

Сравнительный анализ результатов прямого измерения и расчетного определения холестерина липопротеидов низкой плотности

DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2024.01.0004

© В.Е. Веровский¹, О.В. Островский¹, А.А. Панина^{1,2}, Е.А. Няхина¹, И.Г. Шушкова^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Волгоград

² ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника №2», г. Волгоград

Для цитирования: Веровский Валериан Евгеньевич – ORCID 0000-0001-5944-9572, Островский Олег Владимирович – ORCID 0000-0001-9827-9545, Панина Анна Александровна – ORCID 0000-0003-2750-8579, Няхина Елена Александровна – ORCID 0009-0002-5738-3172, Шушкова Ирина Геннадьевна – ORCID 0000-0003-2750-8579. Сравнительный анализ результатов прямого измерения и расчетного определения холестерина липопротеидов низкой плотности. Атеросклероз и дислипидемии. 2024;1(54):29–36. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2024.01.0004.

Абстракт

Цель. Целью настоящего исследования была оценка влияния результатов определения холестерина липопротеидов низкой плотности, полученных прямым и расчетным по Фридвальду методами, на классифицирование пациентов по группам тяжести гиперхолестеринемии.

Материалы и методы. Анализировались данные 161051 результата исследований липидного профиля, выполненных в крупной централизованной лаборатории, без учета интервенций. Статистическая обработка данных проводилась с использованием регрессионного анализа и метода Бленда-Альтмана.

Результаты. Регрессионный анализ показал высокую степень связи ($R^2=0,91$) между уровнями холестерина липопротеидов низкой плотности, полученными прямым методом и рассчитанными по формуле Фридвальда. Однако выявленная тенденция (наклон регрессионной прямой и прямой при анализе по Бленду-Альтману) показала, что ниже 3,5 ммоль/л ХС ЛНП для прямого метода в целом характерны более высокие значения, по сравнению с методом Фридвальда, а выше 3,5 ммоль/л – более низкие.

Заключение. По всем диапазонам уровней ХС ЛНП различия в классификации пациентов по значениям прямого определения и по расчетным значениям не превышали 3,2% что может быть рассмотрено как прямое подтверждение достаточности формулы Фридвальда.

Ключевые слова: холестерин липопротеидов низкой плотности, формула Фридвальда, метод Бленда-Альтмана.

Comparative analysis of the results of direct measurement against calculated determination of low-density lipoprotein cholesterol

V.E. Verovsky¹, O.V. Ostrovsky¹, A.A. Panina^{1,2}, E.A. Nyakhina¹, I.G. Shushkova^{1,2}

¹ Volgograd State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation State Healthcare, Volgograd, Russia

² Institution «Consultative Diagnostic Clinic № 2», Volgograd, Russia

Abstract

Aim. The aim of this study was to evaluate the impact of the results of the low-density lipoprotein cholesterol determination, obtained by direct and calculated methods according to Friedwald, on the classification of patients into hypercholesterolemia severity groups.

Materials and methods. The analysis of 161,051 results of lipid profile studies performed in a large centralized laboratory, excluding interventions. Statistical data processing was carried out using regression analysis and the Blend-Altman method.

Results. Regression analysis showed a high degree of relationship ($R^2=0.91$) between the results of low-density lipoprotein cholesterol, obtained by a direct method and calculated by the Friedwald formula. However, the revealed trend (the slope of the regression line and the straight line in the Blend-Altman analysis) showed that below 3.5 mmol /l LDL-C for the direct method, in general, higher values are characteristic, compared with the Friedwald method, and above 3.5 mmol /l – lower.

Conclusion. For all ranges of LDL-C levels, differences in the classification of patients according to the values of direct determination and calculated values did not exceed 3.2%, which can be considered as a direct confirmation of the clinical validity of the Friedwald formula.

Keywords: low-density lipoprotein cholesterol, Friedwald formula, Blend-Altman method.

For citation: Verovsky Valerian Evgenievich ORCID – 0000-0001-5944-9572, Ostrovsky Oleg Vladimirovich ORCID – 0000-0001-9827-9545, Panina Anna Aleksandrovna ORCID – 0000-0003-2750-8579, Nyakhina Elena Aleksandrovna, ORCID – 0009-0002-5738-3172, Shushkova Rina Gennadiyevna ORCID – 0000-0003-2750-8579 Comparative analysis of the results of direct measurement against calculated determination of low-density lipoprotein cholesterol. Atherosclerosis and dyslipidemias. 2024;1(54):29–36. DOI: 10.34687/2219-8202.JAD.2023.04.0004.

