

Кимия Карбаши (Kimiya Karbasy)^a, Дэнни Лин (Danny C.C. Lin)^a, Александра Стоянов (Alexandra Stoianov), Ман Кхун Чан (Man Khun Chan), Виктория Бевилаккуа (Victoria Bevilacqua), Юнци Чен (Yunqi Chen) и Кхосров Адели (Khosrow Adeli)*

Распределение педиатрических референсных значений и ковариационно-стратифицированных референсных интервалов для 29 гормональных и специфических биохимических биомаркеров при использовании иммунохимических систем производства Beckman Coulter: Исследование популяции здоровых детей CALIPER

DOI 10.1515/cclm-2015-0558

Получено 12.06.2015; принято 27.08.2015

Резюме

Общие сведения: Программа CALIPER – национальный научно-исследовательский проект, направленный на устранение пробелов в педиатрических референсных интервалах. Ранее в рамках программы CALIPER были опубликованы референсные интервалы для гормональных и специфических биохимических маркеров в иммунохимических тестах производства компании Abbott. В настоящей работе мы представляем новые педиатрические референсные интервалы для иммунохимических тестов, предназначенных для использования на иммунохимических системах производства компании Beckman Coulter, и оцениваем специфические для платформ различия в референсных интервалах.

Методы: В исследование было включено в общей сложности 711 здоровых детей и подростков в возрасте от рождения до 19 лет. Образцы сыворотки были собраны для измерения 29 биомаркеров на иммунохимических системах производства Beckman Coulter. Были определены статистически значимые возрастные и/или половые критерии разделения, исключены выбросы и рассчитаны референсные интервалы в соответствии с рекомендациями EP28-A3c Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI).

Результаты: Множественные профили наблюдались для всех 29 анализов, что привело к необходимости использования уникальных возрастных и/или половых критериев разделения. В целом, изменения в концентрациях анализов, наблюдаемые в период развития, сопоставимы с ранее описанными трендами и соответствуют специфичным для детского возраста биохимическим и физиологическим изменениям. Выявленные различия наблюдались по некоторым тестам, включая прогестерон, лютеинизирующий гормон (ЛГ) и фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), где референсные интервалы были выше установленных для иммунохимических тестов производства Abbott, а также паратгормона (ПТГ), интервалы для которого были ниже.

Выводы: Настоящее исследование подчеркивает важность определения референсных интервалов, специфичных для каждой аналитической платформы. База данных Педиатрических референсных интервалов CALIPER будет обеспечивать точную диагностику и лабораторную оценку состояния детей, наблюдаемых с использованием иммунохимических систем производства Beckman Coulter в медицинских учреждениях по всему миру. Тем не менее, данные референсные интервалы должны быть валидированы отдельными лабораториями для локальной педиатрической популяции в соответствии с рекомендациями CLSI.

Ключевые слова: иммунохимические тесты; педиатрия; референсные интервалы.

Введение

Изменения размера тела, степени зрелости органов, иммунного и гормонального ответа, питания и обмена веществ у детей могут влиять на концентрации циркулирующих анализов [1]. В связи с этим, применение референсных интервалов, установленных для взрослых, является неприемлемым для детей, что приводит к необходимости определения педиатрических референсных интервалов. Вместе с тем, уровни биомаркеров могут значительно различаться в зависимости от возраста и пола, поэтому требуется стратификация в соответствии с этими ковариатами [3]. Несмотря на признанную необходимость применения точных референсных интервалов при принятии клинических решений, традиционно существуют огромные пробелы в разработке педиатрических референсных интервалов в связи с большим количеством критериев разделения, которые часто необходимы, трудностями при получении образцов крови у здоровых детей и

^a Кимия Карбаши (Kimiya Karbasy) и Дэнни Лин (Danny C.C. Lin) внесли равный вклад в настоящее исследование.

Ответственный автор: Кхосров Адели (Khosrow Adeli), Clinical Biochemistry,

The Hospital for Sick Children, 555 University Avenue, Toronto, Ontario, M5G 1X8 Канада, эл. почта: khosrow.adeli@sickkids.ca; программа CALIPER, Отделение педиатрической лабораторной медицины, детская больница The Hospital for Sick Children, Торонтский Университет, Торонто, Онтарио, Канада; Отделение лабораторной медицины и патологии, Торонтский Университет, Торонто, Онтарио, Канада. Кимия Карбаши (Kimiya Karbasy), Дэнни Лин (Danny C.C. Lin)^a, Александра Стоянов (Alexandra Stoianov), Виктория Бевилаккуа (Victoria Bevilacqua): программа CALIPER, Отделение педиатрической лабораторной медицины, детская больница The Hospital for Sick Children, Торонтский Университет, Торонто, Онтарио, Канада; Отделение лабораторной медицины и патологии, Торонтский Университет, Торонто, Онтарио, Канада. Ман Кхун Чан (Man Khun Chan), Юнци Чен (Yunqi Chen): программа CALIPER, Отделение педиатрической лабораторной медицины, детская больница The Hospital for Sick Children, Торонтский Университет, Торонто, Онтарио, Канада.

новорожденных, а также отсутствием надежных данных из-за малых размеров выборки.

За последние несколько лет в рамках проекта по разработке педиатрических референсных интервалов Canadian Laboratory Initiative on Pediatric Reference Intervals (CALIPER) были установлены референсные интервалы для 40 общепринятых биохимических маркеров, белков, липидов и ферментов, а также для 14 специфических эндокринных маркеров, 7 репродуктивных гормонов и 11 онкомаркеров на платформе анализатора Architect производства компании Abbott [4-7]. Предварительный этап, используемый в проекте CALIPER, обеспечил точное определение референсных значений для здоровых детей и подростков, основываясь на критериях исключения, с вовлечением историй болезни и данных о применении лекарственных препаратов. Данные интервалы разделены соответственно на основе ключевых ковариат, включающих возраст и пол. Доступность точных педиатрических референсных интервалов необходима для правильной интерпретации результатов тестов и помогает исключить ошибки при постановке диагноза, сократить продолжительность пребывания в стационаре, облегчить боль и улучшить психоэмоциональное состояние пациентов.

В последнее время проводятся исследования по переносу референсных интервалов, первоначально установленных на анализаторе Architect производства компании Abbott [5], на другие широко используемые аналитические платформы [8]. На данный момент успешно завершены исследования по переносу референсных интервалов CALIPER для биохимических методов, применимых к использованию на аналитических системах Beckman Coulter DxС800, Ortho Vitros 5600, Roche Cobas 6000 и Siemens Vista 1500 [8]. Эти достижения позволяют расширить сферу применения базы данных CALIPER и будут способствовать внедрению референсных интервалов CALIPER в Канаде и других странах мира. Тем не менее, перенос референсных интервалов с одной платформы на другую возможен только при условии высокой корреляции результатов теста между двумя аналитическими системами. Это может быть особенно проблематично для иммунохимических тестов, ввиду существенных различий между аналитическими процессами на каждой платформе, такими как, например, использование разных антител к разным эпитопам, перекрестная реактивность антител с аналитами, которые имеют множество циркулирующих форм и отсутствие общепринятой калибровки. В связи с этими различиями, не всегда можно установить необходимую тесную математическую связь, что не позволяет применять перенос ко многим анализатам, определяемым с помощью иммуноанализа.

В настоящем исследовании впервые выполнен полный анализ образцов из когорты детей и подростков CALIPER с целью установления новых педиатрических референсных интервалов для 29 эндокринных и специфических биохимических биомаркеров на иммунохимических системах производства Beckman Coulter. Данная работа является важным шагом на пути к достижению цели проекта CALIPER по разработке полной и всесторонней базы данных по педиатрическим референсным интервалам для всех основных аналитических платформ и определению специфических для платформ различий между референсными значениями, полученных с помощью разных иммунохимических методов.

Материалы и методы

Набор участников и сбор образцов

Настоящее исследование было одобрено Экспертным советом организации в детской больнице Hospital for Sick Children, Торонто, Канада. В исследование CALIPER были включены здоровые дети в возрасте от рождения до 19 лет (n=711). С целью получения образцов крови здоровых детей и подростков, участники исследования в возрасте старше 1 года были набраны по социальным программам (школы, летние лагеря, общественные центры) в районах Большого Торонто и Гамильтона. Для участия в исследовании требовалось заполнить краткий опросник, предоставить письменное информированное согласие и сдать кровь. Были собраны следующие демографические данные: диета, медицинская группа при занятиях физкультурой, этническая принадлежность и индекс массы тела. Критериями исключения служили наличие хронических заболеваний в анамнезе, нарушения обмена веществ или острых заболеваний в течение предшествующего исследованию месяца и применение лекарственных препаратов по рецепту врача в течение двух недель до отбора проб. Образцы крови были собраны в пробирки для отделения сыворотки (SST™; Becton, Dickinson and Company, Франклин-Лейкс, Нью-Джерси, США), центрифугированы, сыворотка отделена, разделена на аликвоты в течение 4 ч после отбора крови и хранилась при -80°C до тестирования. В группе детей младше 1 года образцы были собраны у практически здоровых новорожденных и детей без нарушения обмена веществ в родильном отделении больницы и в выбранных амбулаторных клиниках. В этих случаях образцы были получены из пятки.

Анализ образцов

Образцы сыворотки были проанализированы на иммунохимических системах DxI и Access 2 производства компании Beckman Coulter (Beckman Coulter Inc., Бреа, Калифорния, США) для определения 29 аналитов. Анализ всех образцов проводился слепым методом в лаборатории Beckman Coulter (Часка, Миннесота). Тестирование всех аналитов было выполнено на иммунохимической системе DxI 800, за исключением дополнительных образцов новорожденных (младше 1 года), необходимых для заполнения возрастной подгруппы где исследуются малые объемы (менее 100 мкл). Эти образцы были проанализированы на иммунохимической системе Access 2, так как она имеет лучшие характеристики мертвого объема. Обе системы используют одинаковые реагенты и калибраторы и демонстрируют эквивалентные результаты измерений, что подтверждено результатами программы проверки квалификации Колледжа американских патологов по многим концентрациям аналитов. Контроль аналитических методов производился в соответствии с инструкциями производителя посредством профилактического технического обслуживания, функциональных проверок, калибровок и контроля качества. Информация об аналитических параметрах иммунохимических тестов для DxI 800 приведена в таблице 1. Перед выполнением анализа образцов CALIPER все материалы контроля качества, калибровок и диагностики анализатора прошли проверку на соответствие техническим требованиям.

