

## ARTICULO ORIGINAL

**Comparación entre la determinación analítica del colesterol-LDL y su estimación por cálculo**

Ramírez A, Pistilli N, Echagüe G, Zavala de Melgarejo MV. Departamento de Análisis Clínicos. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud - UNA.

**RESUMEN**

El colesterol-LDL (LDL.C) es uno de los principales marcadores de riesgo aterogénico y es utilizado para objetivos preventivos, su determinación por cálculo es frecuente en los laboratorios. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue comparar el método de Friedewald con un método analítico basado en la precipitación de las LDL con sulfato de polivinilo (PVS) descrito por Kerscher. El colesterol ligado a las mismas se determinó empleando el sistema enzimático con colorimetría de Trinder. Por diferencia entre el Colesterol total y el determinado en el sobrenadante, se obtuvo el colesterol unido a las LDL (C.LDLa). Se comparó con el método por cálculo para la estimación de LDL.C (C.LDLc). Se eliminaron todos los valores de triglicéridos  $> o = a$  400 mg/dl. En los pacientes normolipémicos el valor medio de C.LDLa fue  $95 \pm 29$  mg/dl y para C-LDLc  $99 \pm 26$  mg/dl. El coeficiente de correlación fue  $r = 0.91$  ( $p < 0.001$ ). En pacientes hipercolesterolémicos, el valor medio de C-LDLa fue  $170 \pm 22$  mg/dl y para C-LDLc  $160 \pm 21$  mg/dl; el coeficiente de correlación fue  $r = 0.87$  ( $p < 0.001$ ). En los hipertriglicéridémicos, el valor medio de C-LDLa fue  $122 \pm 42$  mg/dl y para C-LDLc  $106 \pm 41$  mg/dl con coeficiente de correlación  $r = 0.92$  ( $p < 0.001$ ). En base a estos resultados podemos destacar que el método analítico es rápido, preciso y fácilmente utilizable en el laboratorio clínico y que ambos métodos son comparables entre sí hasta valores de triglicéridos menores a 400 mg/dl.

**Palabras claves:** colesterol LDL, triglicéridos, friedewald, sulfato de polivinilo.

**Comparison between the analytical determination of LDL-cholesterol and its estimation by calculation****ABSTRACT**

LDL-cholesterol (LDL-C) is one of the principal markers of atherogenic risk and is used for preventive aims. The determination of this marker by calculation is frequent in laboratories. Thus, the aim of this study was to compare Friedewald formula with an analytical method based on the precipitation of LDL with polyvinyl sulphate (PVS) described by Kerscher. The cholesterol linked to these proteins was determined using the enzymatic colorimetric system of Trinder. The cholesterol linked to LDL (LDL-Ca) was obtained by the difference between total cholesterol and the one determined in the supernatant. This result was compared with the method of calculation for LDL-C estimation. All values of triglycerids  $> or equal to$  400 mg/dl were eliminated. In the normolipemic patients, the mean LDL-Cc was  $95 \pm 29$  mg/dl and for LDL-Cc  $99 \pm 26$  mg/dl. The correlation coefficient was  $r = 0.91$  ( $p < 0.001$ ). In hypercholesterolemic patients, mean LDL-Ca was  $170 \pm 22$  mg/dl and for LDL-Cc  $160 \pm 21$  mg/dl; the correlation coefficient was  $r = 0.87$  ( $p < 0.001$ ). In hypertriglyceridemic patients, mean LDL-Ca was  $122 \pm 42$  mg/dl and LDL-Cc  $106 \pm 41$  mg/dl with a correlation coefficient of  $r = 0.92$  ( $p < 0.001$ ). Based in these results, we could emphasize that the analytical method is rapid, precise and easy to use in the clinical laboratory and that both methods are comparable for triglyceride values lower than 400 mg/dl.

