

Usporedba vrijednosti LDL kolesterola procijenjenih Friedewaldovom, Martin/Hopkinsovom i Sampsonovom jednadžbom

Trifunović, Jasenka

Postgraduate specialist thesis / Završni specijalistički

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:731496>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom](#).

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-31**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Jasenka Trifunović

USPOREDBA VRIJEDNOSTI LDL KOLESTEROLA PROCIJENJENIH
FRIEDEWALDOVOM, MARTIN/HOPKINSOVOM I SAMPSONOVOM
JEDNADŽBOM

Specijalistički rad

Zagreb, 2024.

Poslijediplomski specijalistički studij: Medicinska biokemija i laboratorijska
medicina

Mentor rada: nasl. doc. dr. sc. Ivana Lapić, specijalist medicinske biokemije i
laboratorijske medicine

Specijalistički rad obranjen je dana 18. rujna 2024. godine na Farmaceutsko-
biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. József Petrik

2. nasl.doc. dr. sc. Ivana Lapić

3. prof. dr. sc. Roberta Petlevski

Rad ima 49 listova.

Predgovor

Rad je izrađen u Odjelu laboratorijske dijagnostike Specijalne bolnice za medicinsku rehabilitaciju Varaždinske Toplice.

Zahvaljujem svojoj mentorici nasl. doc. dr. sc. Ivani Lapić, spec. med. biokem. i lab. med. na zalaganju i nesebičnoj pomoći i podršci prilikom izrade ovog specijalističkog rada.

Zahvaljujem se i cijelom kolektivu Odjela laboratorijske dijagnostike na odgovornom i pozitivnom pristupu prema poslu. Uz vas niti jedan problem nije veliki.

Hvala mojoj obitelji na strpljenju, ljubavi i podršci u svakom trenutku.

Za Alinu. Moja ljubav, moja sreća.

Sažetak

Korištenje Friedewaldove jednadžbe za procjenu vrijednosti LDL kolesterola (LDL-K) ne zahtjeva dodatni financijski trošak zbog čega se u laboratorijima diljem svijeta, pa tako i u Republici Hrvatskoj, ona koristi više nego direktne metode za određivanje vrijednosti LDL-K. Zbog svojih ograničenja, a i sukladno preporukama Europskog društva za kardiologiju (ESC) iz 2021. godine potrebno ju je zamijeniti Martin/Hopkinsovom ili Sampsonovom jednadžbom. Obzirom na razlike u procjeni LDL-K korištenjem različitih jednadžbi i sukladno dobroj laboratorijskoj praksi potrebno je provesti usporedbu metoda, što do sada još nije provedeno u Hrvatskoj.

Cilj istraživanja:

Ovim istraživanjem provesti će se usporedba vrijednosti LDL-K procijenjenih Friedewaldovom, Martin/Hopkinsovom i Sampsonovom jednadžbom. Prema dobivenim vrijednostima LDL-K utvrditi će se stupanj slaganja klasifikacije bolesnika u skupine kardiovaskularnog rizika.

Ispitanici i metode:

Provedeno je retrospektivno istraživanje u Odjelu laboratorijske dijagnostike Specijalne bolnice za medicinsku rehabilitaciju Varaždinske Toplice. Za potrebe ovog istraživanja koristili su se isključivo rezultati ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL-K i LDL-K koji su zatraženi i dobiveni tijekom rutinske laboratorijske obrade bolesnika u razdoblju od 01.01.2021. do 30.11.2023. i koji su dostupni u laboratorijskom informacijskom sustavu (LIS). Ispitanici kojima je koncentracija triglicerida veća od 4,5 mmol/L isključeni su iz daljnjeg istraživanja (N=21). U ispitivanje je uključeno 655 ispitanika oba spola (291 muškaraca i 364 žena). Vrijednost LDL-K se procijenila

korištenjem Friedewaldove, Martin/Hopkinsove i Sampsonove jednadžbe.

Rezultati:

Usporedbom vrijednosti LDL-K određenog sa sve tri jednadžbe korištenjem Bland-Altman metode i Passing-Bablok regresijske analize na sljedeći način: u cijelom rasponu vrijednosti LDL-K, te unutar skupina podijeljenih prema terapijskim ciljnim vrijednostima LDL-K (LDL-F) ($\leq 1,3$ mmol/L, 1,4 - 1,7 mmol/L, 1,8 - 2,5 mmol/L, 2,6 - 2,9 mmol/L, ≥ 3 mmol/L) definirane preporukama ECA/ESC utvrđena su statistički značajna odstupanja pri čemu Friedewaldova jednadžba mjeri niže vrijednosti od Martin/Hopkinsove i Sampsonove jednadžbe. Stupanj slaganja klasifikacije ispitanika u pojedine skupine ovisno o vrijednosti LDL-K procijenjenog Friedewaldovom i Martin/Hopkinsovom jednadžbom iznosi 0,94 (95%CI 0,92 – 0,95), odnosno 0,96 (95%CI 0,94 -0,97) kada se ispitanici klasificiraju ovisno o vrijednosti LDL-K procijenjenog Friedewaldovom i Sampsonovom jednadžbom.

Zaključak:

Ovim ispitivanjem utvrđeno je da su prisutna statistički značajna odstupanja između vrijednosti LDL-K procijenjenih s tri različite jednadžbe pri čemu Friedewaldova jednadžba mjeri niže vrijednosti od Martin/Hopkinsove i Sampsonove jednadžbe. Srednja vrijednost razlike raste s snižavanjem vrijednosti LDL-K i najveća odstupanja su prisutna upravo kod vrijednosti LDL-K koje su važni terapijski ciljevi kod osoba s velikim i vrlo velikim kardiovaskularnim rizikom. Procjena vrijednosti LDL-K Friedewaldovom jednadžbom u tih osoba može dovesti do pogrešnog terapijskog pristupa i posljedično do lošijeg kardiovaskularnog ishoda te ju je uputno zamijeniti Martin/Hopkinsovom ili Sampsonovom jednadžbom.

Summary

The estimation of LDL cholesterol (LDL-C) using the Friedewald equation does not require additional financial costs, therefore laboratories around the world, including those in the Republic of Croatia, use it more than direct methods for determining the value of LDL-C. Due to its limitations, and in accordance with the recommendations of the European Society of Cardiology (ESC) from 2021, it should be replaced by the Martin/Hopkins or Sampson equation. Considering the differences in the estimation of LDL-C using different equations and in accordance with good laboratory practice, it is necessary to perform method comparison, which has not yet been done in Croatia.

Objectives:

This research will compare LDL-C values estimated by the Friedewald, Martin/Hopkins and Sampson equations. According to the obtained LDL-C values, the degree of agreement in the classification of patients into cardiovascular risk groups will be determined.

Patients and Methods:

A retrospective study was conducted in the Department of Laboratory Diagnostics of the Special Hospital for Medical Rehabilitation Varaždinske Toplice. For the purposes of this study, only the results of total cholesterol, triglycerides, HDL-C and LDL-C were used, which were requested and obtained during the routine laboratory analysis in the period from 01/01/2021 until 30/11/2023 and which were available within the laboratory information system (LIS). Subjects whose triglyceride concentration was higher than 4.5 mmol/L were excluded from further research (N=21). A total of 655 subjects (291 men and 364 women) were included in the

study. The concentration of LDL-C was estimated using the Friedewald, Martin/Hopkins and Sampson equations.

Results:

By comparing the value of LDL-C estimated by all three equations using the Bland-Altman method and Passing-Bablok regression analysis as follows: in the entire range of LDL-C values, and within groups divided according to the therapeutic target values of LDL-C (LDL-F) (≤ 1.3 mmol/L, 1.4 – 1.7 mmol/L, 1.8 – 2.5 mmol/L, 2.6 – 2.9 mmol/L, ≥ 3 mmol/L) defined by ECA/ESC recommendations statistically significant differences were found, whereby the Friedewald equation measures lower values than the Martin/Hopkins and Sampson equations. The degree of agreement in the classification of subjects into individual groups depending on the value of LDL-C estimated by Friedewald and Martin/Hopkins equation was 0.94 (95%CI 0.92 – 0.95) and 0.96 (95%CI 0.94 -0.97) when subjects are classified depending on the value of LDL-C estimated by the Friedewald and Sampson equation.

Conclusion:

This study determined that there were statistically significant differences between LDL-C values estimated with three different equations, with the Friedewald equation measuring lower values than the Martin/Hopkins and Sampson equations. The mean value of the difference increases with lowering of LDL-C values, and the largest deviations are present for LDL-C values, which are important therapeutic goals in people with high and very high cardiovascular risk. The assessment of LDL-C values by the Friedewald equation in these individuals may lead to a wrong therapeutic approach and consequently to a worse cardiovascular outcome thus this equation should be replaced by the Martin/Hopkins or Sampson equation.

Sadržaj

1. Uvod i pregled područja istraživanja	1
1.1. Kardiovaskularne bolesti	1
1.2. Lipidi i lipoproteini	2
1.3. Uloga lipida u aterogenezi	3
1.4. Smjernice za liječenje dislipidemija	4
1.5. Lipidni profil	6
1.6. Određivanje vrijednosti LDL kolesterola	6
1.7. Primjena novih jednadžbi u svakodnevnom radu	11
2. Cilj istraživanja	13
3. Ispitanici i metode	14
3.1. Ustroj istraživanja	14
3.2. Ispitanici	14
3.3. Metode	14
3.3.1. Načelo mjerenja ukupnog kolesterola	15

3.3.2.	Načelo mjerenja triglicerida	15
3.3.3.	Načelo mjerenja HDL kolesterola	15
3.3.4.	Procjena vrijednosti LDL kolesterola	16
3.4.	Etički aspekt ispitivanja	16
3.5.	Statistička obrada podataka	17
4.	Rezultati	18
5.	Rasprava	29
6.	Zaključci	32
7.	Literatura	33
8.	Popis skraćenica	36
9.	Životopis	38

1. Uvod i pregled područja istraživanja

1.1. Kardiovaskularne bolesti

Kardiovaskularne bolesti (KVB) su bolesti srca i krvožilnog sustava. Vodeći su uzrok smrtnosti i obolijevanja u svijetu, stoga predstavljaju veliki javnozdravstveni problem. Prema podacima Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo (HZJZ) u Hrvatskoj su 2019. godine KVB bile vodeći uzrok smrti s udjelom od 42,5 % u ukupnom mortalitetu. Kod muškaraca je udio KVB u ukupnom mortalitetu bio 37 %, a kod žena 48 %. Najčešća dijagnoza u mortalitetu od KVB za sve dobi u muškaraca i žena je kronična ishemična bolest srca, dok se među prve četiri dijagnoze kod oba spola nalaze još i akutni infarkt miokarda, inzult nespecificiran, te hipertenzivna bolest srca (1).

