

NATASHA SLHESSARENKO

Determinação dos intervalos de referência do colesterol total, HDL-colesterol, colesterol não-HDL, LDL-colesterol e triglicérides em crianças e adolescentes saudáveis do Município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de: Pediatria

Orientadora: Profa. Dra. Cristina Miuki Abe Jacob

São Paulo

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Slhessarenko, Natasha

Determinação dos intervalos de referência do colesterol total, HDL-colesterol, colesterol não-HDL, LDL-colesterol e triglicérides em crianças e adolescentes saudáveis do Município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil / Natasha Slhessarenko. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Pediatria.

Orientadora: Cristina Miuki Abe Jacob.

Descritores: 1.Lipídeos 2.Colesterol 3.Triglicérides 4.HDL-colesterol 5.LDL-colesterol 6.Intervalos de referência 7.Criança 8.Adolescente

USP/FM/DBD-048/14

*”Quando não houver saída
Quando não houver mais solução
Ainda há de haver saída
Nenhuma ideia vale uma vida...”*

*Quando não houver esperança
Quando não restar nem ilusão
Ainda há de haver esperança
Em cada um de nós
Algo de uma criança...”*

*Quando não houver caminho
Mesmo sem amor, sem direção
A sós ninguém está sozinho
É caminhando
Que se faz o caminho...”*

Titãs

Dedicatórias

Às minhas amadas filhas, Marina e Maria Eduarda, pela grandeza com que sempre entenderam as minhas ausências, pela luz que irradiam e que ilumina e aquece os meus dias e pelas grandes e profundas lições que me ensinam diariamente!

Meu eterno orgulho e desmedido amor.

Agradecimentos especiais I

Às inocentes crianças e adolescentes que
participaram desta pesquisa. Aos seus pais ou
responsáveis que acreditaram na proposta

e nos confiaram seus filhos.

Minha eterna gratidão!

Agradecimentos especiais II

Agradeço a Deus, amigo de todas as horas, por sempre estar comigo, me guiando, mostrando o melhor caminho a seguir e me fazendo compreender que os momentos mais difíceis foram apresentados como oportunidades de crescimento pessoal e profissional.

À minha querida orientadora Profa. Dra. Cristina Miuki Abe Jacob, uma grande mulher e pediatra, por ter abraçado este trabalho e por ter demonstrado, em atitudes diárias simples, a grandeza de sua alma. Muito obrigada por todo o carinho, cuidado e atenção.

Ao Prof. Dr. Adagmar Andriolo, minha referência na Patologia Clínica, pelos infindáveis e inesquecíveis ensinamentos, pela seriedade e dedicação que o norteiam.

Ao Prof. Dr. Raymundo Soares de Azevedo Neto, meu maior exemplo de dedicação e amor pelos assuntos acadêmicos, pela paciência e esmero ao me ensinar.

Ao meu eterno Professor Dr. Cor Jesus Fernandes Fontes, por participar de todos os momentos desta pesquisa e estar sempre disponível.

Ao Edmar MIniacci, Diretor do Centro Oeste da DASA, por sempre me apoiar e por ter possibilitado a realização desta pesquisa.

Minha sincera gratidão e meu eterno carinho!

Agradecimentos

Aos meus pais, Leonardo e Serys, que sempre me ensinaram a sonhar alto, sempre nos caminhos da ética e da honestidade. Além disto, deram-me grandes lições de como amar e respeitar o próximo e a buscar incessantemente a proximidade da perfeição.

Ao Roberto, meu marido, pela compreensão, paciência, cuidado e palavras de estímulo durante esses dois anos e meio.

À minha linda, única e muito amada irmãzinha, Larissa, que me acompanhava durante as coletas às 5:00 horas, pelas creches e escolas de Cuiabá, tudo pelo desenvolvimento da pesquisa brasileira.

Aos meus irmãos Alexandre e Leonardo Filho, pela acolhida em suas casas em São Paulo e por sempre apoiarem todos os meus sonhos.

Aos outros membros da minha família, cunhadas, cunhados, tios, tias, primos, primas, sobrinhos, sobrinhas, sogros pelo incentivo, confiança e admiração pelos meus sonhos profissionais.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Bezerra de Melo, por ter tido a iniciativa e a coragem de coordenar o DINTER (Projeto de Doutorado Interinstitucional USP-UFMT), possibilitando o engrandecimento científico do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de Mato Grosso.

Aos Professores e colegas do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de Mato Grosso pela compreensão pela minha ausência e palavras de carinho e incentivo.

A toda a equipe da Secretaria Municipal de Saúde e de Educação, especialmente à doce Sidilene Ribeiro da Silva por nunca medir esforços para me ajudar ao me passar informações importantes.

Às equipes do Programa Escola com Saúde, especialmente Mariana Samiti Hayashi, Jaqueline Jara, Rosa Batista de Moraes, Vasco Vasconcelos Neto e Nensmorena Gonçalves Preza que sempre que podiam estavam comigo nas creches e escolas.

A todas as diretoras e diretores, coordenadoras e coordenadores, professoras e professores, cuidadoras, enfim, toda a equipe de educadores das creches e escolas municipais de Cuiabá, sorteadas na

pesquisa, pela acolhida e disponibilidade em ajudar. Ao citar o nome de cada uma delas ou deles eu poderia incorrer no erro do esquecimento, o que seria imperdoável.

Às queridas e inesquecíveis alunas Ananda Castro, Glaucia Novak, Natalia de Castro, Natassia Vaz, Joyce Sammara Santos, Giovana Tardim, Hyanne Abreu, Catarine Falci, Silvia Carolina Pereira de Souza, Silvia Pimenta, Priscila Cosac, Mariani Cuervo, Juliana Evangelista e ao aluno Camilo Rocha, que aplicavam os questionários e faziam as medidas antropométricas nas nossas crianças e adolescentes. Todos eles acreditaram e embarcaram comigo neste sonho.

À Marcia Penha Parra e ao Joilson Amorim, coletadores que me acompanharam em todas as creches e escolas. A competência, carinho e agilidade de vocês fizeram a diferença ao coletarmos sangue de 1.994 crianças e adolescentes cuiabanos.

Ao Dr. Octavio Fernandes e ao Dr. Claudio Pereira por compreenderem minhas frequentes ausências e pelo incentivo e palavras de conforto e amizade.

Ao Carlos Rosin, Maria Alice Martins Cuder, Maria Estela Morita, Luciene Matie, Eliza Taira, Fernanda Prieto, Débora de Castro Caetano, Gabriel Cury e toda a maravilhosa e competente equipe de produção do Núcleo técnico Operacional da DASA, pela atenção e cuidado com que manipularam nossas amostras, A todos os demais colaboradores da DASA que participaram desta pesquisa.

À minha eterna professora Cecilia Knoll Farah, que muito gentilmente me emprestou os esfignomanômetros pediátricos.

À minha eterna Profa. Terezinha Lermen pela paciência em esclarecer tantas dúvidas e me passar importantes artigos.

À Profa. Sandra Coenga de Souza, Prof. Carlos Antônio Maciel, Prof. Roberto Vinagre, Profa. Elibene Orro Junqueira, por me substituírem em minhas atitudes no Centro de Saúde Escola do Grande III.

Ao Prof. Antônio José de Amorim, diretor da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso, por me dar grandes dicas no desenho do estudo e por me substituir no Centro de Saúde Escola do Grande III.

A querida manamiga Rosane C Hahn por sempre me ajudar e fazer excelentes comentários.

Aos amigos Clovis Arthur da Silva e Antonio Carlos Pastorino por todas as preciosas sugestões.

As amigas de uma vida Kaline Lucena Fonseca e Evangelina da Motta Pacheco Alves de Araujo Vormittag, pelas palavras de incentivo, pela amizade e pelas valiosas contribuições.

A toda a equipe do Cedilab, especialmente às atendentes Elisangela Reis, Lauricely Marques, Rafael Nagano, Marcia Rocha, Odair Moreira, Gabrieli Carlotto, Raquel Vanessa de Faria, Ana Cristina da Silva, Jaqueline Lopes Ambrósio, Fatima Toriani, Adriana Cristina da Silva, Edmara Bispo e Denise de Oliveira por me ajudarem em todas as etapas do processo, desde o cadastro até o processamento das amostras.

À querida e prestativa Monica Souza, secretária da pós graduação, por toda a atenção e paciência dispensada. Sua competência e dedicação me encantaram.

À querida Mariza Yoshikawa pela incansável disposição em ajudar com as pesquisas bibliográficas.

As queridas Valéria de Vilhena Lombardi e Suely Campos Cardoso, pela simpatia, eficiência, presteza e gentileza em fazer a ficha catalográfica e ajudar com as referências.

Ao Nivaldo Rocha, pela presteza e competência com que sempre nos ajuda, desde os anos de residência médica.

A Nilza Pereira de Almeida, que cuida de todos nós quase 14 anos, e ao Jalmi Lourenço Leite, que me ajudava no deslocamento dos alunos e coletadores até as creches e escolas.

Vocês fizeram meu sonho acontecer!

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Annelise Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo. Divisão de Biblioteca e Documentação: 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas

Lista de tabelas

Lista de figuras

Resumo

Summary

1. Introdução.....	1
1.1. Justificativa	19
2. Objetivos.....	20
2.1. Objetivo Geral.....	21
2.2. Objetivos Específicos.....	21
3. População	22
4. Amostragem	27
4.1. População Participante e Indivíduos Excluídos.....	31
5. Metodologia.....	33
5.1. Critérios de Inclusão e Exclusão.....	34
5.2. Analitos.....	35
5.3. Coleta.....	36
5.3.1. Preparo das Crianças e Adolescentes para a Coleta.....	39
5.4. Análises Laboratoriais.....	40
5.4.1. Preparo das Amostras.....	40
5.4.2. Técnicas Laboratoriais Empregadas.....	41
5.4.3. Especificações da Técnica Laboratorial.....	43
5.4.4. Laboratório Executor das Análises.....	47
5.4.5. Análise Estatística.....	48
5.5. Aspectos Éticos.....	50
6. Resultados.....	51
6.1. Perfil das Crianças e Adolescentes do Estudo.....	52
6.2. Perfil das Crianças e Adolescentes quanto ao Estado Nutricional.....	53
6.3. Perfil das Famílias das Crianças e Adolescentes.....	54
6.4. Determinação dos Intervalos de Referência e dos Limites de Decisão.....	54
6.4.1. Agrupamentos Etários.....	54
6.4.2. Cálculo da Distribuição em Percentis.....	55

6.4.3. Exclusão dos Valores Acima ou Abaixo do 3º Desvio-Padrão.....	56
6.4.4. Estatística Descritiva de Cada Parâmetro Bioquímico e Cálculo dos Intervalos de Referência Laboratoriais.....	58
6.4.4.1. Colesterol Total.....	59
6.4.4.2. HDL – Colesterol.....	62
6.4.4.3. Colesterol Não-HDL.....	67
6.4.4.4. LDL – Colesterol.....	71
6.4.4.5. Triglicérides.....	74
6.5. Distribuição dos Lípides em Percentis.....	79
6.5.1. Colesterol Total.....	80
6.5.2. HDL – Colesterol.....	82
6.5.3. Colesterol Não-HDL.....	83
6.5.4. LDL – Colesterol.....	85
6.5.5. Triglicérides.....	87
6.6. Limites de Decisão e Respectivas Concentrações dos Parâmetros Avaliados.....	90
7. Discussão.....	92
8. Conclusões.....	114
9. Referências.....	119
Anexos	

LISTA DE ABREVIATURAS

AACC	<i>American Association of Clinical Chemistry</i>
AAP	<i>American Academy of Pediatrics</i>
AHA	<i>American Heart Association</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CALIPER	<i>Canadian Laboratory Initiative on Pediatric Reference Intervals</i>
CHILDX	<i>Children's Health Improvement through Laboratory Diagnostics</i>
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
cNão-HDL	Colesterol Não-HDL
CT	Colesterol total
DCA	Doença Cardiovascular Aterosclerótica
DP	Desvio padrão
EPTRV	Expert Panel on Theory of Reference Values
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HDL-c	<i>High Density Lipoprotein Cholesterol</i>
HF	Hipercolesterolemia Familiar
IFCC	<i>International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine</i>
IR	Intervalo de Referência
KIGGS	<i>German Health Interview and Examination survey for Children and Adolescents</i>
ICSH	<i>International Council for Standardization in Haematology</i>
LDL-c	<i>Low Density Lipoprotein Cholesterol</i>
MT	Mato Grosso
NCCLS	<i>National Committee for Clinical Laboratory Standards</i>
NCEP	<i>National Cholesterol Education Program</i>
NCS	<i>National Children's Study</i>
NHLBI	<i>National Heart, Lung and Blood Institute</i>
NORICHILD	<i>Nordic Reference Intervals in Children</i>
NTO	Núcleo Técnico Operacional
OMS	Organização Mundial da Saúde
SBPC/ML	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
SM	Síndrome Metabólica
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicérides
USFDA	<i>United States Food and Drug Administration</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Limite inferior, limite superior e número de amostras no sexo feminino e masculino de CT; HDL-c e TG em 2.188 crianças e adolescentes canadenses.....	11
Tabela 2 -	Média e desvio padrão dos lípides e lipoproteínas de 1.501 crianças e adolescentes de 6 a 16 anos de Bento Gonçalves.....	12
Tabela 3-	Distribuição das concentrações de CT, HDL-c e LDL-c nos percentis 75 e 95 em 1.600 crianças e adolescentes de 7 a 14 anos em Campinas.....	13
Tabela 4-	Distribuição das concentrações de CT, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e TG em mg/dL nos percentis 50, 75 e 95 em 936 escolares de 2 a 9 anos em Maracáí.....	13
Tabela 5-	Distribuição das concentrações de CT, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e TG em mg/dL nos percentis 50, 75 e 95 em 1.116 escolares de 10 a 18 anos em Maracáí.....	14
Tabela 6-	Média, desvio padrão e percentis 5 e 95 dos lípides e lipoproteínas em 1.053 escolares de 7 a 18 anos de idade.....	14
Tabela 7-	Valores de referência lipídica propostos para a faixa etária de 2 a 19 anos (Giuliano et al., 2005 e Xavier et al., 2013).....	16
Tabela 8-	Valores de referência para lípides e lipoproteínas em crianças e adolescentes (Santos et al., 2012).....	17
Tabela 9-	Valores de referência lipídica propostos para a faixa etária de 1 a 19 anos (AAP, 1992).....	17
Tabela 10-	Concentrações desejáveis, limítrofes-altas e altas dos lípides e lipoproteínas em crianças e adolescentes (NHLBI, 2012).....	17
Tabela 11-	Número de creches e escolas municipais por região do município de Cuiabá.....	28
Tabela 12-	Distribuição de crianças e adolescentes participantes do estudo por idade.....	32
Tabela 13-	Especificações analíticas.....	42
Tabela 14-	Distribuição das crianças e adolescentes quanto ao estado nutricional.....	53
Tabela 15-	Parâmetros bioquímicos, agrupamentos etários, média, desvio padrão, faixa de inclusão, número de crianças e adolescentes excluídos e número final de crianças e adolescentes utilizados para a determinação dos intervalos de referência (IR).....	57
Tabela 16-	Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.858 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do colesterol total.....	59
Tabela 17-	Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.848 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do HDL-colesterol.....;	63
Tabela 18-	Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.854 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do colesterol não-HDL.....	67
Tabela 19-	Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.856 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do LDL-colesterol.....	71
Tabela 20-	Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.839 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do triglicérides.....	75
Tabela 21-	Intervalo de Referência para os lípides estudados.....	79
Tabela 22-	Distribuição dos valores de CT nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e por sexo.....	81
Tabela 23-	Distribuição dos valores de HDL-c nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e por sexo.....	83
Tabela 24-	Distribuição dos valores de cNão-HDL nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e	

	por sexo.....	84
Tabela 25-	Distribuição dos valores de LDL-c nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e por sexo.....	86
Tabela 26-	Distribuição dos valores de Triglicérides nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e por sexo.....	88
Tabela 27-	Comparação entre médias de cada parâmetro bioquímico avaliado em cada faixa etária entre ambos os sexos.....	89
Tabela 28-	Concentrações desejáveis, limítrofes e elevadas do CT, cNHDL, LDL-c e TG em 1866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.....	90
Tabela 29-	Concentrações desejáveis, limítrofes e baixas do HDL-c em 1866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.....	91

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Mapa da América do Sul, do Brasil e de Mato Grosso, evidenciando a localização de Cuiabá e a localização central da capital mato-grossense.....	23
Figura 2-	Mapa de Mato Grosso com os três ecossistemas.....	24
Figura 3-	Representação esquemática das 4 regiões: Norte, Sul, Leste e Oeste do município de Cuiabá, suas respectivas instituições municipais de ensino e as creches e escolas visitadas.....	30
Figura 4-	Distribuição da concentração do colesterol total em 1.858 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	60
Figura 5-	Histogramas por faixa etária com os valores de colesterol total (mg/dL) após exclusão dos <i>outliers</i> com curva de Gauss acoplada.....	61
Figura 6-	Intervalo de referência para o colesterol total (mg/dL) em 1.858 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	62
Figura 7-	Distribuição da concentração do HDL-colesterol em 1.848 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	64
Figura 8-	Histogramas por faixa etária com os valores de HDL-colesterol (mg/dL) após exclusão dos <i>outliers</i> com curva de Gauss acoplada.....	65
Figura 9-	Intervalo de referência para o HDL-colesterol (mg/dL) em 1.848 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	66
Figura 10-	Distribuição da concentração do colesterol não-HDL em 1.854 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	68
Figura 11-	Histogramas em uma única faixa etária com os valores de colesterol não-HDL (mg/dL) após exclusão dos <i>outliers</i> com curva de Gauss acoplada.....	69
Figura 12-	Intervalo de referência para o colesterol não-HDL (mg/dL) em 1.854 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	70
Figura 13-	Distribuição da concentração do LDL-colesterol em 1.856 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	72
Figura 14-	Histogramas por faixa etária com os valores de LDL-colesterol (mg/dL) após exclusão dos <i>outliers</i> com curva de Gauss acoplada.....	73
Figura 15-	Intervalo de referência para o LDL-colesterol (mg/dL) em 1.856 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	74
Figura 16-	Distribuição da concentração do triglicérides em 1.839 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	76
Figura 17-	Histogramas por faixa etária com os valores de triglicérides (mg/dL) após exclusão dos <i>outliers</i> com curva de Gauss acoplada.....	77
Figura 18-	Intervalo de referência para o triglicérides (mg/dL) em 1.839 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	78
Figura 19-	Distribuição da concentração de colesterol total (mg/dL) nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas em 1.866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	80
Figura 20-	Distribuição da concentração de HDL-colesterol (mg/dL) nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas em 1.866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	82
Figura 21-	Distribuição da concentração de LDL-colesterol (mg/dL) nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas em 1.866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	85
Figura 22-	Distribuição da concentração de triglicérides (mg/dL) nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas em 1.866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.....	87

RESUMO

Slhessarenko N. Determinação dos intervalos de referência do colesterol total, HDL-colesterol, colesterol não-HDL, LDL-colesterol e triglicérides em crianças e adolescentes saudáveis do Município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

A determinação de Intervalos de Referência (IR) é uma árdua tarefa para os laboratórios clínicos, porém indispensável e de fundamental importância para a tomada de decisão médica. Para parâmetros como os lípides séricos, os IR tem sido estabelecidos consensos nacionais ou internacionais definindo limites de decisão (CLSI, 2008). O objetivo deste estudo foi determinar os IR para colesterol total, HDL-colesterol, colesterol não-HDL, LDL-colesterol e triglicérides séricos em crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá, capital do estado de Mato Grosso. Trata-se de um estudo transversal, descritivo, realizado em 1.866 crianças e adolescentes saudáveis de creches e escolas municipais desta capital, obtidas por amostragem aleatória. Foi aplicado um questionário avaliando antecedentes do indivíduo e de seus familiares além de dados demográficos e antropométricos. Foram definidos como critérios de inclusão do estudo, crianças e adolescentes nas faixas etárias de 1 a 12 anos 11 meses e 29 dias, sem nenhuma doença de base diagnosticada ou queixas clínicas no momento da coleta. Além disto, os participantes não deveriam fazer uso regular de medicamento. As amostras foram coletadas em jejum. As amostras foram processadas no equipamento cobas® 6000 (analyser series - Roche Diagnostics), em laboratório da rede DASA na cidade de Cuiabá. Em relação à metodologia estatística, foi analisada a homogeneidade das variâncias através do teste de Bartlett para cada analito por idade e, posteriormente, testados pelo teste ANOVA ou Kruskal-Wallis para verificar a existência de diferença entre as faixas etárias. O teste “post hoc” de Bonferroni foi aplicado quando se constatou a diferença para reagrupar as faixas etárias similares, constituindo assim novos grupos etários. Aplicou-se então, o teste de Bartlett e, conforme seu resultado, realizou-se ANOVA ou Kruskal-Wallis para verificar se os agrupamentos nas faixas se mantinham. Em seguida, procedeu-se a exclusão de valores extremos (outliers) tomados como sendo aqueles valores acima ou abaixo da média ± 3 desvios-padrão. Depois de excluídos os outliers, obteve-se o IR como sendo a média ± 2 desvios-padrão dos valores remanescentes. Adicionalmente, foi calculada a distribuição em percentis, sendo adotado o critério do NHLBI 2012 como proposta de limite de decisão para a população estudada. Em todos os testes, o nível de significância adotado foi de 5%. As análises estatísticas foram realizadas pelos programas MINITAB (versão 15) e SPSS (versão 16). Este projeto foi aprovado pelas Comitês de Ética em Pesquisa das instituições envolvidas e das Secretarias Municipais de Educação e Saúde de Cuiabá. Os valores encontrados para o colesterol total, nos percentis 75 e 95 foram: 1 a 2 anos de 160 mg/dL e 189 mg/dL; 3 a 8 anos de 170 mg/dL e 199 mg/dL; 9 a 12 anos de 176 mg/dL e 205 mg/dL, respectivamente. Para o colesterol não-HDL, na única faixa etária de 1 a 12 anos, os valores nestes percentis foram de 122 mg/dL e 150 mg/dL, respectivamente. Para o LDL-colesterol, os valores correspondentes aos percentis acima, na faixa etária de 1 a 8 anos e de 9 a 12

anos, foram de 104 mg/dL e 132 mg/dL; 106 mg/dL e 139 mg/dL, respectivamente. Para os triglicérides, os valores correspondentes aos referidos percentis foram: 1 ano de 127 mg/dL e 189 mg/dL; 2 a 5 anos de 98 a 139 mg/dL; 6 a 12 anos de 92 mg/dL e 139 mg/dL. Para as faixas etárias propostas para o HDL-colesterol os valores correspondentes ao percentil 10 foram: 1 ano de 24 mg/dL; 2 anos de 28 mg/dL; 3 anos de 32 mg/dL e de 4 a 12 anos foi de 36 mg/dL. Os valores dos parâmetros aqui avaliados, definidos em diferentes faixas etárias em crianças e adolescentes brasileiros da cidade de Cuiabá, podem representar limites de decisão para a população pediátrica brasileira contribuindo para aprimorar o diagnóstico neste grupo específico em nosso país.

Descritores: Lipídeos; Colesterol; Triglicerídeos; HDL-colesterol, LDL- colesterol; Intervalos de referência; Criança; Adolescente.

SUMMARY

Slhessarenko N. Determining Reference Intervals (RI) of total cholesterol, HDL-cholesterol, cholesterol non-HDL, LDL-cholesterol and triglycerides in healthy children and adolescents in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

Establishment of Reference Intervals (RI) is an arduous task for clinical laboratories however vital and fundamental importance to medical decision making. For some parameters, such as serum lipids, RI have been established by national and international consensus defining decision limits (CLSI 2008). The aim of this study was to determine pediatric RI of total cholesterol, HDL-cholesterol, cholesterol non-HDL, LDL-cholesterol and triglycerides in healthy children and adolescents in Cuiabá, capital of Mato Grosso. This is a descriptive study, conducted in 1,866 healthy children and adolescents from kindergartens and schools of the capital city, obtained by random sampling. A questionnaire assessing the individual background and their relatives besides demographic and anthropometric data had been also carried out. Were defined as inclusion criteria of the study, children and adolescents in the group 1-12 years 11 months and 29 days without any underlying disease or diagnosed clinical complaints at the time of collection. In addition, participants should not take any regular medication. The samples were collected during fasting period and were determined using cobas® 6000 (analyser series - Roche Diagnostics). Regarding statistic methodology, we did analyse the homogeneity of variances by Bartlett's test for each parameter by age and subsequently by ANOVA or Kruskal-Wallis test to check the differences between age groups. The test "post hoc" Bonferroni was applied when it was found the difference to regroup similar age groups, thus constituting a new age bracket. After this procedure the Bartlett test was applied, as it result, we did conduct ANOVA or Kruskal-Wallis to check if the groups remained. Then proceeded to the exclusion of extreme values (outliers) taken as those values above or below the mean \pm 3 standard deviations. After excluding outliers, obtained the RI as the mean \pm 2 standard deviations of the remaining values. Additionally, we calculated the percentile distribution, and adopted the criteria of NHLBI 2012 as proposed decision limit for the population studied. In all tests, the significance level was 5%. Statistical analyzes were performed by Minitab software (version 15) and SPSS (version 16). The project was approved by the Research Ethics Committees of the institutions involved and Municipal Departments of Education and Health of Cuiabá city. The values obtained for total cholesterol, 75 and 95 percentiles, were: 1 to 2 years, 160 mg/dL and 189 mg/dL; 3 to 8 years, 170 mg/dL and 199 mg/dL; 9 to 12 years, 176 mg/dL and 205 mg/dL, respectively. For the non-HDL cholesterol, the only age group 1 to 12 years, this percentiles values were 122 mg/dL and 150 mg/dL, respectively. For the LDL-cholesterol, the values corresponding to the percentiles above, aged 1 to 8 years and 9 to 12 years, were 104 mg/dL and 132 mg/dL; 106 mg/dL and 139 mg/dL, respectively. For the triglycerides, the values corresponding to these percentiles were: 1 year, 127 mg/dL and 189 mg/dL; 2 to 5 years, 98 to 139 mg/dL; 6 to 12 years, 92 mg/dL and 139 mg/dL. For ages proposed for HDL-cholesterol the corresponding values to 10th percentile were: 1 year, 24 mg/dL; 2 years, 28 mg/dL; 3 years, 32 mg/dL and 4 to 12 years were 36 mg/dL. The values of the parameters

evaluated here, defined in different age groups in Brazilian children and adolescents in the city of Cuiabá, can represent decision limits for the Brazilian pediatric population contributing to improve the diagnosis in this particular group in our country.

Descriptors: Lipids; Cholesterol; Triglycerides; HDL-cholesterol; LDL-cholesterol; Reference intervals; Child; Adolescent

1. INTRODUÇÃO

Os intervalos de referência (IR) são um conjunto de valores utilizados para interpretar os resultados dos exames laboratoriais quantitativos e são poderosas ferramentas, que auxiliam os profissionais de saúde na tomada de decisões durante a assistência ao paciente (Jung; Adeli, 2009; Adeli, 2011; Huma; Waheed, 2013).

A análise de um resultado de exame laboratorial é realizada ao se comparar o resultado do paciente com os IR que acompanham o laudo, permitindo distinguir os indivíduos saudáveis dos indivíduos doentes (Shine, 2008). A interpretação dos dados de um laudo fornecido pelo laboratório clínico é, portanto, um processo de tomada de decisão comparativo (CLSI, 2008).

A medicina laboratorial demonstra sua força e importância, quando seus resultados influenciam as decisões médicas em 60 a 70% dos casos (Frosman, 1996). O IR, indubitavelmente, é a ferramenta mais amplamente utilizada para a tomada de decisões clínicas (Horn; Pesce, 2003).

Para que os resultados das dosagens laboratoriais possam ser avaliados como informações úteis é fundamental que sejam interpretados comparando-os com IR apropriados ao paciente em estudo e à população assistida (Vieira, 2002; Andriolo, 2005; Ferreira; Andriolo, 2008).

Quanto à nomenclatura, o conceito de IR conhecido nos dias atuais, foi desenvolvido por Gräsbeck e Saris (1969). Estes autores propuseram a

substituição do termo valor normal, de significado incerto e ambíguo, por um termo neutro, como valor ou intervalo de referência. Apesar disso, os termos *valor padrão*, *valor normal*, *intervalo de normalidade*, *limite de normalidade* e *limite normal* ainda são utilizados como sinônimos de IR, mas as expressões valores de referência e intervalo de referência são as que devem ser aplicadas, segundo o que preconiza o documento do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), cuja terminologia foi proposta pelo *Expert Panel on Theory of Reference Intervals* (EPTRV) da *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (IFCC) (Gräsbeck, 1981 ; Soldberg, 1987; Solberg, 2006; CLSI, 2008).

Em 2000, o *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS), a Organização Mundial de Saúde (OMS), a IFCC e o *International Council for Standardization in Haematology* (ICSH) definiram em conjunto que, valor de referência seria um valor (resultado) obtido pela observação ou mensuração quantitativa de um analito em um indivíduo selecionado (NCCLS, 2000).

Em 2004, o *United States Food and Drug Administration* (USFDA) e a IFCC, caracterizaram IR como a faixa de valores de resultados compreendidos entre os percentis 2,5 e 97,5 obtidos de uma população de referência (Griffiths et al., 2004).

Em 2008, o CLSI definiu IR como o intervalo entre, e incluindo, dois limites de referência, sendo este o intervalo de valores que se estende de

um limite de referência inferior a um limite de referência superior, estabelecido a partir de um grupo de indivíduos de referência, ou seja, pessoas selecionadas com critérios bem definidos. Em alguns casos, somente um dos limites de referência tem importância médica (CLSI, 2008).

Para alguns parâmetros, no entanto, o termo IR tem sido estabelecido por consensos nacionais e internacionais, como ocorre para os lípidos, glicemia, hemoglobina glicada, entre outros, definindo os chamados limites de decisão (CLSI, 2008).

Comumente os laboratórios clínicos determinam os seus IR a partir da validação de valores especificados nas bulas que acompanham os reagentes, ou pela validação de dados disponíveis na literatura, ou ainda, pela validação de IR determinados por outros laboratórios, mas idealmente os laboratórios devem estabelecer seus IR próprios (Ferreira; Andriolo, 2008).

O estabelecimento de IR próprios é um processo muito trabalhoso e oneroso para os laboratórios clínicos, mas é o melhor método, uma vez que reflete as condições da população para a qual os testes serão aplicados no dia a dia. Neste caso, deve-se coletar, pelo menos 120 amostras de indivíduos qualificados como de referência e utilizar métodos não paramétricos para a análise estatística (Ferreira; Andriolo, 2008; CLSI, 2008).

A determinação de IR próprios, objeto deste estudo, requer o cumprimento de várias etapas. O passo inicial consiste em conhecer os interferentes analíticos e as fontes de variação biológica para cada parâmetro laboratorial a ser estudado (CLSI, 2008).

Define-se como interferente analítico todo e qualquer fator que, durante o ensaio, provoque ou favoreça a ocorrência de alteração no resultado de um exame. São fatores que, quando presentes na amostra, vão atuar durante o ensaio, levando a resultados falsos. Os resultados podem ser falsamente elevados ou falsamente baixos (Vieira, 2002).

Entende-se por variação biológica todos os fatores que podem interferir individualmente no resultado de um exame e é definida como a variação natural, de ocorrência fisiológica, própria do indivíduo e que independe das variáveis pré-analíticas. São exemplos de variações biológicas, o sexo, a idade, a raça, os ritmos cronobiológicos, a variedade genética, a fase do ciclo menstrual, a dieta habitual do indivíduo, a prática de atividade física, o *stress*, o uso de medicamentos, bebidas alcoólicas, café ou fumo (Plebani; Lippi, 2012). A variação biológica reflete as flutuações no resultado laboratorial de um analito, medido em momentos diferentes e resultam da resposta do organismo a diferentes estímulos (Kroll, 2002; Zimath et al., 2008). A aplicação, pelos médicos, do conceito de variação biológica aumenta a capacidade do mesmo entender alterações nos resultados dos exames dos seus pacientes (Young; Bermes, 2006).

Outros passos para o estabelecimento de IR próprios, consistem em definir as condições de coleta, o tempo de jejum, o tipo de tubo e material a ser coletado, a postura do paciente no momento da coleta, o uso ou não do torniquete, a técnica de coleta, as condições e o tempo de armazenamento das amostras, o transporte da amostra, a metodologia adotada e os reagentes e controles a serem utilizados. A elaboração e aplicação de questionário à população selecionada, a definição dos critérios de inclusão e exclusão, o consentimento por escrito de cada participante ou responsável, a definição da plataforma de execução dos exames, a escolha das ferramentas estatísticas apropriadas para a análise dos dados, compreendem outros passos (CLSI, 2008).

A seleção dos indivíduos de referência é o passo mais complexo e é o grande fator limitante deste tipo de estudo (CLSI, 2008). Segundo Griffiths et al. (2004), indivíduos de referência são pessoas livres de qualquer doença e que são representativas da população assistida. Os critérios de seleção dos indivíduos devem ser claramente definidos e são determinantes para um resultado e representatividade adequados. Os indivíduos selecionados irão representar a população assistida, dentro da qual o grupo de amostras será selecionado, os valores de referência serão medidos e os intervalos de referência estabelecidos (Ceriotti et al., 2009).

A determinação dos IR, de fato, é uma tarefa desafiadora e árdua para todos os laboratórios clínicos (Ferreira; Andriolo, 2008; CLSI, 2008;

Ceriotti, 2012) e a determinação de IR na faixa etária pediátrica é ainda mais desafiadora (Adeli, 2011; Shaw et al., 2013).

Nos laboratórios brasileiros, quando uma criança ou adolescente é submetido a exames laboratoriais, seus resultados, na maior parte das vezes, são interpretados usando IR de adultos ou comparados com referências de crianças e adolescentes de outros países.

Friedberg et al. (2007), evidenciaram que metade de 163 laboratórios, a maioria americanos, estabeleciam IR para adultos, mas muito poucos o faziam para crianças. Além de não adequadamente estabelecidos, os IR pediátricos devidamente distribuídos por sexo e idade não estão ainda prontamente disponíveis (Bailey et al., 2013).

Ao envolver o cuidado com crianças e adolescentes, a pediatria se depara com uma enorme variabilidade etária, desde a fase de recém-nascido até os 19 anos, cada qual com suas particularidades fisiológicas, homeostáticas e metabólicas muito evidentes e que, indubitavelmente, provocam reflexos nos exames laboratoriais (Adeli, 2011).

