

Bioquímica Clínica

Medida del colesterol de lipoproteínas de baja densidad utilizando tres metodologías*

Measurement of cholesterol low-density lipoprotein using three methodologies

Medida do colesterol de lipoproteínas de baixa densidade utilizando três metodologias

► Marvin Querales¹, María Elena Cruces², César Sánchez³, Marisel Querales¹, Susan Rojas¹, Lissette Sánchez¹

¹ Licenciado en Bioanálisis.

² Magíster en Nutrición.

³ Doctor en Microbiología.

* Departamento de Bioquímica, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Valencia, Venezuela.

Resumen

Tomando en cuenta que aún no existe una metodología estándar de rutina para la determinación del colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) se decidió evaluar su determinación analítica utilizando tres técnicas: determinación enzimática homogénea, precipitación con sulfato de polivinilo y fórmula de Friedewald. Fueron procesadas 98 muestras de suero a las cuales se les determinó triglicéridos (TG), colesterol total (CT), colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-c). Los valores promedio de CT fueron $194,46 \pm 43,54$ mg/dL, HDL-c $51,12 \pm 12,36$ mg/dL y TG $132,88 \pm 76,93$ mg/dL. Aun cuando el análisis de regresión mostró una buena correlación entre los valores de LDL-c, los resultados indicaron una diferencia estadísticamente significativa en los mismos cuando los niveles de TG superaron los 200 mg/dL. La misma se observó principalmente entre el método de precipitación y la fórmula de Friedewald, siendo los valores significativamente más bajos en esta última (LDL-c por precipitación: $141,3 \pm 26,2$ mg/dL; LDL-c por fórmula de Friedewald: $110,1 \pm 35,4$ mg/dL). De la misma manera se vio afectada la proporción de individuos clasificados según su riesgo coronario. Es necesario comparar las técnicas aplicadas en este estudio con la cuantificación beta para evaluar cuál tiene un mayor nivel de exactitud.

Palabras clave: colesterol de lipoproteínas de baja densidad * determinación enzimática homogénea * método de precipitación * fórmula de Friedewald

Summary

Considering that there is still no standard methodology for routine determination of low density lipoprotein (LDL-c) it was decided to evaluate their analytical determination using three techniques: homogeneous enzymatic determination, polyvinyl sulphate precipitation and Friedewald formula.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

Acta Bioquím Clín Latinoam 2012; 46 (1): 31-7

Ninety-eight serum samples were processed; triglycerides (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL-c) and LDL-c were determined. Mean total cholesterol was 194.46 ± 43.54 mg/dL, HDL-C was 51.12 ± 12.36 mg/dL and TG was 132.88 ± 76.93 mg/dL. Although regression analysis showed a good correlation between LDL-c, the results showed a statistically significant difference in them when TG levels exceeded 200 mg/dL. It was mainly observed in the precipitation method and the Friedewald formula, the latter values being significantly lower (LDL-C by precipitation: 141.3 ± 26.2 mg/dL, LDL-C by the Friedewald formula: $110, 1 \pm 35.4$ mg/dL). Moreover, this difference affected the proportion of individuals classified according to their coronary risk. It is necessary to compare the techniques applied in this study with beta quantification to assess which has a higher level of accuracy.

Keywords: low density lipoproteins * homogeneous enzymatic method * precipitation method * Friedewald formula

