

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE ENFERMERÍA, FISIOTERAPIA Y
PODOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

**Influencia del empleo de distintos métodos y ecuaciones para
la determinación del LDL colesterol en la valoración del
riesgo cardiovascular**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Jesús Timón Zapata

Directores

Juan Vicente Beneit Montesinos
Emilio José Laserna Mendieta
José Luis García Klepzig

Madrid 2019

2017

[Influencia del empleo de distintos métodos y ecuaciones para la determinación del LDL colesterol en la valoración del riesgo cardiovascular]

Tesis doctoral presentada por:

Jesús Timón Zapata

Bajo la dirección de:

Juan Vicente Beneit Montesinos

Emilio José Laserna Mendieta

José Luis García Klepzig

Para la obtención del grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid



U N I V E R S I D A D
C O M P L U T E N S E
M A D R I D

Agradecimientos

AGRADECIMIENTOS

En la culminación de una etapa más, de un proceso tan largo como es la formación científica, profesional y personal, transmitir el agradecimiento en unas líneas, para alguien parco en palabras como yo, resulta casi más complicado que la elaboración del resto del manuscrito.

En primer lugar, mi agradecimiento a Juan Vicente y José Luis por ayudarme enormemente en la tarea que abordaba, poniéndome todas las facilidades del mundo y demostrando una confianza casi ciega en lo que hacía.

También ha sido indispensable la contribución de Emilio. Sin duda alguna, sin su ayuda, sin sus aportaciones, sin sus consejos, sin sus comentarios y sin su crítica, este texto no habría visto la luz. Pero más allá de lo referente a esta tesis, su papel en mi introducción al mundo de la "CIENCIA", que comenzó el mismo día en que nos conocimos como residentes en el Hospital Virgen de la Salud de Toledo allá por el año 2009.

Mostrar mi gratitud también a todas aquellas personas que han participado en esta investigación. Técnicos, enfermeras y facultativos del Hospital General Virgen de la Salud, Hospital General Universitario de Guadalajara, Hospital Santa Bárbara de Puertollano, Hospital General Universitario de Ciudad Real, Hospital Universitario de Fuenlabrada y de Analiza, que con su trabajo han contribuido a la obtención de los resultados. Y a todos los que me han ayudado de diversos modos: leyendo el texto y aportando sugerencias, consejos, datos y material con el que ir mejorando el trabajo y, por supuesto y simplemente, escuchándome.

Además, agradecer a las diferentes casas comerciales, Roche, Siemens y Abbott, que han facilitado reactivos e información, sin la cual no se habría podido completar el proyecto.

Y no puedo olvidarme de la familia. Mención especial para mis padres, porque nunca han escatimado ningún medio disponible para mí o mis hermanos y por ser un modelo

a seguir en lo personal y lo profesional. Y por supuesto, para Vane, Ari y Vali, por tener paciencia, por las ausencias en juegos, actividades y tareas y por simplemente aguantarme, que eso de por sí ya tiene mérito.

Muchas gracias a todos.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	11
ABSTRACT	18
1.- INTRODUCCIÓN	25
1.1.- LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS	25
1.1.1.- Lípidos.....	25
1.1.2.- Lipoproteínas.....	27
1.2.- METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS	29
1.2.1.- Metabolismo de las lipoproteínas	29
1.2.2.- Metabolismo del colesterol	30
1.3.- IMPORTANCIA CLÍNICA DE LOS LÍPIDOS	32
1.3.1.- Desórdenes lipídicos.....	33
1.3.2.- Enfermedad cardiovascular.....	35
1.3.3.- Aterosclerosis	38
1.3.4.- Tratamiento de la hiperlipemia	40
1.3.5.- Prevención de ECV.....	43
1.4.- MEDICIÓN DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS	49
2.- OBJETIVOS	60
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	63
3.1.- EQUIPOS DE MEDIDA	63
3.2.- TÉCNICAS	65
3.2.1.- Colesterol total	65
3.2.2.- HDL-C	68
3.2.3.- Triglicéridos	74
3.2.4.- LDL-C.....	78
3.2.5.- LDL-C calculado.....	86
3.2.6.- Hemoglobina glicada	87
3.3.- DISEÑO DEL ESTUDIO	88
3.3.1.- Valores extremos de HDL-C.....	88
3.3.2.- Efecto de la diabetes.....	91
4.- RESULTADOS	96
4.1.- VALORES EXTREMOS DE HDL-C	96
4.1.1.- Análisis de Colesterol total, Triglicéridos, HDL-C y LDL-C.....	96

4.1.2.- Análisis LDL-C Fórmula de Friedewald	102
4.1.3.- Fórmulas LDL-C alternativas.....	107
4.2.- EFECTO DE LA DIABETES.....	110
4.2.1.- Análisis de Colesterol Total, Triglicéridos, HDL-C y LDL-C.....	110
4.2.3.- Análisis LDL-C Fórmula de Friedewald	114
4.2.3.- Fórmulas LDL-C alternativas.....	117
5.- DISCUSIÓN	122
5.1.- CONDICIONES DEL PACIENTE, CRITERIOS DE CALIDAD Y MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO.....	125
5.2.- EFECTO DEL HDL-C EXTREMO	128
5.3.- DM Y PERFIL LIPÍDICO	131
5.4.- FÓRMULA DE FRIEDEWALD EN LA VALORACIÓN DE ECV	132
5.5.- UTILIDAD DE LAS FÓRMULAS ALTERNATIVAS PARA EL LDL-C EN COMPARACIÓN CON LA FF Y LOS MÉTODOS DIRECTOS.....	134
6.- CONCLUSIONES	137
ABREVIATURAS.....	140
BIBLIOGRAFÍA.....	143
ANEXOS	159
ARTÍCULOS DERIVADOS DEL ESTUDIO	162

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Características principales de las diferentes lipoproteínas.....	28
Tabla 2.- Esquema de la clasificación fenotípica y genética de las hiperlipemias primarias... 34	34
Tabla 3.- Factores de riesgo que aumentan la probabilidad de enfermedad cardiovascular, tanto modificables como no modificables	36
Tabla 4.- Objetivos definidos por el ATPIII para colesterol total, HDL-C, triglicéridos (TG) y LDL-C.....	44
Tabla 5.- Objetivo de LDL-C según el nivel de riesgo y factores de riesgo mayores para evaluación de enfermedad cardiovascular.....	45
Tabla 6.- Nuevos objetivos de la “National Lipid Association” para 2016 en relación con LDL-C, colesterol no-HDL y Apo B	46
Tabla 7.- Objetivos y recomendaciones sobre lípidos de las guías europeas para la prevención de la enfermedad cardiovascular en la práctica clínica	47
Tabla 8.- Factores de riesgo propuestos por la AACE/ACE asociados con enfermedad aterosclerótica cardiovascular.....	48
Tabla 9.- Objetivos de LDL-C, colesterol no-HDL y Apo B según las categorías de riesgo de la AACE/ACE.....	49
Tabla 10.- Objetivos de calidad para error total (ET) y coeficiente de variación (CV) fijados por la NCEP para colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C	50
Tabla 11.- Propuesta de factor para estimación del VLDL para el cálculo del LDL-C según los valores de triglicéridos y colesterol no-HDL	5; Error! Marcador no definido.
Tabla 12.- Propuesta de Dansethakul <i>et al.</i> para el cálculo del LDL-C	58
Tabla 13.- Datos de edad media, desviación típica (DS), mínimo y máximo y resultados del perfil lipídico en el estudio de valores extremos de HDL-C	9; Error! Marcador no definido.
Tabla 14.- Resultados de <i>P</i> -valor en las pruebas <i>post-hoc</i> de Tukey y Dunn en el estudio de valores extremos de HDL-C	98
Tabla 15.- Resultados de regresión de Passing-Bablok y de diferencia para prueba de Bland-Altman en el estudio de valores extremos de HDL-C	99
Tabla 16.- Comparación de los métodos directos de medida del LDL-C en el estudio de valores extremos de HDL-C	101
Tabla 17.- Resultados del LDL-C calculado con la fórmula de Friedewald en el estudio de valores extremos de HDL-C	102
Tabla 18.- Resultados de <i>P</i> -valor en las pruebas <i>post-hoc</i> para LDL-C calculado mediante la fórmula de Friedewald en el estudio de valores extremos de HDL-C.....	103
Tabla 19.- Comparación de los resultados de LDL-C calculado mediante la fórmula de Friedewald y mediante el método directo en el estudio de valores extremos de HDL-C	104
Tabla 20.- Resultados de regresión de Passing-Bablok y de diferencia para prueba de Bland-Altman para el LDL-C calculado mediante la fórmula de Friedewald en el estudio de valores extremos de HDL-C	105

Tabla 21.- Resultados de regresión de Passing-Bablok y de diferencia para prueba de Bland-Altman para el LDL-C calculado mediante la fórmula de Friedewald y el LDL-C medido por el método directo en el estudio de valores extremos de HDL-C	106
Tabla 22.- Resultados de regresión de Passing-Bablok y de diferencia para prueba de Bland-Altman para el LDL-C calculado mediante la fórmula de Friedewald y otras fórmulas alternativas en el estudio de valores extremos de HDL-C	108
Tabla 23.- Resultados de índice kappa (K) de Cohen entre todas las determinaciones de LDL-C (método directo y fórmulas)	109
Tabla 24.- Resultados del perfil lipídico en el estudio de pacientes diabéticos	111
Tabla 25.- Resultados de los test de ANOVA de un factor y Kruskal-Wallis en el estudio de pacientes diabéticos	112
Tabla 27.- Resultados de regresión de Passing-Bablok y de diferencia para prueba de Bland-Altman en el estudio de pacientes diabéticos	113
Tabla 28.- Resultados del LDL-C calculado con la fórmula de Friedewald en el estudio de pacientes diabéticos	114
Tabla 29.- Comparación del LDL-C mediante la fórmula de Friedewald en el estudio de pacientes diabéticos	115
Tabla 30.- Resultados de la comparación de métodos mediante la regresión de Passing-Bablok y el método de Bland-Altman entre el LDL-C medido con la fórmula de Friedewald en el estudio de pacientes diabéticos	116
Tabla 31.- Resultados de la comparación de métodos mediante la regresión de Passing-Bablok y el método de Bland-Altman entre el LDL-C medido con la fórmula de Friedewald y el medido con los métodos directos en el estudio de pacientes diabéticos	116
Tabla 32.- Resultados conjuntos del LDL-C calculado con las diferentes fórmulas en el estudio de pacientes diabéticos.....	118
Tabla 33.- Resultados de la comparación de métodos mediante la regresión de Passing-Bablok y el método de Bland-Altman entre el LDL-C medido con la fórmula de Friedewald, mediante las fórmulas alternativas y el método directo en el estudio de pacientes diabéticos	119
Tabla 34.- Resultados de índice kappa de Cohen entre el LDL-C empleando las diferentes fórmulas, entre las fórmulas alternativas y el método directo y entre todos los métodos de determinación del LDL-C en el estudio de pacientes diabéticos.....	120
Anexo 1.- Resultados de LDL-C calculado con diferentes fórmulas en el grupo de HDL-C ≤ 20 mg/dL en el estudio de valores extremos de HDL-C	159
Anexo 2.- Resultados de LDL-C calculado con diferentes fórmulas en el grupo de HDL-C ≥ 100 mg/dL en el estudio de valores extremos de HDL-C	160

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Esquema de la ruta de síntesis endógena de colesterol	31
Figura 2.- Esquema del método enzimático para la determinación de colesterol total	51
Figura 3.- Esquema de reacción de medida de colesterol total con el reactivo de Roche Diagnostics de segunda generación	65
Figura 4.- Esquema de la reacción de medida de HDL-C con el reactivo de Roche Diagnostics de tercera generación.....	¡Error! Marcador no definido.0
Figura 5.- Esquema de la reacción de medida de triglicéridos con el reactivo de Roche Diagnostics	75
Figura 6.- Esquema de la reacción de medida de LDL-C con el reactivo de Roche Diagnostics de segunda generación	80
Figura 7.- Esquema de la reacción de medida de LDL-C con el reactivo de Roche Diagnostics de tercera generación	81
Figura 8.- Ecuaciones empleadas para la estimación del LDL-C	86
Figura 9.- Coeficientes empleados para la determinación del índice kappa (κ) de Cohen ponderado	91
Figura 10.- Interpretación del grado de concordancia según el resultado del índice kappa (κ) de Cohen	91

Resumen

RESUMEN

Introducción:

El estudio de los lípidos y las lipoproteínas tiene interés clínico en la valoración de las dislipemias y de la enfermedad cardiovascular (ECV). Las lipoproteínas cumplen un papel clave en la formación de la placa de ateroma responsable, en buena parte, de la aparición de ECV. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) aportan, principalmente, los lípidos necesarios para la formación de la placa mientras que las lipoproteínas de densidad alta (HDL) tienen un efecto protector. La aterosclerosis es un proceso progresivo, de modo que la intervención temprana tiene un efecto positivo, hecho que sitúa al LDL como un elemento central en la prevención de ECV. Existen distintas terapias para la reducción de los lípidos y las lipoproteínas si bien, en general, las estatinas son la primera línea de tratamiento. Estos fármacos inhiben la síntesis de colesterol endógeno, contribuyendo por tanto a la reducción de los niveles de LDL.

En el año 2001, el "*National Cholesterol Education Program*" (NCEP) publicó las recomendaciones para la prevención, detección y tratamiento de las personas con niveles elevados de colesterol en las que se reconoce el papel crucial del LDL colesterol (LDL-C) como elemento de prevención primaria. Posteriormente, en el año 2013, el "*American College of Cardiology*" y la "*American Heart Association*" publicaron unas nuevas guías donde el elemento central de la prevención de ECV pasa a ser el tratamiento con estatinas. Cada año distintas sociedades publican sus recomendaciones para el manejo de la ECV y la dislipemia, sin que exista un consenso entre ellas.

En la determinación de las pruebas del perfil lipídico existen discrepancias entre los métodos de referencia fijados para cada parámetro, que implican técnicas laboriosas y el uso de equipamiento muy específico y personal entrenado, y los métodos disponibles en los laboratorios de rutina. En el caso del LDL-C, el método de referencia es la betacuantificación, que implica procesos de ultracentrifugación, mientras que en el laboratorio se emplean métodos directos o de estimación, principalmente, la

Fórmula de Friedewald (FF), en la que se estima el LDL-C en base a los resultados de colesterol total, HDL-C y triglicéridos. La FF tiene varias limitaciones en su aplicación y, con el paso de los años, se han ido describiendo nuevas restricciones en su uso (como por ejemplo, en determinadas situaciones patológicas como la diabetes mellitus), lo que ha favorecido la aparición de nuevas propuestas para la estimación del LDL-C.

Objetivos:

El LDL-C juega un papel central en la prevención de ECV y manejo de la dislipemia, si bien existen discrepancias en su determinación, dada la imposibilidad de acceder al método de referencia en los laboratorios del ámbito clínico y las limitaciones descritas en el uso de la FF. En este punto, los métodos directos para la medición del LDL-C aparecen como la opción más factible en la rutina de los laboratorios clínicos.

Este proyecto se inicia a partir de una publicación en el año 2011 en el que se encontraron discrepancias en muestras con valores extremos de HDL-C entre el LDL-C estimado con la FF, así como con otras fórmulas propuestas, en comparación con un método directo certificado.

Se establecen tres objetivos principales en el trabajo. En primer lugar, se pretende valorar el efecto de valores extremos de HDL-C sobre la FF y los métodos directos para la determinación del LDL-C. En segundo lugar, se persigue averiguar el efecto de la diabetes mellitus en el rendimiento, nuevamente, de diferentes métodos directos y de la FF. Y finalmente, se desea valorar la utilidad de las principales fórmulas alternativas propuestas para la estimación del LDL-C.

Material y Métodos:

Para realizar el estudio, se emplearon los equipos y reactivos para la determinación de colesterol total, triglicéridos, HDL-C y LDL-C de cuatro fabricantes diferentes (Roche

Diagnostics, Siemens Healthcare, Abbott y Beckman-Coulter). Para la estimación del LDL-C se emplearon, además de la FF, algunas de las ecuaciones más relevantes (fórmulas de Delong *et al.*, Hattori *et al.*, Anandaraja *et al.*, Chen *et al.*, Vujovic *et al.* y Martin *et al.*).

Se desarrollaron dos procesos de selección de muestras. En el primero, con el fin de evaluar el efecto de los valores de HDL-C extremos, se seleccionaron muestras de pacientes con valores de HDL-C ≤ 20 mg/dL o ≥ 100 mg/dL, excluyendo todas aquellas muestras con una marcada dislipemia (n=105 en cada grupo). En el segundo, se seleccionaron muestras de pacientes sanos y diabéticos con mal y buen control metabólico (HbA1c $>7\%$ y HbA1c $\leq 7\%$ respectivamente), excluyendo aquellos pacientes con hepatopatía, insuficiencia renal, dislipemia marcada o cualquier otra patología de base (n=35 para cada grupo de pacientes diabéticos y n=30 para los pacientes sanos).

Con respecto al análisis estadístico se empleó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk mientras que el contraste de hipótesis para muestras apareadas e independientes se llevó a cabo con test paramétricos y no paramétricos. Para la comparación de métodos se emplearon la regresión de Passing-Bablok (PB) y el método de Bland-Altman (BA). Los pacientes fueron clasificados en cuatro grupos de riesgo definidos por la NCEP según los valores de LDL-C y se incluyó en el análisis un grupo con valores inferiores a 70 mg/dL, dado que en las guías más recientes se definen valores objetivo por debajo de este punto de corte. Para valorar las discrepancias entre los diferentes métodos y formulas en la clasificación en grupos de riesgo, se empleó el índice Kappa (K) de Cohen ponderado.

Resultados:

En el estudio de valores extremos de HDL-C, las pruebas de Friedman y ANOVA para muestras apareadas indican diferencias significativas entre los diferentes analizadores en ambos grupo de HDL-C, salvo para el colesterol total entre el Cobas

c711 (Roche), Architect ci8200 (Abbott) y el AU2700 (Beckman-Coulter). Las pruebas de comparación de métodos muestran que sólo se cumplen los criterios definidos para la regresión de P-B y el método de BA en el colesterol total en el grupo de HDL-C ≥ 100 mg/dL entre el AU2700 y el Advia 2400 (Siemens). En relación con la capacidad de clasificación, en general, la concordancia entre los distintos analizadores es pobre salvo entre el Cobas c711 y el Architect ci8200. Con respecto a la FF, existen diferencias significativas entre los resultados de LDL-C medido con el método directo con la FF en cada uno de los analizadores en ambos grupos en estudio. Los índices K entre el LDL-C estimado por la FF entre los diferentes analizadores muestran una concordancia entre moderada y buena en el grupo de HDL-C ≤ 20 mg/dL, mientras que entre el LDL-C medido directamente y el calculado con la FF en los distintos analizadores la concordancia es entre pobre y moderada. Además, en general, no se cumplen los criterios de PB y BA entre el LDL-C calculado mediante la FF entre los diferentes laboratorios ni con respecto a los métodos directos. Y en relación con las fórmulas alternativas, existen diferencias significativas entre los resultados ofrecidos con respecto a la FF y a los métodos directos y no se cumplen los criterios definidos para la comparación de métodos.

En el estudio del efecto de la diabetes mellitus, los resultados obtenidos muestran que, con los datos disponibles, no hay diferencias significativas en el perfil lipídico de los grupos estudiados. Por tanto, los datos se emplearon en conjunto como un grupo control. En la comparación de métodos, únicamente se cumplen los criterios de PB y BA para el HDL-C entre el Cobas c711 y el Advia 1800 (Siemens) y los triglicéridos entre el Architect 16000 (Abbott) y el Advia 1800. En relación con la clasificación de riesgo con el LDL-C medido directamente, los mejores índices K se obtienen entre el Advia 1800 y el AU2700, siendo el resto de concordancias pobres. Con respecto a la FF, la mejor concordancia se obtiene entre el Cobas c711 y el Architect c16000, siendo el resto pobres, y en la comparación entre la FF y el método directo los mejores resultados se obtienen en el Cobas c711. En relación con la comparación de métodos, no se cumplen los criterios definidos para PB y BA ni entre la FF de cada laboratorio ni

con respecto a los métodos directos. Finalmente, con respecto a las fórmulas alternativas no se cumplen los criterios de las pruebas de comparación.

Discusión:

El LDL-C ha demostrado ser un elemento central en la prevención de ECV y las terapias de tratamiento más actuales buscan una mayor reducción de sus valores, dado el elevado impacto de la ECV en las sociedades desarrolladas. En este sentido, las diferentes guías no ofrecen consenso en determinados aspectos como las condiciones del paciente, los criterios de calidad y el método a emplear para la determinación de LDL-C. La imposibilidad de acceder a los métodos de referencia hace que los métodos directos deban ser la alternativa en la rutina de los laboratorios. Sin embargo, las guías ofrecen valores “universales”, donde no se tiene en cuenta el método empleado, por lo que la transferibilidad de resultados debería ser un elemento crucial.

En este trabajo, se ha intentado valorar el efecto de los valores extremos de HDL-C y de la diabetes mellitus en los resultados obtenidos para el LDL-C.

Con respecto a los valores extremos de HDL-C en la determinación del LDL-C, se puede concluir que, con los equipos y reactivos empleados en este trabajo, existen discrepancias entre los valores de LDL-C ofrecidos por los métodos directos y la FF, obteniéndose unas concordancias entre débiles y moderadas. Esta falta de transferibilidad de resultados supondría una clasificación inadecuada de pacientes según el centro donde acudiera, con los posibles cambios que ello supondría en cuanto al inicio de tratamiento farmacológico o a la monitorización de la respuesta. Además, esta falta de intercambiabilidad de resultados no se limita exclusivamente al LDL-C, sino que es aplicable al resto de parámetros del perfil lipídico. Estas diferencias se pueden deber a los distintos principios de reacción empleados por cada fabricante y a la propia heterogeneidad de las lipoproteínas.

En relación con el efecto de la diabetes mellitus, con los datos disponibles, se evidencia que no existen diferencias en los resultados del perfil lipídico entre los

pacientes diabéticos y los pacientes sanos. Esto podría explicarse por el bajo número de muestras en cada grupo, así como el hecho que las dislipemias más acusadas pueden presentarse con valores de HbA1c más elevados (>9%). Esta ausencia de diferencias nos lleva a tratar todos los datos en conjunto para llevar a cabo una evaluación de los métodos sobre un grupo “control”, evidenciándose que se mantienen las discrepancias observadas en el estudio de valores extremos de HDL-C.

Con respecto a la FF, a pesar de que sigue siendo reconocida como una herramienta coste-efectiva y es mencionada en las diferentes guías, existen evidencias de que su uso es limitado en determinados estados patológicos y que hay más limitaciones en su aplicación de las descritas inicialmente en su publicación. Con los datos obtenidos, se comprueba que existe un bajo grado de concordancia entre los valores de FF entre los distintos analizadores y con respecto a los métodos directos.

Finalmente, con respecto a las fórmulas alternativas, se observa que ofrecen resultados dispares entre ellas y con respecto a la FF y los métodos directos.

Conclusiones:

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que los valores extremos de HDL-C suponen una limitación en el intercambio de resultados entre la FF y los métodos directos, pero estas discrepancias se extienden a los pacientes con un perfil lipídico normal. Además, las ecuaciones alternativas no mejoran la intercambiabilidad de resultados con respecto a la FF o los métodos directos. Por tanto, dependiendo del método empleado se puede clasificar a los pacientes en grupos de riesgo diferentes, con importantes consecuencias sobre la decisión de pautar un tratamiento anti-hiperlipemiente. Además, estas discrepancias se mantienen cuando se incluye una categoría de LDL-C <70 mg/dL. Por tanto, es necesaria una armonización de los métodos directos, siendo recomendable que los pacientes con perfiles lipídicos alterados o en tratamiento sean monitorizados con la misma técnica.

Abstract

ABSTRACT

Introduction:

The study of lipids and lipoproteins has clinic interest in the assessment of dyslipidemia and cardiovascular disease (CVD). Lipoproteins play a key role in the atherosclerotic plaque formation, mostly responsible for the onset of CVD. Low density lipoproteins (LDL) mainly contribute with the lipids needed for the formation of the plaque, whereas high density lipoproteins (HDL) have a protective effect. Atherosclerosis is a progressive process in which early intervention has a positive effect, so LDL becomes a central factor in CVD prevention. There are several therapies for lipids and lipoproteins reduction but statins are generally the first line of treatment. These drugs inhibit the synthesis of endogenous cholesterol, thus contributing to the reduction of LDL levels.

In 2001, the National Cholesterol Education Program (NCEP) published their guidelines for prevention, detection and treatment of hipercholesterolemic patients, in which LDL-cholesterol (LDL-C) is recognized as a main element in primary prevention. Later, in 2013, the American College of Cardiology and the American Heart Association published a new guideline, where treatment with statins became the axis in CVD prevention. Since then, different societies have published their own guidelines for the management of CVD and dyslipidemia, without consensus among them.

In the determination of the lipid profile tests there are discrepancies between the reference methods set for each parameter, involving laborious techniques and the use of specific equipment and trained personal, and the available methods in the routine laboratories. For the LDL-C, the reference method is the betaquantification, which implies ultracentrifugation, whereas in routine laboratories they use direct methods or estimation methods, mainly the Friedewald Formula (FF), in which LDL-C is estimated based on total cholesterol, HDL-C and triglycerides. FF has several limitations in its application and new restrictions have been described over the past

years (for example in certain pathological states such as diabetes mellitus), so new equations for LDL-C estimation have been proposed.

Objectives:

LDL-C plays a key role in CVD prevention and management of dyslipidemia, although there are discrepancies in its determination, given the impossibility of accessing the reference method in the routine laboratories and the limitations described in the use of the FF. At this point, LDL-C direct methods appear as the most feasible option in the clinical laboratories.

This project starts from a publication in 2011 in which discrepancies were found in samples with extreme values of HDL-C between the estimated LDL-C with the FF, as well as with other proposed formulas, compared to a certified direct method.

Three main objectives are fixed in this work. First of all, the aim is to evaluate the effect of extreme values of HDL-C on FF and direct methods for the determination of LDL-C. Secondly, the goal is to find out the effect of diabetes mellitus on the performance of different direct methods and the FF again. Finally, the objective is to assess the usefulness of the most relevant alternative formulas proposed for the estimation of LDL-C.

Methods:

To carry out the study, equipment and reagents were used to determine total cholesterol, triglycerides, HDL-C and LDL-C from four different manufacturers (Roche Diagnostics, Siemens Healthcare, Abbott and Beckman-Coulter). For the estimation of LDL-C, in addition to the FF, some of the most relevant equations were used (DeLong *et al.*, Hattori *et al.*, Anandaraja *et al.*, Chen *et al.*, Vujovic *et al.*, And Martin. *et al.*).

Two sample selection processes were developed. In the first one, to evaluate the effect of extreme HDL-C values, samples with HDL-C ≤ 20 mg/dL or ≥ 100 mg/dL were selected, excluding those with marked dyslipidemia (n=105 in each group). In the second one, samples from healthy and diabetics patients with poor or good metabolic control were selected (HbA1c $>7\%$ and HbA1c $\leq 7\%$, respectively) excluding those with liver disease, renal failure, marked dyslipidemia or any other underlying pathology (n=35 for each group of diabetic patients and n=30 for healthy patients).

Regarding the statistical analysis, the Shapiro-Wilk normality test was used, while the contrast of hypotheses for paired and independent samples was carried out using parametric and nonparametric tests.

The Passing-Bablok regression (PB) and the Bland-Altman plot (BA) were used for the method comparison. Patients were classified into four risk groups defined by the NCEP according to the values of LDL-C and a group with values below 70 mg/dL was included in the analysis, given that target values below this cutoff point are defined in the most recent guidelines. To assess the discrepancies between the different methods and formulas in the risk classification, the weighted Cohen's Kappa (K) index was used.

Results:

In the study of extreme concentrations of HDL-C, Friedman and ANOVA paired tests indicate significant differences between the different analyzers in both groups of HDL-C, except for the total cholesterol among Cobas c711 (Roche), Architect ci8200 (Abbott) and AU2700 (Beckman-Coulter). Method comparison tests show that only in total cholesterol in the HDL-C group ≥ 100 mg/dL between the AU2700 and the Advia 2400 (Siemens) the criteria defined for PB regression and BA plot method are met. In relation to the classification capability, in general, the agreement between the different analyzers is poor except between the Cobas c711 and the Architect ci8200. Regarding the FF, there are significant differences between LDL-C direct

measurement and the FF in each analyzers in both groups under study. The K indexes between the LDL-C estimated by the FF between the different analyzers show a moderate to good agreement in the group of HDL-C ≤ 20 mg/dL, while between the LDL-C measured directly and that calculated with the FF the agreement is poor to moderate. Furthermore, the PB and BA criteria are not met between the LDL-C calculated by the FF between the different laboratories or between FF and the direct methods. In relation to the alternative formulas, there are significant differences between the results offered with respect to the FF and the direct methods and the criteria defined for the comparison of methods are not met.

In the study of the effect of diabetes mellitus, the results obtained show that, with the available data, there are no significant differences in the lipid profile of the groups studied. Therefore, the data were used together as a control group. In the methods comparison, only the PB and BA criteria for HDL-C between Cobas c711 and Advia 1800 (Siemens) and triglycerides between Architect 16000 (Abbott) and Advia 1800 are met. In relation to the risk classification with the LDL-C measured directly, the best K indexes are obtained between the Advia 1800 and the AU2700, while the other concordances are poor. Regarding to FF, the best match is obtained between the Cobas c711 and the Architect c16000, while the other concordances are poor, and in the comparison between the FF and the direct method the best results are obtained in the Cobas c711. In relation to the method comparison, the criteria defined for PB and BA are not met between FF in each laboratory nor with respect to direct methods. Finally, the alternative formulas do not meet the criteria of the comparison tests.

Discussion:

LDL-C has been shown to be a central element in the prevention of CVD and the current treatment therapies seek a greater reduction of their values, given the high impact of CVD in developed societies. In this sense, the different guidelines do not offer consensus on certain aspects such as patient conditions, quality criteria and the method to be used for the determination of LDL-C. The impossibility of accessing

reference methods means that direct methods must be the alternative in the routine of laboratories. However, the guides offer "universal" values, where the method used is not taken into account, so the transferability of results should be a crucial element.

In this work, we have tried to assess the effect of extreme values of HDL-C and diabetes mellitus on the results of LDL-C.

With respect to the extreme concentration of HDL-C in the determination of LDL-C, it can be concluded that, with the equipment and reagents used in this work, there are discrepancies between the values of LDL-C offered by the direct methods and the FF, obtaining weak-to-moderate concordances. This lack of transferability would imply an inadequate classification of patients according to the center selected, with the changes that this would imply in terms of starting pharmacological treatment or monitoring the response. What's more, this lack of interchangeability is applicable to the rest of the parameters of the lipid profile. These differences may be due to the different reaction principles used by each manufacturer and the heterogeneity of lipoproteins.

With regard to the effect of diabetes mellitus, with the available data, there are no differences in the lipid profile between diabetic and healthy patients. This could be explained by the low number of samples in each group, as well as the fact that the most pronounced dyslipidemia can occur with higher HbA1c values (> 9%). This absence of differences leads us to treat all the data together to carry out an evaluation of the methods on a "control" group, evidencing that the discrepancies observed in the study of extreme concentrations of HDL-C remained.

With respect to FF, although it is still recognized as a cost-effective tool and is mentioned in the different guidelines, its use is limited in certain pathological states and there are more limitations in its application than those initially described in its publication. With the obtained data, it is verified that there is a poor concordance among the FF values in the different analyzers and between FF and the direct methods.

Finally, with respect to the alternative formulas, it is observed that they offer disparate results among them and with respect to the FF and the direct methods.

Conclusions:

Based on the results obtained, it can be concluded that extreme concentrations of HDL-C suppose a limitation in the exchange of results between the FF and the direct methods and these limitations extend to patients with a normal lipid profile. In addition, alternative equations do not improve the interchangeability of results with respect to the FF or the direct methods. Therefore, depending on the method used, patients can be classified into different risk groups, with important consequences on the decision to schedule anti-hyperlipidemia treatment. In addition, these discrepancies persist when a category of LDL-C <70 mg/dL is included. Hence, an harmonization of direct methods assays is necessary and it is recommended that patients with altered or treated lipid profiles should be monitored with the same technique.

Introducción

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS

Los lípidos son una serie de compuestos orgánicos formados, en su base química, por enlaces apolares carbono-hidrógeno a los cuales se pueden unir, en menor medida, otros elementos químicos (oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo, etc.). Son solubles en disolventes orgánicos apolares e insolubles, o poco solubles, en agua, si bien la inclusión de estos otros elementos químicos puede permitir la presencia de grupos polares (fosforilo, amino, hidroxilo, etc.) que confieren un carácter anfipático a la molécula (1-3). La incorporación de proteínas a su estructura da lugar a las lipoproteínas.

1.1.1.- LÍPIDOS

Los lípidos desempeñan un papel muy importante en numerosos aspectos de la vida como (4):

- Componentes estructurales de la membrana celular: se trata de una bicapa lipídica que separa el contenido celular del medio y en la cual se alojan otros elementos (como proteínas), que van a conferir distintas funciones y propiedades a la membrana.
- Fuente de energía: el metabolismo lipídico produce una gran cantidad de energía y, además, los lípidos pueden actuar como reservorio energético a largo plazo.
- Hormonas y mediadores celulares: los lípidos pueden regular el metabolismo, como en el caso de las hormonas esteroideas o las suprarrenales, actuar como

receptores celulares y mediadores locales o pueden ser componentes imprescindibles para la vida, como las vitaminas.

- Transportadores: facilitan la digestión, absorción y transporte de otros lípidos.

En conjunto, los lípidos se pueden clasificar en 6 grandes grupos en base a su estructura química (1–3):

1. Colesterol: se trata de un alcohol esteroideo insaturado de 27 átomos de carbono, derivado del esterano, con características anfipáticas. Desempeña un papel estructural fundamental ya que regula la fluidez y estabilidad de la membrana plasmática y, además, es precursor de otros compuestos como la vitamina D, hormonas sexuales (andrógenos y estrógenos), corticoesteroides (glucocorticoides y mineralcorticoides) así como de ácidos biliares.
2. Ácidos grasos: moléculas anfipáticas formadas por una cadena hidrocarbonada lineal que termina con un grupo carboxilo. Son muy importantes como fuente de energía. Se pueden clasificar en base a la longitud de la cadena y según el grado de saturación.
3. Acilgliceroles: se forman por la esterificación de 1, 2 o 3 moléculas de ácidos grasos con una molécula de glicerina dando lugar a mono, di o triglicéridos. Los triglicéridos constituyen aproximadamente el 95% de la grasa almacenada en el tejido adiposo, siendo la principal reserva energética en el ser humano, y son la forma predominante de ésteres de glicerol en el plasma.
4. Esfingolípidos: se trata de alcoholes dihídricos de 18 carbonos que derivan de la esfingosina, a los que se les une un ácido graso de cadena larga mediante un enlace amida, dando lugar a la ceramida. La ceramida es la unidad estructural en la formación de los demás esfingolípidos (esfingomielinas, gangliósidos y cerebrósidos) que actúan como antígenos del grupo sanguíneo, antígenos tumorales o componentes de la membrana celular, implicados en señalización celular.
5. Prostaglandinas: compuestos derivados de un ácido graso insaturado de 20 C que contiene un anillo de ciclopentano. Tienen un mecanismo de acción similar a las hormonas, aunque se sintetizan en el mismo lugar de acción (mediadores

locales). Participan, por ejemplo, en procesos de coagulación, fiebre o en la secreción gástrica.

6. Terpenos: moléculas lineales o cíclicas cuyo componente básico es el isopreno (hidrocarburo de 5 C), que incluyen esencias y pigmentos vegetales, vitaminas como la A, E y K y dolicoles, importantes en glicosilación de proteínas.

1.1.2.- LIPOPROTEÍNAS

Las lipoproteínas son macromoléculas formadas por la unión de lípidos y proteínas (denominadas en este caso apolipoproteínas). Se sintetizan, mayoritariamente, en el hígado y se encargan de transportar los lípidos por todo el organismo. Tienen forma esférica, con un núcleo hidrofóbico, donde se localizan los lípidos, y una superficie hidrofílica, donde se hallan apolipoproteínas, colesterol libre y fosfolípidos. La unión entre el núcleo y la superficie se realiza mediante enlaces débiles (puentes de hidrógeno, interacciones de Van der Waals), lo que va a permitir que la composición de las lipoproteínas sea dinámica (1-3).

Cada lipoproteína tiene una composición de lípidos y apolipoproteínas cualitativa y cuantitativamente diferente (5). Las apolipoproteínas se van a encargar de modular la actividad de las enzimas que actúan sobre las lipoproteínas así como de mantener la integridad del complejo lipoproteico y permitir su absorción, al actuar como ligandos de receptores celulares específicos.

Las lipoproteínas se pueden separar mediante técnicas de ultracentrifugación y electroforesis y se clasifican atendiendo a su densidad (Tabla 1) (1-3):

- I. Quilomicrones: partículas de gran tamaño que se encargan de transportar los lípidos de la dieta. Se forman en el intestino tras la ingesta de grasas y viajan hasta el torrente sanguíneo. Son muy ricos en triglicéridos. Presentan de forma exclusiva la apolipoproteína B-48.