As crianças e adolescentes apresentam velocidade de crescimento muito elevada, em especial até os cinco anos de idade (Ministério da Saúde, 2002). Os lactentes, por estarem em constante e franco crescimento orgânico, chegam a duplicar de peso em cinco meses e a triplicar em um ano (Marcondes et al., 2002). Quanto ao comprimento, há um incremento de 50% da medida de nascimento até o final do primeiro ano de vida e durante

a adolescência, há crescimento em estatura, de aproximadamente, 10 cm em um ano. Em nenhum outro momento da vida, isto voltará a acontecer com esta magnitude e em intervalo de tempo tão curto (Marcondes et al., 2002). Estas alterações fisiológicas contínuas no crescimento das crianças e adolescentes têm reflexos na análise de diversos parâmetros laboratoriais (Soldin, 2011).

Há um grande esforço mundial envolvendo vários países, que objetiva melhorar a prática da Medicina Laboratorial Pediátrica (Kohse, 2007).

Nos Estados Unidos, uma grande coorte, o *National Children's Study* (NCS), envolvendo o acompanhamento de 100.000 crianças, tem como um dos objetivos determinar o IR para diferentes faixas etárias. Ainda nos Estados Unidos, em 1999, o ARUP, Laboratório de análises clínicas e anatomia patológica, em parceria com o Departamento de Patologia da Universidade de Utah, criou um programa de diagnóstico laboratorial, o *Children's Health Improvement through Laboratory Diagnostics* (CHILDx). Desde 2002, este grupo vem realizando a coleta de exames para determinar os IR em pediatria de uma série de analitos biológicos, com ênfase nas dosagens hormonais.

Na Alemanha, o estudo denominado *German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents* (KIGGS), que inclui uma coorte, desenvolvido pelo governo em parceria com o Instituto Robert Koch,

além de estudar diversos dados de saúde, coleta amostras de sangue para o estabelecimento de IR em crianças e adolescentes alemães.

No Canadá, o CALIPER (*Canadian Laboratory Initiative on Pediatric Reference Intervals*) objetiva criar um banco de dados multiétnico, atualizado e confiável de IR, distribuído por sexo e idade, desde o período neonatal até a adolescência que representará a população canadense diversificada (Kulasingam et al., 2010)

O NORICHILD (*Nordic Reference Intervals in CHILDren*) (2013) é uma iniciativa dos países nórdicos para o estabelecimento de IR em crianças.

A definição de IR na faixa etária pediátrica é, portanto um assunto de interesse para os laboratórios clínicos e pediatras de diversos países.

A dosagem dos lípides é um dos exames mais solicitados na prática pediátrica e tem assumido importância cada vez maior, frente à verdadeira epidemia de obesidade e síndrome metabólica que o Brasil e o mundo vêm enfrentando (Oliveira et al., 2004; Capanema et al., 2010). Os *guidelines* internacionais e nacionais utilizam como referência estudos clássicos realizados em crianças e adolescentes como o Bogalusa e o *National Cholesterol Education Program* (NCEP) através do seu *Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents* (Berenson et al., 1998; AAP, 1992; NCEP, 1992, AAP, 1998). Todos estes, bem como outros

estudos, foram realizados há mais de três décadas, mas suas referências continuam a ser utilizadas ainda hoje.

Para os lípides, como já referido, utiliza-se mais o conceito de limite de decisão. Utilizando esse conceito, os indivíduos são classificados em três categorias: desejável ou aceitável, limítrofe e elevado ou alto, baseado na distribuição em percentis dos valores dos lípides e no risco de doença cardiovascular.

Considera-se desejável quando a concentração do lípide for menor que o percentil 75, limítrofe, quando está entre o percentil 75 e 95 aproximadamente, e alto quando a concentração for maior ou igual ao percentil 95. Estes critérios são válidos para o CT, cN-HDL e para o LDL-c (AAP, 1992; NCEP, 1992; Srinivasan et al., 2002; Kwiterovich Jr, 2008; NHLBI, 2012). Para o TG a referência aponta o critério adotado proposto pela *American Heart Association* (AHA) que adota o valor de 150 mg/dL a partir do qual as concentrações deste analito são consideradas elevadas (Kavey et al., 2003; Daniels; Greer, 2008), entretanto os guidelines utilizam os limites de 100 mg/dL ou 130 mg/dL, conforme a faixa etária (Giuliano et al., 2005a; Santos et al., 2012; NHLBI, 2012; Xavier et al., 2013). Para o HDL-c, utiliza-se o percentil 5 ou 10, dependendo do estudo, como limite a partir do qual se consideram baixas as concentrações deste analito (AAP, 1992; NCEP, 1992; NHLBI, 2012). Estes critérios são utilizados por todos os consensos nacionais e internacionais, exceto na I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na infância e na adolescência (Giuliano et al, 2005a).

Todos os valores apresentados nos *guidelines* brasileiros são originários dos estudos com crianças e adolescentes americanos (Maranhão et al., 2001; Santos et al., 2012).

Um estudo canadense, o CALIPER, recentemente publicado (Colantonio et al., 2012) reforça que os valores limites de decisão são mais apropriados que os IR para alguns analitos (especialmente para lípidos) pois permitem avaliação e monitoramento de desordens clínicas, mas refere que ter à disposição IR para lípidos teria grande interesse epidemiológico. Os valores encontrados neste estudo envolvendo 2.188 crianças e adolescentes, de recém-nascidos até os 18 anos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Limite inferior, limite superior e número de amostras no sexo feminino e masculino de CT; HDL-c e TG em 2.188 crianças e adolescentes canadenses (Colantonio et al. (2012)).

Analito/ faixa etária	Limite inferior (mg/dL)		Limite superior (mg/dL)		Número de amostras	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Colesterol total						
0 a 14 dias	46	42	125	109	101	108
15 dias a 1 ano	64	64	237	237	152	152
1 a 19 anos	112	112	208	208	931	931
HDL-colesterol						
0 a 14 dias	15	15	42	42	147	147
15 dias a 1 ano	12	12	71	71	146	146
1 a 4 anos	32	32	63	63	97	97
4 a 13 anos	36	36	73	73	407	407
13 a 19 anos	32	32	72	68	203	197
Triglicérides						
0 a 14 dias	82	82	259	259	138	138
15 dias a 1 ano	53	53	258	258	141	141
1 a 19 anos	44	44	197	197	893	893

No Brasil, existem poucos trabalhos os quais estudaram IR de lípidos em crianças e adolescentes. A maior parte desses estudos objetivou realizar o levantamento populacional em determinadas localidades.

O primeiro estudo envolvendo o estabelecimento de IR de lípidos em crianças e adolescentes foi realizado por Rossi et al. (1990) e envolveu 61 meninas, entre seis e 15 anos de idade.

Gerber e Zielinsky (1997), estudaram 1.501 crianças e adolescentes de seis a 16 anos de idade em Bento Gonçalves (Rio Grande do Sul) para obter um perfil dos fatores de risco nesta população.

Tabela 2 - Média e desvio padrão dos lípidos e lipoproteínas de 1.501 crianças e adolescentes de 6 a 16 anos de Bento Gonçalves (Gerber e Zielinsky (1997)).

Parâmetros	Média (mg/dL)	Desvio padrão
CT	167,22	30,57
HDL-c	52,07	10,49
LDL-c	97,27	23,33
TG	89,45	36,82

Moura et al., (2000), descreveram o perfil lipídico e a prevalência de hipercolesterolemia em 1.600 escolares de 7 a 14 anos em Campinas. Estes autores estudaram em cada uma das faixas etárias e por sexo, as médias e a distribuição dos valores em percentis. Os escolares apresentaram média de 160 mg/dL para o CT, 49 mg/dL para o HDL-c, 96 mg/dL para o LDL-c, 16 mg/dL para o VLDL-c e 79 mg/dL para o TG, em ambos os sexos. A distribuição por sexo nos percentis 75 e 95 do CT, HDL-c e do LDL-c pode ser observada na Tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição das concentrações de CT, HDL-c e LDL-c nos percentis 75 e 95 em 1.600 crianças e adolescentes de 7 a 14 anos em Campinas (Moura et al., 2000)

Parâmetros	P75 (mg/dL)	P95 (mg/dL)
CT		
Meninas	181	212
Meninos	178	210
HDL-c		
Meninas	----	70
Meninos	----	75
LDL-c		
Meninas	110	140
Meninos	105	130

Seki et al. (2003a); Seki et al. (2003b), estabeleceram intervalos de referência de lípidos em população de escolares de 2 a 9 anos de idade (936 crianças, 461 meninas e 475 meninos) e 10 a 19 anos de idade (1.116 adolescentes, 607 meninas e 509 meninos), na cidade de Maracaí, São Paulo. A distribuição em percentis dos valores encontrados em mg/dL é ilustrada nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4 - Distribuição das concentrações de CT, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e TG em mg/dL nos percentis 50, 75 e 95 em 936 escolares de 2 a 9 anos em Maracaí (Seki et al. (2003a)).

Parâmetros	P5 (mg/dL)	P50 (mg/dL)	P75 (mg/dL)	P95 (mg/dL)
CT	114	152	170	196
HDL-c	34	50	57	70,3
cNão-HDL	63	101	118	144
LDL-c	49,2	84,6	101,1	124,7
TG	43	72	90	130

Tabela 5 - Distribuição das concentrações de CT, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e TG em mg/dL nos percentis 50, 75 e 95 em 1.116 escolares de 10 a 18 anos em Maracaí (Seki et al. (2003b)).

Parâmetros	P5 (mg/dL)	P50 (mg/dL)	P75 (mg/dL)	P95 (mg/dL)
CT	102	143	161,3	189
HDL-c	33	49	57	73
cNão-HDL	54	92	110	137
LDL-c	40,1	77,6	93	118,2
TG (mg/dL)	40	71	90	131

Giuliano et al. (2005b), determinaram a distribuição dos lípides em 1.053 crianças e adolescentes, entre 7 e 18 anos, em Florianópolis, Santa Catarina. Este trabalho também objetivou determinar a associação entre lípides e outros fatores de risco para aterosclerose. Também foi um trabalho descritivo sem ser propositivo para IR. As médias e desvios padrão desta pesquisa podem ser visualizados na Tabela 6.

Tabela 6 - Média, desvio padrão e percentis 5 e 95 dos lípides e lipoproteínas em 1.053 escolares de 7 a 18 anos de idade (Giuliano et al. (2005b)).

Parâmetros	Média (mg/dL)	Desvio padrão	P95 (mg/dL)	P5 (mg/dL)
CT	162	28	214	----
HDL-c	53	10	----	38
cNão-HDL	109	26	156	----
LDL-c	89	24	133	----
TG	93	47	183	----

Outros pesquisadores brasileiros também avaliaram a prevalência de dislipidemia em crianças e adolescentes, de diferentes faixas etárias, como Ribas e Silva (2009), que avaliaram 437 crianças e adolescentes de seis a 19 anos, provenientes de escolas particulares de Belém do Pará. Pereira et al. (2010), fizeram uma avaliação da magnitude das dislipidemias e a relação

entre o perfil lipídico com excesso de peso e obesidade abdominal em 470 adolescentes de 10 a 14 anos em Recife, Pernambuco. Alcântara Neto et al. (2012), estudaram a prevalência de dislipidemias em 937 crianças e adolescentes de sete a 14 anos, estudantes da rede pública na Bahia.

Não se tem conhecimento da existência de outros estudos realizados com o objetivo de definir IR para a população pediátrica e de adolescentes no Brasil.

Diante do exposto acima, o tema da presente pesquisa, de estabelecer os IR para CT, HDL-c, cNHDL, LDL-c e TG em crianças e adolescentes saudáveis de Cuiabá, tornou-se um grande desafio.

Atualmente, três diretrizes brasileiras abordam o tema lípidos em crianças e adolescentes no Brasil: a I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na infância e na adolescência (Giuliano et al., 2005a), a I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (Santos et al., 2012) e a V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose (Xavier et al., 2013). A diretriz proposta por Giuliano et al. (2005a), é a única específica para a faixa etária infanto-juvenil. Os valores considerados como limites de decisão em cada uma destas diretrizes citadas são apresentados nas Tabelas 7 e 8. Os valores considerados limites de decisão segundo NCEP (1992) e NHLBI (2012) são mostrados nas Tabelas 9 e 10.

Na I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na infância e na adolescência (Giuliano et al., 2005a), os valores adotados são menores que

os propostos nas diretrizes americanas. Foram considerados como desejáveis, limítrofes e elevados, valores equivalentes aos percentis 50, 50 a 75 e acima de 75, respectivamente. Na V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose (Xavier et al., 2013), documento da Sociedade Brasileira de Cardiologia para adultos, os valores são iguais aos apresentados por Giuliano et al. (2005a). A partir dos critérios estabelecidos nestes consensos torna-se possível caracterizar, diagnosticar e acompanhar a eficácia do tratamento das dislipidemias.

Tabela 7 - Valores de referência lipídica propostos para a faixa etária de 2 a 19 anos (Giuliano et al. (2005a); Xavier et al. (2013)).

Parâmetros	Desejáveis (mg/dL)	Limítrofes (mg/dL)	Elevados (mg/dL)
CT	< 150	150-169	≥170
HDL-c	≥ 45	----	----
LDL-c	< 100	100-129	≥130
TG	< 100	100-129	≥130

Tabela 8 - Valores de referência para lípides e lipoproteínas em crianças e adolescentes (Santos et al. (2012)).

Parâmetros	Desejáveis (mg/dL)	Limítrofes (mg/dL)	Elevados (mg/dL)	Baixo (mg/dL)
CT	< 170	170-199	>200	----
HDL-c	> 45	35-45	----	< 35
cNão-HDL	123	123-143	>144	----
LDL-c	< 110	10-129	>130	----
TG				
0 a 9 anos	< 75	75-99	>100	----
10a19anos	< 90	90-129	>130	----

Tabela 9 - Valores de referência lipídica propostos para a faixa etária de 1 a 19 anos (AAP, 1992).

Parâmetros	Desejáveis (mg/dL)	Elevados (mg/dL)
CT	< 170	≥200
LDL-c	< 110	≥130

Tabela 10 - Concentrações desejáveis, limítrofes-altas e altas dos lípides e lipoproteínas em crianças e adolescentes (NHLBI, 2012).

Parâmetros	Desejáveis (mg/dL)	Limítrofes (mg/dL)	Elevados (mg/dL)	Baixo (mg/dL)
CT	< 170	170-199	≥200	----
HDL-c	> 45	40-45	----	< 40
cNão-HDL	120	120-144	≥145	----
LDL-c	< 110	110-129	≥130	----
TG				
0 a 9 anos	< 75	75-99	≥100	----
10 a 19 anos	< 90	90-129	≥130	----

As recomendações para dosagem dos lípides em crianças e adolescentes são, segundo Giuliano et al. (2005a): pais ou avós com história de aterosclerose com idade inferior a 55 anos; pais com CT superior a 240 mg/dL; crianças e adolescentes que apresentem fatores de risco como

hipertensão arterial, obesidade, tabagismo ou dieta rica em gorduras saturadas e/ou ácidos graxos trans ou que façam uso de drogas ou sejam portadoras de doenças que cursam com dislipidemia (síndrome da imunodeficiência adquirida, hipotireoidismo, etc.) ou que apresentem manifestações clínicas de dislipidemias (xantomas, xantelasmas, arco corneal, dores abdominais recorrentes, pancreatites). Segundo este documento, toda criança, a partir dos 10 anos de idade deve realizar a dosagem do colesterol total em polpa digital. Nas crianças e adolescentes que apresentarem valor de colesterol total entre 150 mg/dL e 170 mg/dL, os pais devem ser orientados a mudar o estilo de vida e repetir anualmente esta dosagem. Naquelas cujo valor da dosagem do CT exceder 170 mg/dL, deve ser repetida a dosagem do perfil lipídico completo após 12 horas de jejum.

Segundo Xavier et al. (2013), recomenda-se a determinação do perfil lipídico quando em crianças e adolescentes quando: avós, pais, irmãos e primos de primeiro grau apresentam dislipidemia grave ou manifestação de aterosclerose prematura; ou quando há clínica de dislipidemia; ou apresentem outros fatores de risco; ou quando há acometimento por outras doenças, como hipotireoidismo, síndrome nefrótica, imunodeficiência etc. ou em casos de utilização de contraceptivos, imunossupressores, corticoides, antirretrovirais e outras drogas que possam induzir a elevação do colesterol.

Há uma preocupação mundial crescente de se dosar e conhecer as concentrações séricas dos lípidos e lipoproteínas, em idades cada vez mais precoces, com o objetivo de reconhecer e intervir o mais precocemente

possível, evitando, com isto, os efeitos tão deletérios dos distúrbios do metabolismo lipídico sobre as artérias que, sabidamente, inicia-se desde a infância (Giuliano et al., 2005a; NHLBI, 2012).

Portanto, a determinação de IR de exames laboratoriais para crianças e adolescentes brasileiros é indispensável, necessária e pertinente.

1.1. Justificativa

A escolha deste tema para a tese foi estimulada pela escassez de dados na população pediátrica brasileira e por não se dispor de referências nacionais. Além disto, por serem exames que oferecem informações abrangentes sobre condições fisiológicas de grande interesse, pela elevada frequência de desvios da normalidade e pela possibilidade de serem identificadas condições predisponentes ao desenvolvimento de dislipidemia e síndrome metabólica, justificam a importância do presente estudo.

Ao se estabelecer IR próprios no Brasil para o perfil lipídico por faixa etária, certamente uma grande contribuição estará sendo dada à pediatria, podendo os valores encontrados serem validados para outras populações brasileiras, definindo-se parâmetros nacionais, para melhor interpretação dos exames de lípidos na população pediátrica no país.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- Estabelecer os limites de decisão e os intervalos de referência para colesterol total; HDL-colesterol; colesterol não-HDL; LDL-colesterol e triglicérides séricos em crianças e adolescentes saudáveis, de um a 12 anos 11 meses e 29 dias, no município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

2.2. Objetivos Específicos

- Comparar os limites de decisão de lípidos obtidos em Cuiabá com os propostos em *guidelines* brasileiros sobre dislipidemias na população pediátrica;
- Comparar os limites de decisão de lípidos obtidos na população pediátrica de Cuiabá com o *guideline* da National Heart Lung and Blood Institute (NHLBI);
- Comparar os limites de decisão ou intervalos de referência dos lípidos obtidos em Cuiabá com estudos brasileiros e canadense (CALIPER).

3. POPULAÇÃO

O estudo foi realizado na cidade de Cuiabá, capital do estado de Mato Grosso (MT), na região Centro-Oeste do Brasil, que ocupa uma posição central na América do Sul (Centro Geodésico da América do Sul), como mostrado na Figura 1.

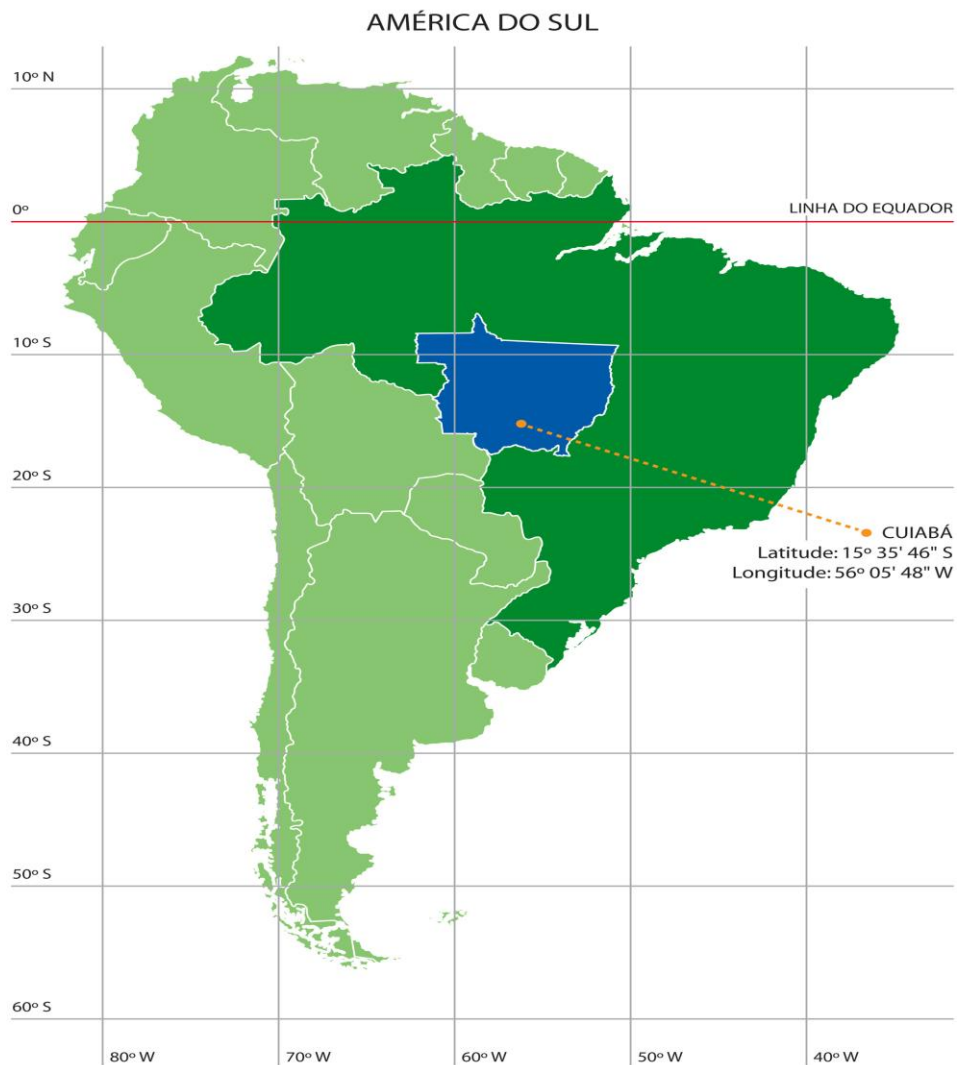


Figura 1 – Mapa da América do Sul, do Brasil e de Mato Grosso, evidenciando a localização de Cuiabá e a localização central da capital mato-grossense.

Fonte: Secretaria do Estado do Meio Ambiente MT- Superintendência de Biodiversidade – Coordenadoria de Ecossistemas e www.geografos.com.br/cidades-mato-grosso/cuiaba.php.

O município de Cuiabá possui peculiaridades demográficas e geográficas particulares para a realização deste estudo tanto pela sua posição central no país, diversidade da sua população, como por possuir ecossistemas abrangentes, o cerrado, o pantanal e a bacia amazônica, como pode ser visto na Figura 2. A temperatura média oscila em torno de 32°C e o clima é tropical e úmido.



Figura 2 – Mapa de Mato Grosso com os três ecossistemas.

Fonte: Secretaria do Estado do Meio Ambiente MT- Superintendência de Biodiversidade – Coordenadoria de Ecossistemas⁵² e www.geografos.com.br/cidades-mato-grosso/cuiaba.php.

A cidade foi descoberta no ano de 1719 a partir do movimento de interiorização dos bandeirantes a procura de ouro, mas ficou praticamente estagnada desde o fim das jazidas de ouro até o início da década de 70.

A composição étnica da cidade de Cuiabá tem dois momentos bem distintos. O primeiro por ocasião da procura do ouro, onde os paulistas miscigenaram-se com os índios, resultando nos caboclos, e posteriormente houve a miscigenação dos brancos e índios com os negros, escravos que vieram para a região, resultando nos mulatos e cafuzos, respectivamente. O segundo momento de miscigenação ocorreu a partir da década de 70, através do processo de colonialismo interno ou neocolonialismo, ocasião em que houve uma intensa migração oriunda, principalmente dos estados das regiões Sul e Sudeste para a capital e para o estado, resultando em uma cidade altamente miscigenada.

O crescimento populacional de Cuiabá, ao longo das últimas décadas, não se deu por reprodução biológica, mas por surto populacional em razão do processo migratório, a partir dos anos 70, devido à abertura das fronteiras agrícolas. A população que era de 100.860 em 1970, passou para 483.346 no ano 2000, ou seja, em 30 anos, a população praticamente quintuplicou. Segundo o IBGE, em 2010 a população do município de Cuiabá era de 551.098 habitantes, sendo 99.461 destes na faixa etária de 1 a 12 anos de idade.

No ano de 2012, o número de crianças devidamente matriculadas nas instituições públicas de ensino deste município foi igual a 46.888, conforme dados da Secretaria de Educação do Município de Cuiabá.

4. AMOSTRAGEM

Crianças e adolescentes a partir de um ano de idade até 12 anos 11 meses e 29 dias, matriculadas nas creches ou escolas municipais de Cuiabá-MT, no período matutino. As crianças deveriam estar vinculadas e frequentando regularmente estas instituições de ensino municipais no ano de 2012.

O município de Cuiabá é dividido em quatro grandes regiões, Norte, Sul, Leste e Oeste. O número de escolas e creches em cada uma destas regiões é descrito na Tabela 11.

Tabela 11- Número de creches e escolas municipais por região do município de Cuiabá

Regional	Creches	Escolas
Norte	12	19
Sul	14	24
Leste	12	19
Oeste	11	21
Total	47	83

Fonte: Secretaria de Saúde e de Educação do Município de Cuiabá.

Como cada uma das regiões possui número similar de creches e escolas foram sorteadas aleatoriamente cinco escolas e cinco creches de cada uma delas, a partir da relação de instituições de ensino do município participantes do Programa Escola com Saúde, fornecida pela Secretaria Municipal de Saúde e pela Secretaria Municipal de Educação. As creches e escolas sorteadas foram descritas no anexo A.

Todas as crianças e adolescentes que participaram do estudo foram sorteadas pela diretora e/ou coordenadora das creches ou escolas envolvidas.

O cálculo amostral foi baseado no documento do CLSI que preconiza que para definir IR de qualquer analito é necessário um número de, pelo menos, 120 indivíduos de referência por faixa etária (CLSI, 2008).

Para cumprir a meta de conseguir coletar todas as 1.440 amostras propostas (no mínimo 120 amostras de cada uma das 12 faixas etárias) inicialmente foi proposto o sorteio de cinco crianças e adolescentes por sala de aula em cada creche ou escola, entretanto, optou-se por sortear oito indivíduos, contando com eventuais faltas no dia da coleta.

Como as crianças na faixa etária de um a dois anos eram encontradas apenas nas 10 creches com berçário de Cuiabá, para esta faixa etária, não se realizou sorteio, todas as crianças foram convocadas para o estudo. No sorteio das creches, cinco destas creches com berçário foram sorteadas, as outras cinco creches foram acrescentadas à pesquisa sem sorteio. Estas creches foram descritas no Anexo B.

O número de crianças e adolescentes participantes do estudo por creche e escola pode ser visto no Anexo C.

Todas as creches e escolas do município de Cuiabá, bem como as sorteadas para este estudo foram representadas esquematicamente na Figura 3.

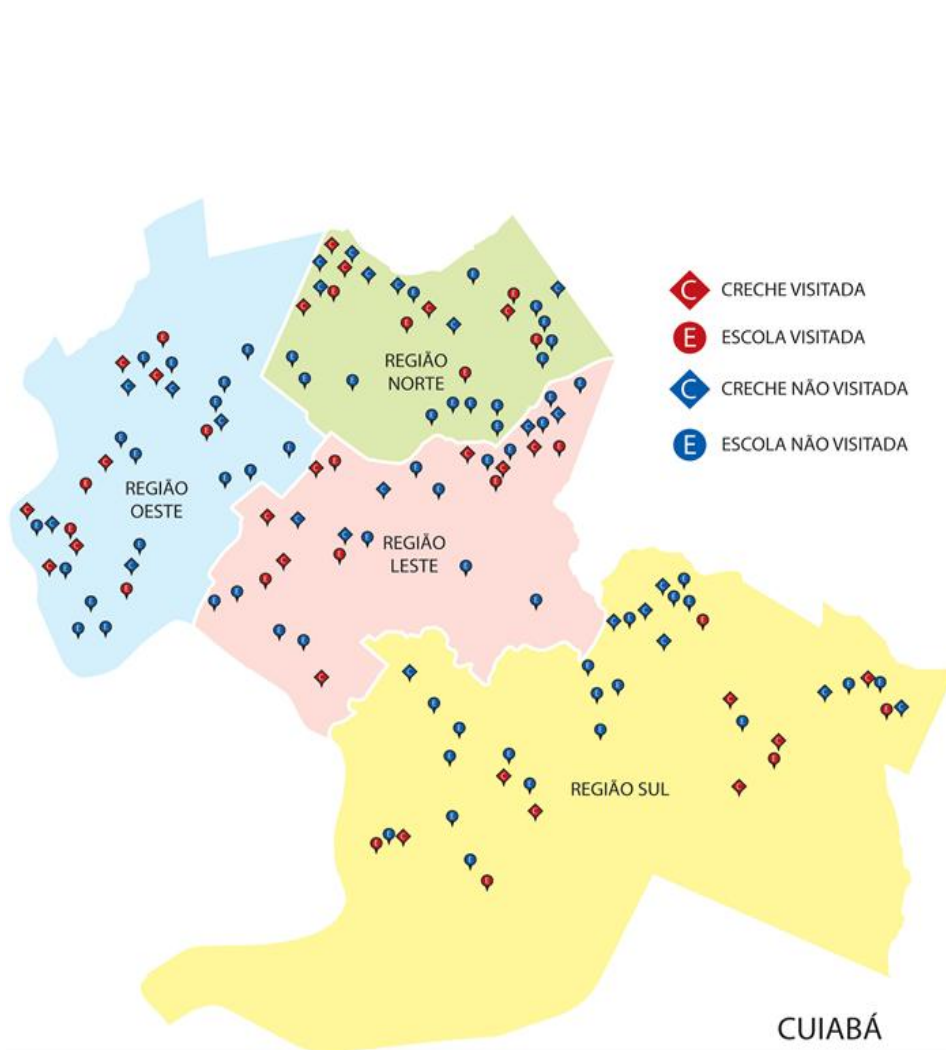


Figura 3 - Representação esquemática das 4 regiões: Norte, Sul, Leste e Oeste do município de Cuiabá, suas respectivas instituições municipais de ensino e as creches e escolas visitadas

4.1. População Participante e Indivíduos Excluídos

Inicialmente, foram incluídas 1.994 crianças e adolescentes matriculadas no turno matutino de 20 escolas e 25 creches municipais pertencentes às quatro regionais (Norte, Sul, Leste e Oeste) na cidade de Cuiabá – Mato Grosso. Entretanto foram excluídas 128, entre crianças e adolescentes, ou por uso regular de medicamentos (12 crianças e 2 adolescentes) ou por apresentarem queixas clínicas no momento da coleta de sangue (100 crianças e 14 adolescentes).

As queixas referidas no momento da coleta e que resultaram na exclusão das crianças foram: febre (40 crianças e 5 adolescentes); dor de garganta (28 crianças e 6 adolescentes); otalgia (27 crianças e 2 adolescentes); disúria (5 crianças) e dengue (1 adolescente). Quanto aos medicamentos utilizados regularmente pelas crianças excluídas foram: Carbamazepina (4 crianças); Fenobarbital (3 crianças); Ritalina (1 criança e 1 adolescente); Seretide (2 crianças); Sabril (1 criança); Profilaxia com Benzetacil (1 adolescente) e profilaxia de tuberculose (1 criança).

Após as exclusões, participaram do estudo 1.866 crianças e adolescentes. Esta população foi subdividida em 12 faixas etárias compreendendo como limite inferior a idade de um ano e limite superior à idade de 12 anos 11 meses e 29 dias.

O número de crianças e adolescentes em cada faixa etária e o percentual em relação ao total está apresentado na Tabela 12.

Tabela 12 - Distribuição de crianças e adolescentes participantes do estudo por idade

Idade	N	%
1 ano	181	9,7
2 anos	248	13,3
3 anos	280	15,0
4 anos	162	8,7
5 anos	168	9,0
6 anos	177	9,5
7 anos	152	8,1
8 anos	150	8,0
9 anos	112	6,0
10 anos	114	6,1
11 anos	65	3,5
12 anos	57	3,1
Total	1.866	100

5. METODOLOGIA

O desenho deste estudo foi transversal descritivo.

5.1. Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram definidos como critérios de inclusão do estudo: crianças e adolescentes nas faixas etárias de um a 12 anos 11 meses e 29 dias, sem nenhuma doença de base conhecida, sem nenhum sinal ou sintoma clínico e sem queixas em relação à saúde no momento da coleta. Crianças cujos pais ou responsáveis autorizaram a coleta e responderam ao questionário, e que não apresentaram nenhuma resposta positiva quanto à presença de doença de base ou doença pré-existente no questionário. Além disto, os indivíduos não poderiam estar em uso regular e contínuo de nenhum tipo de medicamento, exceto sulfato ferroso profilático (Programa de Suplementação de Ferro do Governo Federal).

Quanto aos critérios de exclusão, foram excluídas as que apresentavam doença referida no questionário ou alguma doença crônica não relatada no questionário, porém constatada pela pesquisadora durante a anamnese e avaliação antropométrica.

5.2. Analitos

Os parâmetros bioquímicos séricos eleitos para o presente estudo foram:

- Colesterol total - CT;
- HDL-colesterol – HDL-c;
- Colesterol não-HDL - c-Não –HDL;
- LDL-colesterol – LDL-c;
- Triglicérides – TG.

A escolha destes parâmetros bioquímicos séricos foi baseada na importância cada vez maior que esses lípidos assumem em faixas etárias cada vez menores, bem como pela escassez de dados de IR na população pediátrica brasileira.

5.3. Coleta

A primeira coleta de sangue foi realizada no dia 24 de novembro de 2011, e foi a única realizada nesse ano. As coletas foram retomadas em 15 de março de 2012 e foram realizadas uma a duas vezes por semana ao longo do ano de 2012, geralmente às terças e quintas feiras.

A equipe era formada pela pesquisadora, estudantes do curso de medicina da Universidade Federal de Mato Grosso (2º, 3º; 4º e 6º anos) e coletadores. Os coletadores, todos técnicos de patologia clínica ou técnicos de enfermagem, com experiência em coleta pediátrica, trabalhavam sempre em dupla. Nas escolas com maior número de alunos, eram recrutadas duas duplas de coletadores.

Quanto aos alunos do curso médico, todos foram treinados para a aplicação do questionário, para a compreensão do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e para fazer as medidas antropométricas. Em todas as creches e escolas a pesquisadora estava presente e supervisionava os procedimentos. O número de alunos por creche ou escola variava conforme o tamanho da mesma. No mínimo, três alunos estavam sempre presentes. Em instituições maiores o número de alunos chegava a 12.

