



**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“
ВО СКОПЈЕ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ**



Аријета Хасани

**Евалуација на имунолошки одговор кај
деца со малигни хемопатии**

Докторски труд

Скопје, 2025

Содржина

1. Вовед

- Малигни хемопатии кај деца
- Клинички карактеристики, третман и исход
- Имунолошкиот систем кај дете во развој
- Ефекти од хемотерапија врз имунитетот
- Зошто е важно следењето на имунолошкиот одговор
- Цел на студијата

2. Преглед на литература

- Акутна лимфобластна и миелоидна леукемија: епидемиологија и третман
- Карактеристиките и функција на имунолошки систем
- Имунолошки ефекти од хемотерапија
- Механизми на имуносупресија
- Ризици за инфекции кај имуносупримираните пациенти
- Долгорочни имунолошки последици
- Време на опоравување на имунолошкиот систем
- Претходни студии и отворени прашања

3. Материјал и методи

- Тип на студија (проспективна / опсервациска)
- Демографија и основни податоци
- Критериуми за вклучување и исклучување
- Опишување на пациентите: пол, возраст, дијагноза
- Фази на евалуација: пред третман, по индукција, по крај на терапија
- Анализирани параметри: лимфоцитни субпопулации (CD3, CD4, CD8, CD19, NK), имуноглобулини (IgG, IgA, IgM), број на неутрофили, серолошки одговор на вакцинација
- Лабораториски методи и техники
- Статистички методи

4. Резултати

- Имунолошки параметри при дијагноза на болеста - Новодијагностицирани (Н)
- Имунолошки параметри при крај на индукциона терапија (ИТ)
- Имунолошки параметри при крај на интензивна терапија (КИТ)
- Компаративна анализа на анализираниите параметри пред терапија (Н) / крај на индукциона терапија (ИТ) / крај на интензивна терапија (КИТ)
- Промени во лимфоцитните субпопулации
- Хипогамаглобулинемија и времетраење

- Инциденца на инфекции и потреба од IG супституција
- Табели и графици
- Статистички значајни наоди

5. Дискусија

- Толкување на резултатите
- Споредба со други студии
- Клиничко значење
- Потенцијални влијанија на третманот и вакцинирањето
- Ограничувања на студијата
- Предлог за идни истражувања

6. Заклучок

- Главни наоди
- Клинички импликации
- Потреба од рутинска имунолошка проценка
- Поддршка со IG/вакцини кај високоризични деца
- Поттик за индивидуализиран пристап

7. Апстракт (на македонски и англиски јазик)

8. Референци

1. ВОВЕД

Малигните хемопатии, како што се акутната лимфобластна леукемија (АЛЛ), акутната миелоидна леукемија (АМЛ) и различните типови лимфоми, претставуваат најчести малигни заболувања кај педијатриската популација. Овие болести сочинуваат над 40% од сите малигнитети кај децата и се карактеризираат со клонална пролиферација на незрели клетки кои ја нарушуваат нормалната хематопоеза и го компромитираат имунолошкиот систем (1,2).

Најчеста малигна болест во детството е акутна лимфобластна леукемија (АЛЛ). Пет годишното вкупно преживување кај децата со АЛЛ бележи импресивен напредок, од 60% на околу 90% за деца помали од 15 години и од 28% на повеќе од 75% за адолесценти и возрасни (3,4).

Овој импресивен тераписки успех несомнено се должи на новите дијагностички методи, стратификација на пациентите во групи според ризик, ефективна администрација на хемотерапевтски агенси, таргетирана терапија соодветна на индивидуалните карактеристики на болеста и на обезбедувањето на подобра помошна терапија.

Имунолошкиот систем кај децата сè уште е во процес на созревање, што ги прави особено ранливи на имунолошки нарушувања, како и на инфекции (5). Овој систем е составен од вродени и стекнати механизми кои функционираат заедно за да обезбедат одбрана од патогени, но и за да ја регулираат хомеостазата и одговорот на лекување (6).

Самите малигни заболувања, како и интензивниот хемотерапевтски третман, имаат значително влијание врз имунолошката функција. Современите тарписките протоколи, вклучуваат интензивни протоколи на хемотерапија, биолошки агенси и радиотерапија, кои често имаат штетно влијание на клетките на имунолошкиот систем и произведуваат секундарна имунодефициенција (СИД). Хемотерапијата води до супресија на коскената срж, редукција на лимфоцитни подгрупи, хипогамаглобулинемија и нарушена функција на клетките на вродениот и адаптивниот имунитет (7,8). Дополнително, употребата на

кортикостероиди и биолошки агенси дополнително го компромитира имунолошкиот одговор, зголемувајќи го ризикот за инфекции и други компликации (9).

Инфекциите остануваат главна причина за морбидитет и морталитет кај пациентите со малигни заболувања. Тие го пролонгираат текот на третманот кај овие пациенти и често претсавуваат сериозен животозагрозувачки ризик. Интересот за анализирање на имунолошкиот статус кај деца со малигна болест во тек и по завршување на хемотерапија е предмет на истражување во последните години.

Заради овие предизвици, евалуацијата на имунолошкиот статус кај децата со малигни хемопатии претставува суштински дел од целокупната клиничка проценка (10). Следењето на параметри како што се нивото на имуноглобулини, лимфоцитните подгрупи (CD3, CD4, CD8, CD19, NK клетки), бројот на неутрофили и серолошкиот одговор на вакцинација, овозможуваат проценка на имуносупресијата и потребата од соодветна поддржувачка терапија, како што се имуноглобулинска супституција или антиинфективна профилакса (11,12).

Целта на овој труд е да се анализира имунолошкиот одговор кај деца со малигни хемопатии во различни фази на третманот, со цел подобро разбирање на ризиците и унапредување на индивидуализираниот клинички пристап.

2. ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРА

- **Акутна лимфобластна леукемија (АЛЛ)**

Акутната лимфобластна леукемија е најчестата малигна хемопатија во детската возраст, сочинувајќи околу 75–80% од сите случаи на леукемија кај деца (1). Се карактеризира со неконтролирана пролиферација на незрели лимфобласти, најчесто од В-клеточна линија, во коскената срж и периферната крв. Клиничките симптоми се резултат на супресија на нормалната хематопоеза и вклучуваат анемија, тромбоцитопенија и неутропенија, што се манифестираат со замор, крварење и чести инфекции (2).

Дијагнозата се поставува преку морфолошка и имунофенотипска анализа на коскената срж, дополнета со цитогенетика и молекуларна дијагностика (3). Врз основа на лозата

која е зафатена се класифицираат на Б клеточна лимфобластна леукемија (85%) и Т Клеточна лимфобластна леукемија (15-20%) (13).

Третманот на ALL е интензивен, комплексен и долготраен. Оптималните резултати во третманот на болеста строго се поврзани со строго придржување на современите протоколи на лекување.

Менаџирањето на болеста зависи од ризикот од релапсот кој е одреден од клиничката презентација, имунофенотипот, цитогенетските карактеристики на леукемични клетки и одговорот на иницијалната терапија (14).

Лекувањето се спроведува според протоколи кои вклучуваат индукција, консолидација, интензификација и одржување на хемотерапија. Во последните децении, преживувањето значително се подобри, при што стапките на целосна ремисија надминуваат 90%, а петгодишното преживување е над 85% во развиените земји (6,7).

- **Акутна миелоидна леукемија (АМЛ)**

АМЛ сочинува околу 15–20% од сите случаи на леукемија кај деца (8). За разлика од АЛЛ, АМЛ произлегува од миелоидната лоза и покажува поголема биолошка хетерогеност. Клиничките симптоми се слични како кај АЛЛ, но често може да се јави леукостаза, коагулопатија или инфилтрација на гингиви и кожа (9).

АМЛ е хетерогена болест која бара индивидуализирана цитогенетска и молекуларна карактеризација. Терапијата за АМЛ вклучува интензивна хемотерапија, а во одредени случаи и трансплантација на хематопоеетски матични клетки (HSCT), особено кај високо-ризични пациенти (10). И покрај напредокот во лекувањето, преживувањето кај АМЛ останува послабо од АЛЛ, со петгодишна стапка на преживување од околу 60–70% (11).

- **Лимфоми кај деца**

Лимфомите претставуваат втората најчеста група на хематолошки малигнитети во детската возраст, и се класифицираат на Hodgkin и не-Hodgkin лимфоми (NHL) (12). Hodgkin лимфом најчесто се јавува кај адолесценти и се карактеризира со присуство на Reed-Sternberg клетки, додека NHL има побрза прогресија и се дели на неколку

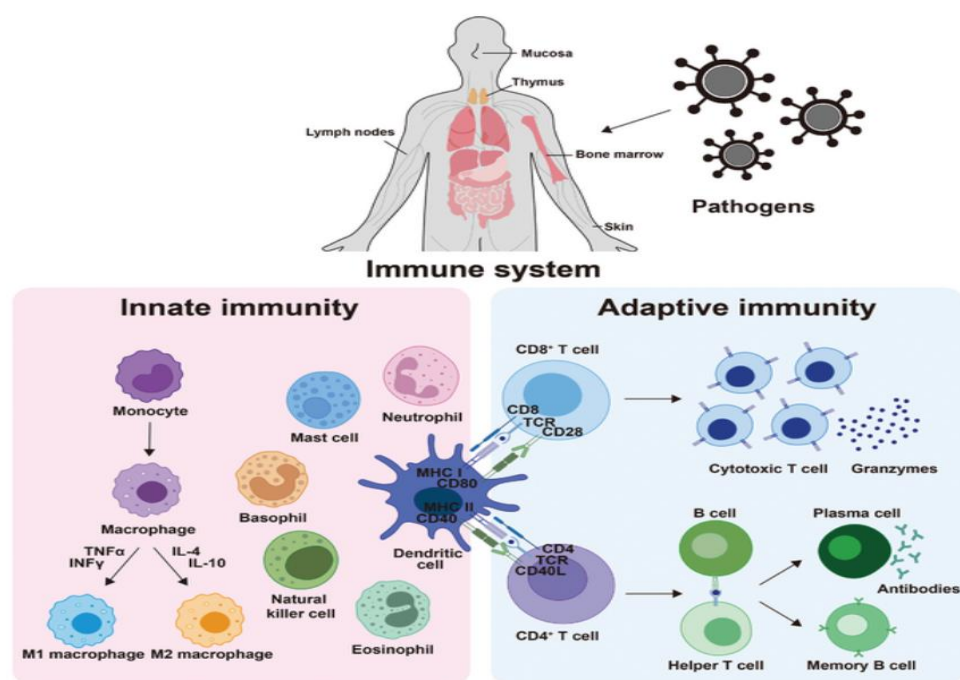
подтипови, вклучувајќи Burkitt лимфом, лимфобластен лимфом и дифузен голем В-клеточен лимфом (15).

Дијагнозата се поставува врз основа на симптомите, физикалниот преглед на детето како хистопатолошка евалуација на биоптиран материјал. Врз основа на генетски, хистолошки испитување како и имунофенотипизирање се дефинирани и подтиповите на НХЛ. (16)

Терапијата вклучува хемотерапија со или без радиотерапија, во зависност од стадиумот и подтипот. Постигнати се драматични подобрувања во преживувањето кај децата и адолесценти дијагностицирани со лимфом. Преживувањето кај педијатриските лимфоми е високо, со стапки на целосна ремисија од 85–95% за Hodgkin и околу 80% за NHL (17,18). И покрај добриот одговор на терапијата, кај некои пациенти се јавуваат доцни ефекти како инфертилитет, кардиотоксичност и секундарни малигнитети (19).

- **Карактеристиките и функција на имунолошки систем**

Имунолошкиот систем претставува интерактивна мрежа од лимфоидни органи, клетки, хуморални фактори и цитокини чија основна функција е во одбраната на домаќинот. Имунолошкиот систем е поделен на два дела кои се разликуваат врз основа на брзина и специфичност на реакцијата. Тие се вродени и адаптивни имунолошки одговори, помеѓу кои постои тесна интеракција. (фиг1)



Advanced Immunomodulatory Biomaterials for Therapeutic Applications, Advanced Healthcare Materials , 14(5):e2304496 DOI:10.1002/adhm.202304496, May 2024

Фиг 1. Клеточни компоненти на имунолошкиот систем

Вродениот имунитетот е во состојба да разликува туѓи молекули од сопствените но не е специфичен за антигенот за разлика од адаптивниот имунитет кој употребува антиген-специфични рецептори на Т и Б клетките за предизикање на таргетирани ефекторни одговори (20). Вродениот имунитет вклучува физички, хемиски и микробиолошки бариери како и клеточните елементите на имунолошкиот систем (неутрофили, моноцити, макрофаги, комплемент, цитокини, НК клетки) кои обезбедуваат непосредна одбрана на домаќинот (21,22).

Имунолошките клетки за време на развојот во својата клеточна површина произведуваат комплексни варијанти на антигени така наречените клластер на диференцијација (CD). Се користат за идентификација и изолација на леукоцитните популации, субпопулации и фази на диференцијација (23,24).

Во табелата 1 наведени се CDмаркери кои се карактеристични за имунолошки клетки

Табела 1. Идентификациони CD маркери на одредени имунолошки клетки

Антигенот	Дистрибуција
CD45	леукоцити
CD3	Т клетки
CD4	Т хелпер/инфламаторни клетки, моноцити, макрофаги
CD8	Т цитотоксични/супресорни клетки

CD19	Б клетки
CD16	НК клетки, гранулоцити, макрофаги
CD56	НК клетки

CD45 претставува голем гликопротеински рецептор кој сочинува 5-10% од вкупните гликопротеини на површината на Т- и Б-лимфоцитите. CD45 се експресира на површината на сите нуклеарни хематопоетски клетки и нивните прекурсори, освен на зрелите еритроцити и тромбоцити. Постојат неколку изоформи на CD45 експресирани на хематопоетички клетки. Наивните Т-клетки ја експресираат високомолекуларната изоформа која содржи Ехон 4, CD45RA. По клеточната активација, екстрацелуларниот домен на CD45RA е подложен на алтернативно спојување и е заменет со CD45RO, која исто така се наоѓа на мемориските Т-клетки (25).

CD45 играа клучна улога во регулацијата и модулацијата на имунолошкиот одговор. Анализирањето на шемата на експресија на CD45 изгледа битна за прогнозата на пациентот како пациенти со претежно CD45-позитивните ММ клетки имаат подобар клинички исход (26,27). Загубата на експресијата на CD45 била откриена и кај пациенти со Ходкинов лимфом (28) и детска акутна лимфоцитна леукемија (ALL) (26). Истражувањата на возрасни ALL пациенти покажале дека во споредба со пациентите со ниско ниво на CD45, пациентите со висок CD45 ALL имале пониска стапка на преживување без настани поради повисока процент на релапс (27).

CD2, CD4 и CD8 клетки. Функционалноста на Т-клетките во голема мера е одредена од површинските протеини како CD3, CD4 и CD8, кои придонесуваат за нивната способност да препознаат антигени и да организираат имунолошки одговор (29). CD3 комплексот претставува составен дел од Т-клеточниот рецептор (TCR) во Т клетките, кој игра улога во активацијата на Т-клетките и преносот на сигналот. **CD4** е гликопротеин кој се експресира на површината на Т помошните клетки и делува како ко-рецептор, зајакнувајќи ја интеракцијата помеѓу Т-клеточниот рецептор и антиген презентирачка клетка. CD4 специфично се врзува за молекулите од класа II на МНС на површината на антиген-презентирачките клетки, како што се дендритските клетки, макрофагите и Б-клетките(30,31). **CD8** е површински гликопротеин кој претежно се експресира кај цитотоксичните Т-клетки, кои играт улога на директна елиминација на инфицирани или малигни клетки. Се врзуваат за молекулите од класа I на МНС, кои се присутни во сите нуклеирани клетки (30).

CD19 претставува биомаркер за нормални и неопластични Б-клетки, како и за фоликуларни дендритски клетки. Поради неговото присуство на сите Б-клетки, претставува биомаркер кој кажува развивањето на Б лимфоцити, дијагноза на лимфом и може да се користи како таргет за терапија при леукемии – имунотерапија (32).

Клетките природни убијци (NK) имаат морфологија како и лимфоцитите, но не носат специфични рецептори за антигени. Се дефинираат со експресија на маркерот за адхезија на клетките CD56 и недостатокот на Т-клеточниот рецептор CD3 (CD56+CD3-). Нивна функција е лизирање на туморски и вирусни клетки преку врзување со нивни (FcR) имуноглобулински рецептори и рецептори за МНС класа I кои ги имаат во на нивната површина (33).

Соодносот CD4/CD8 го покажува балансот помеѓу CD4 и CD8 клетките. Се рачуна нормален ако соодносот е помеѓу 1.0-3.0 (34). CD4/CD8 ratio е <1 при пореметувања во коскената срцевина поврзана со хемотерапија, хронична инфекција, анемија, мултиплекс склероза, мијастениа гравис, AIDS. CD4/CD8 ratio е >1 при тешки инфекции, вирусни инфекции, малигни хемопатии.

Стимулација на имуниот систем од вакцините

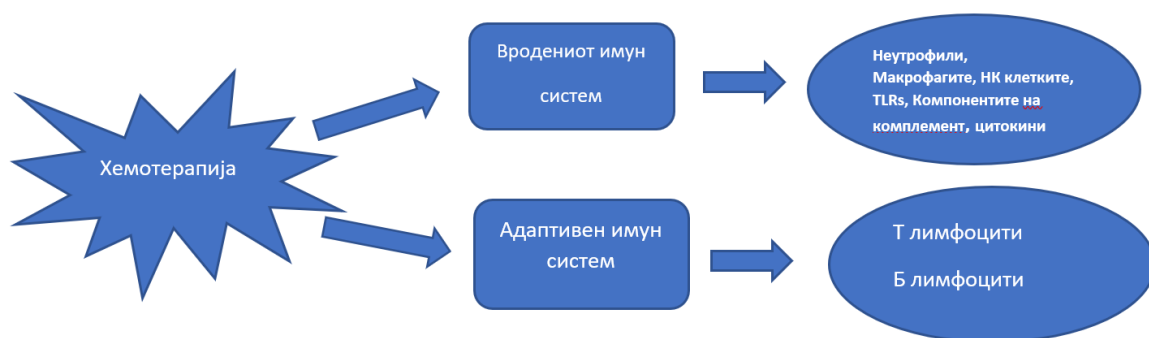
Постојат различни видови на вакцини кои се користат за превенција на заразни болести. Улогата на вакцини е да го активираат вродениот имунолошки систем и двете раце на адаптивниот имунолошки систем, клеточниот и хуморален имун систем(35). Хемотерапијата спроведена кај децата сигнификантно ги намали вредностите на антителата .

Во ретроспективна крос-секциска студија реализирана од Ince et al. (2024 Aug 28;41(3):160-166.) сите седумдесет и осум деца кои ја завршија хемотерапијата за АЛЛ беа вклучени во студијата. Сите деца имале намалување на антителата за најмалку една од болестите која можел да се превенира со вакцинација. Највисока стапка на серопозитивност по хемотерапија е пронајдена за хепатитис А(55.1%) и најниската за морбили(17,9%). Пациентите со АЛЛ со повисок ризик имале пониски вредности на серопозитивност од пациентите од другите ризични групи.(57)

- **Ефекти на хемотерапија врз имунолошкиот систем кај деца со малигни хемопатии**

Имунолошкиот систем кај децата, особено кај малите деца, се наоѓа во фаза на постојано созревање. Како резултат, тие се особено ранливи на имунолошки дисфункции предизвикани од самите болести, но уште повеќе од агресивниот хемотерапевтски третман (36). Кај децата со АЛЛ, АМЛ и лимфоми, имуносупресијата може да биде директна последица на малигната инфилтрација на коскената срж, како и на третманот што вклучува комбинација од цитотоксични лекови, кортикостероиди, моноклонални антитела и/или трансплантација на хематопоетски матични клетки (37,38).

Додека примарната цел на хемотерапија е да ги елиминира канцерозните клетки, може ненамерно да влијае на имунолошките клетки предизвикувајќи имуносупресија или дисрегулација. Хемотерапијата има влијаније на клетките на имунолошкиот систем, на клетките на вродениот и адаптивен имун систем (39). (Фиг2)



Фиг 2. Влијаније на хемотерапија врз клетките на имуниот систем

Хемотерапијата, иако е основа на лекување, значително влијае врз имунолошката функција. Најчестите ефекти вклучуваат:

- **Миелосупресија** и пролонгирана **неутропенија**
- **Редукција на НК-клетки** и нарушена фагоцитна функција
- **Лимфоцитопенија**, особено на CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетките
- **Хипогамаглобулинемија**, која може да трае со месеци по завршување на третманот

- **Механизми на имуносупресија**

Механизмите со кои се предизвикува имуносупресија од хемотерапија се неколку: директен цитотоксичен ефект врз имунолошки клетки, промени во диференцијација и функционалноста на имунолошките клетки, нарушување на имуноклеточна комуникација и сигнализирачки патишта. Хемотерапијата влијае и врз вродениот и адаптивниот имун систем. Хемотерапијата може да ја модулира активноста и функцијата на клетките на вроден имун систем како што се NK клетки, DCs, макрофагите и неутрофилите, нарушувајќи ја нивната способност да создадат ефикасен имунолошки одговор (40). Клетките на адаптивен имунолошки систем, особено Т лимфоцити и Б лимфоцити, подлежат на значителни промени како одговор на хемотерапија која влијае на нивната пролиферација, активирање и ефекторни функции (41).

Цитостатските лекови, како што се винкристин, даунорубицин, циклофосфамид и цитарабин, имаат за цел да ги уништат брзо делечките клетки, но притоа ги оштетуваат и клетките на имуниот систем, особено лимфоцитите, моноцитите и неутрофилите (42). Овие ефекти водат до лимфопенија (намалување на CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки), хипогамаглобулинемија (намалено ниво на IgG, IgA и IgM), и дисфункција на природните клетки-убијци (NK-клетки) (43,44).

Кортикостероидите, кои се стандардна компонента на лекување кај АЛЛ, имаат силен лимфоцитолитички ефект, особено врз Т-клетките, и значително ја намалуваат продукцијата на цитокини и антигенската презентација (45).

Во последните години, третманите со таргетирана терапија и имунотерапија (на пример, rituximab кај B-NHL или blinatumomab кај рефрактерна АЛЛ) дополнително го менуваат имунолошкиот баланс, водат до длабока В-клеточна деплеција и зголемен ризик за опортунистички инфекции (46,47).

- **Ризици за инфекции кај имуносупримиран пациенти-Клинички последици**

Овие нарушувања доведуваат до значителен ризик за инфекции, особено бактериски и вирусни (CMV, EBV, аденовирус), како и фунгални инфекции. Особено загрижувачки

се инвазивните фунгални инфекции, цитомегаловирусот (CMV), епштајн-бар вирусот (EBV), како и реактивација на латентни вируси.

Неутропенијата (<500 неутрофили/ μ L) е посебно значаен фактор за сепса и фебрилна неутропенија (48). Пациентите со хипогамаглобулинемија се изложени на респираторни и гастроинтестинални инфекции, а кај дел од нив е потребна хронична супституција со интравенозни имуноглобулини (IVIG) (49).

Ретроспективна студија која анализира инфекции кај деца дијагностицирани со АЛЛ за време на третманот беше објавена врз основа на податоци земени од 17 хематолошки центри во Полска. 53.2% од децата пријавиле дека имале бактериски инфекции за време на третманот, 18.4% имале вирусни инфекции, а 20,4 од децата имале габични инфекции. Степенот на mortalитетот беше 2,4% главно поради габични инфекции(50).

- **Долгорочни имунолошки последици**

Иако има подобрување во долгогодишното преживување, децата со акутни леуемии остануваат под ризик за доцна токсичност и mortalитет поврзан со третманот.

Mortalитетот поврзан од третманот се случува во првата година од третманот, за време на индукциона фаза на терапија или кратко после тоа, и зависи од многу фактори како што е агресивноста на користениот протокол на лекување и несакани ефекти поврзани со користење на високи дози на кортикотерапија, антибиотици, хемотерапија, и трансплантација на хематопоетски клетки.

Кај преживеаните од детски малигнитети, особено по трансплантација или третман со интензивни протоколи, може да се јави долготрајна имунодефициенција, со бавно враќање на нормалниот број и функција на лимфоцити (51).

Инфекциите се честа компликација и после третманот на акутни леукемии. Во ретроспективна, едноинституционална студија, стапката на инфекции кај преживеаните со леукемија во тек на првата година беше 1.8 пати поголема во споредба на контролната група, 1.7 пати поголема 1-5 години по завршување на третманот, и 1,3 пати над 5 години по завршување на лекувањето (52).

Иако многу параметри на имунолошката функција се обновуваат со текот на времето по завршувањето на хемотерапијата, како што се параметрите на хуморалниот

имунитет, некои пациенти остануваат подолго време и со години со имунодефицит, особено ако биле третирани со интензивни протоколи или имале трансплантација на матични клетки.

