

## S-LDL-kolesterolberäkning – osäkerhet och felkällor

II Först var det kolesterol, sedan kom det »goda« och det »onda« kolesterolet, HDL- respektive LDL-kolesterol. Så blev triglycerider (TG) heta diagnostika, och nu fokuserar litteraturen på apolipoprotein A-I och B. Det är viktigt att känna till vilka metodologiska och biologiska fallor som lurar vid dessa undersökningar. Fel förekommer kanske inte, det känns bättre att tala om osäkerhet i resultaten och osäkerhetskällor.

Låt oss kort rekapitulera vilka mätmetoder som används för de olika komponenterna.

### Metoder för kolesterolmätning

Ursprungligen baserades den rutinmässiga metoden att mäta kolesterol på en färgreaktion med ganska otäcka reagens, som koncentrerad svavelsyra och ättiksyraanhydrid. Numera används enzymreaktioner som tillsammans med en ökad automation minskat osäkerheten till mindre än 3 procent på landsnivå. Detta överensstämmer med målen som formulerats av US NCEP, National Cholesterol Education Program.

Prestanda för mätning av TG har också förbättrats men inte i samma grad.

Mätning av HDL-kolesterol – det goda kolesterolet – kan göras med en fällningsteknik, och sedan några år används en direkt immunkemisk metod med högre prestanda än fällningsmetoderna. Även apolipoproteinerna mäts med immunkemisk teknik.

Mätning av LDL-kolesterol tilldrar sig speciellt intresse, eftersom de flesta laboratorier räknar ut LDL-kolesterolkoncentrationen från uppgifter om koncentrationen av kolesterol, triglycerider och HDL-kolesterol med hjälp av Friedewalds formel. Det finns en direkt metod, men den är ännu inte helt accepterad [1].

### Preanalytiska osäkerhetskällor

De preanalytiska osäkerhetskällorna, dvs hur patienten förbereds, hur provet tas, hur det transporteras och hur det förvaras, kan vara större än de analytiska. Det är allmänt känt att triglycerider kräver att patienten varit fastande, vanligen minst åtta timmar, medan övriga komponenter inte påverkas i samma utsträckning eller inte alls. Mindre känt är att samtliga dessa markörer påverkas av kroppsställningen. Bakgrunden är ett fysikalisk-kemiskt fenomen; vid stående ställning kommer vätska att passera ut ur kärlbädden, varvid små molekyler följer med medan stora, t ex proteiner och lågmolekylära ämnen som är bundna till proteiner, kon-

### Sammanfattat



Litteraturkritik mot användning av Friedewalds formel för beräkning av LDL-kolesterol refereras och ställs mot ökad mätning och förståelse av apolipoproteiner A-I och B.

En osäkerhetsuppskattning av beräkningar av LDL-kolesterol visar vilka »tillfälliga« osäkerhetskällor som har betydelse.

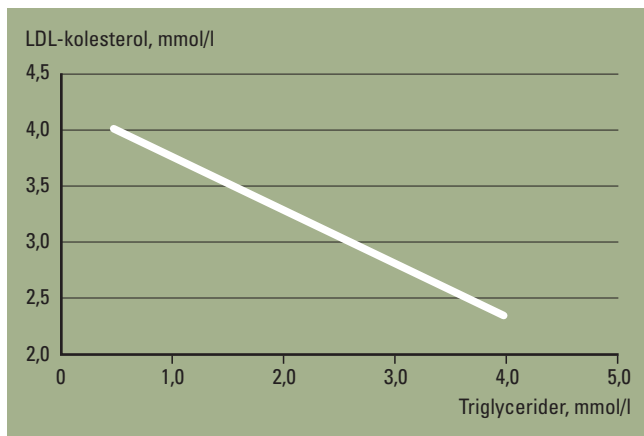
Av större betydelse är den systematiska underskattning av LDL-kolesterol som Friedewalds formel ger i målintervallet för statinterapi.

Se även artiklar på sidorna 1188 och 1196 i detta nummer.

centreras. Till den senare gruppen hör samtliga lipidmarkörer, vilka kan öka så mycket som 10 procent innan en jämvikt inträtt. Man räknar med att jämvikt inträtt efter ca 15 minuters sittande. Osäkerhetstillskottet från de preanalytiska momenten kan således flerfaldigt överstiga den analytiska osäkerheten och yttrar sig i att referensintervall och beslutsgränser förskjuts.