Čimbenici rizika za KVB mogu se podijeliti na:

- čimbenike na koje se ne može utjecati:
 - dob i spol (muškarci iznad 45 godina, žene iznad 55 godina ili žene u prijevremenoj menopauzi bez nadomjesne terapije estrogenom)
 - pozitivna obiteljska anamneza (prijevremena smrt uslijed koronarne bolesti srca, infarkta miokarda ili iznenadne smrti u dobi prije 55-te godine bliskih muških srodnika ili 65-te godine ženskih članova obitelji)
- čimbenike na koje se može utjecati:
 - hipertenzija
 - hiperlipidemije
 - pušenje
 - pretilost
 - nepravilna prehrana
 - tjelesna neaktivnost
 - dijabetes.

Velik udio (80 %) prijevremenih smrti i onesposobljenja koji nastanu kao posljedica KVB mogu se spriječiti učinkovitom primarnom i sekundarnom prevencijom čimbenika na koje se može utjecati. Svjetska zdravstvena organizacija (eng. *World Health Organisation*, WHO) također ističe implementaciju mjera probira u rizičnih skupina te pružanje učinkovite i pristupačne terapije kako bi se postigao nadzor nad epidemijom kardiovaskularnih bolesti.

1.2. Lipidi i lipoproteini

Lipoproteini su hidrofилne sferične čestice koje nastaju povezivanjem nepolarnih lipida (triglicerida i kolesterol-estera) s polarnim lipidima (kolesterol i fosfolipidi) i specifičnim proteinima (apoproteini) i predstavljaju pogodan transportni oblik lipida u krvi i limfi. Apoproteini daju strukturni integritet lipoproteinskim česticama i određuju njihove metaboličke interakcije s receptorima na staničnoj površini, hidrolitičkim enzimima, te transportnim proteinima. Glavne čestice lipoproteina u serumu jesu: hilomikroni, lipoproteini vrlo niske gustoće (engl. *very low density lipoproteins*, VLDL), lipoproteini srednje gustoće (engl. *intermediate density lipoproteins*, IDL), lipoproteini niske gustoće (engl. *low density lipoproteins*, LDL), lipoproteini visoke gustoće (engl. *high density lipoproteins*, HDL) i lipoprotein a (Lp(a)). Značajke lipoproteina u serumu prikazane su u Tablici 1.

Tablica 1. Značajke lipoproteina u serumu (preuzeto i prilagođeno prema Mach i sur. (2))

	Hilomikroni	VLDL	IDL	LDL	HDL	Lp(a)
Gustoća (g/mL)	<0,95	0,95–1,006	1,006–1,019	1,019–1,063	1,063–1,210	1,006–1,125
Elektroforetička pokretljivost	start	pre-β	između pre-β i β	β	α	pre-β
Molekularna masa x10 ⁶ Da	400 - 30000	5 - 10	3,9 – 4,8	2,75	0,18 – 0,36	2,9 – 3,7
Promjer (nm)	80 - 100	30 - 80	25 - 30	20 - 25	8 - 13	25 - 30
Udio lipida i proteina	99:1	90:10	85:15	80:20	50:50	75:26 – 64:36
Glavni lipidi	egzogeni trigliceridi	endogeni trigliceridi	endogeni trigliceridi i kolesterol-esteri	kolesterol-esteri	fosfolipidi	kolesterol-esteri, fosfolipidi
Glavni apoproteini	ApoB-48, ApoA-I, ApoA-II, ApoA-IV, ApoA-V	ApoB-100, ApoA-I, ApoC-II, ApoC-III, ApoE, ApoA-V	ApoB-100, ApoC-II, ApoC-III, ApoE	ApoB-100	ApoA-I, ApoA-II, ApoE	Apo(a), ApoB-100

VLDL - lipoproteini vrlo niske gustoće (engl. *very low density lipoproteins*), IDL - lipoproteini srednje gustoće (engl. *intermediate density lipoproteins*), LDL - lipoproteini niske gustoće (engl. *low density lipoproteins*), HDL - lipoproteini visoke gustoće (engl. *high density lipoproteins*) i Lp(a) - lipoprotein a

1.3. Uloga lipida u aterogenzi

Svi lipoproteini koji sadrže ApoB-100 i promjera su manjeg od 70 nm mogu prijeći endotelnu barijeru, posebno u prisutnosti endotelne disfunkcije, gdje ostaju zarobljeni nakon interakcije s izvanstaničnim strukturama kao što su proteoglikani (3). LDL su glavni prenosioci kolesterola u cirkulaciji i kao takvi najviše su povezani s nastankom ateroskleroze. Ova lipoproteinska vrsta nije homogena, unutar nje se nalaze čestice

različite veličine i fizikalno-kemijskog sastava. Najveće i najlakše čestice (gustoće 1,019 - 1,023 g/mL) su bogate lipidima, dok najmanje i najgušće čestice (gustoće 1,045 - 1,063 g/mL) sadrže manju količinu neesterificiranog kolesterola i fosfolipida, a veći udio proteina. LDL čestice se zadržavaju u intimi krvne žile i kemijski mijenjaju, najčešće oksidiraju. Makrofazi fagocitiraju velike količine oksidiranog kolesterola i time nastaju pjenaste stanice. Sve navedeno se povezuje s inicijacijom i razvojem ateroskleroze. Kontinuirana izloženost lipoproteinima koji sadrže ApoB-100 dovodi do zadržavanja dodatnih čestica tijekom vremena u stijenci arterije te do rasta i napredovanja aterosklerotskih plakova. Naposljetku, povećanje opterećenja aterosklerotskim plakom zajedno s promjenama u sastavu plaka doseže kritičnu točku na kojoj može doći do kidanja plaka, uz stvaranje tromba koji pokriva gornji sloj koji akutno ometa protok krvi što rezultira nestabilnom anginom, infarktom miokarda ili moždanim udarom, a što u konačnici može dovesti i do smrtnog ishoda (4).

1.4. Smjernice za liječenje dislipidemija

Europsko kardiološko društvo (engl. *European Society of Cardiology*, ESC) u suradnji s Europskim društvom za aterosklerozu (engl. *European Atherosclerosis Society*, EAS) 2019. godine objavilo je smjernice za liječenje dislipidemija koje donose važne novosti u prevenciji i liječenju neželjenih kardiovaskularnih događaja (2). Glavna je promjena nastala kao rezultat dvaju velikih kliničkih istraživanja koja su u bolesnika s dokazanom aterosklerotskom kardiovaskularnom bolesti (ASKVB) i akutnim koronarnim sindromom (AKS) čvrsto dokazala korist od još izrazitijeg snižavanja vrijednosti LDL kolesterola (LDL-K) dodatkom inhibitora proprotein konvertaze subtilizin/keksin tipa 9 (PCSK9i) intenzivnoj statinskoj terapiji. Pokazalo se da nema preniske koncentracije LDL-K, odnosno da svako sniženje LDL-K donosi kliničku korist (5, 6). Smjernice dijele osobe prema riziku za nastanak kardiovaskularnih

događaja u one malog, umjerenog, velikog i vrlo velikog rizika. Svaka skupina bi trebala imati, sukladno stupnju rizika, odgovarajuću koncentraciju LDL-K u krvi (Tablica 2).

Tablica 2. Kategorije rizika i preporučene vrijednosti LDL kolesterola prema Smjernicama za liječenje dislipidemija

Kategorija rizika	Preporučena vrijednost LDL kolesterola (mmol/L)
Vrlo veliki rizik	< 1,4
Veliki rizik	< 1,8
Umjereni rizik	< 2,6
Mali rizik	< 3,0

Individualnu pripadnost kategoriji rizika razvoja akutnog kardiovaskularnog događaja procjenjuje liječnik temeljem važećih međunarodnih smjernica. U zdravih osoba ukupni se rizik procjenjuje uz pomoć SCORE2 (eng. *Systematic Coronary Risk Evaluation 2*) bodovnog sustava koje se temelji na podacima o vrijednosti ukupnog, HDL i LDL kolesterola, arterijskom tlaku, pušenju, životnoj dobi i spolu (7). U tim je tablicama apsolutni rizik izražen kao rizik da osoba umre od nekog kardiovaskularnog događaja u slijedećih 10 godina. Osobe sa šećernom bolesti, kroničnom bubrežnom bolesti, obiteljskom hiperkolesterolemijom i utvrđenom ASCVD se odmah svrstavaju u rizičniju kategoriju i u njih se ne primjenjuje procjena rizika prema SCORE2 tablici. Terapijski pristup temelji se na snižavanju LDL-K po principu što niže, to bolje, tj. bez definiranja donje granice LDL-K, te nepostojanja dokaza za pojavu komplikacija zbog „preniskog” LDL-K. Smanjenjem LDL-K za svaki 1 mmol/L procjenjuje se da se relativan rizik od kardiovaskularnih komplikacija smanjuje za oko 20 % (8).

1.5. Lipidni profil

U medicinsko-biokemijskom laboratoriju koncentracija lipoproteina u serumu se ne mjeri izravno, već se umjesto toga procjenjuje mjerenjem njihovog sadržaja kolesterola. Lipidni profil obuhvaća sljedeće pretrage: ukupni kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol i trigliceride.

Koncentracija HDL kolesterola (HDL-K) u krvi obrnuto je proporcionalna riziku od kardiovaskularnih bolesti, a snižene vrijednosti HDL-K neovisan su čimbenik rizika KVB-a. HDL-K djeluje pozitivno na metabolizam lipida te funkciju endotela jer prenosi kolesterol iz tkiva u jetru, posjeduje protuupalna i protuoksidacijska svojstva te protutrombotska i protuapoptotska svojstva. LDL-K od svih lipoproteina pokazuje najsnažniju povezanost s kardiovaskularnim bolestima, a istovremeno povišene koncentracije LDL-K i triglicerida ukazuju na posebno velik rizik. Povećane koncentracije triglicerida djeluju kao pojačivač aterogeneze, mijenjajući fizikalne karakteristike lipoproteinskih čestica putem transportnog proteina za kolesterol estere (engl. *cholesterol ester transfer protein*, CETP), koji omogućuje brz prijenos triglicerida i kolesterol estera između subklasa lipoproteina.