- II. Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, del inglés "*very low density lipoprotein*"): están constituidas, mayoritariamente, por triglicéridos y en menor medida colesterol. Tienen una composición de apolipoproteínas similar a los quilomicrones, aunque en este caso no contienen Apo B-48 sino Apo B-100 (normalmente denominado Apo B). Se forman en el hígado empleando ácidos grasos endógenos.
- III. Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL, del inglés "*intermediate density lipoprotein*"): se forman a partir del metabolismo de las VLDL, como lipoproteínas residuales. Mantienen la molécula de Apo B-100 además de otras apolipoproteínas (6).
- IV. Lipoproteínas de baja densidad (LDL, del inglés "*low density lipoprotein*"): se encargan del transporte del colesterol por todo el organismo y se forman a partir de las VLDL. Mantienen una única molécula de Apo B-100.
- V. Lipoproteína (a) [Lp(a)]: se trata de unas partículas similares al LDL, que presentan de manera específica la apolipoproteína (a) unida a la Apo B-100 mediante un puente disulfuro (7).
- VI. Lipoproteínas de alta densidad (HDL, del inglés "*high density lipoprotein*"): se encargan de movilizar el colesterol desde los tejidos al hígado, incluyendo aquel depositado sobre las paredes arteriales. Las HDL son partículas muy heterogéneas en cuanto a su densidad y a su composición lipídica y de apolipoproteínas.

	Densidad (g/mL)	Diámetro (nm)	Migración Electroforética	Apolipoproteínas
Quilomicrones	<0,95	>70	-	A-1, A-2, B-48, C-1, C-2, C-3, E
VLDL	0,95 - 1,006	30 – 80	Pre-β	B-100, C-1, C-2, C-3, E
IDL	1,006 - 1,019	22 – 35	Entre β y Pre-β	B-100, C-3, E
LDL	1,019 - 1,063	18 – 28	β	B-100
Lp(a)	1,040 - 1,130	26 – 30	Pre-β	(a), B-100
HDL	1,063 - 1,210	4 – 12	α	A-1, A-2, C-1, C-2, C-3, D, E

TABLA 1.- CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE LAS DIFERENTES LIPOPROTEÍNAS EN BASE A SU DENSIDAD, TAMAÑO DE LA PARTÍCULA, MIGRACIÓN ELECTROFORÉTICA Y COMPOSICIÓN DE APOLIPOPROTEÍNAS

1.2.- METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS

En el abordaje del metabolismo lipídico cabe destacar la importancia, por un lado, de las lipoproteínas y, por otro, del colesterol.

1.2.1.- METABOLISMO DE LAS LIPOPROTEÍNAS

El metabolismo lipoproteico puede dividirse en las siguientes vías (1-3):

- Vía exógena :

Es la vía por la que se absorben los lípidos procedentes de la dieta para, posteriormente, transportarlos hasta el hígado y demás tejidos. Tras la ingesta, en las células del intestino, los ácidos grasos y el glicerol se combinan para formar los triglicéridos, mientras que el colesterol es esterificado gracias a la enzima acil colesterol acil transferasa (ACAT). Se forman entonces los quilomicrones, constituidos por un 90% de triglicéridos y Apo B-48, A-1, A-2 y A-4, que van a pasar a la circulación linfática y de ahí al torrente sanguíneo. A medida que van interaccionando con las HDL, se incorporan a su estructura otras apolipoproteínas como Apo C-2 y Apo E, perdiendo progresivamente las Apo A. Apo C-2 es un activador de la enzima lipoproteín lipasa (LPL), situada en la superficie de las células endoteliales de los capilares, que va a provocar la hidrólisis de los triglicéridos, liberándose así los ácidos grasos, que serán captados por las células musculares, para emplearlos como fuente de energía, o por los adipocitos, que los almacenarán como triglicéridos.

Los quilomicrones remanentes, aún ricos en triglicéridos y colesterol, dejan de ser hidrolizados por LPL al perder Apo C-2 y son rápidamente captados por el hígado gracias a que conservan aún Apo B-48 y Apo E, que interaccionan con receptores específicos. Una vez allí, los triglicéridos se emplearán como fuente de energía, se

almacenarán o bien se combinarán con Apo B-100 para formar VLDL y se secretarán al torrente sanguíneo.

- Vía endógena:

Es la vía por la que se derivan los lípidos, fundamentalmente triglicéridos, del hígado al resto de tejidos. En un proceso similar al sufrido por los quilomicrones en la vía exógena, se forman en los hepatocitos las VLDL iniciales, que contienen aproximadamente un 55-60% de triglicéridos y la molécula de Apo B-100. Una vez en el torrente sanguíneo, van a interactuar con las HDL, sufriendo cambios en la composición de apolipoproteínas. Se produce la incorporación de Apo E y de Apo C, entre ellas Apo C-2, que va a permitir la acción de LPL. A medida que va actuando la enzima, las VLDL van perdiendo triglicéridos y ésteres de colesterol, quedando éstos a disposición de los tejidos, y se da lugar a las IDL, con mayor densidad y menor tamaño.

Aproximadamente, el 50% de las IDL serán procesadas por el hígado, que es capaz de captarlas gracias a un receptor de LDL que reconoce Apo B-100/Apo E. Las IDL restantes, continuarán en el torrente sanguíneo y, gracias a la acción de la lipasa hepática, perderán las apolipoproteínas (salvo Apo B-100) y darán lugar a las LDL.

Las partículas LDL formadas serán captadas por los tejidos gracias a los receptores Apo B/E, lo que va a permitir emplear el colesterol, según el destino y las necesidades del organismo, en la síntesis de vitamina D, hormonas sexuales, corticoesteroides, ácidos biliares, formación de membranas celulares, almacenamiento, etc.

1.2.2.- METABOLISMO DEL COLESTEROL

El colesterol es un elemento central en el metabolismo lipídico. Entre el 30-60% del colesterol ingerido en la dieta es absorbido vía quilomicrones, pero la producción endógena resulta también de gran importancia (Figura 1) (1-3). La síntesis de colesterol, mayoritariamente llevada a cabo por parte del intestino y el hígado, está

regulada por la enzima hidroximetil glutaril CoA reductasa (HMGCoA reductasa), que cataliza la formación de mevalonato a partir del HMGCoA. Finalmente, el colesterol sintetizado formará parte de nuevas partículas LDL y pasará al torrente sanguíneo. En situación de ayuno, la mayor parte del colesterol circulante se encuentra en las VLDL, LDL y HDL. El colesterol asociado a las LDL (LDL-C) representa el 60-70% del colesterol total, el asociado a las HDL (HDL-C) supone el 20-30%, mientras que las VLDL contienen un 10-15%.

Síntesis de colesterol

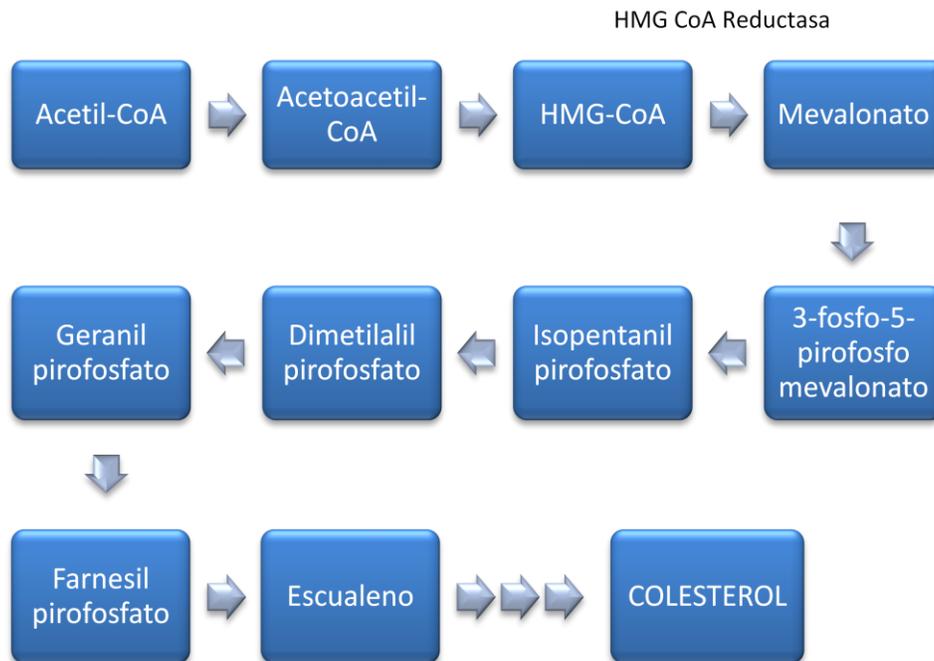


FIGURA 1.- ESQUEMA DE LA RUTA DE SÍNTESIS ENDÓGENA DE COLESTEROL

La captación de LDL por parte de las células está regulada por la expresión del receptor de LDL (1-3). Cuando una célula necesita colesterol, se formarán nuevos receptores que viajarán hasta la membrana. Una vez captadas, las partículas de LDL serán degradadas junto con el receptor, liberándose así el colesterol que inhibirá la

actividad de la HMGCoA reductasa y la expresión del gen del receptor de LDL. La mayor parte de los receptores de LDL se expresan en los hepatocitos, lo que permite que el hígado capte en gran medida el colesterol y sea, por tanto, el principal órgano encargado de su equilibrio. Solamente los macrófagos, que expresan unos receptores que reconocen partículas de LDL oxidadas o modificadas (receptores *scavenger*), pueden captar LDL por otra vía. Además, esta ruta no tiene una regulación negativa, lo que lleva a estos macrófagos a acumular colesterol intracelular y acaban formando lo que se conocen como células espumosas, que desarrollan un papel importante en la formación de la placa de ateroma (6,8,9).

Para eliminar el exceso de colesterol, se liberan al torrente sanguíneo, desde el hígado e intestino, unas partículas lipídicas pobres en Apo A-1, formadas por la interacción de esta apolipoproteína con la proteína ABCA1 (*ATP-binding cassette protein 1*) (1-3). Estas partículas se van a unir al receptor ABCA1 de otras células, que es capaz de bombear colesterol intracelular retirándolo por tanto de la célula, formando lo que se conoce como HDL naciente. La enzima lecitín colesterol aciltransferasa (LCAT) cataliza entonces la esterificación del colesterol de las HDL nacientes, lo que provoca que este colesterol pase a estar secuestrado en el núcleo de la partícula al ser ahora más hidrofóbico, de modo que sólo podrá ser retirado en el hígado. Se constituyen así las partículas HDL, que son capaces también de captar más colesterol (10). El hígado va a retirar el colesterol esterificado de las partículas HDL formadas, de modo que estas partículas "descargadas" podrán regresar al torrente sanguíneo y captar nuevas moléculas de colesterol.

1.3.- IMPORTANCIA CLÍNICA DE LOS LÍPIDOS

El estudio de lípidos, dada su gran importancia biológica, va a ser relevante para el cribado de desórdenes lipídicos (11), el manejo y detección de pacientes con

enfermedad cardiovascular aterosclerótica (12) y la evaluación de la eficacia y adherencia a los tratamientos destinados a su reducción.

1.3.1.- DESÓRDENES LIPÍDICOS

Las lipidosis son enfermedades relacionadas con el metabolismo de los lípidos, si bien es cierto que este nombre suele emplearse para englobar las enfermedades metabólicas hereditarias, fruto de defectos en el funcionamiento de las enzimas lisosomales o peroxisomales, en la oxidación de los ácidos grasos o en el metabolismo mitocondrial (13).

Las hiperlipemias o dislipemias, por su parte, engloban aquellas enfermedades primarias o secundarias que conllevan una alteración en las fracciones lipídicas circulantes, ya sea colesterol total, triglicéridos y/o lipoproteínas (quilomicrones, VLDL, IDL, LDL, Lp(a), HDL). Se suele considerar hiperlipemia cuando los valores de colesterol total y/o triglicéridos están por encima de 200 mg/dL. Su prevalencia es mayor en población obesa, con dietas ricas en grasas, en pacientes con enfermedad cardiovascular temprana y también existe un componente familiar (genético).

Las hiperlipemias primarias se han catalogado tradicionalmente empleando la clasificación fenotípica de Fredrickson (14), que se basa en el patrón de lipoproteínas, aunque también se pueden agrupar en base a la alteración genética de base (Tabla 2).

También existen trastornos que cursan con niveles bajos de HDL de manera aislada, las hipoalfalipoproteinemias, con valores <40 mg/dL en hombres o <50 mg/dL en mujeres. Se producen como consecuencia de defectos en los genes implicados en la formación de las HDL, lo que provoca un descenso en la formación de las mismas (y no de manera secundaria como ocurre en las hiperlipemias). Un ejemplo es la enfermedad de Tangier, un trastorno autosómico recesivo raro, originado por una mutación en el transportador ABCA1. Sin embargo, a pesar de que el HDL se incluye

como factor protector de eventos cardiovasculares, estos pacientes no tienen un riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular (ECV) (15). Otras enfermedades que cursan con niveles bajos de HDL-C pueden ser la deficiencia de LCAT o de lipoproteína A-1 (16). En cualquier caso se trata de enfermedades muy raras (menos de 1 caso por cada millón de habitantes).

Tipo	Nomenclatura	Fracción alterada	CT	TG	LDL-C	HDL-C	Defecto genético
I	Hiperquilomicronemia familiar	Quilomicrones	↑	↑	↓	↓	LPL; Apo C-2
IIa	Hipercolesterolemia familiar	LDL	↑	N	↑	N/↓	Receptor LDL
IIb	Hipercolesterolemia familiar combinada	LDL, VLDL	↑	↑	↑	↓	Desconocido
III	Disbetalipoproteinemia familiar	IDL	↑	↑	↓	N	Apo E
IV	Hiperlipemia familiar	VLDL	N/↑	↑	↓	↓	Desconocido
V	Hipertrigliceridemia endógena	VLDL, Quilomicrones	↑	↑	↓	↓	Desconocido

TABLA 2.-ESQUEMA DE LA CLASIFICACIÓN FENOTÍPICA Y GENÉTICA DE LAS HIPERLIPEMIAS PRIMARIAS Y CARACTERÍSTICAS EN CUANTO A LOS VALORES DE COLESTEROL TOTAL (CT), TRIGLICÉRIDOS (TG), LDL-C Y HDL-C

Las hiperlipemias secundarias cursan con alteraciones en el perfil lipídico sin que exista un trastorno primario de su metabolismo. Algunas de las causas secundarias de hiperlipemia son:

- Diabetes mellitus (DM): se caracteriza por una desregulación hormonal, que afecta al metabolismo de los lípidos y provoca un aumento de los triglicéridos y del LDL en diabéticos no tratados o mal controlados metabólicamente (de manera más acusada en la DM tipo 2) (11).
- Obesidad: se asocia con cambios en el metabolismo lipídico, que conllevan un aumento de colesterol total, triglicéridos y LDL-C, así como un descenso del HDL-C, a lo que contribuye las dietas ricas en grasas (sobre todo ácidos grasos saturados y colesterol) que comporta un aumento de las VLDL.

- Hipotiroidismo: el déficit de tiroxina causa un descenso en los niveles de receptores de LDL y de su actividad, disminuyendo por tanto el catabolismo de las partículas de baja densidad.
- Consumo de alcohol excesivo: induce un aumento de los triglicéridos y del glicerol y los ácidos grasos libres en plasma.
- Hábito tabáquico: produce un descenso de las partículas HDL.
- Enfermedad hepática: el daño hepático puede producir alteraciones en el perfil lipídico al ser el órgano encargado de su equilibrio.
- Fármacos: betabloqueantes, diuréticos, anticonceptivos orales, anti-psicóticos, así como algunos inmunosupresores, se asocian con hiperlipemia.
- Síndrome nefrótico: se produce un aumento de la síntesis de lipoproteínas por parte del hígado.
- Fracaso renal crónico: la principal alteración es la hipertrigliceridemia, asociada a un descenso en el aclaramiento y en la actividad de la LPL y de la lipasa hepática. También es frecuente el aumento del LDL-C (17).

1.3.2.- ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La ECV define un conjunto de trastornos que afectan al corazón y/o sus arterias, entre los cuales podemos encontrar el síndrome coronario agudo, valvulopatías, insuficiencia cardíaca, etc. Las ECV son la principal causa de muerte en todo el mundo y el mecanismo causante de su aparición es, mayoritariamente, la aterosclerosis. Existen diversos factores de riesgo asociado con ECV, tanto modificables como no modificables (Tabla 3).

Cabe destacar que los pacientes con DM tienen 2-3 veces más probabilidades de desarrollar ECV, siendo este aumento mayor en las mujeres (18,19). La resistencia a la insulina parece estar detrás de este aumento del riesgo. El síndrome metabólico es un conjunto de factores de riesgo asociados a una mayor incidencia de ECV y DM tipo 2 (20). Se caracteriza por la presencia de obesidad abdominal, glucemia elevada,

hipertrigliceridemia, descenso de HDL, aumento de LDL e hipertensión y se debe a una combinación de factores ambientales y genéticos.

No modificables:
Antecedentes familiares de ECV
Edad: el riesgo aumenta con la edad
Sexo: mayor riesgo en hombres que en mujeres pre-menopáusicas
Raza: las personas de origen africano o asiático tienen mayor riesgo
Otros factores: estrés, depresión, ansiedad o pobreza

Modificables:
Sedentarismo
Consumo de tabaco
Dieta inadecuada
Obesidad
Dislipemia
DM
Hipertensión

TABLA 3.-FACTORES DE RIESGO QUE AUMENTAN LA PROBABILIDAD DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR, TANTO MODIFICABLES COMO NO MODIFICABLES

La información clínica recogida a lo largo de los años ha puesto de manifiesto la importancia de la prevención en la ECV. Por este motivo, se han desarrollado diferentes herramientas para la valoración del riesgo de ECV, que pretenden ayudar en la discriminación sobre el riesgo futuro de cada paciente, con el objetivo de tomar las decisiones clínicas más acertadas sopesando diferentes factores de riesgo en conjunto.

Uno de los más importantes y empleados es la puntuación de Framingham (21,22), que se ha ido actualizando con el paso de los años y que, además, tiene versiones específicas para determinadas regiones y poblaciones. Su uso está desarrollado para edades comprendidas entre los 30-75 años y valora el riesgo a 10 años de enfermedad

de las arterias coronarias. Para el cálculo de riesgo emplea: edad, sexo, colesterol total, HDL-C, presión sistólica, diabetes, hábito tabáquico y tratamiento anti-hipertensivo.

Otra herramienta es el SCORE ("*Systematic Coronary Risk Evaluation*") (23) que basa su valoración en la edad, sexo, colesterol total, HDL-C, presión sistólica y hábito tabáquico y tiene 2 versiones para el uso en países de alto y de bajo riesgo de ECV. El ámbito de aplicación estaría entre los 40 y 65 años y pondera el riesgo a 10 años de mortalidad por ECV.

El algoritmo QRISK fue desarrollado sobre población de Reino Unido y tiene dos versiones (QRISK 1 y 2) (24,25). Es aplicable entre 35-75 años y mide el riesgo a 10 años de eventos por ECV. Está basado en: edad, sexo, ratio colesterol total/HDL-C, presión sistólica, diabetes, hábito tabáquico, historia familiar, índice de masa corporal, raza, enfermedades crónicas e índice de privación según áreas.

También en Reino Unido se desarrolló el UKPDS ("*UK Prospective Diabetes Study*"), específicamente validado para pacientes con DM tipo 2 (26). Incluye en el cálculo elementos como edad, duración de la DM, sexo, raza, hábito tabáquico, presión sistólica y valores de colesterol total, HDL-C y hemoglobina glicada (HbA1c), ofreciendo un riesgo a 10 años de enfermedad coronaria fatal y no fatal y de ataque al corazón fatal y no fatal.

El "*Pooled Cohort Studies Equation*" fue desarrollado por el "*American College of Cardiology*" (ACC) y la "*American Heart Association*" (AHA), empleando datos de varios estudios prospectivos (27). Evalúa el riesgo de desarrollo del primer evento aterosclerótico cardiovascular para lo cual emplea edad, sexo, raza, colesterol total, HDL-C, presión sistólica, tratamiento anti-hipertensivo, diabetes y hábito tabáquico y es aplicable entre 20 -79 años.

Sin embargo, cada uno de estos modelos se ha desarrollado sobre poblaciones diferentes, lo que hace que sus resultados no sean siempre comparables ni transferibles a otras poblaciones, y sus objetivos finales son distintos (28). Además, algunos de ellos, no tienen en cuenta algunos factores muy importantes en la

valoración de la ECV (DM, antecedentes familiares, etc.) lo que puede infraestimar el riesgo.

1.3.3.- ATEROSCLEROSIS

La aterosclerosis (5) es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por el depósito de placas lipídicas en las arterias asociado al daño del endotelio vascular, que provoca una reducción de la luz del vaso e isquemia. Es una patología progresiva, ya que el proceso de formación de la placa aterogénica es gradual, y multifactorial, puesto que depende de factores genéticos y ambientales. Su prevalencia es mayor en hombres y en raza caucásica. Dependiendo de los vasos afectados podrán aparecer diferentes manifestaciones clínicas como puede ser infarto de miocardio, intestinal, cerebral o hipertensión, entre otras. Algunos factores de riesgo asociados a aterosclerosis son:

- Hiperlipemia
- DM
- Hipertensión
- Hábito tabáquico
- Enfermedades inflamatorias
- Edad

El proceso de formación de la placa se inicia con el daño de las arterias, que va a provocar la reducción de la capa íntima del vaso y que en sus células se vayan acumulando lípidos. Asimismo, se va a producir la infiltración de monocitos, que van a transformarse en macrófagos. Estos macrófagos van a acumular lípidos, transformándose en células espumosas.

La acumulación de lípidos continúa, de modo que pueden aparecer formaciones extracelulares (estrías grasas), así como la infiltración por macrófagos y también por células de músculo liso, que van a producir colágeno. La muerte de las células

espumosas va a liberar sustancias tóxicas produciendo aún más daño en el endotelio, aumentando la respuesta inflamatoria local, que estimulará la llegada de linfocitos. La placa formada puede ser dura, cuando se produce la calcificación de la misma, o blanda, más peligrosas ya que pueden romperse y provocar trombos.

Las lipoproteínas plasmáticas, en mayor medida las LDL, son las encargadas de suministrar los lípidos que constituyen parte del ateroma y, por tanto, juegan un papel crucial en el desarrollo de la placa. El HDL dada su capacidad para retirar colesterol, incluso de la placa, es reconocido por su papel anti-aterogénico. Por contra, el LDL se ha mostrado como un agente pro-aterogénico, sobre todo a concentraciones elevadas. Los macrófagos son capaces de captar LDL oxidado gracias a los receptores *scavenger*. Existen varios mecanismos tanto "*in vivo*" como "*in vitro*" que pueden inducir la oxidación de las LDL (29), si bien el proceso concreto implicado en la formación de la placa de ateroma no es conocido. En cualquier caso, resulta evidente que en este proceso se produce un desequilibrio entre los agentes oxidantes y anti-oxidantes, de manera que se favorece la oxidación de las LDL. Además de por ser captadas por los macrófagos, las LDL-oxidadas favorecen la formación del ateroma ya que facilitan el reclutamiento de macrófagos y propician el daño endotelial y la agregación plaquetaria.

Otras lipoproteínas, en particular aquellas ricas en triglicéridos como son las IDL y VLDL, también tienen una notable capacidad aterogénica (30). Las IDL pueden ser captadas por los macrófagos y contribuir a la formación de las células espumosas. Por su parte, las VLDL pueden también penetrar la pared del vaso sanguíneo y tienen efecto pro-inflamatorio, promoviendo la infiltración de macrófagos. Así mismo, la combinación de hipertrigliceridemia con niveles reducidos de HDL promueve la formación de partículas LDL de pequeño tamaño que tienen una capacidad aterogénica mayor, ya que pueden penetrar la barrera endotelial más fácilmente.

1.3.4.- TRATAMIENTO DE LA HIPERLIPEMIA

Existen diferentes tipos de fármacos destinados a reducir los niveles de lípidos. Se pueden emplear de manera aislada o en terapia combinada, según las características del paciente y los objetivos del tratamiento. Dependiendo del mecanismo de acción, el principio activo y el componente lipídico sobre el que actúan de manera primaria podemos hablar de (31):

Inhibidores de la HMGCoA reductasa

En este grupo encontramos las estatinas como lovastatina, simvastatina, rosuvastatina o pravastatina, entre otras (31). Afectan directamente a la síntesis de colesterol incidiendo, principalmente, en la reducción de los niveles de LDL-C (18-55%) y, en menor medida, aumentando el HDL-C (2-15%) y disminuyendo los triglicéridos (6-30%). Antes de su administración, requieren una evaluación bioquímica de la función hepática y su monitorización durante el tratamiento. Así mismo, pueden producir mialgias y debilidad muscular y en algunos casos rabdomiolisis, por lo que es necesario el seguimiento de la creatin-quinasa (CK) durante el tratamiento. Además, su uso se asocia a un mayor riesgo de desarrollo de DM.

Inhibidores de la absorción de colesterol

La ezetimiba (31) actúa a nivel intestinal reduciendo la absorción del colesterol, produciendo un descenso moderado del LDL-C (13-20%) y de Apo B (11-16%). Se asocia con miopatías/rabdomiolisis, sobre todo en combinación con otros fármacos.

Derivados del ácido fibríco

Los fibratos (gemfibrozilo, fenofibrato y ácido fenofibríco) aumentan la eliminación de partículas LDL, la síntesis de HDL, la actividad lipasa y la captación de ácidos grasos

por el hígado (6), por lo que producen un descenso de los triglicéridos (20-50%) y un incremento del HDL-C (6-20%). Pueden producir molestias gastrointestinales, miopatía/rabdomiolisis (sobre todo en combinación con estatinas) y aumentar los niveles séricos de creatinina.

Niacina

El ácido nicotínico inhibe, a nivel hepático, la síntesis de triglicéridos y reduce el catabolismo de las partículas HDL (32). Se reduce la formación de LDL y VLDL, con el consiguiente descenso de LDL-C (5-25%) y triglicéridos (20-50%), así como el aumento del HDL-C (10-35%). Puede producir, como efectos adversos, aumento de ácido úrico, molestias gastrointestinales, prurito o enrojecimiento de la piel.

Secuestradores de ácidos biliares

Medicamentos como colestipol o colestiramina impiden la reabsorción de ácidos biliares a nivel intestinal, con el consiguiente descenso del colesterol disponible (31). El LDL-C disminuye un 15-30%. Puede afectar a la absorción intestinal, disminuyendo la captación de ácido fólico, vitamina D, A y K así como la de algunos fármacos, y aumentar los niveles de triglicéridos.

Inhibidores de la proteína microsomal de transferencia de triglicéridos (MTP)

El lomipatide impide la incorporación de la Apo B-100 con los triglicéridos para formar las VLDL al inhibir la MTP (29,32,33), produciendo así un descenso del LDL-C (hasta un 40%), colesterol total (36%), Apo B (39%) y triglicéridos (45%). Se emplea sobre todo en pacientes con hipercolesterolemia familiar. Puede producir lesión hepática y esteatosis, por lo que requiere valoración previa y monitorización durante el tratamiento.

Inhibidores de PCSK9

Se han desarrollado fármacos biológicos que actúan inhibiendo la enzima PCSK9 (como alirocumab y evolocumab), responsable de la eliminación de receptores de LDL. Una vez son internalizados los receptores, al inhibirse dicha enzima, se bloquea la destrucción de los mismos y se favorece el reciclado, aumentando su ciclo de vida útil. Producen importantes descensos del LDL-C (48-71%), colesterol total (36-42%) y Apo B-48 (55%). Algunos de los efectos adversos reconocidos son nasofaringitis o infecciones del tracto respiratorio (34,35).

Inhibidores de síntesis de Apo B

El mipomersen contiene un oligonucleótido antisentido que bloquea la síntesis de Apo B-100, al competir con el RNA mensajero que lo codifica, lo que lleva a una menor formación de partículas VLDL y LDL (29,36,37). Como efectos secundarios suele producir reacción en el lugar de inyección (eritema, hematoma, prurito, hinchazón, dolor) y cuadros gripales, además de requerir evaluación y monitorización de la función hepática. Se emplea principalmente en pacientes con hipercolesterolemia familiar. Produce un descenso de LDL-C (21%), colesterol total (19%) y Apo B (24%).

Ácidos grasos omega 3

Se emplean fundamentalmente en el tratamiento de pacientes con hipertrigliceridemia (31), ya que reduce la formación de partículas VLDL y aumentan la secreción y el aclaramiento de los triglicéridos. Los efectos adversos suelen incluir artralgia, gases, dispepsia y alteraciones del gusto. Pueden producir un aumento del LDL-C y requieren monitorización de la función hepática en pacientes con enfermedad hepática de base.

1.3.5.- PREVENCIÓN DE ECV

En el año 2001, fueron publicadas las recomendaciones del "*National Cholesterol Education Program*" (NCEP), entidad dependiente del Instituto Nacional de Salud americano, para la prevención, detección y tratamiento de las personas con niveles elevados de colesterol. El objetivo de esta guía es reducir el riesgo de desarrollar ECV mediante la prevención primaria y secundaria (38). La evidencia científica recogida hasta ese momento se tradujo en el "*Adult Treatment Panel III*" (ATPIII), que venía a actualizar el contenido de las anteriores ediciones (ATPI, 1988 y ATPII, 1993). En este documento, se destaca el papel del LDL-C como objetivo primario en las terapias para reducir el colesterol y el riesgo de ECV, debido a su reconocido papel aterogénico.

En el ATPI (39) ya se establecían unas estrategias de prevención primaria de la ECV basadas en los valores de LDL-C altos o moderadamente altos (>160 mg/dL y 130-159 mg/dL, respectivamente), mientras que en el ATPII (40), además, se fijaba como objetivo la reducción del LDL-C (<100 mg/dL) en aquellos pacientes con ECV previa. Sin embargo, la evidencia de la importante capacidad aterogénica del LDL-C, incluso en valores considerados hasta entonces adecuados (100-129 mg/dL), y el impacto del uso de estatinas en cuanto a reducción de incidencia y mortalidad de la ECV, llevó a fijar unos objetivos más ambiciosos en cuanto a su reducción (Tabla 4).

Así mismo, se establece la elevación de los niveles de HDL-C y la reducción del colesterol no-HDL (Colesterol total - HDL-C) como objetivos secundarios en la prevención de ECV, al ser el primero un componente anti-aterogénico y el segundo representar las partículas con potencial aterogénico.

El ATPIII indica como primera medida de prevención el cambio de hábitos de vida. Las pautas de tratamiento con estatinas y el objetivo de LDL-C se basan en el cálculo de riesgo a 10 años para ECV, para lo que se sirven de las tablas de Framingham modificadas. Sin embargo, también se hace hincapié en la valoración de otros datos (Tabla 5), que no se tienen en cuenta en esta ecuación y que van a aumentar el riesgo

cardiovascular, como son la presencia de múltiples factores de riesgo, antecedentes familiares u otras patologías con riesgo cardiovascular (denominados equivalentes de riesgo para ECV). En este sentido, la DM, sobre todo tipo 2, tiene una consideración destacada dado que la acumulación de factores de riesgo asociados es notable (hipertrigliceridemia, descenso de HDL-C, aumento de LDL-C, resistencia a la insulina) y se pueden beneficiar de la prevención de ECV a largo plazo.

Objetivo de HDL-C (mg/dL)	
<40	Bajo
≥60	Elevado

Objetivo de Colesterol Total (mg/dL)	
<200	Deseable
200 - 239	Límite
≥240	Alto

Objetivo de LDL-C (mg/dL)	
<100	Óptimo
100 - 129	Casi óptimo
130 - 159	Límite
160 - 189	Elevado
≥190	Muy elevado

Objetivo de TG (mg/dL)	
<150	Normal
150 - 199	Límite
200 - 499	Alto
≥500	Muy alto

TABLA 4.- OBJETIVOS DEFINIDOS POR EL ATP III PARA COLESTEROL TOTAL, HDL-C, TRIGLICÉRIDOS (TG) Y LDL-C

El ATP III propone la realización de un escrutinio en ayunas del perfil lipídico completo (colesterol total, HDL-C, LDL-C y triglicéridos) a todos los adultos mayores de 20 años cada 5 años, a menos que los datos del paciente requieran un seguimiento más exhaustivo. Además, recomienda la realización del mismo perfil a los pacientes ingresados por síndrome coronario agudo u otro evento cardiovascular isquémico en las 24 horas posteriores al evento. Estas recomendaciones, junto con los hábitos de vida y alimentación propios de nuestros días, hacen que la demanda de estas pruebas a los laboratorios clínicos de los diferentes hospitales sea cada vez mayor (41).

El ATP III supuso un cambio muy importante en la valoración y prevención del riesgo de ECV, así como en las recomendaciones sobre la determinación de los lípidos y los objetivos de calidad analíticos, muchas de las cuales siguen vigentes actualmente.

Nivel de riesgo	LDL-C (mg/dL)
ECV y equivalentes de ECV	<100
Múltiples factores de riesgo (2+)	<130
+ Riesgo 10 años ECV >20%	<100
0-1 Factores de riesgo	<160

Hipertensión
Consumo de tabaco
HDL-C <40 mg/dL
Historia familiar de ECV prematura
Edad: Hombres ≥45; Mujeres ≥55

Factores de riesgo principales

TABLA 5.-OBJETIVO DE LDL-C SEGÚN EL NIVEL DE RIESGO Y FACTORES DE RIESGO MAYORES PARA EVALUACIÓN DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Más recientemente, en 2013, la ACC/AHA han publicado unas guías para el seguimiento del riesgo de enfermedad aterosclerótica cardiovascular en adultos (42). En estas guías, se hace especial hincapié en la reducción de los valores de LDL-C como objetivo de tratamiento y en el establecimiento de 3 tipos de terapia con estatinas según los valores de LDL-C iniciales. Existe una terapia de baja intensidad, con objetivo de reducción del LDL-C <30%, una moderada, que pretende una reducción del 30-50%, y una intensa, con un objetivo de reducción ≥50%. No se definen valores objetivo de LDL-C ya que, según esta guía, esto podría llevar a sobretreatmento (inclusión de otros fármacos no-estatinas sin que haya evidencia del beneficio sobre ECV) o infratreatmento (empleo de terapias inferiores a las recomendables).

Se definen 4 grupos claros en los que el beneficio del uso de estatinas en régimen moderado-intenso supera con creces el riesgo asociado al tratamiento:

1. Antecedentes de enfermedad aterosclerótica previa.
2. Elevación primaria de LDL-C ≥190 mg/dL.

3. DM con edad entre 40 y 75 años, sin antecedentes de enfermedad aterosclerótica y LDL-C entre 70–189 mg/dL.
4. Ausencia de enfermedad aterosclerótica previa ni DM, con LDL-C entre 70–189 mg/dL y un riesgo a 10 años de enfermedad aterosclerótica $\geq 7,5\%$.

Para el cálculo de riesgo a 10 años se emplea la “*Pooled Cohort Equations*”, que es adecuada para hombres y mujeres de raza caucásica o negra. Se recomienda el análisis de riesgo en adultos ≥ 21 años.

En el año 2014 (43,44), se publicaron las recomendaciones de la “*National Lipid Association*” para el manejo de pacientes con dislipemia. En las mismas, se recomienda la valoración en adultos (≥ 20 años) del perfil lipídico ya sea en ayunas o no (determinación de al menos HDL-C y colesterol total) cada 5 años y se fijan unos objetivos de LDL-C similares a los del ATPIII. La clasificación de los pacientes se realiza en función de factores de riesgo mayores y se reserva el empleo de algoritmos de cálculo de riesgo para mejorar el manejo (se recomienda el uso de Framingham y “*Pooled Cohort Equations*”). Los pacientes con DM se clasifican directamente en los grupos de riesgo alto o muy alto. Las estatinas son los fármacos de elección primaria en el tratamiento. En el año 2016 (45), se ha publicado una nueva actualización en la que se fijan objetivos de tratamiento para LDL-C, colesterol no-HDL y Apo B según la clasificación de riesgo (Tabla 6).

	LDL-C	Colesterol no-HDL	Apo B
Bajo	<100	<130	<90
Moderado	<100	<130	<90
Alto	<100	<130	<90
Muy alto	<70	<100	<80

TABLA 6.- NUEVOS OBJETIVOS DE LA “NATIONAL LIPID ASSOCIATION” PARA 2016 EN RELACIÓN CON LDL-C, COLESTEROL NO-HDL Y APO B

En el año 2016, fue publicada la actualización de las “Guías Europeas para la prevención de la enfermedad cardiovascular en la práctica clínica” (46). En ellas, se

recomienda la evaluación sistemática del riesgo cardiovascular, empleando la herramienta SCORE, en pacientes con riesgo de ECV así como la evaluación cada 5 años de aquellos pacientes con riesgo cercano a los umbrales de tratamiento. El estudio sistemático de pacientes de bajo riesgo debe considerarse en hombres >40 años y en mujeres >50 años (o post-menopáusicas). Los pacientes de riesgo alto o muy alto, entre los cuales se encuentran aquellos con DM, requieren actuación inmediata sobre los factores de riesgo. El LDL-C se identifica nuevamente como el objetivo prioritario en el tratamiento, dando importancia también al colesterol-no HDL, ya que engloba a todas las partículas pro-aterogénicas (Tabla 7).

