



Расчетный метод определения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности на основании современной парадигмы метаболизма липидов

DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2022.03.0003

© П.С. Садовников¹, А.Ю. Ольховик¹, В.С. Гуревич^{2, 3, 4}

¹ Лабораторная служба «ХЕЛИКС», Санкт-Петербург

² Научно-клинический и образовательный центр «Кардиология», Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

³ Центр атеросклероза и нарушений липидного обмена, Северо-западный окружной научно-клинический центр им. Л.Г. Соколова ФМБА, Санкт-Петербург

⁴ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург

Для цитирования: Садовников Павел Сергеевич – ORCID 0000-0002-6022-5709; Ольховик Андрей Юрьевич – ORCID 0000-0001-7410-2307; Гуревич Виктор Савельевич ORCID – 0000-0002-6815-444X. Расчетный метод определения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности на основании современной парадигмы метаболизма липидов. Атеросклероз и дислипидемии. 2022;3(48):21–28. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2022.03.0003

Абстракт

Цель. Использование формулы Фридвальда для определения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП) в крови приводит к заниженным результатам по сравнению с реальными значениями. Целью данной работы было усовершенствование формулы расчета ХС-ЛНП.

Материалы и методы. Было проанализировано 750 000 результатов полных индивидуальных липидограмм. Обработка данных производилась на языке программирования Python версии 3.9.2 с использованием программных библиотек: pandas (1.1.3), numpy (1.19.2), seaborn (0.11.0), matplotlib (3.3.2), statsmodels (0.12.0), sklearn (0.23.2). Точность модели при определении анализа оценивали с использованием допустимой общей ошибки (TEa) = 11,9%.

Результаты. По данным прямого измерения уровня общего холестерина, ХС-ЛВП, ХС-ЛНП и ТГ построен график зависимости уровня ХС-ЛОНП от содержания триглицеридов во всех фракциях липопротеидов. Коэффициенты промежуточных уравнений были получены из уравнения линейной регрессии, аппроксимированного методом наименьших квадратов с использованием библиотеки statsmodels (0.12.0). Окончательная формула расчета была следующей: $\text{ХС-ЛНП} = \text{ХС-нелВП} - (\text{ТГ}/3 - 0,14)$. Точность этого уравнения по сравнению с прямым определением ХС-ЛНП по значению TEa составила 96,12% в тестовой выборке из 150 000 липидограмм, что значительно выше, чем при расчете по формуле Фридвальда и альтернативным методам Martin S. et al., 2013, и Sampson M., 2020: 62,29%, 72,96%, 71,62% соответственно.

Заключение. Новая формула расчета для определения ХС-ЛНП оказалась простым в применении и превосходящем по точности другие расчетные методы инструментом при любом уровне триглицеридов. Использование этой формулы позволяет адекватно сравнивать результаты расчетной и прямой оценки ХС-ЛНП.

Ключевые слова: холестерин липопротеинов низкой плотности, холестерин липопротеинов очень низкой плотности, формула Фридвальда, метод Мартина, метод Сэмпсон.

Calculation method for the low-density lipoprotein cholesterol levels on the basis of the lipid metabolism modern paradigm

P.S. Sadovnikov¹, A. Yu. Olkhovik¹, V.S. Gurevich^{2,3,4}

¹Laboratory Service "HELIX". Sampsonievsky prosp. Saint-Petersburg, Russia

²Clinical, Research and Education Center "Cardiology", Saint-Petersburg, Russia

³Center for Atherosclerosis and Lipid Disorders, North-western district research-clinical center n.a. L.G Sokolov, Federal Medical and Biological Agency, Saint-Petersburg, Russia

⁴North-Western State Medical University n. a. I.I Mechnikov. Saint-Petersburg, Russia

Abstract

Aim. Using the Friedwald formula to determine the level of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in the blood leads to underestimated results compared to real values. The purpose of this work was to improve the calculation formula for LDL-C.

Materials and methods. 750,000 results of complete individual lipidograms were analyzed. Data processing was performed using the Python programming language version 3.9.2 using software libraries: pandas (1.1.3), numpy (1.19.2), seaborn (0.11.0), matplotlib (3.3.2), statsmodels (0.12.0), sklearn (0.23.2). The accuracy of the model in the determination of the analyte was evaluated using the Allowable Total Error (TEa) = 11.9%.

Results. According to the direct measurement of the level of total cholesterol, HDL-C, LDL-C and TG, a graph of the dependence of the level of VLDL-C on the content of triglycerides in all fractions of lipoproteins was constructed. The coefficients of the intermediate equations were obtained from the linear regression equation, fitted by the least squares method using the statsmodels library (0.12.0). The final calculation formula was the following: $LDL-C = nonHDL-C - (TG / 3 - 0.14)$. The accuracy of this equation in comparison with the direct determination of LDL-C in terms of TEa was 96.12% on a test sample of 150,000 lipidograms, which is significantly higher than when calculating using the Friedwald formula and alternative methods of S. Martin and M. Sampson: 62.29%, 72.96%, 71.62% respectively.

