

Comparação entre o LDL colesterol obtido pela fórmula de Friedewald e a dosagem sérica por método enzimático

Comparison of LDL cholesterol obtained by the Friedewald formula and serum enzymatic assay

Fabiano Fagundes Moser da Silva¹
Tânia Cristina Andrade²

Resumo

Os estudos recentes mostram uma correlação entre o aumento de LDL-C com o risco de aterosclerose. A maioria dos portadores de dislipidemias não apresenta sinais ou sintomas decorrentes diretamente da alteração lipídica, assim, seu diagnóstico é quase que exclusivamente determinado pelos lipídios plasmáticos. A dosagem do LDL-C plasmático se resume em duas formas: o método enzimático direto e o indireto que é calculado de acordo com a fórmula de Friedewald. Foram analisadas 104 amostras e verificou-se que a estimativa do LDL-C tende a mostrar resultados mais elevados, extremamente significantes ($p < 0,0001$) em comparação com a dosagem do LDL-C pelo método enzimático direto para valores de triglicérides inferiores a 70 mg/dL e de 71-150 mg/dL. Na faixa de triglicérides de 151-250 mg/dL e 251-350 mg/dL não houve alterações significativas entre as metodologias empregadas com ($p < 0,0753$) e ($p < 0,8750$), respectivamente. Também não houve correlação entre as metodologias para valores de colesterol inferior a 200 mg/dL, entre 201-239 mg/dL e acima de 240 mg/dL, sendo os índices estatísticos, respectivamente, ($p < 0,0001$), ($p < 0,0004$), e ($p < 0,0010$).

Palavras-chave: Dosagem direta. Método homogêneo. Dislipidemia. Aterosclerose. Colesterol ruim.

Abstract

Recent studies show a correlation between the LDL-C increase with atherosclerosis risk. The majority of patients with dyslipidemia show no signs or symptoms of lipid abnormality, so the diagnosis is almost exclusively determined by plasma lipids. The LDL-C plasma is measured by two methods, enzymatic direct method and indirect method which is calculated according to the Friedewald formula. We analyzed 104 samples. It was found that the estimation of LDL-C tends to show higher results, highly significant ($p < 0.0001$) when compared with LDL-C by direct enzymatic method for triglyceride level below 70 mg/dL, and 71-150 mg/dL. Triglycerides in the range of 151-250 mg/dL and 251-350 mg/dL did not show significantly difference between the methods used, with ($p < 0.0753$) and ($p < 0.8750$) respectively. There was no correlation either between the methods with cholesterol levels below 200 mg/dL, between 201-239 mg/dL and above 240 mg/dL, and the statistical indices were, respectively ($p < 0, 0001$), ($p < 0.0004$), and ($p < 0.0010$).

¹ Graduando em Biomedicina, Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, Programa de Iniciação Científica, Brasília, DF.

² Bióloga. Mestre em Biologia Molecular e Especialista em Bioquímica Clínica. Professora do UniCEUB, Brasília, DF.

Keywords: Direct assay. Homogeneous method. Dyslipidemia. Atherosclerosis. Bad cholesterol.

1 Introdução

O colesterol total é transportado no sangue, principalmente pelas lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C). Os distúrbios no metabolismo do colesterol exercem papel importante na etiologia da doença arterial coronária (MOTTA, 2009). Estudos recentes mostram uma melhor correlação do LDL-C com o risco de aterosclerose do que o colesterol total (PIVA, 2008).

O colesterol plasmático é afetado tanto por fatores intraindividuais como interindividuais. As medidas da colesterolemia são influenciadas por: dieta, exercícios físicos, idade, gênero e raça (MOTTA, 2009). Estudos relataram que, independentemente da origem étnica, indivíduos que consomem grandes quantidades de gorduras, principalmente do tipo saturada, têm níveis elevados de colesterol sérico e maior incidência de aterosclerose coronariana em relação àqueles com menor consumo de gorduras (CAMPOS et al., 2009).

A lipoproteína de alta densidade (HDL-C) é importante para o metabolismo de outras lipoproteínas e para o transporte de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado (FISCHBACH, 2010). As LDL-C são as partículas lipídicas mais aterogênicas no sangue, pois o colesterol ligado a elas é constituído por dois terços do colesterol total plasmático. Os níveis elevados de LDL-C estão diretamente associados com o risco para doenças vasculares (MOTTA, 2009). A doença arterial coronariana (DAC) é responsável pelo maior número de mortes de indivíduos adultos no mundo (ARDERIU et al., 2009).