Objetivo Primario		
LDL-C	Muy alto riesgo	<70 mg/dL o reducción de al menos el 50% si la base está entre 70-135 mg/dL
	Alto riesgo	<100 mg/dL o reducción de al menos el 50% si la base está entre 100-200 mg/dL
	Riesgo bajo-moderado	<115 mg/dL
Colesterol no-HDL	Valores objetivo 30 mg/dL por encima del LDL-C fijado	
Recomendaciones		
HDL-C	>40 mg/dL en hombres y >45 mg/dL en mujeres se asocian con un riesgo menor	
TG	<150 mg/dL indican riesgo menor y valores superiores requieren revisión de otros factores de riesgo	

TABLA 7.- OBJETIVOS Y RECOMENDACIONES SOBRE LÍPIDOS DE LAS GUÍAS EUROPEAS PARA LA PREVENCIÓN DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Finalmente, en el año 2017 (31) se ha publicado la guía de manejo de dislipemia y prevención de ECV de la “*American Association of Clinical Endocrinologists*” (AACE) y el “*American College of Endocrinology*” (ACE) en la que se incluyen nuevos factores de riesgo (Tabla 8). Se fijan 5 categorías de riesgo: bajo, moderado, alto, muy alto y extremo. Los pacientes con DM tipo 2 se incluyen en las categorías de riesgo alto, muy alto y extremo, mientras que aquellos con DM tipo 1 con más de 15 años de duración, con dos o más factores de riesgo principales, con mal control metabólico o con síndrome metabólico se consideran con un riesgo equivalente a los pacientes de DM

tipo 2. Además, se recomienda el cribado anual para dislipemia. En cuanto a la población sin riesgo, se debe valorar la conveniencia del cribado, aunque se recomienda la evaluación cada 1-2 años en varones entre 45-65 años y en mujeres entre 55-65 años y anual en mayores de 65 años.

Factores principales	Factores adicionales	Factores no tradicionales
Edad avanzada	Obesidad, obesidad abdominal	Aumento de Lp(a)
Aumento de colesterol total	Antecedentes de hiperlipemia en la familia	Factores de coagulación
Aumento de colesterol no-HDL	Aumento de partículas LDL de baja densidad	Marcadores de inflamación
Aumento de LDL-C	Aumento de Apo B	Niveles de homocisteína
HDL-C reducido	Hipertrigliceridemia	Isoforma de Apo E-4
DM	Síndrome de ovario poliquístico	Aumento de ácido úrico
Hipertensión		Aumento de remanentes ricos en TG
Enfermedad renal crónica		
Tabaco		

TABLA 8.- FACTORES DE RIESGO PROPUESTOS POR LA AACE/ACE ASOCIADOS CON ENFERMEDAD ATEROESCLERÓTICA CARDIOVASCULAR

El perfil lipídico debe realizarse en ayunas e incluir colesterol total, HDL-C, triglicéridos, LDL-C y colesterol no-HDL. Se recomienda un objetivo de triglicéridos <150 mg/dL y de colesterol total <200 mg/dL, mientras que para el LDL-C, colesterol no-HDL y Apo B se fijan objetivos distintos según el grado de riesgo (Tabla 9). Las estatinas se establecen como la línea primaria de tratamiento, mientras que el resto de fármacos se reservan para determinadas situaciones o para uso combinado con estatinas (hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia familiar, incapacidad de alcanzar objetivos en monoterapia, etc.).

Para el cálculo de riesgo a 10 años se propone el uso de diferentes herramientas entre ellas los algoritmos de Framingham y UKPDS.

Categoría de riesgo y objetivos			
	LDL-C (mg/dL)	Colesterol no-HDL (mg/dL)	Apo B (mg/dL)
Extremo	<55	<80	<70
Muy alto	<70	<100	<80
Alto	<100	<130	<90
Moderado	<100	<130	<90
Bajo	<130	<160	-

TABLA 9.- OBJETIVOS DE LDL-C, COLESTEROL NO-HDL Y APO B SEGÚN LAS CATEGORÍAS DE RIESGO DE LA AACE/ACE

1.4.- MEDICIÓN DE LÍPIDOS Y LIPOPROTEÍNAS

Las determinaciones de lípidos y lipoproteínas, como cualquier otra magnitud biológica, están sujetas a diversas fuentes de variabilidad como son:

- Variabilidad preanalítica: debida al estado del paciente (variabilidad biológica intraindividual, variabilidad debida a factores fisiológicos), al proceso de extracción, al espécimen elegido para el análisis (suero, plasma, etc.), así como al manejo de la muestra.
- Variabilidad analítica: debido al método empleado para la determinación, el equipamiento, el estado de reactivos, controles y calibraciones.

Todos estos factores van a influir en los resultados obtenidos. Para cualquier parámetro a analizar, se busca establecer un método de referencia que garantice la calidad de los resultados obtenidos y que sean reproducibles pero, en muchas ocasiones, estos métodos requieren equipos y personal muy especializados. Esto hace que en la práctica clínica sean necesarios métodos más sencillos, cuyos resultados puedan ser trazables al método de referencia.

Para disminuir al máximo posible las discrepancias entre los distintos proveedores, que se encargan de facilitar los reactivos y equipos, existe un programa internacional

de estandarización de lípidos desarrollado por el "Centers for Disease Control and Prevention" (CDC) denominado "Lipid Standardization Program", que realiza un seguimiento de la precisión y exactitud de las medidas de lípidos en el laboratorio clínico. Asimismo, el CDC da soporte a un programa de certificación tanto de laboratorios como de fabricantes, el "Cholesterol Reference Method Laboratory Network".

La NCEP, entre las recomendaciones que incluye en sus guías, fija unos objetivos de calidad analítica específicos para el colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C, definiendo unos valores máximos para error total (ET) y coeficiente de variación (CV) (Tabla 10).

El perfil lipídico más extendido en el ámbito de los análisis clínicos es el que incluye las determinaciones de colesterol total, triglicéridos, HDL-C y LDL-C (47). Otros parámetros como pueden ser la Lp(a), Apo B o Apo A-1 no están suficientemente estandarizados o implantados en nuestro entorno (48). Por ejemplo, en el Programa de Garantía de la Calidad para Laboratorios Clínicos, desarrollado anualmente por la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC), se recibieron en 2016 resultados de más de 600 equipos para evaluación de colesterol total, HDL-C y triglicéridos, mientras que fueron 72 y 58 para Apo B y Apo A-1, respectivamente (49). La Lp(a), por su parte, no se encuentra incluida en este programa. Actualmente, para la determinación de este perfil lipídico, se recomienda la extracción por venopunción y tras ayuno de 10-12 horas de una muestra de suero.

	Objetivo NCEP	
	ET (%)	CV
Colesterol total	≤ 8,9	≤ 3
HDL-C	≤ 13	≤ 5
Triglicéridos	≤ 15	≤ 6
LDL-C	≤ 12	≤ 4

TABLA 10.- OBJETIVOS DE CALIDAD PARA ERROR TOTAL (ET) Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN (CV) FIJADOS POR LA NCEP PARA COLESTEROL TOTAL, HDL-C, TRIGLICÉRIDOS Y LDL-C

Colesterol total

Para la determinación del colesterol total existen dos procedimientos de referencia (50). El primero de ellos es la espectrometría de masas con dilución isotópica (IDMS), desarrollado por el "National Institute of Standards and Technology" (NIST) pero que, dadas sus características, no es práctico en el entorno clínico. El segundo, elaborado por el CDC, consiste en una modificación del procedimiento de Abell-Kendall, en el que el colesterol en forma de éster es liberado mediante saponificación al añadir solución alcohólica de hidróxido potásico y, posteriormente, se realiza una extracción con hexano y evaporación de la muestra y se forma un cromóforo a 620 nm con el reactivo de Liebermann-Burchard.

Sin embargo, en el laboratorio clínico la técnica más empleada es la reacción enzimática mediante colesterol esterasa (CE), colesterol oxidasa (CHOD) y peroxidasa (POD), abreviado normalmente CHOD/PAP, en la que se va a liberar peróxido de hidrógeno, que va a permitir la cuantificación del colesterol (Figura 2).

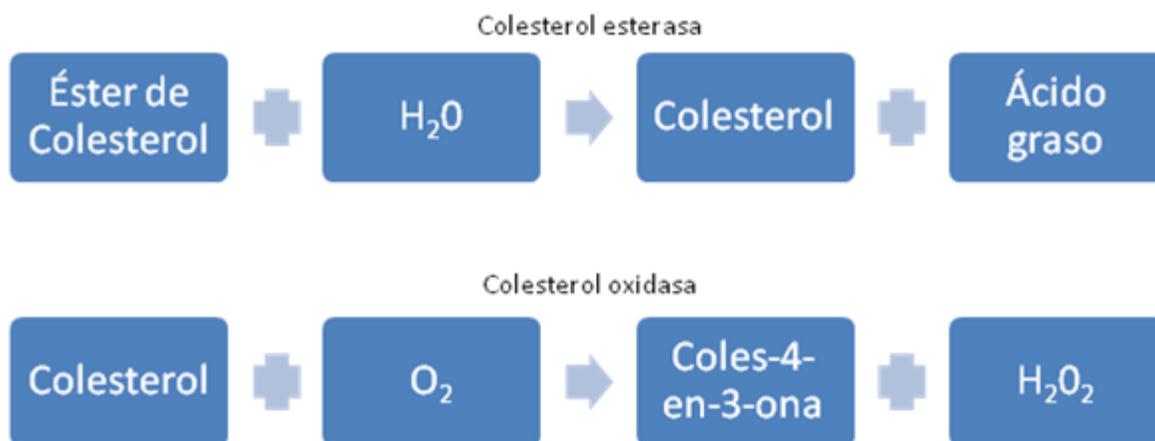


FIGURA 2.-ESQUEMA DEL MÉTODO ENZIMÁTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE COLESTEROL TOTAL

HDL-C

Debido a la heterogénea composición de apolipoproteínas, el contenido variable de colesterol de la partícula y las distintas características en cuanto a tamaño, densidad y

migración electroforética, es complicado establecer un protocolo de referencia para la determinación de las HDL (26). El método aceptado actualmente ha sido desarrollado por el CDC e implica un proceso de ultracentrifugación y precipitación, para el posterior análisis de colesterol (50). Las VLDL y los quilomicrones se descartan tras ultracentrifugación durante 18,5 horas y las partículas HDL se separan de las LDL, IDL y Lp(a) por precipitación. Posteriormente, se mide el colesterol presente mediante el método de Abell-Kendall modificado por el CDC.

Sin embargo, dada la complejidad de estos procedimientos, en el laboratorio clínico la determinación de HDL-C se realizó durante mucho tiempo mediante métodos de precipitación, que también resultaban laboriosos y requerían de procesos manuales. Posteriormente, surgieron en el mercado métodos directos, completamente automatizados, que respondían mejor a la creciente demanda de pruebas, de modo que se han asentado en los distintos laboratorios. Dentro de estos métodos directos podemos encontrar diferentes estrategias como son el empleo de anticuerpos anti apolipoproteína B (inmunológico), la precipitación de partículas no-HDL o el uso de enzimas modificadas con polietilenglicol (PEG) y dextrán sulfato.

Triglicéridos

El método primario de referencia fue desarrollado por el NIST empleando IDMS (50). Además de la complejidad de estas técnicas, ya mencionada previamente, este método mide todos los acilglicérols (mono, di y triglicéridos así como el glicerol libre).

El CDC por su parte implementó un método para la medida de triglicéridos en el que se combinaba una extracción con cloruro de metileno con el tratamiento con ácido silícico y, posteriormente, desarrollo de color gracias al ácido cromotrópico. Pero al no ser comparable con el método del NIST y tampoco completamente específico para triglicéridos, se ha desarrollado un nuevo método basado en IDMS acoplado a cromatografía de gases (51).

En el ámbito del laboratorio, al igual que con los otros parámetros, los métodos enzimáticos son los empleados en la práctica diaria. El más frecuente es el método colorimétrico que emplea la lipasa, para liberar el glicerol y los ácidos grasos de los triglicéridos, y la gliceroquinasa (GK), que cataliza la fosforilación del glicerol. El glicerol fosforilado se empleará, posteriormente, para la cuantificación de la reacción.

LDL-C

El método de referencia recomendado por la NCEP para la determinación del LDL-C se denomina betacuantificación (BQ) (50). Inicialmente, se siguen los pasos del análisis del HDL-C, retirando mediante ultracentrifugación los quilomicrones y las VLDL. Entonces, se analiza el colesterol en la fracción beta obtenida en la ultracentrifugación y se lleva a cabo la precipitación de las partículas HDL, determinando así el HDL-C. Por tanto, el LDL-C será:

$$\text{LDL-C} = \text{colesterol de la fracción beta} - \text{HDL-C}$$

Al igual que ocurría con las partículas HDL, la heterogeneidad de las partículas LDL hace que sea complicado establecer un método de referencia específico de las LDL. Como se había indicado previamente, en situación de ayuno el colesterol se encuentra mayoritariamente en las partículas VLDL, LDL y HDL, pero una pequeña parte se encuentra también en las IDL y en la Lp(a). Mediante la BQ se obtienen resultados de colesterol asociado a LDL, pero también a IDL y Lp(a), principales partículas con capacidad aterogénica. Por este motivo, en muchas publicaciones y en los estudios asociados a ECV se trata el LDL-C como el colesterol asociado a partículas aterogénicas, incluyendo por tanto las tres partículas.

Más recientemente, se han introducido reactivos comerciales para la determinación de LDL-C de manera directa, que pueden emplearse en los equipos de rutina y con un rendimiento y velocidad de resultados similar al de otras pruebas rutinarias. Para ello, emplean diferentes tipos de surfactantes, polímeros iónicos y otros reactivos que permiten la medida selectiva del LDL-C.

LDL-C calculado

El proceso de la BQ resulta lento, laborioso y con necesidad de equipamiento muy específico, de modo que resulta inviable para la rutina de trabajo. Por este motivo, el método más implantado para la determinación del LDL-C es la fórmula de Friedewald (FF), desarrollado en 1972 y en la que se estima el LDL-C según la siguiente fórmula (52):

$$\text{LDL-C} = \text{Colesterol total} - [\text{HDL-C} + (\text{Triglicéridos}/5)]$$

En esta ecuación, se asume que el colesterol asociado a las VLDL tiene una relación constante con la concentración de triglicéridos (1/5), salvo en pacientes con hiperlipoproteinemia tipo III y en presencia de quilomicrones en la muestra, por lo que el uso de la FF no está indicado en estos caso así como si la concentración de triglicéridos es superior a 400 mg/dL. Con este procedimiento, el LDL-C calculado también incluiría el colesterol de las partículas LDL, IDL y Lp(a) como en el protocolo del CDC.

Fue desarrollado a partir de muestras de 488 individuos normales o con hiperlipoproteinemia primaria tipo II o IV, sin tratamiento farmacológico relacionado con hiperlipemia ni dieta.

La determinación de colesterol total y triglicéridos se realizó por métodos enzimáticos, mientras que el LDL-C y el HDL-C se determinaron en una combinación de procesos de ultracentrifugación y precipitación.

La sencillez del método y la posibilidad de su aplicación en los laboratorios facilitaron su implantación como método de determinación del LDL-C. Sin embargo, desde su aparición se han ido reportando limitaciones en su uso, más allá de las identificadas originalmente. Así por ejemplo, su aplicación es discutible en pacientes con enfermedad hepática, insuficiencia renal, síndrome nefrótico, síndrome metabólico o DM tipo 2. También se ha referido que la FF resulta imprecisa en pacientes con LDL-C bajo, triglicéridos elevados (>150 mg/dL) y que ofrece resultados distintos a los métodos directos y discrepantes con la BQ (53,54). Por este motivo, han surgido

diferentes propuestas para mejorar su fiabilidad y aplicabilidad, si bien no han desplazado a la FF.

DeLong *et al.* (55) publicaron una primera propuesta, basada en resultados de más de 10000 pacientes en los que se obtuvo el LDL-C mediante el método de referencia, en la que se recomienda emplear un factor de 0,16 para los triglicéridos.

Hattori *et al.* (56) desarrollaron su propuesta a partir de resultados de 2179 pacientes con hiperlipemia, diabetes, obesidad, hipertensión o aterosclerosis (n=2161) y pacientes sanos (n=18), entre 30 y 79 años. El análisis de lípidos se realizó mediante ultracentrifugación, descartando aquellas muestras con quilomicrones. El análisis por regresión de los datos arrojó la siguiente ecuación:

$$\text{LDL-C} = (0,94 \times \text{Colesterol total}) - (0,94 \times \text{HDL-C}) - (0,19 \times \text{triglicéridos})$$

Al contrario que la FF no incluye en teoría el colesterol asociado a las IDL.

Anandaraja *et al.* (57) usaron los resultados de 2008 pacientes de una población de la India, en la que se determinó el colesterol total y los triglicéridos mediante métodos enzimáticos y el LDL-C y el HDL-C mediante métodos de precipitación, para el desarrollo y validación de la siguiente ecuación:

$$\text{LDL-C} = (0,9 \times \text{Colesterol total}) - [0,9 \times (\text{Triglicéridos}/5)] - 28$$

Chen *et al.* (58) elaboraron una alternativa a partir de los datos de 2180 pacientes sanos mayores de 18 años en población China. La determinación de lípidos, incluido el LDL-C, se realizó empleando métodos directos automatizados. A partir de un análisis de regresión lineal multivariante se obtuvo la siguiente ecuación:

$$\text{LDL-C} = (0,9 \times \text{Colesterol total}) - (0,9 \times \text{HDL-C}) - (0,1 \times \text{triglicéridos})$$

Con este método se podría realizar el cálculo del LDL-C si los triglicéridos superan los 400 mg/dL.

Vujovic *et al.* (59) diseñaron su propuesta a partir del análisis de 1010 pacientes en Serbia, que se realizaban chequeos anuales programados. Se basa en la medición del LDL-C y el resto de parámetros por métodos directos. La fórmula propuesta es:

$$\text{LDL-C} = \text{Colesterol total} - \text{HDL-C} - (\text{Triglicéridos}/6,85)$$

De Cordova y de Cordova (60) desarrollaron su ecuación a partir del análisis de una base de datos correspondiente a 10664 pacientes en Brasil, entre 1-93 años, incluyendo aquellos con diversas patologías. El análisis del perfil lipídico se realizó de manera automatizada empleando métodos directos. Mediante la regresión de mínimos cuadrados se obtuvo:

$$\text{LDL-C} = 0,75 \times (\text{Colesterol total} - \text{HDL-C})$$

En este caso, no sería necesario el ayuno en el análisis del perfil lipídico al no incluir los triglicéridos.

Martin *et al.* (61) emplearon datos de 900605 muestras para el desarrollo de su propuesta y 450303 para la validación de la misma. Para la determinación de colesterol total, colesterol VLDL, HDL y LDL se empleó un método de ultracentrifugación de gradiente de densidad de spin vertical para la separación de partículas mientras que para los triglicéridos se empleó un método directo enzimático. Se propone una fórmula en la que el factor asociado a las VLDL varía en función de los valores de triglicéridos y colesterol no-HDL, definiéndose un panel de 180 combinaciones diferentes y estableciendo un factor que oscila entre 3,1 y 11,9 (Tabla 11).

Chai Kheng *et al.* (62) proponen una fórmula alternativa para pacientes con DM tipo 2, desarrollada a partir de datos de 977 pacientes y validada sobre 981 pacientes, con edades comprendidas entre 21-90 años y pertenecientes a diferentes etnias (chinos, malayos e indios, principalmente). Para la determinación del perfil lipídico se emplearon métodos directos. La fórmula propuesta es:

$$\text{LDL-C} = (0,990 \times \text{Colesterol total}) - (0,855 \times \text{HDL-C}) - (0,245 \times \text{triglicéridos}) - 0,093$$

Triglicéridos (mg/dL)	Colesterol no-HDL (mg/dL)					
	<100	100-129	130-159	160-189	190-219	≥220
7-49	3,5	3,4	3,3	3,3	3,2	3,1
50-56	4,0	3,9	3,7	3,6	3,6	3,4
57-61	4,3	4,1	4,0	3,9	3,8	3,6
62-66	4,5	4,3	4,1	4,0	3,9	3,9
67-71	4,7	4,4	4,3	4,2	4,1	3,9
72-75	4,8	4,6	4,4	4,2	4,2	4,1
76-79	4,9	4,6	4,5	4,3	4,3	4,2
80-83	5,0	4,8	4,8	4,4	4,3	4,2
84-87	5,1	4,8	4,6	4,5	4,4	4,3
88-92	5,2	4,9	4,7	4,6	4,4	4,3
93-96	5,3	5,0	4,8	4,7	4,5	4,4
97-100	5,4	5,1	4,8	4,7	4,5	4,3
101-105	5,5	5,2	5,0	4,7	4,6	4,5
106-110	5,6	5,3	5,0	4,8	4,6	4,5
111-115	5,7	5,4	5,1	4,9	4,7	4,5
116-120	5,8	5,5	5,2	5,0	4,8	4,6
121-126	6,0	5,5	5,3	5,0	4,8	4,6
127-132	6,1	5,7	5,3	5,1	4,9	4,7
133-138	6,2	5,8	5,4	5,2	5,0	4,7
139-146	6,3	5,9	5,6	5,3	5,0	4,8
147-154	6,5	6,0	5,7	5,4	5,1	4,8
155-163	6,7	6,2	5,8	5,4	5,2	4,9
164-173	6,8	6,3	5,9	5,5	5,3	5,0
174-185	7,0	6,5	6,0	5,7	5,4	5,1
186-201	7,3	6,7	6,2	5,8	5,5	5,2
202-220	7,6	6,9	6,4	6,0	5,6	5,3
221-247	8,0	7,2	6,6	6,2	5,9	5,4
248-292	8,5	7,6	7,0	6,5	6,1	5,6
293-399	9,5	8,3	7,5	7,0	6,5	5,9
400-13975	11,9	10,0	8,8	8,1	7,5	6,7

TABLA 11.- PROPUESTA DE FACTOR PARA ESTIMACIÓN DEL VLDL PARA EL CÁLCULO DEL LDL-C SEGÚN LOS VALORES DE TRIGLICÉRIDOS Y COLESTEROL NO-HDL. ADAPTADO DE DE MARTIN *ET AL.* 2013

Dansethakul *et al.* (63) realizaron su fórmula en base al análisis de 1786 pacientes en Tailandia, empleando medición directa del LDL-C y del resto del perfil lipídico. Según los valores de triglicéridos la ecuación propuesta varía (Tabla 12).

TG (mg/dL)	Ecuación Propuesta
<200	$LDL-C = 0,9629 \times CT - 0,8796 \times HDL-C - 0,1272 \times TG - 0,1007$
<300	$LDL-C = 0,9656 \times CT - 0,8780 \times HDL-C - 0,1278 \times TG - 0,7181$
<400	$LDL-C = 0,9652 \times CT - 0,8757 \times HDL-C - 0,1260 \times TG - 0,9657$
<500	$LDL-C = 0,9875 \times CT - 0,9479 \times HDL-C - 0,1801 \times TG + 4,4636$
<600	$LDL-C = 0,9910 \times CT - 0,9681 \times HDL-C - 0,1928 \times TG + 6,3597$
<1000	$LDL-C = 0,9955 \times CT - 0,9853 \times HDL-C - 0,1998 \times TG + 7,1449$

TABLA 12.- PROPUESTA DE DANSETHAKUL *ET AL.* PARA EL CÁLCULO DEL LDL-C A PARTIR DE LOS DATOS DE COLESTEROL TOTAL (CT), HDL-C Y TRIGLICÉRIDOS (TG) SEGÚN LOS VALORES DE TRIGLICÉRIDOS DE LA MUESTRA

Otras apolipoproteínas

Lp(a): existe un polimorfismo genético que determina el tamaño de la apolipoproteína (a), de manera que los métodos de medida pueden sobrestimar o infravalorar los resultados de Lp(a), debido a la heterogeneidad del tamaño de la partícula. Este hecho dificulta la estandarización y el establecimiento de un método de referencia para su determinación.

Apo A-1 y Apo B (64): la Apo A-1 es la principal apolipoproteína de las partículas HDL mientras que Apo B lo es de las partículas aterogénicas. Se han realizado esfuerzos en el desarrollo de materiales de referencia y el CDC incluye estos parámetros en su programa de estandarización, si bien sigue sin haber un método de referencia (50).

Objetivos

2.- OBJETIVOS

El LDL-C es un marcador central en todas las guías de ECV y manejo de dislipemias por su reconocido papel aterogénico. La definición de valores idóneos en población sana, así como de objetivos para los pacientes tratados, hacen que la correcta valoración del LDL-C cobre una especial importancia. Sin embargo, existe controversia en cuanto a los métodos para su determinación en lo que se refiere a la aplicación de la FF y sus limitaciones, el empleo de métodos directos, la correlación entre ambos y la aparición de nuevas fórmulas.

La imposibilidad de emplear en el laboratorio clínico el método de referencia para determinar el LDL-C, debido a los requerimientos de tiempo y equipamiento que lleva aparejados, hace que la FF sea la alternativa más habitual para la estimación del LDL-C. Los métodos directos conllevan un mayor coste económico y no están disponibles en todos los laboratorios o no se emplean de manera sistemática. Además, los fabricantes más habituales en nuestro entorno varían en la estrategia empleada para la medición del LDL-C con sus métodos directos lo que puede llevar a discrepancias entre los mismos.

Este proyecto de tesis se inicia a partir de los resultados de unas investigaciones previas en las que se define una nueva limitación en el empleo de la FF en aquellos pacientes con valores de HDL-C extremos (≤ 20 y ≥ 100 mg/dL) con el empleo de un método directo certificado por el CDC (65).

Por este motivo, se define un primer objetivo en el que se pretende evaluar si los valores extremos de HDL-C pueden afectar al uso de la FF, en relación con los métodos directos empleados de manera habitual en el entorno del laboratorio clínico en España, además de valorar la intercambiabilidad de resultados de las pruebas del perfil lipídico de los distintos fabricantes en estas condiciones.

Así mismo, la DM está fuertemente asociada con riesgo de ECV y se requiere un especial seguimiento del perfil lipídico en estos pacientes. Sin embargo, dadas las

características de la patología de base, se puede producir una dislipemia secundaria debido al desarreglo hormonal y la aparición de resistencia a la insulina, lo que puede dar lugar a la aparición de partículas no convencionales.

Por esta razón, se define un segundo objetivo en el que se pretende evaluar tanto la FF como diferentes métodos directos para la valoración del LDL-C en pacientes con DM con buen y mal control metabólico.

Finalmente, dadas las limitaciones descritas para el empleo de la FF, el desarrollo e implantación de métodos directos en el laboratorio clínico y las discrepancias encontradas entre ambos métodos de medida del LDL-C, han surgido con los años nuevas propuestas de cálculo del LDL-C. Estas nuevas fórmulas pretenden mejorar los resultados ofrecidos por la FF de manera general o en determinados grupos de pacientes.

Por ello, se define un tercer objetivo en el que se pretende evaluar las fórmulas propuestas más relevantes, valorando su rendimiento en comparación con la FF y los métodos directos.

Materiales y métodos

3.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- EQUIPOS DE MEDIDA

Para la determinación de los parámetros estudiados se emplearon las siguientes plataformas:

- Cobas c711. Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania. Localización: Complejo Hospitalario de Toledo.
Analizador de química clínica multicanal de acceso discreto aleatorio con aplicaciones de fotometría, turbidimetría y potenciometría, con capacidad de lectura a diferentes longitudes de onda. Rendimiento de 4000 test fotométricos por hora.

- Architect ci8200. Abbott Laboratories, Illinois, Estados Unidos. Localización: Hospital General Universitario de Guadalajara.
Analizador de química clínica multicanal de acceso discreto aleatorio con aplicaciones de fotometría, turbidimetría y potenciometría, con capacidad de lectura a diferentes longitudes de onda. Capacidad de realización de 1200 test fotométricos por hora.

- Architect c16000. Abbott Laboratories, Illinois, Estados Unidos. Localización: Hospital Santa Bárbara de Puertollano.
Analizador de química clínica multicanal de acceso discreto aleatorio con aplicaciones de fotometría, turbidimetría y potenciometría, con capacidad de lectura a diferentes longitudes de onda. Capacidad de realización de 1800 test fotométricos por hora.

- Advia 2400. Siemens Healthcare, Munich, Alemania. Localización: Hospital General Universitario de Ciudad Real.
Analizador de química clínica multicanal de acceso discreto aleatorio con aplicaciones de fotometría, turbidimetría y potenciometría, con capacidad de lectura a diferentes longitudes de onda. Capacidad de realización de 1200 test fotométricos por hora.

- Advia 1800. Siemens Healthcare, Munich, Alemania. Localización: Hospital Universitario Moncloa (Madrid).
Analizador de química clínica multicanal de acceso discreto aleatorio con aplicaciones de fotometría, turbidimetría y potenciometría, con capacidad de lectura a diferentes longitudes de onda. Capacidad de realización de 1400 test fotométricos por hora.

- Olympus AU2700. Beckman-Coulter GmbH, Krefeld, Alemania. Localización: Hospital Universitario de Fuenlabrada.
Analizador de química clínica multicanal de acceso discreto aleatorio con aplicaciones de fotometría, turbidimetría y potenciometría, con capacidad de lectura a diferentes longitudes de onda. Rendimiento de hasta 1600 test fotométricos por hora.

- Capillarys 2 Flex Piercing. Sebia, Lisses, Francia. Localización: Hospital Universitario Moncloa (Madrid).
Analizador de electroforesis capilar en zona con 8 capilares de sílice, control de temperatura durante la migración y carga automatizada continua, diseñado para el estudio cuantitativo de proteínas e inmunotipado en suero y orina y para el análisis de variantes de hemoglobina, transferrina deficiente en carbohidratos y hemoglobina glicada. Esta última prueba tiene un rendimiento de 38 muestras/h.

3.2.- TÉCNICAS

3.2.1.- COLESTEROL TOTAL

Para la determinación de colesterol total se emplearon los siguientes reactivos:

Roche Diagnostics – Chol2 – Colesterol segunda generación (66)

Método enzimático colorimétrico, estandarizado frente a IDMS y Abell-Kendall modificado del CDC. Se realiza una medición a un punto con lectura principal a 505 nm y secundaria a 700 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

Los ésteres de colesterol se desdoblan por la acción de la CE a colesterol libre y ácidos grasos. La CHOD cataliza entonces la oxidación de colesterol a colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno. En presencia de POD, el peróxido de hidrógeno formado produce una unión oxidativa de fenol y 4-aminofenazona (AAP) para formar un colorante rojo de quinoneimina (Figura 3).

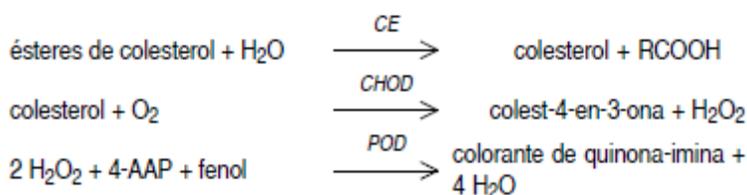


FIGURA 3.- ESQUEMA DE LA REACCIÓN DE MEDIDA DE COLESTEROL TOTAL CON EL REACTIVO DE ROCHE DIAGNOSTICS DE SEGUNDA GENERACIÓN

La intensidad cromática del colorante formado es directamente proporcional a la concentración de colesterol. Se determina midiendo el aumento de la absorbancia.

Para esta determinación del colesterol total se emplea el reactivo que contiene:

Tampón piperacilin-N-N-bis(2-etanosulfónico) (PIPES): 225 mmol/L, pH 6,8	
Mg ²⁺ : 10 mmol/L	CE (<i>Pseudomonas</i> sp.): ≥1,5 U/mL
Colato sódico: 0,6 mmol/L	CHOD (<i>Escherichia coli</i>): ≥0,45 U/mL
AAP: ≥0,45 mmol/L	POD (rábano picante): ≥0,75 U/mL
Fenol: ≥12,6 mmol/L	Estabilizadores
Éter poliglicólico de alcohol graso: 3%	Conservantes

Tiene una estabilidad de 28 días a bordo del equipo y el límite de medida es 3,86-800 mg/dL.

Las limitaciones e interferencias se determinan midiendo la capacidad de recuperación (±10%) de colesterol, a partir de una solución con una concentración de 200 mg/dL. No se encuentra interferencia con bilirrubina conjugada (hasta 16 mg/dL), bilirrubina no conjugada (14 mg/dL), hemólisis (hemoglobina hasta 700 mg/dL), lipemia (triglicéridos hasta 2000 mg/dL) ni con fármacos de uso común. Se han detectado interferencias en casos muy raros debidos a gammapatías, particularmente con inmunoglobulina M (macroglobulinemia de Waldenstroem).

Siemens Healthcare – Chol (67)

Se trata de un método enzimático colorimétrico a punto final, con calibración lineal a 2 puntos, estandarizado frente al método de Abell-Kendall del CDC. La lectura principal se realiza a 505 nm y la secundaria a 694 nm.

El procedimiento es similar al método anteriormente descrito. En este caso, en vez de emplear AAP para la formación del colorante rojo de quinoneimina se emplea 4-aminoantipirina.

Para la determinación se emplea el reactivo que contiene:

4-aminoantipirina: 0,25 mmol/L	Fenol: 6,00 mmol/L
--------------------------------	--------------------

POD (rábano silvestre): $\geq 0,50$ U/mL

CHOD (*Nocardia*): $\geq 0,10$ U/mL

CE (*Pseudomonas*): $\geq 0,20$ U/mL

Azida sódica: 0,09%

Tiene una estabilidad de 60 días a bordo del equipo y el límite de medida es 0-675 mg/dL.

Las limitaciones e interferencias se determinan midiendo la capacidad de recuperación ($\pm 10\%$) de colesterol, a partir de una solución con una concentración de 200 mg/dL. No se encuentra interferencia con bilirrubina no conjugada (hasta 25 mg/dL) ni hemólisis (hemoglobina hasta 500 mg/dL). En muestras lipémicas (empleando concentraciones ≥ 280 mg/dL de trioleína), se detecta un aumento de los valores de colesterol total.

Abbott – Colesterol (68)

Se trata de un método enzimático colorimétrico a punto final, con calibración lineal a 2 puntos, trazable frente al método de Abell-Kendall del CDC. La lectura principal se realiza a 500 nm y la secundaria a 660 nm.

El procedimiento es similar al método anteriormente descrito. En este caso, se emplea 4-aminoantipirina y ácido hidroxibenzoico (HBA), en lugar de fenol, para la formación del colorante rojo de quinoneimina.

Para la determinación se emplea el reactivo que contiene:

4-aminoantipirina: $< 0,5$ mmol/L

CE: > 500 U/L

HBA: 10,0 mmol/L

CHOD: > 200 U/L

POD (rábano picante): > 300 U/L

Tiene una estabilidad de 30 días a bordo del equipo y el límite de medida es 6,2-705 mg/dL.

No se encontraron interferencias con bilirrubina (hasta 7,5 mg/dL), hemoglobina (750 mg/dL), ácido ascórbico (hasta 3 mg/dL) ni por hiperlipemia (empleando una solución Intralipid de 2000 mg/dL).

Beckman-Coulter – Colesterol (69)

Método enzimático colorimétrico, estandarizado frente a IDMS y Abell-Kendall modificado del CDC. Se realiza una medición a un punto con lectura principal a 540 nm y secundaria a 600 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

En esta reacción se emplea 4-aminoantipirina y fenol para la formación del colorante.

Para la determinación se emplea el reactivo que contiene:

Tampón fosfato: 103 mmol/L, pH 6,5	CHOD: ≥ 200 U/L
4-aminoantipirina: 0,31 mmol/L	POD: ≥ 10000 U/L
Fenol: 5,2 mmol/L	Conservantes
CE: ≥ 200 U/L	

Tiene una estabilidad de 90 días a bordo del equipo y el límite de medida es 20-700 mg/dL.

No se encontraron interferencias con bilirrubina (hasta 8 mg/dL), hemoglobina (500 mg/dL), ácido ascórbico (3 mg/dL) ni por hiperlipemia (empleando una solución Intralipid de 1000 mg/dL).

3.2.2.- HDL-C

Para la determinación de HDL-C se emplearon los siguientes reactivos:

Roche Diagnostics – HDLC3 – HDL-C tercera generación (70)

Test colorimétrico enzimático homogéneo, estandarizado frente al método de referencia establecido por el CDC. Se realiza una medición a dos puntos con lectura principal a 600 nm y secundaria a 700 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

Este método automatizado destinado a la determinación directa de HDL-C en suero y plasma utiliza enzimas modificadas por PEG y sulfato de dextrano. Cuando las enzimas CE y CHOD son modificadas por PEG, se manifiesta una actividad catalítica selectiva en dirección de las fracciones lipoproteicas, con una reactividad progresiva según el esquema: LDL < VLDL \approx quilomicrones < HDL. En presencia de iones de magnesio, el sulfato de dextrano forma complejos hidrosolubles, selectivamente con LDL, VLDL y quilomicrones, resistentes contra las enzimas modificadas con PEG. La concentración del HDL-C se determina enzimáticamente mediante la CE y CHOD acopladas con PEG a los grupos amínicos. La CE provoca el desdoblamiento de los ésteres de colesterol a colesterol libre y ácidos grasos.

En presencia de oxígeno, el colesterol es oxidado por la CHOD a Δ^4 -colesteno y peróxido de hidrógeno. Bajo la acción catalítica de la POD, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con 4-aminoantipirina y N-(2-hidroxi-3-sulfopropilo)-3,5-dimetoxianilina sódica (HSDA) para formar un colorante purpúreo azul. La intensidad del colorante es directamente proporcional a la concentración de colesterol que se mide fotométricamente (Figura 4).