Conclusion. The new calculation formula for determining LDL-C proved to be a suitable tool, easy to use in any triglyceride levels. The use of this formula makes it possible to adequately compare the results of the calculated and direct assessments of LDL-C.

Keywords: low-density lipoprotein cholesterol, Friedwald formula, Martin method, Sampson method.

Введение

Уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛНП) крови является важнейшим показателем липидного обмена, который широко используется для лабораторной диагностики и оценки эффективности фармакологической коррекции дислипидемий вместе с другими липидными показателями плазмы крови, к которым относятся в первую очередь уровень общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП) и триглицеридов (ТГ). В кардиологической практике уровень ХС-ЛНП является общепринятым маркером при стратификации сердечно-сосудистого риска пациентов для его фармакологической коррекции с целью первичной и вторичной профилактики клинических осложнений атеросклероза. Целевые уровни ХС-ЛНП используются для ранжирования интенсивности таргетной фармакотерапии атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний [1].

Золотым стандартом измерения уровня липопротеинов плазмы крови (beta-quantification) служит метод ультрацентрифугирования, который не может применяться в клинической практике из-за высокой стоимости, трудоемкости и сложного оборудования. Поэтому в течение долгих лет и до настоящего времени ХС-ЛНП определяется с помощью расчета по формуле Фридвальда [2], несмотря на то что многие специалисты за это время неоднократно показывали ее несовершенство и предлагали свои более точные варианты [3–5]. Формула Фридвальда предполагает использование прямого определения ОХС, ХС-ЛВП и ТГ и определяет уровень ХС-ЛНП вычитанием из ОХС холестерина других фракций липопротеинов, богатых ТГ, и ХС-ЛВП. Главным недостатком уравнения Фридвальда является допущение, что молярное отношение ТГ/ХС в богатых триглицеридами фракциях является постоянным (см. ниже уравнение 1). Поэтому применение формулы Фридвальда ограничено уровнем ТГ 4,5 ммоль/л. При содержании ТГ выше этого значения предлагается вместо расчета ХС-ЛНП

использовать разницу между ОХС и ХС-ЛВП, т.н. показатель ХС-нЛВП. В последние годы указанные ограничения стали особенно серьезными, так как от точности определения ХС-ЛНП зависит, во-первых, классификация по уровням сердечно-сосудистого риска, а во-вторых, оценка эффективности гиполипидемической терапии.

В связи с тем что использование расчетных значений приводит к заниженным результатам по сравнению с реальными значениями, не только при серьезном, но и при умеренном увеличении содержания ТГ, в последние годы были разработаны методы прямого определения ХС-ЛНП [6, 7]. Это позволило серьезно упростить процедуры исследования и значительно снизить его стоимость по сравнению с ультрацентрифугированием. Однако при массовых обследованиях населения и особенно при многоцентровых рандомизированных клинических исследованиях новых гиполипидемических препаратов применение расчетных формул определения ХС-ЛНП остается методом выбора.

Несмотря на разнообразие работ по оптимизации формулы Фридвальда, в настоящее время предложено два типа решения.

Наиболее популярной альтернативой формуле Фридвальда, в которой ТГ делятся на 5 для мг/дл или на 2,2 для ммоль/л, является подход Мартина с соавт. [8]. Авторами опытным путем составлена таблица со 180 коэффициентами, на которые необходимо делить значения ТГ в формуле Фридвальда в зависимости от концентрации ХС-нЛВП и ТГ. Использование этой формулы показало хорошие результаты по сопоставимости с референсными методами на различных выборках липидограмм и в 2018 году было рекомендовано Американской коллегией кардиологов для использования в практике вместо формулы Фридвальда [9]. Вместе с тем таблицы Мартина с соавт. не получили широкого распространения в реальной клинической практике из-за неудобства применения, несмотря на то что авторы предложили использовать метод не только в виде поиска необходимого коэффициента в таблицах, но и с помощью прямого расчета на своем сайте онлайн, что также занимает значительное время.

Второй подход использовался Сэмпсон с соавт. [10] с помощью регрессионного анализа с использованием коэффициентов к каждому члену уравнения формулы Фридвальда:

$$\text{ХС-ЛНП} = \text{ОХС}/0,948 - \text{ХС-ЛВП}/0,971 - (\text{ТГ}/8,56 + \text{ТГ} \times \text{ХС-нЛВП}/2140 - \text{ТГ}^2/16100) - 9,44.$$

Чтобы получить более точную формулу ХС-ЛНП, авторы сначала улучшили оценку ХС-ЛОНП, для чего получили двумерное квадратичное уравнение методом множественной регрессии наименьших квадратов, используя результаты теста β -количественного определения липидных фракций с широким содержанием ТГ. Ограничениями данного метода являются относительно

небольшая выборка, использованная для анализа, и, что особенно важно, исключение из нее популяции с дислипидемией III типа, где отношение ХС-ЛОНП/ТГ $>0,33$.