Таблица 1: Педиатрические референсные интервалы, специфичные для возраста и пола, для 29 гормональных и специфических биохимических анализов, определяемых на иммунохимических системах производства «Beckman Coulter».³

Анализ	Референсные интервалы (женский пол)						Референсные интервалы (мужской пол)					
	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал
АФП (альфа-фетопротеин), мкг/л	с рождения до 4 месяцев	33.84	>3000 ^b	68	(0.50, 364.98)	Н/П ^c	с рождения до 4 месяцев	33.84	>3000 ^b	68	(0.50, 364.98)	Н/П ^c
	с 4 до 9 месяцев	1.57	112.77	72	(0.67, 2.72)	(98.47, 127.54)	с 4 до 9 месяцев	1.57	112.77	72	(0.67, 2.72)	(98.47, 127.54)
	с 9 месяцев до 2.5 лет	1.16	40.11	91	(1.00, 1.34)	(26.34, 57.51)	с 9 месяцев до 2.5 лет	1.16	40.11	91	(1.00, 1.34)	(26.34, 57.51)
	с 2.5 лет до 19 лет	0.79	4.48	448	(0.64, 0.83)	(3.86, 5.04)	с 2.5 лет до 19 лет	0.79	4.48	448	(0.64, 0.83)	(3.86, 5.04)
СК-МВ (сердечная креатинфосфокиназа), мкг/л	с рождения до 6 лет	1.44	6.05	53	(1.21, 1.67)	(5.41, 6.70)	с рождения до 6 лет	1.51	9.39	63	(1.17, 1.90)	(8.57, 10.18)
	с 6 до 13 лет	0.88	4.37	80	(0.75, 1.02)	(3.99, 4.75)	с 6 до 13 лет	1.26	5.56	86	(1.11, 1.38)	(5.18, 5.97)
	с 13 до 19 лет	0.46	2.04	72	(0.39, 0.54)	(1.89, 2.19)	с 13 до 19 лет	0.70	4.59	68	(0.59, 0.82)	(4.09, 5.09)
Кортизол, нмоль/л	с рождения до 3 месяцев	31.45	519.24	66	(26.49, 38.90)	(453.86, 586.56)	с рождения до 3 месяцев	31.45	519.24	66	(26.49, 38.90)	(453.86, 586.56)
	с 3 месяцев до 1 года	72.56	634.02	120	(44.97, 92.43)	(500.21, 674.85)	с 3 месяцев до 1 года	72.56	634.02	120	(44.97, 92.43)	(500.21, 674.85)
	с 1 года до 13 лет	60.42	353.15	351	(43.32, 72.56)	(332.18, 377.43)	с 1 года до 13 лет	60.42	353.15	351	(43.32, 72.56)	(332.18, 377.43)
	с 13 до 16 лет	83.60	472.06	89	(71.46, 96.29)	(433.71, 508.21)	с 13 до 16 лет	83.60	472.06	89	(71.46, 96.29)	(433.71, 508.21)
ДГЭА-С (дегидроэпиандростерон-сульфат) мкмоль/л	с 16 до 19 лет	104.29	534.97	85	(87.18, 122.78)	(488.34, 580.77)	с 16 до 19 лет	104.29	534.97	85	(87.18, 122.78)	(488.34, 580.77)
	с рождения до 15 дней	3.28	>27.14	76	(2.04, 4.41)	Н/П	с рождения до 15 дней	3.28	>27.14	76	(2.04, 4.41)	Н/П
	с 15 дней до 6 месяцев	0.06	8.71	42	Н/П	(7.21, 10.21)	с 15 дней до 6 месяцев	0.06	8.71	42	(0.01, 0.16)	(7.21, 10.21)
	с 6 месяцев до 1 года	0.07	1.24	49	(0.05, 0.10)	(1.06, 1.44)	с 6 месяцев до 1 года	0.07	1.24	49	(0.05, 0.10)	(1.06, 1.44)
	с 1 года до 6 лет	<0.05 ^d	1.01	166	Н/П	(0.84, 2.71)	с 1 года до 6 лет	<0.05 ^d	1.01	166	Н/П	(0.84, 2.71)
	с 6 до 9 лет	0.13	2.55	87	(0.09, 0.18)	(2.25, 2.83)	с 6 до 9 лет	0.13	2.55	87	(0.09, 0.18)	(2.25, 2.83)
	с 9 до 13 лет	0.43	5.62	107	(0.32, 0.56)	(5.04, 6.21)	с 9 до 13 лет	0.43	5.62	107	(0.32, 0.56)	(5.04, 6.21)
с 13 до 16 лет	1.03	9.13	46	(0.76, 1.39)	(8.13, 10.24)	с 13 до 16 лет	1.79	11.29	43	(1.41, 2.19)	(9.45, 13.32)	
с 16 до 19 лет	1.97	16.06	44	(1.60, 2.45)	(14.58, 17.95)	с 16 до 19 лет	3.06	16.56	41	(2.35, 3.82)	(14.54, 18.44)	

Таблица 1 (продолжение)

Аналит	Референсные интервалы (женский пол)						Референсные интервалы (мужской пол)					
	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал
Эстрадиол, пмоль/л	с рождения до 1 года	<73	192.76	146	Н/П	(163.29, 233.55)	с рождения до 1 года	<73	192.76	146	Н/П	(163.29, 233.55)
	с 1 года до 12 лет	<73	<73	321	Н/П	Н/П	с 1 года до 12 лет	<73	<73	321	Н/П	Н/П
Ферритин, мкг/л	с 12 до 19 лет	<73	727.67	96	Н/П	(627.23, 839.45)	с 12 до 19 лет	<73	157.23	95	Н/П	(140.97, 173.90)
	с рождения до 15 дней	39.84	539.85	56	(26.64, 54.81)	(477.24, 600.65)	с рождения до 15 дней	39.84	539.85	56	(26.64, 54.81)	(477.24, 600.65)
Фолат, нмоль/л	с 15 дней до 6 месяцев	15.25	374.58	49	(10.81, 20.64)	(321.9, 436.37)	с 15 дней до 6 месяцев	15.25	374.58	49	(10.81, 20.64)	(321.9, 436.37)
	с 6 месяцев до 1 года	13.32	191.89	44	(11.83, 14.78)	(155.09, 233.92)	с 6 месяцев до 1 года	13.32	191.89	44	(11.83, 14.78)	(155.09, 233.92)
Свободный Т3, пмоль/л	с 1 года до 16 лет	10.29	55.84	424	(9.90, 11.19)	(52.85, 60.93)	с 1 года до 16 лет	10.29	55.84	424	(9.90, 11.19)	(52.85, 60.93)
	с 16 до 19 лет	3.20	75.11	43	(1.68, 5.46)	(62.99, 87.81)	с 16 до 19 лет	18.67	102.06	41	(15.26, 22.09)	(89.76, 114.65)
Свободный Т4, пмоль/л	с рождения до 14 лет	27.62	>56.2	419	(25.11, 29.84)	Н/П	с рождения до 14 лет	27.62	>56.2	419	(25.11, 29.84)	Н/П
	с 14 до 19 лет	20.12	>56.2	132	(9.52, 22.77)	Н/П	с 14 до 19 лет	20.12	>56.2	132	(9.52, 22.77)	Н/П
ФСГ (фолликулостимулирующий гормон), МЕ/л	с рождения до 1 года	4.32	6.85	81	(4.07, 4.53)	(6.67, 7.00)	с рождения до 1 года	4.32	6.85	81	(4.07, 4.53)	(6.67, 7.00)
	с 1 года до 15 лет	3.98	6.19	405	(3.84, 4.16)	(6.13, 6.27)	с 1 года до 15 лет	3.98	6.19	405	(3.84, 4.16)	(6.13, 6.27)
Свободный Т4, пмоль/л	с 15 до 19 лет	3.47	5.31	56	(3.30, 3.66)	(5.16, 5.47)	с 15 до 19 лет	3.81	5.67	55	(3.64, 3.99)	(5.48, 5.84)
	с рождения до 20 дней	17.37	57.66	40	(13.51, 21.36)	(52.64, 61.90)	с рождения до 20 дней	17.37	57.66	40	(13.51, 21.36)	(52.64, 61.90)
ФСГ (фолликулостимулирующий гормон), МЕ/л	с 20 дней до 3 лет	9.52	17.76	215	(9.01, 10.04)	(16.99, 18.15)	с 20 дней до 3 лет	9.52	17.76	215	(9.01, 10.04)	(16.99, 18.15)
	с 3 до 19 лет	7.85	13.64	455	(7.59, 8.11)	(13.26, 14.29)	с 3 до 19 лет	7.85	13.64	455	(7.59, 8.11)	(13.26, 14.29)
ФСГ (фолликулостимулирующий гормон), МЕ/л	с рождения до 1 года	0.20	15.73	53	(0.20, 0.40)	(13.33, 18.16)	с рождения до 1 года	<0.2	3.98	105	Н/П	(3.53, 4.47)
	с 1 года до 9 лет	0.62	6.37	114	(0.52, 0.72)	(5.74, 7.07)	с 1 года до 9 лет	0.23	2.32	130	Н/П	(1.96, 3.06)
	с 9 до 12 лет	0.91	7.83	41	(0.61, 1.36)	(6.97, 8.75)	с 9 до 12 лет	0.56	4.98	41	(0.47, 0.68)	(4.09, 5.92)
	с 12 до 19 лет	0.59	10.19	100	(0.20, 1.29)	(9.52, 10.86)	с 12 до 19 лет	1.26	7.40	94	(1.11, 1.42)	(6.68, 8.15)