Студијата (Kosmidis et al.2008;50:528 – 532) ги опишува имунолошките промени од крај на интензивна терапија (E1) до завршување на фазата на одржување (E2), 6 месеци (E3), 12 месеци (E4) и 18 месеци (E5) по завршување на фазата на одржување. Во периодот од крај на интензивна терапија до крај на фазата на одржување 12 имунолошки параметри се сигнификатни променети. IgA и CD19 се сигнификантно пораснати во тек на овој период, CD3, CD8, CD3DR, CD45RO, CD45RA сигнификантно намалени. Хуморалниот имунитет се намалува во тек на интензивна терапија но почнува да се обновува по прекилот на терапија. Клеточниот имун одговор беше нормален на крајот на интензивна терапија, но значително се намалува до крајот на терапијата на одржување, 6 месеци, 12 и 18 месеци потоа (53).

- **Време на опоравување на имунолошкиот систем**

Опоравувањето на имунитетот по хемотерапија може да биде **продолгано**, особено кај пациенти со АМЛ или кај оние кои биле подложени на трансплантација. CD4+ Т-клетките може да останат под нормала со месеци, па дури и со години, а серолошкиот одговор на вакцинација често е ослабен, што го наметнува прашањето за ревакцинација по завршување на хемотерапијата.

Студии публикувани покажуваат дека на крај на хемотерапија, сите пациенти имале некој степен на имунолошка дисфункционалност. 6 месеци по терапија перзистирал леукопенија кај 25% на децата лекувани од АЛЛ, неутропенија кај 15 %, лимфопенија 5%, хипогамаглобулинемија кај 25% , абнормални лимфоцитни субпопулации кај 20 %, намалена (15%) или одсутна функција на НК клетки кај 10 деца и кај 25 деца се јави абнормален пролиферативен одговор на лимфоцити (54). Исто така и антителата стекнати после вакцинација се засегнати и со тоа се зголемува ризикот од зараза од болести кои можат да се спречат со вакцини . Повторната вакцинација, посебно против Нib, HBV и пневмококи, е неопходна кај овие пациенти, и мора да се базира врз индивидуалната проценка на серолошкиот одговор и Б-клеточната функција (55,56).

Следење на имунолошки параметри

Следењето на имунолошкиот статус е клучен дел од грижата за пациентите со малигни хемопатии. Најчесто се мерат:

- Број и пропорција на **лимфоцитни субпопулации (CD3, CD4, CD8, CD19, CD56)**
- Нивоа на **имуноглобулини (IgG, IgA, IgM)**
- **Број на неутрофили**
- **Одговор на вакцинација** (на пр. на дифтерија, тетанус, хепатитис В)

Овие параметри даваат информација за степенот на имуносупресија и можната потреба од дополнителна терапија како што е **антиинфективна профилакса** или **имуноглобулинска супституција**.

3. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Студијата е проспективна-обсервациска студија.

- **Цели на студијата**

Главна цел на трудот е да се евалуира имунолошкиот одговор кај деца со малигни хемопатии во различни фази од третманот, со цел идентификација на фактори поврзани со имуносупресија и можни интервенции за намалување на ризикот од инфекции и други компликации.

- **Специфични задачи:**

- Да се анализираат лабораториски параметри поврзани со имунолошкиот статус (имуноглобулини, лимфоцитни подгрупи, апсолутен број на неутрофили и лимфоцити).
- Да се споредат имунолошките параметри пред, за време и по завршување на третманот.

- Да се испита поврзаноста помеѓу интензитетот на третманот и степенот на имуносупресија.
- Да се идентификуваат пациенти со висок ризик за пролонгирана имуносупресија.
- Да се разгледа потребата од поддржувачки интервенции (имуноглобулинска терапија, вакцинација, антиинфективна профилакса).
- **Хипотеза**

Современата мултиагентна хемотерапија е поврзана со промени во имунолошкиот статус кај децата со малигни заболувања што доведува до секундарен имун дефицит. Откривањето на секундарен имун дефицит е важно за успешно и непречено спроведување на лекувањето.

- **Демографија и основни податоци**

Во студијата се вклучени деца дијагностицирани со малигни хемопатии, кои се дијагностицирани и лекувани на одделот за хематологија и онкологија на Универзитетската Клиника за детски болести – Скопје во периодот од 2021 год до декември 2023 година. Половата структура на испитаниците ја сочинуваа 62.86% деца од женски пол и 37.14% машки деца. (табела 2)

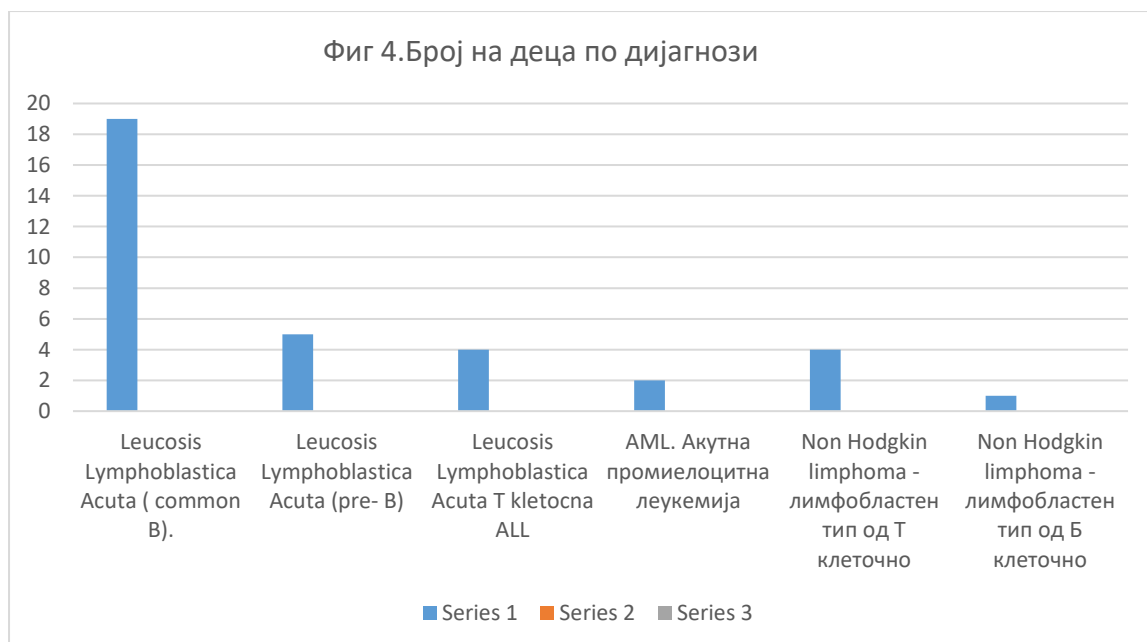
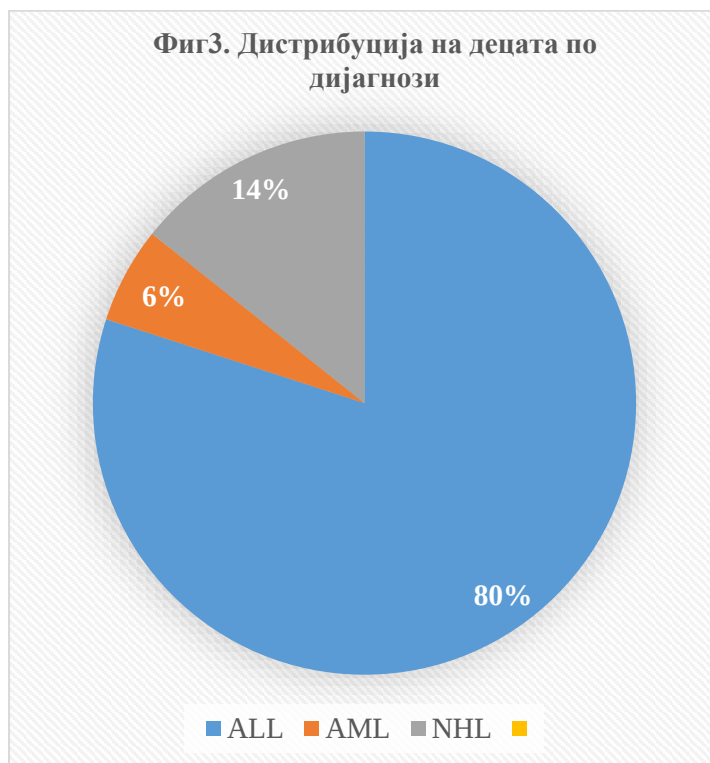
Децата беа на возраст од 2 до 11 години, со просечна возраст од 5.5 ± 2.5 години и медијана од 5 години, односно 50% деца беа постари од 5 години. (табела 2).

Табела 2. Демографски карактеристики на испитаниците

варијабла	
Пол (%)	
женски	22 (62.86)
машки	13 (37.14)
Возраст (години)	
(mean $\pm$ SD)(min- max)	(5.5 $\pm$ 2.5)(2 – 11)
median (IQR)	5(4 – 7)

Сите пациенти се лекувани соодвено, според БФМ (Berlin-Frankfurt-Munich) тераписки протоколи кои се применуваат на одделот за хематологија и онкологија на Клиниката за детски болести, согласно дијагнозата на болеста.

Во студијата се вклучени 35 испитаници-деца дијагностицирани со малигна болест (малигни хемопatii). Од нив со 28 пациенти се дијагностицирани со акутна лимфобластна леукемија (Б клеточна 24 деца и 4 деца со Т клеточна АЛЛ), 2 пациенти се дијагностицирани со акутна миелоидна леукемија и 5 од нив со Нон Ходкин лимфома , лимфобластен тип. (фиг 3,4)



- **Инклузиони критериуми за учество во студијата се:**

1. Дијагностицирана малигна болест: акутна лимфобластна леукемија, акутна миелобластна леукемија, лимфом
2. возраст 1 - 14 години,
3. отсуство на примарен имун дефицит,
4. Согласност за учество во студијата.

- **Ексклузиони критериуми:**

1. деца на возраст под 1 година,
2. дијагностициран примарен имун дефицит,
3. деца со малигна болест во склоп на генетска болест.

Сите деца ја имаат завршено примоиимунизација со вакцините против Дифтерија, Тетанус, Пертусис, 3 дози на DТаР, во склоп на поливалентните вакцини на 2,4,6 месечна возраст. Првата ревакцина на DТаР која регуларно се прима на 18 месечна возраст ја имаат примено 27 деца. Повозрасните деца, над 7 год возраст, вкупно 3 деца од испитуваната група, ја имаат примено и втората ревакцинација на DТаР вакцина (фиг 5)

Вакцина	Навршена возраст/ одделение/ клас	На раѓање	Месеци					Одделение во основно училиште / години				Клас во средно училиште/год.
	0	2	4	6	12	18	I (6 год.)	II (7 год.)	VII (12 год.)	IX (14 год.)	IV (18 год.)	
BCG (Туберкулоза)		BCG ¹										
НерВ (Хепатитис Б)		НерВ ²	НерВ ³		НерВ ⁴							
Ниб (Хемофилус инфлуенца тип Б инфекции)			Ниб ³	Ниб ⁴	Ниб ³		Ниб ⁴					
Rota (Ротавирусни инфекции)			Rota ⁵	Rota ⁵	Rota ⁵							
PCV (Пневмококни инфекции)			PCV ⁶	PCV ⁶		PCV ⁶						
DTaP (Дифтерија, тетанус, пертусис)			DTaP ¹	DTaP ⁴	DTaP ³		DTaP ⁴		DTaP ⁶			
dT (Дифтерија и тетанус)										dT ⁹		
IPV (Полиомиелитис)			IPV ³	IPV ⁴	IPV ³		IPV ⁴		IPV ⁴		IPV ⁹	
MRP (Морбили, рубеола и паротит)						MRP ⁷		MRP ⁷				
HPV (Хуман папилома вирусни инфекции)									HPV ¹¹			
TT (Тетанус)											TT ¹⁶	

<https://zdravstvo.gov.mk/imunizacija/>

Фиг 5. Календарот за задолжителна имунизација на Република Северна Македонија, Министерство за здравство

- **Анализирани параметри**

- Кај децата вклучени во студијата се анализирани:
- Крвна слика со вкупен број на леукоцити, број на лимфоцити и неутрофилни леукоцити,
- Евалуиран е хуморалниот имунитет со проценка на нивото на имуноглобулини во серум IgA, IgG, IgM, IgG субкласи (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4),
- Евалуиран е клеточниот имунитет со проценка на лимфоцитни субпопулации CD3, CD4, CD8, CD19, CD45, CD56 и CD4/CD8 ratio, со помош на проточна цитометрија и
- поствакцинални антитела (антитела против дифтерија, тетанус, пертусис (DTaP)).

Примерок на периферна крв за анализа во тек на истражувањето земен е во три точки: при поставување на дијагнозата (пред започнување на тераписки протокол), по завршување на индукционата фаза од терапија и по завршување на интензивна терапија (реиндукциона фаза).

Поствакциналните антитела се анализирани пред почетокот на терапија и по завршување на интензивна терапија.

Анализирани се и бројот на инфекции/фебрилните епизоди кои захтевале употреба на парентерална антибиотска терапија, антивирусна терапија, антимикотична терапија во тек на фазите на третманот, индукциона фаза, консолидација и постиндукциона фаза.

- **Лабораториски методи и техники**

Лабораториските анализи се направени на Клиниката за Детски Болести, Клиниката за Хематологија и Институтот за Имунологија и Хумана Генетика при Медицинскиот факултет во Скопје.

- **Крвна слика** (вкупен број на леукоцити, абсолютен број на лимфоцити и неутрофили) ќе се анализира со помош на флуоресцентна проточна цитометрија во хематолошки анализатори Sysmex XS800i и Sysmex 1000.
- За одредување на Нивото на имуноглобулини во крвта (IgA, IgG, IgM), се користел турбодиметриска метода на биохемиски анализатор Architect c4000.
- **IgG субкласи** (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) Мерењето на **имуноглобулинските поткласи** се изведуваше на автоматизиран апарат BN Prospec (Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Германија) кој се базира на имунолошката техника нефелометрија. Нефелометријата користи принцип на имунохемиска детерминација на протеини во серум, урина или други телесни течности. Паралелен сноп од светлосни зраци со бранова должина од 840 nm генериран од ласерска диода, се насочува кон создадени антиген-антитело имуно комплекси кои ја расфрлаат оваа светлина. Интензитетот на ова расфрлање директно зависи од нивната концентрација. Овие комплекси се формираат кога во киветата во која се наоѓа разреден примерок кој го содржи антигенот (имуноглобулини) се додаде соодветно антитело (реагенс). За одредување на концентрацијата на имуноглобулинските поткласи се користата специфични антитела (реагенс). Интензитетот на измерената расфрлена светлина во услови на вишок на антитело (реагенс), како и во т.н. еквивалентен ранг, каде концентрациите на антигенот (имуноглобулински поткласи) и антителата (реагенс) се исти, е пропорционален на нивото на антигенот. Се креира референтна стандардна крива од стандарди со познато ниво на антиген. Сигналот од расфрлената светлина добиен од примерокот се чита од кривата како концентрација на антиген (имуноглобулински поткласи). За мерење на протеини во трагови, сигналот на

расфрлена светлина се амплифицира со врзување на антителото за латексни партикли (реагенс за ИгГ3 и ИгГ4).

-За одредување на лимфоцитните популции и субпопулации, CD-маркери– CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 ratio, CD16, CD19, CD20, CD45, CD56) се користеше проточниот цитометар Attune NxT (Invitrogen, Thermofisher, Waltham, Massachusetts, САД). Оваа платформа се користи за мерење и анализирање на клетки или честички суспендирани во течност. Со примена на акустично фокусирање клетките од примерокот, во млаз една по една поминуваат низ оптичкиот систем од ласери и детектори кои овозможуваат да се анализираат, селектираат и проучуваат по големина, гранулираност, присуство или отсуство на одредени CD маркери. За таа цел, анализираниот примерок од полна крв се икубира со моноклонски антитела насочени кон специфични CD обележувачи. Секое антитело е обележено со флуоресцентна боја која може да се детектира на некој од детекторите. По инкубацијата, примерокот се лизира и аплицира во проточниот цитометар. Анализата се врши со помош на претходно поставена метода за соодветната комбинација на DC маркерите кои се анализираат и софтвер кој овозможува статистичка обработка на податоците.

- **Поствакцинални антитела** -Мерењето на концентрацијата на поствакциналните ИгГ антитела во серумите се вршеше на автоматизиран ELISA систем (Euroimmun, Lübeck, Германија). Овој систем користи ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) *in vitro* тестови за квантификација на антителата кон дифтеричниот и тетанусниот токсин и токсинот на *Bordetella pertussis*. Оваа имунолошка техника користи полистиренски микроплочи со бунарчиња во кои се фиксирани прочистените антигени односно токсините или токсините. Тие ќе ги врзат антителата од примероците кои ги испитуваме, доколку се присутни. За таа цел во бунарчињата се аплицираат разредени серуми од испитаниците и период на инкубација потребен за врзување на испитуваните антитела. Следи постапка на перење со која се отстрануваат непотребните или неспецифично врзаните антитела од примероците. За да се детектираат врзаните антитела, во следниот корак се додаваат секундарни детектирачки антихумани ИгГ антитела обележани со ензимот пероксидаза. По инкубацијата и перењето за отстранување на неврзаните секундарни антитела, се додава хромоген/субстрат кој развива обоена реакција чиј интензитет се мери на детектор на 450nm бранова должина. Интензитетот на ова обојување е пропорционален на концентрацијата на антителата. Квантификацијата

се врши со отчитување од претходно конструирана стандардна права добиена од примероци со познати концентрации (стандарди) во истата процедура како и примероците.

- **Статистичка анализа**

Добиените податоци се статистички анализирани со статистичкиот пакет SPSS for windows 26,0. Тестирањето на нормалноста на податоците ќе биде извршено со Kolmogor-Smirnov test for normality и Shapiro-Wilk's W тест.

Континуираните варијабли ќе бидат прикажани со mean $\pm$ SD или со median (IQR), категориските варијабли ќе бидат прикажани со број и %.

Корелацијата меѓу одредени параметри ќе биде анализирана со Pearson-ов коефициент на линеарна регресија или со Spearman-ов коефициент на ранк корелација.

Промените во одредени параметри во анализираните временски периоди ќе бидат анализирани со Student t-test for dependent samples, ANOVA repeated measures, Mc-Nemar, Wilcoxon-Matched Pairs или Friedman ANOVA Chi-square test.

Вредностите на $p < 0.05$ ќе бидат земени како статистички сигнификантни.

4. РЕЗУЛТАТИ

Во студијата се вклучени 35 испитаници - деца со малигна хемопатија, кои се дијагностицирани и лекувани на одделот за хематологија и онкологија на Универзитетската Клиника за детски болести –Скопје. Анализирани се квантитативни промени во имунолошките параметри во тек на хемотерапија, поточно во тек на 3 важни точки на хемотерапија и тоа на почеток на терапија при дијагностицирање на болеста како новодијагностицирани, после индукциона терапија (1-2 месеци по започнување на болеста) и на крај на интензивна терапија (околу 6 месеци) после завршување на постиндукциона фаза.

4.1 Имунолошки параметри при дијагноза на болеста - Новодијагностицирани (Н)

Во табела 3 се прикажани вредностите на вкупни леукоцити, неутрофили и лимфоцити пред почеток на терапија.

Пред терапија, просечните и медијални вредности на вкупни леукоцити изнесуваа 18.69 ± 39.4 и $6.02 \times 3(uL)$, соодветно.

Неутрофилите пред почеток на терапија имаа просечна вредност од $2.42 \pm 3.3 \times 3(uL)$ и медијана од $1.215 \times 3(uL)$, соодветно

Пред почеток на терапија, лимфоцитите имаа просечна и медијална вредност од 14.70 ± 33.3 и $2.425 \times 3(uL)$, соодветно.

Табела 3. Вредности на вкупни леукоцити, неутрофили и лимфоцити пред почеток на терапија

новодијагностицирани			
варијабла	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
вкупни леукоцити $\times 3(uL)$	35	18.69 ± 39.4	6.02 (3.23 – 18.81)
неутрофили $\times 3(uL)$	34	2.42 ± 3.3	1.215 (0.47 – 2.47)
лимфоцити $\times 3(uL)$	34	14.70 ± 33.3	2.425 (1.4 – 15.18)

Во табела 4 прикажани се просечните и медијални вредности на серумските имуноглобулини и нивните подкласи пред почеток на терапија.

Просечните имуноглобулини од класа А изнесуваа 1.09 ± 0.6 g/l, IgG пред терапија просечно изнесуваа 10.20 ± 3.5 g/l, IgM пред терапија просечно изнесуваа 0.93 ± 0.5 g/l. Медијаната на вредностите на IgA, IgG и IgM имаше вредност од 1.08, 9.78 и 0.85 g/l, соодветно.

Просечните и медијални вредности на подкласите IgG пред терапија изнесуваа 6.65 ± 2.2 , 2.01 ± 0.97 , 0.56 ± 1.1 и 0.67 ± 0.7 g/l, соодветно за подкласите IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

Табела 4. Вредности на серумските имуноглобулини и нивните подкласи пред почеток на терапија

новодијагностицирани			
варијабла	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
IgA (g/l)	34	1.09 ± 0.6	1.08 (0.61 – 1.5)
IgG (g/l)	35	10.20 ± 3.5	9.78 (7.17 – 11.9)
IgM (g/l)	34	0.93 ± 0.5	0.85 (0.63 – 1.18)
IgG1 (g/l)	34	6.65 ± 2.2	6.63 (4.51 – 8.17)
IgG2 (g/l)	34	2.01 ± 0.97	1.78 (1.27 – 2.33)
IgG3 (g/l)	34	0.56 ± 1.1	0.317 (0.215 – 0.504)
IgG4 (g/l)	34	0.67 ± 0.7	0.498 (0.212 – 0.762)

Лимфоцитните субпопулации на почеток од терапија имаа просечна вредност од $59.76 \pm 19.7\%$ за CD3, $42.06 \pm 15.4\%$ за CD4, $37.16 \pm 14.3\%$ за CD8, $55.47 \pm 27.8\%$ за CD45, $22.19 \pm 17.8\%$ за CD19, $10.21 \pm 8.8\%$ за CD56 и $1.32 \pm 0.5\%$ за односот CD4/CD8. (табела 5)

Табела 5. Вредности на лимфоцитните субпопулации пред почеток на терапија

новодијагностицирани			
варијабла	n	mean $\pm$ SD	min - max
CD3 %	32	59.76 $\pm$ 19.7	19.48 – 92.77
CD4 %	32	42.06 $\pm$ 15.4	2.54 – 68
CD8 %	21	37.16 $\pm$ 14.3	0.18 – 54.18
CD45 %	31	55.47 $\pm$ 17.8	5.3 – 95
CD4/CD8 ратио	18	1.32 $\pm$ 0.5	0.71 – 2.32
CD19 %	32	22.19 $\pm$ 17.8	18 (11.68 – 28.4)
CD56%	20	10.21 $\pm$ 8.8	6.515(5.1–11.88)

Пред почеток на терапија вредностите во серумот за антителата насочени кон дифтеричниот токсин, тетанусниот токсин и токсинот на Bordatella pertussis просечно изнесуваа 0.538 ± 0.6 , 1.16 ± 1.3 и 21.08 ± 37.6 , соодветно. (табела 6)

Децата пред терапија најчесто имаа краткотрајна заштита против дифтерија и тетанус (60% и 62.86%, соодветно), а немаа заштита против пертусис (68.57%).(табела 6)

Табела 6. Вредности на анти ДТП, анти Тетанус и анти Пертусис антитела пред почеток на терапија

новодијагностицирани	
дифтерија (mean $\pm$ SD) median (IQR)	(0.538 $\pm$ 0.6) 0.375 (0.115 – 0.63)
нема заштита <0.1	7 (20)
краткотрајна заштита 0.1 – 1	21 (60)
заштита до 5 години 1 – 1.5	1 (2.86)
заштита до 7 години 1.5 – 2.2	1 (2.86)
заштита до 10 години >2.2	2 (5.71)
missing	3 (8.57)
тетанус (mean $\pm$ SD) median (IQR)	(1.16 $\pm$ 1.3) 0.67(0.48–1.165)
нема заштита <0.1	
краткотрајна заштита 0.1 – 1	22 (62.86)
заштита до 5 години 1 – 1.5	4 (11.43)
заштита до 7 години 1.5 – 2.2	3 (8.57)
заштита до 10 години >2.2	3 (8.57)
missing	3 (8.57)
пертусис (mean $\pm$ SD) median (IQR)	(21.08 $\pm$ 37.6) 7.435(5–18.85)
<20	24 (68.57)
20 – 28	3 (8.57)
>28	5 (14.29)
missing	3 (8.57)

1. Имунолошки параметри при крај на индукциона терапија (ИТ)

По завршување на индукционата фаза од терапијата, вкупните леукоцити просечно изнесуваа $2.85 \pm 1.6 \times 3(uL)$, неутрофилите просечно изнесуваа $1.16 \pm 1.1 \times 3(uL)$, лимфоцитите имаа просечна вредност од $1.16 \pm 0.7 \times 3(uL)$. Половина од децата во оваа фаза од терапијата имаа вкупни леукоцити, неутрофили и лимфоцити пониски од 2.74, 0.98 и 0.92 $\times 3(uL)$, согласно вредноста на медијаната. (табела 7)