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Reactivo 1:

Tampón 4-(2-hidroxietil)-1-piperacil-etano-sulfónico (HEPES) y ácido 2-(ciclohexilamino) etanosulfónico (CHES): 10,07 mmol/L; 96,95 mmol/L; pH 7,4

Sulfato de dextrano: 1,5 g/L

Ascorbato oxidasa (*Eupenicillium* sp., recombinado): >50 μ kat/L

Nitrato de magnesio hexahidratado:
>11,7 mmol/L

POD (rábano picante): >16,7 μ kat/L

HSDA: 0,96 mmol/L

Conservantes

Reactivo 2.-

Tampón HEPES: 10,07 mmol/L; pH 7,0

PEG-CE (*Pseudomonas* sp.): >3,33 μ kat/L

PEG-CHOD (*Streptomyces* sp., recombinado): >127 μ kat/L

POD (rábano picante): >333 μ kat/L

4-aminoantipirina: 2,46 mmol/L

Conservantes

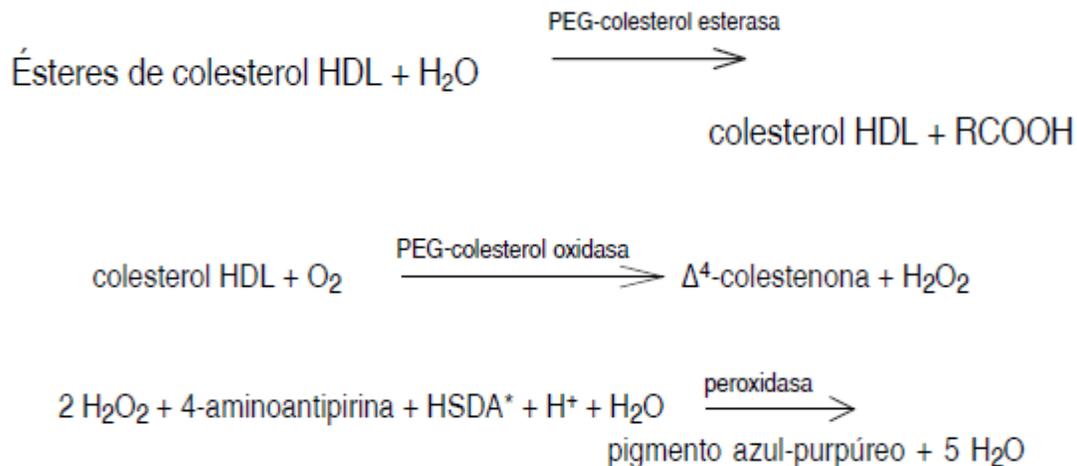


FIGURA 4.- ESQUEMA DE LA REACCIÓN DE MEDIDA DE HDL-C CON EL REACTIVO DE ROCHE DIAGNOSTICS DE TERCERA GENERACIÓN

Tiene una estabilidad de 28 días a bordo del equipo y el límite de medida es 3-120 mg/dL.

Las limitaciones e interferencias se determinan midiendo la capacidad de recuperación ($\pm 10\%$) de HDL-C, a partir de una solución con una concentración de 38,7 mg/dL. No se encuentra interferencia con bilirrubina conjugada (hasta 30 mg/dL), bilirrubina no conjugada (60 mg/dL), hemólisis (hemoglobina hasta 1200 mg/dL), ácido ascórbico (50 mg/dL) ni con fármacos de uso común. Se han detectado interferencias en casos muy raros debidos a gammapatías, particularmente con inmunoglobulina M (macroglobulinemia de Waldenstroem). Las concentraciones elevadas de ácidos grasos libres y de proteínas desnaturalizadas pueden causar valores falsamente elevados de HDL-C. Una función hepática anormal afecta el metabolismo de lípidos por lo que, en estos casos, el valor diagnóstico de los

resultados de HDL-C es limitado y pueden diferir considerablemente respecto de los obtenidos por el método de comparación designado.

Siemens Healthcare – D-HDL (71)

Test colorimétrico enzimático directo por eliminación de partículas, estandarizado frente al método de referencia establecido por el CDC. Se realiza una medición a dos puntos con lectura principal a 596 nm y secundaria a 694 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

El método directo mide el HDL-C en suero y plasma sin separación previa. El colesterol de las partículas que no son de HDL se libera y elimina en el primer paso de la reacción. El colesterol de las partículas HDL se libera en el segundo paso por la acción del detergente y el HDL-C se mide mediante una reacción de Trinder.

El método consta de 2 etapas de reacción diferentes:

- Eliminación de quilomicrones, colesterol VLDL y LDL-C mediante las enzimas CE y CHOD. El peróxido producido por la oxidasa se elimina por la acción de la catalasa.
- Medición específica del HDL-C tras su liberación por la acción del surfactante. La catalasa de la etapa 1 se inhibe por la acción de la azida sódica. La intensidad del colorante quinoneimina producido en la reacción de Trinder es directamente proporcional a la concentración de colesterol determinada a 596 nm.

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Reactivo 1.-

Tampón de Goods: 100 mmol/L; pH 6,6

CE (*Pseudomonas*): ≥800 U/L

N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxianilina: 0,7 mmol/L

CHOD (*Streptomyces*): ≥500 U/L

Catalasa (hígado bovino): ≥300 KU/L

Reactivo 2.-

Tampón de Goods: 100 mmol/L; pH 7,0

POD (rábano silvestre): ≥ 4 KU/L

4-aminoantipirina: 4 mmol/L

Azida sódica: 0,05%

Tiene una estabilidad de 60 días a bordo del equipo y el límite de medida es 5-115 mg/dL.

Las limitaciones e interferencias se determinan midiendo la capacidad de recuperación ($\pm 10\%$) de HDL-C, a partir de una solución con una concentración de 42 mg/dL. No se encuentra interferencia con bilirrubina conjugada y no conjugada (hasta 30 mg/dL), hemólisis (hemoglobina hasta 500 mg/dL) ni lipemia (empleando concentraciones de 1000 mg/dL de trioleína).

Abbott – Ultra HDL(72)

Test colorimétrico enzimático homogéneo con empleo de un detergente acelerador específico, estandarizado frente al método de referencia establecido por el CDC. Se realiza una medición a dos puntos con lectura principal a 604 nm y secundaria a 700 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

Este método se basa en la aceleración de la reacción de CHOD con colesterol sin esterificar no perteneciente a las HDL y colesterol de las HDL disuelto de forma selectiva con un detergente específico. En el primer paso, el colesterol sin esterificar no perteneciente a las HDL se somete a una reacción enzimática y el peróxido generado se consume por acción de la POD con N, N-bis (4-sulfobutil)-m-toluidinadisodio (DSBmT), dando un producto incoloro. En el segundo paso, se emplea un detergente (capaz de solubilizar el colesterol de las HDL), la CE y un copulante cromógeno que desarrolla color para la determinación cuantitativa del colesterol de las HDL.

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Reactivo 1.-

Acelerador: <1 mmol/L

DSBmT: <1 mmol/L

CHOD (*E. coli*): <1000 U/L

Ácido ascórbico oxidasa (*Curcubita*
sp.): <3000 U/L

POD (rábano picante): <1300 U/L

Reactivo 2.-

CE (*Pseudomonas* sp.): <1500 U/L

Detergente: <2%

4-aminoantipirina: <0,1%

Tiene una estabilidad de 28 días a bordo del equipo y el límite de medida es 5-180 mg/dL.

No se encontraron interferencias con bilirrubina conjugada y no conjugada (hasta 32 mg/dL), hemoglobina (2000 mg/dL), ácido ascórbico (hasta 3,9 mg/dL) ni por hiperlipemia (empleando una solución Intralipid de 1000 mg/dL).

Beckman-Coulter – HDL-C (73)

Test colorimétrico enzimático homogéneo con empleo de anticuerpos anti lipoproteína B humana, estandarizado frente al método de referencia establecido por el CDC. Se realiza una medición a dos puntos con lectura principal a 600 nm y secundaria a 700 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

Los anticuerpos se unen a las lipoproteínas no-HDL, formando un complejo que bloquea la acción de CE y CHOD. Por tanto, estas enzimas actuarán únicamente sobre el HDL-C formándose colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno. La POD cataliza la formación de un colorante azul a partir de peróxido de hidrógeno, 4-aminoantipirina y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxi-4 fluoroanilina (F-DAOS).

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Anticuerpos anti lipoproteína B humana

Tampón de Goods: 30 mmol/L; pH 7

CE: 0,8 UI/mL

F-DAOS: 0,20 mmol/L

CHOD: 4,4 UI/mL

4-aminoantipirina: 0,67 mmol/L

POD: 1,7 UI/mL

Detergente

Ascorbato oxidasa: 2 UI/mL

Conservante

Tiene una estabilidad de 30 días a bordo del equipo y el límite de medida es 2-180 mg/dL.

No se encontraron interferencias con bilirrubina (hasta 40 mg/dL), hemoglobina (500 mg/dL), ácido ascórbico (20 mg/dL) ni por hiperlipemia (empleando una solución Intralipid de 900 mg/dL).

3.2.3.- TRIGLICÉRIDOS

Para la determinación de triglicéridos se emplearon los siguientes reactivos:

Roche Diagnostics – TRIGL – Triglicéridos(74)

Test enzimático colorimétrico, estandarizado frente al IDMS. Se realiza una medición a un punto y con lectura principal a 505 nm y secundaria a 700 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

El presente método se basa en el trabajo de Wahlefeld empleando una LPL obtenida de microorganismos para hidrolizar completa y rápidamente triglicéridos a glicerol, con la oxidación subsiguiente a dihidroxiacetonafofato y peróxido de hidrógeno, gracias a la GK y a la glicerol fosfato oxidasa (GPO). El peróxido de hidrógeno formado reacciona bajo la acción catalítica de la POD con la AAP y 4-clorofenol para formar un colorante rojo en una reacción de punto final según Trinder. La intensidad cromática

del colorante rojo formado es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos y puede medirse fotométricamente (Figura 5).

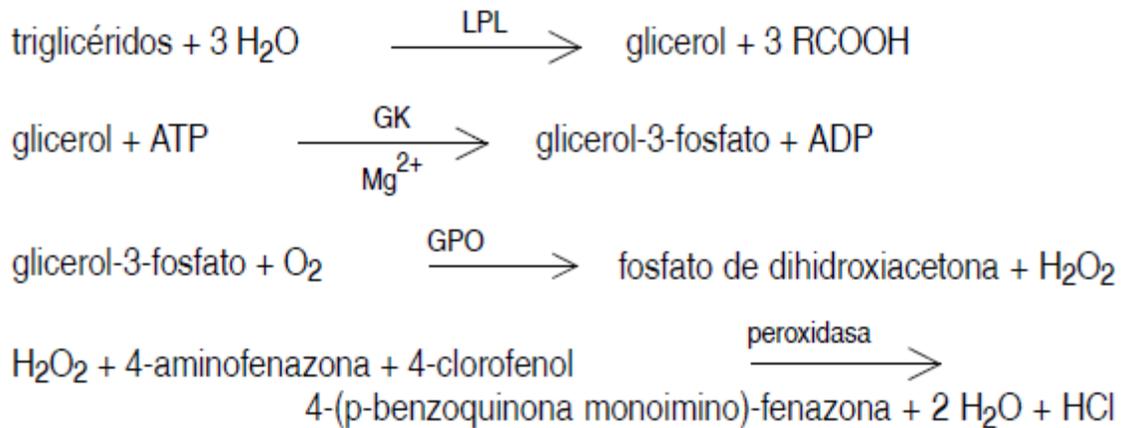


FIGURA 5.- ESQUEMA DE LA REACCIÓN DE MEDIDA DE TRIGLICÉRIDOS CON EL REACTIVO DE ROCHE DIAGNOSTICS

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Tampón PIPES: 50 mmol/L; pH 6,8	LPL (<i>Pseudomonas</i> sp.): $\geq 83 \mu\text{kat/L}$
Mg ²⁺ : 40 mmol/L	GK (<i>Bacillus stearothermophilus</i>): $\geq 3 \mu\text{kat/L}$
Colato sódico: 0,20 mmol/L	GPO (<i>E. coli</i>): $\geq 41 \mu\text{kat/L}$
Adenosín trifosfato (ATP): $\geq 1,4 \text{ mmol/L}$	POD (rábano picante): $\geq 1,6 \mu\text{kat/L}$
AAP: $\geq 0,13 \text{ mmol/L}$	Conservante
4-clorofenol: 4,7 mmol/L	

Tiene una estabilidad de 28 días a bordo del equipo y el límite de medida es 8,85-885 mg/dL.

Las limitaciones e interferencias se determinan midiendo la capacidad de recuperación ($\pm 10\%$) de triglicéridos, a partir de una solución con una concentración de 203 mg/dL. No se encuentra interferencia con bilirrubina conjugada (hasta 10

mg/dL), bilirrubina no conjugada (35 mg/dL) ni hemólisis (hemoglobina hasta 700 mg/dL). Las muestras extremadamente lipémicas (>3000 mg/dL de triglicéridos) pueden producir resultados normales. La presencia de glicerol endógeno sin esterificar puede provocar resultados falsamente elevados de triglicéridos séricos. No se han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso común en concentraciones terapéuticas, salvo con el ácido ascórbico y el dobesilato de calcio, que causan valores de triglicéridos falsamente bajos. Se han detectado interferencias en casos muy raros debidos a gammapatías, particularmente con inmunoglobulina M (macroglobulinemia de Waldenstroem).

Siemens Healthcare – Trig (75)

Test enzimático colorimétrico, estandarizado frente al IDMS desarrollado por el NIST. Se realiza una medición a un punto y con lectura principal a 505 nm y secundaria a 694 nm, con calibración lineal a 2 puntos. Se sigue el mismo principio de reacción que en el método descrito previamente.

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Reactivo 1.-

4-clorofenol: 5,4 mmol/L

GPO: $\geq 1,5$ U/mL

POD: $\geq 0,5$ U/mL

Azida sódica: 0,05%

GK: $\geq 0,4$ U/mL

Reactivo 2.-

AAP: 0,4 mmol/L

Azida sódica: 0,05%

Lipasas: 150 U/mL

Tiene una estabilidad de 45 días a bordo del equipo y el límite de medida es 0-550 mg/dL.

Las limitaciones e interferencias se determinan midiendo la capacidad de recuperación ($\pm 10\%$) de triglicéridos, a partir de una solución con una concentración de 89 mg/dL. Se encuentra interferencia con bilirrubina no conjugada (16 mg/dL) y hemólisis (hemoglobina hasta 525 mg/dL).

Abbott – Triglicéridos (76)

Test enzimático colorimétrico. Se realiza una medición a un punto y con lectura principal a 500 nm y secundaria a 660 nm, con calibración lineal a 2 puntos. Se sigue el mismo principio de reacción que en los anteriores métodos descritos para triglicéridos aunque se emplea 4-aminoantipirina en vez de AAP.

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

ATP: 2,5 mmol/L	POD (rábano picante): >2000 U/L
Mg ²⁺ : 2,5 mmol/L	GK: >600 U/L
4-aminoantipirina: 0,4 mmol/L	GPO: >6000 U/L
4-clorofenol: 2 mmol/L	LPL: >3000 U/L

Tiene una estabilidad de 42 días a bordo del equipo y el límite de medida es 5-1420 mg/dL.

No se encontraron interferencias con bilirrubina (hasta 7,5 mg/dL), hemoglobina (750 mg/dL) ni ácido ascórbico (3 mg/dL).

Beckman-Coulter– Triglicéridos (77)

Test enzimático colorimétrico. Se realiza una medición a un punto y con lectura principal a 660 nm y secundaria a 800 nm, con calibración lineal a 2 puntos. Se sigue el mismo principio de reacción que en los anteriores métodos, empleando en este caso

en la reacción final AAP y sal disódica de N,N-bis (4-sulfobutil)-3,5-dimetilanilina (MADB).

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Tampón PIPES: 50 mmol/L; pH 7,5	GK: 500 U/L
ATP: 1,4 mmol/L	GPO: 1480 U/L
Mg ²⁺ : 4,6 mmol/L	LPL: 1,5 U/L
4-aminoantipirina: 0,5 mmol/L	Ascorbato oxidasa: 1480 U/L
MADB: 0,25 mmol/L	Conservantes
POD: 980 U/L	

Tiene una estabilidad de 30 días a bordo del equipo y el límite de medida es 10-1000 mg/dL.

No se encontraron interferencias con bilirrubina (hasta 40 mg/dL), hemoglobina (500 mg/dL) ni ácido ascórbico (20 mg/dL).

3.2.4.- LDL-C

Para la determinación de LDL-C de manera directa se emplearon los siguientes reactivos:

Roche Diagnostics – LDLC2 – LDL-C segunda generación (78)

Test colorimétrico enzimático homogéneo, estandarizado frente al método de referencia de BQ establecido por el CDC. Se realiza una medición a dos puntos con lectura principal a 600 nm y secundaria a 700 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

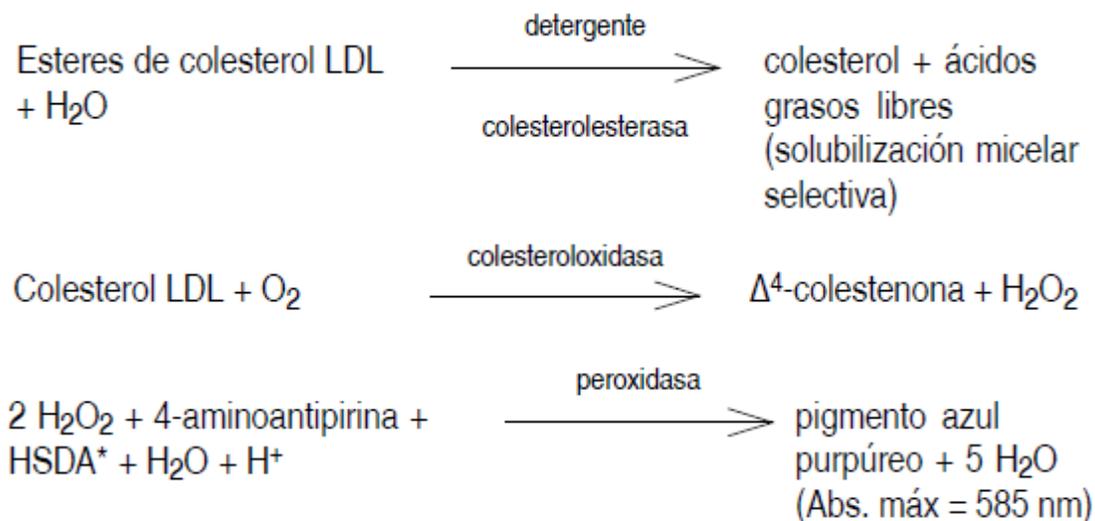


FIGURA 6.- ESQUEMA DE LA REACCIÓN DE MEDIDA DE LDL-C CON EL REACTIVO DE ROCHE DIAGNOSTICS DE SEGUNDA GENERACIÓN

Tiene una estabilidad de 28 días a bordo del equipo y el límite de medida es 3,86-548 mg/dL.

Las limitaciones e interferencias se determinan midiendo la capacidad de recuperación ($\pm 10\%$) de LDL-C, a partir de una solución con una concentración de 154 mg/dL. No se encuentra interferencia con bilirrubina conjugada y no conjugada (hasta 60 mg/dL) ni hemólisis (hemoglobina hasta 1000 mg/dL). No se registran interferencias significativas por HDL ≤ 75 mg/dL, VLDL ≤ 140 mg/dL ni por quilomicrones (triglicéridos ≤ 2000 mg/dL). Tampoco con paneles de fármacos de uso común en concentraciones terapéuticas. El ácido ascórbico (hasta 50 mg/dL) no produce interferencias. En algunos pacientes con trastornos de la función hepática, los valores obtenidos de LDL-C presentan una desviación negativa considerable respecto de los obtenidos por BQ. Se han detectado interferencias en casos muy raros debidos a gammapatías, particularmente con inmunoglobulina M (macroglobulinemia de Waldenstroem).

Roche Diagnostics – LDLC3 – LDL-C tercera generación (79)

Test colorimétrico enzimático homogéneo, estandarizado frente al método de referencia de BQ establecido por el CDC. Se realiza una medición a dos puntos con lectura principal a 600 nm y secundaria a 700 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

A diferencia del reactivo de segunda generación, este reactivo emplea N-etil-N-(3-metilfenil)-N-succiniletildiamina (EMSE) en lugar de HDSA para formar un colorante rojo purpúreo (Figura 7).

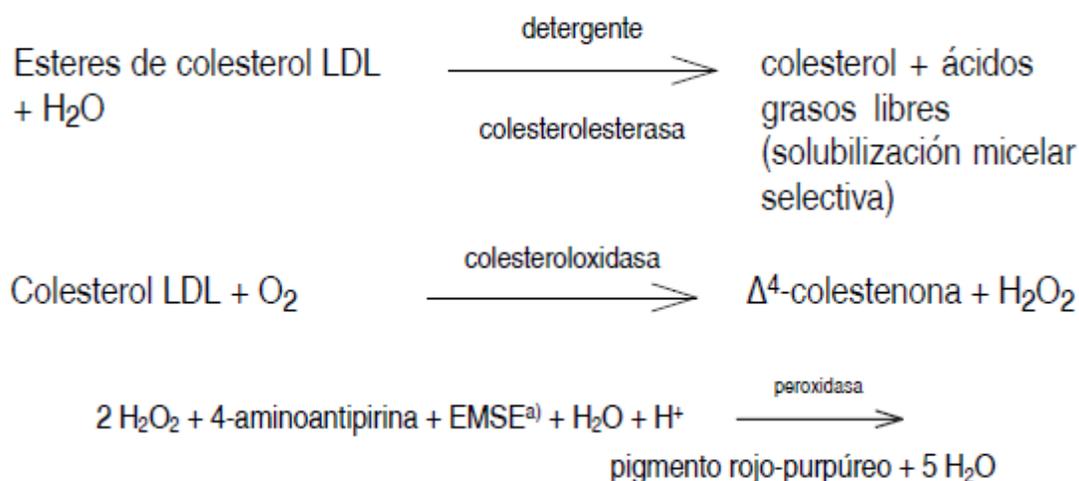


FIGURA 7.- ESQUEMA DE LA REACCIÓN DE MEDIDA DE LDL-C CON EL REACTIVO DE ROCHE DIAGNOSTICS DE TERCERA GENERACIÓN

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Reactivo 1.-

Tampón bis(2-hidroxietil)-amino-tris-(hidroximetil) metano: 20,1 mmol/L; pH 7,0

4-aminoantipirina: 0,98 mmol/L

Solución de albúmina sérica bovina (BSA): 4,0 g/L

Ascorbato oxidasa (*Acremonium* sp.):
≥66,7 μkat/L

POD (*Basidiomycetes* sp. recombinado):
≥166,7 μkat/L

Conservantes

Reactivo 2.-

Tampón MOPS: 20,1 mmol/L; pH 7,0	POD (<i>Basidiomycetes</i> sp. recombinado): ≥333,3 μkat/L
EMSE: 2,16 mmol/L	BSA: 4,0 g/L
CE (<i>Pseudomonas</i> sp.): ≥33,3 μkat/L	Detergentes
CHOD (<i>E. coli</i> recombinado): ≥31,7 μkat/L	Conservante

Tiene una estabilidad de 28 días a bordo del equipo y el límite de medida es 3,87-549 mg/dL.

Las limitaciones e interferencias se determinan midiendo la capacidad de recuperación ($\pm 10\%$) de LDL-C, a partir de muestras con una concentración mayor de 154,6 mg/dL o una recuperación de $\pm 15,5$ mg/dL en muestras con una concentración $\leq 154,6$ mg/dL. No se encuentra interferencia con bilirrubina conjugada y no conjugada (hasta 60 mg/dL) ni hemólisis (hemoglobina hasta 1000 mg/dL). No se registran interferencias significativas por HDL ≤ 117 mg/dL, VLDL ≤ 140 mg/dL ni por quilomicrones (triglicéridos ≤ 2000 mg/dL). No se han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso común en concentraciones terapéuticas, entre ellos niacina, simvastatina y clofibrato. El ácido ascórbico hasta 500 mg/dL no produce interferencias. Las intoxicaciones por paracetamol suelen tratarse con N-acetilcisteína. Tanto la N-acetilcisteína, usada en concentraciones terapéuticas como antídoto, como el metabolito de paracetamol y la N-acetil-p-benzoquinona imina, pueden causar valores falsamente bajos de LDL-C. La venopunción debe efectuarse antes de administrar metamizol, ya que si se realiza inmediatamente después o durante la administración, pueden obtenerse resultados falsamente bajos. En algunos pacientes con trastornos de la función hepática, los valores obtenidos de LDL-C presentan una desviación negativa considerable respecto de los obtenidos por BQ. En plasma tratado con EDTA, los valores pueden ser disminuidos en comparación con los valores séricos. Se han detectado interferencias en casos muy raros debidos a gammapatías, particularmente con inmunoglobulina M (macroglobulinemia de Waldenstroem).

Siemens Healthcare – D-LDL (80)

Test colorimétrico enzimático directo por eliminación de partículas, estandarizado frente al método de referencia establecido por el CDC. Se realiza una medición a un punto con lectura principal a 596 nm y secundaria a 694 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

Un agente tensioactivo selectivo solubiliza el colesterol de las partículas no LDL. Los ésteres de colesterol son hidrolizados por la CE y la CHOD y la enzima catalasa elimina el peróxido de hidrógeno generado. El segundo agente tensioactivo solubiliza el colesterol de las LDL de la muestra y la azida sódica inhibe la catalasa. El peróxido de hidrógeno generado por la acción de la CE y la CHOD se cuantifica por una reacción de punto final de Trinder. En la etapa final se emplea N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilnilina (TOOS) en vez de HSDA o EMSE, como ocurría en los reactivos descritos previamente.

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Reactivo 1.-

Tampón PIPES: 50 mmol/L; pH 7,0

CHOD: (*Nocardia*): ≥ 500 U/L

TOOS: 2,0 mmol/L

Catalasa (hígado bovino): ≥ 600 kU/L

CE (*Pseudomonas*): ≥ 600 U/L

Reactivo 2.-

Tampón de Goods: 50 mmol/L; pH 7,0

POD (rábano silvestre): ≥ 4 kU/L

4-aminoantipirina: 4 mmol/L

Azida sódica: 0,09%

Tiene una estabilidad de 14 días a bordo del equipo y el límite de medida es 0-1000 mg/dL.

Las limitaciones e interferencias se determinan midiendo la capacidad de recuperación ($\pm 10\%$) de LDL-C, a partir de una solución con una concentración de 98

mg/dL. No se encuentra interferencia con bilirrubina no conjugada (hasta 20 mg/dL), bilirrubina conjugada (32 mg/dL), hemólisis (hemoglobina hasta 810 mg/dL) ni ácido ascórbico (50 mg/dL). En muestras lipémicas (empleando concentraciones de 436 mg/dL de trioleína), se detecta un aumento de los valores de LDL-C, pero no así por concentrados de triglicéridos (hasta 1009 mg/dL).

Abbott - Direct LDL (81)

Test colorimétrico enzimático directo por eliminación de partículas. Se realiza una medición a un punto con lectura principal a 548 nm y secundaria a 660 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

La reacción tiene dos etapas. En la primera, un detergente solubiliza exclusivamente las partículas no-LDL. La CE y la CHOD consumen el colesterol liberado en una reacción incolora. En la segunda, otro detergente solubiliza las partículas de LDL restantes y un acoplador cromogénico permite la formación de color. La reacción enzimática con las LDL en presencia del acoplador conduce a la formación de color, que es proporcional a la cantidad de LDL-C presente en la muestra.

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Reactivo 1.-

Tampón ácido 2-morfolino etano sulfónico (MES): pH 6,3	POD (rábano): <1300 U/L
Detergente 1: <1%	4-aminoantipirina: <0,01%
CE (<i>Pseudomonas</i> sp.): <1500 U/L	Ácido ascórbico oxidasa (<i>Cucurbita</i> sp.): <3000 U/L
CHOD (<i>Cellulomonas</i> sp.): <1500 U/L	Conservantes

Reactivo 2.-

Tampón MES: pH 6,3	DSBmT: <1,0 mmol/L
Detergente 2: <1%	Conservante

Tiene una estabilidad de 28 días a bordo del equipo y el límite de medida es 1-800 mg/dL.

No se han encontrado interferencias por bilirrubina conjugada y no conjugada (hasta 20 mg/dL), hemoglobina (500 mg/dL), ácido ascórbico (50 mg/dL) y gammaglobulinas (5000 mg/dL). Con concentraciones de triglicéridos >1293 mg/dL no debe emplearse este reactivo.

Beckman-Coulter- LDL-Colesterol (82)

Test colorimétrico enzimático directo con protección enzimática. Realiza una medición a un punto con lectura principal a 600 nm y secundaria a 700 nm, con calibración lineal a 2 puntos.

Un agente protector impide la acción de la CE y CHOD sobre las partículas LDL, de modo que actúan sobre el resto de lipoproteínas y el peróxido de hidrógeno liberado es eliminado por la catalasa. Posteriormente, la azida sódica inactiva la catalasa y se elimina el agente protector, permitiendo la acción de las enzimas sobre el LDL-C. La reacción colorimétrica se da mediante el uso de 4-aminoantipirina y N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxi-4 fluoroanilina (HDAOS), que formarán un colorante azul.

Para la determinación se emplean los reactivos que contiene:

Azida sódica: 0,1%	Tampón de Goods: 25 mmol/L; pH 6,8
CE: 3,7 UI/mL	Catalasa: 743 UI/mL
CHOD: 3,7 UI/mL	HDAOS: 0,47 mmol/L
POD: 4,9 UI/mL	Detergente
4-aminoantipirina: 0,8 mmol/L	

Tiene una estabilidad de 30 días a bordo del equipo y el límite de medida es 10-400 mg/dL.

No se encontraron interferencias con bilirrubina (hasta 40 mg/dL), hemoglobina (500 mg/dL), lipemia (concentración de triglicéridos hasta 1000 mg/dL) ni ácido ascórbico (20 mg/dL). Se han detectado interferencias en casos muy raros debidos a gammapatías, particularmente con inmunoglobulina M (macroglobulinemia de Waldenstroem).

3.2.5.- LDL-C CALCULADO

Para la estimación del LDL-C se emplearon las siguientes ecuaciones (Figura 8):

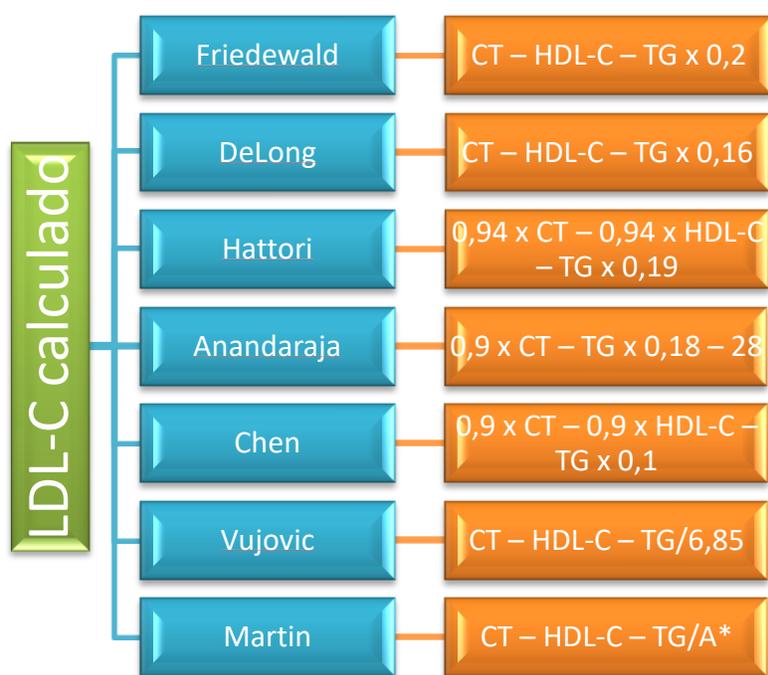


FIGURA 8.- ECUACIONES EMPLEADAS PARA LA ESTIMACIÓN DEL LDL-C. *PARA CONSULTAR LOS VALORES DE A EN LA FÓRMULA DE MARTIN *ET AL.* CONSULTAR TABLA 11

3.2.6.- HEMOGLOBINA GLICADA

Para la medición de la HbA1c se empleó el siguiente reactivo:

Sebia – Capillarys HbA1c (83)

La técnica está basada en el principio de la electroforesis capilar en solución libre y permite la separación y cuantificación de la fracción glicada A1c de la hemoglobina de la sangre humana. Las fracciones de la hemoglobina son separadas en capilares de sílice fundido, en función de su movilidad electroforética y flujo electroosmótico a voltaje elevado en un tampón alcalino (pH 9,4). El análisis se realiza en el hemolizado de glóbulos rojos recogidos en sangre total con EDTA-K2 o EDTA-K3 como anticoagulante, que es inyectado en el ánodo por aspiración. Para ello, se emplea una solución hemolizante. La separación se realiza a continuación aplicando una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de cada capilar. La detección directa de las hemoglobinas se efectúa por espectrofotometría en el lado catódico a 415 nm, que es la longitud de onda de absorción específica de las hemoglobinas.

La solución hemolizante, el tampón de electroforesis y la solución de lavado (empleada para limpiar los capilares entre muestra y muestra) son estables a temperatura ambiente una vez instalados en el equipo durante al menos 20 días.

Con esta técnica no se encuentran interferencias por triglicéridos (hasta 1120 mg/dL), bilirrubina (25,6 mg/dL), ácido ascórbico (60 mg/dL), urea (291 mg/dL), factor reumatoide (2178 IU/mL) ni glibenclamida (3 mg/dL). Además, la presencia de hemoglobina carbamilada (hasta un 8,1%), de hemoglobina fetal (15%), hemoglobina acetilada (9%) y de HbA1c lábil (10,5%) no interfiere en la cuantificación de la HbA1c. La presencia de las principales variantes de hemoglobina (hemoglobina S, C, D y E) no afectan tampoco al cálculo de la HbA1c, si bien no se pueden cuantificar las formas glicadas de dichas variantes. No se recomienda el estudio de HbA1c en pacientes que

hayan sufrido una hemorragia reciente, recibido transfusiones o en aquellos en los que la vida media de los hematíes esté reducida (anemia hemolítica, por ejemplo) ya que pueden obtenerse resultados inadecuados.

La linealidad se mantiene en concentraciones de HbA1c entre 4-14,7% y con una concentración de hemoglobina entre 1,4-31 g/dL.

3.3.- DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio consta de dos procesos de selección de muestras. En el primero de ellos, siguiendo los resultados del trabajo previo, se pretende valorar el efecto de valores extremos de HDL-C en el cálculo del LDL-C mediante diferentes fórmulas, así como la comparación entre diferentes técnicas y equipos para la determinación de LDL-C de manera directa y del resto de pruebas del perfil lipídico. En el segundo, el objetivo es valorar el efecto de la diabetes, tanto bien como mal controlada, sobre el rendimiento del LDL-C medido de manera directa y calculado, empleando diferentes fórmulas, así como el rendimiento de las pruebas del perfil lipídico entre diferentes reactivos y plataformas.

3.3.1.- VALORES EXTREMOS DE HDL-C

Selección y criterios de inclusión/exclusión

Se seleccionaron muestras de pacientes que acudieron a control analítico rutinario en el Complejo Hospitalario de Toledo entre Mayo y Junio de 2012. La obtención de sangre se realizó en ayunas por venopunción. Las determinaciones del perfil lipídico en muestras de suero se realizaron en un Cobas c711 empleando los reactivos de

colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C (segunda generación) de Roche Diagnostics. Los criterios de inclusión fueron:

- ✓ HDL-C ≥ 100 mg/dL
- ✓ HDL-C ≤ 20 mg/dL

Los criterios de exclusión, fijados en base al trabajo de Miller *et al.* 2010, fueron:

- ✗ Colesterol total ≥ 300 mg/dL
- ✗ Triglicéridos ≥ 300 mg/dL
- ✗ Colesterol total ≥ 250 mg/dL y triglicéridos ≥ 200 mg/dL

Se seleccionaron 105 muestras con HDL-C ≥ 100 mg/dL (grupo HDL-C alto) y 105 muestras con HDL-C ≤ 20 mg/dL (grupo HDL-C bajo). Dichas muestras fueron separadas en 4 alícuotas en las siguientes 8 horas tras la obtención de la muestra y congeladas a -80°C para el análisis posterior.

Las alícuotas fueron transportadas en hielo seco a los centros participantes en este estudio para el posterior análisis del perfil lipídico para evitar sesgos en la comparación debido al proceso de congelación de la muestra:

- Complejo Hospitalario de Toledo - Cobas c711 - Reactivos de Roche Diagnostics para colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C (segunda generación)
- Hospital General Universitario de Guadalajara - Architect ci8200 - Reactivos de Abbott para colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C
- Hospital General Universitario de Ciudad Real - Advia 2400 - Reactivos de Siemens Healthcare para colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C
- Hospital Universitario de Fuenlabrada - Olympus AU2700 - Reactivos de Beckman-Coulter para colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C

Análisis estadístico

Se empleó el test de Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de la distribución de resultados en ambos grupos de estudio. En función de los resultados, se empleó la

prueba de Friedman con análisis *post-hoc* usando el test de Dunn para muestras apareadas o el análisis de la varianza (ANOVA) de una vía para muestras apareadas con análisis *post-hoc* empleando la prueba de Tukey o la de Dunnett, con el fin de establecer si las diferencias entre los diferentes métodos eran significativas. Así mismo, se emplean las pruebas de *t* test y de Wilcoxon para muestras apareadas. Los resultados con un *p*-valor <0,05 fueron considerados como significativos.