Resumo

Levando em consideração que ainda não existe uma metodologia padrão de rotina para a determinação do colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) se decidiu avaliar sua determinação analítica utilizando três técnicas: determinação enzimática homogênea, precipitação com sulfato de polivinil e fórmula de Friedewald. Foram processadas 98 amostras de soro às quais lhes foi determinado triglicérides (TG), colesterol total (CT), colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDL-c) e colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c). Os valores médios de CT foram $194,46 \pm 43,54$ mg/dL, HDL-c $51,12 \pm 12,36$ mg/dL e TG $132,88 \pm 76,93$ mg/dL. Inclusive quando a análise de regressão mostrou uma boa correlação entre os valores de LDL-c, os resultados indicaram uma diferença estatisticamente significativa nos mesmos quando os níveis de TG superaram os 200 mg/dL. A mesma se observou principalmente entre o método de precipitação e a fórmula de Friedewald, sendo os valores significativamente mais baixos nesta última (LDL-c por precipitação: $141,3 \pm 26,2$ mg/dL; LDL-c por fórmula de Friedewald: $110,1 \pm 35,4$ mg/dL). Da mesma maneira se viu afetada a proporção de indivíduos classificados conforme seu risco coronariano. É necessário comparar as técnicas aplicadas neste estudo com a quantificação beta para avaliar qual é que tem maior nível de exatidão.

Palavras chave: colesterol de lipoproteínas de baixa densidade * determinação enzimática homogênea * método de precipitação * fórmula de Friedewald

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) constituyen un problema de salud pública a nivel mundial, llegando a alcanzar cifras alarmantes en los Estados Unidos, el sur de Asia y gran parte de Latinoamérica. La ECV es responsable de 32 millones de eventos coronarios y accidentes cerebrovasculares, de los cuales en países desarrollados entre 40-70% son fatales (1). Venezuela no escapa de esta realidad, pues la enfermedad isquémica del corazón y la diabetes *mellitus* fueron la primera causa de muerte en 2006 (2).

La evaluación del riesgo cardiovascular permite conocer la probabilidad de sufrir un infarto al miocardio no fatal, o tener muerte por causas cardiovasculares. Uno de los factores más importantes en el riesgo cardiovascular es la dislipidemia, tanto por elevación de los triglicéridos (TG) como por alteraciones en el metabolismo del colesterol (3). En el ser humano el colesterol en su mayoría es de fuente endógena (85%) y se divide en 3 fracciones lipoproteicas que se separan en base a su densidad: Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL-

c), colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) y colesterol asociado a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL-c) (4). El tercer reporte del *National Cholesterol Education Program (Adult Treatment Panel III) (NCEP ATP III)* pone énfasis en la disminución de los niveles de LDL-c en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (5).

Las concentraciones de LDL-c se pueden medir exactamente a través de un método de ultracentrifugación, recomendado como método de referencia por la *Lipid Research Clinic – Bioquantification (LRC-BQ)* (6). No obstante, su uso es limitado debido a lo laborioso de la técnica, su alto costo, los grandes volúmenes de muestra que requiere y los equipos utilizados. Es por ello que la mayoría de los analistas determinan los niveles de LDL-c empleando la fórmula de Friedewald (7). Sin embargo, esta fórmula presenta ciertas limitaciones: en muestras de suero que posean trazas de quilomicrones, el valor de LDL-c se subestima, ya que una concentración elevada de quilomicrones incrementa los valores de TG y descende la proporción colesterol/TG en las VLDL colesterol, ocasionando por ende un error en la estimación de LDL-c.

En similitud con este argumento, su uso no está recomendado cuando la concentración de TG es mayor a 400 mg/dL, o en pacientes con disbetalipoproteinemia (8).

Un método directo bastante común para determinar la concentración de LDL-c es su precipitación usando agentes químicos como heparina a pH 5.12, polivinilsulfato, polímeros anfipáticos inespecíficos o sulfato de dextran. Esta metodología presenta ciertas limitaciones al igual que la fórmula de Friedewald, pues existen evidencias que muestran que la precipitación no posee ventajas apreciables en cuanto a precisión, exactitud o especificidad (9).

Por otra parte, existen métodos de determinación directa de LDL-c que emplean ensayos homogéneos en vez de químicos precipitantes. Los mismos fueron introducidos en el mercado más recientemente y su mayor ventaja es la automatización completa en el cálculo de LDL-c, aumentando la precisión de la medición y disminuyendo apreciablemente el error de pipeteo. Por ser una metodología relativamente nueva, no presentan una evaluación y validación estándar, por lo que aún se desconocen los posibles errores asociados (10).

