

APLICABILIDAD DE LA FORMULA DE FRIEDEWALD Y DE UN METODO DE PRECIPITACION EN LA DETERMINACION DEL LDL COLESTEROL.

* Grettel Valverde Chaves, *Claudia Hidalgo Quesada, ***Laureano Echandi Cruz

Se cuantificó en 145 pacientes el colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) mediante una técnica de precipitación y cálculo indirecto, aplicando la fórmula de Friedewald.

La correlación de ambos métodos fue alta tanto en pacientes con niveles inferiores a 1600 mg/l ($r=0,971$) como en pacientes con niveles de triglicéridos que oscilaron entre 1600 mg/1 y 4000 mg/1 ($r=0,941$) y en aquellos cuyos niveles de triglicéridos fueron superiores de 4000 mg/1 ($r=0,958$). Las diferencias promedio, en valores absolutos, entre los valores obtenidos por ambos métodos fueron de 68 mg/1, 85 mg/1 y 150 mg/1, respectivamente. Por tal motivo, al no encontrarse diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$), quedó demostrada la aplicabilidad de los métodos en condiciones de trabajo rutinario.

Este hallazgo es importante pues indica que cualquiera de los dos métodos pueden ser usados con seguridad en el cálculo de los niveles de LDL-C cuando es necesario considerar el factor de riesgo de enfermedad coronaria. Rev. Cost. Cienc. Med., 1994; 15(3,4): -).

Palabras clave: LDL- colesterol, Precipitación, Fórmula de Friedewald, Factor de riesgo coronario.

* Laboratorio Clínico,
Clínica la Unión, C.C.S.S.

** Laboratorio Clínico Laurent

*** Laboratorio Clínico,
Clínica Marcial Fallas, C.C.S.S.

INTRODUCCION

Algunos autores (1,2,3) demostraron que existe un aumento significativo en el riesgo de enfermedades coronarias cuando están presentes concentraciones altas de colesterol total (CT) en el plasma. El incremento en dicho riesgo se debe, principalmente, a un aumento en las concentraciones del colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (LDL-C). Por otra parte, se ha verificado que cuando las concentraciones de LDL-C están elevadas, se obtiene una disminución de éstas cuando con una dieta apropiada, o con el uso de medicamentos (4,5).

El NCEP (National Cholesterol Educational Program, (USA) recomienda la cuantificación de los niveles anormales de colesterol total para brindar así el asesoramiento indicado ante el riesgo de enfermedad coronaria. Cuando el CT excede los 2400 mg/1, o cuando este valor excede los 2000 mg/1 y coexisten otros dos o más factores de riesgo (5), el NCEP recomienda determinar la concentración del LDL-C, ya que este dato viene a ser la base para la prescripción de la dieta y el tratamiento definitivos. El dato obtenido con la relación existente entre el LDL-C y el colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) demuestra ser tres veces más sensible que el obtenido al determinar únicamente el CT (6).

El método más usado como referencia para determinar el LDL-C en el plasma es la ultracentrifugación, pero es costoso y requiere mucho tiempo. Otros métodos para la determinación incluyen la electroforesis y los métodos de precipitación (6).

Para eliminar la ultracentrifugación, en la mayoría de los laboratorios se utiliza la fórmula de Friedewald y colaboradores (7). Por lo general, se acepta que la fórmula de Friedewald no es confiable cuando las concentraciones de TG exceden los 4000 mg/1, por ello se han determinado diversas fuentes de inexactitud y se han incluido diferentes modificaciones a la fórmula (8,9).

En los laboratorios clínicos de Costa Rica, los métodos utilizados con mayor frecuencia son los de precipitación y la estimación por medio de la fórmula de Friedewald, por lo que se realizó una comparación de ambos métodos para investigar su confiabilidad en condiciones de trabajo rutinario. La exactitud en la determinación de LDL-C es de importancia para identificar a los individuos de alto riesgo y así prevenir la cardiopatía isquémica, cuya mortalidad en Costa Rica ha mostrado un aumento de un 25% en las últimas décadas (5).

MATERIALES Y METODOS

Muestra:

Se seleccionaron 145 pacientes de Consulta Externa de dos clínicas de la Caja Costarricense del Seguro Social. De este grupo de pacientes, 79 tenían TG inferiores a 1600 mg/1, 48 tenían TG entre 1600 mg/1 y 4000 mg/1, y 18 mostraron tener valores de TG mayores de 4000 mg/1.