La comparación de métodos para la intercambiabilidad de resultados se llevó a cabo empleando la regresión de Passing-Bablok y el método de Bland-Altman (85,86). Para considerar que los métodos son intercambiables en el método de Passing-Bablok se requiere que el intervalo de confianza de la pendiente incluya el 1 y el del punto de corte el 0, mientras que en el caso de Bland-Altman el intervalo de confianza de la diferencia debe incluir el 0. Los intervalos de confianza considerados utilizan un nivel de confianza del 95%.

Se clasificaron los pacientes en función del riesgo de ECV siguiendo los rangos definidos por la NCEP en el ATPIII:

1. <100 mg/dL
2. 100-129 mg/dL
3. 130-159 mg/dL
4. ≥160 mg/dL

Además, para valorar el rendimiento en valores de LDL-C bajos, se incluyó también en el análisis un grupo de riesgo de <70 mg/dL.

Para valorar las discrepancias en la clasificación de riesgo se empleó el índice kappa de Cohen (K), con pesos ponderados (Figura 9), así como el porcentaje de errores de clasificación, definido como el n° de muestras con discrepancias de clasificación entre dos métodos/n° de muestras totales, y los errores con 2 o más categorías de diferencia sobre el total de errores. Además, se empleó el índice K para más de 3 observadores con 3 o más categorías de clasificación, para valorar la concordancia

conjunta de la clasificación de riesgo. El índice K se interpreta de manera general siguiendo el esquema de la Figura 10.

Ponderación con 5 categorías					
	C1	C2	C3	C4	C5
C1	1,00	0,65	0,75	0,85	0,95
C2	0,65	1,00	0,65	0,75	0,85
C3	0,75	0,65	1,00	0,65	0,75
C4	0,85	0,75	0,65	1,00	0,65
C5	0,95	0,85	0,75	0,65	1,00

Ponderación con 4 categorías				
	C1	C2	C3	C4
C1	1,00	0,75	0,85	0,95
C2	0,75	1,00	0,75	0,85
C3	0,85	0,75	1,00	0,75
C4	0,95	0,85	0,75	1,00

FIGURA 9.- COEFICIENTES EMPLEADOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE KAPPA (K) DE COHEN PONDERADO SEGÚN LAS CATEGORÍAS (C) EMPLEADAS EN LA CLASIFICACIÓN DE INDIVIDUOS

Índice K	Grado de concordancia
<0,20	Pobre
0,21 – 0,40	Débil
0,41 – 0,60	Moderada
0,61 – 0,80	Buena
0,81 – 1,00	Muy buena

FIGURA 10.- INTERPRETACIÓN DEL GRADO DE CONCORDANCIA SEGÚN EL RESULTADO DEL ÍNDICE KAPPA (K) DE COHEN

Para el análisis estadístico se emplearon los programas MedCalc v7.3, SPSS Statistics v19.0, GraphPad Prism v7, Epidat v4.2 y la página web <http://www.vassarstats.net>.

3.3.2.- EFECTO DE LA DIABETES

Selección y criterios de inclusión/exclusión

Se seleccionaron muestras de pacientes diabéticos y sanos que acudieron a control analítico rutinario en el Hospital Universitario Moncloa. La obtención de sangre se realizó en ayunas por venopunción. Las determinaciones del perfil lipídico en muestras de suero se realizaron en un Advia 1800 empleando los reactivos de colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C de Siemens Healthcare. La determinación de HbA1c en muestras de sangre total EDTA se realizó en un Capillarys 2 Flex Piercing empleando los reactivos de Sebia correspondientes.

Los criterios de inclusión fueron:

- ✓ Pacientes diabéticos tipo I o II
 - Bueno control metabólico (HbA1c \leq 7%)
 - Mal control metabólico (HbA1c $>$ 7%)
- ✓ Pacientes sanos

Los criterios de exclusión fueron:

- ✗ Hepatopatía
- ✗ Insuficiencia renal
- ✗ Marcada dislipemia (colesterol total \geq 300 mg/dL, triglicéridos \geq 300 mg/dL o colesterol total \geq 250 mg/dL y triglicéridos \geq 200 mg/dL), fijados en base al trabajo de Miller et al. 2010
- ✗ Otra patología de base

Se seleccionaron muestras de 35 pacientes para el grupo de diabéticos mal controlado, 35 para el grupo de diabéticos bien controlados y 30 para el grupo control. Las muestras fueron separadas en 4 alícuotas y congeladas a -25°C para el análisis posterior.

Las alícuotas fueron transportadas congeladas a los centros participantes en este estudio para el posterior análisis del perfil lipídico, con el fin de evitar sesgos en la comparación debido al proceso de congelación de la muestra:

- Complejo Hospitalario de Toledo - Cobas c711 - Reactivos de Roche Diagnostics para colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C (tercera generación)
- Hospital Santa Bárbara (Puertollano) - Architect c16000 - Reactivos de Abbott para colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C
- Hospital Universitario Moncloa - Advia 1800 - Reactivos de Siemens Healthcare para colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C
- Hospital Universitario de Fuenlabrada - Olympus AU2700 - Reactivos de Beckman-Coulter para colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C

Análisis estadístico

Se empleó el test de Shapiro-Wilk para valorar la normalidad de los parámetros analizados. Se realizó un test ANOVA de un factor (análisis *post-hoc* con la prueba de Tukey) o prueba de Kruskal-Wallis (análisis *post-hoc* con test de Dunn) para valorar la existencia de diferencias en el perfil lipídico de los 3 grupos de pacientes. Para el análisis del perfil lipídico entre los diferentes equipos, se realizó un test de ANOVA para un factor con muestras apareadas (análisis *post-hoc* con prueba de Tukey) o la prueba de Friedman (análisis *post-hoc* con el test de Dunn). Así mismo, se emplearon las pruebas de *t* test y de Wilcoxon para muestras apareadas. Los resultados con un *p*-valor <0,05 fueron considerados como significativos.

Se clasificaron los pacientes en función del riesgo de ECV siguiendo los rangos definidos por la NCEP en el ATPIII:

1. <100 mg/dL
2. 100-129 mg/dL
3. 130-159 mg/dL
4. ≥160 mg/dL

Además, para valorar el rendimiento en valores de LDL-C bajos, se incluyó también en el análisis un grupo de riesgo de <70 mg/dL.

Para valorar las discrepancias en la clasificación de riesgo se empleó el índice K de Cohen, con pesos ponderados (Figura 9), y el índice K para más de 3 observadores con 3 o más categorías de clasificación, para valorar la concordancia conjunta de la clasificación de riesgo. El índice K se interpreta de manera general siguiendo el esquema de la Figura 10.

La comparación de métodos para la intercambiabilidad de resultados se llevó a cabo empleando la regresión de Passing-Bablok y el método de Bland-Altman. Para considerar que los métodos son intercambiables en el método de Passing-Bablok se requiere que el intervalo de confianza de la pendiente incluya el 1 y el del punto de corte el 0, mientras que en el caso de Bland-Altman el intervalo de confianza de la diferencia debe incluir el 0. Los intervalos de confianza considerados utilizan un nivel de confianza del 95%.

Para el análisis estadístico se emplearon los programas MedCalc v7.3, SPSS Statistics v19.0, GraphPad Prism v7, Epidat v4.2 y la página web <http://www.vassarstats.net>.

Resultados

4.- RESULTADOS

4.1.- VALORES EXTREMOS DE HDL-C

4.1.1.- ANÁLISIS DE COLESTEROL TOTAL, TRIGLICÉRIDOS, HDL-C Y LDL-C

A. Estadística básica

Los resultados del perfil lipídico así como del test de normalidad de Shapiro-Wilk, tanto para el grupo de HDL-C ≤ 20 mg/dL como para el de ≥ 100 mg/dL en los 4 analizadores, se pueden ver en la Tabla 13. En el grupo de HDL-C bajo, ningún parámetro sigue una distribución normal. En el grupo de HDL-C alto, tanto los resultados de colesterol total como los de LDL-C siguen una distribución normal en los 4 equipos.

En el grupo de HDL-C ≤ 20 mg/dL, la prueba de Friedman indica que existen diferencias significativas ($p < 0,001$) en todos los parámetros del perfil lipídico entre los diferentes laboratorios. El test *post-hoc* de Dunn revela que no existen diferencias entre el colesterol total de Cobas c711, Architect ci8200 y AU2700 ni entre los triglicéridos del par Cobas c711-Advia 2400 (Tabla 14).

En el grupo de HDL-C ≥ 100 mg/dL, los test de ANOVA y de Friedman indican diferencias significativas ($p < 0,001$) entre todos los parámetros del perfil lipídico en los 4 analizadores. El análisis *post-hoc* refleja que no existen diferencias significativas entre los triglicéridos del par Architect ci8200-AU2700 ni entre el LDL-C medido de la pareja Architect ci8200-Advia 2400 (Tabla 14).

Grupo HDL-C ≤20 mg/dL

Edad	Media	68,2
	DS	16,3
	Mínimo	21,0
	Máximo	95,0

Grupo HDL-C ≥100 mg/dL

Edad	Media	54,7
	DS	17,3
	Mínimo	21,0
	Máximo	86,0

Grupo HDL-C ≤20 mg/dL

	Colesterol total				HDL-C				Triglicéridos				LDL-C			
	Media	DS	Intervalo	S-W (p-valor)	Media	DS	Intervalo	S-W (p-valor)	Media	DS	Intervalo	S-W (p-valor)	Media	DS	Intervalo	S-W (p-valor)
Cobas c711	116,6	47,1	40 - 276	<0,001	13,3	5,2	3 - 20	<0,001	143,7	66,1	34 - 313	0,001	51,4	30,7	1 - 138	<0,001
ci8200	115,1	44,0	43 - 251	<0,001	15,4	6,6	5 - 41	<0,001	149,0	67,5	44 - 327	<0,001	64,0	31,2	11 - 154	0,001
Advia 2400	112,7	43,0	45 - 256	<0,001	21,2	7,9	2 - 52	<0,001	140,8	63,1	47 - 306	<0,001	72,1	35,2	12 - 185	0,001
AU2700	113,9	46,6	39 - 265	<0,001	18,2	6,2	5 - 48	<0,001	154,4	71,4	51 - 343	<0,001	82,5	37,8	19 - 205	<0,001

Grupo HDL-C ≥100 mg/dL

	Colesterol total				HDL-C				Triglicéridos				LDL-C			
	Media	DS	Intervalo	S-W (p-valor)	Media	DS	Intervalo	S-W (p-valor)	Media	DS	Intervalo	S-W (p-valor)	Media	DS	Intervalo	S-W (p-valor)
Cobas c711	245,4	27,8	182 - 307	0,363	104,7	7,6	93 - 130	<0,001	83,5	32,1	39 - 243	<0,001	112,6	25,6	53 - 167	0,349
ci8200	237,1	26,1	177 - 295	0,594	98,0	8,5	85 - 132	<0,001	86,8	32,2	40 - 244	<0,001	114,5	26,6	58 - 174	0,303
Advia 2400	228,2	27,3	168 - 287	0,492	112,2	10,0	95 - 155	<0,001	76,6	30,4	31 - 222	<0,001	115,1	25,4	60 - 177	0,755
AU2700	232,2	30,2	169 - 304	0,360	93,7	7,3	83 - 123	<0,001	86,5	33,2	41 - 249	<0,001	136,8	23,5	81 - 192	0,665

TABLA 13.- DATOS DE EDAD MEDIA, DESVIACIÓN TÍPICA (DS), MÍNIMO Y MÁXIMO Y RESULTADOS DEL PERFIL LIPÍDICO CON MEDIA, DESVIACIÓN TÍPICA (DS), INTERVALO Y P-VALOR DE LA PRUEBA DE SHAPIRO-WILK (S-W) EN CADA UNO DE LOS EQUIPOS Y EN LOS 2 GRUPOS DE HDL-C ESTUDIADOS. SE MARCAN EN VERDE LOS RESULTADOS NO SIGNIFICATIVOS

	CT		HDL-C		TG		LDL-C	
	HDL-C ≤20 mg/dL	HDL-C ≥100 mg/dL						
Cobas c711 ci8200	>0,999	<0,001	0,025	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,049
Cobas c711 Advia 2400	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,238	<0,001	<0,001	0,004
Cobas c711 AU2700	0,053	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ci8200 Advia 2400	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,840
ci8200 AU2700	0,288	0,006	<0,001	<0,001	<0,001	0,940	<0,001	<0,001
Advia 2400 AU2700	0,033	0,032	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

TABLA 14.- RESULTADOS DE P-VALOR EN LAS PRUEBAS *POST-HOC* DE TUKEY (COLESTEROL TOTAL Y LDL-C EN EL GRUPO DE HDL-C ≥100 MG/DL) Y DUNN PARA COLESTEROL TOTAL (CT), HDL-C, TRIGLICÉRIDOS (TG) Y LDL-C EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO Y ENTRE TODOS LOS ANALIZADORES. SE MARCAN EN VERDE LOS RESULTADOS NO SIGNIFICATIVOS

B. Comparación de métodos

El estudio de comparación de métodos (Tabla 15) muestra que sólo en el colesterol total entre Advia 2400 y AU2700, en el grupo de HDL-C elevado, se cumplen los criterios definidos para la regresión de Passing-Bablok y la prueba de Bland-Altman. En los triglicéridos, se observan las mayores discrepancias entre los 4 equipos. Para el LDL-C, en el grupo de HDL-C ≥100 mg/dL se observa una mejor correlación entre los diferentes laboratorios, a excepción de con el AU2700.

C. Clasificación de riesgo

Para valorar si las diferencias entre los métodos directos para el LDL-C pueden afectar a la clasificación de riesgo de los pacientes se calculó el índice K ponderado, así como el porcentaje de errores de clasificación y los errores con 2 o más categorías de diferencia entre los diferentes laboratorios (Tabla 16A). Como es de esperar, cuando el nº de discrepancias es menor los índices K obtenidos son más elevados. Los mejores

grados de concordancia se obtienen entre Cobas c711 y Architect ci8200 y Architect ci8200 y Advia 2400.

El resultado del índice K, para el LDL-C medido entre todos los laboratorios, con 4 categorías de clasificación es 0,49 en el grupo de HDL-C bajo y 0,37 en el de HDL-C elevado.

		HDL-C ≤20 mg/dL			HDL-C ≥100 mg/dL		
		PB pendiente	PB punto de corte	BA diferencia	PB pendiente	PB punto de corte	BA diferencia
CT	Cobas c711 ci8200	0,94 a 0,98	2,3 a 5,9	-2,6 a -0,4	0,91 a 0,96	0,4 a 14,3	-9,4 a -7,2
	Cobas c711 Advia 2400	0,90 a 0,94	3,3 a 7,6	-5,2 a -2,7	0,92 a 1,04	-27,7 a 1,6	-19,2 a -15,3
	Cobas c711 AU2700	0,97 a 1,03	-4,1 a 2,3	-3,9 a -1,6	0,97 a 1,14	-39,6 a 1,8	-16,7 a -9,7
	ci8200 Advia 2400	0,94 a 0,98	-1,1 a 3,3	-3,6 a -1,2	1,00 a 1,10	-32,5 a -10,0	-10,8 a -7,2
	ci8200 AU2700	1,03 a 1,07	-7,5 a -3,7	-2,2 a -0,1	1,03 a 1,23	-52,2 a -1,7	-8,7 a -1,1
	Advia 2400 AU2700	1,05 a 1,12	-10,4 a -3,2	-0,3 a 2,7	0,97 a 1,28	-55,0 a 16,0	-0,1 a 8,2
TG	Cobas c711 ci8200	1,00 a 1,03	0,4 a 5,0	4,2 a 6,4	1,00 a 1,02	1,5 a 3,0	2,9 a 3,8
	Cobas c711 Advia 2400	0,93 a 0,96	1,3 a 5,6	-4,4 a -1,4	0,94 a 0,98	-5,7 a -2,6	-7,6 a -6,1
	Cobas c711 AU2700	1,05 a 1,10	-4,2 a 1,8	9,1 a 12,5	1,02 a 1,07	-2,6 a 1,3	2,2 a 3,9
	ci8200 Advia 2400	0,91 a 0,94	-0,8 a 4,5	-9,8 a -6,6	0,93 a 0,97	-7,8 a -4,8	-10,9 a -9,5
	ci8200 AU2700	1,02 a 1,07	-4,6 a 0,6	4,0 a 6,9	1,00 a 1,06	-5,3 a -1,0	-1,2 a 0,6
	Advia 2400 AU2700	1,12 a 1,15	-7,5 a -3,3	11,8 a 15,6	1,06 a 1,12	1,4 a 5,9	8,8 a 11,0

TABLA 15.- RESULTADOS DE REGRESIÓN DE PASSING-BABLOK (PB) PARA PENDIENTE Y PUNTO DE CORTE Y DE DIFERENCIA PARA PRUEBA DE BLAND-ALTMAN (BA) PARA LAS PRUEBAS DEL PERFIL LIPÍDICO EN AMBOS GRUPOS DE HDL-C. SE MARCAN CON FONDO NARANJA AQUELLOS RESULTADOS QUE CUMPLEN LOS CRITERIOS DEFINIDOS PARA PASSING-BABLOK, BLAND-ALTMAN O AMBOS

		HDL-C ≤ 20 mg/dL			HDL-C ≥ 100 mg/dL		
		PB pendiente	PB punto de corte	BA diferencia	PB pendiente	PB punto de corte	BA diferencia
HDL-C	Cobas c711 ci8200	1,00 a 1,33	-2,7 a 2,0	1,4 a 2,8	1,00 a 1,30	-38,6 a -7,0	-7,6 a -5,9
	Cobas c711 Advia 2400	1,14 a 1,88	-4,3 a 5,3	6,7 a 9,2	1,20 a 1,50	-45,0 a -13,6	6,5 a 8,5
	Cobas c711 AU2700	0,88 a 1,18	1,9 a 5,6	4,0 a 5,8	0,87 a 1,00	-11,0 a 2,2	-11,8 a -10,2
	ci8200 Advia 2400	1,00 a 1,29	0,7 a 5,0	5,0 a 6,6	1,05 a 1,25	-10,5 a 9,0	13,4 a 15,1
	ci8200 AU2700	0,80 a 1,00	3,0 a 5,6	2,3 a 3,3	0,77 a 1,00	-4,0 a 19,1	-5,2 a -3,3
	Advia 2400 AU2700	0,71 a 0,89	-0,3 a 3,6	-3,8 a -2,3	0,67 a 0,80	4,4 a 19,3	-19,5 a -17,5

LDL-C	Cobas c711 ci8200	0,94 a 1,06	7,6 a 12,8	10,4 a 14,9	1,00 a 1,06	- 5,4 a 1,0	1,0 a 2,8
	Cobas c711 Advia 2400	1,02 a 1,19	7,9 a 15,9	17,5 a 23,9	0,93 a 1,03	- 1,1 a 10,9	1,2 a 3,8
	Cobas c711 AU2700	0,99 a 1,20	16,6 a 26,4	26,8 a 35,3	0,88 a 0,95	29,7 a 38,1	22,7 a 25,9
	ci8200 Advia 2400	1,08 a 1,15	- 1,9 a 2,9	6,7 a 9,5	0,92 a 1,00	1,0 a 10,4	- 0,4 a 1,6
	ci8200 AU2700	1,00 a 1,19	4,2 a 13,0	15,5 a 21,3	0,85 a 0,93	29,9 a 39,8	20,6 a 24,2
	Advia 2400 AU2700	0,92 a 1,07	3,8 a 12,5	7,9 a 12,8	0,87 a 1,00	21,0 a 36,0	19,9 a 23,7

TABLA 15 (CONTINUACIÓN).- RESULTADOS DE REGRESIÓN DE PASSING-BABLOK (PB) PARA PENDIENTE Y PUNTO DE CORTE Y DE DIFERENCIA PARA PRUEBA DE BLAND-ALTMAN (BA) PARA LAS PRUEBAS DEL PERFIL LIPÍDICO EN AMBOS GRUPOS DE HDL-C. SE MARCAN CON FONDO NARANJA AQUELLOS RESULTADOS QUE CUMPLEN LOS CRITERIOS DEFINIDOS PARA PASSING-BABLOK, BLAND-ALTMAN O AMBOS

Con el fin de valorar el efecto en la clasificación de riesgo de la inclusión de un grupo con LDL-C < 70 mg/dL, se repitió el análisis incluyendo dicha categoría (Tabla 16B), observándose, en general, un aumento del porcentaje de discrepancia y de los errores de 2 o más categorías. Los resultados, en este caso, del índice K para 4 observadores con 5 categorías de clasificación fueron 0,50 para el grupo de HDL-C bajo y 0,36 para el de HDL-C elevado.

A)

	HDL-C \leq 20 mg/dL			HDL-C \geq 100 mg/dL		
	% Discrepancias	Error de 2 o más categorías	K	% Discrepancias	Error de 2 o más categorías	K
Cobas c711 ci8200	5,7	1/6	0,72	15,2	0/16	0,74
Cobas c711 Advia 2400	16,2	3/17	0,34	25,7	0/27	0,56
Cobas c711 AU2700	22,9	6/24	0,23	73,3	3/77	-0,22
ci8200 Advia 2400	12,4	1/13	0,51	16,2	0/17	0,72
ci8200 AU2700	20,0	4/21	0,33	68,6	3/72	-0,13
Advia 2400 AU2700	14,3	2/15	0,55	61,9	3/65	0,59

B)

	HDL-C \leq 20 mg/dL			HDL-C \geq 100 mg/dL		
	% Discrepancias	Error de 2 o más categorías	K	% Discrepancias	Error de 2 o más categorías	K
Cobas c711 ci8200	17,1	2/18	0,61	15,2	0/16	0,75
Cobas c711 Advia 2400	29,5	6/31	0,36	26,7	0/28	0,57
Cobas c711 AU2700	44,8	12/47	0,19	76,2	4/80	-0,21
ci8200 Advia 2400	17,1	1/18	0,65	17,1	0/18	0,72
ci8200 AU2700	37,1	5/39	0,31	71,4	4/75	-0,13
Advia 2400 AU2700	26,7	3/28	0,51	64,8	3/68	-0,02

TABLA 16.- A) COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DIRECTOS DE MEDIDA DEL LDL-C MEDIANTE EL PORCENTAJE DE DISCREPANCIAS EN LAS CATEGORÍAS DE RIESGO SEGÚN LA NCEP, NÚMERO DE ERRORES DE 2 Ó MÁS CATEGORÍAS DE DIFERENCIA/NÚMERO TOTAL DE DISCREPANCIAS E ÍNDICE KAPPA (K) DE COHEN PONDERADO EN AMBOS GRUPOS DE HDL-C EN ESTUDIO. B) MISMO ANÁLISIS INCLUYENDO GRUPO DE LDL-C <70 MG/DL

4.1.2.- ANÁLISIS LDL-C FÓRMULA DE FRIEDEWALD

A) Estadística básica

Con respecto al LDL-C calculado mediante la FF, en el grupo de HDL-C ≤ 20 mg/dL, se obtiene que los resultados no siguen una distribución normal ($p < 0,001$) en los 4 analizadores (Tabla 17). El test de Friedman con el análisis *post-hoc* mediante la prueba de Dunn revela diferencias significativas ($p < 0,001$) entre el LDL-C calculado por la FF (LDL-FF) salvo en el par Advia 2400-AU2700 (Tabla 18A), mientras que la prueba de Wilcoxon para muestras apareadas indica diferencias entre el LDL-FF y el LDL-C medido con el método directo ($p < 0,001$) para cada laboratorio (Tabla 18B).

En el grupo de ≥ 100 mg/dL, los resultados siguen una distribución normal en los 4 laboratorios (Tabla 17) y el test de ANOVA con análisis *post-hoc* de Tukey indica diferencias significativas ($p < 0,001$) entre el LDL-FF del Advia 2400 con el resto de autoanalizadores (Tabla 18A). Así mismo, el *t* test indica que existen diferencias significativas ($p < 0,001$) entre el LDL-C medido y el LDL-FF de los 4 laboratorios (Tabla 18B).

HDL-C ≤ 20 mg/dL	Media	DS	Intervalo	S-W (<i>p</i> -valor)
LDL-FF Cobas c711	74,6	40,7	6 - 234	<0,001
LDL-FF ci8200	69,9	36,4	15 - 203	<0,001
LDL-FF Advia 2400	63,3	34,6	14 - 195	<0,001
LDL-FF AU2700	64,8	38,7	10 - 205	<0,001
HDL-C ≥ 100 mg/dL				
LDL-FF Cobas c711	124,0	27,2	62 - 185	0,261
LDL-FF ci8200	121,8	25,7	63 - 179	0,234
LDL-FF Advia 2400	100,6	26,2	34 - 156	0,407
LDL-FF AU2700	121,3	29,7	59 - 194	0,503

TABLA 17.- RESULTADOS DEL LDL-C CALCULADO CON LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD CON MEDIA, DESVIACIÓN TÍPICA (DS), INTERVALO Y P-VALOR DE LA PRUEBA DE SHAPIRO-WILK (S-W) EN CADA UNO DE LOS ANALIZADORES Y EN LOS 2 GRUPOS DE HDL-C ESTUDIADOS. SE MARCAN EN VERDE LOS RESULTADOS NO SIGNIFICATIVOS

A)

	<i>p</i> -valor					
	LDL-FF Cobas c711 ci8200	LDL-FF Cobas c711 Advia 2400	LDL-FF Cobas c711 AU2700	LDL-FF ci8200 Advia 2400	LDL-FF ci8200 AU2700	LDL-FF Advia 2400 AU2700
HDL-C ≤20 mg/dL	0,002	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,253
HDL-C ≥100 mg/dL	0,437	<0,001	0,248	<0,001	0,985	<0,001

B)

	<i>p</i> -valor			
	Cobas c711	ci8200	Advia 2400	AU2700
HDL-C ≤20 mg/dL	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
HDL-C ≥100 mg/dL	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

TABLA 18.- A) RESULTADOS DE *P*-VALOR EN LA PRUEBA *POST-HOC* DE DUNN (GRUPO DE HDL-C ≤20 MG/DL) Y TUKEY (GRUPO DE HDL-C ≥100 MG/DL) PARA LDL-C CALCULADO MEDIANTE LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD EN AMBOS GRUPOS DE HDL-C. B) RESULTADOS DE *P*-VALOR EN LA PRUEBA *POST-HOC* DE WILCOXON (GRUPO DE HDL-C ≤20 MG/DL) Y T TEST PARA MUESTRAS APAREADAS (GRUPO DE HDL-C ≥100 MG/DL) PARA LDL-C CALCULADO MEDIANTE LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD Y EL MEDIDO EN LOS 4 LABORATORIOS Y EN AMBOS GRUPOS DE HDL-C. SE MARCAN EN VERDE LOS RESULTADOS NO SIGNIFICATIVOS

B) Clasificación de Riesgo

Para valorar si las diferencias entre los resultados del LDL-FF pueden afectar a la clasificación de riesgo de los pacientes se calculó el índice K ponderado, así como el porcentaje de errores de clasificación y los errores con 2 o más categorías de diferencia, según los grupos definidos por la NCEP e incluyendo en la clasificación de riesgo una categoría de LDL-C <70 mg/dL, tanto en el grupo de HDL-C ≤20 mg/dL como en el de HDL-C ≥100 mg/dL (Tabla 19A). Igualmente, se realizó el mismo análisis comparando los resultados de LDL-FF con los del método directo con cada uno de los analizadores y en ambas categorías de HDL-C (Tabla 19B). La concordancia de resultados de LDL-FF en el grupo de HDL-C bajo es más alta, aunque disminuye de manera importante al compararse con los métodos directos. En el grupo de HDL-C elevado, la concordancia entre el LDL-FF de los diferentes laboratorios es muy baja, a excepción del par Cobas c711-Architect ci8200 en el grupo de HDL-C elevado,

mientras que en la comparación con los métodos directos se observan porcentajes de error muy elevados e índices K muy bajos.

A)

		HDL-C \leq 20 mg/dL			HDL-C \geq 100 mg/dL		
		% Discrepancias	Error de 2 o más categorías	K	% Discrepancias	Error de 2 o más categorías	K
Cobas c711 ci8200	NCEP	4,8	0/5	0,75	20,0	0/21	0,66
	NCEP + 70 mg/dL	9,5	0/10	0,80	21,0	0/22	0,66
Cobas c711 Advia 2400	NCEP	8,6	0/9	0,58	67,6	6/71	-0,12
	NCEP + 70 mg/dL	21,0	0/22	0,53	75,2	7/79	-0,17
Cobas c711 AU2700	NCEP	4,8	0/5	0,75	41,9	4/44	0,31
	NCEP + 70 mg/dL	19,0	0/20	0,57	47,6	4/50	0,25
ci8200 Advia 2400	NCEP	5,7	0/6	0,67	58,1	3/61	0,05
	NCEP + 70mg/dL	15,2	0/16	0,65	65,7	3/69	-0,02
ci8200 AU2700	NCEP	0,0	0/0	1,00	41,9	3/44	0,31
	NCEP + 70 mg/dL	9,5	0/10	0,78	48,6	3/51	0,23
Advia 2400 AU2700	NCEP	5,7	0/6	0,67	59,1	12/62	0,05
	NCEP + 70 mg/dL	13,3	0/14	0,66	69,5	14/73	-0,05

B)

		HDL-C \leq 20 mg/dL			HDL-C \geq 100 mg/dL		
		% Discrepancias	Error de 2 o más categorías	K	% Discrepancias	Error de 2 o más categorías	K
Cobas c711	NCEP	13,3	4/14	0,43	39,0	0/41	0,34
	NCEP + 70 mg/dL	26,7	8/28	0,46	41,0	0/43	0,35
ci8200	NCEP	11,4	2/12	0,43	32,4	0/34	0,45
	NCEP + 70 mg/dL	16,2	2/17	0,66	33,3	0/35	0,46
Advia 2400	NCEP	17,1	2/18	0,29	44,8	2/47	0,24
	NCEP + 70 mg/dL	26,7	4/28	0,42	51,4	3/54	0,18
AU2700	NCEP	16,2	0/17	0,36	46,7	4/49	0,24
	NCEP + 70 mg/dL	36,2	3/38	0,29	46,7	8/49	0,29

TABLA 19.- A) COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LDL-C CALCULADO MEDIANTE LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD MEDIANTE EL PORCENTAJE DE DISCREPANCIAS EN LAS CATEGORÍAS DE RIESGO SEGÚN LA NCEP E INCLUYENDO UN GRUPO DE RIESGO DE LDL-C <70 MG/DL, NÚMERO DE ERRORES DE 2 Ó MÁS CATEGORÍAS DE DIFERENCIA/NÚMERO TOTAL DE DISCREPANCIAS E ÍNDICE KAPPA (K) DE COHEN PONDERADO EN AMBOS GRUPOS DE HDL-C EN ESTUDIO. B) MISMO ANÁLISIS COMPARANDO EL LDL-C CALCULADO MEDIANTE LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD Y MEDIANTE EL MÉTODO DIRECTO

Así mismo, la concordancia entre el LDL-FF, entre todos los laboratorios, muestra un índice K para 4 observadores con 4 o más categorías de clasificación de 0,81 (0,73 al incluir la categoría de LDL-C <70 mg/dL) para el grupo de HDL-C bajo y de 0,32 para el de HDL-C elevado (0,25 con la inclusión de dicha categoría).

C) Comparación de métodos

En la comparación de métodos, se analizaron los resultados de LDL-FF entre los diferentes laboratorios así como del LDL-FF frente al LDL-C medido con el método directo de cada centro (Tabla 20 y Tabla 21) obteniéndose que únicamente se cumplen los tres criterios definidos al comparar el LDL-FF de Toledo y Fuenlabrada en el grupo de HDL-C ≥ 100 mg/dL.

		PB pendiente	PB punto de corte	BA diferencia
Cobas c711 ci8200	HDL-C ≤ 20 mg/dL	0,88 a 0,95	0,7 a 4,9	-6,3 a -3,2
	HDL-C ≥ 100 mg/dL	0,90 a 0,97	2,2 a 10,1	-3,4 a -1,1
Cobas c711 Advia 2400	HDL-C ≤ 20 mg/dL	0,80 a 0,89	-1,6 a 4,6	-13,4 a -9,3
	HDL-C ≥ 100 mg/dL	0,87 a 1,00	-23,0 a -6,3	-25,6 a -21,4
Cobas c711 AU2700	HDL-C ≤ 20 mg/dL	0,90 a 1,00	-9,0 a -3,2	-11,5 a -8,1
	HDL-C ≥ 100 mg/dL	1,00 a 1,17	-16,5 a 6,0	-6,3 a 0,8
ci8200 Advia 2400	HDL-C ≤ 20 mg/dL	0,90 a 0,98	-5,0 a -0,4	-7,8 a 5,4
	HDL-C ≥ 100 mg/dL	0,95 a 1,06	-27,7 a -15,4	-23,0 a -19,4
ci8200 AU2700	HDL-C ≤ 20 mg/dL	1,03 a 1,08	-9,8 a -6,0	-6,1 a -3,9
	HDL-C ≥ 100 mg/dL	1,02 a 1,25	-24,1 a 5,0	-4,2 a 3,2
Advia 2400 AU2700	HDL-C ≤ 20 mg/dL	1,07 a 1,17	-6,9 a -1,4	-0,1 a 3,2
	HDL-C ≥ 100 mg/dL	1,00 a 1,33	-6,7 a 25,0	16,4 a 24,9

TABLA 20.- RESULTADOS DE REGRESIÓN DE PASSING-BABLOK (PB) PARA PENDIENTE Y PUNTO DE CORTE Y DE DIFERENCIA PARA PRUEBA DE BLAND-ALTMAN (BA) PARA EL LDL-C CALCULADO MEDIANTE LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO Y ENTRE TODOS LOS ANALIZADORES. SE MARCAN CON FONDO NARANJA AQUELLOS RESULTADOS QUE CUMPLEN LOS CRITERIOS DEFINIDOS PARA PASSING-BABLOK, BLAND-ALTMAN O AMBOS

		PB pendiente	PB punto de corte	BA diferencia
Cobas c711	HDL-C ≤20 mg/dL	1,00 a 1,25	6,3 a 17,0	18,4 a 28,0
	HDL-C ≥100 mg/dL	1,00 a 1,10	-0,4 a 11,0	10,3 a 12,7
ci8200	HDL-C ≤20 mg/dL	0,93 a 1,11	-2,9 a 5,3	2,8 a 8,9
	HDL-C ≥100 mg/dL	0,91 a 1,03	4,5 a 17,2	5,8 a 8,8
Advia 2400	HDL-C ≤20 mg/dL	0,79 a 0,95	-6,1 a 4,4	-12,0 a -5,7
	HDL-C ≥100 mg/dL	0,94 a 1,12	-27,3 a -7,1	-16,8 a -12,2
AU2700	HDL-C ≤20 mg/dL	0,94 a 1,06	-20,2 a -11,0	-19,8 a -15,5
	HDL-C ≥100 mg/dL	1,14 a 1,38	-62,7 a -27,3	-18,7 a -12,5

TABLA 21.- RESULTADOS DE REGRESIÓN DE PASSING-BABLOK (PB) PARA PENDIENTE Y PUNTO DE CORTE Y DE DIFERENCIA PARA PRUEBA DE BLAND-ALTMAN (BA) PARA EL LDL-C CALCULADO MEDIANTE LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD Y EL LDL-C MEDIDO POR EL MÉTODO DIRECTO EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO Y EN CADA ANALIZADOR. SE MARCAN CON FONDO NARANJA AQUELLOS RESULTADOS QUE CUMPLEN LOS CRITERIOS DEFINIDOS PARA PASSING-BABLOK, BLAND-ALTMAN O AMBOS

4.1.3.- FÓRMULAS LDL-C ALTERNATIVAS

A) Estadística básica

En la valoración de las diferentes fórmulas para el cálculo de LDL-C, se llevó a cabo la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, obteniéndose que los resultados del LDL-C calculado no siguen una distribución normal en el grupo de HDL-C ≤ 20 mg/dL ($p < 0,001$) mientras que sí lo hacen en el grupo de HDL-C ≥ 100 mg/dL (Anexo 1 y Anexo 2). En el grupo de HDL-C bajo, la prueba de Friedman con análisis *post-hoc* de Dunn para muestras apareadas indica diferencias significativas entre los resultados de LDL-C medido y los calculados con las diferentes fórmulas en los 4 analizadores ($p < 0,046$) salvo para los pares del LDL-C medido con el calculado por las fórmulas de Anandaraja en Cobas c711 ($p = 0,618$), de Hattori y Friedewald en Architect ci8200 ($p = 0,104$ y $p = 0,375$) y de Vujovic y Chen en Advia 2400 ($p = 0,158$ y $p = 0,054$). En el grupo de HDL-C elevado, el ANOVA de un factor para muestras apareadas con análisis *post-hoc* de Dunnett indica diferencias significativas entre el LDL-C medido y el calculado por las distintas fórmulas ($p < 0,001$), salvo con la fórmula de Hattori ($p > 0,999$) en Architect ci8200.

B) Comparación de métodos

Los resultados de la regresión de Passing-Bablok y del test de Bland-Altman para el LDL-FF y el calculado por las diferentes fórmulas se muestran en la Tabla 22, observándose que sólo se cumplen los criterios de la regresión de Passing-Bablok entre la FF y la de Martin en el grupo de HDL-C bajo.