Табела 7. Вредности на вкупни леукоцити, неутрофили и лимфоцити после индукционата терапија

после индукциона терапија			
варијабла	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
вкупни леукоцити $\times 3(uL)$	33	2.85 ± 1.6	2.74 (1.44 – 4.0)
неутрофили $\times 3(uL)$	33	1.16 ± 1.1	0.98 (0.28 – 1.82)
лимфоцити $\times 3(uL)$	33	1.16 ± 0.7	0.92 (0.67 – 1.33)

Просечните вредности на серумските имуноглобулини IgA, IgM и IgG по завршување на индукционата фаза на терапискиот протокол изнесуваа 0.97 ± 0.5 , 0.46 ± 0.2 и 8.96 ± 2.4 g/L, соодветно. Медијаната на вредностите на IgA и IgM беше 0.89 и 0.37 g/L соодветно, односно 50% деца имаа пониски вредности од овие во оваа фаза од лекувањето. (табела 8)

По завршување на индукционата фаза на терапија имуноглобулинските подкласи IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 имаа просечна вредност од 5.26 ± 1.6 , 2.13 ± 0.6 , 0.33 ± 0.2 и 0.44 ± 0.3 g/L, соодветно; медијаната изнесуваше 2.09 g/L за IgG2, 0.3 g/L за IgG3 и 0.353 g/L за IgG4, односно, 50% деца имаа пониски вредности од овие во оваа фаза од лекувањето. (табела 8)

Табела 8. Вредности на серумските имуноглобулини и нивните подкласи после индукционата терапија

после индукциона терапија			
варијабла	n	mean $\pm$ SD	min - max /median (IQR)
IgA (g/l)	33	0.97 ± 0.5	0.89 (0.69 – 1.13)
IgM (g/l)	33	0.46 ± 0.2	0.37 (0.25 – 0.63)
IgG2 (g/l)	31	2.13 ± 0.6	2.09 (1.65 – 2.46)
IgG3 (g/l)	31	0.33 ± 0.2	0.3 (0.198 – 0.358)
IgG4 (g/l)	30	0.44 ± 0.3	0.353 (0.256 – 0.492)
IgG (g/l)	33	8.96 ± 2.4	5.21 – 13.66
IgG1 (g/l)	31	5.26 ± 1.6	2.74 – 8.66

Просечните вредности на лимфоцитните субпопулации после индукционата фаза од терапијата изнесуваа $84.09 \pm 11.8\%$ за CD3, $2.33 \pm 5.5 \%$ за CD19, $7.67 \pm 8.4\%$ за

CD56, $41.71 \pm 11.5\%$ за CD4, $43.53 \pm 19.4\%$ за CD45, $45.22 \pm 10.1\%$ за CD8 и $1.07 \pm 0.5\%$ за односот CD4/CD8. (табела 9)

Табела 9. Вредности на лимфоцитните субпопулации после индукционата терапија

после индукциона терапија			
варијабла	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
CD3	33	84.09 ± 11.8	87.7 (75.3 – 91.52)
CD19	31	2.33 ± 5.5	1.2 (0.49 – 2.43)
CD56	22	7.67 ± 8.4	6.55 (1.5 – 10.5)
CD4/CD8 ратио	22	1.07 ± 0.5	0.945 (0.8 – 1.3)
CD4	32	41.71 ± 11.5	20.42 – 72
CD45	31	43.53 ± 19.4	6.17 – 90
CD8	22	45.22 ± 10.1	24 – 68

2. Имунолошки параметри при крај на интензивна терапија (КИТ)

На крајот на терапијата, просечните и медијални вредности на вкупните леукоцити изнесуваа 2.55 ± 1.5 и $2.305 \times 3(uL)$, соодветно.(табела 9)

Неутрофилите по завршената терапија имаа просечна вредност од $1.31 \pm 1.3 \times 3(uL)$ и медијана од $1.13 \times 3(uL)$.(табела 10)

На крајот на терапијата,лимфоцитите имаа просечна и медијална вредност од 1.27 ± 2.5 и $0.695 \times 3(uL)$, соодветно. (табела 10)

Табела 10. Вредности на вкупни леукоцити, неутрофили и лимфоцити по завршена терапија

крај на интензивна терапија			
варијабла	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
вкупно леукоцити $\times 3(uL)$	30	2.55 ± 1.5	2.305 (1.31 – 3.23)
неутрофили $\times 3(uL)$	30	1.31 ± 1.3	1.13 (0.25 – 1.8)
лимфоцити $\times 3(uL)$	30	1.27 ± 2.5	0.695 (0.4 – 1.17)

Во табела 11 прикажани се просечните и медијални вредности на серумските имуноглобулини и нивните подкласи на крајот на терапијата.

Просечните имуноглобулини од класа А изнесуваа $0.76 \pm 0.6 \text{ g/l}$, IgG по терапија просечно изнесуваа $7.27 \pm 3.2 \text{ g/l}$, IgM по терапија просечно изнесуваа $0.34 \pm 0.1 \text{ g/l}$. Медијаната на вредностите на IgA и IgM имаше вредност од 0.55 и 0.32 g/l, соодветно.

Просечните вредности на подкласите IgG по терапија изнесуваа 4.60 ± 2.3 , 1.60 ± 0.9 , 0.29 ± 0.2 и $0.34 \pm 0.3 \text{ g/l}$, соодветно кај подкласите IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

Табела 11. Вредности на серумските имуноглобулини и нивните подкласи по завршена терапија

крај на интензивна терапија			
варијабла	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
IgA (g/l)	31	0.76 $\pm$ 0.6	0.55 (0.44 – 1.01)
IgM (g/l)	31	0.34 $\pm$ 0.1	0.32 (0.25 – 0.37)
IgG2 (g/l)	31	1.60 $\pm$ 0.9	1.37 (0.908 – 2.1)
IgG3 (g/l)	29	0.29 $\pm$ 0.2	0.211 (0.131 – 0.372)
IgG4 (g/l)	31	0.34 $\pm$ 0.3	0.253 (0.133 – 0.461)
IgG (g/l)	31	7.27 $\pm$ 3.2	3.06 – 14.6
IgG1 (g/l)	31	4.60 $\pm$ 2.3	1.14 – 10.1

Лимфоцитните субпопулации на крај на интензивната терапија имаа просечна вредност од 84.65 $\pm$ 21.7 % за CD3, 45.06 $\pm$ 12.2% за CD4, 48.22 $\pm$ 11.6 % за CD8, 41.58 $\pm$ 23.6% за CD45, 3.02 $\pm$ 4.6 % за CD19, 5.44 $\pm$ 5.4% за CD56 и 1.11 $\pm$ 0.6% за односот CD4/CD8. (табела 12)

Табела 12. Вредности на лимфоцитните субпопулации по завршена терапија

крај на интензивна терапија			
варијабла	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
CD3	30	84.65 $\pm$ 21.7	91 (82.4 – 96.5)
CD19	28	3.02 $\pm$ 4.6	1.37 (0.36 – 3.195)
CD56	27	5.44 $\pm$ 5.4	3.76 (1 – 9.6)
CD4	30	45.06 $\pm$ 12.2	15.4 – 62
CD45	29	41.58 $\pm$ 23.6	5.5 – 99
CD8	29	48.22 $\pm$ 11.6	26 – 77
Cd4/CD8 ратио	27	1.11 $\pm$ 0.6	0.087 – 2.36

По завршената терапија, вредностите во серумот за антителата насочени кон дифтеричниот токсин, тетанусниот токсин и токсинот на Bordatella pertussis просечно изнесуваа 0.37 $\pm$ 0.6, 0.83 $\pm$ 0.98 и 9.69 $\pm$ 10.3, соодветно.

Во однос на степенот на заштита од овие вакцинопревентабилни болести, и по терапија децата најчесто имаа краткотрајна заштита против дифтерија и тетанус (40% и 62.86%, соодветно), а немаа заштита против пертусис (77.14%). (табела 13.)

Табела 13. Вредности на анти Дифтерија, анти Тетанус и анти Пертусис антитела по завршена терапија

крај на интензивна терапија	
дифтерија (mean $\pm$ SD) median (IQR)	(0.37 $\pm$ 0.6) 0.175 (0.06 – 0.37)
<0.1	14 (40)
0.1 – 1	12 (34.29)
1 – 1.5	1 (2.86)
1.5 – 2.2	2 (5.71)
missing	6 (17.14)

тетанус (mean $\pm$ SD) median (IQR)	(0.83 $\pm$ 0.98) 0.57 (0.27 – 0.9)
<0.1	2 (5.71)
0.1 – 1	22 (62.86)
1 – 1.5	2 (5.71)
1.5 – 2.2	2 (5.71)
>2.2	2 (5.71)
missing	5 (14.29)
пертусис (mean $\pm$ SD) median (IQR)	(9.69 $\pm$ 10.3) 5.0 (5 – 9.19)
<20	27 (77.14)
20 – 28	1 (2.86)
>28	2 (5.71)
missing	14 (29)

3. Компаративна анализа на анализираниите параметри пред терапија (Н) / крај на индукциона терапија (ИТ) / крај на интензивна терапија (КИТ)

Вкупните леукоцити пред почеток на терапија имаа просечна вредност од $18.68 \pm 39.4 \times 10^3$ (uL), по завршување на индукционата фаза на лекување $2.85 \pm 1.6 \times 10^3$ (uL), по завршување на интензивната терапија $2.55 \pm 1.5 \times 10^3$ (uL); медијаната на вредноста на вкупните леукоцити изнесуваше 6.02, 2.74 и 2.305 $\times 10^3$ (uL), соодветно во трите анализирани временски точки. (табела 14, слика 1,1а)

За $p=0.00053$ се потврди вкупна статистичка сигнификантна разлика во намалување на вредностите на вкупните леукоцити во анализираниот временски период на спроведување на терапискиот протокол кај децата. Post-hoc анализата со споредување на меѓувременските точки покажа дека леукоцитите сигнификантно се намалиле по завршување на индукционата терапија споредено со почетните вредности ($p=0.000114$) и по завршување на терапијата споредено со почетните вредности ($p=0.000095$), додека разликата меѓу крајот на терапијата во однос на крајот на индукциониот дел од терапијата не беше статистички сигнификантна ($p=0.79$). (табела 14)

Табела 14. Вкупни леукоцити – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
вк леукоцити $\times 10^3$ (uL)	новодијагностицирани	35	18.68 ± 39.4	6.02 (3.23 – 18.81)
	после индукциона терапија	33	2.85 ± 1.6	2.74 (1.44 – 4)
	крај на интензивна терапија	30	2.55 ± 1.5	2.305 (1.31 – 3.23)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=15.07 *** $p=0.00053$ Post-hoc H vs ИТ *** $p=0.000114$ H vs КИТ *** $p=0.000095$ ИТ vs КИТ $p=0.79$			

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)
post-hoc (Wilcoxon Matched Pairs test)

***sg p<0.0001

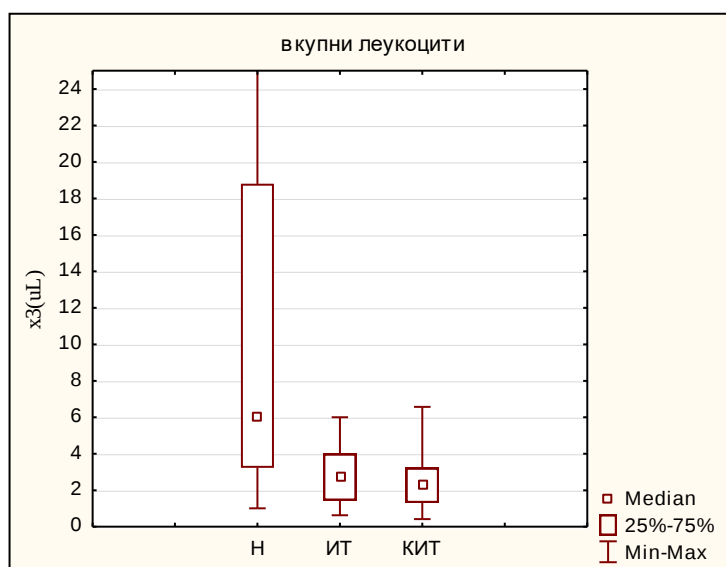


График 1. Медијана на вредностите на вкупните леукоцити - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

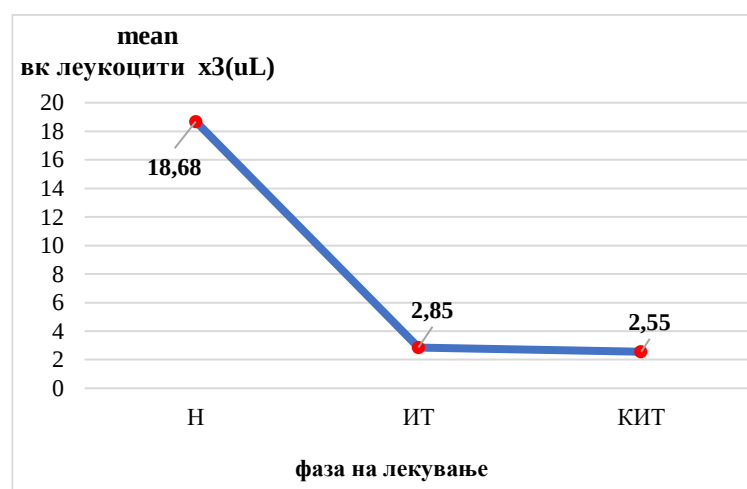


График 1а. Линијски дијаграм на вредностите на вкупните леукоцити - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Резултатите од статистичката анализа покажаа несигнификантни промени во вредностите на неутрофилите во анализираните временски точки ($p=0.218$). (табела 14) Просечните и медијални вредности на неутрофилите изнесуваа 2.42 ± 3.3 и $1.21 \times 3(uL)$ соодветно пред почеток на терапија, 1.16 ± 1.0 и $0.98 \times 3(uL)$ соодветно после индукциона терапија, 1.31 ± 1.3 и $1.13 \times 3(uL)$ соодветно на крај на терапијата. (табела 15, слика 2,2а.)

Табела 15. Неутрофили – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)

неутрофили x3(uL)	новодијагностицирани	34	2.42 ± 3.3	1.21 (0.47 – 2.47)
	после индукциона терапија	33	1.16 ± 1.0	0.98 (0.28 – 1.82)
	крај на интензивна терапија	30	1.31 ± 1.3	1.13 (0.25 – 1.8)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=3.05 p=0.218			

H(новодијагностицирани), ИТ (индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

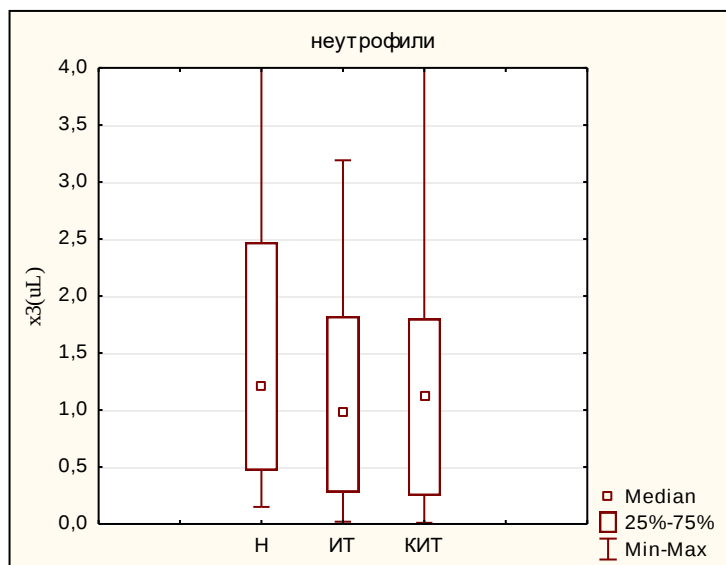


График 2. Медијана на вредностите на неутрофилите - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

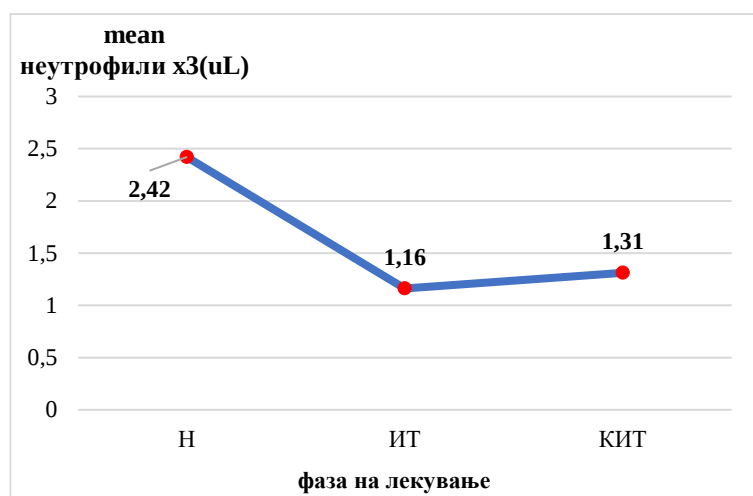


График 2а. Линијски дијаграм на вредностите на неутрофили - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Новодијагностицираните пациенти имаа просечни лимфоцити од 14.70 ± 33.3 x3(uL), 1.16 ± 0.7 x3(uL) на крај на индукционата терапија, 1.31 ± 2.5 x3(uL) на крај на интензивната терапија; медијаната на вредноста на лимфоцитите изнесуваше 2.425 x3(uL) пред терапија, 0.92 x3(uL) на крај на индукционата терапија, 0.695 x3(uL) на крај на интензивната терапија.(табела 16, слика 3,3а)

Разликите во вредностите на лимфоцитите во анализираниите временски точки беа статистички сигнификантни, за $p=0.00002$. Лимфоцитите беа сигнификантно пониски на крај на индукционата терапија во споредба со вредностите пред почеток на терапијата ($p=0.00033$) и на крај на интензивната терапија во споредба со вредностите пред почеток на терапијата ($p=0.000055$), додека разликата меѓу двете тераписки точки не беше статистички сигнификантна ($p=0.11$). (табела 16)

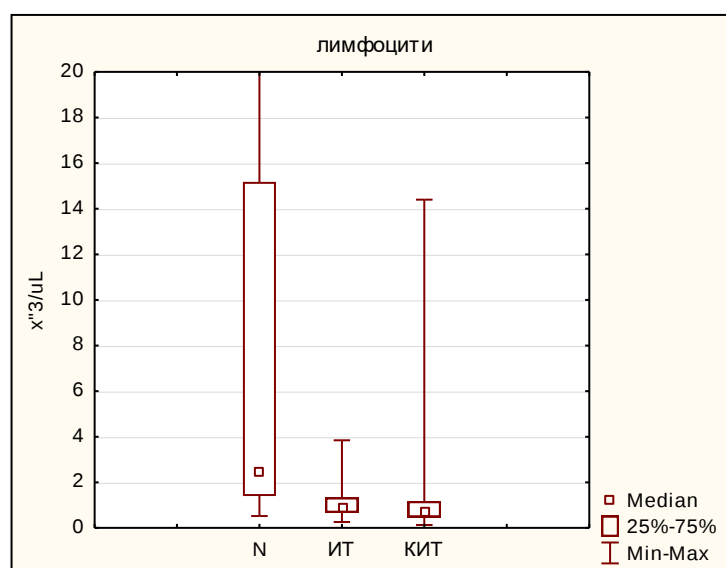
Табела 16. Лимфоцити – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
лимфоцити x3(uL)	новодијагностицирани	34	14.70 $\pm$ 33.3	2.425 (1.4 – 15.18)
	после индукциона терапија	33	1.16 $\pm$ 0.7	0.92 (0.67 – 1.33)
	крај на интензивна терапија	30	1.31 $\pm$ 2.5	0.695 (0.47 – 1.17)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=21.44 *** $p=0.00002$ H vs ИТ $p=0.00033$ H vs КИТ $p=0.000055$ ИТ vs КИТ $p=0.11$			

Н(новодијагностицирани), ИТ (индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

post-hoc (Wilcoxon Matched Pairs test)

***sg $p<0.0001$



Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

График 3. Медијана на вредностите на леукоцитите - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

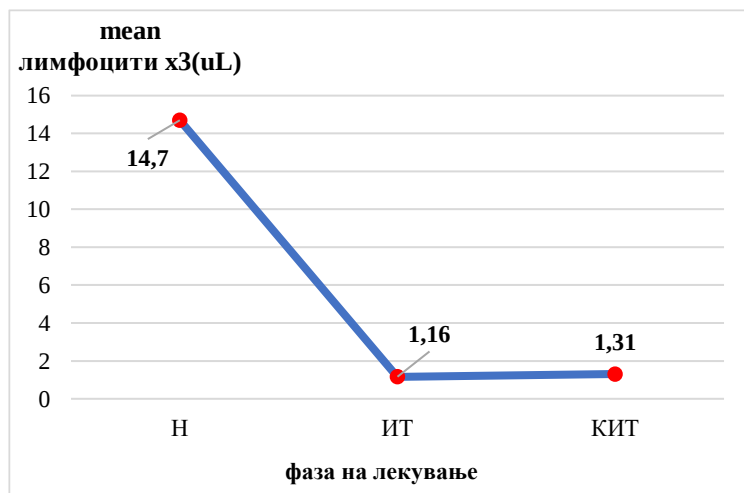


График 3а. Линијски дијаграм на вредностите на лимфоцити - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Вкупна статистичка сигнификантна разлика се потврди во вредностите на IgA ($p=0.0034$), која со post-hoc анализата се потврди дека се должи на значајно пониски имуноглобулини од класа A на крај на терапијата во однос на почетните вредности ($p=0.00245$). (табела 16)

Пред терапија, по индукционата фаза од терапијата и на крај на терапијата просечните вредности на IgA изнесуваа 1.09 ± 0.6 , 0.97 ± 0.5 и 0.76 ± 0.6 g/l, соодветно; во овие временски периоди медијаната на вредностите на IgA изнесуваше 1.085, 0.89 и 0.55 g/l, соодветно. (табела 17, слика 4,4а.)