Los pacientes mantuvieron un ayuno previo de 12 horas. La muestra se tomó en tubos sin anticoagulante. La separación del suero se llevó a cabo dentro de un período de 2 horas. Se guardaron a 4°C y se procesaron dentro de las 48 horas siguientes.

Para cada muestra se determinaron las concentraciones de triglicéridos, colesterol total, LDL-C y HDL-C.

Los métodos utilizados para la cuantificación del colesterol total, el

colesterol fraccionado y los triglicéridos fueron los enzimáticos de colorimetría final.

Los reactivos precipitantes utilizados para la determinación del LDL-C y del HDL-C fueron sulfato de polivinilo y sulfato de dextrán con cloruro de magnesio respectivamente.

Todos los reactivos utilizados fueron fabricados por Laboratorios Wiener (Rosario, Argentina). Se siguieron las recomendaciones de la casa comercial en cuanto al procesamiento de las muestras y metodología (10).

Los sueros con niveles de TG superiores a 4000 mg/1 fueron diluidos 1:2 en solución salina isotónica (0,85%), los análisis para el HDL-C y el LDL-C.

Paralelamente a las determinaciones analíticas se estimó la concentración del LDL-C mediante la fórmula de Friedewald (7).

$$\text{LDL-C} = \text{CT} - [\text{HDL-C} + 0,2 \text{ TG}]$$

Todas las muestras fueron procesadas en condiciones de trabajo rutinario.

Para el análisis estadístico, se obtuvo el cálculo del promedio y de la desviación estándar para las cuantificaciones de CT, TG, LDL-C y HDL-C, en cada uno de los tres grupos de los pacientes seleccionados.

Se usaron los procedimientos del modelo de regresión lineal para obtener los coeficientes de correlación (r) entre los valores del LDL-C estimados por medio de la fórmula de Friedewald y los Se utilizó la prueba t de Student para comparaciones apareadas(11). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas si la probabilidad resultaba ser menor de 0,05(<0,05).

RESULTADOS

Comparando los dos métodos que permiten determinar los niveles del LDL-C, se encontró que para los individuos normotriglicéridémicos, la media del LDL-C obtenida por el método de precipitación (1367 ± 354 mg/1) coincide bien con la media del LDL-C que se obtiene por medio de la fórmula de Friedewald (1386 ± 354 mg/1). Los valores alcanzados cuando se aplica esta fórmula son ligeramente más altos que aquellos proporcionados por el método de precipitación; sin embargo las diferencias no son estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

En los dos grupos de pacientes hipertriglicéridémicos existe similitud entre los valores de LDL-C estimados con la fórmula y los obtenidos por el método de precipitación. En los pacientes con niveles de TG superiores a 4000 mg/1, la concentración del LDL-C tiende a ser mayor cuando es calculada por medio de la fórmula. Esta diferencia no es estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

En la figura 1, se observa la correlación que existe entre las concentraciones de LDL-C obtenidas analíticamente y las estimadas por medio de la fórmula de Friedewald en pacientes con triglicéridos menores de 1600 mg/1. En los tres grupos de pacientes se hallaron coeficientes de correlación (r) muy buenos. Las ecuaciones de las líneas de regresión se resumen en el Cuadro 1.

Puede notarse en el Cuadro 1 que la diferencia media del valor del LDL-C analítico, menos el valor del LDL-C estimado por la fórmula, es menor para pacientes normotriglicéridémicos y se incrementa conforme aumenta la concentración de TG. La misma situación se presenta con los valores del porcentaje de error.

En el Cuadro 2 se muestra la precisión lograda cuando se determinó el LDL-C por el método de precipitación.

DISCUSION

Se encontró que los valores del LDL-C determinados por medio de la técnica de precipitación con sulfato de polivinilo y polietilenglicol correlacionaron muy bien con los obtenidos por medio de la fórmula de Friedewald, ya que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

Los coeficientes de correlación (r) fueron de 0,971 para los individuos normotriglicéridémicos, 0,941 y 0,958 para los pacientes con niveles de TG elevados, menores y mayores de 4000 mg/1, respectivamente. Estos coeficientes de correlación superan a los obtenidos por Coniglio (4), quien llevó a cabo la misma comparación de métodos y logra coeficientes de correlación de 0,944 para sujetos normolipémicos, 0,817 para pacientes hipercolesterolémicos y 0,765 para un grupo de hipertriglicéridémicos. En nuestro caso, encontramos que en el grupo de pacientes con niveles de TG mayores de 4000 mg/1, el porcentaje de error fue de 11,9%, mientras que el hallado por este autor fue de 16,9% (Cuadro 1).