Таблица 1 (продолжение)

Аналит	Референсные интервалы (женский пол)						Референсные интервалы (мужской пол)					
	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал
Гормон роста (соматотропин – гормон роста, СТГ), мкг/л	с рождения до 3 месяцев	0.80	33.54	60	(0.36, 1.28)	(29.50, 37.95)	с рождения до 3 месяцев	0.80	33.54	60	(0.36, 1.28)	(29.50, 37.95)
	с 3 месяцев до 2 лет	0.14	6.27	81	(0.11, 0.18)	(4.93, 7.76)	с 3 месяцев до 2 лет	0.14	6.27	81	(0.11, 0.18)	(4.93, 7.76)
	с 2 до 7 лет	0.05	5.11	141	(0.04, 0.07)	(4.05, 9.44)	с 2 до 7 лет	0.05	5.11	141	(0.04, 0.07)	(4.05, 9.44)
	с 7 до 12 лет	0.02	4.76	144	(0.01, 0.03)	(3.85, 7.33)	с 7 до 12 лет	0.02	4.76	144	(0.01, 0.03)	(3.85, 7.33)
	с 12 до 14 лет	0.01	6.20	53	(0.00, 0.03)	(5.21, 7.26)	с 12 до 14 лет	0.01	6.20	53	(0.00, 0.03)	(5.21, 7.26)
	с 14 до 19 лет	0.03	5.22	74	(0.02, 0.05)	(4.46, 6.08)	с 14 до 19 лет	0.02	3.81	68	(0.01, 0.02)	(2.74, 5.00)
ЛГ (лютеинизирующий гормон), МЕ/л	с рождения до 1 года	<0.2	3.28	63	Н/П	(2.60, 4.02)	с рождения до 1 года	<0.2	6.79	110	Н/П	(5.64, 7.89)
	с 1 года до 5 лет	<0.2	2.14	114	Н/П	(1.88, 2.45)	с 1 года до 5 лет	<0.2	2.14	114	Н/П	(1.88, 2.45)
	с 5 до 10 лет	<0.2	1.67	131	Н/П	(1.19, 2.09)	с 5 до 10 лет	<0.2	1.67	131	Н/П	(1.19, 2.09)
	с 10 до 14 лет	<0.2	8.09	51	Н/П	(6.97, 9.26)	с 10 до 14 лет	<0.2	3.28	56	Н/П	(2.87, 3.79)
	с 14 до 19 лет	1.59	18.99	67	(1.38, 1.83)	(16.45, 21.86)	с 14 до 19 лет	0.81	8.96	70	(0.64, 1.01)	(7.89, 10.09)
Инсулин, пмоль/л	с рождения до 2 лет	5.81	215.74	111	(4.55, 7.14)	(182.35, 252.21)	с рождения до 2 лет	5.81	215.74	111	(4.55, 7.14)	(182.35, 252.21)
	с 2 до 10 лет	10.64	220.15	231	(7.28, 12.53)	(200.48, 251.65)	с 2 до 10 лет	10.64	220.15	231	(7.28, 12.53)	(200.48, 251.65)
	с 10 до 19 лет	20.09	570.78	252	(18.55, 22.89)	(422.52, 609.91)	с 10 до 19 лет	20.09	570.78	252	(18.55, 22.89)	(422.52, 609.91)
Остаза (костная щелочная фосфатаза), мкг/л	с рождения до 12 лет	48.06	>120	371	(44.62, 49.12)	Н/П	с рождения до 12 лет	48.06	>120	371	(44.62, 49.12)	Н/П
	с 12 до 15 лет	11.29	>120	44	(7.36, 15.30)	Н/П	с 12 до 15 лет	62.05	>120	40	(48.78, 74.01)	Н/П
	с 15 до 19 лет	8.14	35.81	59	(7.28, 9.21)	(32.76, 39.30)	с 15 до 19 лет	22.52	>120	43	(20.54, 24.38)	Н/П
Пролактин, мкг/л	с рождения до 30 дней	50.87	>200	91	(0.25, 100.07)	Н/П	с рождения до 30 дней	50.87	>200	91	(0.25, 100.07)	Н/П
	с 30 дней до 1 года	3.97	70.99	76	(3.38, 4.59)	(59.45, 82.90)	с 30 дней до 1 года	3.97	70.99	76	(3.38, 4.59)	(59.45, 82.90)
	с 1 года до 19 лет	3.21	18.46	516	(3.08, 3.43)	(17.27, 21.61)	с 1 года до 19 лет	3.21	18.46	516	(3.08, 3.43)	(17.27, 21.61)

Таблица 1 (продолжение)

Аналит	Референсные интервалы (женский пол)						Референсные интервалы (мужской пол)					
	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал
Прогестерон, нмоль/л	с 4 дней до 1 года	0.92	27.57	56	(0.80, 1.02)	(18.83, 36.38)	с 4 дней до 1 года	0.57	19.21	84	(0.48, 0.67)	(13.77, 25.60)
	с 1 года до 9 лет	<0.32	2.73	240	Н/П	(2.51, 3.08)	с 1 года до 9 лет	<0.32	2.73	240	Н/П	(2.51, 3.08)
	с 9 до 13 лет	<0.32	4.48	112	Н/П	(3.94, 5.12)	с 9 до 13 лет	<0.32	4.48	112	Н/П	(3.94, 5.12)
	с 13 до 19 лет	0.80	38.48	84	(0.73, 0.92)	(31.29, 47.03)	с 13 до 19 лет	0.60	5.22	80	(0.48, 0.76)	(4.77, 5.76)
ПТГ (паратгормон), пмоль/л	с рождения до 1 года	0.77	6.14	55	(0.58, 0.98)	(5.57, 6.86)	с рождения до 1 года	0.77	6.14	55	(0.58, 0.98)	(5.57, 6.86)
	с 1 года до 8 лет	1.25	5.80	194	(1.05, 1.30)	(5.35, 7.11)	с 1 года до 8 лет	1.25	5.80	194	(1.05, 1.30)	(5.35, 7.11)
	с 8 до 19 лет	1.28	7.53	306	(1.06, 1.39)	(7.13, 8.56)	с 8 до 19 лет	1.28	7.53	306	(1.06, 1.39)	(7.13, 8.56)
ГСПГ (глобулин, связывающий половые гормоны), нмоль/л	с рождения до 1 месяца	12.44	116.17	59	(10.55, 14.87)	(96.24, 136.76)	с рождения до 1 месяца	12.44	116.17	59	(10.55, 14.87)	(96.24, 136.76)
	с 1 месяца до 1 года	32.02	>200	128	(17.88, 52.58)	Н/П	с 1 месяца до 1 года	32.02	>200	128	(17.88, 52.58)	Н/П
	с 1 года до 8 лет	53.16	174.22	212	(43.20, 57.95)	(163.79, 181.38)	с 1 года до 8 лет	53.16	174.22	212	(43.20, 57.95)	(163.79, 181.38)
	с 8 до 11 лет	45.39	143.71	80	(40.75, 50.22)	(133.77, 153.54)	с 8 до 11 лет	45.39	143.71	80	(40.75, 50.22)	(133.77, 153.54)
	с 11 до 13 лет	15.92	131.70	57	(10.88, 21.64)	(114.81, 148.11)	с 11 до 13 лет	15.92	131.70	57	(10.88, 21.64)	(114.81, 148.11)
	с 13 до 19 лет	18.10	95.82	85	(15.12, 20.6)	(87.43, 104.04)	с 13 до 19 лет	10.46	75.25	84	(8.92, 12.36)	(67.47, 83.68)
Растворимый рецептор трансферрина (sTfR), мг/л	с рождения до 1 года	0.98	1.99	46	(0.89, 1.07)	(1.88, 2.10)	с рождения до 1 года	0.98	1.99	46	(0.89, 1.07)	(1.88, 2.10)
	с 1 года до 2.5 лет	1.37	2.64	41	(1.31, 1.42)	(2.45, 2.84)	с 1 года до 2.5 лет	1.37	2.64	41	(1.31, 1.42)	(2.45, 2.84)
	с 2,5 до 14 лет	1.03	2.09	312	(1.00, 1.07)	(1.91, 2.18)	с 2.5 до 14 лет	1.03	2.09	312	(1.00, 1.07)	(1.91, 2.18)
	с 14 до 19 лет	0.79	1.68	123	(0.79, 0.85)	(1.59, 1.71)	с 14 до 19 лет	0.79	1.68	123	(0.79, 0.85)	(1.59, 1.71)
Тестостерон, нмоль/л	с рождения до 1,5 лет	<0.35	2.19	48	Н/П	(1.42, 3.12)	с рождения до 1,5 лет	<0.35	9.85	46	Н/П	(8.05, 12.01)
	с 1,5 до 7 лет	<0.35	0.35	169	Н/П	Н/П	с 1,5 до 7 лет	<0.35	0.35	169	Н/П	Н/П
	с 7 до 9 лет	<0.35	0.62	58	Н/П	(0.52, 0.76)	с 7 до 9 лет	<0.35	0.62	58	Н/П	(0.52, 0.76)
	с 9 до 12 лет	<0.35	1.63	79	Н/П	(1.39, 1.84)	с 9 до 12 лет	<0.35	1.63	79	Н/П	(1.39, 1.84)

Таблица 1 (продолжение)

