

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Ignė Kairienė

Prognostinė biožymenų vertė žarnyno
pažeidimui gydant vaikų ūminę
limfoblastinę leukemiją ir po alogeninės
kraujodaros kamieninių ląstelių
transplantacijos

DAKTARO DISERTACIJA

Medicina ir sveikatos mokslai,
Medicina (M 001)

VILNIUS 2025

Disertacija rengta 2020–2024 metais Vilniaus universitete.
Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo taryba.

Mokslinė vadovė – prof. dr. Jelena Rascon (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Gynimo taryba:

Pirmininkas – prof. dr. Vaidotas Urbonas (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Nariai:

Prof. dr. Dovilė Karčiauskaitė (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001),

Prof. dr. Klaus Müller (Kopenhagos universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001),

Doc. dr. Sonata Šaulytė-Trakymienė (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001),

Dr. Andrius Žučenka (Vilniaus universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Disertacija ginama viešame Gynimo tarybos posėdyje 2025 m. birželio 18 d. 14 val. Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Vaikų ligoninės Didžiojoje auditorijoje A101 (Santariškių g. 7, Vilnius)

VILNIUS UNIVERSITY

Ignė Kairienė

Prognostic Value of Biomarkers for Intestinal Injury in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia and Following Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children

DOCTORAL DISSERTATION

Medicine and Health Sciences,
Medicine (M 001)

VILNIUS 2025

This dissertation was written in 2020-2024 at Vilnius University
The research was supported by Research Council of Lithuania.

Academic Supervisor – Prof. Dr. Jelena Rascon (Vilnius University,
Medicine and Health Sciences, Medicine – M 001).

Dissertation Defence Panel:

Chairman – Prof. Dr. Vaidotas Urbonas (Vilnius University, Medicine and
Health Sciences, Medicine – M 001).

Members:

Prof. Dr. Dovilė Karčiauskaitė (Vilnius University, Medicine and Health
Sciences, Medicine – M 001),

Prof. Dr. Klaus Müller (Copenhagen University, Medicine and Health
Sciences, Medicine – M 001),

Assoc. Prof. Dr. Sonata Šaulytė Trakymienė (Vilnius University, Medicine
and Health Sciences, Medicine – M 001),

Dr. Andrius Žučenka (Vilnius University, Medicine and Health Sciences,
Medicine – M 001).

The dissertation will be defended at a public meeting of the Dissertation
Defence Panel at 2 p.m. on 18th June 2025 in meeting room A101 of the
Vilnius University Hospital Santaros Klinikos Children's Hospital
(Santariskiu 7, Vilnius)

SANTRUMPOS IR APIBRĖŽTYS

AA	aplazinė anemija
aloKKLT	alogeninė kraujodaros kamieninių ląstelių transplantacija
AM	adekvati mitybos būklė
AR	amino rūgštys
CRB	C reaktyvusis baltymas
DNR	deoksiribonukleorūgštis
EBMT	Europos kraujo ir čiulpų transplantacijos draugija (angl. <i>European Society for Blood and Marrow Transplantation</i>)
GEE	apibendrinta įverčio lygtis (angl. <i>Generalized Estimation Equation</i>)
Gy	grėjus
iKLP	išmatų kalprotektinas
IL-1	interleukinas-1
IL-6	interleukinas-6
IQR	tarpkvartilinis skirtumas (angl. <i>Interquartile Range</i>)
KMI	kūno masės indeksas
MAC	mieloabliacinis kondicionavimas (angl. <i>Myeloablative Conditioning</i>)
MDS	mielodisplazinis sindromas
MLL	minimali liktinė liga
MSD	tapatus giminingas donoras (angl. <i>Matched Sibling Donor</i>)
MUD	tapatus negiminingas donoras (angl. <i>Matched Unrelated Donor</i>)
NM	neadekvati mityba
NOPHO	Šiaurės šalių vaikų hematologijos ir onkologijos draugija (angl. <i>Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology</i>)
OR	šansų santykis (angl. <i>Odds Ratio</i>)
PEG	perkutatinė endoskopinė gastrostoma

PGR	polimerazės grandininė reakcija
PR	visiška (pilna) remisija
PSO	Pasaulio sveikatos organizacija
RIC	mažesnio intensyvumo kondicionavimas (angl. <i>Reduced Intensity Conditioning</i>)
RNR	ribonukleorūgštis
ROC	sprendimus priimančiojo ypatybių kreivė (angl. <i>Receiver Operating Characteristic</i>)
SD	standartinis nuokrypis (angl. <i>Standard Deviation</i>)
TNF	naviko nekrozės faktorius (angl. <i>Tumour Necrosis Factor</i>)
TRM	su transplantacija susijęs mirtingumas (angl. <i>Transplant Related Mortality</i>)
ŪLL	ūminė limfoblastinė leukemija
ŪML	ūminė mieloblastinė leukemija
ūTPŠL	ūminė transplantato prieš šeimininką liga
VT	virškinamasis traktas
VOHC	Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikos Vaikų onkohematologijos centras
ŽLA	žmogaus leukocitų antigenas
ŽP	žarnyno pažeidimas
Indukcija	pirmasis ŪLL gydymo mėnuo, kurio tikslas – sunaikinti didžiąją dalį blastų ir pasiekti remisiją.
Kondicionavimas	paruošiamasis chemoterapinis gydymas prieš aloKKLT, kurio tikslas – ištuštinti kaulų čiulpus, kad būtų paruošta niša donorinėms kamieninėms ląstelėms, taip pat sunaikinti piktybinių ląstelių likučius.

TURINYS

IVADAS	10
1. LITERATŪROS APŽVALGA	15
1.1. Toksinių komplikacijų svarba gydant vaikų onkohematologines ligas	15
1.1.1. Chemoterapijos indukuotas ŽP ir jo sukeliami padariniai	16
1.1.1.1. Žarnyno pažeidimas ŪLL indukcijos metu	16
1.1.1.2. Žarnyno pažeidimas po aloKKLT	17
1.1.1.3. Žarnyno pažeidimo eiga ir klinikinė išraiška	17
1.2. Žarnyno pažeidimui monitoruoti naudojami biožymenys	18
1.2.1. Aminorūgštys – potencialūs biožymenys.....	19
1.2.2. Neinvazinis ŽP biožymuo – išmatų kalprotektinas.....	20
1.2.3. CRB – papildomas rodiklis interpretuojant biožymenis	21
1.2.4. Neutrofilų sąsaja su ŽP	21
1.3. Mitybos būklės svarba su toksiškumu susijusioms komplikacijoms ir biožymenų koncentracijai	22
1.3.1 Mitybos būklės vertinimas	22
1.3.2. Neadekvati vaikų, sergančių onkohematologinėmis ligomis, mityba	23
1.3.3. Mitybos būklės įtaka ŪLL gydymo eigai.....	23
1.3.4. Mitybos būklės įtaka gydymo eigai po aloKKLT	24
1.3.5. Mitybos būklės svarba biožymenims	25
2. METODAI	27
2.1. Tiriamieji ir tyrimo struktūra.....	27
2.2. Etikos ir duomenų rinkimo aspektai.....	27
2.3. Retrospektyvinis mitybos būklės vertinimas ŪLL indukcijos metu	28
2.4. Retrospektyvinis mitybos būklės vertinimas po aloKKLT	29
2.5. Prospektyvinė dalis	29
2.6. Apibrėžimai	30
2.7. Mėginių ėmimas ir būklės vertinimas	32
2.7.1. Aminorūgščių analizė.....	34
2.7.2. Išmatų kalprotektino analizė	34

3. STATISTINĖ ANALIZĖ	35
4. REZULTATAI	36
4.1. Retrospektyvinė dalis	36
4.1.1. Retrospektyvinis mitybos būklės vertinimas ŪLL indukcijos metu.....	36
4.1.2. Retrospektyvinis mitybos būklės vertinimas po aloKKLT	38
4.2. Prospektyvinė dalis	41
4.2.1. Tiriamųjų apibūdinimas	41
4.2.2. Žarnyno pažeidimas, sąsaja su neutropenija vaikams ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT	43
4.2.3. Mitybos būklės ir amžiaus įtaka žarnyno pažeidimui vaikams ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT	44
4.2.4. Biožymenų vertė vaikų žarnyno pažeidimo ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT ankstyvai diagnostikai.....	49
4.2.5. Mitybos būklės ir amžiaus įtaka biožymenų koncentracijai vaikams ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT	61
5. REZULTATŲ APTARIMAS	63
6. IŠVADOS.....	72
7. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS.....	73
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	74
PRIEDAI	95
ABSTRACT	99
1. INTRODUCTION.....	101
1.2. Novelty and practical significance	102
1.3. Aim of the work.....	103
1.4. Objectives.....	103
1.5. Statements to be defended	103
2. METHODS.....	104
2.1. Subjects and study design	104
2.2. Retrospective assessment of nutritional status during ALL induction.....	105
2.3. Retrospective assessment of nutritional status after aHSCT	105

2.4. Prospective analysis	105
2.5. Definitions	105
2.6. Sample collection and clinical assessment.....	107
3. STATISTICAL ANALYSIS.....	109
4. RESULTS.....	110
4.1. Retrospective analysis.....	110
4.1.1. Retrospective assessment of nutritional status during ALL induction.....	110
4.1.2. Retrospective assessment of nutritional status after aHSCT..	112
4.2. Prospective analysis	114
4.2.1. Description of the subjects.....	114
4.2.2. ID association with neutropenia during the induction of ALL and after aHSCT.....	116
4.2.3. Impact of nutritional status and age on ID during ALL induction and after aHSCT.....	117
4.2.4. The value of biomarkers for early diagnosis of ID during ALL induction and after aHSCT.....	122
4.2.5 Impact of nutritional status and age on biomarker concentrations during ALL induction and after aHSCT	128
5. DISCUSSION	130
6. CONCLUSIONS	132
7. PRACTICAL RECOMMENDATIONS	133
ANNEXES	134
PUBLIKACIJOS IR PRANEŠIMAI DISERTACIJOS TEMA.....	138
GYVENIMO APRAŠYMAS.....	139
CURRICULUM VITAE	142

IVADAS

Darbo aktualumas

Vaikų onkohematologinių ligų gydymo rezultatai nuolat gerėja dėl standartizuotų chemoterapinių gydymo protokolų ir infekcijų profilaktikos, pagerėjusių laboratorinių ir vaizdinių tyrimų technologijų, kasdienės pacientų stebėsenos ir priežiūros galimybių. Tačiau, nepaisant pagrindinės ligos sustabdymo, mirtingumas dėl vaistų sukulto toksinio poveikio išlieka viena iš svarbiausių nesėkmingo gydymo priežasčių. Ūminė limfoblastinė leukemija (ŪLL) yra dažniausia vaikų onkologinė liga, kurios baigtis labai priklauso nuo toksinių komplikacijų vystymosi ir sustabdymo. Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Vaikų onkohematologijos centre (VOHC) vaikų, sergančių ūmine ŪLL, penkerių metų išgyvenamumas per paskutinį dešimtmetį pagerėjo daugiau nei 10 proc. (G. Vaitkevičienė, nepublikuoti duomenys) ir viršija 90 proc., kaip ir daugelyje kitų Vakarų Europos šalių^{1, 2}. Vaikų mirtingumas ŪLL indukcijos metu VOHC per pastaruosius metus sumažėjo iki maždaug 2 proc. (G. Vaitkevičienė, nepublikuoti duomenys). Vis dėlto tikimybė, kad pacientas indukcijos metu patirs bent vieną nepageidaujamą įvykį, išlieka didelė ir gali viršyti 70 proc.³

Alogeninė kraujodaros kamieninių ląstelių transplantacija (aloKKLT) yra svarbus vaikų onkohematologinių ligų gydymo metodas, kuris naudojamas, kai kiti gydymo būdai neveiksmingi. Dešimties metų išgyvenamumo po aloKKLT rezultatai priklausomai nuo diagnozės siekia 70–92 proc.^{4, 5}, tačiau mirtingumas dėl potransplantacinio toksiškumo per dvejus metus išlieka beveik 16 proc.⁵ Reikia pažymėti, kad daugiau nei trys nepageidaujami įvykiai yra susiję su padidėjusia mirtingumo rizika⁵. Penkerių metų išgyvenamumas po aloKKLT VOHC per paskutinį dešimtmetį pagerėjo beveik dvigubai (nuo 38 proc. iki 76,8 proc.), tačiau potransplantacinis toksiškumas, dinamikoje nors ir mažėja (15,1 proc.) bei prilygsta Vakarų Europos rezultatams, išlieka viena iš pagrindinių sėkmingą gydymą ribojančių priežasčių⁶.

Gydant vaikų onkohematologines ligas svarbu išlaikyti agresyvaus gydymo, būtino onkologinės ligos kontrolei, ir gydymo sukulto toksiškumo pusiausvyrą. Žarnynas yra itin pažeidžiamas citostatikų dėl greitai besidalijančių žarnyno gleivinės ląstelių jautrumo chemoterapiniams medikamentams⁷. Tad žarnyno pažeidimas (ŽP) yra viena dažniausiai pasitaikančių komplikacijų: virškinamojo trakto sutrikimai aprašomi 60–100 proc. pacientų, gydomų intensyvia chemoterapija dėl onkohematologinės ligos⁸. Pastaruoju metu vis labiau akcentuojama ir žarnyno mikrobiotos svarba –

gydymo sukelta žarnyno disbiozė sutrikdo enterinės imuninės ir nervinės sistemų darnią veiklą⁸. Išsivysčius ŽP, dažnai trinka tolesnis gydymo procesas: kinta vaistų rezorbcija, didėja bakterijų translokacijos į kraują tikimybė, silpnėja vietinis imuninis atsakas, stiprus skausminis sindromas didina analgetikų poreikį (kartu didėja vaistų sąveikos rizika), dažnai dėl to tenka kurį laiką stabdyti gydymą, trinka enterinė mityba, sutrikdoma mikrobiotos pusiausvyras⁸. Žarnyno aplinkos sutrikdymas yra ir vienas iš pirminių patofiziologinių ūminės transplantato prieš šeimininką ligos (ūTPŠL) etapų⁹. Tik kai kuriais ŽP atvejais yra galimas etiologinis gydymas (bakterinės infekcijos sukeltam ŽP taikoma antibakterinė terapija, ŽP dėl ūTPŠL – imunosupresinė terapija), tačiau net ir jį taikant žarnyno ląstelių pažeidimas greitai atkuriamas. Kai nėra specifinio gydymo galimybių, taikomos tik simptominės savyjautą gerinančios priemonės bei žarnyno pažeidimo nulemtų komplikacijų gydymas. Todėl itin svarbu suprasti ŽP išsivystymo tendencijas konkrečiose vaikų, sergančių onkohematologinėmis ligomis, grupėse; surasti žymenis ankstyvai ŽP diagnostikai bei išsiaiškinti jų sąsają su kasdienėje praktikoje taikomais tyrimais. Ankstyva ŽP diagnostika padėtų identifikuoti pacientus, kuriems tikėtina didesnė komplikacijų rizika, kad būtų galima taikyti ankstyvesnes priemones šių komplikacijų prevencijai (pvz., anksčiau skirti antibakterinę terapiją ar koreguoti imunosupresinį gydymą dėl galimos ūTPŠL vaikams po aloKKLT). Antra vertus, vaikai be ŽP galėtų išvengti kartais perteklinio medikamentinio gydymo, taip labiau būtų apsaugota jų mikrobiota. Todėl pastaruoju metu intensyviai ieškoma įvairių biožymenų, kurie galėtų padėti tiek numatyti galimą ŽP riziką, tiek anksti jį diagnozuoti, tiek vertinti gydymo eigą. Biožymenų bandoma ieškoti tiriant įvairias terpes (kraują, šlapimą, išmatas) siekiant surasti ne tik invazinius, bet ir neinvazinius biožymenis¹⁰. ŽP lemia nemažai veiksnių (medikamentai, žarnyno disbiozė, genetinė predispozicija, gretutinės ligos, mityba, gyvenimo būdas)¹⁰, todėl kiekvienos patologijos atveju gali būti informatyvūs skirtingi biožymenys ar biožymenų derinys.

Kadangi žarnyno vientisumas yra tiesiogiai susijęs su subalansuota ir visaverte mityba, sėkmingam gydymui reikia užtikrinti adekvačią mitybą. Neadekvati mitybos būklė (NM) didina gydymo komplikacijų riziką ir turi įtakos prastesniems išgyvenamumo rezultatams tiek ŪLL gydymo metu, tiek po aloKKLT¹¹⁻¹³. Klinikinė praktika VOHC taip pat rodo, kad vaikų mitybos būklė yra susijusi su gydymo komplikacijų dažniu, pastebėta, kad svorio pokyčiai būdingesni paauglystėje ir kad šiuo periodu gydymo sukeltos komplikacijos būna didžiausios. Šiai hipotezei patikrinti pasitelkta retrospektyvinė analizė, įtraukta daugiau tiriamųjų, jie suskirstyti į tris amžiaus grupes. Šie rezultatai papildė prospektyvinės analizės radinius, kad būtų atskleista sąsaja tarp mitybos būklės, ŽP ir biožymenų koncentracijos.

Nors dauguma gydymo centrų pripažįsta ir taiko visavertę, o ne neutropeninę dietą, tačiau bendrų rekomendacijų dėl potransplantacinio periodo mitybos trūksta¹⁴. Mitybos gairių trūksta ir VOHC: potransplantacinės priežiūros protokole išlieka rekomendacija visiems vaikams rutiniškai skirti parenterinę mitybą nuo pirmosios dienos po transplantacijos. Šio darbo vienas iš tikslų – pagrįsti enterinės mitybos skatinimą ir pakoreguoti iki šiol galiojančias rekomendacijas.

Darbo naujumas ir praktinė reikšmė

Šio darbo naujumas – plataus profilio biožymenų derinio prospektyvinis išilginis tyrimas siekiant anksti diagnozuoti ŽP, atsižvelgiant į vaikų mitybos būklės pokyčius gydymo metu. Literatūroje yra aprašyta tyrimų, kai analizuota pavienių aminorūgščių (AR) sąsaja su pochemoterapinio mukozito nulemtomis bakterinėmis kraujo infekcijomis, pasireiškiančiomis vaikams ŪLL gydymo metu¹⁵. Šiuose tyrimuose daugiausia akcentuojami vienmomenčiai AR koncentracijos pokyčiai potransplantaciniu periodu lyginant su jų koncentracijomis pretransplantaciniu periodu¹⁶ bei vieno ar kelių biožymenų sąsają su ūTPŠL¹⁷⁻¹⁹. Lietuvoje nebuvo nagrinėta pochemoterapinio ir potransplantacinio ŽP vaikams tema. Šio darbo metu pirmąkart buvo taikyta reguliari biožymenų kraujyje ir išmatose stebėseną, siejant laboratorinių tyrimų pokyčius su ŽP simptomatika.

- Šis darbas yra pirmasis, kurio metu reguliariais laiko intervalais buvo tirta plati AR paletė bei kalprotektino koncentracija išmatose, į analizę įtraukti ir įprasti kasdienėje praktikoje laboratoriniai rodikliai, tokie kaip: C reaktyvusis baltymas (CRB), albuminas, šlapalas, neutrofilų skaičius.
- Kadangi onkohematologinės ligos vaikų populiacijoje yra gerokai retesnės nei suaugusiųjų, todėl ir tyrimų su vaikais yra mažiau. Svarbus šio darbo skirtingumas yra tas, kad tiriamoji grupė – tik vaikai, todėl tyrimo išvados tiksliai atspindi komplikacijų patofiziologiją vaikų organizme.
- Dar vienas darbo išskirtinumas – įtraukti du skirtingi tiriamųjų pogrupiai: vaikai, gydomi dėl ŪLL indukcijos metu, ir vaikai po aloKKLT. Tai teikia galimybę įvertinti biožymenų pokyčius išsivysčius ŽP virškinamojo trakto gleivinę veikiant skirtingiems veiksniams: ŪLL indukcijos metu pagrindinis žarnyną veikiantis veiksnys yra skiriamos didelės gliukokortikosteroidų dozės ir citostatikai, aloKKLT grupėje prisideda ir papildomas imunologinis komponentas – preparatai, skirti ūTPŠL profilaktikai, bei patys alogeniniai limfocitai.

- Svarbus darbo ypatumas, palyginti su kitais atliktais tyrimais, yra tas, kad stebėseną ir biožymenų tyrimas buvo atliekami kartą per savaitę ilgą laikotarpį, o minėtuose darbuose ištyrimas buvo vykdomas tik vieną kartą ar keliskart.
- Žarnyno vientisumą veikia ne tik chemoterapiniai / imunologiniai preparatai, bet ir mityba. Ji turi įtakos vaistų metabolizmui, organizmo uždegiminiam ir imuniniam atsakui, todėl yra susijusi ir su gydymo rezultatais^{20, 21}. Anabolinių ir katabolinių procesų organizme svyravimai gali lemti ir biožymenų koncentracijos kitimą²². Tad dar vienas svarbus šio darbo ypatumas – analizuota mitybos reikšmė ŽP išsivystyti ir biožymenų rezultatų interpretacijai.
- Vaikai skiriasi nuo suaugusiųjų savo psichomotorine ir emocine raida, skirtingais vystymosi tarpsniais skiriasi ir jų metabolizmas²³, tad tyrimo metu atsižvelgta ir į vaikų amžių, galimą rizikos veiksnį ŽP vystytis.

Remiantis darbo rezultatais atskleidžiama nauja samprata apie ŽP mastą ir vystymosi eigą gydant vaikus, sergančius ŪLL, indukcijos metu ir po aloKKLT, pateikiama kliniciams svarbių išvalgų apie galimą naujų biožymenų panaudojimą kasdienėje praktikoje ankstyvai ŽP diagnostikai. Taip pat darbo išvadose gvildenama vaikų mitybos būklės įtaka tiek ŽP, tiek biožymenų koncentracijai, o tai leidžia siūlyti naujas mitybos rekomendacijas vaikams chemoterapinio gydymo metu bei po aloKKLT pabrėžiant enterinės mitybos svarbą.

Darbo tikslas

Įvertinti ŽP mastą vaikams ŪLL indukcijos metu ir per pirmąsias 100 dienų po aloKKLT, rasti biožymenis ankstyvai ŽP diagnostikai bei vaikų mitybos būklės ir amžiaus įtakos tiek ŽP, tiek biožymenų koncentracijai vertinti.

Darbo uždaviniai

1. Retrospektyviai įvertinti skirtingų amžiaus grupių vaikų mitybos būklės kitimą ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT.
2. Įvertinti ŽP reikšimosi dažnį bei ŽP sąsają su neutropenija ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT.
3. Įvertinti mitybos būklės ir amžiaus įtaką ŽP ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT.
4. Palyginti biožymenų koncentraciją vaikams, kuriems išsivystė ŽP, su tais atvejais, kai ŽP neišsivystė, ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT.
5. Įvertinti mitybos būklės ir amžiaus įtaką biožymenų koncentracijai.

Ginamieji teiginiai

1. ŪLL indukcinio gydymo ir potransplantacinio periodo metu vaikų mitybos būklės kitimas yra susijęs su jų amžiumi.
2. ŽP susijęs su vaiko amžiumi ir mitybos būkle, bet ne su neutropenija.
3. Vaikams ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT išsivysčius ŽP kinta biožymenų kraujyje bei išmatų kalprotektino koncentracija, sisteminga ir reguliari jų stebėsena gali padėti anksti diagnozuoti ŽP.
4. Biožymenų koncentracija yra susijusi su vaiko mitybos būkle ir amžiumi.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Toksinių komplikacijų svarba gydant vaikų onkohematologines ligas

Vaikų onkohematologinių ligų penkerių metų išgyvenamumas Europoje viršija 80 proc.² ŪLL yra dažniausia vaikų piktybinė liga, sudaro apie 25 proc. visų vaikų piktybinių ligų, jos išgyvenamumas yra apie 90 proc.², tačiau mirtingumas dėl gydymo sukulto toksiškumo ŪLL atveju išlieka 2–4 proc., 1–2 proc. įvyksta indukcijos metu^{1, 24–26}. ŪLL gydymą sudaro kelios fazės, pirmoji iš jų yra indukcija – jos metu pagrindinis tikslas yra pasiekti visišką ligos remisiją ir atkurti adekvačią kraujodarą²⁷. Todėl pirmasis ligos gydymo mėnuo yra pats intensyviausias, jo metu yra didžiausia gydymo komplikacijų tikimybė²⁶. Nors tiesiogiai toksiškumo sukeltas mirtingumas siekia tik kelis procentus, tačiau apskritai toksinės gydymo komplikacijos ŪLL indukcijos metu yra gerokai dažnesnės – beveik 80 proc. pacientų patiria bent vieną kliniškai reikšmingą nepageidaujamą įvykį²⁶. Gydymo metu daugiau kaip 3 toksiniai įvykiai (3^o ir sunkesni) mažina vaikų, sergančių ŪLL, išgyvenamumo tikimybę²⁸.

Nepaisant vis gerėjančių gydymo rezultatų, aloKKLT kartais yra pagrindinė piktybinių ir nepiktybinių kraujo ir imuninės sistemos ligų išgydymo terapija, kai įprasta chemoterapija yra neveiksminga ar negalima. Alogeninės KKLT metu recipientui į veną suleidžiama donoro kraujodaros kamieninių ląstelių siekiant išgydyti piktybinę ligą ar pakeisti recipiento neefektyvią kraujodarą ar imuninę sistemą²⁹. Donorinės kraujodaros kamieninės ląstelės yra parenkamos atsižvelgiant į suderinamumą pagal žmogaus leukocitų antigenus iš giminingo arba negiminingo donoro³⁰. Pastaruoju metu vis dažniau naudojami ir alternatyvūs kamieninių ląstelių šaltiniai – atliekamos haplotransplantacijos (iš pusiau tapataus donoro) arba naudojamos virkštelės kamieninės ląstelės³¹. Nors gydymo rezultatai po aloKKLT per pastarąjį dešimtmetį labai pagerėjo, ypač kai transplantacija atliekama dėl nepiktybinių ligų iš giminingo donoro, tačiau gydant piktybines ligas su transplantacija susijęs mirtingumas (TRM) vis dar siekia 9–16,5 proc.^{6, 32, 33} VOHC duomenimis, 57,1 proc. TRM susijęs su ūTPŠL išsivystymu, kiti atvejai – infekcinių komplikacijų nulemtas toksiškumas ir jų sukeltas organų disfunkcijos sindromas⁶. Dažniausiai tyrimuose, analizuojančiuose gydymo baigtį ir rezultatus, vertinamos toksiškumo sukeltos mirtys bei ligos recidyvas, nes tai yra konkrečiai apibrėžiama baigtis. Visgi paties toksiškumo dažnis yra kur kas didesnis – priklausomai nuo pažeistų sistemų ir pažeidimo sunkumo, skaičiuojama, kad jį patiria daugiau nei 80 proc. pacientų^{34, 35}.

Nors ligos recidyvas tiek ŪLL atveju, tiek po aloKKLT yra viena iš dažniausių nesėkmingo gydymo priežasčių³⁶ (ŪLL atveju siekia 15–20 proc.³⁷, po aloKKLT ŪLL recidyvo tikimybė – 12–30 proc.^{6, 38}), bet jo gydymo galimybes riboja ankstesnio gydymo metu patirtas toksiskumas ir sukelta organų bei sistemų pažeida: dažnai reikalingas agresyvus priešrecidyvinis gydymas ne visada būna įmanomas³⁹. Toksiniai įvykiai didina hospitalizacijų dažnį – daugiau nei 40 proc. vaikų, sergančių onkohematologinėmis ligomis, patiria kartotinių hospitalizacijų per pirmuosius gydymo metus dėl gydymo sukeltų šalutinių reiškinių⁴⁰, o tai didina ir gydymo išlaidas, ir jatrogeninių komplikacijų riziką. Taigi gydymo toksiskumas tiek tiesiogiai, tiek netiesiogiai turi įtakos gydymo rezultatams.

1.1.1. Chemoterapijos indukuotas ŽP ir jo sukeliami padariniai

Vienas iš pačių dažniausių chemoterapijos sukeltų šalutinių reiškinių – virškinamojo trakto pažeidimas. Jį patiria apie 40 proc. pacientų, gydomų standartinių dozių chemoterapija, ir iki 100 proc. pacientų, kurie gauna didelių dozių chemopreparatus⁸. Toks didelis dažnis yra nulemtas to, kad chemoterapijos preparatai, nediferencijuodami ląstelių, veikia tiek piktybines, tiek kitas greitai besidalijančias ląsteles. Chemoterapijos nulemtas mukozitas apima daugelį virškinamojo trakto dalių: ypač pažeidžiama burnos, nosiaryklės ir plonosios žarnos gleivinė^{8, 41}. Dažniausiai tyrimai analizuoja chemoterapijos indukuotą burnos gleivinės pažeidimą, nes tokį pažeidimą lengviau vizualizuoti ir vertinti, tačiau šiame darbe susitelkiama į žarnyno pažeidimą. Žarnyno epitelis formuoja apsauginį mechaninį ir biocheminį barjerą, palaiko neuroimuninį ryšį su žarnyno gerosiomis bakterijomis⁸. Taip pat žarnyno epitelis užtikrina maistinių medžiagų rezorbciją, antimikrobinių substancijų sekreciją⁸, M ląstelės kartu su Paneto ląstelėmis reguliuoja antigeno pateikimą ir vietinio imuninio atsako formavimą⁴².

1.1.1.1. Žarnyno pažeidimas ŪLL indukcijos metu

Chemoterapijos nulemtas žarnyno barjerinės ir imuninės funkcijos pažeidimas, mikrobiotos disbalansas ir bakterijų translokacija iš virškinamojo trakto gali lemti sisteminį uždegiminį atsaką, kraujo infekcijas, dauginį organų disfunkcijos sindromą ir letalią baigtį 2 proc. vaikų, gydytų dėl ŪLL⁸. Tačiau ne vien citostatikai lemia žarnyno epitelio pažeidimą. ŪLL sergantys pacientai dažniausiai ŽP patiria indukcijos metu dėl gaunamų didelių gliukokortikosteroidų, kurie yra neatsiejama ŪLL chemoterapinio gydymo dalis, dozių. Šie medikamentai neigiamai veikia virškinamąjį traktą, nes

mažina mikrobiotos įvairovę bei žarnyno ląstelių gaurelių aukštį, slopina imuninės sistemos ląstelių ir IgA gamybą^{43, 44}.

1.1.1.2. Žarnyno pažeidimas po aloKKLT

ŽP rizika didėja kartu su suminėmis chemo- ir imunopreparatų dozėmis⁴⁵, todėl ŽP po aloKKLT, tikėtina, gali būti stipresnis nei ŪLL indukcijos metu. Prieš aloKKLT kondicionavimui skiriamų preparatų tikslas – sunaikinti piktybinių ląstelių likučius, užtikrinti pakankamą imunosupresiją, kad būtų išvengta ūTPŠL, sukurti laisvą nišą kaulų čiulpuose donorinėms kamieninėms ląstelėms, sukurti imunoabliacinį efektą, įgalinantį donorinių kraujodaros kamieninių ląstelių prigijimą^{46–48}. Tačiau šie preparatai tiesiogiai pažeidžia audinius, sutrikdo mikrobiotos pusiausvyrą, sukelia uždegiminį atsaką ir citokinų aktyvaciją, taip sutrikdydami žarnyno metaboliką⁴⁹. Po aloKKLT žarnyno vientisumo pažeidimas yra vienas iš ūTPŠL išsivystymą skatinančių veiksnių^{50, 51, 52, 53}, suaugusiems tai yra pagrindinis sisteminį uždegiminį atsaką sukeliantis veiksnys⁵⁴. ūTPŠL – tai aktyvuotų donoro T limfocitų reakcija į recipiento audinius⁵⁵, kuri dažniausiai pažeidžia odą, kepenis ir (ar) virškinamąjį traktą. Išsivysčius žarnyno ūTPŠL, mirtingumo rizika po aloKKLT 29–90 proc., ypač pasireiškus III–IV^o ar atspariai steroidams ūTPŠL^{56, 57}. Pirmoji ūTPŠL vystymosi fazė – ŽP, kuris toliau aktyvina recipiento ir donoro antigeną pateikiančias ląsteles bei skatina uždegiminius mediatorius aktyvinti donorinius T limfocitus⁵⁸.

1.1.1.3. Žarnyno pažeidimo eiga ir klinikinė išraiška

ŽP apibūdinamas kaip žarnyno gleivinės uždegimas, lemiantis struktūrinius, funkcinis ir imunologinius žarnyno ląstelių pokyčius⁵⁹. Žarnyno ląstelių pažeidimo neįmanoma įvertinti plika akimi, tad pirminė diagnostika remiasi klinikiniais simptomais arba vertinant įvairių biožymenų koncentraciją. ŽP vystymasis apima 5 fazes^{59, 60}:

1. Iniciacijos. Vyksta ląstelių DNR pažeidimas.
2. Sustiprintos reguliacijos. Susidaro aktyvūs deguonies radikalai ir suaktyvinamas branduolinis faktorius κ -B.
3. Signalo stiprinimo. Išskiriami prouždegiminiai citokinai. Padidėjusi TNF α ir monocitų chemoatraktanto baltymo-1 ekspresija pritraukia makrofagus ir neutrofilus į pažeidimo vietą.
4. Gleivinės išopėjimo ir uždegimo. Epitelio išopėjimas ir kamieninių ląstelių žūtis dar labiau padidina aktyvių deguonies radikalų išsiskyrimą, kurie sustiprina pogleivio pažeidimą. Bakterijų

kolonizacija gleivinės opos didina uždegimą, skatindama infiltraciją ir priešūždegiminių makrofagų aktyvavimą, o tai sukelia „užburta uždegimo ratą“ virškinamajame trakte.

5. Gijimo. Vyksta kolageno depozicija ir angioneogenezė.

ŽP dažniausiai pasireiškia pilvo skausmu, viduriavimu, tenezmais⁵⁹. Kadangi kartu gali būti pažeista ir viršutinė virškinamojo trakto dalis, galima anoreksija, pykinimas, vėmimas⁶¹. Visgi šie simptomai nėra specifiniai ŽP, nes chemoterapijos metu citostatikai, tiesiogiai veikdami vėmimo centrą, dažnai sukelia pykinimą, vėmimą ir apetito stoką⁶². Gydomo sukulto ŽP simptomai objektyviai vertinami pagal bendruosius nepageidaujamų įvykių terminologijos kriterijus (*Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE) v5.0)⁶³ (detaliau aprašyta *Metodų* skiltyje).

1.2. Žarnyno pažeidimui monitoruoti naudojami biožymenys

Kadangi ŽP yra pirminis veiksnys, nuo kurio prasideda „uždegiminė kaskada“, susijusi su didesne infekcijų ir komplikacijų rizika, svarbu kuo anksčiau pastebėti žarnyno ląstelių pažeidimą. Ankstyva ŽP diagnostika itin naudinga pacientams, kurie turi didžiausią ŽP išsivystymo riziką, kad būtų laiku skiriama antibakterinė terapija ar stiprinamas imunosupresinis gydymas. Be to, nedidelės rizikos pacientai galėtų būti apsaugoti nuo nereikalingo antibakterinio gydymo ir dar didesnio neigiamo poveikio jų žarnyno mikrobiotai⁵³. Todėl didelis mokslo dėmesys skiriamas biožymenims, kurie galėtų greičiau ir tiksliau padėti nustatyti ŽP⁶⁴.

Biožymuo („biologinis žymuo“ trumpinys) yra labai plati samprata, apibūdinanti objektyvius sveikatos būklės pokyčius, kuriuos galima įvertinti išoriškai ar išmatuoti atliekant laboratorinius tyrimus⁶⁵. 1998 metais sąvoka „biožymuo“ buvo apibrėžta kaip objektyviai išmatuojamas ar įvertinamas žymuo, atspindintis normalius biologinius procesus, patologinius procesus ar farmakologinį atsaką į intervenciją^{65,66}. Pasaulio sveikatos organizacija (PSO) šį apibrėžimą papildė – „bet kokia medžiaga, struktūra ar procesas, kurį galima išmatuoti organizme ar jo produktuose, galinti padėti numatyti ligos pradžią ar baigtį“⁶⁵. Dar platesne biožymens sąvoka aiškinama, kad tai žymuo, atspindintis bet kokią sąveiką tarp organizmo ir išorinio veiksnio (fizinio, cheminio, biologinio; tai gali būti ne tik liga, bet ir taikomas gydymas, intervencija, aplinkos veiksniai – mityba, gyvensena). Biožymuo gali būti funkcinių ar biocheminių procesų išraiška tiek ląsteliniu, tiek molekulinio lygmeniu⁶⁵. Nors biožymenimis laikomi ir organizmo sistemų darbo ženklai, pvz., pulsas, arterinis kraujo spaudimas, tačiau dabartiniuose mokslo darbuose biožymenys suprantami kaip laboratoriniai žymenys⁶⁵.

Vertinant žarnyno uždegimą ir pralaidumą, tyrimai atliekami skirtingose terpėse (kraujyje, išmatose) analizuojant įvairios kilmės medžiagas, tokias kaip antai: jonai / transepitelinę pernašą ar ląstelines jungtis užtikrinančios molekulės, angliavandeniai / glikopeptidai, baltymai / peptidai / aminorūgštys, makromolekulės, bakterijos ar jų produktai, antigenai, genetiniai biožymenys (mikro-RNR, ilgos nekoduojančios RNR), mikrobiotos komponentai, trumpųjų grandinių riebiosios rūgštys^{67–69}. Vis dėlto iki šiol kol kas nėra rasta vienintelio biožymens ar biožymenų derinio, kurie galėtų padėti vertinti bet kokios etiologijos ŽP. Kadangi ŽP priklauso ne tik nuo pagrindinės patologijos, bet ir nuo gretutinių veiksnių (amžiaus, mitybos, gyvensenos, genetikos, kitų ligų), ŽP atspindintys biožymenys skirtingose populiacijose ar pacientų grupėse gali būti skirtingi⁶⁹.

1.2.1. Aminorūgštys – potencialūs biožymenys

Aminorūgštys (AR) yra vienos iš svarbiausių metabolizmą atspindinčių elementų, nes AR pokyčiais pasireiškia organizmo atsakas į išorinius ir vidinius dirgiklius, tad pastaruoju metu jas itin nagrinėja metabolomikos mokslas⁷⁰. Uždegiminių būklių metu išsiskyrę prouždegiminiai citokinai sukelia katabolinę būseną ir „autokanibalizmo“ reiškinį, kurio metu skyla baltymai⁷¹. Kadangi AR yra pagrindinės peptidų ir baltymų sudedamosios dalys, jos tampa svarbios tiek kaip potencialūs biožymenys ankstyvai uždegiminių būklių diagnostikai, tiek ligų aktyvumui vertinti⁷⁰.

Yra duomenų, kad AR pokyčiai (tiriant 19 AR kraujyje ir vertinant jų koncentracijų santykį) gali padėti įtarti ir besivystantį plaučių, skrandžio, kolorektalinį, krūties ar prostatos onkologinį procesą ar jo recidyvą dar prieš juos diagnozuojant kitais būdais⁷². Naujausi tyrimai atskleidė, kad vaikų leukemijos atveju AR koncentracijos vertinimas gali būti naudingas diferencijuojant leukemiją nuo kitų uždegiminių būklių, pasireiškiančių panašia simptomatika (leukemijos diagnozės nustatymo metu treonino, alanino, metionino, asparagino, tirozino, cisteino, serino, fenilalanino, taurino koncentracija buvo mažesnė, o lizino – didesnė nei kontrolinės grupės pacientų), taip pat AR koncentracija skiriasi atsižvelgiant į ligos tipą ir atsaką į gydymą⁷³. Prieš aloKKLT sutrikusi AR pusiausvyra gali būti susijusi su ūTPŠL pasireiškimu⁷⁴.

AR svarbios ir darniai žarnyno veiklai: užtikrina gleivinės apsauginę funkciją, IgA sekreciją, palaiko imuninės sistemos ir mikrobiotos homeostazę, mažina oksidacinį stresą ir prouždegiminių citokinų gamybą^{75, 76}. Jos taip pat reguliuoja monocitų, makrofagų, polimorfonuklearų aktyvacijos, dendritinių

ląstelių bei T limfocitų diferenciacijos procesus^{74, 77, 78}. AR padeda išlaikyti endotelio ir epitelio ląstelių vientisumą reguliuodamos ląstelių proliferaciją, angiogenezę, apoptozę, mažindamos oksidacinį stresą⁷⁹. Žarnynas – vieta, kurioje vyksta imuninės sistemos ląstelių sąveika su epitelio ląstelėmis, transvaskulinė imuninės sistemos ląstelių migracija, taip yra užtikrinamas optimalus vietinis imuninis atsakas⁸⁰.

Be to, AR reikšmingos ne tik kaip galimi biožymenys, bet ir kaip gydymo elementas: tyrimo su senyvo amžiaus pacientais metu įrodyta, kad AR papildai sumažina uždegimą ir CRB koncentraciją⁸¹. Leukemijos atveju tam tikrų AR inhibitoriai gali būti taikomi kaip pagalbinė naviko gydymo priemonė⁸².

AR koncentracijos monitoravimas gali būti taikomas klinikinėje praktikoje stebint uždegiminių žarnyno ligų eigą (Krono ligos atveju nustatyta sąsaja tarp ligos aktyvumo ir valino, metionino, leucino, histidino, triptofano, alanino, tirozino koncentracijos; opinio kolito atveju mažėjanti histidino koncentracija buvo susijusi su ligos recidyvu) ar net išsivysčius ŽP sunkių infekcijų, sepsio metu^{71, 75, 83}. AR koncentracijos stebėseną gali būti naudinga ir gydant pacientus, sergančius onkohematologinėmis ligomis: keli tyrimai atskleidė, jog AR pokyčiai (mažėjanti glicino, cistino, gamaglutamilcistino koncentracija) gali sufleruoti apie besivystančią febrilinę neutropeniją suaugusiųjų ŪLL gydymo metu, mažėjanti citrulino koncentracija rodo bakteriemijos riziką vaikams, gydomiems dėl ŪLL, kuriems išsivystęs mukozitas^{15, 49}. AR koncentracijos kitimas kraujyje fiksuojamas ir pasireiškus komplikacijoms ar numatant jų riziką po aloKKLT tiek vaikams, tiek suaugusiems: pacientų, kuriems išsivystė ūTPŠL, septintą potransplantacinę dieną buvo mažesnė serino, glutamino, cistino, glicino, lizino bei treonino koncentracija; o pacientams, kuriems išsivystė sinusų obstrukcijos sindromas, sumažėjo glutamo rūgšties, serino, arginino, glicino, lizino, valino, triptofano, treonino ir prolino koncentracija¹⁶. Tačiau iki šiol literatūroje trūksta duomenų apie AR pokyčius išsivysčius bet kokios etiologijos ŽP vaikų ŪLL metu ar potransplantaciniu periodu.