Ao chegar às escolas eram montadas três estações distintas:

1ª. estação: Na primeira estação foi realizada a entrevista com o preenchimento do questionário com os pais ou responsáveis e colhida a assinatura para o TCLE. O questionário e o TCLE podem ser vistos nos Anexos D e Anexo E, respectivamente.

O questionário continha 130 perguntas e era preenchido individualmente e a partir dos dados do mesmo as crianças e adolescentes foram excluídos do estudo. Muitos dados deste questionário serão utilizados em trabalhos posteriores.

Mensalmente, os dados dos questionários eram inseridos no EPIDATA 3.1 por uma dupla de digitadores e, posteriormente, era feito o pareamento da dupla digitação.

Terminada esta etapa, todos os pais e suas respectivas crianças ou adolescentes, eram encaminhados para a segunda estação.

2ª. estação: Na segunda estação foram realizadas as medidas antropométricas: peso e comprimento/estatura.

O peso foi aferido por uma balança digital (Bioland EB 9015), sendo orientado que as crianças e adolescentes tirassem os sapatos e eventuais casacos para a pesagem.

Quanto à medida do comprimento e da estatura, as crianças até dois anos foram medidas deitadas com a régua antropométrica, firmando a parte fixa junto ao polo cefálico e a parte móvel ajustada ao plano plantar. As

crianças maiores e os adolescentes foram medidos em pé com o auxílio de um antropômetro (Caumar Ltda) que era fixado a um pilar na escola ou creche.

Com os dados de peso e estatura, foi calculado o IMC para todas as crianças acima de dois anos de idade e para os adolescentes. Posteriormente estes resultados foram analisados utilizando-se as tabelas Z-scores de idade por índice de massa corpórea dois a cinco anos e Z-scores de idade por índice de massa corpórea cinco a 19 anos da Organização Mundial de Saúde (*WHO Child Growth Standards.*, 2006). Na faixa etária de um a dois anos utilizou-se as tabelas Z-scores de Peso para o Comprimento. Posteriormente, com os resultados do Z score, foram classificadas em sete categorias, a saber: eutrofia; risco de sobrepeso (apenas para as crianças até cinco anos de idade); sobrepeso; obesidade; obesidade acentuada (apenas para crianças e adolescentes de cinco anos em diante); magreza e magreza extrema. Esta classificação foi feita utilizando os programas *WHO Anthros* e *WHO Anthros Plus* versão 3.2.2.

Após a antropometria, as crianças e adolescentes eram encaminhados para a terceira e última estação.

3^a. Estação: nesta estação foi coletado o sangue das crianças e retido o questionário pela equipe da coleta.

Todas as coletas de sangue foram realizadas até às 9:00 horas da manhã e a punção venosa foi realizada sempre nas veias superficiais do

antebraço, utilizando-se garroteamento por tempo mínimo, com técnica asséptica recomendada pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica para coleta e preparo da amostra biológica (SBPC, 2013) e nas normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2004). As agulhas utilizadas eram de pequeno calibre (20 X 5,5; 25 X 6,0 OU 25 x 7,0) bem como os escalpes (número 25 ou 27).

O volume de sangue coletado de cada criança ou adolescente foi, no máximo, igual a 8 mL, coletados em um único tubo contendo gel separador. Este volume de sangue estava bem abaixo do valor considerado seguro para ser retirado sem comprometer a homeostase e não levaria à espoliação.

Após a coleta, os tubos foram colocados em caixas térmicas, contendo gelo reciclável, e estas encaminhadas ao laboratório, ao final de todas as coletas da instituição de ensino.

5.3.1. Preparo das Crianças e Adolescentes para a Coleta

Para crianças menores de dois anos o jejum recomendado foi de 3 horas (intervalo entre as mamadas); em crianças até cinco anos de idade, o

jejum foi igual a 6 horas e para as crianças maiores de 5 anos e adolescentes, o jejum recomendado foi de 12 a 14 horas (SBPC, 2013).

5.4. Análises Laboratoriais

5.4.1. Preparo das Amostras

Ao chegar ao laboratório, as amostras foram encaminhadas ao setor de preparo de amostras onde, inicialmente as etiquetas de todos os tubos foram lidas por um leitor de código de barras, assegurando a entrada das mesmas no laboratório.

Em seguida, os tubos foram centrifugados a 7.500 rpm por 5 minutos para separar o soro.

Posteriormente, todas as amostras de sangue foram novamente identificadas por outro leitor de código de barras e encaminhadas ao setor da triagem. Todas estas etapas do processo de recebimento e preparo das amostras garantiram a rastreabilidade das mesmas.

No setor triagem, o soro das amostras foi fracionado em duas alíquotas, sempre pela mesma colaboradora.

A primeira alíquota (aproximadamente 2,0 mL) foi encaminhada para o Núcleo Técnico Operacional (NTO) da DASA, em Cuiabá para dosagem do CT, HDL-c e TG e para que fossem calculados o cNão-HDL e o LDL-c.

A segunda alíquota (aproximadamente 3,0 mL) foi encaminhada imediatamente para congelamento a -20° C, em freezer específico para a estocagem das mesmas.

Após a realização dos exames, todas as amostras de sangue já processadas foram congeladas a -20° C e colocadas no mesmo freezer que a segunda alíquota. Todas as amostras colhidas no dia foram acondicionadas em dois tubos tipo *Eppendorf*, identificados com etiquetas contendo os dados da criança ou adolescente e acondicionadas em sacos plásticos identificados com nome da creche ou escola e data da coleta do material.

5.4.2. Técnicas Laboratoriais Empregadas

Todas as amostras foram processadas no dia da coleta, exceto a primeira série de amostras coletadas em 24 de novembro de 2011, provenientes da creche Santa Inês – Poção, as quais foram processadas no dia 15 de março de 2012, junto com as amostras coletadas naquele dia.

Esta primeira série de amostras foi mantida congelada e foi respeitado o período de estabilidade para cada um dos analitos.

A metodologia laboratorial empregada nas análises foi a técnica disponível no laboratório clínico da rede DASA, em Cuiabá, sendo uma metodologia totalmente automatizada e amplamente utilizada em laboratórios clínicos.

A plataforma, metodologia, material e volume de amostra estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Especificações analíticas

Parâmetro	Plataforma	Metodologia	Material	Volume (µL)
CT	Cobas® 6000	Colorimétrico enzimático	Soro	153
HDL-c	Cobas® 6000	Colorimétrico enzimático Homogêneo	Soro	153
cNão-HDL	Cobas® 6000	Cálculo (Colesterol total-HDL-colesterol)	Soro	--
LDL-c	Cobas® 6000	Cálculo (Friedewald)	Soro	--
Triglicérides	Cobas® 6000	Colorimétrico enzimático	Soro	153

5.4.3. Especificações da Técnica Laboratorial

Método colorimétrico enzimático/ método colorimétrico enzimático homogêneo:

Os métodos colorimétricos utilizam a intensidade da cor para inferir a quantidade de determinado analito em uma amostra. A intensidade da cor destas reações é medida na faixa visível do espectro (380nm - 680nm).

O colesterol total, o HDL-colesterol e o triglicérides foram dosados por estas técnicas no equipamento cobas[®] 6000 (*analyser series- Roche Diagnostics*).

A dosagem do colesterol total (*Cholesterol Gen.2 – Chol2 09039773190V8*) é baseada na determinação do delta4-Colestenona após clivagem enzimática do éster de colesterol pela colesterol esterase, produzindo colesterol livre e ácidos graxos. A reação seguinte envolve a enzima colesterol oxidase que cataliza a oxidação do colesterol para colest-4-en-3-ona e peróxido de hidrogênio. Em presença da peroxidase, o peróxido de hidrogênio formado altera o acoplamento oxidativo do fenol e da 4-aminoantipirina, formando um corante vermelho de quinona-imina (reação de Trinder) que é lido no comprimento de onda de 505 nm. A intensidade da cor do corante formado é diretamente proporcional à concentração do colesterol. O intervalo de medição do teste compreende valores de colesterol

total de 3,86 a 800 mg/dL. Não houve interferência no teste com a presença de níveis até 16 mg/dL de bilirrubina conjugada ou até 14 mg/dL de bilirrubina não conjugada na amostra. Não houve nenhuma interferência de hemólise até concentrações de 700 mg/dL de hemoglobina na amostra bem como de lipemia até o índice L (de turbidez) de 2000. Também não são descritas interferências relacionadas a concentrações terapêuticas do painel de fármacos comuns.

Já o HDL-colesterol (*HDL-Cholesterol plus 3rd generation* 04399803190V7 – HDLC3) é quantificado por um teste colorimétrico homogêneo, que faz a determinação direta do HDL-colesterol. O método utiliza as enzimas colesterol esterase e colesterol oxidase que são modificadas pelo polietilenoglicol (PEG), apresentando atividades catalíticas seletivas. Na presença de íons magnésio, o sulfato de dextrano forma complexos solúveis com LDL, VLDL e quilomícrons, que são resistentes às enzimas modificadas pelo PEG. A concentração do HDL-colesterol é determinada enzimaticamente pela enzima colesterol esterase e colesterol oxidase acopladas com PEG aos grupos amino. Sob a influência da enzima colesterol esterase, os ésteres de colesterol são quantitativamente decompostos em colesterol livre e ácidos graxos. Na presença de oxigênio, o colesterol oxidado pela enzima colesterol oxidase em delta4colestenona e peróxido de hidrogênio. Na presença da peroxidase, o peróxido de hidrogênio gerado reage com a 4-aminoantipirina e com a HSDA (Sódio N-(2-hidroxi-3-sulfopropilo) -3,5-dimetoxianilina) formando um complexo

azulado, cuja intensidade da cor púrpura é diretamente proporcional à concentração de colesterol da amostra. O produto da reação é lido no comprimento de onda de 600 nm. O limite inferior de detecção do teste é de 3 mg/dL e o superior 121 mg/dL. Entretanto, concentrações maiores podem ser medidas após diluição da amostra a 1:2 e o resultado multiplicado pelo fator de diluição 2. Quanto aos interferentes, não houve interferência no teste com a presença de níveis até 30 mg/dL de bilirrubina conjugada ou até 60 mg/dL de bilirrubina não conjugada na amostra. Não houve nenhuma interferência de hemólise até concentrações de 1200 mg/dL de hemoglobina na amostra bem como de lipemia até o índice L (de turbidez) de 1800 e triglicérides até 1200 mg/dL na amostra. As concentrações elevadas de ácidos graxos livres, imunoglobulinas e proteínas desnaturadas podem causar resultados falsamente elevados de HDL-colesterol. Também não são descritas interferências relacionadas a concentrações terapêuticas do painel de fármacos comuns.

O LDL-colesterol e o VLDL-colesterol são obtidos por cálculos, utilizando a fórmula de Friedewald, na qual o VLDL-colesterol é obtido dividindo-se a concentração do triglicérides (em mg/dL) por 5 e o LDL-colesterol pela diferença entre o colesterol total menos HDL-colesterol e menos o VLDL-colesterol ($\text{LDL-colesterol} = \text{Colesterol total} - \text{HDL-colesterol} - \text{VLDL-colesterol}$). Esta fórmula só pode ser utilizada quando as concentrações de triglicérides estiverem abaixo de 400 mg/dL.

O colesterol não-HDL também é obtido por cálculo, a partir da subtração entre o colesterol total e o HDL-colesterol.

Os parâmetros bioquímicos definidos por cálculos sofrem as mesmas interferências que os analitos que os geraram.

A determinação do triglicérides (*Triglycerides 20757107322V5 – Trigl*) é baseada no trabalho de Wahlefeld, utilizando uma lipoproteína lípase de microrganismos para a hidrólise rápida e completa dos triglicérides para glicerol, seguida de oxidação para fosfato de di-hidroxiacetona e peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio produzido reage, posteriormente, com 4-aminofenazona e 4-clorofenol sob ação catalítica da peroxidase formando um corante vermelho (reação de ponto final de Trinder). A intensidade cromática do corante vermelho formado é diretamente proporcional à concentração de triglicérides lido no comprimento de onda de 505 nm. O intervalo de medição do triglicérides neste ensaio vai de 8,85 a 885 mg/dL. Não houve interferência no teste com a presença de níveis até 10 mg/dL de bilirrubina conjugada ou até 35 mg/dL de bilirrubina não conjugada na amostra. Não houve nenhuma interferência de hemólise até concentrações de 700 mg/dL de hemoglobina na amostra. As amostras extremamente lipêmicas (triglicérides acima de 3.000 mg/dL) podem produzir resultado normal, bem como a presença de glicerol não esterificado endógeno pode elevar falsamente os triglicérides séricos. Também não são descritas interferências relacionadas a concentrações terapêuticas do painel de

fármacos comuns exceto o ácido ascórbico que pode produzir resultados de triglicérides falsamente baixos.

O volume de amostra necessário para realização da dosagem do colesterol total e do triglicérides por esta metodologia, no equipamento referido, é de 2 microlitros. Para a dosagem do HDL-colesterol, são empregados 2,5 microlitros, entretanto, o volume morto é de 150 microlitros, portanto, considera-se necessário o volume de amostra superior a 153 microlitos.

5.4.4. Laboratório Executor das Análises

Todas as amostras foram processadas em no NTO da DASA em Cuiabá.

A DASA é a maior empresa de Medicina Diagnóstica do Brasil e a quarta maior do mundo. Está presente em 12 estados do Brasil e realiza mais de 4 milhões de exames/mês. O NTO de Cuiabá, onde os exames foram realizados, possuem certificados de qualidade ISO 9001 e de meio ambiente, ISO 14001, além de certificado de Boas Práticas em Laboratório Clínico (BPLC), expedido pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Periodicamente este NTO recebe a visita de auditores externos para verificação dos sistemas de qualidade e de meio

ambiente. Todas estas certificações e creditações de qualidade garantem a exatidão e a precisão dos resultados dos exames laboratoriais realizados.

5.4.5. Análise Estatística

Inicialmente, para cada parâmetro estudado, foi analisada a homogeneidade das variâncias através do teste de Bartlett.

Na sequência, quando as variâncias apresentaram resultados homogêneos, os analitos foram testados pelo teste ANOVA. Quando as variâncias não exibiam homogeneidade entre si, foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis.

Posteriormente, foi utilizado o teste “post hoc” de Bonferroni para cada um dos parâmetros. Este teste ajusta o nível de significância para múltiplas comparações de dois em dois grupos. Através desta análise, foi possível agrupar as faixas etárias, em diferentes grupos, para cada um dos parâmetros eleitos.

Uma vez agrupadas em faixas etárias para cada parâmetro, foi realizado, novamente, o teste de Bartlett e, de acordo com o seu resultado, os testes ANOVA ou Kruskal-Wallis. Em se mantendo os grupos etários, definidos na fase anterior, procedeu-se à exclusão de valores extremos

(*outliers*) estimados pelo cálculo da média mais ou menos três desvios-padrão.

Calculou-se o número de indivíduos excluídos em função da amostra de cada faixa etária para verificar se esta perda não excedia 10% do conjunto.

Com a exclusão dos *outliers*, calculou-se médias e desvios-padrão para cada parâmetro obtendo-se assim o IR como sendo a média \pm 2 desvios-padrão, o que passa a representar 95% da população no grupo etário.

Adicionalmente, para cada faixa etária de cada parâmetro estudado, foi calculada a distribuição em percentis, tendo em vista que as concentrações dos lípides estudados são mais frequentemente interpretadas utilizando os critérios, chamados de limites de decisão, propostos pelo NCEP (1992) e reiterados pelo NHLBI (2012). Segundo estes critérios, a distribuição de valores até o percentil 75, é considerada desejável ou aceitável. A distribuição dos valores do percentil 75 até aproximadamente o percentil 95 é considerada limítrofe e os valores maiores ou iguais ao percentil 95 são considerados como elevados ou altos. Estes percentis foram utilizados para a análise do CT, cNão-HDL, LDL-c e do TG. Para o HDL-c utilizou-se, aproximadamente, o percentil 10 como limite inferior a partir do qual se considera que o indivíduo apresente concentrações baixas deste analito e o percentil 50 corresponde ao desejável ou aceitável. Os

valores compreendidos entre estes os percentis 10 e 50 foram classificados como limítrofes. A análise do VLDL-c comumente não é apresentada por ser calculada a partir do TG e ser um parâmetro sem valor clínico, entretanto os cálculos desse parâmetro pode ser observado no Anexo H. Estes critérios foram adotados como os limites de decisão propostos para a população estudada neste projeto.

Em todos os testes, o nível de significância adotado foi de 5% (Alfa = 0,05).

As análises estatísticas foram realizadas pelos programas MINITAB (versão 15) e SPSS (versão 16).

5.5. Aspectos Éticos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Julio Muller (número 947/2010) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (número 318/2011) (Anexo I).

Todos os pais ou responsáveis pelas crianças e adolescentes envolvidos no estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

6. RESULTADOS

6.1. Perfil das Crianças e Adolescentes do Estudo

Em relação à distribuição de sexo na população do estudo, 919 crianças e adolescentes (49,25%) pertenciam ao sexo masculino e 947 (50,75%) pertenciam ao sexo feminino. Destas 1.202 (64,4%) foram referidas por seus pais ou responsáveis como pardas, 366 (19,6%) como brancas, 233 (12,5%) como negras e 53 (2,8%) como amarelas.

Quanto à naturalidade, 1.789 (97,5%) crianças e adolescentes nasceram na cidade de Cuiabá. Algumas crianças nasceram em outros estados, a saber: Pernambuco (3 crianças); Amazonas, Mato Grosso do Sul; Bahia; Paraná; São Paulo e Distrito Federal (2 crianças em cada um desses Estados); Goiás; Piauí e Rio Grande do Sul (1 criança em cada um desses Estados). As demais crianças e adolescentes nasceram nas cidades vizinhas do Estado de Mato Grosso. Em 32 questionários não havia resposta a esta pergunta.

Todas as 1.866 crianças e adolescentes participantes moravam em Cuiabá, distribuídas em duzentos e vinte e oito bairros centrais e da periferia na referida capital.

6.2. Perfil das Crianças e Adolescentes quanto ao Estado Nutricional

Das 1.866 crianças e adolescentes, em 1.864 delas foi possível classificá-las com relação ao estado nutricional.

A classificação das crianças e adolescentes conforme o estado nutricional está apresentado na Tabela 14.

Tabela 14 – Distribuição das crianças e adolescentes quanto ao estado nutricional

Estado Nutricional	N	%
Eutrofia	1.368	73,4
Risco de sobrepeso*	117	6,3
Sobrepeso	176	9,4
Obesidade	92	4,9
Obesidade acentuada**	38	2,0
Magreza	50	2,7
Magreza extrema	23	1,2

Risco de sobrepeso* – faixa etária de 1 a 5 anos de idade.

Obesidade acentuada** - crianças com idade superior a 5 anos e adolescentes.

6.3. Perfil das Famílias das Crianças e Adolescentes

As perguntas finais do questionário eram quanto à presença de doenças na família das crianças e adolescentes envolvidas no estudo.

Dos 1.866 pais ou responsáveis que responderam o questionário, 731 (39,2%) referiram diabetes em algum membro familiar, 1.222 (65,5%) e 423 (22,7%) relataram hipertensão arterial e obesidade, respectivamente. As doenças cardiovasculares, infarto e acidente vascular cerebral, foram referidos por 319 (17,6%) e 229 (12,3%) dos entrevistados, respectivamente.

6.4. Determinação dos Intervalos de Referência e dos limites de decisão

6.4.1. Agrupamentos Etários

Um dos passos da análise estatística foi realizar o teste *pos hoc* de Bonferroni, que permitiu agrupar o total de crianças e adolescentes (n=1.866), em diferentes combinações de agrupamentos etários, conforme o parâmetro bioquímico para se determinar o intervalo de referência para cada um deles.

A determinação dos intervalos de referência para o colesterol total foi feita para três faixas etárias: 1 a 2 anos; 3 a 8 anos e 9 a 12 anos. Para o HDL-colesterol foram considerados quatro agrupamentos etários: 1 ano; 2 anos; 3 anos e 4 à 12 anos. Para o colesterol não-HDL, todas as crianças e adolescentes foram agrupados em um único agrupamento etário, de 1 a 12 anos. Em relação à fração LDL-colesterol, foi possível determinar os intervalos de referência em dois agrupamentos etários de 1 a 8 anos e 9 a 12 anos. Para a dosagem de triglicérides as crianças e adolescentes foram divididos em três agrupamentos etários, a saber: 1 ano, 2 a 5 anos e 6 a 12 anos.

6.4.2. Cálculo da Distribuição em Percentis

Em todas as 1.866 crianças e adolescentes participantes do estudo, após agrupamento das idades pelo teste *pos hoc* de Bonferroni, foram calculadas, para cada um dos parâmetros e suas respectivas faixas etárias, a distribuição em percentis, iniciando pelo percentil 2,5 até o percentil 97,5. A tabela com todos os percentis para cada um dos parâmetros estudados está descrita no Anexo F.

6.4.3. Exclusão dos Valores Acima ou Abaixo do 3^o Desvio-Padrão

Após reunir em agrupamentos etários, foram excluídos todos os valores acima ou abaixo do 3^o desvio-padrão (*outliers*) de cada parâmetro.

Os parâmetros bioquímicos analisados e seus respectivos agrupamentos etários, bem como o número de crianças e adolescentes excluídos por apresentarem resultados classificados como *outlier* e o número final de crianças e adolescentes utilizados para a determinação dos IR por agrupamento etário e por parâmetro, estão apresentados na Tabela 15. Os valores absolutos dos parâmetros que foram excluídos por estarem acima ou abaixo do 3^o desvio-padrão são mostrados no Anexo G.

Resultados

Tabela 15 – Parâmetros bioquímicos, agrupamentos etários, média, desvio padrão, faixa de inclusão, número de crianças e adolescentes excluídos e número final de crianças e adolescentes utilizados para a determinação dos intervalos de referência (IR).

Parâmetros bioquímicos e agrupamentos etários	Média (mg/dL)	Desvio Padrão (DP) (mg/dL)	Faixa de inclusão (± 3 DP da média) (mg/dL)	N ^o crianças e adolescentes excluídos (<i>outliers</i>)	N ^o crianças e adolescentes participantes do cálculo do IR
CT					
1 a 2 anos	143	27,9	59,1 a 226,8	1	428
3 a 8 anos	153,6	26,4	74,5 a 232,7	4	1.085
9 a 12 anos	157,6	29,1	70,5 a 244,8	3	345
HDL-c					
1 ano	33,8	8,2	9,1 a 58,4	2	179
2 anos	39,1	8,90	12,4 a 65,8	3	245
3 anos	42,7	9,5	14,2 a 71,2	1	279
4 a 12 anos	48,9	11,2	15,2 a 82,6	12	1.145
cNão-HDL					
1 a 12 anos	106,7	25,8	29,4 a 184	12	1.854
LDL-c					
1 a 8 anos	89,7	23,9	18 a 161,4	6	1.512
9 a 12 anos	92,8	25,7	15,7 a 169,8	4	344
TG					
1 ano	104	44,9	até 238,8	3	178
2 a 5 anos	82,9	31,3	até 176,8	11	847
6 a 12 anos	78	34,4	até 181,1	13	814

6.4.4. Estatística Descritiva de Cada Parâmetro Bioquímico e Cálculo dos Intervalos de Referência Laboratoriais

A partir da exclusão dos *outliers* foram estabelecidos novos valores de média, desvio-padrão, mediana, valor mínimo, valor máximo e 1^o e 3^o quartis para cada um dos parâmetros bioquímicos estudados.

Todos estes valores são apresentados a seguir, para cada um dos parâmetros bioquímicos analisados, bem como representação gráfica destes valores.

Na sequência são apresentados os IR para os parâmetros descritos. Para a determinação dos IR, considerou-se para o cálculo, dois desvios-padrão acima e dois desvios-padrão abaixo da média, por ser uma prática habitual nos laboratórios clínicos, o que contempla 95% centrais da população.

6.4.4.1. Colesterol Total

Estatística Descritiva da Análise dos Níveis de Colesterol Total

Das 1.858 crianças e adolescentes incluídas para o estudo do colesterol total, divididas em três faixas etárias, foram obtidos os parâmetros apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.858 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do colesterol total.

Faixa etária colesterol total (anos)	n	Média (mg/dL)	Desvio-Padrão (mg/dL)	Valor Mínimo (mg/dL)	1 ^o Quartil (mg/dL)	Mediana (mg/dL)	3 ^o Quartil (mg/dL)	Valor máximo (mg/dL)
01 a 02	428	142,6	26,7	62	125	141	159,8	225
03 a 08	1.085	153,4	25,9	79	136	153	169	231
09 a 12	345	157,2	27,3	74	139	155	176	244

A distribuição dos valores de colesterol total, por faixa etária, pode ser observada pelo gráfico abaixo e nos histogramas apresentados nas Figuras 4 e 5.

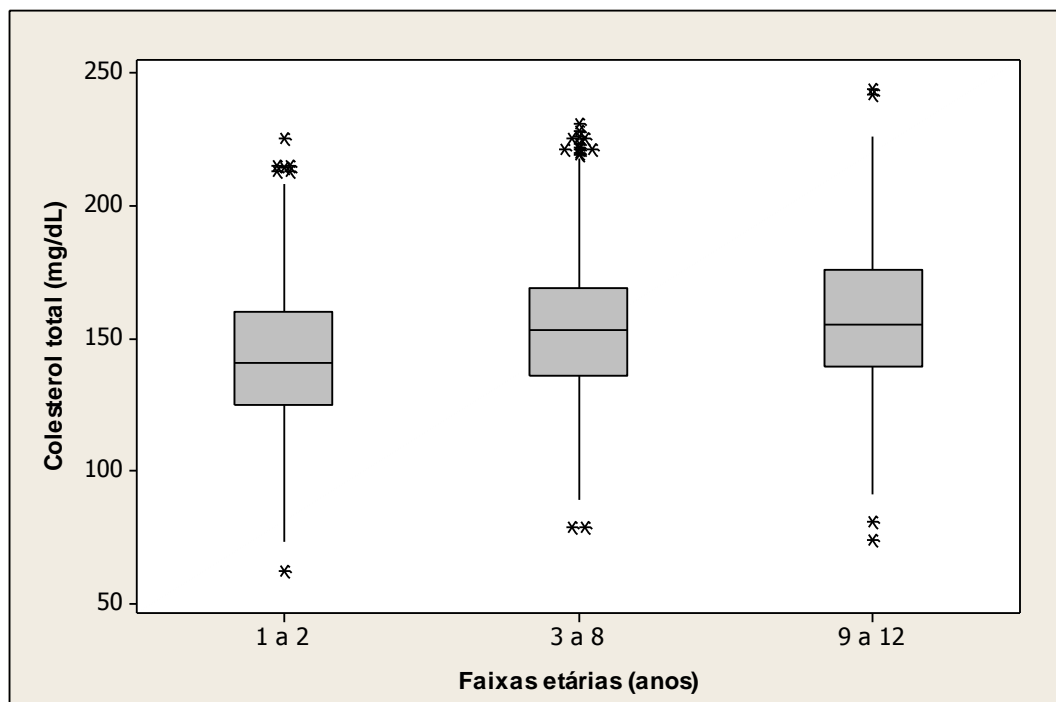


Figura 4 - Distribuição da concentração do colesterol total em 1.858 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá

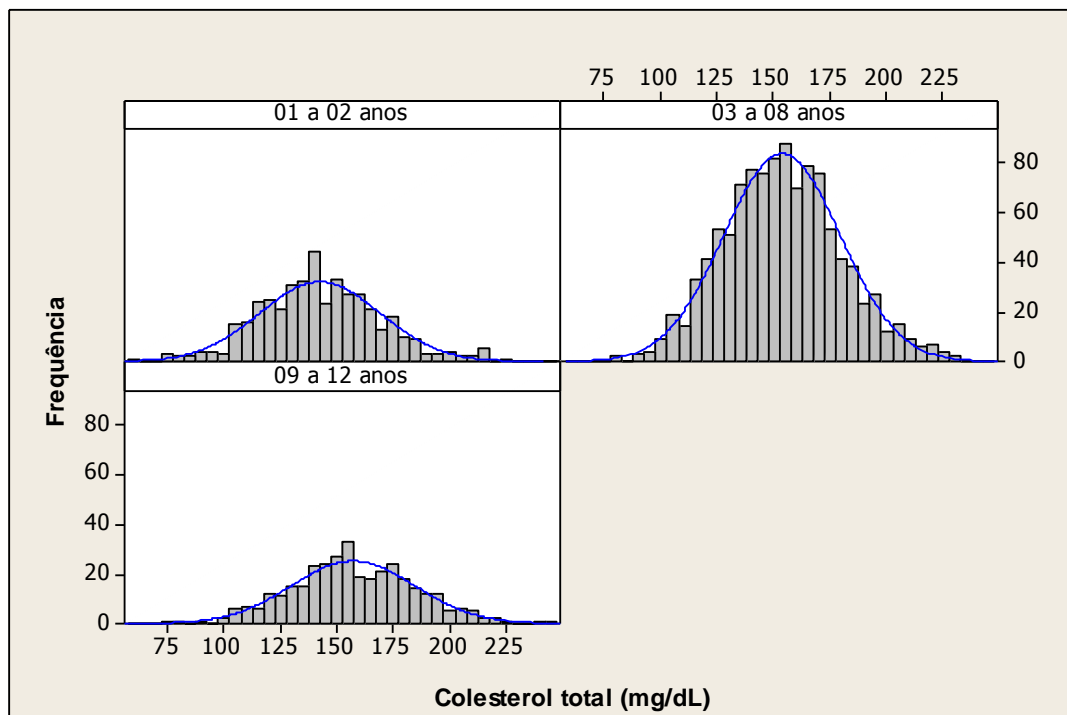


Figura 5 - Histogramas por faixa etária com os valores de colesterol total (mg/dL) após exclusão dos *outliers* com curva de Gauss acoplada.

Intervalo de Referência para o Colesterol Total

Para este analito, os intervalos de referência ($\pm 2DP$) propostos foram: 89 a 196 mg/dL para crianças de 1 a 2 anos; 102 a 205 mg/dL para crianças de 3 a 8 anos e 103 a 212 mg/dL para crianças e adolescentes de 9 a 12 anos. Estes valores estão representados na Figura 6.

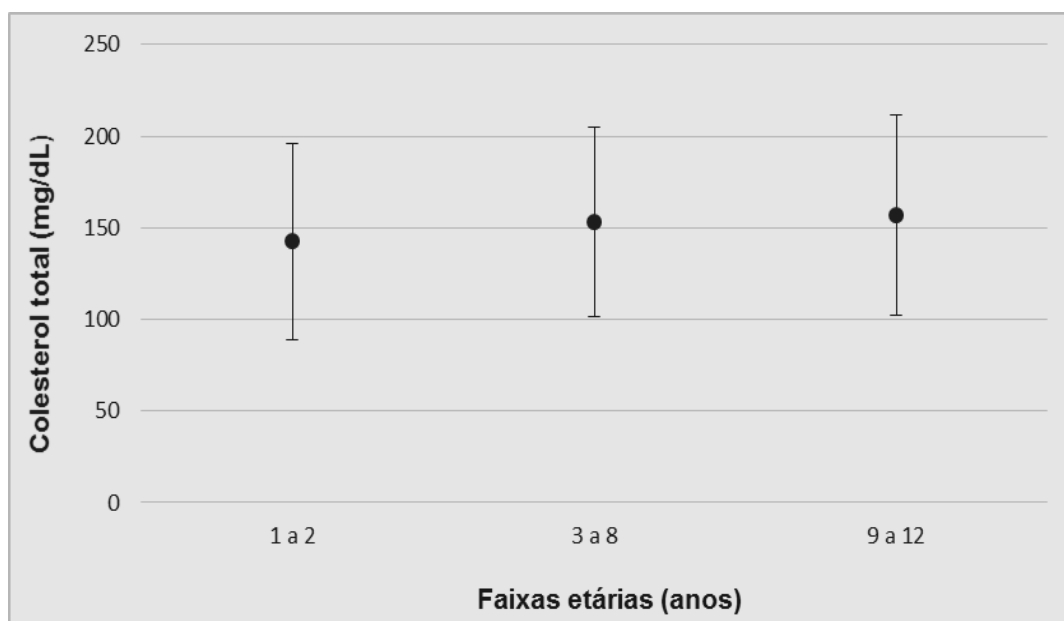


Figura 6 - Intervalo de referência para o colesterol total (mg/dL) em 1.858 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.

6.4.4.2. HDL - Colesterol

Estatística Descritiva da Análise dos Níveis de HDL-Colesterol

Das 1.848 crianças e adolescentes incluídas para o estudo do HDL-colesterol, divididas em quatro faixas etárias, foram obtidos os parâmetros apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 – Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.848 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do HDL-colesterol.

Faixa etária HDL-colesterol (anos)	N	Média (mg/dL)	Desvio-Padrão (mg/dL)	Valor Mínimo (mg/dL)	1^o Quartil (mg/dL)	Mediana (mg/dL)	3^o Quartil (mg/dL)	Valor máximo (mg/dL)
01	179	33,8	7,8	12	29	34	39	56
02	245	38,8	8,4	19	33	39	44	65
03	279	42,6	9,3	22	36	42	49	71
04 a 12	1.145	48,5	10,5	20	41	48	55	82

A distribuição dos valores de HDL-colesterol, por faixa etária, pode ser observada pelo gráfico abaixo e histogramas apresentados nas Figuras 7 e 8.