Аналит	Реферсные интервалы (женский пол)						Реферсные интервалы (мужской пол)					
	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал
Тиреоглобулин, нг/мл	с 12 до 15 лет	0.35	2.26	43	Н/П	(2.01, 2.53)	с 12 до 19 лет	0.38	19.64	94	Н/П	(18.11, 21.48)
	с 15 до 19 лет	0.62	2.98	59	(0.49, 0.76)	(2.71, 3.23)	с рождения до 2 лет	2.99	56.00	48	(1.44, 5.14)	(48.2, 64.02)
	с рождения до 2 лет	7.82	79.45	52	(5.24, 10.92)	(70.32, 88.56)						
	с 2 до 6 лет	6.74	34.21	107	(5.82, 7.71)	(32.14, 36.84)						
	с 6 до 9 лет	5.01	28.47	85	(4.36, 5.73)	(25.71, 31.15)						
с 9 до 19 лет	2.50	25.78	268	(1.79, 3.02)	(22.65, 29.53)	с 9 до 19 лет	2.50	25.78	268	(1.79, 3.02)	(22.65, 29.53)	
Общий IgE (Общий иммуноглобулин E), мкг/л	с рождения до 2 лет	<0.60	1942.61	129	Н/П	(415.63, 2951.38)	с рождения до 2 лет	<0.60	1942.61	129	Н/П	(415.63, 2951.38)
	с 2 до 8 лет	4.37	1885.39	174	(2.78, 6.29)	(760.37, 4091.18)	с 2 до 8 лет	4.37	1885.39	174	(2.78, 6.29)	(760.37, 4091.18)
	с 8 до 19 лет	6.26	1999.92	297	(4.15, 8.57)	(1371.58, 3099.70)	с 6 до 19 лет	6.26	1999.92	297	(4.15, 8.57)	(1371.58, 3099.70)
Общий Т3 (трийодтиронин) нмоль/л	с рождения до 1 года	1.40	3.96	161	(1.32, 1.70)	(3.38, 4.25)	с рождения до 1 года	1.40	3.96	161	(1.32, 1.70)	(3.38, 4.25)
	с 1 года до 12 лет	1.84	3.12	326	(1.75, 1.90)	(3.00, 3.26)	с 1 года до 12 лет	1.84	3.12	326	(1.75, 1.90)	(3.00, 3.26)
	с 12 до 16 лет	1.54	3.00	59	(1.49, 1.61)	(2.83, 3.18)	с 12 до 16 лет	1.77	3.16	54	(1.67, 1.84)	(3.00, 3.33)
Общий Т4 (тироксин), нмоль/л	с 16 до 19 лет	1.51	2.95	82	(1.43, 1.58)	(2.78, 3.12)	с 16 до 19 лет	1.51	2.95	82	(1.43, 1.58)	(2.78, 3.12)
	с рождения до 4 лет	76.32	168.47	163	(72.72, 80.95)	(163.58, 187.26)	с рождения до 4 лет	76.32	168.47	163	(72.72, 80.95)	(163.58, 187.26)
	с 4 до 14 лет	70.01	130.12	279	(67.70, 70.91)	(123.29, 131.53)	с 4 до 14 лет	70.01	130.12	279	(67.70, 70.91)	(123.29, 131.53)
Тропонин I, нг/л ^с	с 14 до 19 лет	75.03	140.93	71	(72.46, 77.48)	(133.59, 149.29)	с 14 до 19 лет	68.08	118.79	66	(64.86, 71.17)	(114.16, 124.32)
	с рождения до 4 месяцев	<10	90	41	Н/П	(80, 100)	с рождения до 4 месяцев	<10	90	41	Н/П	(80, 100)
	с 4 месяцев до 1 года	<10	30	58	Н/П	(30, 40)	с 4 месяцев до 1 года	<10	30	58	Н/П	(30, 40)
	с 1 года до 19 лет	<10	10	411	Н/П	Н/П	с 1 года до 19 лет	<10	10	411	Н/П	Н/П
ТТГ (тиреотропный гормон), мМЕ/л	с рождения до 12 лет	0.79	5.85	423	(0.74, 0.91)	(5.53, 6.23)	с рождения до 12 лет	0.79	5.85	423	(0.74, 0.91)	(5.53, 6.23)

Таблица 1 (продолжение)

Аналит	Референсные интервалы (женский пол)						Референсные интервалы (мужской пол)					
	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал	Возраст	Нижний предел	Верхний предел	Кол-во образцов	Нижний 90% доверительный интервал	Верхний 90% доверительный интервал
T-Uptake (Т-захват), %	с 12 до 19 лет	0.68	3.35	182	(0.57, 0.72)	(3.14, 4.12)	с 12 до 19 лет	0.68	3.35	182	(0.57, 0.72)	(3.14, 4.12)
	с рождения до 12 лет	38.09	49.45	362	(37.10, 39.19)	(49.16, 51.21)	с рождения до 12 лет	38.09	49.45	362	(37.10, 39.19)	(49.16, 51.21)
	с 12 до 19 лет	38.10	48.46	94	(37.26, 38.87)	(47.67, 49.25)	с 12 до 19 лет	39.57	48.80	92	(38.80, 40.34)	(48.12, 49.47)
Витамин В12, пмоль/л	с рождения до 1 года	117.52	> 1107	166	(79.11, 140.96)	Н/П	с рождения до 1 года	117.52	> 1107	166	(79.11, 140.96)	Н/П
	с 1 года до 2 лет	197.03	> 1107	40	(147.59, 247.35)	Н/П	с 1 года до 2 лет	197.03	> 1107	40	(147.59, 247.35)	Н/П
	с 2 до 8 лет	190.23	747.33	158	(159.22, 201.53)	(699.55, 768.48)	с 2 до 8 лет	190.23	747.33	158	(159.22, 201.53)	(699.55, 768.48)
	с 8 до 14 лет	148.59	771.93	168	(138.04, 174.28)	(643.41, 898.46)	с 8 до 14 лет	148.59	771.93	168	(138.04, 174.28)	(643.41, 898.46)
	с 14 до 19 лет	132.35	530.82	136	(117.25, 155.38)	(451.20, 570.64)	с 14 до 19 лет	132.35	530.82	136	(117.25, 155.38)	(451.20, 570.64)
25(ОН) Витамин D, нмоль/л	с рождения до 1 года	27.46	158.72	154	(22.19, 34.02)	(137.70, 184.06)	с рождения до 1 года	27.46	158.72	154	(22.19, 34.02)	(137.70, 184.06)
	с 1 года до 12 лет	43.43	121.21	265	(39.71, 45.23)	(111.07, 130.07)	с 1 года до 12 лет	43.43	121.21	265	(39.71, 45.23)	(111.07, 130.07)
	с 12 до 19 лет	29.03	104.96	173	(27.28, 33.47)	(97.59, 138.30)	с 12 до 19 лет	29.03	104.96	173	(27.28, 33.47)	(97.59, 138.30)

^a Жирным шрифтом отмечены гендерные различия в пределах возрастных подгрупп; ^b Значения выше аналитического диапазона измерений обозначены символом “>”; ^c Н/П – Не применимо. Доверительные интервалы (CI) не могут быть рассчитаны, когда хотя бы один из пределов CI выходит за пределы аналитического диапазона измерений; ^d Значения ниже аналитического диапазона измерений теста обозначены символом “<”; е Верхние и нижние референсные пределы составляют 97,5-й и 2,5-й перцентили. Соответствующие 99-е перцентили для тропонина I: 100 нг/л (с рождения до <4 месяцев); 40 нг/л (с 4 месяцев до <1 года); 10 нг/л (с 1 года до <19 лет).

Статистический анализ и определение референсных интервалов

Анализ данных проводился в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) по определению, установлению и верификации референсных интервалов в клинической лаборатории [9]. Статистический анализ был выполнен с использованием приложения Microsoft Excel и программного обеспечения R. Метод статистического анализа описан в предыдущих работах [5]. Для визуальной проверки данных были построены диаграммы разброса и распределения. Если проверка указывала на отсутствие асимметрии в распределении данных, выбросы исключались с помощью критерия Тьюки [10]. В противном случае, если данные имели асимметричное распределение, выбросы определялись и исключались с помощью скорректированного критерия Тьюки путем умножения межквартильного размаха на коэффициент, вычисленный с использованием расчетной меры асимметрии данных «medcouple» [11]. Разделение по возрасту и/или полу определялось первично при визуальной оценке диаграмм разброса и распределения на наличие общих тенденций. После визуальной оценки, решения о разделении на группы были оценены статистически с помощью теста Харриса и Бойда, в котором используются стандартное отклонение (SD) и модифицированный z-критерий для двух групп, с целью установить, является ли статистическое различие каждой подгруппы достаточным для того, чтобы ее можно было рассматривать в качестве самостоятельной подгруппы [12]. Если необходимость использования подгруппы не подтверждалась результатами теста Харриса и Бойда, данные объединяли, а затем переоценивали. Для вычисления референсного интервала для подгрупп с минимальным размером выборки 120 участников использовался непараметрический ранговый метод. Для подгрупп с размером выборки менее 120 была сделана попытка анализа дополнительных образцов для того, чтобы минимальный размер выборки в каждой подгруппе был не менее 120. Для анализов с подгруппами менее 120 и более 40 участников референсный интервал вычислялся с помощью робастного статистического метода Хорна и Песке [13]. Для каждого референсного интервала были рассчитаны 90% доверительные интервалы для верхнего и нижнего пределов.

Результаты

Для вычисления специфических для возраста и пола референсных интервалов для 29 гормональных и специфических биохимических маркеров на иммунохимических системах производства Beckman Coulter использовались образцы 711 участников (мальчиков и девочек) в возрасте от рождения до 19 лет (таблица 1). Эти же референсные интервалы, выраженные в условных единицах, представлены в таблице 2. Распределение полных референсных данных по возрасту и полу также показано на диаграммах разброса для всех 29 тестов (рис. 1-5).