A grande maioria dos indivíduos portadores de dislipidemias não apresenta sinais ou sintomas decorrentes diretamente da alteração lipídica; assim, seu diagnóstico baseia-se quase que exclusivamente na determinação dos lipídios plasmáticos (PIVA, 2008).

Os métodos para a dosagem do LDL-C resumem-se em duas maneiras: LDL-C direto e LDL-C indireto. O método indireto é amplamente utilizado no mundo inteiro; o seu baixo custo e a sua fácil utilização o fazem ser comu-

mente encontrado em laboratórios de qualquer lugar. Esse método é um cálculo a partir de resultados combinados de colesterol total, HDL-C, e triglicérides, usando a equação de Friedewald: $LDL-C = \text{Colesterol Total} - [\text{HDL-C} + \text{Triglicérides}/5]$ (PIVA, 2008). Essa fórmula não deve ser empregada quando o nível de triglicérides for maior ou igual a 400 mg/dL (FRIEDEWALD, 1972).

O método indireto requer apenas análise dos lipídios de rotina, além da rápida separação do HDL-C das outras lipoproteínas por precipitação, sem haver necessidade de ultracentrifugação. Duas observações são utilizadas no cálculo. Uma é que a razão da massa de triglicérides em relação ao VLDL-C é relativamente constante e em torno de 5:1 em indivíduos normais e em pacientes com todos os tipos de hiperlipoproteinemias, exceto o raro tipo III. A outra é que, quando quilomícrons não são detectáveis, a maioria dos triglicérides no plasma está contida na fração VLDL-C. Assim, na maioria das amostras onde os quilomícrons não estão presentes significativamente (como no jejum), o colesterol presente no plasma, atribuível ao VLDL-C, pode ser obtido aproximadamente pela divisão do valor de triglicérides plasmático por cinco (FRIEDEWALD, 1972).

A fórmula de Friedewald pode ser usada apenas no jejum e apresenta várias limitações: não pode ser aplicada em amostras com valores de triglicérides maiores que 400 mg/dL, em amostras com quilomícrons, nem em amostras de pacientes com disbetalipoproteinemia (tipo III). Alguns autores ainda consideram que a fórmula não deve ser utilizada para pacientes diabéticos, nefropatas e hepatopatas, mesmo com valores de triglicérides inferiores a 400 mg/dL (PIVA, 2008).

Recentemente, vários métodos homogêneos têm sido desenvolvidos por diferentes fabricantes para a dosagem direta do LDL-C, na expectativa de que sejam atendidos os critérios do Programa Americano de Educação sobre Colesterol (NCEP) e as necessidades da comunidade médica na prevenção da doença arterial coronariana e do infarto do miocárdio (CORDOVA et al., 2004). O III Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias estratifica faixas de valores de LDL-C para avaliação do risco no desenvolvimento da doença arterial coronariana: desejável abaixo de 130 mg/dL, limítrofe entre 131-159 mg/dL, e alto, a par-

tir de 160 mg/dL (SBC, 2001). Essas faixas de valores são muito estreitas, de modo que o NCEP estabeleceu que os laboratórios clínicos devem utilizar metodologias para a dosagem de LDL-C com um erro analítico total que não exceda 12%, com imprecisão menor que 4% e inexatidão menor que 4%. O método considerado de referência para a determinação do LDL-C é a β -centrifugação; mas, este envolve pelo menos um passo de ultracentrifugação e não se aplica em análises de rotina, devido ao alto custo e complexidade de desenvolvimento (CORDOVA et al., 2004).

Os métodos diretos usam várias combinações físico-químicas de surfactantes, complexos poliméricos e moléculas ligantes para medir seletivamente o colesterol da fração LDL-C (MILLER et al., 2002). A seletividade do método em detectar a fração de baixa densidade (LDL-C) é realizada em duas etapas. Na primeira etapa da reação, o colesterol das frações HDL-C, VLDL-C e quilomícrons são solubilizados por um surfactante específico. O colesterol solubilizado é consumido pelas enzimas colesterol esterase e colesterol oxidase, resultando em uma reação incolor. Na segunda etapa, adiciona-se um surfactante capaz de solubilizar especificamente a LDL-C, que é hidrolisado pela enzima colesterol esterase produzindo colesterol livre e ácidos graxos. Essa fração é então avaliada e corresponde à concentração de LDL-C na amostra analisada (DOLES, 2010).