Важной особенностью формулы Фридвальда является то, что она была предложена, когда метаболизм липидов был изучен в меньшей степени, чем в настоящее время.

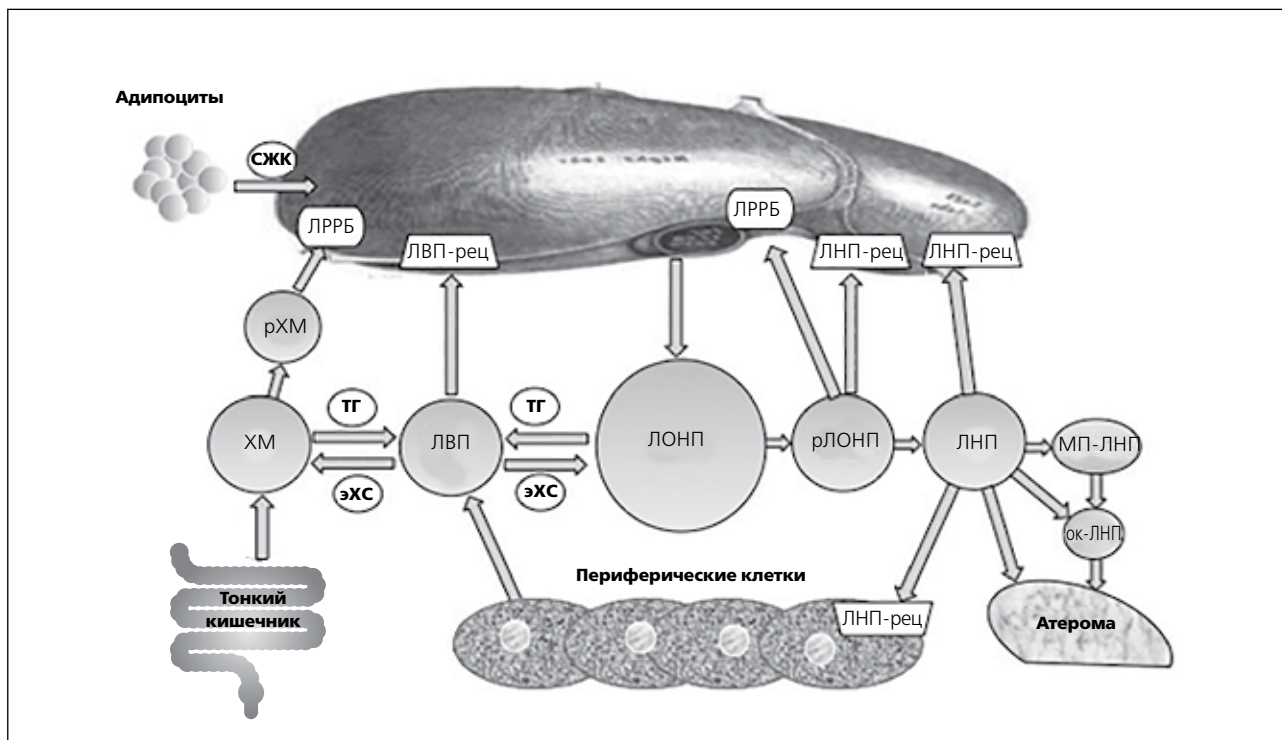
На основании современных данных о метаболизме липидов характер зависимости ХС-ЛНП, рассчитанных по формуле Фридвальда (фХС-ЛНП) от уровня ТГ и разброс отклонений расчетных значений от данных прямого измерения (пХС-ЛНП) при использовании постоянного коэффициента могут быть частично объяснены, во-первых, транспортом ремнантов липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП) посредством родственного рецепторам липопротеинов низкой плотности белка (ЛРРБ) в печень (рис. 1), который не регулируется внутриклеточным содержанием холестерина [11]. Во-вторых, тем, что соотношение ТГ/ОХС в ХС-ЛОНП может меняться из-за изменения активности липопротеинлипазы при повышенных значениях уровней ТГ [12].

Поэтому целью настоящей работы стало создание расчетной формулы на основании современной парадигмы метаболизма липидов, которая позволяет максимально приблизить расчетные значения к таковым, полученным с использованием прямого метода определения ХС-ЛНП.