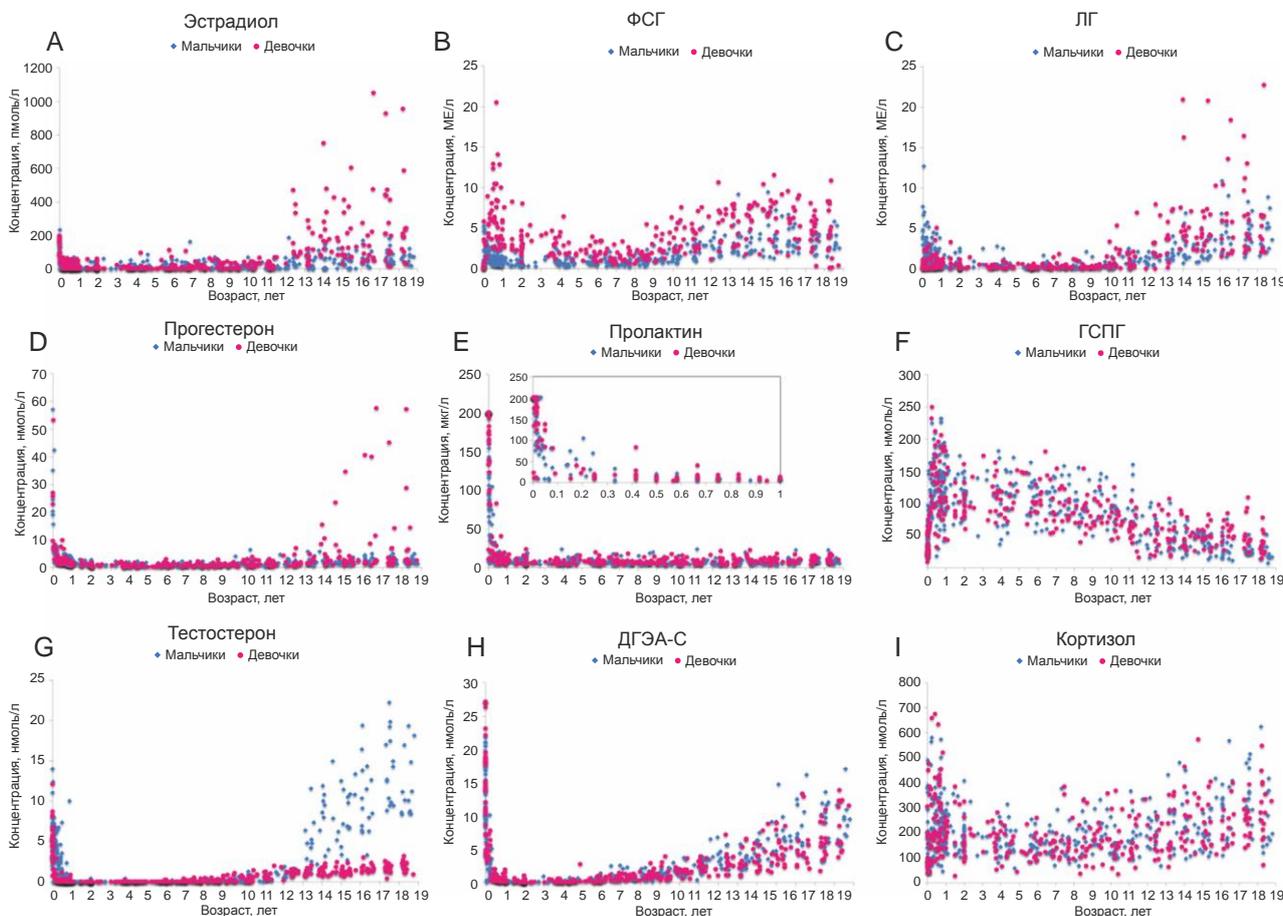


Рис. 1: Диаграммы разброса значений репродуктивных гормонов и гормонов коры надпочечников у мальчиков (голубой) и девочек (розовый) различного возраста. (А) Эстрадиол; (В) ФСГ; (С) ЛГ; (D) прогестерон; (Е) пролактин; (F) ГСПГ (глобулин, связывающий половые гормоны); (G) общий тестостерон; (H) ДГЭА-С (дегидроэпиандростерон-сульфат); (I) кортизол.

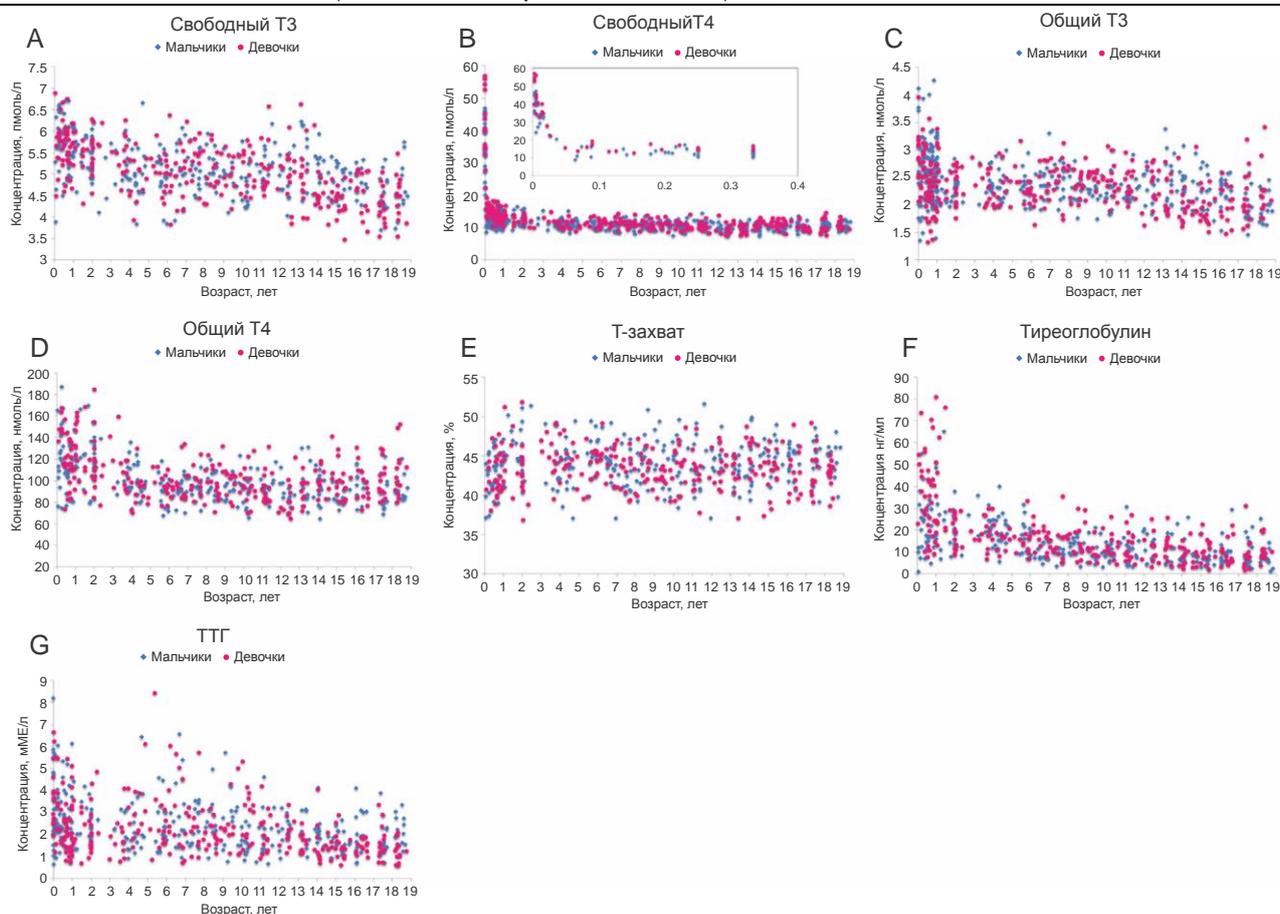


Рис. 2: Диаграммы разброса значений тиреоидных гормонов у мальчиков (голубой) и девочек (розовый) различного возраста. (А) свободный Т3; (В) свободный Т4; (С) общий Т3; (D) общий Т4; (Е) Т-захват; (F) тиреоглобулин; (G) ТТГ.

Были изучены 29 биомаркеров, включая половые гормоны, тиреоидные гормоны, гормоны коры надпочечников, биомаркеры метаболизма костной ткани, а также кардио- и онкомаркеры, маркеры анемии, аллергии и сахарного диабета. В связи с многочисленными физиологическими изменениями, происходящими от рождения до пубертата, все 29 исследованных биомаркеров продемонстрировали сложные профили, требующие разделения в зависимости от возраста и/или пола.

Для всех половых гормонов, за исключением пролактина, требовалось распределение на подгруппы в зависимости от возраста и пола для отражения динамических изменений концентрации этих анализов в процессе развития (рис. 1А-Г). Как и ожидалось, возрастные изменения были более выраженными у мальчиков по показателям общего тестостерона, а у девочек по уровням эстрадиола, прогестерона, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ). Уровни тестостерона были более высокими у мальчиков, чем у девочек в первые 1.5 года, после чего концентрации снижались у обоих полов до одинаковых значений вплоть до периода пубертата, когда у мальчиков наблюдалось выраженное, а у девочек – умеренное увеличение (рис. 1G). Концентрации эстрадиола, прогестерона, ФСГ и ЛГ были исходно повышенными после рождения, снижались к возрасту 1 года, затем резко увеличивались в подростковом возрасте, особенно у девочек (рис. 1А-Д). ГСПГ (глобулин, связывающий половые гормоны), продемонстрировал широкую вариабельность и более высокую концентрацию в первый год жизни у обоих полов, но затем его уровень постепенно снижался с возрастом. В период полового созревания более высокие концентрации ГСПГ наблюдались у девочек, поэтому требовалось распределение на подгруппы в зависимости от пола (рис. 1F). В отличие от других гормонов репродуктивной системы, половых различий не наблюдалось для пролактина, поэтому требовались только распределение по возрасту (рис. 1E).

Оба гормона коры надпочечников, дегидроэпандростерон-сульфат (ДГЭА-С) и кортизол, продемонстрировали широкую вариабельность и более высокие концентрации после рождения (рис. 1H, I). Концентрации ДГЭА-С снизились через 15 дней и затем снова снижались с 6 месяцев до периода пубертата, во время которого наблюдались увеличенные концентрации. Это повышение было особенно выраженным у мальчиков по сравнению с девочками, поэтому для данного периода было необходимо распределение на подгруппы в зависимости от пола. Концентрации кортизола значительно снизились через 1 год после рождения, но снова повысились у обоих полов в подростковом возрасте.

