

**Τιμές αναφοράς των συγκεντρώσεων
των ανοσοσφαιρινών και των παραγόντων
του συμπληρώματος
σε παιδιά ηλικίας 1 ημέρας έως 15 ετών**

**Β. Τζιμούλη,¹
Φ. Κανακούδη-Τσακαλίδου,¹
Α. Γερμενής,²
Θ. Κωνσταντινίδης,³
Χ. Τσάνταλη,¹
Β. Δρόσου,⁴
Β. Κατσουγιαννόπουλος³**

ΣΚΟΠΟΣ Ο καθορισμός των τιμών αναφοράς των ανοσοσφαιρινών και των παραγόντων του συμπληρώματος σε όλο το φάσμα της παιδικής ηλικίας με μια ευρείας εφαρμογής μέθοδο, που απαιτεί μικρή ποσότητα αίματος. **ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ** Με τη μέθοδο της κινητικής νεφελομετρίας και με τη χρήση αυτόματου νεφελομετρικού αναλυτή (BNA της εταιρείας Behring) μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις της IgG και των υποτάξεών της, της IgA, της IgM, της IgE, του C3 και του C4 στον ορό 1946 φαινομενικά υγιών παιδιών (917 αγόρια και 1.029 κορίτσια, ηλικίας 1 ημέρας έως 15 ετών). Για τη στατιστική ανάλυση υπολογίστηκαν οι 5η, 50ή και 95η εκατοστιαίες θέσεις των συγκεντρώσεων του ορού για κάθε ηλικιακή ομάδα των δύο φύλων. **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ** Οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών που μελετήθηκαν δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των δύο φύλων. Γενικά, παρατηρήθηκε προοδευτική αύξηση κατά το 1ο έτος, με ποικίλους ρυθμούς και προσέγγιση των τιμών ενηλίκων σε διαφορετικές ηλικίες. Τα ευρήματα ως προς τις ανοσοσφαιρίνες επιβεβαιώνουν εκείνα προηγούμενων μελετών. Οι συγκεντρώσεις της IgG κατά τον 1ο και 3ο μήνα της ζωής είχαν καθοδική πορεία, ενώ μετά τον 6ο μήνα αυξάνονταν προοδευτικά και μετά το 3ο έτος της ζωής δεν διέφεραν σημαντικά από αυτές των ενηλίκων. Οι μεταβολές των συγκεντρώσεων της IgG1 ήταν όμοιες με εκείνες της ολικής IgG, ενώ η IgG3 έφθανε στα κατώτερα όρια στο τέλος του 1ου μήνα και παρέμενε χαμηλή καθόλη τη νηπιακή ηλικία. Μετά το 3ο και μέχρι το 10ο έτος της ζωής είχε ανοδική πορεία, χωρίς να φθάνει τις τιμές των ενηλίκων. Οι συγκεντρώσεις των IgG2 και IgG4 ελαττώνονταν σταδιακά τους πρώτους μήνες, παρέμεναν σταθερές κατά το πρώτο (IgG2) ή και το 2ο έτος της ζωής (IgG4) και άρχιζαν πάλι να αυξάνονται μετά το 1ο-2ο έτος. Η IgA ήταν μη ανιχνεύσιμη (<0,07 g/L) μέχρι τον 3ο μήνα και εφεξής ήταν μετρητή σε συγκεντρώσεις που αυξάνονταν με την πρόοδο της ηλικίας, αλλά παρέμεναν χαμηλότερες από εκείνες των ενηλίκων. Η συγκέντρωση της IgM παρουσίαζε μεγάλες διακυμάνσεις στο πρώτο 24ωρο της ζωής και στο 16% των νεογνών ήταν υψηλότερη των 0,2 g/L. Από τον 6ο μήνα μέχρι το 3ο έτος η συγκέντρωσή της ακολουθούσε ανοδική πορεία, οπότε και έφθανε στα επίπεδα των ενηλίκων. Η IgE δεν ήταν ανιχνεύσιμη (<8,3 IU/mL) καθόλη τη νεογνική και βρεφική περίοδο. Η συγκέντρωσή της, κατά τα επόμενα χρόνια, ακολουθούσε ανοδική πορεία, αλλά με σημαντικές διακυμάνσεις, μέχρι το τέλος του 6ου έτους της ζωής, οπότε σταθεροποιείτο στα επίπεδα των ενηλίκων. Οι συγκεντρώσεις των C3 και C4, κατά τη γέννηση, αντιστοιχούσαν στο 50% περίπου των αντίστοιχων τιμών των ενηλίκων. Στους επόμενους μήνες οι τιμές αυξάνονταν, ακολουθώντας παράλληλη πορεία και φθάνοντας στα επίπεδα των ενηλίκων μεταξύ 3ου και 6ου μήνα της ζωής. **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ** Οι συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών που μελετήθηκαν, παρουσίαζαν, καθόλη τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας, σημαντικές διαφορές από εκείνες των ενηλίκων. Το γεγονός αυτό επιβάλλει, για την αξιολόγησή τους στην κλινική πράξη, τη σύγκρισή τους με τιμές αναφοράς που αντιστοιχούν στην ανάλογη ηλικία.

¹Α΄ Παιδιατρική Κλινική, ΑΠΘ
²Εθνικό Κέντρο Ιστοσυμβατότητας
και Ανοσολογικό Τμήμα, Γενικό Κρατικό
Νοσοκομείο Αθηνών
³Εργαστήριο Επιδημιολογίας
και Υγιεινής, ΑΠΘ
⁴Νεογνολογική Κλινική, ΑΠΘ

Reference values of immunoglobulins
and complement factors in children
aged 1 day to 15 years

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Ανοσοσφαιρίνες
Συμπλήρωμα
Τιμές αναφοράς

Υποβλήθηκε 20.10.1999
Εγκρίθηκε 18.12.1999

Οι συγκεντρώσεις των ανοσοσφαιρινών στον ορό αποτελούν χρήσιμη παράμετρο για τη διάγνωση και την παρακολούθηση της πορείας πολλών, παιδιατρικών κυρίως, νοσημάτων, όπως οι διάφορες ανοσοανεπάρκειες, αυτοάνοσα νοσήματα και καταστάσεις που συνοδεύονται από απώλεια πρωτεϊνών.¹⁻³ Αξιόλογο διαγνωστικό βοήθημα αποτελούν, επίσης, και οι παράγοντες του συμπληρώματος.^{4,5} Διάφοροι βιολογικοί παράγοντες είναι γνωστό ότι επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις αυτών των πρωτεϊνών, κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας (διαπλακουντιακή μεταφορά, ωριμότητα του ανοσιακού συστήματος κ.ά.), με αποτέλεσμα η κλινική αξιολόγησή τους να απαιτεί σύγκριση με τιμές αναφοράς που προέρχονται από πληθυσμούς ανάλογου φύλου και κυρίως ηλικίας.⁶⁻⁸ Παρά ταύτα, οι σχετικές αναφορές που υπάρχουν τόσο στην Ελληνική, όσο και στη διεθνή βιβλιογραφία, είναι εξαιρετικά περιορισμένες.⁹⁻¹⁵