1.6. Određivanje vrijednosti LDL kolesterola

Referentna metoda za određivanje LDL-K jest beta kvantifikacija, koja uključuje ultracentrifugiranje i precipitaciju. Ultracentrifugiranjem točno odmjerenog volumena seruma pri 105000 g tijekom 18 sati na 10°C u gornjem sloju se nakupljaju VLDL i hilomikroni. Primjenjuje se tehnika zarezivanja epruvete i uklanja se gornji sloj. Donji sloj (beta frakcija) sadrži HDL i LDL, te može sadržavati IDL i Lp(a). Referentnom metodom za kolesterol određuje se koncentracija ukupnog kolesterola u beta frakciji nakon čega se dodatkom heparin-sulfata i $MnCl_2$ talože lipoproteinske čestice koje

sadrže Apo-B-100. Talog se odvoji centrifugiranjem, a u supernatantu se određuje kolesterol. LDL-K se računa kao razlika koncentracije kolesterola prije i nakon precipitacije. Navedena metoda je za redovni rutinski rad dugotrajna i zahtjevna za izvođenje, stoga se u većini laboratorija vrijednost LDL-K određuje Friedewaldovom jednadžbom (9) iz 1972. godine koja izračunava vrijednost LDL-K iz koncentracije triglicerida, ukupnog kolesterola i HDL-K.

Friedewaldova jednadžba:

$$\text{LDL-kolesterol (mmol/L)} = \text{ukupni kolesterol} - \text{trigliceridi}/2,2 - \text{HDL-kolesterol}$$

Jednadžba se zasniva na činjenici da je ukupni kolesterol jednak zbroju kolesterola u LDL, HDL i VLDL-u, a odnos kolesterola i triglicerida u VLDL-u oko 1/4 pa je težinski odnos oko 1/5. No to vrijedi samo ako je koncentracija triglicerida manja od 4,52 mmol/L, nisu prisutni hilomikroni i ispitanik mora biti na tašte. S analitičkog stajališta u izračun se uzimaju tri laboratorijske analitičke metode pa je stoga preciznost i točnost Friedewaldove jednadžbe zbroj preciznosti i točnosti svih metoda korištenih u izračunu. Provedena istraživanja utvrdila su da je Friedewaldova jednadžba ograničeno primjenjiva kod koncentracije triglicerida 2 - 4,5 mmol/L i nije precizna kad je koncentracija LDL-K < 1,8 mmol/L (10). Kako bih se uklonila ta ograničenja tijekom godina su se razvijale direktne metode za određivanje LDL-K koje imaju bolju preciznost i točnost u usporedbi s neizravnim procjenama LDL-K. Međutim, direktne metode su skupe, nisu standardizirane, a njihova pouzdanost i specifičnost za LDL-K u prisutnosti abnormalnih lipoproteina još uvijek je upitna.

Nakon što se Friedewaldova jednadžba unatoč svojim ograničenjima počela koristiti u laboratorijima diljem svijeta, mnogi su autori pokušali doći do točnije računske

procjene LDL-K. Unazad 20 godina izvedene su nove jednadžbe s ciljem da zamjene Friedewaldovu (Tablica 3). Slično kao i kod Friedewaldove, većina jednadžbi koristi fiksne koeficijente koji se ne mogu primjeniti u svim uvjetima zbog velikih interindividualnih varijacija omjera triglicerida i kolesterola u VLDL česticama, stoga niti jedna od njih nije uspješno zamjenila Friedewaldovu jednadžbu.

Tablica 3. Popis nekoliko predloženih jednadžbi za procjenu vrijednosti LDL kolesterola

Autor (godina publikacije)	Mjerna jedinica	Formula
Anandaraja i sur. (2005.)	mg/dL	$LDL-K = 0,9 \times KOL - 0,9 \times TG / 5 - 28$
Ahmadi i sur. (2008.)	mmol/L	$LDL-K = KOL / 1,19 - HDL-K / 1,1 + TG / 0,81 - 0,98$
Chen i sur. (2010.)	mg/dL	$LDL-K = 0,9 \times (KOL - HDL-K) - 0,1 \times TG$
Vujović i sur. (2010.)	mmol/L	$LDL-K = KOL - HDL-K - TG / 3$
Martin i sur. (2013.)	mg/dL	$LDL-K = KOL - HDL-K - TG / \text{promjenjivi faktor}$
De Cordova i sur. (2013.)	mmol/L	$LDL-K = 0,752 \times (KOL - HDL-K)$
Rasouli i sur. (2017.)	mg/dL	$LDL-K = 0,75 \times KOL - 0,5 \times HDL-K - 0,1 \times TG$
Sampson i sur. (2020.)	mmol/L	$LDL-K = KOL / 0,948 - HDL-K / 0,971 - TG / 3,74 + (TG \times \text{Ne-HDL-K}) / 24,16 - TG^2 / 79,36 - 0,244$

KOL – ukupni kolesterol, LDL-K – LDL kolesterol, HDL-K – HDL kolesterol, TG - trigliceridi

ESC u svojim preporukama iz 2021. godine posebno se osvrće na ograničenja Friedewaldove jednadžbe i navodi da je kod triglicerida $> 4,5$ mmol/L i/ili LDL-K $< 1,3$

mmol/L potrebno koristiti Martin/Hopkins ili Sampsonovu jednadžbu, ili direktno mjeriti LDL-K (11).

Martin i suradnici (12) su 2013. godine razvili sustav dvodimenzijskih tablica u kojima su navedeni medijani omjera triglicerida i kolesterola u VLDL česticama za sve kombinacije triglicerida i ne-HDL-kolesterola (ne-HDL-K), a koji se koriste za procijenu vrijednosti LDL-K-a Martin/Hopkinsovom jednadžbom (Tablica 4). Postupak mjerenja na temelju kojeg je izvedena Martin/Hopkinsova jednadžba VAP (engl. *Vertical Auto Profile*) koristi kraće vrijeme ultracentrifugiranja od beta kvantifikacije. Kontinuirana enzimska analiza kolesterola provodi se iglom koja aspirira sadržaj epruvete za centrifugu, počevši od dna (najgušći sadržaj) prema vrhu epruvete dok se izvlači konstantnom brzinom. Dobivena mjerenja se digitaliziraju, a krivulja apsorbancije se razdvaja na svoje komponente kako bi se kvantificirao sadržaj kolesterola u svakoj klasi lipoproteina.

Martin/Hopkinsova jednadžba:

$$\text{LDL-kolesterol (mmol/L)} = \text{ukupni kolesterol} - \text{HDL-kolesterol} - \frac{\text{trigliceridi}}{\text{promjenjivi faktor}}$$

Tablica 4. Prikaz medijana omjera triglicerida i kolesterola u VLDL česticama prema odnosu izmjerenih ne-HDL kolesterola i triglicerida. Vrijednosti su prikazane u mg/dL, faktor pretvorbe u SI jedinice (mmol/L): HDL kolesterol pomnožiti s 0,0259; trigliceride pomnožiti s 0,0113 (prilagođeno prema Martin SS i sur. (12))

Trigliceridi (mg/dL)	Ne-HDL kolesterol (mg/dL)					
	<100	100-129	130-159	160-189	190-219	≥220
7-49	3,5	3,4	3,3	3,3	3,2	3,1
50-56	4,0	3,9	3,7	3,6	3,6	3,4
57-61	4,3	4,1	4,0	3,9	3,8	3,6
62-66	4,5	4,3	4,1	4,0	3,9	3,9
67-71	4,7	4,4	4,3	4,2	4,1	3,9
72-75	4,8	4,6	4,4	4,2	4,2	4,1
76-79	4,9	4,6	4,5	4,3	4,3	4,2
80-83	5,0	4,8	4,6	4,4	4,3	4,2
84-87	5,1	4,8	4,6	4,5	4,4	4,3
88-92	5,2	4,9	4,7	4,6	4,4	4,3
93-96	5,3	5,0	4,8	4,7	4,5	4,4
97-100	5,4	5,1	4,8	4,7	4,5	4,4
101-105	5,5	5,2	5,0	4,7	4,6	4,5
106-110	5,6	5,3	5,0	4,8	4,6	4,5
111-115	5,7	5,4	5,1	4,9	4,7	4,5
116-120	5,8	5,5	5,2	5,0	4,8	4,6
121-126	6,0	5,5	5,3	5,0	4,8	4,6
127-132	6,1	5,7	5,3	5,1	4,9	4,7
133-138	6,2	5,8	5,4	5,2	5,0	4,7
139-149	6,3	5,9	5,6	5,3	5,0	4,8
147-154	6,5	6,0	5,7	5,4	5,1	4,8
155-163	6,7	6,2	5,8	5,4	5,2	4,9
164-173	6,8	6,3	5,9	5,5	5,3	5,0
174-185	7,0	6,5	6,0	5,7	5,4	5,1
186-201	7,3	6,7	6,2	5,8	5,5	5,2
202-220	7,6	6,9	6,4	6,0	5,6	5,3
221-247	8,0	7,2	6,6	6,2	5,9	5,4
248-292	8,5	7,6	7,0	6,5	6,1	5,6
293-399	9,5	8,3	7,5	7,0	6,5	5,9
400-13975	11,9	10,0	8,8	8,1	7,5	6,7

Martin/Hopkinsova jednadžba pouzdanija je od svih predloženih izračuna za procijenu vrijednost LDL-K kada je koncentracija triglicerida 2 - 4,5 mmol/L, vrijednost

LDL-K-a < 1,8 mmol/L ili kada ispitanici nisu natašte (13).

Sampsonova jednadžba (14), slično kao i Martin/Hopkinsova, pretpostavlja da omjer triglicerida i kolesterola u VLDL-u nije konstantan nego da postoji nelinearan odnos. Temelji se na nelinearnoj regresijskoj metodi najmanjih kvadrata s vrijednostima lipida (trigliceridi, ukupni kolesterol i HDL-K) kao neovisnim varijablama i vrijednostima LDL-K dobivenima beta kvantifikacijom kao ovisnim varijablama.

Sampsonova jednadžba:

$$\text{LDL-kolesterol (mmol/L)} = \text{ukupni kolesterol}/0,948 - \text{HDL-kolesterol}/0,971 - \text{trigliceridi} /3,74 + (\text{trigliceridi} \times \text{Ne-HDL-kolesterol})/24,16 - \text{trigliceridi}^2/79,36) - 0,244$$

Također pokazuje dobru korelaciju s direktno mjerenim LDL-K-om kada je koncentracija triglicerida > 4,5 mmol/L.

1.7. Primjena novih jednadžbi u svakodnevnom radu

Zbog sve većeg broja ljudi s metaboličkim sindromom i šećernom bolesti u svakodnevnom radu susrećemo se s visokim vrijednostima triglicerida. Također korištenjem novih lijekova u osoba s rizikom za nastanak kardiovaskularnih događaja postižu se sve niže vrijednosti LDL-K. Sve to predstavlja izazov za laboratorijske djelatnike – kako pouzdano, a bez suvišnih troškova odrediti vrijednosti LDL-K. Korištenje Friedewaldove jednadžbe za procjenu vrijednosti LDL-K ne zahtijeva dodatni financijski trošak zbog čega se u laboratorijima diljem svijeta, pa tako i u Republici Hrvatskoj, ona koristi više nego direktne metode za određivanje vrijednosti LDL-K. Zbog svojih ograničenja, a i sukladno preporukama ESC iz 2021. godine potrebno ju je zamijeniti Martin/Hopkinsovom ili Sampsonovom jednadžbom (11).