Табела 17. IgA – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
IgA (g/l)	новодијагностицирани	34	1.09 ± 0.6	1.085 (0.61 – 1.5)
	после индукциона терапија	33	0.97 ± 0.5	0.89 (0.69 – 1.13)
	крај на интензивна терапија	31	0.76 ± 0.6	0.55 (0.44 – 1.01)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=11.34 **p=0.0034 H vs KIT **p=0.00245			

Н(новодијагностицирани), ИТ (индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

post-hoc (Wilcoxon Matched Pairs test)

**sg $p < 0.01$

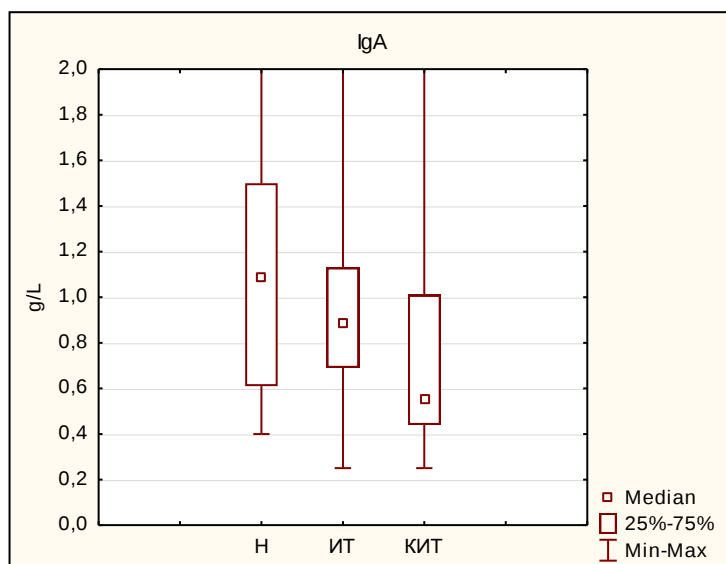


График 4. Медијана на вредностите на IgA - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

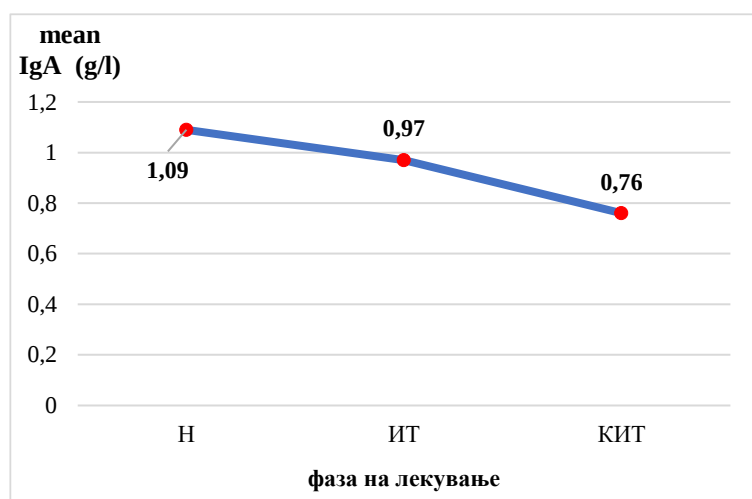


График 4а. Линијски дијаграм на вредностите на IgA - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Просечните и медијални вредности на IgM кај новодијагностицираните пациенти беа највисоки пред терапија (0.93 ± 0.5 и 0.85 g/l), следено со вредностите по индукционата фаза (0.46 ± 0.2 и 0.37 g/l) и најниски на крај на интензивната терапија (0.34 ± 0.1 и 0.32 g/l). (табела 18, слика 5,5а)

Намалувањето на серумските IgA пред, во тек и на крај на терапијата беше статистички сигнификантно ($p < 0.0001$): за $p = 0.000014$ на крај на индукционата фаза наспроти почетните вредности, за $p = 0.000003$ на крај на терапијата наспроти почетните вредности, за $p = 0.036$ на крај на терапијата наспроти крај на индукционата фаза (post-hoc анализа). (табела 18)

Табела 18. IgM – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
IgM (g/l)	новодијагностицирани	34	0.93 $\pm$ 0.5	0.85 (0.63 – 1.18)
	после индукциона терапија	33	0.46 $\pm$ 0.2	0.37 (0.25 – 0.63)
	крај на интензивна терапија	31	0.34 $\pm$ 0.1	0.32 (0.25 – 0.37)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.= 31.47 p<0.0001 H vs ИТ ***p=0.000014 H vs КИТ ***p=0.000003 ИТ vs КИТ *p=0.036			

H(новодијагностицирани), ИТ (индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

post-hoc (Wilcoxon Matched Pairs test)

*sg p<0.05, **sg p<0.01

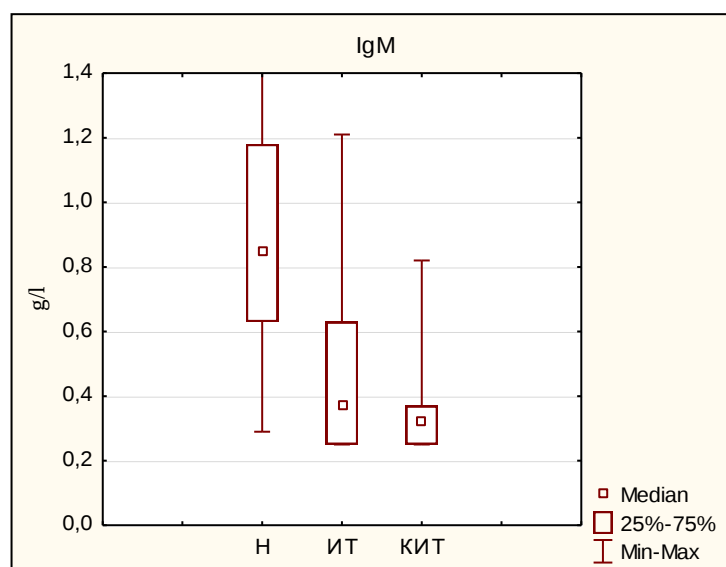


График 5. Медијана на вредностите на IgM - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

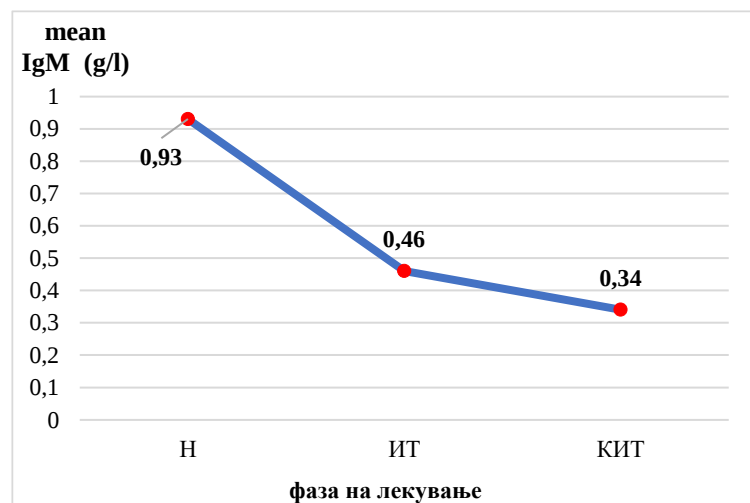


График 5а. Линејски дијаграм на вредностите на IgM - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Серумските IgG пред почеток на терапија имаа просечна вредност од 10.20 ± 3.5 g/l, по завршување на индукционата фаза на лекување 8.96 ± 2.4 g/l, по завршување на интензивната терапија 7.27 ± 3.2 g/l; медијаната на вредноста на IgG изнесуваше 9.78, 8.82 и 7.39 g/l, соодветно во трите анализирани временски точки. (табела 19, слика 6,6а)

За $p=0.0019$ се потврди вкупна статистичка сигнификантна разлика во намалување на вредностите на IgG во анализираниот временски период на спроведување на терапискиот протокол кај децата. Post-hoc анализата со споредување на меѓувременските точки покажа дека IgG несигнификантно се намалиле по завршување на индукционата терапија споредено со почетните вредности ($p=0.09$), а сигнификантно се намалиле по завршување на терапијата споредено со почетните вредности ($p=0.000096$) и на крајот на терапијата во однос на крајот на индукциониот дел од терапијата ($p=0.013$). (табела 19)

Табела 19. IgG – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијаблa	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
IgG (g/l)	новодијагностицирани	35	10.20 $\pm$ 3.5	9.78 (7.17 – 11.9)
	после индукциона терапија	33	8.96 $\pm$ 2.4	8.82 (7.17 – 10.92)
	крај на интензивна терапија	31	7.27 $\pm$ 3.2	7.39 (3.63 – 10.19)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=12.54 **p=0.0019 H vs ИТ p=0.09 H vs КИТ ***p=0.000096 ИТ vs КИТ *p=0.013			

H(новодијагностицирани), ИТ (индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

post-hoc (Wilcoxon Matched Pairs test)

*sg $p<0.05$, **sg $p<0.01$

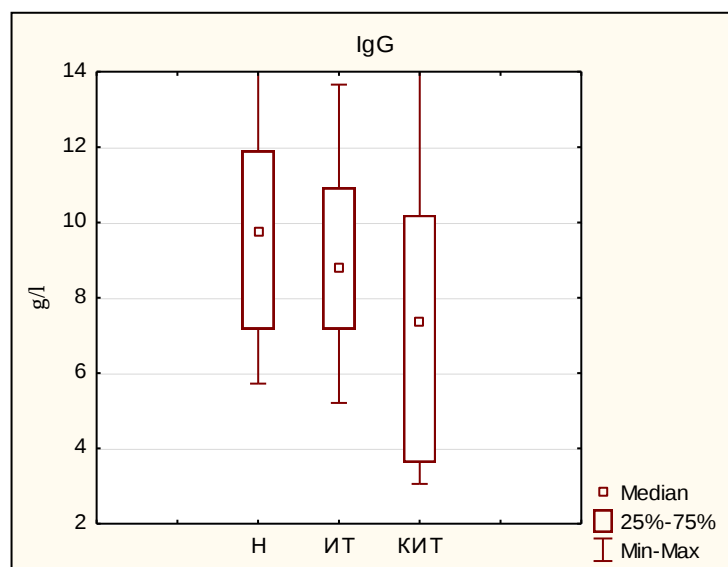


График 6. Медијана на вредностите на IgG - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

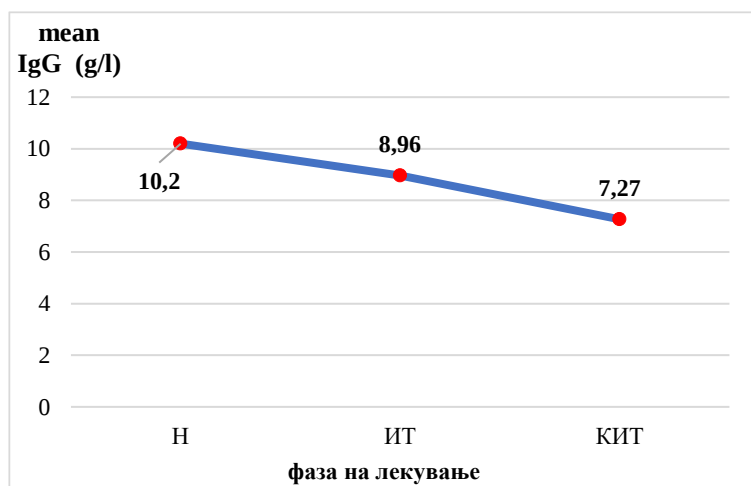


График 6а. Линијски дијаграм на вредностите на IgG - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Просечните серумски IgG1 изнесуваа 6.65 ± 2.2 g/l кај новодијагностицираните, 5.26 ± 1.6 g/l по индукционата фаза на терапија и 4.60 ± 2.3 g/l по завршената интензивна терапија. (табела 20, слика 7)

Разликите во вредностите на серумските IgG1 во анализираниот временски период беа споредувани и тестирани со Repeated Measures ANOVA анализата. Резултатите од анализата покажаа дека просечните вредности на IgG1 беа сигнификантно различни во анализираниот период меѓу анализираните временски точки [$F(2,52)=11.567$, $p=0.000$].

Post-hoc анализата со Bonferoni корекција покажа дека оваа вкупна сигнификантна разлика се должи на сигнификантна разлика помеѓу почетните вредности наспроти крајот на индукционата фаза ($p=0.011$) и почетните вредности наспроти крајот на терапијата ($p<0.0001$). Серумските вредности на IgG1 значајно се намалиле за просечни 1.39 g/l по индукционата фаза, а значајно се намалиле за просечни 2.05 g/l по спроведениот тераписки протокол. (табела 20, 20а, 20б, слика 7, 7а.)

Табела 20. IgG1 – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	min - max
IgG1 (g/l)	новодијагностицирани	34	6.65 ± 2.2	3.34 – 11.7
	после индукциона терапија	31	5.26 ± 1.6	2.74 – 8.66
	крај на интензивна терапија	31	4.60 ± 2.3	1.14 – 10.1
p-level				

Табела 20а. Repeated Measures ANOVA – IgG1

IgG 1

Tests of Within-Subjects Effects						
Source		Type III Sum of Squares	df	Mean square	F	Sig.
factor 1	Sphericity Assumed	66.834	2	33.417	11.567	0.000
	Greenhouse-Geisser	66.834	1.972	33.900	11.567	0.000
	Huynh-Feldt	66.834	2.000	33.417	11.567	0.000
	Lower-bound	66.834	1.000	66.834	11.567	0.002
Error (factor 1)	Sphericity Assumed	150.223	52	2.889		
	Greenhouse-Geisser	150.223	51.259	2.931		
	Huynh-Feldt	150.223	52.000	2.889		
	Lower-bound	150.223	26.000	5.778		

Табела 206.

IgG 1						
Pairwise Comparisons						
(I) factor1	(J) factor1	Mean Difference	Std. Error	Sig. ^b	95% Confidence Interval for Difference ^b	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	1.409*	0.441	*0.011	0.280	2.537
	3	2.196*	0.457	***0.000	1.025	3.367
2	3	0.787	0.488	0.356	-0.462	2.036

Adjustment for multiple comparison: Bonferroni

*sig p<0.05

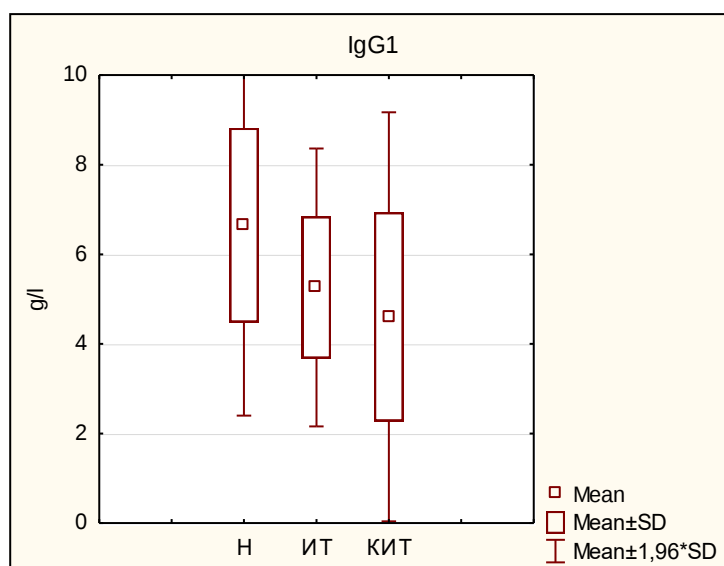


График 7. Просечни вредности на IgG1 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

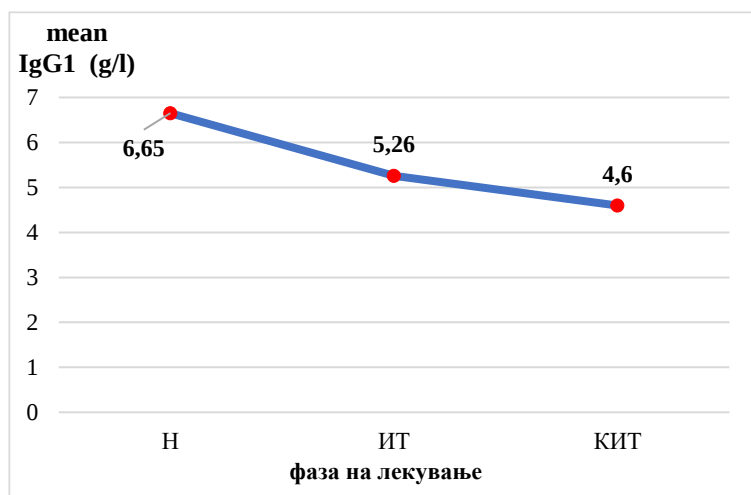


График 7а. Линијски дијаграм на вредностите на IgG1 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Вкупна статистичка сигнификантна разлика се потврди во вредностите на IgG2 ($p=0.003$), која со post-hoc анализата се потврди дека се должи на значајно пониски имуноглобулини од класа G2 по завршеното лекување во однос на вредностите по индукционата фаза од терапијата ($p=0.0026$). (табела 21)

Пред терапија, по индукционата фаза од терапијата и на крај на терапијата просечните вредности на IgG2 изнесуваа 2.01 ± 0.97 , 2.13 ± 0.6 и 1.61 ± 0.9 g/l, соодветно; во овие временски периоди медијаната на вредностите на IgG2 изнесуваше 1.78, 2.09 и 1.37 g/l, соодветно. (табела 21, слика 8,8а.)

Табела 21. IgG2 – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
IgG2 (g/l)	новодијагностицирани	34	2.01 ± 0.97	1.78 (1.27 – 2.33)
	после индукциона терапија	31	2.13 ± 0.6	2.09 (1.65 – 2.46)
	крај на интензивна терапија	31	1.61 ± 0.9	1.37 (0.908 – 2.1)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=11.63 ** $p=0.003$ H vs ИТ $p=0.3$ H vs КИТ $p=0.08$ ИТ vs КИТ ** $p=0.0026$			

H(новодијагностицирани), ИТ (индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

post-hoc (Wilcoxon Matched Pairs test)

*sg $p<0.05$, **sg $p<0.01$

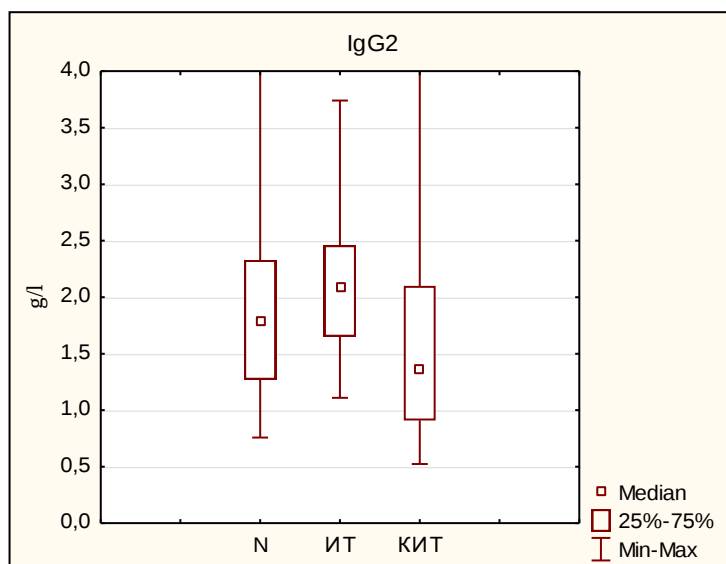


График 8. Медијана на вредностите на IgG2 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

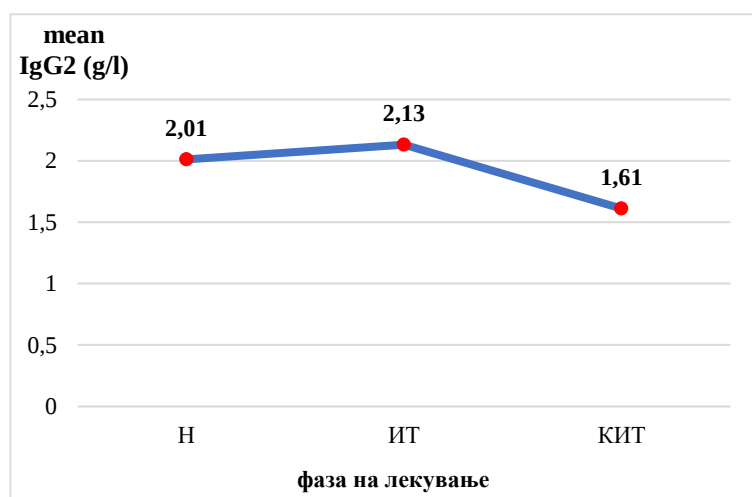


График 8а. Линејски дијаграм на вредностите на IgG2 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Просечните IgG3 изнесуваа 0.56 ± 1.1 g/l пред почеток на терапија, 0.33 ± 0.2 g/l по индукционата фаза на терапија, 0.29 ± 0.2 g/l по завршеното лекување. Медијалните IgG2 вредности изнесуваа 0.317 g/l пред почеток на терапија, 0.3 g/l по индукционата фаза на терапија, 0.211 g/l по завршеното лекување, и без статистичка сигнификантна разлика меѓу вредностите ($p=0.7$). (табела 22, слика 9,9а.)

Табела 22. IgG3 – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
IgG3 (g/l)	новодијагностицирани	34	0.56 ± 1.1	0.317 (0.215 – 0.504)
	после индукциона терапија	31	0.33 ± 0.2	0.3 (0.198 – 0.358)
	крај на интензивна терапија	29	0.29 ± 0.2	0.211 (0.131 – 0.372)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=0.72 p=0.7			

Н(новодијагностицирани), ИТ (индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

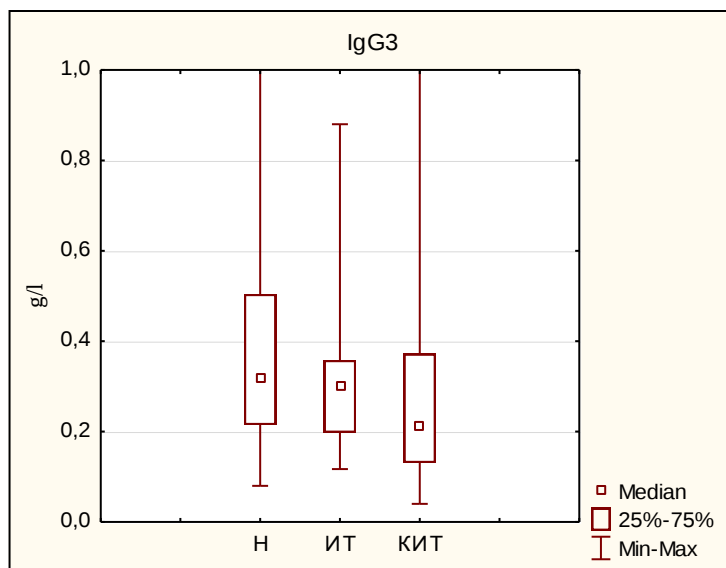


График 9. Медијана на вредностите на IgG3 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

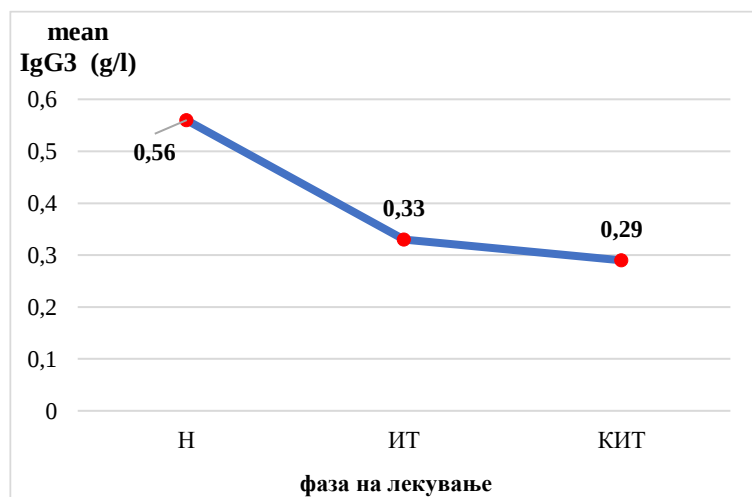


График 9а. Линијски дијаграм на вредностите на IgG3 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

IgG4 пред почеток на терапија имаа просечна вредност од 0.67 ± 0.7 g/l, по завршување на индукционата фаза на лекување 0.44 ± 0.3 g/l, по завршување на интензивната терапија 0.35 ± 0.3 g/l; медијаната на вредноста на IgG4 изнесуваше 0.498, 0.353 и 0.253 g/l, соодветно во трите анализирани временски точки. (табела 23, слика 10, 10а.)