Η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε με σκοπό τον καθορισμό τιμών αναφοράς των συγκεντρώσεων των ανοσοσφαιρινών και των παραγόντων C3 και C4 του συμπληρώματος, από αντιπροσωπευτικό δείγμα παιδιατρικού πληθυσμού, ολόκληρου του ηλικιακού φάσματος, με την ευρύτερα χρησιμοποιούμενη πλέον στην κλινική πράξη ανοσοχημική μέθοδο (ανοσονεφελομετρία).¹⁶

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Υλικό

Μελετήθηκαν 1946 φαινομενικά υγιή παιδιά (917 αγόρια και 1.029 κορίτσια) ηλικίας 1 ημέρας έως 15 ετών. Η κατανομή του πληθυσμού της μελέτης ανά ηλικία και φύλο, φαίνεται στον πίνακα 1.

Τα τελειόμνη νεογνά (1-30 ημερών) είχαν μέση ηλικία κύησης $39,5 \pm 1$ εβδομάδες και μέσο βάρος γέννησης 3440 ± 417 g. Τα κριτήρια επιλογής τους, για να περιληφθούν στη μελέτη, ήταν (α) η προγεννητικά υπερηχογραφικώς διαπιστωμένη τελειόμνη κύηση, (β) η απουσία συγγενών δυσπλασιών και ενδείξεων περιγεννητικής ασφυξίας, συνδρόμου αναπνευστικής δυσχέρειας και ενδομήτριας λοίμωξης και (γ) η μη χορήγηση αίματος ή προϊόντων του (πλάσμα, ενδοφλέβια γ-σφαιρίνη).

Τα υπόλοιπα παιδιά (6 μηνών-15 ετών) που συμπεριελήφθησαν στη μελέτη, προέρχονταν από τις ακόλουθες πηγές: (α) 253 παιδιά, από τα οποία έγινε αιμοληψία για τη διενέργεια εργαστηριακών εξετάσεων, κατά την προσέλευσή τους στα Εξωτερικά Ιατρεία για βουβωνοκίλη ή για ακαθόριστα χρόνια κοιλιακά άλγη μη οφειλόμενα σε παθολογικά αίτια, (β) 748 παιδιά που προσήλθαν για έλεγχο αιμοσφαιρινοπαθειών και (γ) 477 παιδιά από σχολεία της Μέσης Εκπαίδευσης της πόλης της Θεσσαλονίκης, από τα οποία γινόταν αιμοληψία στα πλαίσια προγράμματος έρευνας φορέων β-μεσογειακής αναιμίας. Τα κριτήρια επιλογής αυτών

Πίνακας 1. Κατανομή των παιδιών που μελετήθηκαν, κατά ηλικία και φύλο.

Ηλικία	Αγόρια	Κορίτσια	Σύνολο
1 ημέρας	110	150	260
1 μήνα	49	55	104
3 μηνών	49	55	104
6-12 μηνών	50	74	124
1-2 ετών	46	34	80
2-3 ετών	46	51	97
3-4 ετών	42	54	96
4-5 ετών	32	44	76
5-6 ετών	37	34	71
6-7 ετών	41	53	94
7-8 ετών	82	82	164
8-9 ετών	53	45	98
9-10 ετών	68	51	119
10-11 ετών	55	69	124
11-12 ετών	72	74	146
12-13 ετών	49	67	116
13-15 ετών	36	37	73
Σύνολο	1.946	917	1.029

των παιδιών, για να περιληφθούν στη μελέτη, ήταν (α) η απουσία ενεργού λοίμωξης, χρόνιας νόσου ή σίγματος β-μεσογειακής αναιμίας, (β) η μη χορήγηση φαρμάκων και (γ) η μη χορήγηση αίματος ή προϊόντων του (πλάσμα, ενδοφλέβια γ-σφαιρίνη).

Σε όλες τις περιπτώσεις, η χρησιμοποίηση, για τους σκοπούς της μελέτης, μέρους του δείγματος αίματος που λαμβανόταν από τα παιδιά, γινόταν μετά από ενημέρωση και σύμφωνη γνώμη των γονέων τους.

Εκτός από τα παιδιά, στο υλικό της μελέτης περιελήφθησαν 250 εθελοντές ενήλικες αιμοδοτές (116 άνδρες, μέσης ηλικίας 36 ± 8 ετών και 134 γυναίκες, μέσης ηλικίας 38 ± 7 ετών).

Μέθοδος

Αμέσως μετά την αιμοληψία, γινόταν διαχωρισμός του ορού σε μικρές ποσότητες (aliquots), οι οποίες φυλάσσονταν σε θερμοκρασία -70 °C. Οι μετρήσεις γίνονταν σε δείγματα ορού, μετά από εφάπαξ απόψυξή τους.

Σε όλα τα δείγματα μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις της IgG, των υποτάξεων της IgG (1-4), της IgA, της IgM, της IgE, του C3 και του C4, με ανοσονεφελομετρία και με τη χρήση του νεφελομέτρου BNA (Behring Nephelometer Analyzer) της εταιρείας Behring. Για τη μέτρηση των συγκεντρώσεων όλων των πρωτεϊνών χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της κινητικής νεφελομετρίας (rate nephelometry), πλην της IgE, που έγινε με τη μέθοδο της ενισχυμένης με σωματίδια latex νεφελομετρίας (latex enhanced nephelometry). Οι αντιοροί, τα πρότυπα διαλύματα (standards) και τα διαλύματα ελέγχου, που χρησιμοποιήθηκαν για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ανοσοσφαιρινών και των παραγόντων του συμπληρώματος, ήταν της εταιρείας Behringwerke, ενώ για τις 4 υποτάξεις της

IgG χρησιμοποιήθηκαν τα αντίστοιχα αντιδραστήρια του οίκου CLB (Ολλανδία).

