

ARTÍCULO ORIGINAL

Estimación del colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad por la ecuación de Friedewald: ¿es un procedimiento válido actualmente?

Verna, J.A.¹; Ventimiglia, F.D.¹; Bruno, J.J.¹; D'Agostino, L.E.¹

¹Laboratorio D'Agostino-Bruno, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

Contacto: Verna, J.A.; supervision@dagostino-bruno.com.ar

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial. En este sentido, la reducción del riesgo cardiovascular es el objetivo terapéutico principal y se relaciona directamente con la disminución de la concentración de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (C-LDL). Actualmente, existen métodos homogéneos automatizables para determinar el C-LDL. A pesar de ello, muchos laboratorios siguen calculando esta fracción mediante la fórmula de Friedewald. El objetivo fue evaluar la concordancia entre las metodologías mencionadas y estimar la adherencia de las mismas a los estándares de calidad internacionales vigentes. En cuanto a materiales y métodos, se incluyeron 1549 pacientes ambulatorios a los cuales se les extrajo una muestra de sangre por punción venosa donde se midieron los triglicéridos y el colesterol total por métodos estandarizados. El colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad fue medido por el método homogéneo y el C-LDL por el método homogéneo y la fórmula de Friedewald. Para evaluar el comportamiento de los métodos para medir el C-LDL se calcularon el coeficiente de variación, el sesgo y el error total y se evaluaron las correlaciones para distintos niveles de TG. Con respecto a los resultados y conclusiones, sólo el método homogéneo tuvo un desempeño analítico acorde a los estándares internacionales. De acuerdo con los resultados obtenidos, la medida del C-LDL debería reemplazar a la estimación del mismo mediante la expresión de Friedewald, por lo menos para concentraciones de TG mayores a 200 mg/dl.

Palabras clave: riesgo cardiovascular, colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad, ecuación de Friedewald, métodos homogéneos, error total.

ABSTRACT

Cardiovascular disease is the leading cause of death worldwide. In this sense, the reduction of cardiovascular risk, which is directly related to the concentration of cholesterol associated with low-density lipoproteins (LDL-C), is the main therapeutic target. Although there are direct homogeneous methods to measure LDL-C, many laboratories estimate LDL-C by using Friedewald equation. The aim of this work was to evaluate the correlation between the methodologies mentioned above and their compliance with international quality requirements. The study included 1549 outpatients. Blood samples were obtained by venipuncture. Triglycerides (TG) and total cholesterol were measured by standard methods. High-density lipoprotein cholesterol was measured by a homogeneous method and LDL-C was measured by a homogeneous method and calculated using Friedewald equation. To assess the analytical performance of both methods, the coefficient of variation, bias, and total error were calculated and correlations between methods were evaluated at different TG concentrations. Only the homogeneous method showed acceptable analytical performance. Based on our results, we propose that LDL-C should be measured by the homogeneous method and not estimated by Friedewald equation, at least when TG values are higher than 200 mg/dl.

Key words: cardiovascular risk, low-density lipoprotein cholesterol, Friedewald equation, homogeneous methods, total error.

ISSN 1515-6761 Ed. Impresa
ISSN 2250-5903 Ed. CD-ROM
Código Bibliográfico: RByPC
Fecha de Recepción:
04/05/2015.
Fecha de Aceptación:
21/07/2015

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte en la actualidad. En el año 2012 fueron responsables de 17,5 millones de decesos, representando el 30 % de las defunciones en todo el mundo¹. En el año 2008, el número de defunciones por ECV fue de 17,3 millones de los cuales 7,3 millones se debieron a cardiopatía coronaria y 6,2 millones a accidentes cerebrovasculares². Se calcula que en 2030 morirán cerca de 23,3 millones de personas por ECV^{1,3}. En Argentina, la situación no presenta diferencias respecto del fenómeno global, estimándose que el 30,6 % de las muertes ocurridas en el año 2006 se debieron a ECV⁴. Según los registros oficiales, en el año 2011 el porcentaje de muertes debido a ECV fue de 30,2 %⁵.