За $p=0.00028$ се потврди вкупна статистичка сигнификантна разлика во намалување на вредностите на IgG4 во анализираниот временски период на спроведување на терапискиот протокол кај децата. Post-hoc анализата со споредување на меѓувременските точки покажа дека серумските IgG4 сигнификантно се намалиле по завршување на индукционата терапија споредено со почетните вредности ($p=0.012$), по завршување на

терапијата споредено со почетните вредности ($p=0.0021$), и по завршување на терапијата споредено со крајот на индукициониот дел од терапијата ($p=0.0026$). (табела 23)

Табела 23. IgG4– пред терапија/по индукициона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
IgG4 (g/l)	новодијагностицирани	34	0.67 ± 0.7	0.498 (0.212 – 0.762)
	после индукициона терапија	30	0.44 ± 0.3	0.353 (0.256 – 0.492)
	крај на интензивна терапија	31	0.35 ± 0.3	0.253 (0.133 – 0.461)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=16.39 ***p=0.00028 H vs IT *p=0.012 H vs KIT **p=0.0021 IT vs KIT **p=0.0026			

H(новодијагностицирани), IT (индукициона терапија), KIT(крај на терапија)
post-hoc (Wilcoxon Matched Pairs test)

*sg $p<0.05$, **sg $p<0.01$, ***sg $p<0.0001$

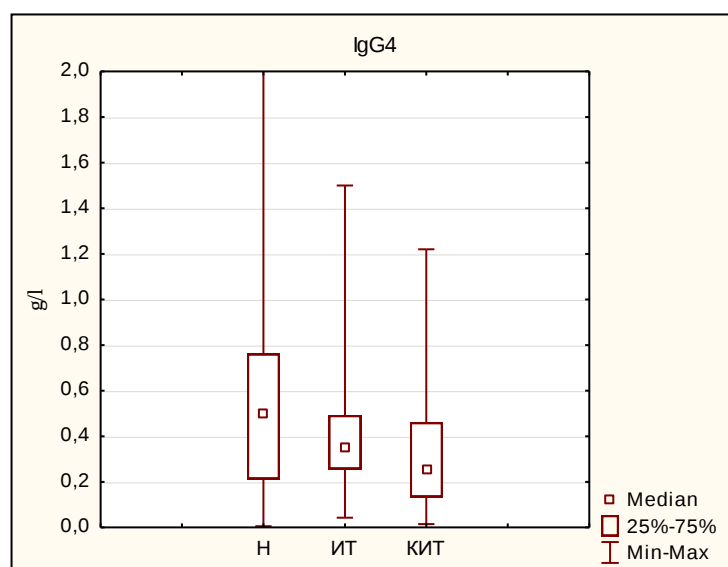


График 10. Медијана на вредностите на IgG4 - пред терапија/по индукициона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), IT (по индукициона терапија), KIT(крај на терапија)

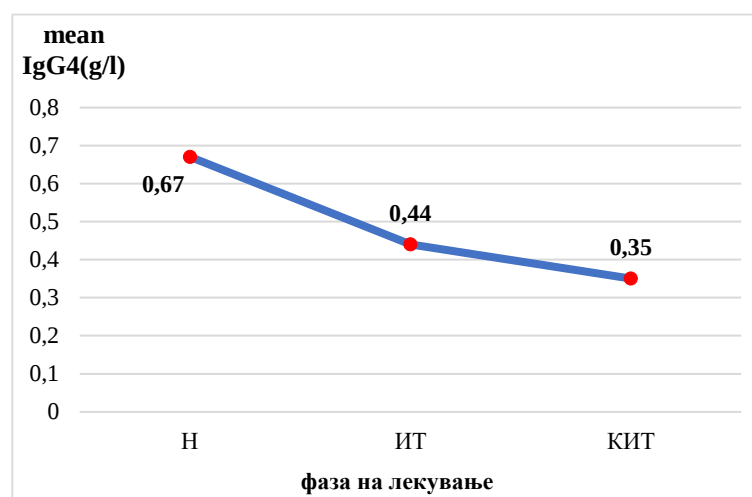


График 10а. Лينيјски дијаграм на вредностите на IgG4 - пред терапија/по индукициона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), IT (по индукициона терапија), KIT(крај на терапија)

Вредностите на CD3 се зголемуваа во анализираниот временски период; пред третманот (просек $59.76 \pm 19.7\%$, медијана 63.795%), после индукционата фаза (просек $84.09 \pm 11.8\%$, медијана 87.7%), по завршеното лекување (просек $87.54 \pm 15.1\%$, медијана 91.2%). (табела 24, слика 11, 11а)

Зголемувањето на вредностите на CD3 пред и во тек на терапија и статистички се потврди како сигнификантно ($p < 0.0001$). Разликата беше сигнификантна меѓу сите временски точки: пред терапија наспроти крај на индукциона фаза ($p = 0.000033$), пред терапија наспроти крај на терапија ($p = 0.000097$), после индукциона фаза наспроти крај на терапија ($p = 0.026$), односно, значајно зголемување на CD3 беше регистрирано после индукционата фаза наспроти почетните вредности, на крај на терапијата наспроти почетните вредности, на крај на терапијата наспроти крајот на индукционата фаза. (табела 24)

Табела 24. CD3 – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
CD3 (%)	новодијагностицирани	32	59.76 ± 19.7	63.795 (47.33 – 72.5)
	после индукциона терапија	33	84.09 ± 11.8	87.7 (75.3 – 91.52)
	крај на интензивна терапија	29	87.54 ± 15.1	91.2 (86.7 – 96.5)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=28.75 $p < 0.0001$ H vs ИТ *** $p = 0.000033$ H vs КИТ *** $p = 0.000097$ ИТ vs КИТ * $p = 0.026$			

Н(новодијагностицирани), ИТ (индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

post-hoc (Wilcoxon Matched Pairs test)

*sg $p < 0.05$, **sg $p < 0.01$

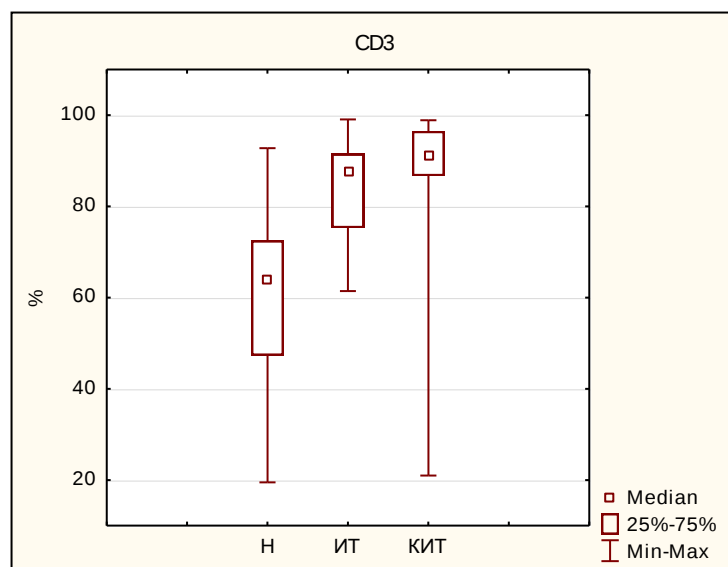


График 11. Медијана на вредностите на CD3 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

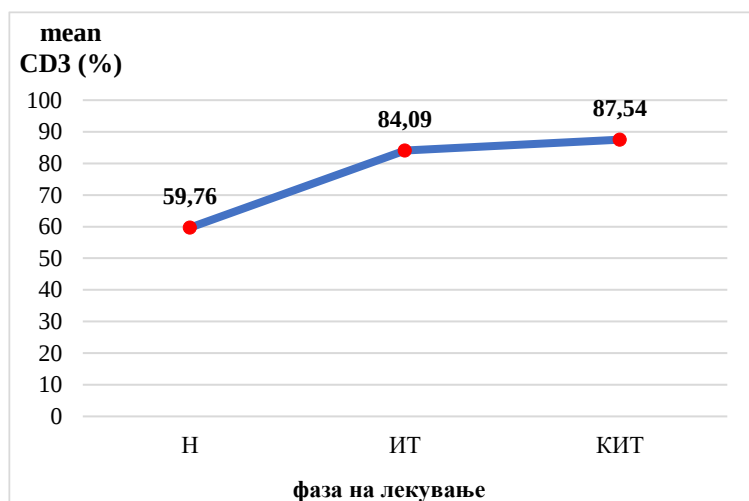


График 11а. Линијски дијаграм на вредностите на CD3 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

CD4 имаше просечна вредност од $42.06 \pm 15.4\%$ кај новодијагностицираните, $41.71 \pm 11.5\%$ по завршување на индукционата фаза од терапискиот протокол, $45.06 \pm 12.2\%$ по завршување на целиот тераписки протокол.(табела 25, слика 12,12а)

Резултатите од Repeated Measures ANOVA анализата покажаа дека просечните вредности не беа сигнификантно различни во анализираниот период меѓу анализираните временски точки [F (2,50)=1.307, p=0.280]. (табела 25,24а)

Табела 25. CD4 – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	min - max
CD4	новодијагностицирани	32	42.06 ± 15.4	2.54 – 68
	после индукциона терапија	32	41.71 ± 11.5	20.42 – 72
	крај на интензивна терапија	30	45.06 ± 12.2	15.4 – 62

Табела 25а. Repeated Measures ANOVA – CD4

CD4						
Tests of Within-Subjects Effects						
Source		Type III Sum of Squares	df	Mean square	F	Sig.
factor 1	Sphericity Assumed	307.163	2	153.582	1.307	0.280
	Greenhouse-Geisser	307.163	1.938	158.530	1.307	0.279
	Huynh-Feldt	307.163	2.000	153.582	1.307	0.280
	Lower-bound	307.163	1.000	307.163	1.307	0.264
Error (factor 1)	Sphericity Assumed	5873.826	50	117.477		
	Greenhouse-Geisser	5873.826	48.439	121.262		
	Huynh-Feldt	5873.826	50.000	117.477		
	Lower-bound	5873.826	25.000	234.953		

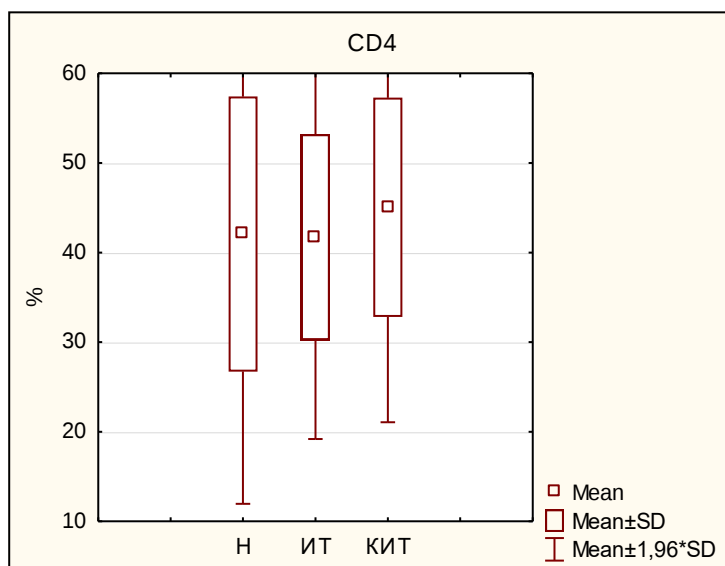


График 12. Просечни вредности на CD4 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

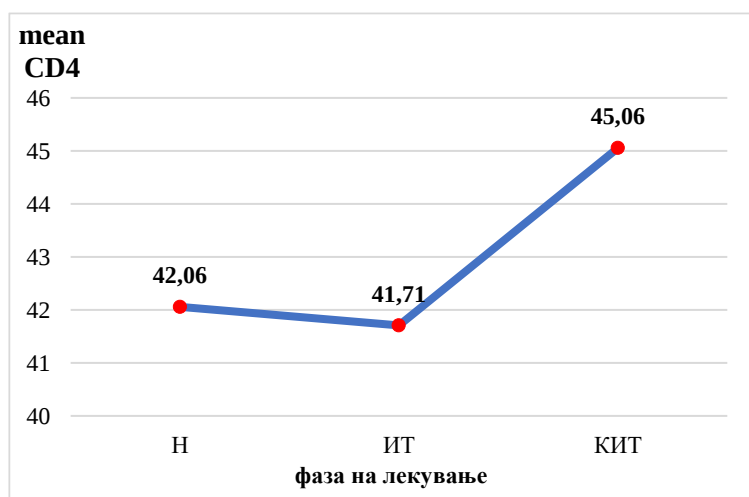


График 12а. Линијски дијаграм на вредностите на CD4 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

CD19 пред почеток на терапија имаа просечна вредност од $22.19 \pm 17.8\%$, по завршување на индукционата фаза на лекување $2.33 \pm 5.5\%$, по завршување на интензивната терапија $3.02 \pm 4.6\%$; медијаната на вредноста на CD19 изнесуваше 18.63%, 1.2% и 1.37%, соодветно во трите анализирани временски точки. (табела 26, слика 13, 13а)

За $p=0.00057$ се потврди вкупна статистичка сигнификантна разлика во вредностите на CD19 во анализираниот временски период на спроведување на терапискиот протокол кај децата. Post-hoc анализата со споредување на меѓувременските точки покажа дека CD4 сигнификантно се намалиле по завршување на индукционата терапија споредено со почетните вредности ($p=0.000007$), сигнификантно се намалиле по завршување на терапијата споредено со почетните вредности ($p=0.000065$), несигнификантно се

зголемиле на крајот на терапијата во однос на крајот на индукициониот дел од терапијата ($p=0.39$). (табела 26)

Табела 26. CD19 – пред терапија/по индукициона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
CD19	новодијагностицирани	32	22.19 $\pm$ 17.8	18.63 (11.68 – 28.4)
	после индукициона терапија	31	2.33 $\pm$ 5.5	1.2 (0.49 – 2.43)
	крај на интензивна терапија	28	3.02 $\pm$ 4.6	1.37 (0.36 – 3.195)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=14.95 *** $p=0.00057$ H vs ИТ *** $p=0.000007$ H vs КИТ *** $p=0.000065$ ИТ vs КИТ $p=0.39$			

H(новодијагностицирани), ИТ (индукициона терапија), КИТ(крај на терапија)
post-hoc (Wilcoxon Matched Pairs test)

***sig $p<0.0001$

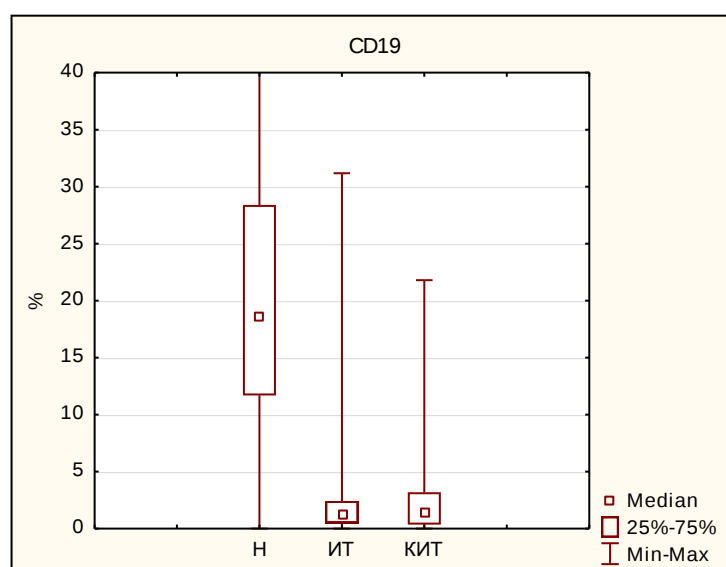


График 13. Медијана на вредностите на CD19 - пред терапија/по индукициона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукициона терапија), КИТ(крај на терапија)

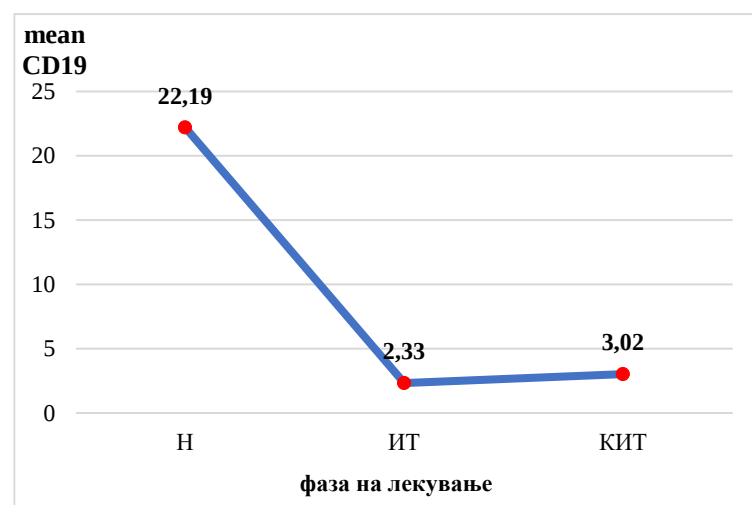


График 13а. Линијски дијаграм на вредностите на CD19 - пред терапија/по индукициона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукициона терапија), КИТ(крај на терапија)

Пред почеток на терапија нивото на CD45 просечно изнесуваше $55.47 \pm 17.8\%$, по завршување на индукционата фаза на лекувањето $43.53 \pm 19.4\%$, на крај на лекувањето $41.58 \pm 23.6\%$. (табела 27, слика 14,14a)

Согласно резултатите од Repeated Measures ANOVA анализата, просечните вредности на CD45 не беа сигнификантно различни во анализираниот период меѓу анализираните временски точки [$F(1.746, 40.151) = 3.243$, $p = 0.056$]. (табела 27, 27a)

Табела 27. CD45 – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	min - max
CD45(%)	новодијагностицирани	31	55.47 ± 17.8	5.3 – 95
	после индукциона терапија	31	43.53 ± 19.4	6.17 – 90
	крај на интензивна терапија	29	41.58 ± 23.6	5.5 – 99

Табела 27a. Repeated Measures ANOVA - CD 45

CD 45						
Tests of Within-Subjects Effects						
Source		Type III Sum of Squares	df	Mean square	F	Sig.
factor 1	Sphericity Assumed	4288.145	2	2144.072	3.243	0.048
	Greenhouse-Geisser	4288.145	1.746	2456.408	3.243	0.056
	Huynh-Feldt	4288.145	1.877	2284.435	3.243	0.052
	Lower-bound	4288.145	1.000	4288.145	3.243	0.085
Error (factor 1)	Sphericity Assumed	30411.281	46	661.115		
	Greenhouse-Geisser	30411.281	40.151	757.422		
	Huynh-Feldt	30411.281	43.174	704.395		
	Lower-bound	30411.281	23.000	1322.230		

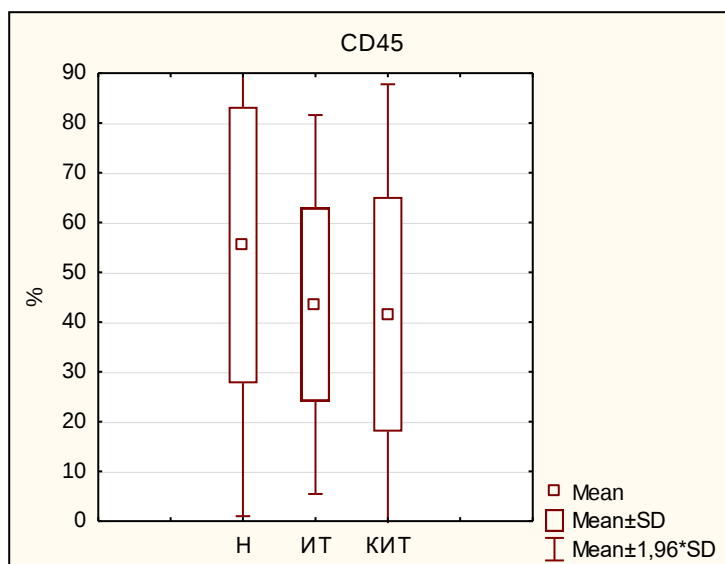


График 14. Просечни вредности на CD45 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

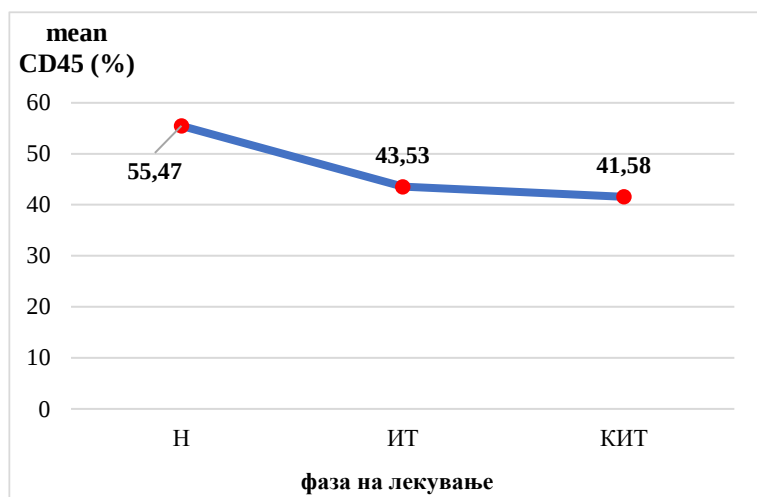


График 14а. Линијски дијаграм на вредностите на CD45 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Просечните и медијални вредности на CD56 пред почеток на терапија изнесуваа 10.21 ± 8.8 и 6.515% , соодветно; после индукционата фаза изнесуваа $7.67 \pm 8.4\%$ и 6.55% , соодветно; на крај на интензивната терапија изнесуваа $5.44 \pm 5.4\%$ и 3.76% , соодветно. (табела 28, слика 15, 15а)

Статистички несигнификантна беше тестираната разлика во вредностите на CD56 пред терапија/после индукциона фаза/крај на терапија ($p=0.15$). (табела 28)

Табела 27. CD56 – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
CD56	новодијагностицирани	20	10.21 ± 8.8	6.515 (5.1 – 11.88)

	после индукциона терапија	22	7.67 ± 8.4	6.55 (1.5 – 10.5)
	крај на интензивна терапија	27	5.44 ± 5.4	3.76 (1.0 – 9.6)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=3.76 p=0.15			

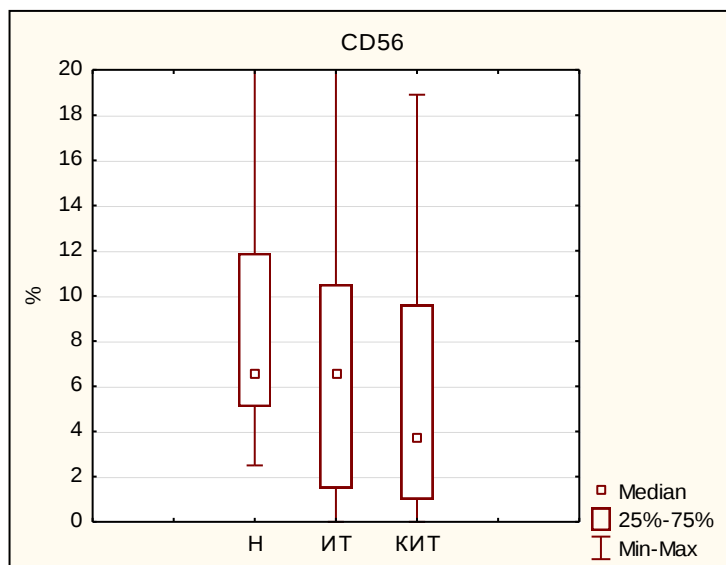


График 15. Медијана на вредностите на CD56 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

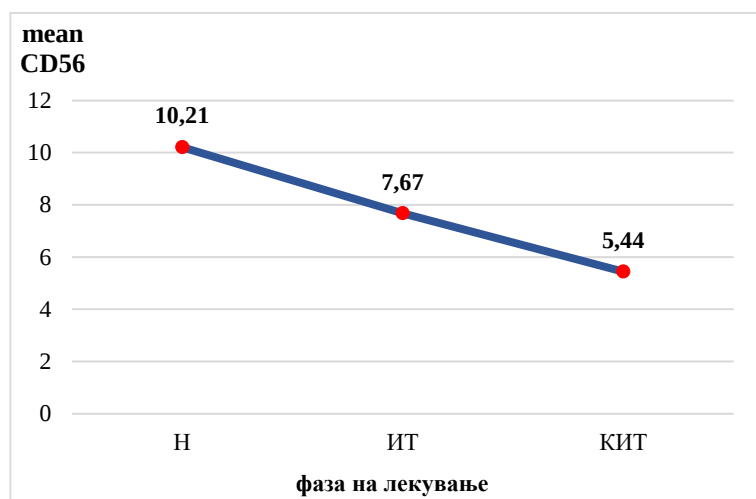


График 15а. Линијски дијаграм на вредностите на CD56 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

H(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

CD8 пред почеток на терапија имаа просечна вредност од $37.19 \pm 14.3\%$, по завршување на индукционата фаза на лекување $45.22 \pm 10.1\%$, по завршување на интензивната терапија $48.22 \pm 11.6\%$; медијаната на вредноста на CD8 изнесуваше 41%, 45.65% и 47.5%,соодветно во трите анализирани временски точки. (табела 29,слика 16,16а)

Зголемувањето на процентот на CD8 во анализираниот временски период на спроведување на терапискиот протокол беше и статистички потврдено како сигнификантно ($p=0.013$). Post-hoc анализата со споредување на меѓувременските точки покажа дека CD8 сигнификантно се зголемиле по завршување на индукционата терапија споредено со почетните вредности ($p=0.025$), по завршување на терапијата споредено со почетните вредности ($p=0.029$), додека зголемувањето по завршената терапија споредено со крајот на индукциониот дел од терапијата не беше статистички сигнификантно ($p=0.9$). (табела 29)

Табела 29. CD8 – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
CD8 (%)	новодијагностицирани	21	37.19 $\pm$ 14.3	41 (32 – 45.4)
	после индукциона терапија	22	45.22 $\pm$ 10.1	45.65 (38.7 – 50.7)
	крај на интензивна терапија	29	48.22 $\pm$ 11.6	47.5 (40.2 – 53)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=8.7 * $p=0.013$ H vs ИТ * $p=0.025$ H vs КИТ $p=0.029$ ИТ vs КИТ $p=0.9$			

Н(новодијагностицирани), ИТ (индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

post-hoc (Wilcoxon Matched Pairs test)

***sig $p<0.0001$

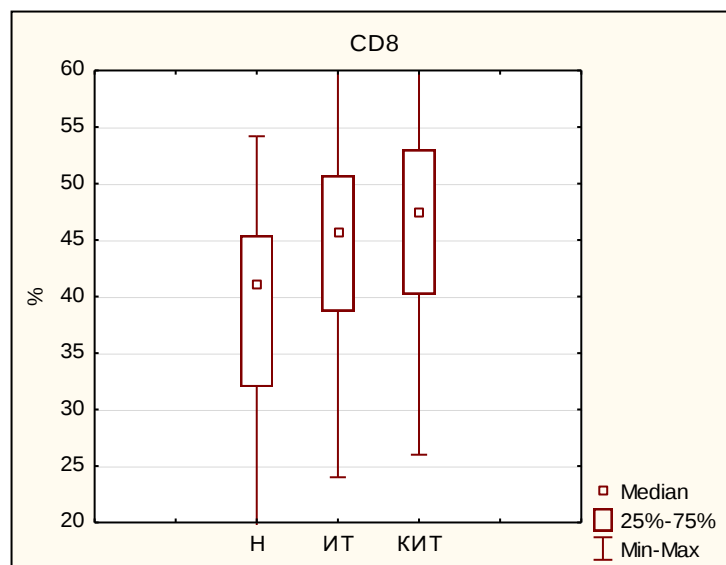


График 16. Медијана на вредностите на CD8 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

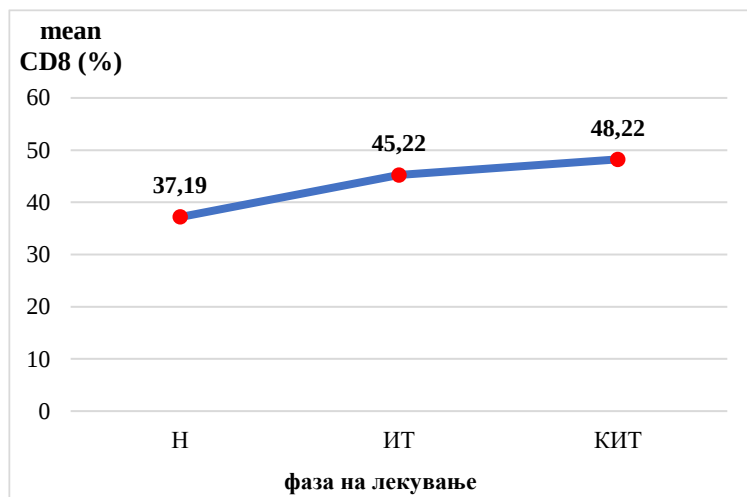


График 16а. Линијски дијаграм на вредностите на CD8 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Не се потврди статистичка сигнификантна разлика во вредноста на односот CD4/CD8 во анализираниот временски период ($p=0.145$). (табела 30)

CD4/CD8 вредностите беа слични во трите временски точки: просечни 1.32 ± 0.5 , 1.07 ± 0.5 и $1.11 \pm 0.6\%$, соодветно пред почеток на терапија, на крај на индукциона фаза и на крај на терапија; CD4/CD8 односот имаше медијана од 1.28, 0.945 и 1.14%, соодветно пред почеток на терапија, на крај на индукциона фаза и на крај на терапија. (табела 30, слика 17, 17а.)

