

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA.**

**Correlación entre la determinación directa de la concentración de colesterol de la lipoproteína de baja densidad por un método enzimático y fórmula de Friedewald en pacientes diabéticos tipo II**

**Informe de Tesis**

**Adriana Guissel Galindo Cruz**

**Para optar al Título de  
Química Bióloga**

**Guatemala, septiembre 2005.**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA.**

**Correlación entre la determinación directa de la concentración de colesterol de la lipoproteína de baja densidad por un método enzimático y fórmula de Friedewald en pacientes diabéticos tipo II**

**Adriana Guissel Galindo Cruz**

**Química Bióloga**

**Guatemala, septiembre 2005.**

## ÍNDICE

I.	Resumen	1
II.	Introducción	3
III.	Antecedentes	5
	A. Diabetes Mellitus	5
	1. Fisiopatología	5
	2. Clasificación etiológica de la Diabetes mellitus	7
	a) Diabetes mellitus tipo I	7
	b) Diabetes mellitus tipo II	8
	c) Otros tipos de Diabetes mellitus	8
	d) Diabetes gestacional	9
	3. Manifestaciones clínicas de los síndromes diabéticos	9
	a) Diabetes mellitus tipo I	9
	b) Diabetes mellitus tipo II	9
	4. Criterios diagnósticos	10
	5. Complicaciones de la Diabetes mellitus	10
	a) Fisiopatología de las complicaciones agudas de la DM	11
	b) Aspectos fisiopatológicos de las complicaciones crónicas de la DM	13
	c) Diabetes y complicaciones del sistema cardiovascular	14
	d) Diabetes y complicaciones vasculares en los miembros inferiores	14
	e) Arteroesclerosis y trombogénesis	14
	6. Prevención de la Diabetes mellitus	16
	a) Prevención primaria	16
	b) Prevención secundaria	17
	c) Prevención terciaria	17
	B. Lípidos y Lipoproteínas	17
	1. Generalidades	17
	2. Metabolismo de los lípidos	17
	C. Apoproteínas	18
	D. Estructura general de las Lipoproteínas	21
	E. Formación de IDL y LDL a partir de VLDL	23
	F. Catabolismo de la IDL y de las LDL	23
	G. Relación de las diversas lipoproteínas en la génesis de la placa de arteroma	25
	H. Hiperlipidemias, hiperlipoproteinemias y dislipemias	26

I.	Programa nacional de educación sobre el colesterol	27
J.	Determinación de los lípidos	27
1.	Colesterol total	28
2.	Triglicéridos	29
3.	Métodos para determinación de apolipoproteínas	29
4.	Métodos para determinación de lipoproteínas	30
K.	Niveles de colesterol en pacientes diabéticos	34
IV.	Justificación	36
V.	Objetivos	38
VI.	Hipótesis	39
VII.	Materiales y métodos	40
VIII.	Resultados	46
IX.	Discusión de Resultados	49
X.	Conclusiones	51
XI.	Recomendaciones	52
XII.	Bibliografía	53
XIII.	Anexos	58

## I. RESUMEN

Entre las condiciones médicas que están asociadas con un riesgo elevado de contraer enfermedades coronarias están diabetes mellitus, obesidad e hipertensión. En estas condiciones la membrana basal de venas y arterias puede inflamarse, oxidar lipoproteínas, lisar la matriz extracelular, acumular material rico en lípidos, activar plaquetas y formar trombos. El sobrepeso es el factor principal que origina la resistencia a la insulina. La diabetes mellitus tipo 2 frecuentemente es acompañada de un conjunto de irregularidades que incluyen obesidad, aumento de la grasa abdominal, hipertensión y niveles anormales de lípidos en la sangre (5).

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL), las mayores transportadoras de colesterol en sangre, están involucradas en la fase temprana del proceso arterogénico, como resultado de su modificación oxidativa. Por esta razón su incremento constituye un elevado factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad coronaria (3).

Estas lipoproteínas, pueden ser determinadas por diferentes métodos como ultracentrifugación, electroforesis, cromatografías, precipitación y métodos inmunoensayos, o bien ser calculadas por medio de la fórmula de Friedewald.

En el presente estudio se determinaron las concentraciones plasmáticas de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteína de alta densidad (HDL) mediante métodos enzimáticos directos, en pacientes adultos de ambos sexos con diabetes mellitus tipo II diagnosticada, con niveles de triglicéridos hasta 400 mg/dL.

Se estimaron los valores de LDL por la fórmula de Friedewald a partir de las concentraciones de CT, TG y HDL. Estos resultados se compararon con los obtenidos por el método enzimático.

Se confirmó que existe correlación entre la determinación enzimática de LDL y su cálculo por medio de la fórmula de Friedewald al realizar el análisis del coeficiente de correlación intraclase que muestra una concordancia muy buena de 0.91.

La fórmula de Friedewald puede utilizarse en estudios clínicos ya que además de ser de fácil aplicación y bajo costo puede sustituir el análisis enzimático del colesterol LDL.