Con el correr de los años, numerosos estudios epidemiológicos han arrojado luz sobre la relación existente entre los niveles de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) y el riesgo cardiovascular. Los grandes ensayos clínicos de las últimas décadas han demostrado categóricamente que bajar el colesterol, fundamentalmente el C-LDL, se asocia con una importante reducción del riesgo cardiovascular. El tercer reporte del Panel de Expertos del *National Cholesterol Education Program* (NCEP) sobre la Detección, Evaluación y Tratamiento del Colesterol Sanguíneo Elevado en Adultos (*Adult Treatment Panel III*) identifica como objetivo terapéutico principal, para reducir el riesgo cardiovascular, al colesterol asociado a dicha lipoproteína^{6,7}.

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) derivan de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Éstas son partículas ricas en triglicéridos, que mediante la acción de la lipoproteína-lipasa del endotelio vascular dan lugar a la formación de LDL. Las LDL transportan hacia los tejidos periféricos el colesterol necesario para diversas funciones, tales como la síntesis de membranas y de esteroides sexuales.

Las LDL desempeñan un rol fundamental en la formación de las placas ateromatosas, las que comienzan a formarse a muy temprana edad, con clara evidencia de que el proceso se inicia en la primera década de la vida, llegando a una lesión complicada con el consiguiente riesgo de ruptura en la cuarta década⁸.

La reducción de los niveles de C-LDL es el objetivo terapéutico principal a la hora de controlar los lípidos con la finalidad de mejorar la función endotelial y evitar o detener la aterosclerosis⁹.

Las concentraciones de C-LDL se pueden medir con exactitud por un método de ultracentrifugación, el cual es considerado un método de referencia¹⁰. Éste es muy laborioso y costoso, requiere de un gran volumen de muestra, equipamiento especial e insume mucho tiempo; por estas razones es poco aplicable al laboratorio clínico. En nuestro país, muchos laboratorios informan el C-LDL por cálculo, empleando la fórmula de Friedewald¹¹. Sin embargo, esta fórmula presenta limitaciones, siendo su uso desaconsejado en muestras con valores de TG que superen los 400 mg/dl¹². En la actualidad, existen métodos homogéneos y fácilmente

automatizables que permiten la cuantificación del C-LDL en forma fiable¹³.

Por lo expuesto, el valor del C-LDL informado por el laboratorio bioquímico adquiere importancia fundamental, para las decisiones médicas destinadas a la terapéutica. En el presente trabajo se evaluó la concordancia entre el valor de C-LDL medido con un método enzimático homogéneo (C-LDL_m) y el calculado mediante la ecuación de Friedewald (C-LDL_c), así como la adherencia de ambos métodos a los estándares de calidad internacionales vigentes.

Materiales y Métodos

Población estudiada

Se incluyeron 1547 pacientes ambulatorios con edades comprendidas entre los 5 y 82 años (media \pm desvío estándar (DE) = 53,04 \pm 18,54 años), de ambos sexos que concurren al Laboratorio D'Agostino-Bruno de la ciudad de La Plata, Argentina, entre los meses de septiembre y noviembre de 2010. Los criterios de selección incluyeron: haber concurrido con ayuno de 12 horas, no haber sido sometidos a cirugías o estrés en las últimas dos semanas, no estar cursando infecciones agudas y no manifestar cambios en su estilo de vida en los últimos tres meses. Al grupo mencionado se le extrajo una muestra de sangre por punción venosa del pliegue del codo que fue colectada en tubos con gel (Meus, Piove di Sacco, Italia).

Equipamiento, reactivos y procedimientos

Las muestras se dejaron en reposo 30 minutos y posteriormente se centrifugaron durante 15 minutos a 3600 revoluciones por minuto. Sobre las alícuotas de suero obtenidas se dosaron triglicéridos (TG), colesterol total (CT), colesterol de lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) y C-LDL en una plataforma Hitachi 902 (*Hitachi Science Systems Ltd., Ibaraki, Japón*). Para las determinaciones de TG y CT se emplearon reactivos comerciales de la línea COBAS[®] de Roche[®] (Alemania) según especificaciones del fabricante.

Para las determinaciones de C-HDL y C-LDL se utilizaron métodos enzimáticos homogéneos estandarizados de la línea COBAS[®] de Roche[®] (Alemania).

Los ensayos para determinar TG y CT se calibraron con el multicalibrador CFAS y los ensayos para determinar C-HDL y C-LDL se calibraron con el calibrador CFAS Lípidos, ambos de la línea COBAS[®] de Roche[®] (Alemania).