**Keywords:** LDL-cholesterol, triglycerids, Friedewald, polyvinyl sulphate

**INTRODUCCION**

Los estudios de fraccionamiento de colesterol permiten aislar y medir los principales lípidos en suero: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (prebeta) (c-VLDL), de baja densidad (beta) (c-LDL) y de alta densidad (alfa) (c-HDL). El colesterol en las lipoproteínas

\*Correspondencia: [aclinicos@iics.una.py](mailto:aclinicos@iics.una.py)

de baja y alta densidad (c-LDL y c-HDL) es la fracción más importante. La cantidad de dicho alcohol en la lipoproteína de alta densidad (c-HDL) guarda relación inversa con la cifra de arteriopatía coronaria y cuanto mayor sea el nivel de esta lipoproteína será menor la frecuencia de la arteriopatía señalada.(Ref)

El colesterol-LDL (c-LDL) aumentado en sangre constituye un importante factor de riesgo para la aterosclerosis coronaria<sup>1</sup> y tiene relación con el grado de lesiones arteriales ateroscleróticas demostrado a través de diferentes estudios epidemiológicos, experimentales y anatomoclinicos<sup>2,3</sup>. El c-LDL tiene un importante valor predictivo para esta enfermedad en personas menores de 50 años<sup>4</sup>; siendo que para mayores de 65 años, esta asociación disminuye. La utilización del cociente c-LDL/c-HDL permite la discriminación entre pacientes afectados o en riesgo de aterosclerosis coronarias y pacientes sanos. Numerosos estudios, incluyendo el Framingham Heart Study<sup>5,6</sup> y el Ensayo de Intervención Múltiple sobre Factores de Riesgo<sup>7</sup>, han aportado la base para ensayos clínicos dirigidos a reducir los lípidos y lipoproteínas séricos debido a que la disminución de estos factores de riesgo reduce la incidencia subsiguiente de enfermedad coronaria, accidente vascular cerebral y otras enfermedades vasculares. El c-LDL constituye, entonces, un factor de riesgo causal y modificable para la aterosclerosis coronaria<sup>8</sup>. En algunos padecimientos de origen familiar cambian los niveles de lipoproteínas. La clasificación de los enfermos con base en las características y tendencias de estos niveles permite identificar las hiperlipoproteinemias y las hipolipoproteinemias. La determinación del c-LDL es útil, además, para diferenciar la hiperlipoproteinemia II b de la de tipo IV<sup>9</sup>, posibilitando el tratamiento adecuado para cada hiperlipoproteinemia. Cuando los triglicéridos son superiores a 200 mg/dl y el c-LDL es mayor de 190 mg/dl se considera de tipo II b, mientras que si el c-LDL es menor de 190 mg/dl, es de tipo IV<sup>9</sup>.

El c-LDL puede ser determinado laboratorialmente por diferentes métodos, pero algunos son poco accesibles porque necesitan de equipamiento costoso, especial y de técnicas que consumen mucho tiempo, como la ultracentrifugación y la electroforesis cuantitativa de lipoproteínas. Debido a esto, en la mayoría de los laboratorios de nuestro país

es estimado por cálculo, según la Formula de Friedewald<sup>10</sup>. Por eso el objetivo de este trabajo es comparar la estimación por cálculos del valor del c-LDL (Fórmula de Friedewald) con un método analítico basado en la precipitación de las LDL con sulfato de polivinilo y observar la correlación existente entre ambos métodos cuando los triglicéridos son menores a 400 mg/dl.valor límite para la aplicación de la Fórmula de Friedewald.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **POBLACION**

Se estudió una población compuesta por 138 individuos de ambos sexos entre 30 y 55 años de edad, obesos y no obesos, sin afección crónica, embarazo o medicación de relevancia para el estudio que concurrieron al Departamento de Análisis Clínicos del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud.

La población se dividió en tres grupos: normolipémicos (55), hipercolesterolémicos (21) e hipertriglicéridémicos (62); la participación fue voluntaria, anónima y se les brindó información referente al estudio.

### **TOMA DE MUESTRAS**

Todos los participantes del estudio presentaron un ayuno de 12 a 14 horas y abstinencia de bebidas alcohólicas de 72 horas previas a la extracción. La última comida ingerida fue reducida en grasas y no habían ganado ni perdido peso en la última semana.

La extracción de sangre se realizó por punción venosa; el torniquete fue retirado luego de no más de 30 a 60 segundos de oclusión. Los sueros fueron separados dentro de la hora y procesados inmediatamente. Las determinaciones realizadas en todas las muestras fueron: colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL y colesterol LDL.

Para las determinaciones de colesterol total y triglicéridos se utilizaron métodos totalmente enzimáticos con colorimetría final.

El c-HDL fue determinado por precipitación de las lipoproteínas LDL y VLDL mediante el agregado de sulfato de dextrán (P.M. 50.000) 0.032 mmol/l en presencia de iones magnesio. En el sobrenadante separado por centrifugación y que aún contiene las HDL, se dosó el colesterol ligado a las mismas empleando el sistema enzimático Colesterol oxidasa/Peroxidasa con colorimetría de Trinder (Fenol 4-Aminofenazona) efectuando las correcciones correspondientes por las diluciones realizadas.