Tomando en cuenta que la medición de LDL-c en la mayoría de los laboratorios continúa realizándose mediante el empleo de agentes precipitantes y la fórmula de Friedewald, el objetivo principal de esta investigación fue comparar la determinación de LDL-c haciendo uso de estos dos métodos, y de una metodología directa automatizada.

Materiales y Métodos

Estudio descriptivo y correlacional que incluyó 98 pacientes adultos con edades comprendidas entre 18 y 50 años ($38,1 \pm 9,0$ años) que acudieron al Laboratorio Clínico "César Sánchez Font" ubicado en la ciudad de Valencia, Venezuela, durante el mes de mayo de 2009. Este estudio contó con el aval del Comité de Ética del centro de salud y todos los participantes del mismo firmaron consentimiento informado (11).

Los pacientes acudieron al laboratorio después de 12 h de ayuno y sin haber ingerido alcohol en las 48 horas anteriores a la toma de muestra. Inicialmente se aplicó una encuesta mediante la cual se obtuvieron datos personales y antecedentes relacionados a diabetes *mel litus* y enfermedades cardiovasculares.

Se extrajo una muestra de sangre (8 mL) por punción venosa del pliegue del codo. Haciendo uso de un analizador automatizado de química clínica Hitachi 911 (Roche Diagnostics, Indianapolis, EE.UU.), se determinaron en suero el mismo día de la toma de muestra, colesterol total y triglicéridos mediante métodos enzimático-colorimétricos y colesterol unido a la lipoproteína de alta densidad después de precipitación con fosfotungstato. Se emplearon reactivos comerciales de Roche de acuerdo a

las condiciones de reacción establecidas por el fabricante, realizando controles de calidad con BioRad para CT, LDL-c, HDL-c y TG; obteniéndose los siguientes coeficientes de variación intraensayo: 2,9% para CT; 2,5% para TG; 1,2% para HDL-c.

Una vez obtenidos los valores de CT, HDL-c y TG mediante el analizador automatizado, se procedió a determinar el valor de las LDL-c utilizando la fórmula de Friedewald ($[\text{LDL-c}] = [\text{CT}] - [\text{HDL-c} + \text{TG}/5]$), fundamentándose en que la mayoría de los triglicéridos plasmáticos son transportados por las VLDL y la concentración de colesterol de las VLDL se corresponde a un quinto del valor de TG (7). En vista que la aplicación de esta fórmula sólo es válida mientras la concentración de triglicéridos no exceda de 400 mg/dL, fueron excluidos de este estudio aquellos pacientes cuya hipertrigliceridemia sobrepasara este valor.

La determinación automatizada directa de LDL-c se realizó siguiendo una metodología enzimática homogénea. Para la cuantificación de LDL-c, se realizó una solubilización micelar selectiva de estas partículas por un detergente no iónico y la interacción de un compuesto de azúcar y lipoproteínas (VLDL y quilomicrones). Al añadir un detergente en el método enzimático de determinación de colesterol (reacción de acoplamiento de colesteroles-esterasa-colesteroloxidasa), la actividad relativa del colesterol en las fracciones de lipoproteínas aumenta en el siguiente orden HDL < quilomicrones < VLDL < LDL. En presencia de Mg^{++} un compuesto de azúcar reduce la acción enzimática de medición del colesterol en VLDL y quilomicrones. Al combinar un compuesto de azúcar y un detergente, se puede efectuar la determinación enzimática y colorimétrica selectiva del colesterol LDL-c en el suero.