Received/Поступила: 04.06.2023

Review received/Рецензия получена: 11.12.2023

Accepted/Принята в печать: 25.01.2024

Введение

Успехи в ряде фундаментальных наук значительно изменили аналитические технологии в клинической лабораторной диагностике. Необходимость в улучшении качества, снижении стоимости, увеличении чувствительности и специфичности анализа, доступность новых материалов и реагентов привели к непрерывному совершенствованию аналитических технологий. Сопоставимость результатов новых технологий с предшествующими обычно успешно решается производителем тест-систем. Однако интерферирующие вещества в биопробе неодинаково, в зависимости от нюансов технологии, искажают результаты измерения и влияют на их интерпретацию. Более того, надо помнить, что конечной целью лабораторного теста является принятие клинического решения, и нельзя исключить, что совершенствование аналитической части не приведет к изменению порогов принятия клинических решений [1].

Содержание общего холестерина (ХС), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛВП)

и холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП) в крови является одним из наиболее часто назначаемых рутинных лабораторных тестов. Последнее десятилетие ознаменовалось быстрым развитием лабораторных технологий. К таковым относится прямое определение ХС ЛНП. Как известно, высокий уровень ХС ЛНП является важнейшим маркером развития атеросклероза и одновременно ценным предиктором сердечных событий [2]. Правила интерпретации результатов измерения ХС ЛНП были получены во Фремингемском исследовании сердца, в ходе которого ХС ЛНП рассчитывался по формуле Фридвальда [3] на основе данных о ХС, ХС ЛВП и концентрации триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови. В настоящее время крупные медицинские лаборатории все чаще определяют ХС ЛНП прямым методом. Тем не менее расчетный способ все еще остается актуальным, особенно в скрининговых популяционных исследованиях. В ряде исследований было показано расхождение результатов ХС ЛНП, определяемых прямым и расчетным методами, что привело к поиску и апробации новых математических

моделей более точно отражающих зависимость концентрации ХС ЛНП, измеренной прямым методом, от рассчитанной по Фридвальду [4]. Однако, на наш взгляд, с практической точки зрения особо важным является не аналитическая корреляция результатов, а их влияние на классификацию пациентов в группы с рекомендованными целевыми значениями ХС ЛНП [5].

Целью настоящего исследования была оценка влияния результатов определения ХС ЛНП, полученных прямым и расчетными методами по Фридвальду (1972) [4] и Садовникову с соавт. (2022) [6], на классифицирование пациентов по группам тяжести гиперхолестеринемии.

Материалы и методы

Анализировались данные исследования липидного спектра, полученные в ГУЗ «Консультативно-диагностическая поликлиника №2» г. Волгограда за 2020–2022 гг. Измерение содержания ХС проводилось ферментативным методом, основанном на спектрофотометрическом измерении конечных продуктов реакции гидролиза эстрифицированного холестерина. Для определения ХС ЛВП использовали сочетание иммуносепарации

с последующей детекцией ферментативным колориметрическим методом. Измерение ТГ в сыворотке крови проводилось унифицированным четырехстадийным ферментативным колориметрическим методом. ХС ЛНП определяли прямым селективным ферментативным методом. Результаты анализа также использовали для расчета ХС ЛНП по формуле Фридвальда и Садовникова ($\text{ХС ЛНП} = \text{ХС неЛВП} - (\text{ТГ}/3 - 0,14)$, где ХС неЛВП – разница между ХС и ХС ЛВП) [6].

Для проведения всех исследований использовались коммерческие наборы реагентов производства Beckman Coulter, а именно: холестерин – диагностический набор OSR6616, холестерин липопротеидов высокой плотности – OSR6687, набор LDL-CHOLESTEROL, триглицериды – OSR66118, измерения проводились на автоматическом биохимическом анализаторе AU5800 (Beckman Coulter).