Obzirom na razlike u procjeni vrijednosti LDL-K korištenjem različitih jednadžbi sukladno dobroj laboratorijskoj praksi potrebno je provesti usporedbu metoda, što do sada još nije provedeno u Hrvatskoj.

Ovim istraživanjem ispitati će se primjena Martin/Hopkinsove i Sampsonove jednadžbe za procjenu vrijednosti LDL-K te mogućnost njihove primjene u rutinskom laboratorijskom radu umjesto do sada korištene Friedewaldove jednadžbe.

2. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je:

1. Usporediti vrijednosti LDL-K izračunatog Friedewaldovom jednadžbom s vrijednostima koje su dobivene Martin/Hopkinsovom i Sampsonovom jednadžbom.
2. Utvrditi mogu li Martin/Hopkinsova i Sampsonova jednadžba zamjeniti Friedewaldovu jednadžbu u rutinskom radu u laboratoriju do vrijednosti triglicerida < 4,5 mmol/L.
3. Utvrditi stupanj slaganja klasifikacije bolesnika u skupine kardiovaskularnog rizika prema vrijednostima LDL-K procijenjenim Friedewaldovom, Martin/Hopkinsovom i Sampsonovom jednadžbom.

Hipoteza: Martin/Hopkinsova i Sampsonova jednadžba mogu zamjeniti Friedewaldovu jednadžbu za određivanje koncentracije LDL-K u rutinskom radu u laboratoriju.

3. Ispitanici i metode

3.1. Ustroj istraživanja

Provedeno je retrospektivno istraživanje u Odjelu laboratorijske dijagnostike Specijalne bolnice za medicinsku rehabilitaciju Varaždinske Toplice.

3.2. Ispitanici

Za potrebe ovog istraživanja koristili su se isključivo rezultati ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL-K i LDL-K koji su zatraženi i dobiveni tijekom rutinske laboratorijske obrade bolesnika (krv uzorkovana od 7 - 9 sati ujutro, ispitanici su morali biti natašte) i koji su dostupni u laboratorijskom informacijskom sustavu (LIS) BIONET LIS (In2, Zagreb, Hrvatska). Nikakvi dodatni demografski i klinički podaci nisu bili potrebni za provedbu ovog istraživanja. Istraživanje se ograničilo na vremensko razdoblje od 01.01.2021. do 30.11.2023.

Korištenjem opcije pretraživanja na temelju zadanih parametara (vremensko razdoblje 01.01.2021. do 30.11.2023., izdani nalazi za pretrage: ukupni kolesterol, trigliceridi, HDL-K i LDL-K) u LIS-u dobiven je ispis svih rezultata za navedene pretrage u definiranom razdoblju. Ispitanici kojima je koncentracija triglicerida bila veća od 4,5 mmol/L bili su isključeni iz daljnjeg istraživanja (N=21). U ispitivanje je uključeno 655 ispitanika oba spola (291 muškaraca i 364 žena). Svi podaci su se pohranili u Microsoft Office Excel tablici (Microsoft, Seattle, USA).

3.3. Metode

Koncentracija ukupnog kolesterola, triglicerida i HDL-K u serumu određena je fotometrijskim metodama na analizatoru Dimension Xpand Plus (Siemens,

Njemačka).

3.3.1. Načelo mjerenja ukupnog kolesterola

Djelovanjem kolesterol esteraze na estere kolesterola hidrolizom nastaju kolesterol i masne kiseline. Tako je sav kolesterol u slobodnom obliku. Kolesterol dalje reagira s kisikom uz katalitičko djelovanje kolesterol oksidaze i nastaje kolest-4-en-3-on i H_2O_2 . Dalje H_2O_2 , djelovanjem peroksidaze, oksidira 4-aminoantipirin i nastaje obojeni kinonimin čija je koncentracija proporcionalna koncentracija kolesterola. Mjeri se povećanje apsorbancije na 540, 452 i 700 nm.

3.3.2. Načelo mjerenja triglicerida

Trigliceridi se hidroliziraju lipazom i nastali glicerol se uz adenzin trifosfat (ATP) djelovanjem glicerolkinaze prevodi u glicerol fosfat koji katalitičkim djelovanjem glicerolfosfatoksidaze daje dihidroksiaceton-fosfat i H_2O_2 . Nastali H_2O_2 reagira s p-klorfenolom i aminoantipirin uz peroksidazu pa nastaje obojeni kinonimin. Mjeri se povećanje apsorbancije na 510 i 700 nm.

3.3.3. Načelo mjerenja HDL kolesterola

Hilomikroni, VLDL i LDL stvaraju s dekstran sulfatom u prisustvu magnezij sulfata u vodi topljive komplekse koji su otporni na djelovanje polietilenglikol modificirane kolesterol esteraze i kolesterol oksidaze. Polietilenglikol modificirana kolesterol esteraza i kolesterol oksidaza reagiraju isključivo s HDL-K i nastaje kolest-4-en-3-on i H_2O_2 . Dalje H_2O_2 , djelovanjem peroksidaze, oksidira 4-aminoantipirin i nastaje obojeni kinonimin čija je koncentracija proporcionalna koncentracija kolesterola. Mjeri se povećanje apsorbancije na 600 i 700 nm.

3.3.4. Procjena vrijednosti LDL kolesterola

Koncentracija LDL-K se automatski izračunava u LIS-u korištenjem Friedewaldove jednadžbe (LDL-F) ($\text{LDL-kolesterol} = \text{ukupni kolesterol} - \text{HDL-K} - \text{trigliceridi}/2,2$). Za određivanje koncentracije LDL-K Martin/Hopkinsovom jednadžbom (LDL-MH) koristio se mrežno dostupan kalkulator na www.lldcalculator.com. Koncentracija LDL-K određena Sampsonovom jednadžbom (LDL-S) se izračunala prema sljedećoj formuli: $\text{LDL kolesterol} = \text{ukupni kolesterol}/0,948 - \text{HDL-K}/0,971 - (\text{trigliceridi}/3,74 + \text{trigliceridi} \cdot \text{ne-HDL-K}/24,16) - \text{trigliceridi}^2/79,36) - 0,244$. $\text{Ne-HDL-K} = \text{ukupni kolesterol} - \text{HDL-K}$.

3.4. Etički aspekt ispitivanja

Istraživanje se provelo u skladu sa svim važećim i primjenjivim smjernicama čiji je cilj osigurati pravilno provođenje postupaka i sigurnost osoba koje sudjeluju u istraživanju te s njima povezanih podataka, uključujući Osnove dobre kliničke prakse, Helsinšku deklaraciju, Zakon o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN 100/18), Zakon o zaštiti prava pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04, 37/08) te Uredbu (EU) 2016/679 Europskog parlamenta i vijeća.

Za potrebe ovog istraživanja koristili su se isključivo rezultati ukupnog kolesterola, triglicerida, HDL-K i LDL-K koji su zatraženi i dobiveni tijekom rutinske laboratorijske obrade bolesnika. Nikakvi dodatni demografski i klinički podaci nisu bili potrebni za provedbu ovog istraživanja. Svi bolesnici i s njima povezani podaci su anonimizirani na način da se omogući provedba planiranih analiza, ali uz nemogućnost identifikacije ispitanika u bilo kojoj fazi istraživanja.

3.5. Statistička obrada podataka

Normalnost se ispitala korištenjem Kolmogorov-Smirnov testa. Podaci s normalnom distribucijom su se opisali korištenjem srednje vrijednosti i standardne devijacije, a podaci s ne-normalnom distribucijom su se opisali korištenjem medijana i interkvartilnog raspona (IQR). Povezanost između vrijednosti LDL-K dobivenog Friedewaldovom, Martin/Hopkinsovom i Sampsonovom jednadžbom ispitana je Spearmanovim koeficijentom korelacije (ρ). Provedena je usporedba vrijednosti LDL-K određenog s sve tri jednadžbe korištenjem Bland-Altman metode i Passing-Bablok regresijske analize na sljedeći način: u cijelom rasponu vrijednosti LDL-K, te unutar skupina podijeljenih prema terapijskim ciljnim vrijednostima LDL-K (LDL-F) ($\leq 1,3$ mmol/L, 1,4 - 1,7 mmol/L, 1,8 - 2,5 mmol/L, 2,6 - 2,9 mmol/L, ≥ 3 mmol/L) definirane preporukama ECA/ESC (2). Statistička analiza provedena je koristeći statistički program MedCalc (MedCalc Software, Ostend, Belgium). $P < 0,05$ smatrao se statistički značajnim.

Ovisno o vrijednosti LDL-K procijenjenog Friedewaldovom, Martin/Hopkinsovom i Sampsonovom jednadžbom ispitanici su se klasificirali u skupine definirane preporukama ECA/ESA (2). Iskazalo se koliko ispitanika se nalazi u pojedinoj skupini u odnosu na ukupni broj ispitanika za svaku formulu, a stupanj slaganja klasifikacije bolesnika u pojedine skupine ispitan je kappa koeficijentom (κ).

4. Rezultati

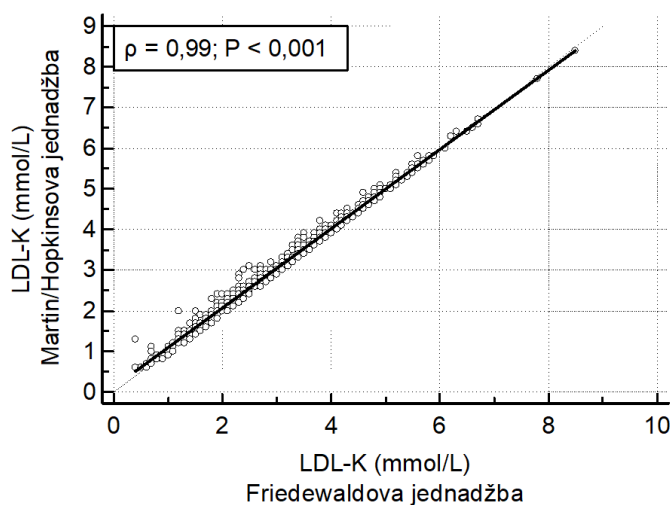
Ispitivanjem normalnosti distribucije podataka utvrđeno je da sve sastavnice lipidnog profila imaju ne-normalnu distribuciju (Tablica 5).