Los valores de LDL-c fueron igualmente determinados por el método de precipitación. Para ello, estas partículas fueron precipitadas en el suero empleando sulfato de polivinilo disuelto en polietilenglicol (PM 600 al 25%, pH 6,7). El sulfato de polivinilo precipita selectivamente las moléculas de LDL-c, quedando por tanto suspendidas en el sobrenadante las partículas de HDL-c y VLDL-c, las cuales se determinan enzimáticamente siguiendo las técnicas enzimáticas para el cálculo de CT. El valor de las LDL-c precipitadas en el sedimento se obtiene por diferencia entre el CT en el suero y CT en el sobrenadante. El equipo de lectura utilizado fue un espectrofotómetro StatFax 1904 Plus (Awareness Technology, Palm City, Florida, EE.UU.). Se emplearon sueros controles normal y patológico comerciales (Standatrol 1 y 2, Wiener lab) y se realizó un control de calidad interno con *pool* de sueros preparados en este laboratorio. Los coeficientes de variación intraensayo hallados fueron: 3,1% para CT; 3,8% para TG; 1,5% para HDL-c. Es importante destacar que las pipetas automáticas y el equipo de lectura se encontraban calibrados y que para minimizar el error sistemático las lecturas fueron realizadas por el mismo analista.

Para el análisis estadístico se aplicó una prueba de normalidad (*test* de Wilk-Shapiro) para corroborar la normalidad de la muestra. Los datos fueron sometidos a un análisis descriptivo, determinando promedio y desviación estándar (media \pm DE). Una vez obtenidos los valores de LDL-c siguiendo las tres metodologías previamente mencionadas, los mismos fueron estratificados en base a los niveles de TG y luego comparadas las medias aritméticas haciendo uso de un análisis de varianza, a la vez que se utilizó la prueba Tukey en caso de haber diferencias significativas. Además, para observar la relación entre las variables, se realizó un análisis de regresión lineal simple. Por otro lado, para evaluar las proporciones de los pacientes clasificados de acuerdo a su riesgo cardiovascular según la metodología de LDL-c, se aplicó la prueba de asociación chi-cuadrado. El nivel de significancia adoptado fue $p < 0,05$. El paquete estadístico utilizado fue Statistix 8.1.

Resultados

De 98 pacientes evaluados, 37 (37,8%) pertenecían al género masculino y 61 (62,2%) al femenino. Los valores promedio de los parámetros bioquímicos medidos fueron CT: $194,46 \pm 43,54$ mg/dL; HDL-c: $51,12 \pm 12,36$ mg/dL y TG: $132,88 \pm 76,93$ mg/dL.

La comparación de los valores promedios de LDL-c obtenidos en las tres metodologías se evidencia en la Figura 1. Se observa que los valores de LDL-c obtenidos por las distintas técnicas presentan una distribución aproximadamente normal, con pocas variaciones entre sí. Las concentraciones encontradas con la técnica de precipitación son ligeramente superiores a las otras dos metodologías y existe una dispersión de los datos un poco mayor. La fórmula de Friedewald arrojó valores muy similares a los obtenidos por la metodología directa, aún y cuando haya presentado un valor atípico marcadamente elevado.

Las concentraciones de LDL-c se encuentran expresadas en la Tabla I, siendo estratificadas según los valores de TG. Aplicando un análisis de varianza, se pudo observar que a partir de concentraciones de TG mayores a 200 mg/dL, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los tres valores de LDL-c,

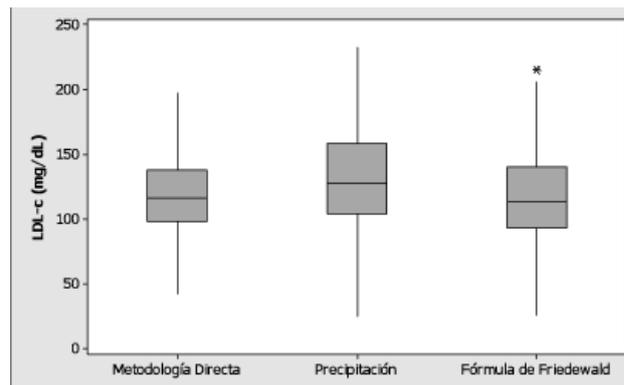


Figura 1. Valores promedio de LDL-c utilizando tres metodologías analíticas.

siendo los resultados obtenidos por las técnicas de precipitación y fórmula de Friedewald, los que se diferenciaban entre sí.