Η ανάλυση και η γραφική παρουσίαση των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια του προγράμματος λογισμικού SPSS rel. 7.5 for Windows 95. Η κανονικότητα των κατανομών (normal distribution goodness of fit) των μεταβλητών έγινε με τη χρήση της μη παραμετρικής δοκιμασίας Kolmogorov-Smirnov και ο έλεγχος των βιοστατιστικών υποθέσεων έγινε με ανάλυση μεταβλητότητας μίας κατεύθυνσης (one way ANOVA) κατά Kruskal-Wallis. Η μη παραμετρική δοκιμασία Mann-Whitney επιλέχθηκε για τη σύγκριση των τιμών των επιμέρους ηλικιακών ομάδων με τις αντίστοιχες τιμές της ομάδας των ενηλίκων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Καμιά από τις πρωτεΐνες του ορού που μελετήθηκαν δεν βρέθηκε να ακολουθεί κανονική κατανομή. Οι διαφορές των συγκεντρώσεων όλων των πρωτεϊνών, μεταξύ όλων των ηλικιακών ομάδων, βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές ($P < 0,001$). Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων ως προς τις συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών, σε καμιά ηλικιακή ομάδα ($P > 0,05$).

Στους πίνακες 2–4 φαίνονται τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων των πρωτεϊνών που μελετήθηκαν, ανά ηλικιακή ομάδα. Η γραφική παράσταση αυτών των διαστημάτων παρουσιάζεται στις εικόνες 1–10.

Οι συγκεντρώσεις της ολικής IgG και των υποτάξεών της, κατά τη γέννηση, δεν διέφεραν σημαντικά από εκείνες των ενηλίκων (πίν. 2). Ειδικότερα, οι συγκεντρώσεις της IgG κατά τον 1ο και τον 3ο μήνα της ζωής παρουσίαζαν προοδευτική ελάττωση, ενώ μετά τον 6ο μήνα εμφάνιζαν προοδευτική αύξηση σε όλη τη διάρκεια της βρεφικής και της νηπιακής ηλικίας (εικ. 1). Μετά το 3ο έτος της ζωής, οι συγκεντρώσεις δεν διέφεραν σημαντικά από εκείνες των ενηλίκων ($P > 0,05$).

Οι σχετικές συγκεντρώσεις των IgG1, IgG2, IgG3 και IgG4 στα νεογνά ήταν 70%, 20%, 7% και 3%, αντίστοιχα, όπως συμβαίνει και στους ενήλικες (πίν. 3). Οι μεταβολές των συγκεντρώσεων της IgG1 ήταν όμοιες με εκείνες της ολικής IgG, ενώ η IgG3 έφθασε στα κατώτερα όρια κατά το τέλος του 1ου μήνα και παρέμενε στα ίδια περίπου επίπεδα καθόλη τη νηπιακή ηλικία (εικόνες 5, 7). Μετά το 3ο έτος της ζωής και μέχρι το 10ο παρουσίαζε ανοδική πορεία, αλλά οι συγκεντρώσεις της παρέμειναν σημαντικά χαμηλότερες από εκείνες των ενηλίκων. Μετά το 10ο έτος, οι συγκεντρώσεις της IgG3, πρακτικά, εξισώθηκαν με αυτές των ενηλίκων ($P > 0,05$). Τα επίπεδα των IgG2 και IgG4 ελαττώνονταν σταδιακά κατά τη διάρκεια των πρώτων μηνών της ζωής, παρέμεναν σταθερά κατά τη διάρκεια του 1ου (IgG2) ή και του 2ου έτους της ζωής (IgG4), μετά από το οποίο άρχιζαν να αυξάνονται (πίν. 3, εικόνες 6, 8). Μετά το 6ο και 4ο έτος,

Πίνακας 2. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων των ανοσοσφαιρινών στον ορό, που προσδιορίστηκαν στη μελέτη, ανά ηλικιακή ομάδα.

Ηλικία	IgG			IgA			IgM			IgE		
	5n	50n	95n	5n	50n	95n	5n	50n	95n	5n	50n	95n
1 ημέρας	6,90	11,00	15,32	<0,07	<0,07	<0,07	0,07	0,13	0,28	<8,3	<8,3	<8,3
1 μήνα	2,84	4,50	7,53	<0,07	0,12	0,32	0,21	0,60	1,05	<8,3	<8,3	<8,3
3 μηνών	1,30	3,12	5,80	0,12	0,24	0,39	0,23	0,66	1,46	<8,3	<8,3	<8,3
6–12 μηνών	3,46	5,77	10,10	0,12	0,35	0,79	0,22	0,63	1,82	<8,3	<8,3	21,4
13 μηνών–2 ετών	5,30	7,70	11,00	0,28	0,55	1,20	0,64	0,95	1,95	<8,3	11,0	124,0
2–3 ετών	6,20	8,14	13,12	0,42	0,77	1,60	0,65	1,14	1,75	<8,3	32,6	148,0
3–4 ετών	7,00	9,88	13,25	0,54	1,00	1,84	0,79	1,36	2,28	<8,3	27,0	95,0
4–5 ετών	7,00	10,00	15,00	0,48	1,13	1,86	0,45	1,44	2,27	<8,3	30,0	121,0
5–6 ετών	7,14	10,00	14,80	0,63	1,20	2,10	0,74	1,44	2,19	<8,3	33,0	120,0
6–7 ετών	7,28	10,30	14,60	0,75	1,34	1,88	0,99	1,58	2,12	10,2	27,0	104,0
7–8 ετών	8,35	10,80	14,80	0,68	1,30	2,00	0,98	1,70	2,35	9,0	24,0	105,0
8–9 ετών	7,94	11,40	14,80	0,75	1,42	2,18	0,83	1,78	2,32	9,0	30,0	87,0
9–10 ετών	8,30	11,40	15,60	0,77	1,40	2,24	0,93	1,78	2,48	12,0	32,0	110,0
10–11 ετών	9,34	12,50	16,40	0,85	1,74	2,42	1,00	1,94	2,52	9,0	34,0	113,0
11–12 ετών	8,94	13,00	17,30	0,91	1,63	2,25	1,07	1,92	2,56	9,9	32,0	132,0
12–13 ετών	9,16	13,00	16,60	0,92	1,77	2,40	1,03	2,00	2,66	10,2	37,0	115,0
13–15 ετών	9,31	13,00	16,60	0,80	1,65	2,53	1,04	1,84	2,81	10,0	36,6	133,0
Ενήλικες	8,74	12,30	16,90	0,99	2,05	3,00	0,64	1,40	2,49	8,3	50,0	100,0

Σύγκριση τιμών IgG μεταξύ παιδιών ηλικίας 1 μήνα–3 ετών και ενηλίκων, $P < 0,001$

Σύγκριση τιμών IgA μεταξύ παιδιών ηλικίας 3 μηνών–15 ετών και ενηλίκων, $P < 0,05$

Σύγκριση τιμών IgM μεταξύ παιδιών ηλικίας 1 ημέρας–3 ετών και ενηλίκων, $P < 0,05$

Πίνακας 3. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων των υποτάξεων της IgG στον ορό, που προσδιορίστηκαν στη μελέτη, ανά ηλικιακή ομάδα.

