

Avaliação da Dosagem Direta do Colesterol-LDL em Amostras de Sangue de 10.664 Pacientes em Comparação com o uso da Fórmula de Friedewald

Caio Maurício Mendes de Cordova, Carlos Rudi Schneider, Lara Deise Juttel, Maurício Mendes de Cordova
Blumenau, SC

Objetivo

Avaliar a dosagem direta do colesterol LDL (LDL-C) por um método homogêneo, em comparação com a estimativa pela fórmula de Friedewald, em uma grande população heterogênea.

Métodos

As dosagens do colesterol total (CoT) e dos triglicerídeos (Trig) foram realizadas por métodos enzimáticos tradicionais. As dosagens do HDL-C e do LDL-C foram realizadas por métodos diretos, sem precipitação, e a estimativa da fração LDL-C calculada pela fórmula de Friedewald.

Resultados

Por análise de regressão linear, os dois métodos apresentaram coeficientes de correlação extremamente significativos ($p < 0,001$). Entretanto, a fórmula de Friedewald apresentou um bias positivo em relação ao método direto, mais pronunciado com níveis de CoT > 201 mg/dL. Este bias positivo também ocorreu com relação a níveis de Trig ≤ 150 mg/dL. Com níveis de Trig entre 151-200 mg/dL e entre 201-300 mg/dL, não foi observado bias entre os dois métodos. Por outro lado, com níveis de Trig entre 301-400 mg/dL, este bias da fórmula de Friedewald tornou-se negativo.

Conclusão

Foi possível demonstrar que a fórmula de Friedewald não apresenta um desempenho homogêneo para a estimativa do LDL-C em amostras com diferentes níveis de Trig, em comparação com o método direto, podendo causar dúvidas na classificação quanto ao risco de desenvolver doença arterial coronariana.

Palavras-chave

colesterol, LDL-C, LDL direto, fórmula de Friedewald

Departamento de Ciências Farmacêuticas/FURB e Laboratório Santa Isabel de Análises Clínicas, Blumenau, SC
Endereço para Correspondência: Caio M. M. de Cordova - Departamento de Ciências Farmacêuticas/FURB Campus III - R. Antônio da Veiga, 140 CP 1507 - Cep 89010-971 - Blumenau, SC
E-mail: cmcordova@furb.br
Recebido para Publicação em: 10/09/2003
Aceito em: 18/02/2004

A doença arterial coronariana é responsável pelo maior número de mortes de indivíduos adultos no mundo¹. Vários estudos têm demonstrado a relação de níveis aumentados do colesterol presente nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C) com o risco de desenvolvimento da doença^{2,3}. O III Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias estratifica faixas de valores de LDL-C para avaliação do risco para o desenvolvimento da doença arterial coronariana: desejável abaixo de 130 mg/dL, limítrofe entre 130-159 mg/dL, e alto a partir de 160 mg/dL⁴. Estas faixas de valores são bastante estreitas, de modo que o *National Cholesterol Education Program - NCEP* estabeleceu que os laboratórios clínicos devem utilizar metodologias para a dosagem do LDL-C com um erro analítico total que não exceda 12%, com imprecisão $< 4\%$ e inexatidão $< 4\%$ ¹. O método considerado de referência para a determinação do LDL-C é a β -quantificação⁵, que requer ultracentrifugação das amostras, impraticável para os laboratórios de rotina. Por isso, a maioria dos laboratórios utiliza a estimativa do LDL-C pela fórmula de Friedewald, a partir das concentrações do colesterol total, do colesterol presente nas lipoproteínas de alta densidade (HDL-C), e dos triglicerídeos⁶. Entretanto, o erro da determinação do LDL-C por esta estimativa compreende o erro analítico somado dos três parâmetros utilizados no cálculo, e normalmente não atende os critérios de erro total do *NCEP*. Além disso, o uso da fórmula tem severas limitações, não podendo ser aplicada em amostras com triglicerídeos (Trig) > 400 mg/dL, em amostras com quilomícrons, nem em amostras de pacientes com disbetilipoproteinemia (Fredrickson Tipo III)⁷. Alguns autores demonstraram inclusive que a fórmula não deve ser usada em certos grupos de pacientes, como diabéticos e pacientes com hepatopatias ou nefropatias, mesmo com níveis de triglicerídeos < 400 mg/dL⁸.

Recentemente, vários métodos homogêneos têm sido desenvolvidos por diferentes fabricantes para a dosagem direta do LDL-C, na expectativa de que sejam atendidos os critérios do *NCEP* e as necessidades da comunidade médica na prevenção da doença arterial coronariana e do infarto do miocárdio. Estes métodos parecem ser melhores que os métodos anteriores que utilizam precipitação química seletiva ou imunoprecipitação, que são trabalhosos e apresentam um bias significativo em comparação com o método de referência^{7,9}. No entanto, principalmente devido ao seu custo, a utilização destes reagentes nos laboratórios clínicos não vem sendo amplamente disseminada, o que acarreta a escassez de dados sobre o desempenho e a validação dos métodos. No presente estudo propusemo-nos a avaliar o desempenho de um



método direto homogêneo para a dosagem do LDL-C em comparação com a estimativa pela fórmula de Friedewald, analisando uma grande amostragem, obtida em dois anos de experiência com estes reagentes.