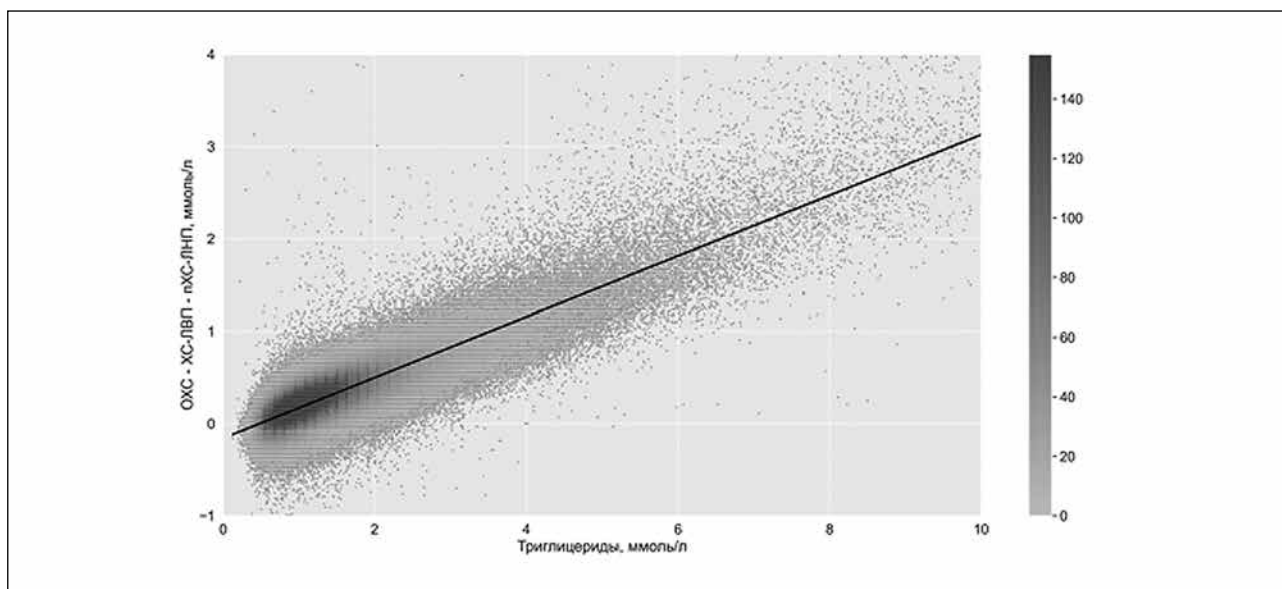
Материал и методы

Анализу подверглись результаты однократных исследований полных липидограмм (анализ липидного профиля, в состав которого входят прямые определения ОХС, ТГ, ХС-ЛВП, ХС-ЛНП, а также расчетные показатели), выполненных в лабораторной службе «ХЕЛИКС» за период с 1 января 2016 г. по 31 декабря 2020 г. Результаты, выходящие за пределы 1 и 99 перцентилей каждого липидного показателя, были исключены из анализа. После этого в общую выборку вошли случайно отобранные 750 000 результатов, в которую входили 299 870 лиц мужского и 450 130 лиц женского пола в возрасте от 1 до 100 лет в 462 городах и поселках городского типа европейской части РФ. В процессе анализа выборки были разбиты на «а» – основную, использованную для создания расчетной формулы (600 000 – 239 821 лиц мужского и 360 179 лиц женского пола), и «б» – тестовую, для тестирования расчетной формулы (150 000 – 60 049 лиц мужского и 89 951 лиц женского пола).

Исследования производились на анализаторах Roche Cobas C502, C702 (Roche Diagnostics GmbH, Мангейм, Германия) с использованием коммерческих реагентов той же фирмы энзиматическими колориметрическими методами. Коэффициенты вариации за период выгрузки результатов для ОХС, ТГ, ХС-ЛВП и ХС-ЛНП были 1,9%, 1,2%, 1,4%,

Рисунок 1. Метаболизм липидов

Примечания: ХМ – хиломикроны, рХМ – ремнанты хиломикронов, ТГ – триглицериды, ЭХС – эфиры холестерина, ЛВП – липопротеины высокой плотности, ЛОНП – липопротеины очень низкой плотности, рЛОНП – ремнанты липопротеинов очень низкой плотности, ЛНП – липопротеины низкой плотности, МП-ЛНП – малые плотные липопротеины низкой плотности, ок-ЛНП – окисленные липопротеины низкой плотности, СЖК – свободные жирные кислоты, ЛВП-рец – рецепторы липопротеинов высокой плотности, ЛНП-рец – рецепторы липопротеинов низкой плотности, ЛРРБ – белок родственный рецепторам липидопротеинов низкой плотности.

Рисунок 2. Зависимость (ОХС – ХС-ЛВП – пХС-ЛНП) от ТГ

Примечания: ОХС – общий холестерин; ХС-ЛВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; пХС-ЛНП – прямое определение холестерина липопротеинов низкой плотности, ТГ – триглицериды; черная линия – рассчитанная методом наименьших квадратов остатков регрессионная прямая. Шкала плотности показывает количество измерений в точке по ее оттенку.

2,0% соответственно. Все аналиты аттестованы по стандарту качества «Шести сигм» сертификатом Westgard QC [13].

