

STRESZCZENIE

WSTĘP:

Transplantacja komórek hematopoetycznych jest uznaną na całym świecie metodą leczenia wielu chorób, zarówno nowotworowych jak i nienowotworowych. Dzięki postępowi jaki przez lata dokonał się w kwestii doboru dawców, protokołów kondycjonowania, profilaktyki przeciw infekjom oraz intensywnej terapii, wskaźniki przeżycia po HSCT stale rosną. Jednakże transplantacja nadal pozostaje procedurą wyjątkowo wysokiego ryzyka. Dokładne poznanie i zrozumienie komplikacji, które mogą pojawić się po transplantacji, a także aktualnych wytycznych diagnostycznych i terapeutycznych wydaje się być szczególnie istotnym czynnikiem mogącym wpłynąć na ostateczne wyniki leczenia pacjentów poddawanych HSCT.

Najczęściej pojawiającymi się powikłaniami we wczesnym okresie po transplantacji są ciężkie i oportunistyczne infekcje (bakteryjne, grzybicze, wirusowe), pierwotne odrzucenie przeszczepu lub jego niewydolność, ciężkie toksyczności narządowe, oraz powikłania związane z uszkodzeniem śródbłonna naczyń, które obejmują ostrą chorobę przeszczep przeciwko gospodarzowi (aGvHD), wenookluzyjna chorobę wątroby (VOD) oraz mikroangiopatię zakrzepową (TMA).

W mojej rozprawie doktorskiej szczególny nacisk kładę na komplikacje ściśle związane z transplantacją- aGvHD oraz VOD. Ponadto, poprzez szeroką analizę pacjentów wymagających intensywnej terapii po HSCT, moja rozprawa doktorska obejmuje szczegółowy przegląd licznych, głównie tych najcięższych powikłań po transplantacji.

aGvHD od lat pozostaje główną przeszkodą przeciwko szerszemu zastosowaniu procedury HSCT. Stanowi obecnie jedną z najczęstszych przyczyn zarówno wczesnej jak i późnej śmiertelności związanej z transplantacją (transplant-related mortality, TRM).¹ Narządowa manifestacja aGvHD obejmuje skórę, błonę śluzową przewodu pokarmowego oraz wątrobę.³⁵ Diagnoza aGvHD stawiana jest głównie na podstawie objawów klinicznych, aczkolwiek o ile to możliwe powinna zostać potwierdzona badaniem histopatologicznym. Ogólne oraz narządowe zaawansowanie choroby powinno być oceniane w oparciu o pediatryczne kryteria opublikowane przez *Jacobson et al.*³

Istnieje kilka uznanych strategii profilaktycznych wobec aGvHD, jednakże każda z nich niesie za sobą dodatkowe konsekwencje, najczęściej w postaci zwiększonego ryzyka wznowy oraz większej podatności na ciężkie infekcje. Pomimo profilaktyki, aGvHD rozwija się u około 50-80% dzieci po przeszczepie.⁴⁻⁶ W leczeniu pierwszego rzutu stosowane są głównie sterydy w dużych dawkach, jednak nawet w 50% przypadków aGvHD pozostaje sterydooporne. Od wielu lat trwają intensywne badania nad ustaleniem skutecznego postępowania wobec sterydoopornego aGvHD, pomimo tego na dzień dzisiejszy żadna ze strategii terapeutycznych nie została jednoznacznie uznana za efektywną.^{7,8}

Liczne czynniki ryzyka aGvHD zostały wielokrotnie opisane u dorosłych pacjentów poddawanych transplantacji. Najczęściej wymieniane z nich to kondycjonowanie mieloablacyjne, niezgodność w układzie HLA, wiek biorcy oraz niezgodność płci między dawcą a biorcą (zwłaszcza żeński dawca dla męskiego biorcy).^{4,9} Należy jednak podkreślić istotne różnice między populacją dorosłych a populacją pediatryczną, głównie pod względem wskazań do transplantacji, wcześniejszego leczenia, chorób współistniejących oraz postępowania okołotransplantacyjnego. Stąd też, wobec braku skutecznego leczenia drugiego rzutu oraz ograniczonej ilości danych na temat czynników ryzyka aGvHD u dzieci, dokładna ocena oraz analiza czynników ryzyka aGvHD w populacji pediatrycznej wydaje się być niezbędną.

VOD jest trudną do przewidzenia oraz potencjalnie śmiertelną chorobą pierwotnie związaną z HSCT. Może wystąpić zarówno po transplantacji allogenicznej jak i autologicznej.¹⁰ W bardzo rzadkich przypadkach, VOD może również rozwinąć się niezależnie od transplantacji, w wyniku intensywnej chemioterapii, radioterapii lub leczenia przeciwciałami monoklonalnymi o działaniu immunotoksycznym.^{11,12} Patofizjologia VOD obejmuje pierwotne toksyczne uszkodzenie śródbłonna zatok wątrobowych co pozwala na okołonaczyniowe odkładanie się krwinek, nasilające dalsze rozwarstwianie śródbłonna. W kolejnym etapie prowadzi to do zwężenia światła naczyń, aktywacji procesów zakrzepowych, niedrożności zatok wątrobowych oraz rozwoju nadciśnienia wrotnego. W wyniku tego procesu dochodzi do rozwoju zespołu objawów klinicznych składających się na VOD i obejmujących hepatomegalię, wodobrzusze, wzrost wagi oraz hiperbilirubinemię; objawy standardowo pojawiają się w przeciągu pierwszych 20 dni po transplantacji.¹³⁻¹⁵

Częstość występowania VOD w populacji dorosłych określana jest na 13.7%, natomiast u dzieci może być trzykrotnie większa osiągając nawet 60% w populacjach wysokiego ryzyka (np. U niemowląt, głównie ze względu na niedojrzałość wątroby). Ponadto u dzieci znacznie częściej obserwowany jest późniejszy początek objawów VOD (powyżej 20 dni po HSCT) jak i brak znacznego wzrostu bilirubiny w przebiegu choroby.¹⁶⁻¹⁹

Wobec braku specyficznych dla VOD biomarkerów, diagnoza stawiana jest przede wszystkim na podstawie objawów klinicznych i podstawowych badań laboratoryjnych. Przez ostatnie 25 lat, dwa zestawy kryteriów były wykorzystywane w diagnostyce VOD u dzieci- kryteria z Baltimore oraz zmodyfikowane kryteria z Seattle (Tabele 1 i 2).^{14,15} Oby dwa zestawy kryteriów były wyjątkowo rygorystyczne, głównie pod względem czasu pojawienia się objawów VOD jak i poziomu bilirubiny. Przede wszystkim jednak, powyższe kryteria zostały pierwotnie dedykowane pacjentom dorosłym toteż nie uwzględniały kluczowych różnic w przebiegu VOD między populacją dorosłych a pacjentami pediatrycznymi. Ta istotna luka została wypełniona przez nowe pediatryczne kryteria VOD zaproponowane przez EBMT (European Society for Bone and Marrow Transplantation).²⁰ Główne modyfikacje zawarte w kryteriach EBMT obejmują brak ograniczeń czasowych w rozpoznaniu VOD, nacisk na dynamikę zmian w poziomie bilirubiny bez konieczności osiągnięcia konkretnego poziomu oraz włączenie odpornej małopłytkowości ze zużycia (RT- refractory thrombocytopenia) jako kryterium diagnostycznego. Powyższe kryteria, jakkolwiek obiecujące, zostały stworzone wyłącznie na podstawie wiedzy i doświadczenia grupy ekspertów w dziedzinie VOD. Ich czułość została później kilkakrotnie potwierdzona w badaniach retrospektywnych, jednakże dokładna, prospektywna ocena ich przydatności w praktyce klinicznej wydaje się być niezbędna.²¹