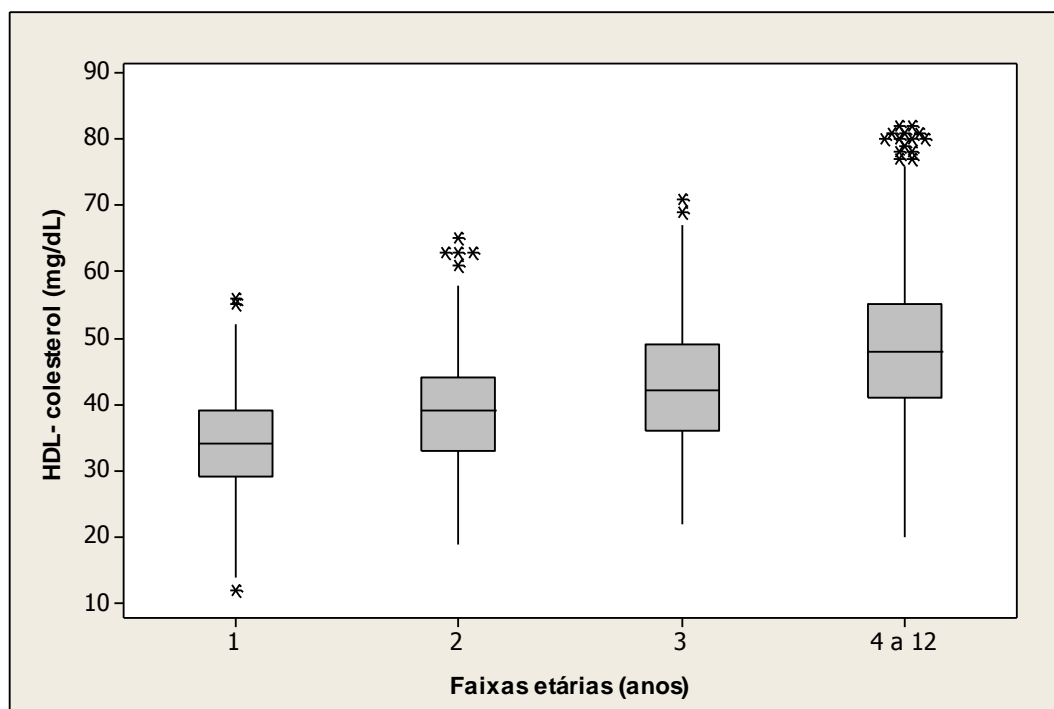


Figura 7 - Distribuição da concentração do HDL-colesterol em 1.848 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá

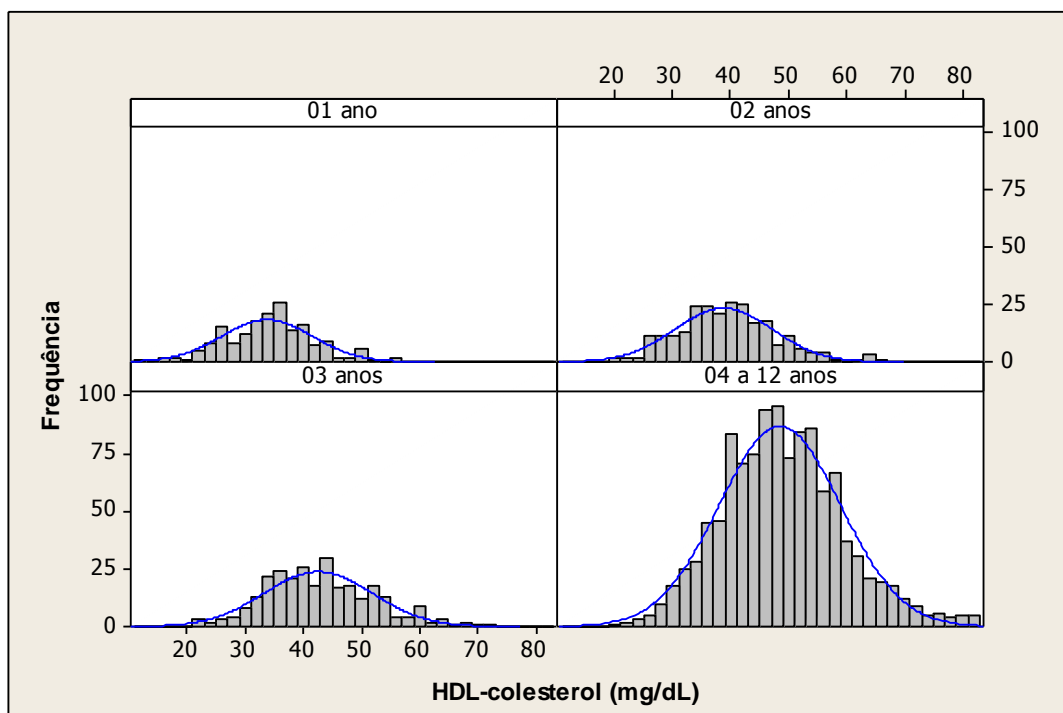


Figura 8 - Histogramas por faixa etária com os valores de HDL-colesterol (mg/dL) após exclusão dos outliers com curva de Gauss acoplada.

Intervalo de Referência para o HDL-Colesterol

Os intervalos de referência ($\pm 2DP$) para esta fração do colesterol expressa em mg/dL foram assim estabelecidos: 18 a 49 para crianças de 1 ano; 22 a 55 para crianças de 2 anos; 24 a 61 para crianças de 3 anos e 27 a 69 para crianças e adolescentes de 4 a 12 anos. Estes valores estão representados na Figura 9.

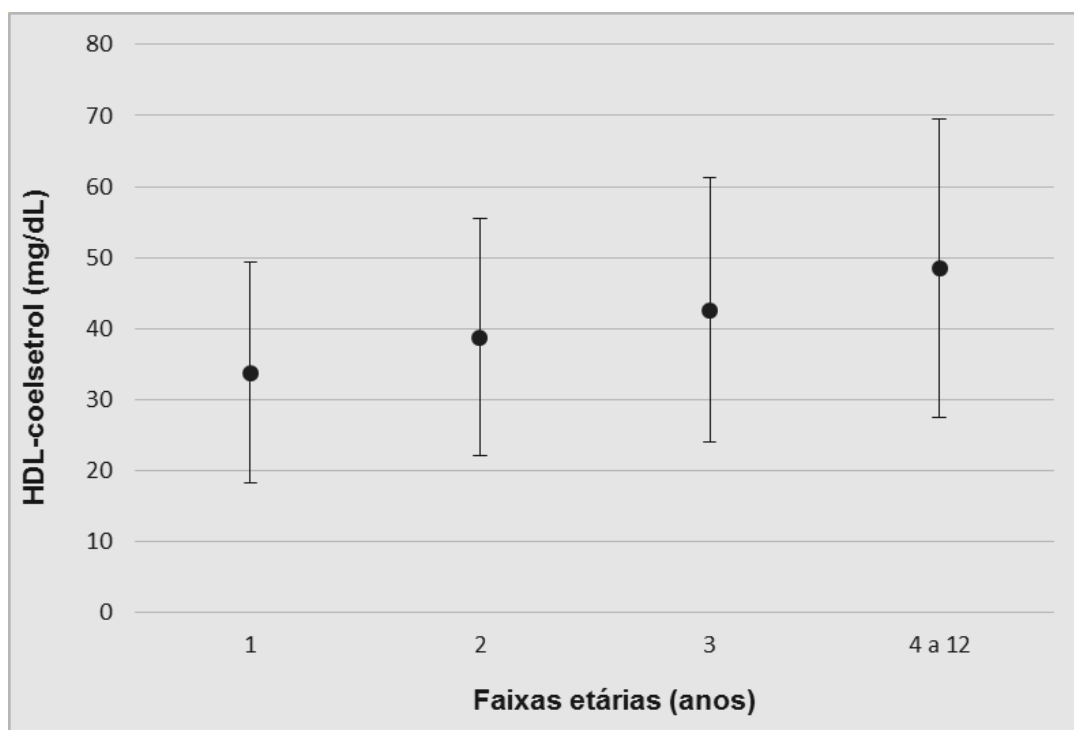


Figura 9 – Intervalo de referência para o HDL-colesterol (mg/dL) em 1.848 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá

6.4.4.3. Colesterol Não-HDL

Estatística Descritiva da Análise dos Níveis de Colesterol Não-HDL

Das 1.854 crianças e adolescentes incluídas para o estudo do cNão-HDL, em uma única faixa etária, obteve-se os parâmetros apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 – Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.854 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do colesterol não-HDL.

Faixa etária colesterol não-HDL (anos)	N	Média (mg/dL)	Desvio-Padrão (mg/dL)	Valor Mínimo (mg/dL)	1 ^o Quartil (mg/dL)	Mediana (mg/dL)	3 ^o Quartil (mg/dL)	Valor máximo (mg/dL)
01 a 12	1854	106,4	24,5	33	90	104,5	122	183

A distribuição dos valores de cNão-HDL única faixa etária, pode ser observada pelo gráfico abaixo e histograma apresentados nas Figuras 10 e 11.

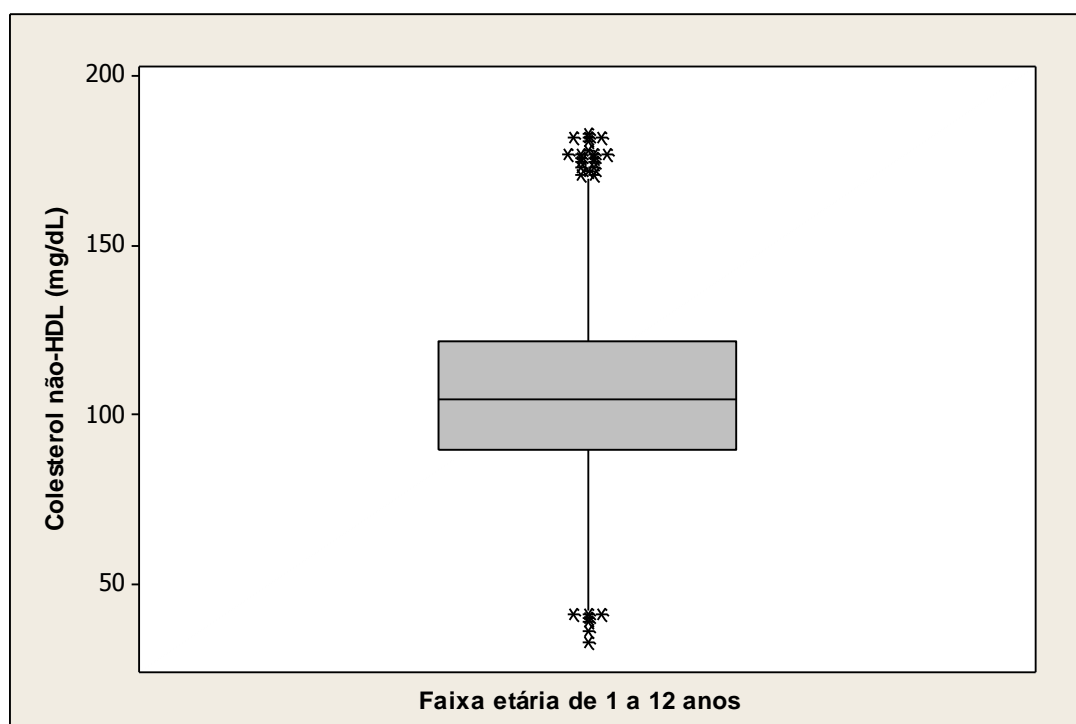


Figura 10- Distribuição da concentração do colesterol não-HDL em 1.854 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá

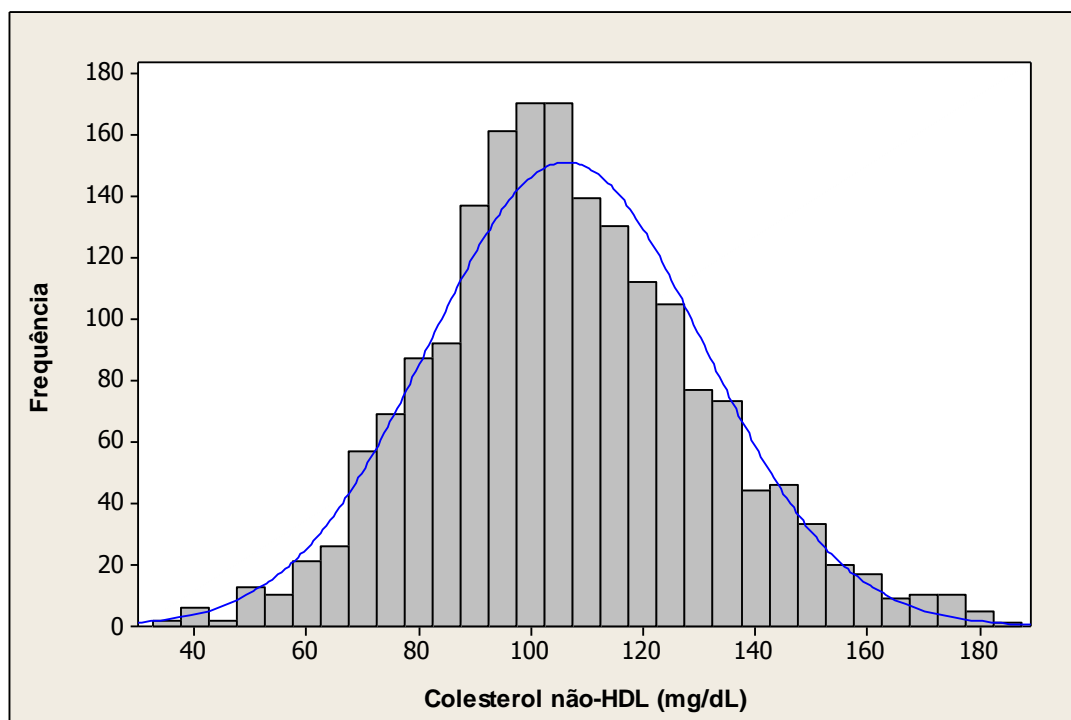


Figura 11- Histogramas em uma única faixa etária com os valores de colesterol não-HDL (mg/dL) após exclusão dos *outliers* com curva de Gauss acoplada.

Intervalo de Referência para o Colesterol Não-HDL

Os intervalos de referência ($\pm 2DP$) para este cálculo é de 57 mg/dL a 155 mg/dL para as 1.854 crianças e adolescentes, pois foi possível reunir todas as faixas etárias em um único agrupamento etário. Estes valores estão apresentados na Figura 12.

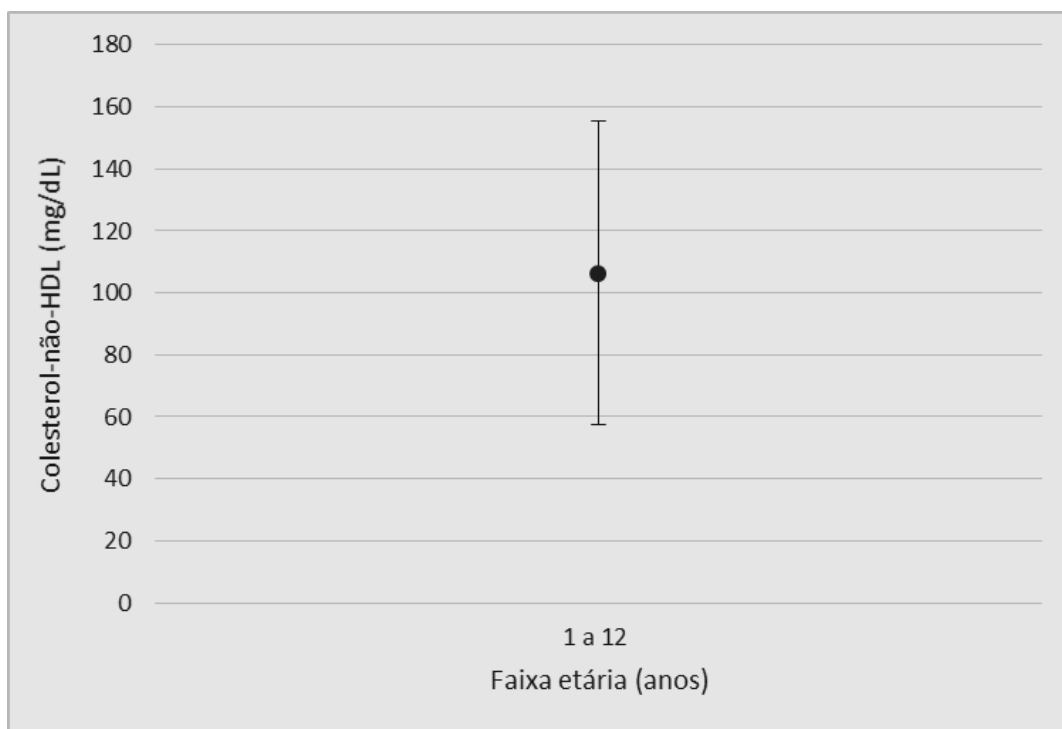


Figura 12 – Intervalo de referência para o colesterol não-HDL (mg/dL) em 1.854 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.

6.4.4.4. LDL - Colesterol

Estatística Descritiva da Análise dos Níveis de LDL-Colesterol

Das 1.856 crianças e adolescentes incluídas para o estudo do LDL-colesterol, divididas em duas faixas etárias, foram obtidos os parâmetros apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 – Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.856 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do LDL-colesterol.

Faixa etária LDL-colesterol (anos)	n	Média (mg/dL)	Desvio Padrão (mg/dL)	Valor Mínimo (mg/dL)	1º Quartil (mg/dL)	Mediana (mg/dL)	3º Quartil (mg/dL)	Valor máximo (mg/dL)
01 a 08	1.512	89,3	23,1	24	74	88	103	161
09 a 12	344	92,6	23,5	25	76,2	92	106	167

A distribuição dos valores de LDL-colesterol total, por faixa etária, pode ser observada pelo gráfico abaixo e histogramas apresentados nas Figuras 13 e 14.

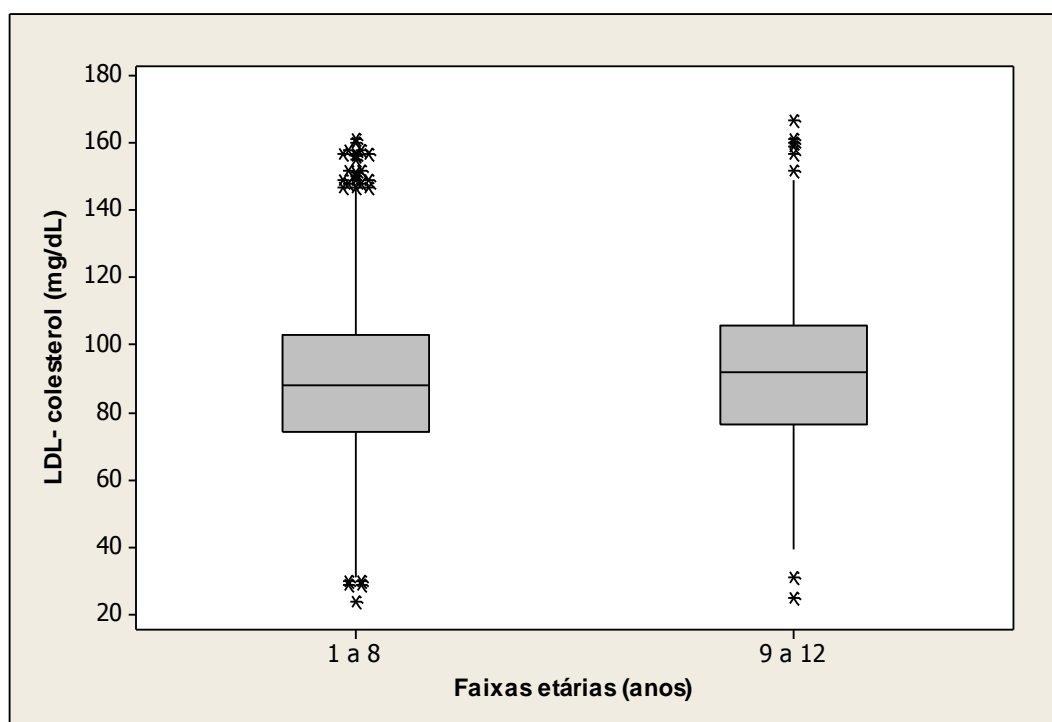


Figura 13 - Distribuição da concentração do LDL-colesterol em 1.856 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá

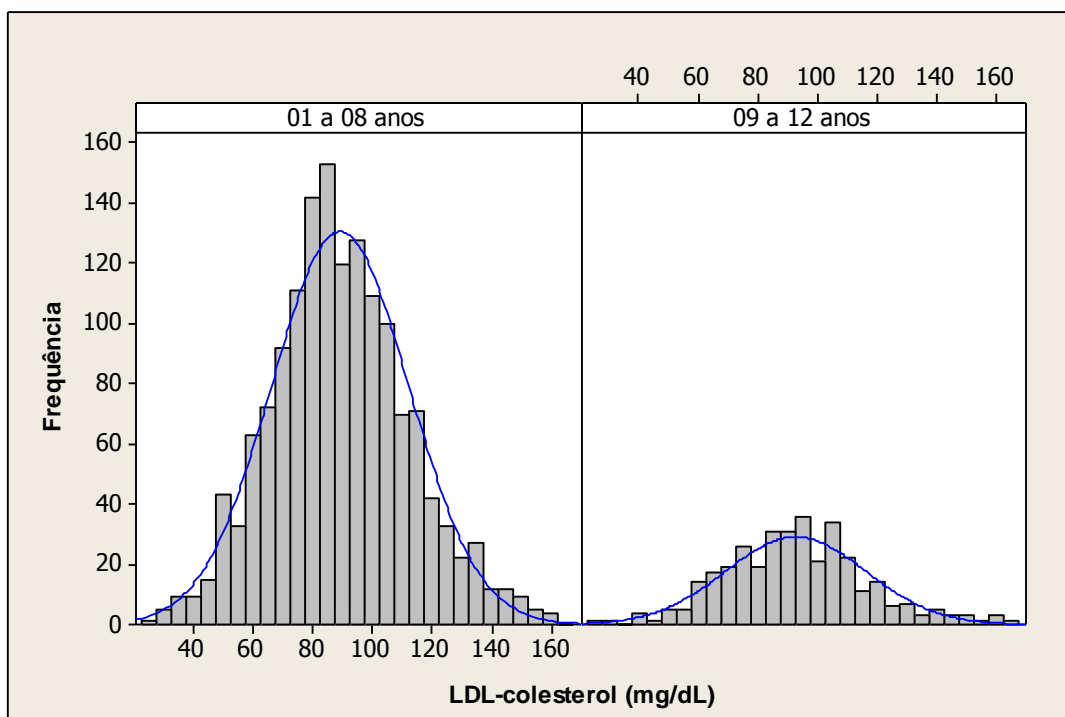


Figura 14 - Histogramas por faixa etária com os valores de LDL-colesterol (mg/dL) após exclusão dos *outliers* com curva de Gauss acoplada.

Intervalo de Referência para o LDL-Colesterol

Para a fração LDL-colesterol foram obtidos os seguintes valores de intervalos de referência ($\pm 2DP$): 43 a 135 mg/dL para crianças de 1 a 8 anos e 45 a 140 para crianças e adolescentes de 9 a 12 anos. Estes valores podem ser observados na Figura 15.

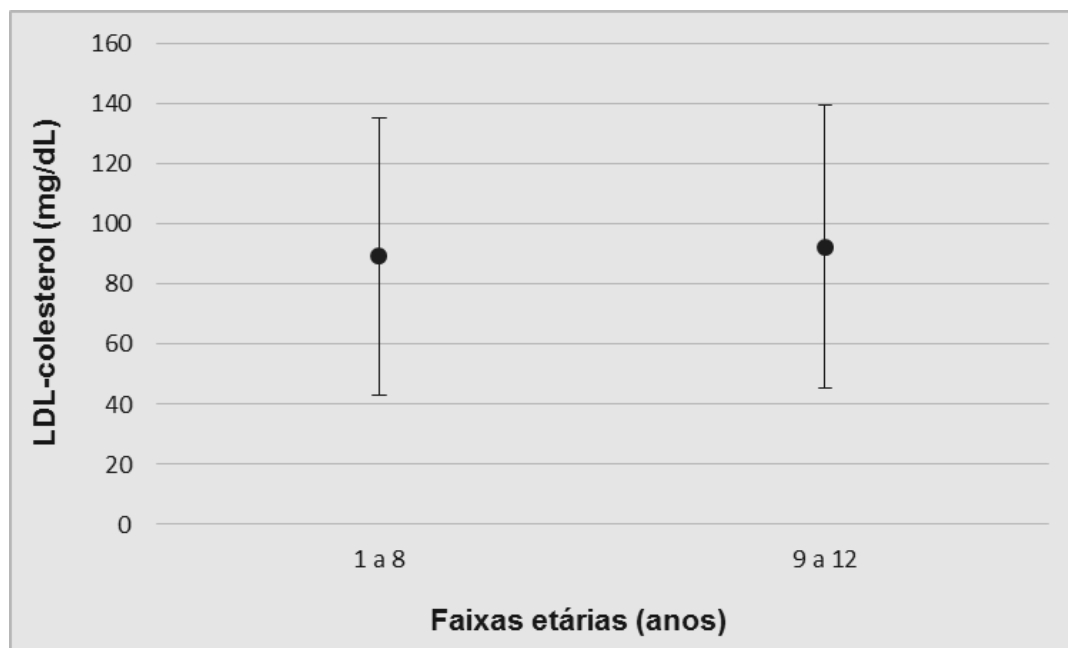


Figura 15 – Intervalo de referência para o LDL-colesterol (mg/dL) em 1.856 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá

6.4.4.5. Triglicérides

Estatística Descritiva da Análise dos Níveis de Triglicérides

Das 1.839 crianças e adolescentes incluídas para o estudo do triglicérides, divididas em três faixas etárias, foram obtidos os parâmetros apresentados na Tabela 20.

Tabela 20 – Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.839 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do triglicérides.

Faixa etária Triglicérides (anos)	n	Média (mg/dL)	Desvio-Padrão (mg/dL)	Valor Mínimo (mg/dL)	1º Quartil (mg/dL)	Mediana (mg/dL)	3º Quartil (mg/dL)	Valor máximo (mg/dL)
01	178	100,8	37,4	31	73	93	123,8	230
02 a 05	847	81,2	27,1	25	61	77	97	175
06 a 12	814	75,7	29,1	22	54	71	90	181

A distribuição dos valores de triglicérides, por faixa etária, pode ser observada pelo gráfico abaixo e histogramas apresentados nas Figuras 16.e 17.

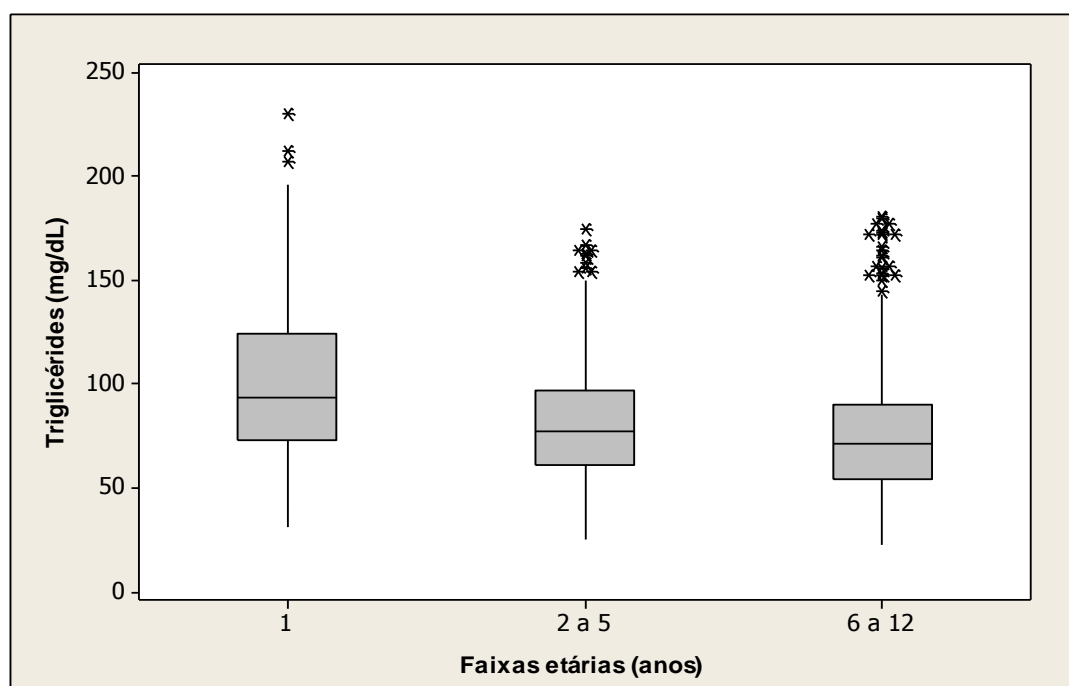


Figura 16 - Distribuição da concentração do triglicérides em 1.839 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.

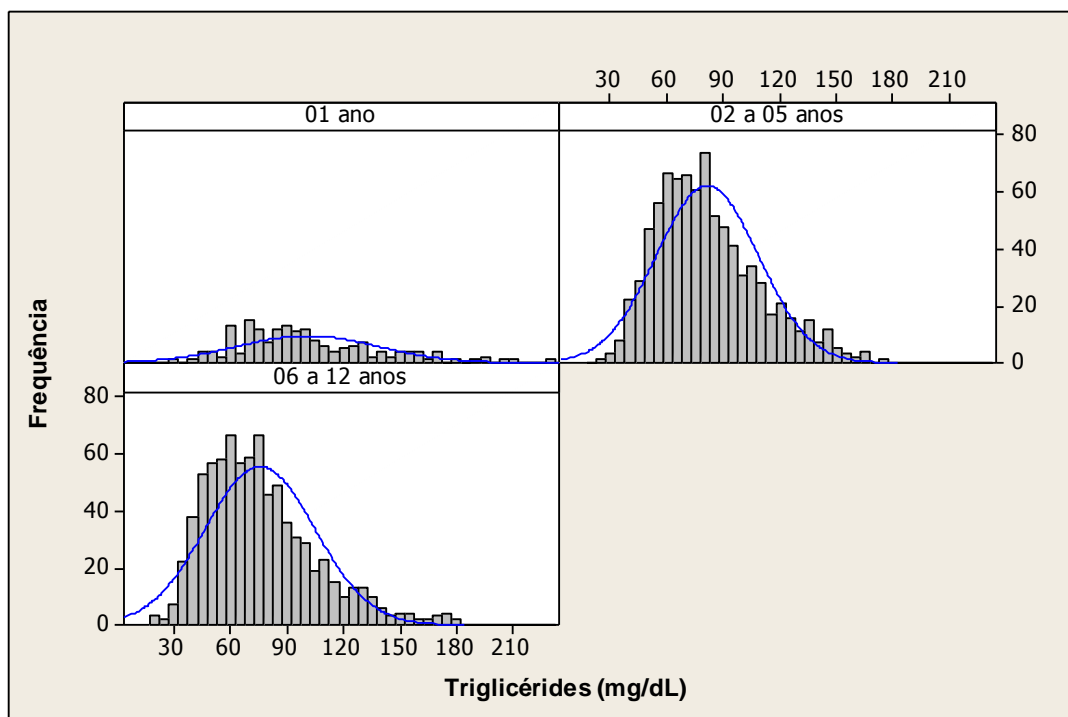


Figura 17 - Histogramas por faixa etária com os valores de triglicérides (mg/dL) após exclusão dos *outliers* com curva de Gauss acoplada.

Intervalo de Referência para o Triglicérides

Para este analito, foram obtidos os seguintes intervalos de referência ($\pm 2DP$): 26 a 176 mg/dL para crianças de 1 ano, 27 a 135 mg/dL para aquelas de 2 a 5 anos e 17 a 134 para crianças e adolescentes de 6 a 12 anos. Estes valores podem ser observados na Figura 18.

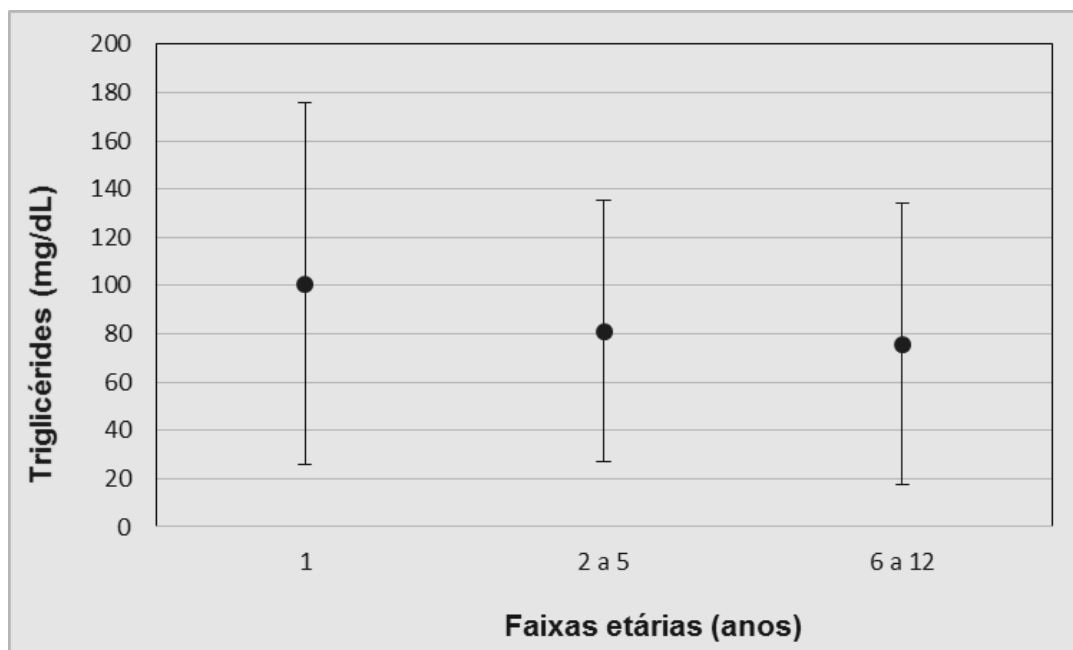


Figura 18 – Intervalo de referência para o triglicérides (mg/dL) em 1.839 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá

Intervalo de Referência para os lípidos estudados

Os intervalos de referência para cada parâmetro bioquímico estudado estão apresentados na Tabela 21, tendo sido considerada a média \pm 2 DP.

Tabela 21 – Intervalos de referência, arredondados para números inteiros, propostos para os lípidos, por faixa etária, em crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.

Parâmetro Bioquímico / Faixas etárias (anos)	Média (mg/dL)	DP (mg/dL)	IR ($\pm 2DP$) (mg/dL)
Coolesterol total			
1 a 2	142.6	26.7	89 a 196
3 a 8	153.4	25.9	102 a 205
9 a 12	157.2	27.3	103 a 212
HDL-colesterol			
1	33.8	7.8	18 a 49
2	38.8	8.4	22 a 55
3	42.6	9.3	24 a 61
4 a 12	48.5	10.5	27 a 69
Coolesterol não-HDL			
1 a 12 anos	106,4	24,5	57 a 155
LDL-colesterol			
1 a 8	89.3	23.1	43 a 135
9 a 12	92.6	23.5	45 a 140
Triglicérides			
1	100.8	37.4	26 a 176
2 a 5	81.2	27.1	27 a 135
6 a 12	75.7	29.1	17 a 134

6.5. Distribuição dos Lípidos em Percentis

Para cada parâmetro bioquímico foi estudada a distribuição das concentrações dos mesmos nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95, considerados percentis que definem os limites de decisão clínica dos lípidos.

Foi feita também, a análise por sexo para cada um destes percentis para cada um dos parâmetros estudados. Os dados são mostrados na sequência.