1.2.2. Neinvazinis ŽP biožymuo – išmatų kalprotektinas

Nors kraujo biožymenys yra daug žadantys, tačiau kraujo mėginiai ne visada yra tinkamas pasirinkimas, ypač mažiems vaikams, nes dažni ėminiai aktyvaus gydymo metu gali lemti jatrogeninę mažakraujystę⁸⁴. Todėl tais atvejais, kai tyrimai turi būti kartojami reguliariais laiko intervalais, atsiranda iššūkis rasti neinvazinį biožymenį, kuris galėtų būti naudojamas kartu / vietoje kraujo tyrimų. Išmatų kalprotektinas (iKLP) – jautrus rodiklis uždegiminėms

žarnyno ligoms, todėl daroma prielaida, kad jis gali būti naudingas ir pochemoterapinio ŽP ankstyvai diagnostikai. Būtent todėl šio disertacinio darbo metu kartu su AR kraujyje tais pačiais laiko intervalais monitoruotas ir iKLP. Išmatų KLP yra kalcį ir cinką sujungiantis baltymas, priklausantis S-100 baltymų, kurių daugiausia būna neutrofiluose, grupei⁸⁵. Kai išsivysto ŽP, neutrofilai migruoja į uždegimo vietą, todėl iKLP dažniausiai randama išmatose⁸⁵. Literatūroje duomenų apie iKLP informatyvumą esant neutropenijai beveik nėra. Yra žinoma, kad iKLP koncentracija kyla išsivysčius neutropeniam enterokolitui⁸⁶, todėl disertaciniame darbe kartu su visais biožymenimis matuotas ir neutrofilų skaičius, nes norėta papildyti duomenis apie iKLP sąsają su neutrofilų skaičiumi kraujyje.

1.2.3. CRB – papildomas rodiklis interpretuojant biožymenis

CRB iki šiol yra vienas iš labiausiai įprastų ir dažniausiai naudojamų biožymenų uždegimui vertinti. CRB koncentracija kyla esant bet kokiai uždegiminei būklei ar infekcijai, stimuliuojant uždegiminiam citokinui IL-6⁸⁷. Jis dažnai atliekamas ir uždegiminių žarnyno ligų aktyvumo stebėsenai⁸⁸. Visgi CRB nesuteikia informacijos, kokios kilmės uždegimas vystosi, ir yra lėto reagavimo uždegiminis žymuo dėl ilgo skilimo pusperiodžio (19 valandų)⁸⁹. CRB koncentracija didėja ir dėl tam tikrų chemoterapinių preparatų poveikio (ypač kondicionavimui skirtų preparatų) bei vystantis ūTPŠL⁹⁰. Vis dėlto chemoterapinio gydymo metu padidėjusi CRB koncentracija dažniausiai interpretuojama kaip infekcijos poveikis. Šio disertacinio darbo metu CRB stebėseną pasitelkta išsiaiškinti, ar šis rodiklis gali būti pagalbinis ankstyvos ŽP diagnostikos žymuo monitoruojant kartu su AR koncentracija kraujyje bei iKLP.

1.2.4. Neutrofilų sąsaja su ŽP

Ilgą laiką neutropenija buvo vertinama kaip pagrindinė burnos mukozito, ŽP ir bakteriemijų atsiradimo priežastis⁹¹. Mukozitas dėl chemoterapinių vaistų poveikio dažniausiai pasireiškia 10–21 dieną po vaistų skyrimo, šis periodas sutampa ir su neutropenijos reiškimusi, nes chemoterapiniai preparatai veikia tiek kraujodaros, tiek virškinamojo trakto ląsteles⁹². Pagrindinė ir tiesioginė ŽP chemoterapinio gydymo metu priežastis yra epitelinių ląstelių žūtis dėl citotoksinių medikamentų poveikio⁹². Išsivystęs uždegimas virškinamajame trakte ir empiriškai skiriamas antibakterinis gydymas sukelia žarnyno disbiozę, kuri paūmina ŽP^{93–96}. Užtrukusi neutropenija ilgina disbiozės laikotarpį ir skatina patogeninių

bakterijų, ypač gramneigiamų, persistavimą virškinamajame trakte, o jos gali sukelti netiesioginį ŽP ir didina bakteriemijos riziką^{92, 93}. Bakterinės komplikacijos dažniausiai pasireiškia didžiausio gleivinės išopėjimo fazės metu, yra įrodytas konkrečių bakterinių sisteminių infekcijų (pvz., alfa-hemolizinio streptokoko) ir virškinamojo trakto gleivinės pažeidimo ryšys⁹².

Vis dėlto febrilinė neutropenija dažnu atveju nebūna infekcinės kilmės – karščiavimą lemia uždegiminiai citokinai, išsiskyrę kaip atsakas į audinių pažeidimą ar antiuždegiminių mediatorių trūkumas esant neutropenijai⁵³. Pagrindinis ŽP patogenezės veiksnys yra chemoterapinių preparatų sukeliamą greitai besidauginančių žarnyno ląstelių pažeidimą ir jos lemiamas uždegimas^{59, 60}, o karščiavimą neutropenijos metu bei bakterines kraujo infekcijas lemia žarnyno ir imuninės sistemos sąveika^{53, 97}. Taigi neutropenija nėra pagrindinis veiksnys, o tik antrinis, ŽP ir bakteriemijai išsivystyti.

1.3. Mitybos būklės svarba su toksiškumu susijusioms komplikacijoms ir biožymenų koncentracijai

1.3.1 Mitybos būklės vertinimas

Mitybos būklė gali būti vertinama įvairiai: dažniausiai vaikų vertinamos augimo kreivės reguliariai stebint antropometrinius duomenis (ūgį, svorį, svorio ir ūgio priklausomybę, svorį / ūgį pagal amžių)⁹⁸. Kad šiuos duomenis būtų įmanoma vertinti kuo objektyviau skirtingų tautybių, amžiaus ir mitybos būdo vaikams, PSO įdiegė tarptautinį antropometrinių kreivių standartą^{98, 99}. Jis apima svorio pagal amžių, svorio pagal ilgį / ūgį, ilgio / ūgio pagal amžių bei kūno masės indekso (KMI) pagal amžių procentilių bei z įverčio vertinimą^{99, 100}. KMI yra universalus išvestinis dydis, išreiškiamas svorio ir ūgio kvadratu santykiu. Optimalu yra vertinti KMI procentilę ar z įvertį, kuris rodo, kiek standartinių nuokrypių vaiko KMI skiriasi nuo vidutinio KMI, vertinant to paties amžiaus ir lyties vaikus¹⁰¹. Nors KMI yra pats paprasčiausias, pigiausias, lengviausiai klinikinėje praktikoje taikomas mitybos būklės vertinimo būdas, tačiau jis nepadaeda aptikti kūno sudėties pokyčių, todėl kai yra didelis KMI z įverčio nuokrypis, rekomenduojama pasitelkti papildomus vertinimo būdus (rankos, pilvo apimties; odos raukšlių matavimus; kūno sudėties įvertinimą įvairiais instrumentiniais metodais, kuriems reikia papildomų medicinos personalo įgūdžių)^{98, 101, 102}.

1.3.2. Neadekvati vaikų, sergančių onkohematologinėmis ligomis, mityba

Neadekvati mityba (NM) pagal PSO apibrėžiama kaip nepakankama ar perteklinė mityba¹⁰². Universali NM skaitinė išraiška yra KMI z įvertis >2 arba <-2 ¹⁰⁰. Tiek energijos bei maistinių medžiagų per didelis, tiek per mažas kiekis neužtikrina organizmo reikmių ir gali turėti neigiamą poveikį sveikatai: vienu atveju to objektyvi išraiška yra per mažas kūno svoris, kitu atveju – antsvoris ar nutukimas¹⁰³.

Vaikų, sergančių onkologinėmis ligomis, NM siekia 75 proc.¹⁰⁴. Kūno svorio kritimas ŪLL gydymo metu yra nulemtas padidėjusio maistinių medžiagų poreikio, tačiau sumažėjusios jų rezorbcijos dėl sutrikdytos organizmo homeostazės^{105–107}. Nepakankama vaikų mityba yra daug labiau paplitusi mažas ir vidutines pajamas gaunančiose šalyse (siekia 50 proc.) nei aukštas pajamas gaunančiose valstybėse (10 proc.)¹⁰⁸, tačiau priklauso ne tik nuo valstybės ekonominio lygio, bet ir nuo naviko tipo. ŪLL atveju mitybos nepakankamumas apie 10 proc.¹⁰⁶, tačiau šie vaikai yra labiau linkę įgyti antsvorio nei solidiniais navikais sergantys vaikai¹⁰⁹. Dažniausia to priežastis yra gaunamos didelės gliukokortikosteroidų dozės indukcijos metu, atsparumas insulinui ir sumažėjęs fizinis aktyvumas¹⁰⁵. Po aloKKLT, skirtingų autorių duomenimis, vertinant skirtingus laikotarpius po procedūros bei skirtingas amžiaus grupes, pasireiškia tiek svorio trūkumas, tiek antsvoris^{110–112}. Tačiau neabejotinai NM yra susijusi su didesne komplikacijų rizika ir prastesniais vaikų, gydomų chemoterapija ar po aloKKLT, išgyvenamumo rezultatais^{113, 114}. NM mažina chemoterapijos efektyvumą, nes trikdo vaistų metabolizmą^{114, 115, 116, 117}; gali didinti naviko recidyvo ar antrinio naviko riziką¹¹⁸.

1.3.3. Mitybos būklės įtaka ŪLL gydymo eigai

Gydant vaikų didelės rizikos ŪLL pastebėta, kad pacientai, turėję antsvorio arba buvę nepakankamo svorio daugiau nei pusę aktyvaus gydymo laiko, patyrė dvigubai daugiau su toksiškumu susijusių komplikacijų ar ligos recidyvų nei pacientai, gydymo metu buvę normalaus svorio¹¹⁶. Staigus kūno svorio kritimas per pirmuosius tris ŪLL gydymo mėnesius susijęs su didesniu febrilinės neutropenijos dažniu¹¹⁹. Mirtingumo rizika didėja beveik tris kartus, jei per pirmuosius tris gydymo mėnesius vaikas netenka >5 proc. kūno svorio¹²⁰. Didesnis KMI diagnozės metu taip pat siejamas su prastesnėmis gydymo baigtimis, ypač vyresniems nei 10 metų vaikams^{105, 121, 122}. Nutukimas didina sunkių gydymo komplikacijų, tokių kaip antai: virškinamojo trakto, kepenų, inkstų funkcijos sutrikimas, trombozė, dažni¹²³.

1.3.4. Mitybos būklės įtaka gydymo eigai po aloKKLT

NM yra rizikos veiksnys ir potransplantacinėms komplikacijoms išsivystyti: vėlina neutrofilų ir trombocitų prigijimą, didina recidyvo ir mirtingumo riziką^{113, 124, 125, 126}. Albumino koncentracijos mažėjimas gali būti sunkios ūTPŠL veiksnys, o jai jau išsivysčius, hipoalbuminemija gali bloginti išgyvenamumo rezultatus^{125, 127}. Nutukimas prieš aloKKLT taip pat didina su toksiskumu susijusio mirtingumo riziką^{126, 128}. Kadangi žarnyno disbiozė ir sutrikusi imuninės sistemos ląstelių veikla yra vieni iš patofiziologinių etapų vystantis ūTPŠL, NM būklė (tiek per mažas, tiek per didelis kūno svoris) yra ūTPŠL vystymosi rizikos veiksnys^{113, 129, 130}. Nutukimas sukelia nuolatinę uždegiminę būklę dėl padidėjusios leptino koncentracijos, kuri stimuliuoja Il-1, Il-6 bei TNF produkciją, ūmios fazės baltymų sintezę^{131–133}. Citokinai, siųsdami klaidingus signalus apie tariamą uždegimą, ilgainiui išsekina imuninę sistemą ir ji nebegali tinkamai reaguoti į tikruosius svetimkūnius^{133, 134}; leptinas per NK ląsteles ir STAT3 poveikį sumažina T reguliacinių ląstelių kiekį organizme¹³⁵; mažėja leukocitų skaičius ir komplemento baltymų kiekis^{133, 136}. Nepakankamas maistinių medžiagų ir kilokalorijų kiekis taip pat slopina normalią imuninės sistemos ląstelių veiklą ir, kaip ir nutukimo atveju, sukelia katabolizmo audrą, kurios metu išskiriami uždegiminiai citokinai^{130, 133, 137}. Pastarieji, kartu veikiant ir chemoterapiniams preparatams, trikdo žarnyno mikrobiotos pusiausvyrą, mažina jos įvairovę, tiesiogiai žeidžia žarnyno ląsteles, taip paskatindami ūTPŠL vystymąsi^{129, 130}. Žarnyno disbiozė yra vienas iš svarbiausių veiksnių, aktyvinančių aloreaktyvius T limfocitus, skatinančius ūTPŠL¹³⁸. Protekcinės probiotinės savybės labiausiai lemia trumpųjų grandinių riebiosios rūgštys, tokios kaip: acetatas, propionatas, butiratas, kurios turi antiuždegiminį ir antimikrobinį poveikį, stiprina žarnyno ląstelių barjerinę funkciją ir reguliuoja homeostazę^{138–140}. Ankstyva enterinė mityba paskatina žarnyno mikrobiotą gaminti trumpųjų grandžių riebiąsias rūgštis, užtikrina žarnyno ląstelių trofiką, sukuria storesnį mucino sluoksnį žarnyne, kartu mažia mikroorganizmų translokaciją per žarnyną ir taip sumažina ūTPŠL išsivystymo riziką^{113, 138, 141}. Taigi žarnyno ūTPŠL yra siejama ne tik su KMI pokyčiais, bet ir su sutrikusia kiekybine ir kokybine enterine mityba¹³⁰.

Yra įrodyta ir ūTPŠL sąsaja su vitaminų D ir A koncentracija: vitaminas D slopina T1 helperių atsaką, vitaminas A mažina prouždegiminių citokinų sintezę, skatina žarnyno mikrobiotą gaminti daugiau trumpųjų grandžių riebiųjų rūgščių, tokiu būdu apsaugo nuo ūTPŠL išsivystymo^{126, 142–144}. Vertinant vitaminų įtaką apskritai bet kokios kilmės ŽP, įvairių grupių vitaminų pusiausvyrą (vitaminų A, B2, B3, C, D, E, K) užtikrina žarnyno vientisumą, mikrobiotos įvairovę, adekvatų žarnyno imuninį atsaką¹⁴⁵. Būtent todėl

vaikams, net ir gydomiems chemoterapija, rekomenduojama visavertė mityba, o ne neutropeninė dieta¹⁰⁸. Atkreiptinas dėmesys, kad mineralinių medžiagų ir vitaminų stygius galimas tiek nepakankamos, tiek perteklinės mitybos atvejais¹⁴⁶, tad akivaizdu, kad vaikų mitybos būklė turi įtakos žarnyno veiklai bei su ŽP susijusių komplikacijų dažniui. Kadangi šio disertacinio darbo tiriamoji grupė buvo vaikai, o jų svorio kitimas gali būti greitesnis nei suaugusiųjų, kartu analizuota ir KMI dinamika gydymo metu bei mitybos būklės įtaka tiek ŽP, tiek biožymenų koncentracijai.

1.3.5. Mitybos būklės svarba biožymenims

NM išsivysto, kai maistinių medžiagų poreikis organizme neatitinka gaunamo kiekio, taip dažnai nutinka dėl gretutinių patologijų, tačiau tuo pačiu metu pati NM organizme provokuoja uždegiminių mediatorių sintezę¹⁴⁷. Tad sutrikusi mitybinė homeostazė organizme sukelia ir biožymenų pokyčius: dažnai didėja uždegiminiai žymenys, kinta AR, riebiųjų rūgščių, fosfolipidų koncentracija, mineralinių medžiagų ir vitaminų kiekis, dažnai kinta ir bendrojo kraujo tyrimo rodikliai^{148, 149}. Taigi vienas iš biožymenų naudojimo praktikoje trūkumų yra tas, jog nors jie suteikia nemažai informacijos apie paciento metabolizmą, tačiau dažnai kinta katabolinių / uždegiminių būklių metu¹⁵⁰. Vaikų nutukimo ir mitybinių medžiagų trūkumo atveju kinta nemažos dalies AR koncentracija, taip pat ir neinvazinio iKLP koncentracija, palyginti su normalaus svorio ir adekvačios mitybos būklės vaikais^{151–153}. Nustatyta, kad nutukusių vaikų leucino, izoleucino, valino, fenilalanino, tirozino, glutamo rūgšties, alanino koncentracija yra didesnė, o serino, asparagino, glutamino ir citrulino – mažesnė nei kontrolinės grupės vaikų¹⁵¹. Pasireiškus vaikų mitybos nepakankamumui, kinta histidino, arginino, metionino, valino, izoleucino, leucino, fenilalanino ir lizino koncentracija¹⁵². Tačiau koncentracijos kitimas priklauso ne tik nuo KMI, bet ir nuo amžiaus: nutukimo atveju vaikams iKLP kilimas nėra toks ryškus kaip suaugusiems¹⁵⁴. Sumažinus kūno svorį, normalizuotis gali ir iKLP, tačiau, koregavus mitybos nepakankamumą, biožymenų koncentracija sunormalėja tik po ilgesnio laiko^{153, 155}.

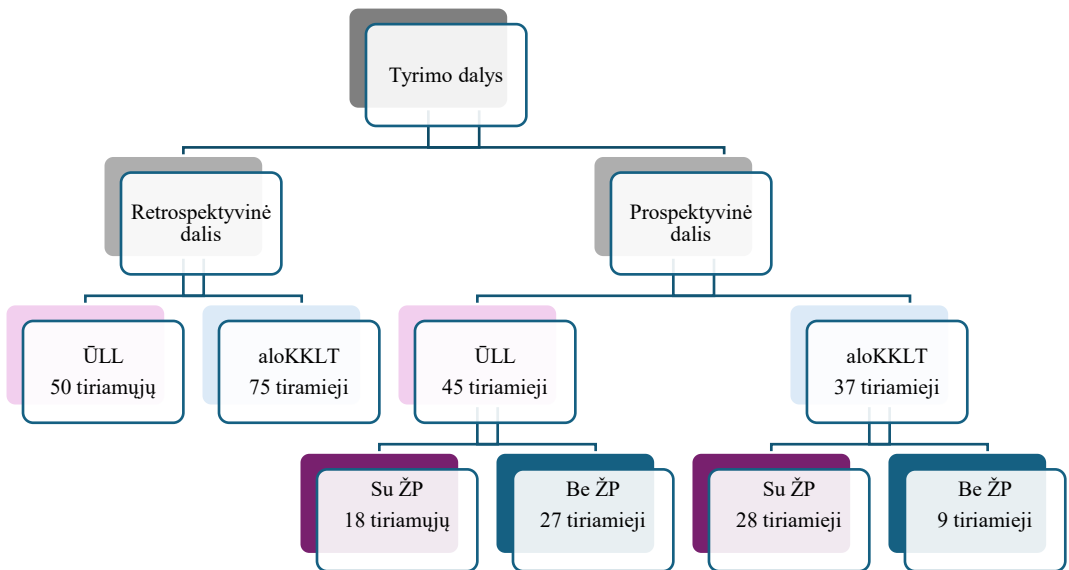
Tam tikrais atvejais, net ir esant skirtingoms mitybos būklėms, tų pačių biožymenų kitimo tendencija gali išlikti ta pati, pvz., citrulino koncentracija mažėja, o iKLP didėja tiek esant perteklinei, tiek nepakankamai mitybai^{153, 156, 157}. Kadangi citrulinas gaminamas plonojo žarnyno enterocitų, o iKLP išskiriamas žarnyne susikongravusių neutrofilų ir makrofagų uždegimo metu, akivaizdu, kad NM yra tiesiogiai susijusi su ŽP, o abu šie procesai – su biožymenų pokyčiais. Vadinas, biožymenų koncentracija gali

kisti ir dėl ŽP, ir dėl NM, kuri tiek pati lemia, tiek atspindi organizmo metabolinių procesų pusiausvyrą. Taigi, vertinant biožymenų pokyčius konkrečių patologijų metu, svarbu kartu vertinti ir mitybos būklę bei asmens amžių, nes skirtingomis aplinkybėmis biožymenų pokyčiai gali skirtis.

2. METODAI

2.1. Tiriamieji ir tyrimo struktūra

Siekiant įgyvendinti numatytus uždavinius, tyrimą sudarė retrospektyvinė ir prospektyvinė dalys. Tyrimo struktūra vaizduojama 1 paveiksle.



1 pav. Tyrimo struktūra

Retrospektyvinėje dalyje buvo renkami sveikatos duomenys, siekta nustatyti mitybos būklės pokyčius atsižvelgiant į ŪLL ir aloKKLT grupių vaikų amžių (1 uždavinys). Prospektyviai buvo renkami kraujo ir išmatų mėginiai bei sveikatos duomenys tiriamųjų, kuriems diagnozuota ŪLL arba atlikta aloKKLT doktorantūros studijų laikotarpiu (2–5 uždaviniai).

2.2. Etikos ir duomenų rinkimo aspektai

Tyrimui atlikti buvo gautas Vilniaus regioninio biomedicininio tyrimų etikos komiteto leidimas Nr. 158200-18/12-1073-576 (patvirtintas 2016-01-25, papildytas 2020-10-09). Visiems tiriamiesiems ir jų tėvams / teisėtiems globėjams buvo paaiškinta tyrimo esmė ir eiga, atsakyta į jų klausimus, pateiktos Informuoto asmens sutikimo formos. Sutikimo formas

pasirašę tiriamųjų tėvai / teisėti globėjai ir 12–17 metų amžiaus patys tiriamieji. Vaikams iki 12 metų informacija pateikta žodžiu. Retrospektyvinėje tyrimo dalyje duomenys buvo renkami be Informuoto asmens sutikimo formos tik tais atvejais, jei pacientas mirė, gyveno ne Lietuvoje ir nebuvo galimybės su juo bei jo atstovais susisiekti.

Duomenys buvo rinkti iš tiriamųjų, atitinkančių įtraukimo kriterijų (žr. sk. 2.3., 2.4., 2.5.) iš elektroninės ir popierinės medicininės dokumentacijos. Prospektyvinės analizės duomenys buvo kaupiami Nacionaliniame atviros prieigos mokslo informacijos duomenų archyve (MIDAS) (www.biomedicina.midas.lt). Archyvas skirtas įvairių mokslo sričių empiriniams duomenims, kitai su mokslo tyrimais susijusiai informacijai kaupti ir saugoti, užtikrinti duomenų ir informacijos prieinamumą elektroninėje erdvėje.

2.3. Retrospektyvinis mitybos būklės vertinimas ŪLL indukcijos metu

Retrospektyvinė vaikų mitybos būklės ŪLL indukcijos metu analizė vykdyta 2022 metais. Duomenys rinkti iš tiriamųjų, kuriems ŪLL buvo diagnozuota nuo 2019 m. sausio 1 d. iki 2022 m. balandžio 30 d.¹⁵⁸

Tiriamieji buvo suskirstyti į tris amžiaus grupes: 0–5, 6–11, 12–17 metų. KMI ir KMI z įvertis vertinti diagnozės metu bei 8, 15, 22, 29 gydymo protokolo dienomis. Visi pacientai buvo gydomi pagal *AllTogether Master/Pilot* ar *Interfant-21* protokolus – detaliau indukcijos gydymo schema pavaizduota 1 priede.

Įtraukimo kriterijai:

1. Asmenys iki 18 metų.
2. Naujai diagnozuota ŪLL 2019–2022 metais ir pradėta gydyti VOHC.
3. ŪLL indukcija skirta pagal *ALLTogether* arba *Interfant-21* protokolus.
4. Pasirašyta Informuoto asmens sutikimo forma paties tiriamąjo, vyresnio nei 12 metų, ir teisėtų jo atstovų.

Neįtraukimo kriterijai:

1. Pacientai, kurie atitinka įtraukimo kriterijus, tačiau duomenų bazėje nesama pakankamai reikalingų duomenų.
2. Pacientai ar jų tėvai / teisėti globėjai, kurie atsisakė dalyvauti tyrime (atsisakė pasirašyti Informuoto asmens sutikimo formą).

3. Pacientai, kuriems diagnozuota ŪLL, bet pradėta gydyti ne pagal *ALLTogether* ar *Interfant* gydymo protokolus.
4. ŪLL recidyvas.

2.4. Retrospektyvinis mitybos būklės vertinimas po aloKKLT

Remiantis retrospektyvine aloKKLT analize nagrinėta vaikų mitybos būklė potransplantaciniu periodu pagal amžiaus grupes ir perkutaninės endoskopinės gastrostomos (PEG) įtaka šiems pokyčiams¹⁵⁹. PEG suformavimas prieš aloKKLT tapo rutinine procedūra VOHC nuo 2012 metų, siekiant sumažinti svorio mažėjimą po aloKKLT. Nuo 2012 m. vienuolikai iš 45 recipientų PEG nebuvo suformuota dėl medicininių indikacijų ar pacientams ir (ar) jų tėvams / teisėtiems globėjams atsisakius.

Tiriamieji suskirstyti į amžiaus grupes: 0–5, 6–11, 12–17 m. bei į grupes pagal PEG suformavimą: tuos, kuriems buvo suformuotas PEG, ir tuos, kuriems nebuvo¹⁵⁹. Iki 2015 metų duomenys buvo rinkti iš popierinių ligos istorijų, vėliau – ir iš elektroninių. KMI ir KMI z įvertis buvo vertinti 30, 60 ir 100 dieną po transplantacijos lyginant su pretransplantaciniais matavimais. Pacientų, kuriems atlikta aloKKLT, paruošiamasis režimas detaliau aprašytas *Prieduose*.

Įtraukimo kriterijai:

1. Asmenys iki 18 metų amžiaus, kuriems aloKKLT atlikta VOHC.
2. aloKKLT atlikta 2005–2016 metais dėl bet kokios indikacijos iš giminingo ar negiminingo donoro.
3. Pasirašyta Informuoto asmens sutikimo forma paties tiriamojo, vyresnio nei 12 metų, ir teisėtų jo atstovų.

Neįtraukimo kriterijai:

1. Autologinė KKLT.
2. Pacientai, kurie atitinka įtraukimo kriterijus, tačiau duomenų bazėje nesama pakankamai reikalingų duomenų.
3. Pacientai ar jų tėvai / teisėti globėjai, kurie atsisakė dalyvauti tyrime (atsisakė pasirašyti Informuoto asmens sutikimo formą).

2.5. Prospektyvinė dalis

Pagrindinė tyrimo dalis – prospektyvinė kohortinė analizė, vykdyta VOHC nuo 2020 m. gruodžio 30 d. iki 2024 m. balandžio 3 d. Į tyrimą įtraukti visi vaikai, kuriems pirmąkart buvo diagnozuota ŪLL ir taikytas gydymas

pagal *Alltogether Master/Pilot* ar *Interfant-21* protokolus, bei visi vaikai, kuriems atlikta aloKKLT. Kiekvienos grupės (ŪLL ir po aloKKLT) tiriamieji suskirstyti į dvi grupes: tuos, kuriems bent kartą nustatytas ŽP, ir tuos, kuriems ŽP nepasireiškė nė karto per visą tyrimo laikotarpį.

Įtraukimo kriterijai:

1. Asmenys iki 18 metų, gydyti VOHC.
2. Naujai diagnozuota ir pradėta gydyti ŪLL 2020–2024 metais.
3. aloKKLT atlikta 2020–2024 metais dėl bet kokios indikacijos iš giminingo ar negiminingo donoro.
4. Pasirašyta Informuoto asmens sutikimo forma paties tiriamojo, vyresnio nei 12 metų, ir teisėtų jo atstovų.

Neįtraukimo kriterijai:

1. Pacientai, kurie atitinka įtraukimo kriterijus, tačiau duomenų bazėje nesama pakankamai reikalingų duomenų.
2. Autologinė KKLT.
3. Pacientai ar jų tėvai / teisėti globėjai, kurie atsisakė dalyvauti tyrime (atsisakė pasirašyti Informuoto asmens sutikimo formą).
4. Pacientai, kuriems diagnozuota ŪLL, bet pradėta gydyti ne pagal *ALL Together* ar *Interfant* gydymo protokolus.

2.6. Apibrėžimai

Žarnyno pažeidimas buvo apibrėžtas pagal Bendruosius nepageidaujamų įvykių terminologijos kriterijus (*Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE v5.0)⁶³ (1 lentelė). Kliniškai ŽP pasireiškė viduriavimu ir (ar) pilvo skausmu, nesusijusiu su vidurių užkietėjimu.

1 lentelė. Žarnyno pažeidimo laipsniai pagal CTCAE v5.0

CTCAE apibrėžimas	I laipsnis	II laipsnis	III laipsnis	IV laipsnis	V laipsnis
Virškinamojo trakto skausmas	Nedidelis skausmas	Vidutinis skausmas, ribojantis kasdienę veiklą	Stiprus skausmas, ribojantis savipriežiūrą	–	–
Viduriavimas	<4 viduriavimo epizodai per dieną	4–6 viduriavimo epizodai, ribojantys kasdienę veiklą	≥7 viduriavimo epizodai, ribojantys savipriežiūrą	Gyvybei pavojingas viduriavimas, kuriam sustabdyti reikalingos skubios intervencinės priemonės	Mirtis
Enterokolitas	Besimptomis; taikoma tik stebėseną	Pilvo skausmas, gleivės ar kraujas išmatose	Stiprus / nuolatinis pilvo skausmas, kartu su karščiavimu; žarnyno nepraeinamumas	Gyvybei pavojingi simptomai, kuriems sustabdyti reikalingos skubios intervencinės priemonės	Mirtis

KMI ir **KMI z įvertis** skaičiuoti naudojant WHO Anthro (v3.2.2) ir Anthro Plus (v1.0.4) programas. Vertinimas buvo atliekamas kiekvieną dieną rytais tuo pačiu metu prieš pusryčius.

Neadekvati mitybos būklė apibrėžta kaip KMI z įvertis <-2 arba >2 . Detalesnė KMI z įverčio interpretacija pagal vaikų amžių pateikiama *Prieduose*.

ūTPŠL laipsniai vertinti pagal Glucksberg kriterijus¹⁶⁰ (2A ir 2B lentelės) Darbe analizuoti bet kokio laipsnio žarnyno ūTPŠL atvejai.

2A lentelė. ūTPŠL organų pažeidimo sunkumas

Organai	Balas	Aprašymas
Oda (bėrimas)	1	<25 % kūno paviršiaus ploto
	2	25 % kūno paviršiaus ploto
	3	Generalizuota eritroderma
	4	Generalizuota eritroderma, pūslių, odos deskvamacija
Kepenys (bendras bilirubinas, $\mu\text{mol/l}$)	1	35–50
	2	51–102
	3	102–255
	4	>255
Virškinamasis traktas (VT) (viduriavimo tūris, ml/d ; ml/kg/d)	1	500–1000 (<10 – $19,9$ ml/kg/d)
	2	1001–1500 (20 – 30 ml/kg/d)
	3	>1501 – 2000 (>30 ml/kg/d)
	4	Stiprūs pilvo skausmai su dinaminio žarnų nepraeinamumu ar be jo

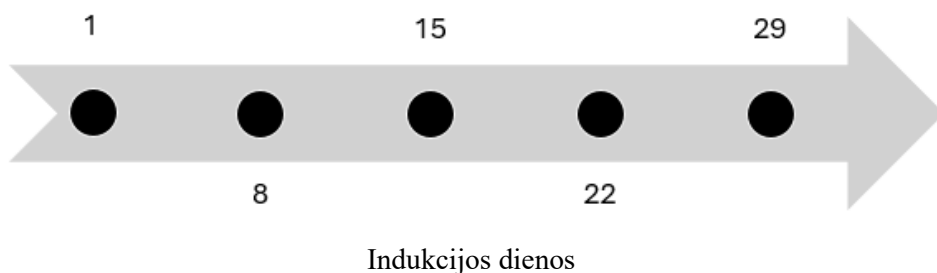
2B lentelė. ūTPŠL laipsniai

Ūminio TPŠL laipsnis	
I	Oda 1–2 balai (b.)
II	Oda 1–3 b., VT ir(arba) kepenys 1 b.
III	Oda 2–3 b., VT ir(arba) kepenys 2–3 b.
IV	Oda 2–4 b., VT ir(arba) kepenys 4 b.

2.7. Mėginių ėmimas ir būklės vertinimas

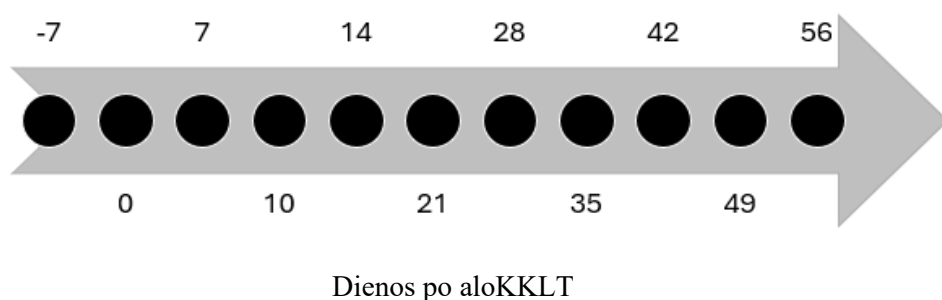
Visiems tiriamiesiems prospektyviai buvo imami kraujo (37 aminorūgštys, šlapalas, amoniakas, neutrofilų kiekis, albuminas ir CRB) bei išmatų (kalprotektinas) mėginiai, vertinamas ŽP laipsnis, KMI ir KMI z įvertis.

ŪLL pacientų vertinimas buvo atliekamas prieš pradedant indukcijos gydymą bei 8, 15, 22, 29 protokolo dienomis kaip pavaizduota 2A paveiksle.



2A pav. Mėginių ėmimo grafikas ŪLL indukcijos metu

Transplantuotiems vaikams vertinimas buvo atliekamas prieš pradedant kondicionavimą, transplantacijos dieną, 7, 10, 14 dienomis po transplantacijos ir paskui kas savaitę iki išrašymo ar mirties, bet ne ilgiau nei 100 dienų po transplantacijos kaip pavaizduota 2B paveiksle.



2B pav. Mėginių ėmimo grafikas vaikams, kuriems atlikta aloKKLT

-7 d. – prieš pradedant kondicionavimą, 0 d. – transplantacijos diena. Pavieniams pacientams mėginiai buvo imami iki 98 d.

Kraujas imtas tuo pačiu metu, kai imti mėginiai įprastinei diagnostikai (6–8 val. ryto), nevalgius bei išlaikant bent 6 val. pertrauką po parenterinės mitybos (jei tokia buvo skirta). Visiems tiriamiesiems kraujo mėginių rinkimas vykdytas iš centrinio venos kateterio (CVK): vaikams, gydomiems dėl ŪLL, ir aloKKLT recipientams tyrimo ir gydymo tikslais rutiniškai įleidžiamas CVK.

Neutrofilų skaičius, CRB ir albumino koncentracijos rezultatai analizuoti iš elektroninių ligos istorijų.

2.7.1. Aminorūgščių analizė

AR, šlapalo ir amoniako koncentracija plazmoje buvo matuojama VULSK Medicinos genetikos centre taikant didelio efektyvumo skysčių chromatografiją. Tirti standartiniai kraujo mėginiai (5 ml) su ličio heparinu pagal standartizuotą schemą: plazma atskiriama nuo kraujo centrifuguojant 3000 aps./min. 4 °C temperatūroje 15 min. deproteinizuojant 5 % sulfosalicilo rūgštimi ir centrifuguojant 3000 aps./min. 4 °C temperatūroje 15 minučių. Gautas supernatantas (300 µl) buvo filtruojamas per 0,2 µm porų dydžio celiuliozės acetato filtrus ir laikomas –80 °C temperatūroje tolesnei kiekybinei AR analizei. Ji buvo atlikta Biochrom30+ AR analizatoriumi (jonų mainų chromatografija, ninhidrino derivatizacija po kolonėlės ir vieno taško kalibravimas). Norleucino koncentracija buvo taikoma palyginimui kaip išorinės kokybės užtikrinimo schema (ERNDIM; <https://erndim.org>). Vertinta 37 AR koncentracija: fosfoserino, taurino, fosfoetanolamino, aspartato, treonino, serino, asparagino, glutamo, glutamino, sarkozino, alfa aminosviesto rūgšties, glicino, alanino, citrulino, alfa aminosviesto rūgšties, valino rūgšties, cistationo, izoleucino, leucino, tirozino, beta alanino, fenilalanino, beta aminoizosviesto rūgšties, homocisteino, etanolamino, hidroksilizino, ornitino, lizino, 1-metilhistidino, histidino, triptofano, 3-prohistidino, prohidridino.

2.7.2. Išmatų kalprotektino analizė

Išmatų kalprotektinas buvo matuojamas *EliA Calprotectin 2* fluorescencinio fermento imunologiniu tyrimu (*Thermo Fisher Scientific*) naudojant *ImmunoCAP 200*. Mėginių baltymų ekstrahavimo procedūra buvo atlikta naudojant *EliA Stool Extraction Kit 2* pagal gamintojo (*Thermo Fisher Scientific*) instrukcijas. Ekstraktai buvo laikomi -20 °C temperatūroje, laukiant analizės, kuri buvo atliekama kartą per savaitę.

3. STATISTINĖ ANALIZĖ

Kategoriniai duomenys buvo pateikti kaip dažniai ir jų procentinės dalys ir palyginti naudojant Pearsono chi kvadrato testą arba Fisherio tikslųjį testą. Kintamųjų normalumui tikrinti buvo naudojamas Shapiro-Wilko testas. Nenormaliai pasiskirsčiusių tolydžiųjų duomenų apskaičiuotos medianos ir tarpkvartiliniai intervalai (IQR), o palyginti naudotas Wilcoxonu rangų sumos eilės testas. Normaliai pasiskirsčiusių tolydžiųjų kintamųjų buvo apskaičiuoti vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai (SD) bei naudotas Welcho dviejų imčių t testas. Daugiamatė dispersijos analizė (MANOVA) taikyta biožymenų koncentracijos skirtumui tarp dviejų grupių nustatyti. Pearsono koreliacijos koeficientas naudotas įvertinti porinių biožymenų imčių ryšį. Tiesinė ir logistinė regresijos taikytos statistiškai reikšmingiems biožymenims ir kitiems kintamiesiems nustatyti prieš transplantaciją priklausomai nuo kintamojo duomenų tipo. Apibendrintų vertinimo lygčių (GEE) modelis buvo naudojamas įvertinti skirtumus tarp dviejų pacientų grupių, atsižvelgiant į koreliaciją tarp to paties paciento pakartotinių matavimų. Sprendimus priimančiojo ypatybių (ROC) kreivės pasitelktos optimalių biožymenų slenkstinėms vertėms nustatyti ir jų diagnostiniam gebėjimui įvertinti. P reikšmė $<0,05$ buvo laikoma statistiškai reikšminga.

Statistinė analizė atlikta naudojant R programinę įrangą (versija 4.2.2, R Statistikos skaičiavimo fondas, Viena, Austrija).

4. REZULTATAI

4.1. Retrospektyvinė dalis

4.1.1. Retrospektyvinis mitybos būklės vertinimas ŪLL indukcijos metu

Atlikta ŪLL sergančių 50 vaikų, gydytų VOHC 2019–2022 metais, analizė. Statistiškai reikšmingo skirtumo tarp lyčių nebuvo, 52 proc. visų tiramųjų (26/50) sudarė vaikai iki 5 metų amžiaus. Pagrindinės pacientų charakteristikos pateikiamos 3 lentelėje.