Pacjenci w momencie przystępowania do procedury HSCT, mają za sobą zazwyczaj długie i intensywne leczenie. Po transplantacji, zmagają się z licznymi toksycznościami narządowymi wynikającymi z wcześniejszego leczenia oraz kondycjonowania przed transplantacją. Ze względu na intensywne leczenie immunosupresyjne, są szczególnie podatni na ciężkie i oportunistyczne infekcje. Z tego względu, znaczna liczba dzieci po HSCT wymaga hospitalizacji w Oddziale Intensywnej Terapii Dziecięcej (OITD).^{22,23} Wobec dostępnych w literaturze doniesień o bardzo wysokiej, sięgającej nawet 100%, śmiertelności pacjentów po HSCT wymagających hospitalizacji w OIT, wskazania do intensywnej terapii dzieci po transplantacji przez lata pozostawały kontrowersyjne.^{24,25} Jednakże, dzięki postępowi jaki dokonał się w ostatnich latach, zarówno w dziedzinie transplantologii jak i intensywnej terapii, obserwuje się znacznie lepsze wyniki leczenia oraz poprawę rokowania dla pacjentów wymagających intensywnej terapii po przeszczepie. Należy pamiętać jednak, że dzieci po HSCT, hospitalizowane w OITD mogą wymagać odrębnych, specyficznych protokołów postępowania. Istnieje wiele czynników, zwłaszcza w zakresie

odnowy hematologicznej oraz funkcji szpiku, które mogą znacząco wpłynąć na ich odpowiedź na leczenie.²⁶

Głównymi wskazaniami do leczenia w OITD po HSCT są między innymi niewydolność oddechowa oraz wstrząs septyczny, nierzadko ze sobą współistniejące. Wobec konieczności leczenia immunosupresyjnego, ciężkie układowe infekcje pozostają istotnym powikłaniem po przeszczepie, w wielu przypadkach wymagające intensywnego, wielokierunkowego leczenia. W literaturze dostępne są liczne badania analizujące wpływ rozmaitych czynników na przeżycie pacjentów po transplantacji wymagających hospitalizacji w OITD. Konieczność wentylacji mechanicznej i terapii nerkozastępczej, choroba nowotworowa, współistnienie aGvHD oraz intensywność kondycjonowania wydają się być głównymi czynnikami zmniejszającymi szanse na przeżycie w OITD.²⁷⁻²⁹ Jednakże należy zwrócić uwagę na brak doniesień analizujących wpływ odnowy hematologicznej lub wydolności szpiku na śmiertelność dzieci po transplantacji wymagających intensywnej terapii. Wobec najnowszych, wielośrodkowych badań, dowodzących iż brak jest różnicy w długoterminowym przeżyciu między pacjentami, którzy zostali wypisani z OITD a tymi którzy nie wymagali intensywnej terapii, konieczne jest dokładne określenie czynników wpływających na przeżycie w OITD dzieci po HSCT.

OMÓWIENIE PRAC

Premature cyclosporine cessation and TBI-containing conditioning regimen increase the risk of acute GvHD in children undergoing unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation.

W pierwszej publikacji, która wchodzi w skład mojej rozprawy doktorskiej, szczegółowej analizie została poddana jedna z naczęstszych i najcięższych komplikacji po HSCT jaką jest aGvHD. Głównym celem badania było dokładne określenie czynników ryzyka wystąpienia aGvHD u dzieci po transplantacji komórek hematopoetycznych od dawcy niespokrewnionego. Badaniem objęto 237 pacjentów; każdy z nich otrzymał standardową profilaktykę przeciwko aGvHD składającą się z cyklosporyny (CsA) oraz metotreksatu. Liczne czynniki epidemiologiczne i kliniczne, zwłaszcza protokoły kondycjonowania, zawartość materiału przeszczepowego, czas trwania i spójność profilaktyki wobec aGvHD były analizowane jako potencjalnie wpływające na ryzyko pojawienia się aGvHD po HSCT.

Częstość występowania aGvHD (II-IV) w badanej populacji wynosiła prawie 60%. Podkreśla to powszechność i skalę problemu jakim we wczesnym okresie po transplantacji jest aGvHD. Przeprowadzona wieloczynnikowa analiza statystyczna ujawniła trzy czynniki niezależnie wpływające na ryzyko rozwoju aGvHD po HSCT.

Pacjenci poddani mieloablacyjnemu kondycjonowaniu opartemu na naświetlaniu całego ciała (TBI-total body irradiation) znacznie częściej prezentowali objawy aGvHD we wczesnym okresie po HSCT. Istotnym wynikiem był również brak wzrostu ryzyka wystąpienia aGvHD u pacjentów otrzymujących kondycjonowanie mieloablacyjne oparte na Busulfanie (podobne ryzyko jak w przypadku protokołów o zmniejszonej intensywności). Powyższe wyniki sugerują, że w przeciwieństwie do TBI, protokoły mieloablacyjne oparte na wysokodawkowej chemioterapii nie wpływają istotnie na ryzyko rozwoju aGvHD po HSCT.

Przedwczesne odstawienie CsA znacząco zwiększało prawdopodobieństwo wystąpienia aGvHD. W grupie badanej, prawie 20% pacjentów zaprezentowało ciężkie objawy niepożądane związane z podażą CsA i wymagało natychmiastowego odstawienia leku. Optymalna strategia profilaktyczna wobec aGvHD, mimo dostępności wielu potencjalnie skutecznych preparatów, nadal nie została jednoznacznie ustalona. Jednakże wyniki powyższego badania sugerują iż, rola inhibitorów kalcyneuryny w profilaktyce aGvHD może być niezastąpiona. Pacjenci poddani transplantacji przed rokiem 2009 znacznie częściej prezentowali objawy aGvHD niż ci poddani transplantacji w późniejszych latach. Ponadto, wcześniejsze HSCT wiązały się ze znacznie mniejszą przeżywalnością pacjentów i wyższym TRM. Jest to bezpośrednie odzwierciedlenie postępów zarówno w protokołach transplantacyjnych jak i dobrze dawców, jakie dokonały się w czasie, który był objęty badaniem.

Pozostałe analizowane czynniki takie jak wiek dawcy i biorcy, niezgodność płci między dawcą i biorcą, ilość przetoczonych komórek CD34+, źródło materiału przeszczepowego oraz wskazania do transplantacji okazały się nie mieć wpływu na występowanie aGvHD po HSCT.

Dobór optymalnego protokołu kondycjonowania oraz właściwa strategia profilaktyczna wobec aGvHD, zakładająca ciągłą podaż CsA wydają się mieć kluczowy wpływ zarówno na ryzyko wystąpienia aGvHD jak i ostateczne wyniki leczenia pacjentów po HSCT. Powyższe wyniki sugerują iż decyzja o odstawieniu CsA powinna być podejmowana ze szczególną rozważą.

Factors affecting survival in children requiring intensive care after hematopoietic stem cell transplantation. A retrospective single-center study.

Kolejna publikacja będąca częścią mojej rozprawy doktorskiej obejmuje wielokierunkową analizę pacjentów wymagających leczenia w OITD w przebiegu pierwszego roku po transplantacji komórek hematopoetycznych. Szegółowym celem badania było określenie potencjalnych czynników mogących wpływać na przeżywalność pacjentów hospitalizowanych w OITD. Szereg zmiennych, obejmujący wskazania do leczenia w OITD, protokoły kondycjonowania, intensywność wymaganego leczenia, konieczność wentylacji mechanicznej oraz jakość odnowy hematologicznej analizowano pod kątem potencjalnego wpływu na śmiertelność pacjentów po HSCT. Badaniem objęto wszystkie dzieci poddane transplantacji allogenicznej w latach 2005-2017 (n=668).

