufig befindet sich das Knochenmark bei einem extramedullären Rezidiv sogar noch in vollständiger Remission. Ursache hierfür könnte sein, dass extramedulläre Tumoren schwerer von antileukämischen T-Zellen erreicht und kontrolliert werden können als das Knochenmark selbst (31, 32) .

1.2.5 Veränderte HLA-Allele auf Tumorzellen als Auslöser für Rezidive

Ein weiterer Mechanismus der Rezidiventstehung könnte darin bestehen, dass sich Tumorzellen aktiv der Kontrolle durch das Immunsystem entziehen. Dieser Mechanismus wird nicht nur im Rahmen der Rezidiventwicklung, sondern auch hinsichtlich der Entstehung von Primärtumoren im Allgemeinen diskutiert (33) . Immunzellen detektieren Tumorzellen anhand deren typischer Oberflächenmoleküle. Verlieren die Tumorzellen diejenigen HLA-Allele, welche zur phänotypischen Ausprägung ihrer charakteristischen Oberflächenmerkmale führen, könnten sie der Kontrolle durch das Immunsystem entgehen. Dies konnte bereits in unterschiedlichen Studien mit je geringer Probandenzahl beobachtet werden (34–38) . Für die Mutation der HLA-Allele gibt es mehrere Theorien: Einerseits könnte die Veränderung der HLA-Allele durch aktive Selektion begünstigt werden. Die Eliminierung von Tumorzellen durch das Immunsystem würde hierbei als äußerer Selektionsdruck fungieren, Zellen mit veränderten HLA-Allelen und folglich anderen Oberflächenmarkern hätten einen Überlebensvorteil. Andererseits könnte die Mutation der HLA-Allele spontan und ohne jeglichen Selektionsdruck entstehen. Auf makroskopischer Ebene lässt sich die Theorie der aktiven Selektion nicht bestätigen, es ist jedoch nicht auszuschließen, dass diese auf zellulärer Ebene greift (33) .

1.2.6 Einflussfaktoren auf das Rezidivrisiko bzw. den GvL-Effekt

1.2.6.1 Grunderkrankung und Stadium

Grunderkrankung und Erkrankungsstadium bei alloSZT sind eng miteinander verbunden, da ihre Kombination häufig über die Indikation der alloSZT entscheidet. Beide Faktoren beeinflussen das Rezidivrisiko: Ein niedriges Risiko von max. 20% weisen beispielsweise niedrig maligne Krankheitsbilder wie die chronische Phase der CML und das Niedrigrisiko-

MDS auf. Steigt die Menge an Tumorzellen und somit der Erkrankungsgrad, so steigt auch die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs (31) .

1.2.6.2 Konditionierung

Auch das Konditionierungsverfahren beeinflusst die Rezidivrate. Eine Metaanalyse zu Langzeitfolgen von MAC und RIC konnte zwar keine signifikanten Unterschiede im 6-Jahres-Überleben feststellen, zeigte allerdings, dass eine RIC-Behandlung häufiger mit Rezidiven assoziiert war (39) . Scott et al. bestätigten diese Beobachtung. Bei stabilen Patient:innen sollte somit die intensivere MAC das Konditionierungsregimen der ersten Wahl darstellen (40) .

1.2.6.3 Eigenschaften von Spender und Transplantat

Das Rezidivrisiko hängt auch von der Kompatibilität von Spender- und Empfängerzellen ab. Dabei scheinen für Erkrankungen wie die AML, ALL und CML verschiedene Formen von HLA-Mismatches vor Rezidiven zu schützen (10, 41, 42) . Bei HLA-identen Spenden kann das individuelle Rezidivrisiko mithilfe der absoluten Lymphozytenzahl eingeschätzt werden. Je höher die Lymphozytenmenge 30 Tage nach alloSZT, desto günstiger die Prognose (43) . Auch wenn der Grad des HLA-Matches mit der GvHD zusammenhängt - je größer das HLA-Mismatch, desto höher ist auch das GvHD-Risiko – ist der schützende Effekt von Grafts mit HLA-Mismatch wohl unabhängig von dieser Verbindung (31, 42) . Louiseau et al. betonen allerdings, dass der Vorteil der geringeren Rezidivrate bei HLA-Mismatch nicht den Nachteil der höheren Gesamtmortalität aufwiegt, die wiederum durch eine stärkere GvHD bedingt ist (10) .

Mit einem niedrigen Rezidivrisiko ist zudem eine unverwandter Spender und ein niedriges Empfängeralter assoziiert (31, 41, 44) . Außerdem kann ein gemischter Chimärismus ein Rezidiv provozieren (45) .

1.2.6.4 GvHD und GvHD-Prophylaxe

Eine GvHD kann zwar eine ernste Komplikation im Rahmen einer alloSZT darstellen, hat aber auch einen positiven Aspekt: Sie kann vor Rezidiven schützen, wie Weiden et al. bereits vor mehr als 40 Jahren feststellten. Sie beobachteten, dass die Entwicklung einer GvHD mit einer 2,5-fach geringeren Rezidivrate assoziiert ist als ein Verlauf ohne GvHD (46) . Horowitz et al. konnten diese Hypothese 20 Jahre später bestätigen: Sie wiesen nach, dass Patient:innen mit akuter, chronischer oder kombinierter GvHD weniger Rezidive entwickelten als Patient:innen

ohne jegliche GvHD-Manifestation. Der stärkste protektiven Effekt trat dabei bei der akuten GvHD auf, war aber abhängig von deren Grad (42) : So konnte eine milde Grad-2-aGvHD vor Rezidiven schützen, insbesondere, wenn die Inzidenz einer chronischen GvHD dabei niedrig war. Im Gegensatz dazu führte eine stärker ausgeprägte Grad-2-aGvHD und höhergradigere aGvHDs eher zu einer vermehrten Rezidiventwicklung. Der schützende Effekt der milden aGvHD hängt vermutlich damit zusammen, dass diese Ausdruck einer effektiven, aber nicht überschießenden und damit schädlichen Aktivität von Spender- gegen Empfänger-Zellen ist. Die Rezidivrate lässt sich auch durch die Wahl der GvHD-Prophylaxe beeinflussen. Weaver et al. berichteten bereits 1994 von einem erhöhten Rezidivrisiko bei der Kombination von CyclosporinA mit MTX, verglichen mit der Verabreichung von jeweils nur einer der beiden Substanzen (47) .

1.2.7 Prognose und Therapie

Die Prognose eines Rezidivs hängt einerseits von der Zeitspanne zwischen Transplantation und Rezidiv ab und ist besonders kritisch, wenn dieses innerhalb der ersten 6 Monate postTx auftritt. Prognostisch bedeutend sind außerdem Art und Grad der Grunderkrankung, die Lokalisation des Rezidivs sowie die Ausgangssituation bei der vorausgegangenen alloSZT (31) .

Zur Therapie des Rezidivs kann die Immunsuppression angepasst, eine weitere Chemotherapie begonnen oder Verfahren mit immunmodulatorischer Wirkung eingesetzt werden (30) . Zu letzteren gehören neben der Gabe von Antikörpern und Zytokinen auch der Einsatz von Donor-Lymphozyteninfusionen (DLIs). Da letztere auch in die Analyse der vorliegenden Arbeit miteinbezogen werden, soll im Folgenden noch kurz näher auf sie eingegangen werden:

Die DLI ist eine Methode der adaptiven Immuntherapie, bei der zunächst Spender-T-Zellen gewonnen und dem Empfänger nach erfolgter alloSZT transplantiert werden. Der Einsatz der DLIs kann im Bezug auf Rezidive „prophylaktisch, präemptiv oder therapeutisch“ (48) erfolgen, die angewendete Dosis unterscheidet sich dabei je nach Einsatzbereich (48) . Bei einer Vielzahl an hämatologischen Grunderkrankungen können DLIs speziell zur Rezidivprophylaxe eingesetzt werden. Eine besonders gute Wirksamkeit konnte insbesondere für maligne myeloische Erkrankungen gezeigt werden (30, 49) .

Weitere Faktoren, die die Wirksamkeit der DLI beeinflussen, sind Grunderkrankung, Geschlecht der Empfänger:innen, Transplantationsart und Dauer des rezidivfreien Intervalls. Außerdem wirken DLIs effektiver, wenn sie zum Zeitpunkt vollständiger Remission gegeben

werden, was die Bedeutung vorangehenden Behandlungen betont, die so indirekt Einfluss auf das Ansprechen auf DLIs haben. Kommen DLIs therapeutisch, also bei bereits vorhandenem Rezidiv, zum Einsatz, sind Zytogenetik, Tumorlast zum Diagnosezeitpunkt des Rezidivs und Länge des rezidivfreien Intervalls nach alloSZT wichtige Einflussfaktoren (48, 50) .

Eine häufige Nebenwirkung der DLIs ist die Entwicklung einer akuten oder chronischen GvHD. Diese weist die gleichen Mechanismen auf wie die GvHD nach alloSZT (51) : Auch die transfundierten Donor-Lymphozyten können eine starke Immunreaktion gegen Empfänger-eigenes Gewebe auslösen (52) .

1.3 DARMMIKROBIOM

1.3.1 Definition

Der Begriff 'Mikrobiom' umfasst alle Mikroorganismen, die gemeinsam einen bestimmten Bereich in oder auf dem menschlichen Körper besiedeln. Dazu gehören Bakterien, Pilze, Viren sowie weitere Pro- oder Eukaryonten, die enzymatisch aktiv sind. Die mikrobiellen Gemeinschaften innerhalb eines Bereichs bezeichnet man jeweils als 'Microbiota'. Auch die Gesamtheit der Gene, mit welchen die vorkommenden Organismen ausgestattet sind, kann zur Definition des Mikrobioms herangezogen werden (53, 54) . Laut einer Studie von Qin et al. mit über 120 Proband:innen scheint die Vielfalt der mikrobiellen Gene etwa 150 mal größer zu sein als die der menschlichen, 99% dieses Genmaterials stammen dabei von Bakterien (55) . Diese machen damit die deutlich häufigste Form von Mikroorganismen im menschlichen Körper aus. Die vorliegende Arbeit legt den Fokus ebenfalls auf den bakteriellen Anteil des Mikrobioms.

Aktuell erlebt die Erforschung des Mikrobims einen großen Boom. Dies liegt auch daran, dass neu entwickelte Technologien die Anzucht und Bestimmung vieler im Mikrobiom vorkommenden Bakterien vereinfachen oder sogar erst ermöglichen. Dennoch steckt die Erforschung des Mikrobioms noch in den Kinderschuhen und die technischen Möglichkeiten sind weiterhin eingeschränkt: Während in vitro etwa 20-40% der bekannten Bakterien angezüchtet werden können, sind Untersuchungen in vivo bisher sogar kaum möglich (56, 57) . Zudem gehören etwa 75% der Mikroorganismen bisher noch völlig unbekannten Arten an, sodass auch hier noch großer Forschungs- und Entwicklungsbedarf besteht, um die komplexen Zusammenhänge zwischen den einzelnen Mikrobiom-Mitgliedern und dem menschlichen Körper erfassen zu können (57) .

Die folgende Arbeit befasst sich insbesondere mit dem Mikrobiom des Darms. Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über bisherige Erkenntnisse zur Wechselwirkung zwischen dem Darmmikrobiom und Host gegeben werden.

1.3.2 Interaktion zwischen Mikrobiom und Host

Die Beziehung der Mikroorganismen zum Host kann mutualistischer, parasitärer oder kommensaler Natur sein. Außerdem ist sie vermutlich stark kontextabhängig: So können Ernährung, Erbanlage und Infektionsstatus des Hosts darüber entscheiden, ob sich ein bestimmtes Bakterium eher mutualistisch oder parasitär verhält. Auch das Immunsystem des Hosts interagiert stark mit dem Mikrobiom und kann einen entscheidenden Einfluss darauf haben, ob einzelne Mikroorganismen dem Menschen nutzen oder vielmehr Krankheiten begünstigen. Darauf soll später noch näher eingegangen werden. Dieser Überblick verdeutlicht bereits, dass die Interaktion zwischen Mikrobiom und Host multifaktoriell und komplex ist (58) .

Die vorliegende Arbeit untersucht frühe Störungen des Mikrobioms im Darm. Die im Darmlumen siedelnden Bakterien werden auch mit dem lateinischen Begriff 'Kommensale' bezeichnet, was mit 'gemeinsam am Tisch' übersetzt werden kann (59) . Dies ist bereits ein Hinweis auf die Funktion der Darmbakterien: Sie metabolisieren verschiedene Nahrungsbestandteile wie komplexe Zucker, Glykane, Mannose und Zellulose, und nutzen diese zur Energiegewinnung. Gleichzeitig können diese Substanzen erst im bakteriell metabolisierten Zustand vom Host aufgenommen werden, weshalb die Darmbakterien entscheidend zur Energiegewinnung des Hosts beitragen (55, 59) . Die Bakterien wiederum profitieren vom Host, indem sie mit dem Darm einen sehr geschützten Bereich bewohnen und verlässlich mit Nahrung versorgt werden (60) .

Um eine unkontrollierte lokale oder systemische Ausbreitung der Bakterien zu verhindern und die Symbiose aufrecht zu erhalten, nutzt der Host verschiedene Schutzmechanismen.

Diese werden kurz näher beschrieben, da sie auch für die vorliegende Arbeit von Bedeutung sind.

1.3.3 Darm-Epithel

Das Darm-Epithel ermöglicht eine physikalische Trennung von Host und Kommensalen. Dazu trägt auch die aufliegende Schleimschicht bei, die je nach Darmabschnitt unterschiedlich aufgebaut ist: Im Dünndarm besteht sie aus einer einzigen, stark am Epithel haftenden Lage, während sie im Kolon aus einer inneren, fest am Epithel fixierten und einer äußeren, locker

aufliegenden Schicht besteht (61). Beide Lagen enthalten MUC2, welches von den Becherzellen sezerniert wird und ein großes netzähnliches Polymer ausbildet. Die innere der beiden Schleimschichten ist sehr dicht und verhindert, dass Bakterien auf die unmittelbar angrenzende Epithelzell-Oberfläche gelangen und sich dort ausbreiten können (58).

Der überwiegende Teil der Darmbakterien befindet sich in der äußeren Schleimschicht. Das dort befindliche glykosylierte MUC2 dient den Mikroorganismen einerseits als Nahrung, andererseits als Anheftungsstelle und kann für bestimmte Arten als Selektionsfaktor wirken (62). Ein Verlust von MUC-2 kann eine Entzündung im Kolon begünstigen (63).

1.3.4 Paneth-Zellen und Reg-3-a

Neben der physikalischen Barriere, die beispielsweise durch Verletzungen der Schleimhaut insuffizient werden kann, verfügt der Darm auch über eine chemische Barriere. Diese wird insbesondere von den Paneth-Zellen gebildet (64, 65). Paneth-Zellen sezernieren bakterizide Peptide, sobald sie auf Gram-positive und -negative Bakterien bzw. deren Antigene treffen, wie im Mausmodell gezeigt werden konnte. Die Dosis der ausgeschütteten Peptide hängt dabei von der Menge der vorhandenen Bakterien ab (66).

Eines dieser Peptide ist Reg-3- α , welches für die vorliegende Arbeit von besonderem Interesse ist, da es durch das Darmepithel in den Systemkreislauf übertreten und somit im Patient:innenserum nachgewiesen werden kann.

Reg-3- α steht für 'Regenerating islet-derived protein 3 alpha', gehört zur Gruppe der C-Lectine und wird in verschiedenen Teilen des GI-Trakts produziert (67, 68). Bisher ist vor allem seine Interaktion mit L-Ornithin produzierenden *Lactobacilli* erforscht: Reg-3- α fördert möglicherweise deren Vermehrung und erhöht so den L-Ornithin-Gehalt im Darm. Dieses hat wiederum einen positiven Effekt auf epitheliale Stammzellen, kann die Darmbarriere stärken und die Wundheilung fördern (69, 70). Der Reg-3- α -Spiegel kann sich im Rahmen einer Darm-GvHD verändern: Bei einer Darm-GvHD werden Krypten und Mukosa geschädigt, was zu einer Schwächung der Darmbarriere und einem verstärkten Übertritt von Reg-3- α in den Systemkreislauf führt, sodass im Rahmen einer aGvHD erhöhte Reg-3- α -Serumspiegel gemessen werden können. Mittlerweile ist Reg-3- α in Kombination mit einem weiteren Biomarker (ST2) als GvHD-Biomarker anerkannt (69, 71–73).

1.3.5 Wechselwirkung zwischen Immunsystem und Mikrobiom

Eine wesentliche Rolle bei der Mikrobiom-Kontrolle spielt das Immunsystem. Dies wird z.B. daran deutlich, dass Immunzellen besonders in Bereichen präsent sind, die stark von Kommensalen besiedelt werden. Dazu gehören bspw. Haut und Darm. Bei keimfrei gezüchteten Säugetieren ohne jegliche bakterielle Besiedelung weisen die gleichen Körperstellen hingegen deutlich weniger Immunzellen und Lymphgewebe auf (74–76). Die Wechselwirkungen zwischen Immunsystem und Mikrobiom sind äußerst komplex und sollen im Folgenden nur in groben Zügen für den Darm als Interaktionsort dargestellt werden. Dringen Bakterien durch die oben beschriebenen Mukusschichten bis zur Lamina propria der Darmschleimhaut vor, können sie von den dort sitzenden Makrophagen abgefangen werden. Ihre Oberflächenantigene können zusätzlich von dendritischen Zellen (DCs) präsentiert werden, sodass eine umfangreiche Aktivierung des Immunsystems ausgelöst wird: Es kommt zur Proliferation von Ig-A produzierenden B-Zellen, Th-17-Zellen und regulatorischen T-Zellen (Tregs). Letztere können wiederum die Differenzierung weiterer Immunzellen dämpfen. (58, 75). Interessanterweise kann sich die Immunaktivität nicht nur gegen die einzelnen präsentierten Bakterien richten, sondern auch gegen andere Zellen mit ähnlichen Oberflächenmerkmalen. Dies kann für die Ausbildung des GvL-Effektes von großer Bedeutung sein und wird im Diskussionsteil noch näher erläutert (77).

1.3.6 UIS als neuer Mikrobiom-Parameter

1.3.6.1 Entstehung und Funktion

Ein neuer Parameter, der indirekt Hinweise auf den Zustand des Darm-Mikrobioms liefert, ist das Urinary 3-Indoxylsulfat (UIS). Es lässt sich aus dem Urin der Patient:innen gewinnen und ist das Endprodukt einer mehrschrittigen Metabolisierung der essenziellen Aminosäure Tryptophan. Ein Metabolisierungsschritt erfolgt dabei im Darm und ist abhängig von zahlreichen Gram-positiven und -negativen Bakterien, welche das im Nahrungsbrei befindliche Tryptophan zu Indol abbauen (78). Die Funktion von Indol ist noch nicht vollständig geklärt und konnte bisher nur bei wenigen Bakterienstämmen genauer untersucht werden (78). Bisherige Studien deuten aber daraufhin, dass Indol einen positiven Effekt auf die Symbiose von Darmmikrobiom und Host hat: Es wirkt unter anderem fungizid und antiinflammatorisch, stabilisiert die Zusammensetzung des vorherrschenden Darmmikrobioms und stärkt die Tight-Junctions der Epithelzellen (53, 78–81).

1.3.6.2 *UIS und GvHD*

Weber et al. konnten beobachten, dass die UIS-Spiegel postTx durch den Einsatz von Antibiotika beeinflusst werden konnten. Insbesondere systemisch wirkende Breitspektrumantibiotika führten zu einer Abnahme des UIS-Gehaltes im Urin. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die Abnahme von *Clostridiales* im Rahmen eines Antibiotika-Einsatzes. *Clostridiales* sind am Abbau von Tryptophan beteiligt; ist dieser verringert, wird auch weniger UIS ausgeschieden. Die Autor:innen schlussfolgern, dass UIS als ein möglicher Parameter für eine Mikrobiom-Störung und also Risikomarker für eine GvHD verwendet werden könnte (82). DeFilipp et al. machten kurze Zeit später eine ähnliche Beobachtung: Im Rahmen von Stuhl-Transplantationen nach alloSZT war die UIS-Konzentration ein zuverlässiger Marker für die mikrobielle Vielfalt im Darm (83).

1.3.7 *Clostridium Cluster XIVa*

1.3.7.1 *Definition und Einordnung*

Clostridium Cluster XIVa dient als weiterer direkter Mikrobiom-Parameter für die vorliegende Arbeit. Aktuell scheinen die meisten Mitglieder von der Familie der *Lachnospiraceae* zu stammen, Die Funktion und Besonderheit der *Lachnospiraceae* wird später noch genauer ausgeführt. Mehrere Studien konnten zeigen, dass *Clostridium Cluster XIVa* eine sehr häufig vertretene Bakteriengruppe im GI-Trakt ist und etwa 60% der in der Schleimschicht des Kolons lebenden Bakterien ausmacht sowie einen Anteil von 40-50% am gesamten Darmmikrobiom einnimmt (56, 84, 85). Besonders häufig im Kolon vertreten sind dabei die Arten *Roseburia intestinalis* und *Eubacterium rectale*, auf die später noch eingegangen wird (56).

1.3.7.2 *Clostridium Cluster XIVa als SCFA-Produzent*

Die Besonderheit vieler Mitglieder von *Clostridium Cluster XIVa* liegt darin, dass sie kurzkettige Fettsäuren (short chain fatty acids, SCFAs) produzieren können. SCFAs entstehen bei der bakteriellen Zersetzung Kohlenhydraten wie bspw. pflanzlichen Fasern, welche erst durch diesen Schritt für den Menschen verdaubar gemacht werden. (86). Ein wichtiger Vertreter der SCFAs ist Butyrat. Es wird insbesondere vom *Clostridium Cluster XIVa*-Vertreter *Roseburia intestinalis* hergestellt sowie von *Faecalibacterium prausnitzii*.

Butyrat ist einerseits Energielieferant für die Kolonozyten, andererseits hat es auch große immunologische Bedeutung (87, 88): Es wechselwirkt mit den im Darm befindlichen Immunzellen und wirkt dort antiinflammatorisch (62, 89–92). Möglicherweise kann es

darüber hinaus auch über die Darmbarriere hinweg in den Systemkreislauf gelangen und im restlichen Körper die Differenzierung von T-Zellen fördern.

Im Hinblick auf die alloSZT zeigt Butyrat eine signifikante Mengenabnahme ab Tag 7, welche laut Mathewson et al. über mindestens zwei weitere Wochen hinaus messbar ist.

Liegt eine Darm-GvHD vor, kann es zu einer GvHD-bedingten Schädigung des Kolonozyten-Transportsystems kommen. Die Kolonozyten werden so nicht mehr ausreichend mit Butyrat versorgt, was eine Destabilisierung der Epithelstruktur und eine erhöhte Anfälligkeit für weitere GvHD-bedingte Schäden zur Folge hat (93) .

1.3.8 Darmmikrobiom und allogene Stammzelltransplantation

1.3.8.1 Historisch systemische Darmdekontamination zur Unterdrückung von Mikroflora und Infektionen

Die Vorbereitung auf die alloSZT besteht wie oben genannt u.a. darin, die physiologische Abwehr im Körper zu unterdrücken oder ganz auszuschalten, sodass sich eine Toleranz gegenüber dem körperfremden Transplantat ausbilden kann. Dies hat allerdings den unerwünschten Nebeneffekt, dass sich das Infektionsrisiko erhöht. Insbesondere eine Neutropenie, bei der es zur Abnahme der neutrophilen Granulozyten unter einen kritischen Wert kommt, stellt den Hauptrisikofaktor für Infektionen bakterieller und mykotischer Genese dar (94) . Sie kann im Rahmen eines Zytostatika-Einsatzes oder einer Knochenmarksbestrahlung entstehen.

Abgesehen von der Beeinträchtigung der Immunzellfunktion kommt es durch die verschiedenen Konditionierungsverfahren auch zur Schädigung der natürlichen Haut- und Schleimhautbarriere, was das Risiko lokaler und systemischer Infektionen nochmals erhöht. Die Infektionsquelle kann dabei sowohl von exo- als auch endogen stammen. Dem Infektionsrisiko 'von außen' wird durch strenge Isolation und Hygieneregeln auf Station entgegen gewirkt (2) . Das endogene Infektionsrisiko geht im Gegensatz dazu von patienteneigenen Mikroorganismen „des Gastrointestinaltrakts, des Respirationstrakts, des Urogenitaltrakts und der Haut“ (2) aus, welche bei Immunsuppression Barrieren überwinden können, die zuvor unter immunologischer Kontrolle standen. So können Darmbakterien bspw. durch die Darmschleimhaut hindurch in den Körperkreislauf gelangen und eine Sepsis auslösen. Um dies zu verhindern, werden in manchen Fällen die im GI-Trakt siedelnden Bakterien mittels Darmdekontamination eliminiert.

Neben dem Effekt der Infektionsprophylaxe könnte die Darmdekontamination möglicherweise sogar protektive hinsichtlich einer GvHD wirken, wie bereits in Studien an keimfreien Mäusen in den 60er Jahren beobachtet werden konnte. Auf den Menschen übertragen scheint jedoch mehr die Infektionsprophylaxe im Vordergrund zu stehen (53, 95) .

1.3.8.2 Ciprofloxacin/Metronidazol

Zur Darmdekontamination können unterschiedliche Antibiotika verwendet werden, bis etwa vor 10 Jahren waren häufige Verfahren eine Kombination aus Colistin und Ciprofloxacin oder auch Ciprofloxacin und Metronidazol. Diese Regime weisen allerdings mehrere Nachteile auf, wie verschiedene Studien belegen. So kann Ciprofloxacin beispielsweise bis zu 30% des Darmmikrobioms hinsichtlich Vielfalt, absoluter Menge und relativer Verteilung verändern (96, 97) . Auch kommt es unter diesem Antibiotika-Regimen häufig zu Infektionen mit *Clostridium difficile*. Diese verlaufen zwar meist mild und weisen bspw. keine Assoziation mit einer späteren GvHD auf, müssen aber mit einem weiteren Antibiotikum behandelt werden (98, 99) . Dies ist in der Regel Metronidazol, welches sich auch gegen andere Clostridien, insbesondere gegen die Butyrat-bildenden *Clostridium Cluster XIVa*, richtet (100) . Ein Verlust an Butyrat-Produzenten kann wiederum negative Effekte auf das Darmepithel haben, wie im Mikrobiom-Kapitel noch weiter ausgeführt wird. Außerdem begünstigt eine Metronidazol-Einnahme langfristig die Bildung Antibiotika-resistenter Stämme im GI-Trakt (101) .

1.3.8.3 Rifaximin

Rifaximin gehört ebenfalls zur Gruppe der Breitspektrum-Antibiotika, ist aber im Gegensatz zu den oben genannten nicht systemisch, sondern lokal wirksam. Bei oraler Aufnahme ist der Hauptwirkort somit der Gastrointestinaltrakt, nur ein Bruchteil wird transluminal resorbiert. Im Gegensatz zu den oben erwähnten Antibiotika scheint Rifaximin zahlreiche positive Effekte auf das Darm-Mikrobiom zu haben: Präklinischen Studien zeigten, dass Rifaximin bestimmte Virulenz-Faktoren verringern und die Widerstandsfähigkeit intestinaler Zellen gegenüber Entzündungen und einer bakteriellen Besiedelung stärken könnte. Es könnte sogar das Wachstum gesundheitsfördernder Bakterien, beispielsweise Butyrat-Bildnern, unterstützen. (102, 103) . Rifaximin hat vielfältige Einsatzgebiete: So kommt es bei der Behandlung von Reisediarrhö, einer bakteriellen Fehlbesiedelung des Dünndarms, chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, der hepatischen Enzephalitis und zukünftig vielleicht sogar bei Patient:innen mit chronischem Stress zum Einsatz (104–109) .

Die Universitätsklinik Regensburg stellte im Jahr 2012 die Antibiotikaregimen zur Darmdekontamination von Ciprofloxacin/Metronidazol auf Rifaximin um. In einer hier retrospektiv durchgeführten Studie von Weber et al. zeigte sich, dass Rifaximin mit einer verringerten intestinalen Enterokokkenmenge und höheren UIS-Spiegeln assoziiert war. Dies können indirekte Hinweise dafür sein, dass Rifaximin die Mikrobiom-Vielfalt besser schützt und erhält als andere Antibiotika. Hoch signifikant war zudem, dass Rifaximin mit einem höheren Gesamtüberleben und einer niedrigeren TRM assoziiert war, unabhängig davon, ob im Verlauf zusätzlich noch andere, systemisch wirksame Antibiotika gegeben wurden (110).

Die Autor:innen konnten diese Beobachtungen in einer weiteren Studie bestätigen und ausweiten; Rifaximin war hier auch mit einer höheren Menge an Clostridium Cluster XIVa und insgesamt einer größeren Mikrobiomvielfalt assoziiert (111).

1.3.8.4 Dysbiose als neuer Risikofaktor für Komplikationen

Häufig führt eine alloSZT zur starken Vermehrung bestimmter Bakterien, die auch nach erfolgreicher Transplantation das Darm-Mikrobiom deutlich dominieren können. Typischerweise handelt es sich dabei um Enterokokken, Streptokokken und verschiedene Proteobakterien. Diese Gattungen können wiederum jeweils mit spezifischen Komplikationen nach alloSZT assoziiert sein (112).

1.3.8.5 Antibiotika als Hauptauslöser der Dysbiose

Antibiotika sind eine wichtige Therapiesäule im Rahmen der alloSZT. Sie werden einerseits zur Darmdekontamination eingesetzt, um zu verhindern, dass Darmbakterien die Blut-Darmschranke passieren und eine systemische Infektion auslösen. Die Darmdekontamination kann sowohl total als auch selektiv erfolgen und somit entweder die Mehrheit oder nur einen bestimmten Anteil der Bakterien eliminieren.

Andererseits können Antibiotika auch zur Prophylaxe und Therapie einer febrilen Neutropenie eingesetzt werden.

1.3.8.6 Zeitpunkt der Antibiotika-Gabe zur Therapie von Infektionen

Bei Fieber in Neutropenie kommen häufig Breitspektrum-Antibiotika wie Imipenem/Cilastatin und Piperacillin/Tazobactam zum Einsatz. Der Zeitpunkt der Antibiotika-Gabe richtet sich nach dem klinischen Bild der Patient:innen, maßgeblich ist besonders ein Anstieg der Körpertemperatur als Hinweis auf eine beginnende Sepsis.