C) Clasificación de riesgo

Finalmente, se calculó el índice K para 8 observadores con 4 o más categorías, incluyendo los resultados de la clasificación de riesgo según los grupos de la NCEP y añadiendo el grupo de LDL-C <70 mg/dL, empleando tanto el método directo como las diferentes fórmulas (Tabla 23). Se obtuvo una correlación entre moderada y buena en el grupo de HDL-C bajo y moderada en el de HDL-C elevado.

		HDL-C ≤20 mg/dL			HDL-C ≥100 mg/dL		
		PB Pendiente	PB punto de corte	BA diferencia	PB Pendiente	PB punto de corte	BA diferencia
Delong	Cobas c711	1,00 a 1,04	2,1 a 5,0	4,5 a 5,3	1,00 a 1,00	3,0 a 3,0	3,1 a 3,6
	ci8200	1,00 a 1,04	2,3 a 5,0	4,7 a 5,6	0,99 a 1,00	3,0 a 4,9	3,2 a 3,7
	Advia 2400	1,00 a 1,03	2,5 a 4,0	4,4 a 5,2	0,98 a 1,00	3,0 a 4,5	2,8 a 3,3
	AU2700	1,00 a 1,04	2,6 a 5,0	4,8 a 5,7	0,99 a 1,00	3,0 a 4,3	3,1 a 3,7
Hattori	Cobas c711	0,94 a 0,94	-0,4 a -0,1	-5,2 a -4,2	0,94 a 0,94	-0,78 a 0,1	-8,0 a -7,3
	ci8200	0,94 a 0,94	-0,3 a 0,0	-4,9 a -4,0	0,94 a 0,95	-1,1 a -0,4	-7,8 a -7,1
	Advia 2400	0,94 a 0,94	-0,5 a -0,2	-4,5 a -3,6	0,94 a 0,94	-0,6 a 0,2	-6,5 a -5,8
	AU2700	0,94 a 0,94	-0,4 a -0,1	-4,6 a -3,7	0,94 a 0,94	-0,8 a -0,2	-7,9 a -7,2
Anandaraja	Cobas c711	0,89 a 0,95	-18,1 a -14,0	-24,6 a -22,2	0,88 a 0,98	55,1 a 66,6	52,4 a 55,2
	ci8200	0,92 a 1,00	-21,0 a -15,1	-22,3 a -19,8	0,87 a 1,00	47,0 a 62,2	46,5 a 49,6
	Advia 2400	0,96 a 1,05	-17,8 a -12,4	-16,5 a -13,8	0,89 a 1,02	59,5 a 71,8	61,1 a 64,7
	AU2700	0,93 a 0,99	-17,6 a -13,8	-19,3 a -17,0	0,89 a 0,98	45,9 a 56,9	42,8 a 45,6
Chen	Cobas c711	0,93 a 1,00	3,0 a 8,3	3,0 a 5,2	0,86 a 0,90	6,1 a 9,3	-6,5 a -4,9
	ci8200	0,94 a 1,00	5,0 a 8,4	4,0 a 6,1	0,87 a 0,90	6,5 a 10,5	-6,6 a -4,4
	Advia 2400	0,93 a 1,00	5,0 a 8,7	4,0 a 6,0	0,87 a 0,90	6,0 a 9,3	-4,6 a -3,0
	AU2700	0,94 a 1,00	5,0 a 9,2	4,8 a 7,1	0,88 a 0,90	6,2 a 9,4	-6,0 a -4,3
Vujovic	Cobas c711	1,02 a 1,06	2,6 a 5,6	7,0 a 8,4	0,98 a 1,00	4,0 a 6,1	4,2 a 4,9
	ci8200	1,02 a 1,06	3,5 a 6,2	7,3 a 8,8	0,98 a 1,00	4,0 a 6,5	4,4 a 5,0
	Advia 2400	1,01 a 1,06	3,7 a 6,5	7,0 a 8,3	0,98 a 1,00	4,0 a 6,3	3,8 a 4,5
	AU2700	1,02 a 1,06	3,9 a 6,5	7,6 a 9,1	0,98 a 1,00	4,0 a 6,4	4,3 a 5,1
Martin	Cobas c711	1,00 a 1,06	-1,1 a 3,0	3,7 a 6,0	0,96 a 0,99	-0,5 a 3,0	-1,9 a -0,9
	ci8200	1,00 a 1,08	-0,5 a 5,0	4,4 a 6,7	0,95 a 0,98	0,8 a 4,4	-1,5 a -0,5
	Advia 2400	1,00 a 1,08	-0,9 a 4,0	4,0 a 6,4	0,95 a 0,98	0,7 a 3,9	-1,6 a -0,6
	AU2700	1,00 a 1,08	0,2 a 5,0	5,0 a 7,6	0,96 a 0,98	0,4 a 3,8	-1,6 a -0,5

TABLA 22.- RESULTADOS DE REGRESIÓN DE PASSING-BABLOK (PB) PARA PENDIENTE Y PUNTO DE CORTE Y DE DIFERENCIA PARA PRUEBA DE BLAND-ALTMAN (BA) PARA EL LDL-C CALCULADO MEDIANTE LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD Y MEDIANTE EL RESTO DE FÓRMULAS EN CADA UNO DE LOS ANALIZADORES Y EN AMBOS GRUPOS DE HDL-C EN ESTUDIO. SE MARCAN CON FONDO NARANJA AQUELLOS RESULTADOS QUE CUMPLEN LOS CRITERIOS DEFINIDOS PARA PASSING-BABLOK, BLAND-ALTMAN O AMBOS

		Índice K	
		HDL-C ≤20 mg/dL	HDL-C ≥100 mg/dL
Cobas c711	NCEP	0,63	0,44
	NCEP + 70 mg/dL	0,56	0,43
ci8200	NCEP	0,69	0,42
	NCEP + 70 mg/dL	0,61	0,41
Advia 2400	NCEP	0,66	0,39
	NCEP + 70 mg/dL	0,63	0,39
AU2700	NCEP	0,70	0,46
	NCEP + 70 mg/dL	0,62	0,46

TABLA 23.- RESULTADOS DE ÍNDICE KAPPA (K) DE COHEN ENTRE TODAS LAS DETERMINACIONES DE LDL-C (MÉTODO DIRECTO Y FÓRMULAS) EN LOS 4 ANALIZADORES EN ESTUDIO, EN AMBAS CATEGORÍAS DE HDL-C Y SIGUIENDO LOS GRUPOS DEFINIDOS POR LA NCEP Y AÑADIENDO EL GRUPO DE LDL-C <70 MG/DL

4.2.- EFECTO DE LA DIABETES

4.2.1.- ANÁLISIS DE COLESTEROL TOTAL, TRIGLICÉRIDOS, HDL-C Y LDL-C

A) Estadística básica

Los resultados del perfil lipídico así como del test de normalidad de Shapiro-Wilk, tanto en el grupo control como en los dos grupos de diabéticos, se muestran en la Tabla 24. Todos los parámetros siguen una distribución normal en los tres grupos de pacientes (y en conjunto), salvo los triglicéridos en todos los laboratorios en el grupo de pacientes sanos y en el Cobas c711 y el Advia 1800 en el grupo de pacientes diabéticos mal controlados. Los resultados del test ANOVA de un factor (análisis *post-hoc* con la prueba de Tukey) indican que no existen diferencias significativas entre los resultados de colesterol total, HDL-C y LDL-C entre los 3 grupos estudiados en todos los equipos (Tabla 25). La prueba de Kruskal-Wallis con análisis *post-hoc* con el test de Dunn (Tabla 25) indica que existen diferencias entre los triglicéridos del grupo de pacientes sanos y del grupo de mal control metabólico en el Cobas c711 ($p=0,046$).

A continuación, analizamos los resultados de las pruebas del perfil lipídico entre los diferentes equipos. Al no haber diferencias significativas entre los 3 grupos de pacientes en estudio (salvo una comparación de triglicéridos en el Cobas c711) el factor diabetes no resulta relevante, por lo que se emplearon todos los resultados en conjunto para valorar el rendimiento de los diferentes laboratorios.

El ANOVA de un factor para muestras apareadas con análisis *post-hoc* con el test de Tukey indica que existen diferencias significativas ($p<0,01$) entre colesterol total, HDL-C y LDL-C, salvo para el colesterol total del par Cobas c711-c16000 ($p=0,373$) y el HDL-C entre Cobas c711-c16000-Advia 1800 ($p=0,539$, $0,972$ y $0,804$, respectivamente). La prueba de Friedman para muestras apareadas con análisis *post-hoc* con el test de Dunn refleja diferencias significativas ($p<0,001$) en los resultados de triglicéridos entre todos los laboratorios, salvo para el par c16000-Advia 1800 ($p>0,999$).

		Colesterol total				HDL-C				TG				LDL-C			
		Media	DS	Intervalo	S-W	Media	DS	Intervalo	S-W	Media	DS	Intervalo	S-W	Media	DS	Intervalo	S-W
Cobas c711	Mal control	177,7	36,3	106-253	0,860	50,9	13,0	30-80	0,369	125,5	31,6	82-182	0,031	99,9	33,4	28-167	0,524
	Buen control	182,1	29,2	132-243	0,521	52,3	15,2	24-86	0,781	122,1	37,4	60-208	0,368	103,1	26,3	62-159	0,261
	Sano	194,9	33,9	98-250	0,114	56,7	18,8	27-100	0,361	112,5	53,0	45-268	<0,001	114,5	27,4	57-167	0,865
C16000	Mal control	177,8	36,6	109-254	0,664	51,9	11,6	32-74	0,134	112,4	29,0	71-172	0,082	82,6	26,4	27-136	0,223
	Buen control	183,3	29,7	131-240	0,296	53,0	12,1	29-84	0,854	109,5	34,0	52-184	0,311	84,3	22,0	50-133	0,366
	Sano	195,8	34,4	97-250	0,081	56,4	15,0	30-88	0,654	102,0	50,7	39-252	<0,001	96,8	25,8	36-139	0,657
Advia 1800	Mal control	164,8	34,2	99-229	0,510	51,0	12,8	29-73	0,122	113,0	28,9	72-167	0,043	119,3	35,1	38-198	0,788
	Buen control	169,0	27,2	124-222	0,397	52,0	13,9	26-88	0,677	109,4	33,9	53-188	0,362	122,4	31,1	76-186	0,224
	Sano	180,9	31,2	90-235	0,124	57,5	17,7	24-99	0,758	102,9	49,3	36-247	<0,001	131,2	33,2	68-196	0,729
AU2700	Mal control	188,9	38,3	117-264	0,762	47,2	11,6	28-74	0,284	121,2	33,4	74-186	0,060	114,1	33,0	41-190	0,936
	Buen control	194,6	30,6	141-257	0,652	48,0	12,0	25-78	0,753	117,3	35,8	60-200	0,210	120,0	30,5	75-179	0,167
	Sano	206,6	36,4	103-267	0,104	51,7	14,6	25-85	0,783	108,1	53,5	38-263	<0,001	128,9	32,2	64-190	0,916

	Edad (años)			Sexo (%)	
	Media	DS	Intervalo	Mujer	Hombre
Mal control	67,6	12,7	26-83	31,4	68,6
Buen control	70,2	13,5	23-91	51,4	48,6
Sano	67,2	11,7	28-85	40,0	60,0

TABLA 24.- RESULTADOS DEL PERFIL LIPÍDICO PARA COLESTEROL TOTAL, HDL-C, TRIGLICÉRIDOS (TG) Y LDL-C QUE INCLUYEN MEDIA, DESVIACIÓN TÍPICA (DS), INTERVALO Y P-VALOR EN LA PRUEBA DE SHAPIRO-WILKS (S-W) PARA NORMALIDAD EN LOS 3 GRUPOS EN ESTUDIO Y EN LOS 4 LABORATORIOS, ASÍ COMO RESULTADOS DE EDAD Y SEXO PARA LOS 3 GRUPOS DE PACIENTES EN ESTUDIO

Anova 1 factor (<i>post-hoc</i> Tukey)				Kruskal-Wallis (<i>post-hoc</i> Dunn)	
	Colesterol total	HDL-C	LDL-C		Triglicéridos
Cobas c711	0,095	0,283	0,109	Cobas c711	0,042
C16000	0,080	0,321	0,055	C16000	0,061
Advia 1800	0,095	0,185	0,315	Advia 1800	0,061
AU2700	0,106	0,314	0,147	AU2700	0,048

TABLA 25.- RESULTADOS DE LOS TEST DE ANOVA DE UN FACTOR CON ANÁLISIS *POST-HOC* CON PRUEBA DE TUKEY Y KRUSKAL-WALLIS CON ANÁLISIS *POST-HOC* CON PRUEBA U DE MANN WHITNEY ENTRE LOS GRUPOS DE DIABÉTICOS BIEN Y MAL CONTROLADOS Y EL GRUPO DE PACIENTES SANOS EN LOS 4 EQUIPOS ESTUDIADOS

B) Comparación de métodos

El estudio de comparación de métodos (Tabla 26) muestra que únicamente se cumplen los tres criterios definidos en la comparación del HDL-C entre Cobas c711 y Advia 1800 y de los triglicéridos entre c16000 y Advia 1800. Los mejores resultados se obtienen en el HDL-C entre todos los laboratorios, a excepción del AU2700.

C) Clasificación de riesgo

Para valorar el efecto sobre la clasificación de riesgo en los métodos directos para el LDL-C se calculó el índice K ponderado, así como el porcentaje de errores de clasificación y los errores con 2 o más categorías de diferencia entre los diferentes laboratorios, valorándose, además, la inclusión de la categoría de <70 mg/dL (Tabla 27). Los índices K obtenidos son muy bajos salvo entre Advia 1800 y AU2700. Los resultados del índice K entre todos los laboratorios fueron de 0,31, según las categorías de la NCEP, y 0,19, incluyendo la categoría de LDL-C más baja.

		PB pendiente	PB punto de corte	BA diferencia			PB pendiente	PB punto de corte	BA diferencia
CT	Cobas c711 c16000	1,00 a 1,02	-2,9 a 1,0	0,1 a 1,4	TG	Cobas c711 c16000	0,90 a 0,95	-5,7 a -1,2	-13,0 a -11,3
	Cobas c711 Advia 1800	0,91 a 0,94	-2,3 a 3,3	-14,2 a -12,4		Cobas c711 Advia 1800	0,90 a 0,93	-3,6 a -0,3	-12,6 a -10,7
	Cobas c711 AU2700	1,04 a 1,07	-1,6 a 4,6	11,1 a 12,5		Cobas c711 AU2700	1,00 a 1,03	-7,5 a -4,0	-6,3 a -2,7
	c16000 Advia 1800	0,90 a 0,93	-1,9 a 4,6	-15,0 a -13,0		c16000 Advia 1800	0,97 a 1,00	0,0 a 3,1	-0,2 a 1,1
	c16000 AU2700	1,02 a 1,06	0,2 a 6,5	10,4 a 11,8		c16000 AU2700	1,09 a 1,13	-4,8 a -0,3	5,7 a 9,6
	Advia 1800 AU2700	1,12 a 1,17	-2,5 a 4,9	23,9 a 26,3		Advia 1800 AU2700	1,09 a 1,14	-6,8 a -1,5	5,3 a 9,1
HDL-C	Cobas c711 c16000	0,80 a 0,87	7,9 a 11,2	-0,3 a 1,3	LDL-C	Cobas c711 c16000	0,79 a 0,92	-8,5 a 4,0	-20,1 a -15,8
	Cobas c711 Advia 1800	0,92 a 1,00	0,0 a 4,5	-0,7 a 1,0		Cobas c711 Advia 1800	1,05 a 1,17	1,3 a 13,8	16,5 a 20,6
	Cobas c711 AU2700	0,79 a 0,83	4,5 a 7,0	-5,0 a -3,6		Cobas c711 AU2700	1,03 a 1,14	-0,1 a 12,1	13,4 a 17,0
	c16000 Advia 1800	1,10 a 1,20	-11,3 a -6,2	-1,1 a 0,4		c16000 Advia 1800	1,21 a 1,39	0,8 a 16,3	33,9 a 39,1
	c16000 AU2700	0,95 a 1,00	-5,0 a -2,3	-5,2 a -4,4		c16000 AU2700	1,19 a 1,34	2,1 a 14,5	31,0 a 35,3
	Advia 1800 AU2700	0,81 a 0,87	2,5 a 5,2	-5,3 a -3,7		Advia 1800 AU2700	0,95 a 1,00	-4,0 a 2,0	-5,2 a -1,5

TABLA 26.- RESULTADOS DE REGRESIÓN DE PASSING-BABLOK (PB) PARA PENDIENTE Y PUNTO DE CORTE Y DE DIFERENCIA PARA PRUEBA DE BLAND-ALTMAN (BA) PARA COLESTEROL TOTAL (CT), HDL-C, TRIGLICÉRIDOS (TG) Y LDL-C ENTRE LOS 4 LABORATORIOS. SE MARCAN CON FONDO NARANJA AQUELLOS RESULTADOS QUE CUMPLEN LOS CRITERIOS DEFINIDOS PARA PASSING-BABLOK, BLAND-ALTMAN O AMBOS

LDL-C Directo	Categorías NCEP			NCEP + 70 mg/dL		
	% Discrepancia	Errores 2 o más categorías	K	% Discrepancia	Errores 2 o más categorías	K
Cobas c711 - c16000	41,0	1/41	0,21	59,0	1/59	0,06
Cobas c711 - Advia 1800	50,0	2/50	0,13	58,0	2/58	0,07
Cobas c711 - AU2700	37,0	1/37	0,35	43,0	1/43	0,31
c16000 - Advia 1800	73,0	20/73	-0,19	96,0	23/96	-0,42
c16000 - AU2700	69,0	11/69	-0,20	92,0	12/92	-0,44
Advia 1800 - AU2700	15,0	1/15	0,75	17,0	1/17	0,73

TABLA 27.- COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DIRECTOS DE MEDIDA DEL LDL-C MEDIANTE EL PORCENTAJE DE DISCREPANCIAS EN LAS CATEGORÍAS DE RIESGO SEGÚN LA NCEP E INCLUYENDO LA CATEGORÍA DE <70 MG/DL, NÚMERO DE ERRORES DE 2 Ó MÁS CATEGORÍAS DE DIFERENCIA/NÚMERO TOTAL DE DISCREPANCIAS E ÍNDICE KAPPA (K) DE COHEN PONDERADO

4.2.3.- ANÁLISIS LDL-C FÓRMULA DE FRIEDEWALD

A) Estadística básica

En el estudio del LDL-FF, se obtiene que los resultados siguen una distribución normal en los 4 analizadores (Tabla 28), tanto en conjunto como en los 3 grupos de pacientes. El ANOVA de un factor indica que no existen diferencias entre los resultados del LDL-FF entre los 3 grupos de pacientes en ninguno de los laboratorios. Por su parte, analizados los datos en conjunto, el ANOVA de un factor para muestras apareadas refleja diferencias significativas ($p < 0,001$) entre el LDL-FF de todos los equipos. La prueba del t test para resultados apareados indica que existen diferencias significativas ($p < 0,01$) entre el LDL-FF y el método directo de cada analizador.

	LDL-FF			
	Media	DS	Intervalo	S-W
Cobas c711	107,2	30,2	32-171	0,559
c16000	109,8	29,8	37-174	0,714
Advia 1800	96,1	26,8	30-154	0,287
AU2700	124,2	31,6	44-187	0,563

TABLA 28.- RESULTADOS DEL LDL-C CALCULADO CON LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD QUE INCLUYEN MEDIA, DESVIACIÓN TÍPICA (DS), INTERVALO Y P -VALOR EN LA PRUEBA DE SHAPIRO-WILKS (S-W) PARA NORMALIDAD EN LOS 4 EQUIPOS. SE MARCAN EN VERDE LOS RESULTADOS NO SIGNIFICATIVOS

B) Clasificación de riesgo

En relación con la capacidad de clasificación, nuevamente se calculó el índice K ponderado, así como el porcentaje de errores de clasificación y los errores con 2 o más categorías de diferencia entre los diferentes laboratorios tanto entre el LDL-FF en los diferentes equipos como con los métodos directos de cada laboratorio (Tabla 29). Los mejores resultados se obtienen entre el LDL-FF de Cobas c711 y c16000 y entre el

LDL-FF y el método directo en el Cobas c711, siendo la correlación buena o muy buena, mientras que en el resto de casos es bastante pobre.

Los resultados del índice K entre todos los laboratorios para el LDL-FF fueron de 0,43, según las categorías de la NCEP, y 0,35, incluyendo la categoría de LDL-C más baja.

A) **LDL-FF**

	Categorías NCEP			NCEP + 70 mg/dL		
	% Discrepancia	Errores 2 o más categorías	K	% Discrepancia	Errores 2 o más categorías	K
Cobas c711 c16000	8,0	0/8	0,86	13,0	0/13	0,79
Cobas c711 Advia 1800	30,0	0/30	0,46	38,0	0/38	0,39
Cobas c711 AU2700	46,0	0/46	0,21	55,0	0/55	0,12
c16000 Advia 1800	34,0	0/34	0,39	45,0	0/45	0,28
c16000 AU2700	42,0	0/42	0,28	48,0	0/48	0,23
Advia 1800 AU2700	72,0	4/72	-0,23	88,0	5/88	-0,39

B)

LDL-FF - LDL-C directo	Categorías NCEP			NCEP + 70 mg/dL		
	% Discrepancia	Errores 2 o más categorías	K	% Discrepancia	Errores 2 o más categorías	K
Cobas c711	10,0	0/10	0,82	12,0	0/12	0,81
c16000	48,0	4/48	0,15	67,0	4/67	-0,05
Advia 1800	70,0	4/70	-0,21	88,0	4/88	-0,40
AU2700	24,0	0/24	0,60	25,0	0/25	0,58

TABLA 29.- COMPARACIÓN DEL LDL-C CALCULADO MEDIANTE LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD (LDL-FF) MEDIANTE EL PORCENTAJE DE DISCREPANCIAS EN LAS CATEGORÍAS DE RIESGO SEGÚN LA NCEP E INCLUYENDO LA CATEGORÍA DE <70 MG/DL, NÚMERO DE ERRORES DE 2 Ó MÁS CATEGORÍAS DE DIFERENCIA/NÚMERO TOTAL DE DISCREPANCIAS E ÍNDICE KAPPA (K) DE COHEN PONDERADO ENTRE LOS DIFERENTES EQUIPOS (A) Y CON RESPECTO AL MÉTODO DIRECTO EN CADA LABORATORIO (B)

C) Comparación de métodos

En la comparación de métodos, se analizaron los resultados de LDL-FF entre los diferentes equipos así como del LDL-FF frente al LDL-C medido con el método directo

de cada centro (Tabla 30 y Tabla 31). Los mejores resultados se obtienen entre los métodos directos y el LDL-FF en Cobas c711 y AU2700.

LDL-FF	PB pendiente	PB punto de corte	BA diferencia
Cobas c711 c16000	0,96 a 1,00	2,0 a 7,0	1,7 a 3,6
Cobas c711 Advia 1800	0,84 a 0,89	0,4 a 5,4	-12,6 a -9,7
Cobas c711 AU2700	1,00 a 1,08	7,7 a 17,0	15,8 a 18,1
c16000 Advia 1800	0,85 a 0,92	-4,4 a 1,9	-15,1 a -12,3
c16000 AU2700	1,03 a 1,09	4,9 a 10,1	13,5 a 15,2
Advia 1800 AU2700	1,15 a 1,24	5,5 a 13,4	26,3 a 29,8

TABLA 30.- RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE MÉTODOS MEDIANTE LA REGRESIÓN DE PASSING-BABLOK (PB) Y EL MÉTODO DE BLAND-ALTMAN (BA) ENTRE EL LDL-C MEDIDO CON LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD (LDL-FF) ENTRE LOS DISTINTOS EQUIPOS

LDL-FF - LDL-C método directo	PB pendiente	PB punto de corte	BA diferencia
Cobas c711	0,98 a 1,06	-4,9 a 3,6	0,3 a 3,5
c16000	1,08 a 1,32	-6,1 a 14,2	16,8 a 25,5
Advia 1800	0,77 a 0,85	-9,5 a 0,0	-31,0 a -25,0
AU2700	0,93 a 1,04	-1,0 a 10,9	0,8 a 5,9

TABLA 31.- RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE MÉTODOS MEDIANTE LA REGRESIÓN DE PASSING-BABLOK (PB) Y EL MÉTODO DE BLAND-ALTMAN (BA) ENTRE EL LDL-C CALCULADO CON LA FÓRMULA DE FRIEDEWALD (LDL-FF) Y EL MEDIDO CON LOS MÉTODOS DIRECTOS DE CADA ANALIZADOR. SE MARCAN CON FONDO NARANJA AQUELLOS RESULTADOS QUE CUMPLEN LOS CRITERIOS DEFINIDOS PARA PASSING-BABLOK, BLAND-ALTMAN O AMBOS

4.2.3.- FÓRMULAS LDL-C ALTERNATIVAS

A) Estadística básica

Los resultados de LDL-C calculados con las fórmulas alternativas siguen una distribución normal, tanto analizados en los 3 grupos de pacientes como en conjunto (Tabla 32). El ANOVA de un factor muestra que no existen diferencias entre el LDL-C calculado entre los pacientes sanos y los diabéticos bien y mal controlados con las diferentes fórmulas empleadas. Por su parte, el ANOVA de un factor para muestras apareadas con análisis *post-hoc* con el test de Dunnett muestra diferencias significativas ($p < 0,001$) entre las fórmulas para el cálculo del LDL-C y el método directo de cada laboratorio, con excepción de la FF ($p = 0,151$) en el Cobas c711 y la de Chen con el Cobas c711 y AU2700 ($p = 0,907$ y $p = 0,983$).

B) Comparación de métodos

Los resultados de la regresión de Passing-Bablok y del test de Bland-Altman para el LDL-FF y el calculado por las diferentes fórmulas, así como con respecto al LDL-C medido por los métodos directos se muestran en la Tabla 33. Ningún análisis cumple los tres criterios definidos, pero varias comparaciones cumplen los de la regresión de Passing-Bablok, en especial la fórmula de Anandaraja en comparación con la FF y, en el caso del Cobas c711 y AU2700, también con el método directo.

C) Clasificación de riesgo

Por último, se calculó el índice K con 4 o más categorías, incluyendo los resultados de la clasificación de riesgo según los grupos de la NCEP y añadiendo el grupo de LDL-C < 70 mg/dL. Se evaluó la concordancia entre el LDL-C empleando las 7 fórmulas, entre las fórmulas alternativas y el LDL-C medido y en el conjunto de todos los datos de

LDL-C (Tabla 34). Los resultados muestran que la concordancia es entre moderada y buena.

	Delong	Hattori	Anandaraja	Chen	Vujovic	Martin
Cobas c711						
Media	112	101	116	106	114	109
DS	30,4	28,4	31,2	27,6	30,4	29,4
Mínimo	39	30	35	43	42	42
Máximo	177	160	181	166	179	172
p -valor	0,632	0,514	0,719	0,673	0,647	0,657
c16000						
Media	114	103	119	108	116	111
DS	29,7	27,9	31,5	26,9	29,8	28,7
Mínimo	43	34	40	46	46	46
Máximo	179	163	182	167	181	175
p -valor	0,667	0,711	0,590	0,658	0,657	0,684
Advia 1800						
Media	100	90,1	106	95,2	102	97,7
DS	26,7	25,1	29,1	24,2	26,8	25,7
Mínimo	37	28	32	40	39	40
Máximo	158	144	166	148	160	153
p -valor	0,279	0,301	0,673	0,304	0,288	0,268
AU2700						
Media	129	117	128	121	130	126
DS	31,6	29,7	32,9	28,5	31,6	30,4
Mínimo	51	41	44	54	54	55
Máximo	193	176	199	181	195	189
p -valor	0,604	0,585	0,721	0,655	0,599	0,569

TABLA 32.- RESULTADOS CONJUNTOS EN LAS 3 CATEGORÍAS DE PACIENTES DEL LDL-C CALCULADO CON LAS DIFERENTES FÓRMULAS QUE INCLUYEN MEDIA, DESVIACIÓN TÍPICA (DS), MÍNIMO Y MÁXIMO Y P -VALOR EN LA PRUEBA DE SHAPIRO-WILKS PARA NORMALIDAD EN LOS 4 ANALIZADORES. SE MARCAN EN VERDE LOS RESULTADOS NO SIGNIFICATIVOS

		Fórmulas – FF			Fórmulas – Directo		
		PB Pendiente	PB punto de corte	BA diferencia	PB Pendiente	PB punto de corte	BA diferencia
Delong	Cobas c711	1,00 a 1,01	3,0 a 4,0	4,4 a 5,1	0,98 a 1,08	-2,1 a 8,3	5,2 a 7,9
	c16000	1,00 a 1,00	4,0 a 4,0	4,0 a 4,7	1,08 a 1,31	-1,5 a 17,8	24,2 a 29,2
	Advia 1800	1,00 a 1,00	4,0 a 4,0	4,0 a 4,6	0,77 a 0,85	-5,5 a 4,0	-25,5 a -21,7
	AU2700	1,00 a 1,00	4,0 a 4,0	4,3 a 5,0	0,94 a 1,04	3,7 a 15,1	6,4 a 10,0
Hattori	Cobas c711	0,94 a 0,94	-0,7 a -0,1	-7,1 a -6,3	0,92 a 1,00	-5,0 a 3,2	-6,0 a -3,7
	c16000	0,94 a 0,94	-0,3 a 0,3	-7,1 a -6,4	1,00 a 1,23	-4,8 a 14,0	13,2 a 18,0
	Advia 1800	0,94 a 0,94	-0,4 a 0,1	-6,4 a -5,7	0,72 a 0,79	-9,4 a -0,1	-36,0 a -31,7
	AU2700	0,94 a 0,94	-0,5 a 0,1	-8,0 a 7,2	0,88 a 0,98	-1,2 a 10,8	-5,9 a -2,2
Anandaraja	Cobas c711	0,93 a 1,13	-5,4 a 15,0	6,3 a 12,0	0,97 a 1,14	-5,3 a 12,9	8,5 a 13,3
	c16000	0,98 a 1,14	-6,0 a 10,8	7,0 a 11,5	1,12 a 1,45	-8,5 a 22,5	28,2 a 35,1
	Advia 1800	1,00 a 1,20	-9,3 a 8,0	7,7 a 12,9	0,78 a 0,96	-14,9 a 8,5	-20,8 a -14,2
	AU2700	0,97 a 1,11	-10,4 a 5,9	1,3 a 5,8	0,92 a 1,14	-12,4 a 13,8	3,6 a 10,7
Chen	Cobas c711	0,89 a 0,93	5,1 a 9,7	-1,9 a -0,2	0,88 a 0,99	0,6 a 12,4	-0,9 a 2,4
	c16000	0,88 a 0,92	5,6 a 10,1	-3,1 a -1,4	0,97 a 1,17	4,4 a 19,6	17,8 a 22,4
	Advia 1800	0,88 a 0,93	5,5 a 9,7	-1,8 a -0,1	0,70 a 0,77	-1,0 a 7,3	-31,0 a -26,5
	AU2700	0,88 a 0,92	5,6 a 10,6	-4,0 a -2,2	0,85 a 0,94	7,5 a 18,5	-1,3 a 2,3
Vujovic	Cobas c711	1,00 a 1,02	3,9 a 6,0	6,0 a 6,9	0,98 a 1,08	-0,9 a 9,5	6,9 a 9,8
	c16000	1,00 a 1,00	5,5 a 5,5	5,4 a 6,3	1,08 a 1,30	0,5 a 18,7	25,7 a 30,7
	Advia 1800	1,00 a 1,01	4,1 a 5,0	5,4 a 6,3	0,78 a 0,85	-3,9 a 4,7	-23,9 a -20,1
	AU2700	0,99 a 1,00	6,0 a 7,1	5,8 a 6,8	0,94 a 1,04	4,5 a 16,6	8,1 a 11,6
Martin	Cobas c711	0,96 a 1,00	1,0 a 5,4	1,0 a 2,4	0,94 a 1,05	-3,2 a 8,9	2,0 a 5,1
	c16000	0,95 a 0,98	2,5 a 6,4	1,0 a 2,3	1,04 a 1,26	0,8 a 18,5	21,6 a 26,4
	Advia 1800	0,95 a 1,00	1,0 a 5,7	1,0 a 2,2	0,74 a 0,82	-3,9 a 4,6	-28,3 a -24,2
	AU2700	0,95 a 0,99	1,7 a 7,2	1,1 a 2,5	0,90 a 1,00	4,5 a 17,0	3,6 a 7,0

TABLA 33.- RESULTADOS DE LA COMPARACIÓN DE MÉTODOS MEDIANTE LA REGRESIÓN DE PASSING-BABLOK (PB) Y EL MÉTODO DE BLAND-ALTMAN (BA) ENTRE EL LDL-C CALCULADO MEDIANTE DIFERENTES FÓRMULAS Y LA DE FRIEDEWALD Y ENTRE EL LDL-C MEDIDO DE MANERA DIRECTA. SE MARCAN CON FONDO NARANJA AQUELLOS RESULTADOS QUE CUMPLEN LOS CRITERIOS DEFINIDOS PARA PASSING-BABLOK, BLAND-ALTMAN O AMBOS

	LDL-C calculado		LDL-C Fórmulas alternativas - Método directo		Todos los LDL-C	
	NCEP	NCEP + 70 mg/dL	NCEP	NCEP + 70 mg/dL	NCEP	NCEP + 70 mg/dL
Cobas c711	0,69	0,66	0,68	0,64	0,70	0,67
c16000	0,70	0,67	0,54	0,48	0,58	0,52
Advia 1800	0,70	0,67	0,47	0,42	0,51	0,47
AU2700	0,66	0,64	0,61	0,60	0,64	0,63

TABLA 34.- RESULTADOS DE ÍNDICE KAPPA DE COHEN ENTRE TODAS LAS DETERMINACIONES DE LDL-C EMPLEANDO LAS DIFERENTES FÓRMULAS, ENTRE LAS FÓRMULAS ALTERNATIVAS Y EL MÉTODO DIRECTO Y ENTRE TODOS LOS MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DEL LDL-C, EN LOS 4 EQUIPOS EN ESTUDIO Y SIGUIENDO LOS GRUPOS DEFINIDOS POR LA NCEP Y AÑADIENDO EL GRUPO DE LDL-C <70 MG/DL

Discusión

5.- DISCUSIÓN

La hiperlipemia podría definirse como una epidemia en los países desarrollados (44,46,87,88). El LDL-C es un elemento central en el proceso de aterogénesis y, por tanto, el control de sus niveles en sangre resulta crucial en la prevención de ECV (38,62,63,89,90). Con simples cambios en el hábito de vida, como son la dieta, el ejercicio regular o el abandono del tabaco, se obtienen ya importantes beneficios. Pero la actuación temprana sobre los valores de LDL-C también incide muy positivamente en los eventos cardiovasculares futuros (91). En este sentido, todas las guías de manejo de dislipemia y riesgo cardiovascular consideran la concentración de LDL-C como un elemento clave en la toma de decisiones sobre el inicio de tratamiento farmacológico o como objetivo de respuesta al mismo.

Entramos en un período en el que se buscan terapias más agresivas en la reducción del LDL-C. Mediante el empleo de estatinas se puede conseguir una reducción de LDL-C por debajo de los 70 mg/dL (42,89) e incluso, con la llegada de otros tratamientos como los inhibidores de PCSK9 (92), se puede llegar a niveles de <30 mg/dL.

La guía de la ACC/AHA ha supuesto un cambio en el enfoque, no sin controversia, del tratamiento farmacológico en la prevención de ECV. En ella, no se definen valores de LDL-C objetivo, con el fin de evitar el sobretreatmento o el infratreatmento, si no que se establece una terapia de estatinas (sin necesidad de incorporar otros fármacos) basada en el cálculo de riesgo de ECV a 10 años. Sin embargo, con las recomendaciones fijadas, la cantidad de personas recibiendo estatinas se incrementaría notablemente (93,94). Por ejemplo, en Estados Unidos supondría que casi 13 millones de personas más, con respecto a las guías de la NCEP, serían candidatas a tratamiento, con el correspondiente gasto farmacéutico asociado. Además, el empleo de estos fármacos no está libre de contraindicaciones, en forma de mialgias, nefropatía o nuevos casos de DM (95-97), hecho que también deberían tenerse en cuenta, puesto que no existen evidencias claras sobre el beneficio en la ECV de reducir los lípidos a unos valores tan bajos (98).

El uso de las diferentes herramientas para el cálculo del riesgo cardiovascular a 10 años también es cuestionado puesto que, al desarrollarse sobre poblaciones diferentes y empleando distintos factores, los resultados no son siempre trasladables y pueden dar lugar a sobreestimación o infraestimación del riesgo de ECV (99–104). Por eso, la elección de la herramienta empleada debe ser cuidadosa y adaptada a la población en estudio, con el fin de garantizar el resultado más adecuado (105).

Las terapias con estatinas pueden reducir el riesgo de ECV hasta un 50%, si bien incluso aquellos pacientes con bajo riesgo también sufren eventos cardiovasculares, por lo que todavía existen componentes del riesgo de ECV muy relevantes más allá del LDL-C (106).

Por ejemplo, el colesterol total presenta una asociación clara con el riesgo cardiovascular, de modo que una reducción del 1% se asocia con un descenso del riesgo de ECV del 2% (107–112). Sin embargo, la implantación del resto de pruebas del perfil lipídico, que representan los componentes que conforman el colesterol total, ha disminuido el valor de éste como predictor independiente de ECV (87).