La comparación de los métodos [determinación homogénea directa *vs* fórmula de Friedewald y determinación homogénea directa *vs* técnica de precipitación], fue evaluada siguiendo un análisis de regresión lineal. Como la intención del estudio consistía en probar que los valores de LDL-c arrojados por las 3 metodologías son iguales y no una asociación lineal entre ellos, se plantearon modelos matemáticos de regresión sin intercepto. La ecuación obtenida al comparar los resultados obtenidos por el método directo con la técnica de precipitación fue: $y = 1,10x$ (Figura 2A). Por su parte, la ecuación obtenida al comparar la determinación homogénea directa con la fórmula de Friedewald fue la siguiente: $y = 0,994x$, (Figura 2B). Por último, se determinó la relación existente entre la fórmula de Friedewald y la técnica de precipitación (Figura 2C), resultando en la siguiente ecuación: $y = 0,879x$. Se observa claramente que existe una buena correlación entre los datos de LDL-c obtenidos con las tres metodologías, sin embargo la ecuación que muestra una pendiente más próxima a 1 es la ecuación de regresión entre la determinación directa *vs* la fórmula de Friedewald, por ende es posible inferir que hay una mayor similitud entre los valores de LDL-c obtenidos entre estas dos metodologías. Los valores más discordantes se obtuvieron entre la fórmula de Friedewald *vs* el método de precipitación.

Los pacientes fueron clasificados según el criterio de la NCEP, la cual ha establecido los valores límites para

Tabla I. Valores promedios de LDL-c (mg/dL) de acuerdo a las concentraciones de triglicéridos

Triglicéridos (mg/dL)	n	Metodología directa	Técnica de precipitación	Fórmula de Friedewald	p
<151	67	112,19 \pm 34,10	126,10 \pm 44,10	116,21 \pm 40,93	0,1187
151-200	13	134,62 \pm 28,10	141,46 \pm 42,62	129 \pm 29,14	0,2694
>200	18	124,7 \pm 33	141,3 \pm 26,2*	110,1 \pm 35,4*	0,0178

LDL-c= colesterol de lipoproteínas de baja densidad
*significativo ($p < 0,05$)