Entre o método indireto (Friedewald) e o método direto, existe uma melhor capacidade do método direto de não sofrer ação das demais lipoproteínas. As potenciais vantagens das medidas diretas de LDL-C incluem a capacidade de medir tal fração mesmo quando a concentração de triglicerídeos é maior que 400 mg/dL, a capacidade de dosagem em indivíduos que não estão em jejum e precisão das medidas em relação ao cálculo (MILLER et al., 2002).

A determinação precisa e assertiva dos níveis de LDL-C, por meio do método direto é muito importante e muito utilizada na classificação de pacientes e na monitorização de terapias (USUI et al., 2002).

2 Metodologia

Foram analisadas 104 amostras de soro de pacientes com idade entre 18 a 90 anos, de ambos os gêne-

ros, para realização do lipidograma (CT; TG e HDL-C) e posterior correlação do LDL-C obtido pela fórmula de Friedewald e a dosagem sérica por método enzimático. A coleta de sangue por punção venosa foi realizada com seringas de 10 ml, estéreis e descartáveis. A coleta só ocorreu após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), devidamente lido na presença do paciente. Este trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do UniCEUB/DF, sob protocolo CAAE 0113/10, com aprovação em 19/09/2010. A análise estatística foi realizada utilizando-se o software Graphpad Prism 5 for Windows (GraphPad Software – USA).

Para a coleta, realizada sempre no período matutino, os pacientes estavam em jejum de 12 a 16 horas. Foram realizadas dosagens por métodos enzimáticos tradicionais (kits da DOLES®) de Colesterol total, HDL-C e Triglicerídeos. A estimativa do LDL-C foi calculada de acordo com a fórmula de Friedewald e as dosagens do LDL-C direto foram realizadas por meio das metodologias descritas a seguir.

LDL-Colesterol: o detergente presente no reagente solubiliza apenas as lipoproteínas não a LDL-C. O colesterol liberado dessas lipoproteínas é então consumido pelas enzimas colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase, não ocorrendo formação de cor. Um segundo detergente solubiliza a lipoproteína LDL, permitindo o seu consumo pelas enzimas anteriores, levando à formação de peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio formado reage com um cromógeno ocorrendo a formação de cor. O teor de colesterol da fração LDL-C é determinado pelo sistema enzimático de Colesterol da marca Bioclin. A intensidade de cor formada é diretamente proporcional à concentração de LDL-C na amostra.

O cálculo das frações LDL-C e VLDL-C foram realizados pela fórmula de Friedewald, a seguir:

$$\text{VLDL-C (mg/dL)} = \text{Triglicerídeos (mg/dL)}/5.$$

$$\text{LDL-C (mg/dL)} = \text{Colesterol total} - [\text{HDL-C (mg/dL)} + \text{VLDL-C (mg/dL)}].$$

Os valores referenciais utilizados neste trabalho estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de referência dos lipídeos para indivíduos adultos > 20 anos de idade.

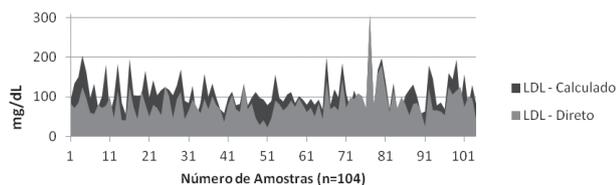
Lipídeos	Valores (mg/dL)	Categoria
Colesterol Total	< 200	Ótimo
	201 – 239	Limitrofe
	> 240	Alto
LDL-C	< 100	Ótimo
	101 – 129	Desejável
	130 – 159	Limitrofe
	160 – 189	Alto
	> 190	Muito Alto
HDL-C	< 40	Baixo
	> 60	Alto
Triglicerídeos	< 150	Ótimo
	151 – 200	Limitrofe
	201 – 499	Alto
	> 500	Muito Alto

Fonte: SBC, 2001.

