

Comparação da estimativa do LDL colesterol por meio da fórmula de Martin e por dosagem direta

Comparison of the estimate of LDL cholesterol using Martin formula by direct dosage

Ana Elise Bueno de Oliveira¹, Marcos Vinícios Soares da Silva²,
Miriam Teles de Almeida Silva², Sérgio Henrique Nascente Costa³

¹Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC Goiás

²Faculdade da Polícia Militar – FPM

³Universidade Federal de Goiás – UFG

Resumo

As dislipidemias são alterações metabólicas que repercutem nos níveis séricos das lipoproteínas. Desta forma devem ser tratadas, pois é um fator de risco para aterosclerose e doenças cardiovasculares. O presente estudo teve como objetivo comparar se a fórmula de Martin tem boa correlação com a dosagem direta do LDL colesterol, permitindo assim atingir melhoria nos métodos laboratoriais de diagnóstico em quadros dislipidêmicos. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) PUC Goiás, parecer n. 235.376 e seguiu todas as orientações estabelecidas pelas resoluções 466/2012 e 510/16, mediante a assinatura do TCLE (termo de consentimento livre e esclarecido), que foi apresentado aos pacientes, independente do sexo e com idade maior de 18 anos, que iriam realizar o exame de perfil lipídico no Laboratório Clínico da PUC Goiás e/ou Laboratório Clínico do Hospital do Policial Militar. Então 189 amostras entraram nos critérios de inclusão, sendo 115 com triglicérides acima do valor de referência (≥ 150 mg/dL), tendo o teste t (LDL dosado e LDL calculado) de $p = 0,00000025$ sendo significativo e 74 com triglicérides dentro dos valores de referência (≤ 150 mg/dL), sendo o teste T (LDL dosado e LDL calculado) $p = 0,000043$. Concluindo, foi possível observar que o método direto pode ser mais eficiente para calcular o LDL colesterol do que a fórmula de Martin. No entanto, seria necessária a avaliação de um maior número de amostras para tornar mais robusta tal afirmação, uma vez que as metodologias de dosagem direta também possuem variabilidade analítica.

Palavras-Chave: Cálculo; Dislipidemia; Dosagem Direta; Fórmula de Martin; LDL colesterol.

Abstract

Dyslipidemias are metabolic changes that affect serum levels of lipoproteins. Therefore, they must be treated, as it is a risk factor for atherosclerosis and cardiovascular diseases. The present study aimed to compare whether a Martin formula has a good correlation with the direct measurement of LDL cholesterol, thus allowing to reach laboratory diagnostic methods in dyslipidemic conditions. The research was approved by the Research Ethics Committee (CEP) of PUC Goiás, opinion no. 235,376 and followed all guidelines based on resolutions 466/2012 and 510/16, by signing the informed consent form (IC), which was presented to patients, regardless of gender and over 18 years old, who would perform the lipid profile exam at the Clinical Laboratory of PUC Goiás and / or Clinical Laboratory of Hospital do Military police. Then 189 entered the inclusion criteria, 115 with triglycerides above the reference value (≥ 150 mg / dL), with the t-test (dosed LDL and adequate LDL) of $p = 0.00000025$ being significant and 74 with triglycerides within the reference values (≤ 150 mg / dL), with the T test (dosed LDL and LDL limitation) $p = 0.000043$. In conclusion, it was possible to observe that the direct method may be more efficient to calculate LDL cholesterol than Martin's formula. However, it would be necessary to evaluate a larger number of a larger number to make this statement more robust, since direct dosing methodologies also have analytical variability.

Keywords: Calculation; Dyslipidemia; LDL cholesterol; Direct Dosage; Martin formula.

Contato para correspondência:

Sérgio Henrique Nascente Costa

E-mail:

sergionascente@ufg.br

Conflito de interesse:

Não

Financiamento:

Recursos próprios

Recebido:

05/07/2022

Aprovado:

06/09/2022



Introdução

Os lipídios são moléculas orgânicas obtidas através da dieta e por meio da síntese interna, que ocorre principalmente no fígado. Pelo fato de serem compostos insolúveis em água, são transportados na corrente sanguínea pelas lipoproteínas, constituídas por uma parte lipídica e uma parte proteica, classificadas em: *quilomícrons*, se origina no intestino e é rico em triglicérides de origem exógena; VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade), de origem hepática, carrega grande quantidade de triglicérides endógenos; LDL (lipoproteína de baixa densidade), composta por elevados níveis de colesterol e HDL (lipoproteína de alta densidade), constituída por uma porção proteica maior e quantidades menores de colesterol¹⁻³.