Sie decken bei oft zunächst unklarem Infektfokus eine breite Vielfalt an Erregern ab und können kurzfristig das Überleben sichern, erhöhen aber die GvHD-assoziierte 5-Jahres-Mortalität, wie Shono et al. berichten. Weber et al. beobachteten, dass sich insbesondere der Zeitpunkt der Antibiotikagabe signifikant auf das Outcome der alloSZT auswirkte: Je früher die Exposition mit systemisch wirkenden Antibiotika, desto höher die TRM. Das Outcome fiel am besten aus, wenn keinerlei Antibiotikaphylaxe erfolgt war. Diese war wiederum abhängig von Faktoren wie dem Erkrankungsstadium, dem Spendertyp und der Zeitspanne von Diagnose zur alloSZT (96) .

Pathophysiologisch könnte dieser Effekt auf eine Schwächung der Darmbarriere zurückzuführen sein. Die Antibiotika könnten die Schleimhaut entweder direkt angreifen oder diese indirekt schädigen, indem sie die Proliferation von Mukosa-schädigenden Bakterien fördern oder das Wachstum protektiver Bakterien unterdrücken (113, 114) . Denn ähnlich wie Metronidazol reduzieren auch die zur Infektionsprophylaxe eingesetzten Breitspektrumantibiotika die Zahl vieler *Clostridium Cluster XIVa*-Mitglieder. Indirekt könnte dies zu niedrigen UIS-Spiegeln führen, wie Weber et al. aufführen (82) .

1.4 ZIELSETZUNG DER VORLIEGENDEN ARBEIT

Die vorliegende Arbeit soll analysieren, welchen Effekt eine Darm-GvHD auf die Rezidivrate nach alloSZT hat. Die erste Hypothese aus klinischer Beobachtung ist, dass die GvHD des Darmes im Gegensatz zur GvHD der Haut oder Leber keinen Schutz vor Rezidiven bietet. Als zweite Hypothese soll überprüft werden, ob verschiedene direkte und indirekte Mikrobiom-assoziierte Parameter prädiktiv einen Zusammenhang mit Rezidiven aufweisen. Insgesamt gibt es zu dieser Fragestellung bisher nur eine Arbeit, die einen möglichen Zusammenhang findet. Aus diesem Grund soll diese Fragestellung nun systematisch an den Daten, die bisher nur im Zusammenhang mit der GvHD und der TRM untersucht wurden, analysiert werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 DAS PATIENT:INNENKOLLEKTIV

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektiv durchgeführte Kohortenstudie der Klinik und Poliklinik der Inneren Medizin III des Universitätsklinikums Regensburg. Die erhobenen Daten stammen von allen Patient:innen, die dort im Zeitraum vom Jahr 1998 bis einschließlich Juni 2019 eine allogene Stammzelltransplantation erhalten haben. Alle Untersuchungen wurden nach Informed Consent der Patient:innen und Genehmigung durch die Ethikkommission durchgeführt. Eingeschlossen wurden alle Personen, deren Verlaufsbögen vollständig auswertbar waren. Das vorliegende Patientenkollektiv umfasst somit 1053 Personen.

Die folgende Tabelle enthält Informationen zur Alters- und Geschlechterverteilung des vorliegenden Patient:innenkollektivs sowie zur Grunderkrankung und den einzelnen Erkrankungsstadien. Das Durchschnittsalter der Patient:innen betrug 50 Jahre, die jüngste Person war 16 Jahre, die älteste 72 Jahre alt. Die Patient:innen wurden für die weiterführende Analyse nach Alter in drei Gruppen eingeteilt: Die erste Gruppe umfasst alle Personen, die bei der Transplantation jünger als 30 Jahre alt waren, die zweite Gruppe alle Patient:innen ab 30 und unter 50 und die dritte Gruppe alle Personen ab 50 Jahren.

Die Grunderkrankungen wurden zusätzlich anhand ihrer Pathogenese eingeteilt und zwischen myeloischen und nicht-myeloischen Störungen unterschieden. Letztere umfassen Erkrankungen wie das Hodgkin-, Non-Hodgkin- und Burkitt-Lymphom, das Multiple Myelom, die ALL und CLL, die Aplastische Anämien sowie solide Tumoren.

Zusätzlich wurde zwischen den einzelnen Erkrankungsstadien zum Transplantations-Zeitpunkt unterschieden und eine Einteilung in ein frühes, mittleres und fortgeschrittenes Stadium vorgenommen.

Tabelle 3: spezifische Faktoren der Patient:innen

Patient:innenspezif. Faktoren	Anzahl	Häufigkeit in %
Alter		
unter 30 Jahre	94	8,9
30-50 Jahre	357	33,9
ab 50 Jahre	602	57,2
Geschlechterverteilung		
Frauen	392	37,2
Männer	661	62,8
Grunderkrankung		
AML	444	42.2
NHL	126	12.0
ALL	98	9.3
Myelom	94	8.9
MDS	91	8.6
MPS	61	5.8
CML	54	5.1
CLL	34	3.2
AA	18	1.7
Hodgkin-Lymphom	17	1.6
MF	6	0.6
non-maligne	6	0.6
Burkitt-Lymphom	2	0.2
solide Tumore	2	0.2
Erkrankung nach Pathogenese		
myeloisch	656	62,3
nicht-myeloisch	397	37,7
Erkrankungsstadium		
früh	243	23,1
mittel	426	40,5
fortgeschritten	384	36,5

Zu den vorhandenen Transplantationsfaktoren gehören Spender, Stammzellquelle, Konditionierung, aGvHD-Prophylaxe und DLI-Gabe, welche aus der unten stehenden Tabelle entnommen werden können.

Die Konditionierung nach dem Standard-Verfahren beinhaltet eine Bestrahlung und fakultativ eine Chemotherapie, das Alternativverfahren dazu stellt die Dosis-reduzierte Konditionierung dar (RIC).

Zur aGvHD-Prophylaxe erhielt die große Mehrheit der Patient:innen eine Kombination aus Cyclosporin, MTX, MMF oder Tacrolimus, welche bereits vor der Transplantation verabreicht wurde. Die restlichen Personen erhielten postTx eine zweimalige Cyclophosphamid-Gabe, welches ein neues Verfahren bei haplo-identen Spenden darstellt.

Transplantationsfaktoren	Anzahl	Anteil in %
Spenderkollektiv		
unverwandt	685	65,1
HLA-idente Geschwister	346	32,9
Haplo-idente Geschwister/Eltern/Kinder	22	2,1
Stammzellquelle		
Peripheres Blut	916	87,0
Knochenmark	130	12,3
Nabelschnurblut	7	0,7
Konditionierungsverfahren		
Standard	246	23,4
Dosis-reduziert (RIC)	807	76,6
aGvHD-Prophylaxe		
Cyclosporin/MTX/MMF/Tacrolimus	1005	95,4
Cyclophosphamid	48	4,6
DLI-Gabe		
Einmaldosis	149	14,2
Mehrfachdosis	86	57,7

Tabelle 4: Transplantationsfaktoren

2.2 METHODEN ZUR GEWINNUNG UND AUSWERTUNG DER MIKROBIOMPARAMETER

Das UKR begann im Jahr 2012 mit der Mikrobiom-Analyse allogenen stammzelltransplantierten Patient:innen. Dabei konnten von der Mehrzahl der Patient:innen Stuhl-, Urin- oder Serumproben gewonnen und ausgewertet werden. Die Zahl und Art der erhobenen Mikrobiom-Parameter unterscheiden sich dabei individuell. Die vorliegende Arbeit untersucht die früh nach alloSZT auftretende Mikrobiomveränderungen, sodass für die unten genannten Parameter als Erhebungszeitraum Tag 0 bis einschließlich 7 nach alloSZT gewählt wurde, wenn nicht anders beschrieben.

Als direkt Mikrobiom-assoziierte Parameter wurden der UIS-Spiegel, der Simpson-Diversitäts-Index und die Copy Numbers an *Clostridium Cluster XVIa* in der PCR verwendet. Als indirekt Mikrobiom-assoziierte Parameter fungieren der Serum-Reg-3- α -Spiegel, das Antibiotika-Regimen zur Behandlung neutropener Komplikationen sowie das gewählte Antibiotikum zur Darmdekontamination.

Das Urinary-3-Indoxyl-Sulfat wurde aus dem Patient:innenurin gewonnen und mittels Massenspektrometrie analysiert.

Der Simpson-Diversitäts-Index wurde per direkter Sequenzierung der bakteriellen 16s rRNA im Stuhl bestimmt. Er gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der zwei Individuen, die zufällig aus einer Kohorte ausgewählt werden, zur gleichen Art gehören (115). Der Index ist ein quantitatives Maß, da er Zahl und Verteilung einzelner Bakterienarten beschreibt. Es gilt: Je höher der Index bzw. je näher an 1, desto größer ist die Vielfalt innerhalb der untersuchten Bakteriengemeinschaft. Zur Qualität der Kohorte, also zur Art der vorhandenen Bakterienarten, gibt er hingegen keine Auskunft.

Die Gene-Copy-Numbers der bakteriellen 16S rRNA von *Clostridium Cluster XIVa* wurden mittels Echtzeit-PCR (LightCycler 40 II von Roche) bestimmt (96). Gewonnen wurden die Proben hierbei aus dem Stuhl der Patient:innen.

Der Reg-3 α -Serumspiegel wurde mittels eines Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) bestimmt. Im Vergleich zu anderen Proteinen, welche im Rahmen einer GvHD intestinal gebildet werden, ist der Nachweis von Reg-3 α relativ einfach, da für die ELISA-Messung konventionelle Antikörper verfügbar sind (116).

2.3 STATISTISCHE METHODEN

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm *IBM SPSS Statistics*© verwendet. Zum Einsatz kamen deskriptive Statistiken (Häufigkeiten, Kreuztabellen), Kaplan-Meier-Analysen und Cox-Regressionen.

Als erster Schritt wurden Faktoren identifiziert, die einen signifikanten Zusammenhang mit der Rezidivrate aufweisen. Standardverfahren hierfür ist die Kaplan-Meier-Analyse, alternativ können auch orientierend Kreuztabellen eingesetzt werden. Diese haben allerdings den Nachteil, dass sie den Zeitpunkt des Rezidivs und die unterschiedlich langen Nachbeobachtungszeiten nicht gewichten. Auch berücksichtigen sie nicht, dass die analysierte Patient:innenzahl mit jedem neu diagnostizierten Rezidiv abnimmt und sich die untersuchte Grundmenge somit ständig ändert. Aufgrund dieser Verzerrung sind Kreuztabellen nicht als Standardverfahren geeignet, sie können lediglich einen ersten Überblick zu potentiell signifikanten Zusammenhängen zwischen einzelnen Faktoren und der Rezidivrate liefern.

Alle Variablen wurden zunächst jeweils mittels Kaplan-Meier-Analyse in Bezug zu den Rezidiven gesetzt und als umgekehrte Kaplan-Meier-Kurve dargestellt ('1 minus Rezidivauftreten'). Als Ereigniszeitpunkt diente entweder das Datum der Rezidivdiagnose oder, wenn kein Rezidiv vorlag, das Datum des letzten Follow-Up (LFU). Das Auftreten eines Rezidivs wurde dabei als zensiertes Ereignis gewählt.

Diejenigen Variablen, deren Kaplan-Meier-Analyse eine Signifikanz im Log-Rank-Test ergab, wurden anschließend in eine Cox-Regression eingeschlossen. So wurde untersucht, ob die entsprechenden Variablen tatsächlich unabhängige Risikofaktoren für Rezidive darstellen oder stattdessen ein Bias aufgrund von Wechselwirkungen zwischen den Variablen vorliegt.

In 2.4.4 wird auf diejenigen Parameter, deren Log-Rank-Test in der Kaplan-Meier-Analyse signifikant war ($p \leq 0,05$) noch näher eingegangen. Außerdem werden die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analyse aller Mikrobiom-Parameter genauer dargestellt. Anschließend werden die Ergebnisse der Cox-Regression vorgestellt.

3 AUSWERTUNG UND ERGEBNISSE

3.1 OUTCOME

3.1.1 Akute und chronische GvHD

In der vorliegenden Arbeit wurden die klassische akute und die verspätete akute GvHD als 'akute GvHD' zusammengefasst. Es konnte der aGvHD-Status von insgesamt 1038 Patient:innen erhoben werden, die Verteilung der jeweiligen Stadien ist unten dargestellt. Um zu überprüfen, ob sich die allgemeine aGvHD im vorliegenden Patient:innenkollektiv positiv oder negativ auf die Rezidivrate auswirkt, wurden die einzelnen Stadien nochmals zusammengefasst – in der ersten Gruppe befinden sich alle Patient:innen ohne jegliche aGvHD-Zeichen sowie Patient:innen mit einer sehr mild ausgeprägten allgemeinen aGvHD (Stadium 1). In der zweiten Gruppe befinden sich Patient:innen mit einer Stadium 2-aGvHD, von der, wie bereits in der Einleitung geschildert, der stärkste protektive Effekt gegenüber Rezidiven angenommen wird. In der dritten Gruppe werden Stadium 3 und 4 der aGvHD zusammengefasst, die theoretisch einen ebenfalls starken GvL-Effekt hervorrufen könnten, jedoch zu ausgeprägten akuten Nebenwirkung und so einer erhöhten TRM führen können.

Bei obigen 1038 Personen wurde zudem untersucht, ob eine akute Darm-GvHD vorlag, und im Falle einer vorhandenen Darm-GvHD wurde diese nochmals in die einzelnen Stadien unterteilt. Dies kann ebenfalls den untenstehenden Diagrammen entnommen werden.

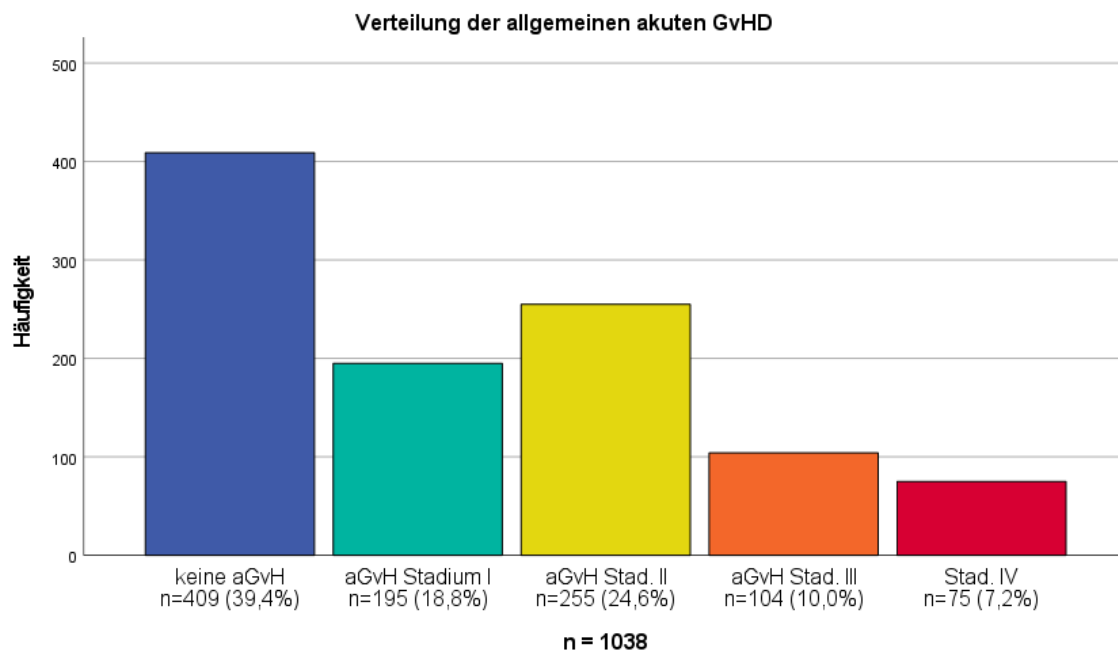


Abbildung 1: Verteilung der allgemeinen aGvHD

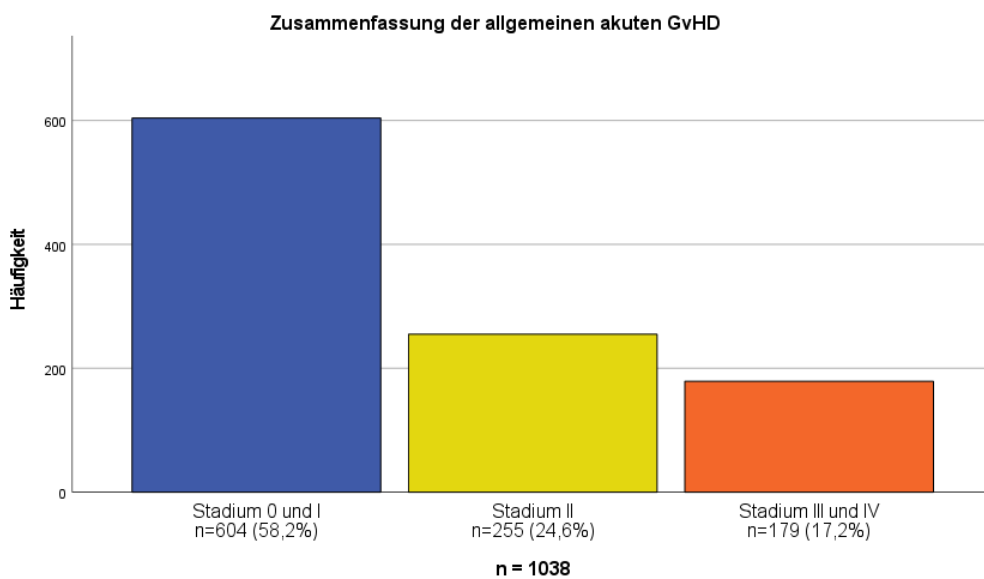


Abbildung 2: Zusammenfassung der Stadien

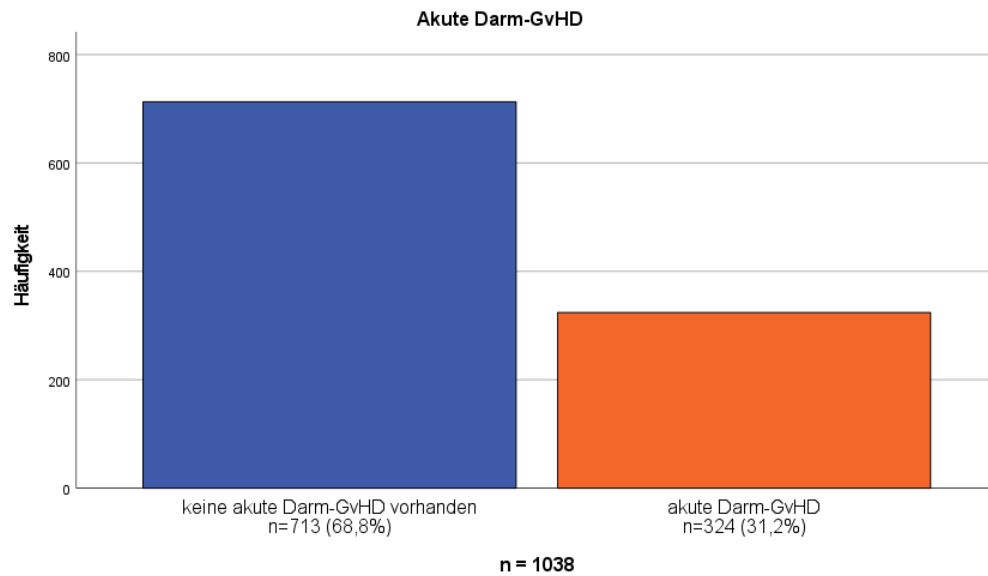


Abbildung 3: Verteilung der akuten Darm-GvHD (ja/nein)

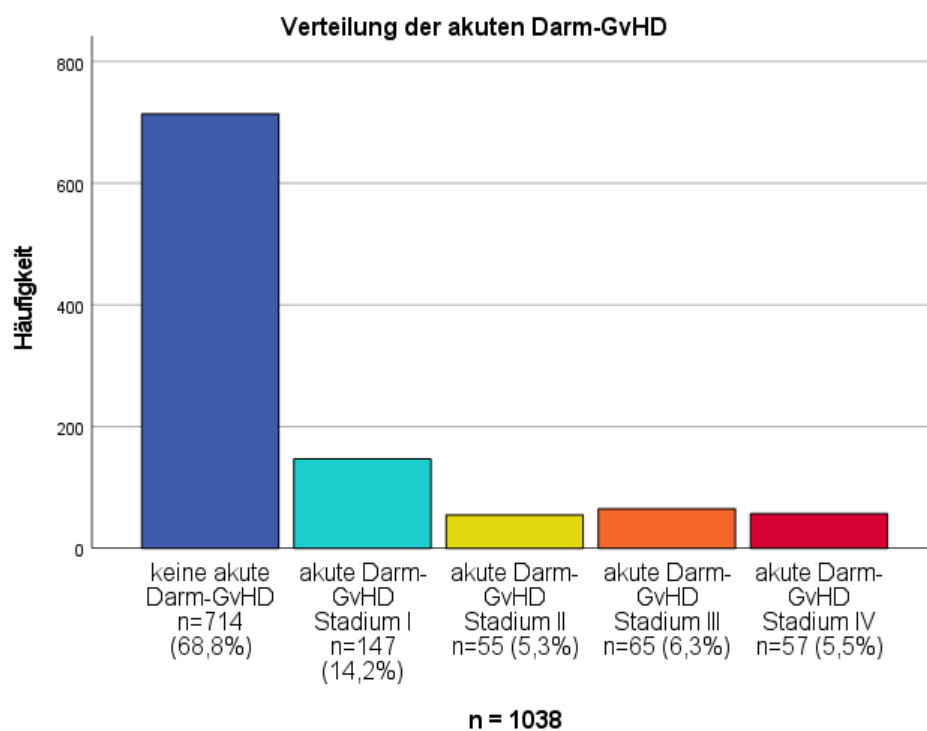


Abbildung 4: Verteilung der akuten Darm-GvHD nach Stadien

Zur Beurteilung der chronischen GvHD wurden die Kriterien des NIH-Konsensus aus dem Jahr 2014 verwendet (117). Der Status der chronischen GvHD wurde bei 868 Patient:innen erhoben und wird in untenstehendem Diagramm noch näher aufgeschlüsselt.

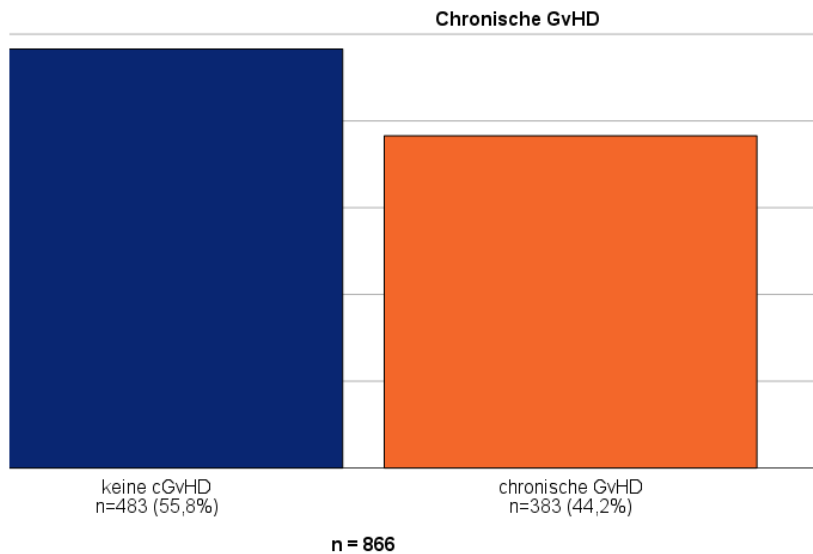


Abbildung 5: Verteilung der chronischen GvHD (ja/nein)

3.1.2 TRM, Rezidive und Überleben

Hinsichtlich der Todesursachen wurde zwischen transplantations-assoziiierter Mortalität (TRM) und Rezidiv-bedingter Mortalität unterschieden. Zur TRM zählen Komplikationen wie GvHD, Infektionen und toxisitätsbedingte Schäden, die im Rahmen verschiedener Behandlungsregime entstehen können (118). Die genannten Komplikationen treten insbesondere in der frühen Phase nach alloSZT auf und zeigen laut Styczyński et al. innerhalb der ersten 100 Tage postTx ein jeweils für sie typisches zeitliches Verteilungsmuster (119). Im vorliegenden Patient:innenkollektiv verstarben insgesamt 306 Personen an transplantations-assoziierten Komplikationen.

Während das Risiko der TRM im Verlauf des ersten Jahres nach alloSZT wieder deutlich sinkt, steigt das Rezidiv-Risiko mit zunehmendem zeitlichem Abstand zur Transplantation. Rezidive lassen sich prinzipiell sowohl molekular als auch hämatologisch nachweisen (30), für die vorliegende Arbeit wurden die Rezidive hämatologisch diagnostiziert. Zudem wurde zwischen Früh- und Spätrezidiven unterschieden, als Cut-Off-Wert wurde hierfür der 24. Monat nach alloSZT gewählt. Die Häufigkeit von Rezidiven und der jeweilige Anteil von Früh- und Spätrezidiven wird im nachfolgenden Balkendiagramm dargestellt.

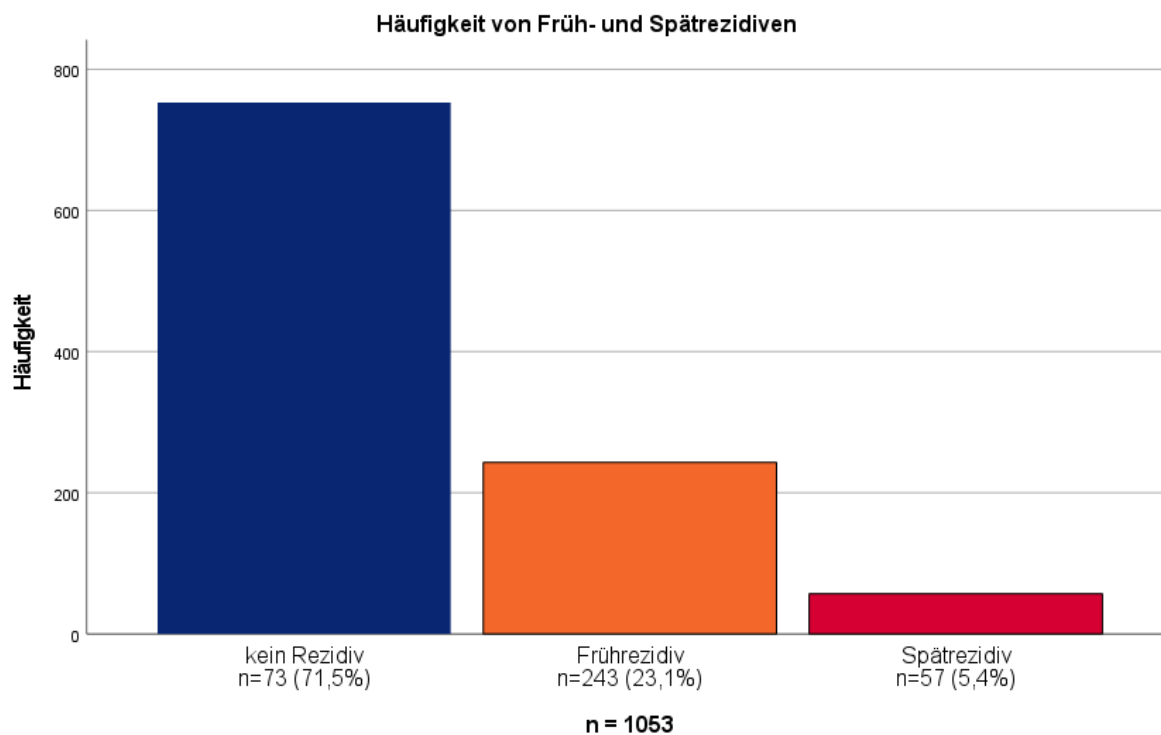


Abbildung 6: Häufigkeit von Früh- und Spätrezidiven

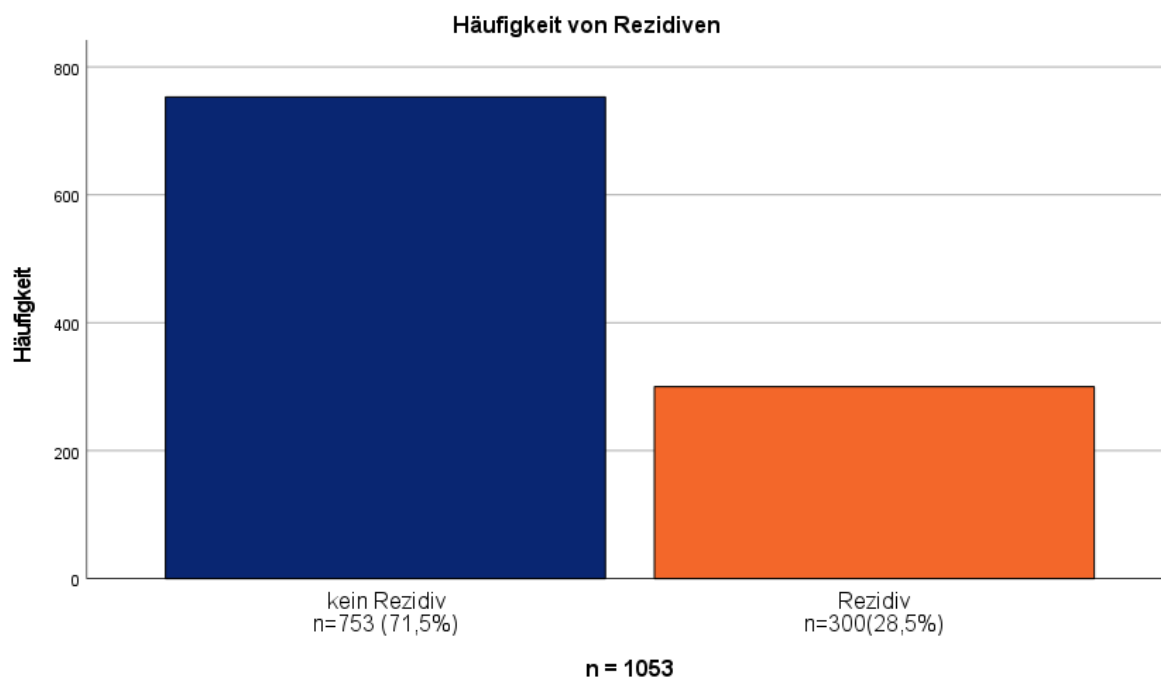


Abbildung 7: Rezidivrate

Insgesamt überlebten 500 Personen (47,5 %), während 553 Personen an den Folgen eines Rezidivs oder transplantations-assoziierten Komplikationen verstarben. Die Überlebensrate

im Falle eines Rezidivs beträgt 17,4%. Das entsprechende Übersichtsdiagramm und die Überlebensfunktionen sind nachfolgend abgebildet.