3 Resultados e discussão

Os resultados obtidos em todas as amostras testadas pelo método direto de dosagem de LDL-C e com a estimativa pela fórmula de Friedewald são mostrados comparativamente na Figura 1, abaixo. Por análise de regressão linear, os dois métodos apresentaram coeficientes de correlação extremamente significativos ($p < 0,0001$). Os valores de LDL-C foram avaliados por uma análise não paramétrica para comparar as dosagens, em nível de significância de 5%.

Figura 1: Comparação gráfica entre a dosagem sérica por método enzimático direto e o cálculo de Friedewald.

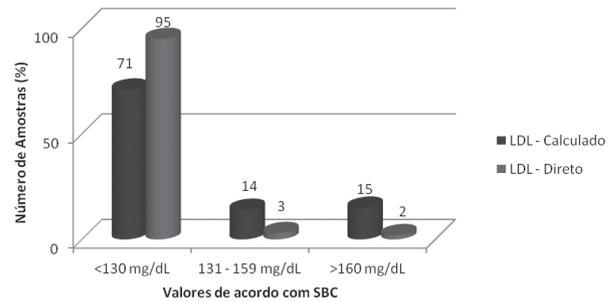


Com esse gráfico, pode-se observar que a porcentagem de pacientes que tiveram seu LDL-C dentro do valor desejável para este parâmetro foi muito maior com o uso da dosagem direta, quando comparados ao cálculo de Friedewald.

A Figura 2 a seguir mostra o número total de amostras em % divididas entre as faixas de valores referenciais estabelecidas pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), a qual visa estratificar valores para uma concentração de LDL-C desejável, limitrofe e alta, para uma rápida análise clínica. A análise desse gráfico con-

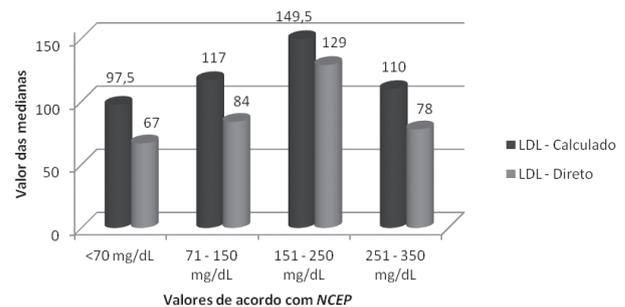
firma o anterior (Figura 1) onde mais pacientes estão na faixa considerada desejável (<130 mg/dL), quando utilizamos a metodologia de dosagem enzimática.

Figura 2: Distribuição das amostras de acordo com as faixas estipuladas pela Sociedade Brasileira de Cardiologia.



Como a fórmula prevê o uso dos valores de triglicerídeos na determinação de LDL-C, a Figura 3, abaixo, mostra as medianas do LDL-C pelo método enzimático direto em relação ao cálculo de Friedewald de acordo com os valores de triglicerídeos. Esses valores foram estratificados segundo os valores recomendados pelo NCEP. Nos grupos com triglicerídeos <70 mg/dL e 71-150 mg/dL, há uma diferença significativa estatisticamente; já nos grupos de 151-250 mg/dL e 251-350 mg/dL, não obtivemos uma diferença estatisticamente significativa. Nenhum paciente apresentou triglicerídeos maiores que 350 mg/dL, por isso, esta faixa não foi representada na figura.

Figura 3: Resultado das medianas do LDL-C obtido pela fórmula de Friedewald e pelo método enzimático direto, de acordo com as faixas de triglicerídeos estabelecidas pelo NCEP

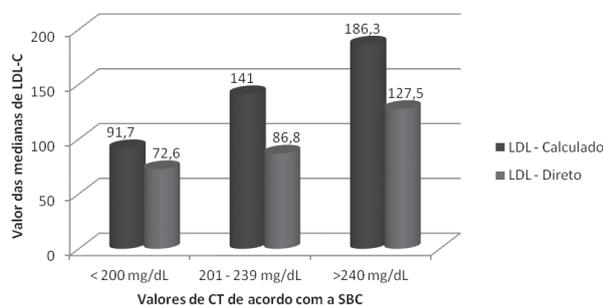


A estimativa do LDL-C tende a mostrar resultados mais elevados, extremamente significativos ($p < 0,0001$) em comparação com a dosagem do LDL-C pelo método enzimático direto para valores de triglicerídeos inferiores a 70 mg/dL e de 71-150 mg/dL. Na faixa de triglicerídeos de 151-250 mg/dL e 251-350 mg/dL, não houve alteração significativa entre as metodologias empregadas ($p < 0,0753$) e ($p < 0,8750$) respectivamente. Ou seja, para pacientes que