Algunos autores (12) afirman que es posible utilizar la fórmula de Friedewald aún a concentraciones de TG de 10000 mg/1, aunque es conocido que conforme aumenta la concentración de TG, la determinación del LDL-C se torna más imprecisa. En este estudio se probó la aplicación de la fórmula en el caso de individuos hipertriglicéridémicos, pues se hizo una selección de pacientes que tenían una concentración de TG que alcanzaba un nivel máximo de 7500 mg/1, encontrándose una buena correlación entre el método analítico para la cuantificación del LDL-C y su estima-

ción por medio de la fórmula, aunque se detectó también una mayor dispersión de los valores. Warnick y colaboradores (13) demostraron que a concentraciones altas de TG, la distribución del error es simétrica, con igual proporción de errores positivos y negativos cuando se hace uso de la fórmula de Friedewald. Por otra parte, varios autores (8,13) modifican el factor utilizado en el cálculo del VLDL-C con el fin de aumentar su confiabilidad, ya que en la fórmula de Friedewald se asume que la composición de triglicéridos en las VLDL es constante. Esta fórmula no es aplicable a todo paciente hipertriglicéridémico, y no es recomendable su aplicación en pacientes diabéticos u obesos, ya que en éstos, las VLDL pueden estar formadas por grupos muy heterogéneos de partículas, teniendo algunas menos proteínas, más colesterol libre y esterificado y menos triglicéridos (4,14). Tampoco es aplicable dicha fórmula en alteraciones de las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), como ocurre en las disbetalipoproteinemias, en la diabetes mellitus, la insuficiencia renal crónica y fallas en la velocidad de depuración de las IDL (15). En estos casos se reco-

mienda realizar los exámenes de LDL-C por medio de ultracentrifugación o de electroforesis (3,6,16).

Los pacientes que tienen niveles de TG superiores a 5000 mg/1, por lo general presentan niveles de LDL-C menores de 1300 mg/1 (13). Este hallazgo se corrobora también en nuestro estudio, en el cual el promedio del LDL-C para aquellos pacientes con niveles de TG mayores de 4000 mg/1 fue menor que el promedio obtenido para individuos normotriglicéridémicos (Cuadro 1).

Cohn y colaboradores (17) demostraron que los valores del VLDL-C aumentan y los del LDL-C disminuyen significativamente después de una comida rica en grasas. Estos cambios postprandiales fueron más evidentes al aplicar la fórmula de Friedewald, que al utilizar los métodos analíticos. De ahí la importancia que la muestra de sangre sea tomada bajo condiciones de ayuno de más de doce horas.

Así, los métodos para la cuantificación del LDL-C por medio de la técnica de precipitación con sulfato de polivinilo y polietilenglicol, y la estimación por medio de la fórmula de Friedewald, resultan aplicables bajo condiciones de trabajo de rutina, siempre y cuando se sigan los pasos sugeridos en la metodología.

Cuadro 1. Valores de LDL-C obtenidos analíticamente y por medio de la fórmula de Friedewald, en los 145 pacientes estudiados

Triglicéridos (mg/1)	n	LDL-C (a) Analítico (ma/1)	LDL-C (a) Fórmula (ma/1)	Ecuación de Regresión	r (b)	Diferencia (c) (mg/1)	Error (d) %
Menos de 1600	79	1367 ± 363	1386 ± 354	y = 0,95x + 90,9	0,971	68	4,9
1600 a 4000	48	1424 ± 380	1426 ± 382	y = 0,94x + 102,2	0,941	85	6,0
Más de 4000	18	1235 ± 571	1259 ± 606	y = 1,02x + 3,0	0,958	150	11,9

(a) Media ± 1 desviación estándar

(b) Coeficiente de correlación

(c) Diferencia (D) = Valor medio de (LDL-C analítico menos LDL-C fórmula)

(d) Error (%) = $\frac{\text{Diferencia (D)}}{\text{Valor medio de LDL-C fórmula}} \times 100$