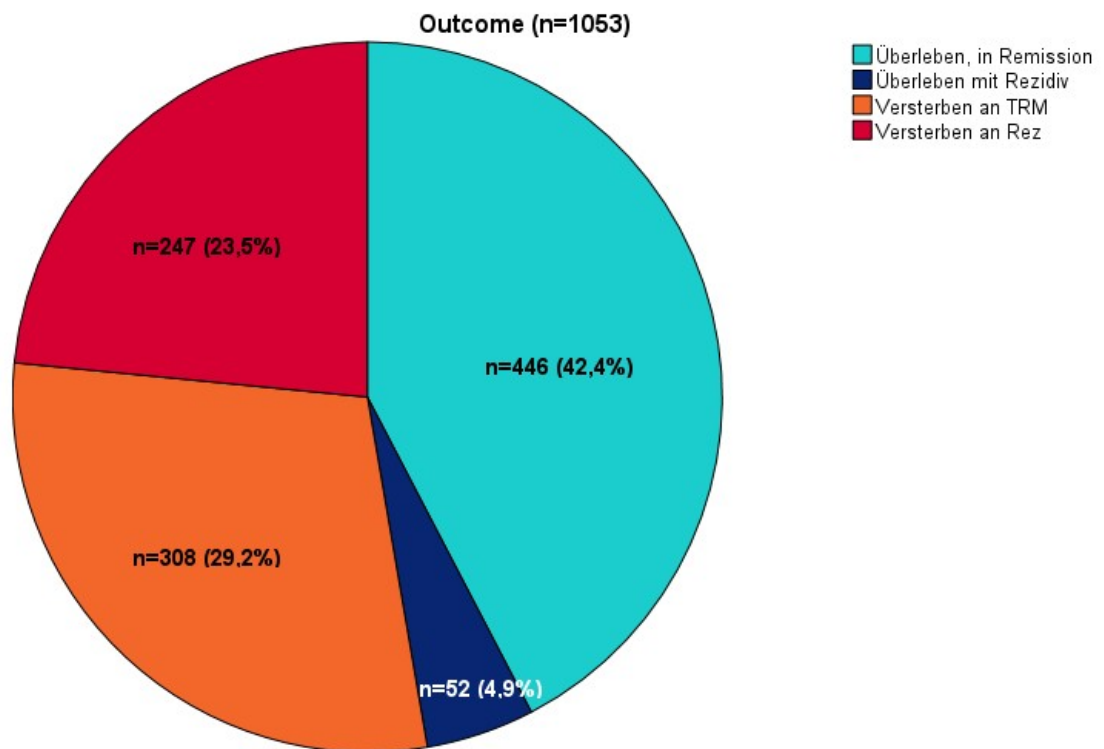


Abbildung 8: Outcome

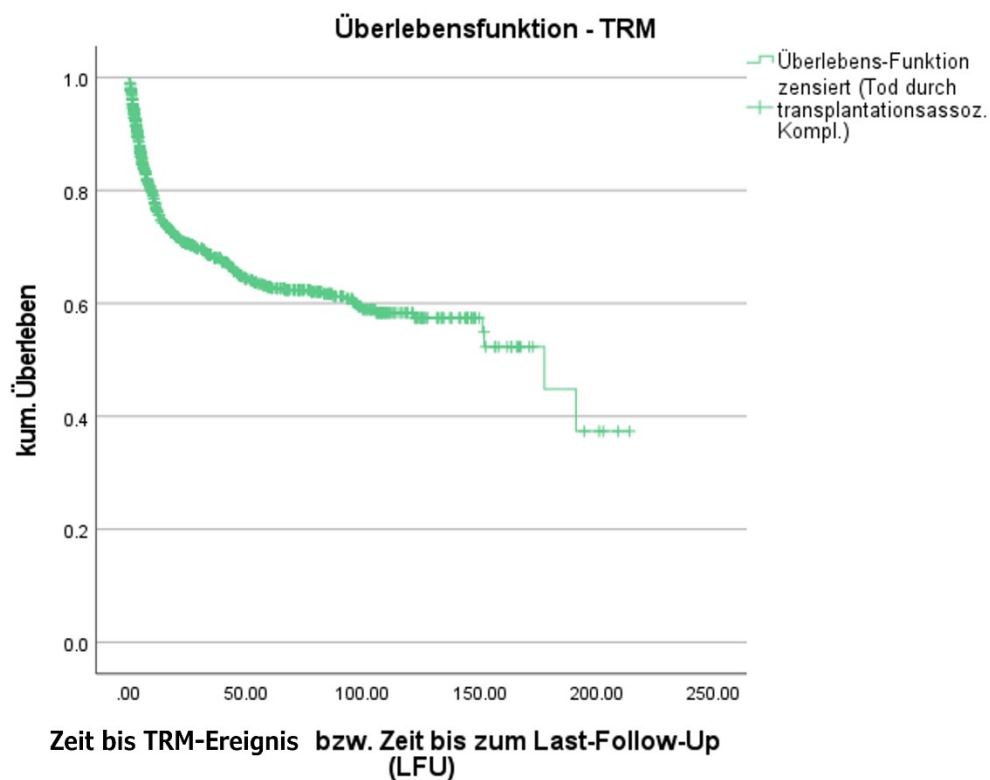


Abbildung 9: Überlebensfunktion hinsichtl. Tod durch transplantationsassoz. Komplikationen, Zeit in Monaten

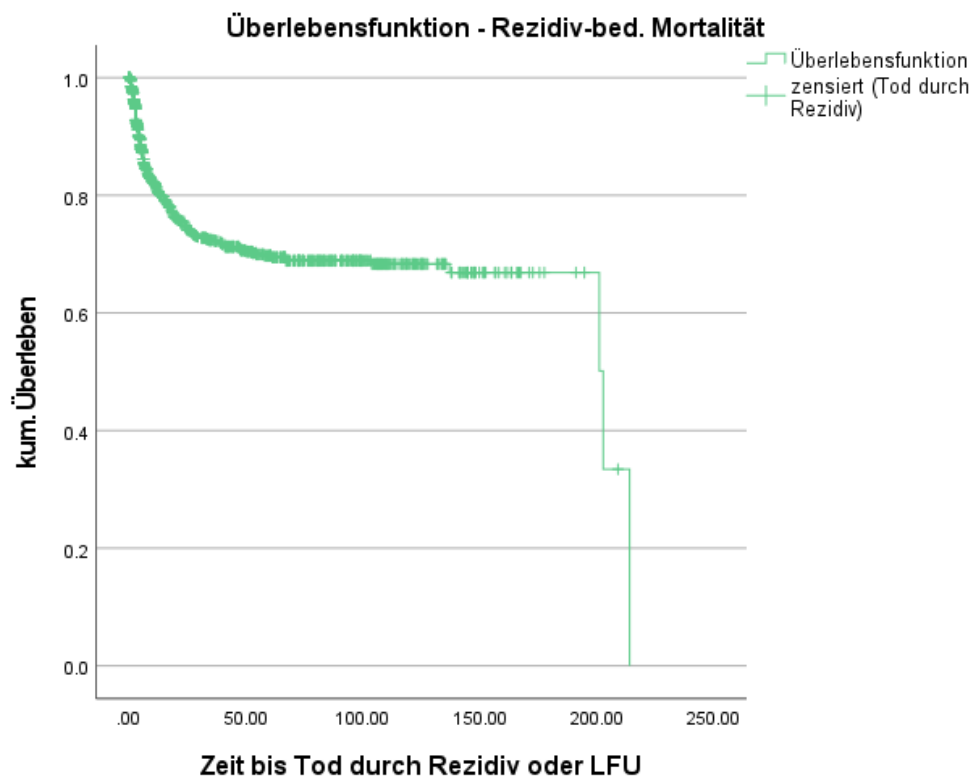


Abbildung 10: Überlebensfunktion hinsichtl. Tod durch Rezidiv, Zeit in Monaten

Hauptkomplikation n post Tx	Anzahl	Anteil in %	Mortalität bei Auftreten
TRM	306	29,1	100 %
Rezidiv	300	28,5	82,3 %
Frührezidiv	221	73,7	85 %
Spätrezidiv	79	26,3	68 %

Tabelle 5: Verteilung der Hauptkomplikationen nach alloSZT mit jeweiliger Mortalität

3.2 ERGEBNISSE DER WICHTIGSTEN MIKROBIOM-ASSOZIIERTEN PARAMETER UND FESTLEGUNG DER AUSWERTESTRATEGIE

3.2.1 Urinary 3-Indoxyl-Sulfat-Spiegel

Insgesamt liegen die UIS-Werte von 262 Patient:innen vor. Der höchste Wert betrug 63,60 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ Kreatinin, der niedrigste 0,00 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$. Der Mittelwert lag bei 9,91 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ Kreatinin, der Median bei 5,49 $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ Kreatinin. Die Schiefe betrug 1,69, sodass für die weiterführende Analyse der Median als Cut-off-Wert verwendet wurde, anhand dessen die vorliegende Kohorte anschließend in zwei gleich große Gruppen aufgeteilt wurde (131 Personen unterhalb des Medians, 131 Personen ab Median).

3.2.2 Simpson-Diversitäts-Index

Es wurden die Indices von insgesamt 164 Patient:innen berechnet (15,6 %). Der höchste Wert des Simpson-Diversität-Index lag bei 0,98, der niedrigste bei 0,04. Der Mittelwert beträgt 0,78, der Median 0,872. Da es sich auch hier um eine schief verteilte Variable handelte, wurde wieder der Median als Cut-off Wert gewählt und zwei Gruppen gebildet (82 Personen jeweils unter- und oberhalb des Medians).

3.2.3 Clostridium Cluster XIVa

Es liegen die Copy Numbers von 134 Patient:innen vor (12,7 %), der niedrigste Wert betrug 0,0, der höchste $2,65 \times 10^{10}$. Der Mittelwert liegt bei $1,76 \times 10^9$ Copy numbers, der Median bei $3,20 \times 10^8$. Aufgrund einer fehlenden Normalverteilung wurde hier der Median als Cut-off-

Wert für die weiterführende Analyse verwendet (67 Personen unterhalb, 68 Personen ab Median).

3.2.4 Antibiotika-Einsatz im Rahmen der Neutropenie

Die Art der gewählten Antibiotika-Therapie wurde für das vorliegende Patientenkollektiv ab 2008 protokolliert. Zum Einsatz kamen intravenös verabreichte Breitspektrum-Antibiotika wie Piperacillin/Tazobactam, Carbapeneme und Cephalosporine. Sie wurden zur Prophylaxe oder Therapie neutropener Komplikationen verabreicht. Die von Weber et al. vorgenommene Einteilung der Patient:innen in zwei Gruppen, welche abhängig vom Zeitpunkt der ersten Antibiotika-Einnahme war, wurde auf das vorliegende Patientenkollektiv übertragen (96) : In der Hochrisikogruppe werden diejenigen Patient:innen zusammengefasst, die bereits vor dem Tag der alloSZT eine Antibiotika-Behandlung erhalten hatten. Sie umfasst hier 270 Personen (44,4 %). In der Niedrigrisiko-Gruppe, welche durch eine Antibiotika-Gabe nach Tx definiert ist, befinden sich 338 (55,7 %) Personen.

3.2.5 Darmdekontamination

Bis Mai 2012 wurden am UKR für die systemische Darmdekontamination standardmäßig Ciprofloxazin und Metronidazol eingesetzt. Da neuere Erkenntnisse aus der Mikrobiom-Forschung die Wirksamkeit dieser Antibiotika in Frage stellten, erfolgte eine Umstellung auf das überwiegend lokal wirksame Rifaximin. Im vorliegenden Patientenkollektiv erhielten insgesamt 599 (56,9 %) Patient:innen Ciprofloxazin und Metronidazol, 454 (43,1 %) erhielten Rifaximin.

3.2.6 Reg-3 α -Spiegel im Patient:innenserum

Insgesamt liegen die Reg-3 α -Spiegel von 77 Patientenseren (7,3 %) vor. Der höchste Wert betrug 1577,0 Pg/ml, der niedrigste Wert 8,0 Pg/ml. Der Mittelwert liegt bei 125,9 Pg/ml, der Median bei 58,00 Pg/ml. Aufgrund der fehlenden Normalverteilung wurde der Median als Cut-off-Wert herangezogen, unterhalb des Medians befinden sich somit 38, ab dem Median 39 Werte.

Mikrobiom-assoziierte Parameter	Anzahl	Anteil der erhobenen Daten am Gesamtkollektiv
UIS	262	24,9 %
Gruppe 1 (unter Median)	131	
Gruppe 2 (ab Median)	131	
Simpson-Diversitäts-Index	164	15,6 %
Gruppe 1 (unter Median)	82	
Gruppe 2 (ab Median)	82	
Copy Numbers von <i>Clostridium Cluster XIVa</i>	134	12,7 %
Gruppe 1 (unter Median)	67	
Gruppe 2 (ab Median)	68	
Antibiotika-Gabe	608	57,7%
Niedrigrisiko-Gruppe	338	
Hochrisiko-Gruppe	270	
Darmdekontamination	1053	100 %
Ciprofloxazin/Metronidazol	599	
Rifaximin	454	
Reg-3α-Spiegel	77	7,3 %
Gruppe 1 (unterhalb Median)	38	
Gruppe 2 (ab Median)	39	

Tabelle 6: Einteilung der Mikrobiom-assoziierten Parameter

3.3 KAPLAN-MEIER-ANALYSE BZGL. DES AUFTRETENS EINES REZIDIVS

Für alle Variablen wurde eine Kaplan-Meier-Analyse durchgeführt. Keinerlei Signifikanz im Log-Rank-Test zeigten die Einflussgrößen Geschlecht, Alter, Spenderkollektiv, Donortyp, Stammzellquelle, Konditionierungsregimen, aGvHD-Prophylaxe, allgemeine aGvHD, Darm-GvHD, Antibiotika-Einsatz, Simpson-Index, UIS-Spiegel und Reg-3- α .

Auf diejenigen Parameter, deren Log-Rank-Test signifikant war ($p \leq 0,05$) oder auf einen Trend hinwies ($0,05 < p \leq 0,1$), soll im Folgenden noch näher eingegangen werden. Außerdem werden die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Analyse aller Mikrobiom-Parameter genauer dargestellt.

3.3.1 Grunderkrankung

Die Kaplan-Meier-Analyse hinsichtlich Grunderkrankung und Rezidiv liefert ein signifikantes Ergebnis ($p < 0,01$): Hier kommt es in der Gruppe mit nicht-myeloischen Grunderkrankungen zu erheblich mehr Rezidiven, der entsprechende Graph (grün) verläuft hier sichtbar steiler und zeigt im Verlauf ein höheres Niveau als der Graph der myeloischen Grunderkrankungen (rot).

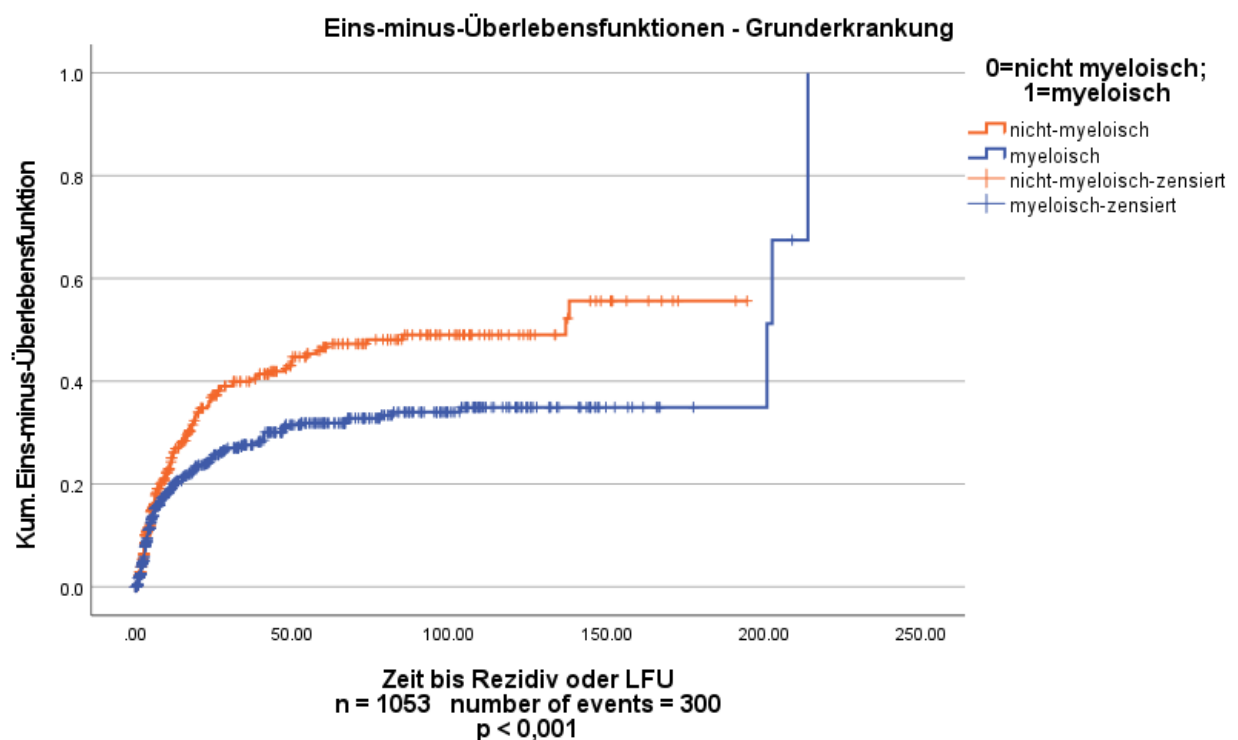


Abbildung 11: Eins-Minus-Überlebensfunktion für die Art der Grunderkrankung, Zeit in Monaten

3.3.2 Erkrankungsstadium

Auch das Erkrankungsstadium weist in der Kaplan-Meier-Analyse einen signifikanten Zusammenhang mit der Rezidivrate auf ($p < 0,01$). Die zugehörige Eins-Minus-Überlebensfunktion zeigt, dass Personen mit einem fortgeschrittenen Erkrankungsstadium häufiger Rezidive entwickeln als Personen mit einem frühen oder mittleren Stadium (oranger Graph). Das niedrigste Rezidivrisiko besteht bei einem frühen Erkrankungsstadium.

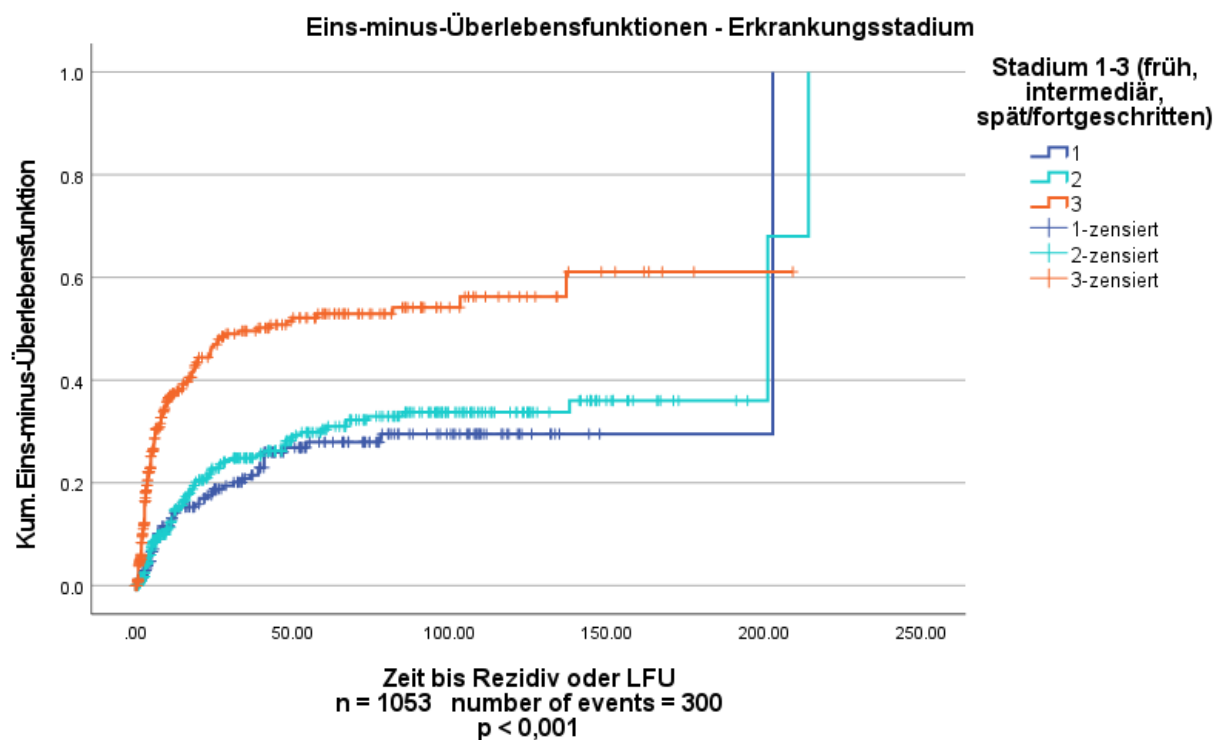


Abbildung 92: : Eins-Minus-Überlebensfunktion für das Erkrankungsstadium, Zeit in Monaten

3.3.3 DLIs

Hinsichtlich der DLIs weisen Patient:innen, welche eine DLI-Anwendung erhalten haben, ein deutlich höheres Rezidivrisiko auf ($< 0,01$). Der entsprechende Graph (orange) verläuft hier deutlich oberhalb des Graphs derjenigen Gruppe, die keinerlei DLIs erhalten hat (blau).

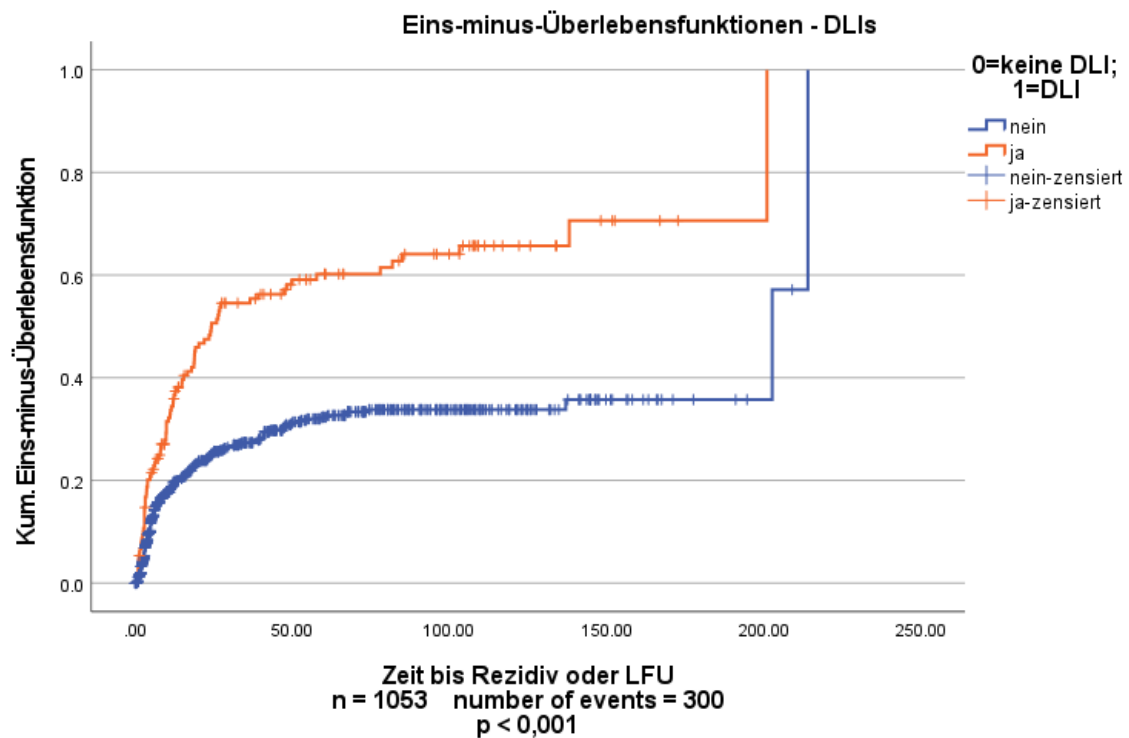


Abbildung 13: Eins-Minus-Überlebensfunktion für DLI-Einsatz, Zeit in Monaten

Dass DLIs mit einer erhöhten Rezidivrate in Zusammenhang stehen, steht zunächst scheinbar in völligem Widerspruch zur aktuellen Studienlage und klinischer Erfahrung: Wie bereits im DLI-Kapitel beschrieben, belegen verschiedene Arbeiten einen protektiven Effekt der DLIs gegenüber Rezidiven. Dieser Effekt tritt sowohl bei prophylaktisch als auch therapeutisch eingesetzten DLIs auf. Tatsächlich wird im zugrunde liegenden Datensatz nicht zwischen diesen beiden Indikationen unterschieden. Das untenstehende Balkendiagramm ($p < 0,001$) zeigt, dass die DLIs im vorliegenden Patient:innenkollektiv vor allem bei Hochrisikopatienten (nicht-myeloische Grunderkrankung) durchgeführt worden waren:

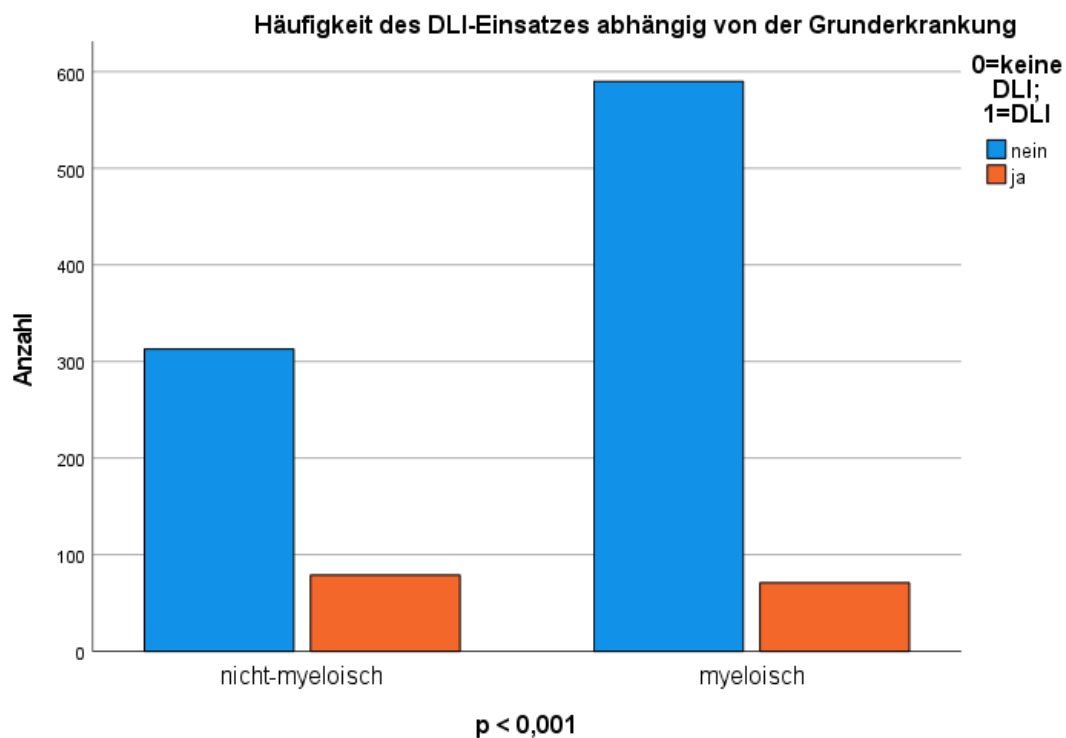


Abbildung 14.: Abhängigkeit DLI-Einsatz und Grunderkrankung, Zeit in Monaten

Um eine Verzerrung der in Cox-Regression zu verhindern, werden DLIs somit nicht in diese eingeschlossen, da DLIs hier kein unabhängiger Risikofaktor für Rezidive sind. Dies wird in der Diskussion nochmals aufgegriffen.

3.3.4 Akute Darm-GvHD

Von besonderem Interesse für die vorliegende Arbeit ist die Bedeutung der GvHD für Rezidive nach alloSZT. Die entsprechenden Kaplan-Meier-Analysen zeigen hier keine signifikanten Zusammenhänge: Weder im Falle einer einfachen Unterteilung in Darm-GvHD vs. keine Darm-GvHD ($p = 0,46$), noch bei der Einteilung in 3 Schweregrade (keine bis leichte Darm-GvHD, mittel und schwer) ($p = 0,97$), noch bei der Aufschlüsselung in die einzelnen Stadien ($p = 0,92$).