Ηλικία	IgG1			IgG2			IgG3			IgG4		
	5n	50ή	95n	5n	50ή	95n	5n	50ή	95n	5n	50ή	95n
1 ημέρας	3,36	7,41	12,00	0,65	2,14	3,98	0,26	0,70	1,48	0,04	0,32	0,97
1 μήνα	2,70	3,90	6,36	0,43	1,12	2,56	0,20	0,32	0,71	0,04	0,09	0,34
3 μηνών	1,51	2,57	5,13	0,05	0,67	1,36	0,13	0,32	0,92	0,04	0,04	0,11
6–12 μηνών	2,40	4,14	8,48	0,37	0,94	1,84	0,17	0,40	0,96	0,04	0,18	0,67
13 μηνών–2 ετών	3,32	5,63	8,39	0,48	0,92	1,70	0,20	0,42	0,75	0,04	0,18	0,77
2–3 ετών	3,94	6,30	8,67	0,63	1,24	2,65	0,17	0,44	0,88	0,08	0,30	0,82
3–4 ετών	4,95	7,26	11,98	0,74	1,57	2,68	0,17	0,50	0,90	0,10	0,33	1,21
4–5 ετών	5,00	7,47	11,78	0,78	1,54	3,25	0,24	0,48	0,85	0,06	0,38	1,16
5–6 ετών	5,07	8,20	11,12	0,88	1,83	3,70	0,22	0,44	1,00	0,08	0,36	0,98
6–7 ετών	5,40	7,38	10,00	0,85	1,78	3,10	0,27	0,48	0,82	0,08	0,34	0,98
7–8 ετών	5,49	7,27	10,83	0,90	2,10	3,54	0,27	0,50	0,93	0,08	0,35	0,92
8–9 ετών	5,61	8,64	11,00	0,86	1,84	3,55	0,31	0,57	1,00	0,20	0,44	1,17
9–10 ετών	5,78	8,81	11,12	0,86	1,83	3,70	0,28	0,57	0,94	0,16	0,40	1,22
10–11 ετών	5,51	8,88	12,47	0,92	2,23	3,53	0,30	0,64	1,10	0,17	0,49	1,13
11–12 ετών	5,76	9,21	12,40	1,12	2,40	4,00	0,36	0,67	1,10	0,17	0,48	1,17
12–13 ετών	5,98	8,50	12,40	1,17	2,74	4,67	0,30	0,60	1,10	0,12	0,53	1,24
13–15 ετών	6,47	8,27	12,31	1,11	2,70	4,88	0,27	0,60	1,14	0,13	0,53	1,44
Ενήλικες	4,31	7,30	10,86	1,00	2,70	4,26	0,31	0,68	1,15	0,08	0,30	1,20

Σύγκριση τιμών IgG1 μεταξύ παιδιών ηλικίας 1 μήνα–3 ετών και ενηλίκων, P<0,001

Σύγκριση τιμών IgG2 μεταξύ παιδιών ηλικίας 1 μήνα–6 ετών και ενηλίκων, P<0,001

Σύγκριση τιμών IgG3 μεταξύ παιδιών ηλικίας 1 μήνα–10 ετών και ενηλίκων, P<0,001

Σύγκριση τιμών IgG4 μεταξύ παιδιών ηλικίας 1 μήνα–4 ετών και ενηλίκων, P<0,001

Πίνακας 4. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων των C3 και C4 στον ορό, που προσδιορίστηκαν στη μελέτη, ανά ηλικιακή ομάδα.

Ηλικία	C3			C4		
	5n	50ή	95n	5n	50ή	95n
1 ημέρας	0,35	0,53	0,74	0,12	0,15	0,24
1 μήνα	0,35	0,50	0,81	0,11	0,16	0,34
3 μηνών	0,48	0,70	0,92	0,14	0,22	0,37
6–12 μηνών	0,67	1,04	1,54	0,14	0,23	0,34
13 μηνών–2 ετών	0,76	1,11	1,44	0,18	0,27	0,40
2–3 ετών	0,84	1,18	1,60	0,18	0,29	0,41
3–4 ετών	0,94	1,26	1,64	0,20	0,30	0,45
4–5 ετών	0,91	1,24	1,58	0,18	0,30	0,45
5–6 ετών	0,82	1,30	1,70	0,18	0,28	0,44
6–7 ετών	0,77	1,20	1,66	0,18	0,30	0,53
7–8 ετών	0,84	1,20	1,63	0,19	0,32	0,47
8–9 ετών	0,86	1,24	1,63	0,20	0,32	0,42
9–10 ετών	0,76	1,17	1,61	0,18	0,29	0,42
10–11 ετών	0,88	1,24	1,70	0,18	0,30	0,44
11–12 ετών	0,88	1,24	1,65	0,19	0,32	0,48
12–13 ετών	0,86	1,18	1,63	0,18	0,30	0,46
13–15 ετών	0,78	1,12	1,58	0,19	0,31	0,43
Ενήλικες	0,72	1,14	1,68	0,14	0,28	0,50

Σύγκριση τιμών C3 μεταξύ παιδιών ηλικίας 1 ημέρας–6 μηνών και ενηλίκων, P<0,01

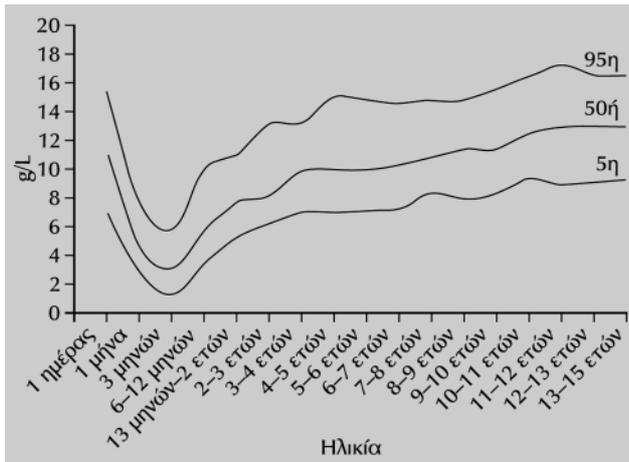
Σύγκριση τιμών C4 μεταξύ παιδιών ηλικίας 1 ημέρας–6 μηνών και ενηλίκων, P<0,01

αντίστοιχα, οι τιμές τους δεν διέφεραν σημαντικά από εκείνες των ενηλίκων (P>0,05).