Métodos

Foram analisadas amostras de sangue de pacientes que procuraram nosso laboratório, para realizar exames de colesterol total, LDL-C, HDL-C e triglicerídeos, de janeiro 2000 a dezembro 2002. Foram analisadas amostras de 10.664 pacientes, sendo 5.846 (54,82%) do sexo feminino, e 4.818 (45,18%) do sexo masculino, com idades entre 14 e 93 anos. As amostras de sangue foram coletadas após jejum de 12 a 14h, incubadas em banho-maria por 15 minutos para coagulação, e centrifugadas a 2.000 x g por 5 minutos. O soro foi separado e os ensaios foram realizados no mesmo dia da coleta.

As dosagens dos triglicerídeos e do colesterol total foram realizadas com os reagentes *Triglycerides FS (DiaSys Diagnostic Systems GmbH & Co. KG, Holzheim, Germany)*, e *Cholesterol (BioSystems S.A., Barcelona, Spain)*, respectivamente, de acordo com as especificações dos fabricantes, em um equipamento Spectrum CCX II (*Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA*). Os testes foram calibrados com o *CCX Multicalibrator Set (Abbott)*, com curvas de três pontos.

A dosagem do LDL-C homogêneo foi feita com o reagente LDL-C Select FS (DiaSys), de acordo com as especificações do fabricante. O método é baseado na proteção seletiva do LDL-C com a adição do reagente 1 (Tampão Good's pH 6,8 22 mmol/L, colesterol esterase ≥ 2 kU/L, colesterol oxidase ≥ 2 kU/L, N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina (H-DAOS) 0,43 mmol/L, catalase ≥ 400 kU/L, concentrações finais), enquanto o colesterol das outras lipoproteínas é processado pela colesterol oxidase, e o peróxido de hidrogênio formado é degradado pela catalase. Após 5 minutos, com a adição do reagente 2 (Tampão Good's pH 7,0 22 mmol/L, 4-aminoantipirina 0,68 mmol/L, peroxidase ≥ 3 kU/L, concentrações finais), o LDL-C é liberado para o processamento enzimático e revelação pela reação de Trinder. Todos os reagentes são líquidos estáveis. Não há interferência com níveis de triglicerídeos até 1.000 mg/dL, bilirrubina até 50 mg/dL, hemoglobina até 500 mg/dL ou ácido ascórbico até 50 mg/dL, segundo o fabricante. Os testes foram realizados em um equipamento Spectrum CCX II (Abbott) através de programação especial, e calibrados com TruCal (DiaSys).

O LDL-C foi estimado pela fórmula de Friedewald: $LDL-C = ColT - HDL-C - (Trig/5)$, para as amostras que tiveram resultado de triglicerídeos < 400 mg/dL⁶.

A dosagem do HDL-C foi feita por um método homogêneo sem precipitação, utilizando o reagente HDL-C Immuno FS (DiaSys). O método é baseado na formação de imunocomplexos das lipoproteínas LDL, VLDL e quilomícrons com anticorpos anti- β lipoproteínas humanas após a adição do reagente 1 (Tampão Good's pH 7,0 26 mmol/L, 4-aminoantipirina 0,60 mmol/L, peroxidase 1.600 U/L, ascorbato oxidase 1.800 U/L, concentrações finais, e anticorpos de carneiro anti- β lipoproteínas humanas), seguida do processamento enzimático do HDL-C com a adição, após 5 minutos, do reagente 2 (Tampão Good's pH 7,0 26 mmol/L, colesterol esterase 800 U/L, colesterol oxidase 4.000 U/L, N-

etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxi-4-fluoranilina sódica 0,16 mmol/L). Todos os reagentes são líquidos estáveis. Não há interferência com níveis de triglicerídeos até 1.200 mg/dL, bilirrubina até 40 mg/dL, hemoglobina até 500 mg/dL ou ácido ascórbico até 50 mg/dL, segundo o fabricante. Os testes foram realizados em um equipamento Spectrum CCX II (Abbott) através de programação especial, e calibrados com TruCal (DiaSys).

A determinação do coeficiente de variação dos testes realizados foi feita através da análise dos resultados obtidos durante 20 dias consecutivos, utilizando alíquotas de soro controle Accumark™ (*Sigma Diagnostics, St. Louis, MO, USA*), lote 111K6403.

A comparação entre os métodos de dosagem do LDL-C homogêneo e estimativa do LDL-C pela fórmula de Friedewald foi feita segundo método de Passing e Bablok¹⁰, através de análise de correlação, expressa pela equação $y = bx + a$, onde b é a inclinação da reta, representando o erro proporcional, e a é a intersecção no eixo y, representando o erro constante. Para melhorar a comparação entre os métodos, as amostras foram estratificadas de acordo com os níveis de colesterol total: 70-150 mg/dL, 151-200 mg/dL, 201-250 mg/dL, 251-550 mg/dL, e com os níveis de triglicerídeos: ≤ 150 mg/dL, 151-200 mg/dL, 201-300 mg/dL, e 301-400 mg/dL.

A análise estatística dos resultados obtidos foi feita com o auxílio dos softwares *GraphPad InStat™* e *GraphPad Prism™* (San Diego, CA, USA). Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$. Média, desvio padrão e coeficiente de variação foram calculados com o auxílio do *Software Excel* (Microsoft).