El control de calidad interno fue llevado a cabo utilizando sueros control a dos niveles de la línea *Lyphochek Unassayed Chemistry* (BIO-RAD[®], Estados Unidos) que fueron evaluados con el programa *Unity Real Time* (BIO-RAD[®], Estados Unidos). Los coeficientes de variación (CV) interensayo para los TG, el CT y el C-HDL fueron: 3,33 %, 1,63 % y 1,24 % para el nivel 1 y 2,41 %, 2,78 % y 2,01 % para el nivel 2, respectivamente. (Los CV y el cálculo del error total [ET]¹⁴ para el C-LDL se presentan en la sección "Resultados"). Además, el laboratorio participa en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad de la Fundación Bioquímica Argentina (PEEC).

Análisis de datos

Los datos fueron registrados y los gráficos confeccionados en planillas del programa *Microsoft Excel*® versión 2010. Para los cálculos estadísticos se utilizó el programa *SPSS*® 10.0 versión 1999.

Resultados

La adherencia del C-LDL_m y C-LDL_c a los estándares de calidad internacionales vigentes fue evaluada teniendo en cuenta los controles de calidad interno y externo.

La tabla I presenta los resultados obtenidos para la media, el DE, el CV, el sesgo y el ET para el C-LDL_m. El sesgo se calculó tomando como base la diferencia con la media del grupo par, obtenida del programa *Unity Real Time (BIO-RAD*®, Estados Unidos) y el ET se estimó mediante la fórmula:

$$ET \% = \text{sesgo} \% + (1,65 \times CV \%)^{14}$$

Tabla I. Desempeño analítico del C-LDL_m.

	Nivel 1	Nivel 2
Número de determinaciones	96	96
Media ¹	162	67
DE ¹	3,56	1,41
CV ²	2,20	2,11
Sesgo ²	3,50	6,21
ET ²	7,13	9,69

¹expresado en mg/dl. ²expresado en porcentaje.

C-LDL_m: colesterol de lipoproteínas de baja densidad medido, DE: desvío estándar, CV: coeficiente de variación, ET: error total.

La tabla II muestra los resultados obtenidos para el C-LDL_c. El CV y el sesgo expresan el aporte de los errores de cada una de las determinaciones incluidas en la fórmula de Friedewald: TG, CT y C-HDL. El sesgo se calculó en base a la diferencia con la media del PEEC.

Tabla II. Desempeño analítico del C-LDL_c.

	Nivel 1	Nivel 2
Número de determinaciones	96	96
Media ¹	156	62
DE ¹	9,67	4,46
CV ²	6,20	7,20
Sesgo ²	6,91	6,91
ET ²	17,14	18,79

¹expresado en mg/dl. ²expresado en porcentaje.

C-LDL_c: colesterol de lipoproteínas de baja densidad calculado, DE: desvío estándar, CV: coeficiente de variación, ET: error total.

Los datos presentados en las tablas I y II fueron comparados con el error tolerable máximo permitido (ETMa) %¹⁵. La comparación se presenta en la tabla III:

Tabla III. Comparación de los desempeños analíticos del C-LDL_m y C-LDL_c respecto de los máximos permitidos.

	CV ¹	Sesgo ¹	ET ¹
C-LDL _m - Nivel 1	2,20	3,50	7,13
C-LDL _m - Nivel 2	2,11	6,21	9,69
C-LDL _c - Nivel 1	6,20	6,91	17,14
C-LDL _c - Nivel 2	7,20	6,91	18,79
ETMa ¹	3,90	5,46	11,90

¹expresado en porcentaje.

C-LDL_m: colesterol de lipoproteínas de baja densidad medido, C-LDL_c: colesterol de lipoproteínas de baja densidad calculado, CV: coeficiente de variación, ET: error total, ETMa: error tolerable máximo permitido.

Con respecto a la población de pacientes, la misma fue dividida en cuatro grupos de acuerdo con los valores de TG. La tabla IV presenta los valores de media ± DE para el C-LDL_m y el C-LDL_c de cada uno de los grupos.

Tabla IV. Valores promedio del C-LDL_m y C-LDL_c según el nivel de TG.

Rango de valores de TG ¹	C-LDL _m ¹	C-LDL _c ¹	Diferencia de medias ²	p
<200	128 ± 37	115 ± 34	13	< 0,001
200 - 299	158 ± 42	135 ± 39	23	< 0,001
300 - 400	156 ± 52	128 ± 53	28	< 0,05
>400	132 ± 71	111 ± 99	21	NS

¹expresado en mg/dl. ²mediante test de t de Student.