La determinación analítica del c-LDL se realizó por el método de precipitación con sulfato de polivinilo (PVS) 10 g/l disuelto en polietilenglicol (PM 600) al 25% pH 6.7<sup>11</sup>. En el sobrenadante que contiene las lipoproteínas HDL y VLDL se determinó el colesterol ligado a las mismas empleando el sistema enzimático Colesterol oxidasa/peroxidasa con colorimetría según Trinder. (Fenol 4-AF). Los sueros que formaron sobrenadantes turbios fueron diluidos en una proporción 1:1 o 1:2 con solución fisiológica para realizar la determinación teniendo en cuenta el factor de dilución para el cálculo final.

Por diferencia entre el colesterol total y el determinado en el sobrenadante, se obtuvo el colesterol unido a las LDL (c-LDLa). Se utilizaron los testigos correspondientes a cada lote de reactivos y las determinaciones fueron validadas con controles de calidad interno y externo. Se comparó con el método por cálculo para la estimación de c-LDL (c-LDLc) aplicándose a cada una de las muestras analizadas la Fórmula de Friedewald:  $c-L = CT - 0.2 TG - c-HDL$

Se eliminaron todos los valores de triglicéridos mayores o iguales a 400 mg/dl.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico fue utilizada la t de student considerándose un nivel de confianza de 95% y una significancia de  $p < 0,05$ .

### RESULTADOS

En el análisis de los resultados pudimos observar que los valores medios del colesterol LDL obtenidos por ambos métodos, los valores de colesterol y triglicéridos, y los índices aterogénicos en la población normolipémica, se encuentran dentro de los valores deseables. (Tabla I).

**TABLA I**

Valores medios y desviación estándar de diferentes parámetros lipídicos séricos e índices aterogénicos en una población normolipémica.

N = 58	CT	TG	LDL	c-LDLa	c-LDLc	CT/chal	CLDL a/c-DL
Media mg/dl	155	81	41	95	99	3,9	2,4
± DS	29	35	9	29	26	1,1	1,0

En la población hipercolesterolémica e hipertrigliceridémica, los valores medios del colesterol LDL obtenidos por ambos métodos se encuentran aumentados respecto a los normolipémicos. Al comparar las concentraciones del c-LDLa (método analítico) y el c-LDLc (obtenido por cálculo) pudimos observar que la correlación fue significativa en las poblaciones estudiadas con  $r = 0,9$  ( $p < 0,01$ ) en los normolipémicos, en los hipertrigliceridémicos  $r = 0,9$  ( $p < 0,01$ ) y en los hipercolesterolémicos  $r = 0,8$  ( $p = 0,01$ ) (Tabla II).

**TABLA II**

Análisis estadísticos y comparación de los valores de c-LDL obtenidos por el método analítico y por cálculo en las poblaciones estudiadas.

	N	R	P	c-LDLa ± ds (mg/dl)	c-LDLc ± ds (mg/dl)
Normolipémicos	58	0,9	<0,01	95 ± 30	99 ± 27
Hipercol. (Tipo Ila)	21	0,8	<0,01	165 ± 22	146 ± 22
Hipertrigl. (Tipo IV)	62	0,9	<0,01	110 ± 39	97 ± 37

### DISCUSION

Nuestros resultados demuestran una fuerte correlación entre los valores de c.LDL determinado analíticamente y los estimados por cálculo en la población normolipémica, en donde el valor de  $r = 0,9$  siendo estadísticamente significativa. Este resultado es similar a otros estudios internacionales como el realizado en la Argentina por Coniglio R. en donde se encontró que el valor de  $r = 0,944$ <sup>11</sup>.

Cuando se compararon ambos métodos en pacientes hipercolesterolémicos (tipo Ila) e hipertrigliceridémicos (tipo IV), se encontró una  $r = 0,8$  para el primer grupo y una  $r = 0,9$ , siendo ambos resultados estadísticamente significativos.

Los resultados obtenidos en la Argentina presentaron valores similares al coeficiente de correlación en pacientes hipercolesterolémicos ( $r = 0,817$ ); en cuanto a la población de hipertrigliceridémicos el coeficiente de correlación obtenido fue menor ( $r = 0,765$ ).