Resultados

O coeficiente de variação da dosagem do LDL-C pelo método homogêneo foi de 4%. Para as dosagens do colesterol total, dos triglicerídeos e do HDL-C, os coeficientes de variação foram de 3%, 4% e 3%, respectivamente. As recomendações do *National Cholesterol Education Program – NCEP* são dosagens do LDL-C com imprecisão $\leq 4\%$ ¹ e as dosagens realizadas em nosso laboratório atenderam o critério.

As concentrações de colesterol total e lipoproteínas obtidas neste estudo em relação aos diferentes níveis de triglicerídeos encontram-se na tabela I. As concentrações de triglicerídeos e lipoproteínas em relação aos diferentes níveis de colesterol total na tabela II.

A comparação dos métodos [LDL-C homogêneo (x) versus LDL-C calculado (y)] resultou em equações de regressão de $y = 0,6905x + 27,9$ para níveis de colesterol total entre 70 e 150 mg/dL, de $y = 0,6387x + 44,8$ para níveis de colesterol entre 151 e 200 mg/dL, de $y = 0,6039x + 63,7$ para níveis de colesterol entre 201 e 250 mg/dL, e de $y = 0,7256x + 60,7$ para níveis de colesterol > 250 mg/dL. Os coeficientes de correlação entre os métodos, de acordo com os níveis de colesterol total, de 0,6105, 0,6160, 0,6735 e 0,7822, respectivamente, foram extremamente significantes ($< 0,001$). Entretanto, a estimativa do LDL-C pela fórmula de Friedewald tende a produzir resultados um pouco mais elevados em comparação com a dosagem do LDL-C pelo método homogêneo. Este bias praticamente não ocorre com níveis de colesterol até 150 mg/dL, onde foi observada uma diferença média de $7 \pm 12,1$ mg/dL ($11,5\% \pm 16,1\%$), com um erro proporcional de $-30,9\%$ [(inclinação da reta - 1) x

Tabela I - Resumo dos resultados de colesterol total, LDL-C (direto), LDL-C (Friedewald) e HDL-C de acordo com os níveis de triglicerídeos, na forma de média \pm desvio padrão (menor valor encontrado - maior valor encontrado)

Triglicerídeos	Colesterol total	LDL-C (direto)	LDL-C (Friedewald)*	HDL-C
≤ 150 mg/dL	211 \pm 43 (73-452)	126 \pm 37 (24-307)	140 \pm 39 (28-327)	51 \pm 12 (12-103)
151-200 mg/dL	234 \pm 42 (106-475)	146 \pm 39 (39-321)	153 \pm 40 (41-376)	46 \pm 10 (18-103)
201-300 mg/dL	241 \pm 45 (130-455)	152 \pm 42 (56-332)	150 \pm 43 (37-325)	40 \pm 10 (19-103)
301-400 mg/dL	249 \pm 47 (87-393)	157 \pm 45 (40-299)	141 \pm 45 (27-278)	39 \pm 10 (14-79)
> 400 mg/dL	265 \pm 54 (152-523)	163 \pm 57 (57-423)	-	37 \pm 9 (16-71)

* Aplicado nas amostras com triglicerídeos ≤ 400 mg/dL.

Tabela II - Resumo dos resultados de triglicerídeos, LDL-C (direto), LDL-C (Friedewald) e HDL-C de acordo com os níveis de colesterol total, na forma de média \pm desvio padrão (menor valor encontrado - maior valor encontrado)

Colesterol total	Triglicerídeos	LDL-C (direto)	LDL-C (Friedewald)*	HDL-C
≤ 150 mg/dL	89 \pm 53 (20-374)	68 \pm 13 (24-105)	75 \pm 14 (27-107)	42 \pm 10 (12-74)
151-200 mg/dL	119 \pm 61 (18-399)	101 \pm 16 (47-155)	110 \pm 16 (46-156)	46 \pm 11 (14-93)
201-250 mg/dL	146 \pm 69 (21-398)	136 \pm 20 (73-200)	146 \pm 18 (69-198)	49 \pm 12 (16-120)
> 250 mg/dL	176 \pm 76 (58-400)	185 \pm 32 (47-332)	195 \pm 30 (115-376)	52 \pm 13 (21-130)

* Aplicado nas amostras com triglicerídeos ≤ 400 mg/dL.

100), e um erro constante de + 27,9 mg/dL. Mas, com níveis de colesterol entre 151 e 200 mg/dL, observamos um aumento do erro constante, que passa para + 44,8 mg/dL, com um erro proporcional de - 36 %, resultando num desvio médio de 8 \pm 14,5 mg/dL (9,5% \pm 13,3%). Da mesma forma, com níveis de colesterol entre 201-250 mg/dL e > 250 mg/dL, observamos um aumento do erro constante para + 63,7 mg/dL e + 60,7 mg/dL, com erros proporcionais de - 40% e - 27%, resultando em desvios médios de 10 \pm 15,3 mg/dL (8,3% \pm 10,5%) e de 10 \pm 20,4 mg/dL (6,5% \pm 10,5%), respectivamente. Os resultados destas comparações estão resumidos na (tab. III e fig. 1).