Spośród pacjentów włączonych do badania, prawie 9% (n=58) wymagało leczenia w OITD. Jest to niski odsetek w porównaniu do pozostałych badań dostępnych w literaturze.^{30,31} Spośród pacjentów hospitalizowanych w OITD, 58.5% zmarło. Wśród tych, którzy zostali wypisani z OITD, 91.7% przeżyło kolejne 30 dni, a 66.7% kolejne 6 miesięcy po wypisie. Otrzymane satysfakcjonujące wyniki dotyczące przeżycia po wypisie z OITD, są zgodne z najnowszymi wielośrodkowymi badaniami dowodzącymi iż wcześniejszy podbyt na OITD nie wpływa znacząco na długoterminowe przeżycie pacjentów po HSCT.

Farmakologiczne wspomaganie układu krążenia jest jedną z głównych form leczenia stosowanych w OITD. Złożona terapia sercowo-naczyniowa, zawierająca co najmniej 3 leki o działaniu intropowym lub wazokonstrykcyjnym była stosowana u 30% pacjentów wymagających leczenia w OITD w grupie badanej. Spośród nich tylko dwoje zostało wypisanych z OITD. W przeprowadzonej wieloczynnikowej analizie, konieczność wdrożenia kompleksowego wspomaganie układu krążenia była niezależnym czynnikiem ryzyka śmierci pacjentów po HSCT wymagających intensywnej terapii. Drugim i ostatnim niezależnym czynnikiem ryzyka śmierci w OITD był poziom granulocytów (-absolute neutrophil count - ANC) w ostatnim dniu leczenia. W literaturze dostępne są jedynie sporadyczne doniesienia na temat zależności między odnową hematologiczną i funkcją szpiku a przeżyciem w OITD. W omawianym badaniu znacznie niższe poziomy ANC obserwowane były u pacjentów którzy zmarli w OITD w porównaniu do pacjentów wypisanych z oddziału. W przeciwieństwie do ANC w ostatnim dniu leczenia, poziom granulocytów oraz ciężka neutropenia w dniu przyjęcia do OITD nie miały znaczącego wpływu na śmiertelność pacjentów. Powyższe wyniki podkreślają konieczność indywidualnego podejścia terapeutycznego do dzieci wymagających intensywnej terapii po HSCT, ponieważ osiągnięcie przez nich odnowy hematologicznej i odpowiedniego poziomu ANC może znacznie zmienić ich odpowiedź na leczenie oraz dalsze rokowania.

Najbardziej typowym i najczęściej opisywanym w literaturze czynnikiem pogarszającym przeżycie w OITD pacjentów po HSCT jest konieczność stosowania wentylacji mechanicznej, co nie zostało to potwierdzone w omawianym badaniu.^{24,36} W publikacji zaprezentowano za to grupę 5 pacjentów skutecznie leczonych za pomocą wentylacji nieinwazyjnej (NIV), którzy nie wymagali następowej intubacji i zostali wypisani z OITD. Jakkolwiek ograniczone niewielką liczbą przypadków, wyniki te sugerują, iż odpowiednio wcześniej zastosowany NIV może być skuteczną metodą wsparcia układu oddechowego w tej grupie pacjentów.

Wobec porównywalnie istotnego wpływu zarówno funkcji szpiku jak i intensywności leczenia na śmiertelność w OITD, rezultaty powyższego badania podkreślają istotę holistycznego podejścia do pacjentów pediatrycznych wymagających intensywnej terapii po HSCT.

Veno-occlusive disease in children and adolescents after hematopoietic stem cell transplantation: Did the Modified Seattle Criteria fit the characteristics of pediatric population?

Trzecia z publikacji wchodzących w skład cyklu stanowi szczegółowy raport na temat VOD, jednej z najcięższych komplikacji mogących pojawić się we wczesnym okresie po transplantacji. Ponadto, oprócz dogłębnej analizy pacjentów cierpiących na VOD, w badaniu zakwestionowano również obowiązujące ówczesnie kryteria diagnostyczne VOD. Czy rzeczywiście zmodyfikowane kryteria z Seattle były odpowiednim narzędziem do diagnostyki VOD u dzieci?

Retrospektywne badanie objęło 951 procedur HSCT wykonanych u 850 pacjentów pediatrycznych na przestrzeni lat 2001-2015. Spośród wszystkich pacjentów, u 48 zdiagnozowano VOD za pomocą zmodyfikowanych kryteriów diagnostycznych z Seattle. W porównaniu do innych dostępnych w literaturze doniesień na temat VOD, rozpoznawalność tego powikłania na poziomie 5.05% okazała się być wyjątkowo niska. Ponadto, jedna trzecia pacjentów z VOD nie spełniła obowiązkowego kryterium czasu (rozpoznanie poniżej 20 dnia po HSCT), stąd też zostali sklasyfikowani jako „VOD o późnym początku” (late-onset VOD). Późniejszy rozwój objawów VOD jest istotnie częściej obserwowany u dzieci w porównaniu z dorosłymi pacjentami po transplantacji.¹⁶ Stąd też, biorąc pod uwagę znaczną liczbę przypadków zdiagnozowanych ponad 20 po HSCT, wyniki powyższej analizy sugerują, iż kryterium czasu wydaje się być bezużyteczne lub wręcz niekorzystne w rozpoznawaniu VOD w populacji pediatrycznej.

Kolejnym kontrowersyjnym kryterium diagnostycznym jest hiperbilirubinemia. Mimo iż nie jest to kryterium obligatoryjne, hiperbilirubinemia pozostaje istotnym elementem zmodyfikowanych kryteriów z Seattle. Podobnie jak relatywnie późniejszy początek choroby, przebieg VOD bez istotnego wzrostu bilirubiny jest znacznie częściej obserwowany u dzieci niż u dorosłych.^{18,19} Ponad 30% pacjentów w badanej grupie nie osiągnęło poziomu bilirubiny sugerowanego w zmodyfikowanych kryteriach z Seattle ($>2\text{mg}\%$). Wzrost poziomu bilirubiny jest oczywiście typowym objawem VOD, jednakże brak hiperbilirubinemii nie powinien opóźniać właściwej diagnozy oraz włączenia odpowiedniego leczenia.

Większość pacjentów z VOD w badanej populacji prezentowała nawracającą trombocytopenię ze zużycia (refractory thrombocytopenia-RT), niereagującą na powtarzane trasfuzje koncentratu krwinek płytkowych. RT najczęściej była obserwowana krótko przed ostatecznym postawieniem diagnozy VOD. Mimo, iż omawiana była jako potencjalny objaw już w pierwszych doniesieniach dotyczących VOD, nigdy nie została uznana za kryterium diagnostyczne. Wyniki powyższego badania dowodzą, że RT może być bardzo wczesnym sygnałem sugerującym możliwość rozwoju VOD.

Podsumowując, zmodyfikowane kryteria z Seattle nie wydają się być właściwym narzędziem diagnostycznym VOD w populacji pediatrycznej, głównie ze względu na pominięcie istotnych różnic w przebiegu VOD między dziećmi a pacjentami dorosłymi. Zwłaszcza ograniczenie rozpoznania do 20 po przeszczepie oraz restrykcyjne podejście do poziomu bilirubiny wydają się być szkodliwe, powodując niepotrzebne opóźnienie diagnozy oraz ryzyko pominięcia chorych o łagodnym lub umiarkowanym przebiegu choroby.