apresentam triglicerídeos em valores considerados aceitáveis (<150mg/dL), o LDL-C o resultado tende a ser superestimado quando usamos a fórmula de Friedewald. A melhor correlação ocorre na faixa de triglicerídeos de 151-250 mg/dL, voltando a ser superestimada na faixa acima de 250 mg/dL. Como não tivemos pacientes que apresentassem valores de triglicerídeos maiores que 350 mg/dL, faixas acima desse valor não puderam ser avaliadas.

Sendo a LDL-C a principal lipoproteína transportadora de colesterol, avaliamos o colesterol total das amostras obtidas, nas quais 73% dos voluntários apresentaram colesterol total na faixa considerada ótima (<200 mg/dL); 19% apresentaram colesterol na faixa limítrofe (201 – 239 mg/dL) e 11% estavam com o colesterol considerado alto (>240 mg/dL). Ao estratificarmos os valores das medianas de LDL-C obtidos pelas duas metodologias em comparação aos níveis de colesterol apresentados, obtivemos o que mostra a Figura 4

Figura 4: Resultado das medianas do LDL-C obtido pela fórmula de Friedewald e pelo método enzimático direto, de acordo com as faixas de colesterol total estipuladas pela Sociedade Brasileira de Cardiologia.



Por esse gráfico, podemos observar que o valor médio das dosagens de LDL-C, quando comparados com as diferentes faixas de colesterol total, continuam sendo superiores na avaliação feita pelo cálculo de Friedewald, em relação ao método enzimático direto.

A estimativa do LDL-C tende a mostrar resultados mais elevados, sendo essas diferenças extremamente significantes em comparação com a dosagem do LDL-C pelo método enzimático direto para valores de colesterol inferior a 200 mg/dL, entre 201-239 mg/dL e acima de 240 mg/dL, sendo os índices estatísticos, respectivamente, ($p < 0,0001$), ($p < 0,0004$) e ($p < 0,0010$). Ou seja, para pacientes que apresentam colesterol nas diversas faixas determinadas pela Sociedade Brasileira de Cardiologia, o LDL-C tende a ser superestimado quando usamos a fórmula de

Friedewald. Em nenhuma faixa de colesterol encontramos correlação entre as duas metodologias avaliadas.

As referências bibliográficas consultadas (PIVA, 2008; CORDOVA et al., 2004; TANNO et al., 2010; CHEN et al., 2010; NAUCK; WARNICK; RIFAI, 2002; ARDERIU, 2009) concordam que métodos homogêneos, quando comparados com a fórmula de Friedewald, não conseguem atingir uma dosagem equivalente, e com isso temos resultados divergentes.

4 Conclusão

A determinação do LDL-C é essencial para avaliação do risco de doença cardíaca coronariana e o tratamento de dislipidemias baseia-se, principalmente, em estratégias para reduzir a fração LDL-C.

Devido à importância dos resultados dos valores das determinações de LDL-C para o diagnóstico e acompanhamento das patologias citadas anteriormente, propusemo-nos a avaliar o desempenho do método enzimático direto para a dosagem do LDL-C, em comparação com a fórmula de Friedewald.

Este trabalho mostrou que tal comparação gerou resultados próximos, mas não idênticos. Isso nos leva a questionar a eficácia da fórmula de Friedewald em relação ao método enzimático direto e na repercussão disso na avaliação clínica de pacientes que fazem controle de colesterol plasmático.

Pacientes que apresentam hipercolesterolemia primária ou secundária tendem a fazer exames de lipidograma rotineiros, com periodicidade de 3 ou 6 meses. A mudança de metodologia, sem correlação para todas as faixas de colesterol ou triglicerídeos, pode comprometer o acompanhamento clínico desses pacientes. A utilização da fórmula de Friedewald ainda é recomendada pelo III Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias, para amostras de triglicerídeos até 400 mg/dL.