Cuadro 2. Precisión para LDL Colesterol en suero Por medio del método de precipitación, utilizando sulfato de polivinilo

	LDL-COLESTEROL (mg/1)			
	Media	Desviación estándar	n	CV,%
En una misma corrida	1156	31	20	2,7
Día a Día	1189	58	20	4,9

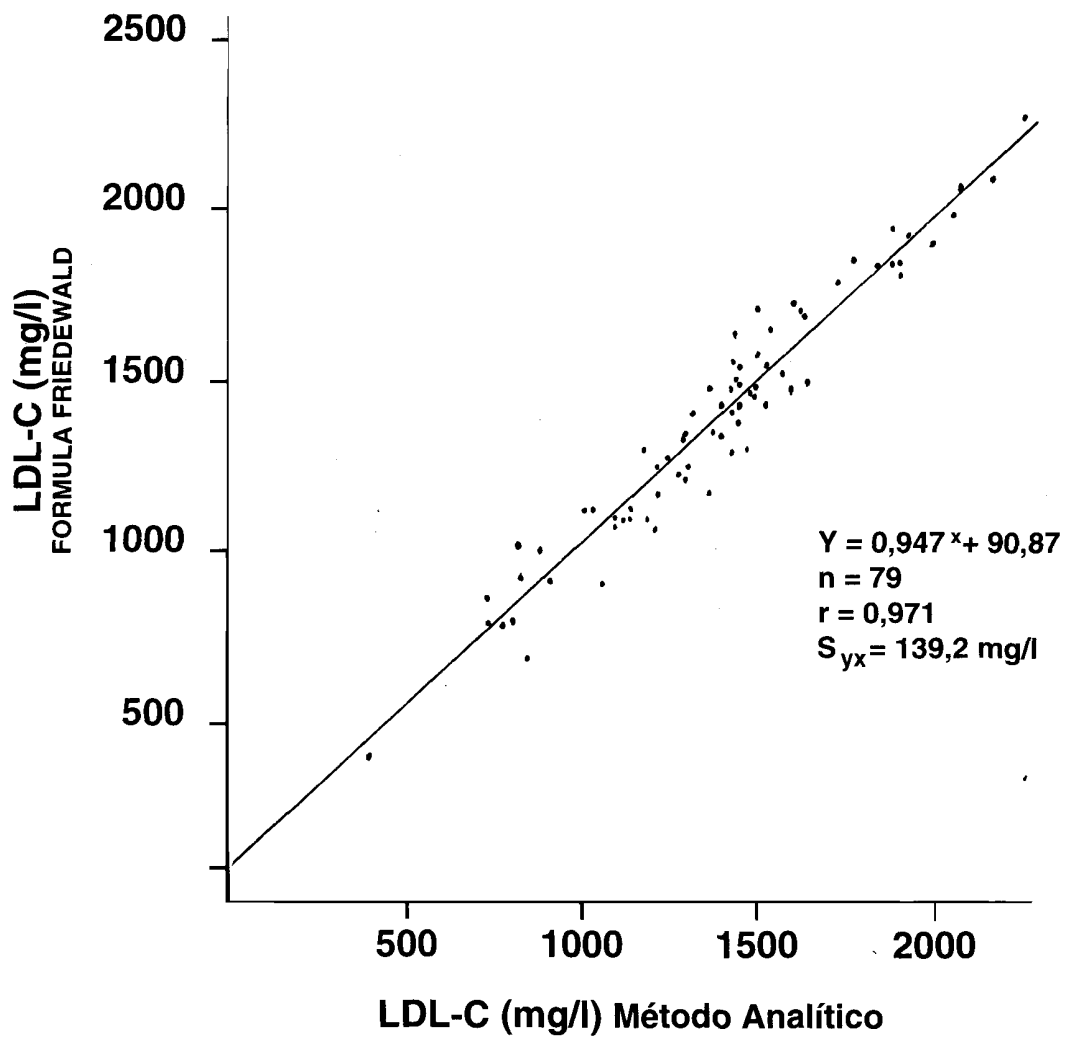


Fig. 1. Comparación entre las concentraciones del LDL-Colesterol obtenidas por el método analítico y las estimadas por medio de la fórmula de Friedewald en 79 pacientes normotriglicéridémicos.