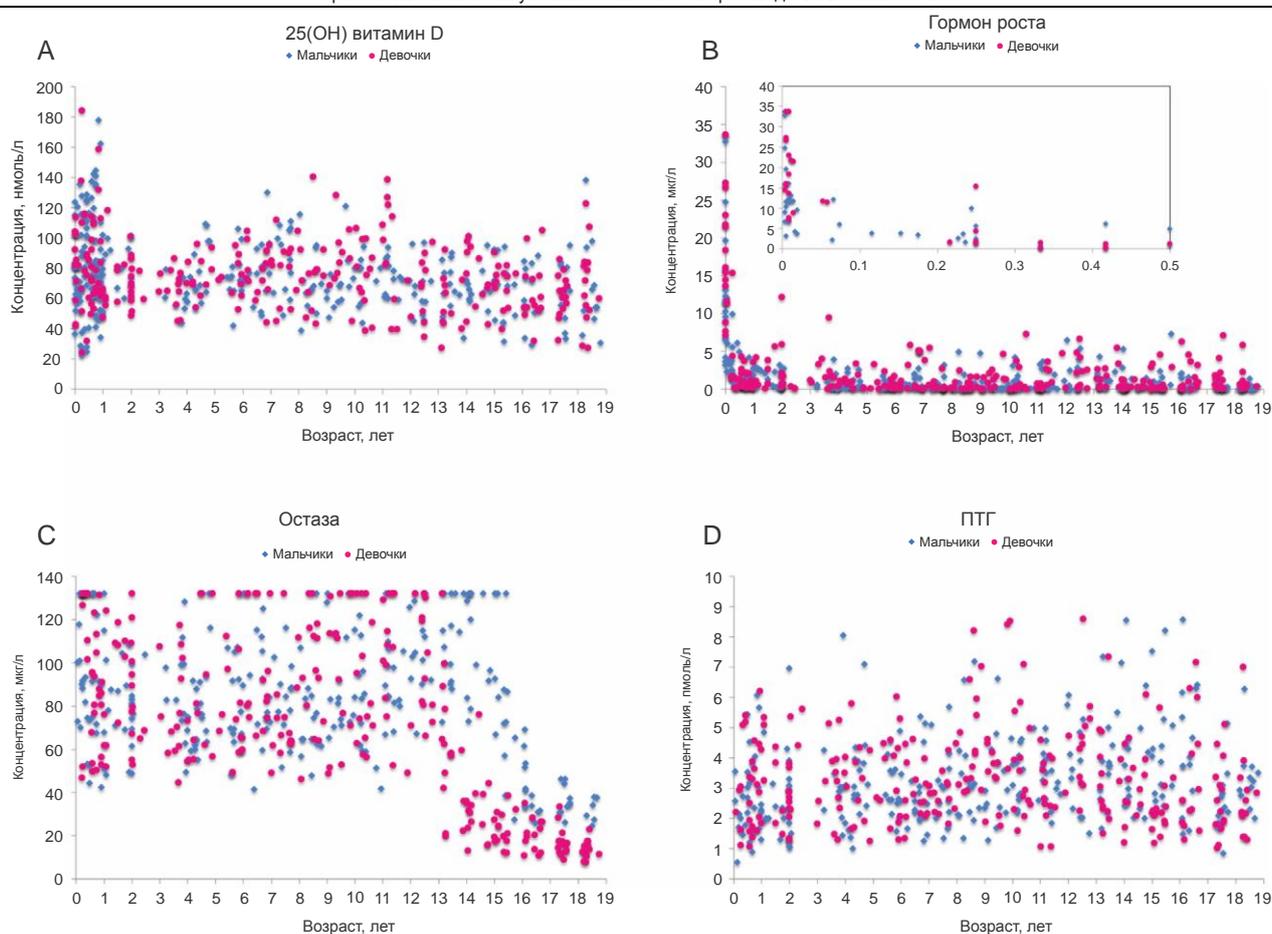


Рис. 3: Диаграммы разброса значений аналитов, связанных с ростом и обменом веществ в костной ткани у мальчиков (голубой) и девочек (розовый) различного возраста. (A) 25(OH) витамин D; (B) гормон роста; (C) Остеаза; (D) ПТГ.

В целом, все тиреоидные гормоны, включая свободный трийодтиронин (свободный Т3), свободный тироксин (свободный Т4), общий трийодтиронин (общий Т3) и общий тироксин (общий Т4), продемонстрировали более широкую вариабельность и повышенные концентрации при рождении, а затем снижались с возрастом (рис. 2A-D). В подростковом возрасте были очевидны умеренные гендерные различия при более высоких концентрациях свободный Т3 и общий Т3 у мальчиков и общий Т4 у девочек, поэтому для этих аналитов было необходимо распределение на подгруппы в зависимости от пола (рис. 2A,C,D, таблица 1). Аналогично другим тиреоидным гормонам, тиреоглобулин также продемонстрировал широкую вариабельность и повышенные концентрации при рождении, но в более выраженной степени у девочек, чем у мальчиков. Показатели вариации и концентрации снижались начиная с двухлетнего возраста (рис. 2F). Тиреотропный гормон (ТТГ) исходно имел повышенную концентрацию и вариабельность, которые затем постепенно снижались с возрастом (рис. 2G). В отличие от более динамичных изменений, отмеченных для концентраций тиреоидных гормонов, показатели Т-захвата имели достаточно единообразные уровни вариабельности и концентрации, поэтому требовались только 2 возрастные подгруппы для того, чтобы отразить небольшое снижение концентрации в возрасте с 12 лет, которое было более выраженным у девочек, чем у мальчиков (рис. 2E, таблица 1).

Как и ожидалось, с учетом постоянных физиологических изменений, которые происходят в процессе развития в детском и подростковом возрасте, аналиты, связанные с ростом и метаболизмом костной ткани, продемонстрировали динамический характер изменений с рождения до 19 лет (рис. 3). Гормон роста (СТГ) продемонстрировал показатели высокой концентрации и вариабельности в первые 3 месяца, которые затем снизились. В период пубертата наблюдалось незначительное увеличение, а также выявлено гендерное различие при более высокой концентрации у девочек. В результате, для возрастной категории от 14 до 19 лет потребовалось разделение по полу (рис. 3B, таблица 1). Паратиреоидный гормон (ПТГ) продемонстрировал значительную вариабельность значений с рождения до 19 лет, которая незначительно снижалась с 1 года до 8 лет, а затем снова увеличивалась (рис. 3D). 25-гидрокси витамин D (25(OH) витамин D) показал более высокую вариабельность в первый год жизни, которая впоследствии снизилась и оставалась относительно постоянной после 1 года (рис. 3A, таблица 1).

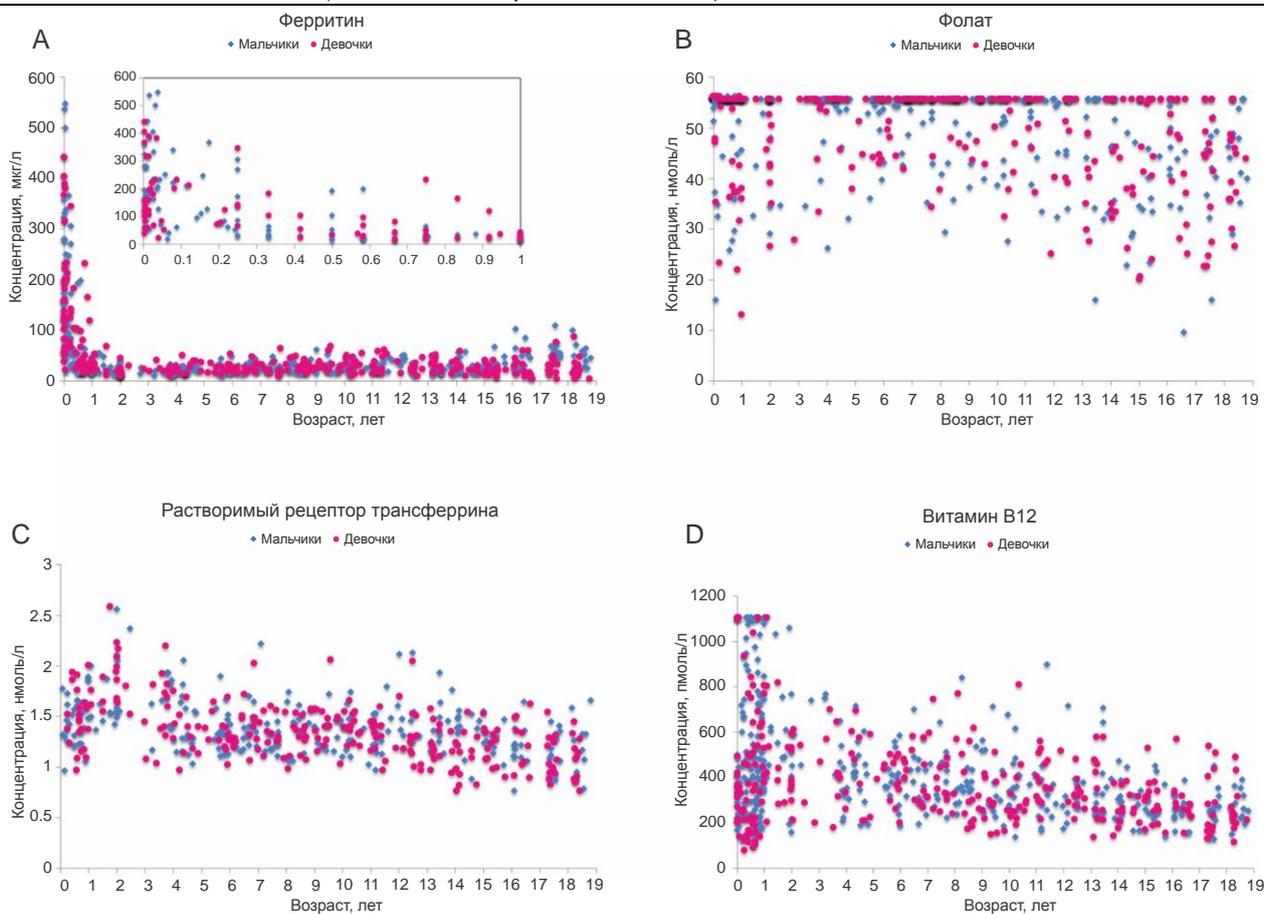


Рис. 4: Диаграммы разброса значений биомаркеров, связанных с содержанием железа и анемией, у мальчиков (голубой) и девочек (розовый) различного возраста. (А) Ферритин; (В) фолат; (С) растворимый рецептор трансферрина; (D) витамин В12.