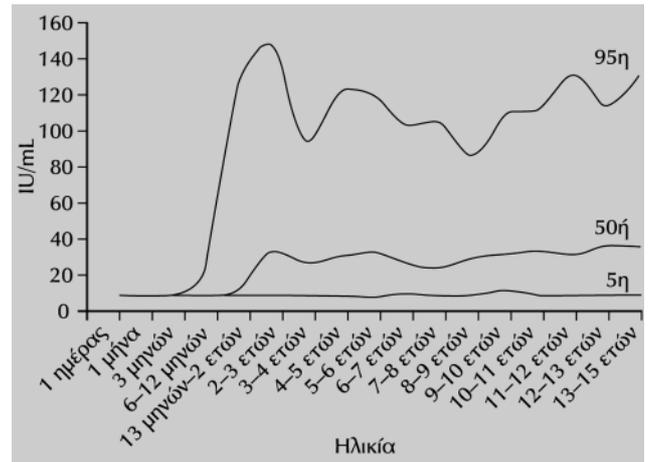
Η IgA δεν ήταν ανιχνεύσιμη (<0,07 g/L) μέχρι τον 3ο μήνα. Στη συνέχεια ανιχνευόταν σε χαμηλές συγκεντρώσεις, που αυξάνονταν με την πρόοδο της ηλικίας (πίν. 2, εικ. 2). Ωστόσο, καθόλη τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας οι συγκεντρώσεις της ήταν χαμηλότερες, συγκριτικά με τις αντίστοιχες των ενηλίκων (P<0,05).

Η συγκέντρωση της IgM παρουσίαζε μεγάλες διακυμάνσεις των τιμών της στο πρώτο 24ωρο της ζωής (εικ. 3). Σε ποσοστό 16% των παιδιών που μελετήθηκαν, οι τιμές της υπερέβαιναν τα 0,2 g/L, επίπεδο που θεωρείται κριτικό για την υποψία ενδομήτριας λοίμωξης (πίν. 2). Η συγκέντρωση της IgM στον ορό αυξανόταν με ταχύ ρυθμό από τον 6ο μήνα μέχρι την ηλικία των 3 ετών, μετά από την οποία σταθεροποιείτο στα επίπεδα των ενηλίκων (P>0,05).

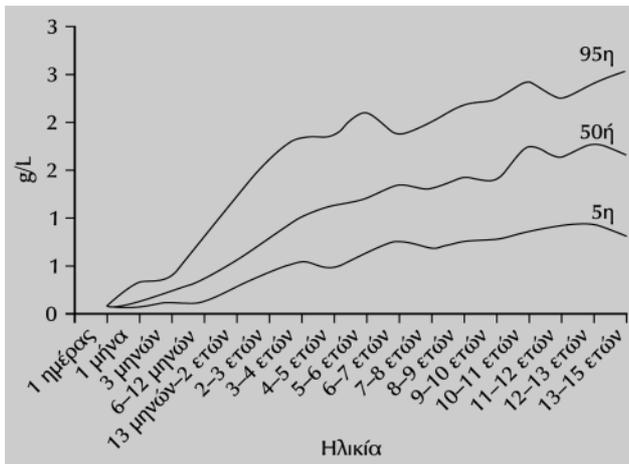
Η IgE δεν ήταν ανιχνεύσιμη (<8,3 IU/mL) καθόλη τη νεογνική και βρεφική περίοδο (πίν. 2). Κατά τα επόμενα χρόνια, η συγκέντρωσή της ακολουθούσε ανοδική πορεία, που χαρακτηριζόταν από πολύ μεγάλες διακυμάνσεις (εικ. 4). Η αύξηση αυτή σταματούσε στο



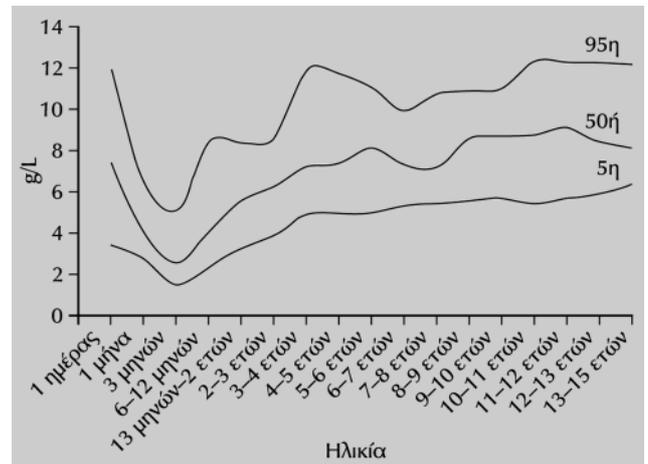
Εικόνα 1. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων της IgG.



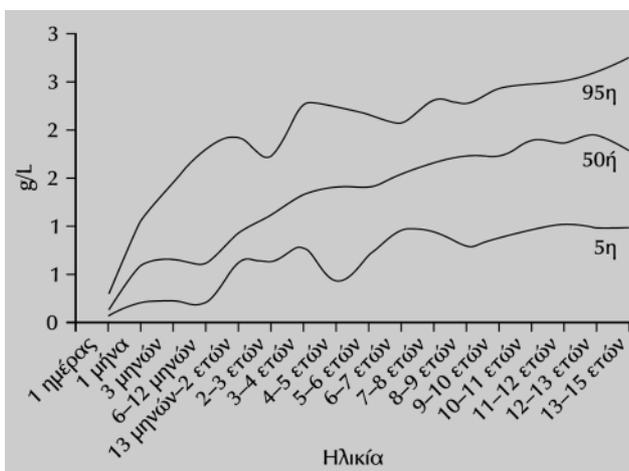
Εικόνα 4. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων της IgE.



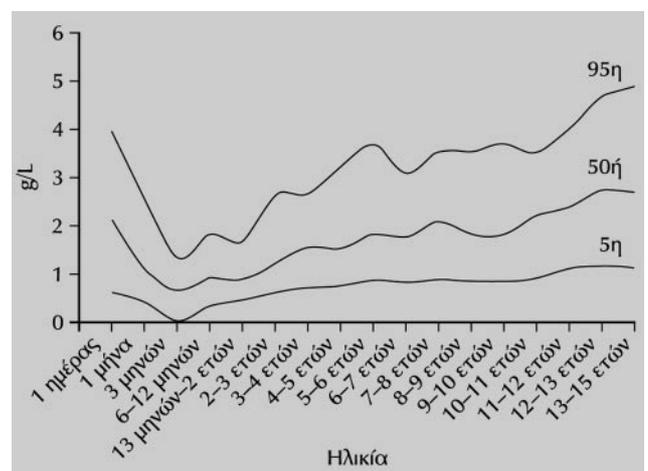
Εικόνα 2. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων της IgA.