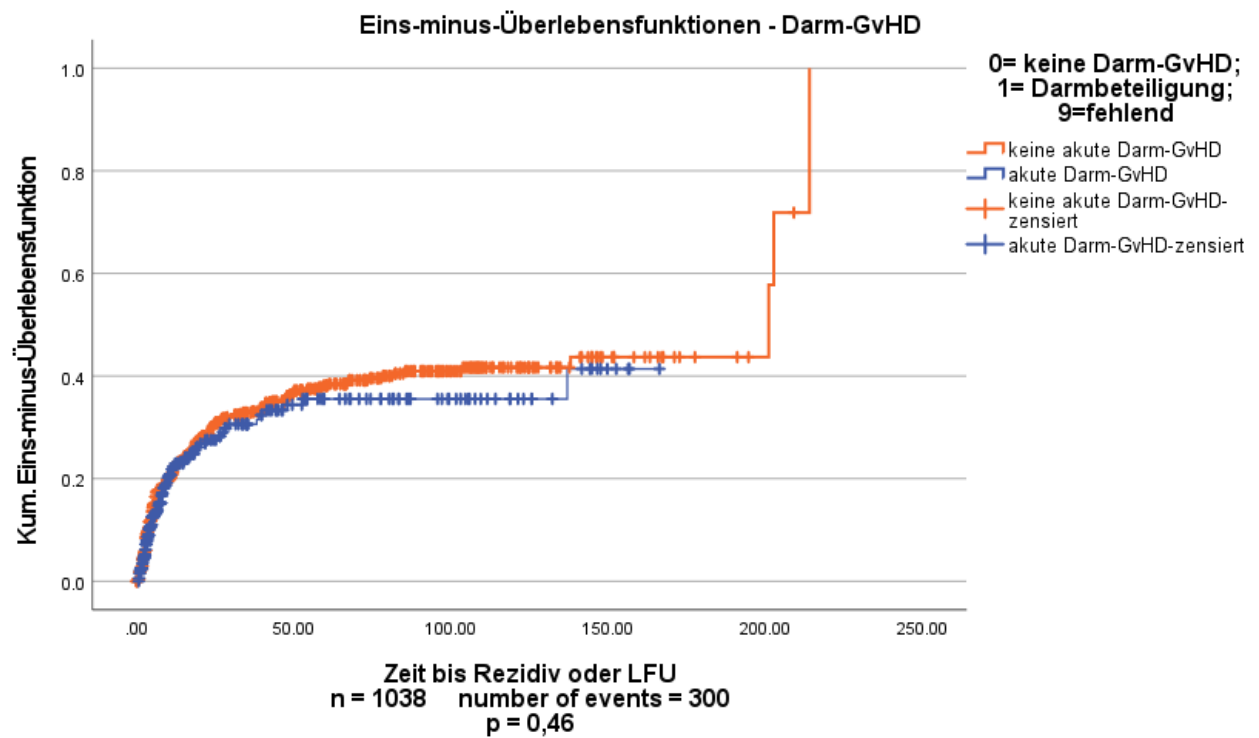


Abbildung 105: Eins-Minus-Überlebensfunktion für Darm-GvHD (ja/nein), Zeit in Monaten

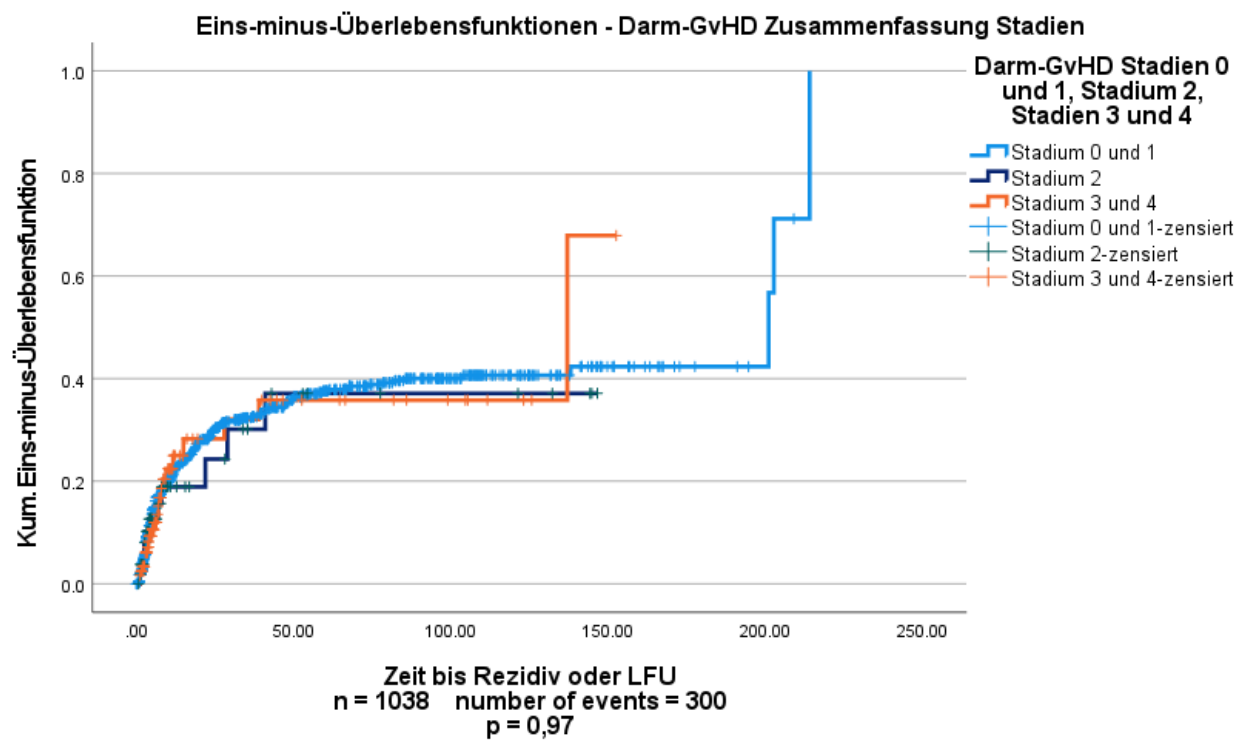


Abbildung 16: Eins-Minus-Überlebensfunktion für Darm-GvHD (Stadien zusammengefasst), Zeit in Monaten

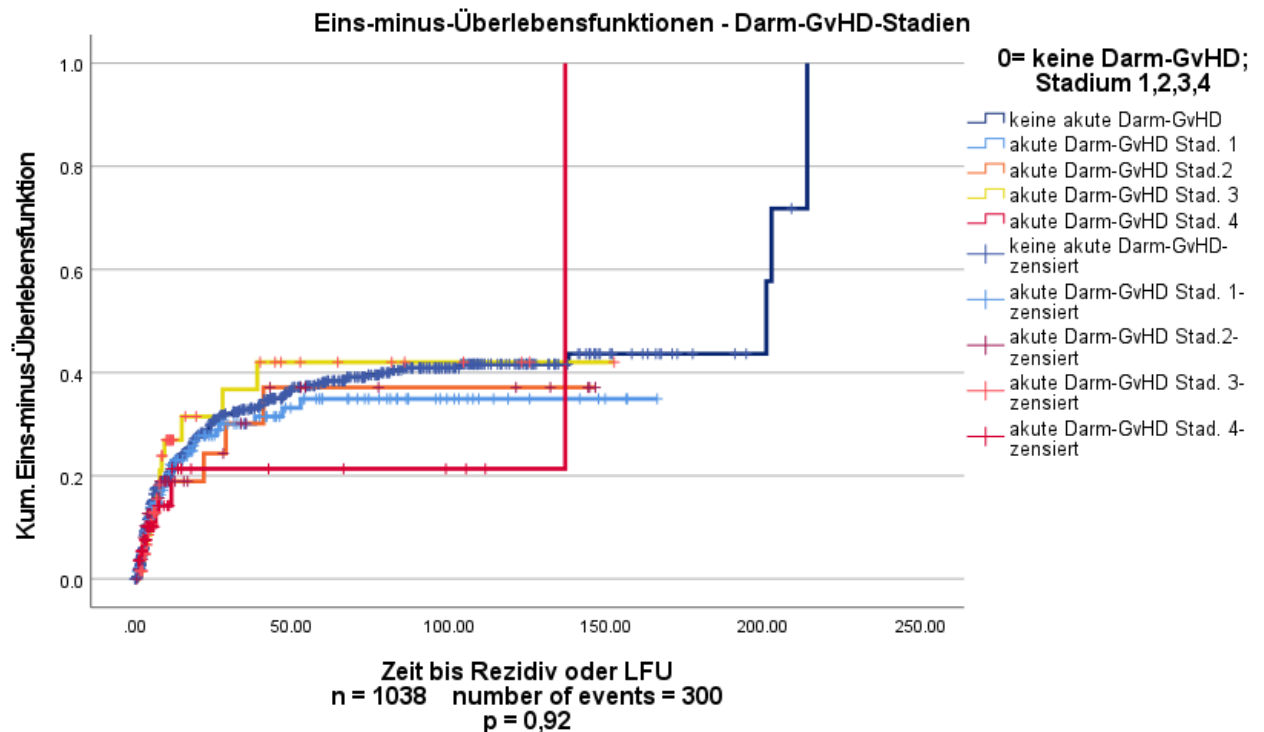


Abbildung 17: Eins-Minus-Überlebensfunktion für Darm-GvHD (einzelne Stadien), Zeit in Monaten

3.3.5 Chronische GvHD

Zudem ist das Fehlen einer chronischen GvHD signifikant mit einer höheren Rezidivrate assoziiert ($< 0,01$). Der Graph der Gruppe ohne chronische GvHD (grün) verläuft deutlich oberhalb des Graphs derjenigen Patientengruppe, die im Verlauf eine chronische GvHD entwickelt. Die chronische GvHD scheint also im Umkehrschluss einen protektiven Effekt auf Rezidive zu haben.

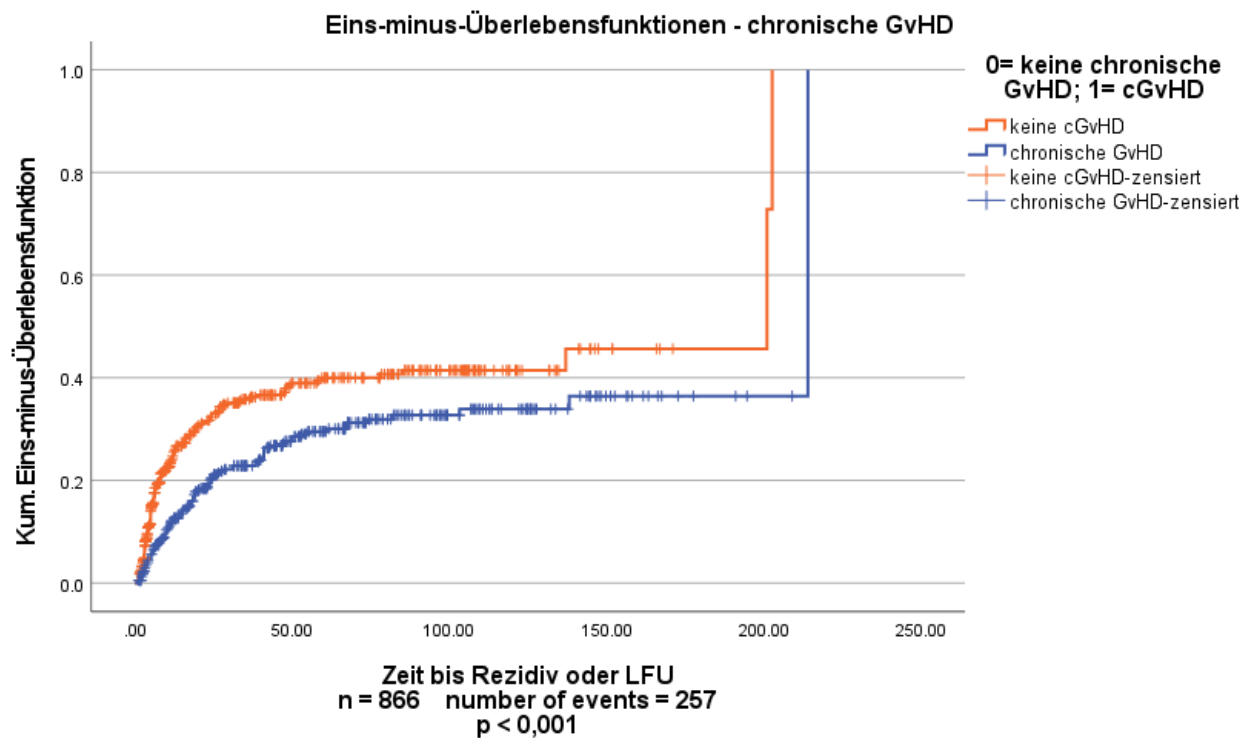


Abbildung 118: : Eins-Minus-Überlebensfunktion für die chronische Darm-GvHD, Zeit in Monaten

3.3.6 Antibiotika-Risikogruppen

Die Kaplan-Meier-Analyse, die den Einfluss der beiden Antibiotika-Risikogruppen auf die Rezidivrate untersucht, konnte keinen Zusammenhang der Variablen nachweisen ($p = 0,98$). Die beiden Graphen der Hoch- und Niedrigrisikogruppe verlaufen nahezu identisch, beide Gruppen scheinen somit ein sehr ähnliches Rezidivrisiko aufzuweisen.

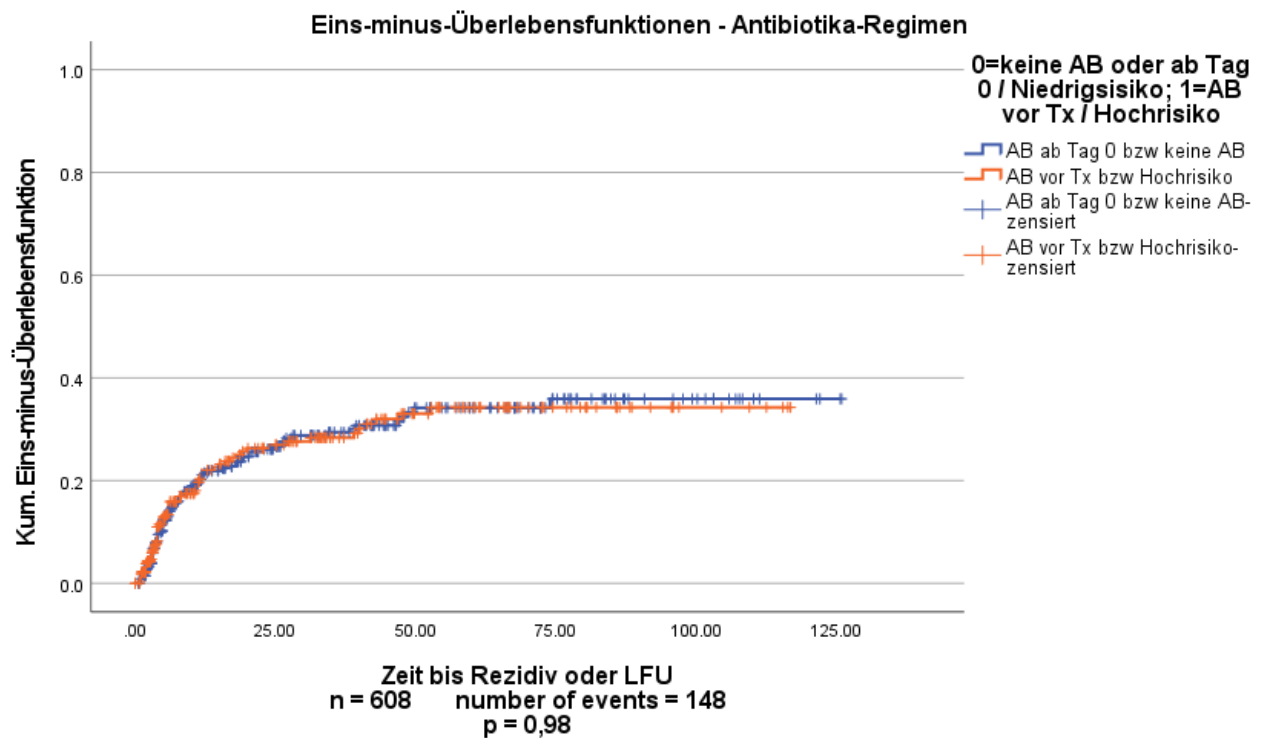


Abbildung 129: Eins-Minus-Überlebensfunktion für die Antibiotika-Risikogruppen, Zeit in Monaten

3.3.7 Darmdekontamination

Hinsichtlich der Darmdekontamination zeigt die Kaplan-Meier-Analyse einen signifikanten Zusammenhang zwischen systemisch wirkender Dekontamination und der Rezidivrate auf ($p = 0,02$).

Der Graph, welcher die systemische Darmdekontamination darstellt, verläuft deutlich oberhalb des Graphens der Rifaximin-Gruppe. Somit ist von einer Assoziation zwischen Rezidiven und systemischer Darmdekontamination auszugehen. Da Rifaximin erst ab dem Jahr 2012 zur Darmdekontamination eingesetzt wurde, liegt hierfür ein kürzerer Nachbeobachtungszeitraum vor, sodass keine Aussagen zur langfristigen Entwicklung in dieser Gruppe möglich sind.

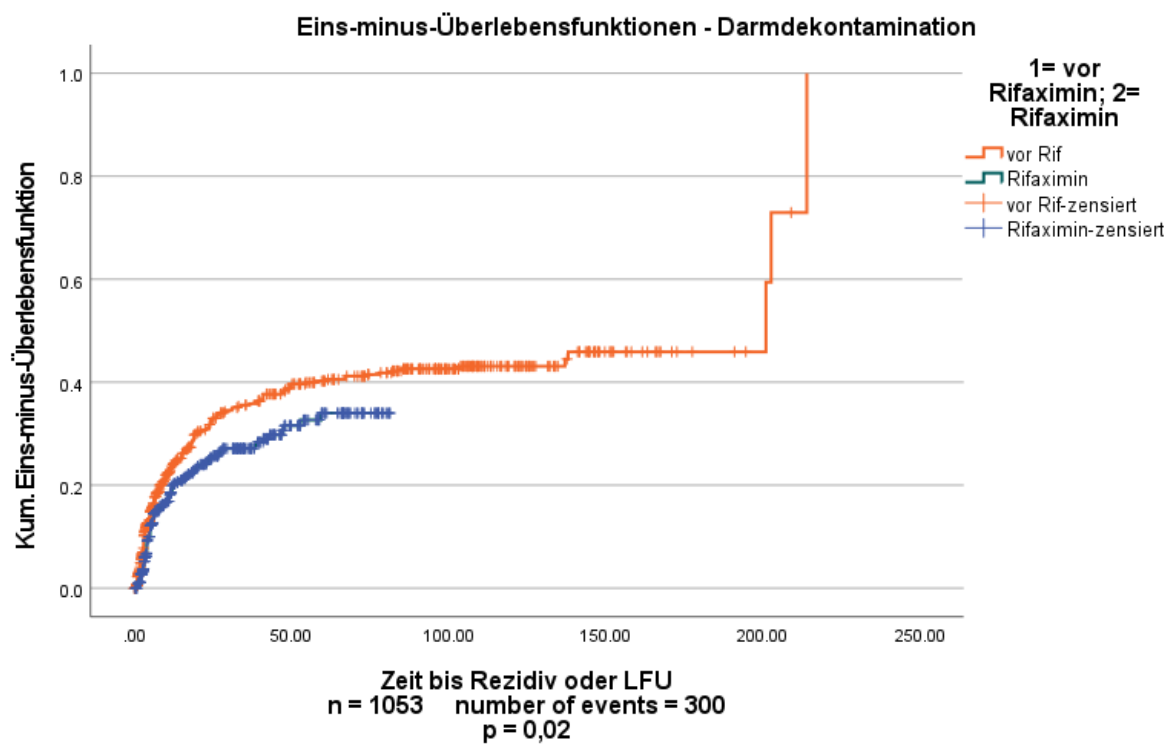


Abbildung 20: Eins-Minus-Überlebensfunktion für die Darmdekontamination, Zeit in Monaten

3.3.8 Simpson-Index

Auch Personen mit einem Simpson-Index unterhalb des Medians scheinen etwas häufiger Rezidive zu entwickeln: Der Graph derjenigen Gruppe, die ein weniger vielfältiges Mikrobiom aufweist (orange), verläuft in der entsprechenden Funktion oberhalb des Graphens der zweiten Gruppe (blau). Dieser Effekt ist jedoch in der Kaplan-Meier-Analyse nicht signifikant ($p = 0,25$).

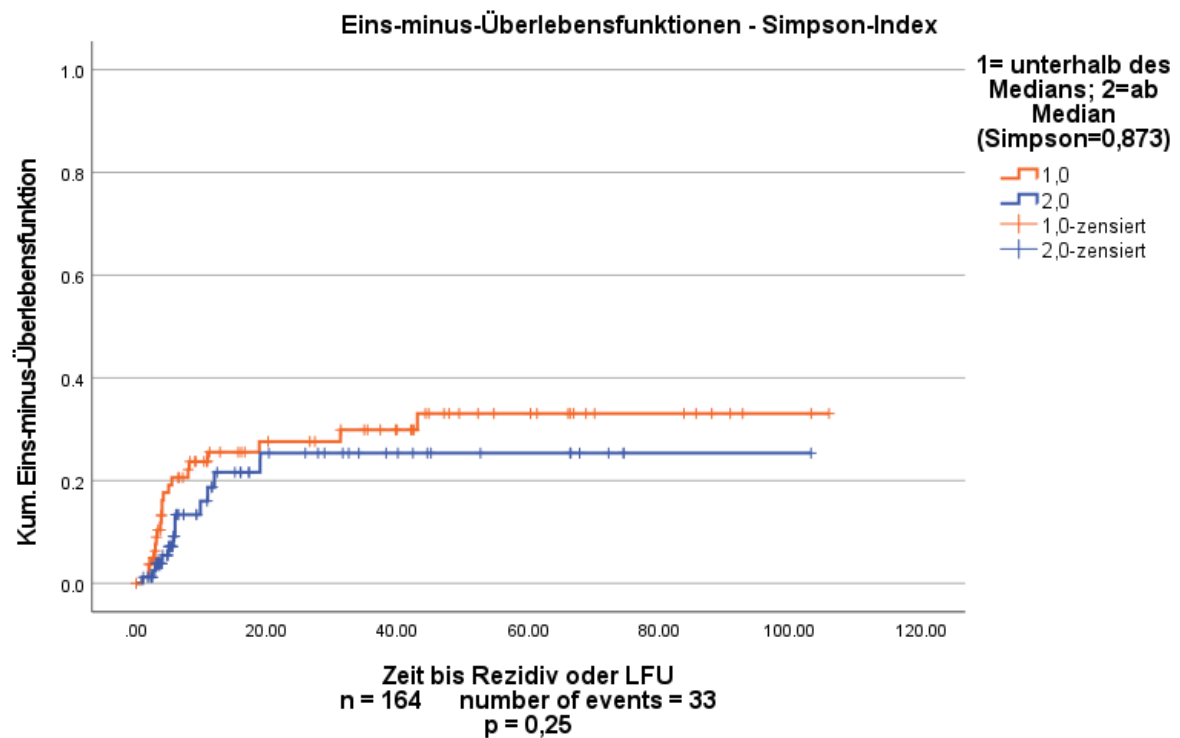


Abbildung 21: Eins-Minus-Überlebensfunktion für den Simpson-Index, Zeit in Monaten

3.3.9 UIS-Spiegel

Der UIS-Spiegel liefert in der Kaplan-Meier-Analyse keinen signifikanten Zusammenhang mit der Rezidivrate ($p = 0,97$), die Graphen beider Gruppen verlaufen hier nahezu identisch.

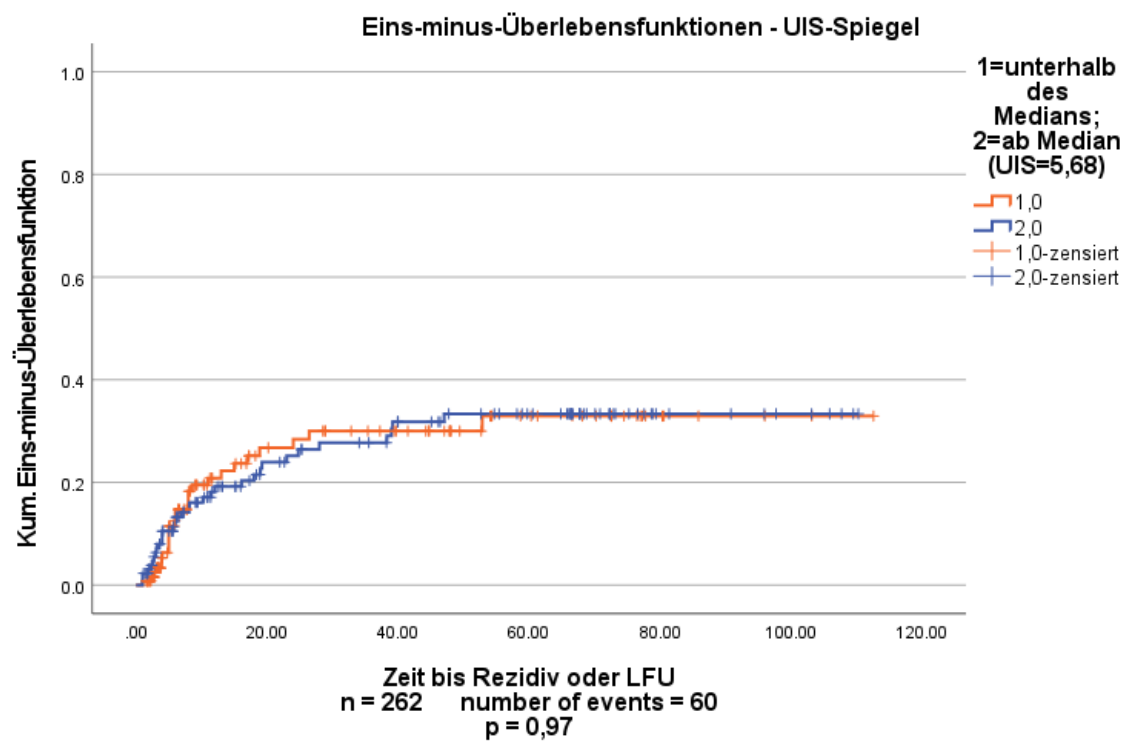


Abbildung 22: Eins-Minus-Überlebensfunktion für den UIS-Spiegel, Zeit in Monaten

3.3.10 Reg-3- α

Auch zwischen Reg-3- α und der Rezidivrate gibt es keinen signifikanten Zusammenhang ($p = 0,76$), was sich auch im sehr ähnlichen Verlauf der Graphen beider Gruppen widerspiegelt.

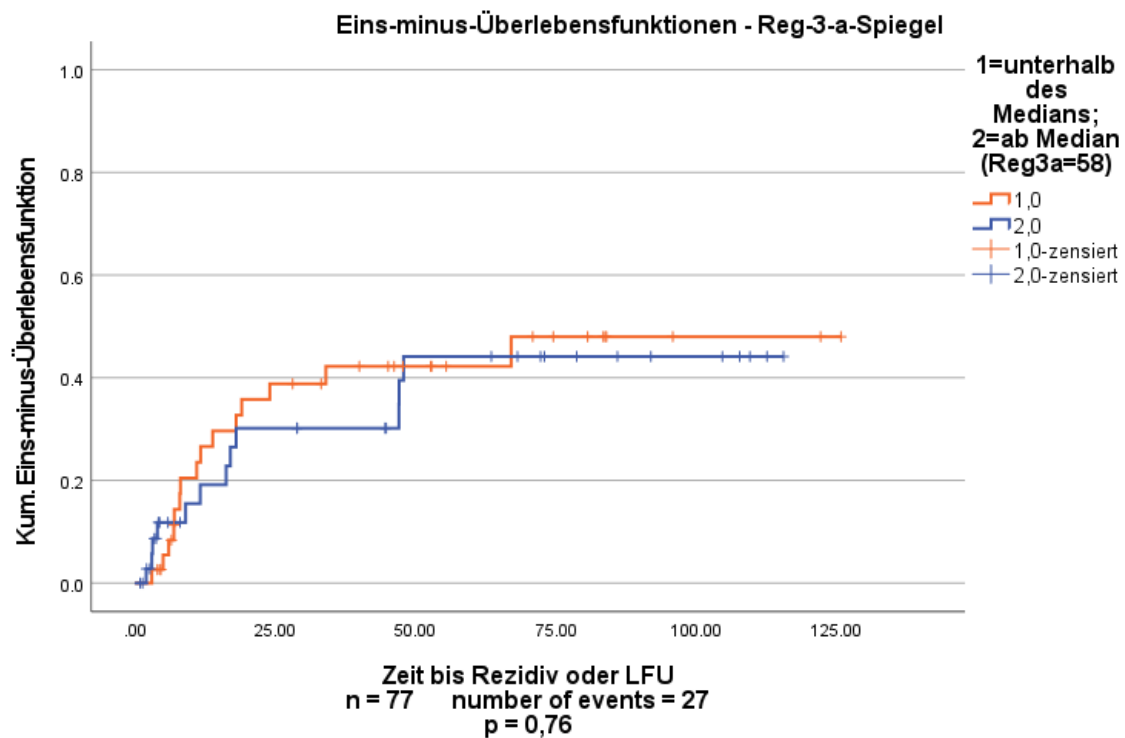


Abbildung 2313: Eins-Minus-Überlebensfunktion für den Reg-3-a-Spiegel, Zeit in Monaten

3.3.11 Clostridium Cluster XIVa

Die Kaplan-Meier-Analyse zu *Clostridium Cluster XIVa* liefert einen p-Wert von 0,15 und ist somit nicht signifikant, lässt aber einen schwachen Trend erkennen. In der Funktion scheinen Personen mit einer geringen Zahl an Copy Numbers von *Clostridium Cluster XIVa* häufiger ein Rezidiv zu entwickeln, der entsprechende Graph (orange) verläuft hier deutlich steiler. Allerdings ist in beiden Gruppen der Nachbeobachtungszeitraum begrenzt und beträgt maximal 90 Monate, sodass keine Aussagen über die langfristige Rezidiventwicklung in beiden Gruppen möglich ist.