Группировка данных, разделение выборки на основную («а») и тестовую («б»), построение сводных таблиц, обсчет описательных показателей, удаление «крайних» перцентилей, преобразование шкал, расчеты предсказанных показателей, статистическая обработка данных и графические построения выполнены с помощью языка программирования Python версии 3.9.2 с использованием программных библиотек: pandas (1.1.3), numpy (1.19.2), seaborn (0.11.0), matplotlib (3.3.2), statsmodels (0.12.0), sklearn (0.23.2).

Коэффициенты уравнения получили из уравнения линейной регрессии, подобранной методом наименьших квадратов с помощью библиотеки statsmodels (0.12.0) на основании основной части выборки ($n = 600\,000$). Коэффициенты корреляции рассчитывались по Пирсону.

Точность модели оценивалась с использованием международного стандарта аналитического качества в медицинских лабораториях, а именно общую допустимую ошибку в определении аналита, (Allowable Total Error – TEa) [14]. Данный показатель принят в качестве международного стандарта оценки качества выполняемого исследования и отражает интегральную оценку влияния случайных и допустимых систематических ошибок на результат измерения концентрации исследуемого аналита. Таким образом, оценивается влияние на измерение как биологической, так и аналитической вариации. Расчет TEa проводился на сайте Вестгард [15] в соответствии с требованиями биологической вариации для ХС-ЛНП согласно формулам:

$$\begin{aligned} CV(max) &< 0,5 \times CVi, \\ B(max) &< 0,25 \times (CVi^2 + CVg^2)^{1/2}, \\ TEa(max) &< 0,25 \times (CVi^2 + CVg^2)^{1/2} + 1,65 \times (0,5 \times CVi), \end{aligned}$$

где: CV(max) – коэффициент вариации максимально допустимый, CVi – внутрииндивидуальная биологическая вариация, B(max) – систематическая ошибка максимально допустимая, CVg – внутригрупповая биологическая вариация, TEa(max) – общая аналитическая ошибка максимально допустимая.

TEa(max) принята по рассчитанной границе в 11,9% [16].

Результаты и обсуждение

Избежать допущения о постоянном соотношении ТГ/ОХС в ХС-ЛОНП можно, опираясь на современную парадигму представлений о метаболизме липопротеинов. Мы исходим из того, что центральным механизмом регуляции метаболизма липидов является «клиренс» ХС липопротеинов, ориентированный не только и не столько на достижение баланса между уровнем ХС, содержащегося

в циркулирующих фракциях ХС-ЛНП, и обратным транспортом ХС-ЛВП. Определяющей, по нашему мнению, является взаимосвязь между внепеченочным ХС-ЛОНП и ХС-неЛОНП. К ХС-неЛОНП относится пул ХС, содержащийся в основном в ХС-ЛНП, ХС-ЛВП и в ремнантах ХС-ЛОНП (рис. 2).

В таком случае в отличие от формулы Фридвальда, где

$$f_{\text{ХС-ЛНП}} = \text{ОХС} - \text{ХС-ЛВП} - \text{ТГ} / 2,2 \quad (\text{уравнение 1}),$$

мы предлагаем опираться на расчетное значение $p_{\text{ХС-ЛОНП}}$, полученное с помощью полученных прямым определением показателей ОХС, ХС-ЛНП и ХС-ЛВП:

$$p_{\text{ХС-ЛОНП}} = \text{ОХС} - \text{ХС-ЛНП} - \text{ХС-ЛВП} \quad (\text{уравнение 2}).$$

Это уравнение можно представить и с включением в него значения ХС-неЛВП, которое в настоящее время используется для оценки метаболизма липидов при высоких уровнях ТГ, когда формула Фридвальда неприменима.

Тогда уравнение 2 будет выглядеть следующим образом:

$$p_{\text{ХС-ЛОНП}} = \text{ХС-неЛВП} - p_{\text{ХС-ЛНП}} \quad (\text{уравнение 3}),$$

показывая, с одной стороны, равновесное распределение ХС между ХС-ЛОНП и другими липопротеинами, а с другой стороны, отражая динамику обмена эстерифицированного ХС на ТГ между ХС-ЛВП и ХС-ЛОНП (см. рис. 1).

Исходя из вышеизложенного и из допущения, что ЛОНП не участвуют напрямую в обратном транспорте ХС (см. рис.1), по данным прямого измерения уровня ОХС, ХС-ЛВП, ХС-ЛНП и ТГ в выборке «а» можно построить график зависимости реальной разницы между ХС-неЛВП и ХС-ЛНП, т.е. график зависимости ХС-ЛОНП от ТГ всех фракций липопротеинов (см. рис. 2).