A comparação dos métodos [LDL-C homogêneo (x) versus LDL-C calculado (y)] resultou em equações de regressão de $y = 0,9746x + 17,6$ para níveis de triglicerídeos ≤ 150 mg/dL, de $y = 0,9593x + 12,6$ para níveis de triglicerídeos entre 151-200 mg/dL, de $y = 0,9459x + 6,7$ para níveis de triglicerídeos entre 201-300 mg/dL, e de $y = 0,8999x - 0,1$ para níveis de triglicerídeos entre 301-400 mg/dL. Os coeficientes de correlação entre os métodos, de acordo com os níveis de triglicerídeos, de 0,9426, 0,9332, 0,9345 e 0,9072, respectivamente, foram extremamente significantes ($< 0,001$). Entretanto, a estimativa do LDL-C pela fórmula de Friedewald também tende a produzir resultados mais elevados em comparação com as dosagens do LDL-C pelo método homogêneo para níveis de triglicerídeos até 150 mg/dL, onde encontramos uma diferença média de 14 \pm 13 mg/dL (12,8% \pm 9,2%), com um erro constante de + 17,6 mg/dL e um erro

proporcional de - 3%. Com níveis de triglicerídeos entre 151-200 mg/dL este desvio tende a diminuir, apresentando uma diferença média de 7 \pm 14,5 mg/dL (5,3% \pm 9,5%), onde observamos um erro proporcional de - 4 % com + 12,6 mg/dL de erro constante. Com níveis de triglicerídeos entre 201 e 300 mg/dL este desvio praticamente não existe: 2 \pm 15,3 mg/dL (0,8% \pm 10%), com um erro proporcional de - 5 % e um erro constante de + 6,7 mg/dL. Por outro lado, com níveis de triglicerídeos entre 301-400 mg/dL, a estimativa do LDL-C pela fórmula de Friedewald tende a produzir resultados mais baixos, com uma diferença média de - 16 \pm 19,4 mg/dL (- 10,3% \pm 12,4%), em comparação com a dosagem do LDL-C pelo método homogêneo, onde encontramos um erro proporcional de - 10 %, com - 0,1 mg/dL de erro constante (tab. III e fig.2).

Discussão

Neste trabalho, propusemo-nos a avaliar o desempenho de um método homogêneo para a dosagem direta do LDL-C, em comparação com a estimativa do LDL-C pela fórmula de Friedewald. Apesar das inovações tecnológicas, a fórmula de Friedewald continua sendo usada por muitos laboratórios, e sua aplicação foi inclusive recomendada pelo III Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias, para amostras com triglicerídeos até 400 mg/dL. Entretanto, como outros autores^{9,11-17} e por nós demonstrado, métodos homogêneos e a fórmula de Friedewald não são capazes de fornecer resultados idênticos. Esta conclusão também fica evidente analisando os resultados das amostras do presente estudo, de acordo com seus respectivos níveis de colesterol total ou de triglicerídeos.

Avaliando os resultados das amostras de acordo com diferentes níveis de colesterol total, pudemos observar que a estimativa do LDL-C pela Fórmula de Friedewald apresenta uma correlação extremamente significativa ($P < 0,001$) em comparação com o método direto (tab. II). Porém, os coeficientes de correlação entre os dois métodos não são extremamente próximos (0,6105 a 0,7822) (tab. III). De fato, a fórmula de Friedewald apresenta um desvio, ou bias, positivo em relação ao método direto. Esse bias não é muito pronunciado com níveis de colesterol total entre 70-150 mg/dL (desvio médio de 7 \pm 21 mg/dL) nem com níveis de colesterol total entre 151-200 mg/dL (8 \pm 14,5 mg/dL). Mas, a partir de níveis de colesterol total entre 201-250 mg/dL, este desvio tende a aumentar, com a média de 10 \pm 15,3 mg/dL. Da mesma forma, com níveis de colesterol total > 250 mg/dL, temos um bias positivo de 10 \pm 20,4 mg/dL. Assim, um paciente que teria, por exemplo, um resultado de LDL-C de 125 mg/dL pelo método direto, poderia ter um resultado de 139 mg/dL pela estimativa da fórmula de Friedewald (fig. 1B), considerando a equação de regressão linear obtida para níveis de colesterol total entre 201-250 mg/dL ($y = 0,6039x + 63,7$). Deste modo, apesar de não haver significância estatística, teoricamente uma parcela da população poderia sair do limite desejável para valores de LDL-C (< 130 mg/dL) para um valor limítrofe (130-159 mg/dL), sujeita a controles da dieta ou até mesmo tratamento com estatinas. Da mesma forma, pacientes classificados dentro de valores limítrofes pelo método direto, poderiam cair na faixa de valores altos (160-189 mg/dL) com a estimativa pela fórmula de Friedewald (fig. 1C).