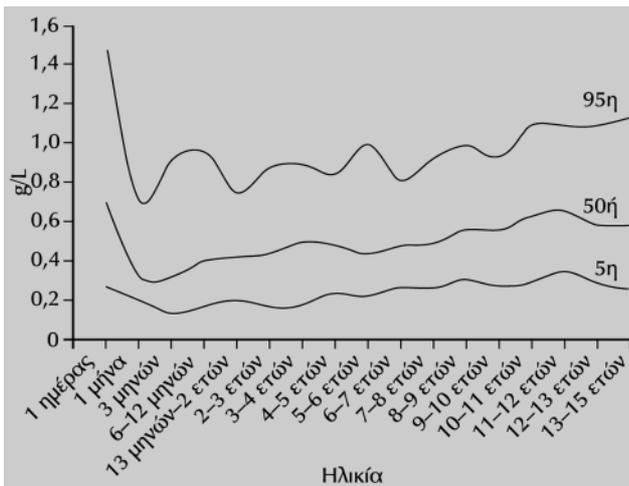
Εικόνα 5. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων της IgG1.



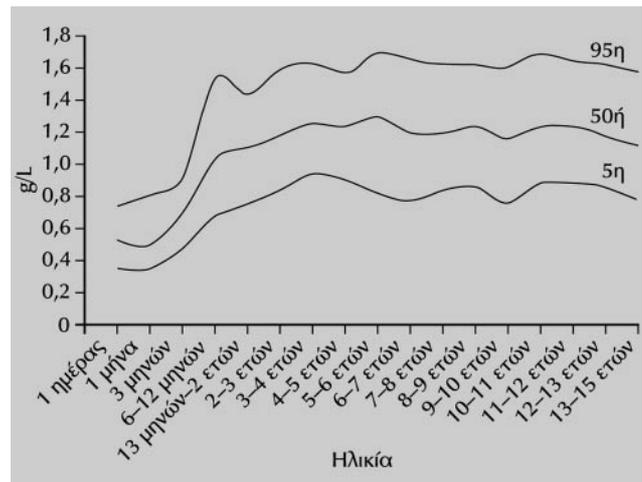
Εικόνα 3. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων της IgM.



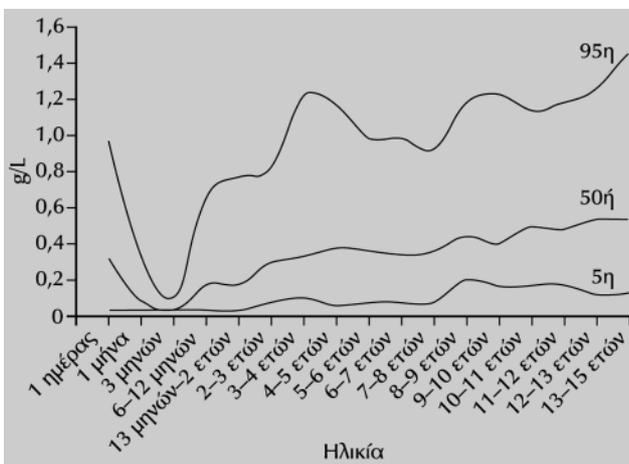
Εικόνα 6. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων της IgG2.



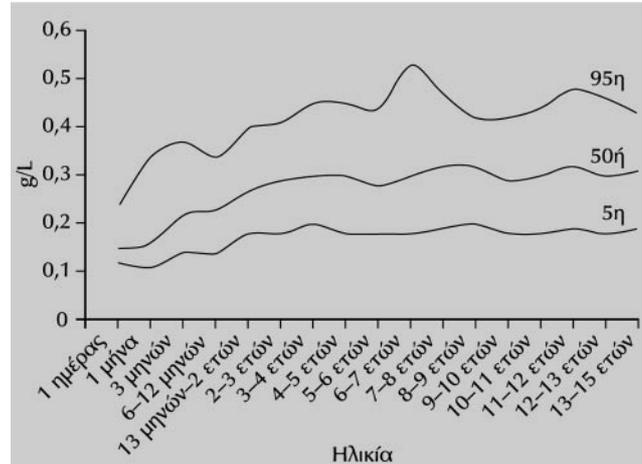
Εικόνα 7. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων της IgG3.



Εικόνα 9. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων του C3.



Εικόνα 8. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων της IgG4.



Εικόνα 10. Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων του C4.

τέλος του βου έτους της ζωής και έκτοτε οι συγκεντρώσεις της σταθεροποιούνταν στα επίπεδα των ενηλίκων ($P > 0,05$).

Οι συγκεντρώσεις των C3 και C4, κατά τη γέννηση, αντιστοιχούσαν στο 50% περίπου των τιμών των ενηλίκων (πίν. 4). Στους επόμενους μήνες, οι συγκεντρώσεις αυξάνονταν ακολουθώντας παράλληλη πορεία και έφθαναν στα επίπεδα των ενηλίκων μεταξύ 3ου και βου μήνα της ζωής. Μετά τον 6ο μήνα, οι συγκεντρώσεις παρέμεναν σταθερές σε όλη τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας, χωρίς να διαφέρουν σημαντικά από εκείνες των ενηλίκων (εικόνες 9, 10).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα διαστήματα αναφοράς των συγκεντρώσεων των ανοσοσφαιρινών και των παραγόντων του συμπληρώματος για την παιδική ηλικία, που υπάρχουν στη

βιβλιογραφία, προέρχονται από πολύ μικρά και συνήθως ανομοιογενή πληθυσμιακά δείγματα.⁹⁻¹⁵ Η αξιοπιστία αυτών των διαστημάτων μειώνεται, ακόμη περισσότερο, λόγω της πληθώρας των βιολογικών αλλά και των μετρικών παραγόντων που επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών αυτών, κατά τη διάρκεια της συγκεκριμένης περιόδου της ζωής.^{17,18} Εντούτοις, η ανάγκη ύπαρξης αξιόπιστων τιμών αναφοράς είναι επιβεβλημένη, επειδή η διαγνωστική αξία αυτών των παραμέτρων, στην κλινική παιδιατρική πράξη, είναι πολύ μεγαλύτερη από την αξία που έχει η χρήση τους σε οποιαδήποτε άλλη ηλικία.^{6,7} Για παράδειγμα, η επίπτωση των πρωτογενών ανοσοανεπαρκειών, που συνοδεύονται από διαταραχές των επιπέδων των ανοσοσφαιρινών, είναι πολύ μεγαλύτερη στη διάρκεια της παιδικής ηλικίας, απ' ό,τι στους ενήλικες.^{2,21,22} Αντίστοιχα, η μέτρηση της IgE αποτελεί χρήσιμο βοήθημα για τη διάγνωση αλλεργικών νοσημάτων, κατά τα δύο πρώτα έτη της ζωής, στα οποία δεν εφαρμόζονται οι δερματικές δοκιμασίες.²