6.5.1. Colesterol Total

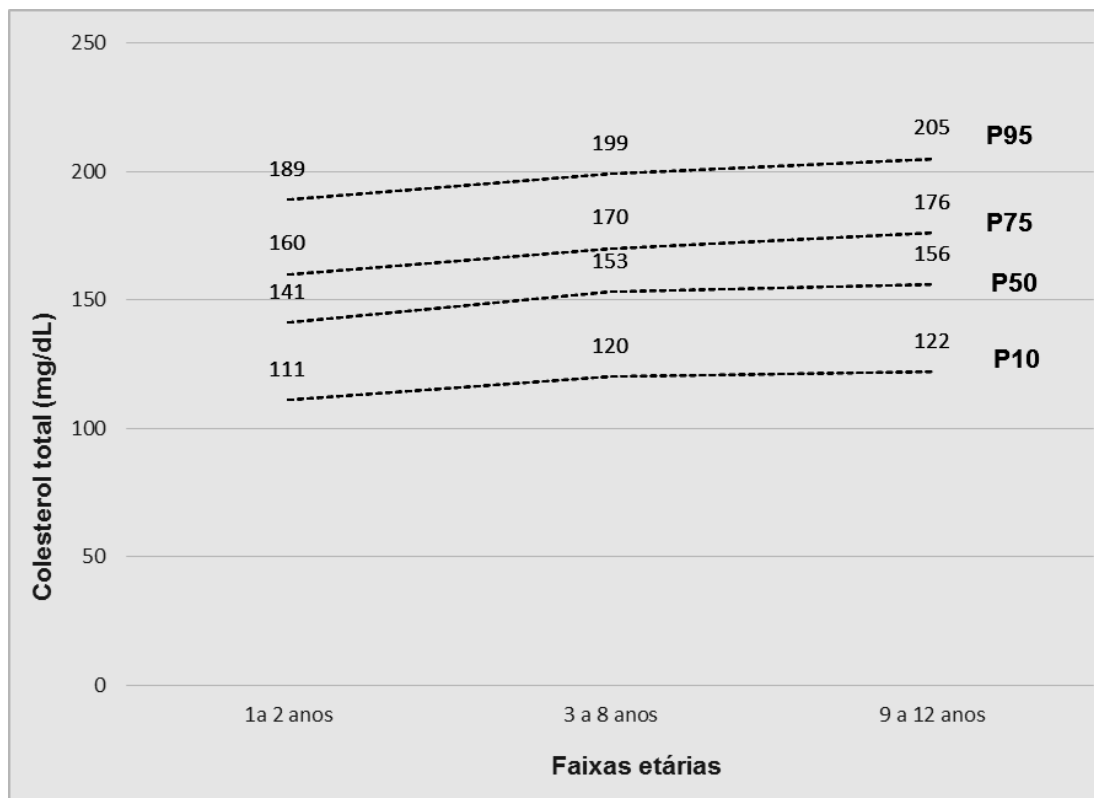


Figura 19 - Distribuição da concentração de colesterol total (mg/dL) nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas em 1.866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá

Tabela 22 - Distribuição dos valores de CT nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e por sexo.

CT				
Faixas etárias/sexo	P10 (mg/dL)	P50 (mg/dL)	P75 (mg/dL)	P95 (mg/dL)
1a 2 anos				
Masculino	108	140	159	182
Feminino	113	141	162	196
3 a 8 anos				
Masculino	119	151	169	197
Feminino	123	155	171	200
9 a 12 anos				
Masculino	121	155	176	205
Feminino	122	156	177	206

6.5.2. HDL-colesterol

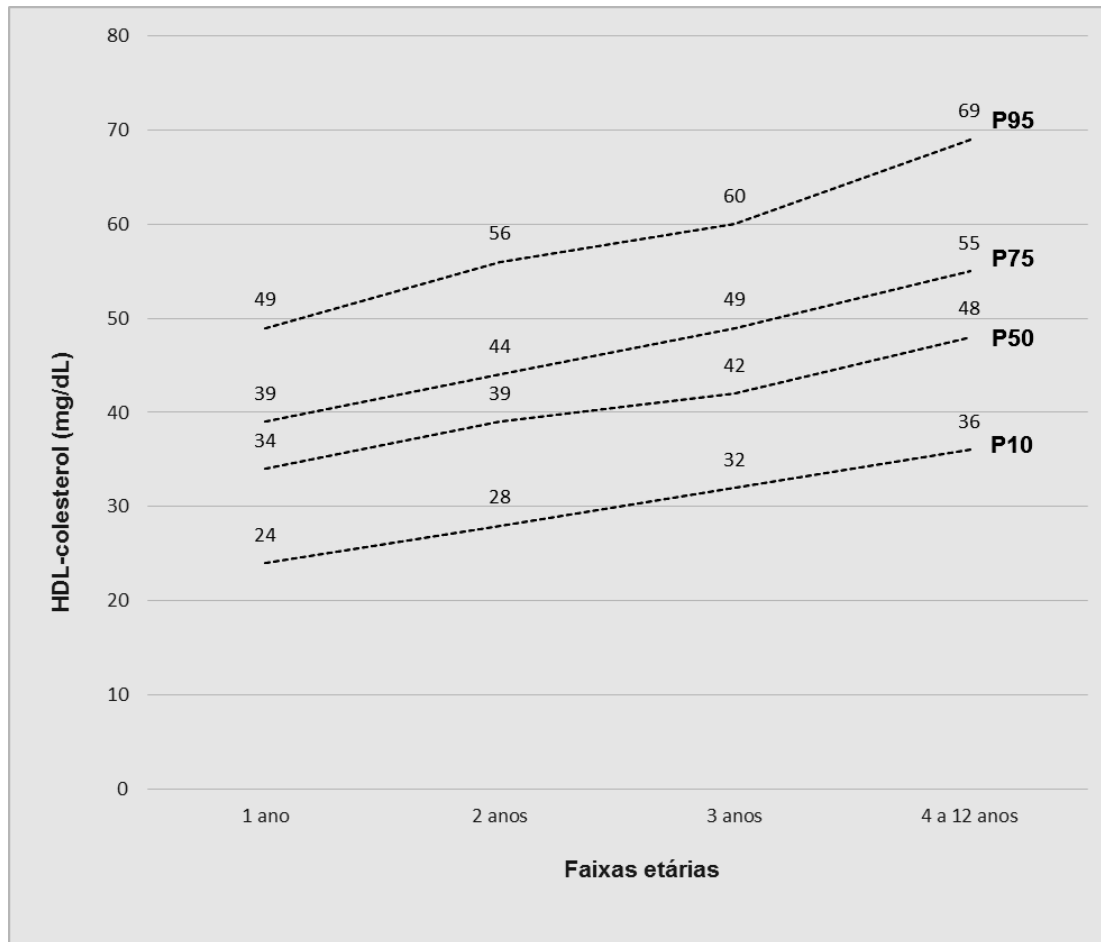


Figura 20 - Distribuição da concentração de HDL-colesterol (mg/dL) nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas em 1.866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.

Tabela 23 - Distribuição dos valores de HDL-c nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e por sexo.

HDL-c				
Faixas etárias/sexo	P10 (mg/dL)	P50 (mg/dL)	P75 (mg/dL)	P95 (mg/dL)
1 ano				
Masculino	26	34	39	49
Feminino	21	34	38	46
2 anos				
Masculino	30	40	45	63
Feminino	27	37	43	52
3 anos				
Masculino	33	43	51	61
Feminino	31	41	48	58
4 a 12 anos				
Masculino	37	49	56	69
Feminino	35	47	54	68

6.5.3. Colesterol Não-HDL

A análise estatística realizada permitiu o agrupamento das 12 faixas etárias em uma única faixa, portanto, a representação gráfica deste parâmetro quanto à distribuição em percentis não faz sentido. Os valores

correspondentes aos percentis 10, 50, 75 e 95 deste parâmetro são 76 mg/dL, 105 mg/dL, 122 mg/dL e 150 mg/dL, respectivamente.

Quanto ao estudo por sexo, a Tabela 24 evidencia os valores.

Tabela 24 - Distribuição dos valores de cNão-HDL nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e por sexo.

cNão-HDL				
Faixas etárias/sexo	P10 (mg/dL)	P50 (mg/dL)	P75 (mg/dL)	P95 (mg/dL)
1 a 12 anos				
Masculino	73	103	120	148
Feminino	79	107	125	155

6.5.4. LDL-Colesterol

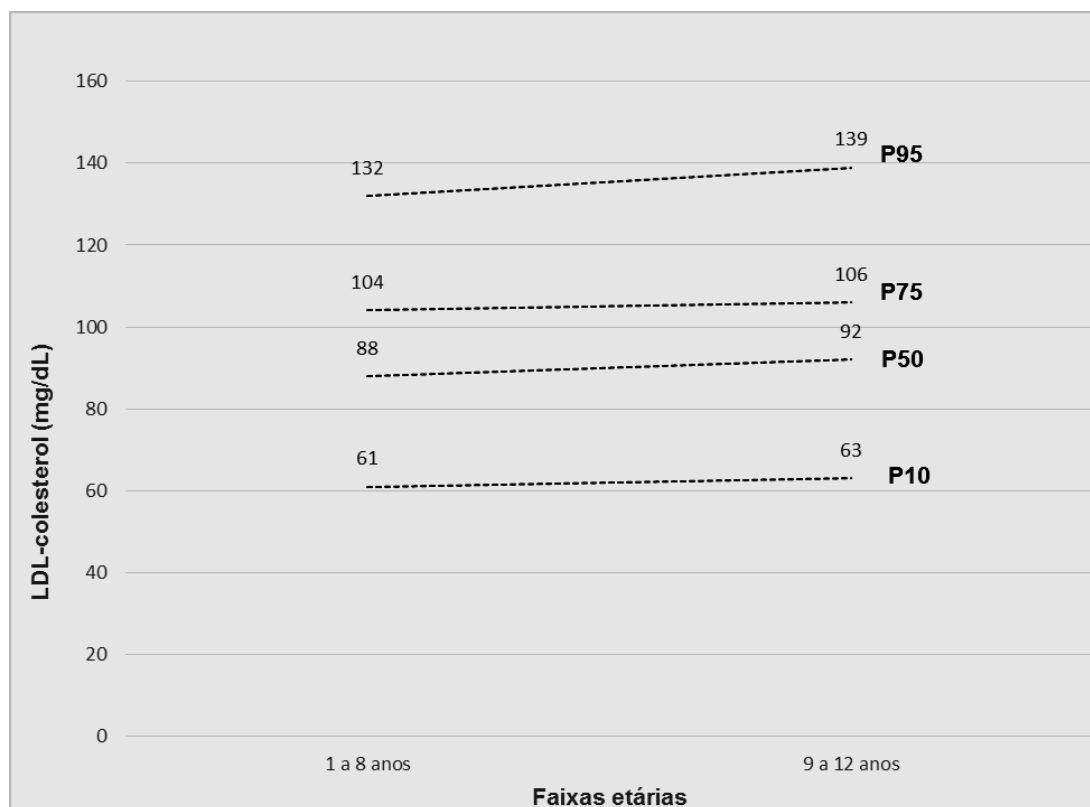


Figura 21 - Distribuição da concentração de LDL-colesterol (mg/dL) nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas em 1.866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.

Tabela 25 - Distribuição dos valores de LDL-c nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e por sexo.

LDL-c				
Faixas etárias/sexo	P10 (mg/dL)	P50 (mg/dL)	P75 (mg/dL)	P95 (mg/dL)
1 a 8 anos				
Masculino	58	86	102	129
Feminino	63	90	105	134
9 a 12 anos				
Masculino	61	92	106	133
Feminino	64	92	107	142

6.5.5. Triglicérides

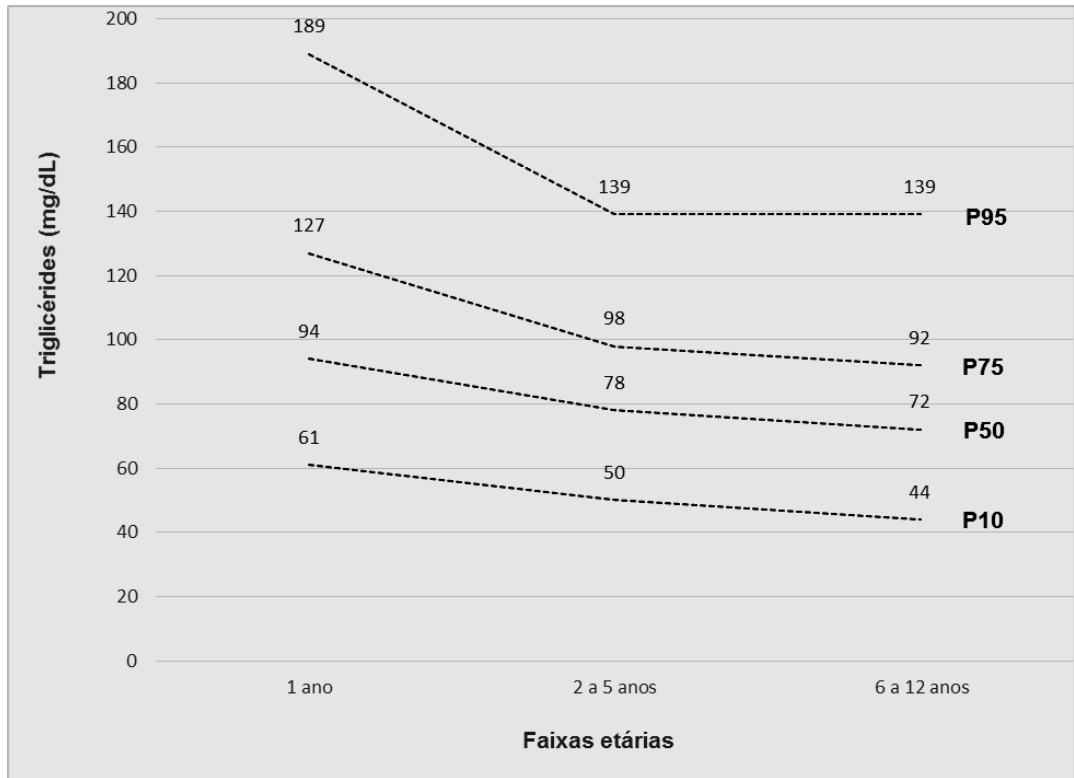


Figura 22 - Distribuição da concentração de triglicérides (mg/dL) nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas em 1.866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.

Tabela 26 - Distribuição dos valores de Triglicérides nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e por sexo.

Triglicérides				
Faixas etárias/sexo	P10	P50	P75	P95
1 ano				
Masculino	59	92	127	168
Feminino	65	98	141	222
2 a 5 anos				
Masculino	49	76	96	134
Feminino	51	79	101	143
6 a 12 anos				
Masculino	42	67	86	129
Feminino	46	76	99	156

Para cada parâmetro estudado foi feita a comparação entre as médias por sexo para cada faixa etária para avaliar se havia diferença estatisticamente significativa entre as médias. Os valores das médias e o valor de p estão mostrados na Tabela 27.

Tabela 27 – Comparação entre médias de cada parâmetro bioquímico avaliado em cada faixa etária entre ambos os sexos.

Parâmetros/ Grupo etário	Masculino (média) (mg/dL)	Feminino (média) (mg/dL)	p
CT			
1 a 2 anos	141	144	0,144
3 a 8 anos	152	155	0,062
9 a 12 anos	157	158	0,854
HDL-c			
1 ano	35	33	0,099
2 anos	40	38	0,026
3 anos	44	42	0,05
4-12 anos	49	48	0,011
cNão-HDL			
1 – 12 anos	103,9	108,7	0,001
LDL-c			
1 a 8 anos	88	91	0,002
9 a 12 anos	92	93	0,785
TG			
1 ano	96	106	0,070
2 a 5 anos	79	83	0,027
6 a 12 anos	71	80	0,001

Valores expressos em média e comparados pelo teste t-student.

6.6. Limites de Decisão e Respectivas Concentrações dos Parâmetros Avaliados

As concentrações, de cada parâmetro bioquímico estudado, correspondente aos percentis 75 e 95, que definem as classificações em desejável, limítrofe e elevado do CT, cNHDL, LDL-c e TG, nas crianças e adolescentes saudáveis de Cuiabá, estão apresentadas na Tabela 28. Os limites de decisão para o HDL-colesterol nesta população estão na Tabela 29.

Tabela 28 - Concentrações desejáveis, limítrofes e elevadas do CT, cNHDL, LDL-c e TG em 1866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

Parâmetros bioquímicos	Desejáveis (mg/dL) <P75	Limítrofes (mg/dL) P75 a < P95	Elevados (mg/dL) ≥P95
Colesterol total			
1 a 2 anos	< 160	160-188	≥ 189
3 a 8 anos	< 170	170-198	≥ 199
9 a 12 anos	< 176	176-204	≥ 205
Colesterol não-HDL	< 122	122-149	≥150
LDL-colesterol			
1 a 8 anos	< 104	104-131	≥132
9 a 12 anos	< 106	106-138	≥139
Triglicérides			
1 a	< 127	127-188	≥ 189
2 a 5 anos	< 98	98-138	≥ 139
6 a 12 anos	< 92	92-138	≥ 139

Tabela 29 - Concentrações desejáveis, limítrofes e baixas do HDL-c em 1866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

Parâmetro bioquímico	Desejáveis (mg/dL) >P50	Limítrofes (mg/dL) >P10 a P50	Baixo (mg/dL) ≤P10
HDL-colesterol			
1 ano	>34	25 a 34	24
2 anos	>39	29 a 39	28
3 anos	>42	33 a 42	32
4 a 12 anos	>48	37 a 48	36

7. DISCUSSÃO

A determinação de intervalos de referência de analitos biológicos é tarefa que exige muita atenção, especialmente no que tange à população envolvida e aos cuidados pré-analíticos e analíticos envolvidos.

Alguns estudos já foram realizados em nosso meio com o objetivo de determinar IR em crianças e adolescentes, porém este é o primeiro estudo brasileiro realizado com o objetivo de determinar IR envolvendo lípides séricos, por faixas etárias, de um a 12 anos completos.

Outro ponto de interesse é o questionamento que se coloca ao se comparar os resultados de exames laboratoriais realizados na população pediátrica brasileira com IR obtidos de outras populações. Por serem populações distintas, podem ter diferentes características, não sendo apropriados para a comparação. Assim, a necessidade de estudos brasileiros avaliando nossos próprios IR são de fundamental importância, pois nossa realidade é diferente de muitos países de onde são obtidos estes limites utilizados como referência. Atualmente todos os parâmetros aqui avaliados são comparados com IR obtidos de indivíduos americanos, com diferentes perfis genéticos e hábitos alimentares. O objetivo deste estudo foi preencher esta lacuna, mesmo que realizado com uma população brasileira regional, porém, as características demográficas desta população a tornam, se não ideal, pelo menos apropriada. Isto se deve ao fato de que a população avaliada se caracteriza por um intenso movimento migratório, o que pode representar uma amostragem de diferentes regiões do Brasil.

Certamente, apesar de regional, a população aqui avaliada apresenta características muito mais próximas ao restante da população pediátrica brasileira do que aquelas geradas em outros países. Só este fato já justificaria este estudo, porém ainda outros fatores incentivaram sua realização. Dentre esses, o fato de que os intervalos etários de outros estudos eram bastante amplos, sendo este mais um questionamento aos estudos anteriores. Desta forma, este fato era uma justificativa mais que plausível à sua execução.

Os parâmetros bioquímicos estudados estão envolvidos e inter-relacionados à fisiologia do metabolismo e podem apresentar-se alterados em uma série de situações clínicas potencialmente graves, de relevância em pediatria. As dislipidemias e a síndrome metabólica são algumas destas situações e, em todas elas, há a necessidade do apoio laboratorial tanto para o diagnóstico quanto para a monitorização clínica.

A prevalência de dislipidemia em crianças e adolescentes é elevada e varia entre 24 a 35% (Lauer et al., 1975; Lerman-Garber et al., 1993; Moura et al., 2000; Ribeiro, 2000; Uçar et al., 2000). A constatação em crianças e adolescentes, de elevação nos níveis do CT, do TG ou do LDL-c e a redução dos níveis séricos de HDL-colesterol, apontam para um perfil lipídico bastante aterogênico (Kwiterovich, 1993; Daniels; Greer, 2008). Estudos apontam que 50% das crianças e adolescentes com dislipidemia irão ser adultos dislipidêmicos (US Preventive Services Task Force, 2007). Aproximadamente, metade dos indivíduos que apresentam concentrações

de CT no percentil 75 na infância apresentarão concentrações elevadas deste analito quando adultos (NHLBI, 2012). As análises do CT, HDL-c, cNão-HDL, LDL-c, e TG são importantes e indispensáveis para o diagnóstico das dislipidemias.

As dosagens de HDL-c e de TG também são utilizadas como critério diagnóstico de síndrome metabólica, cuja prevalência é crescente na faixa etária infanto-juvenil. (Weiss et al., 2004; Oliveira et al., 2004; Brandão et al., 2005; Godoy-Matos et al., 2005; Buff et al., 2007; Madeira et al., 2008; Ferreira et al., 2011; Sinaiko, 2012). A importância de se fazer o diagnóstico da SM na faixa etária pediátrica reside na afirmação feita por Weiss et al., (2004), de que os mecanismos fisiopatológicos relacionados a esta síndrome no adulto já estão operantes nas crianças e adolescentes, apontando para o período de interferência precoce.

A principal característica das doenças cardiovasculares ateroscleróticas (DCA) é a aterosclerose e o principal fator envolvido na gênese da aterosclerose são as concentrações séricas de lípidos, especialmente do CT, LDL-c, TG e, mais recentemente, as concentrações do cNão-HDL (NHLBI, 2012).

Neste estudo foi dada ênfase à distribuição dos valores em percentis, tendo em vista os parâmetros estudados serem preferencialmente tratados como limites de decisão (CLSI, 2008). Entretanto serão discutidos, também os achados em termos de média e desvio-padrão, bem como o IR proposto

para cada parâmetro estudado. Os valores encontrados na presente pesquisa foram confrontados com aqueles dos *guidelines* brasileiros e com o *guideline* americano (NHLBI, 2012), bem como com artigos nacionais e um canadense (CALIPER; Colantonio et al., 2012), que discutem este tema.

A diretriz proposta pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (Santos et al., 2013), apesar de discutir uma situação clínica bem definida, hipercolesterolemia familiar (HF), apresenta os intervalos de referência idênticos aos propostos pelo NHLBI (2012), exceto para o HDL-c e para o cNão-HDL. Por esta razão, estes documentos serão citados conjuntamente, na maior parte das vezes.

A diretriz publicada por Xavier et al., (2013), aborda as concentrações de lípidos em crianças e adolescentes como um subitem do capítulo dislipidemias em grupos especiais e os valores apresentados são inferiores aos propostos por Santos et al. (2012). A publicação que a antecedeu, no caso a IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (Sposito et al., 2007), não aborda o assunto na faixa infanto-juvenil, e as III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (Maranhão et al., 2001), discutem este item também na seção dislipidemias em grupos especiais, mas propõe valores sugeridos pelo NCEP (1992).

O único *guideline* brasileiro voltado especificamente para a problemática na faixa etária pediátrica (Giuliano et al., 2005a), reporta valores menores que os propostos por Santos et al. (2012) e idênticos aos propostos por Xavier et al. (2013). Neste documento os autores propuseram como limite desejável para o CT valor correspondente ao percentil 50 dos referenciais americanos e como limite elevado o valor correspondente ao percentil 75 (comunicação pessoal).

Todos os *guidelines* apresentam as concentrações dos lípides em percentis e sua classificação em categorias de risco. Os IR são apresentados em dois pontos extremos, o limite superior e o limite inferior da população estudada. No estudo aqui descrito os valores lipídicos obtidos foram apresentados em percentis, utilizando-se os percentis de risco estabelecidos em estudos americanos (NHLBI, 2012) e na forma de IR.

Quando se compara os valores propostos nos *guidelines* nacionais e americanos com os encontrados nas crianças e adolescentes cuiabanos, o primeiro ponto que chama a atenção é que, em todos *guidelines*, foi considerada uma única faixa etária, que é de 2 a 19 anos, e no estudo em questão, cada parâmetro analisado apresentou agrupamentos etários distintos.

Através deste estudo foi possível evidenciar que existem diferenças nas concentrações dos lípides entre as faixas etárias na primeira década e nos anos subsequentes até 12 anos completos, não sendo de todo

adequado considerar as crianças e adolescentes apenas em uma única grande faixa etária de 2 a 19 anos.

Outro ponto importante a ser considerado foi o sexo. Exceto nos *guidelines*, a quase totalidade dos trabalhos nacionais e o canadense abordam as crianças e adolescentes separando-os quanto ao sexo. Na pesquisa realizada em Cuiabá, ao se analisar os dados quanto a esta variável, em muitos parâmetros não houve diferença do ponto de vista estatístico. Nas faixas etárias de alguns parâmetros houve diferença de algumas unidades entre os valores, que embora estatisticamente significativa, do ponto de vista clínico não indicariam diferentes condutas. Assim, os meninos e as meninas foram avaliados conjuntamente, em todos os parâmetros.

Em relação às concentrações séricas do **Colesterol Total** (Figuras 4 e 5) observou-se uma pequena tendência de ascensão com o passar dos anos, mas pode-se constatar que é um analito bastante estável. É descrito que, ao nascimento, as concentrações de CT são próximas de 70 mg/dL e que, durante as primeiras semanas de vida, este valor duplica. As concentrações do CT vão aumentando lentamente até os dois anos de idade e permanecem estáveis até à adolescência, quando apresentam queda em ambos os sexos, decorrentes da redução nas concentrações de LDL-c (NCEP, 1992). Nos meninos, há queda também das concentrações de HDL-c (NHLBI, 2012). Srinivasan et al., (1992), descreveram que o perfil lipídico

apresenta duas grandes alterações ao longo da vida de uma criança, a primeira nos primeiros dois anos e a outra durante a maturação sexual.

Segundo o NCEP (1992), a concentração de CT em crianças varia geograficamente. As diferenças surgem durante o primeiro ano de vida, com a introdução de alimentos sólidos. Nos adultos, e também nas crianças e adolescentes, o maior determinante de diferenças nas concentrações séricas deste analito é a proporção de gorduras saturadas da dieta.

Ao se comparar as concentrações séricas do CT do presente estudo com os valores encontrados nos *guidelines*, notou-se que, na faixa etária de 3 a 8 anos, os valores foram idênticos aos propostos pelo NHLBI (2012), nos limites desejáveis, *borderline* e alto. Para a faixa etária dos nove aos 12 anos, os valores das crianças e adolescentes cuiabanos foram discretamente maiores que os apresentados pelo NHLBI (2012) nestas três categorias. Nestas duas faixas etárias, os valores encontrados foram acima dos propostos por Giuliano et al. (2005a) e Xavier et al. (2013).

Considerando-se a faixa etária de 1 a 2 anos, que não foi incluída em nenhum destes documentos citados, os valores aqui encontrados permaneceram numa posição intermediária entre o que propuseram Giuliano et al. (2005a) e Xavier et al. (2013) com os propostos pelo NHLBI (2012). O NCEP (1992) descreve valores para indivíduos de 1 a 19 anos, nos percentis 75 e 95 que foram maiores que os encontrados nas crianças e adolescentes procedentes de Cuiabá.

Ao se comparar as concentrações séricas do CT desta pesquisa com as encontradas em outros estudos brasileiros, encontrou-se certa dificuldade para análise, tendo em vista que as faixas etárias estudadas eram distintas e na maior parte das pesquisas, também foi feita a distinção por sexo. Conforme citado anteriormente, a distinção por sexo, apesar de estatisticamente significativa em algumas faixas etárias de alguns parâmetros, diferiu em apenas algumas unidades entre os grupos masculino e feminino, não sendo clinicamente relevante.

Ao se analisar as médias e os desvios-padrão nas três faixas etárias das crianças e adolescentes cuiabanos, observou-se que os mesmos foram menores que aqueles encontrados por Gerber e Zielinsky (1997), por Moura et al. (2000) e por Giuliano et al. (2005b). Vale ressaltar que comparando os dados obtidos deste estudo com os valores de Gerber e Zielinsky (1997), observa-se que na faixa etária de 1 a 2 anos a diferença entre os valores das médias do CT é de cerca de 25 mg/dL a mais no estudo gaúcho. Já na faixa etária de 9 a 12 anos esta diferença é de cerca de 10 mg/dL a menos nas crianças cuiabanas. Esta diferença na faixa etária mais precoce poderia ser melhor avaliada por novos estudos para melhor definição de concentrações deste analito para esta faixa de idade, avaliando se medidas preventivas nesta faixa etária poderiam ter impacto na dislipidemia de crianças e adolescentes. Comparando-se com o estudo de Seki et al. (2003a), apesar das faixas etárias não serem coincidentes, esse estudo

incluiu crianças de 2 a 9 anos. Notou-se que os valores foram idênticos no percentil 75, no agrupamento etário de 3 a 8 anos da presente pesquisa.

As diferenças observadas entre os valores de CT nos diversos estudos avaliados podem ser conseqüentes a particularidades genéticas e diversidade de hábitos alimentares entre as diferentes populações.

Ao se comparar o estudo de Colantonio et al. (2012), que é do CALIPER, com os IR propostos neste trabalho, foi observado que apesar destes autores terem proposto uma única faixa etária de um a 19 anos, os valores correspondentes aos limites superiores nas duas primeiras faixas etárias deste estudo, evidenciaram valores inferiores aos encontrados por estes autores. Já na faixa etária de nove a 12 anos, os valores foram maiores em Cuiabá. Isto pode ser explicado pela queda natural nas concentrações de CT que ocorre na puberdade e que pode estar refletida na amostra de Colantonio et al. (2012), pois nesse estudo, todo o período da adolescência foi contemplado.

Ainda em relação ao CT, os valores dos limites inferiores do IR encontrados nas crianças e adolescentes cuiabanos foram menores que o proposto por Colantonio et al. (2012). O limite inferior do IR não tem significado clínico, pelo menos para o diagnóstico das dislipidemias.

Quando se comparou com os IR propostos na presente pesquisa com os limites de decisão do NHLBI (2012), os valores dos limites superiores nas faixas etárias de 3 a 8 anos e de 9 a 12 anos foram

discretamente maiores que o percentil 95 da diretriz americana. Na faixa etária de um a dois anos, as crianças cuiabanas apresentaram valor inferior ao percentil 95 do NHLBI (2012).

Quanto ao **HDL-colesterol**, no estudo realizado em Cuiabá, notou-se a tendência das concentrações deste analito aumentar com o passar dos anos. A avaliação deste analito merece atenção especial, pois diferentemente dos demais parâmetros do perfil lipídico, o valor de interesse médico é caracterizar concentrações reduzidas, ou seja, o limite inferior do IR se reveste de maior importância. Há controvérsias quanto a este valor, se seria equivalente ao percentil 5 (Kavey et al., 2003; Kwiterovich Jr, 2008; Santos et al., 2012) ou ao percentil 10 (NHLBI, 2012). Giuliano et al. (2005a) e Xavier et al. (2013) sugeriram apenas o valor considerado desejável. Santos et al. (2012), adotaram o percentil 5 como definidor baixas concentrações, enquanto o NHLBI (2012) estabeleceu o percentil 10.

Em nenhuma destas diretrizes, há referência aos percentis que equivaleriam ao critério desejável e limítrofe. Reconhecidamente a concentração de 45 mg/dL foi um valor considerado bom e esta foi a concentração sugerida como desejável tanto pelo NHLBI (2012) quanto por Giuliano et al. (2005a).

Fazendo este raciocínio com os dados da população pediátrica aqui descrita, os valores ditos desejáveis, corresponderiam, aproximadamente, ao percentil 65 e percentil 40 para as faixas de três anos e de quatro a 12

anos, respectivamente. Para as faixas etárias de um ano e dois anos estes equivaleriam, aproximadamente, ao percentil 95 e percentil 75, respectivamente. Isto pode ser reflexo de diferentes características populacionais ou mesmo diferentes faixas etárias envolvidas nos estudos aqui comentados.

Considerando o percentil 10, como preconiza o NHLBI (2012), para definir o limite inferior, abaixo do qual se classifica o indivíduo como tendo concentração baixa, em todas as faixas etárias, as crianças e adolescentes cuiabanos apresentaram valores menores que o proposto nos *guidelines* americano e brasileiro.

Comparando este analito com os dados de Gerber e Zielinsky (1997), de Moura et al. (2000) e de Giuliano et al. (2005b), percebeu-se que, em todas as quatro faixas etárias propostas, as médias foram menores nas crianças e adolescentes cuiabanos.

Moura et al. (2000), descreveram apenas o percentil 95 para ambos os sexos e os valores encontrados foram maiores que os obtidos neste estudo em todas as faixas etárias. Na pesquisa de Seki et al. (2003a), os valores referentes aos percentis 10, 50, 75 e 95 foram maiores que os encontrados nas faixas etárias de um ano, dois anos e três anos da pesquisa realizada em Cuiabá.

Giuliano et al. (2005b), encontraram valor correspondente ao percentil 5, que é próximo ao valor correspondente ao percentil 10, para faixa etária de 4 a 12 anos nas crianças e adolescentes de Cuiabá.

Constatou-se que as concentrações de HDL-c encontradas nas crianças e adolescentes cuiabanos foram menores que as encontradas em outros estudos brasileiros. Dois motivos podem explicar este achado. Inicialmente o fato de todos estes estudos terem sido realizados em crianças de maior idade e, muitos deles, envolveram todo o período da adolescência. A outra razão seria o fato das concentrações deste analito aumentarem com o passar dos anos.

Considerando a publicação de Colantonio et al. (2012), o agrupamento etário de quatro a 12 anos foi idêntico ao das crianças e adolescentes cuiabanos e o IR proposto tem limite inferior e superior mais elevados que os da população de Cuiabá. Para outras faixas etárias avaliadas separadamente nas crianças e adolescentes cuiabanos, este autor propõe uma única faixa englobando todas as idades e apresentou valores também maiores que os encontrados nas faixas etárias de um ano, dois anos e três anos da população cuiabana.

Comparando-se os IR propostos neste estudo com os limites de decisão apresentados pelo NHLBI (2012), os limites inferiores do IR proposto foram menores que a classificação referida como baixa deste analito e correspondeu a valores aproximados ao percentil 2,5. Já o limite

superior do IR proposto nesta pesquisa correspondeu ao percentil 95 desta população e os valores foram maiores que a classificação dita desejável deste analito publicada pelo NHLBI (2012).

Quanto ao **cNão-HDL**, este parâmetro tem se mostrado um potente preditor de aterosclerose, também em crianças e adolescentes (Seki et al., 2007; Srinivasan et al., 2002). O fato de não necessitar de jejum para seu cálculo, torna-o um parâmetro muito atrativo, sendo recomendado como uma boa ferramenta na triagem de dislipidemia na infância (NHLBI, 2012).