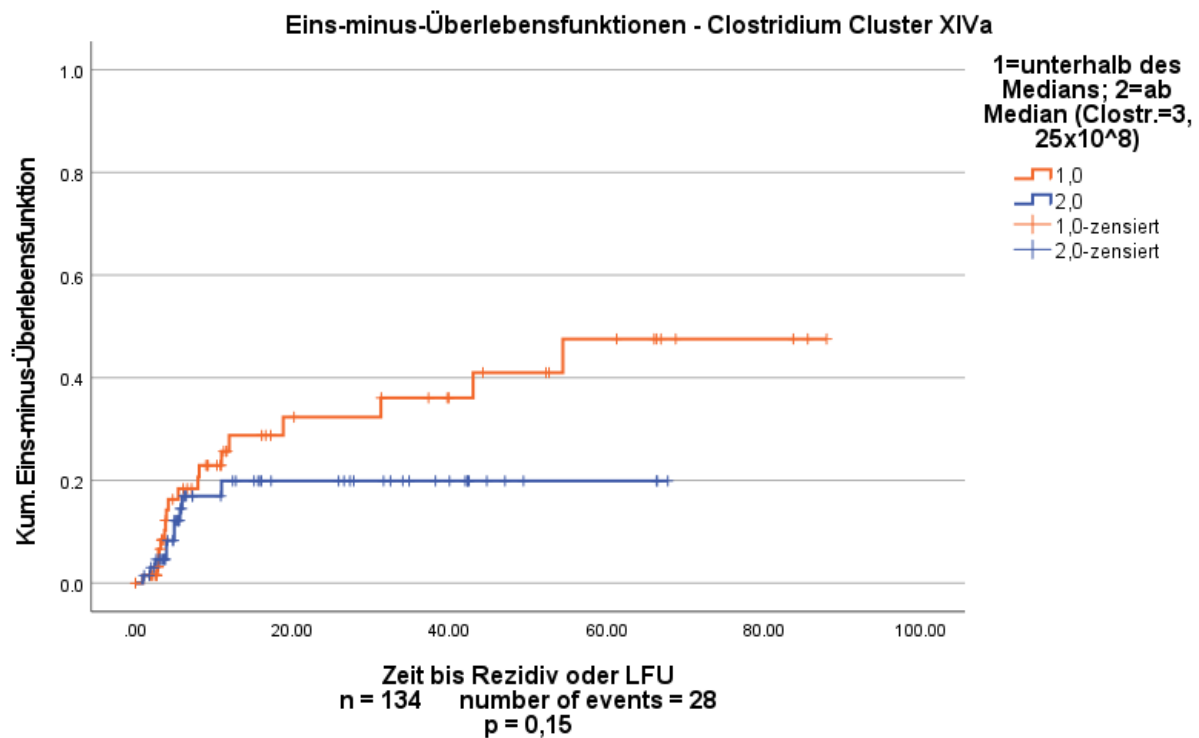


Abbildung 24: Eins-Minus-Überlebensfunktion für Clostridium Cluster XIVa, Zeit in Monaten

3.4 COX-REGRESSION

Diejenigen Variablen, deren Kaplan-Meier-Analyse eine Signifikanz im Log-Rank-Test ergab, werden anschließend in eine Cox-Regression eingeschlossen.

Wie bereits in 2.4.4. beschrieben, werden die DLIs trotz signifikanten Log-Rank-Tests nicht eingeschlossen, da im Vorfeld nicht zwischen therapeutischer und prophylaktiver Indikation unterschieden wurde. Da DLIs therapeutisch bei Rezidiven gegeben werden, besteht hier zwischen beiden Größen ein unmittelbarer Zusammenhang; die Cox-Regression würde dadurch stark verzerrt werden.

Einen signifikanten Zusammenhang mit einer höheren Rezidivrate zeigten eine nicht-myeloische Erkrankung (HR 1,57 (KI 1,22-2,02)) und das Fehlen einer chronischen GvHD (HR 1,67 (KI 1,30-2,15)), während ein frühes Krankheitsstadium in der vorliegenden Kohorte einen protektiven Effekt hatte (HR 0,45 (KI 0,32-0,63)).

Daneben weist keiner der analysierten Mikrobiom-assoziierten Parameter einen eindeutigen Zusammenhang mit der Rezidivrate auf. Der einzig signifikante Parameter in der Kaplan-Meier-Analyse ist die systemische Darmdekontamination mit $p = 0,02$. In der Cox-Regression

wird jedoch deutlich, dass es sich dabei nicht um einen unabhängigen Risikofaktor handelt ($p = 0,26$).

4 DISKUSSION

Im folgenden Kapitel werden die obigen Ergebnisse diskutiert. Dazu soll zunächst das Patientenkollektiv und die daraus erhobenen Daten mit einem anderen, repräsentativen Kollektiv verglichen werden. Anschließend werden die signifikanten Faktoren der obigen Cox-Regression einzeln diskutiert.

4.1 PATIENTENKOLLEKTIV

Als Vergleichspatientenkollektiv dienen einerseits die im Jahr 2021 vom *Zentralen Knochenmarkspenderregister Deutschland* (ZKRD) erfassten alloSZT-Patient:innen. Die Gruppengröße umfasst hier 3700 Personen. Für die Überlebensraten nach alloSZT werden Daten des US-amerikanischen *Center for international blood and marrow transplant research* (CIBMTR) aus dem Jahr 2022 herangezogen.

Im Patientenkollektiv des UKR ist die am häufigsten vertretene Grunderkrankung die AML (444 Personen bzw. 42,2 %). Diese Zahlen decken sich vollständig mit denen des ZKRD, wo etwa 41% der allogenen transplantierten Patient:innen eine AML aufwiesen.

Zweithäufigste Grunderkrankung in der vorliegenden Arbeit ist das Non-Hodgkin-Lymphom mit einem Anteil von 12,0%, was sich ebenfalls mit den Zahlen des ZKRDs deckt (hier etwa 10%). Und auch die Häufigkeiten der ALL stimmen in beiden Kollektiven fast überein (9,3% vs. etwa 11%). Der Anteil der Myelome ist im vorliegenden Patient:innenkollektiv etwas höher als im Bericht der ZKRDs (8,9 % vs. etwa 3%), der Anteil der myelodysplastischen Syndrome ist ebenfalls etwas höher als in der Vergleichsgruppe (8,6% vs. etwa 5%) (120) .

4.2 INZIDENZ DER AKUTEN UND CHRONISCHEN GvHD

Der Status der allgemeinen akuten GvHD konnte im vorliegenden Kollektiv für 1038 Personen erhoben werden, bei insgesamt 60,6% konnte tatsächlich eine allgemeine akute GvHD nachgewiesen werden. Wie bereits im GvHD-Kapitel thematisiert, variieren die Angaben zur aGvHD-Inzidenz in der Literatur zwischen 30 und 60% (16, 17) . Somit bewegt sich die aGvHD-Inzidenz der vorliegenden Arbeit noch in dem in der Literatur vorbeschriebenen Rahmen, befindet sich hierbei allerdings am oberen Ende.

Als nächstes soll die Inzidenz der Darm-GvHD auf Plausibilität geprüft werden. 1038 Personen, deren aGvHD-Status dokumentiert wurde, konnten auch auf das Vorliegen einer Darmbeteiligung untersucht werden. Die Inzidenz einer Darm-GvHD betrug in dieser

Subgruppe 31,2%. Wie bereits in der Einleitung ausgeführt, kommt es bei etwa der Hälfte aller Patienten mit aGvHD zur Darmbeteiligung (18). Die Rate im untersuchten Kollektiv fällt somit deutlich niedriger aus.

Die Inzidenz der cGvHD betrug in der dafür untersuchten Subgruppe 44,2%. In der Literatur findet man für die cGvHD Häufigkeitsangaben zwischen 30 und 40%, das Ergebnis der vorliegenden Arbeit lässt sich damit gut in Einklang bringen.

4.3 OUTCOME

Häufigste Todesursache im vorliegenden Kollektiv war die TRM, ihr Anteil an allen Todesfällen betrug 55,5%. Rezidive machten folglich einen Anteil von 44,5% an den Todesfällen aus. Wie bereits in der Einleitung dargestellt, variiert die Rezidivrate je nach Studie abhängig von der vorhandenen Grunderkrankung. Als groben Richtwert nennen Kröger et al. eine Rate zwischen „10% und 50%“ (30). Die Rezidivrate der vorliegenden Arbeit liegt somit innerhalb dieses Bereichs. Weiterführend könnten nun noch die Rezidivrate der jeweiligen Erkrankungen bestimmt und z.B. mit den Ergebnissen ZKRD verglichen werden. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass sich die Beobachtungszeiträume und auch die Grunderkrankungs-spezifischen Therapieregimen der Arbeiten unterscheiden, sodass die Aussagekraft dieses Vergleichs deutlich eingeschränkt ist und an dieser Stelle darauf verzichtet wird.

Die Rezidiv-bedingte Mortalität kann ebenfalls abhängig von der Art der Grunderkrankung variieren. Kreideh et al. nennen in ihrem Review eine Mortalität von mehr als 80% bei AML-Patient:innen, die nach allogener SZT ein Rezidiv entwickeln (121). In der vorliegenden Arbeit liegt die Mortalität bei AML-Patient:innen mit anschließendem Rezidiv ähnlich, 75% versterben im Verlauf an den Folgen des Rezidivs. Auch wenn sich die Angaben zur Rezidiv-bedingten Mortalität in der vorliegenden Arbeit mit 82,3% nicht alleine auf AML-Patient:innen beschränkt, machen diese doch den größten Anteil am Patientenkollektiv aus (s. Tab. 3). Somit decken sich die beiden Mortalitätsraten gut und verdeutlichen, welche negative Auswirkung ein Rezidiv auf die Prognose nach alloSZT hat.

Die Zahl der Frührezidive beläuft sich in der vorliegenden Arbeit auf 250 Fälle und macht mit einem Anteil von 75,0 % somit die Mehrheit der diagnostizierten Rezidive aus. Dies lässt sich damit in Einklang bringen, dass die meisten Rezidive bereits relativ früh in einem Zeitraum von sechs bis 24 Monaten nach alloSZT auftreten (44).

Insgesamt überlebten im vorliegenden Patient:innenkollektiv 498 Personen (47,3 %), die überwiegende Mehrheit ging davon dauerhaft in Remission (446 Personen bzw. 89,6 %). 52 Personen hingegen entwickelten nochmals ein Rezidiv, welches aber erfolgreich behandelt werden konnte und im Anschluss ebenfalls zu einer Remission führte. Diese Zahlen ähneln denen des CIBMTR: Hier überleben etwa 50% der Patient:innen mit AML in CR1 bzw. C2+ und etwa 63% bei ALL (41) .

4.4 EINORDNUNG VON ERGEBNISSEN, DIE IM WIDERSPRUCH ZUR AKTUELLEN STUDIENLAGE STEHEN

4.4.1 DLI-Einsatz

Der Einsatz von DLIs ergab in der Kaplan-Meier-Analyse ein hochsignifikantes Ergebnis, was in völligem Widerspruch zu zahlreichen Arbeiten steht, die einen protektiven Effekt der DLIs gegenüber Rezidiven belegen. Dieser ließ sich sowohl bei prophylaktisch als auch therapeutisch eingesetzten DLIs nachweisen: So kam eine 2020 erschienene Metaanalyse zum Ergebnis, dass zur Rezidivprophylaxe eingesetzte DLIs (pDLIs) zu einer deutlich geringeren Rezidivrate und einem höheren Gesamtüberleben führten (122) . Auch DLIs, die zur Therapie eines bereits bestehenden Rezidivs eingesetzt werden (tDLIs), haben einen positiven Effekt auf die Überlebenszeit, wenngleich dieser geringer ausgeprägt ist als bei den pDLIs. Dies liegt daran, dass tDLIs häufig als 'Bergungstherapie' eingesetzt werden. Sie stellen eine Zusatzoption nach bereits ausgeschöpfter Standardtherapie dar, weshalb der Erkrankungszustand sowie die Prognose in diesen Fällen bereits sehr kritisch sind (123, 124) . Da die vorliegende Arbeit jedoch nicht zwischen prophylaktisch und therapeutisch eingesetzten DLIs unterscheidet, kommt es zu einer Verzerrung in der Analyse: tDLIs sind aufgrund ihrer Indikationsstellung zwangsläufig an das Auftreten eines Rezidivs gekoppelt. Dies erklärt einerseits den starken Zusammenhang zwischen DLI-Einsatz und Rezidivrate. Zudem sind auch pDLIs indirekt mit einer höheren Rezidivrate verbunden, da die Prophylaxe insbesondere bei Patient:innen mit hohem Rezidivrisiko erfolgt. Auch dies kann die stark positive Assoziation von DLIs und Rezidiven erklären. Somit stehen die erhobenen Ergebnisse nur scheinbar im Widerspruch zur aktuellen Studienlage, da die vorliegende Arbeit keinen kausalen, sondern einen der Indikationsstellung geschuldeten abhängigen Zusammenhang zwischen DLIs und Rezidivrate dokumentiert.

4.4.2 Allgemeine akute GvHD

In der Einleitung wurde bereits dargestellt, dass insbesondere eine mild ausgeprägte allgemeine akuten GvHD (Stadium 2) vor Rezidiven schützen kann (42). Dieser Zusammenhang ließ sich jedoch beim vorliegenden Kollektiv nicht beobachten. Ein Grund hierfür kann sein, dass sich die zitierte und die vorliegende Arbeit hinsichtlich der Grunderkrankungen unterscheiden; zwar ist in beiden Arbeiten die AML die häufigste Grunderkrankungsart und gleichzeitig zu ähnlichen Anteilen vertreten, jedoch kommt die ALL sowie die CML in der Studie von Horowitz et al. zu je deutlich größeren Anteilen vor (42). Denkbar ist somit, dass die allgemeine akute GvHD insbesondere auf diese drei Erkrankungsarten einen protektiven Effekt hat, dieser bei anderen Erkrankungen, die jedoch in der vorliegenden Arbeit mit einem großen Anteil vertreten sind (Myelome, NHL, MDS) weniger stark oder gar nicht vorhanden ist. So konnte für myelodysplastische Syndrome bisher kein solcher Effekt nachgewiesen werden (125), und auch bei verschiedenen Non-Hodgkin-Lymphomen zeigt sich dieser nicht eindeutig (126).

Daneben ist die Proband:innenzahl in der Studie von Horowitz et al. etwa doppelt so groß wie die der vorliegenden Arbeit, wodurch der Effekt möglicherweise noch deutlicher detektiert werden konnte.

4.4.3 Konditionierung

Die vorliegende Arbeit konnte keinen Zusammenhang zwischen der Konditionierung und der Rezidivrate beobachten. Dies steht im Gegensatz zur Meta-Analyse von Wahid et al., die für die RIC insgesamt ein höheres Rezidivrisiko aufzeigt als für die MAC (39, 40). Jedoch wird die Studie hierfür gepoolt, und sie umfasst über 20 Einzelstudien – davon kann etwa die Hälfte keinen Unterschied zwischen RIC und MAC hinsichtlich des Rezidivrisikos nachweisen, sodass das Ergebnis der vorliegenden Arbeit nicht im Widerspruch zur aktuellen Studienlage steht. Zudem resümieren Barrett et al., dass die bisherige GvL-Forschung den vom Konditionierungsregimen geleistete Beitrag zum GvL-Effekt eher überschätzt habe. Vielmehr solle zukünftig die Rolle von Immunzellen wie T-Lymphozyten untersucht werden (31).

4.5 DISKUSSION DER MITTELS COX-REGRESSION ERMITTELTEN UNABHÄNGIGEN RISIKOFAKTOREN FÜR REZIDIVE

4.5.1 Nicht-myeloische Grunderkrankung

Die Cox-Regression zeigt, dass nicht-myeloische Grunderkrankungen ein erhöhtes Rezidivrisiko aufweisen. Dies steht im Widerspruch zu Beobachtungen von Barrett et al.: Laut den Autor:innen zeigen nicht-myeloische Erkrankungen wie Lymphome und die CLL eine geringere Rezidivneigung, da der GvL-Effekt hier besser greift (31). Dies liegt vermutlich daran, dass Lymphome und CLL eine geringere Proliferationsrate aufweisen. Die Tumorlast dieser Erkrankungen ist für das neue, noch unreife Immunsystem daher wohl leichter kontrollierbar als bei schneller proliferierenden Tumorzellen wie bei akuten Leukämien oder dem MDS (31). Eine Erklärung für das erhöhte Rezidivrisiko in der vorliegenden Patieng:innengruppe mit nicht-myeloischen Erkrankungen könnte sein, dass hier bereits eine Vorselektion stattgefunden hat: Während bei myeloischen Erkrankungen wie der AML eine alloSZT viel häufiger eingesetzt wird und oft Mittel der ersten Wahl ist, kommen bei nicht-myeloischen Erkrankungen zunächst eher herkömmliche Chemotherapien oder eine autologe Stammzelltransplantation zum Einsatz. Eine alloSZT wird hier erst dann erwogen, wenn es sich um schwere Krankheitsverläufe und somit besonders aggressive Erkrankungen handelt. Diese wiederum haben eine höhere Rezidivneigung als der Durchschnitt der nicht-myeloischen Erkrankungen und vermutlich auch viele der akuten Leukämien, welche zwar schnell proliferieren, aber per alloSZT häufig vollständig in Remission gehen.

4.5.2 Stadium

Art und Stadium der Grunderkrankung sind bei einer alloSZT eng miteinander verbunden, da ihre Kombination über die Indikation zur alloSCT entscheidet. Darüber hinaus kann das Stadium auch das Rezidivrisiko beeinflussen, wie Barrett et al. beschreiben: Laut des „international prognostic scoring system“ (31) weisen fortgeschrittene Erkrankungsstadien eine Rezidivrate von „40-80%“ auf und werden deshalb auch als Hochrisiko-Faktor eingestuft (31). Ein ähnliches Ergebnis liefert auch die vorliegende Arbeit: Ein fortgeschrittenes Stadium ist mit einer deutlich höheren Rezidivneigung assoziiert.

Erklären lässt sich dies möglicherweise ebenfalls anhand der höheren Tumorlast, die bei einem fortgeschrittenen Erkrankungsstadium vorliegt. Im Rahmen der Konditionierung und anschließenden alloSZT müssen so mehr Tumorzellen eliminiert werden als bei niedrigeren Erkrankungsstadien, und das Risiko, dass dies nicht vollständig gelingt, ist größer. Die

überlebenden Tumorzellen können dann insbesondere in der frühen Phase nach alloSZT wieder verstärkt proliferieren, da sich das neue Immunsystem noch im Aufbau befindet (31). Dies kann wiederum erklären, warum die meisten Rezidive relativ früh, also innerhalb eines Jahres nach alloSZT, auftreten, wie bereits im Kapitel 'Outcome' erwähnt. Neben der höheren Tumorlast weisen fortgeschrittene Erkrankungen zudem eine stärkere Aggressivität und Resistenz gegenüber dem Immunsystem bzw. Immune-Escape auf, da sie bereits einen längeren Selektionsprozess durchlaufen haben könnten (33). Auch das neu transplantierte Immunsystem hat möglicherweise Schwierigkeiten darin, diese gut angepassten Zellen zu detektieren und erfolgreich zu eliminieren.

4.5.3 Chronische GvHD

Im Gegensatz zur allgemeinen GvHD konnte die vorliegende Arbeit für die chronische GvHD einen deutlich negativen Zusammenhang mit der Rezidiventwicklung nachweisen. Dieser protektive Effekt wurde ebenfalls von Horowitz et al. beschrieben und konnte im Verlauf insbesondere bei der AML, CML sowie dem MDS beobachtet werden (42, 127, 128), welche je auch im vorliegenden Kollektiv häufig vertreten sind.

Die schützende Wirkung der chronischen GvHD könnte einerseits indirekter Natur sein und v.a. auf die protektive Wirkung einer akuten GvHD zurückzuführen sein: Wie bereits in der Einleitung beschrieben, kann sich eine chronische GvHD auf dem Boden einer akuten GvHD entwickeln. Wenn es sich dabei um eine Grad-2-aGvHD handelt, deren protektiver Effekt bereits dargestellt worden ist, wäre eine darauffolgende chronische GvHD so möglicherweise nicht direkt für den Rezidivschutz verantwortlich. Eingeschränkt wird diese Hypothese von der Beobachtung, dass die Inzidenz einer chronischen GvHD mit vom Grad der akuten GvHD ansteigt, eine milde Grad-2-aGvHD führt somit seltener zu einer chronischen GvHD als einer höhergradige akute GvHD (129). Zudem wird beschrieben, dass der schützende Effekt der milden aGvHD insbesondere dann auftritt, wenn zugleich die Inzidenz der chronischen GvHD niedrig ist (42). Daneben wäre davon auszugehen, dass die vorliegende Cox-Regression im Falle eines 'indirekten' Zusammenhangs zwischen chronischer GvHD und Rezidivrate einen signifikanten Zusammenhang zwischen akuter GvHD und Rezidiven detektiert hätte.

Ein direkter Zusammenhang zwischen chronischer GvHD und Rezidiven könnte vielmehr damit erklärt werden, dass die immunologische Aktivität im Rahmen einer chronischen GvHD besonders stark ausgeprägt ist und diejenige der akuten GvHD übertrifft. Die über einen langen Zeitraum bestehende Dominanz von Effektor-T-Zellen und die zusätzliche autoimmune

Komponente (Spender-T-Zellen richten sich gegen andere Spender-Zellarten) könnten besonders effektiv zu einer Reduktion von Tumorzellen führen und so vor Rezidiven schützen (28, 29) .

4.6 DISKUSSION DER ERGEBNISSE ZUR DARM-GvHD

Eine der Hypothesen der Doktorarbeit war, dass die akute Darm-GvHD anders als andere aGvHD-Arten keinen protektiven Effekt hinsichtlich Rezidiven hat. In der Literatur finden sich bisher nur wenige Arbeiten, welche die Beziehung zwischen Darm-GvHD und Rezidiv-Entwicklung untersuchen, ein protektiver Effekt der Darm-GvHD zeichnet sich in den Ergebnissen jedoch nicht ab. Vielmehr gibt es sogar Hinweise darauf, dass eine Darm-GvHD zu einem erhöhten Rezidiv-Risiko führen könnte - im Folgenden werden die verschiedenen Arbeiten zusammengefasst:

4.6.1 Chronische intestinale Entzündung beeinträchtigt Ausbildung des GvL-Effekts

Im Rahmen einer Darm-GvHD kommt es zu einer entzündlichen Aktivität in der Darmschleimhaut, was zur Schädigung intestinaler Stammzellen führen kann. Diese tragen normalerweise maßgeblich zur Regeneration des Darmepithels bei, beispielsweise im Falle Konditionierungs- oder GvHD-bedingter Schäden. Ist die Darmregeneration aufgrund der beeinträchtigten Stammzellfunktion verzögert, kann dies wiederum eine bereits bestehende GvHD im Sinne eines Teufelskreises verstärken (21, 22) . Zudem ist eine intakte Darmschleimhaut nach erfolgter Konditionierung der wichtigste 'Rückzugsort' für antigenpräsentierende Zellen (APCs) des Empfängers (12) . Diese APCs können zwar einerseits eine aGvHD triggern, andererseits aber auch einen starken GvL-Effekt hervorrufen, da sie mit alloreakiven T-Zellen wechselwirken und dadurch deren Proliferation und GvL-Aktivität fördern (24, 130) . Dass ausgerechnet eine akute Darm-GvHD keine solchen GvL-Effekte bewirken, sondern stattdessen sogar eine gegensätzliche Wirkung zeigen könnte, könnte mit der GvHD-bedingten Entzündung des Darmepithels zusammenhängen: Diese könnte das Wechselwirken zwischen APCs und alloreaktiven Spender-T-Zellen beeinträchtigen und die Ausbildung eines ausreichend starken GvL-Effekts verhindern.

4.6.2 Darm-GvHD-bedingte Schädigung des Mikrobioms und Auswirkung auf GvL-Effekt

Der Darm unterscheidet sich zu anderen, für die aGvHD prädestinierten Organe wie Leber oder Haut, maßgeblich in einem Punkt: Er beinhaltet den größten Anteil des Mikrobioms des menschlichen Körpers.

Neben dem Darmepithel kann auch das Mikrobiom von der aGvHD betroffen sein: Bspw. wirkt sich die Schädigung der Paneth-Zellen nicht nur negativ auf die Epithelstruktur selbst, sondern auf das umliegende Mikrobiom aus. Eriguchi et al. konnten im Mausmodell zeigen, dass ein Darm-GvHD bedingter Verlust von Paneth-Zellen die Mikrobiom-Vielfalt verringerte und zur Expansion einzelner Taxa wie bspw. *E.coli* führte. Dieser Effekt war unabhängig von bereits existierenden Konditionierungs-Schäden und korrelierte mit dem Schweregrad der Darm-GvHD (66) .

Da das Mikrobiom nicht nur mit der Darm-GvHD, sondern auch mit dem GvL-Effekt wechselwirkt, könnte es somit als Bindeglied zwischen akuter Darm-GvHD und erhöhter Rezidivneigung agieren. Zu dieser Theorie liegen bisher nur wenige Studien vor, welche im Folgenden kurz dargestellt werden:

4.6.3 Mikrobiom und GvHD

Zunächst sollen bisherige Erkenntnisse zum Zusammenspiel zwischen Mikrobiom und akuter GvHD zusammengefasst werden.

Im Rahmen einer GvHD lässt sich ein Rückgang der Mikrobiomvielfalt beobachten; die GvHD fällt umso stärker aus, je ausgeprägter die Dysbiose ist. Im Falle einer Darm-GvHD kommt es hier, im Gegensatz zu anderen GvHD-Lokalisationen, zu einem besonders starken Dominanz-Shift von strikt anaeroben zu fakultativ anaeroben Bakterien (113, 131, 132) . Laut Seike et al. kommen diese Mikrobiomveränderungen durch eine T-Zell-vermittelte Erhöhung des intestinalen Sauerstoffgehaltes zustande und sind wohl eher als Folge denn als Ursache der GvHD zu werten. Zudem könnte bei einer T-Zell-vermittelten Epithelschädigung auch die Mukusschicht in Mitleidenschaft gezogen werden, was wieder die dort lebenden Bakterien schwächen könnte. Die gleiche Studie hebt außerdem hervor, dass ein intaktes Mikrobiom vor einer Darm-GvHD schützen kann – im Mausmodell fiel die akute GvHD stärker bei keimfreien Tieren aus als bei solchen mit vorhandenem Mikrobiom (132) . Diese Erkenntnis unterstreicht wiederum die Ergebnisse einer früheren Studie von Weber et al.: Hier erhöhte das Vorliegen einer Antibiotika-vermittelten Mikrobiomstörung nach alloSZT die GvHD-Mortalität deutlich.

Die früh nach der Transplantation eingesetzten Breitspektrumantibiotika richteten sich u.a. gegen obligate Anaerobier wie *Clostridien* und führten zu starken GvHD-Ausprägungen, was sich wiederum mit der Beobachtung vereinbaren lässt, dass der Grad der GvHD mit dem Grad der mikrobiellen Dysbiose korreliert (96, 113, 131) .

Aus der großen Gruppe der obligat anaeroben Bakterien konnten bereits einige Mitglieder identifiziert werden, die eine besondere Rolle im Hinblick auf die GvHD spielen:

So kommt es im Rahmen einer akuten Darm-GvHD typischerweise zu einem Verlust der zur Klasse *Clostridia* gehörenden *Clostridiales* (*grampositive Stäbchen*). Diese können nach einer alloSZT substituiert werden und somit möglicherweise vor einer GvHD schützen (133) . Ebenfalls der Klasse *Clostridia* angehörend sind die Genera *Roseburia* und *Blautia*, welche beide aus der Familie der *Lachnospiraceae* stammen und auch zu *Clostridium Cluster XIVa* zählen. Für beide wurde ein Einfluss auf das GvHD-Risiko nachgewiesen: Verringerte Mengen an *Roseburia* früh nach alloSZT sind mit einem gesteigerten GvHD-Risiko assoziiert, erhöhte Zahlen an *Blautia* mit einem niedrigeren GvHD-Risiko und besserem Gesamtüberleben (82, 134) .

Diese Erkenntnisse legen wiederum nahe, dass die intestinale Dysbiose nicht nur Folge einer akuten GvHD, sondern auch deren Ursache sein kann, zumal sie laut Da Burgos Silva et al. bereits mehrere Wochen vor der GvHD-Manifestation messbar sein kann (135) . Verursacher der Dysbiose kann in diesem Fall wiederum der Einsatz von Antibiotika sein, was wieder einen Bogen zur Studie von Weber et al. spannt (96, 134) . Gründe für die protektiven Effekte des Mikrobioms gegenüber einer GvHD können vielfältig sein; wichtige Akteure sind hier auch bakterielle Metabolite, bspw. das von den Anaerobiern produzierte Butyrat sowie Reg-3-a und UIS, welche allesamt mit dem Darmepithel interagieren und dieses resistenter gegenüber T-Zell-vermittelten Schäden machen könnte (62, 89–92, 136) .

4.6.4 GvL-Effekt durch Molekulares Mimikry, Antigen-Kreuzreaktion und Immunsystem-Modulation

Für eine direkte Beteiligung des Mikrobioms am GvL-Effekt gibt es mehrere Erklärungsansätze: Einerseits könnten bakterielle Oberflächenproteine eine Ähnlichkeit zu Tumor-Antigenen aufweisen, und das Mikrobiom so die Spender-T-Zellen via Antigen-Mimikry oder Kreuzreaktion gegen Tumorzellen sensibilisieren. Dafür müssen die bakteriellen Bestandteile zunächst von APCs aufgenommen und präsentiert werden - und diese halten sich nach alloSZT tatsächlich insbesondere in der Darmmukosa auf (12, 24) . Die Aktivierung der T-Zellen könnte einerseits ohne einen Übertritt von Bakterien bzw. bakteriellen Bestandteilen

über die Darmbarriere erfolgen. In diesem Fall könnte es zu einer Sensibilisierung bzw. einem Priming von T-Zellen mittels APCs, welche bakterielle Bestandteile präsentieren, noch im Darm kommen. Die auf diese Weise aktivierten Effektor-T-Zellen könnten noch direkt vor Ort wirken. Es gibt jedoch auch Hinweise, dass nach erfolgtem Priming eine Auswanderung der T-Zellen nach extraintestinal stattfinden könnte – dieses Verhalten widerspricht der Hypothese, dass sich geprimte T-Zellen nur innerhalb des Bereiches ihres ursprünglichen Primings bewegen. Initiiert werden könnte die Migration durch ein starkes Signal in Form eines Chemokin-Gradienten, welcher durch ein extraintestinales Tumorstadium entsteht (77, 137). Die Auswanderung könnte bei ausreichend starkem Chemokin-Gradienten sogar unmittelbar nach dem Priming geschehen und zu einer systemischen Wirkung führen. Außerhalb des Darms könnten die Effektor-T-Zellen dann auf verbliebene oder neu gebildete Tumorzellen treffen und mit diesen reagieren, sofern die Tumoroberfläche eine Ähnlichkeit zu den im Darm präsentierten Antigenen aufweist.