Ежедневный внутрилабораторный контроль качества осуществляли в автоматическом режиме с использованием двухуровневого контрольного материала производства Beckman Coulter. Результаты исследования при проведении контроля качества в 100 сериях одного и того же лота контрольного образца представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты исследования контрольных образцов

Наименование аналита	Аттестованное значение (уровень 1)	Результаты исследования контрольного образца (уровень 1)		Аттестованное значение (уровень 2)	Результаты исследования контрольного образца (уровень 2)	
		Хср	CV,%		Хср	CV,%
Холестерин общий, ммоль/л	4,07	4,05	3,28	7,66	7,71	3,25
Триглицериды, ммоль/л	1,69	1,7	2,4	3,79	3,83	2,34
Холестерин ЛВП, ммоль/л	0,91	0,87	4,2	1,67	1,63	4,07
Холестерин ЛНП, ммоль/л	2,07	2,045	4,54	4,19	4,201	4,3

Примечания: ЛВП – липопротеиды высокой плотности, ЛНП – липопротеиды низкой плотности, Хср – среднее значение, CV – коэффициент вариации.

Были обработаны результаты 165302 заявок на анализ. Причины направления на анализ не уточнялись, то есть включены данные пациентов как на фоне лечения гиполипидемическими препаратами, так и вне лечения. Из анализа исключено 4239 записей о результатах анализа, в которых содержание триглицеридов оказалось выше 4,2 ммоль/л. Также были исключены записи (12), в которых измеренное значение уровня общего холестерина оказалось ниже уровня холестерина ЛНП или ЛВП. Итого были

проанализированы данные 161051 заявки. Расчет холестерина по Фридвальду и Садовникову проводили по формулам, приведенным в [4] и [6] соответственно.

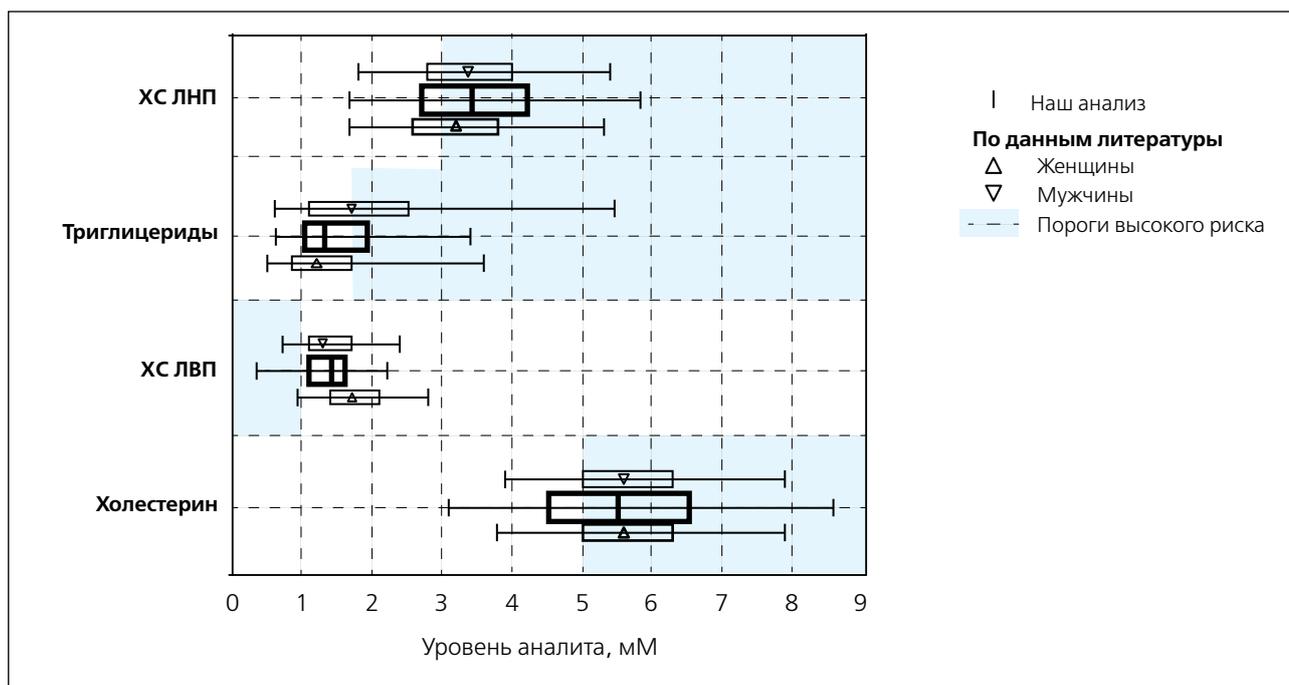
Для статистических расчетов использовали программные продукты: Excel из пакета Microsoft Office 2007 (Microsoft, США), Origin 8,5. При анализе методами регрессии ($Y = a + bX_1 + cX_2 + \dots$) коэффициент a обозначался как «смещение», а коэффициенты при независимых переменных как «наклон».