Por outro lado, avaliando os resultados destas amostras de

Tabela III - Resumo da comparação do método de determinação do LDL-C direto com a determinação do LDL-C pela fórmula de Friedewald, de acordo com os níveis de triglicérides e de colesterol total, verificado pela análise de regressão linear^a

		Coefficiente de correlação de Pearson	Inclinação (95% IC) ^b	Intersecção de Y (95% IC) mg/dL	S _{y.x} mg/dL ^c
Triglicérides					
≤ 150 mg/dL	520	0,9426	0,9746 (0,9662 a 0,9830)	17,6 (16,5 a 18,7)	12,9
151-200 mg/dL	897	0,9332	0,9593 (0,9427 a 0,9760)	12,6 (10,1 a 15,2)	14,4
201-300 mg/dL	458	0,9345	0,9459 (0,9274 a 0,9644)	6,7 (3,7 a 9,6)	15,2
301-400 mg/dL	48	0,9072	0,8999 (0,8612 a 0,9387)	- 0,1 (-6,4 a 6,2)	18,9
Colesterol total					
≤ 150 mg/dL	72	0,6105	0,6905 (0,6093 a 0,7717)	27,9 (22,3 a 33,6)	11,5
151-200 mg/dL	3035	0,6160	0,6387 (0,6097 a 0,6678)	44,8 (41,8 a 47,8)	13,3
201-250 mg/dL	4376	0,6735	0,6039 (0,5843 a 0,6236)	63,7 (61,0 a 66,4)	13,1
> 250 mg/dL	462	0,7822	0,7256 (0,7027 a 0,7484)	60,7 (56,5 a 65,1)	18,4

^a Na forma de $y = ax + b$, onde y = LDL calculado (Friedewald); x = LDL direto; a = inclinação da reta, b = intersecção de y ; ^b IC: intervalo de confiança; ^c desvio padrão dos resíduos $y.x$.

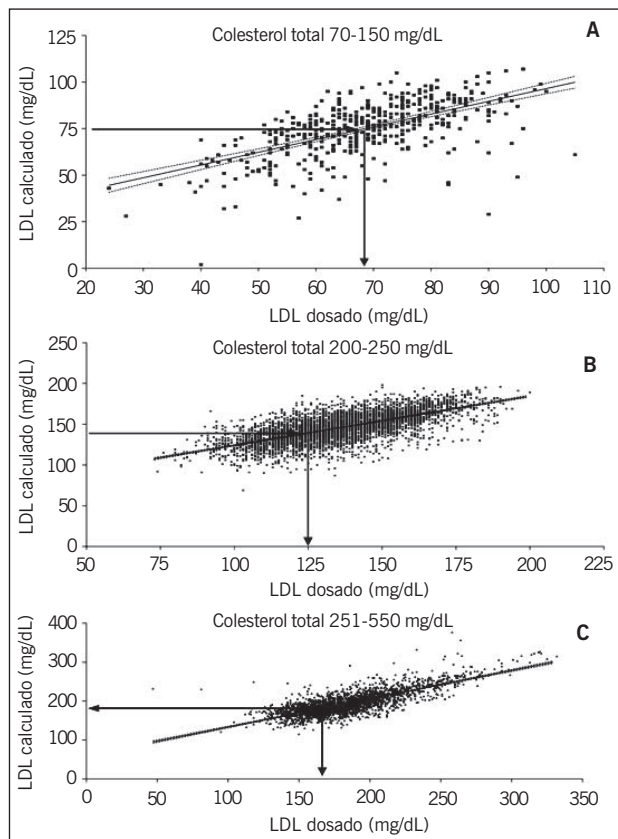


Fig. 1 - Representação gráfica da comparação da dosagem do LDL-C pelo método homogêneo com a estimativa pela Fórmula de Friedewald, de acordo com os níveis de colesterol total: de 70-150 mg/dL (A), entre 200-250 mg/dL (B), e entre > 251-550 mg/dL (C).

acordo com diferentes níveis de triglicérides, observamos um padrão de inversão deste bias (tab. I), apesar de os dois métodos apresentarem excelentes coeficientes de correlação (0,9072 a 0,9426) (tab. III). Com níveis de triglicérides até 150 mg/dL, observamos uma bias positivo médio de 14 ± 13 mg/dL da fórmula de Friedewald. Assim, mesmo sem haver significância estatística, teoricamente um paciente com resultado de LDL-C de 125 mg/dL pelo método direto e triglicérides < 150 mg/dL, poderia ter um valor de LDL-C estimado pela fórmula de Friedewald de 139 mg/dL (fig. 2A), considerando a equação de regressão linear para esta faixa de triglicérides ($y = 0,9746 x + 17,6$). Esse paciente passaria de um valor desejável para um valor limítrofe. O mesmo aconteceria com um paciente com 150 mg/dL de LDL-C pelo