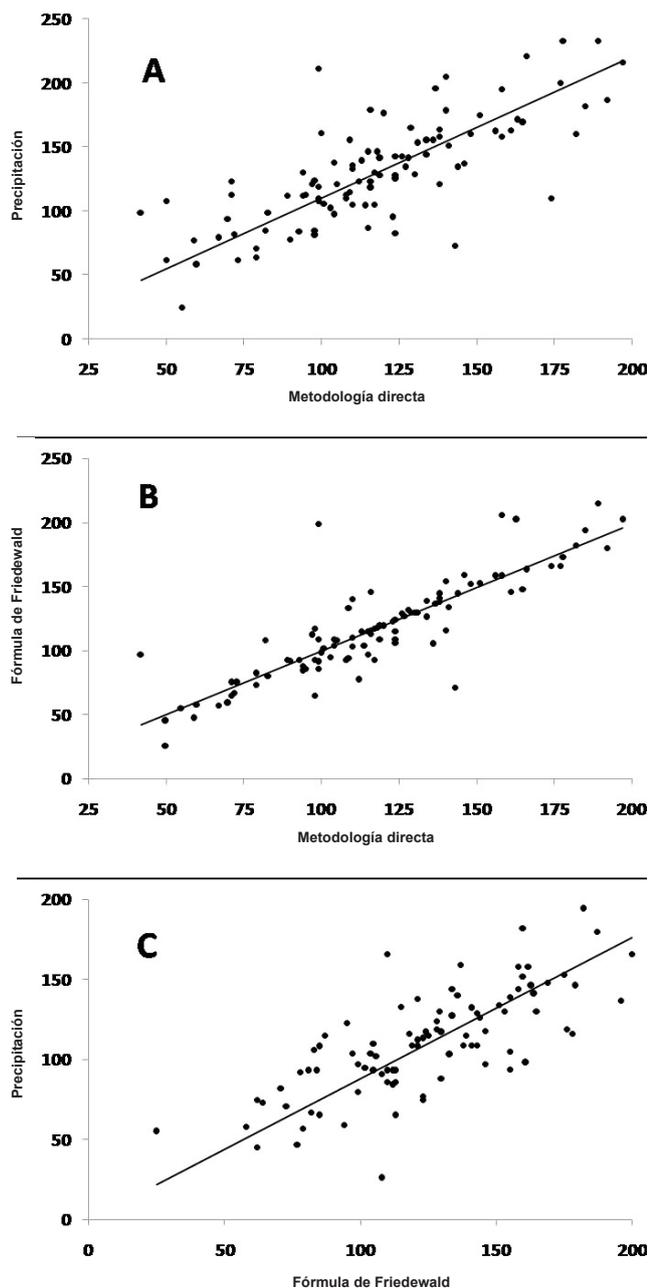


Figura 2. Análisis de regresión lineal de los valores de LDL-c obtenidos por determinación directa vs. método de precipitación (A), determinación directa vs Fórmula de Friedewald (B) y Fórmula de Friedewald vs, método de precipitación (C).

evaluar el riesgo coronario, en donde niveles de LDL-c < 130 mg/dL; entre 130 y 159 mg/dL, y ≥ 160 mg/dL corresponden a un riesgo coronario bajo, moderado y elevado, respectivamente. Tal como se muestra en la Tabla II, la metodología directa y la fórmula de Friedewald coinciden notablemente en el porcentaje de pacientes clasificados, no así la clasificación según el método de precipitación. Aplicando la prueba de chi cuadrado se pudo observar que efectivamente existen diferencias estadísticamente significativas en la clasificación de los pacientes según su riesgo coronario dependiendo de la metodología analítica empleada (Chi-cuadrado = 10,13; $p = 0,0382$).

Discusión y Conclusiones

Niveles elevados del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) son considerados como un importante factor de riesgo para desarrollar una enfermedad cardiovascular y constituyen el principal objetivo terapéutico para el tratamiento de las dislipidemias (5). Esta lipoproteína puede ser determinada a través de varios métodos diferentes, razón por la cual el objetivo principal del presente estudio fue comparar la determinación analítica de LDL-c, utilizando un método enzimático homogéneo directo, precipitación con polianiones y su cálculo mediante la fórmula de Friedewald.

Aún cuando el análisis de regresión lineal simple mostró una muy buena correlación entre las metodologías evaluadas, fue notoria la ligera discordancia existente entre los valores aportados por el método de precipitación y las otras dos técnicas, siendo de significancia estadística la diferencia observada con la fórmula de Friedewald cuando las concentraciones de TG eran mayores a 200 mg/dL. Estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Eblen-Zajjur A. y Eblen-Zajjur M. (12), quienes informaron una inconsistencia en más de un 16% entre los valores obtenidos por la técnica de precipitación y fórmula de Friedewald. Desde su descripción, se conoce que la fórmula de Friedewald, además de ser inexacta cuando los TG séricos están por encima de 400 mg/dL, también es inadecuada cuando los mismos sobrepasan los 200 mg/dL(13). De hecho, García *et al* 2007 afirmaron que si no se considera el valor de TG=200 mg/dL como punto de corte para el cálculo de

Tabla II. Clasificación de los pacientes en base a su riesgo coronario, según la NCEP

Riesgo coronario	Número de pacientes		
	Metodología directa	Técnica de precipitación	Fórmula de Friedewald
Bajo (deseable)	66	51	64
Intermedio	20	21	22
Elevado	12	26	12

LDL-c se estaría proporcionando valores falsos en alrededor de 40% de la población (14).