Результаты

Распределение пациентов по уровню анализов приведено на рисунке 1. Уровень общего холестерина составлял ([медиана; интерквартильный размах]) [5,5; 4,5-6,5] ммоль/л; холестерина липопротеидов высокой плотности – [1,4; 1,1-1,6] ммоль/л; триглицеридов – [1,3;

1,0-1,9] ммоль/л; холестерина липопротеидов низкой плотности – [3,4; 2,7-4,2] ммоль/л. Максимальные значения составляли: для общего холестерина – 28,2 ммоль/л и для ЛНП – 16,7 ммоль/л. В целом распределение пациентов по уровням анализов было близко к данным литературы [7] (см. рис. 1).

Рисунок 1. Распределение пациентов по уровню анализов в сопоставлении с данными литературы [7]. Приведены медиана, интерквартильный интервал и 2,5–97,5% процентиля.



Примечания: ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности, ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности.

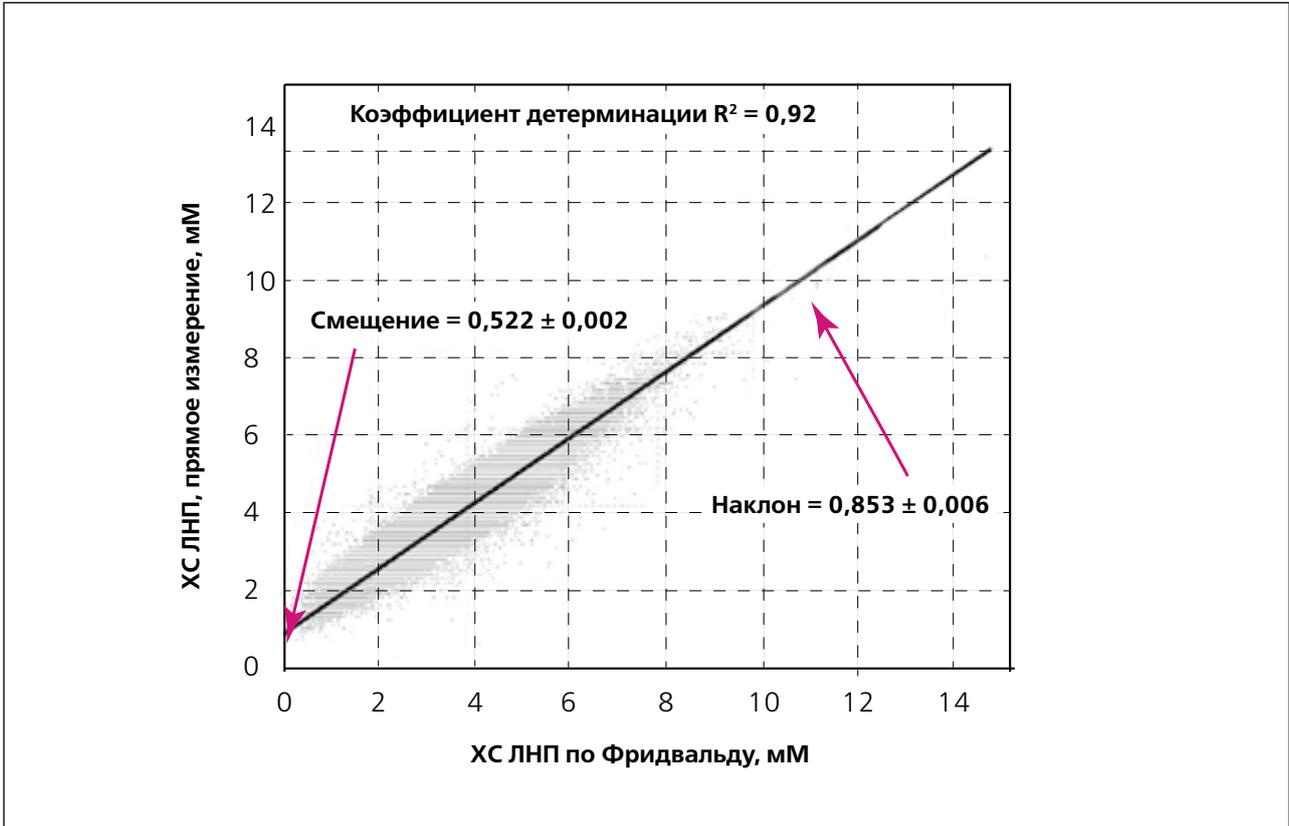
Регрессионный анализ (рис. 2) выявил высокую степень связи ($R^2=0,91$) между результатами прямого определения ХС ЛНП и рассчитанного по формуле Фридвальда. Однако результаты прямого определения в целом оказались смещены примерно на 0,5 ммоль/л к более высоким значениям. Вместе с тем наклон прямой существенно отличается от единицы (0,85, см. рис. 2). То есть прямое определение приводит к более высоким значениям ХС ЛНП при низком уровне анализа, а при высоких уровнях более высокие значения получаются при расчетах по формуле Фридвальда.