El HDL-C se ha asociado con un papel protector de enfermedad cardiovascular y de reducción de la mortalidad a partir de 60 mg/dL (12,113,114). La consecución de estos niveles ha sido un objetivo primario de algunas guías (87), pero el aumento de los mismos mediante el empleo de fármacos no parece tener una repercusión en la prevención de ECV (18,115,116) e incluso algunas patologías que cursan con HDL-C elevado tienen asociado un mayor riesgo cardiovascular (117–119). En algunas de las herramientas para el cálculo de riesgo de ECV, la obtención de valores elevados de HDL-C permite descontar un factor de riesgo de los establecidos para el paciente (21). Sin embargo, existen evidencias de que valores extremadamente altos están asociados con tasas más elevadas de mortalidad (120) por lo que debería valorarse este dato, tanto en el uso de las herramientas de cálculo de riesgo como en las guías clínicas.

Los niveles elevados de triglicéridos, por su parte, también están asociados con un mayor riesgo de ECV (121–123), si bien no está claro su papel en el proceso aterogénico. La hipertrigliceridemia lleva asociada un aumento del contenido de

triglicéridos de las partículas VLDL, HDL y LDL, lo que podría afectar a su funcionalidad, favorecer la formación de partículas LDL de pequeño tamaño y los procesos oxidativos, aumentando así el riesgo de ECV (124–128).

El hecho de que las partículas LDL, así como de otras partículas aterogénicas, dispongan de una única molécula de Apo B debería suponer un hecho importante en la utilidad de esta prueba como marcador de ECV. Bien es cierto que en el proceso de formación de la placa de ateroma influye tanto el número de partículas como su potencial aterogénico (partículas LDL de pequeño tamaño, oxidadas, VLDL, IDL, Lp(a), etc.). El grado de estandarización y de disponibilidad en los laboratorios hace que, de momento, la Apo B se recoja en las guías como una opción secundaria de tratamiento, aunque su utilidad en predicción de ECV es similar al LDL-C, con la ventaja de que no se vería afectado por el ayuno (129). Sin embargo, más investigaciones serían necesarias para valorar el rendimiento de los diferentes métodos disponibles, así como su utilidad en pacientes con dislipemia y con otros tipos de patología (130).

El colesterol no-HDL es otra herramienta a tener en cuenta. Resulta menos costoso, no requiere ayuno, aporta información de las partículas aterogénicas y tiene un importante valor en la predicción de ECV, incluso mayor que el LDL-C (131), además de correlacionarse bien con los valores de Apo B (132,133). Así mismo, en pacientes en tratamiento para reducción de lípidos, también supera al LDL-C como predictor de ECV (130,132,134). En algunas guías, se contempla como un marcador secundario pero otras, como la de la “*National Lipid Association*” o la guía europea, lo incluyen como un objetivo primario de tratamiento (44,46). Sin embargo, de igual modo que ocurre con el LDL-C estimado por la FF, sus resultados se verían afectados por la imprecisión del colesterol total y del HDL-C.

Existen también otros biomarcadores, algunos relacionados con el perfil lipídico, como las partículas LDL de baja densidad o el número de partículas LDL, y otros no, como la proteína C reactiva ultrasensible, la troponina cardíaca o los péptidos natriúreticos, que pueden aportar información adicional para la valoración del riesgo

de ECV y que puede que en un futuro próximo tengan una relevancia mayor en las guías clínicas (106,135–138).

Un elemento que podría ayudar al desarrollo de futuras guías es la variabilidad biológica intra e interindividual. En este sentido, el CV intraindividual y el CV interindividual (139) indican que las pruebas del perfil lipídico tienen un fuerte componente individual, lo que nos sugiere que el uso del valor de referencia del cambio en vez de valores de referencia tradicionales es más adecuado (140–142). La inclusión de esta información podría ayudar en el establecimiento de objetivos más individualizados y en la valoración del éxito de las terapias anti-hiperlipémicas, incluso en pacientes con dislipemia u otras patologías de base (143).

A pesar de que es ampliamente aceptada la importancia de las pruebas del perfil lipídico en la valoración del riesgo de ECV, en las guías clínicas de ECV no hay un consenso claro sobre cómo debe realizarse el estudio del perfil lipídico con respecto a las condiciones del paciente, los criterios de calidad y los métodos a emplear.

5.1.- CONDICIONES DEL PACIENTE, CRITERIOS DE CALIDAD Y MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO

Condiciones del paciente

Recientemente, la “*European Atherosclerosis Society*” y la “*European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*” han publicado un documento (144) en el que se indica que no es necesario el ayuno de manera rutinaria para la determinación del perfil lipídico. En este sentido, los datos recogidos sugieren que, tanto en ayunas como sin ayuno, los datos del perfil lipídico se modifican de manera similar a lo largo del tiempo y son comparables en la prevención de ECV, utilidad principal de estas pruebas. Por este motivo, los protocolos que impliquen ayuno y los que no, pueden ser complementarios. Algunas de las guías disponibles para la valoración de ECV, como la

de la “*National Lipid Association*”, la ACC/AHA o la guía europea recogen ya esta opción (42,44,46), sobre todo para la determinación del colesterol total, HDL-C y colesterol no-HDL. Sin embargo, esta asunción, aunque viable para el perfil lipídico, puede afectar de manera secundaria a otras pruebas o técnicas de laboratorio (145), por lo que sería necesario valorar la idoneidad de su aplicación. En el caso de los estudios realizados en este trabajo, se ha optado por la valoración del perfil lipídico en ayunas puesto que los análisis se encuadraban dentro de estudios rutinarios, con lo que no se interfería con otras pruebas y, además, la mayoría de guías recomiendan, de momento, el estudio en ayunas.

Criterios de calidad

Con respecto a los criterios de calidad, las recomendaciones vigentes siguen siendo las propuestas por el NCEP, ya que las guías posteriores no entran en este apartado. Para asegurar la fiabilidad de los datos en este trabajo, todos los parámetros se analizaron en una sola tanda, asegurándose que las curvas de calibración y los controles de calidad cumplieran los criterios definidos por la NCEP: ET \leq 8.9, 13, 15 y 12% y CV \leq 3, 5, 6 y 4%, respectivamente, para colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C.

Métodos a emplear

En relación con el LDL-C, las guías de ECV reconocen el empleo de los métodos directos y la FF, mientras que no hacen referencia a que técnicas deben usarse para la determinación del colesterol total, HDL-C o triglicéridos. Como ya se ha comentado, existen varias técnicas disponibles para la cuantificación de todos estos parámetros, si bien los métodos de referencia, dada su complejidad y el equipamiento necesario, quedan alejados de los laboratorios rutinarios (50). Por tanto, se debe sobreentender que los métodos enzimáticos y directos empleados habitualmente son aceptables.

No obstante, no todos los reactivos están aprobados por el CDC o bien no lo están para todas las plataformas en las que se emplean (146-148), lo que podría llevar a resultados dispares. Así por ejemplo, los reactivos empleados en este trabajo para el colesterol total están certificados por el CDC (en las plataformas en las que se ha hecho el análisis) salvo el reactivo de Abbott, aunque se supone trazable con el método de referencia, y el de Beckman Coulter, que no está certificado para el AU2700. En el caso del HDL-C, todos están certificados, salvo el reactivo de Beckman Coulter sobre el AU2700. En relación con los triglicéridos, no hay una publicación por parte del CDC de fabricantes certificados. En el caso del LDL-C medido de manera directa, el problema de la falta de certificación es todavía mayor, dado que el reactivo de Beckman Coulter no está certificado en el AU2700, el de Siemens no lo está sobre los Advia y el de Abbott no está certificado.

Los métodos directos para la determinación del LDL-C deberían constituir la referencia en los laboratorios de análisis clínicos, pero las diferencias en cuanto a la composición de reactivo y la certificación podría afectar a su rendimiento y a la transferencia de resultados entre laboratorios, además de a la comparación de resultados con la FF. Así mismo, la FF también ha demostrado presentar diversas limitaciones en su uso, motivo por el cual han ido apareciendo con los años diferentes alternativas, si bien no están avaladas por ninguna guía hasta el momento.

Todos estos hechos resultan de gran importancia, ya que los valores que se ofrecen en las diferentes guías son “universales”, no dependen del método empleado para su determinación y, por tanto, la transferencia de resultados entre métodos debería ser un factor relevante. La discrepancia entre ellos podría conducir a elecciones inadecuadas en el manejo de los pacientes según el entorno donde se desarrolle o a la obtención de resultados que no representen fielmente la realidad de un paciente y, por tanto, pueden modificar la elección de terapia (149).

Por todo ello, en este trabajo se busca analizar el efecto de la DM y de los valores extremadamente altos y bajos de HDL-C, sobre los métodos directos y sobre distintas fórmulas para la determinación del LDL-C.

5.2.- EFECTO DEL HDL-C EXTREMO

Uno de los objetivos principales de este trabajo era corroborar que los niveles de HDL-C extremos podían suponer una limitación a la hora de emplear la FF para la estimación del LDL-C en comparación con un método directo (65). En este sentido, los resultados confirman que, con los equipos y reactivos empleados, los valores de LDL-C obtenidos mediante la FF y los métodos directos no son intercambiables. De 24 análisis realizados, mediante la regresión de Passing-Bablok o el método de Bland-Altman, únicamente 4 satisfacen los requisitos fijados (Tabla 21). Además, esta falta de transferibilidad de resultados, se traduce en una clasificación inadecuada de pacientes, según los grupos definidos por la NCEP, con porcentajes de errores de clasificación entre 5,7-22,9% con el HDL-C ≤ 20 mg/dL y entre 15,2-73,3% con el HDL-C ≥ 100 mg/dL. Además, los índices K indican, en general, una correlación entre débil y moderada (Tabla 16). Además, la discrepancia se acentúa si se incluye el grupo de LDL-C < 70 mg/dL.

Estos resultados vendrían a confirmar que los valores extremos de HDL-C suponen una limitación en el empleo de la FF. Posteriormente, Choi *et al.* (150) corroboraron que valores de HDL-C ≤ 40 mg/dL resultaban claves en las discrepancias entre la medida directa y la FF.

Pero, esta falta de concordancia, no se limita a la comparación entre la FF y los métodos directos, sino que se extiende a todos los parámetros del perfil lipídico. De 96 comparaciones, mediante la regresión de Passing-Bablok o el método de Bland-Altman, entre el colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C (medido de manera directa) en cada uno de los analizadores, solamente 13 de ellas cumplen los criterios definidos (Tabla 15). Además, la concordancia en la clasificación de riesgo entre los diferentes ensayos de LDL-C directo en los distintos laboratorios muestra unos índices K moderados (0,49 en el grupo de HDL-C bajo y 0,37 en el de HDL-C elevado).

Estas discrepancias podrían explicarse porque se están analizando muestras de pacientes con alteraciones en el perfil lipídico y que pueden tener además otras

patologías de base. En otros estudios, se muestran reactividades diferentes en pacientes con valores extremadamente altos o bajos de lipoproteínas o en pacientes con lipoproteínas anormales (como ocurre en determinadas patologías), sobre todo en pacientes enfermos, con dislipemia o en tratamientos de reducción de lipoproteínas (84,151-153).

Una de las explicaciones a este hecho podrían ser los diferentes principios de reacción empleados por cada fabricante, así como la distinta reactividad a las lipoproteínas (subfracciones de LDL, partículas IDL, LDL anormales, etc.) y los diferentes calibradores empleados (84,134,149,152,154-159) ya que, como se ha comentado, no todos los reactivos están certificados.

En el trabajo de Miller *et al.* (84), se encontró que en los pacientes “enfermos”, los resultados del LDL-C y HDL-C, obtenidos con métodos directos, no eran comparables con los métodos de referencia, mientras que en pacientes sanos los resultados si eran adecuados. En un trabajo reciente en Japón (160), se han evaluado los métodos directos para la determinación del LDL-C y HDL-C disponibles en este país, después de que, en basa a datos de otros trabajos previos (84,134,152,158), se retiraran del mercado aquellos reactivos que no cumplían las exigencias de calidad. Los reactivos disponibles en este momento, muestran el cumplimiento de los criterios de la NCEP, en cuanto a error total y CV, y ser comparables con los métodos de referencia, en pacientes sanos y enfermos tanto si se está en ayunas como si no.

La determinación del LDL-C, incluso por el método de referencia, resulta a la postre un cálculo. El proceso de la BQ permite la separación de las diferentes fracciones y el LDL-C es el resultado de sustraer al colesterol de la fracción beta el HDL-C (50). Por tanto, no incluye exclusivamente el LDL-C, sino que hay que añadir las IDL y Lp(a) (161). Todas ellas son partículas potencialmente aterogénicas, pero este hecho podría explicar las discrepancias entre los métodos directos e incluso entre fórmulas desarrolladas en base a BQ. Dada la imposibilidad de acceder al método de referencia para la determinación del LDL-C, y siendo además inaplicable en los estudios rutinarios, los métodos directos deberían ser la referencia en los laboratorios de

análisis clínicos. Sin embargo, los resultados obtenidos reflejan que los principales métodos disponibles en nuestro entorno para el LDL-C no son comparables entre sí, ni tampoco el resto de pruebas del perfil lipídico.

En ocasiones, las diferencias detectadas a nivel del laboratorio entre los resultados ofrecidos por dos equipos o dos técnicas diferentes son irrelevantes, si tenemos en cuenta la significación clínica del error. Sin embargo, dado el creciente impacto del estilo de vida propio de las sociedades desarrolladas en el riesgo cardiovascular, las discrepancias en el perfil lipídico podría devenir en importantes diferencias con respecto al cuándo, cuánto y cómo tratar, lo que deja muchas incertidumbres (106,162).

Una de las limitaciones de la investigación es la ausencia de un método de referencia para la determinación del LDL-C. En este sentido, la intención del estudio no era determinar cuál de los métodos tenía una mejor correlación con el método de referencia sino valorar el rendimiento de los métodos directos más habituales en nuestro entorno. Otra limitación es el empleo de muestras congeladas y seleccionadas en base a los resultados de un laboratorio participante. Este hecho era necesario debido a la separación geográfico de los laboratorios en cuestión y la imposibilidad de realizar las determinaciones en tiempo real según se seleccionaban las muestras. En este sentido, se han publicado artículos en los que, empleando métodos de ultracentrifugación y precipitación, se evidenciaban variaciones significativas en muestras congeladas (163,164). Para minimizar este efecto, todos los resultados han sido analizados a partir de las muestras congeladas, de manera que las posibles alteraciones fueran idénticas y afectaran en el mismo sentido a todos los métodos. En las muestras sin congelar, en relación con las muestras congeladas, se observan variaciones del colesterol total (-4,3 a +4,5%), triglicéridos (+7,5 a +10,1%) y HDL-C (-3,6 a -1,9%).

5.3.- DM Y PERFIL LIPÍDICO

La ECV es una de las principales causas de muerte relacionada con la DM, sobre todo en el caso de la DM tipo 2, de ahí la importancia de la monitorización del perfil lipídico en estos pacientes (165–167). La dislipemia en la DM lleva asociadas alteraciones en las partículas lipídicas que pueden afectar a su reactividad (165,168).

Los resultados mostraron que, con los pacientes seleccionados y los datos disponibles, no existían diferencias significativas entre el grupo control y los pacientes diabéticos bien y mal controlados (Tabla 25). Por este motivo, se analizaron en conjunto los datos para llevar a cabo una comparación de métodos en un grupo control con un tamaño muestral mayor.

Esta ausencia de diferencias puede deberse a varios motivos. El número de pacientes seleccionados es bajo debido a las limitaciones en el reclutamiento de pacientes. La incidencia de LDL-C elevado en población diabética es similar a la de la población sana (169,170) pero los pacientes diabéticos con mal control metabólico suelen presentar valores de colesterol total, triglicéridos y LDL-C más elevados y de HDL-C más bajos que la población sana (171), mientras que en nuestros datos, aún sin diferencias significativas, los valores de colesterol total y LDL-C son más bajos en los pacientes diabéticos. Otro hecho importante es la valoración del grado de control de la diabetes mediante la HbA1c, ya que la dislipemia más acusada suele asociarse con valores más elevados (>9,0%) (171). No obstante, estos niveles de HbA1c también se asocian a mayores complicaciones (172–174) por lo que resultó dificultoso encontrar pacientes con descontrol metabólico severo sin otras patologías asociadas.

Sin embargo, y de manera sorprendente, los resultados no son mucho mejores al analizar los datos en conjunto. Únicamente 8 de 48 comparaciones entre colesterol total, HDL-C, triglicéridos y LDL-C de los equipos incluidos en el estudio cumplen los criterios fijados (Tabla 26). Bien es cierto que, sobre todo valorando los resultados de la prueba de Bland-Altman y excluyendo el LDL-C (donde las diferencias son

mayores), los intervalos de confianza no tienen el 0 muy alejado y las diferencias que se observan a nivel clínico pueden no tener mucha significación.

5.4.- FÓRMULA DE FRIEDEWALD EN LA VALORACIÓN DE ECV

Hay que reconocer la contribución de la FF a la reducción de ECV y a facilitar la implantación del LDL-C en los laboratorios, así como su vigencia a lo largo de los años a pesar de las controversias. La FF sigue siendo reconocida por las diferentes guías como una herramienta coste-efectiva y sencilla, si bien no existe un consenso en las mismas sobre su uso. Por ejemplo, guías como la de ACC/AHA no indican ninguna limitación, mientras que la del NCEP y la “*National Lipid Association*” reconocen la necesidad de ayuno y la imposibilidad de su uso con triglicéridos ≥ 400 mg/dL. Incluso otras van más allá, como la guía europea, que incluye la limitación cuando el LDL-C es menor de 50 mg/dL, o la de la AACE/ACE, que refleja que es imprecisa con triglicéridos a partir de 200 mg/dL, recomendando el uso de métodos directos en estos casos y en pacientes con enfermedad cardiovascular previa o con DM.

Los resultados obtenidos, en los diferentes estudios de este trabajo, indican que la concordancia de la FF con los métodos directos es baja. Mediante la regresión de Passing-Bablok y el método de Bland-Altman solamente 4 de 24 análisis cumplen los criterios definidos (Tabla 21 y Tabla 31). Y los índices K muestran una correlación entre pobre y moderada (Tabla 19B y Tabla 29 B). Además, el porcentaje de errores aumenta con la inclusión del grupo de LDL-C < 70 mg/dL. Los mejores resultados, con índices K que superan el 0,80, se dan en el estudio de diabetes en el Cobas c711, coincidiendo con el único fabricante con todos sus reactivos certificados por el CDC. Además, al comparar la capacidad de clasificación de la FF entre los diferentes laboratorios, se obtienen mejores concordancias, sobre todo con HDL-C ≤ 20 mg/dL, que al comparar la FF con los métodos directos o los métodos directos entre sí (Tabla 16, Tabla 19 y Tabla 29).

Las discrepancias observadas pueden deberse a que la FF tiene varias limitaciones en su aplicación descritas en la bibliografía (175,176). Por ejemplo, su uso es cuestionable en pacientes con DM, enfermedad renal o hepática (62,161,177–183) a lo que habría que añadir, además, a los pacientes con LDL-C bajo y cuando los triglicéridos se sitúan por encima de 150 mg/dL (175,184,185). Además, en diversos estudios se ha referido que la FF tiende a infraestimar los resultados de la BQ (53,61,186).

Todo ello puede deberse a las limitaciones existentes en el propio desarrollo de la ecuación (175):

- 1) No es aplicable en presencia de quilomicrones, pero la detección de los mismos es inviable en la práctica rutinaria, ya que requiere mantener la muestra a 4°C durante varias horas, lo que hará que pasen indetectables a menos que los triglicéridos superen los 400 mg/dL.
- 2) No es válida en pacientes con hiperlipoproteinemia tipo III, aunque dado lo infrecuente de esta patología este hecho no debería ser relevante.
- 3) Aunque es sabido que es variable, se acepta un ratio constante entre los triglicéridos y las VLDL, asumiendo que dadas las concentraciones relativas de LDL-C y triglicéridos, el error cometido es suficientemente pequeño como para no ser relevante.
- 4) La estimación del LDL-C se basa en la determinación de tres parámetros de laboratorio, lo que arrastra errores de tantas fuentes, incluso aunque se empleen métodos estandarizados para cada uno de ellos y se cumplan los requerimientos técnicos (187,188).

5.5.- UTILIDAD DE LAS FÓRMULAS ALTERNATIVAS PARA EL LDL-C EN COMPARACIÓN CON LA FF Y LOS MÉTODOS DIRECTOS

Otro de los objetivos de este trabajo, fue valorar la aplicación de las fórmulas alternativas que pretenden desplazar a la FF, sobreponiéndose a sus limitaciones o mejorando los resultados con respecto a la BQ o en relación a algún método directo.

Los resultados obtenidos, en cuanto a comparación de las diferentes ecuaciones con respecto a la FF, sugieren que la fórmula de Anandaraja ofrece unos resultados comparables, al cumplirse los criterios de Passing-Bablok con los 4 equipos empleados (Tabla 33). En comparación con los métodos directos, no se observan unos resultados que permitan concluir qué fórmula se asemeja más a cada fabricante. En relación con la capacidad de clasificación, se puede ver que la concordancia con respecto a la FF y a los métodos directos es entre moderada y buena, si bien, al tratarse de grupos de riesgo de ECV y viendo que las discrepancias pueden conducir a cambios en cuanto a la decisión de inicio de tratamiento farmacológico o en cuanto a la valoración del éxito del mismo, sería conveniente una concordancia mayor (Tabla 23 y Tabla 34).

La ausencia de una buena concordancia entre las diferentes fórmulas puede responder a varios motivos. Una de las limitaciones del estudio es que, al carecer de resultados del método de referencia para la determinación del LDL-C, se compararon los datos de LDL-C calculado con las diferentes fórmulas frente a los de la FF (al ser el empleado de manera rutinaria en el laboratorio) y frente al método directo de cada laboratorio participante, pero sin que exista un valor “real”. Además, cada una de las fórmulas se ha desarrollado empleando distintas estrategias y con distintas finalidades. Así por ejemplo, como reflejan sus autores, la fórmula de Delong (55) mejora la precisión de la FF en el rango de normalidad de los triglicéridos. La fórmula de Hattori (56), por su parte, facilita la detección de desórdenes de las lipoproteínas. La fórmula de Anandaraja (57) reduce el coste del perfil lipídico, al emplear únicamente los resultados de colesterol total y triglicéridos, disminuye el error

asociado a los valores más elevados de triglicéridos y sería válida para el síndrome metabólico (189). La fórmula de Chen (58) puede emplearse con triglicéridos ≥ 400 mg/dL, al igual que la de Martin (61), mientras que la de Vujovic (59) mejora los resultados con respecto al método directo de Roche en un analizador Hitachi 911.

Un hecho relevante, y que no es mencionado en la bibliografía, es que en la elaboración de cada una de las fórmulas alternativas se han empleado estrategias diferentes, con selección de pacientes y criterios de exclusión dispares y métodos de laboratorio distintos, por ejemplo, comparándose el LDL-C calculado tanto con métodos directos como con la BQ, así como determinando el colesterol total, los triglicéridos y el HDL-C con distintos métodos (enzimáticos, de precipitación, directos) y con técnicas de ultracentrifugación. Y a pesar de esta diversidad, ni siquiera aquellas fórmulas en las que se han empleado tácticas similares ofrecen resultados comparables. Este hecho puede deberse tanto a la heterogeneidad propia de las lipoproteínas como a las discrepancias entre los diferentes métodos, lo que demostraría que una mayor estandarización en este campo es necesaria.

Dentro de las diferentes fórmulas propuestas, la ecuación de Martin (61), desarrollada en base a un método de ultracentrifugación, ha ofrecido un rendimiento superior a la FF en algunos estudios (61,190). Su desarrollo presenta un enfoque interesante, ya que, al igual que se indica en la investigación básica sobre lipoproteínas, la relación entre los triglicéridos y el colesterol asociado a las VLDL no es constante, si no que disminuye progresivamente cuando aumentan los triglicéridos y desciende el colesterol no-HDL. Sin embargo, podría plantearse un problema en su aplicación ya que la determinación del perfil lipídico se realiza en base a un método de ultracentrifugación no basado en los métodos de referencia, mientras que los triglicéridos se determinan mediante un método enzimático. Este hecho podría explicar las discrepancias observadas con respecto a los resultados de la BQ (190,191).

Conclusiones

6.- CONCLUSIONES

En base a los datos obtenidos y analizados en esta tesis doctoral, centrada en el estudio de los parámetros del perfil lipídico y, particularmente, en el LDL-C en relación con el riesgo cardiovascular, se puede concluir que:

CONCLUSIÓN 1: Los valores de HDL-C extremadamente altos y bajos suponen una limitación en la comparación de los métodos directos y las distintas fórmulas para la determinación del LDL-C.

CONCLUSIÓN 2: La determinación del LDL-C mediante métodos directos requiere de una armonización de las técnicas disponibles y una mayor transferibilidad de resultados entre las mismas.

CONCLUSIÓN 3: Existen discrepancias relevantes, en la intercambiabilidad de resultados y en la clasificación de pacientes en categorías de riesgo, entre la FF y otras fórmulas para la estimación del LDL-C.

CONCLUSIÓN 4: La clasificación de pacientes en grupos de riesgos según los valores de LDL-C puede verse afectada, de modo relevante, por el método o fórmula empleados, con importantes consecuencias sobre la decisión de pautar un tratamiento anti-hiperlipemiente.

CONCLUSIÓN 5: Las diferentes fórmulas y los métodos directos analizados para la determinación del LDL-C muestran un bajo grado de concordancia en niveles

inferiores a 70 mg/dL, hecho que resulta muy relevante dada la tendencia a establecer estrategias más agresivas para reducir el LDL-C por debajo de este valor.

CONCLUSIÓN 6: Dada la falta de transferibilidad sería recomendable que pacientes con perfiles lipídicos alterados o en tratamiento sean monitorizados con el mismo método para la determinación de LDL-C y que los resultados sean interpretados con cautela si provienen de otro centro con un método diferente.

CONCLUSIÓN 7: El cumplimiento de los criterios de calidad fijados por la NCEP no garantiza el intercambio fiable de resultados entre las pruebas del perfil lipídico.

Abreviaturas

ABREVIATURAS

AACE: *American Association of Clinical Endocrinologists*

AAP: 4-aminofenazona

ABCA1: *ATP-binding cassette protein 1*

ACAT: enzima acil colesterol acil transferasa

ACC: *American College of Cardiology*

ACE: *American College of Endocrinology*

AHA: *American Heart Association*

ANOVA: análisis de la varianza

Apo: apolipoproteína

ATP: adenosín trifosfato

ATPI, II y III: *Adult Treatment Panel I, II y III*

BSA: solución de albúmina sérica bovina

C: carbono

CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*

CE: colesterol esterasa

CHES: ácido 2-(ciclohexilamino) etanosulfónico

CHOD: colesterol oxidasa

CK: creatin-quinasa

CT: colesterol total

CV: coeficiente de variación

DM: diabetes mellitus

DS: desviación típica

DSBmT: N, N-bis (4-sulfobutil)-m-toluidina-disodio

E. coli: Escherichia coli

ECV: enfermedad cardiovascular

EDTA-2K: ácido etilendiaminotetraacético dipotásico

EDTA-3K: ácido etilendiaminotetraacético tripotásico

EMSE: N-etil-N-(3-metilfenil)-N-succiniletlen diamina

ET: error total

F-DAOS: N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxi-4 fluoroanilina

FF: fórmula de Friedewald

GK: gliceroquinasa

GPO: glicerol fosfato oxidasa

HBA: ácido hidroxibenzoico

HbA1c: hemoglobina glicada

HDAOS: N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3,5-dimetoxi-4 fluoroanilina

HDL: lipoproteínas de alta densidad

HDL-C: colesterol asociado a partículas HDL

HEPES: 4-(2-hidroxietyl)-1-piperacíniletano-sulfónico

HMGCoA: hidroximetilglutaril CoA

HSDA: N-(2-hidroxi-3-sulfopropilo)-3,5-dimetoxianilina sódica

IDL: lipoproteínas de densidad intermedia

IDMS: espectrometría de masas con dilución isotópica

LCAT: lecitín colesterol aciltransferasa

LDL: lipoproteínas de baja densidad

LDL-C: colesterol asociado a partículas LDL

LDL-FF: LDL-Colesterol calculado mediante la fórmula de Friedewald

Lp(a): lipoproteína (a)

LPL: enzima lipoproteín lipasa

MADB: N,N-bis (4-sulfobutil)-3,5-dimetilanilina

MES: ácido 2-morfolino etano sulfónico

MOPS: ácido 3-morfolino-propanosulfónico

MTP: proteína microsomal de transferencia de triglicéridos

NCEP: *National Cholesterol Education Program*

NIST: *National Institute of Standards and Technology*

PEG: polietilenglicol

PIPES: piperacil-N-N-bis(2-etanosulfónico)

POD: peroxidasa

SEQL: Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

TG: triglicéridos

TOOS: N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilanilina

UKPDS: *UK Prospective Diabetes Study*

VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad

K: coeficiente kappa de Cohen

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

1. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, Tietz NW. Tietz fundamentals of clinical chemistry. St. Louis, Mo.: Saunders Elsevier; 2008. 952 p.
2. Castaño López MA, Díaz Portillo J, Paredes Salido F. Bioquímica clínica: de la patología al laboratorio. Madrid: Ergon; 2007. 605 p.
3. Marshall WJ, Lapsley M, Day AP, Ayling RM. Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects, 3rd Edition. Edimburgo: Churchill Livingstone; 2014. 944 p.
4. Ridker PM. LDL cholesterol: controversies and future therapeutic directions. *Lancet*. 2014;384(9943):607–17.
5. Robert S Rosenson M. Lipoprotein classification, metabolism and role in atherosclerosis [Internet]. UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Citado el 16 de Julio de 2017). Disponible en: <http://www.uptodate.com>
6. Srisawasdi P, Vanavanan S, Rochanawutanon M, Pornsuriyasak P, Tantrakul V, Kruthkul K, et al. Heterogeneous properties of intermediate- and low-density lipoprotein subpopulations. *Clin Biochem*. 2013;46(15):1509–15.
7. McNeal C. Lipoprotein(a). En: Endotext [Internet]. MDText.com, Inc.; 2016. (Citado el 16 de Julio de 2017). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK395570/>
8. Fernández GC, Tardáguila FM, López CT, Velasco M, Miguel PS, Fuente A de la. Fisiopatología de la placa de ateroma y sus implicaciones en la imagen. *Radiología*. 2003;45(3):107–14.
9. Singh RB, Mengi SA, Xu YJ, Arneja AS, Dhalla NS. Pathogenesis of atherosclerosis: A multifactorial process. Vol. 7, *Exp Clin Cardiol*. 2002. p. 40–53.
10. Rosenson RS, Brewer HB, Davidson WS, Fayad ZA, Fuster V, Goldstein J, et al. Cholesterol efflux and atheroprotection. *Circulation*. 2012;125(15):1905–19.
11. Sánchez-Quesada JL, Vinagre I, De Juan-Franco E, Sánchez-Hernández J, Bonet-Marques R, Blanco-Vaca F, et al. Impact of the LDL subfraction phenotype on Lp-PLA2 distribution, LDL modification and HDL composition in type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;12:112.
12. Emerging T, Factors R, Major C. Major Lipids, Apolipoproteins, and Risk of Vascular Disease. *JAMA*. 2009;302(18):1993–2000.
13. Ezgu F. Inborn Errors of Metabolism. *Adv Clin Chem*. 2016;73:195–250.
14. Fredrickson DS. An international classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. *Ann Intern Med*. 1971;75(3):471–2.

15. Rader DJ, Hovingh GK. HDL and cardiovascular disease. *Lancet*. 2014;384(9943):618–25.
16. Haase CL, Tybjaerg-Hansen A, Ali Qayyum A, Schou J, Nordestgaard BG, Frikke-Schmidt R. LCAT, HDL cholesterol and ischemic cardiovascular disease: A mendelian randomization study of HDL cholesterol in 54,500 individuals. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(2):E248–56.
17. Barter P. Lipoprotein metabolism and CKD: overview. *Clin Exp Nephrol*. 2014;18(2):243–6.
18. Mora S, Buring JE, Ridker PM. Discordance of low-density lipoprotein (LDL) cholesterol with alternative LDL-related measures and future coronary events. *Circulation*. 2014;129(5):553–61.
19. Bertoluci MC, Rocha VZ. Cardiovascular risk assessment in patients with diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 2017;9(25):1–13.
20. Fuster V, Ibáñez B. Diabetes y enfermedad cardiovascular. *Diabetes Cardiovasc Dis*. 2008;8(Supl.C):35–44.
21. D'Agostino RB, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: The Framingham heart study. *Circulation*. 2008;117(6):743–53.
22. O'Donnell CJ, Elosua R. Cardiovascular Risk Factors. Insights From Framingham Heart Study. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61(3):299–310.
23. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: The SCORE project. *Eur Heart J*. 2003;24(11):987–1003.
24. Hippisley-Cox J, Coupland C, Vinogradova Y, Robson J, May M, Brindle P. Derivation and validation of QRISK, a new cardiovascular disease risk score for the United Kingdom: prospective open cohort study. *BMJ*. 2007 Jul 21;335(7611):136.
25. Hippisley-Cox J, Coupland C, Vinogradova Y, Robson J, Minhas R, Sheikh A, et al. Predicting cardiovascular risk in England and Wales: prospective derivation and validation of QRISK2. *BMJ*. 2008 Jun 28;336(7659):1475–82.
26. Rosenson RS, Brewer HB, Chapman MJ, Fazio S, Hussain MM, Kontush A, et al. HDL measures, particle heterogeneity, proposed nomenclature, and relation to atherosclerotic cardiovascular events. Vol. 57, *Clin Chem*. 2011. p. 392–410.
27. Goff DC, Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, D'Agostino RB, Gibbons R, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: A report of the American college of cardiology/American heart association task force on practice guidelines. Vol. 63, *J Am Coll Cardiol*. 2014. p. 2935–59.

28. Cooney MT, Dudina AL, Graham IM. Value and Limitations of Existing Scores for the Assessment of Cardiovascular Risk. A Review for Clinicians. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54(14):1209–27.
29. Yoshida H, Kisugi R. Mechanisms of LDL oxidation. Vol. 411, *Clin Chim Acta.* 2010. p. 1875–82.
30. Assmann G, Schulte H, Funke H, von Eckardstein A. The emergence of triglycerides as a significant independent risk factor in coronary artery disease. *Eur Heart J.* 1998 Oct;19 Suppl M:M8-14.
31. Jellinger PS, Handelsman Y, Rosenblit PD, Bloomgarden ZT, Fonseca VA, Garber AJ, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Guidelines for Management of Dyslipidemia and Prevention of Atherosclerosis. *Endocr Pract.* 2017;23(4):479-97.
32. Cuchel M, Bloedon LT, Szapary PO, Kolansky DM, Wolfe ML, Sarkis A, et al. Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med.* 2007;356(2):148–56.
33. Norata GD, Ballantyne CM, Catapano AL. New therapeutic principles in dyslipidaemia: Focus on LDL and Lp(a) lowering drugs. Vol. 34, *Eur Heart J.* 2013. p. 1783–9.
34. McKenney JM. Understanding PCSK9 and anti-PCSK9 therapies. *J Clin Lipidol.* 2015;9(2):170–86.
35. Shantha GPS, Robinson JG. Emerging innovative therapeutic approaches targeting PCSK9 to lower lipids. *Clin Pharmacol Ther.* 2016;99(1):69–71.
36. Toth PP. Emerging LDL therapies: Mipomersen - Antisense oligonucleotide therapy in the management of hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2013;7(3 SUPPL.):S6–10.
37. Visser ME, Witztum JL, Stroes ESG, Kastelein JJP. Antisense oligonucleotides for the treatment of dyslipidaemia. *Eur Heart J.* 2012;33(12): 1451–8.
38. Expert Panel on Detection E, Adults T of HBC in, Ncep. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001;285(19):2486–97.
39. DeWitt Goodman S, Hulley SB, Clark LT, Dais CE, Fuster V, LaRosa JC, et al. Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. *Arch Intern Med.* 1988;148(1):36–69.
40. Grundy SM. Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and

Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). JAMA. 1993;269(23):3015-23.

41. Zapico E, Ordóñez J. Nuevas recomendaciones del National Cholesterol Education Program (NCEP). Consecuencias en el laboratorio clínico. Clin Invest Arterioscl. 2002;14(5):272-6.
42. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults. Circulation. 2014;129(25 suppl 2):S1-45.
43. Jacobson TA, Ito MK, Maki KC, Orringer CE, Bays HE, Jones PH, et al. National Lipid Association Recommendations for Patient-Centered Management of Dyslipidemia: Part 1 - Executive Summary. J Clin Lipidol. 2014;8(5):473-88.
44. Jacobson TA, Ito MK, Maki KC, Orringer CE, Bays HE, Jones PH, et al. National Lipid Association recommendations for patient-centered management of dyslipidemia: Part 1 - Full report. J Clin Lipidol. 2015;9(2):129-69.
45. Bays HE, Jones PH, Orringer CE, Brown WV, Jacobson TA. National Lipid Association Annual Summary of Clinical Lipidology 2016. J Clin Lipidol. 2016;10(1):S1-43.
46. Piepoli MF, Hoes AW, Agewall S, Albus C, Brotons C, Catapano AL, et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. Eur Heart J. 2016;37(29):2315-81.
47. Robert S Rosenson M. Measurement of blood lipids and lipoproteins [Internet]. UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Citado el 16 de Julio de 2017). Disponible en: <http://www.uptodate.com>
48. Helgadottir A, Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Holm H, Patel RS, Gudnason T, et al. Apolipoprotein(a) genetic sequence variants associated with systemic atherosclerosis and coronary atherosclerotic burden but not with venous thromboembolism. J Am Coll Cardiol. 2012;60(8):722-9.
49. Programa de Garantía de la Calidad para Laboratorios Clínicos [Internet]. 2016. Disponible en: https://www.contcal.org/qcweb/Documents/90_Avaluacio_anual/90_Programas_2016/40-Suero.pdf
50. Warnick GR, Kimberly MM, Waymack PP, Leary ET, Myers GL. Standardization of Measurements for Cholesterol, Triglycerides, and Major Lipoproteins. Lab Med. 2008;39(8):481-90.
51. Edwards SH, Stribling SL, Pyatt SD, Kimberly MM. Reference measurement procedure for total glycerides by isotope dilution GC-MS. Clin Chem. 2012;58(4):768-76.

52. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499–502.
53. Tremblay AJ, Morrissette H, Gagné JM, Bergeron J, Gagné C, Couture P. Validation of the Friedewald formula for the determination of low-density lipoprotein cholesterol compared with beta-quantification in a large population. *Clin Biochem.* 2004;37(9):785–90.
54. Mcnamara JR, Cohn JS, Wilson PWF, Schaefer E. Calculated Values for Low-Density Lipoprotein Cholesterol in the Assessment of Lipid Abnormalities and Coronary Disease Risk. *Clin Chem.* 1990;36(1):36–42.
55. DeLong DM, DeLong ER, Wood PD, Lippel K, Rifkind BM. A comparison of methods for the estimation of plasma low- and very low-density lipoprotein cholesterol. The Lipid Research Clinics Prevalence Study. *JAMA.* 1986;256(17):2372–7.
56. Hattori Y, Suzuki M, Tsushima M, Yoshida M, Tokunaga Y, Wang Y, et al. Development of approximate formula for LDL-chol, LDL-apo B and LDL-chol/LDL-apo B as indices of hyperapobetalipoproteinemia and small dense LDL. *Atherosclerosis.* 1998;138(2):289–99.
57. Anandaraja S, Narang R, Godeswar R, Lakshmy R, Talwar KK. Low-density lipoprotein cholesterol estimation by a new formula in Indian population. *Int J Cardiol.* 2005;102(1):117–20.
58. Chen Y, Zhang X, Pan B, Jin X, Yao H, Chen B, et al. A modified formula for calculating low-density lipoprotein cholesterol values. *Lipids Health Dis.* 2010;9:52.
59. Vujovic A, Kotur-Stevuljevic J, Spasic S, Bujisic N, Martinovic J, Vujovic M, et al. Evaluation of different formulas for LDL-C calculation. *Lipids Health Dis.* 2010;9:27.
60. de Cordova CMM, de Cordova MM. A new accurate, simple formula for LDL-cholesterol estimation based on directly measured blood lipids from a large cohort. *Ann Clin Biochem.* 2012;50(Pt 1):13–9.
61. Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, Toth PP, Kwiterovich PO, Blumenthal RS, et al. Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile. *JAMA.* 2013;310(19):2061–8.
62. Chai Kheng EY, Chee Fang S, Chang S, Kiat Mun SL, Su Chi L, Lee Ying Y, et al. Low-density lipoprotein cholesterol levels in adults with type 2 diabetes: an alternative equation for accurate estimation and improved cardiovascular risk classification. *Diab Vasc Dis Res.* 2014;11(6):431–9.

63. Dansethakul P, Thapanathamchai L, Saichanma S, Worachartcheewan A, Pidetcha P, Service E, et al. Determining a new formula for calculating low-density lipoprotein cholesterol : data mining approach. EXCLI J. 2015;(14):478–83.
64. Di Angelantonio E, Gao P, Pennells L, Kaptoge S, Caslake M, Thompson A, et al. Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction. JAMA. 2012;307(23):2499–506.
65. Timón-Zapata J, Laserna-Mendieta EJ, Pineda-Tenor D, Agudo-Macazaga M, Narros-Cecilia C, Rocha-Bogas MJ, et al. Extreme concentrations of high density lipoprotein cholesterol affect the calculation of low density lipoprotein cholesterol in the Friedewald formula and other proposed formulas. Clin Biochem. 2011;44(17–18):1451–6.
66. Ficha técnica reactivo Colesterol Total. Roche Diagnostics, 2011.
67. Ficha técnica reactivo Colesterol total. Siemens, 2011.
68. Ficha Técnica reactivo Colesterol Total. Abbott, 2012.
69. Ficha técnica reactivo Colesterol Total. Beckman Coulter, 2011.
70. Ficha técnica reactivo HDL-C. Roche Diagnostics, 2016.
71. Ficha técnica reactivo HDL-C. Siemens, 2013.
72. Ficha Técnica reactivo HDL-C. Abbott, 2014.
73. Ficha técnica reactivo HDL-C. Beckman Coulter, 2009.
74. Ficha técnica reactivo Triglicéridos. Roche Diagnostics, 2017.
75. Ficha técnica reactivo Triglicéridos. Siemens, 2014.
76. Ficha Técnica reactivo Triglicéridos. Abbott, 2012.
77. Ficha técnica reactivo Triglicéridos. Beckman Coulter, 2011.
78. Ficha técnica reactivo LDL-C Segunda Generación. Roche Diagnostics, 2011.
79. Ficha técnica reactivo LDL-C Tercera Generación. Roche Diagnostics, 2017.
80. Ficha técnica reactivo LDL-C. Siemens, 2011.
81. Ficha Técnica reactivo LDL-C. Abbott, 2017.
82. Ficha técnica reactivo LDL-C. Beckman Coulter, 2009.
83. Ficha técnica reactivo HbA1c. Sebia, 2017.
84. Miller WG, Myers GL, Sakurabayashi I, Bachmann LM, Caudill SP, Dziekonski A,

- et al. Seven direct methods for measuring HDL and LDL cholesterol compared with ultracentrifugation reference measurement procedures. *Clin Chem.* 2010;56(6):977–86.
85. Bablok W, Passing H. Application of Statistical Procedures Analytical Instrument Testing. *J Automat Chem.* 1985;7(2):74–9.
 86. Bland JM, Altman DG. Statistical Methods in Medical Research. *Stat Methods Med Res.* 1999;8(2):161–79.
 87. on Detection E.aluation, of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) T, National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection E and T of HBC in A (Adult TPI. 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) final report. *Circulation.* 2002;106(25):3143–421.
 88. Roy S. Atherosclerotic cardiovascular disease risk and evidence-based management of cholesterol. Vol. 6, *N Am J Med Sci.* 2014. p. 191–8.
 89. Reiner Ž, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. Vol. 32, *Eur Heart J.* 2011. p. 1769–818.
 90. Torres N, Guevara-Cruz M, Velázquez-Villegas LA, Tovar AR. Nutrition and Atherosclerosis. Vol. 46, *Arch Med Res.* 2015. p. 408–26.
 91. Ference BA, Yoo W, Alesh I, Mahajan N, Mirowska KK, Mewada A, et al. Effect of long-term exposure to lower low-density lipoprotein cholesterol beginning early in life on the risk of coronary heart disease: A mendelian randomization analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(25):2631–9.
 92. Orringer CE, Jacobson TA, Saseen JJ, Brown AS, Gotto AM, Ross JL, et al. Update on the use of PCSK9 inhibitors in adults: Recommendations from an Expert Panel of the National Lipid Association. *J Clin Lipidol.* 2017;1–11.
 93. Remaley AT, Shamburek RD, Amar M. The new ACC/AHA cardiovascular risk guidelines: Impact and controversies. *Clin Chem.* 2014;60(11): 1365–7.
 94. Pencina MJ, Navar-Boggan AM, D’Agostino RB, Williams K, Neely B, Sniderman AD, et al. Application of new cholesterol guidelines to a population-based sample. *N Engl J Med.* 2014;370(15):1422–31.
 95. Hoffman KB, Kraus C, Dimbil M, Golomb BA. A survey of the FDA’s AERS database regarding muscle and tendon adverse events linked to the statin drug class. *PLoS One.* 2012;7(8):e42866.
 96. Dormuth CR, Hemmelgarn BR, Paterson JM, James MT, Teare GF, Raymond CB, et al. Use of high potency statins and rates of admission for acute kidney injury:

multicenter, retrospective observational analysis of administrative databases. *BMJ*. 2013;346(9427):f880.

97. Dormuth CR, Filion KB, Paterson JM, James MT, Teare GF, Raymond CB, et al. Higher potency statins and the risk of new diabetes: multicentre, observational study of administrative databases. *BMJ*. 2014;348(may29 6):g3244–g3244.
98. Leibowitz M, Karpati T, Cohen-Stavi CJ, Feldman BS, Hoshen M, Bitterman H, et al. Association Between Achieved Low-Density Lipoprotein Levels and Major Adverse Cardiac Events in Patients With Stable Ischemic Heart Disease Taking Statin Treatment. *JAMA Intern Med*. 2016;176(8):1105.
99. DeFilippis AP, Young R, Carrubba CJ, McEvoy JW, Budoff MJ, Blumenthal RS, et al. An analysis of calibration and discrimination among multiple cardiovascular risk scores in a modern multiethnic cohort. *Ann Intern Med*. 2015;162(4):266–75.
100. Bastuji-Garin S, Deverly A, Moyse D, Castaigne A, Mancina G, de Leeuw PW, et al. The Framingham prediction rule is not valid in a European population of treated hypertensive patients. *J Hypertens*. 2002;20(10):1973–80.
101. Brindle P, Emberson J, Lampe F, Walker M, Whincup P, Fahey T, et al. Predictive accuracy of the Framingham coronary risk score in British men: prospective cohort study. *BMJ*. 2003;327(7426):1267.
102. Cook NR, Paynter NP, Eaton CB, Manson JE, Martin LW, Robinson JG, et al. Comparison of the framingham and reynolds risk scores for global cardiovascular risk prediction in the multiethnic women’s health initiative. *Circulation*. 2012;125(14):1748–56.
103. Liu J, Hong Y, D’Agostino RB, Wu Z, Wang W, Sun J, et al. Predictive value for the Chinese population of the Framingham CHD risk assessment tool compared with the Chinese Multi-Provincial Cohort Study. *JAMA*. 2004;291(21):2591–9.
104. Ridker PM, Cook NR. Statins: New American guidelines for prevention of cardiovascular disease. *Lancet*. 2013;382(9907):1762–5.
105. Morris PB, Ballantyne CM, Birtcher KK, Dunn SP, Urbina EM. Review of clinical practice guidelines for the management of LDL-related risk. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(2):196–206.
106. Clouet-Foraison N, Gaie-Levrel F, Gillery P, Delatour V. Advanced lipoprotein testing for cardiovascular diseases risk assessment: a review of the novel approaches in lipoprotein profiling. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55(10):1453–64.
107. Anderson KM, Castelli WP, Levy D. Cholesterol and mortality. 30 years of follow-up from the Framingham study. *JAMA*. 1987;257(16):2176–80.
108. Stamler J, Wentworth D, Neaton JD, J S, Gotto AM WE, Working Group on

- Arteriosclerosis of the National Heart, Lung and Blood Institute, et al. Is Relationship Between Serum Cholesterol and Risk of Premature Death From Coronary Heart Disease Continuous and Graded? *JAMA*. 1986;256(20):2823.
109. Branchi A, Rovellini A, Fiorenza AM, Torri A, Prandi W, Tomella C, et al. Estimation of cardiovascular risk: total cholesterol versus lipoprotein profile. *Int J Clin Lab Res*. 1994;24(2):106–12.
 110. Keys A, Menotti A, Aravanis C, Blackburn H, Djordjević BS, Buzina R, et al. The seven countries study: 2,289 deaths in 15 years. *Prev Med (Baltim)*. 1984;13(2):141–54.
 111. O'Donnell CJ, Elosua R. Cardiovascular Risk Factors. Insights From Framingham Heart Study. *Rev Española Cardiol*. 2008;61(3):299–310.
 112. Law MR, Wald NJ, Thompson SG. By how much and how quickly does reduction in serum cholesterol concentration lower risk of ischaemic heart disease? *BMJ*. 1994;308(6925):367–72.
 113. Pekkanen J, Linn S, Heiss G, Suchindran CM, Leon A, Rifkind BM, et al. Ten-Year Mortality from Cardiovascular Disease in Relation to Cholesterol Level among Men with and without Preexisting Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 1990;322(24):1700–7.
 114. Wilson PW, Abbott RD, Castelli WP. High density lipoprotein cholesterol and mortality. The Framingham Heart Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1988;8(6):737–41.
 115. Haase CL, Tybjaerg-Hansen A, Grande P, Frikke-Schmidt R. Genetically elevated apolipoprotein A-I, high-density lipoprotein cholesterol levels, and risk of ischemic heart disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(February):E500–10.
 116. Keene D, Price C, Shun-Shin MJ, Francis DP. Effect on cardiovascular risk of high density lipoprotein targeted drug treatments niacin, fibrates, and CETP inhibitors: meta-analysis of randomised controlled trials including 117,411 patients. *BMJ*. 2014;349(jul18 2):g4379.
 117. Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Jensen GB, Steffensen R, Tybjaerg-Hansen A. Genetic variation in ABCA1 predicts ischemic heart disease in the general population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(1):180–6.
 118. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Steffensen R, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. Elevated HDL cholesterol is a risk factor for ischemic heart disease in white women when caused by a common mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene. *Circulation*. 2000;101(16):1907–12.
 119. Andersen R V, Wittrup HH, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Schnohr P, Nordestgaard BG. Hepatic lipase mutations, elevated high-density lipoprotein cholesterol, and increased risk of ischemic heart disease: The Copenhagen City

- Heart Study. *J Am Coll Cardiol*. 2003 Jun;41(11):1972–82.
120. Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Extreme high high-density lipoprotein cholesterol is paradoxically associated with high mortality in men and women: two prospective cohort studies. *Eur Heart J*. 2017;38(32):2478–86.
 121. Sarwar N, Danesh J, Eiriksdottir G, Sigurdsson G, Wareham N, Boekholdt SM, et al. Triglycerides and the Risk of Coronary Heart Disease. *Circulation*. 2007;115(4):450–8.
 122. Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a Cardiovascular Risk Factor. *Am J Cardiol*. 1998;81(98):7B–12B.
 123. Nordestgaard BG, Varbo A. Triglycerides and cardiovascular disease. *Lancet*. 2014;384(9943):626–35.
 124. Ip S, Lichtenstein AH, Chung M, Lau J, Balk EM. Systematic review: association of low-density lipoprotein subfractions with cardiovascular outcomes. *Ann Intern Med*. 2009;150(7):474–84.
 125. Kwiterovich PO. Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *Am J Cardiol*. 2002;90(8A):30i–47i.
 126. Chait A, Brazg RL, Tribble DL, Krauss RM. Susceptibility of small, dense, low-density lipoproteins to oxidative modification in subjects with the atherogenic lipoprotein phenotype, pattern B. *Am J Med*. 1993;94(4):350–6.
 127. Skeggs JW, Morton RE. LDL and HDL enriched in triglyceride promote abnormal cholesterol transport. *J Lipid Res*. 2002;43(8):1264–74.
 128. Greene DJ, Skeggs JW, Morton RE. Elevated Triglyceride Content Diminishes the Capacity of High Density Lipoprotein to Deliver Cholesteryl Esters via the Scavenger Receptor Class B Type I (SR-BI). *J Biol Chem*. 2001;276(7):4804–11.
 129. Jialal I, Gounden V. Reporting LDL-cholesterol levels in the era of intensive lipid management : a clarion call. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55(10):1447–9.
 130. Orringer C.E. Non-HDL cholesterol, ApoB and LDL particle concentration in coronary heart disease risk prediction and treatment. *Clin Lipidol*. 2013;8(1):69–79.
 131. Boekholdt SM, Arsenault BJ, Mora S, Pedersen TR, LaRosa JC, Nestel PJ, et al. Association of LDL Cholesterol, Non-HDL Cholesterol, and Apolipoprotein B Levels With Risk of Cardiovascular Events Among Patients Treated With Statins. *JAMA*. 2012;307(12):1302.
 132. Bergmann K. Non-HDL Cholesterol and Evaluation of Cardiovascular Disease Risk. *EJIFCC*. 2010;21(3):64–7.

133. Sniderman AD, St-Pierre AC, Cantin B, Dagenais GR, Després JP, Lamarche B. Concordance/discordance between plasma apolipoprotein B levels and the cholesterol indexes of atherosclerotic risk. *Am J Cardiol.* 2003;91(10):1173–7.
134. Van Deventer HE, Miller WG, Myers GL, Sakurabayashi I, Bachmann LM, Caudill SP, et al. Non-HDL cholesterol shows improved accuracy for cardiovascular risk score classification compared to direct or calculated LDL cholesterol in a dyslipidemic population. *Clin Chem.* 2011;57(3):490–501.
135. Master SR, Rader DJ. Beyond LDL cholesterol in assessing cardiovascular risk: Apo B or LDL-P? *Clin Chem.* 2013;59(5):723–5.
136. Phillips CM, Perry IJ. Lipoprotein particle subclass profiles among metabolically healthy and unhealthy obese and non-obese adults: Does size matter? *Atherosclerosis.* 2015;242(2):399–406.
137. Hirayama S, Miida T. Small dense LDL: An emerging risk factor for cardiovascular disease. *Clin Chim Acta.* 2012;215–24.
138. Everett BM, Ridker PM. Biomarkers for cardiovascular screening: Progress or passé? *Clin Chem.* 2017;63(1):248–51.
139. Desirable Biological Variation Database specifications - Westgard [Internet]. (Citado el 11 de Septiembre de 2017). Disponible en: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
140. Plebani M, Lippi G. Biological variation and reference change values: An essential piece of the puzzle of laboratory testing. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50(2):189–90.
141. Ariadna Padró, Rigo-bonnin RAÛL, Fuentes-arderiu X. Significance of a change between two consecutive measured values. *Scand J Clin Lab Invest.* 2012;72(2):169–72.
142. Ricós C, Cava F, García-Lario J V, Hernández A, Iglesias N, Jiménez C V., et al. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scand J Clin Lab Invest.* 2004;64(3):175–84.
143. Ricós C, Iglesias N, García-Lario J-V, Simón M, Cava F, Hernández A, et al. Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem.* 2007;44(Pt 4):343–52.
144. Nordestgaard BG, Langsted A, Mora S, Kolovou G, Baum H, Bruckert E, et al. Fasting is not routinely required for determination of a lipid profile: Clinical and Laboratory implications including flagging at desirable concentration cutpoints- A joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federat. *Clin Chem.* 2016;62(7):930–46.

145. Lorenzo Lozano MC, Cosmen Sanchez A, Belinchón Torres PM, Prieto Menchero S, Pineda-Tenor D. Is fasting necessary for lipid profile determinations? Some considerations from the perspective of the clinical laboratory. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55(9):5–6.
146. Cholesterol Reference Method Laboratory Network List of Analytical Systems & Reagents Certified for HDL [Internet]. Center for Disease Control and Prevention. (Citado el 15 de Agosto de 2017). Disponible en: https://www.cdc.gov/labstandards/pdf/crmln/Web_HDL_Report.pdf
147. Cholesterol Reference Method Laboratory Network List of Analytical Systems & Reagents Certified for Total Cholesterol [Internet]. Center for Disease Control and Prevention. (Citado el 15 de Agosto de 2017). Disponible en: https://www.cdc.gov/labstandards/pdf/crmln/Web_TC_Report.pdf
148. Cholesterol Reference Method Laboratory Network List of Analytical Systems Certified for LDL Cholesterol [Internet]. Center for Disease Control and Prevention. (Citado el 15 de Agosto de 2017). Disponible en: https://www.cdc.gov/labstandards/pdf/crmln/Web_LDL_Report.pdf
149. Agrawal M, Spencer HJ, Faas FH. Method of LDL cholesterol measurement influences classification of LDL cholesterol treatment goals: clinical research study. *J Investig Med.* 2010;58(8):945–9.
150. Choi SY, Park HE, Kim MK, Shin CS, Cho SH, Oh BH. Difference between calculated and direct-measured low-density lipoprotein cholesterol in subjects with diabetes mellitus or taking lipid-lowering medications. *J Clin Lipidol.* 2012;6(2):114–20.
151. Contois JH, Warnick GR, Sniderman AD. Reliability of low-density lipoprotein cholesterol, non-high-density lipoprotein cholesterol, and apolipoprotein B measurement. *J Clin Lipido.* 2011;5(4):264–72.
152. Miida T, Nishimura K, Okamura T, Hirayama S, Ohmura H, Yoshida H, et al. A multicenter study on the precision and accuracy of homogeneous assays for LDL-cholesterol: Comparison with a beta-quantification method using fresh serum obtained from non-diseased and diseased subjects. *Atherosclerosis.* 2012;225(1):208–15.
153. Davidson M, Liu SX, Barter P, Brinton EA, Cannon CP, Gotto AM, et al. Measurement of LDL-C after treatment with the CETP inhibitor anacetrapib. *J Lipid Res.* 2013;54(2):467–72.
154. Yamashita S, Kawase R, Nakaoka H, Nakatani K, Inagaki M, Yuasa-Kawase M, et al. Differential reactivities of four homogeneous assays for LDL-cholesterol in serum to intermediate-density lipoproteins and small dense LDL: Comparisons with the Friedewald equation. *Clin Chim Acta.* 2009;410(1–2):31–8.
155. Yamada K, Tsuji N, Fujita T, Tanaka M, Kuribayashi K, Kobayashi D, et al.

- Comparison of four direct homogeneous methods for the measurement of low-density lipoprotein cholesterol. *Clin Lab*. 2010;56(7-8):327-33.
156. Zhang B, Kawachi E, Matsunaga A, Imaizumi S, Noda K, Uehara Y, et al. Reactivity of direct assays for low-density lipoprotein (LDL) cholesterol toward charge-modified LDL in hypercholesterolemia. *Circ J*. 2012;76(9):2241-8.
 157. Gómez Gerique JA, Martín-Ballesteros B, García Sardina R, Esteban Salán M, Fabiani Romero F, Puzo Foncillas J, et al. Evaluación multicéntrica de distintos métodos para la determinación de colesterol HDL directo con respecto al colesterol HDL de precipitación. *Rev del Lab Clin*. 2012;5(1):18-27.
 158. Miida T, Nishimura K, Okamura T, Hirayama S, Ohmura H, Yoshida H, et al. Validation of homogeneous assays for HDL-cholesterol using fresh samples from healthy and diseased subjects. *Atherosclerosis*. 2014;233(1):253-9.
 159. Matsushima K, Sugiuchi H, Anraku K, Nishimura H, Manabe M, Ikeda K, et al. Differences in reaction specificity toward lipoprotein X and abnormal LDL among 6 homogeneous assays for LDL-cholesterol. *Clin Chim Acta*. 2015;439:29-37.
 160. Miida T, Nishimura K, Hirayama S, Miyamoto Y, Nakamura M, Masuda D, et al. Homogeneous Assays for LDL-C and HDL-C are Reliable in Both the Postprandial and Fasting State. *J Atheroscler Thromb*. 2017;24(6):583-99.
 161. Hirany S, Li D, Jialal I. A more valid measurement of low-density lipoprotein cholesterol in diabetic patients. *Am J Med*. 1997;102(1):48-53.
 162. Larosa JC. Living with imprecision. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(8):740-1.
 163. Charlton-Menys V, Liu Y, Moorhouse A, Durrington PN. The robustness of the Roche 2nd generation homogenous HDL cholesterol (PEGME) method: Assessment of the effect of serum sample storage for up to 8 years at -80°C. *Clin Chim Acta*. 2007;382(1-2):142-4.
 164. Devanapalli B, Bermingham MA, Mahajan D. Effect of long-term storage at -80°C on the various lipid parameters in stored plasma samples. *Clin Chim Acta*. 2002;322(1-2): 179-81.
 165. Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2009;5(3):150-9.
 166. Almdal T, Scharling H, Jensen JS, Vestergaard H. The independent effect of type 2 diabetes mellitus on ischemic heart disease, stroke, and death: a population-based study of 13,000 men and women with 20 years of follow-up. *Arch Intern Med*. 2004;164(13):1422-6.
 167. Chehade JM, Gladysz M, Mooradian AD. Dyslipidemia in type 2 diabetes: Prevalence, pathophysiology, and management. *Drugs*. 2013;73(4):327-39.

168. Malave H, Castro M, Burkle J, Voros S, Dayspring T, Honigberg R, et al. Evaluation of low-density lipoprotein particle number distribution in patients with type 2 diabetes mellitus with low-density lipoprotein cholesterol <50 mg/dl and non-high-density lipoprotein cholesterol <80 mg/dl. *Am J Cardiol.* 2012;110(5):662–5.
169. Jacobs MJ, Kleisli T, Pio JR, Malik S, L'Italien GJ, Chen RS, et al. Prevalence and control of dyslipidemia among persons with diabetes in the United States. *Diabetes Res Clin Pract.* 2005;70(3):263–9.
170. Kannel WB. Lipids, diabetes, and coronary heart disease: insights from the Framingham Study. *Am Heart J.* 1985;110(5):1100–7.
171. Prabhavathi K, Kirthana Kunikullaya U, Goturu J. Glycosylated haemoglobin (HbA1c) - A marker of circulating lipids in type 2 diabetic patients. *J Clin Diagnostic Res.* 2014;8(2):20–3.
172. Turner R. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet.* 1998;352(9131):837–53.
173. Diabetes Control and Complications Trial Research Group, Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, et al. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med.* 1993;329(14):977–86.
174. Lind M, Odén A, Fahlén M, Eliasson B. The true value of HbA1c as a predictor of diabetic complications: Simulations of HbA1c variables. *PLoS One.* 2009;4(2):e4412.
175. Sniderman AD, Blank D, Zakarian R, Bergeron J, Frohlich J. Triglycerides and small dense LDL: The twin Achilles heels of the Friedewald formula. *Clin Biochem.* 2003;36(7):499–504.
176. Jialal I, Remaley AT. Measurement of low-density lipoprotein cholesterol in assessment and management of cardiovascular disease risk. *Clin Pharmacol Ther.* 2014;96(1):20–2.
177. Matas C, Cabré M, La Ville A, Prats E, Joven J, Turner PR, et al. Limitations of the Friedewald formula for estimating low-density lipoprotein cholesterol in alcoholics with liver disease. *Clin Chem.* 1994;40(3):404–6.
178. Johnson R, McNutt P, MacMahon S, Robson R. Use of the Friedewald formula to estimate LDL-cholesterol in patients with chronic renal failure on dialysis. *Clin Chem.* 1997;43(11):2183–4.
179. Branchi A, Rovellini A, Torri A, Sommariva D. Accuracy of calculated serum low-density lipoprotein cholesterol for the assessment of coronary heart disease risk in NIDDM patients. *Diabetes Care.* 1998;21(9):1397–402.

180. Rubiés-Prat J, Reverter JL, Sentí M, Pedro-Botet J, Salinas I, Lucas A, 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(8):1081–6.
181. Fawwad A, Sabir R, Riaz M, Moin H. Measured versus calculated LDL-cholesterol in subjects with type 2 diabetes. *Pakistan J Med Sci*. 2016;32(4):955–60.
182. Gazi I, Tsimihodimos V, Filippatos TD, Saougos VG, Bairaktari ET, Tselepis AD, et al. LDL cholesterol estimation in patients with the metabolic syndrome. *Lipids Health Dis*. 2006;5:8.
183. Cuchel M, Meagher EA, du Toit Theron H, Blom DJ, Marais AD, Hegele RA, et al. Efficacy and safety of a microsomal triglyceride transfer protein inhibitor in patients with homozygous familial hypercholesterolaemia: a single-arm, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2013;381(9860):40–6.
184. Meeusen JW, Snozek CL, Baumann NA, Jaffe AS, Saenger AK. Reliability of calculated low-density lipoprotein cholesterol. *Am J Cardiol*. 2015;116(4):538–40.
185. Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, Brinton EA, Toth PP, McEvoy JW, et al. Friedewald-estimated versus directly measured low-density lipoprotein cholesterol and treatment implications. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(8):732–9.
186. Scharnagl H, Nauck M, Wieland H, März W. The friedewald formula underestimates LDL cholesterol at low concentrations. *Clin Chem Lab Med*. 2001;39(5):426–31.
187. McNamara JR, Leary ET, Ceriotti F, Boersma-Cobbaert CM, Cole TG, Hassemer DJ, et al. Point: Status of lipid and lipoprotein standardization. *Clin Chem*. 1997;43(8): 1306–10.
188. Oliveira MJA, van Deventer HE, Bachmann LM, Warnick GR, Nakajima K, Nakamura M, et al. Evaluation of four different equations for calculating LDL-C with eight different direct HDL-C assays. *Clin Chim Acta*. 2013;423:135–40.
189. Gazi IF, Elisaf M. LDL-cholesterol calculation formulas in patients with or without the metabolic syndrome. *Int J Cardiol*. 2007 Jul;119(3):414–5.
190. Meeusen JW, Lueke AJ, Jaffe AS, Saenger AK. Validation of a Proposed Novel Equation for Estimating LDL Cholesterol. *Clin Chem*. 2014;60(12):1519–23.
191. Roper SM, Cao J, Tam E, Devaraj S. Performance of Calculated and Directly Measured Low-Density Lipoprotein Cholesterol in a Pediatric Population. *Am J Clin Pathol*. 2017;1–7.

Anexos

ANEXOS

HDL-C \leq 20 mg/dL

		DeLong	Hattori	Anandaraja	Chen	Vujovic	Martin
Cobas c711	Media	79,5	69,8	51,4	78,7	82,3	79,4
	DS	41,5	38,3	37	38,6	42	41,1
	Mínimo	9	6	0	12	10	6
	Máximo	238	220	200	220	240	232
	S-W	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

ci8200	Media	75	65,4	49	74,9	77,9	75,4
	DS	37,2	34,2	34,1	34,8	37,7	37,1
	Mínimo	17	14	0	19	18	13
	Máximo	210	191	170	198	214	205
	S-W	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Advia 2400	Media	68,1	59,2	48,2	68,3	70,9	68,5
	DS	35,2	32,6	34	32,9	35,7	35,2
	Mínimo	17	13	0	18	18	13
	Máximo	201	183	181	190	205	196
	S-W	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

AU2700	Media	70,1	60,6	47,2	70,8	73,2	71,1
	DS	39,4	36,3	36,2	36,8	39,9	39,3
	Mínimo	13	9	0	17	15	11
	Máximo	212	192	179	201	216	208
	S-W	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

ANEXO 1.- RESULTADOS DE LDL-C CALCULADO CON DIFERENTES FÓRMULAS EN EL GRUPO DE HDL-C \leq 20 MG/DL: MEDIA, DESVIACIÓN TÍPICA (DS), MÍNIMO, MÁXIMO Y P-VALOR DEL TEST DE NORMALIDAD DE SHAPIRO-WILK (S-W)

HDL-C ≤100 mg/dL

		Delong	Hattori	Anandaraja	Chen	Vujovic	Martin
Cobas c711	Media	127,4	116,4	177,9	118,4	128,6	122,7
	DS	26,9	25,5	25,3	24,1	26,9	26,3
	Mínimo	65	58	124	61	66	61
	Máximo	188	173	235	172	189	182
	S-W	0,361	0,244	0,530	0,499	0,382	0,441

ci8200	Media	125,2	114,3	169,8	116,6	126,5	120,8
	DS	25,4	24,3	24,1	22,6	25,4	24,6
	Mínimo	66,0	59,0	119,0	62,0	67,0	62,0
	Máximo	182	168	225	167	183	176
	S-W	0,283	0,244	0,336	0,386	0,290	0,373

Advia 2400	Media	103,7	94,42	163,5	96,74	104,8	99,47
	DS	25,8	24,6	25,1	22,9	25,7	24,9
	Mínimo	42,0	32,0	107,0	42,0	43,0	39,0
	Máximo	159	147	218	146	160	154
	S-W	0,398	0,470	0,370	0,404	0,426	0,414

AU2700	Media	124,7	113,7	165,4	116,1	126	120,2
	DS	29,5	28,0	27,7	26,4	29,4	28,6
	Mínimo	62,0	55,0	110,0	60,0	64,0	59,0
	Máximo	197	182	234	180	198	191
	S-W	0,527	0,489	0,484	0,517	0,506	0,549

ANEXO 2.- RESULTADOS DE LDL-C CALCULADO CON DIFERENTES FÓRMULAS EN EL GRUPO DE HDL-C ≥100 MG/DL: MEDIA, DESVIACIÓN TÍPICA (DS), MÍNIMO, MÁXIMO Y P-VALOR DEL TEST DE NORMALIDAD DE SHAPIRO-WILK (S-W)

Artículos derivados del estudio



Extreme concentrations of high density lipoprotein cholesterol affect the calculation of low density lipoprotein cholesterol in the Friedewald formula and other proposed formulas[☆]

Jesús Timón-Zapata^{*,1}, Emilio José Laserna-Mendieta¹, Daniel Pineda-Tenor, Mercedes Agudo-Macazaga, Carmen Narros-Cecilia, María Jesús Rocha-Bogas, Guadalupe Ruiz-Martín, Manuel Gómez-Serranillos

Laboratory of Clinical Chemistry, Virgen de la Salud Hospital, Complejo Hospitalario de Toledo, Toledo, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 20 July 2011

Received in revised form 24 August 2011

Accepted 10 September 2011

Available online 21 September 2011

Keywords:

Friedewald formula

High density lipoprotein cholesterol (HDL-C)

Low density lipoprotein cholesterol (LDL-C)

Homogeneous method for LDL-C measurement.

ABSTRACT

Objectives: To investigate the effect of extreme levels of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in the calculation of low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) using Friedewald's formula (FF) and other formulas proposed recently.

Design and methods: Lipoprotein profile was performed in 2603 samples with HDL-C ≤ 20 mg/dL and 1953 samples with HDL-C ≥ 100 mg/dL.

Results: Wilcoxon's and Student's *t*-tests showed significant differences ($p < 0.001$) between calculated LDL-C by different formulas and direct determination in the two groups of HDL-C values. Passing–Bablok regression and Bland–Altman plot showed disagreement for the four formulas studied, except for Vujovic formula in the HDL-C ≥ 100 mg/dL group.

Conclusions: Our results suggested that none of the formulas under analysis should be used for estimating LDL-C in samples with extreme HDL-C concentrations due to absence of statistical correlation with LDL-C direct measurement.

© 2011 The Canadian Society of Clinical Chemists. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) serum concentration is a well-established risk factor for diagnosing and evaluating atherosclerosis and cardiovascular disease (CVD). The US National Educational Cholesterol Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (ATP III) suggests different LDL cut-off points for therapy depending on patient's pathologies and the presence of other risk factors [1].

Abbreviations: LDL-C, low density lipoprotein cholesterol; CVD, cardiovascular disease; BQ, β -quantification; NCEP, National Educational Cholesterol Program; ATP III, Adult Treatment Panel III; TC, total cholesterol; HDL-C, high density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides; FF, Friedewald formula; DM, direct homogeneous method; CV, coefficient of variation; TE, total error; CLDL-C, calculated LDL-C; AF, Anandaraja formula; VF, Vujovic formula; CF, Chen formula; DM-LDL-C, LDL-C determined by the direct method; % Δ LDL-C, percentage difference.

[☆] Conversion factors to SI units: To convert triglycerides from mg/dL to mmol/L multiply by 0.01129. To convert cholesterol, LDL-C and HDL-C from mg/dL to mmol/L multiply by 0.02586.

* Corresponding author at: Laboratory of Clinical Chemistry, Virgen de la Salud Hospital, Avenida Barber 30, Toledo, 45004, Spain. Fax: +34 925 214836.

E-mail addresses: jesust@sescam.jccm.es (J. Timón-Zapata),

ejlaserna@sescam.jccm.es (E. Laserna-Mendieta), dpinedatenor@gmail.com

(D. Pineda-Tenor), m.agudo.m@hotmail.com (M. Agudo-Macazaga),

cnarroscecilia@yahoo.es (C. Narros-Cecilia), maiturocha@terra.es (M.J. Rocha-Bogas),

gruizm@sescam.jccm.es (G. Ruiz-Martín), magosere@yahoo.es (M. Gómez-Serranillos).

¹ Both authors must be considered as main authors.

The reference method for determining LDL-C is β -quantification (BQ), which is a laborious and time-consuming technique that requires an ultracentrifuge and trained staff. Thus, the most usual approach in clinical routine work is to calculate LDL-C indirectly from concentrations of total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and triglycerides (TG) using the Friedewald formula (FF) [2]. However, different limitations of FF that lead to erroneous results have been reported. These limitations, in which FF should not be used, include samples containing chylomicrons, patients with type III hyperlipidemia and serum TG > 400 mg/dL. Contradictory results have also been described in several pathologic states (diabetes, nephropathies or hepatopathies) [3,4] and with TG between 200 and 400 mg/dL [5], low concentrations of TC [6] or LDL-C [7]. Therefore, some authors have published their own formulas in order to improve FF in diverse populations [8–10]. In addition, homogeneous assays have been developed for direct measurement of LDL-C concentration, which have become popular for determining LDL-C in samples with some of the FF limitations. They have the advantages of being completely automated, performing without any manipulation, showing better precision and reproducibility than the older heterogeneous assays and meeting the NCEP analytical goals [11,12].

HDL-C serum levels are inversely correlated with CVD risk and consequently are used in many coronary risk algorithms. These levels are influenced by sex, genetic background, lifestyle, metabolic disorders and drug treatment, which may cause extreme HDL-C values.