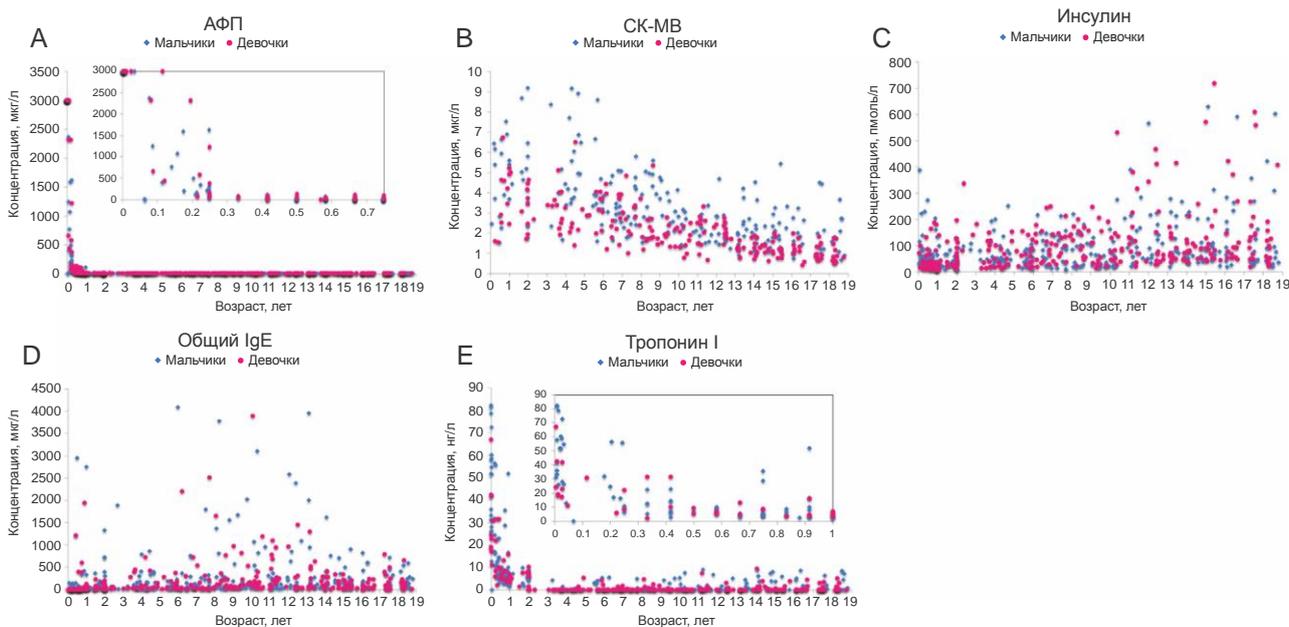


Рис. 5: Диаграммы разброса значений онкомаркеров, кардиомаккеров, гормональных биомаркеров и биомаркеров аллергии у мальчиков (голубой) и девочек (розовый) различного возраста. (А) АФП; (В) СК-МВ; (С) инсулин; (D) общий IgE; (Е) тропонин I.

Остаза продемонстрировала широкую вариацию и высокую концентрацию в возрасте до 15 лет, после чего оба показателя резко снижались. Снижение было более выраженным у девочек, чем у мальчиков, поэтому требовалось распределение на подгруппы в зависимости от пола (рис. 3С, таблица 1).

Концентрации ферритина и растворимого рецептора трансферрина (sTfR) характеризовались динамическими изменениями в процессе развития (рис. 4). Особенно высокие концентрации ферритина были обнаружены в первые 15 дней жизни с последующим снижением, поэтому необходимо было распределить показатели первого года жизни на три подгруппы. После 1 года концентрации ферритина резко падали вплоть до периода пубертата. В этот период концентрации ферритина были более высокими у мальчиков по сравнению с девочками, что требовало распределения на подгруппы в зависимости от пола (рис. 4А, таблица 1). После первого года жизни показатели концентрации и вариабельности растворимого рецептора трансферрина незначительно увеличивались вплоть до возраста 2.5 года, после чего наблюдалось их устойчивое снижение (рис. 4С). Витамин В12 характеризовался высокими уровнями концентрации и вариабельности от рождения до возраста 1 года, которые затем постепенно снижались (рис. 4D). Для фолата сыворотки крови требовались две возрастные подгруппы со сниженным нижним референсным пределом в возрастной подгруппе от 14 до 19 лет по сравнению с возрастной подгруппой от рождения до 14 лет (рис. 4В, таблица 1).

Кардиомаркеры тропонин I и креатинкиназа МВ (СК-МВ) оба продемонстрировали высокие уровни концентрации и вариабельности после рождения (рис. 5В,Е). В первые 3 месяца жизни концентрации тропонина I были сильно повышены, но с 4 месяцев до <1 года значительно снижались и к 1 году достигли уровней взрослых. Для СК-МВ требовалось распределение на подгруппы в зависимости от пола во всех возрастных группах, так как концентрации были более высокими у мальчиков по сравнению с девочками (рис. 5В, таблица 1).

Концентрация АФП (альфа-фетопroteина) была значительно повышена после рождения до возраста 4 месяцев, когда она резко падала, а затем постепенно снижалась к возрасту 2.5 года до уровней, сопоставимых с таковыми у взрослых (рис. 5А). Для маркера аллергии, общего иммуноглобулина Е (IgE), общие концентрации были низкими с рождения до <19 лет, но наблюдалась широкая вариабельность. В возрасте от 2 до 8 лет, вариабельность незначительно уменьшалась, поэтому необходимо было распределение данных на три возрастные подгруппы (рис. 5D). Наконец, для инсулина концентрация и вариабельность постепенно увеличивались с возрастом у обоих полов. Также важно отметить, что в целях настоящего исследования не требовалось определение концентрации натошак (рис. 5С, таблица 1).

Обсуждение

Расхождения в методологии и результатах измерения аналитов на различных аналитических платформах ограничивают широкое применение референсных интервалов для разных имеющихся в продаже анализаторов. Это особенно касается иммунохимии, где в различных коммерчески доступных тестах применяются свои собственные специфические антитела, которые часто отличаются по характеристикам распознавания эпитопов и аффинности связывания. При этом многие иммунотесты из различных источников имеют схемы стандартизации и прослеживаемости относительно разных стандартов, что приводит к методологическим различиям. В результате, перенос референсных интервалов между производителями не всегда возможен, в связи с чем необходимы новые исследования по установлению референсных интервалов для каждой платформы. Для решения этой проблемы мы представляем отчет об установлении новых педиатрических референсных интервалов для 29 гормональных и специфических биохимических маркеров на иммунохимических системах Beckman Coulter для когорты здоровых детей и подростков исследования CALIPER.

В целом, как показано на диаграммах разброса, концентрации аналитов, измеренные на иммунохимических системах производства Beckman Coulter, продемонстрировали динамический характер изменений, сходный с тем, который был определен ранее в первом исследовании CALIPER с использованием анализатора Architect i2000 производства Abbott [4, 6]. Это не удивительно, так как предыдущие исследования проводились с использованием образцов, собранных в том же географическом регионе, в соответствии с тем же протоколом с установленными критериями исключения и эквивалентными группами, представляющими здоровую референсную популяцию. Таким образом, воспроизводимость результатов согласуется с общими биохимическими и физиологическими изменениями, которые происходят у здоровых детей в процессе роста и развития. Например, значительно повышенные значения тропонина I в первые 3 месяца жизни наблюдались ранее [6] и, вероятно, отражают нагрузку на сердце плода в процессе рождения. Аналогично предыдущему отчету, также наблюдалась более высокая степень увеличения концентраций ферритина у мальчиков по сравнению с девочками в период пубертата, что соответствует данным о более высоком потреблении железа с пищей у мальчиков-подростков [14]. В настоящем и предыдущем исследованиях также был отмечен значительно повышенный уровень АФП после рождения до четырех месяцев, что может быть связано с высокой экспрессией гена АФП в печени плода, так как переход к экспрессии альбумина начинается только после рождения [15].

Тем не менее, одним из существенных отличий настоящего исследования является то, что в нем меньше возрастных подгрупп. Это связано с тем, что размер выборки меньше, а доверительные интервалы, соответственно, шире. Поэтому подгруппы, которые могли быть выделены в исследовании с большим количеством участников, в настоящем исследовании были объединены. Например, в настоящем исследовании проводился анализ 711 образцов на системах Beckman Coulter по сравнению с 1482 образцами, проанализированными для определения гормональных и биохимических маркеров, и 1234 образцами, проанализированными для установления референсных интервалов для половых гормонов на платформе Architect компании Abbott [4, 6]. Для определения концентрации фолата в сыворотке крови на платформе Architect производства Abbott были определены семь возрастных подгрупп [6], а на системах Beckman Coulter только 2 подгруппы имели статистическую значимость, хотя на диаграммах наблюдались сходные тенденции для обоих методов.