Alterações dos níveis séricos do perfil lipídico podem acarretar quadros dislipidêmicos. As dislipidemias são classificadas em hiperlipidemia e hipolipidemia e podem ter causas primárias ou secundárias. Na primária o distúrbio lipídico é de origem genética, e a secundária é decorrente de estilo de vida inadequado, de outras doenças, ou pelo uso de certos medicamentos. Além disso, é considerada um fator determinante para a síndrome metabólica (SM) e doenças cardiovasculares (DCV)¹.

A atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose de 2017, classifica laboratorialmente as alterações do perfil lipídico da seguinte forma: em hipercolesterolemia isolada: aumento isolado do LDL-c, com valores ≥ 160 mg/dL; hipertrigliceridemia isolada: aumento isolado dos triglicérides com valores ≥ 150 mg/dL ou ≥ 175 mg/dL, se a amostra for obtida sem jejum; hiperlipidemia mista: aumento do LDL-c e dos triglicérides; HDL-c baixo: redução do HDL-c isolado ou associado ao aumento de LDL-c e/ou triglicérides¹.

Nos dias atuais existem vários métodos que são utilizados para analisar o perfil lipídico, tanto nos laboratórios clínicos quanto restrito a pesquisa científica. De acordo com a Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose de 2017, o LDL colesterol pode ser dosado de forma direta, método realizado por meio de ensaios colorimétricos. No entanto, a maioria dos laboratórios optam por calcular a fração de LDL colesterol por meio das dosagens de colesterol total, HDL colesterol e triglicérides^{1,4}.

O resultado de LDL colesterol geralmente é obtido por meio das fórmulas de Friedewald (1972) e Martin (2013). A fórmula de Friedewald, por ser mais antiga, ainda é bastante utilizada mundialmente ($LDL-c = CT - HDL-c - TG/5$), sendo o valor de TG/5 uma estimativa do VLDL colesterol. Todavia, esta fórmula só pode ser empregada quando a concentração de triglicérides for menor que 400 mg/dL e valores de TG >100 mg/dL. Com o objetivo de suprir essa limitação, foi colocada em

uso a fórmula de Martin, que permite avaliar a estimativa dessa lipoproteína quando os valores de triglicérides forem superiores a 400 mg/dL^{1,4}.

Uma pesquisa relacionada a dislipidemia familiar e fatores associados com alterações no perfil lipídico, apontou que a prevalência de LDL colesterol foi cerca de 1,3 maior em crianças com histórico familiar do que crianças que não possuíam histórico familiar. Um outro estudo realizado em pacientes com hipercolesterolemia familiar, avaliou diferentes métodos para o cálculo da lipoproteína de baixa densidade. Para a comparação foi utilizado as fórmulas de Friedewald (LDL colesterol F) e Martin / Hopkins (LDL colesterol M / H), resultando em LDL colesterol M / H como valores mais baixos, tornando-se assim um método de escolha para estimar com mais precisão os níveis de LDL colesterol⁵.

Neste contexto a presente pesquisa teve como objetivo comparar se a fórmula de Martin, com maior flexibilidade em seu fator para o cálculo do LDL colesterol, tem boa correlação com a dosagem direta do LDL colesterol, permitindo, assim, atingir a melhoria nos métodos laboratoriais de diagnóstico dos quadros dislipidêmicos. Vale ressaltar, que na rotina laboratorial a fórmula de Martin é amplamente utilizada para o cálculo do LDL colesterol, pois não possui custos com reagentes.

Métodos

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás), parecer n. 235.376 e seguiu todas as orientações estabelecidas pela resolução 466/2012 e 510/16. Assim foi realizada a captação de pacientes, mediante a apresentação da proposta do estudo e a coleta da assinatura no termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Os critérios de inclusão foram: indivíduos com idade maior ou igual há 18 anos, independente do sexo feminino ou masculino, que procuraram o Laboratório Clínico da PUC Goiás ou Laboratório Clínico do Hospital do Policial Militar para a avaliação do perfil lipídico. Os critérios de exclusão incluíram indivíduos com idade menor que 18 anos e os que não concordaram em participar da pesquisa.