ABSTRACT

Low-Density Lipoprotein Cholesterol (LDL-C) in 145 patients was subjected to a quantitative analysis through a process of precipitation and through indirect calculation applying the Friedewald formula.

Correlation between these two methods was found to be highly satisfactory. There were patients with triglyceride levels below 1600 mg/1 ($r = 0.971$), patients with triglyceride levels between 1600 mg/1 and 4000 mg/1 ($r = 0.941$) and patients whose triglyceride levels were above 4000 mg/1 ($r = 0.958$). The mean differences, in absolute values, between values obtained from both methods were 68 mg%1, 85 mg/1 and 150 mg/1, respectively. No significant statistical differences were found between results generated by these two methods ($p > 0.05$). Therefore, their validity under routine work conditions was ascertained.

This is an important finding as it demonstrates the accuracy of both methods used in evaluating LDL-C levels when ever it's necessary to consider the risk factors that contribute to coronary heart disease.

Key words: LDL—cholesterol, Precipitation, friendewald formula, Risk factors contributing to coronary heart disease.

BIBLIOGRAFIA

1. Kennel WB, Castelli W P, Gordon T. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease: new perspectives based on the Frammigham study. *Ann Int Med* 1979; 90:85-91.
2. Kannel W B, Castelli W P, Gordon T, McNamara p M. Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease. *Ann Int Med* 1971; 74 (1):1-12.
3. The expert Panel on Detection, Evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Report of the National Cholesterol Educational Program. *Arch Int Med* 1988; 148:36-69.
4. Coniglio R I. Valores de colesterol en lipoproteínas de baja densidad, determinados analíticamente. Comparación con la estimación por cálculo. *Acta Bioq Clin Lat* 1989; 23 (2):201-10.
5. Jiménez J G. Factores de riesgo coronario: estrategias para la prevención de la enfermedad coronaria. *Rev Cost Cienc Med* 1990;11 (1): 31-40.
6. Demacker P N, Higmans A G, Breminkmeijer B J, Jansen A P, Van't Laar A. Five methods for determining low-density lipoprotein cholesterol compared. *Clin Chem* 1984; 30 (11): 1797-1800.
7. Friedewald W T, Levi R I, Fredrickson S D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18 (6): 499-502.
8. Mc Namara J R, Cohn J S, Wilson P W, Shaefer E J. Calculated values for low-density lipoprotein cholesterol in the assessment of lipid abnormalities on coronary disease risk. *Clin Chem* 1990;36 (1): 36-42.

9. Wilson PW, Abbot R D, Garrison R J, Castelli W P. Estimation of very low-density lipoprotein cholesterol from data on triglyceride concentration in plasma. *Clin Chem* 1981; 27 (12): 2008-10.
10. Vademecum. Reactivos para Laboratorios Clínicos. *Wiener Lab.* (2000) Rosario, Argentina; 1990.
11. Daniel W W. *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud.* 3a ed. México, D.F. Editorial Limusa, 1988: 254-8; 355-414.
12. Wilson P W, Zech L A, Gregg R S, Schaefer E J, Hoey J M, Sprecher D L, Brewer H B. Estimation of VLDL cholesterol in hyperlipidemia. *Clin Chim Acta* 1985; 151:285-91.
13. Warnick G R, Knopp R H, Fitzpatrick V, Branson L. Estimating low density lipoprotein cholesterol by the Friedewald equation is adequate for classifying patients on the basis of nationality recommended cutpoints. *Clin Chem.* 1990; 36 (1) :15-19.
14. Winoucour P H, Ishola M, Durgington P N. Validation of the Friedewald formula for the measurement of low density lipoprotein cholesterol in insulindependent diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 1989; 1979:79-84.
15. Senti M, Botet J P, Nogués X, Prat J R. Influence of intermediate density lipoprotein on the accuracy of the Friedewald formula. *Clin Chem* 1991; 37 (8) :1394-97.
16. Niedhala R S, Sehray K J, Foery R, Clement R. Estimation of low-density lipoprotein by the Friedewald formula and by electrophoresis compared. (Carta) *Clin Chem* 1985;31 (10):1762-63.
17. Cohn J S, McNamara J R, Schaefer E J. Lipoprotein cholesterol concentration in the plasma of human subjects as measured in the fed and fasted states. *Clin Chem* 1988; 34 (12) :2456-59.