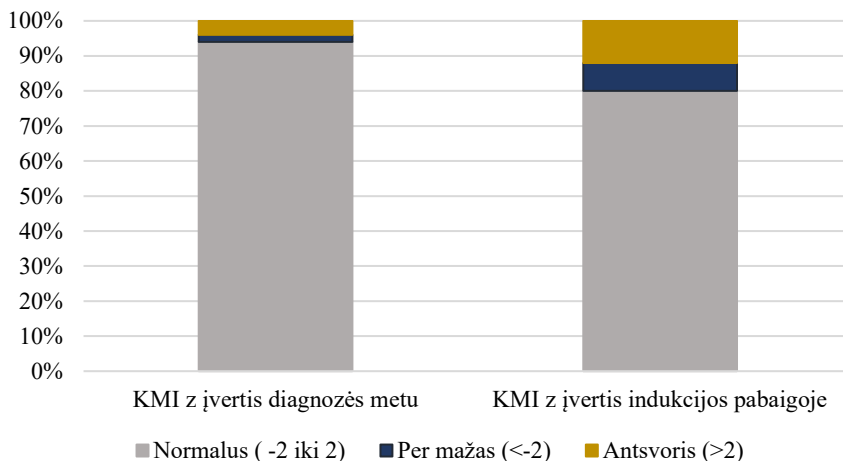
3 lentelė. Vaikų, gydytų dėl ŪLL 2019–2022 metais, pagrindinės charakteristikos ir KMI z įvertio pokyčiai indukcijos metu

	Visi pacientai N (%)	Amžiaus grupės N (%)			p reikšmė
		0–5 m.	6–11 m.	12–17 m.	
Pacientų skaičius (%)	50 (100,0)	26 (52,0)	15 (30,0)	9 (18,0)	
Amžiaus mediana, metai [min.-max.]	5,8 [0,4–15,8]	4,1 [0,4–5,9]	10,0 [6,7–11,6]	15,1 [12,2–15,8]	
IQR	6,1	2,3	1,8	2,8	
Lytis					
Berniukai	28 (56,0)	16 (61,5)	8 (53,3)	4 (44,4)	0,652
Mergaitės	22 (44,0)	10 (38,5)	7 (46,7)	5 (55,6)	
Indukcijos rūšis *					
A	25 (51,0)	21 (84,0)	4 (26,7)	0 (0,0)	<0,001
B	24 (49,0)	4 (16,0)	11 (73,3)	9 (100,0)	
KMI z įvertis diagnozės nustatymo metu					
Normalus (–2 iki 2)	47 (94,0)	24 (92,3)	14 (93,3)	9 (100,0)	0,509
Per mažas (<–2)	1 (2,0)	0 (0,0)	1 (6,7)	0 (0,0)	
Antsvoris (>2)	2 (4,0)	2 (7,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
KMI z įvertis indukcijos pabaigoje					
Normalus (–2 iki 2)	40 (80,0)	18 (69,2)	14 (93,3)	8 (88,9)	0,172
Per mažas (<–2)	4 (8,0)	2 (7,7)	1 (6,7)	1 (11,1)	
Antsvoris (>2)	6 (12,0)	6 (23,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	
KMI z įvertio pokytis					
KMI z įvertis diagnozės metu (vidurkis (SD))	0,2 (1,2)	0,4 (1,1)	–0,3 (1,3)	0,3 (1,0)	0,181
KMI z įvertis indukcijos pabaigoje (vidurkis (SD))	0,2 (1,5)	0,7 (1,7)	–0,3 (1,3)	–0,3 (1,0)	
p reikšmė	0,996	0,273	0,856	0,005	

Paaiškinimai: IQR – tarpkvartilinis skirtumas, KMI – kūno masės indeksas, SD – standartinis nuokrypis

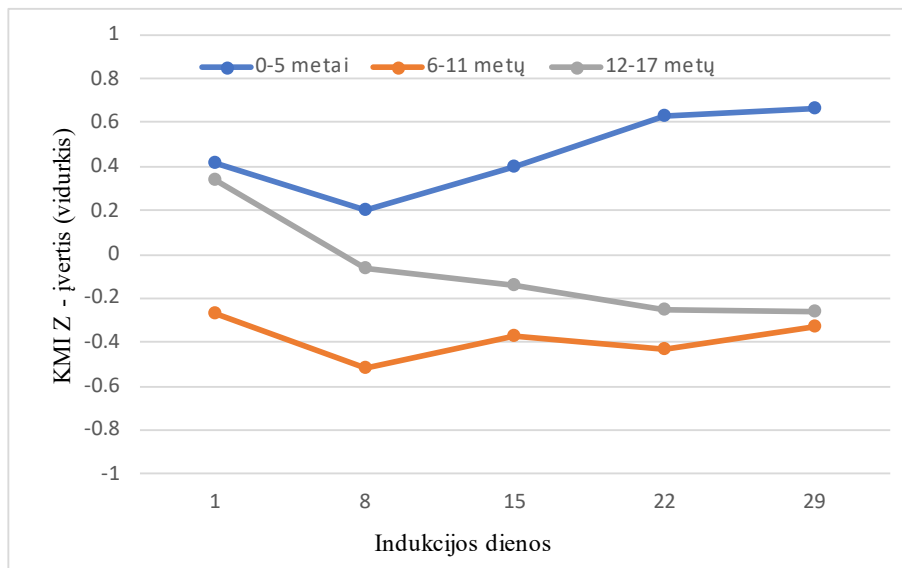
* Indukcija A buvo skiriama standartinės rizikos grupės pacientams, indukcija B – didelės rizikos grupės pacientams, vienas kūdikis buvo gydytas pagal *Interfant 21* protokolą, todėl nei A, nei B indukcijai nepriskirtas.

Diagnozės metu trims pacientams (6 proc.) buvo nustatytas nenormalus KMI z įvertis. Indukcijos pabaigoje (29 protokolo dieną) pacientų, kurių KMI z įvertis buvo nenormalus, skaičius išaugo daugiau nei tris kartus iki dešimties (20 proc.): šeši vaikai turėjo antsvorio / buvo nutukę, o keturi buvo per mažo kūno svorio (3 pav.).



3 pav. Dėl ŪLL gydytų 2019–2022 metais pacientų KMI z įverčio pasiskirstymas diagnozės nustatymo metu ir indukcijos pabaigoje

KMI z įverčio padidėjimas buvo ryškiausias jauniausių vaikų (0–5 amžiaus grupėje), tačiau pokytis nebuvo statistiškai reikšmingas. Priešingai, statistiškai reikšmingai sumažėjo (nuo 0,3 iki –0,3, $p = 0,005$) paauglių (12–17 amžiaus grupė) KMI z įvertis (3 lentelė). KMI z įverčio dinamika indukcijos metu skirtingo amžiaus vaikų grupėse vaizduojama 4 paveiksle.



4 pav. Pacientų, gydytų 2019–2022 m., KMI z įverčio dinamika ŪLL indukcijos metu

4.1.2. Retrospektyvinis mitybos būklės vertinimas po aloKKLT

I tyrimą buvo įtraukti 75 tiriamieji, kuriems 2005–2016 metais atlikta aloKKLT. PEG buvo suformuota 34 vaikams (45,3 proc.), be PEG gydytas 41 vaikas (54,7 proc.). Pagrindinės tiriamųjų charakteristikos pateikiamos 4 lentelėje. Berniukų transplantuota buvo dvigubai daugiau (68 proc., 51/75) nei mergaičių (32 proc., 26/75), statistškai reikšmingo skirtumo tarp amžiaus grupių nebuvo. Piktybiniai navikai buvo pagrindinė transplantacijos (60 proc., 45/75), kuri dažniausiai atlikta taikant mieloabliacinę kondicionavimą (60 proc., 45/75) iš tapataus negiminingo donoro (76 proc., 57/75), indikacija.

4 lentelė. Tiriamųjų, kuriems 2005–2016 metais atlikta aloKKLT, charakteristikos

	Visi (n = 75)	PEG (n = 34)	Ne PEG (n = 41)	p reikšmė
Dažnis (%)		45,3	54,7	
Lytis [n (%)]				
Berniukas	51 (68,0)	23 (67,6)	28 (68,3)	0,952
Mergaitė	26 (32,0)	11 (32,4)	13 (31,7)	
Amžiaus grupės [n (%)]				
0–5 metai	24 (32,0)	14 (41,2)	10 (24,4)	0,294
6–11 metų	22 (29,3)	9 (26,5)	13 (31,7)	
12–17 metų	29 (38,7)	11 (32,4)	18 (43,9)	
Liga prieš aloKKLT [n (%)]				
Piktybinė	45 (60,0)	21 (61,8)	24 (58,5)	0,776
Nepiktybinė	30 (40,0)	13 (38,2)	17 (41,5)	
MLL prieš aloKKLT [n (%)]^	(n = 33)	(n = 16)	(n = 17)	
Neigiama	24 (72,7)	13 (81,3)	11 (64,7)	0,438
Teigiama	9 (27,3)	3 (18,7)	6 (35,3)	
PR prieš aloKKLT [n (%)]^	(n = 33)	(n = 16)	(n = 17)	
Pirma arba antra PR	25 (75,8)	15 (93,8)	10 (58,8)	0,024 ^a
Trečia ir tolesnė PR	8 (24,2)	1 (6,2)	7 (41,2)	
Donoras				
MSD	18 (24,0)	10 (29,4)	8 (19,5)	0,318
MUD	57 (76,0)	24 (70,6)	33 (80,5)	
Kondicionavimas [n (%)]				
MAC	45 (60,0)	20 (58,8)	25 (61,0)	0,850
RIC	30 (40,0)	14 (41,2)	16 (39,0)	
Kamieninių ląstelių šaltinis [n (%)]				
kaulų čiulpai	51 (68,0)	28 (82,4)	23 (56,1)	0,015 ^b
periferinis kraujas	24 (32,0)	6 (17,6)	18 (43,9)	
Pradinis KMI z įvertis [n (%)]				
< 2SD	7 (9,3)	3 (8,8)	4 (9,8)	0,456
normalus	60 (80,0)	29 (85,3)	31 (75,6)	
> 2SD	8 (10,7)	2 (5,9)	6 (14,6)	

Paaiškinimai: aloKKLT – alogeninė kamieninių ląstelių transplantacija, KMI – kūno masės indeksas, PR – visiška remisija (tėkmė citometrijos ir (ar) PGR būdu), IQR – tarpkvartilinis skirtumas, MAC – mieloabliacinis kondicionavimas, MLL – minimali liktinė liga, MSD – tapatus giminingas donoras, MUD – tapatus negiminingas donoras, OR – šansų santykis, RIC – sumažinto intensyvumo kondicionavimas, SD – standartinis nuokrypis.

^ taikoma tik ūminės leukemijos atveju

^aOR [95%CI] 10,500 [1,115-98,914]; ^bOR [95%CI] 3,625 [1.245–10.712]

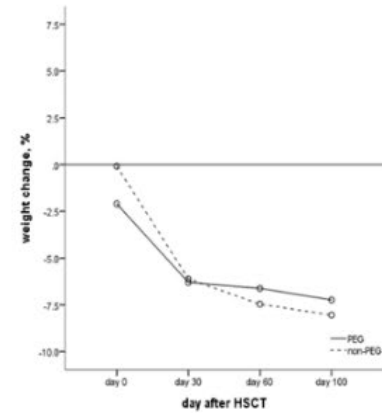
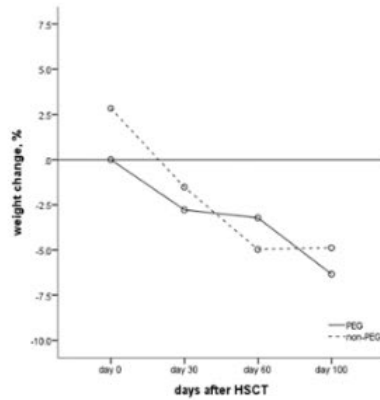
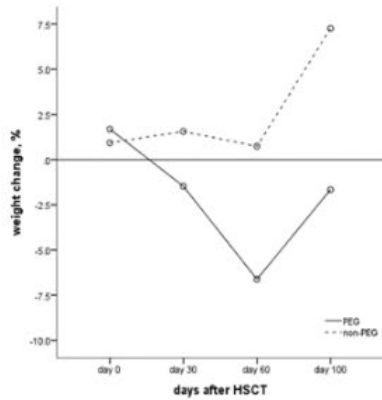
Potransplantaciniu periodu krito visų amžiaus grupių vaikų svoris. Didžiausias kritimas fiksuotas 30 ir 60 dieną po aloKKLT ir ypač ryškus buvo vyriausių vaikų (12–17 metų), nors statistiškai reikšmingo skirtumo tarp amžiaus grupių nebuvo (5 pav.). Po aKKLT krito tiek vaikų, kuriems buvo suformuota PEG, tiek tų, kuriems PEG nebuvo suformuota, kūno svoris.

0-5 metų vaikai

6-11 metų vaikai

12-17 metų vaikai

A



5 pav. Santykinis svorio po aloKKLT pokytis pagal vaikų amžiaus grupes 2005–2016 metais

4.2. Prospektyvinė dalis

I prospektyvinę analizę įtraukti visi pacientai, gydyti dėl pirmąkart diagnozuotos ŪLL, ir visi pacientai, kuriems atlikta aloKKLT, VOHC nuo 2020 m. gruodžio 30 d. iki 2024 m. balandžio 3 d. Į abi tyrimo grupes įtraukti 82 tiriamieji.

4.2.1. Tiriamųjų apibūdinimas

A. ŪLL grupė

ŪLL grupę sudarė 45 tiriamieji, iš jų 18 vaikų indukcinio gydymo metu patyrė bent vieną ŽP epizodą. Statistiškai reikšmingo skirtumo tarp lyčių nebuvo, dažniausiai pacientai buvo gydyti pagal indukciją A (51,1 proc., 23/45) arba B (42,2 proc., 19/45). Diagnozės nustatymo metu dauguma vaikų buvo adekvačios mitybos (93,3 proc., 42/45). Pacientų pagrindinės charakteristikos pateikiamos 5 lentelėje.

5 lentelė. Pacientų, gydytų dėl ŪLL 2020–2024 metais, pagrindinės charakteristikos

	Visi (n = 45)	Su ŽP (n = 18)	Be ŽP (n = 27)	p reikšmė
Amžius, metai, mediana (IQR)	4,6 (6,8)	3,1 (2,8)	6,9 (6,4)	<0,001
Lytis, n (%)				
Mergaitės	21 (46,7)	8 (44,4)	13 (48,1)	0,807
Berniukai	24 (53,3)	10 (55,6)	14 (51,9)	
ŪLL indukcijos tipas*, n (%)				
A	23 (51,1)	14 (77,8)	9 (33,3)	0,029
B	19 (42,2)	4 (22,2)	15 (55,6)	
D	2 (4,4)	0 (0,0)	2 (7,4)	
Interfant-21	1 (2,2)	0 (0,0)	1 (3,7)	
Aukščiausias ŽP laipsnis, n (%)				
0	27 (60,0)	N.A.	27 (100,0)	N.A.
I	11 (24,4)	11 (61,1)	N.A.	
II	6 (13,3)	6 (33,3)	N.A.	
III	1 (2,22)	1 (5,56)	N.A.	
IV–V	0 (0,0)	0 (0,0)	N.A.	
Rizikos grupė indukcijos pabaigoje, n (%)				
Standartinė	6 (13,3)	4 (22,2)	2 (7,4)	0,031
Vidutinė maža	19 (42,2)	10 (55,6)	9 (33,3)	
Vidutinė didelė	14 (31,1)	2 (11,1)	12 (40,4)	
Didelė	3 (6,7)	0 (0,0)	3 (11,1)	
KMI, mediana (IQR)	16,00 (2,5)	16,5 (2,9)	15,9 (2,6)	0,211
KMI z įvertis diagnozės metu, mediana (IQR)	0,11 (1,67)	0,41 (1,85)	-0,09 (1,87)	0,026
KMI z įvertis diagnozės metu, n (%)				
>2	2 (4,4)	1 (5,6)	1 (3,7)	1,000
>-2 ir <2	42 (93,3)	17 (94,4)	25 (92,6)	0,807*
<-2	1 (2,2)	0 (0,0)	1 (3,7)	
KMI z įvertis indukcijos pabaigoje, n (%)				
>2	3 (6,7)	1 (5,6)	2 (7,5)	1,000
>-2 ir <2	36 (75,6)	15 (83,3)	21 (77,8)	0,648*
<-2	6 (13,3)	2 (11,1)	4 (14,8)	
Mirtis indukcijos metu, n (%)	3 (6,7)	2 (11,1)	1 (3,7)	

Paaiškinimai: ŪLL – ūminė limfoblastinė leukemija, IQR – tarpkvartilinis skirtumas, KMI – kūno masės indeksas, N.A. – netaikoma, ŽP – žarnyno pažeidimas

*Indukcijos skirtumai aprašyti Prieduose. * Lyginant adekvačią mitybą (KMI z įvertis <2 ir >-2) su neadekvačia (KMI z įvertis <-2 ir >2)

B. Grupė po aloKKLT

aloKKLT tyrimo laikotarpiu buvo atlikta 37 vaikams. Šioje grupėje dominavo berniukai (70,3 proc., 26/37). Dažniausiai transplantacija atlikta dėl piktybinės ligos (62,2 proc., 23/37) taikant mieloabliacinį kondicionavimą (56,8 proc., 21/37) iš tapataus negiminingo donoro (73 proc., 27/37). Prieš pradedant kondicionavimą dauguma vaikų buvo adekvačios mitybos (91,9 proc., 34/37). (6 lentelė).

6 lentelė. Pacientų, kuriems atlikta aloKKLT 2020–2024 metais, pagrindinės charakteristikos

	Visi (n = 37)	Su ŽP (n = 28)	Be ŽP (n = 9)	p reikšmė
Amžius, metai, vidurkis (SD)	9,0 (4,9)	9,43 (4,30)	7,71 (6,48)	0,365
Lytis, n (%)				1,000
Mergaitės	11 (29,7)	8 (28,6)	3 (33,3)	
Berniukai	26 (70,3)	20 (71,4)	6 (66,7)	
Diagnozė, n (%)				0,060
Piktybinė liga	23 (62,2)	20 (71,4)	3 (33,3)	
Nepiktybinė liga	14 (37,8)	8 (28,6)	6 (66,7)	
Kondicionavimo tipas, n (%)				0,100*
MAC	21 (56,8)	18 (64,3)	3 (33,3)	
RIC	16 (43,2)	10 (35,7)	6 (66,7)	
Donoro tipas, n (%)				1,000
MSD	10 (27,0)	8 (28,6)	2 (22,2)	
MUD	27 (73,0)	20 (71,4)	7 (77,8)	
Kamieninių ląstelių šaltinis, n (%)				1,000
Periferinės ląstelės	24 (64,9)	18 (64,3)	6 (66,7)	
Kaulų čiulpai	13 (35,1)	10 (35,7)	3 (33,3)	
KMI z įvertis prieš kondicionavimą	-0,156 (1,0)	-0,008 (1,0)	-0,303 (1,1)	0,490
KMI z įvertis prieš kondicionavimą, n (%)				0,287
>2	2 (5,4)	2 (7,1)	0 (0,0)	
<2 ir >-2	34 (91,9)	26 (92,9)	8 (88,9)	
<-2	1 (2,7)	0 (0,0)	1 (11,1)	
KMI z įvertis gydymo pabaigoje, n (%)				1,000
>2	2 (5,4)	2 (7,1)	0 (0,0)	
<2 ir >-2	35 (94,6)	26 (92,9)	9 (100,0)	
<-2	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	
ūTPŠL, n (%)				0,015
Ne	24 (64,9)	15 (53,6)	9 (100,0)	
Taip	13 (35,1)	13 (46,4)	0 (0,0)	
Mirtis, n (%)				0,554
Taip	7 (18,9)	7 (25,0)	0 (0,0)	
Ne	30 (81,1)	21 (75,0)	9 (100,0)	

Paaiškinimai: KMI – kūno masės indeksas, MAC – mieloabliacinis kondicionavimas, MSD – tapatus giminingas donoras, MUD – tapatus negiminingas donoras, RIC – sumažinto intensyvumo kondicionavimas, ūTPŠL – ūminė transplantato prieš šeimininką liga, ŽP – žarnyno pažeidimas

*[95%CI] 3,25 [-0,457, 2,826], p = 0,159.

4.2.2. Žarnyno pažeidimas, sąsaja su neutropenija vaikams ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT

A. ŪLL indukcijos metu

Žarnyno pažeidimą (I-III^o) ŪLL indukcijos metu patyrė 45 proc. pacientų (18/45). Dažniausiai ŽP buvo I^o (61,1 %, 11/18). Šeštame paveiksle vaizduojami ŽP patyrę pacientai ir jų ŽP laipsniai skirtingomis indukcinio gydymo dienomis.

Sąsajos tarp neutropenijos ir ŽP nenustatyta: intensyviausias ŽP buvo prasidėjęs ketvirtai gydymo savaitei (6 pav.), kai neutrofilų skaičius jau buvo kylantis (8 pav.). Be to, nebuvo skirtumo tarp neutrofilų skaičiaus medianos lyginant pacientus, kuriems pasireiškė ŽP, su tais, kuriems jo nebuvo (9 lentelė).

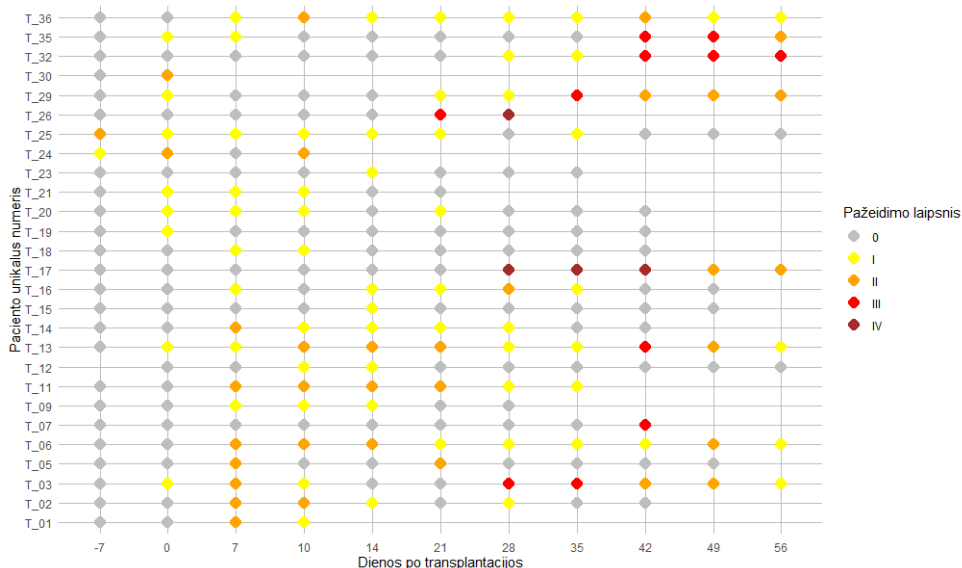


6 pav. Žarnyno pažeidimo laipsniai indukcijos metu (n = 18).

A. Po aloKKLT

Po transplantacijos ŽP išsivystė 75,7 proc. pacientų (28/37). Nebuvo statistiškai reikšmingo skirtumo vertinant diagnozės tipą prieš transplantaciją, kondicionavimo režimą, donoro tipą ir kamieninių kraujodaros ląstelių šaltinį. 35,1 proc. (13/37) vaikų patyrė ūTPŠL, septyni vaikai mirė ir visi minėti atvejai buvo iš grupės vaikų, patyrusių ŽP (6 lentelė). Po aloKKLT ŽP sąsajos su neutrofilų skaičiumi taip pat nenustatyta: intensyviausias ŽP buvo pirmo

mėnesio pabaigoje (7 pav.), tuo metu neutrofilų skaičius jau buvo pakilęs (10 pav.). Nebuvo ir statistiškai reikšmingo neutrofilų medianos skirtumo lyginant vaikus, kuriems ŽP pasireiškė, su tais, kuriems jo nebuvo (11 lentelė).

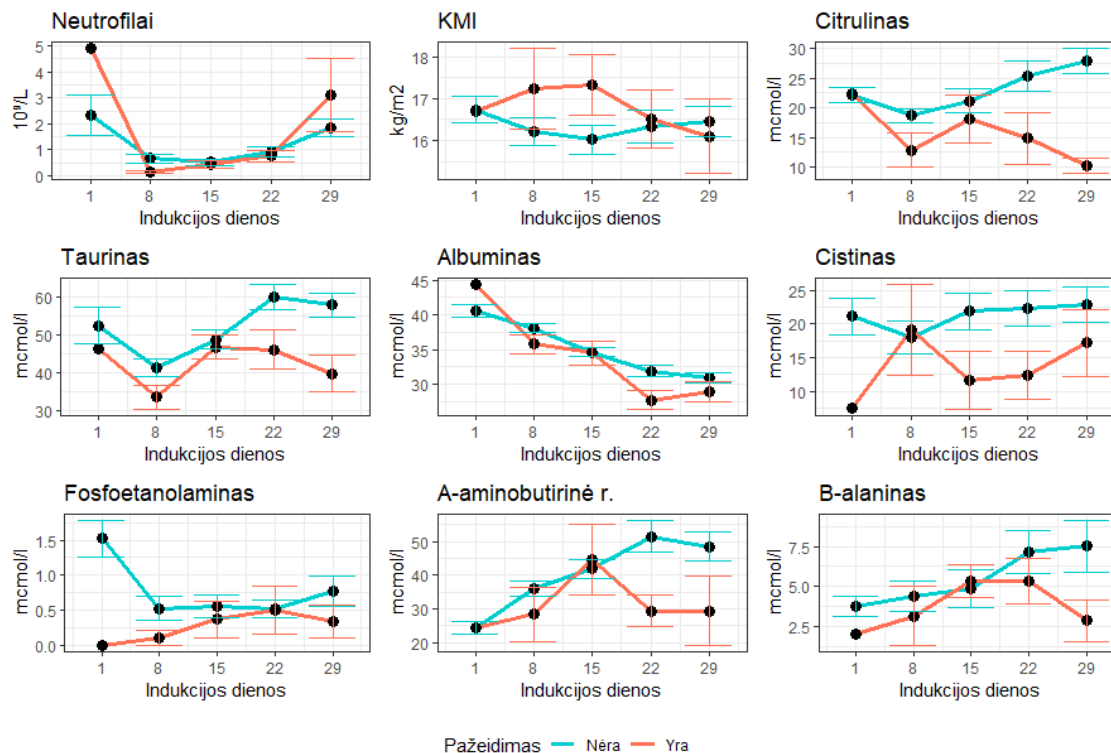


7 pav. Žarnyno pažeidimo laipsniai vaikams po aloKKLT (n = 27).

4.2.3. Mitybos būklės ir amžiaus įtaka žarnyno pažeidimui vaikams ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT

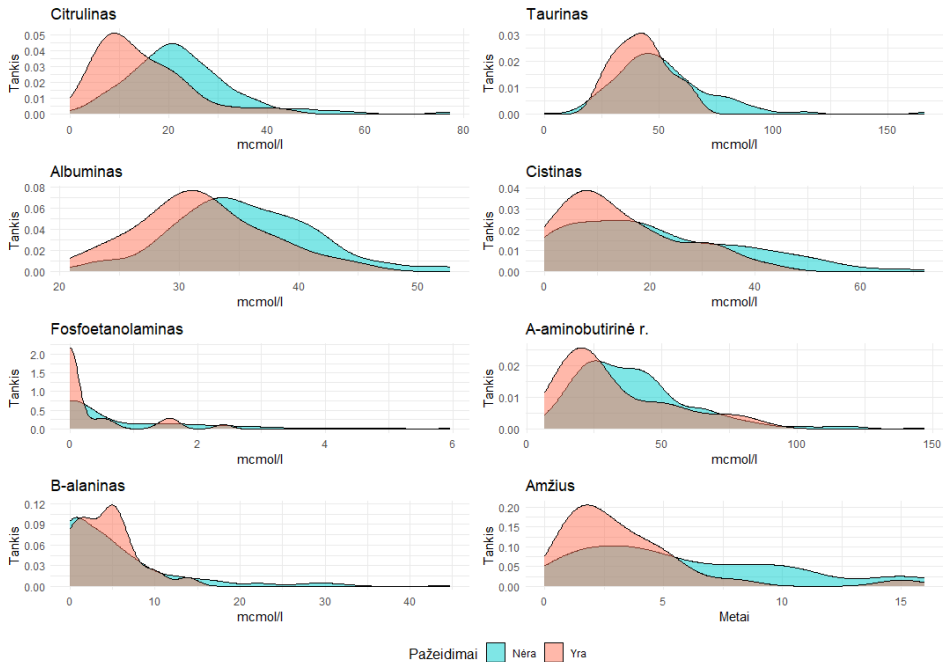
A. ŪLL indukcijos metu

KMI beveik viso ŪLL indukcinio gydymo metu išliko aukštesnis tų vaikų, kurie patyrė ŽP (8 pav.). Diagnozės nustatymo metu KMI z įverčio mediana buvo aukštesnė vaikų, kurie indukcijos metu patyrė ŽP (5 lentelė), tačiau logistinė regresinė analizė neatskleidė statistiškai reikšmingo bazinio KMI ir vėlesnio ŽP išsivystymo ryšio.



8 pav. Neutrofilų skaičiaus, KMI, citrulino, taurino, albumino, cistino, fosfoetanolamino, alfa aminobutirinės rūgšties, beta alanino koncentracijų medianų kitimas ŪLL indukcijos metu priklausomai nuo ŽP

ŽP buvo būdingesnis jaunesniems vaikams, kurių KMI z įvertis diagnozės nustatymo metu buvo aukštesnis (5 lentelė). Atsižvelgiant į tankio kreives (9 pav.) ir GEE analizės rezultatus (7 lentelė), ŽP rizika buvo didesnė jaunesniems nei 5,5 metų vaikams.



9 pav. Tankio kreivės citrulinui, taurinui, albuminui, cistinui, fosfoetanolaminui, alfa aminobutirinei rūgščiai, beta alaninui bei amžiui ŪLL indukcijos metu.

Tankio kreivės iliustruoja, kaip dažnai konkreti biožymenų ar amžiaus vertė pasitaiko skirtingose tiriamųjų grupėse: patyrusių ŽP ir jo nepatyrusių.

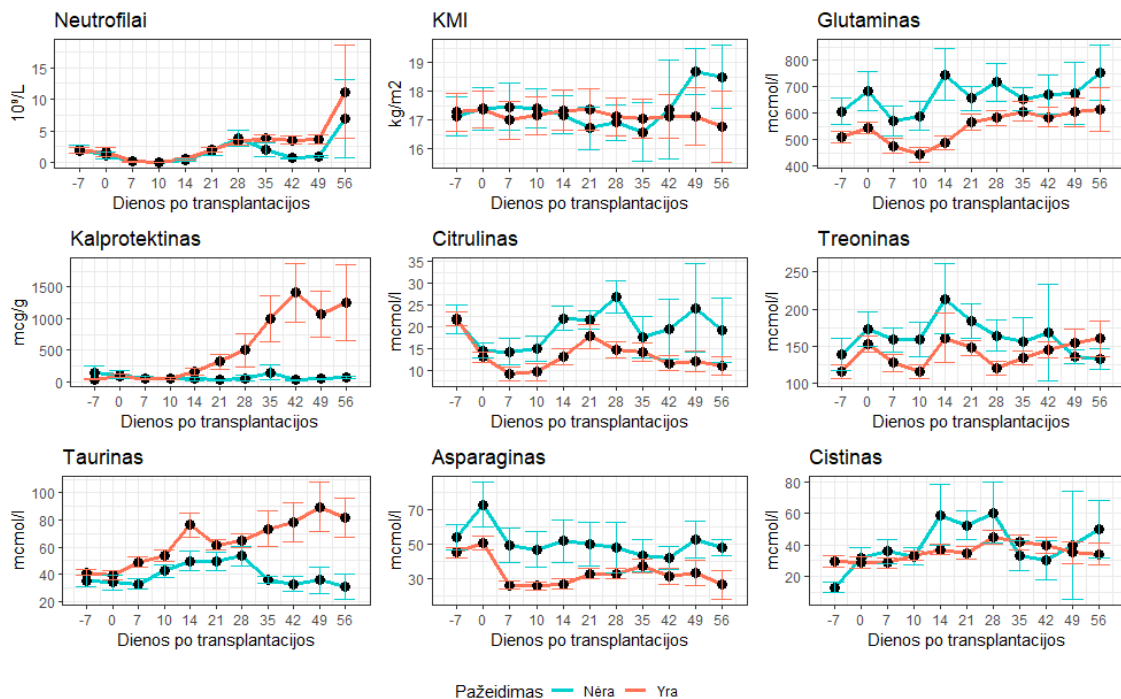
7 lentelė. Svarbiausi veiksniai ŽP ankstyvai diagnostikai pagal GEE metodą vaikams ŪLL indukcijos metu

Veiksny	Koeficientas	p reikšmė
Amžius, metai	-0,013	0,002
Citrulinas, mcmol/l	-9,233	0,000
Taurinas, mcmol/l	-8,975	0,002
Albuminas, g/l	-2,418	0,001
Cistinas, mcmol/l	-7,201	0,002
Fosfoetanolaminas, mcmol/l	-0,395	0,028
Alfa aminobutirinė rūgštis, mcmol/l	-10,052	0,019
Beta alaninas, mcmol/l	-3,135	0,001

GEE metodo koeficientas rodo, kiek vidutiniškai kiekvieno biožymens koncentracija buvo mažesnė tiriamiesiems ŽP laikotarpiu, palyginti su tais, kuriems ŽP klinika nepasireiškė.

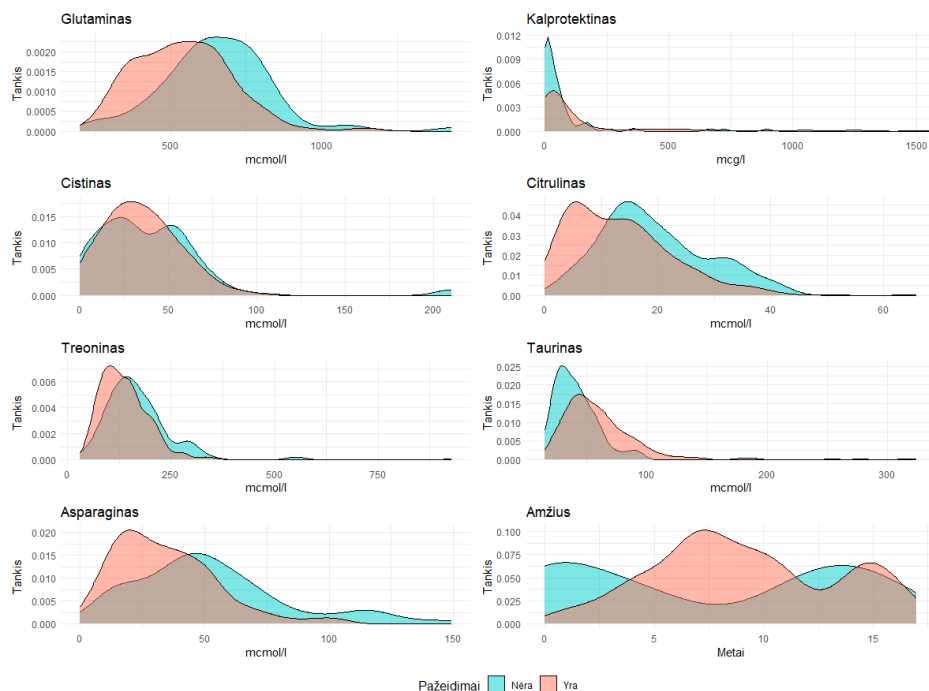
B. Po aloKKLT

Prieš aloKKLT ir potransplantaciniu periodu KMI skirtumo tarp vaikų, patyrusių ir nepatyrusių ŽP, nebuvo. ŽP patyrusių vaikų KMI pradėjo viršyti KMI vaikų, kurie ŽP nepatyrė, trečią gydymo savaitę ir vėl tapo mažesnis praėjus 1,5 mėnesio po aloKKLT (10 pav.).



10 pav. Vaikų, patyrusių ir nepatyrusių ŽP po aloKKLT, neutrofilų, KMI ir biožymenų dinamika

Remiantis tankio kreivėmis (11 pav.) ir GEE metodo rezultatais (8 lentelė), svarbus veiksnys ŽP išsivystyti po aloKKLT yra amžius – ŽP tikimybė didėja vaikams, vyresniems nei 5,5 metų (12 lentelė).



11 pav. Vaikų, kuriems atlikta aloKKLT, glutamino, cistino, treonino, asparagino, iKLP, citrulino, taurino ir amžiaus tankio kreivės

Tankio kreivės iliustruoja, kaip dažnai konkreti biožymenų ar amžiaus vertė pasitaiko skirtingose tiriamųjų grupėse: patyrusių ŽP ir jo nepatyrusių.

8 lentelė. Svarbiausi veiksniai ŽP ankstyvai diagnostikai pagal GEE metodą vaikams po aloKKLT

Veiksny	Koeficientas	p- reikšmė
Amžius, metai	3,737	0,045
Glutaminas, mcmol/l	-130,740	0,000
Citrulinas, mcmol/l	-4,906	0,019
Treoninas, mcmol/l	-31,661	0,034
Taurinas, mcmol/l	10,382	0,039
Asparaginas, mcmol/l	-16,011	0,044
Cistinas, mcmol/l	-11,888	0,012
Išmatų kalprotektinas, mcg/g	458,408	0,002

GEE metodo koeficientas rodo, kiek vidutiniškai kiekvieno biožymens koncentracija buvo didesnė / mažesnė tiriamiesiems ŽP laikotarpiu, palyginti su tais, kuriems ŽP klinika nepasireiškė.

4.2.4. Biožymenų vertė vaikų žarnyno pažeidimo ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT ankstyvai diagnostikai

A. ŪLL indukcijos metu

Biožymenų koncentracija skyrėsi pacientų, patyrusių ŽP ŪLL indukcijos metu ir jo nepatyrusių. Išsivysčius ŽP, hidroksilizino vidutinė koncentracija buvo didesnė, o taurino, glicino, citrulino, arginino, šlapalo ir albumino – mažesnė. CRB, iKLP koncentracijos ir neutrofilų skaičiaus skirtumo tarp grupių nebuvo (9 lentelė).

9 lentelė. Vaikų, patyrusių ŽP ŪLL indukcijos metu ir jo nepatyrusių, biožymenų koncentracijos palyginimas

Biožymuo, mmol/L	ŽP I–III° (n = 18) mediana (IQR)	Be ŽP (n = 27) mediana (IQR)	p- reikšmė
Neutrofilai × 10 ⁹ /L	0,44 (0,1–1,2)	0,43 (0,1–1,1)	0,784
CRB mg/ml	1,69 (0,6–5,4)	0,73 (0,6–4,1)	0,357
Albuminas g/l	31,90 (28,4–35,8)	34,02 (30,8–38,1)	0,024
Fosfoserinas	2,26 (1,5–2,9)	2,62 (1,6–4,7)	0,075
Taurinas	42,35 (33,3–49,9)	48,60 (38,8–62,6)	0,023
Fosfoetanolaminas	0,00 (0,0–0,3)	0,00 (0,0–0,8)	0,209
Asparto rūgštis	11,73 (0,0–14,3)	7,54 (0,0–12,2)	0,488
Treoninas	224,00 (184,8–271,0)	201,00 (144,0–290,0)	0,534
Serinas	130,00 (106,8–168,0)	152,00 (124,0–175,0)	0,118
Asparaginas	0,00 (0,0–0,0)	0,00 (0,0–3,3)	0,007
Glutamo rūgštis	194,70 (159,1–256,3)	153,70 (95,0–236,6)	0,083
Glutaminas	422,50 (301,0–495,5)	470,00 (359,0–579,0)	0,069
Sarkozinas	0,29 (0,0–6,8)	1,41 (0,0–5,5)	0,868
Alfa aminoradipinė rūgštis	2,69 (2,3–3,9)	3,00 (1,7–4,2)	0,896
Glicinas	236,00 (201,8–287,5)	273,00 (225,0–322,0)	0,045
Alaninas	420,50 (333,8–574,5)	452,00 (343,0–610,0)	0,399
Citrulinas	13,75 (8,7–20,2)	20,60 (14,9–27,9)	0,001
Alfa aminobutirinė rūgštis	24,00 (18,1–49,3)	38,20 (24,1–46,8)	0,104
Valinas	293,00 (241,8–436,5)	347,00 (264,0–437,3)	0,266
Cistinas	11,35 (7,4–19,6)	18,30 (6,4–33,1)	0,090
Metioninas	27,35 (19,2–39,1)	28,60 (22,8–41,2)	0,366
Cistationas	1,55 (0,0–2,8)	1,34 (0,0–3,7)	0,587
Izoleucinas	99,90 (68,0–141,2)	97,30 (73,9–131,0)	0,843
Leucinas	165,00 (131,0–235,2)	183,30 (143,1–247,5)	0,437

Biožymuo, mmol/L	ŽP I–III° (n = 18) mediana (IQR)	Be ŽP (n = 27) mediana (IQR)	p- reikšmė
Tirozinas	66,00 (50,6–93,9)	76,60 (59,7–101,3)	0,173
Beta alaninas	4,45 (2,1–5,8)	2,77 (0,0–6,2)	0,137
Fenilalaninas	128,55 (99,2–184,9)	115,60 (80,5–177,6)	0,490
Beta aminoizobutirinė rūgštis	0,00 (0,0–0,3)	0,00 (0,0–0,0)	0,943
Homocisteinas	0,00 (0,0–0,0)	0,00 (0,0–0,0)	NA
Etanolaminas	0,00 (0,0–0,0)	0,00 (0,0–0,0)	NA
Amoniakas	112,65 (99,7–185,1)	113,00 (79,2–169,9)	0,327
Hidroksilizinas	1,50 (0,8–2,3)	0,00 (0,0–1,3)	<0,001
Ornitas	42,90 (39,0–67,6)	52,00 (42,1–68,2)	0,406
Lizinas	167,25 (133,0–209,0)	186,90 (149,1–219,4)	0,344
1-metilhistidinas	7,85 (5,9–10,2)	8,70 (5,0–17,0)	0,401
Histidinas	75,40 (61,4–91,6)	71,00 (63,7–83,7)	0,489
Triptofanas	38,80 (31,3–49,5)	45,40 (35,9–55,0)	0,151
3-metilhistidinas	0,00 (0,0–0,0)	0,00 (0,0–0,0)	0,774
Argininas	58,60 (39,4–73,8)	74,40 (54,6–97,5)	0,026
Hidroksiprolinas	9,75 (5,6–16,0)	12,10 (8,3–20,6)	0,126
Prolinas	203,00 (169,0–337,8)	220,00 (159,0–333,0)	0,821
Šlapalas	4947,00 (4178,2–5888,2)	5927,00 (4726,0–7587,0)	0,037
Išmatų kalprotektinas mcg/g	41,00 (27,2–62,5)	28,00 (12,0–65,0)	0,213

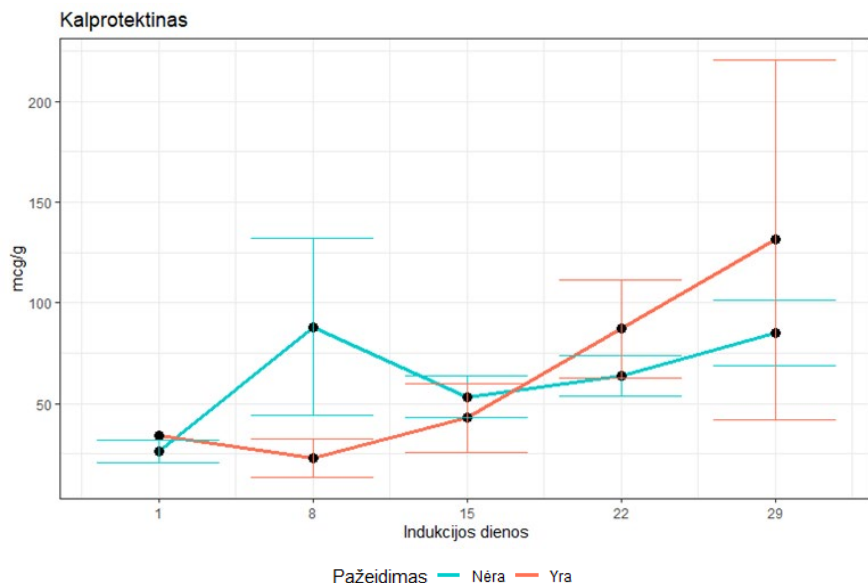
Įvertinus tankio kreives (9 pav.) ir GEE analizės rezultatus (šiam modelyje tiriamasis priskirtas ŽP grupei tik tuo laikotarpiu, kai buvo fiksuoti ŽP epizodai) (7 lentelė), atrinkti ŽP ankstyvai diagnostikai svarbiausi biožymenys: citrulinas, taurinas, albuminas, cistinas, fosfoetanolaminas, alfa aminobutirinė rūgštis, beta alaninas (žymenys atrinkti pagal p reikšmę vertinant GEE metodo rezultatus bei didžiausią tankio kreivių skirtumą tarp tiriamųjų su ŽP ir be ŽP). GEE metodo koeficientas rodo, kiek vidutiniškai kiekvieno biožymens koncentracija buvo mažesnė tiriamiesiems ŽP laikotarpiu, palyginti su tais, kuriems ŽP klinika nepasireiškė. Šių biožymenų kitimo dinamika vaizduojama 8 paveiksle. Beveik visų šių biožymenų didžiausias koncentracijų skirtumas patyrusių ŽP ir jo nepatyrusių buvo matomas 22 ir 29 dienomis (8 pav.) – tada, kai ŽP buvo intensyviausias (7 pav.).