Dessa forma, obtivemos 189 amostras e a partir dos resultados de perfil lipídico foram selecionadas 115 amostras de indivíduos com triglicérides (TG) normais de acordo com os valores de referência preconizados pela Atualização das Diretrizes Brasileira de Dislipidemia (2017), ou seja, menor ou igual a 150 mg/dL e 74 amostras com os TG alterados, maior ou igual a 150 mg/dL. Assim, nas amostras selecionadas foram realizadas dosagens diretas de LDL colesterol, por meio da metodologia surfactante-seletivo, que foram comparadas

com o cálculo do LDL colesterol feito pela fórmula de Martin.

A dosagem direta foi realizada em equipamento automatizado (Analisador Bioquímico A15) da marca Biosystems, com kits da marca Labtest. As amostras-controles (58+19 mg/dL) utilizadas para a dosagem direta tem validade até outubro de 2021, lote BIOQ 03982016. A fórmula de Martin que foi utilizada: $LDLc = CT - (HDL - TG/x)$. Para cálculo do x da fórmula foi necessário o resultado dos triglicérides (TG) e do não-HDL colesterol, conforme tabela descrita pelo autor da fórmula.

As análises estatísticas foram realizadas por meio do Teste de Tukey, sendo considerados valores $p < 0,05$. A tabulação e análise dos dados foi executada por meio do Software Microsoft Excel 10.

Resultados

Foram captadas 189 amostras de pacientes que realizaram exame de perfil lipídico no Laboratório Clínico da PUC Goiás e/ou no Laboratório Clínico do Hospital do Policial Militar. Foi realizada a frequência de homens e mulheres na pesquisa, sendo a feminina de 101/189 (53%) e masculina de 88/189 (47%). Em seguida realizou-se a média e o desvio padrão da idade e exames utilizados no grupo geral analisado, sendo idade: 49,9 anos ($\pm 14,4$); colesterol total (CT): 196,4 mg/dL ($\pm 58,7$); triglicérides (TG): 168,2 mg/dL ($\pm 213,8$); HDL colesterol: 50,8 mg/dL ($\pm 18,5$); LDL calculado 116,1 mg/dL ($\pm 40,1$) e LDL

dosado 96,1 mg/dL (± 46). Foi realizado o Teste de T entre os valores de LDL calculado e dosado e foram obtidos valores $p = 0,0000000003$, ou seja, com diferença significativa.

Partindo disso, o grupo de indivíduos com $TG \geq 150$ mg/dL, teve uma frequência total de 74 amostras e idade média de 49,4 anos ($\pm 12,5$), sendo do sexo feminino 33/74 (45%) e do sexo masculino 41/74 (55%). As médias e os desvios padrão dos exames foram calculados, sendo colesterol total: 222,1 mg/dL ($\pm 73,1$); triglicérides: 280,4 mg/dL ($\pm 309,1$); HDL: 48,9 mg/dL ($\pm 20,1$); LDL calculado: 128,9 mg/dL ($\pm 45,7$) e LDL dosado: 99,5 mg/dL ($\pm 45,8$). Foi aplicado o Teste T entre os valores de LDL calculado e dosado, cujo valor foi $p = 0,000000025$, com diferença significativa.

Por outro lado, o grupo de indivíduos com $TG \leq 150$ mg/dL, obteve uma frequência de 115 amostras e idade média de 45,3 anos ($\pm 15,3$), sendo do sexo feminino 68/115 (59%) e sexo masculino: 47/115 (41%). As médias e os desvios padrões dos resultados dos parâmetros do perfil lipídico, foram calculados, sendo colesterol total: 179,8 mg/dL ($\pm 39,3$); TG = 96 mg/dL ($\pm 27,4$); HDL 52,1 mg/dL ($\pm 17,4$); LDL calculado: 107,9 mg/dL ($\pm 33,8$) e LDL dosado: 93,8 mg/dL ($\pm 46,2$). O Teste T entre os valores de LDL calculado e dosado apresentou o valor $p = 0,000043$, também com diferença estatística significativa. Os dados estão apresentados na tabela 1.