Табела 30. CD4/CD8 – пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

разлики				
варијабла	фаза на лекување	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
CD4/CD8 ратио	новодијагностицирани	18	1.32 ± 0.5	1.28 (0.91 – 1.64)
	после индукциона терапија	22	1.07 ± 0.5	0.945 (0.8 – 1.3)
	крај на интензивна терапија	27	1.11 ± 0.6	1.14 (0.71 – 1.39)
p-level	Friedman ANOVA Chi Sqr.=3.86 $p=0.145$			

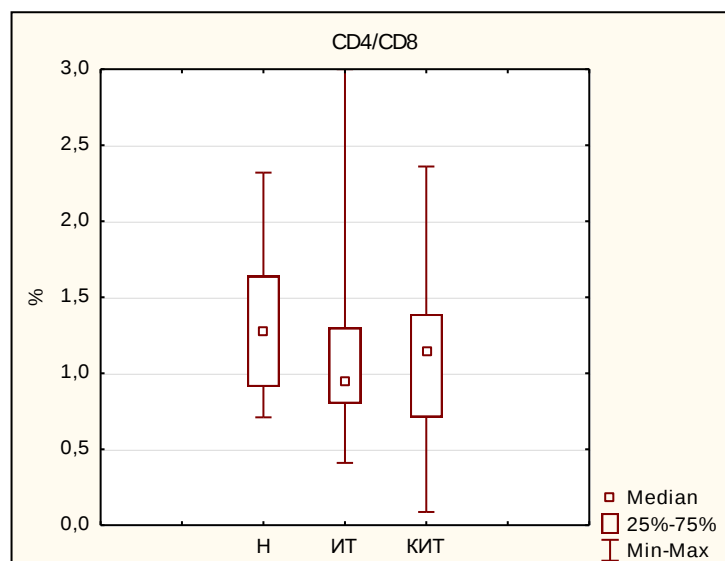


График 17. Медијана на вредностите на CD4/CD8 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

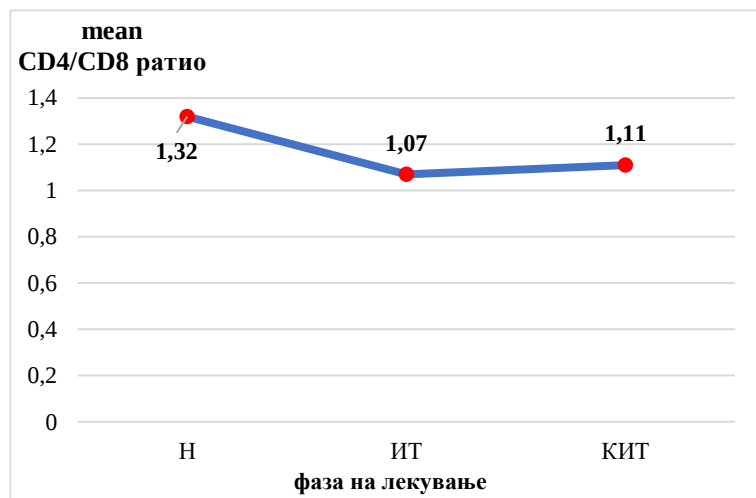


График 17а. Линијски дијаграм на вредностите на CD4/CD8 - пред терапија/по индукциона терапија/по завршена терапија

Н(новодијагностицирани), ИТ (по индукциона терапија), КИТ(крај на терапија)

Серумските концентрации на анти ДТП антителата беа сигнификантно намалени по завршената терапија ($p=0.00148$). (табела 31)

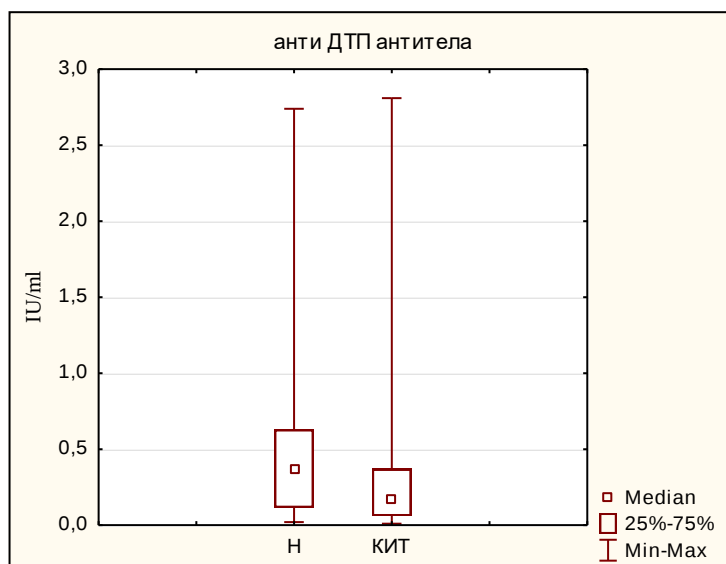
Просечното ниво на антителата беше 0.54 ± 0.6 IU/ml пред почеток на терапија, 0.37 ± 0.6 IU/ml по завршената терапија; медијаната на концентрацијата беше 0.375 IU/ml пред терапија, 0.175 IU/ml по завршената терапија. (табела 31, слика 18, 18а.)

Табела 31. Анти ДТП антитела – пред терапија/по завршена терапија

анти ДТП антитела (IU/ml)	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
новодијагностицирани	32	0.54 ± 0.6	0.375 (0.115 – 0.63)
крај на интензивна терапија	30	0.37 ± 0.6	0.175 (0.06 – 0.37)
p-level	Z=3.18 **p=0.00148		

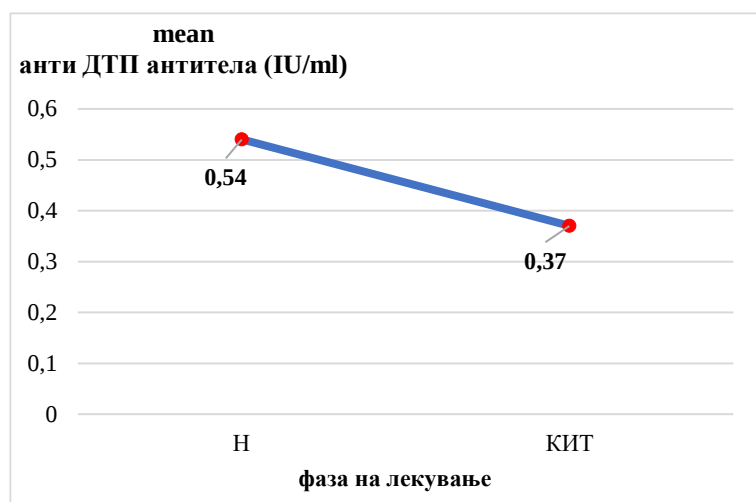
Wilcoxon Matched Pairs Test

**sig $p < 0.01$



Н(новодијагностицирани), КИТ(крај на терапија)

График 18. Медијана на вредностите на анти ДТП антитела - пред терапија/по завршена терапија



Н(новодијагностицирани), КИТ(крај на терапија)

График 18а. Линејски дијаграм на вредностите на анти ДТП антитела - пред терапија/по завршена терапија

Во табела 32 прикажана е дистрибуцијата на нивото на анти ДТП антитела по категории, пред и по терапија.

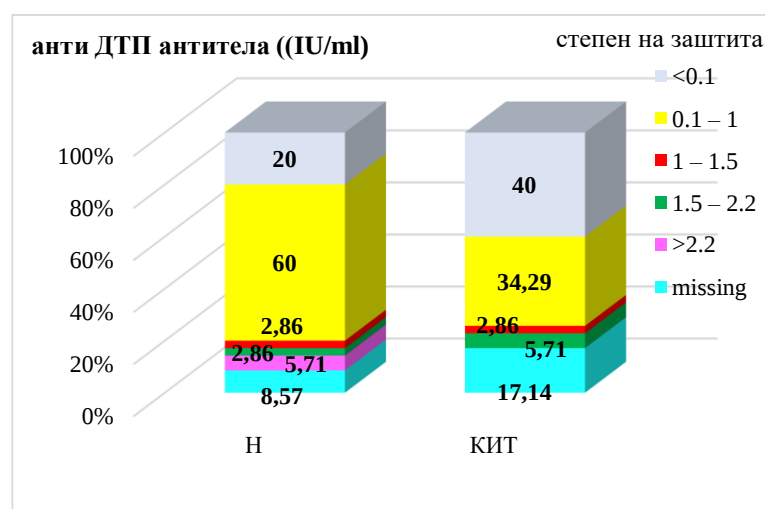
Степенот на заштита од Дифтерија изразен преку антителата беше сигнификантно различен пред и по терапија ($p=0.013$). (табела 32)

Споредбата на поединечните категории анти Дифтерија антитела пред и по терапија покажа несигнификантно поголем процент на деца без заштита по терапија (40% vs 20%, $p=0.068$), сигнификантно помал процент на деца со краткотрајна заштита по терапија (34.29% vs 60%, $p=0.023$), идентичен процент на деца со заштита до 5 години (2.86% vs 2.86%), несигнификантно поголем процент на деца по терапија со заштита до 7 години (5.71% vs 2.86%, $p=0.56$), не беа регистрирани деца по терапија со долготрајна заштита од 10 години (% vs 5.71%, $p=0.15$). (табела 32, слика 19)

Табела 32. Дистрибуција на ниво на анти ДТП антитела – пред терапија/по завршена терапија

степен на заштита	анти Дифтерија антитела ((IU/ml)		Wilcoxon Matched Pairs Test	difference test
	новодијагностицирани n(%)	крај на интензивна терапија n(%)		
без заштита <0.1	7 (20)	14 (40)	Z=2.5 *p=0.013	p=0.068
краткотрајна 0.1 – 1	21 (60)	12 (34.29)		*p=0.023
доготрајна (5 год) 1 – 1.5	1 (2.86)	1 (2.86)		
долготрајна (7 год) 1.5 – 2.2	1 (2.86)	2 (5.71)		p=0.56
долготрајна (10 год) >2.2	2 (5.71)			p=0.15
missing	3 (8.57)	6 (17.14)		

*sig $p<0.05$



Н(новодијагностицирани), КИТ(крај на терапија)

График 19. Графички приказ на дистрибуција на нивото на анти ДТП антитела – пред терапија/по завршена терапија

Антителата насочени кон тетанусниот токсин беа сигнификантно намалени по спроведениот тераписки протокол ($p=0.008$). (табела 33)

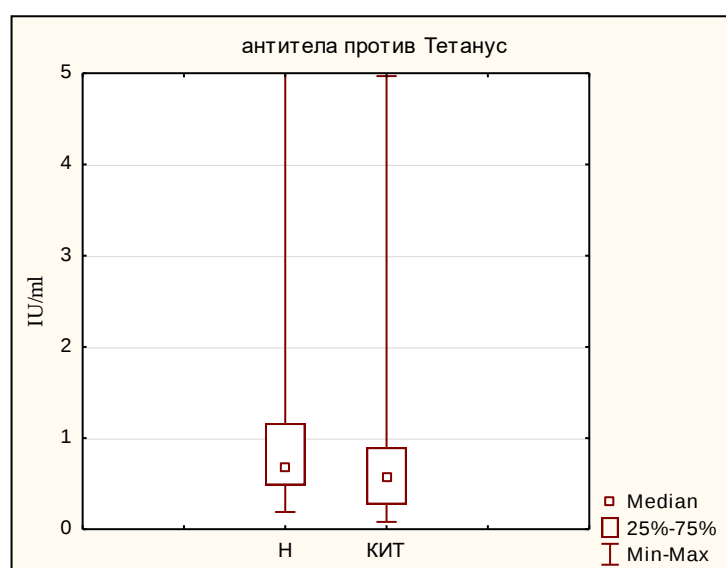
Просечните серумски концентрации на анти тетанус антитела изнесуваа 1.16 ± 1.3 IU/ml пред терапија, 0.83 ± 0.98 IU/ml по терапија; 0.67 IU/ml беше медијаната на антителата пред терапија, 0.57 IU/ml по терапија. (табела 33, слика 20, 20a.)

Табела 33. Анти Тетанус антитела – пред терапија/по завршена терапија

анти Тетанус антитела (IU/ml)	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
новодијагностицирани	32	1.16 ± 1.3	0.67 (0.48 – 1.165)
крај на интензивна терапија	30	0.83 ± 0.98	0.57 (0.27 – 0.9)
p-level	Z=2.65 **p=0.008		

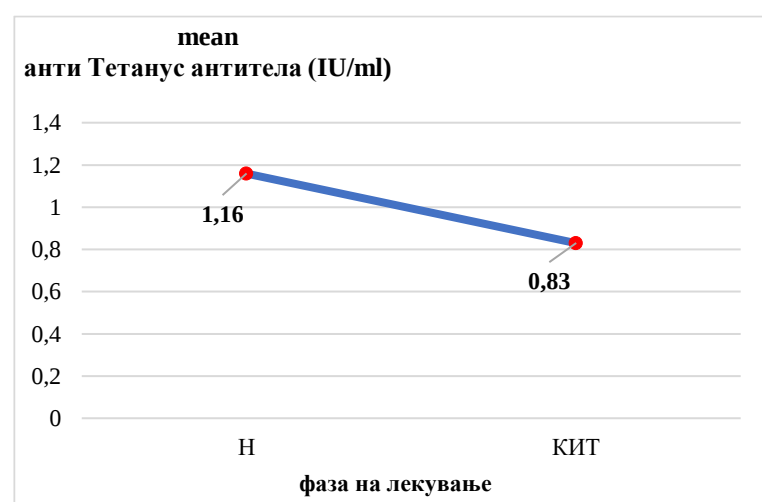
Wilcoxon Matched Pairs Test

**sig p<0.01



Н(новодијагностицирани), КИТ(крај на терапија)

График 20. Медијана на вредностите на анти Тетанус антитела - пред терапија/по завршена терапија



Н(новодијагностицирани), КИТ(крај на терапија)

График 20a. Линијски дијаграм на вредностите на анти Тетанус антитела - пред терапија/по завршена терапија

Во табела 34 прикажана е дистрибуцијата на нивото на анти тетанус антитела по категории,пред и по терапија.

Степенот на заштита од тетанус изразен преку антителата не беше сигнификантно различен пред и по терапија ($p=0.1$). (табела 34)

Споредбата на поединечните категории анти тетанус антитела пред и по терапија покажа дека без заштита по терапија беа 5.71% деца, идентичен беше процентот на деца со краткотрајна заштита пред и по терапија (62.86%), несигнификантно помал процент на деца со заштита до 5 години по терапија (11.43% vs 5.71%), несигнификантно помал процент на деца по терапија со заштита до 7 години и 10 години (8.57% vs 5.71%, $p=0.64$). (табела 34. слика 21)

Табела 34. Дистрибуција на ниво на анти Тетанус антитела – пред терапија/по завршена терапија

степен на заштита	анти Тетанус антитела (IU/ml)		Wilcoxon Matched Pairs Test	difference test
	новодијагностицирани n(%)	крај на интензивна терапија n(%)		
без заштита <0.1		2(5.71)	Z=1.6 p=0.1	p=0.15
краткотрајна 0.1 – 1	22(62.86)	22(62.86)		
доготрајна (5 год) 1 – 1.5	4(11.43)	2(5.71)		p=0.39
долготрајна (7 год) 1.5 – 2.2	3(8.57)	2(5.71)		p=0.64
долготрајна (10 год) >2.2	3(8.57)	2(5.71)		p=0.64
missing	3(8.57)	5(14.29)		

*sig $p<0.05$

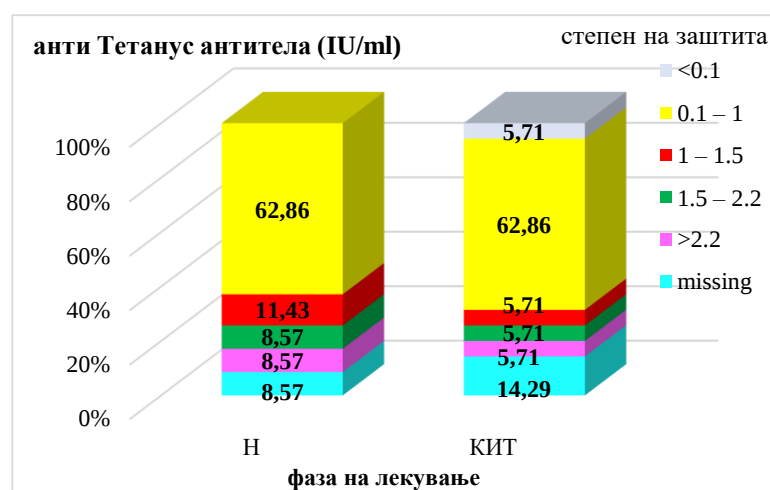


График 21. Графички приказ на дистрибуција на нивото на анти Тетанус антитела – пред терапија/по завршена терапија

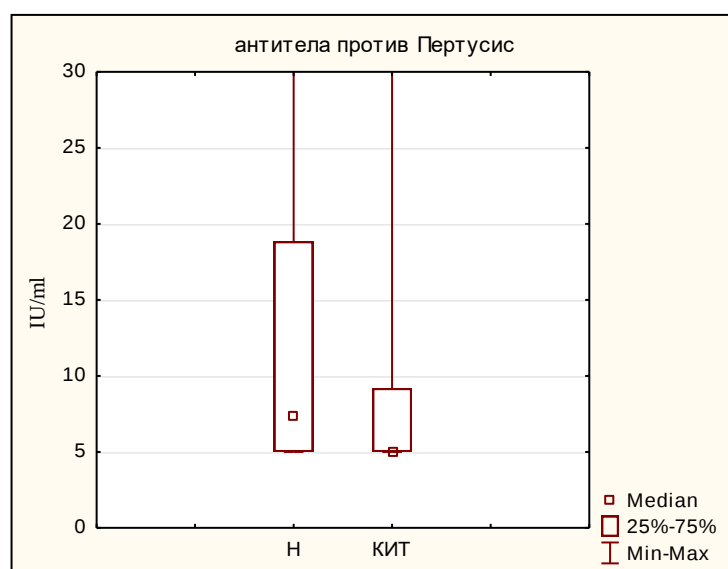
Н(новодијагностицирани), КИТ(крај на терапија)

Терапијата спроведена кај децата сигнификантно ги намали вредностите на антителата насочени кон токсинот на *Bordetella pertussis* ($p=0.000155$), од просечни 21.08 ± 37.6 IU/ml пред терапија до просечни 9.69 ± 10.3 IU/ml по терапија; медијаната на вредноста на антителата беше намалена од 7.435 IU/ml пред терапија до 5 IU/ml по терапија. (табела 35, слика 22, 22а.)

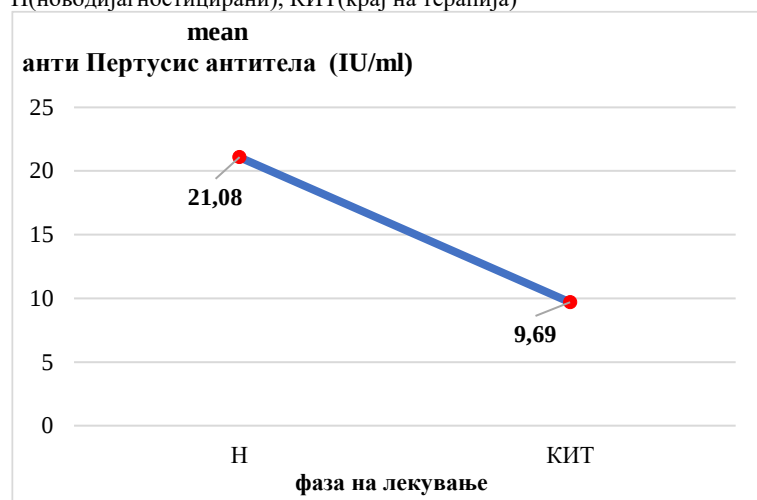
Табела 35. Анти Пертусис антитела – пред терапија/по завршена терапија

анти Пертусис антитела (IU/ml)	n	mean $\pm$ SD	median (IQR)
новодијагностицирани	32	21.08 ± 37.6	7.435 (5 – 18.85)
крај на интензивна терапија	30	9.69 ± 10.3	5 (5 – 9.19)
p-level	Z=3.78 ***p=0.000155		

Wilcoxon Matched Pairs Test



Н(новодијагностицирани), КИТ(крај на терапија)



Н(новодијагностицирани), КИТ(крај на терапија)

График 22. Медијана на вредностите на анти Пертусис антитела - пред терапија/по завршена терапија

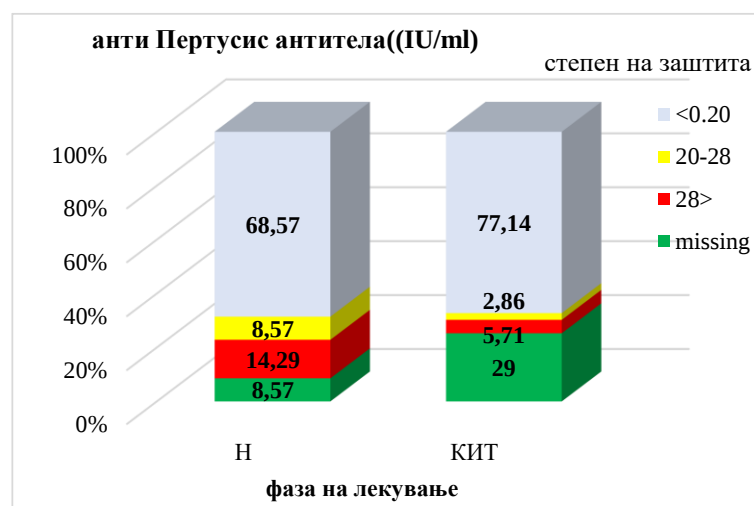
График 22а. Линијски дијаграм на вредностите на анти Пертусис антитела - пред терапија/по завршена терапија

Нивото на анти пертусис антитела по категории,пред и по терапија не се разликуваше сигнификантно ($p=0.32$). (табела 36)

Споредбата на поединечните категории анти пертусу антитела пред и по терапија покажа несигнификанто поголем процент на деца со концентрација на антитела <0.2 IU/ml по терапија (68.57% vs 77.14%, несигнификантно помал процент на деца со концентрација на антитела 20-28 IU/ml по терапија (8.57% vs 2.86%), несигнификантно помал процент на деца со концентрација на антитела $28 >$ IU/ml по терапија (8.57% vs 5.71%). (табела 36,слика 23)

Табела 36. Дистрибуција на ниво на анти Пертусис антитела – пред терапија/по завршена терапија

степен на заштита	анти Пертусис антитела((IU/ml)		p-value
	новодијагностицирани n(%)	крај на интензивна терапија n(%)	
<0.20	24(68.57)	27(77.14)	Fisher's exact $p=0.32$
20-28	3(8.57)	1(2.86)	
$28 >$	5(14.29)	2(5.71)	
missing	3(8.57)	14(29)	



Н(новодијагностицирани), КИТ(крај на терапија)

График 23. Графички приказ на дистрибуција на нивото на анти Пертусис антитела – пред терапија/по завршена терапија

Бројот на инфекции/фебрилни епизоди кои захтевале употреба на парентерална антибиотска терапија, антивирусна терапија, антимикотична терапија во тек на фазите на третманот, индукциона фаза, консолидација и постиндукциона фаза беа анализирани. Најголем број на фебрилни епизоди имало во тек на фазата на индукција(протокол I)

вкупно 52 фебрилни епизоди за вкупно 35 испитувани деца , во тек на консолидација (протокол М) 8 фебрилни епизоди а во тек на постиндукциона фаза (протокол II) 36 фебрилни епизоди (табела 37). Бројот на фебрилните епизоди во нашата студија не корелира со најпотенцираната нотирана хипогамаглобулинемија која најизразена во тек на постиндукциона фаза.