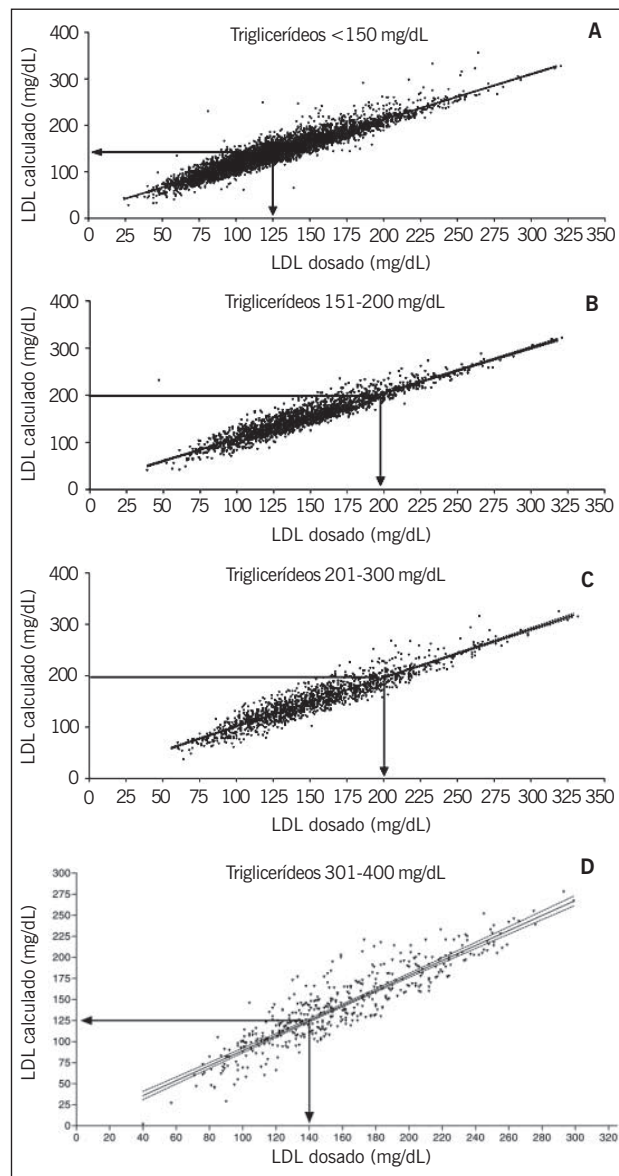


Fig. 2 - Representação gráfica da comparação da dosagem do LDL-C pelo método homogêneo com a estimativa pela Fórmula de Friedewald, de acordo com os níveis de triglicérides: até 150 mg/dL (A), entre 151-200 mg/dL (B) e entre 201-300 mg/dL (C) e entre 301-400 mg/dL (D).

método direto, que passaria da faixa de valores limítrofes para a faixa de valores altos (164 mg/dL), pela estimativa da fórmula.

Vários autores encontraram resultados mais baixos para métodos diretos de dosagem do LDL-C em comparação com a

β -quantificação após ultracentrifugação^{11, 12}, enquanto outros observaram este bias com um determinado reagente, e uma correlação perfeita com outro reagente, apesar de ambos utilizarem detergentes, mas com princípios diferentes¹³. Os reagentes utilizados no presente estudo seguem um princípio de proteção com detergentes semelhante ao método utilizado no estudo citado, que não apresentou bias em comparação com o método de referência. Alguns autores também não encontraram esta variação do bias em relação a diferentes níveis de triglicerídeos com um método que também utiliza tensoativos específicos¹², ao contrário da maioria dos métodos diretos^{9, 14-18}, o que pode ser devido a uma diferença de componentes dos reagentes.

Para níveis de triglicerídeos entre 151-200 mg/dL, com nossos resultados este desvio diminuiu para $7 \pm 14,5$ mg/dL, e para níveis de triglicerídeos entre 201-300 mg/dL, este bias praticamente inexistente ($2 \pm 15,3$ mg/dL).

Por outro lado, nas amostras com níveis de triglicerídeos entre 301-400 mg/dL, este bias da fórmula de Friedewald torna-se negativo, com um desvio médio de $-16 \pm 19,4$ mg/dL. Desta maneira, como pode ser demonstrado com nossos resultados, um paciente com triglicerídeos entre 301-400 mg/dL e um resultado de LDL-C dosado pelo método direto de 140 mg/dL, teoricamente poderia ter um valor de LDL-C estimado pela Fórmula de Friedewald de 126 mg/dL (fig. 2D), considerando a equação de regressão linear para esta faixa de triglicerídeos ($y = 0,8999x - 0,1$), apesar de não haver significância estatística. O paciente passaria de um valor limítrofe para um valor desejável de LDL-C. O mesmo aconteceria com um paciente com 170 mg/dL de LDL-C pelo método direto, que passaria da faixa de valores altos para a faixa de valores limítrofes (153 mg/dL).

Uma das explicações para estes resultados mais altos de LDL-C pelo método direto em comparação com a fórmula de Friedewald, segundo alguns autores, seria a diferença na relação triglicerídeos/colesterol nas partículas de VLDL, em pacientes com dislipidemias do tipo IIb, III e IV de Fredrickson. Partículas de VLDLs ricas em triglicerídeos induziriam os métodos diretos a um bias negativo¹³. VLDLs ricas em colesterol, seriam responsáveis por um bias positivo¹⁹. Entretanto, isto não explicaria o bias positivo do método direto em pacientes com altos níveis de triglicerídeos, encontrado em nossos resultados.