Parâmetros Lipídicos	TG \leq e \geq 150 mg/dL (n=189)	TG \geq 150 mg/dL (n = 74)	TG \leq 150 mg/dL (n = 115)
Colesterol Total	196,4 \pm 58,7 mg/dL	222,1 \pm 73,1 mg/dL	178,9 \pm 39,3 mg/dL
Triglicérides	168,2 \pm 213,8 mg/dL	280,4 \pm 309,1 mg/dL	96 \pm 27,4 mg/dL
HDLc	50,8 \pm 18,5 mg/dL	48,9 \pm 20,1 mg/dL	52,1 \pm 17,4 mg/dL
LDLc calculado*	116,1 \pm 40,1 mg/dL	128,9 \pm 45,7 mg/dL	107,9 \pm 33,8 mg/dL
LDLc dosado*	96,1 \pm 46 mg/dL	99,5 \pm 45,8 mg/dL	93,8 \pm 46,2 mg/dL
Teste t*	p = 0,0000000003	p = 0,000000025	p = 0,000043

TABELA 1. Parâmetros lipídicos (valores de média, desvio padrão Teste de t) dos grupos divididos conforme resultado dos triglicérides, 2022.

Discussão

O aumento de LDL colesterol na corrente sanguínea, favorece o desenvolvimento da aterosclerose. Essa doença é um importante fator de risco cardiovascular e é causada por uma lesão vascular e deposição de LDL colesterol à parede

dos vasos sanguíneos. A oxidação desta lipoproteína promove uma resposta imunológica, que leva a agregação de células de defesa ao endotélio, resultando na formação de placas aterogênicas⁶. A determinação dessa lipoproteína e as demais, são de extrema importância para o diagnóstico

e condutas terapêuticas nos quadros de dislipidemias. Este estudo analisa duas metodologias de obtenção dos níveis de LDL colesterol (direta e fórmula de Martin) e identificou quais delas mostraram resultados mais precisos.

Pelo fato da fórmula de Martin possuir uma variação maior no seu fator x, proporcionando assim calcular a LDL colesterol quando os níveis de triglicérides estiverem acima dos valores de referência ≥ 150 mg/dL, sendo necessário para o cálculo os valores de concentração do colesterol não HDL e do TG¹. Estudos realizados com várias fórmulas para calcular a LDL colesterol, chegaram à conclusão de que a fórmula de Martin é a mais precisa quando os níveis de triglicérides estão muito elevados⁷⁻⁹. Estudo realizado em comparação das equações de Martin e Friedewald, obtiveram 680 amostras de soro e através das concentrações de perfil lipídico calcularam as fórmulas. Assim foi conclusivo que a fórmula de Martin é preciso com amostras que os TG cheguem até 432mg/dL⁹.

No estudo de Cordova, foram analisados 10.664 indivíduos da região sul do Brasil, de um banco de dados que tinham rotina de dosar perfil lipídico frequentemente, assim foi realizada uma comparação das equações de Martin, *Friedewald* e *Cordova* com a dosagem direta do LDLc. Então concluíram que deve ser usada a fórmula de Martin quando TG estiverem entre 300 e 400mg/dL. E a de Cordova quando a medida direta não estiver disponível. E sugerem que todas as equações devem ser validadas em toda população/região brasileira, pois pode haver variações genéticas, metabólicas, epigenéticas que podem influenciar alguns parâmetros laboratoriais⁸.

A Diretriz Brasileiras de Dislipidemias preconiza a utilização dos métodos de cálculo e dosagem direta para a determinação da LDL colesterol. Todavia, a dosagem direta, aponta que existe uma grande variação dos ensaios disponíveis no mercado, podendo chegar até 30%. Este fato se deve às diferentes especificidades de cada ensaio por cada subfração da LDL, fazendo com que a maioria dos laboratórios optem calcular a fração de LDL colesterol por meio das dosagens de colesterol total, HDL colesterol e triglicérides, sendo a fórmula de Martin o mais recente para este cálculo, apresentando um divisor mais variável em sua fórmula e assim conseguindo dosar amostras com triglicérides elevados¹.