Из этого графика легко выводится уравнение регрессии, исходя из линейного характера зависимости исследуемых переменных:

$$(\text{ОХС} - \text{ХС-ЛВП} - p_{\text{ХС-ЛНП}}) = \text{ТГ} / 3 - 0,14 \quad (\text{уравнение 4}).$$

В этом случае расчетная формула $p_{\text{ХС-ЛНП}}$ приобретает следующий вид:

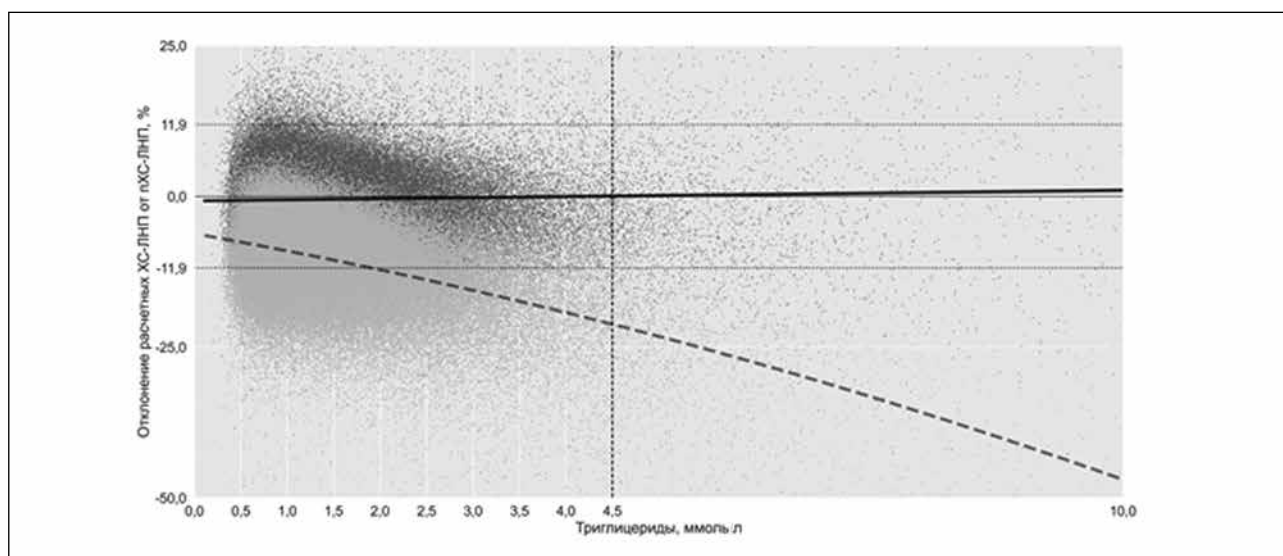
$$p_{\text{ХС-ЛНП}} = \text{ХС-неЛВП} - (\text{ТГ} / 3 - 0,14) \quad (\text{уравнение 5}).$$

Использование $p_{\text{ХС-ЛНП}}$ позволяет избавиться от смещения результатов $f_{\text{ХС-ЛНП}}$ в сторону меньших значений по сравнению с результатами $p_{\text{ХС-ЛНП}}$.

Правомерность этого положения была проверена на выборке «б» ($n = 150\,000$).

На рисунке 3 представлены распределения ошибки $p_{\text{ХС-ЛНП}}$ относительно результатов

Рисунок 3. График отклонения расчетных показателей ХС-ЛНП от прямого измерения в зависимости от концентрации триглицеридов для выборки «б» (n=150 000)



Примечания: ХС-ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; пХС-ЛНП – прямое определение холестерина липопротеинов низкой плотности.

пХС-ЛНП (рХС-ЛНП – пХС-ЛНП) / пХС-ЛНП × 100) в зависимости от уровня ТГ. Значения (фХС-ЛНП), как и в случае с выборкой «а», занижены по отношению к пХС-ЛНП в разной степени в зависимости от абсолютных значений.

Светло-серые точки – отклонения показателей, рассчитанных по формуле Фридвальда, пунктирная линия – регрессионная кривая, рассчитанная по этим точкам отклонений. Темно-серые точки – отклонения показателей, рассчитанных по нашей формуле, черная линия, проходящая очень близко к нулевой линии – регрессионная кривая, рассчитанная по точкам отклонений от прямого измерения. Вертикальная пунктирная линия показывает границу значений ТГ до 4,5 ммоль/л (стандартное условие использования формулы Фридвальда), горизонтальные пунктирные линии показывают допустимые показатели ошибки расчета.

Заметное выходящее за рамки допустимой ошибки отклонение расчета по Фридвальду от прямого измерения в области значений ТГ выше 3,5 ммоль/л свидетельствует, по-видимому,

не только об изменении молярного соотношения ТГ/ОХС в ХС-ЛНП, но и о возможном изменении скорости обмена эХС на ТГ между липопротеинами, которое может быть вызвано изменением активности лецитинхолестеринацилтрансферазы (ЛХАТ) [17].

Коэффициент корреляции между рХС-ЛНП и пХС-ЛНП превышает аналогичные показатели между фХС-ЛНП и пХС-ЛНП (табл. 1).