Табела 37. Бројот на инфекции/фебрилни епизоди по фазите на лекување

Фазите на лекување	Бројот на инфекции/фебрилни епизоди
Индукциона фаза (protocol I)	52
Консолидација (protocol M)	8
Постиндукциона фаза (protocol II)	36

5. ДИСКУСИЈА

Имунолошкиот систем кај децата со малигни заболувања, особено по хемотерапија или радиотерапија, покажува значајни промени кои можат да влијаат на исходот од лекувањето, ризикот од инфекции и одговорот на вакцини. Евалуацијата на имунолошкиот одговор вклучува следење на параметри како што се нивоата на имуноглобулини, бројот на лимфоцити, функцијата на Т-клетките, како и одговор на специфични антигени. Кај некои пациенти, имунолошката реконституција се случува побрзо, додека кај други трае со месеци, што бара индивидуализиран пристап. Разбирањето на механизмите на имуносупресија и следењето на имунолошкиот статус имаат важна улога во проценка на безбедноста за продолжување на терапијата, донесување одлуки за вакцинација и превенција од инфекции.

Во нашата студија се фокусиравме во анализата на квантитативни промени во имунолошките параметри во тек на хемотерапија, поточно во тек на 3 важни точки на хемотерапија и тоа на почеток на терапија при дијагностицирање на болеста, после

индукциона терапија (1-2 месеци по започнување на болеста) и на крај на интензивна терапија (околу 6 месеци) после завршување на постиндукциона фаза.

Во тек на акутни леукемии постои неконтролирана пролиферација на бели крвни клетки во различни стадиуми на зреење. Целта на хемотерапија е редуцирање на овие малигни клетки и нивна замена со нормални зрели клетки. Тоа се докажа и во нашата студија. За $p=0.00053$ се потврди вкупна статистичка сигнификантна разлика во намалување на вредностите на вкупните леукоцити во анализираниот временски период на спроведување на терапискиот протокол кај децата. Post-hoc анализата со споредување на меѓувременските точки покажа дека леукоцитите сигнификантно се намалиле по завршување на индукционата терапија споредено со почетните вредности ($p=0.000114$) и по завршување на терапијата споредено со почетните вредности ($p=0.000095$), додека разликата меѓу крајот на терапијата во однос на крајот на индукциониот дел од терапијата не беше статистички сигнификантна ($p=0.79$). Истото е докажано и за абсолютниот број на Лимфоцитите. Разликите во вредностите на лимфоцитите во анализираните временски точки беа статистички сигнификантни, за $p=0.00002$. Лимфоцитите беа сигнификантно пониски на крај на индукционата терапија во споредба со вредностите пред почеток на терапијата ($p=0.00033$) и на крај на интензивната терапија во споредба со вредностите пред почеток на терапијата ($p=0.000055$), додека разликата меѓу двете тераписки точки не беше статистички сигнификантна ($p=0.11$).

Резултатите од статистичката анализа покажаа несигнификантни промени во вредностите на неутрофилите во анализираните временски точки ($p=0.218$). Просечните и медијални вредности на неутрофилите изнесуваа 2.42 ± 3.3 и $1.21 \times 3(uL)$ соодветно пред почеток на терапија, 1.16 ± 1.0 и $0.98 \times 3(uL)$ соодветно после индукциона терапија, 1.31 ± 1.3 и $1.13 \times 3(uL)$ соодветно на крај на терапијата. Но ако просечните и медијалните вредности на неутрофилите ги споредуваме со референтните вредности на неутрофилите, $1.63-7.87 \times 10^3/uL$, гледаме дека кај децата веднаш после индукциона фаза постои докажана неутропенија која перзистира и до крајот на постиндукционата фаза.

Во последните години повеќе истражувачки студии се насочени кон анализирање на имунолошките параметри кај деца со малигна болест во тек на хемотерапија. Инфекциите остануваат главна причина за морбидитет и морталитет кај овие пациенти. Инфекциите го пролонгираат целиот процес на третманот и често претсавуваат сериозен

животозагрозувачки ризик. Контролата над инфекциите во тек на третманот е значајна за непречено спроведување на терапискиот протокол што директно е поврзано со терапискиот успех.

Можноста да се делува на овие нарушувања со дополнителна терапија која ќе го подобри третманот ја наметнуваат потребата од испитувања во оваа област. Во нашата земја, ова е прва студија која анализира имунолошки статус кај деца со малигни хемопатии.

Токму заради оваа во нашата студија анализирани се параметри какао на хуморалниот имунитет како што се нивото на имуноглобулини во серум и антивакциналните антитела така и на клеточниот имунитет со проценка на лимфоцитните субпопулации.

Хемотерапија предизвикува имуносупресија со нарушување на созревањето и производство на зрелите Б клетки. Хемотерапија има за цел да го намали бројот на малигни клетки кои исто така се CD19 клетки. Новите истражувања укажуваат дека хемотерапијата може длабоко да влијае и на здравите клетки на имуниот ситем, кои играат улога не само на ерадикацијата на туморските клетки туку играат важна улога и во заштита од различни инфекции за време на третманот. Како последица бројот на зрели Б клетки достапни за производство на антитела ќе биде намален, а серумските вредности на имуноглобулините за време и после хемотерапија ќе бидат намалени.

Во проспективна студија реализирана во Детска Клиника во Атина (Kosmidis et al.2008;50:528 – 532) хуморалниот и клеточниот имунитет бил анализиран кај 72 деца со АЛЛ. Хуморалниот имунитет бил сериозно намален на крајот на интензивна терапија со ниски ниво на имуноглобулини и низок процент на CD19 клетки, вредности кои градуално се подобриле после прекин на терапија. Клеточниот имун одговор бил нормален на крајот на интензивна терапија, но значително имал пад на вредности во тек на терапија за одржување, 6 месеци, 12, и 18 месеци по завршување на терапија(53).

Во нашата студија CD19 клетките пред почеток на терапија имаа просечна вредност од $22.19 \pm 17.8\%$, по завршување на индукционата фаза на лекување $2.33 \pm 5.5\%$, по завршување на интензивната терапија $3.02 \pm 4.6\%$; медијаната на вредноста на CD19 изнесуваше 18.63%, 1.2% и 1.37%,соодветно во трите анализирани временски точки.

За $p=0.00057$ се потврди вкупна статистичка сигнификантна разлика во вредностите на CD19 во анализираниот временски период на спроведување на терапискиот протокол кај децата.Post-hoc анализата со споредување на меѓувременските точки покажа дека CD19 сигнификантно се намалиле по завршување на индукционата терапија споредено

со почетните вредности ($p=0.000007$), сигнификантно се намалиле по завршување на терапијата споредено со почетните вредности ($p=0.000065$), несигнификантно се зголемиле на крајот на терапијата во однос на крајот на индукциониот дел од терапијата ($p=0.39$).

Пред терапија, по индукционата фаза од терапијата и на крај на терапијата просечните вредности на IgA изнесуваа 1.09 ± 0.6 , 0.97 ± 0.5 и 0.76 ± 0.6 g/l, соодветно; во овие временски периоди медијаната на вредностите на IgA изнесуваше 1.085, 0.89 и 0.55 g/l, соодветно. Вкупна статистичка сигнификантна разлика се потврди во вредностите на IgA ($p=0.0034$), која со post-hoc анализата се потврди дека се должи на значајно пониски имуноглобулини од класа A на крај на терапијата во однос на почетните вредности.

Намалувањето на серумските IgM пред, во тек и на крај на терапијата беше статистички сигнификантно ($p<0.0001$): за $p=0.000014$ на крај на индукционата фаза наспроти почетните вредности, за $p=0.000003$ на крај на терапијата наспроти почетните вредности, за $p=0.036$ на крај на терапијата наспроти крај на индукционата фаза (post-hoc анализа).

Серумските IgG пред почеток на терапија имаа просечна вредност од 10.20 ± 3.5 g/l, по завршување на индукционата фаза на лекување 8.96 ± 2.4 g/l, по завршување на интензивната терапија 7.27 ± 3.2 g/l; медијаната на вредноста на IgG изнесуваше 9.78, 8.82 и 7.39 g/l, соодветно во трите анализирани временски точки.

За $p=0.0019$ се потврди вкупна статистичка сигнификантна разлика во намалување на вредностите на IgG во анализираниот временски период на спроведување на терапискиот протокол кај децата. Post-hoc анализата со споредување на меѓувременските точки покажа дека IgG несигнификантно се намалиле по завршување на индукционата терапија споредено со почетните вредности ($p=0.09$), а сигнификантно се намалиле по завршување на терапијата споредено со почетните вредности ($p=0.000096$) и на крајот на терапијата во однос на крајот на индукциониот дел од терапијата ($p=0.013$).

Хипо-IgG под 4.0 г/л е нотирано кај 8 деца од вкупно 31 испитувани деца на крај на интензивна терапија, тоа е 25.8% од испитуваните деца. Анализирани се и бројот на инфекции/фебрилните епизоди кои захтевале употреба на парентерална антибиотска терапија, антивирусна терапија, антимикотична терапија во тек на фазите на третманот, индукциона фаза, консолидација и постиндукциона фаза. Најголем број на фебрилни епизоди имало во тек на фазата на индукција (протокол I) вкупно 52 фебрилни епизоди

за вкупно 35 испитувани деца , во тек на консолидација (протокол М) 8 фебрилни епизоди а во тек на постиндукциона фаза (протокол II) 36 фебрилни епизоди. Бројот на фебрилните епизоди во нашата студија не корелира со најпотенцираната нотирана хипогамаглобулинемија која најизразена во тек на постиндукциона фаза.

Од другата страна рандомизирана контролна студија како дел од Националната Холандска мултицентрална АЛЛ студија ги рандомизираше пациентите на возраст од 1-19 год во 2 групи, група која примиле профилакса на ИВИГ на секој 3 недели, почнувајќи од 22 ден по дијагностика, и контролна група со стандартен третман. Бројот на хоспитализации поради фебрилност во групата со ив профилакса на игт беше помал од бројот на хоспитализации во контролна група. Профилакса со ИВИГ не беше поврзана со бакетеремија(58).

Хипогамаглобулинемија како последица од хемотерапијата и малигната болест е опишана по многу студии, и таа перзистира и понатака во тек на фазата на одржување. Во проспективната студија реализирана од Maharshi Trivedi et al. се анализирани серумските имуноглобулини во тек на фазата на одржување во тек на 2 години и е прикажано дека хипогамаглобулинемија G перзистира и понатака кај 56.8% од испитувани деца, вкупно 199 деца, 80.4% од децата имаат хипоглобулинемија А и 86.4% на децата имаа хипоглобулинемија М. Анализирани се и фебрилните епизоди во тек на овој период кои според ауторот не биле асоцирани со хипогамаглобулинемија(59).

Функционалноста на Б-клетките, која се покажува со нивото на имуноглобулини во циркулацијата, исто така е засегната од хемотерапијата. Од вкупните имуноглобулини во серум, ИгГ процентуално има најмногу. Ова класа е составена од четири различни подкласи: IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Секоја подкласа е присутна во различни концентрации во крвта и тие концентрации варираат од возраста. Во серумот 70 % од IgG е IgG1, 20-30% IgG2, 5-8% IgG3 и 1-3% IgG4.

Во нашата студија просечните вредности на серумски IgG1 и IgG2 беа најпогодените. Просечните серумски IgG1 изнесуваа 6.65 ± 2.2 g/l кај новодијагностицираните, 5.26 ± 1.6 g/l по индукционата фаза на терапија и 4.60 ± 2.3 g/l по завршената интензивна терапија. Серумските вредности на IgG1 значајно се намалиле за просечни 1.39 g/l по индукционата фаза, а значајно се намалиле за просечни 2.05g/l по спроведениот тераписки протокол. Резултатите од анализата покажаа дека просечните вредности на IgG1 беа сигнификантно различни во анализираниот период меѓу анализираниите временски точки [F (2,52)=11.567, p=0.000].

Вкупна статистичка сигнификантна разлика се потврди во вредностите на IgG2 ($p=0.003$), која со post-hoc анализата се потврди дека се должи на значајно пониски имуноглобулини од класа G2 по завршеното лекување во однос на вредностите по индукционата фаза од терапијата ($p=0.0026$)

Медијалните IgG3 вредности изнесуваа 0.317 g/l пред почеток на терапија, 0.3 g/l по индукционата фаза на терапија, 0.211 g/l по завршеното лекување, и без статистичка сигнификантна разлика меѓу вредностите ($p=0.7$).

Секоја ИгГ субкласа служи во заштита од инфекции на свој начин. ИгГ1 и ИгГ3 заштитуваат од токсини од бактерии како што се дифтерија и тетанус, и од вирусни инфекции. Од другата страна IgG2 доминантно заштитува од полисахаридната капсула на одредени бактерии кои предизвикуваат болести како што се *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*. IgG4 има посебна функција во пролонгираните имунолошки одговори и регулирањето на одговорот на антителата. Во нашата студија се потврди вкупна статистичка сигнификантна разлика за $p=0.00028$ во намалување на вредностите на IgG4 во анализираниот временски период на спроведување на терапискиот протокол кај децата.

И од истржувања од литература, опишани се ниски нивоа на серумски IgG забелжени кај 52.6% и 43.2% од пациенти со ЛАЛ во тек на раната и доцната фаза на одржување, а кај 3.5% од децата беа сеуште ниски и по 18 месеци од завршување на третманот. Од IgG субкласите, IgG1 и IgG2 беа најпогодените (60).

Значително зголемен ризик од смрт од септички компликации за време на индукциската фаза од хемотерапија кај адултните пациенти со АМЛ и АЛЛ, имале пациентите со намалени нивоа на IgG на почетокот на хемотерапијата (Angela Gause et al.) Бидејќи намалените нивоа на IgG1 и/или IgG2 кај пациентите со AML корелирале со вкупниот серумски IgG, заклучено е дека генерално е непотребно одредување на подкласите на IgG. Но поради неговото прогностичко влијание, одредувањето на вкупниот IgG треба да се изврши кај секој пациент со акутна миелоидна леукемија (61).

CD45 сочинува 5-10% од вкупните гликопротеини на површината на Т- и Б-лимфоцитите. CD45 се експресира на површината на сите нуклеарни хематопоеетски клетки и нивните прекурсори, освен на зрелите еритроцити и тромбоцити. CD45 игра централна улога во активацијата на имуниот систем. Експресијата на CD45 изоформата варира во зависност од стадиумот на созревање, активирање и диференцијацијаТ-клетките.

Во нашите резултати просечните вредности на CD45 не беа сигнификантно различни во анализираниот период меѓу анализираните временски точки [$F(1.746, 40.151) = 3.243$, $p = 0.056$]. Пред почеток на терапија нивото на CD45 просечно изнесуваше $55.47 \pm 17.8\%$, по завршување на индукционата фаза на лекувањето $43.53 \pm 19.4\%$, на крај на лекувањето $41.58 \pm 23.6\%$. Иако нема сигнификантно намалување на CD45 лимфоцитите, нивното намалување е забележано, што има важен прогностички ефект во поглед на релапс на болеста. (63)

Мерење на CD45 кај акутните леукемии, неговата употреба како прогностички параметар е привлечен не само во развиените земји. Висока експресија на површинскиот CD45 е поврзана со лоша прогноза во BCP- ALL и T- ALL. И кај адултни пациенти со ALL, откриено е дека во споредба со пациентите со ниска експресија на CD45, пациентите со висока експресија имаат пониска стапка на преживување, поради повисока инциденца на рецидив (64).

T клеточниот имунитет е проценет со анализирање на CD молекулите во нивната површина во тек на трите точки на испитување. Зголемувањето на вредностите на CD3 клетките во тек на терапија на нашата студија статистички се потврди како сигнификантно ($p < 0.0001$). Разликата беше сигнификантна меѓу сите временски точки: пред терапија наспроти крај на индукциона фаза ($p = 0.000033$), пред терапија наспроти крај на терапија ($p = 0.000097$), после индукциона фаза наспроти крај на терапија ($p = 0.026$).

Разликата не беше сигнификантна за вредностите на T хелпер клетките (CD4) помеѓу три испитувани точки. CD4 клетките имаа просечна вредност од $42.06 \pm 15.4\%$ кај новодијагностицираните, $41.71 \pm 11.5\%$ по завршување на индукционата фаза од терапискиот протокол, $45.06 \pm 12.2\%$ по завршување на целиот тераписки протокол.

Зголемувањето на процентот на CD8 во анализираниот временски период на спроведување на терапискиот протокол беше и статистички потврдено како сигнификантно ($p = 0.013$). Post-hoc анализата со споредување на меѓувременските точки покажа дека CD8 сигнификантно се зголемиле по завршување на индукционата терапија споредено со почетните вредности ($p = 0.025$), по завршување на терапијата споредено со почетните вредности ($p = 0.029$), додека зголемувањето по завршената терапија споредено со крајот на индукциониот дел од терапијата не беше статистички сигнификантно ($p = 0.9$)

Не се потврди статистичка сигнификантна разлика во вредноста на односот CD4/CD8 во анализираниот временски период ($p=0.145$)

Студиите покажале дека децата со АЛЛ за време на дијагнозата на болеста имаат повисоки вредности, повисок абсолютен број на CD4 и CD8 Т клетки во периферна крв како и зголемени вредности на Тregs во однос на контролната група од истата возраст. Процентот на CD4(+)CD25(+) Treg клетки во периферната крв на пациенти со B-ALL и T-ALL беше повисок во споредба со тој кај здравите лица ($P<0.05$) (65,66).

Во студија (Pawlik-Gwozdecka et al. 2021 Feb 26;17(2):561–563) реализирана на 19 деца дијагностицирани со акутна лимфобластна Б клеточна леукемија анализирани се субпопулациите на $\gamma\delta$ Т клетките (CD3+ $\gamma\delta$, CD4+ $\gamma\delta$, CD8+ $\gamma\delta$) како нов и ран биомаркер за сериозноста на детската леукемија. Овие податоци се споредени со здрава група на деца.

Во оваа студија не се покажало статистичка сигнификантна разлика во процентот на CD3+ $\gamma\delta$ Т и CD4+ $\gamma\delta$ лимфоцити помеѓу пациентите со леукемија и здравите деца од контролна група. Интересно е дека е забележано разлика во процентот на CD8+ $\gamma\delta$ во зависност од возраста кај пациентите со леукемија ($R = -0.67$, $p < 0.00$) но не и на контролната група ($p = 0.58$).

Повисок процент на CD8+ $\gamma\delta$ Т клетки е забележано кај помали пациенти. Оваа корелација не била забележана во контролната група. Земајќи го во предвид фактот дека објаснувањето за подобриот исход на возраст од 1-6 години и полош исход во адолесценцијата сè уште е нејасно, тоа би можело да биде добар вовед во понатамошните истражувања за вклученоста на лимфоцитите во одговорот на третманот на леукемија поврзана со возраста. Освен тоа, пронајдена е силна негативна корелација помеѓу CD8+ $\gamma\delta$ Т клетките и минималната резидуална болест (MRD), што е клучен прогностички фактор кој го кажува бројот на лимфобласти во коскената срж на 15-тиот ден од третманот.

Бројот на CD8+ $\gamma\delta$ Т-клетки во периферната крв била зголемена кај оние кои имале помал процент на бласти на коскената срцевина на петнаесеттиот ден од хемотерапијата. Дополнително, интересно откритие е дефинитивно повисокиот процент на CD8+ $\gamma\delta$ Т клетки во групата на пациенти распределени во интермедиерен ризик (IR) групата во однос на групата со зголемен ризик. Со податоците од оваа студија заклучено е дека повисок процент на CD8+ $\gamma\delta$ Т лимфоцити е кај пациенти со поволни прогностички

фактори и циркулирачките CD8+ $\gamma\delta$ Т-клетки може да се користат како нов ран биомаркер за добра прогноза во детството (67,68).

Со користење на поинтензивни хемотерапетски протоколи се постигна драматично подобрување на прогнозата на овие болести, но од другата страна користење на поинтензивни хемотерапетски протоколи е придружена со акутна и долгорочна токсичност која предизвикува значителен морбидитет. Има докази за пониски пропорции на Т клетки во периферија во тек на хемотерапија, со изразен ефект на наивните Т клетки во споредба со мемориски Т клетки, при што овие последниве остануваат доминантни за време на трегодишниот период од хемотерапијата (69). Евидентно е дека Т клетките остануваат поотпорни на хемотерапија од Б клетките (70).

Во друга студија реализирана од Yuting Xu et al. анализирани се 146 деца дијагностицирани со АЛЛ, Т-клетките, Б-клетките и НК клетките биле значително компромитирани на крајот на терапијата, по завршување на фазата на одржување, во споредба со почетокот на хемотерапијата, при што Б-клетките биле посериозно компромитирани ($P < 0,001$). На крајот од третманот, нивоата на Б-клетки, CD4 + Т клетки, CD4/CD8, IgG и IgM во групата со низок ризик (LR) биле значително повисоки од оние во групата со среден ризик ($P < 0,01$), а нивоата на НК клетки во LR групата биле очигледно пониски од оние во IR групата ($P < 0,001$) (71).

Просечните и медијални вредности на CD56 клетките пред почеток на терапија изнесуваа 10.21 ± 8.8 и 6.515%, соодветно; после индукционата фаза изнесуваа $7.67 \pm 8.4\%$ и 6.55%, соодветно; на крај на интензивната терапија изнесуваа $5.44 \pm 5.4\%$ и 3.76%, соодветно.

Статистички несигнификантна беше тестираната разлика во вредностите на CD56 пред терапија/после индукциона фаза/крај на терапија ($p=0.15$).

Во студија (Wenjian Guo et al. 2013 Aug 5;14(10):916–921) анализиран е бројот и цитотоксичност на CD3+CD56+ Т лимфоцити кај пациенти со акутна леукемија (со исклучување на акутна промиелоцитна леукемија). Анализиран е бројот и цитотоксичност на овие клетки во периферната крв на здрава контролна група, пациенти со акутна леукемија и пациенти со акутна леукемија кои се во целосна ремисија. Абсолютниот број на CD3+CD56+ Т лимфоцити беше зголемен кај пациентите со акутни леукемии во споредба со здравите контролна група ($P < 0.05$), но нивната функција беше значително намалена ($P < 0.05$).

Бројот на CD3+CD56+ Т лимфоцити кај пациенти со АМЛ и АЈЛ кои постигнале ремисија по хемотерапија беше блиску до здравите контролни групи ($P>0.05$), но нивната функција сеуште беше значително намалена ($P<0.05$)(72).

Серумските концентрации на антителата против дифтерија токсинот, токсинот на тетанус и пертусис, во нашата студија беа мерени пред започнување на хемотерапија, кога детето е дијагностицирано со акутна леукемија и на крај на постиндукциона фаза. Серумските концентрации на антителата против дифтерија токсинот беа сигнификантно намалени по завршената терапија ($p=0.00148$).

Просечното ниво на антителата беше 0.54 ± 0.6 IU/ml пред почеток на терапија, 0.37 ± 0.6 IU/ml по завршената терапија; медијаната на концентрацијата беше 0.375 IU/ml пред терапија, 0.175 IU/ml по завршената терапија.

Степенот на заштита од Дифтерија изразен преку антителата беше сигнификантно различен пред и по терапија ($p=0.013$).

Едно дете е без заштита од одреден токсин/вирус/ бактерија кога нивото на антитела против тој токсин/вирус/ бактерија се <0.1 ИУ/мл, Краткотрајна заштита имаат кога нивото на антитела им е од 0.1-1ИУ/мл, Долготрајна заштита (5 год) кога нивото на антитела им е 1-1.5ИУ/мл, Долготрајна заштита (7 год) кога нивото на антитела им е 1.5-2.2 ИУ/мл, Долготрајна заштита (10 год) кога нивото на антитела им е >2.2 ИУ/мл. Споредбата на поединечните категории анти Дифтерија антитела пред и по терапија покажа несигнификантно поголем процент на деца без заштита по терапија (40% vs 20%, $p=0.068$), сигнификантно помал процент на деца со краткотрајна заштита по терапија (34.29% vs 60%, $p=0.023$), идентичен процент на деца со заштита до 5 години (2.86% vs 2.86%), несигнификантно поголем процент на деца по терапија со заштита до 7 години (5.71% vs 2.86%, $p=0.56$), не беа регистрирани деца по терапија со долготрајна заштита од 10 години (% vs 5.71%, $p=0.15$).

Антителата насочени кон тетанусниот токсин беа сигнификантно намалени по спроведениот тераписки протокол ($p=0.008$).

Просечните серумски концентрации на анти тетанус антитела изнесуваа 1.16 ± 1.3 IU/ml пред терапија, 0.83 ± 0.98 IU/ml по терапија; 0.67 IU/ml беше медијаната на антителата пред терапија, 0.57 IU/ml по терапија.

Степенот на заштита од тетанус изразен преку антителата не беше сигнификантно различен пред и по терапија ($p=0.1$).

Споредбата на поединечните категории анти тетанус антитела пред и по терапија покажа дека без заштита по терапија беа 5.71% деца, идентичен беше процентот на деца со краткотрајна заштита пред и по терапија (62.86%), несигнификантно помал процент на деца со заштита до 5 години по терапија (11.43% vs 5.71%), несигнификантно помал процент на деца по терапија со заштита до 7 години и 10 години (8.57% vs 5.71%, $p=0.64$).

Терапијата спроведена кај децата сигнификантно ги намали вредностите на антителата насочени кон токсинот на *Bordetella pertussis* ($p=0.000155$), од просечни 21.08 ± 37.6 IU/ml пред терапија до просечни 9.69 ± 10.3 IU/ml по терапија; медијаната на вредноста на антителата беше намалена од 7.435 IU/ml пред терапија до 5 IU/ml по терапија.