Andererseits könnten aber auch Bakterien und deren Oberflächenantigene selbst vom Darmlumen nach extraintestinal gelangen, insbesondere nach Schädigung der Darmbarriere aufgrund von Konditionierung oder Darm-GvHD (138, 139). Nach diesem Erklärungsansatz wären es die Darmbakterien selbst, die in anderen Körperbereichen von APCs präsentiert werden und lokale T-Zellen aktivieren (77, 140).

Daneben kann das Mikrobiom auch indirekt an der Tumorbekämpfung beteiligt sein, indem es das Immunsystem moduliert: Es kann zum Beispiel zur Ausschüttung verschiedener Zytokine führen, welche wiederum verschiedene Reaktionen des angeborenen Immunsystems auslösen und über mehrere Schritte zu einer verstärkten 'Tumorüberwachung' führen, wie Zitvogel et al. und Coussens et al. resümieren (77, 141). Die Autor:innen merken an, dass neben dem oben bereits erwähnten molekularen Mimikry bzw. einer Antigen-Kreuzreaktion durchaus auch noch andere, bisher unbekannte Mechanismen existieren könnten (77). Darauf deutet auch Ergebnisse von Peled et al. hin, die einen schützenden Effekt von *Eubacterium limosum* gegenüber Rezidiven zeigen konnten. Dieser Effekt kam nur zustande, wenn reife T-Zellen transplantiert wurden, nicht aber bei T-Zell-Depletion; es ist also naheliegend, dass *Eubacterium limosum* in irgendeiner Weise mit dem Immunsystem in Form der T-Zellen interagieren und so die Rezidivrate senken kann.

Zudem gibt es bereits Studien am Tiermodell wie auch am Menschen, die einen konkreten Einfluss des Mikrobioms auf die Entstehung verschiedener Tumorarten nachweisen konnten: So beobachteten Sivan et al., dass das bloße Vorhandensein von *Bifidobacterium* im

Mausmodell via verschiedener immunmodulatorischer Schritte das Melanom-Wachstum reduzierte (142). Cheng et al. zeigten, dass Mäuse nach einer Antibiotika-Behandlung häufiger Tumoren entwickelten, was Ergebnis einer Schwächung des Immunsystems war. Die Immunschwäche war wiederum durch eine Störung des Mikrobioms nach Antibiotika-Anwendung verursacht worden (143). Auch bei Menschen ließ sich ein Zusammenhang zwischen häufiger Antibiotika-Exposition und der Entstehung verschiedener Krebsarten nachweisen, was ebenfalls durch die Antibiotika-vermittelte Mikrobiomstörung und deren schwächende Effekte auf das Immunsystem erklärt werden kann (144). Doch nicht nur Antibiotika können das Mikrobiom negativ verändern: Bereits eine verstärkte Hygiene im Alltag, bei der es zu einer geringeren Exposition gegenüber bestimmten Bakterien kommt, kann zu einer Unterentwicklung des Mikrobioms führen. Auch dies kann laut Oikonomopoulou et al. die Zunahme von Inzidenzen verschiedener Krebsarten erklären und lässt sich analog zu oben auf eine Mikrobiom-bedingte Schwächung des Immunsystems zurückführen (145).

4.6.5 Bakterien mit direktem protektivem Effekt hinsichtlich Rezidiven

PCR-Analysen ermöglichen es, das Mikrobiom bis auf die Ebene der Bakterienspezies zu untersuchen. So konnte bereits eine Bakterienarten identifiziert werden, die speziell vor Rezidiven schützt: Wie Peled et al. zeigten, kann *Eubacterium limosum*, welches zu *Clostridiales* gehört, das Risiko eines Tumorprogresses und Rezidivs signifikant verringern. Dieser Effekt zeigt sich bereits bei seiner bloßer Anwesenheit im Mikrobiom der Patienten:innen: Während die Rezidivrate bei Personen ohne *Eubacterium limosum* nach 2 Jahren bei etwa 34% lag, betrug sie bei dessen Vorhandensein nur etwa 20% und somit 14 Prozentpunkte weniger. Insgesamt scheint der protektive Effekt besonders bei hohen Mengen dieser Bakterienart zu greifen, allerdings ist der zugrunde liegende Mechanismus noch nicht geklärt (146). Bisher ist lediglich bekannt, dass *Eubacterium limosum* verschiedene SCFAs produziert und über diesen Mechanismus nachweislich die Symptome einer Kolitis abmildern kann (147). Somit ist denkbar, dass auch der Schutz vor Rezidiven mittels SCFAs vermittelt wird. Dieser Effekt fällt in den Forschungsbereich der Metabolomics und wurde bereits im Butyrat-Kapitel in Zügen dargestellt.

4.6.6 Schlussfolgerungen zum möglichen positiven Zusammenhang zwischen akuter Darm-GvHD und Rezidiven mittels 'Bindeglied' Mikrobiom

Im Folgenden soll nochmals zusammengefasst werden, wie die akute Darm-GvHD mit Hilfe des 'Bindeglieds' Mikrobiom die Rezidivrate nach alloSZT beeinflussen kann, und welche Fragen diesbezüglich noch offen sind.

In der Literatur gibt es verschiedene Hinweise darauf, dass eine Darm-GvHD die Zusammensetzung des Mikrobioms auf vielfältige Weise stören kann. Dadurch könnte es zur Vermehrung von Bakterienarten kommen, die über noch unbekannte Mechanismen die Rezidivneigung fördern. So wäre es beispielsweise interessant zu wissen, welche konkrete Rolle die für die Darm-GvHD sehr typische relative Zunahme an *Enterococcaceae* und *Staphylococcaceae* und Abnahme an *Lachnospiraceae* spielt sowie die konkreten Auswirkungen des veränderten Verhältnisses zwischen strikt und fakultativ anaeroben Bakterien. Zudem ist noch nicht eindeutig, welche dieser Veränderungen Ursache oder Folge der Darm-GvHD sind. Auch über Pathomechanismen, welche die Rezidiventwicklung begünstigen könnten, lässt sich bisher nur spekulieren – bspw. anhand der Schädigung der Darmmukosa und Beeinträchtigung der APC-T-Zell-Wechselwirkung.

Auch könnten durch die Umverteilung innerhalb des Mikrobioms nützliche Bakterienarten wie *Eubacterium limosum* verdrängt und auf diese Weise der GvL-Effekt reduziert werden. Daneben könnte eine generelle Abnahme der Mikrobiom-Vielfalt Auswirkungen auf die Rezidivrate haben: Dadurch wäre die Zahl und Vielfalt an bakteriellen Oberflächenproteinen, die als potentielle Liganden für T-Zellen zur Verfügung stehen, verringert. Das T-Zell-Priming mittels molekularen Mimikrys wäre deshalb sowohl zahlenmäßig reduziert als auch weniger breit gefächert, was wiederum zu einem schwächer ausgebildeten GvL-Effekt führen könnte.

4.6.7 Möglicher Zusammenhang zwischen akuter Darm-GvHD, chronischer GvHD und Rezidiven

Darüber hinaus muss die Rolle der chronischen GvHD in das Erklärungsmodell miteinbezogen werden: Die vorliegende Arbeit konnte für die cGvHD einen stark ausgeprägten protektiven Effekt hinsichtlich Rezidiven nachweisen. Dass dies u.a. aufgrund der im Rahmen einer cGvHD bestehenden langanhaltenden Alloreaktion zurückzuführen ist, wurde bereits in 3.5.3 dargestellt. Zwar gibt es noch keine Studien, die gezielt die Assoziation zwischen akuter Darm-GvHD und Inzidenz der chronischen GvHD untersuchen, jedoch legt die klinische Beobachtung nahe, dass gerade auf eine akute Darm-GvHD deutlich seltener eine cGvHD des

Darms folgt als an anderen GvHD-Organen. Bleibt die Ausbildung einer cGvHD auf diese Weise aus, fehlt eine starke protektive Komponente und das Rezidivrisiko steigt.

4.6.8 Möglicher protektiver Effekt der akuten Darm-GvHD in Bezug auf Rezidive

Im Gegensatz dazu soll nun noch dargestellt werden, welche Studien einen protektiven Effekt der akuten Darm-GvHD vor Rezidiven diskutieren, da auch dies als ein mögliches Ergebnis der obigen Auswertung zu erwägen war, insbesondere, weil die allgemeine akute Darm-GvHD tendentiell vor Rezidiven schützt: Wie bereits in der Einleitung dargestellt, wiesen Weiden et al. und Horowitz et al. bereits vor mehreren Jahrzehnten den protektiven Effekt der allgemeinen akuten GvHD hinsichtlich Rezidiven nach, welcher insbesondere bei einer milden Grad-2-aGvHD zu beobachten ist (42, 46) .

Die akute GvHD mit ihren drei Phasen ist Ausdruck einer starken Aktivierung verschiedener Immunzellen, die einerseits sichtbare Gewebeschäden verursachen, andererseits aber auch Tumorzellen bekämpfen können (19) . Letzteres könnte theoretisch zwar auch ohne jegliche GvHD geschehen, jedoch deuten mehrere Studien darauf hin, dass diese nicht in einer aGvHD resultierenden Immunaktivität zu schwach ist, um ein erneutes Tumorwachstum und somit Rezidiv zu verhindern (42) . Dies spiegelt sich auch darin wieder, dass die meisten Rezidive wenige Monate postTx auftreten, also in die Zeitspanne fallen, in der sich das neue Immunsystem noch im Aufbau befindet (44) . Bei einer akuten GvHD sind die Immunzellen jedoch überschießend aktiv, darunter auch die Spender-T-Zellen, welche hauptverantwortlich für die Tumorzell-Erkennung und -Bekämpfung sind (148) . So kann eine akute GvHD des Darmes als Zeichen für eine starke T-Zell-Aktivierung mit Folge einer effektiven Tumor-Bekämpfung gewertet werden.

Des Weiteren ist denkbar, dass die aktivierten Immunzellen auch schneller auf maligne Zellen treffen könnten, die der Konditionierung entgangen und bspw. auch eher in der Peripherie anzutreffen sind. Dafür müssten die Immunzellen im Rahmen der aGvHD tendenziell früher und stärker in verschiedene Kompartimente des Körpers migrieren, als bei dies bei fehlender GvHD der Fall ist.

Daneben ist insbesondere bei der akuten Darm-GvHD zu diskutieren, dass die Schädigung der Darmbarriere einerseits eine Translokation von Immunzellen in beide Richtungen erleichtert, andererseits aber auch einen Übertritt von Bakterien und bakteriellen Bestandteilen, was im ungünstigsten Falle in einer Sepsis resultieren kann. Der Übertritt von bakteriellen

Bestandteilen ins Blut könnte jedoch auch einen vorteilhaften Effekt haben, indem dadurch die Aktivierung von Host-APCs und in der Folge Effektor-T-Zellen verstärkt werden könnte. Dies ist auch bei einer Konditionierungs-bedingten Schädigung der Darmmukosa zu beobachten (138, 139). In Erwägung der Molekular-Mimikry- bzw. Antigen-Kreuzreaktion-Hypothese könnte die Expansion bakterieller Bestandteile zudem zu einer effektiveren Tumorbekämpfung führen, da insgesamt eine höhere Zahl an T-Zellen auf eine größere Menge bakterieller Oberflächenantigenen in mehreren Kompartimenten des Körpers geprimed werden könnte. Dieser Erklärungsansatz steht im Gegensatz zur weiter oben formulierten Hypothese, dass eine Darm-GvHD eine derartig stark ausgeprägte Mikrobiomstörung verursacht, dass dies mit einer geringeren mikrobiellen Vielfalt, einem Schwund potentieller Oberflächenantigene und somit einem schwächeren GvL-Effekt einhergehen könnte. Letzteres Erklärungsmodell muss wiederum kritisch hinterfragt werden, da Peled et al. bspw. keinen Zusammenhang zwischen veränderter Mikrobiom-Diversität und Rezidivrate finden konnte (146). Somit könnten die negativen Auswirkungen der GvHD-bedingten Mikrobiomstörung möglicherweise weniger stark zu gewichten sein als die potentiellen Vorteile durch die erleichterte Auswanderung von T-Zellen und Oberflächenantigenen über die Darmbarriere hinweg. Insbesondere die Hypothese in 3.6.7 widerspricht diesem Erklärungsmodell jedoch.

4.7 KRITISCHE BEURTEILUNG DER DIREKTEN UND INDIREKTEN MIKROBIOM-PARAMETER

In der vorliegenden Arbeit wurden sechs Mikrobiom-assoziierte Parameter auf ihre Geeignetheit als mögliche Rezidiv-Marker untersucht. So konnten für das aGvHD-Risiko bereits mehrere solcher mikrobiellen Marker identifiziert werden, und die in 2.4.4 aufgeführten Verbindungen zwischen GvHD, Darm-Mikrobiom und Rezidiven legen nahe, dass es auch messbare Mikrobiom-assoziierte Parameter geben könnte, die stark mit Rezidiven verbunden sind. Ein solcher prognostischer Marker konnte in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht gefunden werden, in der Cox-Regression zeigte sich für keinen der sechs Parameter eine signifikante Assoziation mit dem Rezidivrisiko.

Im Folgenden werden die einzelnen Parameter noch näher diskutiert.

4.7.1 Reg-3- α -Spiegel

Reg3- α wird von den Paneth-Zellen produziert, ist somit ein indirekt Mikrobiom-assoziiertes Parameter und könnte über verschiedene Mechanismen positiv oder negativ mit Rezidiven

assoziiert sein. Unter Berücksichtigung der aktuellen Studienlage ist am ehesten davon auszugehen, dass Reg-3- α über einen indirekten Mechanismus vor Rezidiven schützen kann. Grund für diese Annahme ist der bereits in der Einleitung erwähnte L-Ornithin-steigernde Effekt von Reg-3- α mittels Interaktion mit *Lactobacilli*, was wiederum zur Stärkung des Darm-Epithels und der Darm-Barriere beitragen kann. (67, 68) -70). Die Darmschleimhaut ist wiederum Rückzugs- und Wirkort der antigenpräsentierenden Zellen (APCs), welche maßgeblich zum GvL-Effekt beitragen können. Der GvL-Effekt könnte somit umso stärker ausfallen, je 'physiologischer' der Zustand des Darm-Epithels ist, da dies die Aktivität der APCs erleichtert; die Stabilität des Darm-Epithels kann wiederum durch eine ausreichend hohe L-Ornithin-Ausschüttung gefördert werden (12, 24, 130, 149) .

Da die Höhe des im Blut gemessenen Reg-3- α -Spiegels positiv mit dem Grad der Darmschädigung korreliert, wäre unter Annahme der obigen Argumentation davon auszugehen gewesen, dass die Gruppe mit Reg-3- α -Werten oberhalb des Medians häufiger Rezidive entwickelt – je schwächer bzw. durchlässiger die Darm-Blut-Schranke, desto höher die Reg-3- α -Konzentration im Blut.

Letztlich konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich der Rezidivrate detektiert werden. Da bezüglich des Zusammenhangs zwischen Reg-3- α und Rezidiven bisher keinerlei Literatur existiert, gibt es aktuell keine Daten zum Vergleich, die eine Prüfung auf Plausibilität ermöglichen würden. Eine Schwäche der vorliegenden Reg-3- α -Analyse könnte darin bestehen, dass das entsprechende Kollektiv mit insgesamt 77 Patient:innen sehr klein ist. Möglicherweise hätte man bei einem größeren Kollektiv signifikante Veränderungen des Reg-3- α -Spiegels leichter detektieren können.

Zudem ist darauf hinzuweisen, dass Reg-3- α im menschlichen Körper zu finden ist, sich viele der für die obige Darstellung verwendeten Studien jedoch auf dessen Korrelat Reg-3- γ berufen, welches im Mausmodell vorkommt. Es ist theoretisch denkbar, dass beide Proteine nicht ohne Weiteres direkt miteinander vergleichbar sind, sondern ein leicht unterschiedliches Wirkprofil aufweisen, welches die negativen Ergebnisse bei Studien am Menschen erklären könnte.

4.7.2 Simpson-Index als Diversitäts-Marker

Daneben wurde untersucht, ob sich die Mikrobiom-Vielfalt, welche in der vorliegenden Arbeit mithilfe des Simpson-Diversitäts-Index abgebildet wurde, auf die Rezidivrate nach alloSZT auswirkt. Zu berücksichtigen ist, dass der Index sowohl die Zahl der vorhandenen Arten als auch die Gleichmäßigkeit der Verteilung aller Arten widerspiegelt.

Auch hier ist einerseits wieder das Vorliegen eines indirekten Zusammenhanges zwischen Mikrobiom-Vielfalt und Rezidiven denkbar, bspw. über eine Verbindung durch den vermuteten Rezidiv-fördernden Effekt der Darm-GvHD. Da dieser im vorliegenden Kollektiv letztlich jedoch nicht nachgewiesen werden konnte, ist der obige Erklärungsansatz nicht stichhaltig.

Ein direkter Zusammenhang zwischen Mikrobiom-Vielfalt und Rezidiven wäre folgendermaßen denkbar: Einerseits könnte eine Reduktion oder auch vollständige Eliminierung bestimmter, vor Rezidiven schützenden Bakterien wie bspw. *Clostridiales* (insbesondere *Eubacterium limosum* (146)) zu einem erhöhten Rezidiv-Risiko führen. Der Simpson-Diversitäts-Index würde in diesem Fall geringer ausfallen als vor alloSZT. Eine Reduktion protektiver Bakterienarten könnte einerseits ein völlig unabhängiger, mit Rezidiven verbundener Faktor sein; andererseits könnte sie auch Folge eines frühen und auf ein breites Spektrum abzielenden Antibiotika-Einsatzes sein, wie er im Rahmen von neutropenem Fieber nach alloSZT vorkommt. Dies hat insbesondere eine Reduktion von Mitgliedern von *Clostridium Cluster XIVa* zur Folge, was wiederum vielfältige negative Auswirkungen haben kann (s. Kapitel *Clostridium Cluster XIVa*). Da ein früher Antibiotika-Einsatz zudem mit einer höheren GvHD-assoziierten Mortalität verbunden ist, könnte eine Antibiotika-bedingte Abnahme der Mikrobiom-Vielfalt wiederum über weitere, mit einer GvHD verknüpften Mechanismen zu einer höheren Rezidiv-Rate führen (96, 113, 114) . Neben der Therapie eines neutropenen Fiebers werden Antibiotika auch im Rahmen der Darmdekontamination eingesetzt. Auch hier ist das Spektrum der betroffenen Bakterienarten unterschiedlich breit, wie bereits im Kapitel zur Darmdekontamination erläutert; analog zur Erklärung hinsichtlich des Antibiotika-Einsatzes bei neutropenem Fieber könnte auch abhängig vom gewählten Darmdekontamination-Regimen eine Störung der Mikrobiom-Vielfalt, Verringerung des Simpson-Index und Erhöhung des Rezidiv-Risikos verursacht werden.

Andererseits kommt es nach alloSZT typischerweise zu Dominanz von Enterokokken, Streptokokken und verschiedener Proteobakterien, was ebenfalls zu einer Verringerung des Simpson-Diversitäts-Index führen kann (112). So könnte einerseits ein möglicherweise vor Rezidiven schützender Effekt anderer Bakterienarten geringer ausfallen, da diese verdrängt werden; andererseits könnten die genannten dominierenden Gattungen unabhängig davon über noch unbekannte Mechanismen Rezidiv-fördernde Eigenschaften aufweisen.

Letztlich konnte im vorliegenden Kollektiv keine Assoziation zwischen Simpson-Diversitäts-Index und Rezidiv-Risiko beobachtet werden. Dies deckt sich mit den bisherigen

Forschungserkenntnissen: Die Bedingungen der vorliegenden Arbeit können gut mit der Studie von Taur et al. verglichen werden, die ein etwas kleineres Patient:innenkollektiv (80 Personen) und einen Erhebungszeitraum von 7 d nach alloSZT umfasst. Die Autor:innen konnten hier keinen Zusammenhang zwischen Simpson-Diversitäts-Index und Rezidiven beobachten (150). Zum gleichen Ergebnis kommen Peled et al. bei der Analyse eines deutlich größeren Kollektivs während eines längeren Erhebungszeitraumes (146).

Eine möglicher Kritikpunkt an der Verwendung des Simpson-Diversitäts-Index zur Darstellung der Mikrobiom-Vielfalt ist die Tatsache, dass der Index insbesondere die Dominanz bestimmter Bakterienarten widerspiegelt, das Vorhandensein von Arten mit jeweils wenigen Bakterienzahlen jedoch wenig gewichtet wird. Da bspw. *Eubacterium limosum* jedoch auch in geringen Mengen bzw. schon beim alleinigen Vorhandensein einen protektiven Effekt vor Rezidiven mit sich bringt, wäre es wichtig, dass ein Fehlen bzw. Vorhandensein anhand eines Diversitäts-Index ausreichend gut abgebildet werden kann (147).

4.7.3 UIS-Spiegel

Als indirekter Diversitäts-Parameter kann, wie bereits in der Einleitung beschrieben, der UIS-Spiegel herangezogen werden (82, 83).

Analog zu den Überlegungen in Kapitel 3.7.2 bezüglich des Zusammenhangs zwischen Mikrobiom-Vielfalt und Rezidivrisiko, hätte im Falle einer signifikanten Assoziation zwischen Darm-GvHD und Rezidiven der Einfluss des UIS-Spiegels diesbezüglich näher untersucht werden können. Eine solche Assoziation konnte letztlich nicht festgestellt werden, jedoch gibt es darüber hinaus andere Erklärungsansätze für eine mögliche Verbindung zwischen UIS-Spiegel und Rezidiven, die analog zu 3.7.2 anhand der Mikrobiom-Vielfalt bzw. -Störungen gegeben werden können: So konnten Weber et al. beobachten, dass insbesondere systemisch wirkende Breitspektrumantibiotika zu einer Abnahme des UIS-Spiegels führen, was auf eine Antibiotika-bedingte Abnahme von *Clostridiales* zurückgeführt werden kann. Auf die potentiell vor Rezidiven schützende Wirkung von *Clostridiales* wurde bereits im vorigen Kapitel eingegangen; entsprechend würde man bei einem erniedrigten UIS-Spiegel am ehesten von einer Zunahme von Rezidiven ausgehen. Darüber hinaus könnten weitere, noch unbekannte direkte wie indirekte positive oder auch negative Effekte von UIS bzw. eines der Tryptophan-Abbauprodukte existieren. Eine signifikante Assoziation mit der Rezidivrate konnte letztlich in der vorliegenden Analyse nicht gefunden werden.

Bisher liegen keine vergleichbaren Studien bezüglich des Zusammenhangs zwischen UIS-Spiegel und Rezidivrate nach alloSZT vor.

Da die hier analysierte Patient:innengruppe mit 260 Personen durchaus repräsentativ ist, ist das negative Ergebnis eher nicht auf eine zu kleine Gruppengröße zurückzuführen, sondern vielmehr auf einen tatsächlich fehlenden bzw. zu schwachen Zusammenhang.

4.7.4 *Clostridium* Cluster XIV

Wie bereits in 2.5.3 erwähnt, wird das UIS indirekt von einigen Mitgliedern von *Clostridium Cluster XIV* produziert. Analog zum UIS-Spiegel konnte auch für *Clostridium Cluster XIV* kein eindeutiger Zusammenhang mit der Rezidivrate detektiert werden, die Kaplan-Meier-Analyse lässt jedoch mit einem p-Wert von 0,15 einen schwachen Trend erkennen: Personen mit einer geringen Zahl an Copy Numbers von *Clostridium Cluster XIVa* scheinen häufiger ein Rezidiv zu entwickeln, der entsprechende Graph verläuft deutlich steiler.

Dieser schützende Effekt lässt sich möglicherweise auf die von *Clostridium Cluster XIVa* produzierten kurzkettigen Fettsäuren zurückführen, deren zahlreiche positive Effekte sowohl im Bereich der Kolonozyten als auch im Systemkreislauf bereit in der Einleitung beschrieben wurden. Ebenfalls bereits erwähnt wurde *Eubacterium limosum*, welches zu *Clostridium Cluster XIV* gehört und laut Peled et al. insbesondere dann vor Rezidiven schützen kann, wenn es in hohen Mengen vorhanden ist (146) .

Bisher konnte ein potentiell schützender Effekt von SCFAs hinsichtlich einer akuten Darm- sowie chronischen GvHD beschreiben werden (151, 152) . Insbesondere zwei dieser SCFAs, Butyrat und Propionat, scheinen wiederum über verschiedene Mechanismen die Differenzierung von regulatorischen T-Zellen (Tregs) zu fördern (153, 154) . Diese wiederum können Effektor-T-Zellen hemmen, welche im Rahmen einer GvHD verstärkt aktiv sind, und so die Ausprägung eine akute wie chronische GvHD mildern (155) . Eine milde akute GvHD sowie eine niedriges cGvHD-Stadium korrelieren jeweils mit einem erniedrigten Rezidiv-Risiko, wie bereits ebenfalls in den vorherigen Kapiteln ausgeführt, sodass die kurzkettigen Fettsäuren mittels Treg-Zell-Vermittlung eine Reduktion der GvHD bei gleichzeitigem Erhalt eines ausreichend starken GvL-Effektes bewirken könnten. Zugleich dürfte der Treg-Effekt jedoch nicht so stark ausgeprägt sein, dass die Ausbildung einer akuten und/oder chronischen GvHD vollständig verhindert wird – dies könnte wiederum mit einem erhöhten Rezidiv-Risiko verknüpft sein (156) . Bei diesem Erklärungsmodell muss zudem berücksichtigt werden, dass

es verschiedene Treg-Subtypen gibt, die jeweils wieder einen unterschiedlich starken Einfluss auf den GvL-Effekt zu haben scheinen, so jedoch auch Möglichkeit neuer Therapieansätze bieten (156) .

Daneben könnten die Mitglieder von *Clostridium Cluster XIV* über weitere, noch unbekannte Mechanismen, einen direkten oder indirekten immunmodulatorischen Effekt erzielen und so den GvL-Effekt beeinflussen.

Ein allgemeiner Kritikpunkt an der Analyse bezüglich *Clostridium Cluster XIV* ist der auf 90 Monate begrenzte Nachbeobachtungszeitraum, sodass keine Aussagen über die langfristige Rezidiventwicklung in beiden Gruppen möglich ist.

4.7.5 Systemische Darmdekontamination vs. Rifaximin-Einsatz

Auch bei den verschiedenen Antibiotika-Regimen zur Darmdekontamination ließ sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Rezidivrate feststellen. Unter Berücksichtigung der aktuellen Studienlage wäre am ehesten eine Überlegenheit der Rifaximin-Anwendung erwartbar gewesen, da Rifaximin das intestinale Mikrobiom sowohl auf qualitativer als auch quantitativer Ebene weniger stark zu verändern scheint als systemisch wirksame Antibiotika (96) . Rifaximin ist darüber hinaus mit einem höheren Gesamtüberleben und einer niedrigeren TRM assoziiert, unabhängig davon, ob im Verlauf zusätzlich systemische Antibiotika gegeben wurden – geht man davon aus, dass letztere eine starke Mikrobiomstörung verursachen können, scheint Rifaximin sogar nicht nur einen weniger schädlichen, sondern möglicherweise sogar zusätzlich langfristigen schützenden Effekt auf das Darm-Mikrobiom zu haben. Da unter Rifaximin das Darm-Mikrobiom insgesamt stabiler und dem ursprünglichen Zustand vor alloSZT ähnlicher sein könnte als bei Verwendung anderer Antibiotika, könnte es mittels der in 2.6 dargestellten Mechanismen auch zu einer stärkeren Ausprägung des GvL-Effektes kommen. Insbesondere scheint Rifaximin auch einen schützenden Effekt hinsichtlich *Clostridiales* bzw. *Clostridium Cluster XIVa* aufzuweisen. So könnte Rifaximin bspw. vor Rezidiven schützen, indem es die in 2.7.4 diskutierten positiven Effekte von *Clostridium Cluster XIVa* bewahrt (96, 111) .

Letztlich konnte sich diese Annahme in der Analyse nicht bestätigen und ist insofern plausibel bzw. stimmig, als auch die Analyse bezüglich *Clostridium Cluster XIVa* kein signifikantes Ergebnis erbracht hat.

Ein Kritikpunkt des vorliegenden Studiendesigns ist, dass der Nachbeobachtungszeitraum in der Rifaximin-Gruppe teils deutlich kürzer ausfällt als in der Gruppe der systemischen Darmdekontamination (SDD) und somit keine Aussagen zur langfristigen Entwicklung möglich sind, da Rifaximin erst ab Mai 2012 eingesetzt wurde. Der maximale Nachbeobachtungszeitraum beträgt hier somit ca. 6,5 Jahre, wohingegen der Nachbeobachtungszeitraum der SDD-Gruppe zwischen ca. 6,5 und 20 Jahren liegt. Da sich jedoch ein Großteil der Rezidive innerhalb eines Jahres ausbildet, ist davon auszugehen, dass diese auch in der Rifaximin-Gruppe überwiegend abgebildet und angesichts der Gruppengröße (454 Personen) auch entsprechende Auffälligkeiten gut detektiert werden würden (44) .

4.7.6 Risikogruppen bezüglich des Antibiotika-Timings

Analog der obigen Argumentation hinsichtlich eines möglichen Rezidiv-Schutzes durch ein vielfältiges, möglichst wenig veränderten Darm-Mikrobioms, ist auch am ehesten bei der untersuchten Niedrig-Risiko-Gruppe der Antibiotika eine geringere Rezidivrate zu erwarten. Die Einteilung erfolgte anhand des Zeitpunktes der Antibiotika-Anwendung (vor vs. nach erfolgter alloSZT) in eine Hoch- und eine Niedrigrisikogruppe und wurde von Weber et al. übernommen (96) . Diese hatten ein signifikant erhöhtes Risiko für TRM- sowie aGVHD- und cGvHD mit Todesfolge in der Hochrisikogruppe beobachtet und diskutieren, dass ein Antibiotika-Einsatz vor alloSZT und die damit verbundene, vergleichsweise stärker ausfallende Mikrobiom-Störung ein unabhängiger Risikofaktor für die oben genannten Ereignisse darstellen kann. Somit ist denkbar, dass sich der frühe Antibiotika-Einsatz nicht nur negativ auf das Gesamtüberleben unmittelbar nach alloSZT auswirkt, sondern auch langfristig zu einer höheren Rezidivrate führt, da der potentielle Beitrag des Mikrobioms zum GvL-Effekt verringert ist. Diesbezüglich muss auch berücksichtigt werden, dass bei den angewendeten Breitspektrum-Antibiotika nicht nur das Mikrobiom des Darmes, sondern auch anderer Kompartimente beeinträchtigt werden kann.