La precisión del método analítico usado para la determinación del LDL.C dentro de un ensayo y entre ensayos, mostró ser adecuada para los propósitos clínicos de detección de individuos en riesgo de aterosclerosis coronaria

y para el control del tratamiento en pacientes hipercolesterolémicos.

El valor medio hallado del c.LDL en la población normolipémica fue de  $95 \pm 29$ , estos valores coinciden con los valores de referencia del Primer Consenso de Dislipidemia en donde el valor normal de c.LDL para individuos mayores de 20 años  $< 100 \text{ mg/dl}$ <sup>14-16</sup>.

La diferencia promedio entre los valores hallados por ambos métodos fue de  $4 \text{ mg/dl}$ . Se determinaron los valores de perfil lipídico, así como también los coeficientes CT/HDL.C y LDL.C/HDL.C, llamados índices aterogénicos, observándose similitud con los resultados hallados por otros autores<sup>11-13</sup>.

Los resultados demuestran que ambos métodos son comparables entre sí hasta valores de triglicéridos menores a  $400 \text{ mg/dl}$ . Para valores de triglicéridos mayor a  $400 \text{ mg/dl}$  se recomienda utilizar el método analítico del LDL.C, que es un método rápido, preciso y fácilmente utilizable en los laboratorios bioquímico-clínicos de mediana complejidad.

Se destaca la necesidad de la determinación del LDL.C pues permite contribuir a detectar los pacientes en riesgo de aterosclerosis coronaria y controlar los tratamientos médicos en los pacientes hipercolesterolémicos.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Tadeo Jiménez y a la Auxiliar del Laboratorio Stela Vázquez.

#### REFERENCIAS

1. Report of the Nacional Colesterol Educación Program Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Colesterol in Adults. *Ach. Int. Med.*, 1998; 148:36-69.
2. Heinle, RA; Levy, RI; Frederickson, DJ and oblin, R. Lipid and carbohydrate Ross, R. The pathogenesis of atherosclerosis.
3. Anupdate. *The New Engl. Of Med.* 1986; 314(8): 488-500.
4. Kannel WB, Castelli WP, and Gordon T. Cholesterol in the prediction of atherosclerosis disease. *Ann. Heart. J.* 1988; 116:266-272.
5. Levy D, Kannel WB. Cardiovascular risks: new insighrs from Framingham. *Am. Heart. J.* 1988; 116:266-272.
6. abnormalities in patients with angiographically documented coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.*, 1969;24: 178-184.
7. Stykowski P, Kannel W, D'Agostino R. Changes in risk factors and the decline in mortality from cardiovascular disease. *The Framingham Heart Study. New Engl. J. Med.* 1990; 322:1635-1641.
8. Neaton JD, Nentworth D. Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking and death from coronary heart disease. Overall findings and differences by ages for 316.099 white men. *Múltiple Risk Factor intervention Trial Research Group. Arch. Intern. Med.* 1992;152:56-64.
9. Stewart BF, Brown BG et all. Benefits of lipid lowering therapy in men with elevated apolipoprotein B are not confined to those with very high low density lipoprotein cholesterol. *J.A. Coll. Cardiol.*1994; 23:899-906.
10. Wikinski RL, Halperin H et all. Un algoritmo para la fenotipificación de las dislipidemias asociadas al riesgo aterogénico en adultos. *Rev. del Hospital de Clínicas San Martín.* 1986; 2:73-8.
11. Friedewald WF, Levy R and Frederickson DS. Estimation of LDL cholesterol concentration without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972; 18:499-502.
12. Coniglio RI. Valores de colesterol en lipoproteinas de baja densidad, determinados analíticamente. Comparación con la estimación por cálculo. *Act. Bioq. Clín. Latin.* 1989;23 (2):201-10.
13. Aguilar JA. et all. Determinación rutinaria del colesterol LDL. *Análisis Clínicos*, XIV, 56-I(232-4),1989.
14. Bertolami M. Comparacao da Fórmula de Friedewald com a ultracentrifugacao analítica durante o tratamento das dislipidemias. *S.n;* 1990. <101> p.tab.
15. Consenso Paraguayo de Dislipidemias. Sociedad Paraguaya de Aterosclerosis. Asunción 2001.
16. Resumen definitivo del tercer informe del National Colesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)- *Jama(ed. esp.)*, Vol. 10, núm.8, 2001-(299-313).
17. Consenso brasileiro sobre Dislipidemias: Evaluación, detección y tratamiento. *Archivo brasileiro de Cardiología* 67(2). 1996.