C-LDL_m: colesterol de lipoproteínas de baja densidad medido, C-LDL_c: colesterol de lipoproteínas de baja densidad calculado, TG: triglicéridos, NS: no significativo.

Los Figuras 1 a 4 presentan las correlaciones lineales entre C-LDL_m y C-LDL_c para cada rango de valores de TG: (Ver figuras 1 a 4)

Discusión

Uno de los factores de riesgo más importantes para desarrollar ECV son los niveles elevados de C-LDL, los mismos constituyen el objetivo terapéutico central para el tratamiento de las dislipemias⁹. Por esta razón, tener la seguridad en la calidad del resultado de C-LDL que emiten los laboratorios es de fundamental importancia.

El objetivo de este estudio fue verificar la utilidad de la aplicación de la ecuación de Friedewald y compararla con un método homogéneo para la medida del C-LDL a la luz de los requerimientos de ETMa %.

El método empleado para la medida del C-LDL cumplió para los dos niveles de control de calidad con las recomendaciones para ETMa % según variabilidad biológica, mostrando un buen desempeño de acuerdo con los estándares internacionales¹⁵. El criterio deseable, según los autores, es de 11,9 %. Debe destacarse que en el nivel 2 de control, el valor de sesgo obtenido (6,2 %) excedió la meta de 3,9 % convenida, pero este elevado sesgo fue compensado con un bajo valor de CV %.

Figura 1. C-LDL medido vs C-LDL calculado (200 mg/dl < TG), N=1347.

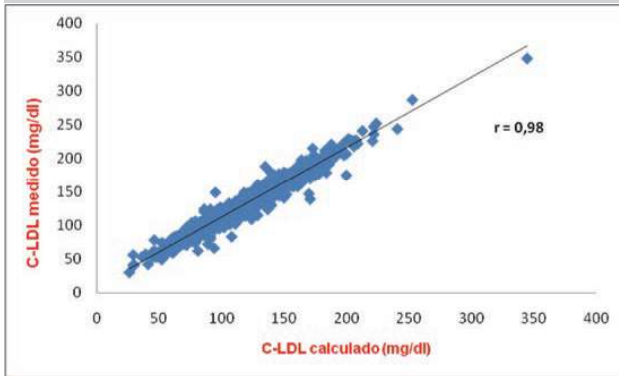


Figura 2. C-LDL medido vs C-LDL calculado (200 < TG < 299 mg/dl), N=145.

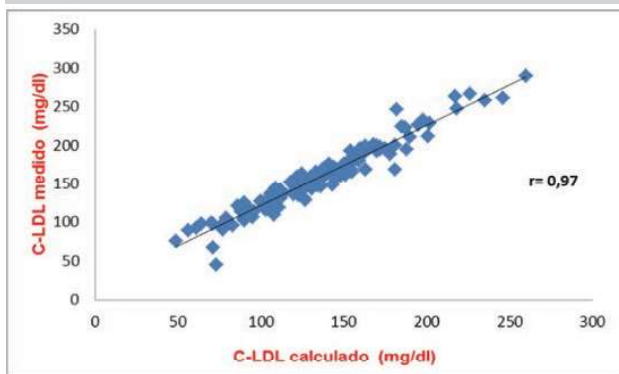


Figura 3. C-LDL medido vs C-LDL calculado (300 < TG < 400 mg/dl), N=32.

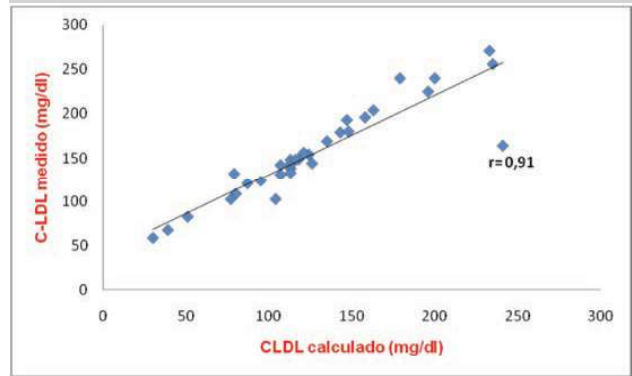
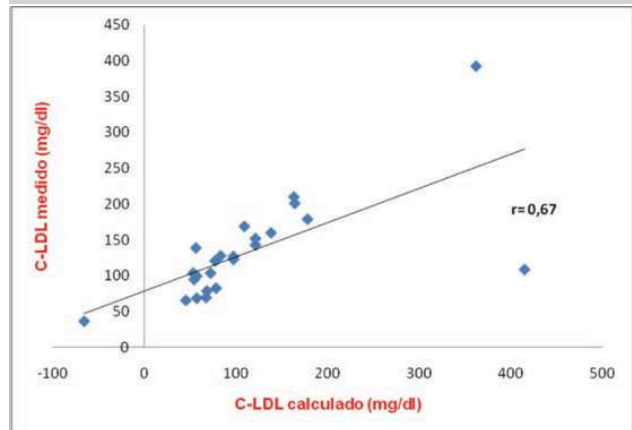