Подобная тенденция проявляется и при анализе результатов по Бленду-Альтману (рис. 3). Несмотря на низкую степень зависимости разницы результатов от уровня анализа ($R^2=0,13$), наклон прямой (-0,12) статистически значимо отличается от нуля ($p < 0,05$, см. рис. 3). При этом линия регрессии пересекает уровень среднего значения разницы результатов примерно в точке 3,5 ммоль/л. То есть ниже этой точки для прямого метода в целом характерны более высокие значения по сравнению с методом Фридвальда, а выше нее – более низкие.

Анализ по Бленду-Альтману (см. рис. 3) также показал, что в среднем по массиву разница результатов прямого определения и расчета по Фридвальду не отличается от нуля. Однако в 10,9% случаев отмечается превышение среднего значения в пределах 1-2 стандартных отклонений, а в 2,3% случаев – более чем на 2 стандартных отклонения. Сниженные значения прямого определения, по сравнению с методом Фридвальда: в пределах 1-2 стандартных отклонений – в 10,75% случаев, а более чем на 2 стандартных отклонения – в 2,5% случаев.

Анализ распределения пациентов по уровням ХС ЛНП в зависимости от способа анализа проводили, используя диапазоны содержания ХС ЛНП для пациентов с разным уровнем риска сердечно-сосудистой патологии ([5], табл. 2). Результаты анализа приведены на рисунке 4. Первый (верхний) столбик в каждой группе показывает разницу между долями пациентов в %, по-разному классифицируемых в соответствии с концентрацией ХС ЛНП, измеренной прямым методом или рассчитанной по формуле Фридвальда (прямое – по Фридвальду).

Рисунок 2. Зависимость между результатами измерения ХС ЛНП по Фридвальду и прямым методом



Примечания: ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности, ХС ЛНП – холестерин липопротеидов низкой плотности.

Рисунок 3. Сравнительный анализ результатов анализа ХС ЛНП по Бленду-Альтману. Параметры зависимости разницы результатов от уровня анализа: $R^2=0,13$; смещение = $0,42 \pm 0,003$ ($p < 0,05$); наклон = $-0,12 \pm 0,001$ ($p < 0,05$)