### Kritik mot Friedewalds formel

HDL- och LDL-kolesterol bestämdes ursprungligen efter fraktionering genom långvarig (ca 24 timmar) ultracentrifugering. Friedewald, Levy och Fredrickson anvisade 1972 [2] den algoritmen som gjort LDL-kolesterol möjligt att använda i kliniskt bruk. Algoritmen bygger på att LDL-kolesterol är skillnaden mellan kolesterol och summan av VLDL-kolesterol (very low density lipoprotein) och HDL-kolesterol. Friedewald visade att VLDL-kolesterol vanligen kan beräknas som en fraktion av TG. Om TG uttrycks i mmol/l, vilket vi gör i Sverige, blir faktorn 0,45 (eller 1/2,2). Överensstämmelsen är någorlunda god vid TG-koncentrationer under 4,5 mmol/l (400 mg/dl). Redan i originalartikeln finns en hel del ytterligare begränsningar angivna, och nyligen skrev



**Figur 1.** Sambandet mellan beräknad LDL-kolesterol och triglycerider om kolesterol och HDL är konstanta.

**Tabell I.** Överensstämmelse mellan beräknad LDL-kolesterolkoncentration och referensmetod.

TG-koncentration, mmol/l	Överensstämmelse, procent (±10 procent)
<2,3	85
2,3–3,4	77
3,4–4,5	60

**Tabell II.** Jämförelse mellan LDL-kolesterolkoncentrationen enligt Friedewald och referensmetod.

LDL-kolesterol, mmol/l	Enligt Friedewald	Med β-kvantifiering	Relativt skifte, procent
1,58	1,58	1,88	-18,6
2,4	2,4	2,67	-11,1
3,49	3,49	3,68	-5,5
4,67	4,67	4,84	-3,6

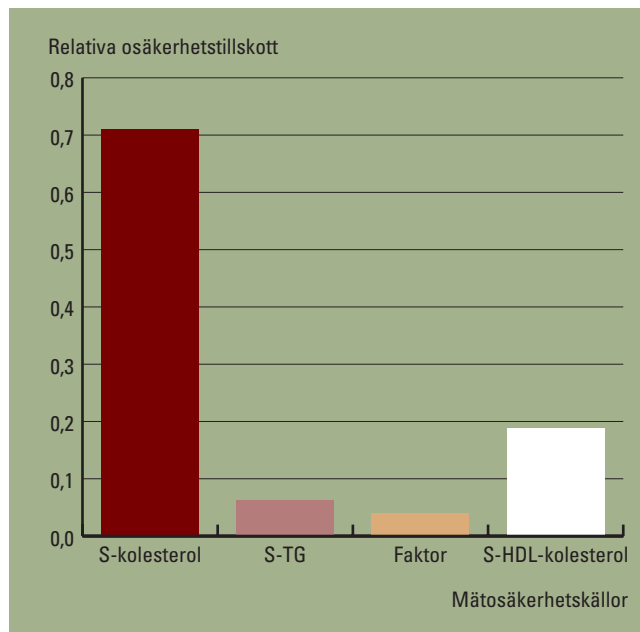
Sniderman och medarbetare [3] en miniöversikt som redovisar felkällor i LDL-kolesterolmätningar.

Några av de problem som inte är så väl kända kan nämnas: Inte oväntat är 4,5 mmol/l inte någon absolut gräns under vilken formeln stämmer. I stället får man en gradvis sämre överensstämmelse med LDL-kolesterol mätt med referensmetoden när TG-värdet ökar. I en följdartikel till Framinghamstudien [4], där man beräknat LDL-kolesterol och jämfört det med resultaten från en referensmetod β-kvantifiering som innefattar ultracentrifugering, fann man att överensstämmelsen var beroende av TG-koncentrationen (Tabell I). Detta skulle innebära oacceptabla avvikelser i mellan 25 och 40 procent av alla LDL-värden som rapporteras vid vanliga, om än något förhöjda, koncentrationer av TG.

Friedewalds formel går således inte särskilt bra att använda ens vid TG-koncentrationer under 4,5 mmol/l. Vid behandling av hyperlipidemi är målet bl a att sänka LDL-kolesterolkoncentrationen till 2,6 mmol/l eller lägre. Återigen vid en jämförelse med β-kvantifiering [5] visar det sig att Friedewalds formel ger systematiskt felaktiga resultat, i detta intervall en underskattning (Tabell II), som i det rekommenderade intervallet uppgår till mellan 10 och 20 procent.

Ett vanligt fynd vid fibratbehandling är att kolesterol- och HDL-kolesterolkoncentrationerna är oförändrade [6] medan TG sjunker. För att ekvationen skall gå ihop innebär detta att den beräknade LDL-koncentrationen ökar, dvs är omvänt proportionell mot TG-koncentrationen (Figur 1).

Ofta framhålls att osäkerheten i framför allt TG slår ige-



**Figur 2.** Den relativa betydelsen av osäkerhet i underliggande mätningar vid beräkning av S-LDL-kolesterol enligt Friedewald.