Несмотря на то, что диаграммы для референсных интервалов были, в целом, сопоставимыми между иммунохимическими системами производства Beckman Coulter и платформами Architect i2000 производства Abbott, наблюдались различия по диапазонам концентраций для некоторых аналитов. В частности, были отмечены существенные различия для прогестерона, ФСГ, ЛГ и ПТГ. Для всех подгрупп, разделенных по возрастным и/или половым критериям, верхний предел референсного интервала прогестерона был единообразно более высоким при использовании метода Beckman Coulter по сравнению с установленным для метода Abbott Architect. Также концентрации ФСГ были выше как для нижнего, так и для верхнего

референсного предела для метода Beckman Coulter почти во всех подгруппах, при этом различие по верхнему референсному пределу было более чем в 1.5 раза выше как у мальчиков, так и у девочек в возрасте от рождения до <1 года. Концентрации для верхних пределов ЛГ были также единообразно более высокими в подгруппах для метода Beckman Coulter. Верхние референсные пределы для ПТГ, напротив, были ниже на системе производства Beckman Coulter по сравнению с платформой Architect i2000 компании Abbott даже несмотря на то, что оба теста предназначены для определения интактного, биологически активного пептида, состоящего из 84 аминокислот (ПТГ 1-84). Интересно, что для прогестерона и ЛГ, как на иммунохимических системах компании Beckman Coulter, так и в тестах Architect производства Abbott используются калибраторы, стандартизованные относительно одного и того же референсного стандарта Фармакопеи США (USP Reference Standard) или международного референсного стандарта ВОЗ (WHO International Reference Standard), соответственно. Это указывает на то, что различия между платформами могут возникать несмотря на стандартизацию относительно одинаковых референсных материалов. Другое объяснение этих различий может заключаться в том, что при подготовке референсного материала имел место эффект матрикса, что затрудняет взаимозаменяемость. В целом, вариабельность концентраций, наблюдаемая между иммунохимическими анализами производства Beckman Coulter и Abbott подтверждает необходимость определения референсных интервалов, специфичных для каждой аналитической платформы.

Главной целью проекта CALIPER является разработка всесторонней базы данных по референсным интервалам для маркеров клинически значимых детских заболеваний. Настоящая работа дополнительно расширяет базу данных CALIPER, благодаря определению интервалов для новых аналитов, включая остазу, тиреоглобулин и гормон роста, которые не измерялись в ранее проведенных исследованиях CALIPER. Маркер формирования кости, остазы, определяемая концентрацией костной щелочной фосфатазы, была значительно повышена у детей по сравнению с показателями взрослых. Это соответствует данным предыдущих исследований, проведенных в других группах, где уровень костной щелочной фосфатазы коррелирует с высокой скоростью роста скелета и быстрым метаболизмом костной ткани, которые происходят в процессе развития у детей [16]. Мы наблюдали снижение концентрации остазы в подростковом возрасте, которое раньше происходило у девочек по сравнению с мальчиками. Эта картина изменений соответствует данным предыдущего исследования референсных интервалов, где более низкие концентрации у девочек в период полового созревания были отражены в аналогичных возрастных подгруппах [17].

Тиреоглобулин продемонстрировал снижение концентрации с возрастом и умеренные различия в зависимости от пола только в первые 2 года жизни. Различия, зависящие от пола, отмечены в некоторых [18, 19], но не во всех [20] исследованиях референсных интервалов, причем биологическая основа потенциального гендерного различия в настоящее время неизвестна. Тем не менее, неоднократно отмечалось, что исходно повышенные уровни тиреоглобулина у детей постепенно снижаются с возрастом [18-20]. Высокие концентрации тиреоглобулина у новорожденных связывают с исходным подъемом концентрации ТТГ [21], но устойчивый уровень тиреоглобулина у детей полностью не объяснен.

Гормон роста продемонстрировал исходное повышение концентрации в первые 3 месяца жизни, за которым следовало снижение с последующим подъемом в период полового созревания, которое было более выраженным у девочек. Тем не менее, данная картина не согласовывается с данными предыдущего исследования, в котором наблюдались относительно единообразные концентрации без разделения на подгруппы в зависимости от пола [22]. Это расхождение может быть частично связано с пульсирующим высвобождением гормона роста в циркадном и ультрадианном ритме, что может приводить к существенным изменениям в зависимости от времени взятия пробы, которое не было одинаковым ни в одном исследовании. Эта вариабельность ограничивает применимость референсных интервалов для гормона роста.

В заключение необходимо отметить, что в данной работе представлены педиатрические референсные интервалы, стратифицированные в зависимости от пола и возраста, специально для иммуноанализов, используемых на иммунохимических системах производства Beckman Coulter, широко используемых автоматических анализаторах, для которых референсные интервалы по широкой панели тестов не были ранее установлены. Эта база данных может использоваться в мировом масштабе и обеспечивает точную клиническую интерпретацию результатов, полученных с помощью иммунохимических тестов производства Beckman Coulter.

Благодарность: Мы благодарим всех участников проекта CALIPER и их семьи; настоящее исследование было бы невозможным без их участия. Мы также благодарим координаторов и всех добровольцев проекта CALIPER за их усердную работу по набору участников и сбору образцов. Мы благодарим д-ра Джека Заковски (Jack Zakowski) за рецензирование рукописи и персонал компании Beckman Coulter за работу по анализу образцов.

Вклады авторов: Все авторы несут ответственность за полное содержание настоящей рукописи и одобрили ее подачу для публикации.

Финансовая поддержка: Настоящее исследование проведено при поддержке Канадских научно-исследовательских институтов здравоохранения (CIHR) и компании Beckman Coulter, Inc.

Работа или руководство: Не заявлено.

Гонорар: Не заявлено.

Конкурирующие интересы: Финансирующие организации не участвовали в разработке плана исследования, сборе, анализе и интерпретации данных, составлении отчета или принятии решения о подаче отчета для публикации.

Список литературы

1. Ceriotti F. Establishing pediatric reference intervals: a challenging task. *Clin Chem* 2012;58:808-10.
2. Savage WJ, Everett AD. Biomarkers in pediatrics: children as biomarker orphans. *Proteomics Clin Appl* 2010;4:915-21.
3. Schnabl K, Chan MK, Adeli K. Pediatric reference intervals: critical gap analysis and establishment of a national initiative. *Clin Biochem* 2006;39:559-60.
4. Konforte D, Shea JL, Kyriakopoulou L, Colantonio D, Cohen AH, Shaw J, et al. Complex biological pattern of fertility hormones in children and adolescents: a study of healthy children from the CALIPER cohort and establishment of pediatric reference intervals. *Clin Chem* 2013;59:1215-27.

5. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, Daly CH, Brinc D, Venner AA, et al. Closing the gaps in pediatric laboratory reference intervals: a CALIPER database of 40 biochemical markers in a healthy and multiethnic population of children. *Clin Chem* 2012;58:854-68.
6. Bailey D, Colantonio D, Kyriakopoulou L, Cohen AH, Chan MK, Armbruster D, et al. Marked biological variance in endocrine and biochemical markers in childhood: establishment of pediatric reference intervals using healthy community children from the CALIPER cohort. *Clin Chem* 2013;59:1393-405.
7. Bevilacqua V, Chan MK, Chen Y, Armbruster D, Schodin B, Adeli K. Pediatric population reference value distributions for cancer biomarkers and covariate-stratified reference intervals in the CALIPER cohort. *Clin Chem* 2014;60:1532-42.
8. Estey MP, Cohen AH, Colantonio DA, Chan MK, Marvasti TB, Randell E, et al. CLSI-based transference of the CALIPER database of pediatric reference intervals from Abbott to Beckman, Ortho, Roche and Siemens Clinical Chemistry Assays: direct validation using reference samples from the CALIPER cohort. *Clin Biochem* 2013;46:1197-219.
9. CLSI. Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory. Approved guideline, 3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.
10. Tukey JW. *Exploratory data analysis*. Boston, MA: Addison- Wesley, 1977.
11. Hubert M, Van der Veeken S. Outlier detection for skewed data. *J Chemometrics* 2008;22:235-46.
12. Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges. *Clin Chem* 1990;36:265-70.
13. Horn PS, Pesce AJ. *Reference intervals: a user's guide*. Washington, DC: AACC Press, 2005.
14. Samuelson G, Lonnerdal B, Kempe B, Elverby JE, Bratteby LE. A follow-up study of serum ferritin and transferrin receptor concentrations in Swedish adolescents at age 17 age 15. *Acta Paediatr* 2000;89:1162-8.
15. Tilghman SM, Belayew A. Transcriptional control of the murine albumin/alpha-fetoprotein locus during development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982;79:5254-7.
16. Tobiume H, Kanzaki S, Hida S, Ono T, Moriwake T, Yamauchi S, et al. Serum bone alkaline phosphatase isoenzyme levels in normal children and children with growth hormone (GH) deficiency: a potential marker for bone formation and response to GH therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2056-61.
17. Huang Y, Eapen E, Steele S, Grey V. Establishment of reference intervals for bone markers in children and adolescents. *Clin Biochem* 2011;44:771-8.
18. Kulasingam V, Jung BP, Blasutig IM, Baradaran S, Chan MK, Aytakin M, et al. Pediatric reference intervals for 28 chemistries and immunoassays on the Roche cobas 6000 analyzer-a CALIPER pilot study. *Clin Biochem* 2010;43:1045-50.
19. Djemli A, Van VG, Belgoudi J, Lambert M, Delvin EE. Reference intervals for free thyroxine, total triiodothyronine, thyrotropin and thyroglobulin for Quebec newborns, children and teenagers. *Clin Biochem* 2004;37:328-30.
20. Owen WE, Bunker AM, Straseski JA. Pediatric reference intervals for thyroglobulin using the Beckman Coulter Access 2 immunoassay. *Clin Chim Acta* 2014;435:40-1.
21. Pezzino V, Filetti S, Belfiore A, Pr0 to S, Donzelli G, Vigneri R. Serum thyroglobulin levels in the newborn. *J Clin Endocrinol Metab* 1981;52:364-6.
22. Soldin OP, Hoffman EG, Waring MA, Soldin SJ. Pediatric reference intervals for FSH, LH, estradiol, T3, free T3, cortisol, and growth hormone on the DPC IMMULITE 1000. *Clin Chim Acta* 2005;355:205-10.

Дополнительный материал: В электронной версии данной статьи (DOI: 10.1515/cclm-2015-0558) представлен дополнительный материал, доступный для авторизованных пользователей.