Remiantis ROC modeliu, galimos šių veiksmų slenkstinės skaitinės vertės, kurios galėtų būti orientacinės diagnozuoti ŽP ŪLL indukcijos metu, vaizduojamos 10 lentelėje.

10 lentelė. Slenkstinės veiksnių, svarbių ŽP ankstyvai diagnostikai ŪLL metu, reikšmės

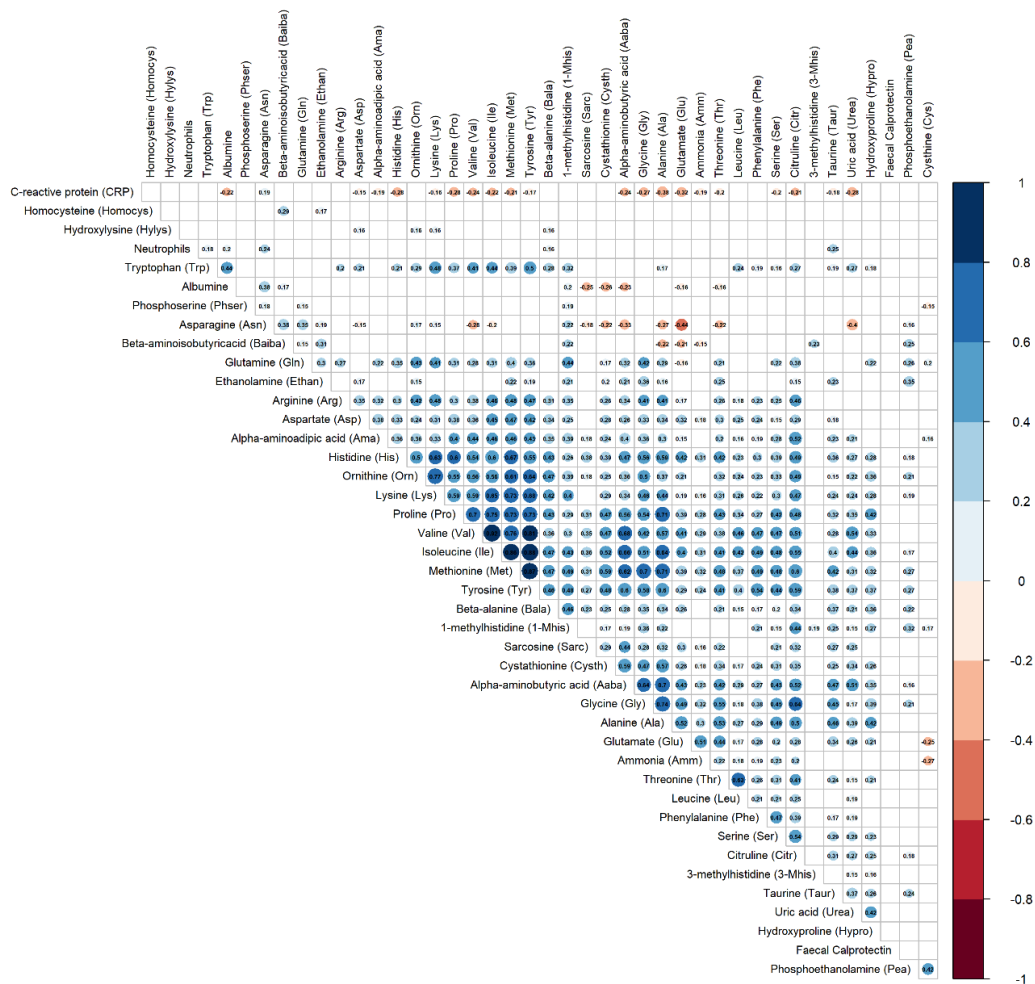
Veiksny	Reikšmė	Specifiškumas	Jautrumas
Amžius, metai	5,5	0,4685	0,9000
Citrulinas, mmol/l	14,65	0,7795	0,6538
Taurinas, mmol/l	47,45	0,5385	0,7308
Albuminas, g/l	32,75	0,6769	0,6538
Cistinas, mmol/l	15,35	0,5795	0,6538
Alfa aminobutirinė rūgštis, mmol/l	24,45	0,7385	0,5769
Beta alaninas, mmol/l	1,18	0,3436	0,8077

Nors iKLP, įvertinus GEE metodo rezultatus, nebuvo potencialiai svarbus biožymuo (9 pav.), tačiau, stebint jo koncentracijos kitimo kreivę, intensyviausio ŽP metu trečią ir ketvirtą savaitę iKLP koncentracijos mediana buvo aukštesnė ŽP patyrusių vaikų nei jo nepatyrusių vaikų (12 pav.).



12 pav. Vaikų, patyrusių ir nepatyrusių ŽP ŪLL indukcijos metu, kalprotektino koncentracijos medianos dinamika

Siekiant kuo tiksliau anksti diagnozuoti ŽP, svarbu atsižvelgti ne tik į pavienius biožymenis, bet ir į jų koreliaciją. Paminėtina albumino ir CRP atvirkštinė koreliacija. Citrulinas tiesiogiai koreliavo su lizinu, argininu, serinu, hidroksiprolinu, alfa aminobutirine rūgštimi. iKLP nekoreliavo su neutrofilų skaičiumi (13 pav.).



13 pav. Biožymenų koreliacija ŪLL indukcijos metu išsivysčius ŽP (n = 27).

Raudona spalva rodo neigiamą koreliaciją, mėlyna – teigiamą. Spalvos intensyvumas rodo koreliacijos stiprumą.

Vertinant prieš gydymą atliktų biožymenų koncentraciją ir jų sąsają su vėliau išsivystančiu ŽP, reikšmingas buvo tik hidroksilizinas (tiesinės regresijos koeficientas 0,734, p reikšmė 0,010).

B. Po aloKKLT

Po aloKKLT skyrėsi net 21 AR koncentracijos mediana lyginant vaikus, kuriems išsivystė ŽP, ir tuos, kuriems jo nebuvo. Taurino, alfa aminobutirinės rūgšties, valino, metionino, beta alanino, fenilalanino, amoniako, hidroksilizino, triptofano, prolino koncentracijos mediana buvo didesnė, o treonino, asparagino, glutamino, sarkozino, alfa aminoadipinės rūgšties, alanino, citrulino, tirozino, 1-metilhistidino, histidino, hidroksiprolino – mažesnė (11 lentelė).

Išmatų kalprotektino, šlapalo ir CRB koncentracija buvo statistškai reikšmingai didesnė, o albumino – mažesnė tais atvejais, kai išsivystė ŽP, palyginti su tais, kai ŽP nepasireiškė, tačiau neutrofilų skaičiaus skirtumo tarp abiejų grupių nebuvo (11 lentelė).

11 lentelė. Vaikų, patyrusių ŽP po aloKKLT ir jo nepatyrusių, biožymenų koncentracijų palyginimas

Biožymuo, mcmol/l	ŽP I-IV°, n = 28 mediana (IQR)	Be ŽP, n = 9 mediana (IQR)	p- reikšmė
Neutrofilai x 10 ⁹ /L	1,46 (0,00-3,70)	0,63 (0,00-1,50)	0,129
CRB mg/ml	28,64 (5,30-82,20)	10,98 (1,50-33,60)	<0,001
Albuminas	32,70 (28,60-35,80)	36,82 (34,00-38,90)	<0,001
Fosfoserinas	2,85 (2,20-4,40)	2,63 (1,90-3,70)	0,098
Taurinas	64,20 (42,60-86,80)	36,20 (26,20-46,40)	<0,001
Fosfoetanolaminas	0,00 (0,00-0,60)	0,00 (0,00-0,80)	0,316
Aspartato rūgštis	4,52 (0,00-5,60)	4,71 (0,00-6,10)	0,385
Treoninas	132,00 (97,00-166,00)	158,00 (127,50-200,20)	0,006
Serinas	125,00 (101,00-156,00)	137,50 (103,20-167,00)	0,229
Asparaginas	24,20 (16,80-40,40)	49,35 (35,40-65,60)	<0,001
Glutamo rūgštis	48,10 (33,60-63,90)	52,90 (33,10-70,30)	0,466
Glutaminas	513,00 (380,00-624,00)	675,00 (574,50-767,80)	<0,001
Sarkozinas	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-1,30)	0,004
Alfa aminoadipinė rūgštis	0,00 (0,00-1,10)	1,41 (0,00-2,10)	<0,001
Glicinas	290,00 (214,00-378,00)	275,50 (231,80-343,50)	0,841
Alaninas	261,00 (196,00-343,00)	316,00 (231,80-373,80)	0,046
Citrulinas	7,10 (4,20-12,20)	18,40 (13,10-25,40)	<0,001

Biožymuo, mcmol/l	ŽP I-IV ^o , n = 28 mediana (IQR)	Be ŽP, n = 9 mediana (IQR)	p- reikšmė
Alfa-aminobutirinė rūgštis	21,70 (17,20-28,30)	18,90 (14,90-24,50)	0,024
Valinas	271,00 (232,10-322,50)	233,95 (190,90-293,70)	0,001
Cistinas	31,90 (18,00-47,20)	31,75 (20,40-52,80)	0,384
Metioninas	32,50 (23,40-44,50)	23,45 (16,90-34,20)	<0,001
Cistationas	0,00 (0,00-0,90)	0,00 (0,00-0,60)	0,271
Izoleucinas	71,90 (58,00-89,30)	62,35 (49,40-83,40)	0,052
Leucinas	135,00 (114,30-156,60)	130,30 (106,40-154,10)	0,246
Tirozinas	55,20 (47,40-68,50)	63,15 (55,40-76,70)	0,001
Beta alaninas	1,71 (0,00-4,10)	0,00 (0,00-1,40)	<0,001
Fenilalaninas	90,30 (76,50-115,90)	67,55 (56,40-94,40)	<0,001
Beta aminoizobutirinė rūgštis	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,312
Homocisteinas	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,086
Etanolaminas	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,931
Amoniakas	78,70 (56,00-113,20)	55,75 (37,00-97,90)	0,001
Hidroksilizinas	1,22 (0,00-2,20)	0,00 (0,00-1,70)	0,034
Ornitas	84,30 (64,20-108,80)	77,50 (56,10-97,60)	0,058
Lizinas	172,70 (127,40-207,00)	186,65 (139,30-232,50)	0,115
1-metilhistidinas	5,20 (3,20-9,20)	7,60 (4,60-11,60)	0,009
Histidinas	61,50 (50,90-75,80)	71,35 (62,50-89,40)	<0,001
Triptofanas	53,70 (41,80-71,10)	44,60 (30,60-62,40)	0,025
3-metilhistidinas	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,516
Argininas	98,20 (63,70-128,60)	93,85 (61,30-114,70)	0,371
Hidroksiprolinas	9,97 (7,00-14,00)	15,85 (9,30-27,20)	<0,001
Prolinas	204,00 (136,00-294,00)	148,50 (108,80-224,20)	0,002
Šlapalas	6097,00 (4097,00-8461,00)	4405,00 (2661,20-5985,80)	<0,001
Išmatų kalprotektinas, mcg/g	129,00 (27,20-1224,20)	25,00 (5,30-59,00)	<0,001

Atsižvelgus į GEE metodo rezultatus (8 lentelė) ir tankio kreives (11 pav.), atrinkti svarbiausi potencialūs biožymenys ankstyvai ŽP diagnostikai: glutaminas, citrulinas, taurinas, treoninas, asparaginas, cistinas, iKLP (žymenys atrinkti pagal p reikšmę vertinant GEE metodo rezultatus ir

didžiausią tankio kreivių skirtumą tarp tiriamųjų su ŽP ir be ŽP). GEE metodo koeficientas rodo, kiek vidutiniškai veiksnio / biožymens koncentracija, tikėtina, bus mažesnė / didesnė tiriamųjų, kuriems išsivystė ŽP, palyginti su tų, kurie ŽP nepatyrė (vystantis ŽP glutamino, citrulino, treonino, asparagino, cistino koncentracija būna mažesnė, o taurino bei iKLP didesnė nei tais atvejais, kai ŽP nesivysto). Šių biožymenų kitimo dinamika vaizduojama 10 paveiksle.

ROC modelis leido nustatyti galimas slenkstines šių veiksnių skaitines vertes, kurios galėtų būti orientacinės diagnozuoti ŽP (12 lentelė). Vadinasi, jei biožymens koncentracija būtų monitoruojama reguliariais laiko intervalais ir dinamikoje vis artėtų prie nurodytos slenkstinės reikšmės, būtų galima tikėtis beprasidedančio ŽP ir pradėti svarstyti, ar keisti gydymo taktiką.

12 lentelė. Slenkstinės veiksnių, svarbių ŽP ankstyvai diagnostikai po aKKLT, reikšmės

Veiksny	Reikšmė	Specifiškumas	Jautrumas
Amžius, metai	5,5	0,5250	0,8066
Glutaminas, mcmol/l	555,50	0,7625	0,5584
Citrulinas, mcmol/l	10,95	0,8750	0,4599
Treoninas, mcmol/l	125,50	0,7375	0,4818
Taurinas, mcmol/l	45,85	0,7125	0,6277
Asparaginas, mcmol/l	40,45	0,6500	0,6642
Cistinas, mcmol/l	12,55	0,2125	0,8540
Išmatų kalprotektinas, mcg/g	59,50	0,7500	0,4891

Taip pat įvertinta ir biožymenų koreliacija vaikams, po aloKKLT patyrusiems ŽP: atvirkštinė koreliacija buvo tarp iKLP ir citrulino, asparagino; citrulino ir CRB; iKLP ir neutrofilų skaičius nekoreliavo (14 pav.).

Lyginant pacientų, kuriems išsivystė ūTPŠL, ir tuos, kuriems neišsivystė, grupes taip pat buvo nemažai skirtumų tarp aminorūgščių medianų: fosfoserino, taurino, treonino, glicino, alanino, alfa aminobutirinės rūgšties, metionino, cistationo, beta alanino, amoniako, hidroksilizino, ornitino, arginino, prolino buvo didesnės, o asparagino, citrulino, tirozino – mažesnės. Šlapalo ir išmatų kalprotektino koncentracija ir neutrofilų skaičiaus mediana buvo aukštesnė, o albumino – žemesnė tais atvejais, kai išsivystė ūTPŠL. CRB koncentracija tarp grupių nesiskyrė (13 lentelė).

13 lentelė. Vaikų, patyrusių ūTPŠL po aloKKLT ir jo nepatyrusių, biožymenų koncentracijų palyginimas

Biožymuo, mmol/l	ūTPŠL (n = 7) mediana (IQR)	Be ūTPŠL (n = 30) mediana (IQR)	p reikšmė
Neutrofilai x 10 ⁹ /L	2,88 (1,90-4,90)	0,55 (0,00-1,90)	0,000
CRB mg/ml	8,72 (3,40-34,20)	13,76 (2,40-57,90)	0,410
Albuminas, g/l	31,05 (27,60-34,30)	36,22 (32,90-39,10)	0,000
Fosfoserinas	3,38 (2,20-5,00)	2,65 (1,90-3,60)	0,000
Taurinas	66,70 (52,20-93,00)	45,30 (33,90-61,80)	0,000
Fosfoetanolaminas	0,00 (0,00-0,50)	0,00 (0,00-0,80)	0,082
Aspartato rūgštis	2,70 (0,00-5,70)	4,68 (0,00-5,90)	0,161
Treoninas	155,00 (110,80-199,50)	131,50 (94,20-165,50)	0,011
Serinas	136,00 (112,50-160,50)	128,50 (101,00-155,80)	0,226
Asparaginas	23,85 (14,50-43,30)	37,25 (22,40-52,50)	0,002
Glutamo rūgštis	53,20 (36,90-68,40)	44,80 (33,60-61,30)	0,097
Glutaminas	599,50 (471,00-673,00)	553,50 (438,20-675,80)	0,153
Sarkozinas	0,00 (0,00-0,40)	0,00 (0,00-0,30)	0,898
Alfa aminoadipinė rūgštis	0,00 (0,00-1,60)	0,00 (0,00-1,70)	0,365
Glicinas	346,50 (279,00-414,80)	270,00 (209,20-341,00)	0,000
Alaninas	328,50 (210,20-397,50)	268,00 (193,20-360,00)	0,029
Citrulinas	7,41 (4,20-13,60)	14,55 (7,40-21,80)	0,000
Alfa aminobutirinė rūgštis	23,35 (18,40-27,80)	20,05 (14,70-26,80)	0,013
Valinas	254,55 (220,90-320,70)	259,35 (210,20-310,20)	0,528
Cistinas	32,65 (13,20-48,70)	33,00 (20,70-50,20)	0,342
Metioninas	36,85 (21,00-46,70)	24,80 (17,70-35,60)	0,001
Cistationas	0,00 (0,00-1,40)	0,00 (0,00-0,60)	0,003
Izoleucinas	72,75 (57,40-95,90)	69,15 (56,20-82,90)	0,304
Leucinas	126,05 (110,20-154,60)	130,45 (110,20-156,00)	0,515
Tirozinas	52,60 (42,40-62,60)	59,95 (50,00-73,50)	0,000
Beta alaninas	2,21 (0,00-7,80)	1,11 (0,00-2,70)	0,004

Biožymuo, mmol/l	ūTPŠL (n = 7) mediana (IQR)	Be ūTPŠL (n = 30) mediana (IQR)	p reikšmė
Fenilalaninas	83,45 (68,10-97,20)	77,35 (59,70-100,80)	0,446
Beta aminoizobutirinė rūgštis	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	NA
Homocisteinas	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	NA
Etanolaminas	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-0,00)	NA
Amoniakas	81,50 (62,00-123,80)	68,15 (45,00-97,90)	0,002
Hidroksilizinas	1,90 (0,00-2,90)	1,16 (0,00-1,80)	0,004
Ornitas	86,65 (61,40-127,80)	76,10 (53,30-94,20)	0,002
Lizinas	182,05 (130,60-212,90)	166,15 (127,20-209,30)	0,395
1-metilhistidinas	7,59 (4,90-13,10)	6,00 (3,40-11,70)	0,077
Histidinas	64,85 (52,70-84,20)	68,95 (56,20-81,30)	0,524
Triptofanas	45,30 (32,90-61,80)	49,20 (38,60-67,40)	0,102
3-metilhistidinas	0,00 (0,00-0,80)	0,00 (0,00-0,00)	0,263
Argininas	105,55 (63,40-146,70)	82,05 (56,40-110,90)	0,006
Hidroksiprolinas	12,20 (7,70-17,70)	11,20 (7,40-18,70)	0,765
Prolinas	240,50 (162,80-382,20)	165,50 (119,00-231,00)	0,000
Šlapalas	5718,50 (4080,00-8513,50)	4987,00 (3476,00-6699,00)	0,005
Išmatų kalprotektinas, mcg/g	877,00 (77,00-2784,50)	39,00 (13,00-86,00)	0,000

GEE analizės duomenimis, ūTPŠL diagnostikai svarbiausi buvo iKLP, fosfoferinas, cistinas, prolinas bei absoliutus neutrofilų skaičius (14 lentelė).

14 lentelė. Svarbiausi veiksniai ūTPŠL ankstyvai diagnostikai pagal GEE metodą vaikams po aloKKLT

Veiksnys	Koeficientas	p reikšmė
Neutrofilai *10 ⁹ /l	0,840	0,047
Prolinas, mmol/l	49,167	0,009
Cistinas, mmol/l	-8,364	0,011
Išmatų kalprotektinas, mcg/g	453,851	0,002
Fosfoferinas, mmol/l	1,098	0,004

Be to, didžiausią dėmesį telkiant į du pasirinktus svarbiausius biožymenis (citruliną ir iKLP), matomas šių biožymenų koncentracijos skirtumas atsižvelgiant į ŽP sunkumą. Citrulino koncentracijos mediana buvo statistškai reikšmingai mažesnė, o iKLP didesnė lyginant ŽP III–IV laipsnį su I–II laipsniu. Kai ŽP pasireiškė kartu su ūTPŠL, iKLP koncentracijos mediana taip pat buvo didesnė nei tais atvejais, kai pasireiškė tik ŽP be ūTPŠL (15 lentelė).

15 lentelė. Citrulino ir iKLP koncentracijos skirtumai pagal ŽP sunkumo laipsnį ir kartu pasireiškiantį ūTPŠL

Biožymuo, mediana [IQR]	ŽP I-II°	ŽP III-IV°	p reikšmė	ŽP be ūTPŠL	ŽP su ūTPŠL	p reikšmė
Citrulinas, mmol/l	8,7 [4,60-13,60]	3,6 [2,21-5,35]	<0,001	9,2 [4,50-14,13]	6,5 [4,07-11,23]	0,149
iKLP mcg/g	69,0 [25,00-641,00]	2074,0 [1176,00-5233,50]	<0,001	49,0 [15,05-119,50]	1257,5 [500,50-3384,25]	<0,001

iKLP – išmatų kalprotektinas, IQR – tarpkvartilinis skirtumas, ūTPŠL – ūminė transplantato prieš šeimininką liga

Įvertinus biožymenų koncentraciją ne tik tada, kai jau pasireiškė ŽP, bet ir jų koncentracijos prieš atliekant aloKKLT sąsąją su vėliau išsivystančiu ŽP tiesinės regresijos metodu, matoma, kad trijų biožymenų (cistino, glutamino ir iKLP) prieštransplantacinė koncentracija gali būti susijusi su vėlesne ŽP išsivystymo rizika (16 lentelė). Cistino pretransplantacinė koncentracija buvo vidutiniškai 16,45 mcmol/l didesnė, glutamino 97,82 mcmol/l, iKLP 111,39 mkg/g mažesnė tų pacientų, kuriems gydymo eigoje išsivystė ŽP, lyginant su tais pacientais, kuriems ŽP nesivystė.

16 lentelė. Cistino, glutamino ir iKLP pretransplantacinių koncentracijų sąsąją su ŽP ir galimos slenkstinės reikšmės

Biožymuo	Koeficientas	p reikšmė	Slenkstinė vertė	Jautrumas	Specifiškumas
Cistinas	16,45	0,025	28,3 mcmol/l	0,56	1,00
Glutaminas	-97,82	0,045	543,5 mcmol/l	0,67	0,89
Išmatų kalprotektinas	-111,39	0,052	44,5 mcg/kg	0,70	0,78

Kadangi paruošiamieji režimai prieš transplantaciją skyrėsi, įvertinta ir kondicionavimo įtaka biožymenų koncentracijai. Mieloabliacinis režimas, palyginti su mažesnio intensyvumo režimu, atsižvelgiant į GEE metodo rezultatus, buvo susijęs su didesniu neutrofilų skaičiumi, iKLP, taurino, šlapalo, metionino, cistationo, fenilalanino, prolino koncentracija bei mažesne citrulino koncentracija (17 lentelė).

17 lentelė. Biožymenų koncentracijos pokyčiai taikant paruošiamąjį mieloabliacinį režimą

Biožymuo, mcmol/l	Koeficientas	p reikšmė
Neutrofilai*10 ⁹ /l	1,504	0,001
Išmatų kalprotektinas, mkg/g	376,386	0,008
Taurinas	15,296	0,008
Šlapalas	1558,436	0,000
Citrulinas	-5,540	0,004
Metioninas	8,953	0,009
Cistationas	0,276	0,021
Fenilalaninas	18,397	0,015
Prolinas	40,895	0,025

4.2.5. Mitybos būklės ir amžiaus įtaka biožymenų koncentracijai vaikams ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT

A. ŪLL indukcijos metu

Dalies biožymenų koncentracija priklausė nuo KMI: didėjant KMI didėjo ir fosfoetanolamino, glutamino, alfa aminoadipinės rūgšties, glicino, citrulino, alfa aminobutirinės rūgšties, metionino, cistatono, izoleucino, tirozino, 1-metilhistidino, prolino koncentracija. KMI didėjimas vienu vienetu buvo asocijuotas su didesne koeficiento nurodyta biožymens koncentracija. Labiausiai didėjo prolino, glutamino ir glicino koncentracija (18 lentelė).

18 lentelė. Vaikų, sergančių ŪLL, biožymenų sąsaja su KMI

Biožymuo, mcmol/l	Koeficientas	p reikšmė
Prolinas	17,853	0,000
Glutaminas	12,536	0,009
Glicinas	7,134	0,043
Izoleucinas	3,944	0,026
Tirozinas	3,819	0,001
Metioninas	1,717	0,003
Alfa aminobutirinė rūgštis	1,565	0,030
1-metilhistidinas	1,253	0,013
Citrulinas	0,950	0,026
Cistationas	0,356	0,014
Alfa aminoadipinė rūgštis	0,176	0,021
Fosfoetanolaminas	0,070	0,040

Kai kurių biožymenų koncentracija kito (dažniausiai didėjo, išskyrus glutamo rūgšties) priklausomai ir nuo amžiaus: fosfoserino, šlapalo, glutamo rūgšties, alanino, alfa aminobutirinės rūgšties, valino, metionino, izoleucino, tirozino, lizino, 1-metilhistidino, triptofano, 3-metilhistidino, hidroksiprolino, prolino (19 lentelė).

19 lentelė. Biožymenų sąsaja su vaikų amžiumi ŪLL indukcijos metu.

Biožymuo, mcmol/l	Koeficientas	p vertė
Šlapalas	146,610	0,015
Glutaminas	5,931	0,017
Glutamo rūgštis	-4,865	0,021
Lizinas	3,148	0,004
Tirozinas	1,934	0,012
Triptofanas	1,777	0,001
Alfa aminobutirinė rūgštis	1,190	0,016
Metioninas	0,930	0,022
Cistationas	0,226	0,008
Aminoizobutirinė rūgštis	-0,216	0,044

B. Po aloKKLT

Vaikų, kuriems atlikta aloKKLT, didesnis KMI buvo siejamas su didesne fosfoetanoamino, asparagino, alanino, fenilalanino, 3-metilhistidino bei mažesne serino ir triptofano koncentracija. Didėjant KMI šiek tiek didėjo ir absoliutus neutrofilų skaičius. Ryškiausias buvo šlapalo koncentracijos didėjimas (20 lentelė). KMI didėjimas vienu vienetu buvo asocijuotas su koeficientu, išreikštu koncentracijos didėjimu ar mažėjimu.

20 lentelė. Biožymenų sąsaja su KMI vaikams po aloKKLT

Biožymuo, mmol/l	Koeficientas	p reikšmė
Šlapalas	111,798	0,028
Alaninas	5,821	0,039
Serinas	-3,796	0,013
Fenilalaninas	3,203	0,039
Triptofanas	-1,966	0,022
Asparaginas	1,936	0,030
Neutrofilai *10 ⁹ /l	0,297	0,003
3-metilhistidinas	0,157	0,011
Fosfoetanolaminas	0,041	0,013

Taip pat kai kurių biožymenų koncentracija priklausė ir nuo vaiko amžiaus: su amžiumi didėjo alanino, 1-metilhistidino, beta alanino, cistationo koncentracija, o serino, amoniako, hidroksilizino, alfa aminoradipinės rūgšties koncentracija mažėjo (21 lentelė). Kiekvienais metais biožymens koncentracija didėjo (arba mažėjo) per tiek vienetų, kiek rodo koeficientas.

21 lentelė. Biožymenų sąsaja su vaikų amžiumi po aloKKLT

Biožymuo, mmol/l	Koeficientas	p reikšmė
Alaninas	4,750	0,015
Serinas	-3,959	0,000
Amoniakas	-1,904	0,042
Asparaginas	1,786	0,002
1-metilhistidinas	0,233	0,038
Beta alaninas	0,146	0,024
Hidroksilizinas	-0,111	0,038
Alfa aminoradipinė rūgštis	-0,051	0,032
Cistationas	0,044	0,001
Fosfoetanolaminas	0,026	0,024

5. REZULTATŲ APTARIMAS

Gydant vaikų onkohematologines ligas išgyvenamumo rezultatus lemia ne tik pagrindinės ligos kontrolė, bet ir gydymo sukeltų komplikacijų prevencija ir valdymas. Gydymo toksiskumas turi įtakos ne tik tiesioginei paciento sveikatai, bet ir didina našą sveikatos priežiūros sistemai: didėja hospitalizacijų dažnis, pakartotinių tyrimų, papildomų vaistų kiekis¹⁶¹. Chemoterapijos sukeltas virškinamojo trakto pažeidimas yra vienas iš dažniausių pagrindinės ligos gydymo šalutinių reiškinių. Išsivysčius ŽP, sutrinka žarnyno ląstelių vientisumas ir mikrobiotos pusiausvyra, tai lemia su gydymu susijusių komplikacijų tolesnį vystymąsi. Dažnai kinta vaistų rezorbcija, tad keičiasi ir skiriamų peroralinių medikamentų poveikis. Dėl mukozito sukulto stipraus skausminio sindromo didėja analgetikų poreikis (kartu vaistų sąveikos rizika), dažnai dėl skausmo tenka kurį laiką stabdyti ir pagrindinės ligos gydymą, o tai lemia didesnę recidyvo tikimybę. Pažeidus virškinamąjį traktą silpnėja vietinis imuninis atsakas, didėja bakterijų translokacijos į kraują rizika. Neišvengiamai trinka ir enterinė mityba, didėja parenterinės mitybos poreikis: šie veiksniai, sukurdami ydingą ratą, patys trikdo mikrobiotos homeostazę ir didina infekcijų tikimybę. Žarnyno aplinkos sutrikdymas yra vienas iš pagrindinių veiksnių, lemiančių ūTPŠL vystymąsi vaikams po aloKKLT, o žarnyno ūTPŠL yra viena iš sunkiausių potransplantacinių komplikacijų, kurios diagnostika yra itin sudėtinga – daugiausia remiamasi klinikine išraiška, invaziniai diagnostiniai metodai (ezofagogastroduodenoskopija ir kolonoskopija) taip pat ne visada būna pakankamai informatyvūs. Be to, vis daugėja duomenų, kad chemoterapinio gydymo metu išsivystanti periferinė polineuropatija yra susijusi su uždegiminiu procesu virškinamajame trakte: aferentinės nugaros smegenų užpakalinių ganglijų skaidulos inervuoja žarnyno gleivinę, todėl žarnyno pažeidimo ir mikrobiotos pokyčių sukeltas uždegimas sutrikdo nervinių skaidulų jaudrumą, taip paskatinamas periferinės polineuropatijos vystymasis^{8, 162}.

Išsivysčius ŽP, specifinio gydymo dažnai nėra, todėl gydymas tėra simptominis. Tad visų pirma svarbu įvertinti, koks galimas ŽP mastas kiekviename chemoterapija gydomų vaikų pogrupyje. Šiame darbe nustatyta, kad **ŽP pasireiškia beveik pusei pacientų ŪLL indukcinio gydymo metu ir trims ketvirtadaliams vaikų po aloKKLT.**

Be to, dar prieš pradedant chemoterapinį gydymą ar prieš aloKKLT yra svarbu identifikuoti pacientus, kuriems ŽP tikimybė yra didesnė. Vertinant vaikų KMI prieš pradedant gydymą, **ŪLL atveju ŽP buvo dažnesnis vaikams, kurių KMI z įvertis diagnozės nustatymo metu buvo didesnis,**

nors logistinė regresija šio ryšio nepatvirtino. Vis dėlto daroma prielaida, kad uždegiminių mediatorių, kurie išskiriami esant atsavoriui, kaip lėtinei uždegiminei būklei, poveikis kumuliuojasi su chemoterapiniu medikamentų poveikiu, taip didėja ŽP tikimybė vaikams, turintiems atsvario. Didesnio KMI pacientams yra nuolat aktyvinama endotelio pažeidimo sistema, todėl gleivinių ląstelės yra žalojamos¹⁶³. Ši išvada patvirtina tyrimų duomenis, kad didesnis KMI turi įtakos ir vaistų metabolizmui, epitelio vientisumui bei žarnyno mikrobiotos sudėčiai¹⁶⁴. Mayt, kad didelės dozės gliukokortikosteroidų ŪLL indukcijos metu lemia tiek kūno masės didėjimą, tiek ŽP.

Nors yra nemažai duomenų, kad pretransplantacinis atsvaris lemia didesnę potransplantacinių komplikacijų, tokių kaip antai ūTPŠL, venookliuzinė liga, tikimybę¹⁶³⁻¹⁶⁵, tačiau šiame darbe KMI skirtumo tarp pacientų, patyrusių ŽP ir jo nepatyrusių peritransplantaciniu periodu, nebuvo. Vis dėlto, vertinant KMI dinamikos grafiką, KMI mediana ŽP patyrusių vaikų grupėje trečią savaitę pradėjo viršyti KMI vaikų, kurie ŽP nepatyrė, o intensyviausias ŽP buvo būtent pirmo mėnesio pabaigoje. Ankstyvuojų periodu po aloKKLT įprastai vaikams krenta svoris bei KMI¹⁶⁶. Tą patį nustatėme ir mūsų darbe: **ties retrospektyvinėje, ties prospektyvinėje dalyse fiksuotas svorio kritimas potransplantaciniu periodu.** Pirmoje dalyje KMI vertinimas atliktas ilgesniais laiko intervalais, tad didžiausias kritimas buvo +60 dienų po transplantacijos, antroje – monitoravimas vykdytas kas savaitę ir šioje analizės dalyje matoma disociacija tarp vaikų, kurie patyrė ŽP, ir tų, kurie jo nepatyrė: pirmą savaitę KMI kritimas buvo didesnis vaikų, patyrusių ŽP; pirmo mėnesio pabaigoje ŽP patyrusių vaikų grupėje KMI buvo didesnis nei vaikų, nepatyrusių ŽP; antro mėnesio pabaigoje KMI buvo ryškiai mažesnis vaikų, patyrusių ŽP, palyginti su tais, kurie ŽP nepatyrė. Tad visgi pirmasis KMI kritimas įvyksta pirmą potransplantacinę savaitę, šis laiko tarpsnis sutampa su ŽP reikšimosi pradžia. Nepakankamas kūno svoris daugeliu atvejų apibrėžiamas kaip veiksnys, nulemiantis didesnę komplikacijų dažnį potransplantaciniu periodu dėl vyraujančių katabolinių procesų organizme, sukeliančių oksidacinį stresą, sutrikusios imuninės sistemos veiklos bei sumažėjusios tolerancijos medikamentiniam gydymui¹⁶⁴, tad KMI kritimas galimai turi įtakos ŽP Reiškimuisi.

Taigi, viena, vaiko mitybos būklės įvertinimas gali padėti numatyti ligos galimą eigą¹⁵⁰, kita, mitybos korekcija yra svarbus gydymo komponentas, galintis pagerinti gydymo rezultatus. Pacientų, kurių kūno svoris ŪLL gydymo metu normalizavosi, komplikacijų dažnis prilygo tiems, kurių svoris visą laiką buvo normalus¹¹⁶. Nors vaikai geriau toleruoja

agresyvią chemoterapiją nei suaugusieji, tačiau kuo ji intensyvesnė, tuo labiau didėja mitybos nepakankamumo rizika: vaikų mitybiniai rezervai yra mažesni, todėl jie yra jautresni nepakankamos mitybos poveikiui¹⁵⁰. Taigi adekvati vaikų mityba yra itin svarbu – ne tik sveikimo, bet ir augimo procesams užtikrinti¹⁶⁷. Visgi, atsižvelgiant į retrospektyvinės dalies rezultatus, galima teigti, kad PEG suformavimas nepadėjo užtikrinti adekvačios enterinės mitybos ir stabilaus kūno svorio. Kadangi trūksta duomenų apie pačios mitybos sudėtį bei skyrimo dažnį, tad daryti išvadų vien iš PEG suformavimo ar nesuformavimo fakto negalima. Parenterinė mityba dažnai laikoma aukso standartu išvengti mitybos nepakankamumo, ypač po aloKKLT, dėl dominuojančio mukozito¹⁶⁸, tačiau enterinė mityba yra susijusi su mažesne infekcijų bei sutrikdytos gliukozės ir lipidų metabolizmo rizika, greitesniu ląstelių prigijimu ir mažesne ūTPŠL tikimybe po aloKKLT^{124, 169, 170, 171}. Pradėjus enterinę mitybą dar iki išsivystant mukozito simptomams, enterinės mitybos toleravimas siekia 50–95 proc. ir gali tapti prevencine komplikacijų dažnio mažinimo priemone^{124, 172, 173}. Disertaciniame darbe taip pat buvo nustatyta **sąsaja tarp didesnio KMI diagnozės nustatymo metu ir ŽP išsivystymo ŪLL grupėje**, potransplantaciniu laikotarpiu buvo du KMI pikai (kritimo ir kilimo): **kritimas sutapo su ŽP reiškimosi pradžia, o kilimas su didžiausia ŽP raiška**, tad galima daryti prielaidą, jog stabili adekvati mitybos būklė galėtų padėti išvengti ŽP reiškimosi vaikams, gydomiems ŪLL indukcijos metu, ir po aloKKLT.

Amžiaus įtaka ŽP tarp tirtų grupių skyrėsi. **ŪLL atveju ŽP būdingas jaunesniems vaikams, o po aloKKLT ŽP rizika didesnė vyresniems nei 5,5 metų vaikams**. Tikėtina priežastis – gydymui skiriami preparatai: ŪLL indukcijos metu maži vaikai gali būti jautresni didelėms dozėms gliukokortikosteroidų dėl mažiau brandžios organizmo sistemos. Didesnis gliukokortikosteroidų sukeltas toksiškumas jaunesniems vaikams nustatytas ir gydant vaikų sisteminę raudonąją vilkligę¹⁷⁴, taigi ir gliukokortikosteroidų nulemtas svorio prieaugis mažiems vaikams ŪLL indukcijos metu gali būti didesnis. Kita vertus, kaip atskleista retrospektyvinėje darbo dalyje, **indukcijos metu KMI labiausiai didėjo mažiems vaikams**, tad didėjo ir antsvorio turinčių vaikų dalis, o antsvoris savaime galėjo lemti didesnę ŽP išsivystymo tikimybę. Atsižvelgiant į retrospektyvinės analizės rezultatus, po **aloKKLT kūno svoris mažėja visų amžiaus grupių vaikų, tačiau ryškiausias kritimas buvo matomas pačių vyriausių vaikų (12–17 metų) grupėje**, nors statistškai reikšmingo skirtumo nebuvo. Tai būtų galima sieti su tuo, jog kondicionavimui skirti preparatai yra didesnių dozių, turi stipresnį mielosupresinį bei emetogeninį poveikį, palyginti su chemopreparatais, skirtais ŪLL gydyti. Vyresni vaikai dažniau patiria ir neigiamų psichologinių

padarinių dėl hospitalizacijos¹⁷⁵, taigi ir dėl aloKKLT, o tai gali lemti žemesnį skausmo slenkstį, didesnę apetito slopinimą ir svorio kritimą. Tad tikėtina, kad vyresniems vaikams greičiau sutrinkdama enterinė mityba, kartu ir žarnyno mikrobiota, dėl to ŽP rizika didėja.

Taigi, vien žinant vaiko amžių bei mitybos būklės statusą prieš pradedant gydymą, galima pacientus suskirstyti į rizikos grupes pagal ŽP išsivystymo tikimybę. Vadinasi, didesnės rizikos pacientams būtų galima anksčiau taikyti prevencinius / korekcinis veiksmus, numatyti antibakterinio / imunosupresinio gydymo trukmę. EBMT (Europos kaulų čiulpų transplantologų) infekcinių ligų susirinkime, vykusiame 2024 m. lapkritį Ženevoje, buvo itin akcentuota personali gydymo taktika. Pabrėžta infekcijų išsivystymo rizikos veiksnių nustatymo svarba prieš pradedant gydymą. Paminėta, kad antibakterinio gydymo trukmė taip pat turi priklausyti ne tik nuo klinikinės būklės, bet ir nuo individualios paciento rizikos. Taigi, įvertinus tai, kad ŽP didina bakterijų translokacijos ir bakteriemijos riziką, vaikų amžius ir KMI gali būti laikomi veiksniais, į kuriuos turi būti atsižvelgiama skiriant antibakterinį gydymą.

Be to, svarbu pažymėti, kad iki šiol kasdienėje praktikoje ŽP buvo siejamas su neutropenija. Mūsų tyrimas atskleidė, kad **ŽP nesusijęs vien tik su neutropenijos išsivystymu** – ŽP intensyviausias tada, kai neutrofilų skaičius jau pradėjęs kilti (tiek ŪLL, tiek aloKKLT grupėje). Šis radinys patvirtina faktą, kad būtent ŽP yra vienas iš pagrindinių bakteriemiją lemiančių veiksnių chemoterapinio gydymo metu^{15, 176}. Taigi, vertinant galimą riziką ŽP išsivystyti ir siekiant numatyti korekcinis veiksmus, izoliuota neutropenija neturėtų būti įtraukiama į rizikos veiksnių sąrašą.