Outra explicação seria a possibilidade da dosagem do colesterol presente nas partículas de lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) como LDL-C, nos casos de pacientes dislipidemia do tipo III de Fredrickson, por alguns métodos diretos¹³, o que poderia estar acontecendo com o método em questão, mas esta hipótese não pode explicar esta tendência em todos os pacientes com triglicerídeos entre 301-400 mg/dL, demonstrada por nossos resultados. De fato, como argumentam esses autores, esses pacientes com dislipidemia do tipo III tenderiam a ser erroneamente classificados no tipo IIb utilizando o método direto para a dosagem do LDL-C, superestimando a fração LDL-C. Porém, a estimativa pela fórmula de Friedewald não auxilia a classificação correta, superestimando a fração VLDL (triglicerídeos/5), pois também é incapaz de indicar a presença das IDLs, que poderia ser suspeitada apenas pelos altos níveis de triglicerídeos. No caso específico dos pacientes com dislipidemia do tipo III, uma boa comunicação do clínico com o laboratório, que teria condições de informar se o método que utiliza pode superestimar a fração LDL-C, no caso do método

direto, ou a fração VLDL, no caso da estimativa pela fórmula de Friedewald, seria uma excelente contribuição para o diagnóstico.

Para a estimativa do LDL-C, a fórmula de Friedewald padroniza o valor da fração VLDL como o valor dos triglicerídeos dividido por cinco. Entretanto, as partículas encontradas nos pacientes com hipertrigliceridemia (tipos IIb, III, IV e V) são normalmente uma mistura heterogênea de remanescentes de quilomícrons, VLDL e remanescentes de VLDL (IDLs). Como é sabido, a relação triglicerídeos/colesterol é bastante variável entre esta gama de partículas. De fato, segundo nossos resultados, a estimativa do LDL-C pela fórmula de Friedewald apresenta um bom desempenho em amostras com níveis de triglicerídeos entre 151-300 mg/dL, em comparação com o método direto. Entretanto, nos extremos desta faixa, nas amostras com < 150 mg/dL e entre 301-400 mg/dL de triglicerídeos, a fórmula não apresenta um bom desempenho. De fato, a fórmula de Friedewald pode classificar erroneamente, segundo alguns autores, até 25% dos pacientes com valores de triglicerídeos entre 301-400 mg/dL¹³. Esta porcentagem pode ser ainda maior dependendo do método utilizado para a dosagem do HDL-C.

Assim, pacientes com triglicerídeos < 150 mg/dL com resultados desejáveis de LDL-C pelo método direto, poderiam estar recebendo tratamento com base em resultados de LDL-C obtidos com a estimativa pela fórmula de Friedewald. Por outro lado, pacientes com triglicerídeos entre 301-400 mg/dL e valores de LDL-C em níveis limítrofes ou altos pelo método direto, não estariam recebendo o tratamento adequado com uso da fórmula de Friedewald. Obviamente os limites de valores de LDL-C para a classificação de risco para doença arterial coronariana são bastante estreitos, mas como são os valores recomendados pelo III Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias⁴, o laboratório clínico deve esforçar-se ao máximo para realizar a dosagem desta fração com o melhor desempenho diagnóstico possível, isto é, com o menor coeficiente de variação, e com a probabilidade de melhor classificar corretamente os pacientes para a avaliação do risco de doença arterial coronariana.

Com este trabalho, analisando amostragem de mais de 10.000 pacientes, foi possível demonstrar que o método direto utilizado para dosagem do LDL-C tem um desempenho muito bom, com boa reprodutibilidade e coeficiente de variação dentro das exigências do NCEP, dificilmente obtido com a fórmula de Friedewald. Entretanto, apesar de um dos objetivos ter sido discutir que os dois métodos não apresentam resultados idênticos, é importante salientar que ainda permanece o consenso de que a fórmula de Friedewald pode ser utilizada nos pacientes com níveis de triglicerídeos até 400 mg/dL, que não apresentem quilomícrons e que não tenham IDLs (classificação de Fredrickson tipo III)^{4, 20}. De fato, muitos laboratórios ainda continuam utilizando a estimativa do LDL-C pela fórmula, devido ao custo dos reagentes para a dosagem do LDL-C pelos métodos diretos existentes. Com a diminuição destes custos e com uma melhor avaliação do desempenho destes reagentes, os métodos diretos tenderiam a ser mais amplamente utilizados pelos laboratórios, possibilitando uma melhor classificação dos pacientes, como resultados mais confiáveis de LDL-C, dentro dos critérios do NCEP. Certas populações seriam extremamente beneficiadas com a utilização dos métodos diretos, como por exemplo os diabéticos, que são naturalmente propensos a desenvolver doença arterial coronariana, e cujos valores de LDL-C não são corretamente estimados pela fórmula⁸.

No futuro, novos métodos podem estar sendo implementados para a determinação do LDL-C, como um método descrito recentemente, sem reagentes, baseado na absorção espectrofotométrica



das lipoproteínas no infravermelho²¹. Este método apresentou excelente desempenho, e sua avaliação pode lançar novas perspectivas no debate sobre a introdução ou não de novos métodos para a determinação do LDL-C.

Recentemente, alguns autores demonstraram que dois métodos diretos para a dosagem do LDL-C não apresentam uma boa recuperação do subtipo de LDL pequena e densa (sdLDL), previamente separada por ultracentrifugação²². A determinação dos níveis deste subtipo de LDL tem sido implicada como um fator na avaliação do risco de desenvolvimento de doença arterial coronariana mais sensível do que a determinação do LDL-C total. Métodos para a determinação rotineira de sdLDL ainda estão em desenvolvimento, mas possivelmente, num futuro próximo, os laboratórios estarão incluindo mais este parâmetro no perfil de lipídeos e lipoproteínas à disposição dos clínicos²³.