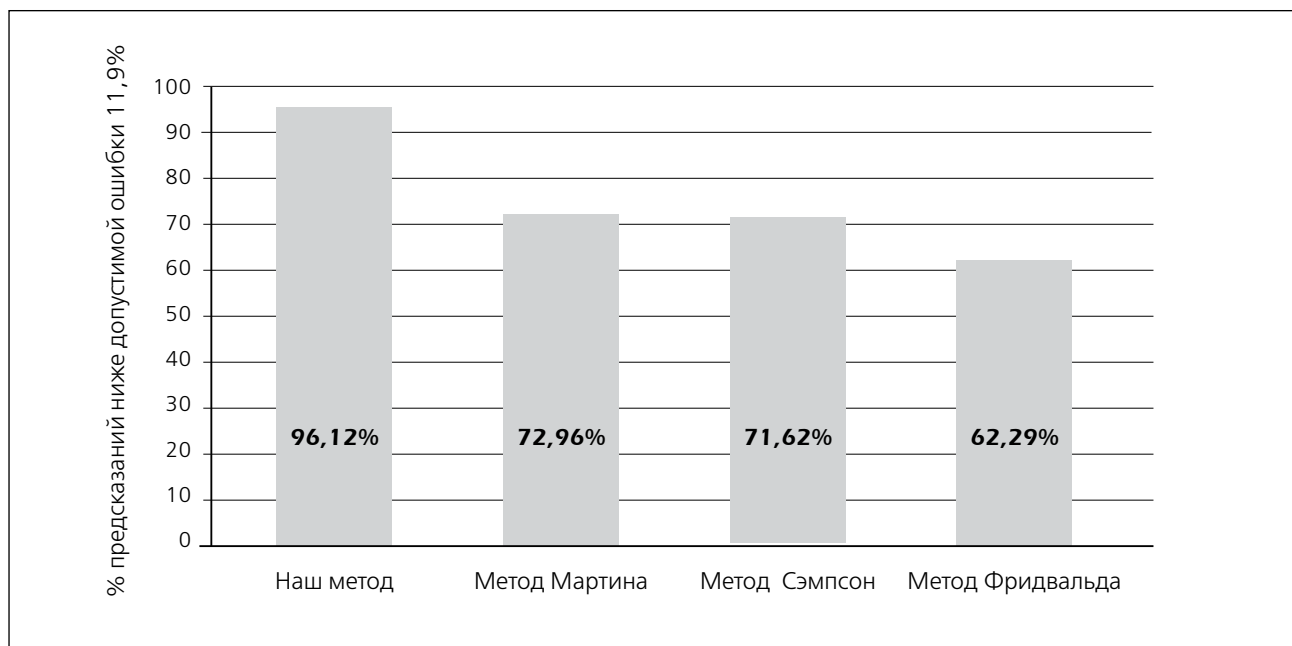
Несмотря на относительно небольшое различие коэффициентов корреляции в пользу нашей формулы, связанное, по всей видимости, с большим размером выборки (см. табл. 1), более заметным преимуществом предложенной нами формулы является существенно меньшее искажение реальных значений ХС-ЛНП во всем диапазоне измерений независимо от уровня ТГ (см. рис. 3). Но наиболее значимым преимуществом нашей формулы по сравнению со всеми другими является наибольший процент предсказуемости результата, не превышающий допустимой ошибки в соответствии с критериями TEa (рис. 4) [16].

Таблица 1. Корреляция между прямым и расчетным определением ХС-ЛНП

	пХС-ЛНП
ХС-ЛНП по Фридвальду	0,9777
ХС-ЛНП по Сампсон	0,9829
ХС-ЛНП по Мартину	0,9838
рХС-ЛНП	0,9848

Примечания: ХС-ЛНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; пХС-ЛНП – прямое определение ХС-ЛНП.

Рисунок 4. Процент соответствий, не превышающий уровень максимально допустимой ошибки (11,9%) при всех уровнях триглицеридов разными методами расчета



Заключение

В целом очевидно, что использованная нами линейная модель для выведения расчетной формулы определения ХС-ЛНП, оказалась простым в описании и использовании инструментом в отличие от нелинейных моделей.

Выходящее за рамки допустимой ошибки отклонение расчета по Фридвальду от результатов прямого измерения в области значений ТГ выше 4,5 ммоль/л, вызванное изменением молярного соотношения ТГ/ОХС в ХС-ЛОНП при гипертриглицеридемии практически полностью нивелируется предложенной формулой.

Значимым преимуществом нашей формулы по сравнению со всеми другими является наибольший (96,12%) уровень предсказуемости результата, не превышающий допустимой ошибки.

Нельзя исключить, что использование нашей расчетной формулы может в некоторых случаях заменить применение показателя ХС-нЛВП, в частности у пациентов с метаболическим синдромом и с диабетической дислипидемией.

Использование данной формулы позволяет адекватно сравнивать результаты расчетного и прямого определения ХС-ЛНП, что особенно полезно при клинических исследованиях гиполлипидемических препаратов и для популяционных скрининговых исследований.