Introduction of new pediatric EBMT criteria for VOD diagnosis: is it time-saving or money-wasting? : Prospective evaluation of pediatric EBMT criteria for VOD.

Kolejne badanie będące częścią mojej rozprawy doktorskiej, wynika bezpośrednio z poprzedniej publikacji oceniającej użyteczność zmodyfikowanych kryteriów z Seattle w populacji pediatrycznej. Konieczność pilnej oceny nowych pediatrycznych kryteriów VOD zaproponowanych przez EBMT w praktyce klinicznej poskutkowało rozpoczęciem w styczniu 2016 roku prospektywnego badania analizującego przydatność nowych kryteriów i ich potencjalny wpływ zarówno na ostateczne wyniki leczenia pacjentów, jak i na aspekt ekonomiczny. Do marca 2019 badaniem objęto 282 dzieci, szczegółowo analizując tych pacjentów, u których zdiagnozowano VOD zgodnie z nowymi kryteriami.

W czasie objętym badaniem, częstość występowania VOD wyniosła 8.9%. Jest to prawie dwukrotnie więcej niż w czasie kiedy używane były zmodyfikowane kryteria z Seattle, co dowodzi temu, iż mniej restrykcyjne, a raczej dynamiczne kryteria diagnostyczne ułatwiły rozpoznawanie VOD. Jakkolwiek, częstość występowania tego powikłania na poziomie niecałych 9% jest nadal wyjątkowo niska w porównaniu do innych doniesień dostępnych w literaturze- stąd też, powyższe wyniki raczej nie potwierdzają obaw dotyczących ryzyka nadrozpoznowania VOD dzięki mniej restrykcyjnym kryteriom.^{16,34} Aby podkreślić większą czułość nowych kryteriów, przeprowadzono retrospektywną symulację z użyciem kryteriów z Baltimore oraz zmodyfikowanych kryteriów z Seattle. Nie tylko rozpoznawalność VOD przy użyciu starych kryteriów była zdecydowanie niższa, ale także obserwowane było zdecydowane opóźnienie diagnozy w porównaniu do kryteriów EBMT. Zgodnie z najnowszymi badaniami oceniającymi skuteczność Defibrotynu u dzieci, nawet jednodniowe opóźnienie w rozpoczęciu leczenia może znacząco zmniejszyć szanse pacjenta na przeżycie.

Odmienne podejście do zmian w poziomie bilirubiny jako symptomu VOD, prezentowane w nowych kryteriach, ujawniło iż przebieg VOD bez hiperbilirubinemii może być jeszcze częstszy niż uprzednio oczekiwano. Tylko 20% pacjentów w grupie badanej osiągnęło poziom bilirubiny powyżej 2mg/dL w chwili diagnozy VOD, natomiast prawie 70% pacjentów spełniło kryterium dynamicznego wzrostu poziomu bilirubiny przez trzy kolejne dni (bez konieczności osiągnięcia konkretnego poziomu). Dokładne monitorowanie poziomu bilirubiny z szczególnym uwzględnieniem jego kinetyki wydaje się być bardziej przydatne we wczesnym rozpoznawaniu VOD, zwłaszcza wobec licznych badań dowodzących iż hiperbilirubinemia jest raczej późnym objawem VOD oraz złym czynnikiem prognostycznym. RT była najwcześniej obserwowanym kryterium VOD i jedynym które zostało spełnione przez 100% pacjentów w badaniu. Mimo, iż na przestrzeni lat liczne badania dotyczące VOD w populacji dorosłych wskazywały na RT jako istotny objaw choroby, nigdy nie została ona włączona do kryteriów diagnostycznych. Obecnie, RT, będąc prostym odzwierciedleniem procesów patofizjologicznych odpowiedzialnych za VOD, wydaje się być najwcześniejszą i wyjątkowo istotną wskazówką sugerującą rozwój VOD.

Mimo iż w omawianym badaniu nie analizowano szczegółowego wpływu nowych kryteriów na koszty leczenia, wydaje się być istotnym fakt, iż wprowadzenie nowych kryteriów umożliwiło skrócenie czasu hospitalizacji pacjentów z VOD średnio o 12 dni.

Podsumowując, nowe pediatryczne kryteria VOD zaproponowane przez EBMT, dzięki wysokiej czułości pozwalają na wczesną diagnozę oraz natychmiastowe rozpoczęcie terapii, co znacząco poprawiło generalne wyniki leczenia pacjentów. Ponadto, dzięki możliwości skrócenia czasu hospitalizacji, nowe kryteria diagnostyczne wydają się mieć szoroko pojęty, korzystny wpływ na pacjentów cierpiących na VOD po HSCT.

1. Faraci M, Caviglia I, Biral E, et al. Acute graft-versus-host disease in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation . Single-center experience during 10 yr. *Pediatr Transplant*. 2012;16:887-893.
2. H. Glucksberg, R. Storb, A. Fefer, C. D. Buckner, P. E. Neiman, R. A. Clift, K. G. Lerner EDT. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from hla-matched sibling donors. *Transplantation*. 1974;18(4):295-304.
3. Jacobsohn DA. Acute graft-versus-host disease in children. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41(2):215-221.
4. Flowers MED, Inamoto Y, Carpenter P a, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood J*. 2011;117(11):3214-3219.
5. Shaw PJ, Kan F, Ahn KW, et al. Outcomes of pediatric bone marrow transplantation for leukemia and myelodysplasia using matched sibling , mismatched related , or matched unrelated donors. *Blood*. 2010;116(19):4007-4016.
6. Kalwak K, Porwollik J, Mielcarek M, et al. Higher CD34 + and CD3 + Cell Doses in the Graft Promote Long-Term Survival , and Have No Impact on the Incidence of Severe Acute or Chronic Graft-versus-Host Disease after In Vivo T Cell-Depleted Unrelated Donor Hematopoietic Stem Cell Transplantation in. *Biol Blood Marrow Transpl*. 2010;16:1388-1401.
7. Ferrara JLM, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet*. 2009;373(9674):1550-1561.
8. Martin PJ, Rizzo JD, Wingard JR, et al. First- and Second-Line Systemic Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease : Recommendations of the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012;18(8):1150-1163.
9. Remberger M, Mattsson J, Hassan Z, et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease grades II-IV after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation with unrelated donors: a single centre study. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41(4):399-405.
10. Fan CQ, Crawford JM. Sinusoidal Obstruction Syndrome (Hepatic Veno-Occlusive Disease). *J Clin Exp Hepatol*. 2014;4(4):332-346.
11. Cefalo MG, Maurizi P, Arlotta A, et al. Hepatic Veno-Occlusive Disease. *Pediatr Drugs*. 2010;12(5):277-284.
12. Cesaro S, Spiller M, Sartori MT, et al. Veno-occlusive disease in pediatric patients affected by Wilms tumor. *Pediatr Blood Cancer*. 2011;57(2):258-261.
13. McDonald, G.B., Hinds, M.S., Fisher, L.D., et al. Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med*. 1993;118:255-267.
14. Jones, R.J., Lee, K.S., Beschoner, W.E., et al. Venoocclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Transplantation*. 1987;44:778-783.
15. Shulman, H.M., Hinterberger W. Hepatic veno-occlusive disease--liver toxicity syndrome after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1992;10:197-214.
16. Corbacioglu S, Cesaro S, Faraci M, et al. Defibrotide for prophylaxis of hepatic veno-occlusive disease in paediatric haemopoietic stem-cell transplantation: an open-label, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet*. 2012;379(9823):1301-1309.
17. Coppell J a, Richardson PG, Soiffer R, et al. Hepatic Veno-Occlusive Disease following Stem

Cell Transplantation: Incidence, Clinical Course, and Outcome. *Biol Blood Marrow Transpl.* 2010;16(2):157-168.