Η μέχρι τώρα αδυναμία προσδιορισμού αξιόπιστων διαστημάτων αναφοράς για τις συγκεντρώσεις των ανοσοσφαιρινών και των παραγόντων του συμπληρώματος στην παιδική ηλικία οφείλεται, κατά βάση, στις δυσχέρειες συλλογής ενός δείγματος, το οποίο θα ήταν στοιχειωδώς αντιπροσωπευτικό για κάθε ηλικιακή ομάδα, σύμφωνα με τις επιμέρους φυσιολογικές μεταβολές που παρουσιάζουν αυτές οι παράμετροι στις διάφορες ηλικιακές ομάδες.²³⁻²⁶ Ένα επιπλέον πρόβλημα, σε μια τέτοια προσπάθεια, αποτελούσε και η μεγάλη ποσότητα βιολογικού δείγματος, που ήταν απαραίτητη γι' αυτές τις μετρήσεις με τις μέχρι τώρα χρησιμοποιούμενες ανοσοχημικές μεθόδους.^{19,20}

Η εξάπλωση της χρήσης της ανοσονεφελομετρίας, για τον ποσοτικό προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των πρωτεϊνών του ορού, διευκόλυνε σημαντικά τη χρήση τους στην καθημερινή κλινική πράξη.^{16,17,27} Η νεφελομετρία διαθέτει πολύ μεγαλύτερη ακρίβεια και ευαισθησία και απαιτεί πολύ μικρότερο χρόνο και ποσότητα δείγματος, απ' ό,τι οι παλαιότερες ανοσοχημικές μετρήσεις.¹⁶ Τα χαρακτηριστικά αυτά κατέστησαν ευκολότερη τη διαγνωστική χρήση των νεφελομετρικών προσδιορισμών και διεύρυναν την εφαρμογή τους στις μικρότερες ηλικίες, όπως η νεογνική και βρεφική. Στις ηλικίες αυτές, οι συγκεντρώσεις των περισσοτέρων πρωτεϊνών είναι σημαντικά χαμηλότερες από εκείνες των ενηλίκων και παράλληλα η συλλογή μεγάλων ποσοτήτων αίματος είναι ανέφικτη.

Κατόπιν τούτων, ο προσδιορισμός διαστημάτων αναφοράς, για τις νεφελομετρικές μετρήσεις των εν λόγω παραμέτρων, αφενός προβάλλει πιο επιτακτικός απ' ό,τι στο παρελθόν και αφετέρου γίνεται μεθοδολογικά εφικτός. Με τη μελέτη αυτή, επιτεύχθηκε η συλλογή ενός σημαντικά μεγαλύτερου πληθυσμιακού δείγματος, σε σύγκριση με εκείνο των προηγούμενων σχετικών μελετών με ικανή αντιπροσωπευτικότητα, ώστε οι

προτεινόμενες τιμές αναφοράς να μπορούν να χρησιμοποιηθούν με πολύ μεγαλύτερη αξιοπιστία.

Από τη μελέτη μας επιβεβαιώθηκαν οι διακυμάνσεις των συγκεντρώσεων των ανοσοσφαιρινών και των παραγόντων του συμπληρώματος που οφείλονται σε βιολογικούς παράγοντες, όπως η διαπλακουντιακή μεταφορά της IgG και η εξ αυτής «φυσιολογική» υπογαμμα-σφαιριναιμία της βρεφικής ηλικίας, καθώς και η μειωμένη συγκέντρωση των C3 και C4 κατά τους πρώτους μήνες της ζωής, που οφείλεται στην ανωριμότητα του συστήματος των μονοκυττάρων-φαγοκυττάρων.^{2,5,21,22}

Αντίθετα, ορισμένα από τα ευρήματά μας θέτουν υπό αμφισβήτηση ορισμένες απόψεις που στηρίζονται σε παλαιότερα βιβλιογραφικά δεδομένα. Ειδικότερα, σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες, συγκέντρωση της IgM άνω των 0,2 g/L, κατά τα πρώτα 24ωρα της ζωής, αποτελεί ένδειξη ενδομήτριας λοίμωξης.²² Στη μελέτη μας βρέθηκε ότι στο 16% των νεογνών η συγκέντρωση της IgM ήταν >0,2 g/L, χωρίς να υπάρχει λοίμωξη. Το ποσοστό αυτό, αν και μικρότερο από το αντίστοιχο ποσοστό 35% των υγιών νεογνών με IgM άνω των 0,2 g/L, που αναφέρεται από τους Conway et al,¹⁸ θέτει υπό αμφισβήτηση τα όρια των ενδείξεων ενδομήτριας λοίμωξης που είναι αποδεκτά μέχρι σήμερα.

Οι συγκεντρώσεις των C3 και C4 βρέθηκε ότι, κατά τη γέννηση, αντιστοιχούν στο 40–50% περίπου των επιπέδων του ενήλικα, στα οποία, όμως, σταθεροποιούνται ήδη από τον 3ο μήνα της ζωής. Προηγούμενοι ερευνητές^{5,24} αναφέρουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις των C3 και C4 μέχρι και το 2ο έτος της παιδικής ηλικίας. Αυτό οφείλεται πιθανότατα στη μεγαλύτερη ευαισθησία των νεφελομετρικών, σε σχέση με τους άλλους ανοσοχημικούς προσδιορισμούς (ακτινωτή ανοσοδιάχυση, ανοσοκαθίζηση), που χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες αυτές.

ABSTRACT

Reference values of immunoglobulins and complement factors in children aged 1 day to 15 years

V. TZIMOULI,¹ F. KANAKOUDI-TSAKALIDOU,¹ A. GERMENIS,² T. KONSTANDINIDIS,³ Ch. TSANTALI,¹ V. DROU,⁴ V. KATSOUGIANNOPOULOS³

¹1st Department of Pediatrics, Immunology Laboratory, Aristotle University, Thessaloniki,

²Department of Immunology and National Tissue Typing Center, General Hospital of Athens,

³Department of Epidemiology and Hygiene, Aristotle University, Thessaloniki,

⁴Department of Neonatology, Aristotle University, Thessaloniki, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2000, 17(1):52–60