Kad būtų galima ne tik numatyti didesnę / mažesnę ŽP riziką chemoterapinio gydymo / potransplantaciniu periodu, bet ir anksti diagnozuoti ŽP, buvo pasitelkta biožymenų paletė, kuri vertinta kartu su įprastais kasdienėje praktikoje rodikliais (tokiais kaip CRB ir albuminas). Kadangi iki šiol nėra rasta vieno konkretaus ŽP būdingo žymens, šio darbo pagrindinė stiprybė – taikyta labai plati AR paletė tiriamų vaikų kraujyje ir kalprotektino koncentracija išmatose. Iš šio plataus biožymenų spektro galima įžvelgti tiek daugiausiai žadančius biožymenis ŽP diagnostikai, tiek nustatyti šių biožymenų koreliacijas, kad būtų galima taikyti kelių biožymenų matavimus tiksliau diagnozuoti ŽP. ŪLL vaikų grupėje atsižvelgus į biožymenų koncentracijos skirtumus išsivysčius ŽP, tankio kreives bei GEE modelį, galima daryti išvadą, kad **mažėjančios citrulino, taurino, cistino, fosfoetanolamino, alfa aminobutirinės rūgšties, beta alanino bei albumino koncentracijos kelia beprasidedančio ŽP įtarimą.** Yra žinoma, kad ŪLL indukcinio gydymo metu skiriama pegiliuota asparaginizė, skaidydama asparaginą į asparto rūgštį bei amoniaką, ne tik mažina

asparagino koncentraciją, bet ir keičia kitų AR (pvz., glutamino, glutamato, serino, glicino), taip pat albumino koncentraciją kraujyje¹⁷⁷⁻¹⁷⁹. Vis dėlto tyrimo metu visi ŪLL grupės tiriamieji buvo gydyti pegiliuota asparaginaze, todėl AR ir albumino pokyčiai yra siejami su žarnyno pažaida, o ne vaistų poveikiu.

Nors iKLP ir nebuvo išskirtas GEE modelyje kaip potencialiai svarbus biožymuo, tačiau, įvertinus tai, kad vaikų populiacijoje itin svarbūs neinvaziniai tyrimo metodai, bei atsižvelgus į tai, kad iKLP koncentracija pradeda kilti tuo pat metu, kai žarnyno pažeidimas būna intensyviausias, daroma prielaida, kad **iKLP taip pat galėtų būti vienas iš žymenų, kuriuos vertėtų reguliariai monitoruoti gydymo metu.** iKLP yra išskiriamas aktyvuotų makrofagų ir neutrofilų¹⁸⁰, tačiau disertaciniame darbe neatskleista iKLP koncentracijos ir neutrofilų skaičiaus koreliacijos, taigi tai yra dar vienas svarbus radinys, **pagrindžiantis iKLP koncentracijos monitoravimą net ir mielosupresinės būklės pacientams.**

Vaikams po aloKKLT potencialių biožymenų ŽP diagnozuoti spektras buvo dar platesnis, bet, atrinkus svarbiausius iš jų, daroma prielaida, kad **didėjančios taurino ir iKLP koncentracijos bei mažėjančios glutamino, citrulino, treonino, asparagino koncentracijos gali būti svarbūs radiniai ankstyvai ŽP diagnostikai.** Šio tyrimo metu buvo nustatytos preliminarios biožymenų koncentracijų skaitinės slenkstinės reikšmės, rodančios orientacinę vertę, kuri būtų būdinga ŽP diagnostikai. Nustatyta citrulino slenkstinė vertė sutampa su kituose literatūros šaltiniuose aprašomu hipocitrulinemijos apibrėžimu¹⁸¹, taigi preziumuojama, kad **citrulino koncentracijai esant <10 mmol/l pasireiškia ŽP.** Vertinant galimas biožymenų vertes, klinikinėje praktikoje būtų svarbu atsižvelgti į taikyto kondicionavimo tipą, nes MAC paruošiamasis režimas yra susijęs su didesniu neutrofilų skaičiumi, didesne iKLP, taurino, šlapalo, metionino, cistationo, fenilalanino, prolino koncentracija bei mažesne citrulino koncentracija. Be to, lyginant citrulino koncentracijos vertes pagal ŽP sunkumo laipsnį, darbo metu paaiškėjo, kad esant sunkesniai ŽP citrulino koncentracijos mediana krito iki 3,5 mmol/l, tad ateityje, tikėtina, pagal citrulino koncentraciją būtų galima nustatyti ir ŽP sunkumą. Panašūs yra ir iKLP koncentracijos pagal ŽP sunkumo laipsnį vertinimo rezultatai. Išmatų KLP paprastai yra naudojamas uždegiminių žarnyno ligų sunkumui vertinti, taip pat gali padėti atskirti žarnyno ūTPŠL nuo kitų potransplantacinių ŽP priežasčių¹⁸⁰. Šio darbo rezultatai parodė, kad **kuo sunkesnis ŽP po aloKKLT, tuo didesnė iKLP koncentracija, taip pat iKLP koncentracija didėja labiau pasireiškus ŽP kartu su ūTPŠL nei vien izoliuotam ŽP.** ŽP yra viena iš ūTPŠL reiškimosi formų, tad biožymenų reguliarius

monitoravimas galėtų padėti diferencijuoti, ar ŽP etiologinis veiksnys yra ūTPŠL. Disertaciniame darbe atskleista, kad **ūTPŠL būdingas didesnis neutrofilų skaičius, didesnės fosfoerino, prolino bei itin didelės iKLP koncentracijos ir mažesnė cistino koncentracija.**

Kadangi kai kurių biožymenų interpretacija yra sudėtinga aktyvios ligos metu dėl vyraujančio katabolizmo¹⁵⁰, citrulinas tampa itin svarbiu biožymeniu, nes jo koncentracija kraujyje nepriklauso nuo katabolinių procesų, vykstančių organizme¹⁸². Citrulinas yra AR, gaminama plonojo žarnyno enterocitų¹⁸³, ji rodo enterocitų pažeidimo mastą, tačiau nepriklauso nuo gaurelių ir ląstelių atrofijos¹⁸². Vaikams, gydytiems pagal NOPHO 2008 protokolą indukcijos metu, citrulino koncentracijos kritimas buvo reikšmingas prognostinis veiksnys su mukozitu susijusiai kraujo infekcijai išsivystyti¹⁵. Šis disertacinis darbas papildė pastarojo tyrimo radinius: **citrulino koncentracijos kritimas yra svarbus vaikų, gydytų pagal ALLTogether protokolą indukcijos metu, bei vaikų po aloKKLT ankstyvos ŽP diagnostikos rodiklis.** Literatūros duomenimis, citrulino koncentracija dažniausiai mažėja per pirmąsias tris potransplantacines savaites, palyginti su pretransplantaciniu lygiu¹⁶, šio darbo radiniai papildė ir paaiškina minėtą išvadą – citrulino koncentracija mažėja dėl mieloabliacinio chemoterapijos poveikio žarnyno vientisumui¹⁸⁴, todėl koncentracijos kritimas po aloKKLT yra susijęs su ŽP išsivystymu.

Esamoje mokslinėje literatūroje duomenų apie kitų prieš tai aprašytų biožymenų konkrečias skaitines reikšmes vaikams, gydomiems ŪLL indukcijos metu bei po aloKKLT, rasti nepavyko, todėl disertaciniame darbe aprašytos skaitinės reikšmės gali tapti orientacinėmis atliekant tolesnius panašius tiriamuosius darbus.

Siekiant anksti diagnozuoti beprasidedantį ŽP svarbu ne tik vienkartinai nustatyti tam tikrų biožymenų koncentraciją, bet ir reguliariai juos monitoruoti ir stebėti jų kitimo dinamiką. ŪLL metu citrulino, taurino, cistino, fosfoetalamino, alfa aminobutirinės rūgšties, beta alanino bei albumino koncentracijos beveik visą indukcijos laikotarpį buvo žemesnės ŽP patyrusių pacientų. Ryškiausi šių biožymenų koncentracijų skirtumai ŽP patyrusių ir nepatyrusių tiriamųjų buvo ketvirtos savaitės pradžioje, kai ŽP buvo intensyviausias. Po aloKKLT citrulino, glutamino, treonino, asparagino koncentracijų didžiausias kritimas buvo 7–14 dieną po procedūros – būtent tuo metu buvo daugiausiai ŽP atvejų, antrasis citrulino ir treonino koncentracijų kritimo pikas buvo mėnesio pabaigoje, kai ŽP laipsniai buvo didžiausi. Tuo tarpu iKLP koncentracija ŽP atveju labiausiai pradėjo kilti nuo 28 dienos po aloKKLT – matyt, kad iKLP yra jautresnis ŽP sunkumui įvertinti nei pačiam ŽP. Tikėtina, kad pirmo mėnesio pabaigoje ŽP buvo

susijęs su ūTPŠL, nes pastaroji dažniausiai pasireiškia šiuo laikotarpiu, be to, atsižvelgus į darbo rezultatus, akivaizdu, kad iKLP didžiausia koncentracija būna ūTPŠL atveju. Taigi kasdieniame darbe galėtų būti naudinga reguliariai stebėti biožymenų koncentracijų kitimą, tik šiek tiek dažnesniais laiko intervalais nei kas savaitę, nes pirmasis ryškus biožymenų kritimas po aloKKLT buvo jau praėjus savaitei po aloKKLT.

Išmatų kalprotektinas yra labai patrauklus biožymuo vaikams, nes tai yra neinvazinis tyrimo metodas, tačiau yra veiksnių, galinčių turėti įtakos jo koncentracijai. Nustatyta, kad iKLP gali skirtis to paties asmens skirtingu paros metu ar skirtingomis dienomis, koncentracijai didėjant, kai ilgėja tarpai tarp tuštinimosi, todėl tyrimas rekomenduojamas iš pirmos dienos išmatų porcijos⁸⁵. Įprastai slenkstine iKLP verte, rodančia žarnyno pažaidą, yra laikoma 50 mcg/g, tačiau kai kurių autorių duomenimis, 100 mcg/g riba gali būti tikslesnė^{85, 185}. Be to, galimi skirtingų gamintojų metodikų skirtumai, ypač jei išmatos yra skystos⁸⁵.

Kadangi naujiems biožymenims įdiegti į rutininę praktiką dažnai prireikia laiko, finansavimo, žinių ir įgūdžių jų interpretacijai, svarbu juos vertinti kartu su jau įprastais kasdieniame darbe laboratoriniais tyrimais. Būtent todėl šio darbo metu pasitelkta biožymenų koreliacijos analizė. ŪLL indukcinio gydymo metu buvo nustatyta CRB ir kelių GEE metodu nustatytų svarbiausių biožymenų ŽP diagnostikai (albumino, taurino, citrulino, fosfoetanolamino) atvirkštinė koreliacija. **Vaikų po aloKKLT CRB koncentracija buvo statistiškai reikšmingai didesnė, o albumino – mažesnė tais atvejais, kai išsivystė ŽP, palyginti su tų vaikų, kai ŽP nepasireiškė.** CRB chemoterapinio ar potransplantacinio gydymo periodu įprastai atliekamas įtariant galimą infekciją bei vertinant atsaką į skirtą antibakterinį gydymą. Tačiau CRB rodo bet kokios kilmės, ne tik infekcinės, uždegimą, todėl, ko gero, CRB galėtų būti reguliariai monitoruojamas aktyvaus chemoterapinio ar potransplantacinio gydymo metu.

Nors pagrindinis disertacinio darbo tikslas buvo biožymenų analizė pasireiškus pirmiesiems ŽP simptomams, tačiau ne mažiau svarbios įžvalgos apie bazinę biožymenų koncentracijos sąsają dar prieš pradedant chemoterapinį gydymą ar kondicionavimą su vėliau išsivystančiu ŽP. Literatūroje duomenų apie biožymenų koncentracijos prieš ŪLL gydymą ar pretransplantacinės koncentracijos sąsają su vėliau išsivystančiu ŽP nėra: labiausiai akcentuojami pretransplantaciniai žymenys ūTPŠL predikcijai. Vienas iš galimų biožymenų galėtų būti citrulinas, pagal kurio koncentraciją dar iki atliekant aloKKLT būtų galima nuspėti ūTPŠL^{19, 186}. Vis dėlto iki šiol nėra rekomendacijų, kad vienas ar keli biožymenys galėtų be išlygų būti taikomi ūTPŠL prognozuoti¹⁸⁷. Kol kas iš iki šiol tyrinėto plataus biožymenų

spektro yra sukurtas MAGIC algoritmas (jo metu vertinami ST2 ir reg3α), nusakantis ūTPŠL sunkumą bei atsaką į gydymą, bet ne pačios ūTPŠL išsivystymą^{188, 189}. Šiuo tikslu dažnai tiriamas ir iKLP, tačiau jo koncentracija literatūroje aprašomuose tyrimuose dažniausiai pradedama monitoruoti taip pat tik pasireiškus pirmiesiems ūTPŠL simptomams^{187, 190}. Šio darbo metu pastebėta, kad, prieš pradedant ŪLL gydymą, suskirstyti vaikus į rizikos grupes pagal numatomą ŽP tikimybę galėtų padėti hidroksilizino koncentracijos tyrimas. Disertaciniame darbe pretransplantaciniai žymenys buvo vertinti atsižvelgiant į tolesnį bet kokios etiologijos ŽP išsivystymą, ne tik ūTPŠL, o iKLP tirtas ne tik jau atsiradus ŽP simptomų, bet prieš pradedant kondicionavimą kartu su kitais biožymenimis. Iš šio tyrimo rezultatų matome, kad cistinas, glutaminas ir iKLP galėtų būti interpretuojami kartu su kitais pretransplantaciniais veiksniais (amžiumi, KMI) bandant nuspėti ŽP tikimybę po aloKKLT.

Kadangi vaiko mitybos būklė yra susijusi su katabolinių / anabolinių procesų organizme pusiausvyra, nuo jos gali priklausyti ir biožymenų koncentracija tiek kraujyje, tiek išmatose. Vaikams, sergantiems ŪLL, didėjant KMI didėjo ir šių AR koncentracija: fosfoetanolamino, glutamino, alfa aminoadipinės rūgšties, glicino, citrulino, alfa aminobutirinės rūgšties, metionino, cistationo, izoleucino, tirozino, 1-metilhistidino, prolino. Vaikams po aloKKLT didėjant KMI didėjo fosfoetanolamino, asparagino, alanino, fenilalanino, 3- metilhistidino, šlapalo koncentracija bei neutrofilų skaičius, o serino ir triptofano koncentracija mažėjo. Viena vertus, akivaizdu, kad mitybos būklė pati savaime yra susijusi su organizmo homeostaze – esant neadekvačiai mitybos būklei, sutrinka metabolizmas, kurio išraiška yra pakitusi biožymenų koncentracija lyginant su adekvačios mitybos būklės vaikų¹⁹¹. Kita vertus, vertinant biožymenis svarbu atsižvelgti į vaiko mitybos būklę, kad rezultatai būtų teisingai interpretuojami. Iš tyrimo metu atrinktų galimai svarbiausių biožymenų ŽP ankstyvai diagnostikai vaikams ŪLL indukcijos metu tiek citrulino, tiek fosfoetanolamino bei alfa aminobutirinės rūgšties koncentracija didėjo didėjant vaikų KMI. Tai reikštų, kad didesnio KMI vaikams, pasireiškus ŽP, minėtų trijų biožymenų koncentracija gali būti didesnė, palyginti su mažesnio KMI vaikais, nes įprastai ŽP metu šių biožymenų koncentracija mažėja, tad ankstyva diagnostika gali būti apsunkinta. Šie duomenys rodo, kad vaikų mitybos būklė yra svarbus veiksnys, lemiantis metabolizmo procesus organizme. Nors citrulinas yra vienas iš galimų biožymenų, mažiausiai priklausančių nuo išorinių veiksnių, sukeliančių katabolinę audrą, tačiau visgi jo koncentracijos kitimas yra siejamas su KMI pokyčiais – citrulino koncentracija mažėja, esant per mažai kūno masei, o padidėjusi koncentracija gali būti susijusi su antsvoriu¹⁵⁷. Kitų

autorių duomenimis, citrulino koncentracija gali kristi tiek esant antsvoriui, tiek nepakankamai mitybai – tokie pokyčiai siejami su mitybos būklės įtaka ŽP ir dėl to mažėjančia citrulino koncentracija^{156, 157}. Po aloKKLT biožymenų sąsaja su KMI skyrėsi palyginus su ŪLL grupe: iš svarbiausių biožymenų grupės ŽP ankstyvai diagnostikai glutamino, citrulino, treonino, taurino, cistino ir iKLP koncentracija nepriklausė nuo vaikų mitybos būklės. Analogiškai atrenkant biožymenis, kuriuos interpretuoti reikėtų atsižvelgiant į vaiko amžių, iš svarbiausių biožymenų ŽP ŪLL indukcijos metu buvo tik alfa aminobutirinė rūgštis, vaikams po aloKKLT biožymenų paletės sudėtis liko nepakitusi, nes tik asparagino koncentracija priklausė nuo vaiko amžiaus. Akivaizdu, kad biožymenų koncentracijos pokyčius lemia ne tik konkretus veiksnys, bet ir veiksnių visuma: skirtingose vaikų grupėse (gydytų dėl ŪLL ir po aloKKLT) dalies biožymenų koncentracijos skiriasi vertinant tiek pagal ŽP, tiek pagal mitybos būklę ar amžių. Todėl labai svarbūs kiekvienos populiacijos tyrimų duomenys. Atsižvelgiant į tai, kad tiek amžius, tiek KMI pokytis gali turėti įtakos biožymenų koncentracijai, siekis rasti tokius biožymenis, kuriems taikyti praktikoje kuo mažiau darytų įtakos papildomi veiksniai.

Apibendrinant atlikto darbo svarbą, reikia pažymėti, kad tyrimas reikšmingas keliais aspektais: apžvelgtas ŽP reikšimosi dažnis bei galimi rizikos veiksniai jam išsivystyti dviejose skirtingose vaikų grupėse: vaikams ŪLL indukcijos metu ir po aloKKLT. Vertinta plati biožymenų paletė reguliariai kas savaitę abiejų grupių vaikų tiek kraujyje, tiek išmatose, atsižvelgiant į biožymenų koreliaciją. Biožymenų rezultatai interpretuoti apsvairstant tiek vaikų amžių, tiek KMI, kartu įvertinant KMI dinamiką gydymo laikotarpiu. Žinoma, esminis darbo trūkumas – maža imtis. Vaikų onkohematologinės ligos yra retos¹⁹², o Baltijos valstybės yra mažos populiacijos valstybės, tad trejų tyrimo metų laikotarpiu į tyrimą įtrauktas net kiek didesnis pacientų skaičius nei buvo numatyta (VOHC per metus gydomų ŪLL pacientų vidurkis yra 15, o atliekamų aloKKLT – 10).

Dalis tyrimo įžvalgų galėtų būti pritaikoma kasdieniame darbe: pacientų skirstymas į rizikos grupes pagal numatomą ŽP išsivystymo riziką; neadekvačios mitybos būklės koregavimas akcentuojant enterinę mitybą; biožymenims įdiegti į kasdienes procedūras reikia papildomų tęstinių didesnės aprėpties tyrimų, bet neabejotinai citrulinas, albuminas, taurinas, cistinas, beta alaninas ŪLL indukcinio gydymo metu, o glutaminas, citrulinas, treoninas, taurinas, cistinas bei iKLP po aloKKLT galėtų būti integruojami į klinikinę rutiną.

6. IŠVADOS

1. ŪLL indukcijos metu KMI z įvertis didėja 0–5 metų amžiaus vaikams, o krenta 12–17 metų paaugliams. KMI z įvertis potransplantaciniu periodu krenta visų amžiaus grupių vaikams, bet ryškiausias kritimas būna vyriausiems vaikams (12–17 metų).
2. ŽP pasireiškia beveik pusei vaikų ŪLL indukcijos metu ir trims ketvirtadaliams vaikų po aloKKLT. ŽP tikimybė ŪLL metu didesnė jaunesniems didesnio KMI z įverčio vaikams, po aloKKLT – vyresniems vaikams.
3. ŽP nėra susijęs su neutropenija, intensyviausias būna pirmo mėnesio pabaigoje tiek ŪLL indukcijos metu, tiek po aloKKLT.
4. ŪLL indukcijos metu ankstyvieji ŽP žymenys galėtų būti: citrulinas, taurinas, albuminas, cistinas, fosfoetanolaminas, alfa aminobutirinė rūgštis beta alaninas; po aloKKLT: citrulinas, glutaminas, taurinas, asparaginas, cistinas, treoninas, išmatų kalprotektinas. Prieš ŪLL gydymą hidroksilizino koncentracija, o prieš atliekant aloKKLT cistino, glutamino, iKLP koncentracijos gali diferencijuoti pacientus, kuriems ŽP rizika yra didesnė.
5. Kai kurių biožymenų koncentracija priklauso nuo vaiko amžiaus ir mitybos būklės.

7. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

1. Prieš pradėdant gydymą siūloma skirstyti vaikus į rizikos grupes pagal ŽP išsivystymo tikimybę įvertinant jų amžių, KMI ir AR koncentraciją prieš gydymą. Vaikams, patenkantiems į didesnės rizikos grupę, tikslinga anksčiau / ilgiau taikyti antibakterinį gydymą sukarščiavus, pasireiškus pirmiesiems ŽP simptomams po aloKKLT anksčiau stiprinti imunosupresinį gydymą:
 - a. ŪLL indukcijos metu didesnės rizikos grupė: jaunesni nei 5,5 metų didesnio KMI vaikai, kurių hidroksilizino koncentracija didesnė.
 - b. Prieš numatomą aloKKLT didesnės rizikos grupė: vaikai, vyresni nei 5,5 metų, kurių cistino koncentracija didesnė, o glutamino, iKLP koncentracija mažesnė.
2. ŪLL indukcijos metu ir pirmuosius du mėnesius po aloKKLT reguliariai (bent vieną kartą per savaitę) tikslinga monitoruoti toliau išvardytus biožymenis siekiant anksti diagnozuoti beprasidedantį žarnyno pažeidimą:
 - a. ŪLL indukcijos metu: citrulino, albumino, taurino, cistino, beta alanino koncentraciją kraujyje kartu su CRB bei išmatų kalprotektinu.
 - b. Po aloKKLT: citrulino, glutamino, treonino, taurino, cistino, CRB koncentraciją kraujyje ir išmatų kalprotektiną.
3. ŪLL indukcijos metu jaunesniems vaikams rekomenduojama laikytis gydytojo dietologo sudaryto mitybos plano, kad būtų išvengta antsvorio; vyresniems vaikams ir po aloKKLT tikslinga nuo gydymo pradžios skirti papildomus enterinius mišinius, taip užtikrinti pakankamos energetinės vertės mitybą.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Toft N, Birgens H, Abrahamsson J, Griskevicius L, Hallbook H, Heyman M *et al.* Results of NOPHO ALL2008 treatment for patients aged 1-45 years with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2018; **32**(3): 606-615. doi: 10.1038/leu.2017.265
2. Botta L, Gatta G, Capocaccia R, Stiller C, Canete A, Dal Maso L *et al.* Long-term survival and cure fraction estimates for childhood cancer in Europe (EUROCare-6): results from a population-based study. *Lancet Oncol* 2022; **23**(12): 1525-1536. doi: 10.1016/S1470-2045(22)00637-4
3. West Z, Allen K, Monroe C, Castellino SM, Miller TP. Adverse Events during Induction Therapy in Pediatric Acute Lymphoblastic Lymphoma (ALL). *Blood* 2019; **134**(Supplement_1): 5809-5809. doi: 10.1182/blood-2019-131873
4. Wingard JR, Majhail NS, Brazauskas R, Wang Z, Sobocinski KA, Jacobsohn D *et al.* Long-term survival and late deaths after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol* 2011; **29**(16): 2230-2239. e-pub ahead of print 2011/04/06; doi: 10.1200/jco.2010.33.7212
5. Al Mulla N, Kahn JM, Jin Z, Qureshi M, Karam Mehmet E, Yoon-Jeong Kim G *et al.* Survival Impact of Early Post-Transplant Toxicities in Pediatric and Adolescent Patients Undergoing Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Malignant and Nonmalignant Diseases: Recognizing Risks and Optimizing Outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; **22**(8): 1525-1530. e-pub ahead of print 2016/05/26; doi: 10.1016/j.bbmt.2016.05.012
6. Rascon J, Vaisnore R, Pasauliene R, Kovalova Z, Jakaitiene A, Vaitkeviciene G. Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Challenges in Small European Countries. *Transplant Cell Ther* 2023; **29**(4): 269 e261-269 e210. doi: 10.1016/j.jtct.2023.01.006
7. Xue Y, Prado-Martinez J, Sudmant PH, Narasimhan V, Ayub Q, Szpak M *et al.* Mountain gorilla genomes reveal the impact of long-term population decline and inbreeding. *Science* 2015; **348**(6231): 242-245. doi: 10.1126/science.aaa3952
8. Akbarali HI, Muchhala KH, Jessup DK, Cheatham S. Chemotherapy induced gastrointestinal toxicities. *Adv Cancer Res* 2022; **155**: 131-166. doi: 10.1016/bs.acr.2022.02.007

9. Ara T, Hashimoto D. Novel Insights Into the Mechanism of GVHD-Induced Tissue Damage. *Front Immunol* 2021; **12**: 713631. doi: 10.3389/fimmu.2021.713631
10. Perez-Diaz-del-Campo N, Castelnuevo G, Ribaldone DG, Caviglia GP. Fecal and Circulating Biomarkers for the Non-Invasive Assessment of Intestinal Permeability. *Diagnostics* 2023; **13**(11): 1976.
11. Dong L, Dai G, Zhao J. Impact of body mass index at diagnosis on outcomes of pediatric acute leukemia: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2024; **19**(5): e0302879. doi: 10.1371/journal.pone.0302879
12. Braidotti S, Curci D, Zanon D, Maestro A, Longo A, De Vita N *et al.* Impact of Body Mass Index on Outcomes in Pediatric Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Recipients: A Single-Center Retrospective Study. *Nutrients* 2024; **16**(21): 3638.
13. Doney K, McMillen K, Buono L, Deeg HJ, Gooley T. Impact of Body Mass Index on Outcomes of Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Adults. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; **25**(3): 613-620. e-pub ahead of print 2018/10/14; doi: 10.1016/j.bbmt.2018.10.006
14. Toenges R, Greinix H, Lawitschka A, Halter J, Baumgartner A, Simon A *et al.* Current practice in nutrition after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation - Results from a survey among hematopoietic stem cell transplant centers. *Clin Nutr* 2021; **40**(4): 1571-1577. e-pub ahead of print 2021/03/22; doi: 10.1016/j.clnu.2021.02.030
15. De Pietri S, Weischendorff S, Rathe M, Frandsen TL, Hasle H, Nersting J *et al.* Gastrointestinal barrier integrity and mucosal inflammation as risk factors of blood stream infections in children treated for acute lymphoblastic leukaemia. *Int J Cancer* 2023; **153**(9): 1635-1642. doi: 10.1002/ijc.34639
16. Weischendorff S, Kielsen K, Nederby M, Schmidt L, Burrin D, Heilmann C *et al.* Reduced Plasma Amino Acid Levels During Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Are Associated with Systemic Inflammation and Treatment-Related Complications. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; **25**(7): 1432-1440. doi: 10.1016/j.bbmt.2019.03.018
17. Broglie L, Rademaker A, Galvin J, Ray A, Tse WT, Duerst R *et al.* Fecal calprotectin and serum albumin as markers of gastrointestinal

- graft versus host disease. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2018; **11**(3): 169-174. doi: 10.1016/j.hemonc.2017.12.003
18. Wadhwani SI, Nakayuenyongsuk W, Shinn L, Chase P, Kharbanda S, Bass D *et al.* Predictive Value of Fecal Calprotectin in Pediatric Graft-Versus-Host Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2016; **63**(6): e208-e209. doi: 10.1097/MPG.0000000000001369
 19. Rashidi A, Shanley R, Holtan SG, MacMillan ML, Blazar BR, Khoruts A *et al.* Pretransplant Serum Citrulline Predicts Acute Graft-versus-Host Disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; **24**(11): 2190-2196. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.06.036
 20. Limpert R, Pan P, Wang LS, Chen X. From support to therapy: rethinking the role of nutrition in acute graft-versus-host disease. *Front Immunol* 2023; **14**: 1192084. doi: 10.3389/fimmu.2023.1192084
 21. Guzman-Leon AE, Avila-Prado J, Bracamontes-Picos LR, Haby MM, Stein K, Astiazaran-Garcia H *et al.* Nutritional interventions in children with acute lymphoblastic leukemia undergoing antineoplastic treatment: a systematic review. *BMC Nutr* 2024; **10**(1): 89. doi: 10.1186/s40795-024-00892-4
 22. Torres N, Tobon-Cornejo S, Velazquez-Villegas LA, Noriega LG, Aleman-Escondrillas G, Tovar AR. Amino Acid Catabolism: An Overlooked Area of Metabolism. *Nutrients* 2023; **15**(15). doi: 10.3390/nu15153378
 23. Beltre G, Mendez MD. Child Development. In: *StatPearls: Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Magda Mendez declares no relevant financial relationships with ineligible companies.*, 2024.
 24. O'Connor D, Bate J, Wade R, Clack R, Dhir S, Hough R *et al.* Infection-related mortality in children with acute lymphoblastic leukemia: an analysis of infectious deaths on UKALL2003. *Blood* 2014; **124**(7): 1056-1061. doi: 10.1182/blood-2014-03-560847
 25. Lund B, Asberg A, Heyman M, Kanerva J, Harila-Saari A, Hasle H *et al.* Risk factors for treatment related mortality in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Pediatr Blood Cancer* 2011; **56**(4): 551-559. doi: 10.1002/pbc.22719
 26. West ZE, Castellino SM, Monroe C, Thomas AS, McCracken C, Miller TP. Quantifying the difference in risk of adverse events by induction treatment regimen in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2021; **62**(4): 899-908. e-pub ahead of print 2020/12/02; doi: 10.1080/10428194.2020.1852471

27. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood cancer journal* 2017; **7**(6): e577. e-pub ahead of print 2017/07/01; doi: 10.1038/bcj.2017.53
28. Zawitkowska J, Lejman M, Zaucha-Prażmo A, Drabko K, Płonowski M, Bulsa J *et al.* Grade 3 and 4 Toxicity Profiles During Therapy of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *In vivo (Athens, Greece)* 2019; **33**(4): 1333-1339. e-pub ahead of print 2019/07/08; doi: 10.21873/invivo.11608
29. Giralt S, Bishop MR. Principles and overview of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Treat Res* 2009; **144**: 1-21. doi: 10.1007/978-0-387-78580-6_1
30. Wiernicka A, Matuszczyk M, Szlagatys-Sidorkiewicz A, Zagierski M, Toporowska-Kowalska E, Gebora-Kowalska B *et al.* Analysis of frequency and risk factors for complications of enteral nutrition in children in Poland after percutaneous endoscopic gastrostomy placement. *Nutrition* 2021; **89**: 111265. doi: 10.1016/j.nut.2021.111265
31. Gudauskaite G, Kairiene I, Ivaskiene T, Rascon J, Mobasher A. Therapeutic Perspectives for the Clinical Application of Umbilical Cord Hematopoietic and Mesenchymal Stem Cells: Overcoming Complications Arising After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Adv Exp Med Biol* 2023; **1409**: 111-126. doi: 10.1007/5584_2022_726
32. Peters C, Dalle JH, Locatelli F, Poetschger U, Sedlacek P, Buechner J *et al.* Total Body Irradiation or Chemotherapy Conditioning in Childhood ALL: A Multinational, Randomized, Noninferiority Phase III Study. *J Clin Oncol* 2021; **39**(4): 295-307. doi: 10.1200/JCO.20.02529
33. Al Mulla N, Kahn JM, Jin Z, Qureshi M, Karamehmet E, Yoon-Jeong Kim G *et al.* Survival Impact of Early Post-Transplant Toxicities in Pediatric and Adolescent Patients Undergoing Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Malignant and Nonmalignant Diseases: Recognizing Risks and Optimizing Outcomes. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2016; **22**(8): 1525-1530. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.05.012
34. Kyoung Min L, It, sup, gt, It, sup *et al.* Acute Complications of Pediatric Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation and

- Their Effects on Survival: A Single-Center Experience in Korea. *Clin Pediatr Hematol Oncol* 2023; **30**(1): 11-20.
35. Hierlmeier S, Eyrich M, Wolfl M, Schlegel PG, Wiegner V. Early and late complications following hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients - A retrospective analysis over 11 years. *PLoS One* 2018; **13**(10): e0204914. doi: 10.1371/journal.pone.0204914
 36. Barrett AJ, Battiwalla M. Relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Expert Rev Hematol* 2010; **3**(4): 429-441. doi: 10.1586/ehm.10.32
 37. Locatelli F, Schrappe M, Bernardo ME, Rutella S. How I treat relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2012; **120**(14): 2807-2816. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2012-02-265884>
 38. Peters C, Dalle J-H, Locatelli F, Poetschger U, Sedlacek P, Buechner J *et al.* Total Body Irradiation or Chemotherapy Conditioning in Childhood ALL: A Multinational, Randomized, Noninferiority Phase III Study. *Journal of Clinical Oncology* 2021; **39**(4): 295-307. doi: 10.1200/jco.20.02529
 39. Oskarsson T, Soderhall S, Arvidson J, Forestier E, Frandsen TL, Hellebostad M *et al.* Treatment-related mortality in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2018; **65**(4). doi: 10.1002/pbc.26909
 40. Wadhwa A, Six K, Bhatia S, Kenzik K. Hospitalization for Chemotherapy Toxicities (Chemotoxicities) during Treatment of Pediatric Hematologic Malignancies. *Blood* 2021; **138**: 3005. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2021-151015>
 41. Dahlgren D, Sjoblom M, Hellstrom PM, Lennernas H. Chemotherapeutics-Induced Intestinal Mucositis: Pathophysiology and Potential Treatment Strategies. *Front Pharmacol* 2021; **12**: 681417. doi: 10.3389/fphar.2021.681417
 42. Allaire JM, Crowley SM, Law HT, Chang SY, Ko HJ, Vallance BA. The Intestinal Epithelium: Central Coordinator of Mucosal Immunity. *Trends Immunol* 2018; **39**(9): 677-696. doi: 10.1016/j.it.2018.04.002
 43. Tena-Garitaonandia M, Arredondo-Amador M, Mascaraque C, Asensio M, Marin JJG, Martinez-Augustin O *et al.* Modulation of intestinal barrier function by glucocorticoids: Lessons from preclinical models. *Pharmacol Res* 2022; **177**: 106056. doi: 10.1016/j.phrs.2022.106056

44. de Lima MB, Gama LA, Hauschildt AT, Dall'Agnol DJR, Cora LA, Americo MF. Gastrointestinal Motility, Mucosal Mast Cell, and Intestinal Histology in Rats: Effect of Prednisone. *Biomed Res Int* 2017; **2017**: 4637621. doi: 10.1155/2017/4637621
45. Basile D, Di Nardo P, Corvaja C, Garattini SK, Pelizzari G, Lisanti C *et al.* Mucosal Injury during Anti-Cancer Treatment: From Pathobiology to Bedside. *Cancers (Basel)* 2019; **11**(6). doi: 10.3390/cancers11060857
46. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kroger N (eds). *The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*, 7th edn: Cham (CH), 2019.
47. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, Giralt S, Lazarus H, Ho V *et al.* Defining the Intensity of Conditioning Regimens: Working Definitions. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2009; **15**(12): 1628-1633. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.07.004>
48. Castilla-Llorente C, Martin PJ, McDonald GB, Storer BE, Appelbaum FR, Deeg HJ *et al.* Prognostic factors and outcomes of severe gastrointestinal GVHD after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2014; **49**(7): 966-971. e-pub ahead of print 2014/04/30; doi: 10.1038/bmt.2014.69
49. Rashidi A, Ebadi M, Rehman TU, Elhusseini H, Nalluri H, Kaiser T *et al.* Altered microbiota-host metabolic cross talk preceding neutropenic fever in patients with acute leukemia. *Blood Adv* 2021; **5**(20): 3937-3950. doi: 10.1182/bloodadvances.2021004973
50. Brooks BR, Jorgenson JA, Newhouse BJ, Shefner JM, Agnese W. Edaravone in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis: efficacy and access to therapy - a roundtable discussion. *Am J Manag Care* 2018; **24**(9 Suppl): S175-S186.
51. Cennamo F, Masetti R, Largo P, Argentiero A, Pession A, Esposito S. Update on Febrile Neutropenia in Pediatric Oncological Patients Undergoing Chemotherapy. *Children (Basel)* 2021; **8**(12). doi: 10.3390/children8121086
52. Rafei H, Jenq RR. Microbiome-intestine cross talk during acute graft-versus-host disease. *Blood* 2020; **136**(4): 401-409. doi: 10.1182/blood.2019000950
53. van der Velden WJ, Herbers AH, Netea MG, Blijlevens NM. Mucosal barrier injury, fever and infection in neutropenic patients with cancer: introducing the paradigm febrile mucositis. *Br J Haematol* 2014; **167**(4): 441-452. doi: 10.1111/bjh.13113

54. van der Velden WJ, Herbers AH, Feuth T, Schaap NP, Donnelly JP, Blijlevens NM. Intestinal damage determines the inflammatory response and early complications in patients receiving conditioning for a stem cell transplantation. *PLoS One* 2010; **5**(12): e15156. doi: 10.1371/journal.pone.0015156
55. Jacobsohn DA, Vogelsang GB. Acute graft versus host disease. *Orphanet J Rare Dis* 2007; **2**: 35. doi: 10.1186/1750-1172-2-35
56. Rattanaseksan K, Anurathapan U, Tanpowpong P. Features of gastrointestinal acute graft-versus-host disease in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2024. doi: 10.1002/jpn3.12425
57. Song Q, Nasri U, Zeng D. Steroid-Refractory Gut Graft-Versus-Host Disease: What We Have Learned From Basic Immunology and Experimental Mouse Model. *Front Immunol* 2022; **13**: 844271. doi: 10.3389/fimmu.2022.844271
58. Ferrara JL, Levy R, Chao NJ. Pathophysiologic mechanisms of acute graft-vs.-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 1999; **5**(6): 347-356. doi: 10.1016/s1083-8791(99)70011-x
59. Sougiannis AT, VanderVeen BN, Davis JM, Fan D, Murphy EA. Understanding chemotherapy-induced intestinal mucositis and strategies to improve gut resilience. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2021; **320**(5): G712-g719. e-pub ahead of print 2021/01/21; doi: 10.1152/ajpgi.00380.2020
60. Sonis ST, Elting LS, Keefe D, Peterson DE, Schubert M, Hauer-Jensen M *et al.* Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. *Cancer* 2004; **100**(9 Suppl): 1995-2025. doi: 10.1002/cncr.20162
61. He Y, Zheng J, Ye B, Dai Y, Nie K. Chemotherapy-induced gastrointestinal toxicity: Pathogenesis and current management. *Biochemical Pharmacology* 2023; **216**: 115787. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115787>
62. Rao KV, Faso A. Chemotherapy-induced nausea and vomiting: optimizing prevention and management. *American health & drug benefits* 2012; **5**(4): 232-240. e-pub ahead of print 2012/07/01;
63. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5. Published: November 27. US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute. In.