18. Naples JC, Skeens MA, Auletta J, et al. Anicteric veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation in children. *Bone Marrow Transplant.* 2016;51(1):135-137.
19. Myers KC, Dandoy C, El-Bietar J, Davies SM, Jodele S. Veno-occlusive disease of the liver in the absence of elevation in bilirubin in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transpl.* 2015;21(2):379-381.
20. Corbacioglu S, Carreras E, Ansari M, et al. Diagnosis and severity criteria for sinusoidal obstruction syndrome / veno-occlusive disease in pediatric patients : a new classification from the European society for blood and marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2017;53(2):138-145.
21. Corbacioglu S, Richardson PG. Defibrotide for children and adults with hepatic veno-occlusive disease post hematopoietic cell transplantation. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;11(10):885-898.
22. Hierlmeier S, Eyrich M, Wöfl M, Schlegel PG, Wiegand V. Early and late complications following hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients - A retrospective analysis over 11 years. *PLoS One.* 2018;13(10):1-16.
23. Bhatia S. Long-term health impacts of hematopoietic stem cell transplantation inform recommendations for follow-up. *Expert Rev Hematol.* 2011;4(4):437-454.
24. Van Gestel J, Bierings MB, Dager S, et al. Outcome of invasive mechanical ventilation after pediatric allogeneic hematopoietic SCT: Results from a prospective, multicenter registry. *Bone Marrow Transplant.* 2014;49(10):1287-1292.
25. van Gestel JP, Bollen CW, van der Tweel I, Boelens JJ van VA. Intensive care unit mortality trends in children after hematopoietic stem cell transplantation: a meta-regression analysis. *Crit Care Med.* 2008;36(10):2898-2904.
26. Elbahlawan L, Srinivasan A, Morrison RR. A Critical Care and Transplantation-Based Approach to Acute Respiratory Failure after Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22(4):617-626.
27. Townsend WM, Holroyd A, Pearce R, et al. Improved intensive care unit survival for critically ill allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients following reduced intensity conditioning. *Br J Haematol.* 2013;161(4):578-586.
28. Saillard C, Darmon M, Bisbal M, et al. Critically ill allogeneic HSCT patients in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of prognostic factors of mortality. *Bone Marrow Transplant.* 2018:1-9.
29. Lengliné E, Chevret S, Moreau A-S, et al. Changes in intensive care for allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant.* 2015;50(10):840-845.
30. Ball LM. Intensive care and outcome in children undergoing haematopoietic stem cell transplantation. *Reports Pract Oncol Radiother.* 2007;12(3):171-174.
31. Tomaske M, Bosk A, Eyrich M, Bader P, Niethammer D. Risks of mortality in children admitted to the paediatric intensive care unit after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2003;121(6):886-891.
32. Duncan CN, Lehmann LE, Cheifetz IM, et al. Clinical Outcomes of Children Receiving Intensive Cardiopulmonary Support During Hematopoietic Stem Cell Transplant. *Pediatr Crit Care Med.* 2013;14(3):331-338.

33. Zinter MS, Logan BR, Fretham C, et al. Comprehensive Prognostication in Critically Ill Pediatric Hematopoietic Cell Transplant Patients: Results from Merging the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR) and Virtual Pediatric Systems (VPS) Registries. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020;26(2):333-342.
34. Szmit Z, Kałwak K, Mielcarek-Siedziuk M, Ussowicz M, Owoc-Lempach J, Gorczyńska E. Veno-occlusive disease in children and adolescents after hematopoietic stem cell transplantation: Did the Modified Seattle Criteria fit the characteristics of pediatric population? *Adv Clin Exp Med*. 2020;29(3):339-344.
35. Jagasia M, Arora M, Flowers MED, et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2013;119(1):296-308.
36. Matt S. Zinter, Christopher C. Dvorak, Aaron Spicer, Morton J. Cowan and AS. New Insights Into Multicenter PICU Mortality Among Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplant Patients. *Crit Care Med*. 2015;43(9):1986-1994.

ABSTRACT

INTRODUCTION:

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a well-established curative treatment method for a wide range of diseases. It is used for both malignant and non-malignant disorders. Due to advances made over the decades, including individually tailored conditioning regimens, precise HLA-typing, improvements in supportive therapy, and prophylaxis against severe infections, the survival rates of pediatric HSCT recipients are currently rising. However, it remains a high risk procedure, contributing significantly to morbidity and mortality. A thorough understanding of potential post-transplant complications and their risk factors, along with current diagnostic and management strategies, seem to be crucial regarding patients outcomes.

The most common complications occurring in early period post HSCT are severe and opportunistic infections (bacterial, viral, fungal), primary graft rejection and graft failure, severe organ toxicities, and transplant-related endothelial complications including acute graft versus host disease (aGvHD), veno-occlusive disease (VOD) and thrombotic microangiopathy (TMA).

In my doctoral dissertation, I am focusing on the most transplant-specific and potentially fatal complications, which are aGvHD and VOD. Beside those, by analysis of patients requiring intensive care treatment post HSCT, my doctoral thesis embrace the whole population of patients suffering from various but most severe transplant-related complications.

Acute GvHD remains a great obstacle for the broader use of HSCT. It is currently one of the major causes of both early and late transplant-related mortality (TRM).¹ It affects skin, gastrointestinal tract mucosa and liver.² Mainly, the diagnosis is set on clinical findings and should be confirmed by a biopsy, if possible. Grading and staging of GvHD should be performed by pediatric-specific criteria published by *Jacobson et al.*³

Once the diagnosis of aGvHD is established, it is difficult to treat. It may be prevented by selected methods, but often at the expense of increased risk of relapse or severe infections due to extensive immunosuppression. Despite prophylaxis, the incidence of aGvHD in children receiving stem cells varies from 30% up to 80%.⁴⁻⁶ The first line treatment is based mainly on steroids but turns out to be abortive in about 50% of cases. Many agents are currently investigated to have a beneficial effect in the treatment of steroid-refractory aGvHD, but for now, none of them have been proven unequivocally effective.^{7,8}

Risk factors for aGvHD in the adult population are well known and include HLA-disparity, the intensity of conditioning regimen, recipients' age and donor-recipient sex mismatch.^{4,9} However, the differences between adults and children need to be highlighted, particularly regarding indications for transplant, previous treatment, co-morbidities and transplantation regimens. Therefore, in face of lack of effective second-line treatment, precise evaluation of aGvHD risk factors in pediatric population is crucial.