nom vid beräkning av LDL-kolesterol. För att bedöma detta behöver vi känna till osäkerheten i de ingående variablerna i Friedewalds formel:

$$LDL = Kolesterol - \left( \frac{TG}{2,2} + HDL \right)$$

Osäkerheterna adderas inte linjärt, och vi tar en etablerad räknemall till hjälp [7, 8]. För beräkning av de relativa osäkerhetsbidragen som redovisas i Figur 2 har vi antagit att mätosäkerheterna i kolesterol, TG och HDL-kolesterol är 2,9, 6,0 respektive 5,5 procent, vilket är den totala spridningen över landet [Equalis G Nordin, pers medd, 2004] vid koncentrationerna 5,7, 1,8 och 1,5 mmol/l. Osäkerheten kan vara mindre för det enskilda laboratoriet eller sjukvårdsområdet. I brist på underlag antar vi att Friedewalds faktor är behäftad med en 5-procentig osäkerhet. Den huvudsakliga osäkerhetskällan är ingalunda TG-koncentrationen utan kolesterol- och HDL-kolesterolkoncentrationerna trots att TG-mätningar har den högsta individuella osäkerheten. Detta beror på deras absolutvärden; men även om vi dubblar TG-koncentrationen ökar TGs osäkerhetsbidrag med blott omkring 2 procentenheter. Den beräknade LDL-kolesterolkoncentrationen, med hänsyn till kända osäkerheter i mätningarna blir  $3,3 \pm 0,2$  mmol/l, vilket motsvarar ett 95 procents konfidensintervall av 2,9 till 3,7 mmol/l (±12 procent). Till detta kommer den osäkerhet som härrör från preanalytiska faktorer. Dessa låter sig inte behandlas statistiskt, utan måste motverkas genom utbildning och undervisning.

### Dags att införa apolipoproteinmätningar?

Från mätteknisk synpunkt vore direktmätning av LDL-kolesterol att föredra, men det saknas standardiserade metoder, och man kan resa patofysiologiska invändningar [1]. Allt fler rapporter kommer nu om fördelarna med att basera diagnostik och behandling av lipidrubbingar på mätningar av apolipoproteiner. Mätningarna är väl standardiserade genom kalibratorer och reagens. De kan utföras med hög precision [9] och utgör av allt att döma bättre prediktorer än kolesterol, HDL- och LDL-kolesterol [10–12]. Ny teknik gör mätning av apolipoproteiner ekonomiskt fördelaktigt.

Läkemedelsverket har kommit till kolesterol–TG–LDL-stadiet men medger att »apolipoproteinerna kan för den specialtresserade tillföra ytterligare information ...« [13]. Dags för en uppdatering?

\*

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

## Referenser

1. Nauck M, Warnick GR, Rifai N. Methods for measurement of LDL-cholesterol: A critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clin Chem* 2002;48:236-54.
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;18:499-502.
3. Sniderman AD, Blank D, Zakarian R, Bergeron J, Frohlich J. Triglycerides and small dense LDL: the twin Achilles heels of the Friedewald formula. *Clin Biochem* 2003;36:499-504.
4. McNamara JR, Cohn JS, Wilson PW, Schaefer EJ. Calculated values for low-density lipoprotein cholesterol in the assessment of lipid abnormalities and coronary disease risk. *Clin Chem* 1990;36:36-42.
5. Scharnagl H, Nauck M, Wieland H, März W. The Friedewald formula underestimates LDL cholesterol at low concentrations. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:426-31.
6. Lane DM. Calculated low-density lipoprotein cholesterol level: time for a change. *Am J Cardiol* 1997;80:823.
7. Kragten J. Calculating standard deviations and confidence intervals with a universally applicable spreadsheet technique. *Analyst* 1994;119:2161-6.
8. Kallner A. Quality specifications based on the uncertainty of measurement. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:513-6.
9. Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy H, Mei JV, Henderson LO, Hannon WH. International Federation of Clinical Chemistry standardization project for measurements of apolipoproteins A-1 and B. Part IV. Comparability of apolipoprotein B values by use of international reference material. *Clin Chem* 1994;40:586-92.
10. Walldius G, Jungner I. Apolipoproteiner nya och bättre riskindikatorer för hjärtinfarkt. *Läkartidningen* 2004;101: 1188-94
11. Sniderman AD, Furberg CD, Keech A, Roeters van Lennep JE, Frohlich J, Jungner I, et al. Apolipoproteins versus lipids as indices of coronary risk and as targets for statin treatment. *Lancet* 2003;361:777-80.
12. Walldius G, Jungner I. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: Risk indicators of CHD and targets for lipid-modifying therapy. *J Intern Med* 2004;255:1-18.
13. Behandlingsrekommendation. Behandling med lipidsänkande läkemedel vid prevention av hjärt-kärlsjukdomar. Information från Läkemedelsverket 2003;(4):9-28.



= artikeln är referentgranskad

## SUMMARY

LDL cholesterol concentrations are still routinely estimated from results of cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol measurements. Deficiencies in this approach are discussed and sources of uncertainty in the estimation highlighted. It is concluded that random variation in the estimated LDL is less than the systematic deviation in the target concentration interval for statin treatment and that an increased use of apolipoprotein measurements would enhance diagnosis and treatment of hyperlipemia.

**Anders Kallner**

*Läkartidningen* 2004;101:1199-1201

Correspondence: Anders Kallner, Dept of Clinical Chemistry, Karolinska Universitetssjukhuset, SE-171 76 Stockholm, Sweden