A presente pesquisa mostrou, no percentil 75, um valor intermediário entre o encontrado por Santos et al. (2013) e pelo NHLBI (2012). Na faixa dita limítrofe o valor inferior também é intermediário entre os valores propostos nestas duas diretrizes, mas o valor superior foi maior que o sugerido por ambas na população cuiabana. No limite classificado como elevado, a população pediátrica cuiabana apresentou concentração maior que a descrita nos dois documentos.

Os níveis deste parâmetro não foram abordados nos documentos de Giuliano et al. (2005a) e de Xavier et al. (2013).

Os estudos de Geber e Zielinsky (1997) e de Moura et al. (2000), também não discutiram este parâmetro bioquímico.

Ao se comparar a presente pesquisa com o estudo de Giuliano et al. (2005b), a média, o desvio-padrão e as concentrações equivalentes ao

percentil 95 foram menores nos indivíduos cuiabanos. Giuliano et al. (2011), considerando agrupamento etário de 7 a 12 anos, também apresentaram valores mais elevados em todos os percentis estudados que os valores das crianças e adolescentes cuiabanos. O valor reportado pelos autores como correspondente ao percentil 90 foi exatamente o mesmo encontrado nas crianças e adolescentes cuiabanos, porém no percentil 95, demonstrando que os indivíduos cuiabanos participantes da pesquisa apresentaram níveis menores deste parâmetro.

Os valores correspondentes aos percentis 75 e 95 da pesquisa de Seki et al. (2003a), foram inferiores aos encontrados na população cuiabana.

Portanto, as concentrações deste parâmetro em crianças e adolescentes de Cuiabá, comparando-as com estes outros estudos realizados no Brasil, ocuparam uma posição intermediária; foram menores que os da população estudada por Giuliano et al. (2005b), porém maiores que os encontrados em crianças e adolescentes por Seki et al. (2003a). Particularidades nos hábitos alimentares entre as populações envolvidas nestes estudos poderiam justificar estes achados.

Alguns autores tem proposto que se faça correlação entre as concentrações de cNão-HDL e LDL-c, o que seria parear os valores dos percentis 75 e 95 de ambos os parâmetros e relacioná-los. Elshazl et al. (2013), sugeriram que os valores de corte do cNão-HDL seriam 20 mg/dL maiores que os valores de corte do LDL-colesterol. No trabalho realizado em

Cuiabá, encontrou-se na faixa etária de 1 a 8 anos, diferença de 18 mg/dL entre estes dois parâmetros, para os percentis 75 e 95. Na faixa etária de 9 a 12 anos, esta diferença foi de 16 mg/dL no percentil 75 e de 11 mg/dL no percentil 95. Colantonio et al. (2012), não abordaram este parâmetro.

Ao se analisar o IR proposto na presente pesquisa com os valores correspondentes aos limites de decisão, o limite superior do intervalo supera o valor considerado na categoria elevado em todos os *guidelines* nacionais e americanos e o limite inferior do intervalo proposto, é inferior ao percentil 2,5 encontrado na população cuiabana. Não há interesse clínico, até o momento, no limite inferior deste parâmetro.

O **LDL-colesterol** foi por muito tempo o parâmetro, junto com o CT, de maior importância na avaliação do risco cardiovascular. Suas concentrações são estáveis e elevam-se pouco com o passar dos anos, entretanto, sua avaliação depende das dosagens do CT, HDL-c e do TG, ao se utilizar a fórmula de Friedewald (NECP, 1992; NHLBI, 2012). Além disto, é necessário jejum para sua realização (Srinivasan et al., 2002). Ainda que a dosagem direta já esteja disponível, os critérios utilizados pela grande maioria das publicações se baseiam nos valores obtidos pela estimativa do LDL-c pela referida fórmula.

Nesta pesquisa, as concentrações deste parâmetro descritas como desejáveis apresentaram valores menores que os propostos pelos *guidelines* americano e pelo proposto por Santos et al. (2012).

Porém, considerando o limite *borderline* e elevado, as concentrações obtidas neste estudo foram maiores, especialmente na faixa etária de 9 a 12 anos.

Analisando os dados obtidos em Cuiabá com os estudos de Geber e Zielinsky (1997) e de Moura et al. (2000), notou-se que as médias obtidas nas crianças e adolescentes cuiabanos foram menores quando comparadas a estes dois estudos. Quando comparado com os dados de Giuliano et al. (2005b), observou-se que a média foi igual na faixa etária de 1 a 8 anos, porém na faixa etária de 9 a 12 anos, as crianças e adolescentes cuiabanos apresentaram média maior. Obviamente o mesmo ocorreu com a análise dos percentis.

Quando foram comparadas as concentrações deste parâmetro com os de Seki et al. (2003a) percebeu-se que em ambos os percentis, 75 e 95, as concentrações de LDL-c foram maiores nas crianças e adolescentes de Cuiabá.

Colantonio et al. (2012), não abordaram este parâmetro em seu estudo.

Reflexos das diferenças dos valores de CT, de HDL-c e de TG, entre os diversos estudos citados, podem contribuir para estas divergências.

Comparando-se os IR encontrados na população cuiabana, os limites superiores para ambas as faixas etárias apresentaram valores que

estão discretamente acima do percentil 95 dos *guidelines* nacionais e americano, para ambas as faixas etárias. O limite inferior do IR para este parâmetro está bem abaixo do que se considera desejável para este parâmetro, que é inferior ao percentil 75, em todos os *guidelines*.

O **VLDL-colesterol**, por ser derivado do triglicérides e com ele guardar uma estreita relação, recebe pouca atenção na maior parte das publicações e não será discutido, pois não é utilizado na prática clínica e sua importância reside no fato de ser útil para o cálculo do LDL-colesterol. Os valores deste parâmetro, as figuras e as tabelas correspondentes podem ser analisadas no anexo H.

Quanto aos **triglicérides**, nota-se que as concentrações deste analito foram maiores em faixas etárias menores. Nas diretrizes propostas por Giuliano et al. (2005a) e por Xavier et al. (2013), este parâmetro é abordado em uma única faixa etária de dois a 19 anos. Segundo as publicações de Santos et al. (2012) e do NHLBI (2012), os valores limites de decisão são apresentados em duas faixas etárias, de 0 a 9 anos e de 10 a 19 anos. Na presente pesquisa foi proposta a divisão em três faixas etárias. Considerando-se os critérios estabelecidos para caracterização e diagnóstico das hipertrigliceridemias, em todos os *guidelines*, não é possível obter a referência utilizadas para classificar as concentrações de TG nas categorias desejável, limítrofe e elevado.

Kavey et al. (2003) e Daniels e Greer (2008) apontam que concentrações de TG superiores a 150 mg/dL seriam consideradas elevadas. Entretanto todos os consensos citam valores de 100 mg/dL e 130 mg/dL, dependendo da faixa etária, como valores limites, acima dos quais são considerados elevados.

Comparando-se os valores obtidos na dosagem do TG nesta pesquisa com todos os *guidelines* nacionais e americanos, nota-se que as concentrações deste analito, foram maiores em todas as faixas etárias, em especial em crianças de um ano de idade, certamente em razão do menor tempo de jejum.

Para realização deste exame é exigido jejum de 12 a 14 horas, entretanto para crianças pequenas não é possível este prazo, sendo preconizado jejum entre as mamadas (SBPC, 2013).

Ao se comparar com outros estudos brasileiros que utilizaram a média, observou-se que na faixa etária de um ano da presente pesquisa foi constatada a maior média (Geber, Zielinsky, 1997; Moura et al., 2000; Giuliano et al., 2005b). Nas outras duas faixas etárias desta pesquisa, as médias foram próximas da apresentada por Moura et al. (2000) e menores que a descrita por Geber e Zielinsky (1997). Os desvios-padrão da amostra de Cuiabá foram inferiores aos dos autores citados acima, exceto na faixa etária de um ano.

Considerando a pesquisa de Giuliano et al. (2005b), tanto a média quanto o desvio padrão das crianças e adolescentes cuiabanos foram menores, exceto nas crianças de um ano de idade. Nesta pesquisa, as crianças e adolescentes participantes não estavam em jejum.

Analisando os dados de Seki et al. (2003b), constata-se que os valores encontrados na população cuiabana estudada são maiores que o da população do referido estudo, sendo que no percentil 75 da faixa etária de 6 a 12 anos estes valores são próximos.

Ao analisar os IR publicados por Colantonio et al. (2012), estes autores propuseram uma única grande faixa etária, e apresentaram valores, tanto no limite superior quanto no inferior, maiores que os encontrados no presente estudo.

Os limites superiores do IR proposto pela presente pesquisa são discretamente maiores que o percentil 95, exceto na faixa etária de um ano.

Assim, estabelecer IR próprios para a população brasileira além de extremamente importante e desafiador, é estar alinhado com o que está acontecendo em outros países do mundo.

Quanto às limitações do presente estudo, a cidade escolhida representa uma pequena amostra da população brasileira, razão pela qual os resultados aqui encontrados podem não representar toda a população pediátrica do Brasil. Por outro lado, vale a pena ressaltar que é uma cidade

que teve um grande movimento migratório intenso, portanto altamente miscigenada. Outra limitação foi o fato desta pesquisa envolver apenas indivíduos até 12 anos, 11 meses e 29 dias, ou seja, no início da adolescência, portanto outros estudos que contemplem faixas etárias superiores deverão ser realizados. Vale salientar também que nenhum estudo brasileiro incluiu crianças em faixa etária tão precoce quanto um ano de idade.

Os dados apresentados sugeriram que os valores para classificar os indivíduos em Cuiabá e, talvez, no Brasil, possam ser diferentes dos propostos nos consensos nacionais, tendo em vista estes documentos tomarem por base estudos realizados em crianças americanas. Os parâmetros que foram avaliados e definidos nesta pesquisa podem representar os limites de decisão para a população pediátrica brasileira, contribuindo para o diagnóstico mais acurado das dislipidemias nesta faixa etária em nosso país. Entretanto, o que é preconizado pelo CLSI (2008) é que todos estes IR destes parâmetros sejam validados em populações pediátricas de diferentes regiões do país antes de serem adotadas pelos laboratórios e médicos. A validação é um processo muito mais simples, menos oneroso e mais factível para os laboratórios determinarem seus próprios IR para a população assistida.

Com os resultados obtidos neste estudo fica evidente a necessidade de novos estudos em diferentes regiões para a determinação de IR para a faixa etária pediátrica no país. A partir deste, novas pesquisas, em outras

localidades, deverão se seguir para que os resultados dos exames laboratoriais das crianças e adolescentes do Brasil possam ser interpretados utilizando-se referências nacionais.

Vale ressaltar que, em razão do desenho do estudo, dos cuidados na seleção da população de referência, na atenção aos fatores pré-analíticos e analíticos, bem como ao tratamento estatístico empregado, este trabalho poderá ser aplicado na interpretação dos resultados laboratoriais obtidos de crianças e adolescentes brasileiros nas mesmas faixas etárias dos limites aqui propostos. Evidentemente isto acontecerá após sua validação em outras populações do Brasil, aferindo assim sua utilização na rotina pela comunidade médica.

8. CONCLUSÕES

- Os limites de decisão desejáveis encontrados em crianças e adolescentes saudáveis, de 1 a 12 anos 11 meses e 29 dias, no município de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil, para colesterol total foram de <160 mg/dL, <170 mg/dL e <176 mg/dL nas faixas etárias de 1-2 anos, 3-8 anos e 9-12 anos, respectivamente. Para o colesterol não-HDL foi <122 mg/dL para todas as faixas etárias estudadas e, para o LDL-colesterol, foram de <104 mg/dL e <106 mg/dL, nas faixas etárias de 1-8 anos e 9-12 anos, respectivamente. Para o triglicérides, foram de <127 mg/dL, <98 mg/dL e 92 mg/dL nas faixas etárias de 1 ano, 2-5 anos e 6-12 anos, respectivamente. Os limites de decisão do HDL-colesterol foram de <24 mg/dL, <28 mg/dL, <32 mg/dL e <36 mg/dL, nas faixas de 1 ano, 2 anos, 3 anos e 4-12 anos, respectivamente;
- A determinação dos intervalos de referência para os lípides avaliados foi realizada nas mesmas faixas etárias dos limites de decisão descritos. Para o colesterol total os valores foram de 89 a 196 mg/dL, 102 a 205 mg/dL e 103 a 212 mg/dL. Para o HDL-colesterol foram de 18 a 49 mg/dL, 22 a 55 mg/dL; 24 a 61 mg/dL e 27 a 69 mg/dL. Para o colesterol não-HDL foi de 57 mg/dL a 155 mg/dL. Para o LDL-colesterol foram de 43 a 135 mg/dL e 45 a 140 mg/dL. Para o triglicérides foram de 26 a 176 mg/dL, 27 a 135 mg/dL e 17 a 134 mg/dL;

- Quanto ao colesterol total, os limites de decisão obtidos foram menores que os propostos pela I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar e pelo NHLBI (2012), na faixa etária de um a dois anos e semelhantes nas outras faixas etárias. Porém, foram maiores que os propostos pela I Diretriz Brasileira de Prevenção de Aterosclerose na Infância e na Adolescência e pela V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose;
- Ainda para o colesterol total, os intervalos de referência foram inferiores na população estudada quando comparados com o estudo canadense (CALIPER), exceto na faixa etária de nove a 12 anos. Estes valores foram menores que os obtidos nos estudos brasileiros, exceto no estudo realizado em Maracá;
- Quanto ao HDL-colesterol, os limites de decisão desta pesquisa, no limite baixo, foram menores que os propostos pela I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar e pelo NHLBI (2012). No limite desejável, os valores também foram menores, em todos os *guidelines* brasileiros e no americano, exceto na faixa de 4-12 anos;
- Comparado com estudos brasileiros e canadense, os valores do HDL-colesterol foram menores na população deste estudo;
- Quanto ao colesterol não-HDL, o limite de decisão obtido neste estudo foi inferior ao sugerido pela I Diretriz Brasileira de

Hipercolesterolemia Familiar e superior ao proposto pelo NHLBI (2012);

- Ainda quanto ao colesterol não-HDL, as concentrações obtidas neste estudo foram intermediárias considerando os estudos realizados em Florianópolis e em Maracá;
- Quanto ao LDL-colesterol, os limites de decisão obtidos nesta pesquisa, no limite desejável, foram menores que os propostos pela I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar e pelo NHLBI (2012). Porém, foram maiores que os propostos pela I Diretriz Brasileira de Prevenção de Aterosclerose na Infância e na Adolescência e pela V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose;
- Ainda para este parâmetro, os valores de referência deste estudo foram menores que os encontrados em estudos brasileiros, exceto nos estudos realizados em Florianópolis, cujos valores foram idênticos na faixa etária de 1-8 anos e nos estudos realizados em Maracá;
- Quanto aos triglicérides, os limites de decisão desejáveis foram maiores que os apresentados pela I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar e pelo NHLBI (2012). Entretanto, foram menores que os propostos pela I Diretriz Brasileira de Prevenção de Aterosclerose na Infância e na Adolescência e pela V Diretriz

Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose, exceto na faixa etária de um ano;

- Na faixa etária de um ano, as concentrações obtidas neste estudo, para este analito, foram maiores quando comparadas aos outros estudos brasileiros. Nas outras faixas etárias, os valores obtidos nesta pesquisa evidenciaram valores menores que os estudos de Florianópolis e Bento Gonçalves e maiores que os estudos de Maracá. Comparado com o CALIPER, o intervalo de referência proposto neste estudo foi inferior.

9. REFERÊNCIAS

Adeli K. Closing the gap in pediatric reference intervals: the CALIPER initiative. *Clin Biochem.* 2011;44:480-2;

Alcantara Neto OD, Silva RCR, Assis AMO, Pinto EJ. Fatores associados à dislipidemia em crianças e adolescentes de escolas públicas de Salvador, Bahia. *Rev Bras Epidemiol* 2012; 15(2): 335-45.

American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Cholesterol in childhood. *Pediatrics.* 1998;101(1 Pt 1):141-7.

American Academy of Pediatrics. National Cholesterol Education Program Report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. *Pediatrics.* 1992; 89 (3): 525-584.

Andriolo A. Generalidades In: Andriolo A, coordenador. *Guia de medicina laboratorial.* São Paulo: Manole; 2005. p. 1-11.

ARUP Laboratories. National Reference Laboratories. University of Utah. Department of Pathology. Pediatric Reference Intervals. Children aren't small adults! [cited 2013 Oct 04]. Available from: <http://www.aruplab.com/pediatricsabout/pediatric-reference-intervals>.

Bailey D, Colantonio D, Kyriakopoulou L, Cohen AH, Chan MK, Armbruster D, Adeli K. 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 (9): 1393- 405.

Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP, Tracy RE, Wattigney WA. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. N Engl J Med 1998; 338: 1650-6.

Brandão AP, Brandão AA, Berenson GS, Fuster V. Síndrome Metabólica em Crianças e Adolescentes. Arq Bras Cardiol 2005; 85 (2): 79-81.

Buff CG, Ramos E, Souza FIS, Sarni ROS. Frequência de síndrome metabólica em crianças e adolescentes com sobrepeso e obesidade. Rev Paul Pediatr 2007; 25 (3); 221-6.

Caliper Project – Canadian Laboratories Initiative on Pediatric Reference Intervals. [cited 2013 Oct 04]. Available from: <http://www.sickkids.ca/caliperproject>.

Capanema FD, Santos DS, Maciel ETR, Reis GBP. Critérios para definição diagnóstica da síndrome metabólica em crianças e adolescentes. Rev Med Minas Gerais 2010; 20(3): 335-40.

Cerioti F, Hinzmann R, Panteghini M. Reference Intervals: Way Forward. Ann Clin Biochem 2009; 46: 8-17.

Ceriotto F. Establishing Pediatric Reference Intervals: A Challenging Task. Clin Chem 2012; 58 (5): 1-3.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) H18-A3, Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; approved guideline, 3th ed. Wayne, PA: CLSI; 2004; vol 24, no 38 (CLSI document H18-A3).

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline. 3th ed. Wayne, PA: CLSI; 2008;vol 28, no 30 (CLSI document C28-A3).

Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, Daly CH, Brinc D, Venner AA, Pasic MD, Armbruster, Adeli K. Closing the gap in Pediatric Laboratory Reference Intervals: A CALIPER Database of 40 Biochemical Markers in a Healthy and Multiethnic Population of Children. Clin Chem 2012; 58:5. p.1-15.

Daniels SR, Greer FR, Committee on Nutrition. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. Pediatrics. 2008;122(1):198-208.

Elshazl MB, Martin SS, Blaha MJ, Joshi PH, Toth PP, McEvoy JW, Al-Hijji MA,

Kulkarni KR, Kwiterovich PO, Blumenthal RS, Jones SR. Non-HDL cholesterol,

guideline targets, and population percentiles for secondary prevention in a

clinical sample of 1.3 million adults the very large database of lipids (VDL-2 study). J Am Coll Cardiol. 2013 Aug 7. pii: S0735-1097(13)03075-1.

Ferreira CES, Andriolo A. Intervalos de referência no Laboratório Clínico. J Bras Patol Med Lab 2008; 44: 1-8.

Ferreira PA, Ferreira CB, Brito CJ, Pitanga FJC, Moraes CF, Naves LA, Nóbrega OT, França NM. Predição de Síndrome Metabólica em crianças por indicadores antropométricos. Arq Bras Cardiol. 2011; 96(2):121-25.

Friedberg RC, Souers R, Wagar EA, Stankovic AK, Valenstein PN. The origin of reference intervals. A college of American Pathologists Q-Probes Study of "Normal Ranges" used in 163 Clinical Laboratories. Arch Pathol Lab Med 2007; 131: p 348-57.

Frosman R W. Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations? Clin Chem. 1996; 42:813-6.

Gerber ZRS, Zielinsky P. Fatores de Risco de Aterosclerose na Infância. Um Estudo Epidemiológico. Arq Bras Cardiol. 1997; 69(4): 231-6.

Giuliano ICB, Caramelli B, Pellanda L, Duncan B, Mattos S, Fonseca FH. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência da Sociedade Brasileira de Cardiologia Arq Bras Cardiol 2005^a; 85(supl IV): 1-36.

Giuliano ICB, Coutinho MSSA, Freitas SFT, Pires MMS, Zunino JN, Ribeiro RQC. Lípides Séricos em Crianças e Adolescentes de Florianópolis, SC – Estudo Floripa Saudável 2040 Arq Bras Cardiol 2005^b; 85(2): 85-91.

Giuliano I, Freitas S, Coutinho M, Zunino J, Caramelli B. Distribution of HDL-cholesterol and non-HDL-cholesterol in Brazilian children and adolescents – The Floripa Study. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Disease. 2011; 21: 31-8.

Godoy-Matos A, Brandão AA, Nogueira AR, Brandão AP, Oliveira CC, Oliveira JEP, Oliveira J, Zagury L, Carraro LM, Ellinger V, coords. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. Arq Bras Cardiol. 2005; 84 (Supl 1): 1-28.

Gräsbeck R, Saris NE. Establishment and use of normal values. Scand J Clin Lab Invest 1969;26(Suppl. 110): p.62–3.

Gräsbeck R. Health as seem from the laboratory. In: Gräsbeck R ; Alström T, eds. Reference values in laboratory medicine. Chichester, England: John Wiley, 1981: 17-24.

Griffiths JK; Iles TC; Koduah M ; Nix ABJ. Centile Chart II : alternative nonparametric approach for establishing time-specific reference centiles and assesment of the sample size required. Clin Chem. 2004; 50 (5): 907-14.

Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals: an update. Clinica Chimica Acta 2003; 334 : 5-23.

Huma T, Waheed U. The need to establish reference ranges. *J Pub Health Bio Sci.* 2013; 2 (2): 188-90.

Jung B, Adeli K. Clinical laboratory reference intervals: the CALIPER initiative. *Clin Biochem*, 2009; 42: 1589-95;

Kavei REW, Daniels SR, Lauer RM, Atkins DL, Hayman LL, Taubert K. American Heart Association. American Heart Association Guidelines for Primary Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Disease Beginning in Childhood. *Circulation* 2003; 107: 1562-1566.

KIGGS – Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland [cited 2013 Oct 04]. Available from: <http://www.kiggs-studie.de/deutsch/studie.html>

Kohse, KP. A worldwide paediatric laboratory medicine network: the International Federation of Clinical Chemistry Task Force on Pediatric Laboratory Medicine (IFCC TF-PLM). 2007, *J Lab Med* 31(1):21–23.

Kroll MH. Evaluating sequential values using time-adjusted biological variation. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40: p 499–504.

Kulasingam V, Jung BP, Baradaran S, Chan MK, Colantonio DA, Adeli K. Pediatric reference intervals for 28 chemistries and immunoassays on the Roche cobas 6000 analyzer--a CALIPER pilot study. *Clin Biochem* 2010; 43: 1045-50.

Kwiterovich Jr PO. Recognition and Management of Dyslipidemia in Children and Adolescents. *J Clin endocrinol Metab.* 2008; 93(11): 4200-09.

Lauer RM, Connor WE, Leaverton PE, Reiter MA, Clarke WR. Coronary Heart Disease risk factors in school children: the Muscatine Study. *J Pediatr* 1975; 86:697-706.

Lerman-Garber I, Sepulveda-Amor JÁ, Tapia-Conyer R, Magos-López C, Cardoso-Saldaña G, Zamora-González J, Salvatierra-Izaba B, Posadas-Romero C. Cholesterol levels and prevalence of hypercholesterolemia in Mexican children and teenagers. *Atherosclerosis* 1993; 103: 195-203.

Madeira IR, Carvalho CNM, GAZOLLA FM, Matos HJ, Borges MA, Bordalo MAN. Ponto de Corte do Índice Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) avaliado pela Curva Receiver Operating Characteristic (ROC) na Detecção de Síndrome Metabólica em Crianças Pré-Púberes com Excesso de Peso. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2008; 52 (9):

Maranhão RC, Luz PL, Lima JC, Salgado Filho W, Avezum A, Duncan B, Loures-Vale AA, Santos JE, Bertolami MC, Faludi AA, Fonseca FH. III Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da

Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol 2001; 77 (supl III): 1-48.

Marcondes, E, Setian N, Carrazza FR. Desenvolvimento físico (crescimento) e funcional da criança. In: Marcondes E, Vaz FAC, Ramos JLA, Okay Y. Pediatría Básica: Pediatría Geral e Neonatal Tomo I. 9ª ed. São Paulo: Sarvier; 2002. P 23 a 35.

Ministério de Saúde. Saúde da criança – Acompanhamento do crescimento e desenvolvimento infantil. Série cadernos de atenção básica no. 11 série A Normas e Manuais Técnicos no. 173, 2002.

Moura EC, Castro CM, Mellin AS, Figueiredo DB. Perfil lipídico em escolares de Campinas, SP, Brasil. Rev Saúde Pública 2000; 34(5): 499-505.

National Cholesterol Education Program (NCEP) : highlights of the report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. Pediatrics. 1992; 89 (3): S495-501.

National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI). Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and human reduction in children and adolescents. Summary report. Bethesda, MD: U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Heart Lung and Blood

Institute; 2012. (NIH publication no. 12-7486A). Available from: http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cvd_ped/peds_guidelines_sum.pdf.

NCCLS. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – 2º. Ed. NCCLS document C28-A2 (ISBN I-56238-406-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA 2000.

NCS - National Children's Study. [cited 2013 Oct 04]. Available from: <http://www.nationalchildrensstudy.gov>

NORICHILD - Nordic Reference Intervals in CHILDren. [cited 2013 Oct 04]. Available from: [http://pure.au.dk/portal/en/activities/nordic-reference-intervals-in-children-norichild\(87e1f620-bcef-11db-bee9-02004c4f4f50\).html](http://pure.au.dk/portal/en/activities/nordic-reference-intervals-in-children-norichild(87e1f620-bcef-11db-bee9-02004c4f4f50).html)

Oliveira CL, Mello MT, Cintra IP, Fisberg M. Obesidade e síndrome metabólica na infância e adolescência. Rev Nutr. 2004; 17 (2): 237-45.

Pereira PB, Arruda IKG, Cavalcanti AMTS, Diniz AS. Perfil lipídico em escolares de Recife –PE. Arq Bras Cardiol 2010; 95(5): 606-13.

Plebani M, Lippi G. Biological variation and reference change values: an essential piece of the puzzle of laboratory testing. Clin Chem Lab Med 2012; 50(2): 189-190.

Ribas AS, Silva LCS. Dislipidemia em Escolares na Rede Privada de Belém. Arq Bras Cardiol 2009;92(6):446-51.

Ribeiro RQC, Adiposidade e fatores de risco cardiovascular. Estudo de base populacional. Belo Horizonte, Brasil [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2000.

Rossi ALR, Pepato MT, Zanardo Filho A. Determinação dos valores de referência do colesterol total, dos triglicérides, das lipoproteínas e de suas possíveis correlações no soro de um grupo de crianças do sexo feminino na faixa etária de 6 a 15 anos. Rev Cien Farm 1990; 12: 1-11.

Santos RD, Gagliardi ACM, Xavier HT, Casela Filho A, Araújo DB, Cesena FY, Alves RJ et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia I Diretriz Brasileira de Hipercolesterolemia Familiar (HF) Arq Bras Cardiol 2012; 99(2): 1-28.

Seki M, Niyama FP, Seki MO, Pereira Júnior PG, Seki MO, Bonametti AM, Matsuo T, Carrilho AJF. Perfil lipídico: intervalos de referência em escolares de 10 a 19 anos de idade da cidade de Maracaí (SP). J. Bras. Patol. Med. Lab. 2003^b; 39 (4): p.309-16.

Seki M, Seki MO, Niyama FP, Pereira Júnior PG, Seki MO, Matsuo T, Bonametti AM, Carrilho AJF. Perfil lipídico: intervalos de referência em escolares de 2 a 9 anos de idade da cidade de Maracaí (SP). J. Bras. Patol. Med. Lab. 2003^a; 39 (2): p.131-7.

Seki MO, Matsuo T, Seki M. Colesterol não-HDL em escolares de 7 a 17 anos de idade em um município brasileiro. Rev Panam Salut Publica/ Pan Am J Public Health. 2007; 21(5): 307-12.

Shaw JLV, Marvasti TB, Colantino D, Adeli K. Pediatric reference intervals: Challenges and recent initiatives. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2013; 50(2): 37-50.

Shine B. Use of routine clinical laboratory data to define reference intervals. *Ann Clin Biochem* 2008; 45 (Pt 5): p 467-75.

Sinaiko AR. Síndrome Metabólica em crianças. *J Pediatr*. 2012; 88 (4): 286-8.

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial (SBPC). Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial (SBPC/ML): coleta e preparo da amostra biológica. Rio de Janeiro. Manole; 2013. p 201-21.

Solberg HE. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Scientific Committee, Clinical Section. Expert Panel on Theory of Reference Values International Committee for Standardization in Haematology (ICSH), Standing Committee on Reference Values. Approved recommendation (1986) on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987;25:337-42.

Solberg HE Establishment and use of reference values In Burtis CA; Ashwood ER; Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4a. ed; Elsevier Saunders, St Louis, Missouri, 2006: p 425-48.

Soldin SJ Preface. In Soldin SJ, Wong EC, Brugnara C, Soldin OP, editors. Pediatric Reference Intervals. 7th ed. Washington, DC: AACC Press; 2011. P. xiii-x.

Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FAH, Bertolami MC, coordenadores. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia Arq Bras Cardiol 2007; 88(supl I): 1-19.

Srinivasan SR, Myers L, Berenson GS. Distribution and correlates of non-HDL-Density Lipoprotein Cholesterol in children: The Bogalusa Heart Study. Pediatrics. 2002; 110(3):e29.

Srinivasan SR, Myers L, Berenson GS. Serum lipids and lipoproteins in children. Pediatr Ann. 1992; 21(4): 220-3.

Uçar B, Kiliç Z, Çolak O, Öner S. Coronary risk factors in Turkish schoolchildren: Randomized cross-sectional study. Pediatr Int 2000; 42: 259-67.

US Preventive Services Task Force Screening for Lipid Disorders in Children: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. Pediatrics 2007; 120(1):e215-e219.

Vieira, JGH. Avaliação dos potenciais problemas pré analíticos e metodológicos em dosagens hormonais. Arq Bras Endocrinol Metab. 2002; 46 (1): 9-15.

Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, Allen K, Lopes M, Savoye M, Morrison J, Sherwin RS, Caprio S. Obesity and the Metabolic Syndrome in Children and Adolescents. *N Eng J Med.* 2004;351(11):2362-74.

World Health Organization (WHO). The WHO Child Growth Standards, 2006. [cited 2013 Oct 04] Available from: <http://who.int/childgrowth/en>

Xavier H. T., Izar M. C., Faria Neto J. R., Assad M. H., Rocha V. Z., Sposito A. C., Fonseca F. A., dos Santos J. E., Santos R. D., Bertolami M. C., Faludi A. A., Martinez T. L. R., Diament J., Guimarães A., Forti N. A., Moriguchi E., Chagas A. C. P., Coelho O. R., Ramires J. A. F., coordenadores. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol* 2013; 101(4 Supl.1): 1-22.

Young DS; Bermes EW. Preanalytical variables and biological variation. In Burtis CA; Ashwood ER; Bruns DE. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4a.ed. Elsevier Saunders, St Louis, Missouri, 2006: p 449-73.

Zimath T, Pinotti P, Gonçalves JBP, Persuhn DC. Variabilidade biológica na concentração de lípidos séricos. *Acta Bioq Clin Latinoam* 2008; 42 (1): 53-9.

Anexo A

Creches e escolas municipais de Cuiabá, sorteadas por região:

Região Norte

Creches

1. Creche Municipal Padre Armando Cavallo;
2. Creche Municipal Wilmon Ferreira de Souza;
3. Creche Municipal Altos da Glória;
4. Creche Municipal Ilza Piccoli Pagot;
5. Creche Municipal Naídes Rodrigues Ribeiro da Cruz;

Escolas

1. EMEB Octayde Jorge da Silva;
2. EMEB Orzina de Amorim Soares;
3. EMEB Celina Fialho Bezerra;
4. EMEB Dejana Ribeiro de Campos;
5. EMEB Gracildes Melo Dantas;

Região Sul

Creches

1. Creche Municipal Lais Amiccusi Soares;
2. Creche Municipal Professor Rafael Rueda;
3. Creche Municipal Mariuza do Carmo Ojeda de Barros;
4. Creche Municipal Embrião Silva Freire;
5. Creche Municipal Maria Nery Batista Ribeiro;

Escolas -

1. EMEB São Sebastião;
2. EMEB Ministro Marcos Freire;
3. EMEB Padre Raimundo Conceição Pombo M da Cruz;
4. EMEB Maria Elazir Correa Figueiredo;
5. EMEB José Torquato da Silva;

Região Leste

Creches

1. Creche Municipal Josefa Catarina de Almeida;
2. Creche Municipal Santa Ines- Poção;
3. Creche Municipal Risoleta Neves;
4. Creche Municipal Josefa da Silva Parente;
5. Creche Municipal Dona Micaela;

Escolas

1. EMEB Dr. Orlando Nigro;
2. EMEB Antonio Ferreira Valentim;
3. EMEB José Luis Borges Garcia;
4. EMEB Doze de Outubro;
5. EMEB Oito de Abril;

Região Oeste

Creches

1. Creche Municipal Maria Benedita M. Oliveira;
2. Creche Municipal José Nicolau;
3. Creche Municipal Espaço Livre;
4. Creche Municipal Macaria Militona;
5. Creche Municipal Renisea G. Barua;

Escolas

1. EMEB Marechal Candido da Silva Rondon;
2. EMEB Ezequiel Pompeu Ribeiro de Siqueira;
3. EMEB Glaucia Maria Borges Garcia;
4. EMEB Nossa Senhora Aparecida;
5. EMEB Juarez Sodré Farias;

Anexo B

Creches municipais de Cuiabá, com berçário incluídas à pesquisa

- 1- Creche Municipal Manoelino de Jesus – Regional Sul;
- 2- CAIC Eldorado – Regional Leste;
- 3- CEI Leonel Brizola – Regional Sul;
- 4- Creche Municipal Lucila Fortes – Regional Leste;
- 5- Creche Municipal Elzira Cavalcanti – Regional Oeste.

Anexo C

Número de alunos participantes do estudo por creche e escola sorteadas.