Veno-occlusive disease (VOD), also known as sinusoidal obstruction syndrome (SOS), is an unpredictable and potentially fatal complication primarily associated with HSCT. It may occur in both allogeneic and autologous HSCT recipients.¹⁰ VOD has also been recognized to occur as a result of high-intensity chemotherapy, radiation and immunotoxin-conjugated therapy in nontransplant settings.^{11,12} It belongs to a group of conditions increasingly designated as transplant-related endothelial complications. The pathophysiology of VOD involve primary toxic

injury of the sinusoidal endothelial cells that allows extravascular deposition of blood cells and further endothelium dissection leading to central venous occlusion and sinusoidal obstruction resulting in post-sinusoidal portal hypertension. This process results in the clinical syndrome of VOD consisting of weight gain, ascites, hyperbilirubinemia and hepatomegaly, most commonly occurring within the first 20 days post-transplant.¹³⁻¹⁵

The incidence of VOD in the adult population is about 13.7%, but it may be even threefold higher among children, particularly in the youngest group of patients. Contrarily to the adults, pediatric patients more often present with anicteric and late-onset VOD.¹⁶⁻¹⁹ In face of lack of specific biomarkers and diagnostic tools, the diagnosis of VOD is based on clinical and laboratory findings. For years, two sets of diagnostic criteria were used for VOD diagnosis in children- Baltimore criteria and modified Seattle criteria (Table 1).^{14,15} They were both quite strict and most importantly they were primarily designed for adult population; therefore, they were not embracing the crucial differences in VOD between adults and children. This gap was fulfilled by newly proposed, more dynamic, pediatric EBMT criteria for VOD diagnosis (Table 2).²⁰ The major changes included lack of time of onset of VOD, focus rather on bilirubin kinetics than certain cut-off levels and inclusion of consumptive refractory thrombocytopenia (RT) as a diagnostic criterion. However, those criteria were developed solely on experts' opinion. Therefore its careful evaluation in clinical practice seems to be essential. When diagnosed, VOD might be successfully treated with Defibrotide (DF). Its efficacy was proven particularly in the pediatric population what encouraged the need for proper diagnostic criteria for VOD in children.²¹

Table 1. Comparison of Baltimore and Modified Seattle VOD Diagnostic Criteria

Modified Seattle Criteria	Baltimore Criteria
Two of following occurring within 21 days of transplantation:	Bilirubin serum level >2mg/dl and at least two of following within 20 days of transplant:
Hepatomegaly or right upper quadrant pain	Hepatomegaly
Bilirubin serum level >2mg/dl	Ascites
Unexplained weight gain >2% from baseline	Weight gain >5% from baseline

Table 2. EBMT diagnostic criteria for hepatic VOD/SOS in children

No limitations for time onset of VOD/SOS
Presence of two or more of the following ^a :
<ul style="list-style-type: none"> • Unexplained, consumptive, transfusion-refractory thrombocytopenia^b • Otherwise unexplained weight gain in three consecutive days despite use of diuretics or weight gain >5% baseline • ^cHepatomegaly (best confirmed by imagining) above baseline • ^cAscites(best confirmed by imagining) above baseline • Rising bilirubin from a baseline value on three consecutive days or bilirubin >=2mg/dl within 72h

^aWith the exclusion of other potential differential diagnosis; ^b>= on weight-adjusted platelet substitution/day to maintain institutional transfusion guidelines; ^cImagining immediately before HSCT to determine baseline value

Children receiving stem cells are usually heavily pretreated. They are suffering from various conditioning-related toxicities, and due to extensive immunosuppression they are extremely prone to severe and opportunistic infections. Therefore a relevant number of patients post-HSCT would require treatment in the Pediatric Intensive Care Unit (PICU).^{22,23} Admission of HSCT recipients to the PICU has been controversial, as many studies are providing extremely high PICU mortality of those patients, reaching the level of 100% if they need mechanical ventilation (MV).^{24,25} However, due to major advances made over the decades, in both transplant protocols and intensive care procedures, a significant improvement regarding the general outcome of those patients has been achieved. Pediatric HSCT recipients, while admitted to the PICU, would need an individually tailored approach as they may not fit into a standard prognosis scheme. There are many transplant-related factors, particularly considering immune reconstitution and graft function that might alter their response to treatment.²⁶

Major indications for PICU admission post-HSCT are respiratory failure and septic shock, commonly coexisting. In this profoundly immunocompromised population of patients, severe systemic infections contribute significantly to the need for advanced care measures. There are many studies available, investigating the potential risk factors for death in the PICU. Need for MV and renal replacement therapy, underlying malignant disease, presence of aGvHD and intensity of conditioning regimen seem to be major factors decreasing patients' chances for PICU survival.²⁷⁻²⁹ However, there is a serious lack of data considering the relation between graft function and PICU mortality. According to the latest multicenter study, there is no difference in long term overall survival (OS) between PICU survivors and those who did not need advanced care measures. Therefore an intensive quest for evaluating and eliminating the risk factors for PICU mortality seems to be crucial.

WORK OVERVIEW

Premature cyclosporine cessation and TBI-containing conditioning regimen increase the risk of acute GvHD in children undergoing unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation.

Acute GvHD is one of the most common and severe complications following HSCT in children, and it was thoroughly analysed in the first paper included in my doctoral dissertation. The aim of the study was to evaluate the risk factors for grades II-IV acute GvHD in children undergoing allogeneic HSCT from an unrelated donor. The study enrolled 237 children; every patient received a standard aGvHD prophylaxis consisted of cyclosporine (CsA) and methotrexate. Various clinical and epidemiological features, including graft composition, conditioning regimens, duration and coherence of GvHD prophylaxis, were analyzed as potential risk factors.

Our results confirmed the magnitude of a problem which GvHD is, as almost 60% of patients in the study cohort developed grades II-IV aGvHD. Multivariate statistical analysis revealed that three of the investigated factors significantly increased the risk for aGvHD.

Myeloablative conditioning regimens consisted of TBI were a major risk factor for aGvHD in the study. Treatment-related tissue damage, exacerbated by TBI, particularly in the gastrointestinal tract, may initiate an inflammatory cascade leading to the development of GvHD. What should be emphasized, myeloablative regimens consisted of busulfan did not correlate with higher aGvHD (similar odds ratio to reduced toxicity and reduced intensity regimens). It may suggest that contrary to the TBI, chemo-based regimens do not increase the risk for aGvHD.

Premature discontinuation of CsA relevantly increased the probability of aGvHD. Almost 20% of patients in the study cohort presented with CsA-associated toxicity and required cessation of the drug administration. Those patients were at much higher risk of developing aGvHD. To date, the optimal prophylactic approach to aGvHD has not yet been established. However, presented results suggest that the role of calcineurin inhibitors as a part of aGvHD preventive strategy may be irreplaceable.

Patients undergoing transplantation before the year 2009 (a median year in the study period) have a higher risk of aGvHD. Additionally, patients receiving stem cells in former years had greater TRM and lower OS. This finding is a simple reflection of the advances that were made during the study period in both transplantation proceedings and supportive care. Furthermore, a better general outcome of patients undergoing HSCT after 2009 might be a result of improvements in aGvHD treatment that were achieved during years.

Other analyzed factors, including donor and recipient age, donor-recipients sex mismatch, amount of infused CD34+ cells, stem cell source and underlying disease, failed to be confirmed as risk factors for aGvHD.

Optimal conditioning regimen strategy and proper aGvHD prophylaxis, including continuous administration of CsA might be crucial regarding the risk for aGvHD and patients' general outcome. According to our results, the decision to withdraw CsA should be taken carefully and avoided if possible.

Factors affecting survival in children requiring intensive care after hematopoietic stem cell transplantation. A retrospective single-center study.

The second paper included in my doctoral thesis is a comprehensive analysis of the most severe of post-transplant complications. The study was a retrospective chart analysis of children undergoing first allogeneic HSCT and was mainly focusing on those who required admission to the PICU within one year post transplantation. The detailed objective of the study was to determine potential factors influencing PICU survival. Various clinical and transplant-related data, including conditioning regimens, indications for intensive care, need for mechanical ventilation, the intensity of applied therapies and quality of hematological recovery were assessed.