Tablica 5. Vrijednosti medijana i interkvartilnog raspona (IQR) za sve sastavnice lipidnog profila

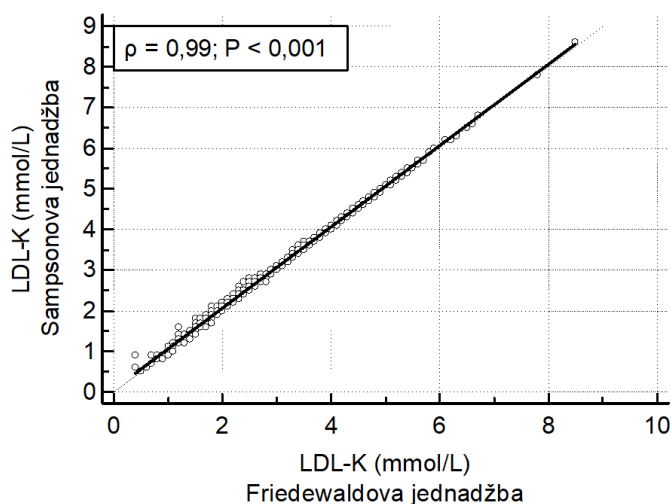
Pretraga	Medijan (mmol/L)	IQR (mmol/L)
Ukupni kolesterol	5	2,78 – 7,91
Trigliceridi	1,2	0,5 -3,3
HDL-kolesterol	1,4	0,8 – 2,4
LDL-kolesterol (Friedewaldova jednadžba)	2,9	0,99 – 5,6
LDL-kolesterol (Martin/Hopkinsova jednadžba)	3	1 – 5,6
LDL-kolesterol (Sampsonova jednadžba)	3	0,9 – 5,6

Jaka pozitivna korelacija je prisutna između vrijednosti LDL-K određenog Friedewaldovom i Martin/Hopkinsovom jednadžbom ($\rho=0,99$; $P<0,001$), te Friedewaldovom i Sampsonovom jednadžbom ($\rho=0,99$; $P<0,001$) (Slika 1).

a. Friedewald vs. Martin/Hopkins jednadžba



b. Friedewald vs. Sampson jednadžba

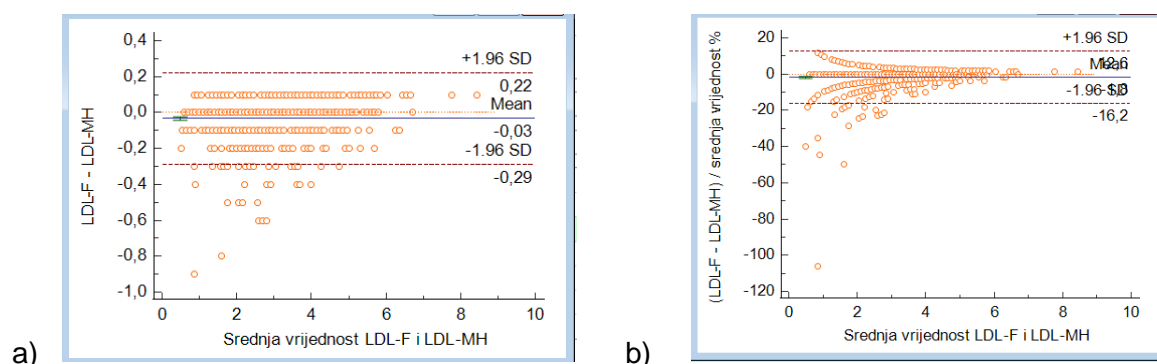


Slika 1. Povezanost između vrijednosti LDL-K određenog s Friedewaldovom jednadžbom u usporedbi s, Martin/Hopkinsovom (a) i Sampsonovom jednadžbom (b) s prikazom koeficijenta korelacije ρ

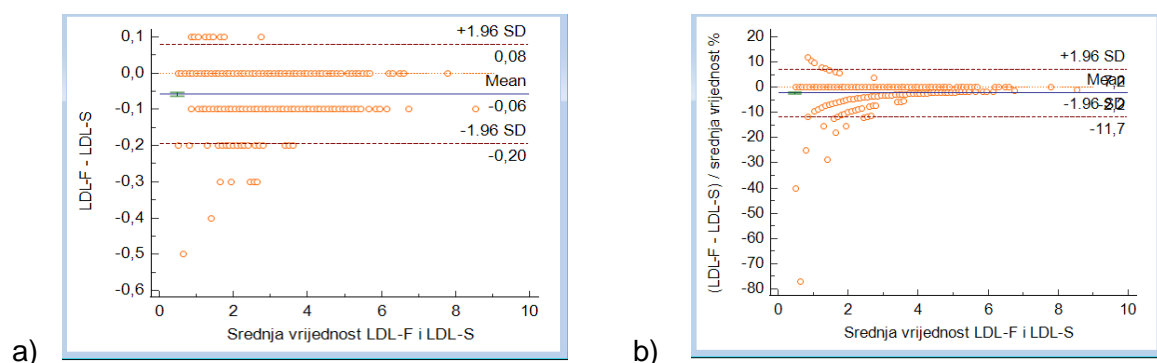
Usporedbom vrijednosti LDL-K određenog sa sve tri jednadžbe korištenjem Bland-Altman metode (Slike 2 - 8) i Passing-Bablok regresijske analize na sljedeći način: u cijelom rasponu vrijednosti LDL-K, te unutar skupina podijeljenih prema terapijskim ciljnim vrijednostima LDL-K (LDL-F) ($\leq 1,3$ mmol/L, 1,4 - 1,7 mmol/L, 1,8 - 2,5 mmol/L, 2,6 - 2,9 mmol/L, ≥ 3 mmol/L) definirane preporukama ECA/ESC (2)

utvrđena su statistički značajna odstupanja (Tablica 6) pri čemu Friedewaldova jednadžba mjeri niže vrijednosti od Martin/Hopkinsove i Sampsonove jednadžbe. Passing-Bablok regresijskom analizom utvrđeno je da nisu prisutne konstantne i proporcionalne razlike za sve usporedbe, osim kod usporedbe LDL-K određenog Friedewaldovom i Sampsonovom jednadžbom unutar skupine s vrijednosti LDL-K od 2,6 do 2,9 mmol/L i skupine s vrijednosti LDL-K ≥ 3 mmol/L gdje je prisutno konstantno odstupanje (Tablica 7).

1. Friedewald vs. Martin/Hopkins jednadžba

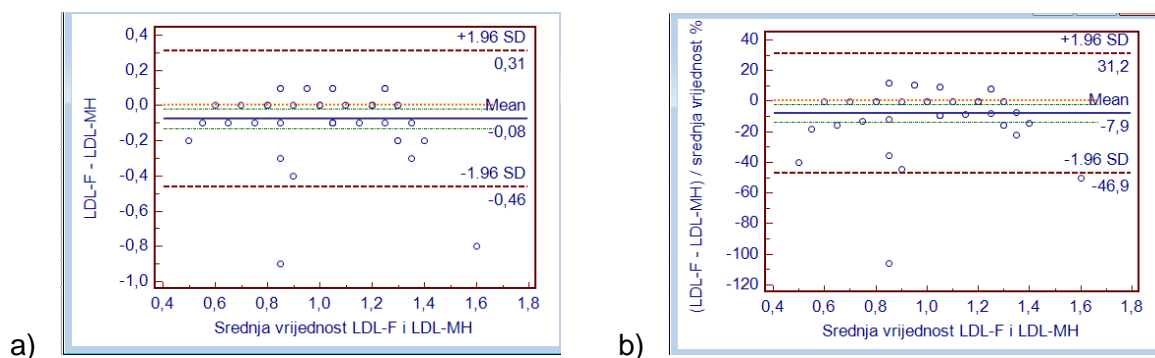


2. Friedewald vs. Sampson jednadžba

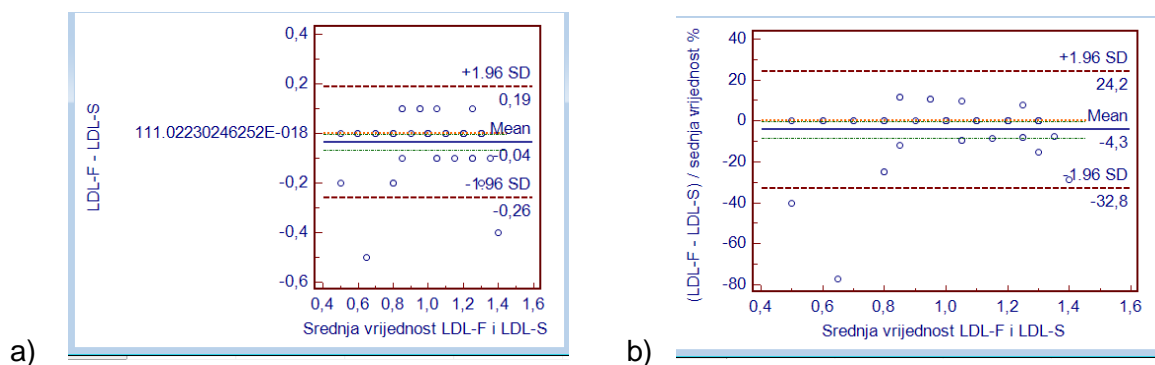


Slika 3. Bland-Altman grafički prikaz usporedbe u cijelom rasponu vrijednosti LDL-K: a) apsolutno odstupanje prikazano u mjernoj jedinici (mmol/L); b) relativno odstupanje prikazano u postotku (%)