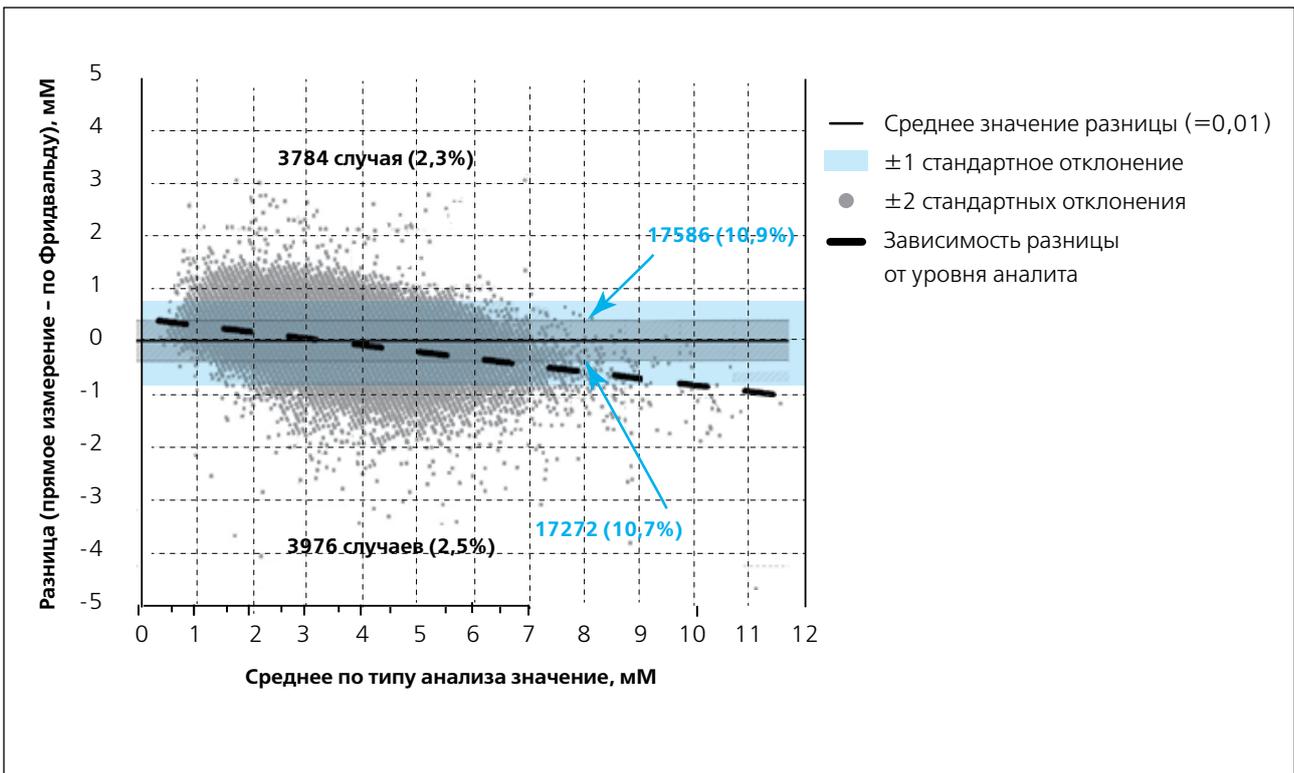
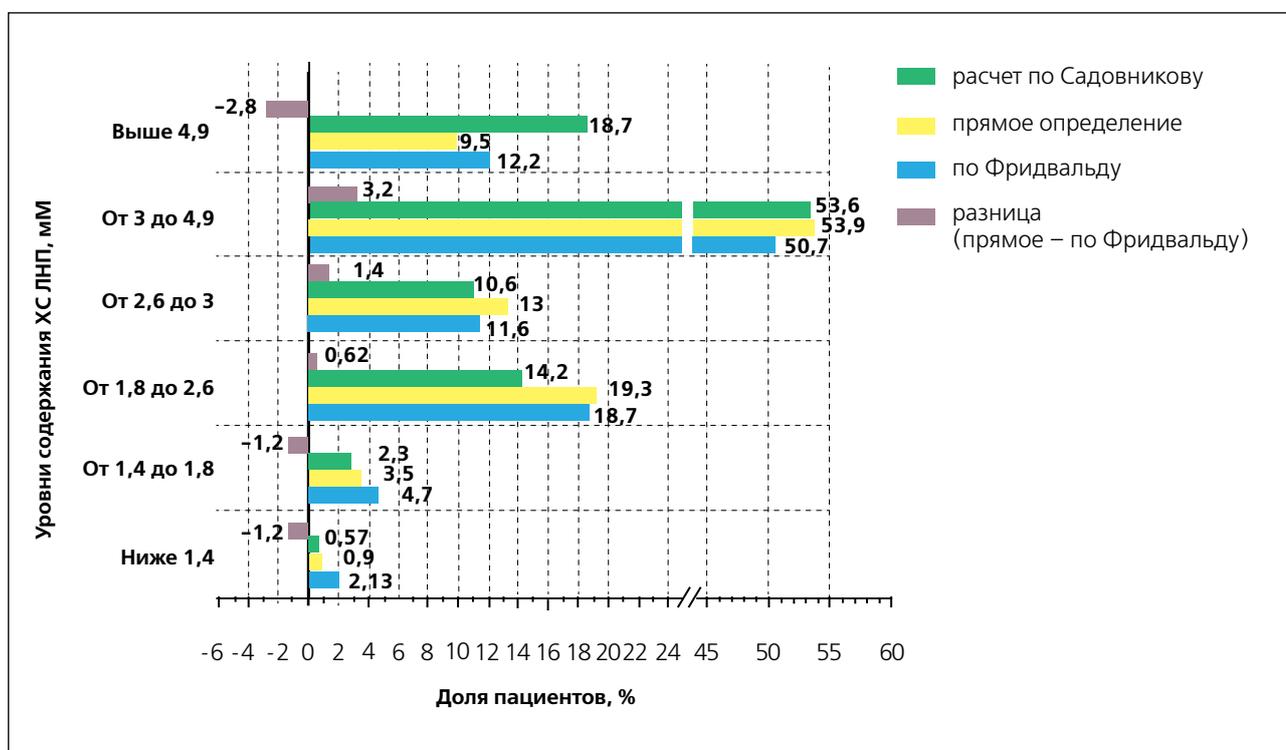