Da mesma forma, o desempenho do método direto para a dosagem do HDL-C apresentou um desempenho excelente, com um coeficiente de variação muito baixo. Em nossa experiência, este método apresenta um ótimo desempenho na rotina do laboratório, é facilmente automatizável, e não apresenta os problemas de interferências, como os métodos de precipitação¹, que acarretam um erro adicional na estimativa do LDL-C pela fórmula de Friedewald. Outros autores puderam demonstrar que o método direto não apresenta resultados mais baixos de HDL-C como os métodos de precipitação, em comparação com o método de referência²⁴.

Agradecimentos

À Empresa DiaSys Diagnostic Systems pelo suporte parcial na realização deste trabalho.

Referências

1. NCEP National Cholesterol Education Program. Second report of the expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). *Circulation* 1994; 89:1329-1345.
2. Grundy SM. Role of low-density lipoproteins in atherogenesis and development of coronary heart disease. *Clin. Chem.* 1995; 41:139-146.
3. Gordon T, Kannel WB, Castelli WP et al. Lipoproteins, cardiovascular disease and death. The Framingham Study. *Arch. Intern. Med.* 1981; 141:1128-1130.
4. SBC. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Resumo das III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq. Bras. Cardiol.* 2001; 77:1-48.
5. Bachorik PS. Measurement of low density lipoprotein cholesterol. In: Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. *Handbook of Lipoprotein Testing*. Washington DC: AACC Press, 1997:145-160.
6. Friedewald WT, Levi RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 1972; 18:499-502.
7. McNamara JR, Conh JS, Wilson PWF et al. Calculated values of low-density lipoprotein in the assessment of lipid abnormalities and coronary disease risk. *Clin. Chem.* 1990; 36:36-42.
8. Rubies-Prat J, Reveré RJ, Senti M et al. Calculated low-density lipoprotein cholesterol should not be used for management of lipoprotein abnormalities in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1993; 16:1081-1086.
9. Harris N, Neufeld E, Newburgwe JW et al. Analytical performance and clinical utility of a direct LDL-cholesterol assay in a hyperlipidemic pediatric population. *Clin. Chem.* 1996; 42:1182-1188.
10. Passing H, Bablock W. Comparison of several regression procedures for method comparison studies and determination of sample size. *J. Clin. Chem. Biochem.* 1984; 22:431-445.
11. Rifai N, Iannotti E, DeAngelis K et al. Analytical and clinical performance of a homogeneous enzymatic LDL-cholesterol assay compared with ultracentrifugation-dextran sulfate-Mg²⁺ method. *Clin. Chem.* 1998; 44:1242-1250.
12. Nauck M, Graziani MS, Bruton D et al. Analytical and clinical performance of a detergent-based homogeneous LDL-cholesterol assay: a multicenter evaluation. *Clin. Chem.* 2000; 46:506-514.
13. Esteban-Salán M, Guimón-Berdesi A, de la Viuda-Unzueta JM et al. Analytical and clinical evaluation of two homogeneous assays for LDL-cholesterol in hyperlipidemic patients. *Clin. Chem.* 2000; 46:1121-1131.
14. Yu HH, Ginsbrug GS, Harris N et al. Evaluation and clinical application of a direct low density lipoprotein cholesterol assay in normolipemic and hyperlipidemic adults. *Am. J. Cardiol* 1997; 80:1295-1299.
15. Sheikh M, Miller NE. Evaluation of commercial reagent for precipitating human serum low density lipoprotein. *Clin. Chem. Acta* 1985; 152:213-217.
16. Demacker PN, Hijmans AG, Breninkmeijer BJ et al. Five methods for determining low density lipoprotein cholesterol compared. *Clin. Chem.* 1984; 30:1797-1800.
17. Assmann G, Jabs HU, Nolte W et al. Precipitation of LDL with sulphopolyanions: a comparison of two methods for LDL cholesterol determination. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1984; 22:781-785.
18. Mulder K, van Leeuwen C, Schouten JA et al. An evaluation of three commercial methods for the determination of LDL cholesterol. *Clin. Chem. Acta* 1984; 143:29-35.
19. Okada M, Matsui H, Ito Y et al. Low-density lipoprotein cholesterol can be chemically measured: a new superior method. *J. Lab. Clin. Med.* 1998; 132.
20. Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clin. Chem.* 2002; 48:236-54.
21. Liu KZ, Shaw RA, Man A et al. Reagent-free, simultaneous determination of serum cholesterol in HDL and LDL by infrared spectroscopy. *Clin. Chem.* 2002; 48:499-506.
22. Usui S, Kakuuchi H, Okamoto M et al. Differential reactivity of two homogeneous LDL-cholesterol methods to LDL and VLDL subfractions, as demonstrated by ultracentrifugation and HPLC. *Clin. Chem.* 2002; 48:1946-54.
23. Le NA. Small, dense low-density lipoprotein: Risk or Myth. *Current Atherosclerosis Reviews* 2003; 5:22-28.
24. Jensen T, Truong Q, Frandsen M et al. Comparison of a homogeneous assay with a precipitation method for the measurement of HDL cholesterol in diabetic patients. *Diabetes Care* 2002; 25:1914-8.