During the study period, 58 patients required admission to the PICU, what comprises 8.7% of the entire study cohort and places the admission rate on the lower end comparing to literature.^{30,31} Among those, 58.6% of patients died within PICU, while 41.5% were successfully discharged. Amidst PICU survivors, 30 days and 6 months survival rates were 91.7% and 66.7%, respectively, what stands in accordance with the latest studies proving that the history of intensive care treatment does not compromise chances for a long term survival.³² Performed multivariate analysis revealed two of the investigated factors having a significant impact on PICU survival.

Cardiovascular support is a crucial treatment provided in PICU for critically ill patients. Comprehensive cardiac support, including three or more cardiovascular agents, was applied in almost 30% of patients in the study, of whom only two have survived their PICU stay. The need for extensive cardiac support was a major independent factor decreasing chances for PICU survival.

A little is known about the relationship between graft function and PICU mortality. In the study, absolute granulocyte count (ANC) on the last day of treatment differed relevantly between survivors and non-survivors. A significantly lower ANC was observed in those who died in PICU compared to those who were successfully discharged. Contrary to the last day of treatment, ANC and severe neutropenia at the time of PICU admission had no impact on patients' outcomes. Those results suggest that besides advanced care measures, hematologic reconstitution and graft function may be crucial regarding PICU survival. Achieving adequate ANC during PICU stay may significantly improve patients' chances for survival. Therefore it should be taken into account in advance care planning.

The need for MV is one of the most coherent factors correlating with poor PICU prognosis^{24,33} However, our study failed to confirm MV as a risk factor for death within PICU. The result may be affected by the fact that the majority of patients in the study received MV (81%), which is a much higher rate than presented in other studies recognizing MV as a risk factor for death. Beyond those requiring MV, five patients in the PICU cohort were treated with non-invasive ventilation (NIV). None of them required subsequent intubation and all were discharged from PICU and survived over 6 months. By preventing potential complications related to MV, early implementation of NIV may be beneficial in this particular group of patients. However, it should not delay intubation if needed. Although very promising, those results are limited by a meager number of patients. Therefore extensive prospective cohort studies evaluating the usefulness of NIV seem to be essential.

To conclude, the study is emphasizing the equal role of both intensity of applied therapies and graft function in the survival of pediatric HSCT recipients admitted to the PICU. A holistic approach to the patient seems to be crucial regarding the general outcome.

Veno-occlusive disease in children and adolescents after hematopoietic stem cell transplantation: Did the Modified Seattle Criteria fit the characteristics of pediatric population?

The third paper that was a part of a publication series is a detailed analysis of another potentially fatal complication following HSCT, which is VOD. Immediate diagnosis of VOD and prompt implementation of proper treatment is crucial regarding patients' general outcomes. Therefore in the presented study, we aimed to assess the usefulness of the modified Seattle criteria, which were widely used for over 25 years for VOD diagnosis in the pediatric population, particularly reflecting recently published first pediatric EBMT VOD diagnostic criteria.

The study enrolled 850 children and adolescents who underwent HSCT during years 2001-2015. In this study cohort, 48 patients with VOD were recognized by Modified Seattle Criteria. This 5.05% incidence of VOD in our center was placed at the lower end compared to other literature reports. One-third of patients diagnosed with VOD, according to modified Seattle criteria, did not meet the obligatory time criterion (<20 days post-transplant); therefore they were diagnosed with "late-onset VOD". Presenting with VOD later than 20 days post-transplant is more common in children than in adults.¹⁶ Thus, considering a relevant number of late-onset cases, our results indicated that the time criterion for the pediatric population may be useless or even interfering.

Another controversial criterion was hyperbilirubinemia. Although it was not mandatory, it remained an important part of the modified Seattle criteria. Similarly to the relatively later onset of the disease, anicteric course of VOD is more commonly observed in children.^{18,19} In our cohort, almost 30% of patients never demonstrated bilirubin level above 2mg/dl, as indicated in modified Seattle criteria. Although elevated bilirubin level is a common VOD symptom, lack of hyperbilirubinemia should not lead to a delay in VOD diagnosis and treatment implementation.

The majority of patients that were diagnosed with VOD in our study demonstrated transfusion-refractory consumptive thrombocytopenia. Most commonly, it was observed shortly before VOD diagnosis was established. Although refractory thrombocytopenia was mentioned in the very first reports about VOD, it has never entered the diagnostic criteria. Our results suggest that this symptom, reflecting the pathophysiology of the disease, might be an early hint to suspect VOD.

To conclude, the study indicates that modified Seattle criteria may not be adequate for the pediatric population. They do not embrace the essential differences in VOD among children and adults. Particularly time criterion and strict bilirubin cut-off level may be harmful by causing unnecessary delay in VOD diagnosis. However, refractory thrombocytopenia, as an essential early symptom of VOD, could contribute significantly to the improvement of the diagnostic criteria.

Introduction of new pediatric EBMT criteria for VOD diagnosis: is it time-saving or money-wasting?; Prospective evaluation of pediatric EBMT criteria for VOD.

The concept of the last paper included in my doctoral thesis arises straight from the previous study considering the adequacy of modified Seattle criteria in the pediatric population. Facing the urge to evaluate the new pediatric EBMT criteria for VOD diagnosis in clinical practice, we have started a prospective cohort study to assess its usefulness and impact on patients' general outcomes. Commencing in January 2016, by March 2019 the study enrolled 283 children undergoing either autologous or allogeneic HSCT. It was focusing particularly on those who were diagnosed with VOD according to the new criteria. The results were compared with the above-mentioned study discussing the utility of modified Seattle criteria.

In the analyzed period, the incidence of VOD was 8.9%; it had almost doubled compared to the time when we used modified Seattle criteria, proving that the new, rather dynamic criteria facilitated the diagnosis of VOD. However, this VOD incidence still equates to the lower end of other literature reports;^{16,34} therefore, we do believe that the study does not support the concern of over-diagnosing VOD according to new criteria. To evaluate the differences in criteria sensitivity, we retrospectively applied both modified Seattle and Baltimore criteria to the present cohort. The incidence of VOD was 5.7% and 2.83%, respectively. The higher sensitivity of EBMT criteria also reflects in the time of diagnosis - median diagnosis delay when using modified Seattle criteria was three days. According to ongoing trials evaluating the efficacy of Defibrotide, the timepoint of treatment initiation is crucial regarding the duration of treatment and patients' outcomes.

A novel approach to bilirubin levels proposed in the EBMT criteria may reveal that anicteric course of VOD is more common in children than previously expected. In the study, only 20% of patients presented with hyperbilirubinemia (>2mg%) at the moment of diagnosis. Contrarily, 68% of patients met the criterion of rising bilirubin levels on three consecutive days. Emphasis on careful monitoring of bilirubin levels may be beneficial considering the pathophysiology of the disease, as numerous studies confirm that hyperbilirubinemia is a relatively late symptom of VOD and the criterion of poor outcome. According to study results, a more dynamic approach to bilirubin levels proposed in the EBMT criteria allows pre-emptive intervention and may improve patients' outcomes.

Refractory thrombocytopenia was the only criterion fulfilled by 100% of patients in the study. In the majority of cases, it was the very first symptom of VOD. Although it was mentioned in the primary reports considering VOD and thereafter repeatedly confirmed in further studies in the adult population, until now it has never become a diagnostic criterion. Our results suggest that RT, even if it is unspecific, might be an early hallmark of VOD, encouraging clinicians to become particularly vigilant for other VOD symptoms.

Even if the study did not focus strictly on the financial aspects, it needs to be highlighted that after implementing the new criteria, the time of hospitalization of VOD patients decreased by a median of 12 days. Although the impact of new criteria on cost-effectiveness requires further research, our results suggest that shortening of both Defibrotide administration and length of hospital stay may be economically beneficial, despite the increase in disease incidence.