OBJECTIVE The determination of the reference values of immunoglobulins and complement factors in early infancy and during childhood. **METHOD** Serum concentrations of all the above proteins were measured in 1946

apparently healthy children (971 boys and 1029 girls, aged 24 hours to 15 years) by rate nephelometry with the Behring Nephelometer Analyser (BNA). For accuracy and precision of the given results, we established our own control values and confidence limits. For statistical analysis, we calculated the 5th, 50th and 95th percentiles of serum concentrations for each group (males, females) at each age. Data were analyzed with the use of the SPSS software package. **RESULTS** Concentrations were not affected by sex. They increased progressively by the 1st year with various rates and reached adult levels by different age. Findings regarding serum concentrations of immunoglobulins and subclasses confirmed those previously reported. For example the concentration of IgG and IgG1 decreased between the first 3rd–6th month and then increased again until the 3rd year. IgG3 reached the lowest concentration at the end of the 1st month and remained low until the age of 10 years. IgG2 and IgG4 concentrations were low during the first months and increased thereafter. IgA was undetectable by rate nephelometry at birth, but at three months of age it could be measured, remaining lower than adult levels during all childhood period. IgM concentrations increased rapidly, reaching adult reference values by six months. IgE, which was undetectable during early infancy, showed a wide variation of individual values after the age of one year. Concentrations of C3 and C4 corresponded to 50% of the respective adult reference values. During the following months, concentrations of these complement components increased rapidly reaching adult values by the third or sixth month of age. **CONCLUSIONS** Our results indicate that adult reference values are not suitable to be used as reference values for any age period of childhood. For correct clinical interpretation of such proteins reference range of values corresponding to each year of age should be taken under consideration. We believe that our results describe the evolving pattern of the main serum proteins, that are measured in the pediatric practice for routine or research purposes.

Key words: Complement factors, Immunoglobulins, Reference values

Βιβλιογραφία

1. SHAKELFOLD RG, GRANOFF DM, POLMAR S, SCOTT MG, GOSKOWICZ MC, MADASSERY JV ET AL. Subnormal serum concentrations of IgG2 in children with frequent infections associated with varied patterns of immunologic dysfunction. *J Pediatr* 1990, 116:529–538
2. STIEHM ER. *Immunologic disorders in infants and children*. 3rd ed. WB Saunders Co, 1989
3. MORGAN G, LEVINSKY RJ. Clinical significance of IgA subclass deficiency. *Arch Dis Child* 1988, 63:771–776
4. WEISS L, KAZAZCHINE MD. Regulation of the immune response by human C3 receptors. *Clin Immunol Allergy* 1988, 2:387–390
5. NORMAN ME, GALL EP, TAYLOR A, LASTER L, NILSON VR. Serum complement profiles in infants and children. *J Pediatr* 1975, 87:912–916
6. GRÄSBECK R. Reference values: Relevant control for clinical decision-making. *Eur J Haematol* 1988, 40:1–8
7. IFCC. Expert Panel of Theory of Reference Values: The theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1979, 17:337
8. IFCC. Expert Panel of Theory of Reference Values: The theory of reference values. Part 2. Selection of individuals for the production of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984, 22:203
9. DROSSOU V, KANAKOUDI F, DIAMANTI E, TZIMOULI V, KONSTANTINIDIS T, GERMENIS A ET AL. Concentrations of main serum opsonins in early infancy. *Arch Dis Child* 1995, 72:F172–F175
10. VLUG A, NIEUWENHUGS EJ, VAN EIJK RVW, GEERTZEN HGM, VAN HOUTE AJ. Nephelometric measurements of human IgG subclasses and their reference ranges. *Ann Biol Clin* 1994, 52:561–567
11. ΔΡΑΣΟΥ-ΑΓΑΚΙΔΟΥ Β, ΔΙΑΜΑΝΤΗ Ε, ΤΖΙΜΟΕΛΗ Β, ΓΕΡΜΕΝΗΩ Α, ΚΑΝΑΚΟΕΔΗ-ΤΣΑΚΑΛΙΔΟΥ Φ, ΚΡΕΜΕΝΑΠΟΥΛΩΣ Γ. Επίπεδα των κυριότερων οφρονινών του ορού σε ζευγάρια νεογνών/μητέρων. *Παιδιατρική* 1994, 57:438–442
12. POLBERGER SKT, GORAN F, RAIHA NCR. Concentrations of twelve plasma proteins at birth in very low birth weight and in term infants. *Acta Paediatr Scand* 1990, 79:729–736
13. LIATSI M, KANARIOU M, PETRIDOU E, MORALOGLOU O, REVINTHI K, MANDALENAKI-LAMBROU K ET AL. Serum immunoglobulin G subclasses in healthy infants and children in Greece. *Eur J Epidemiol* 1997, 13:151–155
14. PETRIDOU E, KANARIOU M, LIATSI M, SPANOU K, REVINTHI K, MANDALENAKI-LAMBROU K ET AL. Factors influencing serum immunoglobulin E levels in Greek children. *Allergy* 1995, 50:210–214
15. KANARIOU M, PETRIDOU E, LIATSI M, REVINTHI K, MANDALENAKI-LAMBROU K, TRICHOPOULOS D. Age patterns of immunoglobulins G, A & M in healthy children and the influence of breast feeding and vaccination status. *Pediatr Allergy Immunol* 1995, 6:24–29
16. CHEN AK. Nephelometry. In: Sheehan C (ed) *Clinical Immunology. Principles and laboratory diagnosis*. JB Lippincott Co, Philadelphia, 1990:179–188

17. UMETSU DT, AMBROSINO DH, QUINTI I, SIBER GR, GEHA RS. Recurrent sinopulmonary infection and impaired antibody response to bacterial capsular polysaccharide antigen in children with selective IgG-subclass deficiency. *N Engl J Med* 1985, 313:1247–1251
18. CONWAY SP, DEAR PF, SMITH I. Immunoglobulin profile of the preterm baby. *Arch Dis Child* 1988, 60:208–212
19. HAMILTON RG. Human IgG subclass measurements in the Clinical Laboratory. *Clin Chem* 1987, 33:1707–1725
20. LEIBL H, MANNHALTER JW, EIBL MM. IgG subclass determination in human sera with commercially available reagents: A comparison of different assay systems. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992, 30:85–93
21. OXELIUS VA, SVENNINGSSEN NW. IgG subclass concentrations in preterm neonates. *Acta Paediatr Scand* 1984, 73:626–630
22. EVANS HE, ALPATA SO, GLASS L. Serum immunoglobulin levels in premature and full-term infants. *Am J Clin Pathol* 1971, 56:416–418
23. MORELL A, SKARIL F, HIZTIG WH, BARANDUM S. IgG subclass: Development of the serum concentrations in "normal" infants and children. *J Pediatr* 1972, 80:960–964
24. KAUFMAN HS, FRICK OL, FINK D. Serum complement in young children with atopic dermatitis. *J Allergy* 1968, 42:1–8
25. IFCC. Expert Panel of Theory of Reference Values: The theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983, 21:749
26. IFCC. Expert Panel of Theory of Reference Values: The theory of reference values. Part 6. Presentation of observed values related to reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem* 1982, 20:841
27. ICHIHARA K, KAWAI T. Determination of reference intervals for 13 plasma proteins based on IFCC international reference preparation. *J Clin Lab Anal* 1996, 10:110–117

Corresponding author:

V. Tzimouli, 20 Diogenous street, GR-551 33 Thessaloniki, Greece

.....