Devido aos resultados obtidos, conseguimos alcançar os objetivos propostos no trabalho e informamos que trabalhos adicionais são necessários para que haja dados conclusivos sobre o desempenho e validação dos métodos diretos em função da falta de dados em relação aos métodos enzimáticos direto, devido ao alto custo e à complexidade de desenvolvimento.

Os dados obtidos demonstraram que a estimativa do LDL-C pela fórmula de Friedewald foi superior em comparação com os resultados obtidos pela dosagem do LDL-C pelo método enzimático direto para todos os níveis de colesterol total e triglicerídeos.

Houve coincidência entre os métodos, apenas em alguns casos, os quais não somam 1% da totalidade dos dados obtidos neste estudo. Isto é bastante preocupante, uma vez que a Sociedade Brasileira de Cardiologia aconselha não utilizar a fórmula de Friedewald apenas para valores de triglicerídeos superiores a 400 mg/dL, embora seja recomendada rotineiramente e usada em vários estudos epidemiológicos e ensaios clínicos. A literatura considera que a fórmula de Friedewald tem forte correlação com o método da β -quantificação, mas isso não foi observado em nosso estudo, visto que não encontramos correlação em nenhum intervalo referencial de colesterol total e sendo correlacionáveis em apenas alguns intervalos de triglicerídeos.

Referências

ARDERIU, X. F. et al. Comparison of measurement uncertainties in direct plasma low-density lipoprotein cholesterol method of measurement and indirect estimation according to Friedewald equation. Accreditation and Quality Assurance. **Accreditation and Quality Assurance: Journal for Quality, Comparability and Reliability in Chemical Measurement**, Berlin, v. 14, n. 4, p. 179-183, 2009. doi:10.1007/s00769-009-0499-6

CAMPOS, W. et al. Atividade física, consumo de lipídios e fatores de risco para aterosclerose em adolescentes. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 5, p. 601-607, maio. 2010. doi: 10.1590/S0066-782X2010005000033

CHEN, Y. et al. A modified formula for calculating low-density lipoprotein cholesterol values. **Lipids in Health and Disease**, London, v. 9, n. 52, p. 1-5, may. 2010. doi:10.1186/1476-511X-9-52

CORDOVA, C. M. M. et al. Avaliação da dosagem direta do colesterol-ldl em amostras de sangue de 10.664 pacientes em comparação com o uso da fórmula de Friedewald. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 6, p. 476-481, dez. 2004. doi: 10.1590/S0066-782X2004001800006

DOLES. **Colesterol LDL direto**. Bula do Kit. Revisão: outubro/2011. Disponível em: <http://intranet.doles.com.br/temp/produtos/instrucoes/fe84140e139fead3af3d999719dccb3e.pdf>. Acesso em: 03 jul. 2012.

FISCHBACH, F. T.; DUNNING, M. B. **Manual de enfermagem: exames laboratoriais e diagnósticos**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 18, n. 6, p 499-502, jun. 1972.

MILLER, W. et al. Performance of four homogeneous direct methods for LDL-cholesterol. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 48, n. 3, p. 489-498, mar. 2002.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações**. 5. ed. Rio de Janeiro: Medbook, 2009.

NAUCK, M.; WARNICK, G.R.; RIFAI, N. Methods for measurement of LDL-Cholesterol: A critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 48, n. 2, p. 236-254, fev. 2002.

PIVA, J.P.J.; FERNANDES, T.R.L. Comparação analítica de valores de LDL-colesterol utilizando a dosagem direta e o cálculo pela fórmula de Friedewald. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 4, p. 279-283, out./dez. 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Resumo das III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 77, Supl. 3, p. 1-48, nov. 2001. doi: 10.1590/S0066-782X2001001500001

TANNO, K. et al. Comparison of low-density lipoprotein cholesterol concentrations measured by a direct homogeneous assay and by the Friedewald formula in a large community population. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 411, n. 21-22, p.1774-1780, nov. 2010. doi: 10.1016/j.cca.2010.07.034

USUI, S. et al. Differential reactivity of two homogeneous LDL-cholesterol methods to LDL and VLDL subfractions, as demonstrated by ultracentrifugation and HPLC. **Clinical Chemistry**, Washington, v. 48, n. 11, p. 1946-1954, nov. 2002.