To conclude, the new EBMT VOD diagnostic criteria acknowledge the differences in various aspects of the disease between children and adults. Earlier VOD diagnosis, facilitated by EBMT criteria, resulting in implementing immediate treatment, significantly improved patients' outcomes.

1. Faraci M, Caviglia I, Biral E, et al. Acute graft-versus-host disease in pediatric allogeneic

hematopoietic stem cell transplantation . Single-center experience during 10 yr. *Pediatr Transplant.* 2012;16:887-893.

2. H. Glucksberg, R. Storb, A. Fefer, C. D. Buckner, P. E. Neiman, R. A. Clift, K. G. Lerner EDT. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from hla-matched sibling donors. *Transplantation.* 1974;18(4):295-304.
3. Jacobsohn DA. Acute graft-versus-host disease in children. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41(2):215-221.
4. Flowers MED, Inamoto Y, Carpenter P a, et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood J.* 2011;117(11):3214-3219.
5. Shaw PJ, Kan F, Ahn KW, et al. Outcomes of pediatric bone marrow transplantation for leukemia and myelodysplasia using matched sibling , mismatched related , or matched unrelated donors. *Blood.* 2010;116(19):4007-4016.
6. Kalwak K, Porwollik J, Mielcarek M, et al. Higher CD34 + and CD3 + Cell Doses in the Graft Promote Long-Term Survival , and Have No Impact on the Incidence of Severe Acute or Chronic Graft-versus-Host Disease after In Vivo T Cell-Depleted Unrelated Donor Hematopoietic Stem Cell Transplantation in. *Biol Blood Marrow Transpl.* 2010;16:1388-1401.
7. Ferrara JLM, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet.* 2009;373(9674):1550-1561.
8. Martin PJ, Rizzo JD, Wingard JR, et al. First- and Second-Line Systemic Treatment of Acute Graft-versus-Host Disease : Recommendations of the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012;18(8):1150-1163.
9. Remberger M, Mattsson J, Hassan Z, et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease grades II-IV after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation with unrelated donors: a single centre study. *Bone Marrow Transplant.* 2008;41(4):399-405.
10. Fan CQ, Crawford JM. Sinusoidal Obstruction Syndrome (Hepatic Veno-Occlusive Disease). *J Clin Exp Hepatol.* 2014;4(4):332-346.
11. Cefalo MG, Maurizi P, Arlotta A, et al. Hepatic Veno-Occlusive Disease. *Pediatr Drugs.* 2010;12(5):277-284.
12. Cesaro S, Spiller M, Sartori MT, et al. Veno-occlusive disease in pediatric patients affected by Wilms tumor. *Pediatr Blood Cancer.* 2011;57(2):258-261.
13. McDonald, G.B., Hinds, M.S., Fisher, L.D., et al. Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med.* 1993;118:255-267.
14. Jones, R.J., Lee, K.S., Beschoner, W.E., et al. Venoocclusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1987;44:778-783.
15. Shulman, H.M., Hinterberger W. Hepatic veno-occlusive disease--liver toxicity syndrome after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1992;10:197-214.
16. Corbacioglu S, Cesaro S, Faraci M, et al. Defibrotide for prophylaxis of hepatic veno-occlusive disease in paediatric haemopoietic stem-cell transplantation: an open-label, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet.* 2012;379(9823):1301-1309.
17. Coppel J a, Richardson PG, Soiffer R, et al. Hepatic Veno-Occlusive Disease following Stem Cell Transplantatation: Incidence, Clinical Course, and Outcome. *Biol Blood Marrow Transpl.*

2010;16(2):157-168.

18. Naples JC, Skeens MA, Auletta J, et al. Anicteric veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation in children. *Bone Marrow Transplant*. 2016;51(1):135-137.
19. Myers KC, Dandoy C, El-Bietar J, Davies SM, Jodele S. Veno-occlusive disease of the liver in the absence of elevation in bilirubin in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transpl*. 2015;21(2):379-381.
20. Corbacioglu S, Carreras E, Ansari M, et al. Diagnosis and severity criteria for sinusoidal obstruction syndrome / veno-occlusive disease in pediatric patients : a new classification from the European society for blood and marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2017;53(2):138-145.
21. Corbacioglu S, Richardson PG. Defibrotide for children and adults with hepatic veno-occlusive disease post hematopoietic cell transplantation. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;11(10):885-898.
22. Hierlmeier S, Eyrich M, Wölfl M, Schlegel PG, Wiegeling V. Early and late complications following hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients - A retrospective analysis over 11 years. *PLoS One*. 2018;13(10):1-16.
23. Bhatia S. Long-term health impacts of hematopoietic stem cell transplantation inform recommendations for follow-up. *Expert Rev Hematol*. 2011;4(4):437-454.
24. Van Gestel JPJ, Bierings MB, Dauger S, et al. Outcome of invasive mechanical ventilation after pediatric allogeneic hematopoietic SCT: Results from a prospective, multicenter registry. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(10):1287-1292.
25. van Gestel JP, Bollen CW, van der Tweel I, Boelens JJ van VA. Intensive care unit mortality trends in children after hematopoietic stem cell transplantation: a meta-regression analysis. *Crit Care Med*. 2008;36(10):2898-2904.
26. Elbahlawan L, Srinivasan A, Morrison RR. A Critical Care and Transplantation-Based Approach to Acute Respiratory Failure after Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016;22(4):617-626.
27. Townsend WM, Holroyd A, Pearce R, et al. Improved intensive care unit survival for critically ill allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients following reduced intensity conditioning. *Br J Haematol*. 2013;161(4):578-586.
28. Saillard C, Darmon M, Bisbal M, et al. Critically ill allogeneic HSCT patients in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of prognostic factors of mortality. *Bone Marrow Transplant*. 2018:1-9.
29. Lengliné E, Chevret S, Moreau A-S, et al. Changes in intensive care for allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(10):840-845.
30. Ball LM. Intensive care and outcome in children undergoing haematopoietic stem cell transplantation. *Reports Pract Oncol Radiother*. 2007;12(3):171-174.
31. Tomaske M, Bosk A, Eyrich M, Bader P, Niethammer D. Risks of mortality in children admitted to the paediatric intensive care unit after haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2003;121(6):886-891.
32. Duncan CN, Lehmann LE, Cheifetz IM, et al. Clinical Outcomes of Children Receiving Intensive Cardiopulmonary Support During Hematopoietic Stem Cell Transplant. *Pediatr Crit Care Med*. 2013;14(3):331-338.
33. Zinter MS, Logan BR, Fretham C, et al. Comprehensive Prognostication in Critically Ill

Pediatric Hematopoietic Cell Transplant Patients: Results from Merging the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR) and Virtual Pediatric Systems (VPS) Registries. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2020;26(2):333-342.

34. Szmit Z, Kałwak K, Mielcarek-Siedziuk M, Ussowicz M, Owoc-Lempach J, Gorczyńska E. Venous-occlusive disease in children and adolescents after hematopoietic stem cell transplantation: Did the Modified Seattle Criteria fit the characteristics of pediatric population? *Adv Clin Exp Med*. 2020;29(3):339-344.
35. Jagasia M, Arora M, Flowers MED, et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2013;119(1):296-308.
36. Matt S. Zinter, Christopher C. Dvorak, Aaron Spicer, Morton J. Cowan and AS. New Insights Into Multicenter PICU Mortality Among Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplant Patients. *Crit Care Med*. 2015;43(9):1986-1994.