64. Ozger HS, Senol E. Use of infection biomarkers in the emergency department. *Turk J Emerg Med* 2022; **22**(4): 169-176. doi: 10.4103/2452-2473.357347
65. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Current opinion in HIV and AIDS* 2010; **5**(6): 463-466. e-pub ahead of print 2010/10/28; doi: 10.1097/COH.0b013e32833ed177
66. Biomarkers Definitions Working G. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; **69**(3): 89-95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989
67. Cummins G, Yung DE, Cox BF, Koulaouzidis A, Desmulliez MPY, Cochran S. Luminally expressed gastrointestinal biomarkers. *Expert review of gastroenterology & hepatology* 2017; **11**(12): 1119-1134. e-pub ahead of print 2017/08/30; doi: 10.1080/17474124.2017.1373017
68. Cummins G, Yung DE, Cox BF, Koulaouzidis A, Desmulliez MPY, Cochran S. Luminally expressed gastrointestinal biomarkers. *Expert review of gastroenterology & hepatology* 2017; **11**(12): 1119-1134. doi: 10.1080/17474124.2017.1373017
69. Ranjbar R, Ghasemian M, Maniati M, Khatami SH, Jamali N, Taheri-Anganeh M. Gastrointestinal disorder biomarkers. *Clinica Chimica Acta* 2022; **530**: 13-26. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.02.013>
70. Gu H, Du J, Carnevale Neto F, Carroll PA, Turner SJ, Chiorean EG *et al.* Metabolomics method to comprehensively analyze amino acids in different domains. *Analyst* 2015; **140**(8): 2726-2734. doi: 10.1039/c4an02386b
71. Su L, Li H, Xie A, Liu D, Rao W, Lan L *et al.* Dynamic changes in amino acid concentration profiles in patients with sepsis. *PLoS One* 2015; **10**(4): e0121933. doi: 10.1371/journal.pone.0121933
72. Miyagi Y, Higashiyama M, Gochi A, Akaike M, Ishikawa T, Miura T *et al.* Plasma free amino acid profiling of five types of cancer patients and its application for early detection. *PLoS One* 2011; **6**(9): e24143. doi: 10.1371/journal.pone.0024143
73. Papadopoulou MT, Panagopoulou P, Paramera E, Pechlivanis A, Virgiliou C, Papakonstantinou E *et al.* Metabolic Fingerprint in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Diagnostics (Basel)* 2024; **14**(7). doi: 10.3390/diagnostics14070682
74. Reikvam H, Bruserud O, Hatfield KJ. Pretransplant systemic metabolic profiles in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients - identification of patient subsets with increased transplant-

- related mortality. *Transplant Cell Ther* 2023; **29**(6): 375 e371-375 e314. doi: 10.1016/j.jtct.2023.03.020
75. Hisamatsu T, Ono N, Imaizumi A, Mori M, Suzuki H, Uo M *et al.* Decreased Plasma Histidine Level Predicts Risk of Relapse in Patients with Ulcerative Colitis in Remission. *PLoS One* 2015; **10**(10): e0140716. doi: 10.1371/journal.pone.0140716
 76. Nie C, He T, Zhang W, Zhang G, Ma X. Branched Chain Amino Acids: Beyond Nutrition Metabolism. *Int J Mol Sci* 2018; **19**(4). doi: 10.3390/ijms19040954
 77. Halaby MJ, McGaha TL. Amino Acid Transport and Metabolism in Myeloid Function. *Front Immunol* 2021; **12**: 695238. doi: 10.3389/fimmu.2021.695238
 78. Tome D. Amino acid metabolism and signalling pathways: potential targets in the control of infection and immunity. *Nutr Diabetes* 2021; **11**(1): 20. doi: 10.1038/s41387-021-00164-1
 79. Li M, Wu Y, Ye L. The Role of Amino Acids in Endothelial Biology and Function. *Cells* 2022; **11**(8). doi: 10.3390/cells11081372
 80. Filippi MD. Neutrophil transendothelial migration: updates and new perspectives. *Blood* 2019; **133**(20): 2149-2158. doi: 10.1182/blood-2018-12-844605
 81. Aquilani R, Zuccarelli GC, Maestri R, Boselli M, Dossena M, Baldissarro E *et al.* Essential amino acid supplementation is associated with reduced serum C-reactive protein levels and improved circulating lymphocytes in post-acute inflamed elderly patients. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2021; **35**: 20587384211036823. doi: 10.1177/20587384211036823
 82. Hong J, Liu W, Xiao X, Gajendran B, Ben-David Y. Targeting pivotal amino acids metabolism for treatment of leukemia. *Heliyon* 2024; **10**(23): e40492. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e40492
 83. Chiba T, Suzuki K, Matsumoto T. Plasma-Free Amino Acid Profiles in Crohn's Disease: Relationship With the Crohn Disease Activity Index. *Clin Med Insights Gastroenterol* 2018; **11**: 1179552218791173. doi: 10.1177/1179552218791173
 84. Whitehead NS, Williams LO, Meleth S, Kennedy SM, Ubaka-Blackmoore N, Geaghan SM *et al.* Interventions to prevent iatrogenic anemia: a Laboratory Medicine Best Practices systematic review. *Crit Care* 2019; **23**(1): 278. doi: 10.1186/s13054-019-2511-9

85. Pathirana WGW, Chubb SP, Gillett MJ, Vasikaran SD. Faecal Calprotectin. *Clin Biochem Rev* 2018; **39**(3): 77-90. e-pub ahead of print 2019/03/05;
86. Sahoo D, Seth R, Chaudhry R, Naranje P, Ahuja V, Dwivedi SN *et al.* Outcome and Determinants of Neutropenic Enterocolitis in Pediatric Cancer Patients. *J Pediatr Hematol Oncol* 2022; **44**(7): 376-382. e-pub ahead of print 2022/04/22; doi: 10.1097/mpb.0000000000002422
87. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Front Immunol* 2018; **9**: 754. doi: 10.3389/fimmu.2018.00754
88. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; **10**(5): 661-665. doi: 10.1097/00054725-200409000-00026
89. Ho KM, Lipman J. An update on C-reactive protein for intensivists. *Anaesth Intensive Care* 2009; **37**(2): 234-241. doi: 10.1177/0310057X0903700217
90. Sjoqvist C, Snarski E. Inflammatory markers in patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2013; **61**(4): 301-307. doi: 10.1007/s00005-013-0228-z
91. Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, Freireich EJ. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Annals of internal medicine* 1966; **64**(2): 328-340. e-pub ahead of print 1966/02/01; doi: 10.7326/0003-4819-64-2-328
92. Naidu MUR, Ramana GV, Rani PU, Mohan IK, Suman A, Roy P. Chemotherapy-Induced and/or Radiation Therapy-Induced Oral Mucositis-Complicating the Treatment of Cancer. *Neoplasia* 2004; **6**(5): 423-431. doi: <https://doi.org/10.1593/neo.04169>
93. Hong B-Y, Sobue T, Choquette L, Dupuy AK, Thompson A, Burleson JA *et al.* Chemotherapy-induced oral mucositis is associated with detrimental bacterial dysbiosis. *Microbiome* 2019; **7**(1): 66. doi: 10.1186/s40168-019-0679-5
94. Perales-Puchalt A, Perez-Sanz J, Payne KK, Svoronos N, Allegrezza MJ, Chaurio RA *et al.* Frontline Science: Microbiota reconstitution restores intestinal integrity after cisplatin therapy. *J Leukoc Biol* 2018; **103**(5): 799-805. e-pub ahead of print 2018/03/15; doi: 10.1002/jlb.5hi1117-446rr

95. Lathakumari RH, Vajravelu LK, Satheesan A, Ravi S, Thulukanam J. Antibiotics and the gut microbiome: Understanding the impact on human health. *Medicine in Microecology* 2024; **20**: 100106. doi: <https://doi.org/10.1016/j.medmic.2024.100106>
96. Yixia Y, Sripetchwandee J, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. The alterations of microbiota and pathological conditions in the gut of patients with colorectal cancer undergoing chemotherapy. *Anaerobe* 2021; **68**: 102361. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2021.102361>
97. Blijlevens NMA, de Mooij CEM. Mucositis and Infection in Hematology Patients. *International Journal of Molecular Sciences* 2023; **24**(11): 9592.
98. Sampaio ADS, Epifanio M, Costa CAD, Bosa VL, Benedetti FJ, Sarria EE *et al.* Evidence on nutritional assessment techniques and parameters used to determine the nutritional status of children and adolescents: systematic review. *Cien Saude Colet* 2018; **23**(12): 4209-4219. doi: 10.1590/1413-812320182312.31502016
99. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992). Supplement* 2006; **450**: 76-85. e-pub ahead of print 2006/07/05; doi: 10.1111/j.1651-2227.2006.tb02378.x
100. Bobis-Wozowicz S, Kmiotek K, Kania K, Karnas E, Labedz-Maslowska A, Sekula M *et al.* Diverse impact of xeno-free conditions on biological and regenerative properties of hUC-MSCs and their extracellular vesicles. *J Mol Med (Berl)* 2017; **95**(2): 205-220. doi: 10.1007/s00109-016-1471-7
101. Khanna D, Peltzer C, Kahar P, Parmar MS. Body Mass Index (BMI): A Screening Tool Analysis. *Cureus* 2022; **14**(2): e22119. e-pub ahead of print 2022/03/22; doi: 10.7759/cureus.22119
102. Zsakai A, Annar D, Koronczi B, Molnar K, Varro P, Toth E *et al.* A new monitoring system for nutritional status assessment in children at home. *Sci Rep* 2023; **13**(1): 4155. doi: 10.1038/s41598-023-30998-x
103. Ge KY, Chang SY. Definition and measurement of child malnutrition. *Biomedical and environmental sciences : BES* 2001; **14**(4): 283-291. e-pub ahead of print 2002/02/28;
104. Joffe L, Ladas EJ. Nutrition during childhood cancer treatment: current understanding and a path for future research. *Lancet Child Adolesc Health* 2020; **4**(6): 465-475. doi: 10.1016/S2352-4642(19)30407-9

105. Aarnivala H, Pokka T, Soininen R, Mottonen M, Harila-Saari A, Niinimäki R. Trends in age- and sex-adjusted body mass index and the prevalence of malnutrition in children with cancer over 42 months after diagnosis: a single-center cohort study. *Eur J Pediatr* 2020; **179**(1): 91-98. doi: 10.1007/s00431-019-03482-w
106. Brinksma A, Huizinga G, Sulkers E, Kamps W, Roodbol P, Tissing W. Malnutrition in childhood cancer patients: a review on its prevalence and possible causes. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012; **83**(2): 249-275. doi: 10.1016/j.critrevonc.2011.12.003
107. Sala A, Pencharz P, Barr RD. Children, cancer, and nutrition--A dynamic triangle in review. *Cancer* 2004; **100**(4): 677-687. doi: 10.1002/cncr.11833
108. Nidhi S, Ekta C, Maya P. The importance of enteral nutrition to prevent or treat undernutrition in children undergoing treatment for cancer. *Pediatr Blood Cancer* 2021; **68**(3): e28724. doi: 10.1002/pbc.28724
109. Polubok J, Malczewska A, Rapala M, Szymocha J, Kozicka M, Dubienska K *et al.* Nutritional status at the moment of diagnosis in childhood cancer patients. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab* 2017; **23**(2): 77-82. doi: 10.18544/PEDM-23.02.0077
110. Lee SL-K, Nguyen Q-N, Ho C, James S, Kaur A, Lim A *et al.* The Late Effects of Hematopoietic Stem Cell Transplants in Pediatric Patients: A 25-Year Review. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2024. doi: 10.1210/clinem/dgae196
111. Inaba H, Yang J, Kaste SC, Hartford CM, Motosue MS, Chemaitilly W *et al.* Longitudinal changes in body mass and composition in survivors of childhood hematologic malignancies after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2012; **30**(32): 3991-3997. doi: 10.1200/JCO.2011.40.0457
112. Morello E, Guarinoni MG, Arena F, Andreoli M, Bernardi S, Malagola M *et al.* A Systematic Review of the Literature and Perspectives on the Role of Biomarkers in the Management of Malnutrition After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol* 2020; **11**: 535890. doi: 10.3389/fimmu.2020.535890
113. Zama D, Muratore E, Biagi E, Forchielli ML, Rondelli R, Candela M *et al.* Enteral nutrition protects children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from blood stream infections. *Nutr J* 2020; **19**(1): 29. doi: 10.1186/s12937-020-00537-9

114. Rogers PC, Barr RD. The relevance of nutrition to pediatric oncology: A cancer control perspective. *Pediatr Blood Cancer* 2020; **67 Suppl 3**: e28213. doi: 10.1002/pbc.28213
115. Lee JH, Suh OK, Lee MG. Pharmacokinetic changes in drugs during protein-calorie malnutrition: correlation between drug metabolism and hepatic microsomal cytochrome P450 isozymes. *Arch Pharm Res* 2004; **27**(7): 693-712. doi: 10.1007/BF02980136
116. Orgel E, Sposto R, Malvar J, Seibel NL, Ladas E, Gaynon PS *et al*. Impact on survival and toxicity by duration of weight extremes during treatment for pediatric acute lymphoblastic leukemia: A report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2014; **32**(13): 1331-1337. doi: 10.1200/JCO.2013.52.6962
117. Orgel E, Genkinger JM, Aggarwal D, Sung L, Nieder M, Ladas EJ. Association of body mass index and survival in pediatric leukemia: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2016; **103**(3): 808-817. doi: 10.3945/ajcn.115.124586
118. Cohen J, Collins L, Gregerson L, Chandra J, Cohn RJ. Nutritional concerns of survivors of childhood cancer: A "First World" perspective. *Pediatr Blood Cancer* 2020; **67 Suppl 3**: e28193. doi: 10.1002/pbc.28193
119. Loeffen EA, Brinksma A, Miedema KG, de Bock GH, Tissing WJ. Clinical implications of malnutrition in childhood cancer patients--infections and mortality. *Support Care Cancer* 2015; **23**(1): 143-150. doi: 10.1007/s00520-014-2350-9
120. Diakatou V, Vassilakou T. Nutritional Status of Pediatric Cancer Patients at Diagnosis and Correlations with Treatment, Clinical Outcome and the Long-Term Growth and Health of Survivors. *Children (Basel)* 2020; **7**(11). doi: 10.3390/children7110218
121. Amankwah EK, Saenz AM, Hale GA, Brown PA. Association between body mass index at diagnosis and pediatric leukemia mortality and relapse: a systematic review and meta-analysis. *Leuk Lymphoma* 2016; **57**(5): 1140-1148. doi: 10.3109/10428194.2015.1076815
122. Butturini AM, Dorey FJ, Lange BJ, Henry DW, Gaynon PS, Fu C *et al*. Obesity and outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2007; **25**(15): 2063-2069. doi: 10.1200/JCO.2006.07.7792
123. Egnell C, Heyman M, Jonsson OG, Raja RA, Niinimäki R, Albertsen BK *et al*. Obesity as a predictor of treatment-related toxicity in

- children with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2022; **196**(5): 1239-1247. doi: 10.1111/bjh.17936
124. Andersen S, Banks M, Brown T, Weber N, Kennedy G, Bauer J. Nutrition support during allogeneic stem cell transplantation: evidence versus practice. *Support Care Cancer* 2020; **28**(11): 5441-5447. doi: 10.1007/s00520-020-05397-x
 125. Goussetis E, Paisiou A, Kitra V, Peristeri I, Vessalas G, Stefanaki K *et al.* Acute gastrointestinal graft-versus-host disease in pediatric patients: serum albumin on day 5 from initiation of therapy correlates with nonrelapse mortality and overall survival. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; **17**(7): 1058-1066. doi: 10.1016/j.bbmt.2010.11.005
 126. Kerby EH, Li Y, Getz KD, Smith EC, Smith LT, Bunin NJ *et al.* Nutritional risk factors predict severe acute graft-versus-host disease and early mortality in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 2018; **65**(2). doi: 10.1002/pbc.26853
 127. Rezvani AR, Storer BE, Storb RF, Mielcarek M, Maloney DG, Sandmaier BM *et al.* Decreased serum albumin as a biomarker for severe acute graft-versus-host disease after reduced-intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; **17**(11): 1594-1601. doi: 10.1016/j.bbmt.2011.07.021
 128. Aplenc R, Zhang MJ, Sung L, Zhu X, Ho VT, Cooke K *et al.* Effect of body mass in children with hematologic malignancies undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 2014; **123**(22): 3504-3511. doi: 10.1182/blood-2013-03-490334
 129. Khuat LT, Vick LV, Choi E, Dunai C, Merleev AA, Maverakis E *et al.* Mechanisms by Which Obesity Promotes Acute Graft-Versus-Host Disease in Mice. *Front Immunol* 2021; **12**: 752484. doi: 10.3389/fimmu.2021.752484
 130. Paviglianiti A, Dalle JH, Ayas M, Boelens JJ, Volt F, Iori AP *et al.* Low Body Mass Index Is Associated with Increased Risk of Acute GVHD after Umbilical Cord Blood Transplantation in Children and Young Adults with Acute Leukemia: A Study on Behalf of Eurocord and the EBMT Pediatric Disease Working Party. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; **24**(4): 799-805. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.12.790
 131. Calcaterra V, Regalbuto C, Porri D, Pelizzo G, Mazzon E, Vinci F *et al.* Inflammation in Obesity-Related Complications in Children: The Protective Effect of Diet and Its Potential Role as a Therapeutic Agent. *Biomolecules* 2020; **10**(9). doi: 10.3390/biom10091324

132. Frederick RC, Hamann A, Anderson S, Lollmann B, Lowell BB, Flier JS. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med* 1995; **1**(12): 1311-1314. doi: 10.1038/nm1295-1311
133. Myles IA. Fast food fever: reviewing the impacts of the Western diet on immunity. *Nutr J* 2014; **13**: 61. doi: 10.1186/1475-2891-13-61
134. Muscogiuri G, Pugliese G, Laudisio D, Castellucci B, Barrea L, Savastano S *et al.* The impact of obesity on immune response to infection: Plausible mechanisms and outcomes. *Obes Rev* 2021; **22**(6): e13216. doi: 10.1111/obr.13216
135. Carbone F, La Rocca C, Matarese G. Immunological functions of leptin and adiponectin. *Biochimie* 2012; **94**(10): 2082-2088. doi: 10.1016/j.biochi.2012.05.018
136. Ghanim H, Aljada A, Hofmeyer D, Syed T, Mohanty P, Dandona P. Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state. *Circulation* 2004; **110**(12): 1564-1571. doi: 10.1161/01.CIR.0000142055.53122.FA
137. Cunningham-Rundles S, McNeeley DF, Moon A. Mechanisms of nutrient modulation of the immune response. *J Allergy Clin Immunol* 2005; **115**(6): 1119-1128; quiz 1129. doi: 10.1016/j.jaci.2005.04.036
138. D'Amico F, Biagi E, Rampelli S, Fiori J, Zama D, Soverini M *et al.* Enteral Nutrition in Pediatric Patients Undergoing Hematopoietic SCT Promotes the Recovery of Gut Microbiome Homeostasis. *Nutrients* 2019; **11**(12). doi: 10.3390/nu11122958
139. Turroni S, Brigidi P, Cavalli A, Candela M. Microbiota-Host Transgenomic Metabolism, Bioactive Molecules from the Inside. *J Med Chem* 2018; **61**(1): 47-61. doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b00244
140. Mathewson ND, Jenq R, Mathew AV, Koenigsnecht 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): 505-513. doi: 10.1038/ni.3400
141. Rios-Covian D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Gueimonde M, de Los Reyes-Gavilan CG, Salazar N. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. *Front Microbiol* 2016; **7**: 185. doi: 10.3389/fmicb.2016.00185
142. Duncan CN, Vrooman L, Apfelbaum EM, Whitley K, Bechard L, Lehmann LE. 25-hydroxy vitamin D deficiency following pediatric hematopoietic stem cell transplant. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; **17**(5): 749-753. doi: 10.1016/j.bbmt.2010.10.009

143. Khandelwal P, Langenberg L, Luebbering N, Lake KE, Butcher A, Bota K *et al.* A randomized phase 2 trial of oral vitamin A for graft-versus-host disease in children and young adults. *Blood* 2024; **143**(12): 1181-1192. doi: 10.1182/blood.2023022865
144. Zheng J, Taylor B, Chen X. Role of Vitamin A in Modulating Graft-versus-Host Disease. *J Immunol Res Ther* 2018; **3**(1): 124-128.
145. Pham VT, Dold S, Rehman A, Bird JK, Steinert RE. Vitamins, the gut microbiome and gastrointestinal health in humans. *Nutr Res* 2021; **95**: 35-53. doi: 10.1016/j.nutres.2021.09.001
146. Bradley M, Melchor J, Carr R, Karjoo S. Obesity and malnutrition in children and adults: A clinical review. *Obes Pillars* 2023; **8**: 100087. doi: 10.1016/j.obpill.2023.100087
147. Keller U. Nutritional Laboratory Markers in Malnutrition. *Journal of Clinical Medicine* 2019; **8**(6): 775.
148. Felder S, Braun N, Stanga Z, Kulkarni P, Faessler L, Kutz A *et al.* Unraveling the Link between Malnutrition and Adverse Clinical Outcomes: Association of Acute and Chronic Malnutrition Measures with Blood Biomarkers from Different Pathophysiological States. *Ann Nutr Metab* 2016; **68**(3): 164-172. doi: 10.1159/000444096
149. Rauschert S, Uhl O, Koletzko B, Hellmuth C. Metabolomic biomarkers for obesity in humans: a short review. *Ann Nutr Metab* 2014; **64**(3-4): 314-324. doi: 10.1159/000365040
150. Ong C, Han WM, Wong JJ, Lee JH. Nutrition biomarkers and clinical outcomes in critically ill children: A critical appraisal of the literature. *Clin Nutr* 2014; **33**(2): 191-197. doi: 10.1016/j.clnu.2013.12.010
151. Bugajska J, Berska J, Wojcik M, Sztefko K. Amino acid profile in overweight and obese prepubertal children - can simple biochemical tests help in the early prevention of associated comorbidities? *Front Endocrinol (Lausanne)* 2023; **14**: 1274011. doi: 10.3389/fendo.2023.1274011
152. Jini P, Prasad A, Lomash A, Bhardwaj N, Singh R, Agrawal A *et al.* Aminoacid Profiling of Children with Severe Acute Malnutrition Pre and Post Nutritional Rehabilitation. *Indian J Clin Biochem* 2022; **37**(1): 93-99. e-pub ahead of print 2022/02/08; doi: 10.1007/s12291-020-00926-1
153. Koninckx CR, Donat E, Benninga MA, Broekaert IJ, Gottrand F, Kolho KL *et al.* The Use of Fecal Calprotectin Testing in Paediatric Disorders: A Position Paper of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition Gastroenterology Committee. *J*

- Pediatr Gastroenterol Nutr* 2021; **72**(4): 617-640. doi: 10.1097/MPG.0000000000003046
154. Park SY, Kim WJ. A Study of Fecal Calprotectin in Obese Children and Adults. *J Obes Metab Syndr* 2018; **27**(4): 233-237. doi: 10.7570/jomes.2018.27.4.233
 155. Kant P, Fazakerley R, Hull MA. Faecal calprotectin levels before and after weight loss in obese and overweight subjects. *International Journal of Obesity* 2013; **37**(2): 317-319. doi: 10.1038/ijo.2012.38
 156. Wierchowska-McNew RA, Engelen MPKJ, Thaden JJ, ten Have GAM, Deutz NEP. Obesity- and sex-related metabolism of arginine and nitric oxide in adults. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2022; **116**(6): 1610-1620. doi: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqac277>
 157. Mattar L, Nguyen L, Duquesnoy M, Melchoir JC, Fayssoil A, Hanachi M. Is serum citrulline a good marker of hemodynamic status in malnourished patients with anorexia nervosa? *Clinical Nutrition ESPEN* 2023; **58**: 527-528. doi: 10.1016/j.clnesp.2023.09.304
 158. Gustaite S, Everatt V, Kairiene I, Vaisnora R, Rascon J, Vaitkeviciene GE. Changes in Nutritional Status during Induction Phase and Their Association with Fever and Minimal Residual Disease in Paediatric Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Medicina (Kaunas)* 2023; **59**(6). doi: 10.3390/medicina59061008
 159. Kairiene I, Vaisvilas M, Vasciunaite A, Tubutyte G, Nedzelskiene I, Pasauliene R *et al.* Impact of percutaneous endoscopic gastrostomy on pediatric bone marrow transplantation outcomes: Retrospective single-center cohort study. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2023; **47**(3): 390-398. doi: 10.1002/jpen.2479
 160. 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
 161. Gupta A, Eisenhauer EA, Booth CM. The Time Toxicity of Cancer Treatment. *Journal of Clinical Oncology* 2022; **40**(15): 1611-1615. doi: 10.1200/jco.21.02810
 162. Sessenwein JL, Baker CC, Pradhananga S, Maitland ME, Petrof EO, Allen-Vercos E *et al.* Protease-Mediated Suppression of DRG Neuron Excitability by Commensal Bacteria. *J Neurosci* 2017; **37**(48): 11758-11768. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1672-17.2017
 163. Koo J, Ziady AG, Reynaud D, Abdullah S, Luebbering N, Kahn S *et al.* Increased Body Mass Index Augments Endothelial Injury and

- Clinical Outcomes after Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplant Cell Ther* 2023; **29**(11): 704 e701-704 e708. doi: 10.1016/j.jtct.2023.08.022
164. Braidotti S, Curci D, Zanon D, Maestro A, Longo A, De Vita N *et al*. Impact of Body Mass Index on Outcomes in Pediatric Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Recipients: A Single-Center Retrospective Study. *Nutrients* 2024; **16**(21). doi: 10.3390/nu16213638
 165. Nakao M, Chihara D, Niimi A, Ueda R, Tanaka H, Morishima Y *et al*. Impact of being overweight on outcomes of hematopoietic SCT: a meta-analysis. *Bone Marrow Transplant* 2014; **49**(1): 66-72. doi: 10.1038/bmt.2013.128
 166. Yan M, Pan J, Huang J, Liu C, Xia X, Zhu T *et al*. Weight loss in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation within the first 100 days: Its influencing factors and impact on clinical outcomes. *Front Nutr* 2022; **9**: 974389. doi: 10.3389/fnut.2022.974389
 167. Woods T, Tariman JD, Lee YM. Enteral and Parenteral Nutrition: An Integrative Literature Review on Nutrition in Pediatric Recipients of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Clin J Oncol Nurs* 2019; **23**(4): 351-354. doi: 10.1188/19.CJON.351-354
 168. Andersen S, Kennedy G, Banks M. A randomised controlled comparison of enteral versus parenteral nutritional support post allogeneic haematopoietic cell transplantation. *Clin Nutr ESPEN* 2015; **10**(3): e102-e106. doi: 10.1016/j.clnesp.2015.04.001
 169. Guieze R, Lemal R, Cabrespine A, Hermet E, Tournilhac O, Combal C *et al*. Enteral versus parenteral nutritional support in allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation. *Clin Nutr* 2014; **33**(3): 533-538. doi: 10.1016/j.clnu.2013.07.012
 170. Evans JC, Hirani SP, Needle JJ. Nutritional and Post-Transplantation Outcomes of Enteral versus Parenteral Nutrition in Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Systematic Review of Randomized and Nonrandomized Studies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; **25**(8): e252-e259. doi: 10.1016/j.bbmt.2019.02.023
 171. Garofolo A. Enteral nutrition during bone marrow transplantation in patients with pediatric cancer: a prospective cohort study. *Sao Paulo Med J* 2012; **130**(3): 159-166. doi: 10.1590/s1516-31802012000300005
 172. Andersen S, Weber N, Kennedy G, Brown T, Banks M, Bauer J. Tolerability of proactive enteral nutrition post allogeneic

- haematopoietic progenitor cell transplant: A randomised comparison to standard care. *Clin Nutr* 2020; **39**(5): 1364-1370. doi: 10.1016/j.clnu.2019.06.012
173. Arends J, Bachmann P, Baracos V, Barthelemy N, Bertz H, Bozzetti F *et al.* ESPEN guidelines on nutrition in cancer patients. *Clin Nutr* 2017; **36**(1): 11-48. doi: 10.1016/j.clnu.2016.07.015
 174. Zhang E, Capponi S, Scobell R, Alonzi G, Hlobik M, Daga A *et al.* Real-world application of the pediatric Glucocorticoid Toxicity Index in childhood-onset lupus. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 2024; **68**: 152516. doi: <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2024.152516>
 175. Daughtrey HR, Ruiz MO, Felix N, Saynina O, Sanders LM, Anand KJS. Incidence of mental health conditions following pediatric hospital admissions: analysis of a national database. *Front Pediatr* 2024; **12**: 1344870. e-pub ahead of print 2024/03/07; doi: 10.3389/fped.2024.1344870
 176. Gustinetti G, Mikulska M. Bloodstream infections in neutropenic cancer patients: A practical update. *Virulence* 2016; **7**(3): 280-297. doi: 10.1080/21505594.2016.1156821
 177. Appel IM, Kazemier KM, Boos J, Lanvers C, Huijmans J, Veerman AJ *et al.* Pharmacokinetic, pharmacodynamic and intracellular effects of PEG-asparaginase in newly diagnosed childhood acute lymphoblastic leukemia: results from a single agent window study. *Leukemia* 2008; **22**(9): 1665-1679. doi: 10.1038/leu.2008.165
 178. Bollino DR, Claiborne JP, Mahmood K, Ma X, Tighe KM, Cooper B *et al.* Comprehensive Plasma Amino Acid Analysis Following Administration of Short- and Long-Acting Erwinia Asparaginase (Crisantaspase) Demonstrated Significant Increase in Plasma Serine and Glycine Levels. *Blood* 2022; **140**(Supplement 1): 8809-8810. doi: 10.1182/blood-2022-162726
 179. Komatsubara K, Dunn TJ, Lee DJ, Coutre SE, Berube C, Gotlib J *et al.* Change In Albumin Levels During Induction Predicts Survival Outcomes In Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood* 2013; **122**(21): 1403. doi: <https://doi.org/10.1182/blood.V122.21.1403.1403>
 180. Malik MN, Rafae A, Durer C, Durer S, Anwer F. Fecal Calprotectin as a Diagnostic and Prognostic Biomarker for Gastrointestinal Graft Versus Host Disease: A Systematic Review of Literature. *Cureus* 2019; **11**(2): e4143. doi: 10.7759/cureus.4143
 181. Herbers AH, Feuth T, Donnelly JP, Blijlevens NM. Citrulline-based assessment score: first choice for measuring and monitoring intestinal

- failure after high-dose chemotherapy. *Ann Oncol* 2010; **21**(8): 1706-1711. doi: 10.1093/annonc/mdp596
182. Saitoh W, Takada S, Hirao J, Shirai M, Iguchi T, Tsuji M *et al*. Plasma citrulline is a sensitive safety biomarker for small intestinal injury in rats. *Toxicol Lett* 2018; **295**: 416-423. doi: 10.1016/j.toxlet.2018.07.009
 183. Fragkos KC, Forbes A. Citrulline as a marker of intestinal function and absorption in clinical settings: A systematic review and meta-analysis. *United European Gastroenterol J* 2018; **6**(2): 181-191. doi: 10.1177/2050640617737632
 184. Herbers AH, Blijlevens NM, Donnelly JP, de Witte TJ. Bacteraemia coincides with low citrulline concentrations after high-dose melphalan in autologous HSCT recipients. *Bone Marrow Transplant* 2008; **42**(5): 345-349. doi: 10.1038/bmt.2008.170
 185. von Roon AC, Karamountzos L, Purkayastha S, Reese GE, Darzi AW, Teare JP *et al*. Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. *The American journal of gastroenterology* 2007; **102**(4): 803-813. e-pub ahead of print 2007/02/28; doi: 10.1111/j.1572-0241.2007.01126.x
 186. Hueso T, Gauthier J, Joncquel Chevalier-Curt M, Magro L, Coiteux V, Dulery R *et al*. Association Between Low Plasma Level of Citrulline Before Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation and Severe Gastrointestinal Graft vs Host Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2018; **16**(6): 908-917 e902. doi: 10.1016/j.cgh.2017.12.024
 187. Balakrishnan B, Kulkarni UP, Pai AA, Illangeswaran RSS, Mohanan E, Mathews V *et al*. Biomarkers for early complications post hematopoietic cell transplantation: Insights and challenges. *Front Immunol* 2023; **14**: 1100306. doi: 10.3389/fimmu.2023.1100306
 188. DeFilipp Z, Kim HT, Spyrou N, Katsivelos N, Kowalyk S, Eng G *et al*. The MAGIC algorithm probability predicts treatment response and long-term outcomes to second-line therapy for acute GVHD. *Blood Adv* 2024; **8**(13): 3488-3496. doi: 10.1182/bloodadvances.2024012561
 189. Srinagesh HK, Ozbek U, Kapoor U, Ayuk F, Aziz M, Ben-David K *et al*. The MAGIC algorithm probability is a validated response biomarker of treatment of acute graft-versus-host disease. *Blood Adv* 2019; **3**(23): 4034-4042. doi: 10.1182/bloodadvances.2019000791
 190. Rodriguez-Otero P, Porcher R, Peffault de Latour R, Contreras M, Bouhnik Y, Xhaard A *et al*. Fecal calprotectin and alpha-1 antitrypsin predict severity and response to corticosteroids in gastrointestinal

- graft-versus-host disease. *Blood* 2012; **119**(24): 5909-5917. doi: 10.1182/blood-2011-12-397968
191. Fürst P. Basics in clinical nutrition: Proteins and amino acids. *European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* 2009; **4**(2): e62-e65. doi: 10.1016/j.eclnm.2008.07.010
192. Ferrari A, Brecht IB, Gatta G, Schneider DT, Orbach D, Cecchetto G *et al.* Defining and listing very rare cancers of paediatric age: consensus of the Joint Action on Rare Cancers in cooperation with the European Cooperative Study Group for Pediatric Rare Tumors. *Eur J Cancer* 2019; **110**: 120-126. doi: 10.1016/j.ejca.2018.12.031

PRIEDAI

1 priedas. ŪLL indukcijos gydymas

Visi pacientai buvo gydomi pagal *ALLTogether Pilot* arba *Master* chemoterapijos protokolus (jų metu indukcijos gydymas nesiskyrė). Indukcijos metu vaikai buvo suskirstyti į skirtingas rizikos grupes:

- (A) standartinės rizikos grupei (B-ŪLL, amžius diagnozuojant <10 metų ir leukocitų skaičius $<50 \times 10^9/l$) buvo skiriama deksametazono (6 mg/m² 1–28 dienomis, dozę palaipsniui mažinant), vinkristino (1,5 mg/m², didžiausia vienkartinė dozė 2 mg 1, 8, 15 ir 22 dienomis), PEG-asparaginazė (1500 TV/m² dozė 4 ir 18 dienomis) ir intratekaliniai medikamentai pagal amžių ir centrinės nervų sistemos pažeidimą.

	Induction A (NCI Standard Risk BCP patients)																											
Week	1							2							3							4						
Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Dexa 6 mg/m ²																												
VCR 1.5 mg/m ²																												
PEG-Asp 1500 IU/m ² TDM																												
IT according to CNS/age																												

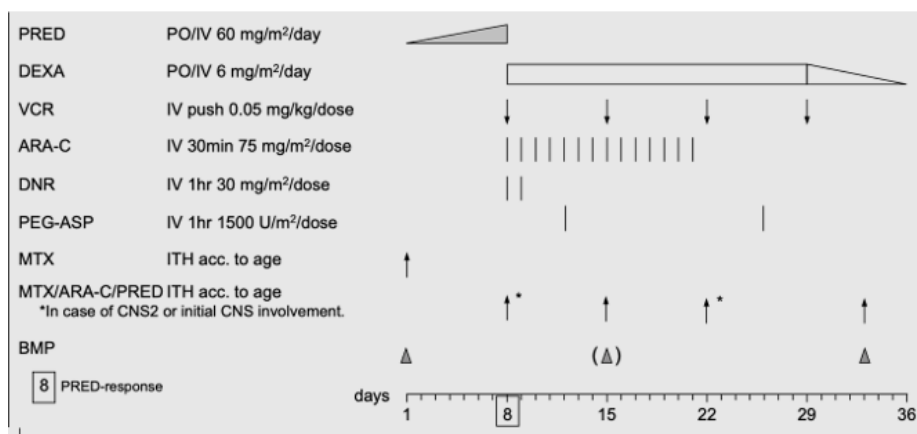
*CNS2/3/4/5+ (see above and CNS-algorithm)

- (B) didelės rizikos grupei (visi T-ALL, B-ALL, amžius ≥10 metų ir (arba) leukocitų skaičius $\geq 50 \times 10^9/l$) papildomai buvo skiriama daunorubicino (25 mg/m² dozė 1, 8, 15, 22 dienomis).

	Induction B (NCI High Risk/T-cell patients)																											
Week	1							2							3							4						
Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Dexa 6 mg/m ²																												
VCR 1.5 mg/m ²																												
DNR 25 mg/m ²																												
PEG-Asp 1500/1000 IU/m ² TDM																												
IT according to CNS/age																												

- (C) pacientams, sergantiems Dauno sindromu, skirta indukcija D (vietoj deksametazono jie vartojo 40 mg/m² prednizolono 1–28 dienomis; 16 dieną pagal *ALLTogether Pilot* protokolą buvo pridėta 45 mg/m² daunorubicino).

- (D) 5 mėnesių kūdikis buvo gydomas pagal *Interfant-21* protokolą. Jam buvo skiriama deksametazono (6 mg/m^2) 28 dienas, vėliau dozę mažinant, vinkristino kas savaitę, dvi daunorubicino dozės, citarabino 14 dienų kasdien, dvi PEG-asparaginazės dozės kas 14 dienų ir intratekalinio metotreksato, citarabino bei metilprednizolono.



2 priedas. Pacientų, kuriems atlikta aloKKLT, gydymas

1 lentelė. Paruošiamojo režimo preparatai prieš aloKKLT atsižvelgiant į pagrindinę ligą

Diagnozė	Kondicionavimas
ŪML; MDS su transformacija į ŪML	Busulfanas 3,2–4 mg/kg (4 dienas) Ciklofosfamidą 60 mg/kg (2 dienas) Melfalanas 140 mg/m ² (1 dieną) Timoglobulinas 2,5 mg/kg (3 dienas) (kai donoras negiminingas)
ŪLL, kai negalima taikyti viso kūno apšvitos	Busulfanas 3,2–4 mg/kg (4 dienas) Etopozidas 40 mg/kg (1 dieną) Ciklofosfamidą 60 mg/kg (2 dienas) Timoglobulinas 2,5 mg/kg (3 dienas) (kai donoras negiminingas)
ŪLL	Viso kūno apšvita 2Gy×2 (3 dienos) Etopozidas 60 mg/kg (1 diena) Timoglobulinas 2,5 mg/kg (3 dienas) (kai donoras negiminingas)
Imunodeficitas	Treosulfanas 10–14 g/m ² (3 dienas) Fludarabinas 30 mg/m ² (5 dienas) Alemtuzumabas 0,2 mg/kg (5 dienas)
AA	Fludarabinas 30 mg/m ² (4 dienas) Ciklofosfamidą 750 mg/m ² (4 dienas) Alemtuzumabas 0,3 mg/kg (5 dienas)
Hodžkino limfoma	Fludarabinas 30 mg/m ² (3 dienas) Ciklofosfamidą 60mg/kg (1 dieną) Tiotepa 100 mg/m ² (1 dieną) Timoglobulinas 2,5 mg/kg (3 dienas) (kai donoras negiminingas)
MDS su hipolasteliniais kaulų čiulpais	Fludarabinas 40 mg/m ² (4 dienas) Tiotepa 5 mg/kg (3 dienas) Timoglobulinas 2,5 mg/kg (3 dienas) (kai donoras negiminingas)
MDS su monosomija 7	Klofarabinas 30mg/m ² (4 dienas) Flufarabinas 10mg/m ² (4 dienas) Busulfanas 3mg/kg (4 dienas)

Paaiškinimai: AA – aplazinė anemija, MDS – mielodisplazinis sindromas, ŪML – ūminė mieloblastinė leukemija, ŪLL – ūminė limfoblastinė leukemija.

Standartinis imuninės sistemos slopinimas buvo užtikrintas skiriant ciklosporino (1,5 mg/kg du kartus per dieną) titruojant dozę pagal koncentraciją kraujyje ir metotreksato 10 mg/m² 1, 3 ir 6 dienomis po transplantacijos.

3 priedas. Vaikų KMI z įverčio interpretacija pagal amžiaus grupes

Pagal PSO, antsvorio ir nutukimo apibrėžimai skiriasi atsižvelgiant į vaikų amžių.

	Antsvoris	Nutukimas
	<5 metai	
KMI z įvertis	>2 SD	>3 SD
	>5 metai	
KMI z įvertis	>1 SD	>2 SD

SD – standartinis nuokrypis

Kad apibrėžimai būtų nuoseklūs, antsvorio / nutukimo būklę apibrėžėme kaip KMI z įvertį >2. Per mažas kūno svoris visiems vaikams buvo apibrėžiamas kaip KMI z įvertis <-2.

ABSTRACT

Abbreviations and definitions

AA	amino acids
aGvHD	acute graft versus host disease
aHSCT	allogeneic hematopoietic stem cell transplantation
ALL	acute lymphoblastic leukemia
BMI	body mass index
CRP	C-reactive protein
EBMT	European Society for Blood and Marrow Transplantation
fCLP	fecal calprotectin
GI	gastrointestinal tract
ID	intestinal damage
IQR	interquartile range
MAC	myeloablative conditioning
MDS	myelodysplastic syndrome
MSD	matched sibling donor
MUD	matched unrelated donor
NOPHO	Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology
OR	odds ratio
PEG	percutaneous endoscopic gastrostomy
RIC	reduced intensity conditioning
SD	standard deviation
VUHSK	Vilnius University Hospital Santaros Klinikos Center for Pediatric Oncology and Hematology
WHO	World Health Organization

Induction	The first month of treatment for ALL, the aim of which is to destroy most of the blasts and achieve remission.
Conditioning	A preparatory chemotherapy treatment before aHSCT to empty the bone marrow in order to prepare a niche for donor stem cells and to destroy residual malignant cell

1. INTRODUCTION

1.1. Relevance

The outcomes of pediatric blood and cancer diseases have been steadily improving; however, mortality due to drug-induced toxicity remains one of the most important causes of treatment failure. Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common pediatric oncological disease, which outcome is dependent on the development of toxic complications. At the Center for Pediatric Oncology and Hematology at Vilnius University Hospital Santaros Clinics (VUHSK), the 5-year survival rate of children with ALL has improved more than 10% during the last decade and exceeds 90%. Treatment-related mortality during ALL induction has decreased to 2%. However, the likelihood of at least one adverse event during induction remains as high as 70%.

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (aHSCT) is an important treatment option for pediatric leukemia and severe blood diseases. It is used when other therapies are not effective. The 10-year survival rate after aHSCT is 70-92%, depending on the diagnosis; however, mortality due to post-transplant toxicity at two years remains almost 16%. More than three adverse events have been associated with an increased risk of mortality.

The intestinal tract is particularly vulnerable to cytostatic drugs due to the sensitivity of rapidly dividing mucosal cells. Intestinal tract damage is one of the most common complications, described in 60-100% of patients receiving high-dose chemotherapy. The development of intestinal damage (ID) often interferes with further treatment: drug resorption is altered, the likelihood of bacterial translocation into the bloodstream increases, the local immune response is impaired, severe pain syndrome increases the need for analgesics (with a concomitant increase in the risk of drug-drug interactions), which often leads to a temporary suspension of treatment, interruption of enteral nutrition, and disrupted microbiota. Disruption of the intestinal environment is also one of the primary pathophysiological steps in acute graft-versus-host disease (aGVHD), which is one of the most severe posttransplant complications. Therefore, it is crucial to understand the trends of ID in specific groups of children with oncohematological diseases to find markers for the early diagnosis of ID, and to clarify their correlation with tests used in daily practice. Early diagnosis of ID could help to identify patients at higher risk of complications so that earlier preventive measures could be taken (e.g., earlier administration of antimicrobial therapy or adjustment of immunosuppressive therapy for possible aGvHD). On the other hand, children without ID could

potentially avoid excessive medical treatment, thus better protecting their microbiota. The search for biomarkers has been carried out in different samples (blood, urine, feces) to find invasive and non-invasive biomarkers.