Nome da Creche/Escola	Número de coletas
Escola 12 de outubro	77
Escola 8 de abril	61
Creche Altos da Glória	34
Escola Antônio Ferreira Valentim	23
Creche Caic Eldorado	33
Escola Celina Fialho Bezerra	72
Escola Dejeni Ribeiro de Campos	46
Creche Dona Micaela	28
Creche Elzira Cavalcanti	19
Creche Espaço Livre	39
Escola Ezequiel Pompeu Ribeiro de Siqueira	24
Escola Glaucia Maria Borges Garcia	50
Escola Gracildes Melo Dantas	68
Creche Ilza Picolli Pagot	24
Escola José Luis Borges Garcia	38
Creche José Nicolau Pinto	25
Escola José Torquato da Silva	59
Creche Josefa Catarina de Almeida	23
Creche Josefa da Silva Parente	39
Escola Juarez Sodré Farias	46
Creche Laís Amicucci Soares	43
Creche Leonel Brizola	30
Creche Lucila Fortes	23
Creche Macaria Militona	20
Creche Manoelino de Jesus	21
Escola Marechal Candido da Silva Rondon	51
Creche Maria Benedita M. Oliveira	16
Escola Maria Elazir Correa Figueiredo	53
Creche Maria Nery Batista Ribeiro	33
Creche Mariuza do Carmo Ojeda de Barros	39
Escola Ministro Marcos Freire	91
Creche Naidés Rodrigues Ribeiro da Cruz	22
Escola Nossa Senhora Aparecida	79
Escola Octáide Jorge da Silva	58
Escola Orlando Nigro	76
Escola Orzina de Amorim Soares	57
Creche Padre Armando Cavallo	32
Escola Padre Raimundo Conceição Pombo M da Cruz	46
Creche Professor Rafael Rueda	61
Creche Renísea G. Barua	29
Creche Risoleta Neves	69
Creche Santa Ines – Poção	50
Escola São Sebastião	68
Creche Embrião Silva Freire	31
Creche Wilmon Ferreira de Souza	68
Total	1.994

21- Tipo de parto: () Normal () Cesárea **22-** Peso ao nascer: Kg; não sabe () (se peso desconhecido, deixar em branco na digitação)

23- Aleitamento materno exclusivo: () Sim, **24 -** Até que idade meses; () Não

25- Seu filho tem alguma dieta especial () Não () Sim, **26-** Qual:

27- Com que frequência seu filho come iogurte; flan; salgadinhos (chips); chocolate; refrigerantes; geléia artificial; suco de frutas de caixinha ou garrafa:

() Nunca; () 1x semana; () Mais 1x semana; () 1x mês; () Todos os dias;

28- Seu filho toma medicamentos diariamente: () Não () Sim, **29-** Qual

30- Seu filho toma vitamina: () Não () Sim, **31-** Qual

32- Seu filho está tomando sulfato ferroso profilático () Não () Sim

33- Dos 6 meses aos 2 anos seu filho tomou sulfato ferroso profilático () Não () Sim

34- Seu filho tratou de verme recentemente () Não () Sim; **35-** Há quanto tempo _____ **36-** Qual verme: **37-** Medicamento usado:

38- Seu filho toma banho de sol () Não () Sim, **39-** Periodicidade vezes/semana

40- Seu filho usa protetor solar () Não () Sim

41- Seu filho costuma ir ao médico periodicamente () Não () Sim, **42-** periodicidade

43- Seu filho tomou todas as vacinas () Não () Sim

44- Há fumantes em casa () Não () Sim, **45-** Quem **46-** Quanto cig/dia

47- Alguém consome bebida alcoólica () Não () Sim, **48-** Quem **49-** Frequência /semana

50- Alguém usa droga () Não () Sim **51-** Quem **52-** Frequência x/semana

53- Há animais em casa () Não () Sim, **54-** Qual

História atual e antecedentes patológicos pessoais:

55- Seu filho tem alguma doença: () Não () Sim, **56-** Qual:

57- Essa semana seu filho apresentou alguma queixa: () Não () Sim, **58-** O que:

59- Seu filho teve alguma doença recente (últimos 6 meses): () Não () Sim, **60-** Qual

- 61-** Seu filho já foi internado: () Não () Sim; **62-** Há quanto tempo **63-**Motivo
- 64-** Seu filho tem alergia () Não () Sim, **65-** A que
- 66-** Seu filho tem alergia a algum tipo de alimento () Não () Sim, **67-**Qual
- 68-** Seu filho já teve alergia na pele (mancha vermelha com coceira; alergia a picada de inseto ou fralda)() N () Sim
- 69-** Seu filho teve alergia na pele nos últimos 12 meses () Não () Sim, **70-**Quantas vezes
- 71-** A alergia era nos locais de dobras da pele () Não () Sim
- 72-** Seu filho já teve sibilância; chiado no peito; bronquite () Não () Sim, **73-**Há quanto tempo foi a última? **74-** Mais de 10 crises durante a vida toda? () Sim () Não
- 75-** Seu filho já teve infecção no ouvido () Não () Sim **76-** Mais de 6 vezes último ano() S() Não
- 77-** Seu filho já teve sinusite () Não () Sim, **78-**Mais de 6 vezes no último ano () Sim () Não
- 79-** Seu filho já teve amigdalite() Não () Sim, **80-** Mais de 6 vezes no último ano () Sim () Não
- 81-** Seu filho já teve pneumonia () Não () Sim, **82-**Mais de 6 vezes no último ano () Sim () Não
- 83-** Seu filho já teve gripe e resfriados() Não() Sim, **84-** Mais de 6 vezes último ano () Sim () Não
- 85-** Seu filho já teve impetigo () Não () Sim, **86-** Mais de 6 vezes no último ano () Sim () Não
- 87-** Seu filho já teve infecção urinária () Não () Sim, **88-**Há quanto tempo **89-** Mais de 2 vezes no último ano () Sim () Não
- 90-** Seu filho teve problema nos rins () Não () Sim, **91-**Tipo de problema
- 92-** Seu filho tem problema nos rins () Não () Sim, **93-**Tipo de problema
- 94-**Seu filho tem pressão alta () Não () Sim () Nunca mediu a pressão;
- 95-** Seu filho está perdendo peso () Não () Sim
- 96-** Seu filho está ganhando peso anormalmente () Não () Sim
- 97-** Seu filho está dormindo mais que o habitual () Não () Sim
- 98-** Seu filho está com dificuldades para dormir () Não () Sim
- 99-** Seu filho tem anemia () Não () Sim

100- Seu filho já teve anemia () Não () Sim, **101-** Quando

102- Medicamento

Antecedentes familiares (mãe; pai; avós; irmãos e tios):

	Não	Sim	Quem
103- Diabetes			104-
105- Problemas de tireóide			106-
107- Hipertensão Arterial			108-
109- Obesidade			110-
111- Asma/ Bronquite			112-
113- Dermatite Atópica (Doença de pele)			114-
115- Rinite Alérgica			116-
117- Alergia Alimentar			118-
119- Anemia			120-
121- Problemas renais			122-
123- Infarto			124-
125- Derrame cerebral			126-
127- Desnutrição			128-
129- Osteoporose			130-

Nome do analito	Resultados
131- CREATININA SÉRICA	
132-CREATININA URINÁRIA	
133-ALBUMINA URINÁRIA	
134-RELAÇÃO ALBUMINA/CREATININA	
135-PRÉ ALBUMINA	
136-IgA	
137-IgM	
138-IgG	
139-IgE	
140-TSH	
141-T3	
142-T4	
143-T4 Livre	
144-FERRITINA SÉRICA	
145- INSULINA SÉRICA	
146-GLICEMIA DE JEJUM	
147-INDICE DE HOMA R	
148-INDICE DE HOMA BETA	
149-VITAMINA D (25 OH)	
150-PCR	
151-COLESTEROL TOTAL	

152-HDL- COLESTEROL	
153- LDL-COLESTEROL	
154- VLDL-COLESTEROL	
155- TRIGLICÉRIDES	

Anexo E

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Acredito ter sido suficientemente informada a respeito do que li ou que leram para mim, falando do estudo: “DETERMINAÇÃO DOS INTERVALOS DE REFERÊNCIA DE ANALITOS BIOLÓGICOS EM CRIANÇAS SAUDÁVEIS DO MUNICÍPIO DE CUIABÁ.”.

Discuti com a pesquisadora Natasha Shlessarenko sobre a minha decisão em permitir a participação do meu filho neste estudo e entendi que vão precisar colher sangue e urina dele para fazer exames. Estes exames serão muito importantes para saber os valores normais de vários tipos de substâncias no sangue do meu filho. Ficaram claros para mim para que serve essa pesquisa, o que será feito com meu filho e com seu sangue e urina após coletados, os desconfortos e riscos da coleta (moderados = coleta de sangue).

Haverá garantias de sigilo e de esclarecimentos permanentes.

Ficou claro também que participação do meu filho é isenta de despesas e que ele terá a garantia de acesso a tratamento, se ocorrer dano pessoal, diretamente causado pela coleta de sangue ou caso algum dos exames evidencie alterações do seu resultado.

Concordo que meu filho participe voluntariamente deste estudo e poderei retirar esse meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que ele possa ter adquirido, ou no atendimento dele nesse Serviço.

Os materiais coletados nesse estudo serão utilizados somente para esta pesquisa e o soro permanecerá armazenado em um banco de soros para eventuais confirmações de resultados.

Não será pago por participar desta pesquisa e terei direito a conhecer todos os resultados dos exames que forem realizados com os materiais que forem colhidos do corpo do meu filho.

Em qualquer fase da pesquisa terei acesso ao telefone dos pesquisadores responsáveis para esclarecer minhas dúvidas. Posso

também entrar em contato com o Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso – 3615-8254 para esclarecer qualquer dúvida que eu tenha.

Declaro que a pesquisadora explicou todas as fases da pesquisa e eu as entendi. Concordei, de forma voluntária com a coleta de sangue e urina do meu filho para esta pesquisa. Estou ciente que posso retirar meu consentimento a qualquer momento e que se tiver dúvidas posso procurar a pesquisadora para mais esclarecimentos.

Os pais ou responsáveis concordam integralmente com a participação de seu filho nesse estudo.

_____ Data:
Assinatura do paciente / representante legal

Assinatura da testemunha: _____ Data:

Somente para o responsável do projeto:

Declaro, que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação no estudo.

Assinatura: _____ Data:

Endereço: Rua 25 de agosto, 18 andar – Duque de Caxias.
Telefone: 9214-9558
e-mail: ronama@terra.com.br

Anexo F

Tabela da distribuição dos percentis de 2,5 a 97,5 dos parâmetros estudados, por faixa etária

	P2,5	P5	P10	P15	P20	P25	P30	P35	P40	P45	P50	P55	P60	P65	P70	P75	P80	P85	P90	P95	P97,5	
CT																						
1 a 2 anos	89	103	111	115	119	125	129	132	136	139	141	146	148	152	156	160	164	169	177	189	205	
3 a 8 anos	105	113	120	126	132	136	139	143	147	150	153	156	160	163	166	170	174	180	187	199	211	
9 a 12anos	105	111.	122	128	134	139	143	146	149	153	156	158	164	168	173	176	181	186	193	205	216	
HDL-c																						
1 ano	16	21	24	26	26	29	30	31	32	33	34	35	36	36	37	39	40	41	44	49	51	
2 anos	24	25	28	30	32	33	34	36	36	37	39	40	41	41	43	44	45	48	50	56	63	
3 anos	26	29	32	33	35	36	37	38	39	40	42	43	44	45	47	49	51	52	54.9	60	64	
4 a 12 anos	30	32	36	38	40	41	43	44	46	47	48	49	51	52	54	55	57	59	63	69	76	
cNão-HDL																						
1 a 12 anos	61	69	76	82	87	90	93	96	99	102	105	108	111	114	118	122	127	132	139	150	162	
LDL-c																						
1 a 8 anos	46	52	61	66	71	74	78	80	83	85	88	91	94	97	100	104	108	114	119	132	142	
9 a 12 anos	45	55	63	68	72	76	80	84	86	89	92	94	97	100	104	106	110	115	122	139	150	
TG																						
1 ano	46	51	61	66	70	73	77	83	86	91	94	98	101	107	117	127	131	149	160	189	220	
2 a 5 anos	39	44	50	54	58	61	65	68	71	75	78	75	84	88	93	98	104	112	124	139	152	
6 a 12 anos	35	39	44	47	50.6	54	58	61	64	68	72	68	78	83	87	92	99	108	121	139	172	

Anexo G

Parâmetros bioquímicos, agrupamentos etários, média, desvio padrão, faixa de inclusão, número de crianças e adolescentes excluídos e número final de crianças e adolescentes utilizados para a

Parâmetros bioquímicos e agrupamentos etários	Número de crianças e Adolescentes excluídos (outliers)	Valores excluídos (mg/dL)	Número de crianças e adolescentes participantes do cálculo do IR
CT (mg/dL)			
1 a 2 anos	1	317	428
3 a 8 anos	4	72; 233; 248; 252	1.085
9 a 12 anos	3	69; 249; 300	345
HDL-c (mg/dL)			
1 ano	2	6; 59	179
2 anos	3	67; 67; 68	245
3 anos	1	74	279
4 a 12 anos	12	83; 83; 84; 84; 85; 86; 87; 90; 95; 96; 96; 98	1.145
cNão-HDL (mg/dL)			
1 a 12 anos	12	21; 22; 28; 185; 186; 187; 188; 198; 207; 208; 249; 281	1.854
LDL-c (mg/dL)			
1 a 8 anos	6	164; 165; 169; 171; 182; 261	1.512
9 a 12 anos	4	13; 13; 171; 235	344
VLDL-c(mg/dL)			
1 ano	3	48; 53; 73	178
2 a 5 anos	10	36; 37; 38; 38; 39; 40; 47; 49; 55; 62	848
6 a 12 anos	12	37; 38; 39; 40; 40; 42; 45; 47; 48; 50; 53; 60;	815
TG (mg/dL)			
1 ano	3	239; 266; 367	178
2 a 5 anos	11	177; 178; 187; 189; 192; 196; 201; 234; 246; 274; 309	847
6 a 12 anos	13	182; 183; 189; 194; 199; 203; 212; 223; 236; 241; 248; 266; 299	814

determinação dos intervalos de referência (IR)

Anexo H

Tabelas e figuras referentes ao VLDL-colesterol

Tabela 1 – VLDL-colesterol, agrupamentos etários, média, desvio padrão, faixa de inclusão, número de crianças e adolescentes excluídos e número final de crianças e adolescentes utilizados para a determinação dos intervalos de referência (IR).

Parâmetros bioquímicos e agrupamentos etários	Média (mg/dL)	Desvio Padrão (DP) (mg/dL)	Faixa de inclusão (± 3 DP da média) (mg/dL)	Nº crianças e adolescentes excluídos (outliers)	Nº crianças e adolescentes participantes do cálculo do IR
VLDL-c					
1 ano	20,8	9,0	até 47 ,6	3	178
2 a 5 anos	16,6	6,3	até 35,4	10	848
6 a 12 anos	15,6	6,9	até 36,3	12	815

Estatística descritiva da análise dos níveis de VLDL-colesterol

Das 1.841 crianças e adolescentes incluídas para o estudo do VLDL-colesterol, divididas em três faixas etárias, obteve-se os parâmetros apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros estimados da distribuição da amostra de 1.841 crianças e adolescentes incluídos no estudo para determinação do IR do VLDL-colesterol

Faixa etária VLDL-colesterol (anos)	N	Média (mg/dL)	Desvio-Padrão (mg/dL)	Valor Mínimo (mg/dL)	1°. Quartil (mg/dL)	Mediana (mg/dL)	3°. Quartil (mg/dL)	Valor máximo (mg/dL)
01	178	20,1	7,5	6	15	19	25	46
02 a 05	848	16,3	5,5	5	12	15	19	35
06 a 12	815	15,2	5,9	4	11	14	18	36

A distribuição dos valores de VLDL-colesterol, por faixa etária, pode ser observada pelo gráfico de box-plot apresentado na figura 1.

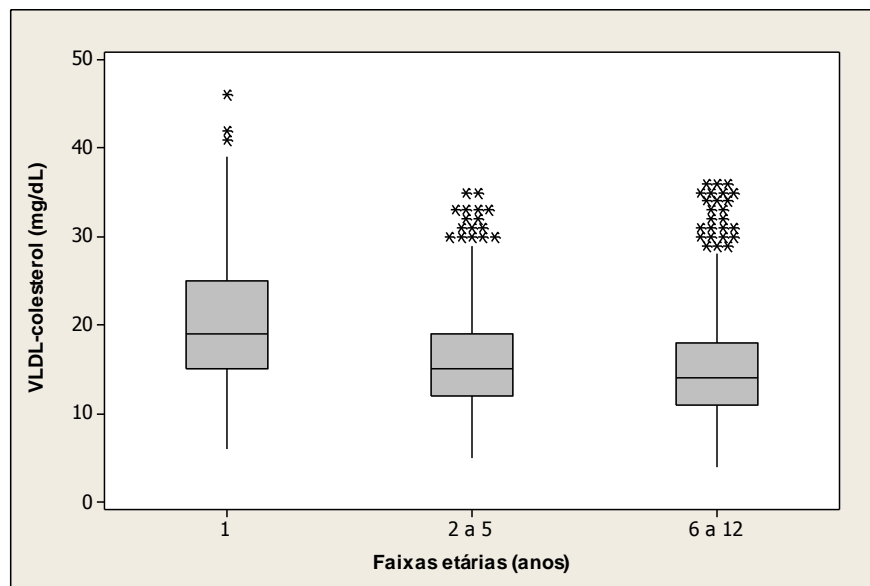


Figura 1 - Distribuição da concentração do VLDL-colesterol em 1.841 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.

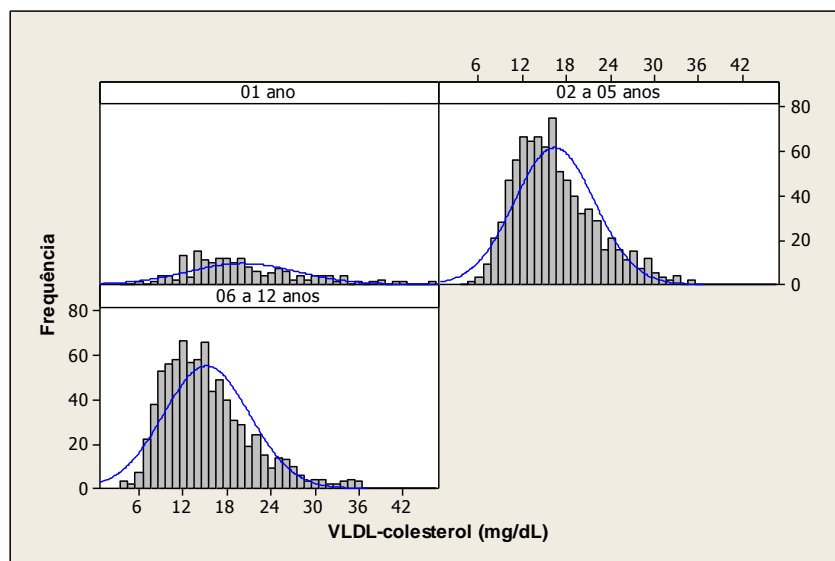


Figura 2 - Histogramas por faixa etária com os valores de VLDL-colesterol (mg/dL) após exclusão dos outliers com curva de Gauss acoplada.

Intervalo de referência para o VLDL-colesterol

Valores propostos para intervalo de referência ($\pm 2DP$) do VLDL-colesterol foram de 5 a 35 para crianças de 1 ano; 5 a 27 para crianças de 2 a 5 anos e 3 a 27 para crianças e adolescentes de 6 a 12 anos. Estes valores podem ser observados na figura 3.

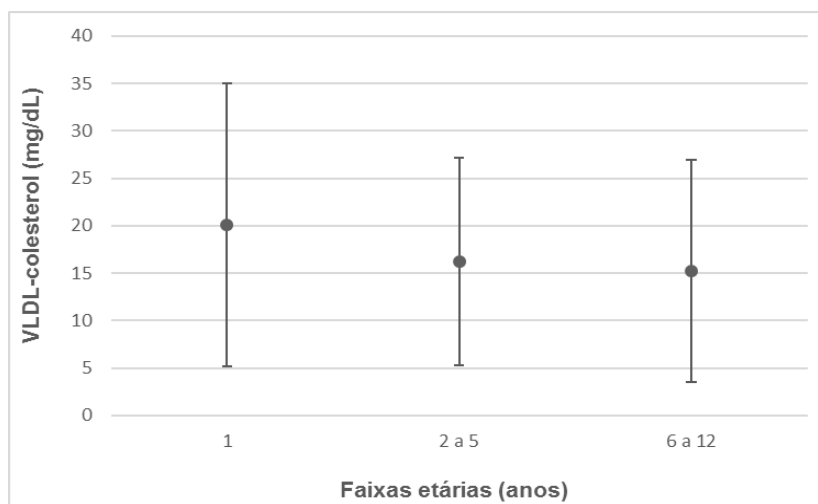


Figura 3 – Intervalo de referência para o VLDL-colesterol (mg/dL) em 1.841 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá

Tabela 3 – Intervalos de referência, arredondados para números inteiros, propostos para o VLDL-colesterol, por faixa etária, em crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá.

Faixas etárias	Média (mg/dL)	Desvio padrão (mg/dL)	Intervalo de referência (mg/dL)
1 ano	20,1	7,5	5 a 35
2 a 5 anos	16,3	5,5	5 a 27
6 a 12 anos	15,2	5,9	3 a 27

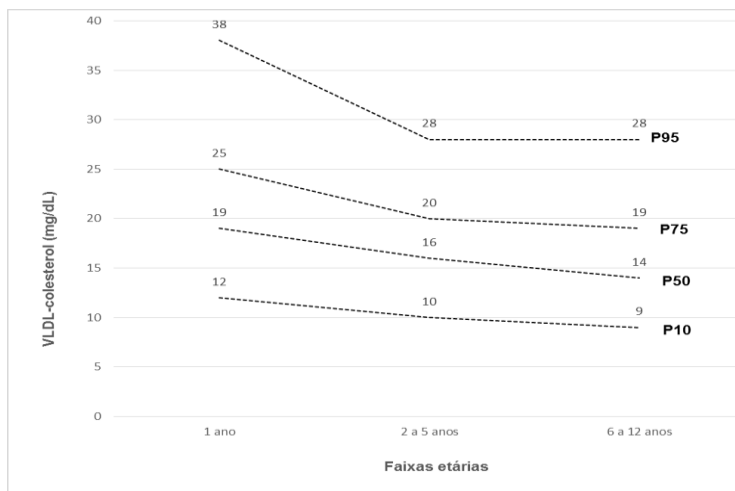


Figura 4- Distribuição da concentração de VLDL-colesterol (mg/dL) nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas em 1.866 crianças e adolescentes saudáveis do município de Cuiabá

Tabela 4 - Distribuição dos valores de VLDL-c nos percentis 10, 50 (mediana), 75 e 95 nas faixas etárias definidas para este analito e por sexo

VLDL-c				
Faixas etárias/sexo	P10 (mg/dL)	P50 (mg/dL)	P75 (mg/dL)	P95 (mg/dL)
1 ano				
Masculino	12	18	23	33
Feminino	13	20	28	44
2 a 5 anos				
Masculino	10	15	19	27
Feminino	10	16	20	29
6 a 12 anos				
Masculino	8	13	17	26
Feminino	9	15	20	31

Tabela 5 – Médias para o sexo masculino e feminino, por faixa etária do VLDL-colesterol e nível de significância

VLDL-colesterol/ Grupo etário	Masculino (média) (mg/dL)	Feminino (média) (mg/dL)	p
VLDL-c			
1 ano	19	21	0,063
2 a 5 anos	16	17	0,034
6 a 12 anos	14	16	0,001

Tabela 6 - Distribuição dos percentis de 2,5 a 97,5 do VLDL-c, por faixa etária

VLDL-c	P 2,5	P5	P 10	P 15	P 20	P 25	P 30	P 35	P 40	P 45	P 50	P 55	P 60	P 65	P 70	P 75	P 80	P 85	P 90	P 95	P 97,5
1 ano	9	10	12	13	14	15	16	16	17	18	19	20	20	21	23	25	26	30	32	38	44
2 a 5 anos	8	9	10	11	12	12	13	14	14	15	16	16	17	18	19	20	21	22	25	28	31
6 a 12 anos	7	8	9	9	10	11	12	12	13	14	14	15	16	17	17	19	20	22	24	28	34

CIÊNCIA

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em **25.07.11** tomou ciência do Projeto nº **318/11** intitulado **“DETERMINAÇÃO DOS INTERVALOS DE REFERÊNCIA DE 15 ANALITOS BIOLÓGICOS EM CRIANÇAS SAUDÁVEIS DO MUNICÍPIO DE CUIABÁ.”**, vinculado à pós-graduação do Departamento de Pediatria, que não envolverá atividade prática e/ou experimental no âmbito da Faculdade de Medicina ou Instituto do Câncer do Estado de São Paulo e que conta com prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller, onde o projeto será executado.

Pesquisador(a) Responsável: Cristina Miuki Abe Jacob

Pesquisador(a) Executante : Natasha Slhessarenko

CEP-FMUSP, 25 de julho de 2011.



Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

[Main Menu](#) → [Corresponding Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Natasha Slhessarenko

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Pediatrics*.

Manuscript ID: 2014-0543

Title: Determining the Reference Interval for Serum Lipids in Brazilian Children and Adolescents

Authors: Slhessarenko, Natasha
Jacob, Cristina
Azevedo, Raymundo
Fontes, Cor
Novak, Glauca
Andriolo, Adagmar

Date Submitted: 18-Feb-2014

[Print](#)[Return to Dashboard](#)

ScholarOne Manuscripts™ v4.14.1 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2014. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.

[Follow ScholarOne on Twitter](#)

[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)

PEDIATRICS®

**Determining the Reference Interval for Serum Lipids in
Brazilian Children and Adolescents**

Journal:	<i>Pediatrics</i>
Manuscript ID:	Draft
Article Type:	Regular Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Slhessarenko, Natasha; Universidade Federal de Mato Grosso, Pediatrics Jacob, Cristina; Universidade de São Paulo, Pediatrics Azevedo, Raymundo; Universidade de São Paulo, Patology Fontes, Cor; Universidade Federal de Mato Grosso, Infectious diseases Novak, Glauca; Universidade de São Paulo, Pediatrics Andriolo, Adagmar; Universidade Federal de São Paulo, Patologia
Keyword/Topic:	Metabolic Disorders < Endocrinology

SCHOLARONE™
Manuscripts

Determining the Reference Interval for Serum Lipids in Brazilian Children and Adolescents

Natasha Slhessarenko¹ MD PhD, Cristina M. A. Jacob² MD PhD, Raymundo S. Azevedo³ MD PhD, Cor J. F. Fontes⁴ MD PhD, Glaucia V. Novak⁵ MD, Adagmar Andriolo⁶ MD PhD.

Affiliations:

¹Assistant Professor at the School of Medicine- Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Brazil;

²Associate Professor at the School of Medicine- Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil;

³Associate Professor at the School of Medicine, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

⁴Associate Professor at the School of Medicine, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Brazil;

⁵Medical Resident of Department of Pediatrics, School of Medicine- Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil;

⁶Assistance Professor, Department of Medicine, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil.

Address correspondence to: Natasha Slhessarenko, Departamento de Pediatria, Universidade Federal de Mato Grosso, Rua 25 de Agosto 33, Duque de Caxias 2, CEP 78043-382, Cuiabá (MT), Brazil. E-mail: ronama@terra.com.br; Phone/Fax: +55 65 3315-3219.

Short title: Serum lipids in Brazilian children and adolescents.

Abbreviations: CALIPER – Canadian Laboratories Initiative on Pediatric Reference Intervals; CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute; HDL-c – HDL cholesterol; LDL-c – LDL cholesterol; nHDL-c – Non-HDL cholesterol; NCEP – National Cholesterol Education Program; NHLBI – National Heart, Lung and Blood Institute; RI – Reference intervals; TC – Total cholesterol; TG – Triglycerides

Key Words: lipids, cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol, LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, reference intervals, child, adolescent

Funding source: no external funding was secured for this study

Financial disclosure: NS received support from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and CMAJ from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) -PQ2-308105/2012-5 and Nucleo de Apoio à Pesquisa- USP (NAP-CriAd USP)

1
2
3 **Conflicts of Interest:** There are no conflicts of interest to declare
4

5 **What's known on this subject**

6 Guidelines on lipids for children in Brazil use the American reference intervals, which can
7 lead to misinterpretation because demographic characteristics that may interfere with these
8 parameters. Therefore, the results of this study are essential for the correct interpretation of
9 laboratory tests and clinical decision making in future.
10

11 **What this study adds**

12 This is the first Brazilian study that established reference intervals for lipids and lipoprotein
13 in children aged 1-12 years. These reference intervals should be used to interpret the exams in
14 Brazilian children in order to make a better clinical decision.
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Review Copy

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Contributor’s Statements

Natasha Slhessarenko: Dr. Slhessarenko conceptualized and designed the study, coordinated and supervised data collection, drafted the initial manuscript and revised the manuscript.

Cristina M. A. Jacob and Adagmar Andriolo: Drs. Jacob and Andriolo conceptualized and designed the study, critically reviewed the manuscript and approved the final manuscript as submitted.

Glaucia V. Novak: Dr. Novak participated in the data collection and performed clinical evaluation of children and adolescents

Raymundo S. Azevedo: Dr. Azevedo conceptualized and designed the study, carried out statistical analyses, critically reviewed the manuscript and approved the final manuscript as submitted .

Cor J F Fontes: Dr. Fontes carried out the statistical analyses and revised the manuscript.

Review Copy

Abstract

Background and Objectives: The establishment of reference intervals (RIs) for serum lipids is a huge undertaking, especially in pediatrics. In many countries, the normal lipid ranges for laboratory tests are based on references from American children and adolescents.

Demographic, geographic and environmental factors influence lipids. Therefore, this study determined the RIs for total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c), non-high-density lipoprotein cholesterol (nHDL-c), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) and triglycerides (TG) in Brazilian healthy children and adolescents.

Methods: A cross-sectional study was conducted of 1,866 randomly sampled healthy children and adolescents from kindergartens and schools. Blood samples were collected after a variable period of fasting based on the age of the participant. The upper cut-off points were the 75th and 95th percentiles for TC, nHDL-c, LDL-c and TG. The 10th percentile (low) was used as the bottom level for HDL-c. Non-parametric tests were used for statistical analyses.

Results: The following 95th percentiles were observed for each age interval. For children aged 1 to 2, 3 to 8 or 9 to 12 years old, the respective values were 189, 199 and 205 mg/dL for TC; 150, 132 and 139 mg/dL for LDL-C; and 189, 139 and 139 mg/dL for TG. The 10th percentiles for HDL-c were 24 mg/dL, 28 mg/dL, 32 mg/dL and 36 mg/dL for children 1, 2, 3 and 4-12 years old, respectively.

Conclusions: The lipid reference intervals defined in the studied Brazilian children and adolescents are different from those recommended by the international literature and should be used for clinical decisions.