1. Friedewald vs. Martin/Hopkins jednadžba

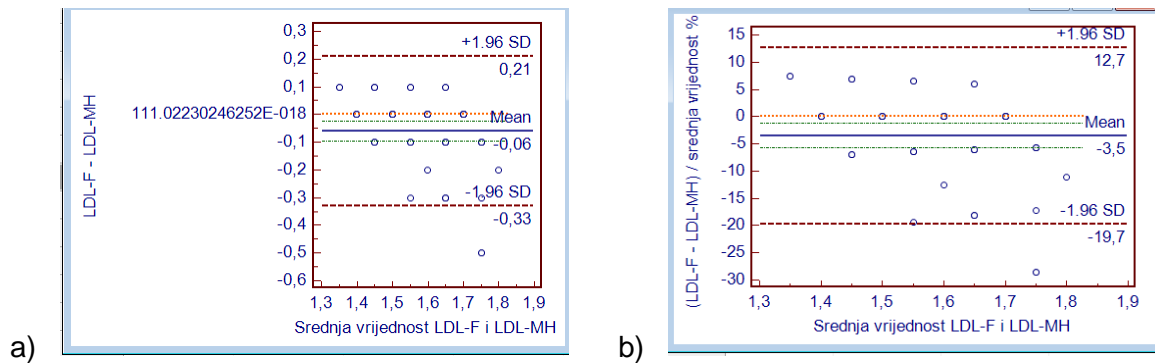


2. Friedewald vs. Sampson jednadžba

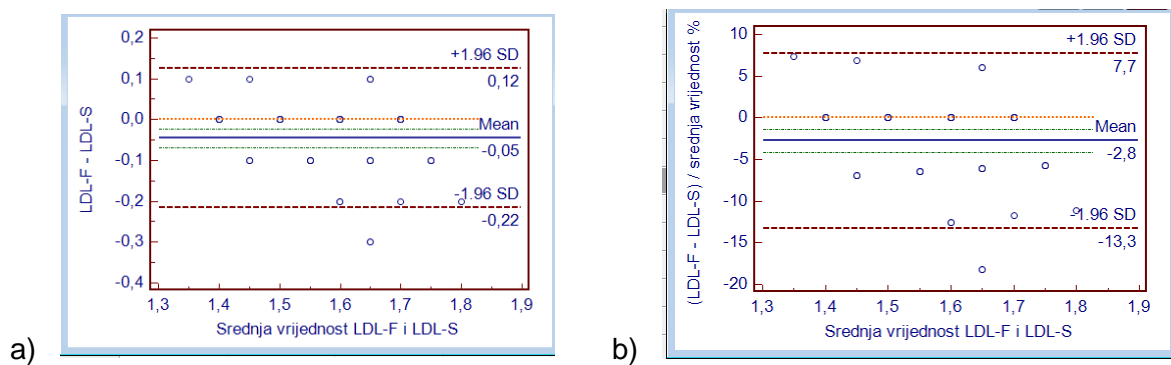


Slika 4. Bland-Altman grafički prikaz usporedbe u rasponu vrijednosti LDL-K < 1,4 mmol/L: a) apsolutno odstupanje prikazano u mjernoj jedinici (mmol/L); b) relativno odstupanje prikazano u postotku (%)

1. Friedewald vs. Martin/Hopkins jednadžba

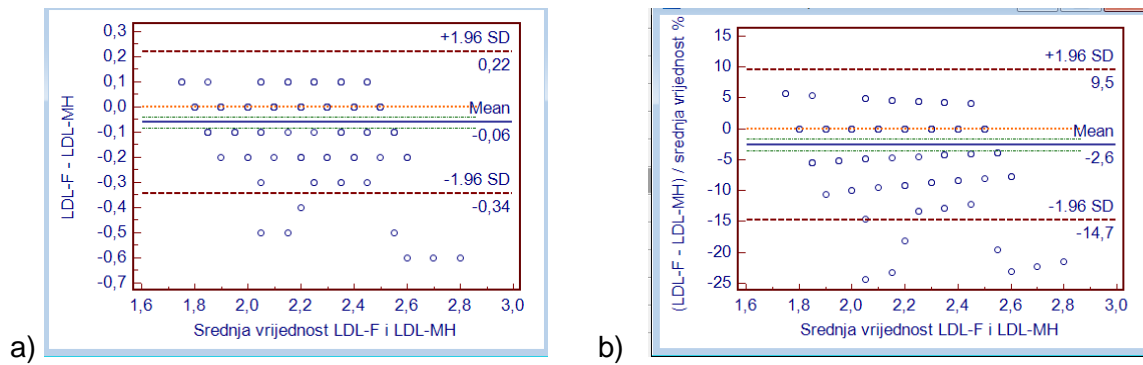


2. Friedewald vs. Sampson jednadžba

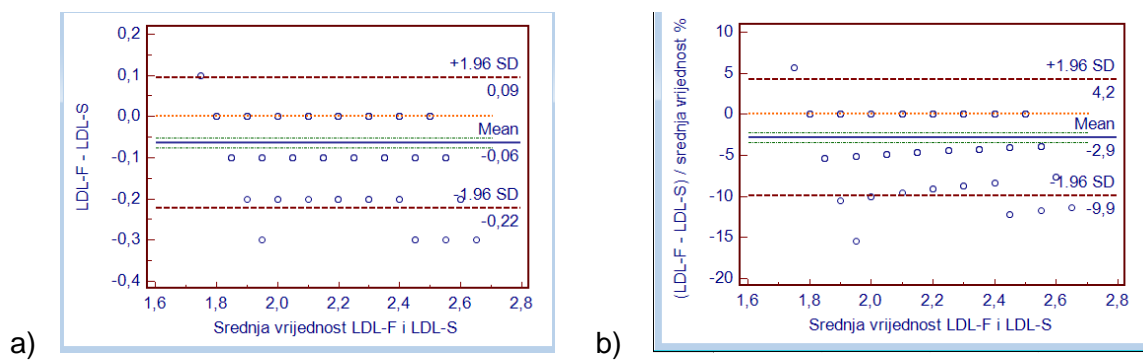


Slika 5. Bland-Altman grafički prikaz usporedbe u rasponu vrijednosti LDL-K 1,4 – 1,7 mmol/L: a) apsolutno odstupanje prikazano u mjernoj jedinici (mmol/L); b) relativno odstupanje prikazano u postotku (%)

1. Friedewald vs. Martin/Hopkins jednadžba

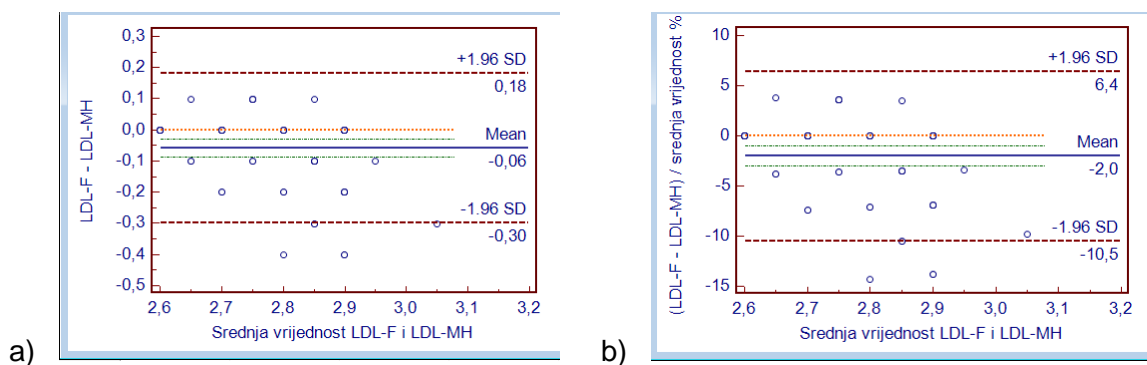


2. Friedewald vs. Sampson jednadžba

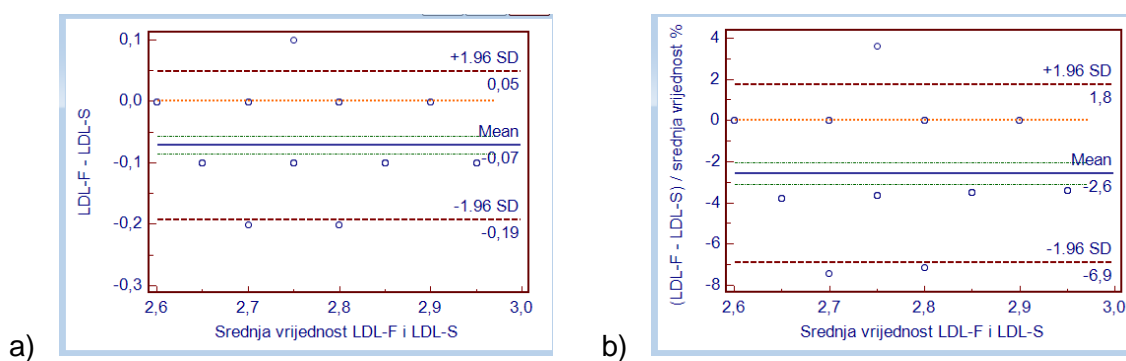


Slika 6. Bland-Altman grafički prikaz usporedbe u rasponu vrijednosti LDL-K 1,8 – 2,5 mmol/L: a) apsolutno odstupanje prikazano u mjernoj jedinici (mmol/L); b) relativno odstupanje prikazano u postotku (%)

1. Friedewald vs. Martin/Hopkins jednadžba

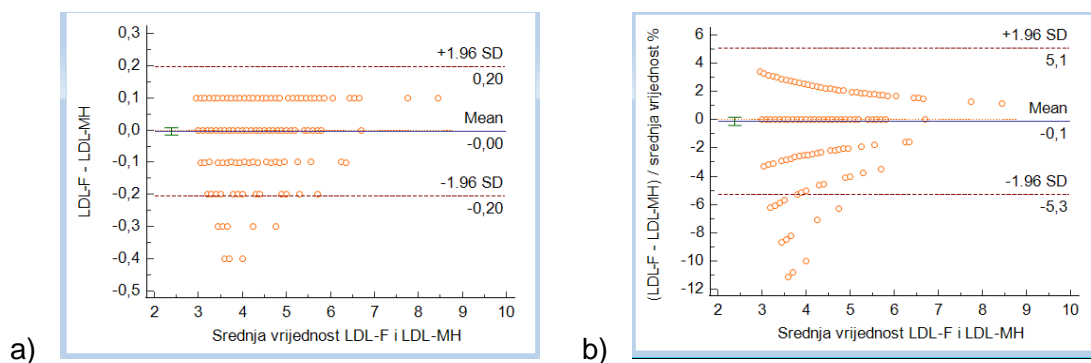


2. Friedewald vs. Sampson jednadžba

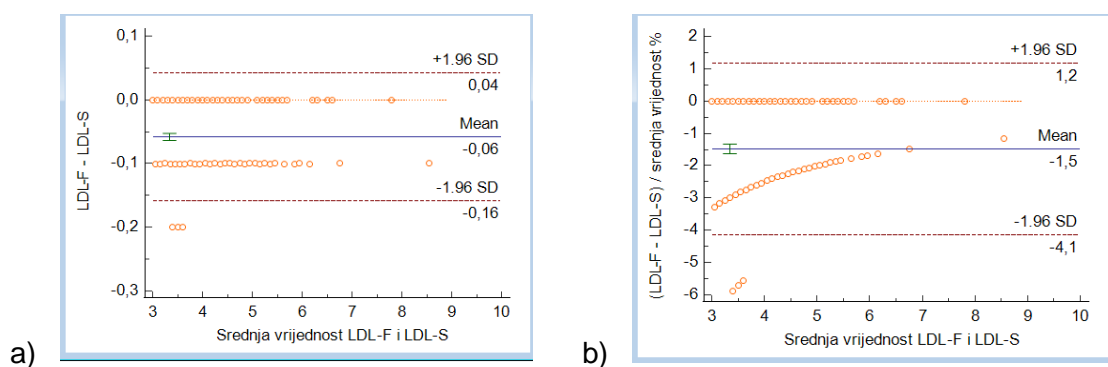


Slika 7. Bland-Altman grafički prikaz usporedbe u rasponu vrijednosti LDL-K 2,6 – 2,9 mmol/L: a) apsolutno odstupanje prikazano u mjernoj jedinici (mmol/L); b) relativno odstupanje prikazano u postotku (%)