Las técnicas que tuvieron una mejor correlación de datos fueron la fórmula de Friedewald y la determinación directa, mientras que el promedio de las concentraciones de LDL-c obtenidas aplicando reactivos precipitantes fue en todos los casos superior a los promedios de las dos primeras. Resultados similares fueron obtenidos por Maitra *et al* (15), quienes compararon la determinación analítica de LDL-c empleando la técnica de precipitación y un ensayo de inmunoseparación en relación con la beta cuantificación, obteniendo los niveles más elevados en la primera y una diferencia estadísticamente significativa con el método estándar de referencia. Una posible explicación de esta sobreestimación de LDL-c es que el reactivo precipitante utilizado tendería a precipitar otras fracciones ricas en colesterol que se encuentren en el sobrenadante. Sin embargo, es necesario acotar que la técnica de precipitación tan sólo mostró diferencia estadística cuando las concentraciones de TG eran superiores a 200 mg/dL, por lo que su utilidad para el cálculo de LDL-c a concentraciones de TG menores a este valor es igual de válida que los otros dos métodos. Además, la técnica de precipitación tiene la ventaja de calcular los niveles séricos de VLDL-c por diferencia entre el CT y (HDL-c +LDL-c) (9).

Por otra parte, los resultados obtenidos mediante ensayo directo homogéneo concuerdan con las investigaciones realizadas por Miller (6) y Sahu *et al* (16), quienes destacaron la similitud entre el ensayo directo y la fórmula de Friedewald, y que, por tanto, no mejora el cálculo de LDL-c. No obstante, existen trabajos que difieren de los resultados del presente estudio. Tal es el caso de Mendes de Córdova *et al* (17) y Nakanishi *et al* (18), quienes destacan que las concentraciones de LDL-c estimadas por la fórmula de Friedewald no muestran relación con las obtenidas por los ensayos directos homogéneos a concentraciones crecientes de TG, haciendo énfasis en la utilidad que tiene este ensayo en el diagnóstico y monitoreo de las hipercolesterolemias. De hecho, Nauck *et al* (9) en su revisión de los ensayos directos para determinar LDL-c, concluye que existen evidencias que soportan la posibilidad de que los ensayos directos homogéneos suplan ten la fórmula de Friedewald en aquellos casos en donde la aplicación de la misma sea inválida. Esta idea es apoyada igualmente por Teerakanchana *et al* (19), quienes además exponen como principales ventajas del método su automatización, el buen desempeño analítico y que la concentración de LDL-c es determinada directamente y no está sometida a la estimación de otros parámetros, disminuyendo así el margen de error.

Las diferencias encontradas en la estimación de valores de LDL-c siguiendo el método de precipitación afectó la proporción de individuos clasificados según su

riesgo coronario, siendo distintas a las obtenidas en las otras dos metodologías. Es bien sabido que, debido a la relativa cercanía entre las metas de tratamiento (20) pequeños errores en la estimación del LDL-c provocan la inadecuada prescripción de fármacos (5). Sin embargo, en la presente investigación, la determinación de LDL-c no fue realizada por la cuantificación beta, que es el método de referencia y por lo tanto no es posible inferir cuáles de las tres metodologías es la que mejor clasifica a los pacientes de acuerdo al riesgo coronario, siendo ésta una de las limitaciones del estudio.

Es por ello que las conclusiones que pueden derivarse de este trabajo, se enfocan en que los resultados obtenidos por las metodologías utilizadas son comparables entre sí hasta una concentración de TG = 200 mg/dL y que a partir de la misma, la técnica de precipitación y la fórmula de Friedewald comienzan a tener diferencias con importancia estadística, siendo esta diferencia relevante al momento de clasificar a un paciente según su riesgo cardiovascular. Este trabajo aporta datos para eventuales meta análisis que incluyan el empleo de la cuantificación beta de lipoproteínas para así evaluar cuál de las tres metodologías utilizadas presenta un mayor nivel de exactitud y menor porcentaje de error analítico. De esta manera, se tendría el método de rutina que mejor estime las concentraciones de LDL-c.