Таблица 2. Результаты анализа зависимости разницы между результатом прямого определения ХС ЛНП и расчетным по Фридвальду от уровней общего холестерина ЛВП и триглицеридов методом множественной регрессии ($F=63922$; $p < 0,001$; $R^2 = 0,54$)

Параметр	Значение	Ст. ошибка	t	p
Смещение	0,1	0,003	32,2	<0,001
Наклон для «ХС ЛВП»	0,28	0,002	126	<0,001
Наклон для «Триглицериды»	0,37	0,009	375	<0,001
Наклон для «Холестерин»	-0,18	0,005	333	<0,001

Примечания: ХС ЛВП – холестерин липопротеидов высокой плотности, F – F -статистика, R^2 – коэффициент детерминации, t – t -критерий Стьюдента, p – уровень значимости.

Рисунок 4. Распределение пациентов по уровням содержания ХС ЛНП в зависимости от способа анализа



Обсуждение

В нашем случае лабораторные технологии определения липидного профиля имели большую, чем рекомендованная NCEP (National Cholesterol Education Program – Национальная образовательная программа по холестерину), аналитическую прецизионность: $\pm 3\%$ для смещения и 3% коэффициента вариации (CV) для ХС; $\pm 4\%$ смещения и 4% CV для ХС ЛНП; $\pm 4\%$ смещения и 5% CV для ХС ЛВП; $\pm 5\%$ и 5% CV для измерений ТГ [8]. Это позволяет признать исходные данные как высоко достоверные.

В ранее опубликованной работе [9] на ограниченной группе пациентов мы показали сравнительно невысокую корреляцию определения ХС ЛНП прямым методом с расчетным по Фридвальду ($R^2=0,65$), которая может сказаться на принятии клинических решений. Настоящее исследование было выполнено на более современном оборудовании и реагентах, что, вероятно, уменьшило рассеивание результатов измерения и увеличило их достоверность. Несмотря на это, в нашем исследовании R^2 был равен $0,92$ и лишь ненамного ниже, чем в других подобных работах [6].

Выявленная при анализе нашего массива данных тенденция не характерна для некоторых недавних исследований [10]. Возможную причину мы пытались найти, привлекая метод множественной линейной регрессии для анализа зависимости разницы между результатом прямого определения ХС ЛНП и расчетного по Фридвальду от компонент, входящих в формулу расчета (см. табл.1). Результаты указывают на достаточно сильную зависимость разницы результатов от значений независимых переменных ($R^2=0,54$). При этом повышение уровня ХС ЛВП и триглицеридов статистически значимо повышает значение разницы, а уровень холестерина снижает ее значение. С этим, по-видимому, связаны положительные значения разницы при низких уровнях холестерина, а отрицательные – при высоких (см. рис. 3).

Есть две возможные причины отличий нашего анализа от данных литературы [9, 10]: аналитическая ошибка и особенности массива пациентов, включенных в анализ. Что касается случайной ошибки, то размер выборки исключает ее влияние. Влияние систематической ошибки представляется также маловероятным, учитывая уровень оборудования, реагентов и системы контроля качества в лаборатории. То есть наиболее вероятная причина возникновения выявленной зависимости – это особые соотношения значений величин, входящих в формулу Фридвальда, характерные для пациентов исследованного массива данных, обусловленные, возможно, особенностями липидного спектра пациентов с лекарственной коррекцией гиперхолестеринемии.

По всем диапазонам уровней ХС ЛНП [5], различия в классификации пациентов по значениям прямого определения и по расчетным значениям по Фридвальду не превышали 3,2%, в то время как при расчетах по Садовникову разница была более заметной. В исследованном массиве данных преобладает группа (более 50%) пациентов со значениями ХС ЛНП от 3 до 4,9 ммоль/л. Эту группу можно рассматривать как наиболее важную, поскольку пациенты относятся к зоне, возможно, наиболее значимых клинических решений [5].