1. Friedewald vs. Martin/Hopkins jednadžba



2. Friedewald vs. Sampson jednadžba



Slika 8. Bland-Altman grafički prikaz usporedbe u rasponu vrijednosti LDL-K ≥ 3 mmol/L: a) apsolutno odstupanje prikazano u mjernoj jedinici (mmol/L); b) relativno odstupanje prikazano u postotku (%)

Tablica 6. Apsolutna i relativna odstupanja vrijednosti LDL kolesterola dobivena Bland-Altman usporedbom tri različite formule za procjenu vrijednosti LDL kolesterola

1. Friedewald vs. Martin/Hopkins jednadžba

		LDL-MH			
	KATEGORIJA	Srednja vrijednost razlika (mmol/L)	Interval pouzdanosti (mmol/L)	Srednja vrijednost razlika (%)	Interval pouzdanosti (%)
LDL-F	≤1,3	-0,08	od -0,1342 do -0,0209	-7,9	od -13,5959 do -2,1415
	1,4-1,7	-0,06	od -0,09611 do -0,0231	-3,5	od -5,6770 do -1,2848
	1,8-2,5	-0,06	od -0,08401 do -0,038	-2,6	od -3,6066 do -1,6380
	2,6-2,9	-0,06	od -0,08678 do -0,0287	-2	od -3,0334 do -0,9946
	≥3	-0,004	od -0,01517 do -0,0071	-0,12	od -0,4047 do 0,172
	SVI	-0,03	od -0,04358 do -0,02359	-1,78	od -2,3477 do -1,2205

2. Friedewald vs. Sampson jednadžba

		LDL-S			
	KATEGORIJA	Srednja vrijednost razlika (mmol/L)	Interval pouzdanosti (mmol/L)	Srednja vrijednost razlika (%)	Interval pouzdanosti (%)
LDL-F	≤1,3	-0,04	od -0,0674 do -0,0037	-4,3	od -8,4944 do -0,1460
	1,4-1,7	-0,05	od -0,06863 do -0,0226	-2,8	od -4,1889 do -1,3501
	1,8-2,5	-0,06	od -0,0711 do -0,0514	-2,9	od -3,4270 do -2,2820
	2,6-2,9	-0,07	od -0,08636 do -0,0573	-2,6	od -3,0933 do -2,0460
	≥3	-0,058	od -0,06363 do -0,05242	-1,47	od -1,6258 do -1,3290
	SVI	-0,058	od -0,0637 do -0,05294	-2,25	od -2,6318 do -1,8755

Tablica 7. Passing-Bablok regresijska analiza dobivena usporedbom tri različite formule za procjenu vrijednosti LDL kolesterola

1. Friedewald vs. Martin/Hopkins jednadžba

		LDL-MH			
	KATEGORIJA	Odsječak (a)	Interval pouzdanosti	Nagib pravca (b)	Interval pouzdanosti
LDL-F	≤1,3	0	od -0,1333 do 0,0	1	od 1 do 1,1667
	1,4-1,7	-0,75	od -1,5 do 0	1,5	od 1 do 2
	1,8-2,5	0	od -0,0 do 0,0	1	od 1 do 1
	2,6-2,9	0	od -2,7 do 0,0	1	od 1 do 2
	≥3	0	od -0,0 do 0,0	1	od 1 do 1
	SVI	0	od -0,0 do 0,0	1	od 1 do 1

2. Friedewald vs. Sampson jednadžba

		LDL-S			
	KATEGORIJA	Odsječak (a)	Interval pouzdanosti	Nagib pravca (b)	Interval pouzdanosti
LDL-F	≤1,3	0	od 0 do 0	1	od 1 do 1
	1,4-1,7	0	od -0,75 do 0,00	1	od 1 do 1,5
	1,8-2,5	0	od 0 do 0	1	od 1 do 1
	2,6-2,9	0,1	od 0,1 do 0,1	1	od 1 do 1
	≥3	0,1	od 0,1 do 0,1	1	od 1 do 1
	SVI	0	od 0 do 0	1	od 1 do 1

Ovisno o vrijednosti LDL-K procijenjenog Friedewaldovom, Martin/Hopkinsovom i Sampsonovom jednadžbom ispitanici su se klasificirali u skupine definirane preporukama ECA/ESA (2). U Tablici 8 prikazano je koliko se ispitanika nalazi u pojedinoj skupini u odnosu na ukupni broj ispitanika za svaku formulu. Stupanj slaganja klasifikacije ispitanika (kappa koeficijent) u pojedine skupine ovisno o vrijednosti LDL-K procijenjenog Friedewaldovom i Martin/Hopkinsovom iznosi 0,94 (95%CI 0,92 – 0,95), odnosno 0,96 (95%CI 0,94 - 0,97) kada se ispitanici klasificiraju ovisno o vrijednosti LDL-K procijenjenog Friedewaldovom i Sampsonovom jednadžbom. Friedewaldova i Martin/Hopkinsova jednadžba klasificiraju u iste skupine 92,1 % ispitanika, a Friedewaldova i Sampsonova jednadžba 94 % ispitanika.

Tablica 8. Klasifikacija ispitanika u u skupine definirane preporukama ECA/ESA (2) ovisno o vrijednosti LDL-K procijenjenog Friedewaldovom, Martin/Hopkinsovom i Sampsonovom jednadžbom

1. Friedewald vs. Martin/Hopkins jednadžba

		LDL-MH					
LDL-F	KATEGORIJA	≤1,3	1,4 - 1,7	1,8 - 2,5	2,6 - 2,9	≥3	UKUPNO
	≤1,3	43	5	1	0	0	49 (7,5%)
	1,4-1,7	2	44	11	0	0	57 (8,7 %)
	1,8-2,5	0	3	137	12	2	154 (23,5%)
	2,6-2,9	0	0	0	59	12	71 (10,8%)
	≥3	0	0	0	4	320	324 (49,5%)
	UKUPNO	45 (6,9%)	52 (7,9%)	149 (22,7%)	75 (11,5%)	334 (51,0%)	655

2. Friedewald vs. Sampson jednadžba

		LDL-S					
LDL-F	KATEGORIJA	≤1,3	1,4 - 1,7	1,8 - 2,5	2,6 - 2,9	≥3	UKUPNO
	≤1,3	46	3	0	0	0	49 (7,5%)
	1,4-1,7	1	48	8	0	0	57 (8,7%)
	1,8-2,5	0	2	137	15	0	154 (23,5%)
	2,6-2,9	0	0	0	61	10	71 (10,8%)
	≥3	0	0	0	0	324	324 (49,5%)
	UKUPNO	47 (7,2%)	53 (8,1%)	145 (22,1%)	76 (11,6 %)	334 (51,0%)	655

5. Rasprava

U ovom istraživanju provedena je usporedba vrijednosti LDL-K procijenjenog Friedewaldovom jednadžbom s vrijednostima koje su dobivene Martin/Hopkinsovom i Sampsonovom jednadžbom kod 655 ispitanika do vrijednosti triglicerida $< 4,5$ mmol/L.

Medijan (IQR) vrijednosti LDL-K procijenjenog Friedewaldovom jednadžbom nešto je niži (2,9 (0,99 – 5,6) mmol/L) od vrijednosti procijenjenih Martin/Hopkinsovom (3 (1 – 5,6) mmol/L) i Sampsonovom (3 (0,9 – 5,6) mmol/L) jednadžbom. Sličan je odnos utvrđen i u radu Zafrir i sur. (15) na 10006 ispitanika gdje je medijan (IQR) LDL-F (2,5 (2,0 – 3,2) mmol/L), LDL-MH (2,6 (2,1 – 3,3) mmol/L) i LDL-S (2,6 (2,1 – 3,3) mmol/L). U navedenom radu također je utvrđena i jaka pozitivna korelacija između vrijednosti LDL-K određenog Friedewaldovom i Martin/Hopkinsovom jednadžbom ($r=0,98$; $P<0,001$), te Friedewaldovom i Sampsonovom jednadžbom ($r=0,99$; $P<0,001$), isto kao i u našem ispitivanju, te ispitivanju Briers i sur. (16) na 1179 ispitanika. Usporedbom vrijednosti LDL-K određenog sa sve tri jednadžbe korištenjem Bland-Altman metode i Passing-Bablok regresijske analize na sljedeći način: u cijelom rasponu vrijednosti LDL-K, te unutar skupina podijeljenih prema terapijskim ciljnim vrijednostima LDL-K definirane preporukama ECA/ESC (2) utvrđeno je da su prisutna statistički značajna odstupanja pri čemu Friedewaldova jednadžba mjeri niže vrijednosti od Martin/Hopkinsove i Sampsonove jednadžbe. Srednja vrijednost razlike raste s snižavanjem vrijednosti LDL-K pa tako kod usporedbe vrijednosti LDL-K određenog Friedewaldovom i Martin/Hopkinsovom jednadžbom u skupini ispitanika s $LDL-K \geq 3$ mmol/L ona iznosi minimalnih 0,12 % i raste do vrijednosti od 7,9 % u skupini s vrijednosti $LDL-K \leq 1,3$ mmol/L. Isto se pronalazi i prilikom usporedbe vrijednosti LDL-K određenog Friedewaldovom i

Sampsonovom jednadžbom. U skupini ispitanika s vrijednosti LDL-K $\leq 1,3$ mmol/L ona iznosi 4,3 % što ukazuje da Martin/Hopkinsova jednadžba mjeri više vrijednosti i od Sampsonove jednadžbe. Isto je utvrđeno i u drugim radovima (15, 17, 18).