Figura 4. C-LDL medido vs C-LDL calculado (TG > 400 mg/dl), N=25.



Por otra parte, se encontró que el C-LDL_c obtenido mediante la fórmula de Friedewald no alcanzó un buen desempeño analítico de acuerdo con los estándares internacionales vigentes; esto se debe a la propagación de los errores de cada una de las determinaciones utilizadas en la expresión (TG, CT y C-HDL), excediendo el ETMa %. Según estos resultados, es recomendable dosar el C-LDL empleando el método homogéneo.

Si bien, se obtuvo una muy buena correlación lineal entre C-LDL_m y el C-LDL_c para el grupo de pacientes con valores de TG menores a 200 mg/dl, se observaron diferencias estadísticamente significativas al comparar las medias obtenidas por ambas metodologías. En este sentido, algunos autores sostienen que el cálculo del C-LDL es perfectamente válido para este grupo de pacientes^{10, 16, 17}. Nakanishi y col. argumentan que las concentraciones de C-LDL obtenidas mediante el empleo de la fórmula de Friedewald, no correlacionan con los métodos homogéneos a concentraciones crecientes de TG¹⁸. Debe mencionarse, que en el grupo de pacientes con TG mayores a 400 mg/dl no se observó diferencia estadísticamente significativa entre ambas metodologías. En este nivel de valores de TG la literatura desaconseja el uso de la fórmula¹², a lo que se suma el escaso número de pacientes incluidos en este grupo sin el suficiente peso estadístico.

Sistemáticamente los valores hallados de C-LDL_m fueron

mayores que el C-LDL_c. En general, a medida que aumentan los niveles de TG, las diferencias entre el CLDL_m y C-LDL_c se acentúan y el grado de asociación entre los mismos se debilita. Debe destacarse, que la expresión de Friedewald asume que no hay colesterol asociado a lipoproteínas de densidad intermedia (C-IDL) en ayunas y estima el colesterol asociado a las lipoproteínas de muy baja densidad (C-VLDL) como TG/5 pero, cuando las VLDL se enriquecen en TG o colesterol esta suposición pierde validez. En estados de hipertrigliceridemia, la relación TG/5 es muy grande y sobrestima el C-VLDL, resultando en un C-LDL_c menor. Estos resultados alientan la determinación del C-LDL empleando el método homogéneo.

Respecto del reporte de resultados de laboratorio, la aplicación de la expresión de Friedewald para estimar el C-LDL no cumple con los requisitos actuales en materia de requerimientos de calidad. Por el contrario, y de acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, el método homogéneo cumple con los requisitos vigentes de calidad analítica alcanzando la meta de ETMa % estipulada.

El diseño de este estudio no contó con un grupo de individuos sanos sin factores de riesgo, ya que se enrolaron pacientes con síndrome metabólico y diabetes mellitus. Este hecho permitiría justificar la falta de acuerdo entre las

medias de ambas mediciones en el grupo con TG menor de 200 mg/dl. En este sentido, la aplicación de la expresión de Friedewald debería restringirse a pacientes sin los mencionados factores de riesgo y con valores de TG normales, siendo aconsejable el uso de los métodos homogéneos para pacientes con factores de riesgo en forma independiente del valor de TG que presenten y principalmente en pacientes con valores de TG mayores a 200 mg/dl, en concordancia con las sugerencias de otros autores^{18,20,21}.

Finalmente, debe mencionarse que la determinación del C-LDL es de fundamental importancia tanto cuando el mismo es considerado blanco de la terapia hipolipemiente⁹, como cuando es utilizado para adjudicar al paciente a un determinado grupo de riesgo en el marco del nuevo paradigma terapéutico²².