Нивото на анти пертусис антитела по категории, пред и по терапија не се разликуваше сигнификантно ($p=0.32$).

Споредбата на поединечните категории анти пертусис антитела пред и по терапија покажа несигнификантно поголем процент на деца со концентрација на антитела <0.2 IU/ml по терапија (68.57% vs 77.14%, несигнификантно помал процент на деца со концентрација на антитела 20-28 IU/ml по терапија (8.57% vs 2.86%), несигнификантно помал процент на деца со концентрација на антитела $28 >$ IU/ml по терапија.

Во студијата реализирана од Torben Ek et al. 2004 Nov;26(11):727-34. на 31 пациенти дијагностицирани со ЛАЛ мерени се антителата за дифтерија и тетанус при дијагноза на болеста и на крај на терапија на одржување, па мерени после ревакцинација со дифтерија и тетанус. Антителата против токсинот на дифтерија за време на третманот се намалиле зашто и процентот на пациентите со ЛАЛ кои биле со комплетна заштита паднал од 39% при дијагнозата на 17 % после третманот. Имунолошки одговор на вакцинирањето бил добар, со 27 деца од вкупно 31 (87%) кои постигна целосна заштита по вакцинирањето. Исто така и за антителата против токсинот на тетанус. За време на лекувањето нивото на Анти тетанус IgG се намалил од 0.58 на 0.11 IU/ml ($P<0.001$). Процентот на пациенти со целосна заштита се намали од 81% при дијагноза на болеста на 33% пред вакцинација. По вакцинација 77% имале заштитни нивоа на анти тетанус антитела (73).

Во ретроспективна крос-секциска студија реализирана од Ince et al. (2024 Aug 28;41(3):160-166.) седумдесет и осум деца кои ја завршија хемотерапијата за АЛЛ беа вклучени во студијата. Сите деца имале намалување на антителата за најмалку една од

болестите која можел да се превенира со вакцинација. Највисока стапка на серопозитивност по хемотерапија е пронајдена за хепатитис А(55.1%) и најниската за морбили(17,9%). Пациентите со АЛЛ со повисок ризик имале пониски вредности на серопозитивност од пациентите од другите ризични групи (57).

Студии публикуирани покажуваат дека хуморалниот имунитет се враќа во нормални вредности порано, по 1 месец од завршување на хемотерапија, додека нивото на IgG во серум се нормализираат 6 месеци после завршување на терапија(74). Со тоа и антителата стекнати после вакцинација се засегнати и со тоа се зголемува ризикот од зараза од болести кои можат да се спречат со вакцини

Во студијата реализирана од Kooshakzadeh L et al.2014 Oct;31(7):656-63. Евалуирани се антителата против дифтерија, тетанус, пертусис, морбили, паротит и рубеола за време на акутна лимфобластна леукемија и после завршување на терапија како и се проценувал титар на антитела после ревакцина DTP/Td и MMR. 90 пациенти деца дијагностицирани со АЛЛ евалуирани за хуморален имунитет против дифтерија тетанус, пертусис, морбили и рубеола и паротит, истите споредувани со контролна група на 90 здрави деца. Пациентите беа поделени на 6 групи. Во првата група 15 пациенти новодијагностицирани, сеуште не почнати со хемотерапија, споредени со здравата група за да се утврди да ли самата болест АЛЛ ги намалува хуморалниот имунитет или не. Втората група се состои од 15 пациенти во тек на хемотерапија, во фаза на одржување, мерени антивакцинални антитела пред вакцинација и 3 недели после вакцинација. Останатите 4 групи на пациенти евалуирани се за антивакцинални антитела 1 месец, 3,6 и 12 месеци после завршење на фазата на одржување, пред и 3 недели после вакцинација и споредувани со контролна група. Според ова студија сите новодијагностицирани пациенти имаат сличен титар на антитела во споредба со контролната здрава група што сугерира дека АЛЛ не предизвикува губење на заштитен титар на антитела стекнати со претходна вакцинација. Според ова студија пациентите кои биле исклучени од хемотерапија 12 месеци покажаа подобар имунолошки одговор при имунизација со MMR од пациентите кои биле исклучени 3 до 6 месеци од терапијата. Пациентите во фаза на одржување и на крај на терапија имале добар одговор на создавање на антитела после DTP/Td ревакцинација. Ревакцина со DTP/Td кај пациенти во тек на фазата на одржување и после завршување на терапија може да биде од голема корист. Вакцинацијата со MMR вакцина е безбедна 3 месеци после завршување на терапија (74,75).

ЗАКЛУЧОК

Современите тарписките протоколи, вклучуваат интензивни протоколи на хемотерапија, биолошки агенси и радиотерапија, кои често имаат штетно влијание на клетките на имунолошкиот систем и произведуваат секундарна имунодефициенција (СИД).

- Хуморалниот имунитет е позасегнат во тек на интензивна терапија од клеточниот имунитет.
- Неутропенија е потенцирана во тек на индукциона фаза на хемотерапија кога и бројот на фебрилните епизоди/инфекции е поголем.
- Нивото на имуноглобулини значајно се намалени во тек на терапијата, особено по завршување на постиндукциска фаза на терапија.
- Најзначајно намалување на IgG и IgG2 беше забележано во постиндукциска фаза на терапијата.
- Хипо-IgG под 4.0 г/л е нотирано кај 25.8% од испитуваните деца на крај на интензивна терапија. IgG1 и IgG4 значително се намалија по индукциона фаза и на крајот на терапија.

Инфекциите остануваат главна причина за морбидитет и морталитет кај пациентите со малигни заболувања заради што е потребно следење на имунолошките параметри во тек и по завршување на терапија. Контролата над инфекциите во тек на третманот е значајна за непречено спроведување на терапискиот протокол што директно е поврзано со терапискиот успех.

Можноста да се делува на овие нарушувања со дополнителна терапија (суплементација со интравенски имуноглобулини) ја наметнуваат потребата од сеуште испитувања во оваа област, на поголем број на пациенти со цел да се реагира на време и да се превенираат тешки септични состојби и кој ќе го подобри третманот.

7. Апстракт

Вовед: Малигните хемопатии како што се акутната лимфобластна леукемија (АЛЛ), акутната миелоидна леукемија (АМЛ) и различните типови лимфоми се најчести малигнитети кај педијатриската популација. Хемотерапијата која се користи за нивно лекување значително го нарушува имунолошкиот систем, кој кај децата и онака е во развој.

Цел: Да се процени имунолошкиот одговор кај деца со малигни хемопатии во различни фази од третманот, преку анализа на лимфоцитни субпопулации, ниво на имуноглобулини и серолошки одговор на вакцинација.

Материјал и методи: Проспективна студија спроведена на 35 пациенти на возраст од 2 до 12 години дијагностицирани со малигна хемопатија, лекувани според стандардизирани протоколи. Беа анализирани параметри како CD3, CD4, CD8, CD19, NK клетки, IgG, IgA, IgM, и серолошки титар по вакцинација. Податоците беа споредувани во три временски точки: пред терапија, по индукција и по завршен третман.

Резултати: Се забележа значаен пад на CD19+ лимфоцитите по индукцијата, како и хипогамаглобулинемија А, М и Г. Имуноглобулините Г сигнификантно се намалиле по завршување на терапијата споредено со почетните вредности ($p=0.000096$) и на крајот на терапијата во однос на крајот на индукциониот дел од терапијата ($p=0.013$). Веднаш после индукциона фаза постои докажана неутропенија која перзистира и до крајот на постиндукционата фаза, што корелира со најголем број на фебрилни епизоди кои се во тек на индукционата фаза.

Заклучок: Хемотерапијата води до значителна имуносупресија кај децата со малигни хемопатии. Редовната проценка на имунолошкиот статус е од суштинско значење за навремено препознавање на потребата од имунолошка поддршка и превенција на инфекции.

8.Референции

1. Pui CH, Robison LL, Look AT. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet*. 2008;371(9617):1030–43.
2. Hunger SP, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia in children. *N Engl J Med*. 2015;373(16):1541–52.
3. National Cancer Institute: NCCR*Explorer: An interactive website for NCCR cancer statistics. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Available online. Last accessed February 25, 2025.
4. Surveillance Research Program, National Cancer Institute: SEER*Explorer: An interactive website for SEER cancer statistics. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Available online. Last accessed December 30, 2024.
5. Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet*. 2013;381(9881):1943–55.
6. Malard F, Mohty M. Acute lymphoblastic leukemia. *Lancet*. 2020;395(10230):1146
7. Bhojwani D, Pui CH. Relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Lancet Oncol*. 2013;14(6): e205–17.
8. Creutzig U, Kutny MA, Barr R, Schlenk RF, Ribeiro RC. Acute myelogenous leukemia in children. *N Engl J Med*. 2012;367(20):1890–8.
9. Reinhardt D, Diekamp S, Langebrake C, et al. Acute myeloid leukemia in children and adolescents. *Pediatr Clin North Am*. 2015;62(1):61–73.
10. Rubnitz JE, Inaba H, Dahl G, et al. Minimal residual disease–directed therapy for childhood AML. *Blood*. 2010;116(14):3026–30.
11. Rasche M, Zimmermann M, Borschel L, et al. Successes and challenges in pediatric AML therapy. *Haematologica*. 2018;103(2):208–18.

12. Gross TG, Biondi A. Pediatric lymphomas. *Pediatr Clin North Am*. 2002;49(5):1067–87.
13. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. (Eds), WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, revised 4th edition, International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon 2017
14. Brown P, Inaba H, Annesley C, Beck J, Colace S, Dallas M, DeSantes K, Kelly K, Kitko C, Lacayo N, Larrier N, Maese L, Mahadeo K, Nanda R, Nardi V, Rodriguez V, Rossoff J, Schuettepelz L, Silverman L, Sun J, Sun W, Teachey D, Wong V, Yanik G, Johnson-Chilla A, Ogburn N, Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia, Version 2.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, J Natl Compr Canc Netw. 2020;18(1):81.
15. Woessmann W, Seidemann K, Mann G, et al. Hodgkin's disease in childhood and adolescence. *J Clin Oncol*. 2005;23(3):556–63.
16. Salzburg J, Burkhardt B, Zimmermann M, Wachowski O, Woessmann W, Oschlies I, Klapper W, Wacker HH, Ludwig WD, Niggli F, Mann G, Gadner H, Riehm H, Schrappe M, Reiter A, Prevalence, clinical pattern, and outcome of CNS involvement in childhood and adolescent non-Hodgkin's lymphoma differ by non-Hodgkin's lymphoma subtype: a Berlin-Frankfurt-Munster Group Report. *J Clin Oncol*. 2007 Sep;25(25):3915–22.
17. Reiter A, Schrappe M, Ludwig WD, et al. NHL-BFM therapy study for children and adolescents with B-cell lymphomas and leukemia. *Blood*. 1999;94(10):3294–306.
18. Kelly KM. Management of children with Hodgkin lymphoma: past, present, future. *Pediatr Blood Cancer*. 2012;59(2):226–33.
19. Hudson MM, Mertens AC, Yasui Y, et al. Health status of adult long-term survivors of childhood cancer. *JAMA*. 2003;290(12):1583–92.
20. Jacqueline Parkin, Bryony Cohen, BSc, An overview of the immune system, *Lancet*. 2001 Jun 2;357(9270):1777–89. doi: 10.1016/S0140-6736(00)04904-7.
21. Fajgenbaum DC, June CH Cytokine Storm. *N Engl J Med*. 2020;383(23):2255.
22. Spadoni I, Zagato E, Bertocchi A, Paolinelli R, Hot E, Di Sabatino A, Caprioli F, Bottiglieri L, Oldani A, Viale G, Penna G, Dejana E, Rescigno M A gut-vascular barrier controls the systemic dissemination of bacteria. *Science*. 2015;350(6262):830.
23. Georgina Clark, Hannes Stockinger et al. Nomenclature of CD molecules from the Tenth Human Leukocyte Differentiation Antigen Workshop, *Clin Transl Immunology*. 2016 Jan 22;5(1):e57.doi: 10.1038/cti.2015.38. eCollection 2016 Jan.
24. Pablo Engel, Laurence Boumsell, Robert Balderas et al. CD Nomenclature 2015: Human Leukocyte Differentiation Antigen Workshops as a Driving Force in Immunology. *J Immunol*. 2015 Nov 15;195(10):4555–63. doi: 10.4049/jimmunol.1502033.
25. Andreas Rheinländer, Burkhard Schraven, Ursula Bommhardt, CD45 in human physiology and clinical medicine, *Immunol Lett*. 2018 Apr;196:22–32. doi: 10.1016/j.imlet.2018.01.009. Epub 2018 Jan 31.
26. M. Ozdemirli, H.J. Mankin, A.C. Aisenberg, N.L. Harris, Hodgkin's disease presenting as a solitary bone tumor: a report of four cases and review of the literature, *Cancer* 77 (1996) 79–88.
27. G. Cario, P. Rhein, R. Mitlohner, M. Zimmermann, O.R. Bandapalli, R. Romey, et al., High CD45 surface expression determines relapse risk in children with precursor B-cell and T-cell acute lymphoblastic leukemia treated according to the ALL-BFM 2000 protocol, *Haematologica* 99 (2014) 103–110.
28. G.S. Nowakowski, J.D. Hoyer, T.D. Shanafelt, S.M. Geyer, B.R. LaPlant, T.G. Call, et al., Using smudge cells on routine blood smears to predict clinical outcome in chronic lymphocytic leukemia: a universally available prognostic test, *Mayo Clin. Proc.* 82 (2007) 449–453.

29. Borros M Arneth. Activation of CD4 and CD8 T cell receptors and regulatory T cells in response to human proteins. *PeerJ*. 2018 Mar 9;6:e4462. doi: 10.7717/peerj.4462
30. Shah & Zúñiga-Pflücker (2014). Shah DK, Zúñiga-Pflücker JC. An overview of the intrathymic intricacies of T cell development. *Journal of Immunology*. 2014;192(9):4017–4023. doi: 10.4049/jimmunol.1302259.
31. Münz. Antigen processing for MHC class II presentation via autophagy. *Frontiers in Immunology*. 2012;3 doi: 10.3389/fimmu.2012.00009. Article 9.
32. Kemeng Wang, Guoqing Wei, Delong Liu, CD19: a biomarker for B cell development, lymphoma diagnosis and therapy, *Exp Hematol Oncol*. 2012 Nov 29;1(1):36. doi: 10.1186/2162-3619-1-36.
33. Sizhe Liu , Vasiliy Galat, Yekaterina Galat et al. NK cell-based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical development. *J Hematol Oncol*. 2021 Jan 6;14(1):7. doi: 10.1186/s13045-020-01014-w.
34. Raquel Ron , Elena Moreno, et al. CD4/CD8 Ratio During Human Immunodeficiency Virus Treatment: Time for Routine Monitoring? *Clin Infect Dis*. 2023 May 3;76(9):1688-1696. doi: 10.1093/cid/ciad136.
35. Vivek V Shukla, Raju C Shah. Vaccinations in Primary Care. *Indian J Pediatr*. 2018 Dec;85(12):1118-1127 doi: 10.1007/s12098-017-2555-2. Epub 2018 Jan 6.
36. Shaw PJ, Kan F, Woo S, et al. Immune system development in children: implications for immunotoxicology. *Curr Opin Pediatr*. 2013;25(2):228–34.
37. Topp MS, Gökbuget N, Stein AS, et al. Safety and activity of blinatumomab for adult B-precursor ALL. *N Engl J Med*. 2015;368(21):2000–10.
38. Locatelli F, Schrappe M, Bernardo ME, Rutella S. How I treat relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2012;120(14):2807–16.
39. Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR, Magrath IT, Shad AT, Horowitz ME et al (1995) Lymphocyte depletion during treatment with intensive chemotherapy for cancer. *Blood* 84(7):2221–2228
40. Weiskopf K, Weissman IL (2021) Macrophages are critical effectors of antibody therapies for cancer. *MAbs* 13(1):1900202. <https://doi.org/10.1080/19420862.2020.1900202>
41. Sharma P, Allison JP (2015) Immune checkpoint targeting in cancer therapy: Toward combination strategies with curative potential. *Cell* 161(2):205–214. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.030>
42. Mackall CL, Fleisher TA, Brown MR, et al. Lymphocyte depletion during intensive chemotherapy in children. *Blood*. 1994;84(7):2221–8.
43. van Tilburg CM, van Gent R, Bierings MB, et al. Immune reconstitution in children after chemotherapy. *Leukemia*. 2011;25(3):466–74.
44. Esquivel-Velázquez M, Ostoa-Saloma P, Palacios-Arreola MI, et al. The role of cytokines in the regulation of NK cells. *J Leukoc Biol*. 2015;98(6):1133–47.
45. Cain DW, Cidlowski JA. Immune regulation by glucocorticoids. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(4):233–47.
46. Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M, et al. Rituximab improves survival in B-cell lymphoma. *Lancet*. 2006;367(5452):29–35.
47. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al. Tisagenlecleucel in children with B-cell leukemia. *N Engl J Med*. 2018;378(5):439–48.

48. Lehrnbecher T, Robinson P, Fisher BT, et al. Guideline for the management of fever and neutropenia. *J Clin Oncol*. 2017;35(18):2082–94.
49. Patel SR, Ortín M, Cohen BJ, et al. Revaccination of children after chemotherapy for acute leukemia. *Clin Infect Dis*. 2007;45(11):1474–80.
50. Joanna Zawitkowska, Katarzyna Drabko, Anna Szmydki-Baran, Agnieszka Zaucha-Prażmo, Monika Lejman, Krzysztof Czyżewski, Infectious profile in children with ALL during chemotherapy: A report of study group for infections, *J Infect Chemother*. 2019 Oct;25(10):774-779. doi: 10.1016/j.jiac.2019.04.005. Epub 2019 May 14.
51. Liang DC, Yang CP, Fu JF, et al. Immunologic recovery after therapy in childhood ALL. *J Clin Oncol*. 2015;33(19):2305–12.
52. Pelland-Marcotte MC, Pole JD et al. Long-Term Risk of Infections After Treatment of Childhood Leukemia: A Population-Based Cohort Study Using Administrative Health Data. *J Clin Oncol*. 2019;37(29):2651. Epub 2019 Aug 8.
53. Sofia Kosmidis, Margarita Baka et al. Longitudinal Assessment of Immunological Status and Rate of Immune Recovery Following Treatment in Children With ALL, *Pediatr Blood Cancer* 2008;50:528 – 532
54. Joanna L Perkins, Anne Harris, Tamara C Pozos. Immune Dysfunction After Completion of Childhood Leukemia Therapy. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2017 Jan;39(1):1-5. doi: 10.1097/MPH.0000000000000697.
55. Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, et al. IDSA Clinical Practice Guidelines for Vaccination of the Immunocompromised Host. *Clin Infect Dis*. 2014;58(3): e44–100.
56. Sundin M, Ohrmalm L, Ljungman P, et al. Evidence-based recommendations for vaccination after pediatric cancer. *Acta Paediatr*. 2021;110(6):1689–99.
57. Tolga İnce, Özlem Tüfekçi Gürocak et al. Waning of Humoral Immunity to Vaccine-Preventable Diseases in Children Treated for Acute Lymphoblastic Leukemia: A Single-Center Retrospective Cross-Sectional Analysis, *Turk J Haematol*. 2024 Aug 28;41(3):160-166. doi: 10.4274/tjh.galenos.2024.2024.0150. Epub 2024 May 27
58. Kirsten A Thus, Hester A De Groot-Kruseman et al. Immunoglobulin prophylaxis prevents hospital admissions for fever in pediatric acute lymphoblastic leukemia: results of a multicenter randomized trial *Haematologica*. 2025 Jan 1;110(1): 47-54. doi: 10.3324/haematol.2024.285428.
59. Maharshi Trivedi, Priyakumari Thankamony, et al. Serum Immunoglobulin Levels in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia During Maintenance Chemotherapy and its Association with Severe Febrile Illness. *Indian Pediatr*. 2025 Apr 15. doi: 10.1007/s13312-025-000344.
60. Anthony P Williams, Jessica Bate, Rachael Brooks et al. Immune reconstitution in children following chemotherapy for acute leukemia. *EJHaem*. 2020 Jun 10;1(1):142-151. doi: 10.1002/jha2.27. eCollection 2020 Jul.
61. Angela Gause, Georg Schmitz, Anne-Katrin Von Kalle, Bernd Lathan, Volker Diehl and Michael Pfreundschuh, THE CLINICAL RELEVANCE OF IgG SUBCLASSES IN ACUTE LEUKEMIAS: LOW SERUM IgG AS A RISK FACTOR FOR EARLY DEATH DUE TO INFECTION IN ACUTE MYELOGENOUS LEUKEMIA, *Leukemia Research* Vol. 16, No. 2, pp. 165-171, 1992
62. Sofia Kosmidis, Margarita Baka et al. Longitudinal Assessment of Immunological Status and Rate of Immune Recovery Following Treatment in Children With ALL, *Pediatr Blood Cancer* 2008;50:528 – 532
63. Cario G, Rhein P, Mitlöhner R, Zimmermann M, Bandapalli OR, Romey R, Moericke A, Ludwig WD, Ratei R, Muckenthaler MU, Kulozik AE, Schrappe M, Stanulla M, Karawajew L.

- High CD45 surface expression determines relapse risk in children with precursor B-cell and T-cell acute lymphoblastic leukemia treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Haematologica*. 2014 Jan;99(1):103-10. doi: 10.3324/haematol.2013.090225. Epub 2013 Aug 2. PMID: 23911702; PMCID: PMC4007934.
64. Rheinländer A, Schraven B, Bommhardt U. CD45 in human physiology and clinical medicine. *Immunol Lett*. 2018 Apr;196:22-32. doi: 10.1016/j.imlet.2018.01.009. Epub 2018 Jan 31. PMID: 29366662.
 65. WuCP, QingX, WuCY, ZhuH, ZhouHY. Immunophenotype and increased presence of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in patients with acute lymphoblastic leukemia. *Oncol Lett*. (2012) 3:421–4. doi: 10.3892/ol.2011.499
 66. Salem ML, El-Shanshory MR, Abdou SH, Attia MS, Sobhy SM, Zidan MF, et al. Chemotherapy alters the increased numbers of myeloid-derived suppressor and regulatory T cells in children with acute lymphoblastic leukemia. *ImmunopharmacolImmunotoxicol*. (2018) 40:158 67. doi: 10.1080/08923973.2018.1424897
 67. Dorota Pawlik-Gwozdecka, Maciej Zieliński, Justyna Sakowska et al. CD8+ $\gamma\delta$ T cells correlate with favorable prognostic factors in childhood acute lymphoblastic leukemia .*Arch Med Sci*. 2021 Feb 26;17(2):561–563. doi: 10.5114/aoms/132316
 68. Moricke A, Zimmermann M, Reiter A, et al. Prognostic impact of age in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia: data from the trials ALL-BFM 86, 90, and 95. *Klin Padiatr*. 2005;217:310–20. doi: 10.1055/s-2005-872515
 69. Das RK, Vernau L, Grupp SA, Barrett DM. Naive T-cell deficits at diagnosis and after chemotherapy impair cell therapy potential in pediatric cancers. *Cancer Discov*. (2019) 9:492–9. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-1314
 70. van Tilburg CM, van der Velden VH, Sanders EA, Wolfs TF, Gaiser JF, de Haas V, et al. Reduced versus intensive chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: impact on lymphocyte compartment composition. *Leuk Res*. (2011) 35:484–91. doi: 10.1016/j.leukres.2010. 10.005
 71. Yuting Xu, Ai Zhang, Aiguo Liu, Qun Hu Clinical analysis of immune reconstitution after chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia, *BMC Pediatr*. 2024 Aug 30;24:557. doi: 10.1186/s12887-024-05030-4
 72. Wenjian Guo , Chao Xing et al. Numbers and cytotoxicities of CD3⁺CD56⁺ T lymphocytes in peripheral blood of patients with acute myeloid leukemia and acute lymphocytic leukemia, *Cancer Biol Ther*. 2013 Aug 5;14(10):916–921. doi: 10.4161/cbt.25938
 73. Ek T, Mellander L, Hahn-Zoric M, Abrahamsson J. Intensive treatment for childhood acute lymphoblastic leukemia reduces immune responses to diphtheria, tetanus, and Haemophilus influenzae type b. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26:727-34; PMID:15543007; [http://dx.doi.org/ 10.1097/00043426-200411000-0000](http://dx.doi.org/10.1097/00043426-200411000-0000).
 74. Koochakzadeh L, Khosravi MH, Pourakbari B, Hosseinverdi S, Aghamohammadi A, Rezaei N.Assessment of immune response following immunization with DTP/Td and MMR vaccines in children treated for acute lymphoblastic leukemia.*Pediatr Hematol Oncol*. 2014 Oct;31(7):656-63. doi: 10.3109/08880018.2013.877111.
 75. Tugba Erener Ercan , Lebriz Yüksel Soycan, et al.Antibody titers and immune response to diphtheria-tetanus-pertussis and measles-mumps-rubella vaccination in children treated for acute lymphoblastic leukemia.*J Pediatr Hematol Oncol*. 2005 May;27(5):273-7. doi: 10.1097/01.mph.0000163214.37147.5a.