CORRESPONDENCIA

LIC. MARVIN ISAAC QUERALES
Av. Bolívar Norte, Sector La Ceiba,
Callejón Peña-Pérez, Edif. Somos, Apto. 6-1.
VALENCIA, Venezuela.
Tel. +58 [241] 8380810.
Email:marvinquerales@hotmail.com

Referencias bibliográficas

1. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, De Simone G, Ferguson TB, Flegal K, *et al.* Heart disease and stroke statistics —2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2009; 119: 21-181.
2. Ministerio del Poder Popular para la Salud de la República Bolivariana de Venezuela. Anuario de Mortalidad 2006. Caracas: MPPS de Venezuela; 2007.
3. Barnett AH. The importance of treating cardiometabolic risk factors in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Vasc Dis Res* 2008; 5: 9-14.
4. Ruiz MA. Manual de diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias. Bogotá: Sáenz y CIA. SA.; 2007. p. 229.
5. Executive Summary of the 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). *JAMA* 2001; 285: 2486-97.

6. Miller WG, Waymack PP, Anderson FP, Ethridge SF, Jayne EC. Performance of four homogenous Direct Methods for LDL-Cholesterol. *Clin Chem* 2002; 48(3): 489-98.
7. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
8. Myers GL, Kimberly MM, Waymack PP, Smith SJ, Cooper GR, Sampson EJ. A reference method laboratory network for cholesterol: a model for standardization and improvement of clinical laboratory measurements. *Clin Chem* 2000; 46: 1762-72.
9. Nauck M, Wanick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-Cholesterol: A critical assessment of direct measurement by homogenous assays versus calculation. *Clin Chem* 2002; 48(2): 236-54.
10. Esteban Salán M, Guimón Bardesi A, De la Viuda Unzueta JM, Azcarate Ania MN, Pascual Usandizaga P, Amoroto del Río E. Analytical and clinical evaluation of two homogeneous assays for LDL-cholesterol in hyperlipidemic patients. *Clin Chem* 2000; 46: 1121-31.
11. Reynolds T. Declaration of Helsinki revised. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1801-3.
12. Eblen-Zajjur A, Eblen-Zajjur M. Cálculo de la concentración de colesterol de la lipoproteína de baja densidad: análisis de regresión *versus* fórmula de Friedewald. *Rev Méd Chile* 2001; 129: 1263-70.
13. 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: 1397.
14. García H, Estrada L, Estrada R, Jonguitud V, Parra I. Colesterol de baja densidad en pacientes con triglicéridos elevados: estudio en una población seleccionada. *Med Int Mex* 2007; 23: 183-7.
15. Maitra A, Hirany S, Jialal I. Comparison of two assays for measuring LDL cholesterol. *Clin Chem* 1997; 43: 1040-7.
16. Sahu S, Chawla R, Uppal B. Comparison of two methods of estimation of low density lipoprotein cholesterol, the direct versus Friedewald estimation. *Indian J Clin Biochem* 2005; 20(2): 54-61.
17. Mendes de Cordova CM, Schneider CR, Juttel LD, Mendes de Cordova M. Avaliação da dosagem directa do colesterol-LDL em amostras de sangue de 10.664 pacientes em Comparação com o uso da fórmula de Friedewald. *Arq Bras Cardiol* 2004; 83(6): 482-7.
18. Nakanishi N, Matsuo Y, Yoneda H, Nakamura K, Suzuki K, Tatara K. Validity of the conventional indirect methods including Friedewald method for determining serum low-density lipoprotein cholesterol level: comparison with the direct homogeneous enzymatic analysis. *J Occup Health* 2000; 42(3): 130-7.
19. Teerakanchana T, Puavilai W, Suriyaprom K, Tungtrongchitr R. Comparative study of LDL-cholesterol levels in thai patients by the direct method and using the Friedewald formula. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2007; 38(3): 519-27.
20. Drexel H, Aczel S, Marte T, Benzer W, Langer P, Mole W, *et al.* Is atherosclerosis in diabetes and impaired fasting glucose driven by elevated LDL cholesterol or by decreased HDL cholesterol? *Diabetes Care* 2005; 28: 101-7.

Aceptado para su publicación el 1º de marzo de 2011