Inadequate nutrition also increases the risk of treatment-related complications and contributes to poorer survival outcomes, both during ALL treatment and after aHSCT. Clinical observations at VUHSK suggest that nutritional status in children is associated with the rate of treatment-related complications and that weight loss is more common in adolescence, with the highest incidence of complications in this age group. A retrospective analysis was performed to confirm these observations, involving a larger number of subjects divided into three age groups. These results complemented the findings of the prospective analysis, which revealed an association between nutritional status, ID, and biomarker levels. Most treatment centers now recognize and implement a complete diet rather than a neutropenic diet; however, there is still a lack of general guidelines on nutrition after transplantation. The current VUHSK institutional guideline also suggests the routine administering of parenteral nutrition to all children from the first post-transplant day. This research advocates for enteral nutrition and changing the current recommendations.

1.2. Novelty and practical significance

- This is the first study investigating a wide range of amino acids (AA) and fecal calprotectin (fCLP) concentrations at regular time intervals, including routine laboratory parameters such as C-reactive protein (CRP), albumin, urea, and absolute neutrophil count (ANC).
- The study population consists solely of children, ensuring the findings accurately reflect the pathophysiology of complications in this group.
- The study included two different subgroups: children treated for ALL and aHSCT recipients. Thus, it was possible to assess the changes of biomarkers under the influence of different factors: during ALL induction, the main factors are high dose glucocorticosteroids and cytostatics, while after aHSCT, an additional immunological component is added, i.e. the use of drugs for the prophylaxis of aGvHD, and allogeneic lymphocytes themselves
- Biomarker monitoring was carried out weekly over a prolonged period.
- The study analyzed the role of nutrition in the development of ID and in the interpretation of biomarker results.

- The study also considered children's age as a potential risk factor for the development of ID.

The results of this study provide new insights into the extent of ID during ALL induction and after aHSCT and provide important insights for clinicians on the potential use of new biomarkers in routine practice for early diagnosis of ID. The findings highlight the impact of nutritional status on both ID and biomarker levels and support new dietary recommendations for children during ALL treatment and after HSCT, emphasizing the importance of enteral nutrition.

1.3. Aim of the work

The study aimed to determine the ID pattern in children during ALL induction and after aHSCT, find biomarkers for early diagnosis of ID, and assess the impact of nutritional status and age on both ID and biomarker levels.

1.4. Objectives

1. Retrospectively assess changes in nutritional status in children of different age groups during ALL induction and after aHSCT.
2. To assess the incidence of ID and the association with neutropenia during ALL induction and after aHSCT.
3. To assess the impact of nutritional status and age on ID during ALL induction and after aHSCT.
4. To compare biomarker levels in children who developed ID with those who did not during the induction of ALL and after aHSCT.
5. To assess the impact of nutritional status and age on biomarker concentrations.

1.5. Statements to be defended

1. During the ALL induction and post-transplant period, the nutritional status of the children is related to their age.
2. ID is related to the child's age and nutritional status but not to neutropenia.
3. In children, the development of ID during ALL induction and after aHSCT is associated with changes in blood biomarkers and fecal calprotectin levels, therefore systematic and regular monitoring can help to diagnose the early onset of ID.
4. The biomarker level is associated to the child's nutritional status and age.

2. METHODS

2.1. Subjects and study design

The study consisted of retrospective and prospective analyses (Fig. 1).

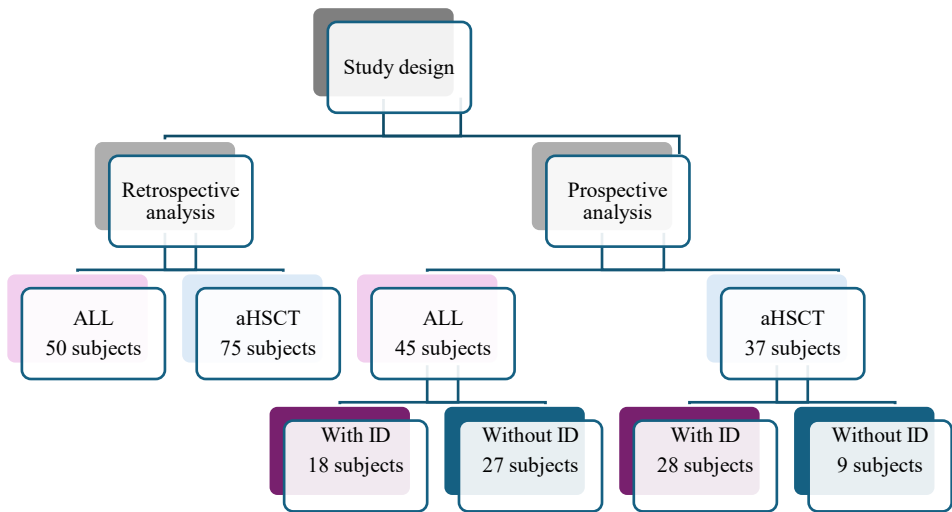


Figure 1. Study design.

In the retrospective analysis, data were collected to identify changes in nutritional status according to children's age during the ALL induction (2019-2022 years) and after aHST (2005-2016 years) (Objective 1). Prospectively, blood and fecal samples as well as health data were collected from subjects diagnosed with ALL or undergoing aHST in 2020-2024 (Objectives 2-5).

The study was approved by the Vilnius Regional Ethics Committee for Biomedical Research No. 158200-18/12-1073-576. Children under the age of 18 treated in VUHSK during the aforementioned periods were included in analysis. Parents or legal representatives and children over the age of 12 years signed the informed consent form prior to enrolment.

2.2. Retrospective assessment of nutritional status during ALL induction

A retrospective analysis of the nutritional status of children during ALL induction was conducted in 2022. Data were collected from subjects diagnosed with ALL between 1 January 2019 and 30 April 2022.

Subjects were divided into 3 age groups: 0-5, 6-11, 12-17 years. Body mass index (BMI) and BMI z score were assessed at diagnosis and on days 8, 15, 22, and 29 of the treatment protocol. All patients were treated according to the ALLTogether Master/Pilot or Interfant-21 protocols - details of the induction regimen are shown in Annex 1.

2.3. Retrospective assessment of nutritional status after aHSCT

A retrospective analysis of the aHSCT assessed the nutritional status of children in the post-transplant period according to age group: 0-5, 6-11, 12-17 years. Children were also divided according to percutaneous endoscopic gastrostomy (PEG) formation. BMI and BMI z score were assessed at 30, 60, and 100 posttransplant days. The preparative regimens of patients undergoing aHSCT are described in detail in Annex 2.

2.4. Prospective analysis

The main part of the study was a prospective cohort analysis conducted at VUHSK between 30 December 2020 and 3 April 2024. All children with newly diagnosed ALL treated according to the ALLTogether Master/Pilot or Interfant-21 protocols and all children who underwent aHSCT were included. Within each group, subjects were divided into those with at least one episode of ID and those with no occurrence of ID during the entire treatment period.

2.5. Definitions

Intestinal damage was defined according to the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE v5.0). (Table 1)

Table 1. Grades of ID according to CTCAE v5.0

CTCAE definition	Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV	Grade V
Gastrointestinal pain	Minor pain	Moderate pain that limits daily activities	Severe pain that limits self-control	–	–
Diarrhea	<4 episodes of diarrhea	4-6 episodes of diarrhea limiting daily activities	≥7 episodes of diarrhea limiting self-care	Life-threatening diarrhea requiring urgent intervention	Death
Enterocolitis	Asymptomatic; monitoring only	Abdominal pain, mucus/blood in stool	Severe abdominal pain with fever; intestinal obstruction.	Life-threatening symptoms requiring urgent intervention	Death

BMI and **BMI z score** were calculated using the WHO Anthro (v3.2.2) and Anthro Plus (v1.0.4) software. The BMI was calculated based on the daily weight measures in the morning before meal.

Inadequate nutritional status was defined as a BMI z-score <-2 or >2 . A more detailed interpretation of the BMI z score according to age is given in Annex 3.

The degrees of aGvHD were assessed according to the Glucksberg criteria (Tables 2A and 2B).

Table 2A. Severity of organ damage in aGvHD.

Organs	Score	Description
Skin (rash)	1	$<25\%$ of body surface area
	2	25 % of body surface area
	3	Generalized erythroderma
	4	Generalized erythroderma, blisters, skin desquamation
Liver (total bilirubin, $\mu\text{mol/l}$)	1	35-50
	2	51-102
	3	102-255
	4	>255
Gastrointestinal (GI) tract (diarrhoea volume, ml/d ; ml/kg/d)	1	500-1000 (<10 -19.9 ml/kg/d)
	2	1001-1500 (20-30 ml/kg/d)
	3	>1501 -2000 (>30 ml/kg/d)
	4	Severe abdominal pain with or without dynamic bowel obstruction

Table 2B. Degree of aGvHD.

Degree of aGvHD	
I	Skin 1-2 points (p.)
II	Skin 1-3 p., GI and/or liver 1 p.
III	Skin 2-3 p., GI and/or liver 2-3 p.
IV	Skin 2-4 p., GI and/or liver 4 p.

2.6. Sample collection and clinical assessment

Blood (37 AA, urine, ammonia, ANC, albumin, and CRP) and stool (fCLP) samples were collected prospectively from all subjects as described below. At the same time points, degree of ID, BMI, and BMI z score were evaluated.

The assessment of ALL patients was performed before treatment and on days 8, 15, 22, and 29 per protocol. For transplanted children - before the conditioning, on the day of transplantation, on posttransplant days 7, 10, 14,

and weekly thereafter until discharge or death, but no longer than 100 days after transplantation.

Blood samples were taken at the same time as routine diagnostic samples (at 6-8 a.m.), with fasting and at least a 6-hour break after parenteral nutrition (if given).

Data on ANC, CRP, and albumin levels were recorded from electronic medical records.

Plasma concentrations of AA, urea, and ammonia were measured by high-performance liquid chromatography at the VUHSK Medical Genetics Centre. Standard blood samples (5 ml) with lithium heparin were analyzed according to a standardized scheme. fCLP was measured by the EliA Calprotectin 2 fluorescent enzyme immunoassay (Thermo Fisher Scientific) using ImmunoCAP 200.

3. STATISTICAL ANALYSIS

Categorical data were presented as frequencies and percentages and analyzed using Pearson's chi-square test to ascertain differences between patients with and without ID. To test for the normality of variables, the Shapiro-Wilk normality test was employed. For non-normally distributed continuous data, medians and interquartile ranges (IQR) were calculated, and the Wilcoxon rank-sum test was used. For normally distributed continuous variables, the mean and standard deviation (SD) were calculated, with Welch's Two-sample t-test used for comparisons. Multivariate analysis of variance (MANOVA) was applied to test differences in biomarker concentration between the two groups. Pearson's product-moment correlation coefficient was used to assess associations between paired biomarker samples. Linear regression and logistic regression were employed to identify significant pretransplant biomarkers and other relevant variables, depending on the data type of variable under consideration. The generalized estimating equation (GEE) model was utilized to quantify differences between the two patient groups, accounting for the correlation between repeated measurements from the same patients. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to determine optimal threshold values for biomarkers and assess their diagnostic capability about ID. A p-value of < 0.05 was considered statistically significant. Statistical analysis was performed using R software (version 4.2.2, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

4. RESULTS

4.1. Retrospective analysis

4.1.1. Retrospective assessment of nutritional status during ALL induction

The retrospective ALL cohort included 50 subjects. The distribution of girls and boys was similar, with a higher proportion of patients under 5 years of age. The main characteristics of the patients are shown in Table 3.

Table 3. Baseline characteristics and changes in BMI z score of patients treated for ALL in 2019-2022.

	All patients N (%)	Age groups, yearsN (%)			p-value
		0-5	6-11	12-17	
Number of patients (%)	50 (100.0)	26 (52.0)	15 (30.0)	9 (18.0)	
Median age, years	5.8	4.1	10.0	15.1	
[min.-max.]	[0.4-15.8]	[0.4-5.9]	[6.7-11.6]	[12.2-15.8]	
IQR	6.1	2.3	1.8	2.8	
Gender					
Boys	28 (56.0)	16 (61.5)	8 (53.3)	4 (44.4)	0.652
Girls	22 (44.0)	10 (38.5)	7 (46.7)	5 (55.6)	
Type of induction *					
A	25 (51.0)	21 (84.0)	4 (26.7)	0 (0.0)	<0.001
B	24 (49.0)	4 (16.0)	11 (73.3)	9 (100.0)	
BMI z score at diagnosis					
Normal (-2 to 2)	47 (94.0)	24 (92.3)	14 (93.3)	9 (100.0)	0.509
Too low (<-2)	1 (2.0)	0 (0.0)	1 (6.7)	0 (0.0)	
Overweight (>2)	2 (4.0)	2 (7.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	
BMI z score at the end of induction					
Normal (-2 to 2)	40 (80.0)	18 (69.2)	14 (93.3)	8 (88.9)	0.172
Too low (<-2)	4 (8.0)	2 (7.7)	1 (6.7)	1 (11.1)	
Overweight (>2)	6 (12.0)	6 (23.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	
Change in BMI z-estimate					
Estimate of BMI z at diagnosis (mean (SD))	0.2 (1.2)	0.4 (1.1)	-0.3 (1.3)	0.3 (1.0)	0.181
Estimate of BMI z at the end of induction (mean (SD))	0.2 (1.5)	0.7 (1.7)	-0.3 (1.3)	-0.3 (1.0)	0.074
p-value	0.996	0.273	0.856	0.005	
BMI body mass index, IQR interquartile range, SD standard deviation					

BMI body mass index, IQR interquartile range, SD standard deviation

* Induction A was administered to standard-risk patients, induction B to high-risk patients, and 1 infant was treated according to the Interfant 21 protocol, so neither induction A nor induction B was administered.

Three patients (6%) had an abnormal BMI z score at diagnosis. At the end of the induction, the number of patients with an abnormal BMI z score has tripled to 10 (20%): 6 children were overweight/obese, and the rest were underweight (Fig. 2).

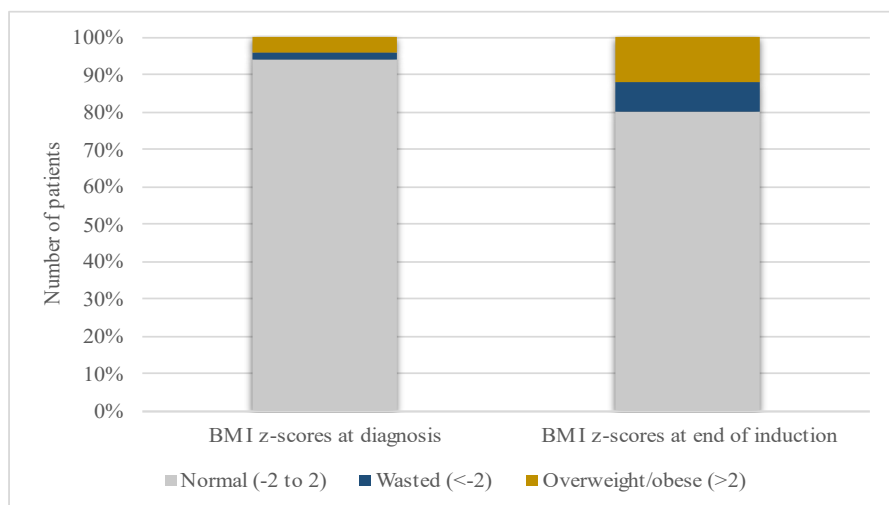


Figure 2. Distribution of BMI z score at diagnosis and the end of induction among patients treated for ALL in 2019 - 2022.

The increase in BMI z score was most pronounced among the youngest children. In contrast, there was a statistically significant decrease in the BMI z score (from 0.3 to -0.3, $p = 0.005$) among the 12-17 age group (Table 3). The change of the BMI z score in the different age groups is shown in Figure 3.

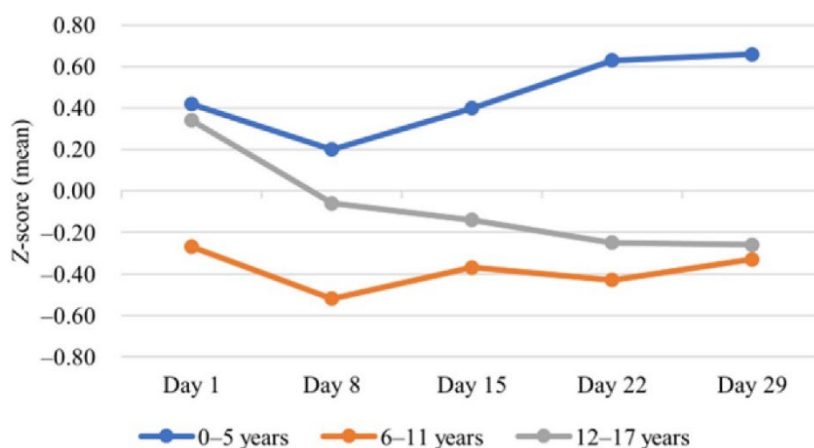


Figure 3. The change of BMI z score during the ALL induction in patients treated in 2019 - 2022.

4.1.2. Retrospective assessment of nutritional status after aHSCT

The analysis included 75 subjects. The main characteristics are shown in Table 4. Malignancy was the main indication for aHSCT, which was usually performed with myeloablative conditioning from an identical unrelated donor.

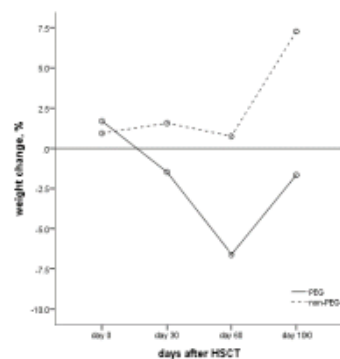
Table 4. Characteristics of subjects who underwent aHSCT in 2005-2016.

	All (n = 75)	PEG (n = 34)	Non-PEG (n = 41)	p-value
Frequency (%)		45.3	54.7	
Gender [n (%)]				
boys	51 (68.0)	23 (67.6)	28 (68.3)	0.952
girls	26 (32.0)	11 (32.4)	13 (31.7)	
Age groups, years [n (%)]				
0-5	24 (32.0)	14 (41.2)	10 (24.4)	0.294
6-11	22 (29.3)	9 (26.5)	13 (31.7)	
12-17	29 (38.7)	11 (32.4)	18 (43.9)	
Disease before aHSCT [n (%)]				
malignant	45 (60.0)	21 (61.8)	24 (58.5)	0.776
benign	30 (40.0)	13 (38.2)	17 (41.5)	
Donor				
MSD	18 (24.0)	10 (29.4)	8 (19.5)	0.318
MUD	57 (76.0)	24 (70.6)	33 (80.5)	
Conditioning [n (%)]				
MAC	45 (60.0)	20 (58.8)	25 (61.0)	0.850
RIC	30 (40.0)	14 (41.2)	16 (39.0)	
Baseline BMI z score [n (%)]				
< 2SD	7 (9.3)	3 (8.8)	4 (9.8)	0.456
normal	60 (80.0)	29 (85.3)	31 (75.6)	
> 2SD	8 (10.7)	2 (5.9)	6 (14.6)	

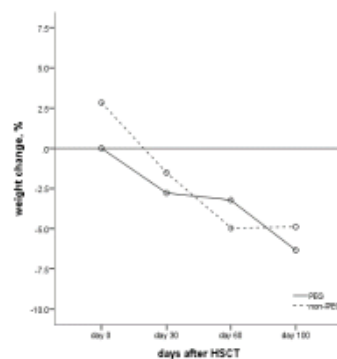
aHSCT allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, BMI body mass index, MAC myeloablative conditioning, MSD matched sibling donor, MUD matched unrelated donor, PEG percutaneous endoscopic gastrostomy, RIC reduced intensity conditioning, SD standard deviation.

Weight in the post-transplant period decreased in children of all ages. The greatest loss was recorded on days 30 and 60 after aHSCT and was particularly pronounced in the 12-17-year-old children (Fig. 4)

0-5 years old children



6-11 years old children



12-17 years old children

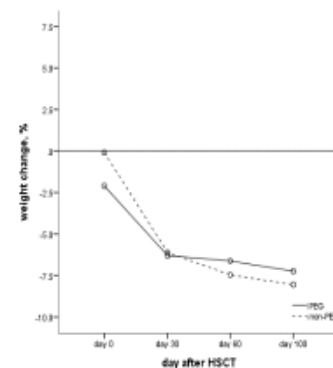


Figure 4. Relative weight change by age group in children after aHSCT in 2005-2016.

4.2. Prospective analysis

All patients treated due to newly diagnosed ALL and all patients who underwent aHSCT at VUHSK between December 2020 and April 2024 were included in the analysis. Totally 82 subjects were included.

4.2.1. Description of the subjects

A. ALL group

The ALL group consisted of 45 subjects, 18 of whom experienced at least one episode of ID during the induction. The main characteristics of the patients are given in Table 5.

Table 5. Baseline characteristics of ALL patients in 2020-2024.

	All (n = 45)	With ID (n = 18)	Without ID (n = 27)	p-value
Age, years, median (IQR)	4.6 (6.8)	3.1 (2.8)	6.9 (6.4)	<0.001
Gender, n (%)				
Girls	21 (46.7)	8 (44.4)	13 (48.1)	0.807
Boys	24 (53.3)	10 (55.6)	14 (51.9)	
Type of induction*, n (%)				
A	23 (51.1)	14 (77.8)	9 (33.3)	0.029
B	19 (42.2)	4 (22.2)	15 (55.6)	
D	2 (4.4)	0 (0.0)	2 (7.4)	
Interfant-21	1 (2.2)	0 (0.0)	1 (3.7)	
Highest degree of ID, n (%)				
0	27 (60.0)	N.A.	27 (100.0)	N.A.
I	11 (24.4)	11 (61.1)	N.A.	
II	6 (13.3)	6 (33.3)	N.A.	
III	1 (2.2)	1 (5.6)	N.A.	
IV-V	0 (0.0)	0 (0.0)	N.A.	
BMI, median (IQR)	16.0 (2.5)	16.5 (2.9)	15.9 (2.6)	0.211
BMI z score at diagnosis, median (IQR)	0.11 (1.67)	0.41 (1.85)	-0.09 (1.87)	0.026
BMI z score at diagnosis, n (%)				
>2	2 (4.4)	1 (5.6)	1 (3.7)	1.000
>-2 and <2	42 (93.3)	17 (94.4)	25 (92.6)	0.807*
<-2	1 (2.2)	0 (0.0)	1 (3.7)	
BMI z score at the end of induction, n (%)				
>2	3 (6.7)	1 (5.6)	2 (7.5)	1.000
>-2 and <2	36 (75.6)	15 (83.3)	21 (77.8)	0.648*
<-2	6 (13.3)	2 (11.1)	4 (14.8)	
Deaths during induction, n (%)	3 (6.7)	2 (11.1)	1 (3.7)	

BMI body mass index, ID intestinal damage, IQR interquartile range; N.A. not applicable.

*Induction differences are described in the Methods

* Comparing an adequate nutrition (BMI z score <2 and >- 2) with an inadequate nutrition (BMI z score <- 2 and >2)

B. *aHSCT group*

37 children underwent aHSCT during the study period. The most common reason for transplantation was malignancy (62.2%, 23/37) with myeloablative conditioning (56.8%, 21/37) from an identical unrelated donor (73%, 27/37). Most children were of adequate nutritional status before conditioning (91.9%, 34/37) (Table 6).

Table 6. Baseline characteristics of patients undergoing aHSCT in 2020-2024.

	All (n = 37)	With ID (n = 28)	Without ID (n = 9)	p-value
Age, years, mean (SD)	9.0 (4.9)	9.43 (4.30)	7.71 (6.48)	0.365
Gender, n (%)				
girls	11 (29.7)	8 (28.6)	3 (33.3)	1.000
boys	26 (70.3)	20 (71.4)	6 (66.7)	
Diagnosis, n (%)				
malignant	23 (62.2)	20 (71.4)	3 (33.3)	0.060
benign	14 (37.8)	8 (28.6)	6 (66.7)	
Type of conditioning, n (%)				
MAC	21 (56.8)	18 (64.3)	3 (33.3)	0.100*
RIC	16 (43.2)	10 (35.7)	6 (66.7)	
Donor type, n (%)				
MSD	10 (27.0)	8 (28.6)	2 (22.2)	1.000
MUD	27 (73.0)	20 (71.4)	7 (77.8)	
Source of stem cells, n (%)				
peripheral blood	24 (64.9)	18 (64.3)	6 (66.7)	1.000
bone marrow	13 (35.1)	10 (35.7)	3 (33.3)	
BMI z score before conditioning	-0.156 (1.0)	-0.008 (1.0)	-0.303 (1.1)	0.490
BMI z score before conditioning, n (%)				
>2	2 (5.4)	2 (7.1)	0 (0.0)	0.287
<2 and >-2	34 (91.9)	26 (92.9)	8 (88.9)	
<-2	1 (2.7)	0 (0.0)	1 (11.1)	
BMI z score at the end of treatment, n (%)				
>2	2 (5.4)	2 (7.1)	0 (0.0)	1.000
<2 and >-2	35 (94.6)	26 (92.9)	9 (100.0)	
<-2	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
aGvHD, n (%)				
No	24 (64.9)	15 (53.6)	9 (100.0)	0.015
Yes	13 (35.1)	13 (46.4)	0 (0.0)	
Deaths, n (%)				
Yes	7 (18.9)	7 (25.0)	0 (0.0)	0.554
No	30 (81.1)	21 (75.0)	9 (100.0)	

aGvHD acute graft versus host disease, ID intestinal damage, BMI body mass index, MAC myeloablative conditioning, MSD matched sibling donor, MUD matched unrelated donor, RIC reduced-intensity conditioning.

*[95%CI] 3.25 [-0.457, 2.826], p = 0.159

4.2.2. ID association with neutropenia during the induction of ALL and after aHSCT

A. During ALL induction

ID (I-III°) was present in 45% of patients (18/45) during the ALL induction. The most frequent type of ID was I° (61.1%, 11/18). Figure 5 displays patients who experienced ID and the grades of ID on different days of induction.

There was no association between neutropenia and ID: the most intensive ID was observed at the beginning of the 4th week (Fig. 5), when ANC was already rising (Fig. 7). There was no difference in median ANC when comparing patients with ID with those without it (Table 7).

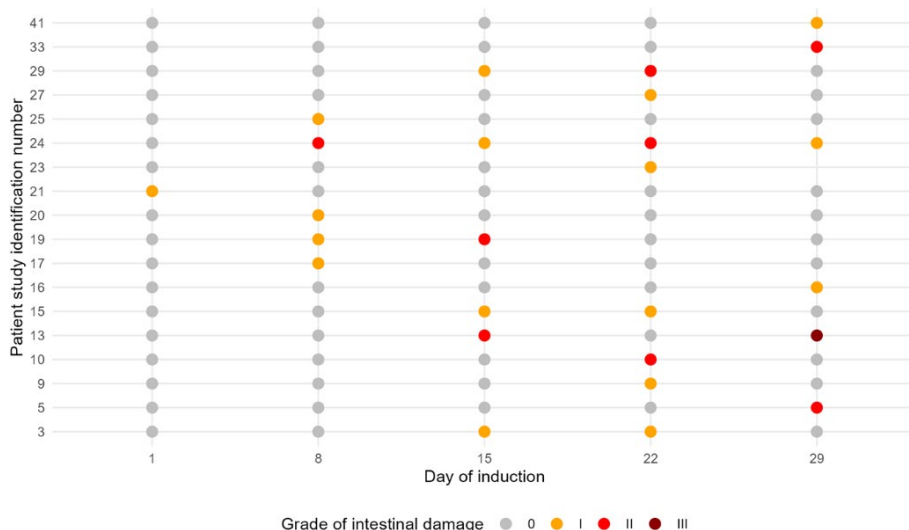


Figure 5. Degrees of intestinal damage during induction (n = 18)

B. After aHSCT

After aHSCT, 75.7% of patients developed ID. There was no statistically significant difference in the type of diagnosis before transplantation, conditioning regimen, donor type, and source of hematopoietic stem cells. Thirty-five percent of children had experienced aGvHD, 7 deaths were recorded, and all of them were from the group of ID (Table 6). After aHSCT, there was no association of ID with ANC: the most intense ID was observed at the end of the first month (Fig. 6), by this time ANC had already risen (Fig. 9). There was no statistically significant

difference in median ANC when comparing children with ID and without it (Table 9).

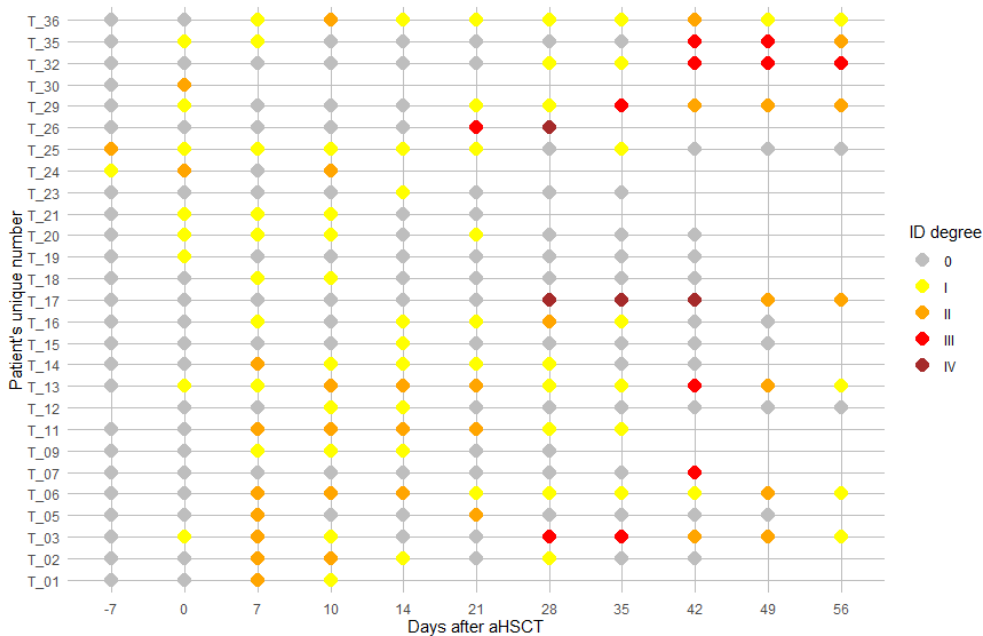


Figure 6. Degrees of ID in children after aHSCT (n = 27).

4.2.3. Impact of nutritional status and age on ID during ALL induction and after aHSCT

A. During ALL induction

BMI remained higher throughout most of the induction treatment in children who experienced ID (Fig. 7). The median BMI z score at diagnosis was higher in children who experienced ID during the induction (Table 5), but logistic regression analysis did not reveal a statistically significant association between baseline BMI and subsequent development of ID.

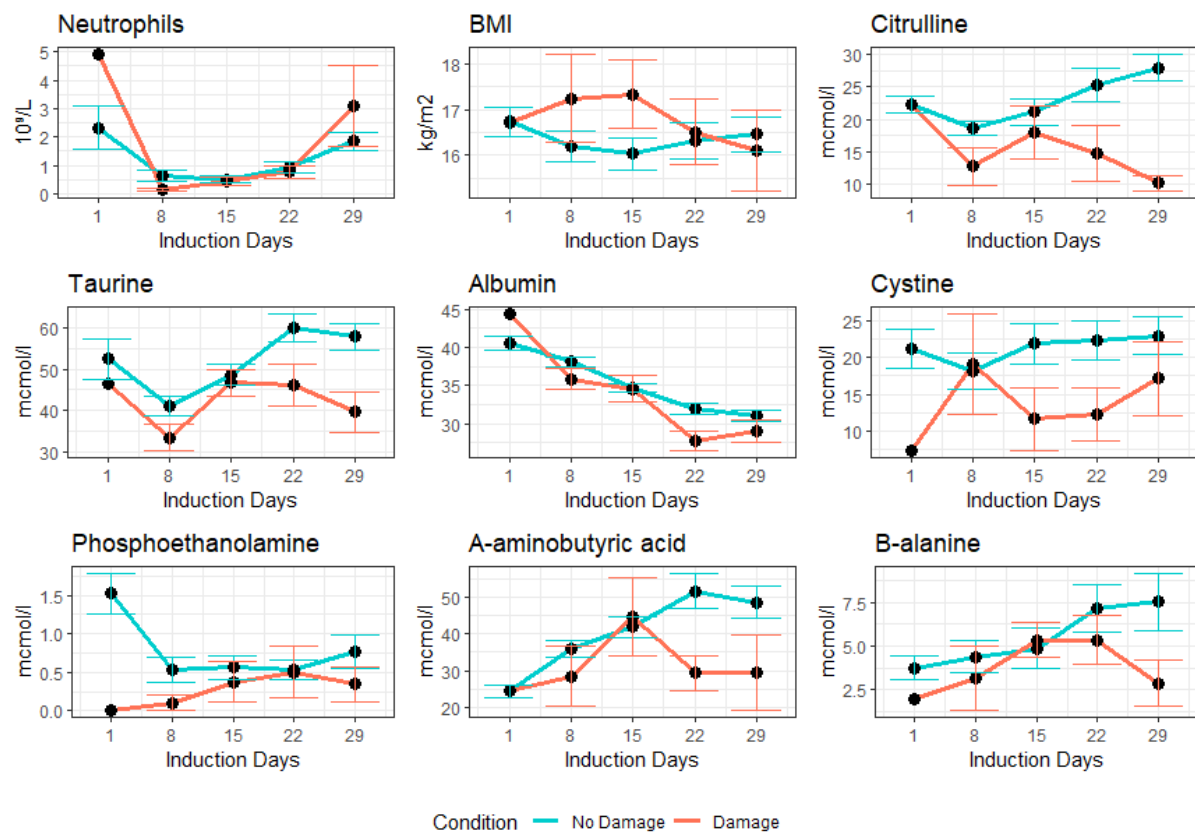


Figure 7. Dynamics of median levels of ANC, BMI, and concentration of selected biomarkers in ALL patients with and without ID.

According to the density curves (Fig. 8) and the results of the GEE analysis (Table 8), the risk of ID was higher in children younger than 5.5 years.

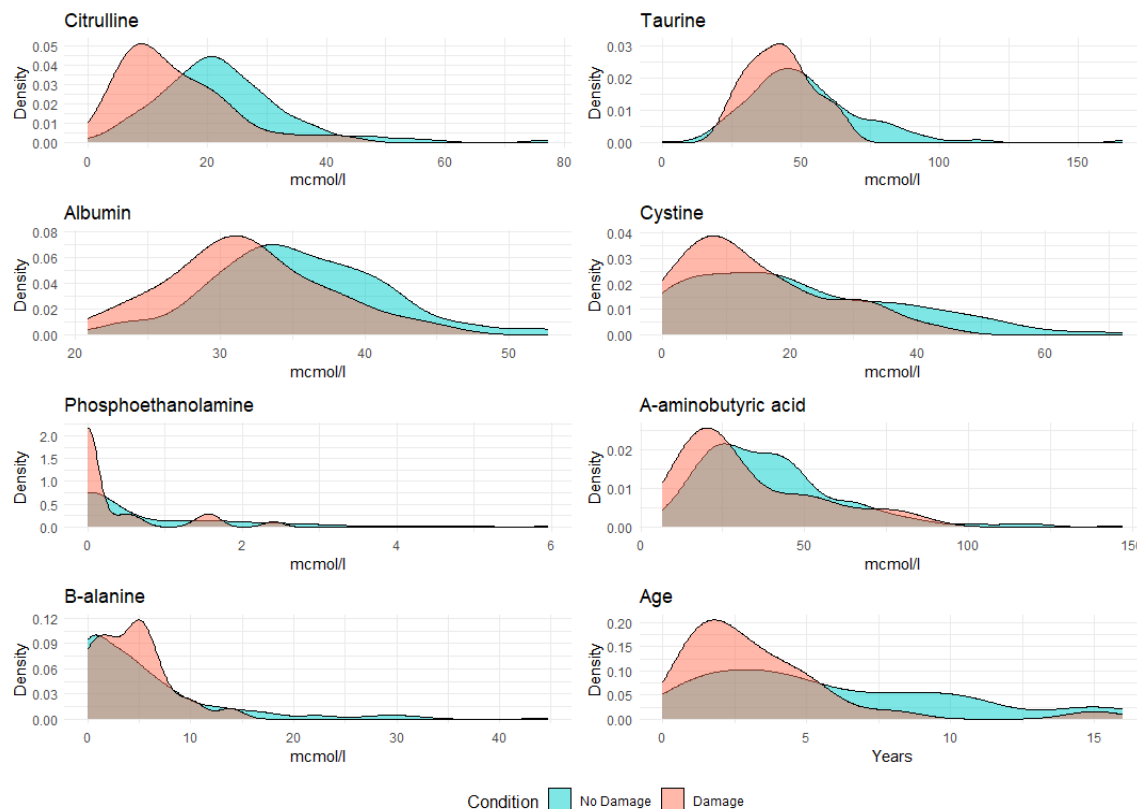


Figure 8. Density curves for citrulline, taurine, albumin, cystine, phosphoethanolamine, A-aminobutyric acid, B-alanine, and age during ALL induction.

The density curves illustrate how often a particular value of a biomarker or age occurs in different groups of subjects: those with and without ID.

B. After aHSCT

There was no difference in BMI between children with and without ID during the peritransplant period. The BMI of children who had experienced ID started to exceed that of children who had not experienced ID in the third week of treatment and became lower again 1.5 months after aHSCT (Fig. 9).

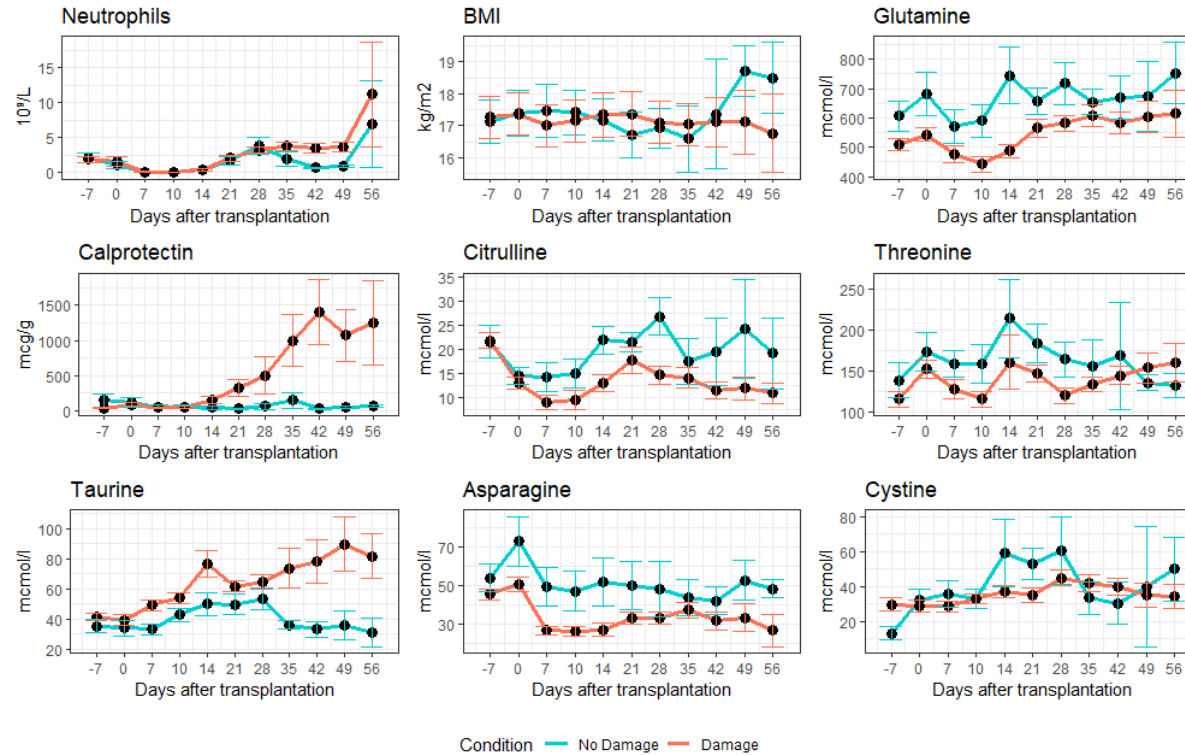


Figure 9. Dynamics of median levels of ANC, BMI, and concentration of selected biomarkers in children with and without ID after aHSCT.

According to the density curves (Fig. 10) and the results of the GEE method (Table 10), the probability of ID increased in children older than 5.5 years.

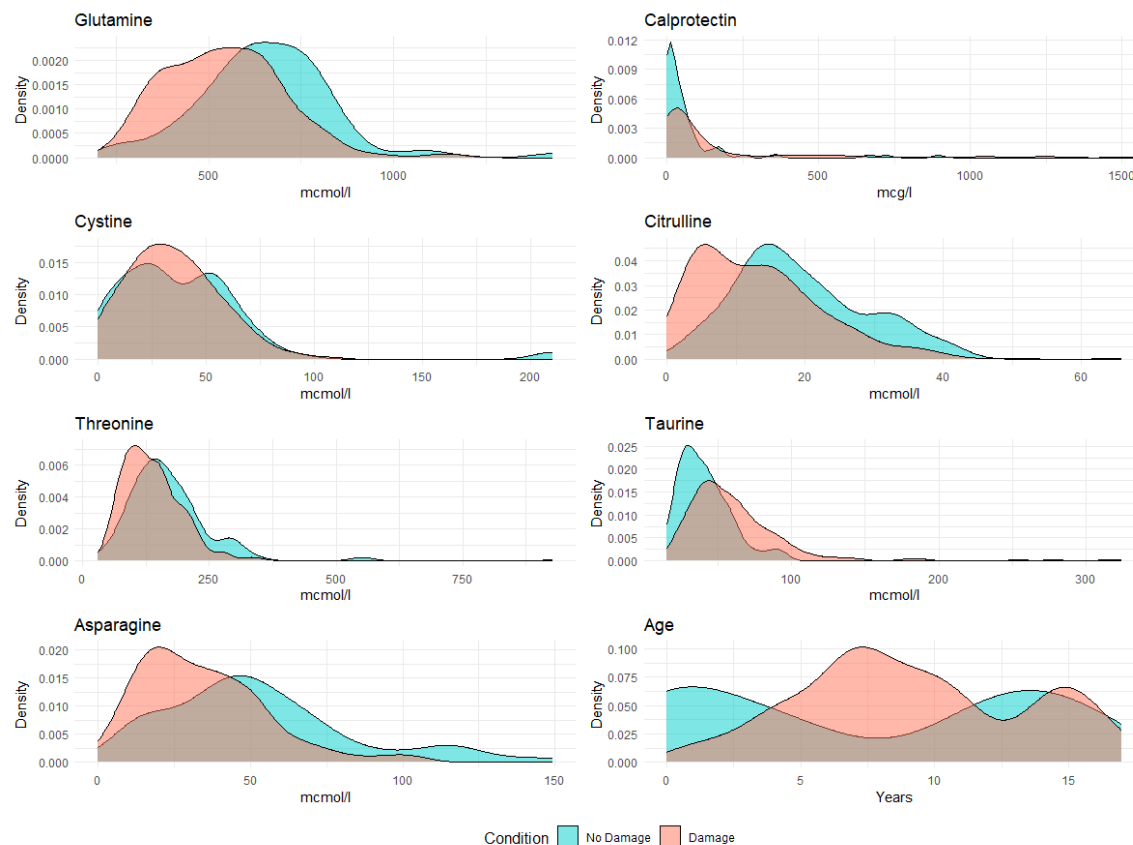


Figure 10. Glutamine, cystine, threonine, asparagine, fCLP, citrulline, taurine, and age density curves in children undergoing aHSCT.