Referencias bibliográficas

1. *World Health Organization*. Global status report on non-communicable diseases 2014. World Health Organization, Geneva, 2014.
2. *World Health Organization*. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control 2010. World Health Organization, Geneva, 2011.
3. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*, 2006; 3(11): e442.
4. Rubinstein A, Colantonio L, Bardach A, Caporale, J, García Martí S, Kopitowsky K, Alcaraz A, Gibbons L, Augustovsky F, Pichón Rivière A. Estimación de la Carga de enfermedades cardiovasculares atribuibles a factores de riesgo modificables en Argentina. *Rev Panam Salud Pública*, 2010; 27(4): 237-245.
5. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación Argentina. Estadísticas vitales. Información básica. Año 2011. Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos. Dirección de Estadísticas e Información de la Salud. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Buenos Aires, República Argentina, 2012.
6. Grundy SM, Cleeman JI, Merz NB, Brewer Jr B, Clarck LT, Hunninghake DB, Pasternak RC, Smith Jr, Stone NJ; for the Coordinating Committee of the National Cholesterol Education Program. Endorsed by the National Heart, Lung and Blood Institute, American College of Cardiology foundation and American heart Association. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol education Program Adult Treatment III Guidelines. *Circulation*, 2004; 110: 227-239.
7. Executive summary of third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in adults. (Adult Treatment Panel III) *JAMA*, 2001; 285: 2486-97.
8. Stary HC, Chandler AB, Disnmore RE, Fuster B, Glagov S, Insull Jr W, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee of Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*, 1995; 92: 1355-1374.
9. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*, 2005; 366: 1267-78.
10. Miller WG, Waymack PP, Anderson FP, Ethridge SF, Jaine EC. Performance of four homogenous Direct Methods for LDL-Cholesterol. *Clin Chem*, 2002; 48(3):489-98.
11. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, 1972; 18: 499-502.
12. Myers Myers GL, Kimberly MM, Waymack PP, Smith SJ, Cooper GR, Sampson EJ. A reference method laboratory network for cholesterol: a model for standardization and improvement of clinical laboratory measurements. *Clin Chem*, 2006; 46:1762-72.
13. Medida del colesterol de lipoproteínas de baja densidad utilizando tres metodologías. Querales, M., Cruces M.E., Sánchez, C., Querales, M., Rojas S., Sánchez, L. *Acta bioquím clín latinoam*, 2012; 46(1): 31-7.
14. Mazziotta D, Correa JA. Control de calidad. En: Fernández Espina C, Mazziotta D, editores. *Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico*. pp. 371-407. Madrid: Editorial Médica Panamericana S.A.; 2005.
15. Minchinela J, Ricós C, Perich C, Fernández-Calle P, Alvarez V, Domenech M, Simón M, Biosca C, Boned B, Cava F, García Lario JV, Fernández-Fernández MP. Biological variation database, and quality specifications for imprecision, bias and total error (desirable and minimum). The 2014 update.
16. Sahu, S., Chawla R., Uppal B. Comparison of two assays for measuring of low density lipoprotein cholesterol, the direct versus Friedewald estimation. *Indian J Clin Biochem*, 2005; 20(2): 54-61.
17. Mendes de Cordova CM, Schneider CR, Juttel LD, Mendes de Cordova M. Avaliação da dosagem directado colesterol-LDL em amostras de sangue de 10.664 pacientes em comparação com o uso da fórmula de Friedewald. *Arq Bras Cardiol*, 2004; 83(6): 482-7.
18. Nakanishi N, Matsuo Y, Yoneda H, Nakamura K, Suzuki K, Tatara K. Validity of conventional indirect methods including Friedewald method for determining serum low-density lipoprotein cholesterol level: comparison with the direct homogeneous enzymatic analysis. *J Occup Health*, 2000; 42(3): 519-27.
19. Nauck M, Wanick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-Cholesterol: A critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clin Chem*, 2002; 48(2): 236-54.
20. Teerakanchana T, Puavilai W, Suriyaprom K, Tungtrongchitr R. Comparative study of LDL-Cholesterol levels

in thai patients by the direct method and using the Friedewald formula. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2007; 38(3): 519-27.

21. García Aguilar GD, Martín Alfaro R, Navarro Romero M, Cabrera Argany A, Quintana Hidalgo L, Aguilar Doreste JA. Evaluación de un método directo para la cuantificación de colesterol LDL. Química Clínica, 2006; 25(2): 58-63.
22. 2013 ACC/AHA Guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Circulation, 2014; 129: S1-S45.