Благодарность

Авторы выражают искреннюю благодарность Б.В. Певницкому и А.С. Семенову за неоценимый вклад в обсуждение концепции и результатов исследования.

Gratitude

The authors express their sincere gratitude to B.V. Pevnitsky and A.S. Semenov for their invaluable contribution to the discussion of the concept and results of the study.

Конфликт интересов

Все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Работа выполнена в рамках реализации постановления Правительства Российской Федерации № 220 и Соглашения от 30.06.2022 № 075-15-2022-1110 о предоставлении Правительством РФ из федерального бюджета гранта в форме субсидии на государственную поддержку научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых, и содержит результаты научных исследований Лаборатории микроангиопатических механизмов атерогенеза СПбГУ.

Conflict of interests

All authors declare no conflicts of interest.

The work was supported by the grant of the Government of the Russian Federation for the state support of scientific research carried out under the supervision of leading scientists, agreement № 075-15-2022-1110 dated June 30, 2022. Scientific research was performed at the Laboratory of Microangiopathic Mechanisms of Atherogenesis of St. Petersburg State University.

Список литературы / References

1. Kukbarchuk VV, Ezbov MV, Sergienko IV, Arabidze GG, Bubnova MG, Balakbonova TV, et al. Diagnosis and correction of lipid metabolism disorders for the prevention and treatment of atherosclerosis. Russian recommendations, VII revision. *Atherosclerosis and Dyslipidemia*. 2020;1:7-40. In Russian. (Кухарчук В.В., Езов М.В., Сергиенко И.В., Арабидзе Г.Г., Бубнова М.Г., Балахонova Т.В. и др. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации, VII пересмотр. Атеросклероз и дислипидемии. 2020;1(38)7-40).
2. 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.
3. Parvin M, Saiedullah M, Khan M, Rahman M. Validation of the Modified Friedewald's Formula to Calculate Low-density Lipoprotein Cholesterol in Bangladeshi Population. *J Bangladesh Coll Physicians Surg*. 2012;30(3):141-144. doi: 10.3329/jbcps.v30i3.12463.
4. Mendes de Cordova CM, de Santa Helena ET, Galgowski C, Figueira VH, Setter GB, Markus MRP, et al. Evaluation of a new equation for LDL-c estimation and prediction of death by cardiovascular related events in a German population-based study cohort. *Scand J Clin Lab Invest*. 2018;78(3):187-196. doi: 10.1080/00365513.2018.1432070.
5. Krishnaveni P. Assessing the Validity of Friedewald's Formula and Anandraja's Formula For Serum LDL-Cholesterol Calculation. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(12):BC01-4. doi: 10.7860/JCDR/2015/16850.6870.
6. Okada M, Matsui H, Ito Y, Fujiwara A, Inano K. Low-density lipoprotein cholesterol can be chemically measured: a new superior method. *J Lab Clin Med* 1998;132:195-201. doi: 10.1016/s0022-2143(98)90168-8.
7. Bansal E, Kaur N. Does Friedewald Formula Underestimate the Risk of Ischemic Heart Disease? *Indian J Clin Biochem*. 2014 Oct;29(4):496-500. doi: 10.1007/s12291-013-0392-2.
8. Martin SS, Blaha MJ, Elsbazly 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):2061-2068. doi: 10.1001/jama.2013.280532.
9. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APHA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*. 2019;139(25):2805-2808. doi: 10.1161/CIR.0000000000000625.
10. Sampson M, Ling C, Sun Q, Harb R, Ashmaig M, Warnick R, et al. A New Equation for Calculation of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients With Normolipidemia and/or Hypertriglyceridemia. *JAMA Cardiol*. 2020;5(5):540-548. doi: 10.1001/jamacardio.2020.0013.
11. Morita SY. Metabolism and Modification of Apolipoprotein B-Containing Lipoproteins Involved in Dyslipidemia and Atherosclerosis. *Biol Pharm Bull*. 2016;39(1):1-24. doi: 10.1248/bpb.b15-00716.
12. Kumari A, Kristensen KK, Ploug M, Winther AML. The Importance of Lipoprotein Lipase Regulation in Atherosclerosis. *Biomedicines*. 2021;9(7):782. doi: 10.3390/biomedicines9070782.
13. <https://www.westgard.com/vp-belix-laboratories.htm>.
14. Elevitch FR. Proceedings of the 1976 Aspen Conference on Analytical Goals in Clinical Chemistry.
15. <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>.
16. Ricys C, Alvarez V, Cava F, Garcha-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999;59(7):491-500. doi: 10.1080/00365519950185229.
17. Oldoni F, Baldassarre D, Castelnovo S, Ossoli A, Amato M, van Capelleveen J, et al. Complete and partial lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency is differentially associated with atherosclerosis. *Circulation*. 2018;138:1000-1007. doi: 10.1161/circulationaha.118.034706.