The density curves illustrate how often a particular value of a biomarker or age occurs in different groups of subjects: those with and without ID.

4.2.4. The value of biomarkers for early diagnosis of ID during ALL induction and after aHSCT

A. During ALL induction

The mean concentration of hydroxylysine was higher, while taurine, glycine, citrulline, arginine, urea, and albumin were lower in the case of ID. There was no difference in CRP, fCLP concentrations, and ANC between the groups (Table 7).

Table 7. Comparison of biomarker concentrations in children with and without ID during ALL induction.

Biomarker, mcmol/L	ID I-III° (n = 18) median (IQR)	Without ID (n = 27) median (IQR)	p-value
Neutrophils × 10 ⁹ /L	0.44 (0.1-1.2)	0.43 (0.1-1.1)	0.784
CRP mg/ml	1.69 (0.6-5.4)	0.73 (0.6-4.1)	0.357
Albumin g/l	31.90 (28.4-35.8)	34.02 (30.8-38.1)	0.024
Taurine	42.35 (33.3-49.9)	48.60 (38.8-62.6)	0.023
Asparagine	0.00 (0.0-0.0)	0.00 (0.0-3.3)	0.007
Glycine	236.00 (201.8- 287.5)	273.00 (225.0-322.0)	0.045
Citrulline	13.75 (8.7-20.2)	20.60 (14.9-27.9)	0.001
Cystine	11.35 (7.4-19.6)	18.30 (6.4-33.1)	0.090
Hydroxylysine	1.50 (0.8-2.3)	0.00 (0.0-1.3)	<0.001
Arginine	58.60 (39.4-73.8)	74.40 (54.6-97.5)	0.026
Urea	4947.00 (4178.2-5888.2)	5927.00 (4726.0-7587.0)	0.037
Fecal calprotectin, mcg/g	41.00 (27.2-62.5)	28.00 (12.0-65.0)	0.213

The density curves (Fig. 8) and the results of GEE analysis (Table 8) were used to select the most important biomarkers for the early diagnosis of ID: citrulline, taurine, albumin, cystine, phosphoethanolamine, aminobutyric acid, and B-alanine. The dynamics of these biomarkers are shown in Figure 7.

ROC model revealed possible threshold values for these factors (Table 8).

Table 8. Threshold values for the factors that are important for the early diagnosis of ID in ALL.

Factor	Coefficient	Threshold	Specificity	Sensitivity
Age, year	-0.013	5.5	0.4685	0.9000
Citrulline, mcmol/l	-9.233	14.65	0.7795	0.6538
Taurine, mcmol/l	-8.975	47.45	0.5385	0.7308
Albumin, g/l	-2.418	32.75	0.6769	0.6538
Cystine, mcmol/l	-7.201	15.35	0.5795	0.6538
A-aminobutyric acid, mcmol/l	-0.395	24.45	0.7385	0.5769
B-alanine, mcmol/l	-10.052	1.18	0.3436	0.8077

During the most intense ID in the third and fourth weeks of ALL induction, the levels of fCLP were higher in children with ID than in those without it (Fig. 11).

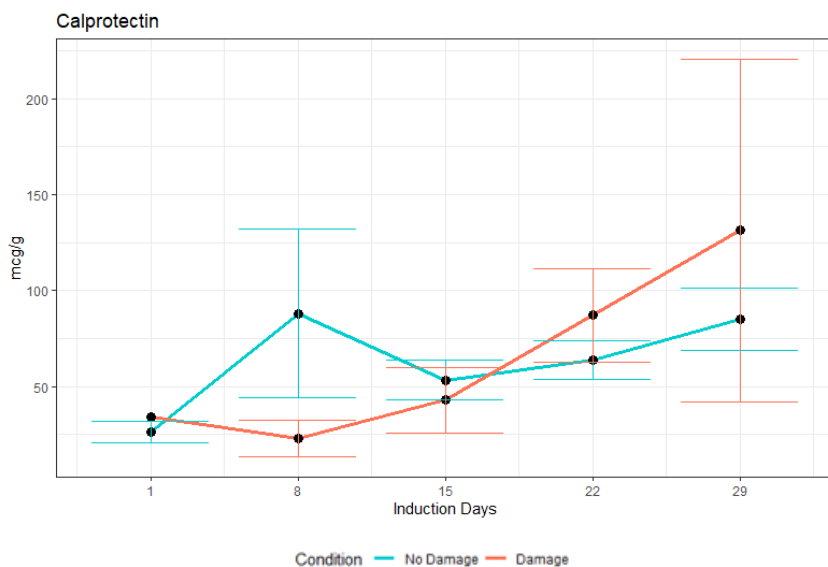


Figure 11. The change of median fCLP levels in children with and without ID during ALL induction.

There was an inverse correlation between albumin and CRP, taurine and CRP, citrulline and CRP, A-aminobutyric acid and CRP. Fecal CLP did not correlate with ANC (Fig. 12).

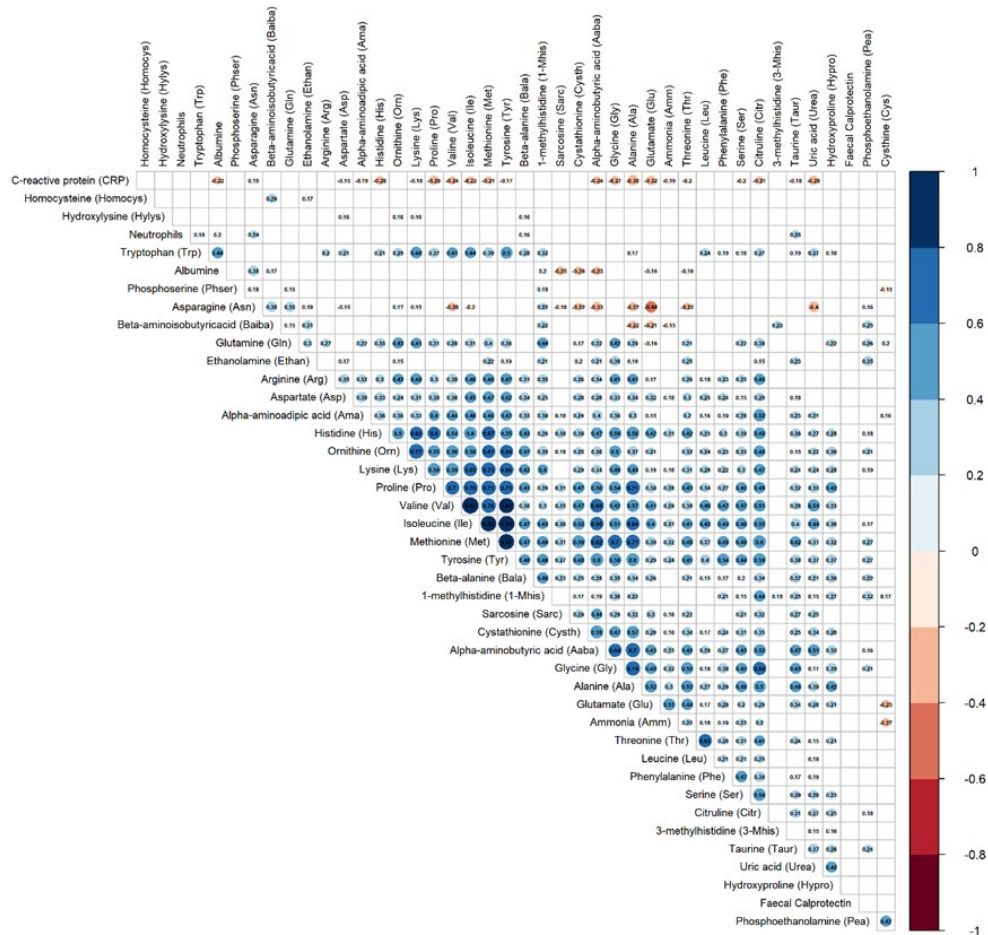


Figure 12. Correlation of biomarkers during the induction of ALL in patients with ID (n = 27).

Only hydroxylysine was significant in terms of pre-treatment biomarker concentrations and their association with subsequent ID (linear regression coefficient 0.734, p-value 0.010).

B. After aHSCT

After aHSCT the median concentrations of taurine, A-aminobutyric acid, valine, methionine, B-alanine, phenylalanine, ammonia, hydroxylysine, tryptophan, proline were higher, whereas the median concentrations of threonine, asparagine, glutamine, sarcosine, A-aminoadipic acid, alanine, citrulline, tyrosine, 1-methyl-histidine, histidine, hydroxyproline were lower in children who experienced ID (Table 9).

fCLP, urea, and CRP levels were statistically significantly higher and albumin lower in cases with ID compared to those without ID, but there was no difference in ANC between the two groups (Table 9).

Table 9. Comparison of biomarker concentrations in children with and without ID after aHSCT.

Biomarker, mcmol/l	ID I-IV°, n = 28 median (IQR)	Without ID, n = 9 median (IQR)	p-value
Neutrophils x 10 ⁹ /L	1.46 (0.00-3.70)	0.63 (0.00-1.50)	0.129
CRP mg/ml	28.64 (5.30-82.20)	10.98 (1.50-33.60)	<0.001
Albumin g/l	32.70 (28.60-35.80)	36.82 (34.00-38.90)	<0.001
Taurine	64.20 (42.60-86.80)	36.20 (26.20-46.40)	<0.001
Threonine	132.00 (97.00-166.00)	158.00 (127.50-200.20)	0.006
Asparagine	24.20 (16.80-40.40)	49.35 (35.40-65.60)	<0.001
Glutamine	513.00 (380.00-624.00)	675.00 (574.50-767.80)	<0.001
Sarcosine	0.00 (0.00-0.00)	0.00 (0.00-1.30)	0.004
A -aminoadipic acid	0.00 (0.00-1.10)	1.41 (0.00-2.10)	<0.001
Alanine	261.00 (196.00-343.00)	316.00 (231.80-373.80)	0.046
Citrulline	7.10 (4.20-12.20)	18.40 (13.10-25.40)	<0.001
A - aminobutyric acid	21.70 (17.20-28.30)	18.90 (14.90-24.50)	0.024
Valine	271.00 (232.10-322.50)	233.95 (190.90-293.70)	0.001
Methionine	32.50 (23.40-44.50)	23.45 (16.90-34.20)	<0.001
Tyrosine	55.20 (47.40-68.50)	63.15 (55.40-76.70)	0.001
B - alanine	1.71 (0.00-4.10)	0.00 (0.00-1.40)	<0.001
Phenylalanine	90.30 (76.50-115.90)	67.55 (56.40-94.40)	<0.001
Ammonia	78.70 (56.00-113.20)	55.75 (37.00-97.90)	0.001
Hydroxylysine	1.22 (0.00-2.20)	0.00 (0.00-1.70)	0.034

Biomarker, mcmol/l	ID I-IV°, n = 28 median (IQR)	Without ID, n = 9 median (IQR)	p-value
1-Methyl-histidine	5.20 (3.20-9.20)	7.60 (4.60-11.60)	0.009
Histidine	61.50 (50.90-75.80)	71.35 (62.50-89.40)	<0.001
Tryptophan	53.70 (41.80-71.10)	44.60 (30.60-62.40)	0.025
Hydroxyproline	9.97 (7.00-14.00)	15.85 (9.30-27.20)	<0.001
Proline	204.00 (136.00-294.00)	148.50 (108.80-224.20)	0.002
Urea	6097.00 (4097.00-8461.00)	4405.00 (2661.20-5985.80)	<0.001
Fecal calprotectin, mcg/g	129.00 (27.20-1224.20)	25.00 (5.30-59.00)	<0.001

Based on the results of the GEE method (Table 10) and the density curves (Fig. 10), the most important potential biomarkers for early diagnosis of ID were selected: glutamine, citrulline, taurine, threonine, asparagine, cystine, and fCLP. The dynamics of these biomarkers are shown in Figure 9.

The ROC model identified possible threshold values for these factors (Table 10).

Table 10. Threshold values for factors that are important for the early diagnosis of ID after aHSCT.

Factor	Coefficient	Threshold	Specificity	Sensitivity
Age, year	3.737	5.5	0.5250	0.8066
Glutamine, mcmol/l	-130.740	555.50	0.7625	0.5584
Citrulline, mcmol/l	-4.906	10.95	0.8750	0.4599
Threonine, mcmol/l	-31.661	125.50	0.7375	0.4818
Taurine, mcmol/l	10.382	45.85	0.7125	0.6277
Asparagine, mcmol/l	-16.011	40.45	0.6500	0.6642
Cystine, mcmol/l	-11.888	12.55	0.2125	0.8540
Faecal calprotectin, mcg/g	458.408	59.50	0.7500	0.4891

An inverse correlation was observed between fCLP and citrulline, asparagine, and citrulline and CRP, and no correlation was observed between fCLP and ANC (Fig.13).

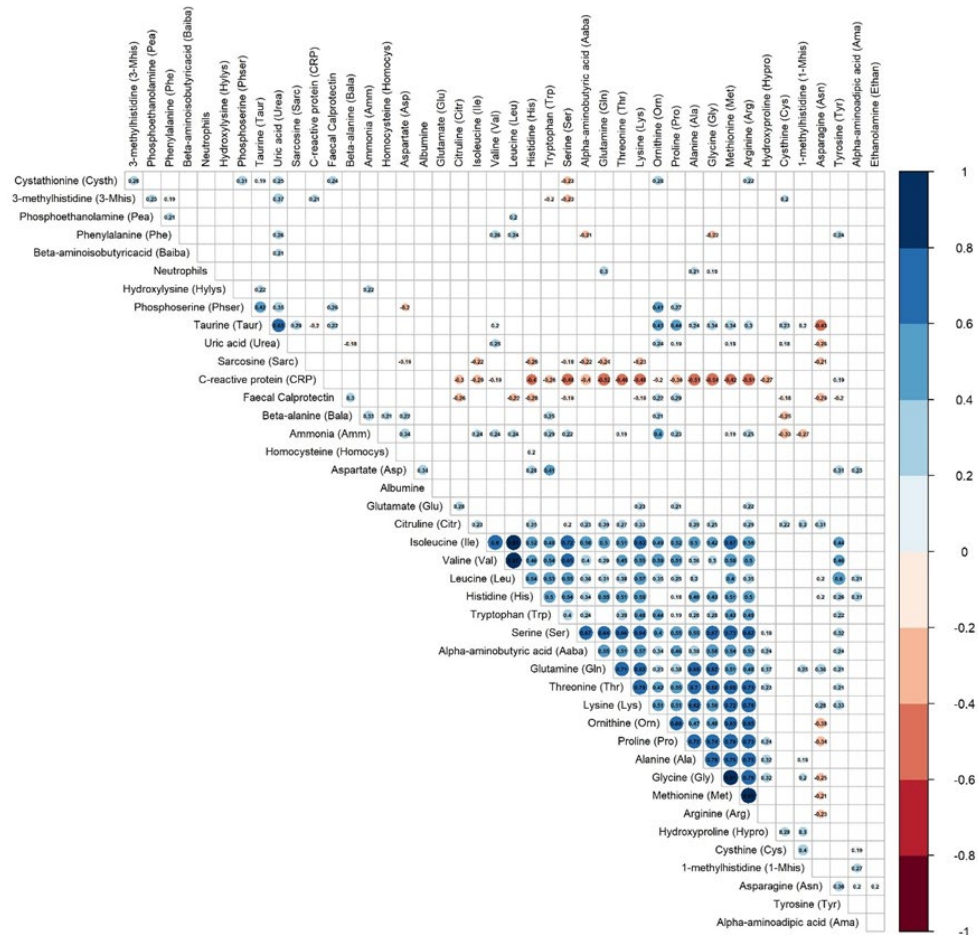


Figure 13. Correlation of biomarkers in the patients with ID after aHSCT (n = 29).

The median concentration of citrulline was statistically significantly lower, and the median concentration of fCLP was higher when comparing ID grade III-IV with grade I-II. The median fCLP levels were also higher when the ID was accompanied by aGvHD in comparison to ID without aGvHD (Table 11).

Table 11. Differences in citrulline and fCLP concentrations according to the severity of ID and concomitant aGvHD.

Biomarker, median [IQR]	ID I-II°	ID III-IV°	p-value	ID without aGvHD	ID with aGvHD	p-value
Citrulline, mcmol/l	8.7 [4.6-13.6]	3.6 [2.1-5.4]	<0.001	9.2 [4.5-14.1]	6.5 [4.1-11.2]	0.149
fCLP, mcg/g	69.0 [25.0-641.0]	2074.0 [1176.0-5233.5]	<0.001	49.0 [15.1-119.5]	1257.5 [500.5-3384.3]	<0.001

aGvHD acute graft versus host disease, fCLP faecal calprotectin, ID intestinal damage, IQR interquartile range

Pre-transplant concentrations of cystine and glutamine were higher (on average, 16.45 mcmol/l and 97.82 mcmol/l, respectively) and fCLP 111.39 mcg/g lower in patients who developed ID during treatment compared to those who did not.

4.2.5 Impact of nutritional status and age on biomarker concentrations during ALL induction and after aHSCT

A. During ALL induction

Phosphoethanolamine, glutamine, A-aminoadipic acid, glycine, citrulline, A-aminobutyric acid, methionine, cystathionine, isoleucine, tyrosine, 1-methylhistidine, and proline increased with increasing BMI.

The concentrations of some biomarkers also varied with age (mostly increased, except glutamine): phosphoserine, urea, glutamine, alanine, A-aminobutyric r, valine, methionine, isoleucine, tyrosine, lysine, 1-methyl-histidine, tryptophan, 3-methyl-histidine, hydroxyproline, and proline.

B. After aHSCT

In children who underwent aHSCT, higher BMI was associated with higher levels of phosphoethanoamine, asparagine, alanine, phenylalanine, 3-methylhistidine, ANC, urea, and lower levels of serine and tryptophan.

Alanine, 1-methyl-histidine, beta-alanine, cystathione increased with age, while serine, ammonia, hydroxylysine, and A-aminoadipic acid concentrations decreased.

5. DISCUSSION

The development of ID leads to a disruption of the integrity of the intestinal cells and the balance of microbiota, causing further development of treatment-related complications. Therefore, it is important to assess the potential extent of ID in each subgroup of children receiving chemotherapy. This study showed that **ID occurred in almost half of the patients during ALL induction and in three-quarters of children after aHSCT.**

The thesis revealed an **association between a higher BMI at diagnosis and the development of ID in the ALL group**, with two BMI peaks (a drop and a rise) observed in the post-transplant period: **the fall coincided with the onset of ID and the rise - with the onset of the most severe ID.** Thus, assessing a child's nutritional status can help to predict the most likely course of the disease. On the other hand, dietary correction can improve the outcome of treatment.

In the ALL group, the risk of ID was higher in younger children, whereas after aHSCT, the risk was higher in children older than 5.5 years of age. Young children may be more sensitive to high doses of glucocorticosteroids during the induction of ALL due to less mature body systems. BMI increased mostly in young children during induction; thus, being overweight itself may have increased the likelihood of ID. **BMI declined in all age groups after aHSCT, although the most pronounced decline was observed in the oldest patients.** Conditioning agents are more myelosuppressive and emetogenic compared to the chemotherapy for the treatment of ALL. Older children are also more affected by the psychological stressors that lead to a lower pain threshold and greater appetite suppression. **Thus, simply knowing the age and nutritional status of the child before treatment can help to categorize patients into risk groups according to the likelihood of ID development.** Therefore, patients at higher risk can be targeted earlier for preventive actions, and the duration of antibacterial/immunosuppressive treatment can be corrected.

Until now, ID has been associated with neutropenia. This study showed that **ID is not related to the development of neutropenia:** ID is the most intensive when ANC are already rising (both in ALL and aHSCT).

The thesis revealed **that decreasing concentrations of citrulline, taurine, cystine, phosphoethalamine, A-aminobutyric acid, B-alanine, and albumin are suggestive of progressive ID in children treated for ALL.** In children treated according to the NOPHO 2008 protocol during induction, the drop in citrulline levels was a significant predictor for the development of mucositis-associated bloodstream infection. The current thesis provides

additional insights: the **drop in citrulline levels is an important indicator for the early diagnosis of ID in children** treated according to the ALLTogether protocol during the induction, as well as in children after aHSCT. Although fCLP was not identified as a potentially relevant biomarker according to GEE model, the importance of non-invasive methods in the pediatric population and the fact that fCLP levels start to rise at the same time as the most intense ID is observed suggest that **fCLP could also be a routinely monitored biomarker in the course of therapy**. fCLP is secreted by activated macrophages and neutrophils, but this work did not reveal any correlation between fCLP levels and ANC, so this is another important finding **supporting fCLP levels monitoring even in myelosuppressed patients**.

Increasing concentrations of taurine and fCLP and decreasing concentrations of glutamine, citrulline, threonine, and asparagine after aHSCT may be important findings for the early diagnosis of ID. The threshold value for citrulline is consistent with the definition of hypocitrullinemia, and therefore, a **citrulline concentration <10 mmol/l is presumed to be indicative of ID**. For more severe ID, the median citrulline concentration dropped to 3.5 mmol/l, so the severity of ID could likely be determined by the citrulline concentration. The more severe the ID after aHSCT, the higher the fCLP concentration. It also rises more in the presence of ID concomitant with aGvHD than in isolated ID alone. As ID is one of the aGvHD manifestations, regular monitoring of biomarkers could help to differentiate whether aGvHD is the etiological factor of ID.

Since no data on specific threshold values of other biomarkers described above could be found in the current literature, the threshold described in this paper may serve as a guide for further similar studies.

In children with ALL and after aHSCT, the concentration of several biomarkers was dependent on the child's nutritional status and age. On the one hand, nutritional status itself is related to homeostasis. On the other hand, it is important to take into account a child's nutritional status when assessing biomarkers in order to interpret the results correctly.

The main limitation of the work is the small sample size. However, pediatric blood and cancer diseases are rare diseases, and the Baltic States are small population countries, so the number of patients included in the study over the three-year study period is even slightly higher than expected (the average number of ALL patients treated at VUHSK per year is 15, while the number of aHSCT is 10).

6. CONCLUSIONS

1. During the induction of ALL, BMI z scores increased in children aged 0-5 and decreased in adolescents aged 12-17. BMI z scores decreased in the post-transplant period in children of all ages, but the most pronounced decrease was observed in the oldest children (12-17 years).
2. ID occurred in almost half of children during ALL induction and in three-quarters of children after aHSCT. The likelihood of ID was higher in younger children with higher BMI z scores during ALL and older children after aHSCT.
3. ID was not associated with neutropenia.
4. During induction of ALL, early markers of ID could be: citrulline, taurine, albumin, cystine, phosphoethanolamine, A-aminobutyric acid, B-alanine; after aHSCT: citrulline, glutamine, taurine, asparagine, cystine, threonine, faecal calprotectin.
5. The concentration of some biomarkers depends on the age and nutritional status of the child.

7. PRACTICAL RECOMMENDATIONS

1. Before treatment, children should be categorized into risk groups according to the likelihood of ID development by assessing their age, BMI, and pre-treatment AA levels. For the children of the higher risk group, earlier/longer antibacterial treatment in the case of febrile illness and earlier immunosuppressive therapy at the first symptoms of ID after aHSCT should be considered.
 - a. Higher risk group in ALL: children with higher BMI, younger than 5.5 years of age, with higher hydroxylysine levels.
 - b. Higher risk group before aHSCT: children older than 5.5 years with higher cystine concentrations and lower glutamine and fCLP concentrations.
2. During the induction of ALL and within the first 2 months after aHSCT, monitoring the following biomarkers regularly (at least once a week) may diagnose ID early:
 - a. ALL: blood levels of citrulline, albumin, taurine, cystine, B-alanine together with CRB and fCLP.
 - b. After aHSCT: blood levels of citrulline, glutamine, threonine, taurine, cystine, CRB and fCLP.
3. During the induction of ALL it is recommended to follow the dietary plan established by the dietician for younger children to avoid overweight; for older children and after aHSCT, to provide additional enteral formulae from the start of treatment to ensure adequate energy intake.

ANNEXES

Annex 1. Treatment of ALL induction.

All patients were treated with ALLTogether Pilot or Master chemotherapy protocols. During induction, children were divided into different risk groups:

- (A) standard risk group (age at diagnosis <10 years and leukocyte count $<50 \times 10^9/l$) received dexamethasone (6 mg/m² on days 1-28, with gradual dose reduction), vincristine (1.5 mg/m², maximum single dose of 2 mg on days 1, 8, 15 and 22), PEG-asparaginase (dose of 1500 IU/m² on days 4 and 18), and intrathecal therapy as appropriate for age and CNS status.

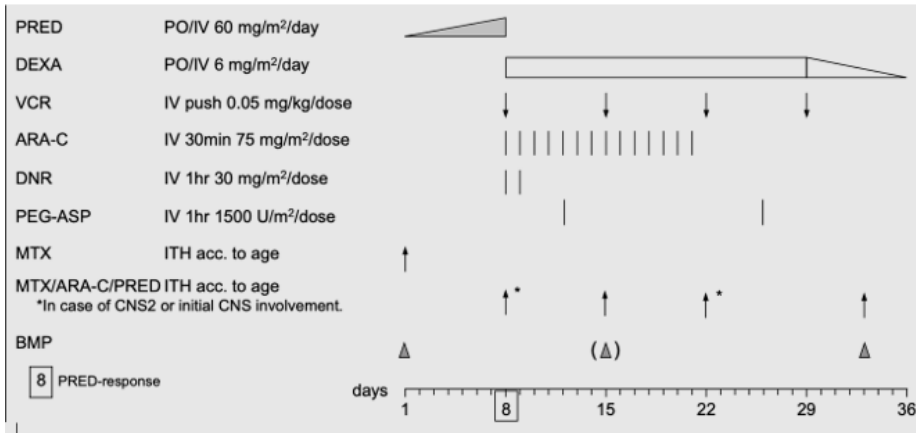
	Induction A (NCI Standard Risk BCP patients)																											
Week	1							2							3							4						
Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Dexa 6 mg/m ²																												
VCR 1.5 mg/m ²																												
PEG-Asp 1500 IU/m ² TDM																												
IT according to CNS/age																												
*CNS2/3/TLP+ (see above and CNS algorithm)																												

- (B) high-risk group (all T-ALL, B-ALL, age ≥ 10 years and/or leukocyte count $\geq 50 \times 10^9/l$) additionally received daunorubicin (dose 25 mg/m² on days 1, 8, 15, 22).

	Induction B (NCI High Risk/T-cell patients)																											
Week	1							2							3							4						
Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Dexa 6 mg/m ²																												
VCR 1.5 mg/m ²																												
DNR 25 mg/m ²																												
PEG-Asp 1500/1000 IU/m ² -TDM																												
IT according to CNS/age																												

- (C) patients with Down syndrome received induction D (40 mg/m² prednisolone instead of dexamethasone on days 1-28; 45 mg/m² daunorubicin was added on day 16 according to the ALLTogether Pilot protocol).

(D) one 5-month-old baby was treated according to the Interfant-21 protocol. The patient received dexamethasone (6 mg/m²) for 28 days, followed by dose reduction, vincristine weekly, two doses of daunorubicin, cytarabine daily for 14 days, two doses of PEG-asparaginase daily for 14 days, and intrathecal methotrexate, cytarabine, and methylprednisolone.



Annex 2. Treatment of patients undergoing aHSCT.

Table 1. Conditioning regimens before aHSCT according to the underlying disease

Diagnosis	Air conditioning
AML; MDS with transformation to AML	Busulfan 3.2 - 4 mg/kg (4 days) Cyclophosphamide 60 mg/kg (2 days) Melphalan 140 mg/m ² (day 1) Thymoglobulin 2.5 mg/kg (3 days) (when the donor is unrelated)
ALL when TBI is not possible	Busulfan 3.2 - 4 mg/kg (4 days) Etoposide 40 mg/kg (1 day) Cyclophosphamide 60 mg/kg (2 days) Thymoglobulin 2.5 mg/kg (3 days) (when the donor is unrelated)
ALL	TBI 2Gy × 2 (3 days) Etoposide 60 mg/kg (day 1) Thymoglobulin 2.5 mg/kg (3 days) (when the donor is unrelated)
Immunodeficiency	Treosulfan 10-14 g/m ² (3 days) Fludarabine 30 mg/m ² (5 days) Alemtuzumab 0,2 mg/kg (5 days)
SAA	Fludarabine 30 mg/m ² (4 days) Cyclophosphamide 750 mg/m ² (4 days) Alemtuzumab 0,3 mg/kg (5 days)
Hodgkin lymphoma	Fludarabine 30 mg/m ² (3 days) Cyclophosphamide 60mg/kg (day 1) Thiotepa 100 mg/m ² (1 day) Thymoglobulin 2.5 mg/kg (3 days) (when the donor is unrelated)
MDS with hypocellular bone marrow	Fludarabine 40 mg/m ² (4 days) Thiotepa 5 mg/kg (3 days) Thymoglobulin 2.5 mg/kg (3 days) (when the donor is unrelated)
MDS with monosomy 7	Clofarabine 30mg/m ² (4 days) Flufarabine 10mg/m ² (4 days) Busulfan 3mg/kg (4 days)

ALL acute lymphoblastic leukemia, AML acute myeloblastic leukemia SAA – severe aplastic anemia, MDS myelodysplastic syndrome, TBI total body irradiation.

Standard immune suppression was achieved with cyclosporine (1.5 mg/kg twice a day), titrating dose according to the results of concentration in blood, and methotrexate 10 mg/m² on days 1, 3 and 6 post-transplant.

Annex 3. BMI z score according to children's age

According to WHO, the definitions of overweight and obesity vary according to the age of children.

	Overweight	Obesity
	< 5 years	
BMI z score	> 2 SD	> 3 SD
	> 5 years	
BMI z score	> 1 SD	> 2 SD

SD - standard deviation

For the consistency of definitions, we have defined overweight/obese status as BMI z score > 2. Underweight for all children was defined as BMI z score < - 2.

PUBLIKACIJOS IR PRANEŠIMAI DISERTACIJOS TEMA

Publikacijos

Kairiene I, Vaisvilas M, Vasciunaite A, Tubutyte G, Nedzelskiene I, Pasauliene R, Muleviciene A, Rascon J. Impact of percutaneous endoscopic gastrostomy on pediatric bone marrow transplantation outcomes: Retrospective single-center cohort study. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2023 Mar;47(3):390-398. doi: 10.1002/jpen.2479. Epub 2023 Feb 8. PMID: 36670075. (IF 3.46; Q1).

Ignė Kairienė rinko duomenis, vykdė statistinę duomenų analizę bei jų interpretaciją, analizavo literatūrą, parašė straipsnio rankraštį.

Gustaitė S, Everatt V, **Kairienė I**, Vaišnorė R, Rascon J, Vaitkevičienė GE. Changes in Nutritional Status during Induction Phase and Their Association with Fever and Minimal Residual Disease in Paediatric Acute Lymphoblastic Leukaemia. Medicina (Kaunas). 2023 May 24;59(6):1008. doi: 10.3390/medicina59061008. PMID: 37374212; PMCID: PMC10301775. (IF 2.6; Q2)

Ignė Kairienė parengė darbo koncepciją, rinko duomenis, interpretavo statistinės analizės rezultatus, analizavo literatūros šaltinius, koregavo rankraštį, kuravo darbo eigą.

Pranešimai

The Impact of Maternal Anthropometric and Nutritional factors as well as Breastfeeding on Childhood Cancer. Kairiene I, Rascon J. (EAP 2023-05, Padua, Italy).

The Impact of body weight, consumption of supplements and infection rate on Childhood Cancer. Kairiene I, Rascon J. (40th NOPHO, 2023-05, Lund, Sweden)

Impact of Nutritional Status on Treatment Related Complications and Minimal Residual Disease in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. Everatt V., Gustaitė S., Kairienė I., Vaitkevičienė G., Rascon J. (39th NOPHO, 2022-05 Kuopio)

Plasma amino acids and fecal calprotectin usage for the prediction of intestinal injury after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children. Kairiene I, Vaisnora R, Rascon J (50th annual meeting EBMT 2024-04, Glasgow, UK)

GYVENIMO APRAŠYMAS

Išsilavinimas

2020–2024	Doktorantūros studijos, Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas.
2011–2018	Vaikų ligų ir vaikų hematologijos rezidentūros studijos, Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas. Vaikų ligų gydytojo licencija MPL-22802 nuo 2018-06-28. Gydytojo vaikų hematologo licencija MPL-22801 nuo 2018-06-28.
2005–2011	Vientisosios medicinos studijos, Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas, suteiktas medicinos magistro laipsnis bei medicinos gydytojo kvalifikacija 2011-06-16.
1993–2005	Vilniaus Salomėjos Nėries gimnazija (diplomas su pagyrimu)

Darbo patirtis

2018 iki dabar	Gydytoja vaikų onkohematologė VŠĮ Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikose, Santariškių g. 4, Vilnius
2018 iki 2022	Vaikų ligų gydytoja budėjimams VŠĮ Vilniaus miesto klinikinėje ligoninėje, Antakalnio g. 57, Vilnius.
2022 iki dabar	Vaikų ligų gydytoja ir gydytoja vaikų onkohematologė UAB „Gerovės klinika“. Nemenčinės pl. 4A, Vilnius
2018 iki dabar	Atsakingas audinių banko asmuo UAB „Placenta“, Santariškių g. 5, Vilnius

**Publikacijos,
nesusijusios su
disertacija**

Gudauskaitė G, **Kairienė I**, Ivaškienė T, Rascon J, Mobasher A. Therapeutic Perspectives for the Clinical Application of Umbilical Cord Hematopoietic and Mesenchymal Stem Cells: Overcoming Complications Arising After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Adv Exp Med Biol.* 2023;1409:111-126. doi: 10.1007/5584_2022_726. PMID: 35995905. **IF 3.65**

Kairiene I, Vaisvilas M, Vasciunaite A, Tubutyte G, Nedzelskiene I, Pasauliene R, Muleviciene A, Rascon J. Impact of percutaneous endoscopic gastrostomy on pediatric bone marrow transplantation outcomes: Retrospective single-center cohort study. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2023 Mar;47(3):390-398. doi: 10.1002/jpen.2479. Epub 2023 Feb 8. PMID: 36670075. **IF 3.896**

Kairiene I, Dirse V, Mickys U, Muleviciene A, Vyas P, Rascon J. Transient abnormal myelopoieses without constitutional Down syndrome. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine* 2020; 9090104.

Kairiene I, Pasauliene R, Lipunova N, Vaitkeviciene G, Rageliene L, Rascon J. Improved outcome of childhood acute myeloid leukemia in an Eastern European country: Lithuanian experience. *European Journal of Pediatrics.* 2017 Oct; 176(10), pp. 1329–1337. **IF 1.921.**

Burokiene S, **Kairiene I**, Stricka M, Labanauskas L, Cerkauskiene R, Raistenskis J, Usonis V. Unscheduled Return Visits to a

Paediatric Emergency Department.
Medicina 2017;;53(1), pp. 66–71. **IF 1.429.**

Kairienė I, Mulevičienė A, Rimkutė D, Čerkauskienė R, Vaitkevičienė G, Rascon J. Lėtinė granulominė liga: atvejų pristatymas ir literatūros apžvalga. *Medicinos teorija ir praktika* 2015; 21(2.1), p. 117–122.

Kairienė I, Biliuvienė J, Pasaulienė R, Stankevičienė S, Drazdienė N, Ragelienė L, Rascon J. Naujagimių ir kūdikių leukemija. *Medicinos teorija ir praktika* 2014 20(2), p. 134–140.

Kairienė I. Omega-3 riebalų rūgščių įtaka vaikų alerginėms ligoms. *Pediatrija* 2013; 64(5).

Drazdienė N, **Kairienė I**, Vankevičienė R. Naujagimių ir kūdikių maudymas. *Pediatrija* 2012; 55, p. 21–24.

Arlauskienė A, **Kairienė I**, Rachlevičiūtė M. Hormoninės kontracepcijos vartojimo įtaka pastojimui. *Sveikatos mokslai* 2011; 5(21).

Apdovanojimai ir narystės

2010 m. Džono ir Idos Valauskų stipendija už labai gerus mokymosi rezultatus.

2013 m. III vieta rezidentų pranešimų kategorijoje metinėje Lietuvos pediatrų draugijos konferencijoje.

2021 m. III vieta VU konkurse „3 minučių disertacija“.

Lietuvos vaikų onkohematologų draugijos narė

Šiaurės ir Baltijos vaikų hematologų ir onkologų draugijos NOPHO (*Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology*) narė.

CURRICULUM VITAE

Education

- 2020 - 2024 Doctoral studies, Vilnius University Faculty of Medicine.
- 2011- 2018 Residency studies in pediatric diseases and pediatric hematology, Vilnius University, Faculty of Medicine.
- Pediatrician's license MPL-22802 from 28-06-2018. Pediatric hematologist license MPL-22801 from 28-06-2018.
- 2005 - 2011 Master's degree in medicine, Vilnius University, Faculty of Medicine, master's degree in medicine and qualification as a medical doctor, 16 June 2011.
- 1993 - 2005 Vilnius Salomėja Nėris Gymnasium (diploma with honors)

Work experience

- 2018 - Pediatric oncohematologist at Vilnius present University Hospital Santaros Clinics, Santariškių str. 4 Vilnius
- 2018 - 2022 Pediatrician at Vilnius City Clinical Hospital, Antakalnio str. 57, Vilnius.
- 2022 - Pediatrician and pediatric oncohematologist at present Gerovės Klinika UAB. Nemenčinės pl. 4A, Vilnius
- 2018 - Responsible person of the tissue bank UAB present Placenta, Santariškių str. 5, Vilnius

**Publications
not related
to the thesis**

Gudauskaitė G, **Kairienė I**, Ivaškienė T, Rascon J, Mobasher A. Therapeutic Perspectives for the Clinical Application of Umbilical Cord Hematopoietic and Mesenchymal Stem Cells: Overcoming Complications Arising After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Adv Exp Med Biol.* 2023;1409:111-126. doi: 10.1007/5584_2022_726. PMID: 35995905. **IF 3.65**

Kairiene I, Vaisvilas M, Vasciunaite A, Tubutyte G, Nedzelskiene I, Pasauliene R, Muleviciene A, Rascon J. Impact of percutaneous endoscopic gastrostomy on paediatric bone marrow transplantation outcomes: a retrospective single-center cohort study. *JPEN J Parenteral Enteral Nutr.* 2023 Mar;47(3):390-398. doi: 10.1002/jpen.2479. Epub 2023 Feb 8. PMID: 36670075. **IF 3.896**

Kairiene I, Dirse V, Mickys U, Muleviciene A, Vyas P, Rascon J. Transient abnormal myelopoieses without constitutional Down syndrome. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine* 2020; 9090104.

Kairiene I, Pasauliene R, Lipunova N, Vaitkeviciene G, Rageliene L, Rascon J. Improved outcome of childhood acute myeloid leukemia in an Eastern European country: Lithuanian experience. *European Journal of Pediatrics.* 2017 Oct, Volume 176, Issue 10, pp 1329-1337. **IF 1.921**

Burokiene S, **Kairiene I**, Stricka M, Labanauskas L, Cerkauskiene R, Raistenskis J, Usonis V. Unscheduled Return Visits to a Paediatric Emergency Department. *Medicina.* Volume 53, Issue 1, 2017, pages 66-71 **IF 1.429**

Kairienė I, Mulevičienė A, Rimkutė D, Čerkauskienė R, Vaitkevičienė G, Rascon J. Chronic granulomatous disease: a case presentation and review of literature. Medical theory and practice 2015 - Vol. 21 (No. 2.1), pp. 117-122.

Kairienė I, Biliuvienė J, Pasaulienė R, Stankevičienė S, Drazdienė N, Ragelienė L, Rascon J. Neonatal and infant leukaemia. Medicinos teorija ir praktika 2014 - Vol. 20 (Nr. 2), 134-140p.

Kairienė I. Influence of omega-3 fatty acids on allergic diseases in children. Pediatrics 2013; 64 (5).

Drazdienė N, **Kairienė I**, Vankevičienė R. Neonatal and infant bathing. Pediatrics 2012; 55 p.21-24.

Arlauskienė A, **Kairienė I**, Rachlevičiūtė M. Influence of hormonal contraception on conception. Health Sciences No. 5, Volume 21, 2011.

Awards and membership

2010 John and Ida Valauskai Scholarship for very good academic performance.

2013 - 3rd place in the category of resident presentations at the annual conference of the Lithuanian Pediatric Society.

2021 - 3rd prize in the VU competition "3-minutes dissertation".

Member of the Lithuanian Society of Pediatric Oncohematology

Member of the Nordic and Baltic Society of Pediatric Hematology and Oncology (NOPHO).

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

UŽRAŠAMS

Vilniaus universiteto leidykla
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius
El. p. info@leidykla.vu.lt, www.leidykla.vu.lt
bookshop.vu.lt, journals.vu.lt
Tiražas 25 egz.