Auch diese Hypothese bestätigte sich in der Kaplan-Meier-Analyse letztlich nicht.

Da die beiden Größe der beiden Gruppen (270 bzw. 338 Personen) ausreichend ist, um mögliche Trends erkennen zu können, ist dieses Ergebnis ebenfalls als repräsentativ zu werten.

4.8 EINSCHRÄNKUNGEN DER VORLIEGENDEN ARBEIT

4.8.1 Allgemeine Einschränkungen hinsichtlich des Studiendesigns

Eine Schwäche der vorliegenden Arbeit ist ihr retrospektiver Charakter: Sie beobachtet zeitlich zurückliegende Ereignisse, statt die Auswirkungen von direkt auf die Studie zugeschnittenen Interventionen auf die Zukunft zu verfolgen. Dadurch besteht auch das Risiko, mögliche Confounder nicht zu erfassen - scheinbare Kausalzusammenhänge können in retrospektiven Studien in Wirklichkeit gegebenenfalls noch mit einem dritten Faktor (Confounder) in direkter Verbindung stehen, welcher aber bedingt durch das Studiendesign evtl. nicht miterfasst und analysiert wird. Kausale Zusammenhänge können also nicht immer eindeutig aufgedeckt werden.

Daneben wird in der vorliegenden Arbeit nur die 'frühe' Mikrobiomstörung untersucht, das Studiendesign ist also nicht longitudinal und Beobachtungen zu weiteren Zeiträumen sind nicht möglich.

Eine weitere Schwäche der vorliegenden Arbeit ist das Fehlen von Daten aus Vergleichszentren, wie es bei multizentrischen Studien der Fall ist. Mögliche zentrumsspezifische Einflussfaktoren können somit nicht sichtbar gemacht werden. Auch ein 'Plausibilitätstest' durch einen Daten- bzw. Ergebnisvergleich ist so nicht möglich. Insbesondere im Hinblick auf das Mikrobiom, welches vielen Einfluss- und Störfaktoren ausgesetzt ist, ist dies wichtig, um allgemeingültige Aussagen treffen zu können. Dies wird im nächsten Kapitel noch weiter ausgeführt.

4.8.2 Schwächen in der Analyse des Darm-Mikrobioms

4.8.2.1 Spezifische Kritikpunkte hinsichtlich der vorliegenden Mikrobiom-Analyse

Die vorliegende Analyse der Mikrobiom-assoziierten Parametern ist einerseits aufgrund des gewählten Erhebungszeitraumes in ihrer Aussagekraft eingeschränkt. Die hier festgesetzte Zeitspanne von Tag 0 bis maximal Tag 7 postTx eignet sich gut für die Analyse hinsichtlich einer frühen Mikrobiomstörung unmittelbar nach alloSZT. Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass spätere Mikrobiomveränderungen nicht weiter detektiert und untersucht wurden, auch wenn diese durchaus vorhanden hätten sein können. In diesem Kontext muss auch auf eine Studie von Greco et al. verwiesen werden, welche den Zusammenhang zwischen Mikrobiom und akuter GvHD untersucht hat; hier traten die als signifikant zu wertenden Mikrobiomveränderungen jenseits des in der vorliegenden Arbeit gewählten Beobachtungszeitraumes auf, nämlich 10 Tage nach erfolgter alloSZT (157). Deshalb muss

betont werden, dass sich die vorliegende Arbeit auf frühe Mikrobiomveränderungen nach alloSZT bezieht.

Ein weiterer Kritikpunkt ist die Vorgehensweise bei der Gruppeneinteilung der jeweiligen Parameter: Hier wurde eine Dichotomisierung vorgenommen und die jeweiligen Kollektive anhand des Medians, der als 'Cut-off-Wert' diente, in zwei Gruppen eingeteilt. So entstanden zwei hinsichtlich ihrer Größe leichter zu vergleichende Gruppen. Jedoch kann es sein, dass sich diese kaum voneinander unterscheiden, da der Median lediglich definiert, dass die Anzahl der über ihm liegenden Werte so groß ist wie die Anzahl der Werte unterhalb des Medians. Über die Verteilung der restlichen Werte innerhalb der jeweiligen Gruppen ist keine nähere Aussage möglich – so kann sich bspw. die Mehrheit der Werte von beiden Gruppen nah um den Median herumbewegen, was letztlich zu keinem signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen führen würde. Gibt es für diesen Fall jedoch wenige 'Ausreißer', die eine auffällige Gruppierung aufweisen, wäre hier möglicherweise eine andere Gruppeneinteilung sinnvoller. Andererseits ist fraglich, ob eine weiterführende Analyse hinsichtlich solcher weniger 'Ausnahmen' letztlich für die Praxis relevant ist (Ziel ist ja, aussagekräftige Rezidiv-Marker zu finden, die auf unkomplizierte Weise eine breite Anwendung finden können). So erleichtert die Einteilung mittels Median letztlich, diejenigen Gruppen herauszufiltern, deren Verteilung sich jeweils stark voneinander unterscheidet.

4.8.2.2 Allgemeine Einschränkungen von Arbeiten zum Thema Mikrobiom

Wie schon in der Einleitung dargestellt, kann die Mikrobiom-Zusammensetzung je nach Individuum stark variieren, ist zahlreichen Einflüssen ausgesetzt und weist eine große zeitabhängige Veränderlichkeit auf. Die Mikrobiom-Forschung muss diese inter- wie intraindividuellen Unterschiede berücksichtigen, sodass es insgesamt schwierig ist, allgemeingültige Aussagen treffen zu können.

Einen Versuch wagen Qin et al. in ihrer Mikrobiom-Analyse von über 120 Europäer:innen: Dort konnten sie insgesamt etwa 1150 Spezies identifizieren, die besonders häufig im menschlichen Mikrobiom zu finden sind. Eine Einzelperson weist davon im Schnitt 160 Arten auf. Die Autor:innen gehen davon aus, dass sich dies auf die gesamte Weltbevölkerung übertragen lässt und sich die häufigsten Bakterienarten des menschlichen Mikrobioms aus diesem Pool ableiten lassen. Somit könnte man das Mikrobiom zahlreicher Personen trotz ihrer je individuellen Arten-Kombination auf Ebene der besonders prävalenten Bakterien gut

vergleichen. Andere Studien jedoch bezweifeln die Existenz eines solchen „common core“ (55), also eines weltweiten Kern-Mikrobioms: So betonen Lozupone et al., dass der Einfluss von Geographie und Kultur auf die Zusammensetzung wohl noch stark unterschätzt ist (158). Illustriert wird dies zum Beispiel von Beobachtungen von Yatsunenko et al.: Die Autor:innen beschreiben, dass die „westernization“, also ein bestimmter, in globalisierten Ländern verbreiteter Ernährungs- und Lebensstil, ein sehr typisches Mikrobiom-Profil mit sich bringt, welches sich bspw. nicht bei einem afrikanischen Vergleichskollektiv finden ließ (159).

Darüber hinaus muss berücksichtigt werden, dass es auch innerhalb eines Kollektivs trotz der hier ähnlichen exogenen Einflussfaktoren zu großen Mikrobiom-Unterschieden kommen kann: So ist die Mikrobiom-Zusammensetzung auch abhängig vom Lebensalter und verhält sich bei Erwachsenen deutlich stabiler und weniger dynamisch als bei Kindern. Mit zunehmendem Lebensalter treten dann nochmals charakteristische Veränderungen auf, die u.a. durch eine veränderte Verdauungs-Physiologie verursacht werden und anfälliger für bestimmte Krankheiten machen können (160) (161).

Generell steht man bei der Mikrobiom-Forschung häufig vor dem 'Henne-Ei-Problem': Ist die Mikrobiom-Zusammensetzung Ursache oder Folge einer Erkrankung? Wie definiert sich der 'Normalzustand' des Mikrobioms (158)? Auch wenn das Mikrobiom vielen Schwankungen durch exogene Einflüsse unterliegt, scheint seine Zusammensetzung teilweise bereits genetisch festgelegt zu sein. Darauf deuten zumindest Studien an Mäusen hin, die einen signifikanten Zusammenhang zwischen Genotyp und Häufigkeit bestimmter Darmbakterien nachweisen konnten (162).

All diese Einsichten sollten in Arbeiten zum Mikrobiom berücksichtigt werden. Da die bisherige Literatur teils widersprüchliche Aussagen liefert, muss man einkalkulieren, dass bspw. unterschiedlichen Altersgruppen oder aus verschiedenen Kulturkreisen stammende Patient:innenkollektive möglicherweise nicht direkt miteinander vergleichbar sind (159). Für die vorliegende Arbeit würde dies konkret bedeuten, dass eine optimale Vergleichsgruppe einen ähnlichen Genpool besitzt, einen westlichen Lebensstil hat, also zum Beispiel aus Nordamerika oder Europa stammt, und eine ähnliche Altersverteilung aufweist. Die Patient:innen des vorliegenden Kollektivs stammen überwiegend aus Deutschland. Nach Yatsunenkos These lassen sich die Ergebnisse somit aufgrund des hier verbreiteten westlichen Lebensstils auf Kollektive mit einem ähnlichen Lebensstil, aber bspw. anderer Nationalität, übertragen.

Zudem ist das Altersspektrum in der vorliegenden Arbeit sehr groß. Wenn auch nur Erwachsene eingeschlossen sind, muss doch noch die Möglichkeit einer signifikanten Mikrobiom-Variabilität zwischen der Altersgruppe der bis 30-jährigen und der ab 50-Jährigen erwogen werden. Möglicherweise wäre es sinnvoll, letztere nochmals weiter zu unterteilen bzw. noch eine Gruppe mit geriatrischen Patient:innen zu untersuchen. Auch für den Vergleich mit anderen Studien sollte die Altersverteilung der Patient:innen berücksichtigt werden.

Die Berücksichtigung all dieser Faktoren kann bei der Literaturrecherche und Studienvergleiche natürlich nicht immer gewährleistet werden, zumal bisher erst wenige Studien in diesem Bereich veröffentlicht wurden. Zudem stellt die Hypothese des Kern-Mikrobioms in Frage, ob die Berücksichtigung von Faktoren wie Geographie und Kulturkreis tatsächlich notwendig ist.

Des Weiteren gilt: Je größer das Kollektiv, desto besser lassen sich Trends erkennen. Mittlerweile sind auch schon einige Bakterienklassen, -familien und sogar -arten identifiziert, die einen Vergleich zwischen Personen ermöglichen, Trotzdem wird im Diskussionsteil sichtbar, dass teilweise noch keine Literatur zu bestimmten Fragestellungen vorhanden ist und somit noch viel geforscht werden muss.

Ein weiterer Kritikpunkt der vorliegenden Mikrobiom-Analyse ist, dass keine vollständigen PCR-Analysen bei jedem Individuum durchgeführt worden waren, da dies zum Erhebungszeitpunkt technisch noch nicht ausreichend möglich war. Mittlerweile werden in Mikrobiom-Studien standardmäßig PCR-Analysen eingesetzt und für jeden Patienten ein detailliertes Profil der vorhandenen Bakterien erstellt, das sogar Analysen auf Ebene der Art ermöglicht. In der vorliegenden Arbeit ist letzteres noch nicht möglich, hier können bspw. die Mitglieder von *Clostridium Cluster XIVa* nicht weiter aufgeschlüsselt werden.

Auch die Verwendung des Simpson-Index ermöglicht keine Aussage zu allen vorhandenen Arten und deren Verteilung, sondern zeigt nur die Ausprägung der Mikrobiom-Vielfalt an.

Letztlich muss noch berücksichtigt werden, dass selbst bei Kenntnis aller vorhandenen Arten noch längst nicht auf deren Funktion und Interaktionsprofil geschlossen werden kann. Scheinbar deutliche Unterschiede in der Mikrobiom-Zusammensetzung zwischen einzelnen Individuen müssen also nicht zwangsläufig in einer stark unterschiedlichen Wirkung resultieren.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Dissertation untersucht den Einfluss der akuten Darm-GvHD sowie insgesamt sechst direkt und indirekt Mikrobiom-assoziiierter Parameter auf die Rezidivrate nach allogener Stammzelltransplantation. Die erste Hypothese der vorliegenden Arbeit postuliert, dass die akute Darm-GvHD im Gegensatz zu anderen GVHD-Subtypen keinen protektiven Effekt hinsichtlich Rezidiven hat. Hinsichtlich der Mikrobiom-assoziierten Parameter wird je eine positive Assoziation mit den Rezidiven angenommen.

Überprüft werden die Hypothesen im Rahmen einer retrospektiv durchgeführten Kohortenstudie, welche einen Zeitraum von 1998 bis 2019 und 1053 Patient:innen mit erstmalig durchgeführter alloSZT des UKR einschließt. Die Kohorte wird anhand vielfältiger Faktoren weiter unterteilt (u.a. Alter, Geschlecht, Grunderkrankung, Erkrankungsstadium).

Bei den direkt Mikrobiom-assoziierten Parametern handelt es sich um den UIS-Spiegel (Massenspektrometrie-Analyse aus Urinprobe), den Simpson-Diversitäts-Index (Sequenzierung der rRNA aus Stuhlprobe) und die mittels PCR erhobenen Copy Numbers an *Clostridium* Cluster XVIa (Stuhlprobe). Zu den indirekt Mikrobiom-assoziierten Parametern gehört die Art der Darmdekontamination (systemisch wirksam vs. lokal), die Einteilung nach Antibiotika-Risikogruppen anhand des Zeitpunktes der Antibiotika-Gabe bei neutropenen Komplikationen (vor alloSZT vs. nach alloSZT) sowie der Reg-3 α -Serumspiegel (ELISA-Analyse). Die metrischen Variablen wurden dichotomisiert. Analysiert wurde die frühe Mikrobiomstörung (Erhebungszeitraum bis siebter Tag postTx).

Unter Verwendung des Statistikprogrammes SPSS Statistics© wurden mittels Kaplan-Meier-Analyse zunächst diejenigen Faktoren identifiziert, die signifikant mit dem Auftreten von Rezidiven assoziiert sind. In einer anschließenden Cox-Regression konnten eine nicht-myeloische Grunderkrankung, ein fortgeschrittene Erkrankungsstadium sowie das Fehlen einer chronischen GvHD als unabhängige Risikofaktoren ermittelt werden, nicht jedoch die Darm-GvHD. Die erste Hypothese ließ sich hiermit bestätigen, da für eine akute Darm-GvHD kein protektiver Effekt (keine signifikante negative Assoziation mit Rezidiven) nachgewiesen werden konnte. Dies könnte daran liegen, dass die akute Darm-GvHD in der klinischen Beobachtung deutlich seltener zu einer chronischen GvHD führt, was möglicherweise an einer verstärkten, Mikrobiom-bedingten Akutstimulation liegt. Das Fehlen einer cGvHD wiederum fungiert als unabhängiger Risikofaktor für Rezidive, wie die vorliegende Arbeit zeigt.

Umgekehrt zeigte sich jedoch auch kein Rezidiv-fördernden Effekt der akuten Darm-GvHD. Bisher fehlen in der Literatur entsprechende Vergleichsstudien - sollte es zukünftig mehr Daten diesbezüglich geben, müssten im Falle eines Vergleichs folgende Faktoren besonders berücksichtigt werden: Die Größe und Zusammensetzung des Patient:innenkollektivs, insbesondere der vorliegenden Grunderkrankungen, Erkrankungsstadien und Therapieregimen, sowie die Art der Erhebung der Darm-GvHD und der Rezidive (je histologisch vs. klinisch).

Hinsichtlich der analysiertem Mikrobiom-assoziierten Parameter konnte ebenfalls weder ein positiver noch ein negativer Zusammenhang mit der Rezidiventwicklung beobachtet werden.

Der UIS-Spiegel fungiert als direkter Mikrobiom-Marker, welcher auf die direkt mit der Zahl an *Clostridiales* korreliert. Da *Clostridiales* einen protektiven Effekt hinsichtlich Rezidiven haben, wäre ein entsprechender Zusammenhang zwischen UIS-Spiegel und Rezidivrate anzunehmen gewesen. Die Größe der vorliegenden Kohorte ist diesbezüglich als repräsentativ zu werten, bisher existieren jedoch keine entsprechenden Vergleichsstudien zur Verifizierung des Ergebnisses.

Hinsichtlich des Simpson-Index wäre am ehesten von einem protektiven Effekt bei hohem Index-Wert, also hoher bakterieller Vielfalt, zu erwarten gewesen. Eine hohe bakterielle Vielfalt und Präsenz bestimmter Bakterienarten können über verschiedene Mechanismen das Rezidivrisiko senken. Der Simpson-Index scheint dies jedoch nicht ausreichend abbilden zu können, was sich mit Ergebnissen anderer Studien vergleichbarer Bedingungen deckt.

Da in anderen Studien für bestimmte Metabolite von *Clostridium* Cluster XVIa bereits ein schützender Effekt bezüglich der GvHD gezeigt werden konnte, ist auch eine Assoziation mit der Rezidivrate denkbar. Diese wurde letztlich nicht nachgewiesen, Kritikpunkt an der Analyse ist der relativ geringe Nachbeobachtungszeitraum.

Hinsichtlich der Darmdekontamination wäre ein protektiver Effekt von Rifaximin zu diskutieren gewesen, da die lokal wirkende antibiotische Therapie zu einer geringeren Dysbiose führt. Möglicherweise könnte so mittels verschiedener Mikrobiom-vermittelter Mechanismen eine stärkere immunmodulatorische Aktivität aufgebaut werden, was wiederum in einem stärkeren GvL-Effekt resultieren könnte. Auch dies konnte in der vorliegenden Arbeit nicht nachgewiesen werden, Kritikpunkt sind die unterschiedlich langen Nachbeobachtungszeiträume beider Gruppen.

Analog hierzu wäre auch ein Unterschied zwischen Hoch- und Niedrigrisiko-Gruppe im Rahmen der Antibiotika-Anwendung bei neutropenen Komplikationen denkbar gewesen, welcher sich ebenfalls nicht zeigte.

Hinsichtlich des Reg-3 α -Serumspiegels wäre eine positive Assoziation im Falle einer Reg-3 α -Erhöhung denkbar gewesen, da diese Ausdruck einer Darmschädigung postTx sein kann, welche wiederum mit einem erhöhten Rezidivrisiko einhergehen könnte. Dies bestätigte sich nicht, entsprechende Vergleichsstudien fehlen bisher. Kritikpunkt an der erfolgten Reg-3 α -Analyse ist die niedrige Proband:innenzahl.

Allen erfolgten Analysen gemeinsam ist die Einschränkung durch mögliche nicht erhobene Confounder, das Fehlen von Daten aus Vergleichszentren sowie der auf sieben Tage postTx begrenzte Erhebungszeitraum.

Da die Mikrobiomforschung noch ein junges, jedoch stark wachsendes Gebiet ist, müssten im Falle eines Vergleiches der in der vorliegenden Dissertation getätigten Analysen insbesondere die Art und der Zeitpunkt der Datenerhebung und die Zusammensetzung des Patient:innenkollektivs (Alter, Geschlecht, Grund- und Vorerkrankung, Therapieregimen, Herkunft) berücksichtigt werden.

Insgesamt ließ sich in der Arbeit nachweisen, dass die Darm-GvHD per se sowie die analysierten Mikrobiom-assoziierten Parameter keinen Zusammenhang mit der Rezidivrate haben. Folglich weisen sie wahrscheinlich auch keinen Zusammenhang mit der Graft-versus-Leukämie-Reaktion auf, welche das wichtigste therapeutische Prinzip der allogenen Stammzelltransplantation ist. Maßnahmen zur Verhinderung der Darm-GvHD sollten deshalb nicht mit einer Beeinträchtigung des GvL-Effekts einhergehen.

6 LITERATUR

1. van den Brink M, Uhrberg M, Jahn L, DiPersio JF, Pulsipher MA. Selected biological issues affecting relapse after stem cell transplantation: role of T-cell impairment, NK cells and intrinsic tumor resistance. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53(8):949–59. doi: 10.1038/s41409-017-0078-0.
2. Bergmann F, Böll B, Braun J, Bruch H-R, Brüggemann M, Lehmberg K. Referenz Hämatologie. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag; 2019. (Referenz). Verfügbar unter: <https://eref.thieme.de/ebooks/2414283>.
3. Prof. Dr. med. Dietrich W. Beelen et al. Leitlinien zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft Leitlinien für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation (DAG-KBT) 4. Indikation zur allogenen Stammzelltransplantation: 4. Indikation zur allogenen Stammzelltransplantation: DAG-HSZT e.V.; 2016. Verfügbar unter: https://dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-04_Indikationen%20zur%20allogenen%20SZT.pdf.
4. Gratwohl A, Baldomero H, Aljurf M, Pasquini MC, Bouzas LF, Yoshimi A et al. Hematopoietic stem cell transplantation: a global perspective. *JAMA* 2010; 303(16):1617–24. doi: 10.1001/jama.2010.491.
5. Deutsche Gesellschaft fuer Haematologie und medizinische Onkologie. Akute Myeloische Leukämie (AML). Verfügbar unter: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/akute-myeloische-leukaemie-aml/@@guideline/html/index.html>.
6. Kröger D. DAG-KBT Leitlinien - Konditionierung Version 1, Stand Juni 2016. Verfügbar unter: https://www.dag-hszt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-07_Konditionierung.pdf.
7. Abdul Wahid SF, Ismail N-A, Mohd-Idris M-R, Jamaluddin FW, Tumian N, Sze-Wei EY et al. Comparison of reduced-intensity and myeloablative conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis. *Stem Cells Dev* 2014; 23(21):2535–52. doi: 10.1089/scd.2014.0123.
8. Viaud S, Saccheri F, Mignot G, Yamazaki T, Daillère R, Hannani D et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013; 342(6161):971–6. doi: 10.1126/science.1240537.
9. Prof. Dr. med. Martin Bornhäuser et al. Leitlinien zur allogenen Stammzelltransplantation von der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation (DAG-KBT): 5. Spenderauswahl zur allogenen Stammzelltransplantation: DAG-HSZT e.V.; 2016. Verfügbar unter: https://dag-kbt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-05_Spenderauswahl%20zur%20allogenen%20SZT.pdf.
10. Loiseau P, Busson M, Balere M-L, Dormoy A, Bignon J-D, Gagne K et al. HLA Association with hematopoietic stem cell transplantation outcome: the number of mismatches at HLA-A, -B, -C, -DRB1, or -DQB1 is strongly associated with overall survival. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13(8):965–74. doi: 10.1016/j.bbmt.2007.04.010.

11. Sehn LH, Alyea EP, Weller E, Canning C, Lee S, Ritz J et al. Comparative outcomes of T-cell-depleted and non-T-cell-depleted allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia: impact of donor lymphocyte infusion. *J Clin Oncol* 1999; 17(2):561–8. doi: 10.1200/JCO.1999.17.2.561.
12. Ruggeri L, Capanni M, Casucci M, Volpi I, Tosti A, Perruccio K et al. Role of Natural Killer Cell Alloreactivity in HLA-Mismatched Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Blood* 1999; 94(1):333–9. doi: 10.1182/blood.V94.1.333.413a31_333_339.
13. Moretta L, Locatelli F, Pende D, Marcenaro E, Mingari MC, Moretta A. Killer Ig-like receptor-mediated control of natural killer cell alloreactivity in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2011; 117(3):764–71. doi: 10.1182/blood-2010-08-264085.
14. Singh AK, McGuirk JP. Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Historical and Scientific Overview. *Cancer Res* 2016; 76(22):6445–51. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1311.
15. Nassereddine S, Rafei H, Elbahesh E, Tabbara I. Acute Graft Versus Host Disease: A Comprehensive Review. *Anticancer Res* 2017; 37(4):1547–55. doi: 10.21873/anticancer.11483.
16. Holler E, Greinix H, Zeiser R. The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies: Acute Graft-Versus-Host Disease 2019. doi: 10.1007/978-3-030-02278-5_43.
17. Kröger D. DAG-KBT Leitlinien - GvHD. Verfügbar unter: https://www.dag-hszt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-09_GvHD-Prophylaxe%20und%20Therapie.pdf.
18. PJ Martin, G Schoch, L Fisher, V Byers, C Anasetti, FR Appelbaum, PG Beatty, K Doney, GB McDonald, JE Sanders. A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment. *Blood* 76; 1990(8):1464–72. doi: 10.1182/blood.V76.8.1464.1464.
19. Ferrara JLM, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *The Lancet* 2009; 373(9674):1550–61. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60237-3.
20. Snover DC, Weisdorf SA, Vercellotti GM, Rank B, Hutton S, McGlave P. A histopathologic study of gastric and small intestinal graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation. *Hum Pathol* 1985; 16(4):387–92. doi: 10.1016/S0046-8177(85)80232-X.
21. Takashima S, Kadowaki M, Aoyama K, Koyama M, Oshima T, Tomizuka K et al. The Wnt agonist R-spondin1 regulates systemic graft-versus-host disease by protecting intestinal stem cells. *J Exp Med* 2011; 208(2):285–94. doi: 10.1084/jem.20101559.
22. Hanash AM, Dudakov JA, Hua G, O'Connor MH, Young LF, Singer NV et al. Interleukin-22 protects intestinal stem cells from immune-mediated tissue damage and regulates sensitivity to graft versus host disease. *Immunity* 2012; 37(2):339–50. doi: 10.1016/j.immuni.2012.05.028.
23. Shlomchik WD, Couzens MS, Tang CB, McNiff J, Robert ME, Liu J et al. Prevention of graft versus host disease by inactivation of host antigen-presenting cells. *Science* 1999; 285(5426):412–5. doi: 10.1126/science.285.5426.412.
24. Auffermann-Gretzinger S, Lossos IS, Vayntrub TA, Leong W, Grumet FC, Blume KG et al. Rapid establishment of dendritic cell chimerism in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients. *Blood* 2002; 99(4):1442–8. doi: 10.1182/blood.V99.4.1442.

25. Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18(4):295–304. doi: 10.1097/00007890-197410000-00001.
26. Thomas ED, Storb R, Clift RA, Fefer A, Johnson L, Neiman PE et al. Bone-marrow transplantation (second of two parts). *N Engl J Med* 1975; 292(17):895–902. doi: 10.1056/NEJM197504242921706.
27. Robert Zeiser, Daniel Wolff, Christof Scheid, Thomas Luft, Hildegard Greinix, Peter Dreger, Jürgen Finke, Ernst Holler, Jörg Halter. Graft-versus-Host Erkrankung, akut: für die DAG-HSZT, Deutsche Arbeitsgemeinschaft für Hämatopoetische Stammzelltransplantation und Zelluläre Therapie e. V.; 2022. Verfügbar unter: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/graft-versus-host-erkrankung-akut/@@guideline/html/index.html#litID0EW5AG>.
28. Cooke KR, Luznik L, Sarantopoulos S, Hakim FT, Jagasia M, Fowler DH et al. The Biology of Chronic Graft-versus-Host Disease: A Task Force Report from the National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23(2):211–34. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.09.023.
29. Alho AC, Kim HT, Chammas MJ, Reynolds CG, Matos TR, Forcade E et al. Unbalanced recovery of regulatory and effector T cells after allogeneic stem cell transplantation contributes to chronic GVHD. *Blood* 2016; 127(5):646–57. doi: 10.1182/blood-2015-10-672345.
30. Kröger D. DAG-KBT Leitlinien - 12. Prävention und Behandlung von Rezidiven nach allogener Stammzelltransplantation: Version 2, Stand September 2020. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF)- Ständige Kommission Leitlinien. AWMF-Regelwerk „Leitlinien“. Verfügbar unter: https://dag-hszt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-12_Pra%CC%88vention%20und%20Behandlung%20von%20Rezidiven%20nach%20allogener%20Stammzelltransplantation.pdf.
31. Barrett AJ, Battiwalla M. Relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Expert Rev Hematol* 2010; 3(4):429–41. doi: 10.1586/ehm.10.32.
32. Sackstein R. A revision of Billingham's tenets: the central role of lymphocyte migration in acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12(1 Suppl 1):2–8. doi: 10.1016/j.bbmt.2005.09.015.
33. Khong HT, Restifo NP. Natural selection of tumor variants in the generation of "tumor escape" phenotypes. *Nat Immunol* 2002; 3(11):999–1005. doi: 10.1038/ni1102-999.
34. Villalobos IB, Takahashi Y, Akatsuka Y, Muramatsu H, Nishio N, Hama A et al. Relapse of leukemia with loss of mismatched HLA resulting from uniparental disomy after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2010; 115(15):3158–61. doi: 10.1182/blood-2009-11-254284.
35. Falkenburg F, Ruggiero E, Bonini C, Porter D, Miller J, Malard F et al. Prevention and treatment of relapse after stem cell transplantation by cellular therapies. *Bone Marrow Transplant* 2019; 54(1):26–34. doi: 10.1038/s41409-018-0227-0.
36. Falkenburg JHF, Jedema I. Allo-reactive T cells for the treatment of hematological malignancies. *Mol Oncol* 2015; 9(10):1894–903. doi: 10.1016/j.molonc.2015.10.014.