Заключение

Таким образом, в нашем исследовании показана высокая корреляция между прямым и расчетным по Фридвальду методами определения ХС ЛНП у 91% пациентов, в то время как различия обнаружены только у 9%. Установлено, что смещение результата определения зависит от диапазона концентрации ХС ЛНП, однако это мало влияет на классификацию пациентов по тяжести гиперхолестеринемии ЛНП. При оценке влияния расчетных методов определения ХС ЛНП на классификацию пациентов метод Фридвальда немногим более предпочтителен, чем метод Садовникова. Очевидно, что расчетные методы определения ХС ЛНП менее затратны, однако при исследованиях полного липидного профиля необходимо помнить, что у больных расчеты сердечно-сосудистого риска по шкале SCORE базируются на определении общего ХС и ХС ЛВП, определенное клиническое значение имеют триглицериды, особенно при коморбидной патологии. Поэтому нам представляется нецелесообразным универсально рекомендовать тот или иной сокращенный подход к выбору алгоритма исследований липидного профиля. Однако высокая корреляция между расчетными и прямыми методами определения ХС ЛНП делает возможным использование расчетных методов в постаналитическом контроле качества измерений в клинико-диагностических лабораториях.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Jesse RL. On the relative value of an assay versus that of a test: a history of troponin for the diagnosis of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(19):2125-2128. doi: 10.1016/j.jacc.2010.03.014.
2. Castelli WP. Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease - the Framingham Heart Study. *Can J Cardiol*. 1988;4(Suppl A):5A-10A.
3. 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.
4. Martin SS, Giugliano RP, Murphy SA, Wasserman SM, Stein EA, Ce ka R, et al. Comparison of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Assessment by Martin/Hopkins Estimation, Friedewald Estimation, and Preparative Ultracentrifugation: Insights From the FOURIER Trial. *JAMA Cardiol*. 2018;3(8):749-753. doi: 10.1001/jamacardio.2018.1533.
5. Kukbarchuk VV, Ezhov MV, Sergienko IV, Arabidze GG, Bubnova MG, Balakbonova TV, et al. Diagnostics and correction of lipid metabolism disorders in order to prevent and treat atherosclerosis. Russian recommendations VII revision, 2020. *Atherosclerosis and Dyslipidemia*. 2020;1(38):7-42. In Russian. (Кухарчук В.В., Ежов М.В., Сергиенко И.В., Арабидзе Г.Г., Бубнова М.Г., Балахонова Т.В. и др. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза. Российские рекомендации VII пересмотр, 2020. Атеросклероз и дислипидемии. 2020;1(38):7-42.) doi: 10.34687/2219-8202.JAD.2020.01.0001.
6. Sadovnikov PS, Olkbovik1 AYu, Gurevich VS. Calculation method for the low-density lipoprotein cholesterol levels on the basis of the lipid metabolism modern paradigm. *Atherosclerosis and Dyslipidemia* 2022;3(48):21-28. (Садовников П.С., Ольховик А.Ю., Гуревич В.С. 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.
7. Langlois MR, Nordestgaard BG, Langsted A, Chapman MJ, Aakre KM, Baum H, et al. Quantifying atherogenic lipoproteins for lipid-lowering strategies: consensus-based recommendations from EAS and EFLM. *Clin Chem Lab Med*. 2020;58(4):496-517. doi: 10.1515/cclm-2019-1253.
8. Cleeman JI, Lenfant C. The National Cholesterol Education Program: progress and prospects. *JAMA*. 1998;280(24):2099-2104. doi: 10.1001/jama.280.24.2099.
9. Ostrovsky OV, Verovsky VE, Salogubova MG, Tverdova VO, Lutchin DN. The alteration of threshold of clinical decision making in connection with the implementation of direct detection of cholesterol-low density lipoproteins in laboratory practice. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2012;2:13-15. In Russian. (Островский О.В., Веровский В.Е., Салогубова М.Г., Твердова В.О., Лучинин Д.Н. . Изменение порогов принятия клинических решений в связи с внедрением в лабораторную практику прямого определения холестерина липопротеинов низкой плотности. Клиническая лабораторная диагностика. 2012;2:13-15).
10. 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 cut-points-a joint consensus statement from the European Atherosclerosis Society and European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Eur Heart J*. 2016;37(25):1944-1958. doi: 10.1093/eurheartj/ehw152.