Introduction

Cardiovascular disease is a leading cause of death in many countries, and epidemiological studies have linked this disease to elevations in serum lipids, such as total cholesterol (TC), non-high-density lipoprotein cholesterol (nHDL-c), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) and triglycerides (TG), and a low concentration of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-c); together, these changes contribute to the development of atherosclerosis.¹⁻⁶ The onset of this disease occurs during the first years of life, and coupled with the increased prevalence of dyslipidemia in the pediatric group, the evaluation of serum concentrations of these parameters at early ages is of utmost importance.⁵⁻⁹

The definition of reference intervals (RIs) poses an arduous challenge for clinical laboratories worldwide, and the difficulties are even greater in the pediatric population.¹⁰⁻¹² Ideally, laboratories should define RIs based on their own populations.¹⁰ This practice allows for accurate clinical interpretation and decision making. However, most laboratories adopt values reported by the diagnostic test manufacturer or the medical literature.^{13,14} Currently, a world task force involving several centers worldwide is striving to establish pediatric RIs.¹⁵⁻¹⁹

The RIs for parameters such as serum lipids have been established using national and international consensuses that defined decision limits.¹⁰ The decision limits specified in the medical literature are based on proposals of the National Cholesterol Education Program (NCEP) in 1992 and were updated by the National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI) in 2012.^{1,5} These guidelines are based on studies conducted over more than 3 decades. There are three guidelines on lipids and lipoprotein for children and adolescents in Brazil, including the 1st Brazilian Guideline for the Prevention of Atherosclerosis in Childhood and Adolescence,²⁰ the 5th Brazilian Guideline on Dyslipidemia and the Prevention of

1
2
3 Atherosclerosis²¹ and the 1st Brazilian Guideline on Familial Hypercholesterolemia.²²
4
5 However, these guidelines use the RIs, not for their own population, but for American
6
7 children and adolescents. This fact can lead to misinterpretation because demographic
8
9 characteristics and variables, such as diet and geographic regions, may interfere with these
10
11 parameters.^{1,5,10} Therefore, lipid parameters for the local population determined by local
12
13 studies with well-defined protocols are essential for the correct interpretation of laboratory
14
15 tests and clinical decision making. This study determined the RIs for TC, HDL-c, n-HDLc,
16
17 LDL-c and TG in healthy children and adolescents from Cuiabá City in Midwest Brazil.
18
19

20 21 22 23 **Patients and Methods**

24 25 *Demographic and geographic data*

26
27 The city of Cuiabá, capital of Mato Grosso, is in the central part of South America, and it has
28
29 a large, diverse population living in three different ecosystems (Fig 1). The ethnic
30
31 composition of the city is the result of two distinct historical phases, the first occurring during
32
33 the gold rush in the 18th century, with miscegenation between whites and Native Indians and
34
35 later with slaves from Africa. The second phase of miscegenation occurred in the 1970s with
36
37 the migration of people from southern and southeastern Brazil, consisting of people from
38
39 many ethnic backgrounds, mainly of European descent. The migration was so extensive that
40
41 the number of inhabitants in the capital quintupled in three decades. Therefore, the residents
42
43 of this city come from various regions, which makes this city a representative place for an RI
44
45 study from an ethnographic point of view.
46
47
48
49
50

51
52 The sample size calculation was based on CLSI recommendations, which require at least 120
53
54 reference individuals per age group.¹⁰ This cross-sectional study evaluated 1,994 healthy
55
56 children and adolescents who were randomly sampled from 20 schools and 25 daycare
57
58
59
60

1
2
3 centers. Interviewers completed a written questionnaire assessing the individual's
4
5 background, his or her relatives and demographic and anthropometric data. The following
6
7 inclusion criteria were used for this study: children and adolescents from 1 to 12 years, 11
8
9 months and 29 days of age without any underlying disease or diagnosed clinical complaints at
10
11 the time of blood collection. Children and adolescents who had a chronic disease or who were
12
13 taking medications that were not reported in the questionnaire but were discovered during
14
15 clinical evaluation were excluded. Children and adolescents were included after parents or
16
17 guardians signed the informed consent. All data were entered into Epidata 3.1 with a double
18
19 entry. Of the 1,994 individuals who participated, 128 were excluded for the regular use of
20
21 medication (n=14, 12 children and 2 adolescents) or acute clinical symptoms present at the
22
23 time of blood collection (n=114, 100 children and 14 adolescents). Complaints referred to at
24
25 the time of collection, which resulted in the exclusion of children, were fever (40 children
26
27 and 5 adolescents), sore throat (28 children and adolescents 6), otalgia (27 children and 2
28
29 adolescents), dysuria (5 children) and dengue (1 teenager). Children taking the following
30
31 medications were also excluded: Carbamazepine (4 children), Phenobarbital (3 children),
32
33 Ritalin (1 child and 1 teenager), Seretide (2 children), Sabril (1 child), prophylactic
34
35 Benzetacil (1 teenager) and tuberculosis prophylaxis (1 child).
36
37
38
39
40
41
42

43 The blood samples were collected after a fasting period of 3 hours for children from 1 to 2
44
45 years old, 6 hours for children from 2 to 5 years old and 12-14 hours for older children and
46
47 adolescents. Venipuncture was performed according to standard protocols.²³⁻²⁶ The samples
48
49 were processed in a Cobas[®] 6000 analyzer (Roche Hitachi Cobas 6000 Analyzer, Hitachi
50
51 High Technologies Corp., Tokyo, Japan) using enzymatic colorimetric and enzymatic
52
53 homogeneous colorimetric methods. The nHDL-c and LDL-c levels were calculated (nHDL-
54
55 c = TC - HDL-c and LDL-c = TC - HDL-c - TG/5), and the latter parameter was calculated
56
57
58
59
60

1
2
3 using the Friedwald formula. We tested the homogeneity of variances using Bartlett's test for
4
5 each parameter by age, and depending on the result, ANOVA or a Kruskal-Wallis test was
6
7 used to examine differences among the age groups. The Bonferroni post-hoc test was applied
8
9 to verify pairwise differences between the means by ages if the ANOVA or Kruskal-Wallis
10
11 test yielded a p-value less than 0.05, and age intervals with similar means were combined.
12
13 Bartlett's test was applied to the new age groups, followed by ANOVA or a Kruskal-Wallis
14
15 test to check whether the new age groups maintained the age categorization. We excluded
16
17 outliers (± 3 standard deviations from the mean), and the RI was established as the resulting
18
19 mean ± 2 standard deviations. In addition, we calculated the percentile distribution to establish
20
21 the RIs and adopted the criteria of the NHLBI Expert Panel on Integrated Guidelines for
22
23 Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents⁵ as a proposed
24
25 decision limit for this population. For TC, nHDL-c, LDL-c and TG, values below the 75th
26
27 percentile were considered desirable or acceptable. Values from the 75th to approximately the
28
29 95th percentile were considered borderline, and values greater than or equal to the 95th
30
31 percentile were considered high. For HDL-c, the 10th percentile was used as the lower limit.
32
33 Therefore, the participants below the 10th percentile were considered to have a low
34
35 concentration. A concentration above the 50th percentile was considered desirable. The
36
37 significance level was 5% for all tests. The statistical analyses were performed using Minitab
38
39 software, version 15 (Minitab, Pennsylvania, USA) and SPSS, version 16 (Chicago,
40
41 Illinois, USA).
42
43
44
45
46
47
48

49 The Research Ethics Committees of the institutions involved and the Municipal Departments
50
51 of Education and Health of Cuiabá city approved this project.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Results

The final study population consisted of 1,866 healthy children and adolescents, and 919 (49.2%) were male. Regarding race, 64.4% were declared as mixed race, 19.6% as white, 12.5% as black and 2.8% as Asian descendent. A total of 97% were born in Cuiabá. Their nutritional statuses were classified as 73.4% normal weight, 9.4% overweight, 6.3% at risk of being overweight, 6.9% obese, 2.7% underweight and 1.2% extremely underweight.²⁶ This classification was performed using WHO Anthros and WHO Anthros Plus version 3.2.2. A total of 39.2% of all participants had a family history of diabetes, and 65.5% and 22.4% reported a family history of hypertension and obesity, respectively. Cardiovascular diseases, such as myocardial infarction and stroke, were reported by 17.6% and 12.3%, respectively. Frequency histograms of serum levels of TC, HDL-c, non-HDL-c, LDL-c and triglycerides for all analysed age-groups and after exclusion of outliers are shown in figures 2-6.

The RIs for TC were calculated for 3 age groups: 1-2 years, 3-8 years and 9-12 years. Four age groups were calculated for HDL-c: 1 year, 2 years, 3 years and 4-12 years. All children and adolescents were grouped into a single age group for nHDL-c. Two age groups were defined for LDL-c (1-8 years and 9-12 years), and 3 age groups were used for TG (1 year, 2-5 years and 6-12 years). The proposed RIs (± 2 SD) for TC were 89-196 mg/dL for 1-2-year-olds, 102-205 mg/dL for 3-8-year-olds and 103-212 mg/dL for 9-12-year-olds. The proposed RIs (± 2 SD) for HDL-c were 18-49 mg/dL for 1-year-olds, 22-55 mg/dL for 2-year-olds, 24-61 mg/dL for 3-year-olds and 27-69 mg/dL for 4-12-year-olds. The proposed RI (± 2 SD) for nHDL-c was 57-155 mg/dL for 1-12-year-olds. The proposed RIs (± 2 SD) for LDL-c were 43-135 mg/dL for 1-8-year-olds and 45-140 mg/dL for 9-12-year-olds. The proposed RIs (± 2 SD) for TG were 26-176 mg/dL for 1-year-olds, 27-135 mg/dL for 2-5-year-olds and 17-134 mg/dL for 6-12-year-olds. The mean, standard deviation, maximum and minimum and 1st

1
2
3 and 3rd quartiles values of each parameter evaluated in their respective age groups are shown
4
5 in Table 1. The clinical decision limits for each parameter, calculated according to the
6
7 NHLBI,⁵ are shown in Tables 2 and 3.
8
9

10
11 Many researchers have emphasized the need to consider gender in the determination of the RI
12
13 for laboratory parameters for the pediatric population. Statistical significance in this study
14
15 was observed for some parameters in specific age groups, but these differences would not
16
17 likely have a relevant clinical impact (Table 4).
18
19

20 21 22 23 **Discussion**

24
25
26
27 This study is the first performed in Brazil in a large population that included children of early
28
29 ages from a city of Cuiaba in a central area of South America. This city presents very
30
31 interesting peculiarities for study due to the ethnic mixture and an intense migratory
32
33 movement of people from different regions of Brazil with different eating habits and genetic
34
35 backgrounds.
36
37

38
39
40 Cardiovascular diseases usually manifest after the fourth decade of life, but atherosclerosis
41
42 begins during an individual's first few years.^{1,5,6} This finding emphasizes the need to
43
44 determine the real concentrations of lipids in children and adolescents and identify
45
46 individuals with cardiovascular risk indicators to enable early intervention.
47
48

49
50
51 The values used to diagnose dyslipidemia vary among populations. Each country should
52
53 ideally establish its own RIs.^{10,27} Some studies on lipid RIs have been conducted in Brazil,
54
55 but the goals were to determine the distribution of serum lipids in pediatric populations,²⁸⁻³¹
56
57
58
59
60

1
2
3 except one study in a small town in São Paulo.^{32,33} This report is the first Brazilian
4
5 investigation to establish the RIs for serum lipids in children and adolescents aged 1–12
6
7 years. The currently recommended lipid RIs for Brazilian children and adolescents are based
8
9 on references from American children and adolescents, who have different genetic profiles
10
11 and distinct dietary habits. Therefore, this study aimed to narrow this gap. The current cohort
12
13 is a specific Brazilian population, presumably with non-ideal demographic characteristics, but
14
15 the results of this study are very interesting. The above-mentioned population has more
16
17 characteristics in common with Brazilian children and adolescents from other regions of the
18
19 country than with any North American cohort.
20
21
22
23
24

25 The NHLBI⁵ combined children and adolescents 2–19 years of age in a single group to assess
26
27 TC, HDL-c, nHDL-c and LDL. Only two age groups, 0–10 and 10–19 years, were
28
29 established to assess TG levels. In the CALIPER study³⁴ and the present study, however, the
30
31 parameters were studied in different age groups for each analyte.
32
33
34
35

36 The NHLBI⁵ considers a TC level <170 mg/dL in children and adolescents aged 2–19 years
37
38 as desirable.⁵ The desirable borderline and upper limit threshold values obtained in this study
39
40 were lower in the age group of 1–2 years. The desirable borderline and upper concentrations
41
42 for the age group of 3–8 years overlap the recommendations of the NHLBI. Higher
43
44 thresholds were obtained in the group of 9–12 years than the thresholds proposed by the
45
46 American guidelines (Table 2).
47
48
49
50

51 The CALIPER study³⁴ combined children and adolescents into age groups of 0–14 days, 15
52
53 days to <1 year and 1–19 years. Our results were compared only with this last age group. We
54
55 obtained lower upper limit values for children up to 8 years of age and values above the
56
57
58
59
60

1
2
3 CALIPER guidelines for children and adolescents aged >9 years. Genetic differences and
4
5 diverse eating habits among the Brazilian, US and Canadian populations are possible factors
6
7 for the observed differences. Our values were identical for 3-8-year-olds compared with the
8
9 previous Brazilian study of lipids of a single age group (2-9 years old), which is the desirable
10
11 limit for this analyte.³²
12
13

14
15
16 Levels of HDL-c >45 mg/dL are desirable, 40–45 mg/dL are borderline, and <40 mg/dL are
17
18 low according to the NHLBI. This last value represents approximately the 10th percentile, and
19
20 it is the most relevant value in medical practice.⁵ The values corresponding to desirable,
21
22 borderline and lower limits in this study are below the limits suggested by the NHLBI for the
23
24 age groups of 1 year, 2 years and 3 years (Table 3). There are two potential reasons for this
25
26 difference: the concentration of this analyte increases gradually over time, and this parameter
27
28 was studied in a single age group (2–19 years) in the NHLBI study. The concentrations were
29
30 higher in the age group 4–12 years, and although they were borderline and within desirable
31
32 limits, they were below the threshold compared with the values proposed by the NHLBI
33
34 (Table 3). The CALIPER study defined the following four age groups for HDL-c: 15 days to
35
36 <1 year, 1 to <4 years, 4 to <13 years and 13 to <19 years. The lower and upper limits
37
38 obtained in the present study were lower than the CALIPER concentrations in the
39
40 corresponding age groups.³⁴ Possible explanations include the genetic differences and diverse
41
42 eating habits of the two analyzed populations. The previous Brazilian study of lipids in
43
44 children makes no reference to the 10th percentile, but the desirable limit includes greater
45
46 values than the results of our study.³²
47
48
49
50
51
52

53
54 The non-HDL-c value is obtained by subtracting the HDL-c value from the TC value.

55
56 Acquiring this value does not require fasting, which renders it very attractive, especially
57
58
59
60

1
2
3 among children. Moreover, this parameter is predictive of atherosclerosis because it includes
4 all classes of lipoproteins.^{5,35,36} The NHLBI considers concentrations < 120 mg/dL
5 desirable.⁵ Our values are higher than those suggested by NHLBI in the three categories,
6 namely, desirable, borderline and upper limit (Table 2). The lower HDL-c concentrations in
7 this population (Tables 2 and 3) may explain this difference. The value for this parameter in
8 our study was higher than that in the previous Brazilian study of lipids.³² The CALIPER did
9 not report this parameter in their analysis.³⁴
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19

20
21 A comparison between the concentrations of LDL-c obtained in this study and the NHLBI
22 revealed that the LDL-c 75th percentile in our study was lower than the NHLBI desirable
23 limit. The LDL-c concentrations of the borderline upper limit for the age group 1–8 years
24 overlapped with the recommendations of the NHLBI. The concentration obtained for this
25 parameter in the age group 9–12 years was higher than the recommendations of the NHLBI
26 (Table 2). One possible explanation for this discrepancy may be methodological differences
27 because the NHLBI data were clustered into a single age group. Differences in the TC, HDL-
28 c and TG values may contribute to these disparities. The value for this parameter in our study
29 was higher than the previous Brazilian study of lipids.³² The CALIPER did not report this
30 parameter in their analysis.³⁴
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44

45 The TG thresholds in this study were systematically higher than those proposed by the
46 NHLBI (Table 2).⁵ The fasting period may provide one explanation for this effect. The
47 recommended fasting for the collection of this analyte is 12–14 hours, but the recommended
48 fasting intervals (duration between feedings) in this study were 3 hours for children up to 2
49 years, 6 hours for children up to 5 years and 12-14 hours for children > 5 years.
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 The TG levels obtained in this study³⁴ show that the upper and lower limits were
4
5 systematically lower compared with CALIPER. The fasting time may be one explanation for
6
7 this effect because fasting was not required in the CALIPER study. The value for this
8
9 parameter in our study was higher than the previous Brazilian study of lipids.³²
10
11

12
13
14 The weakness of this study was not having included adolescents higher than 13 years old.
15
16 New studies need to fully fill this gap and include older age groups in this analysis. Further
17
18 studies of the serum lipid concentrations and clinical and laboratory parameters already
19
20 evaluated in this work in our population will be performed in future analyses. Other
21
22 limitation is the duration of fasting in younger children because it is difficult and dangerous
23
24 to fast infants for long periods.
25
26
27

28 29 **Conclusion**

30
31
32
33 This study found that the distribution curves of the lipids and lipoprotein concentrations
34
35 differed among children age groups in Brazil, which suggests the importance of considering
36
37 the age partition in development of lipid guidelines . Obtaining more discriminatory data
38
39 allows to identify more sensitive cut offs, useful to guide clinical making decisions.
40
41

42 Moreover, the use of lipid reference ranges for children and adolescents who have been
43
44 exposed to the same demographic and geographic conditions may identify altered results
45
46 more effectively.
47
48
49

50 51 **Acknowledgements**

52
53 The authors thank Prof Clovis A Silva and Doctor Antonio Carlos Pastorino for all
54
55 suggestions during this study and Prof Paulo R B Mello for educational assistance.
56
57
58
59
60

References

1. American Academy of Pediatrics. National Cholesterol Education Program Report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. *Pediatrics*. 1992;89(3):525-584.
2. National Cholesterol Education Program (NCEP): highlights of the report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. *Pediatrics*. 1992;89(3):S495-501.
3. Kwiterovich PO Jr. Prevention of coronary disease starting in childhood: what risk factors should be identified and treated? *Coron Artery Dis*. 1993;4(7):611-630.
4. American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Cholesterol in childhood. *Pediatrics*. 1998;101(1 Pt 1):141-147.
5. National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI). *Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents*. NIH Publication n° 12-7486. Bethesda, MD: U.S. Department of Health and Human Services. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute; 2012. Available at: http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cvd_ped/peds_guidelines_sum.pdf. Accessed February 16, 2014.
6. Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents; National Heart, Lung and Blood Institute. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics*. 2011;128(Suppl 5):S213-256.
7. Kavei REW, Daniels SR, Lauer RM, Atkins DL, Hayman LL, Taubert K. American Heart Association guidelines for primary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. *Circulation*. 2003;107(11):1562-1566.
8. Kwiterovich PO Jr. Recognition and management of dyslipidemia in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(11):4200-4209.
9. Daniels SR, Greer FR. Lipid screening and cardiovascular health in childhood. *Pediatrics*. 2008;122(1):198-208.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory-Approved Guideline*. CLSI document C28-A3, vol. 28, no. 30. 3rd ed. Wayne, PA: CLSI; 2008.
11. Ceriotti F. Establishing pediatric reference intervals: a challenging task. *Clin Chem*. 2012;58(5):1-3.
12. Adeli K. Closing the gap in pediatric reference intervals: the CALIPER initiative. *Clin Biochem*. 2011;44(7):480-482.
13. Ferreira CES, Andriolo A. Intervalos de referência no laboratório clínico. *J Bras Patol Med Lab*. 2008;44:1-8.
14. Friedberg RC, Souers R, Wagar EA, Stankovic AK, Valenstein PN. The origin of reference intervals. A college of American Pathologists Q-Probes Study of "Normal Ranges" used in 163 clinical laboratories. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131:348-57.

- 1
2
3 15. ARUP Laboratories. Pediatric Reference Intervals. Children aren't small adults!
4 Available at: [http://www.aruplab.com/pediatrics/about/pediatric-reference-](http://www.aruplab.com/pediatrics/about/pediatric-reference-intervals)
5 [intervals](http://www.aruplab.com/pediatrics/about/pediatric-reference-intervals) Accessed February 16, 2014.
6
- 7 16. Caliper Project – Canadian Laboratories Initiative on Pediatric Reference Intervals.
8 Available at: <http://www.sickkids.ca/caliperproject>. Accessed October 4, 2013.
9
- 10 17. KIGGS – Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland.
11 Available at: <http://www.kiggsstudie.de/deutsch/studie.html>. Accessed October 4, 2013.
12
- 13 18. NORICHILD - Nordic Reference Intervals in CHILDren. Available at:
14 [http://pure.au.dk/portal/en/activities/nordic-reference-intervals-in-children-](http://pure.au.dk/portal/en/activities/nordic-reference-intervals-in-children-norichild(87e1f620-bcef-11db-bee9-02004c4f4f50).html)
15 [norichild\(87e1f620-bcef-11db-bee9-02004c4f4f50\).html](http://pure.au.dk/portal/en/activities/nordic-reference-intervals-in-children-norichild(87e1f620-bcef-11db-bee9-02004c4f4f50).html). Accessed October 4, 2013.
16
- 17 19. The National Children's Study (NCS). Available at:
18 <http://www.nationalchildrensstudy.gov>. Accessed October 4, 2013.
19
- 20 20. Giuliano ICB, Caramelli B, Pellanda L, Duncan B, Mattos S, Fonseca FH. I Diretriz de
21 prevenção da aterosclerose na infância e na adolescência da Sociedade Brasileira de
22 Cardiologia. *Arq Bras Cardiol.* 2005;85(Suppl IV):1-36.
23
- 24 21. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V.
25 Diretriz Brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose. *Arq Bras Cardiol.*
26 2013;101(4 Suppl 1):1-22.
27
- 28 22. Santos RD, Gagliardi ACM, Xavier HT, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I.
29 Diretriz Brasileira de hipercolesterolemia familiar (HF). *Arq Bras Cardiol.* 2012;99(2
30 Suppl 2):1-28.
31
- 32 23. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Procedures for the Handling and*
33 *Processing of Blood Specimens. CLSI document H18-A3 vol. 24, no. 38.* 3rd ed. Wayne,
34 PA: CLSI; 2004.
35
- 36 24. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC).
37 *Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial*
38 *(SBPC/ML): Coleta e Preparo da Amostra Biológica.* Rio de Janeiro: Manole; 2013.
39
- 40 25. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC). *Programa de*
41 *Acreditação de Laboratórios Clínicos (PALC). Norma 2013.* Rio de Janeiro: Manole;
42 2013..
43
- 44 26. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária
45 (ANVISA). *RDC 302 - Resolução da Diretoria Colegiada, dispõe sobre*
46 *regulamentação sobre funcionamento de laboratórios clínicos.* Brasília: Ministério da
47 Saúde; 2005.
48
- 49 27. Liao Y, Mi J, Wang Y, et al. Study on the reference values of serum lipids in children
50 aged 3-18 years old in Beijing, China. *Pediatr Int.* 2009;52(3):472-479.
51
- 52 28. Guiliano ICB, Coutinho MSSA, Freitas SFT, Pires MMS, Zunino JN, Ribeiro RQC.
53 Lípides séricos em crianças e adolescentes de Florianópolis, SC – Estudo Floripa
54 Saudável 2040. *Arq Bras Cardiol.* 2005;85(2):85-91.
55
- 56 29. Moura EC, Castro CM, Mellin AS, Figueiredo DB. Perfil lipídico em escolares de
57 Campinas, SP, Brasil. *Rev Saúde Pú.* 2000;34(5):499-505.
58
59
60

- 1
2
3 30. Pereira PB, Arruda IKG, Cavalcanti AMTS, Diniz AS. Perfil lipídico em escolares de
4 Recife –PE. *Arq Bras Cardiol.* 2010;95(5):606-613.
5
6 31. Ribas AS, Silva LCS. Dislipidemia em escolares na rede privada de Belém. *Arq Bras*
7 *Cardiol.* 2009;92(6):446-451.
8
9 32. Seki M, Seki MO, Niyama FP, et al. Perfil lipídico: intervalos de referência em escolares
10 de 2 a 9 anos de idade da cidade de Maracáí (SP). *J Bras Patol Med Lab.* 2003;39(2):131-
11 137.
12
13 33. Seki M, Niyama FP, Seki MO, et al. Perfil lipídico: intervalos de referência em escolares
14 de 10 a 19 anos de idade da cidade de Maracáí (SP). *J Bras Patol Med*
15 *Lab.* 2003;39(4):309-316.
16
17 34. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, et al. Closing the gap in pediatric
18 laboratory reference intervals: a CALIPER Database of 40 biochemical markers in a
19 healthy and multiethnic population of children. *Clin Chem.* 2012;58(5):1-15.
20
21 35. Srinivasan SR, Myers L, Berenson GS. Distribution and correlates of non-HDL-density
22 lipoprotein cholesterol in children: The Bogalusa Heart Study. *Pediatrics.*
23 2002;110(3):e29.
24
25 36. Giuliano I, Freitas S, Coutinho M, Zunino J, Caramelli B, Berenson G. Distribution of
26 HDL-cholesterol and non-HDL-cholesterol in Brazilian children and adolescents—the
27 Florida study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011;21(1):31-38.
28
29
30
31
32

Figure legends

33
34
35 **Figure 1.** Map of South America: Cuiabá, Mato Grosso, is located in central Brazil; the three
36 ecosystems of the state are shown.
37
38

39
40
41 **Figure 2.** Histograms by age group for total cholesterol (mg/dL), after excluding outliers,
42 with coupled Gaussian curves.
43
44

45
46
47 **Figure 3.** Histograms by age group for HDL cholesterol (mg/dL), after excluding outliers,
48 with coupled Gaussian curves.
49
50

51
52
53 **Figure 4.** Histograms by age group for nHDL cholesterol (mg/dL), after excluding outliers,
54 with coupled Gaussian curves.
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Figure 5. Histograms by age group for LDL cholesterol (mg/dL), after excluding outliers, and coupled Gaussian curves.

Figure 6. Histograms by age group for triglycerides (mg/dL), after excluding outliers, with coupled Gaussian curves.

Review Copy

Tables

Table 1 - Estimated parameters for the sample distribution of children and adolescents included in the study to establish the reference intervals for lipids.

Parameter	Age group (years)	n	Mean (SD)	1 st quartile	Median	3 rd quartile	Range (mg/dL)	RI (mg/dL)
Total cholesterol (mg/dL) n=1858	1 to 2	428	142.6 (26.7)	125	141	159.8	62 - 225	89-196
	3 to 8	1,085	153.4 (25.9)	136	153	169	79 - 231	102-205
	9 to 12	345	157.2 (27.3)	139	155	176	74 - 244	103-212
HDL cholesterol (mg/dL) n=1848	1	179	33.8 (7.8)	29	34	39	12 - 56	18-49
	2	245	38.8 (8.4)	33	39	44	19 - 65	22-55
	3	279	42.6 (9.3)	36	42	49	22 - 71	24-61
	4 to 12	1,145	48.5 (10.5)	41	48	55	20 - 82	27-69
Non-HDL cholesterol (mg/dL) n=1854	1 to 12	1,854	106.4 (24.5)	90	104.5	122	33 - 183	57-155
LDL cholesterol (mg/dL) n=1856	1 to 8	1,512	89.3 (23.1)	74	88	103	24 - 161	43-135
	9 to 12	344	92.6 (23.5)	76.2	92	106	25 - 167	45-140
Triglycerides (mg/dL) n=1839	1	178	100.8 (37.4)	73	93	123.8	31 - 230	26-176
	2 to 5	847	81.2 (27.1)	61	77	97	25 - 175	27-135
	6 to 12	814	75.7 (29.1)	54	71	90	22 - 181	17-134

* After exclusion of outliers; SD: standard deviation; RI: reference interval

Table 2 - Acceptable, borderline-high and high serum lipid concentrations (mg/dL) for children and adolescents from Cuiabá, Brazil.

Parameter (mg/dL)	Age group (years)	Acceptable <P75	Borderline-High P75 - P95	High ≥P95
Total cholesterol	1 – 2	<160	160-188	≥189
	3 – 8	<170	170-198	≥199
	9 – 12	<176	176-204	≥205
Non-HDL cholesterol	1 – 12	<122	122-149	≥150
LDL cholesterol	1 – 8	<104	104-131	≥132
	9 – 12	<106	106-138	≥139
Triglycerides	1	<127	127-188	≥189
	2 – 5	<98	98-138	≥139
	6 – 12	<92	92-138	≥139

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Table 3 - Acceptable, borderline and low serum HDL-cholesterol concentrations (mg/dL) for children and adolescents from Cuiabá, Brazil.

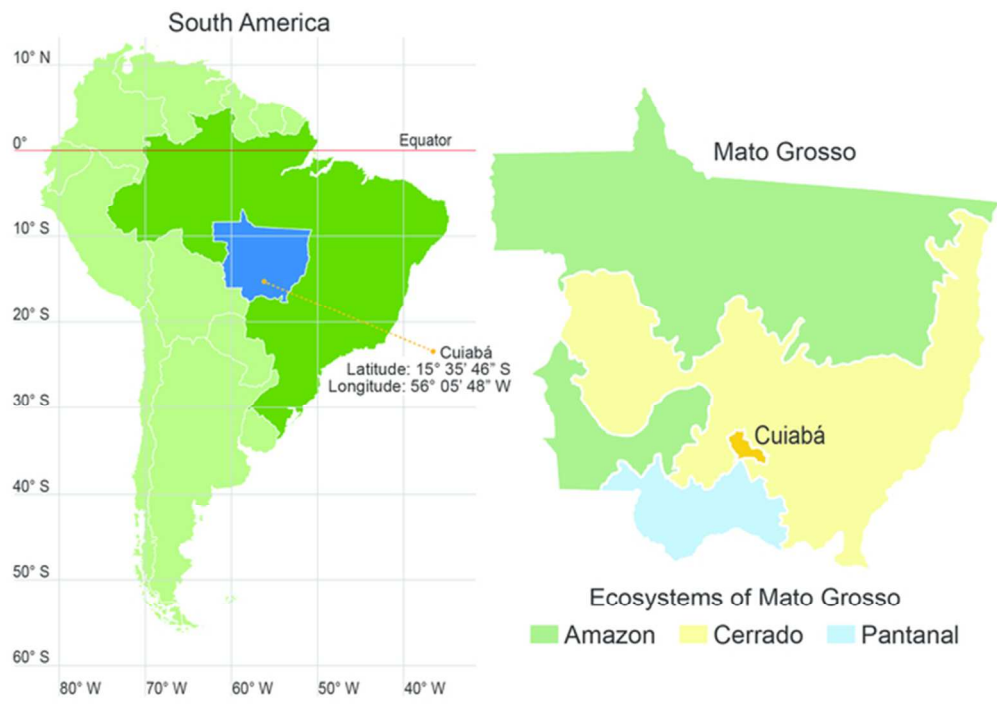
Parameter (mg/dL)	Age group (years)	Acceptable >P50	Borderline-High P10 - P50	Low <P10
HDL cholesterol	1	>34	25 – 34	24
	2	>39	29 – 39	28
	3	>42	33 – 42	32
	4 - 12	>48	37 – 48	36

Review Copy

Table 4 – Statistical significance observed for the HDL-c, n-HDL-c, LDL-c and TG parameters in specific age groups according to gender.

Parameter (mg/dL)	Age group (years)	Male (mean)	Female (mean)	p value
HDL-c	2	40	37.7	0.026
	4 – 12	49.3	47.7	0.011
n-HDL-c	1 – 12	103.9	108.7	0.001
LDL-c	1– 8	87.5	91.1	0.002
TG	2 – 5	79.1	83.2	0.027
	6 – 12	70.7	80.4	0.001

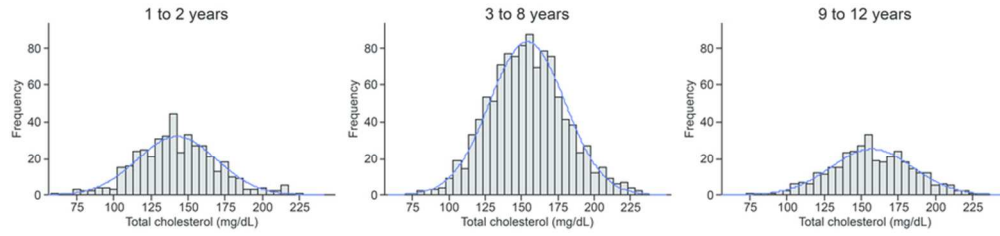
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



59x41mm (300 x 300 DPI)

Copy

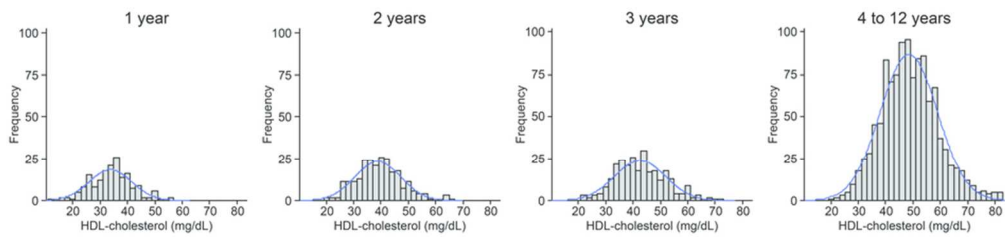
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



40x9mm (600 x 600 DPI)

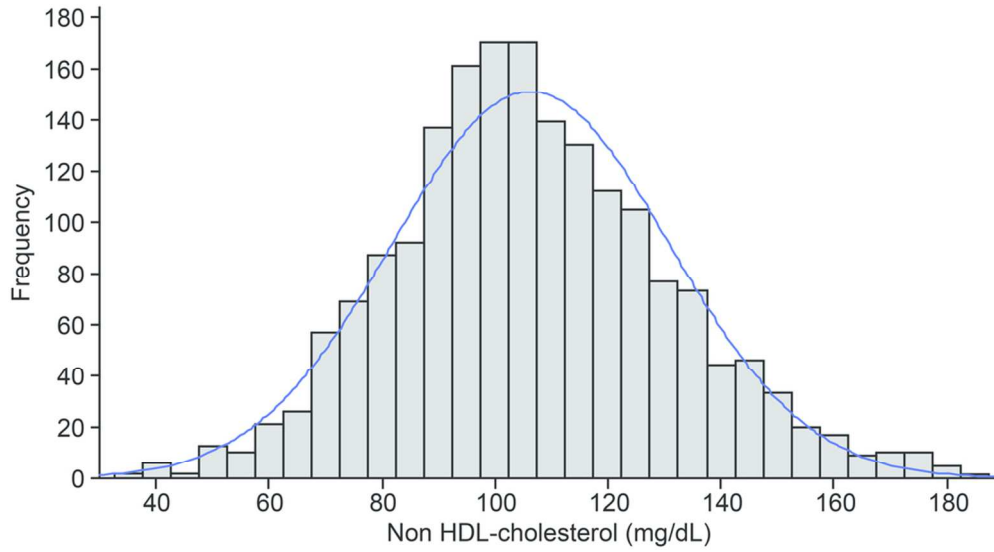
Review Copy

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



40x9mm (600 x 600 DPI)

Review Copy

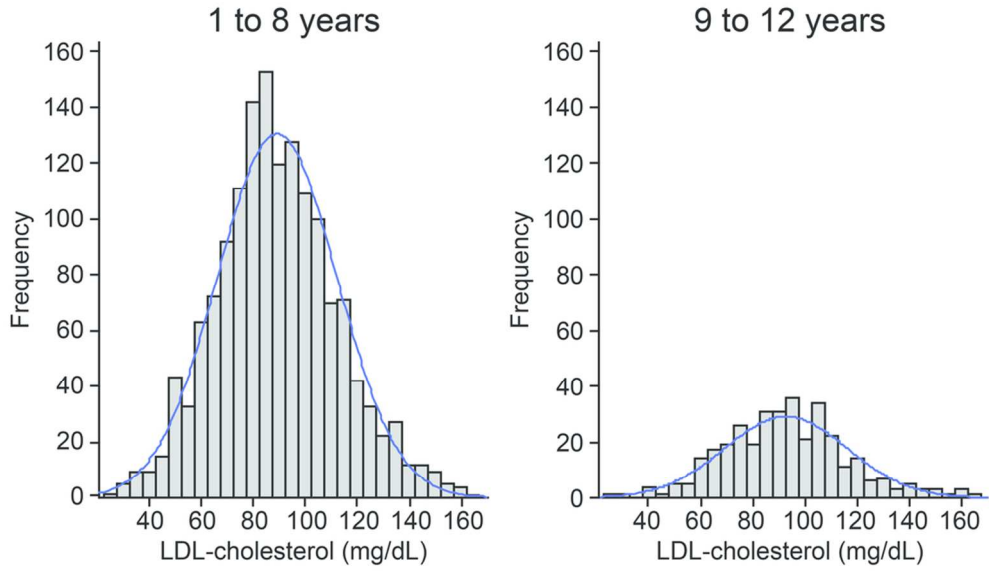


47x26mm (600 x 600 DPI)

ew Copy

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

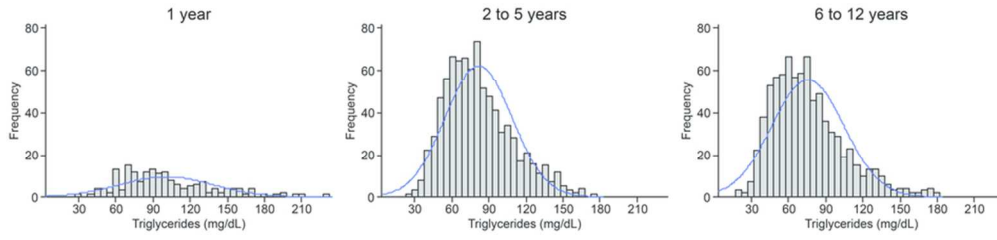
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



48x27mm (600 x 600 DPI)

ew Copy

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



40x9mm (600 x 600 DPI)

Review Copy