37. Vago L, Perna SK, Zanussi M, Mazzi B, Barlassina C, Stanghellini MTL et al. Loss of mismatched HLA in leukemia after stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 2009; 361(5):478–88. doi: 10.1056/NEJMoa0811036.
38. Dermime S, Mavroudis D, Jiang YZ, Hensel N, Molldrem J, Barrett AJ. Immune escape from a graft-versus-leukemia effect may play a role in the relapse of myeloid leukemias following allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997; 19(10):989–99. doi: 10.1038/sj.bmt.1700778.
39. Abdul Wahid SF, Ismail N-A, Mohd-Idris M-R, Jamaluddin FW, Tumian N, Sze-Wei EY et al. Comparison of reduced-intensity and myeloablative conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis. *Stem Cells Dev* 2014; 23(21):2535–52. doi: 10.1089/scd.2014.0123.
40. Scott BL, Pasquini MC, Logan BR, Wu J, Devine SM, Porter DL et al. Myeloablative Versus Reduced-Intensity Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol* 2017; 35(11):1154–61. doi: 10.1200/JCO.2016.70.7091.
41. Bolon YT, Atshan R, Allbee-Johnson M, Estrada-Merly N, Lee SJ. Current use and outcome of hematopoietic stem cell transplantation: CIBMTR summary slides, 2022.: CIBMTR; 2022 [Stand: 29.06.2023]. Verfügbar unter: <https://cibmtr.org/CIBMTR/Resources/Summary-Slides-Reports>.
42. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, Goldman JM, Kersey J, Kolb HJ et al. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood* 1990; 75(3):555–62. doi: 10.1182/blood.V75.3.555.555.
43. Savani BN, Mielke S, Rezvani K, Montero A, Yong AS, Wish L et al. Absolute lymphocyte count on day 30 is a surrogate for robust hematopoietic recovery and strongly predicts outcome after T cell-depleted allogeneic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13(10):1216–23. doi: 10.1016/j.bbmt.2007.07.005.
44. Christopheit M, Labopin M, Gorin N-C, Saraceni F, Passweg J, Forcade E et al. Allogeneic stem cell transplantation following relapse post autologous stem cell transplantation in adult patients with acute myeloid leukemia: A retrospective analysis of 537 patients from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *Am J Hematol* 2018; 93(12):1532–42. doi: 10.1002/ajh.25285.
45. Kröger D. DAG-KBT Leitlinien - Monitoring nach allogener Stammzelltransplantation. Verfügbar unter https://dag-hszt.de/files/downloads/Leitlinien_Kap-10_Monitoring%20nach%20allogener%20SZT.pdf
46. Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, Prentice R, Fefer A, Buckner CD et al. Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. *N Engl J Med* 1979; 300(19):1068–73. doi: 10.1056/nejm197905103001902.
47. Weaver CH, Clift RA, Deeg HJ, Storb R, Appelbaum FR, Bensinger W et al. Effect of graft-versus-host disease prophylaxis on relapse in patients transplanted for acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1994; 14(6):885–93.

48. Deutsche Gesellschaft fuer Haematologie und medizinische Onkologie. Rezidiv: Prævention und Behandlung; 2020. Verfügbar unter <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/rezidiv-prævention-und-behandlung/@@guideline/html/index.html>
49. Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, Hertenstein B, Jacobsen N, Arcese W et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood* 1995; 86(5):2041–50.
50. Schmid C, Labopin M, Nagler A, Bornhäuser M, Finke J, Fassas A et al. Donor lymphocyte infusion in the treatment of first hematological relapse after allogeneic stem-cell transplantation in adults with acute myeloid leukemia: a retrospective risk factors analysis and comparison with other strategies by the EBMT Acute Leukemia Working Party. *J Clin Oncol* 2007; 25(31):4938–45. doi: 10.1200/jco.2007.11.6053.
51. Collins RH, Shpilberg O, Drobyski WR, Porter DL, Giralto S, Champlin R et al. Donor leukocyte infusions in 140 patients with relapsed malignancy after allogeneic bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 1997; 15(2):433–44. doi: 10.1200/JCO.1997.15.2.433.
52. Luznik L, Fuchs EJ. Donor lymphocyte infusions to treat hematologic malignancies in relapse after allogeneic blood or marrow transplantation. *Cancer Control* 2002; 9(2):123–37. doi: 10.1177/107327480200900205.
53. Andermann TM, Peled JU, Ho C, Reddy P, Riches M, Storb R et al. The Microbiome and Hematopoietic Cell Transplantation: Past, Present, and Future. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24(7):1322–40. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.02.009.
54. Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome* 2015; 3:31. doi: 10.1186/s40168-015-0094-5.
55. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464(7285):59–65. doi: 10.1038/nature08821.
56. van den Abbeele P, Belzer C, Goossens M, Kleerebezem M, Vos WM de, Thas O et al. Butyrate-producing *Clostridium* cluster XIVa species specifically colonize mucins in an in vitro gut model. *ISME J* 2013; 7(5):949–61. doi: 10.1038/ismej.2012.158.
57. Antonia Suau, Régis Bonnet, Malène Sutren, Jean-Jaques Godon, Glenn R. Gibson, Matthew D. Collins, Joel Doré. Direct Analysis of Genes Encoding 16S rRNA from Complex Communities Reveals Many Novel Molecular Species within the Human Gut.
58. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell* 2014; 157(1):121–41. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.011.
59. Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr* 2002; 22:283–307. doi: 10.1146/annurev.nutr.22.011602.092259.
60. Macpherson AJ, Martinic MM, Harris N. The functions of mucosal T cells in containing the indigenous commensal flora of the intestine. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59(12):2088–96. doi: 10.1007/s000180200009.
61. Donaldson GP, Lee SM, Mazmanian SK. Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nat Rev Microbiol* 2016; 14(1):20–32. doi: 10.1038/nrmicro3552.

62. Johansson MEV, Larsson JMH, Hansson GC. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108 Suppl 1:4659–65. doi: 10.1073/pnas.1006451107.
63. van der Sluis M, Koning BAE de, Bruijn ACJM de, Velcich A, Meijerink JPP, van Goudoever JB et al. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology* 2006; 131(1):117–29. doi: 10.1053/j.gastro.2006.04.020.
64. Ayabe T, Satchell DP, Wilson CL, et al. Secretion of microbicidal α -defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria. *Nat Immunol* 2000; 1(2):113–8. doi: 10.1038/77783.
65. Asselin C, Gendron F-P. Shuttling of information between the mucosal and luminal environment drives intestinal homeostasis. *FEBS Lett* 2014; 588(22):4148–57. doi: 10.1016/j.febslet.2014.02.049.
66. Eriguchi Y, Takashima S, Oka H, Shimoji S, Nakamura K, Uryu H et al. Graft-versus-host disease disrupts intestinal microbial ecology by inhibiting Paneth cell production of α -defensins. *Blood* 2012; 120(1):223–31. doi: 10.1182/blood-2011-12-401166.
67. Christa L, Carnot F, Simon MT, Levavasseur F, Stinnakre MG, Lasserre C et al. HIP/PAP is an adhesive protein expressed in hepatocarcinoma, normal Paneth, and pancreatic cells. *Am J Physiol* 1996; 271(6 Pt 1):G993-1002. doi: 10.1152/ajpgi.1996.271.6.G993.
68. Simon M-T, Pauloin A, Normand G, Lieu H-T, Mouly H, Pivert G et al. HIP/PAP stimulates liver regeneration after partial hepatectomy and combines mitogenic and anti-apoptotic functions through the PKA signaling pathway. *FASEB J* 2003; 17(11):1441–50. doi: 10.1096/fj.02-1013com.
69. Qi H, Li Y, Yun H, Zhang T, Huang Y, Zhou J et al. *Lactobacillus* maintains healthy gut mucosa by producing L-Ornithine. *Commun Biol* 2019; 2. doi: 10.1038/s42003-019-0424-4.
70. Bai Y, Huang Y, Li Y, Zhang B, Xiao C, Hou X et al. The Murine Reg3a Stimulated by *Lactobacillus casei* Promotes Intestinal Cell Proliferation and Inhibits the Multiplication of Porcine Diarrhea Causative Agent in vitro. *Front Microbiol* 2021; 12:675263. doi: 10.3389/fmicb.2021.675263.
71. Weber D, Frauenschläger K, Ghimire S, Peter K, Panzer I, Hiergeist A et al. The association between acute graft-versus-host disease and antimicrobial peptide expression in the gastrointestinal tract after allogeneic stem cell transplantation. *PLoS ONE* 2017; 12(9):e0185265. doi: 10.1371/journal.pone.0185265.
72. Zhao D, Kim Y-H, Jeong S, Greenson JK, Chaudhry MS, Hoepting M et al. Survival signal REG3 α prevents crypt apoptosis to control acute gastrointestinal graft-versus-host disease. *J Clin Invest* 2018; 128(11):4970–9. doi: 10.1172/JCI99261.
73. Etra A, El Jurdi N, Katsivelos N, Kwon D, Gergoudis S, Morales G et al. Amphiregulin, ST2, and REG3 α biomarker risk algorithms as predictors of nonrelapse mortality in patients with acute GVHD. *Blood Adv* 2024; 8(12):3284–92. doi: 10.1182/bloodadvances.2023011049.
74. Cash HL, Whitham CV, Behrendt CL, Hooper LV. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin. *Science* 2006; 313(5790):1126–30. doi: 10.1126/science.1127119.
75. Macpherson AJ, Slack E, Geuking MB, McCoy KD. The mucosal firewalls against commensal intestinal microbes. *Semin Immunopathol* 2009; 31(2):145–9. doi: 10.1007/s00281-009-0174-3.

76. Štěpánková, R., Kovářů, F. & Kruml, J. Lymphatic tissue of the intestinal tract of germfree and conventional rabbits. *Folia Microbiol* 25, 1980:491–5. Verfügbar unter: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02897215#citeas>.
77. Zitvogel L, Ayyoub M, Routy B, Kroemer G. Microbiome and Anticancer Immunosurveillance. *Cell* 2016; 165(2):276–87. doi: 10.1016/j.cell.2016.03.001.
78. Lee J-H, Lee J. Indole as an intercellular signal in microbial communities. *FEMS Microbiol Rev* 2010; 34(4):426–44. doi: 10.1111/j.1574-6976.2009.00204.x.
79. Lee J, Jayaraman A, Wood TK. Indole is an inter-species biofilm signal mediated by SdiA. *BMC Microbiol* 2007; 7:42. doi: 10.1186/1471-2180-7-42.
80. Bansal T, Alaniz RC, Wood TK, Jayaraman A. The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(1):228–33. doi: 10.1073/pnas.0906112107.
81. Zelante T, Iannitti RG, Cunha C, Luca A de, Giovannini G, Pieraccini G et al. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22. *Immunity* 2013; 39(2):372–85. doi: 10.1016/j.immuni.2013.08.003.
82. Weber D, Oefner PJ, Hiergeist A, Koestler J, Gessner A, Weber M et al. Low urinary indoxyl sulfate levels early after transplantation reflect a disrupted microbiome and are associated with poor outcome. *Blood* 2015; 126(14):1723–8. doi: 10.1182/blood-2015-04-638858.
83. DeFilipp Z, Peled JU, Li S, Mahabamunuge J, Dagher Z, Slingerland AE et al. Third-party fecal microbiota transplantation following allo-HCT reconstitutes microbiome diversity. *Blood Adv* 2018; 2(7):745–53. doi: 10.1182/bloodadvances.2018017731.
84. Hold GL, Pryde SE, Russell VJ, Furrie E, Flint HJ. Assessment of microbial diversity in human colonic samples by 16S rDNA sequence analysis. *FEMS Microbiol Ecol* 2002; 39(1):33–9. doi: 10.1111/j.1574-6941.2002.tb00904.x.
85. Manson JM, Rauch M, Gilmore MS. The commensal microbiology of the gastrointestinal tract. *Adv Exp Med Biol* 2008; 635:15–28. doi: 10.1007/978-0-387-09550-9_2.
86. Zimmerman MA, Singh N, Martin PM, Thangaraju M, Ganapathy V, Waller JL et al. Butyrate suppresses colonic inflammation through HDAC1-dependent Fas upregulation and Fas-mediated apoptosis of T cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302(12):G1405-15. doi: 10.1152/ajpgi.00543.2011.
87. Charney AN, Micic L, Egnor RW. Nonionic diffusion of short-chain fatty acids across rat colon. *Am J Physiol* 1998; 274(3):G518-24. doi: 10.1152/ajpgi.1998.274.3.G518.
88. Donohoe DR, Garge N, Zhang X, Sun W, O'Connell TM, Bunger MK et al. The Microbiome and Butyrate Regulate Energy Metabolism and Autophagy in the Mammalian Colon. *Cell Metabolism* 2011; 13(5):517–26. doi: 10.1016/j.cmet.2011.02.018.
89. Kim CH, Park J, Kim M. Gut microbiota-derived short-chain Fatty acids, T cells, and inflammation. *Immune Netw* 2014; 14(6):277–88. doi: 10.4110/in.2014.14.6.277.
90. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 2013; 504(7480):446–50. doi: 10.1038/nature12721.

91. Luu M, Weigand K, Wedi F, Breidenbend C, Leister H, Pautz S et al. Regulation of the effector function of CD8⁺ T cells by gut microbiota-derived metabolite butyrate. *Sci Rep* 2018; 8(1):14430. doi: 10.1038/s41598-018-32860-x.
92. Qiang Y, Xu J, Yan C, Jin H, Xiao T, Yan N et al. Butyrate and retinoic acid imprint mucosal-like dendritic cell development synergistically from bone marrow cells. *Clin Exp Immunol* 2017; 189(3):290–7. doi: 10.1111/cei.12990.
93. Mathewson ND, Jenq R, Mathew AV, Koenigskecht M, Hanash A, Toubai T et al. Gut microbiome-derived metabolites modulate intestinal epithelial cell damage and mitigate graft-versus-host disease. *Nat Immunol* 2016; 17(5):505–13. doi: 10.1038/ni.3400.
94. Mary Territo. Neutropenie: (Agranulozytose, Granulozytopenie): David Geffen School of Medicine at UCLA; 2021 [Stand: Aug 2021]. Verfügbar unter: <https://www.msmanuals.com/de-de/profi/h%C3%A4matologie-und-onkologie/leukopenien/neutropenie#>.
95. van Bekkum DW, Roodenburg J, Heidt PJ, van der Waaij D. Mitigation of secondary disease of allogeneic mouse radiation chimeras by modification of the intestinal microflora. *J Natl Cancer Inst* 1974; 52(2):401–4. doi: 10.1093/jnci/52.2.401.
96. Weber D, Jenq RR, Peled JU, Taur Y, Hiergeist A, Koestler J et al. Microbiota Disruption Induced by Early Use of Broad-Spectrum Antibiotics Is an Independent Risk Factor of Outcome after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23(5):845–52. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.02.006.
97. Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol* 2008; 6(11):e280. doi: 10.1371/journal.pbio.0060280.
98. Kinnebrew MA, Lee YJ, Jenq RR, Lipuma L, Littmann ER, Gobourne A et al. Early *Clostridium difficile* infection during allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *PLoS ONE* 2014; 9(3):e90158. doi: 10.1371/journal.pone.0090158.
99. Kamboj M, Xiao K, Kaltsas A, Huang Y-T, Sun J, Chung D et al. *Clostridium difficile* infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplant: strain diversity and outcomes associated with NAP1/027. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20(10):1626–33. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.06.025.
100. Goldstein EJC, Citron DM, Tyrrell KL. Comparative In Vitro Activities of SMT19969, a New Antimicrobial Agent, against 162 Strains from 35 Less Frequently Recovered Intestinal *Clostridium* Species: Implications for *Clostridium difficile* Recurrence. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(2):1187–91. doi: 10.1128/AAC.02184-13.
101. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS ONE* 2010; 5(3):e9836. doi: 10.1371/journal.pone.0009836.
102. DuPont HL. Review article: the antimicrobial effects of rifaximin on the gut microbiota. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 43 Suppl 1:3–10. doi: 10.1111/apt.13434.
103. Scarpignato C, Pelosini I. Rifaximin, a poorly absorbed antibiotic: pharmacology and clinical potential. *Chemotherapy* 2005; 51 Suppl 1:36–66. doi: 10.1159/000081990.
104. Pakyz AL. Rifaximin: a new treatment for travelers' diarrhea. *Ann Pharmacother* 2005; 39(2):284–9. doi: 10.1345/aph.1E407.

105. Gatta L, Scarpignato C. Systematic review with meta-analysis: rifaximin is effective and safe for the treatment of small intestine bacterial overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther* 2017; 45(5):604–16. doi: 10.1111/apt.13928.
106. Brenner DM, Sayuk GS. Current US Food and Drug Administration-Approved Pharmacologic Therapies for the Treatment of Irritable Bowel Syndrome with Diarrhea. *Adv Ther* 2020; 37(1):83–96. doi: 10.1007/s12325-019-01116-z.
107. Cottreau J, Baker SF, DuPont HL, Garey KW. Rifaximin: a nonsystemic rifamycin antibiotic for gastrointestinal infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2010; 8(7):747–60. doi: 10.1586/eri.10.58.
108. Patel VC, Lee S, McPhail MJW, Da Silva K, Guilly S, Zamalloa A et al. Rifaximin- α reduces gut-derived inflammation and mucin degradation in cirrhosis and encephalopathy: RIFSYS randomised controlled trial. *J Hepatol* 2022; 76(2):332–42. doi: 10.1016/j.jhep.2021.09.010.
109. Li H, Xiang Y, Zhu Z, Wang W, Jiang Z, Zhao M et al. Rifaximin-mediated gut microbiota regulation modulates the function of microglia and protects against CUMS-induced depression-like behaviors in adolescent rat. *J Neuroinflammation* 2021; 18(1):254. doi: 10.1186/s12974-021-02303-y.
110. Weber D, Oefner PJ, Dettmer K, Hiergeist A, Koestler J, Gessner A et al. Rifaximin preserves intestinal microbiota balance in patients undergoing allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51(8):1087–92. doi: 10.1038/bmt.2016.66.
111. Weber D, Hiergeist A, Weber M, Dettmer K, Wolff D, Hahn J et al. Detrimental Effect of Broad-spectrum Antibiotics on Intestinal Microbiome Diversity in Patients After Allogeneic Stem Cell Transplantation: Lack of Commensal Sparing Antibiotics. *Clin Infect Dis* 2019; 68(8):1303–10. doi: 10.1093/cid/ciy711.
112. Brandl K, Plitas G, Mihu CN, Ubeda C, Jia T, Fleisher M et al. Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits. *Nature* 2008; 455(7214):804–7. doi: 10.1038/nature07250.
113. Shono Y, Docampo MD, Peled JU, Perobelli SM, Velardi E, Tsai JJ et al. Increased GVHD-related mortality with broad-spectrum antibiotic use after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in human patients and mice. *Sci Transl Med* 2016; 8(339):339ra71. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf2311.
114. Hayase E, Hayase T, Jamal MA, Miyama T, Chang C-C, Ortega MR et al. Mucus-degrading *Bacteroides* link carbapenems to aggravated graft-versus-host disease. *Cell* 2022; 185(20):3705–3719.e14. doi: 10.1016/j.cell.2022.09.007.
115. E. H. Simpson. Measurement of Diversity. *Nature* 1949; (163):688.
116. Harris AC, Levine JE, Ferrara JLM. Have we made progress in the treatment of GVHD? *Best Pract Res Clin Haematol* 2012; 25(4):473–8. doi: 10.1016/j.beha.2012.10.010.
117. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Wolff D, Cowen EW et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(3):389–401.e1. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.12.001.

118. Kong SG, Jeong S, Lee S, Jeong J-Y, Kim DJ, Lee HS. Early transplantation-related mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute leukemia. *BMC Cancer* 2021; 21(1):177. doi: 10.1186/s12885-021-07897-3.
119. Styczyński 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. doi: 10.1038/s41409-019-0624-z.
120. Zentrales Knochenmarkspender-Register für die. Jahresbericht 2021; 2021. Verfügbar unter: https://www.zkrd.de/wp-content/uploads/2022/07/2021_ZKRD_Jahresbericht_DE-final.pdf.
121. Kreidieh F, Abou Dalle I, Moukalled N, El-Cheikh J, Brissot E, Mohty M et al. Relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in acute myeloid leukemia: an overview of prevention and treatment. *International journal of hematology* 2022; 116(3):330–40. doi: 10.1007/s12185-022-03416-7.
122. Poonsombudlert K, Kewcharoen J, Prueksapraopong C, Limpruttidham N. Prophylactic donor lymphocyte infusion for relapse prevention: a meta-analysis. *Jpn J Clin Oncol* 2020; 50(6):661–70. doi: 10.1093/jjco/hyaa022.
123. Klyuchnikov E, Holler E, Bornhäuser M, Kobbe G, Nagler A, Shimoni A et al. Donor lymphocyte infusions and second transplantation as salvage treatment for relapsed myelofibrosis after reduced-intensity allografting. *Br J Haematol* 2012; 159(2):172–81. doi: 10.1111/bjh.12013.
124. Tan Y, Du K, Luo Y, Shi J, Cao L, Zheng Y et al. Superiority of preemptive donor lymphocyte infusion based on minimal residual disease in acute leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transfusion* 2014; 54(6):1493–500. doi: 10.1111/trf.12524.
125. Konuma T, Ishiyama K, Igarashi A, Uchida N, Ozawa Y, Fukuda T et al. Effects of Acute and Chronic Graft-versus-myelodysplastic Syndrome on Long-term Outcomes Following Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Clin Cancer Res* 2020; 26(24):6483–93. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-1104.
126. Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG). Allogeneic stem cell transplantation in aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma and in T-cell non-Hodgkin lymphoma: IQWiG Reports – Commission No. N17-02. Cologne (Germany); 2019.
127. Mo X-D, Xu L-P, Zhang X-H, Liu D-H, Wang Y, Chen H et al. Chronic GVHD induced GVL effect after unmanipulated haploidentical hematopoietic SCT for AML and myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50(1):127–33. doi: 10.1038/bmt.2014.223.
128. Boyiadzis M, Arora M, Klein JP, Hassebroek A, Hemmer M, Urbano-Ispizua A et al. Impact of Chronic Graft-versus-Host Disease on Late Relapse and Survival on 7,489 Patients after Myeloablative Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Leukemia. *Clin Cancer Res* 2015; 21(9):2020–8. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0586.
129. Tamaki M, Akahoshi Y, Inamoto Y, Morita K, Uchida N, Doki N et al. Associations between acute and chronic graft-versus-host disease. *Blood Adv* 2024; 8(16):4250–61. doi: 10.1182/bloodadvances.2024013442.

- 130.Reddy P, Maeda Y, Liu C, Krijanovski OI, Korngold R, Ferrara JLM. A crucial role for antigen-presenting cells and alloantigen expression in graft-versus-leukemia responses. *Nat Med* 2005; 11(11):1244–9. doi: 10.1038/nm1309.
- 131.Peled JU, Gomes ALC, Devlin SM, Littmann ER, Taur Y, Sung AD et al. Microbiota as Predictor of Mortality in Allogeneic Hematopoietic-Cell Transplantation. *N Engl J Med* 2020; 382(9):822–34. doi: 10.1056/NEJMoa1900623.
- 132.Seike K, Kiledal A, Fujiwara H, Henig I, Da Burgos Silva M, van den Brink MRM et al. Ambient oxygen levels regulate intestinal dysbiosis and GVHD severity after allogeneic stem cell transplantation. *Immunity* 2023; 56(2):353-368.e6. doi: 10.1016/j.immuni.2023.01.007.
- 133.Jenq RR, Ubeda C, Taur Y, Menezes CC, Khanin R, Dudakov JA et al. Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation. *J Exp Med* 2012; 209(5):903–11. doi: 10.1084/jem.20112408.
- 134.Jenq RR, Taur Y, Devlin SM, Ponce DM, Goldberg JD, Ahr KF et al. Intestinal *Blautia* Is Associated with Reduced Death from Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21(8):1373–83. doi: 10.1016/j.bbmt.2015.04.016.
- 135.Da Burgos Silva M, Ponce DM, Dai A, M Devlin S, Gomes ALC, Moore G et al. Preservation of the fecal microbiome is associated with reduced severity of graft-versus-host disease. *Blood* 2022; 140(22):2385–97. doi: 10.1182/blood.2021015352.
- 136.Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 2011; 331(6015):337–41. doi: 10.1126/science.1198469.
- 137.Jacquelot N, Enot DP, Flament C, Vimond N, Blattner C, Pitt JM et al. Chemokine receptor patterns in lymphocytes mirror metastatic spreading in melanoma. *J Clin Invest* 2016; 126(3):921–37. doi: 10.1172/jci80071.
- 138.Hill GR, Ferrara JL. The primacy of the gastrointestinal tract as a target organ of acute graft-versus-host disease: rationale for the use of cytokine shields in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2000; 95(9):2754–9.
- 139.Shono Y, Docampo MD, Peled JU, Perobelli SM, Jenq RR. Intestinal microbiota-related effects on graft-versus-host disease. *International journal of hematology*; 2015.
- 140.Wheeler R, Chevalier G, Eberl G, Gomperts Boneca I. The biology of bacterial peptidoglycans and their impact on host immunity and physiology. *Cell Microbiol* 2014; 16(7):1014–23. doi: 10.1111/cmi.12304.
- 141.Coussens LM, Zitvogel L, Palucka AK. Neutralizing tumor-promoting chronic inflammation: a magic bullet? *Science* 2013; 339(6117):286–91. doi: 10.1126/science.1232227.
- 142.Sivan A, Corrales L, Hubert N, Williams JB, Aquino-Michaels K, Earley ZM et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science* 2015; 350(6264):1084–9. doi: 10.1126/science.aac4255.
- 143.Cheng M, Qian L, Shen G, Bian G, Xu T, Xu W et al. Microbiota modulate tumoral immune surveillance in lung through a $\gamma\delta$ T17 immune cell-dependent mechanism. *Cancer Res* 2014; 74(15):4030–41. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2462.

144. Boursi B, Mamtani R, Haynes K, Yang Y-X. Recurrent antibiotic exposure may promote cancer formation--Another step in understanding the role of the human microbiota? *Eur J Cancer* 2015; 51(17):2655–64. doi: 10.1016/j.ejca.2015.08.015.
145. Oikonomopoulou K, Brinc D, Kyriacou K, Diamandis EP. Infection and cancer: revaluation of the hygiene hypothesis. *Clin Cancer Res* 2013; 19(11):2834–41. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3661.
146. Peled JU, Devlin SM, Staffas A, Lumish M, Khanin R, Littmann ER et al. Intestinal Microbiota and Relapse After Hematopoietic-Cell Transplantation. *J Clin Oncol* 2017; 35(15):1650–9. doi: 10.1200/JCO.2016.70.3348.
147. Kanauchi O, Fukuda M, Matsumoto Y, Ishii S, Ozawa T, Shimizu M et al. *Eubacterium limosum* ameliorates experimental colitis and metabolite of microbe attenuates colonic inflammatory action with increase of mucosal integrity. *World J Gastroenterol* 2006; 12(7):1071–7. doi: 10.3748/wjg.v12.i7.1071.
148. James L. M. Ferrara, Mohammed S. Chaudhry. GvHD: Biology matters. *Blood Adv* 2018 2018; 2(22):3411–7. Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2018020214>.
149. Ferrara JLM, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *The Lancet* 2009; 373(9674):1550–61. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60237-3.
150. Taur Y, Jenq RR, Perales M-A, Littmann ER, Morjaria S, Ling L et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2014; 124(7):1174–82. doi: 10.1182/blood-2014-02-554725.
151. Markey KA, Schluter J, Gomes ALC, Littmann ER, Pickard AJ, Taylor BP et al. The microbe-derived short-chain fatty acids butyrate and propionate are associated with protection from chronic GVHD. *Blood* 2020; 136(1):130–6. doi: 10.1182/blood.2019003369.
152. Meedt E, Hiergeist A, Gessner A, Dettmer K, Liebisch G, Ghimire S et al. Prolonged Suppression of Butyrate-Producing Bacteria Is Associated With Acute Gastrointestinal Graft-vs-Host Disease and Transplantation-Related Mortality After Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Clin Infect Dis* 2022; 74(4):614–21. doi: 10.1093/cid/ciab500.
153. Hu M, Alashkar Alhamwe B, Santner-Nanan B, Miethe S, Harb H, Renz H et al. Short-Chain Fatty Acids Augment Differentiation and Function of Human Induced Regulatory T Cells. *Int J Mol Sci* 2022; 23(10). doi: 10.3390/ijms23105740.
154. Park J, Kim M, Kang SG, Jannasch AH, Cooper B, Patterson J et al. Short-chain fatty acids induce both effector and regulatory T cells by suppression of histone deacetylases and regulation of the mTOR-S6K pathway. *Mucosal Immunol* 2015; 8(1):80–93. doi: 10.1038/mi.2014.44.
155. Goswami TK, Singh M, Dhawan M, Mitra S, Emran TB, Rabaan AA et al. Regulatory T cells (Tregs) and their therapeutic potential against autoimmune disorders - Advances and challenges. *Hum Vaccin Immunother* 2022; 18(1):2035117. doi: 10.1080/21645515.2022.2035117.
156. Heinrichs J, Li J, Nguyen H, Wu Y, Bastian D, Daethanasanmak A et al. CD8(+) Tregs promote GVHD prevention and overcome the impaired GVL effect mediated by CD4(+) Tregs in mice. *Oncoimmunology* 2016; 5(6):e1146842. doi: 10.1080/2162402X.2016.1146842.
157. Greco R, Nitti R, Mancini N, Pasciuta R, Lorentino F, Lupo-Stanghellini MT et al. Microbiome markers are early predictors of acute GVHD in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Blood* 2021; 137(11):1556–9. doi: 10.1182/blood.2020007158.

158. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature* 2012; 489(7415):220–30. doi: 10.1038/nature11550.
159. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012; 486(7402):222–7. doi: 10.1038/nature11053.
160. Woodmansey EJ. Intestinal bacteria and ageing. *J Appl Microbiol* 2007; 102(5):1178–86. doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03400.x.
161. Lim ES, Zhou Y, Zhao G, Bauer IK, Droit L, Ndao IM et al. Early life dynamics of the human gut virome and bacterial microbiome in infants. *Nat Med* 2015; 21(10):1228–34. doi: 10.1038/nm.3950.
162. Benson AK, Kelly SA, Legge R, Ma F, Low SJ, Kim J et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(44):18933–8. doi: 10.1073/pnas.1007028107.

7 DANKSAGUNG

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Holler für die hervorragende Betreuung über einen Zeitraum von nun fast sechs Jahren. Vielen Dank für die geduldige Beantwortung aller meiner Fragen und rasche Korrektur in der Fertigstellungsphase.

Daneben möchte ich mich bei meinen Eltern, meinem Bruder, meinen Freundinnen und meinem Partner für die Unterstützung all die Jahre bedanken.