Prema dobivenim vrijednostima kappa koeficijenta stupanj slaganja klasifikacije ispitanika unutar skupina podijeljenih prema terapijskim ciljnim vrijednostima LDL-K procijenjenog Friedewaldovom i Martin/Hopkinsovom ($\kappa=0,94$; 95%CI 0,92 – 0,95), odnosno Friedewaldovom i Sampsonovom jednadžbom ($\kappa=0,96$; 95%CI 0,94 – 0,97) ukazuje na gotovo savršenu podudarnost. Međutim Martin/Hopkinsova i Sampsonova jednadžba u odnosu na Friedewaldovu jednadžbu klasificiraju LDL-K u više skupine (6,6 %, odnosno 5,5 %). U usporedbi s Sampsonovom, Martin/Hopkinsova jednadžba je reklasificirala 2,6 % ispitanika u višu kategoriju rizika. U radu Zafrir i suradnika (15) utvrđeno je da Martin/Hopkinsova i Sampsonova jednadžba u odnosu na Friedewaldovu jednadžbu klasificiraju LDL-K u više skupine (10,8 %, odnosno 7,5 %). U usporedbi s Sampsonovom, Martin/Hopkinsova jednadžba je reklasificirala 3,8 % ispitanika u višu kategoriju rizika. Meeusen i suradnici (19) su utvrdili da u cijelom rasponu vrijednosti LDL-K-a Friedewaldova i Martin/Hopkinsova formula su vrlo slične u klasifikaciji ispitanika u usporedbi s beta kvantifikacijom kao referentnom metodom (77 % i 78 %). Međutim, kod ispitanika kod kojih je referentnom metodom određeno da je LDL-K $< 1,8$ mmol/L, Martin/Hopkinsova formula je 8,7 % tih ispitanika svrstala u višu skupinu ($> 1,8$ mmol/L).

Novi dokazi potvrdili su da je ključni početni događaj u aterogenezi zadržavanje LDL-K i drugih lipoproteina bogatih ApoB-100 unutar arterijske stijenke. Osim što je LDL-K

glavni faktor rizika, ujedino je i primarni cilj liječenja aterosklerotskih kardiovaskularnih bolesti, stoga je važno precizno procijeniti LDL-K. Pogrešan terapijski pristup na temelju vrijednosti LDL-K može imati negativne posljedice jer neće zadovoljavajuće smanjiti kardiovaskularne ishode. Rezultati ovog ispitivanja potvrđuju rezultate drugih ispitivanja da standardna uporaba Friedewaldove jednadžbe u kliničkoj praksi može dovesti do potencijalne nedovoljne upotrebe terapije za snižavanje lipida, osobito kada su prisutne niske vrijednosti LDL-K.

Ograničenja ispitivanja

Anonimizirani skup podataka korišten za ovo ispitivanje ne uključuje kliničke podatke o ispitanicima kao što su informacije o korištenju lijekova za snižavanje lipida, što bi bilo korisno znati obzirom da oni utječu na lipidni profil pojedinaca. Iz ispitivanja su isključeni ispitanici s vrijednostima triglicerida $> 4,5$ mmol/L jer su u ovom koncentracijskom području Friedewaldova i Martin-Hopkinsova jednadžba, za razliku od Sampsonove jednadžbe, neupotrebljive te se preporuča koristiti direktno određivanje LDL-K (20). Formule su koristile vrijednosti ukupnog kolesterola, triglicerida i HDL-K dobivene mjerenjima s reagensima tvrtke Siemens. Bilo bi zanimljivo provesti isto istraživanje na analitičkim sustavima drugih proizvođača laboratorijske opreme jer je pokazano da analitička platforma i korišteni reagens imaju učinak na izvedbu formula (21, 22). Također, u provedenom ispitivanju nije napravljena usporedba vrijednosti LDL-K procijenjenog sa sve tri jednadžbe s referentnom metodom za određivanje LDL-K. Stoga se iz podataka ovog ispitivanja ne može dati zaključak o točnosti ovih formula za procjenu LDL-K.

6. Zaključci

Kardiovaskularne bolesti glavni su uzrok smrti u svijetu. LDL-K je vodeći uzrok, ali i primarni cilj liječenja. Na temelju vrijednosti LDL-K određuje se preventivna terapija u osoba koje imaju rizik za nastanak kardiovaskularnih događaja. Korištenjem novih lijekova u takvih osoba postižu se sve niže vrijednosti LDL-K. Friedewaldova jednadžba pri tim vrijednostima nije primjenjiva i može dovesti do pogrešnog terapijskog pristupa. Korištenje direktnih metoda za određivanje vrijednosti LDL-K podrazumijeva dodatni financijski trošak zbog čega se u laboratorijima i dalje koristi Friedewaldova jednadžba. Europsko društvo za kardiologiju (ESC) je 2021. godine izdalo preporuku da se Friedewaldova jednadžba zamijeni Martin/Hopkinsovom ili Sampsonovom jednadžbom. Prema dostupnim saznanjima takvo istraživanje nije provedeno niti u jednom laboratoriju u Republici Hrvatskoj.

Ovim ispitivanjem utvrđeno je da su prisutna statistički značajna odstupanja između vrijednosti LDL-K procijenjenih s tri različite jednadžbe pri čemu Friedewaldova jednadžba mjeri niže vrijednosti od Martin/Hopkinsove i Sampsonove jednadžbe. Srednja vrijednost razlike raste s snižavanjem vrijednosti LDL-K i najveća odstupanja su prisutna upravo kod vrijednosti LDL-K koje su važni terapijski ciljevi kod osoba s velikim i vrlo velikim kardiovaskularnim rizikom. Procjena vrijednosti LDL-K Friedewaldovom jednadžbom u tih osoba može dovesti do pogrešnog terapijskog pristupa i posljedično do lošijeg kardiovaskularnog ishoda.

Na temelju rezultata ovog ispitivanja, te sukladno preporukama ESC-a, potrebno je Friedewaldovu jednadžbu zamijeniti Martin/Hopkinsovom i/ili Sampsonovom jednadžbom.

7. Literatura

1. Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Kardiovaskularne bolesti u Republici Hrvatskoj u 2019. godini. HZJZ;2022.
2. Mach F, Baigent C, Catapano AL i sur. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2020;41:111-88.
3. Boren J, Williams KJ. The central role of arterial retention of cholesterol-rich apolipoprotein-B-containing lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis: a triumph of simplicity. *Curr Opin Lipidol*. 2016;27:473-83.
4. Ference BA, Graham I, Tokgozoglul L, Catapano AL. Impact of lipids on cardiovascular health: JACC Health Promotion Series. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72:1141-56.
5. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC i sur. Evolocumab and clinical outcomes in patients with cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2017;376:1713-22.
6. Schwartz GG, Steg PG, Szarek M i sur. Alirocumab and cardiovascular outcomes after acute coronary syndrome. *N Engl J Med*. 2018;379:2097-107.
7. SCORE2 working group and ESC Cardiovascular risk collaboration. SCORE2 risk prediction algorithms: new models to estimate 10-year risk of cardiovascular disease in Europe. *Eur Heart J*. 2021;42:2439–54.
8. Baigent C, Blackwell L, Emberson J i sur. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet*. 2010;376:1670-81.
9. 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.

10. Meeusen JW, Snozek CL, Baumann NA, Jaffe AS, Saenger AK. Reliability of Calculated Low-Density Lipoprotein Cholesterol. *Am J Cardiol.* 2015;116:538e540.
11. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM i sur. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J.* 2021;42:3227-337.
12. Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB i sur. Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile. *JAMA.* 2013;310:2061-68.
13. Sathiyakumar V, Park J, Golozar A i sur. Fasting Versus Nonfasting and Low-Density Lipoprotein Cholesterol Accuracy. *Circulation.* 2018;137:10-9.
14. Sampson M, Ling C, Sun Q i sur. A new equation for calculation of low-density lipoprotein cholesterol in patients with normolipidemia and/or hypertriglyceridemia. *JAMA Cardiol.* 2020;5:540–48.
15. Zafrir B, Saliba W, Flugelman MY. Comparison of Novel Equations for Estimating Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients Undergoing Coronary Angiography. *J Atheroscler Thromb.* 2020;27:1359-73.
16. Briers PJ, Langlois MR. Concordance of apolipoprotein B concentration with the Friedewald, Martin-Hopkins, and Sampson formulas for calculating LDL cholesterol. *Biochem Med.* 2022;32:010704.
17. Sajja A, Li HF, Spinelli KJ, Blumenthal RS, Virani SS, Martin SS, Gluckman TJ. Discordance Between Standard Equations for Determination of LDL Cholesterol in Patients With Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2022;79:530-41.
18. Reiber I, Mark L, Paragh G, Toth PP. Comparison of low-density lipoprotein cholesterol level calculated using the modified Martin/Hopkins estimation or the Friedewald formula with direct homogeneous assay measured low-density lipoprotein cholesterol. *Arch Med Sci.* 2022;18: 577–86.
19. Meeusen JW, Lueke AJ, Jaffe AS, Saenger AK. Validation of a proposed novel

equation for estimating LDL cholesterol. *Clin Chem*. 2014;60:1519–23.

20. 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;58:496-517.

21. Rossouw HM, Nagel SE, Pillay TS. Comparability of 11 different equations for estimating LDL cholesterol on different analysers. *Clin Chem Lab Med*. 2021;59:1930-43.

22. Martins J, Olorunju SAS, Murray LM, Pillay TS. Comparison of equations for the calculation of LDL-cholesterol in hospitalized patients. *Clin Chim Acta*. 2015;444:137–42.

8. Popis skraćenica

AKS - akutni koronarni sindrom

ASKVB - aterosklerotska kardiovaskularna bolest

ATP – adenzin trifosfat

CETP (engl. cholesterol ester transfer protein) – transportni protein za kolesterol ester

Da - dalton

EAS (engl. European Atherosclerosis Society) - Europsko društvo za aterosklerozu

ESC (engl. European Society of Cardiology) - Europsko kardiološko društvo

EU – Europska unija

H₂O₂ – vodikov peroksid

HDL (engl. high density lipoproteins) - lipoproteini visoke gustoće

HDL-K – HDL kolesterol

HZJZ - Hrvatski zavoda za javno zdravstvo

IDL (engl. intermediate density lipoproteins) - lipoproteini srednje gustoće

IQR - interkvartilni raspon

κ – kappa koeficijent

KOL – ukupni kolesterol

KVB - kardiovaskularne bolesti

LIS - laboratorijski informacijski sustav

LDL (engl. low density lipoproteins) - lipoproteini niske gustoće

LDL-F – koncentracija LDL kolesterola određena Friedewaldovom jednadžbom

LDL-K - LDL kolesterol

LDL-MH – koncentracija LDL kolesterola određena Martin/Hopkinsovom jednadžbom

LDL-S - koncentracija LDL kolesterola određena Sampsonovom jednadžbom

Lp(a) - lipoprotein a

MnCl₂ – magnezijev klorid

ne-HDL-K - ne-HDL-kolesterol

NN – Narodne novine

PCSK9i - inhibitor proprotein konvertaze subtilizin/keksin tipa 9

ρ – koeficijent korelacije rho

SI – međunarodni sustav jedinica

SCORE2 (eng. Systematic Coronary Risk Evaluation 2) - Sustavna procjena koronarnog rizika 2

sur. – suradnici

TG – trigliceridi

USA – Sjedinjene američke države

VAP - Vertical AutoProfile

VLDL (engl. very low density lipoproteins) - lipoproteini vrlo niske gustoće

WHO (eng. World Health Organisation) - Svjetska zdravstvena organizacija