A dosagem direta é um método surfactante-seletivo colorimétrico, cuja primeira fase da reação consiste na solubilização das lipoproteínas (HDL, VLDL). E a segunda fase é caracterizada pela solubilização do LDL colesterol. A reação formadora de cor permite quantificar esta lipoproteína de baixa densidade¹⁰. Este estudo mostrou que a dosagem direta é mais eficaz para obtenção do LDL colesterol do que aos cálculos recomendados. A fórmula de Martin pode sofrer interferência relacionada

as dosagens de triglicérides, colesterol total e HDL colesterol, sendo que estes dois últimos permitem calcular o não-HDL-colesterol, fundamental, junto com o triglicérides, na definição do fator x.

No colesterol total, pode ocorrer resultados falsamente diminuídos, quando os valores de bilirrubinas estão entre 5 e 38 mg/dL. Para os triglicérides, resultados maiores de 10mg/dL de bilirrubinas já obtém resultados falsamente diminuídos e em amostras fortemente lipêmicas o resultado pode ser diminuído por causa do consumo de oxigênio, sendo necessário a diluição 1:10 antes de realizar o teste. Já na HDL colesterol, podem ocorrer resultados falsamente negativos quando a bilirrubina da amostra estiver acima de 5mg/dL, e resultado falsamente elevado, quando triglicérides for acima de 750mg/dL¹⁰.

Conclusão

Assim, foi possível observar que o método direto pode ser mais eficiente para calcular o LDL colesterol do que a fórmula de Martin, pois o cálculo pode sofrer interferências das dosagens de triglicérides, colesterol total e HDL colesterol. No entanto, seria necessária a avaliação de um maior número de amostras para tornar mais robusta tal afirmação, uma vez que as metodologias de dosagem direta também possuem variabilidade analítica.

Referências

1. Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Neto AA, et al. Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose - 2017. *Arq Bras Cardiol.* 2017;109(2):1-72.
2. Gondim TM, Moraes LEP, Fehlberg I, Brito VS. Pathophysiological aspects of atherogenic dyslipidemia and impact on homeostasis. *Rev Bras Análises Clínicas.* 2017;49(2):120-6.
3. Guyton A, Hall J. Guyton & Hall - Tratado de Fisiologia Médica. 2011. p. 1150.
4. Alves CAD, Cargnin KRN, Paula LCP, Garcia LS, Collet-Solberg PF, Liberatore Jr RDR, et al. Novas orientações sobre o jejum para determinação laboratorial do perfil lipídico. *Soc Bras Pediatr.* 2017;(2):1-7.
5. Rizos CV, Florentin M, Skoumas I, Tziomalos K, Rallidis L, Kotsis V, et al. Achieving low-density lipoprotein cholesterol targets as assessed by different methods in patients with familial hypercholesterolemia: An analysis from the HELLAS-FH registry. *Lipids Health Dis.* 2020;19(1):1-13.
6. Précoma DB, Oliveira GMM, Simão AF, Dutra OP, Coelho

OR, Izar MCO, et al. Atualização da Diretriz de Prevenção Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia – 2019. *Arq Bras Cardiol.* 2019;113(4):787–891.

7. Oliveira AR, Dias AC, Barbosa AL, Jácomo RH, Silva LA, Oliveira JFF, et al. Comparação entre as concentrações de colesterol ou LDL obtidas por método direto e estimada pelas equações de Martin e Friedewald: hipertrigliceridemia limita acurácia de Martin. XXXVIII Congr Soc Cardiol do Estado São Paulo. 2017; Available from: <http://www.socesp2017.com.br/trabalho/resumo/2391>. Acesso em 18 de outubro de 2010.
8. Cordova CMM, Portal AS. Fórmulas de Martin, Friedewald e Cordova comparadas com a dosagem direta do LDL-C no sul do Brasil. *J Bras Patol e Med Lab.* 2020;56(1):1–6.
9. Zafrir B, Saliba W, Flugelman M. Comparison of Novel Equations for Estimating Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients Undergoing Coronary Angiography. *J Atheroscler Thromb.* 2020;27:1–15.
10. 10. Instruções de uso LDL Liquiform Labtest. Disponível em https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/09/Ref_111_RevJulho2011_Ref280113_Port.pdf, Acesso em 17.10.2020.