## II. INTRODUCCIÓN

La alteración de los niveles de colesterol supone uno de los principales factores de riesgo en pacientes con Diabetes mellitus tipo II que ven multiplicado por tres el riesgo de morir por alguna complicación vascular comparado con la población no diabética. Así, entre un 65 y un 80 por ciento de los diabéticos morirá por causa cardiovascular (frente al 40 por ciento de la población general). En general, los pacientes diabéticos tienen el mismo riesgo cardiovascular que aquellos pacientes no diabéticos que han sufrido ya algún tipo de evento coronario como infarto de miocardio o cerebral.

La mayoría del colesterol en circulación es acarreado por las lipoproteínas de baja densidad (LDL). La multiplicación del riesgo cardiovascular que supone en diabéticos tipo II el incremento de niveles séricos del colesterol LDL se debe a que éste resulta mucho más agresivo en estos pacientes por las modificaciones metabólicas que sufren por la propia enfermedad.

Una de las recomendaciones de la Asociación Americana de Diabetes para pacientes diabéticos es que se realice el monitoreo anual para la detección de dislipidemias e iniciar el tratamiento con ácido nicotínico, resina de colestiramina, clofibrato, etc., si los niveles séricos de colesterol LDL se encuentran elevados (>130 mg/dl si no hay evidencia de enfermedad macrovascular, > de 100 mg/dl si hay evidencia de enfermedad macrovascular), además si los niveles séricos de triglicéridos se encuentran elevados (> 200 mg/dl sin enfermedad macrovascular, > 150 con enfermedad macrovascular) o si los niveles séricos de colesterol HDL están disminuidos (<35 mg/dl).

El tratamiento inmediato de los niveles de colesterol en pacientes diabéticos reduce en un 55 por ciento el riesgo de mortalidad coronaria o de sufrir un infarto. Para prevenir estos problemas los niveles deben ser incluso menores que en las personas no diabéticas.

Para la determinación del colesterol LDL se dispone de diferentes métodos como la ultracentrifugación, la electroforesis de lipoproteínas y la precipitación. Recientemente han

surgido los métodos enzimáticos homogéneos de tercera generación, que tienen un bajo coeficiente de variación y bajo error analítico, proporcionando datos más exactos y precisos con mayor rapidez.

Normalmente el cálculo de la concentración de colesterol LDL por la fórmula de Friedewald es el método más utilizado por su bajo costo y sencillez. Sin embargo tiene varias limitaciones. Su inexactitud se incrementa al aumentar la cantidad de triglicéridos y bajo la presencia de quilomicrones, lo que conlleva a sobreestimar los valores de LDL así calculados.

El presente estudio se realizó en pacientes con Diabetes mellitus tipo II de ambos sexos que acuden al Hospital Nacional Pedro de Bethancourt. En él se hizo la determinación directa del LDL por un método enzimático de tercera generación y el cálculo de la concentración de LDL por la fórmula de Friedewald y se observó la correlación entre ambos métodos.



### III. ANTECEDENTES

#### A. Diabetes Mellitus

##### 1. Fisiopatología

Los carbohidratos son moléculas que contienen tres o más carbonos, más dos hidrógenos y un oxígeno por cada carbono. Los carbohidratos de la dieta contienen azúcares simples como las hexosas (glucosa, fructosa y galactosa), los disacáridos (sacarosa, lactosa y manosa) y glúcidos complejos como el almidón. La actividad intestinal digiere todos los tipos de azúcares a la forma más simple, las hexosas. La glucosa representa la hexosa principal (1,2).

La glucosa puede seguir cinco caminos una vez que ingresa a las células: 1) almacenamiento como glucógeno, 2) glucólisis anaerobia para formar piruvato y lactato, 3) oxidación para formar dióxido de carbono y agua y proporcionar una fuente de energía para el ciclo del ácido cítrico, 4) conversión a ácidos grasos y 5) liberación desde las células como glucosa (3).

Los carbohidratos son almacenados en las células en forma de glucógeno. Este se encuentra en el citosol en forma de gránulos que contienen las enzimas necesarias para la síntesis y degradación de glucógeno. La velocidad de formación de glucógeno es controlada por la enzima glucógeno sintetasa. Esta enzima es estimulada por el aumento de la concentración de glucosa e insulina. De esta forma se puede llevar a cabo la glucogenólisis (degradación de glucógeno) (4).

Debido a que existe una necesidad constante de glucosa, cuando ésta no se encuentra disponible en los alimentos es esencial la gluconeogénesis o formación de glucosa-6-fosfato a partir de fuentes no hidrocarbonadas como lactato, piruvato, glicerol, aminoácidos y en menor grado ciertos ácidos grasos. Este proceso se lleva a cabo principalmente en el hígado aunque el riñón puede contribuir en un ayuno prolongado (5).

Cuando no se dispone de fuentes exteriores de alimento, los requerimientos energéticos deben ser cubiertos por las calorías almacenadas en los tejidos periféricos. Cuando el alimento se encuentra disponible, éste debe ser almacenado permitiendo una removilización rápida. El control del almacenamiento y liberación de combustible lo ejerce la hormona insulina (6).

La insulina deriva de la proinsulina, un polipéptido sintetizado en las células beta del páncreas. Se almacena en el aparato de Golgi y antes de ser liberada se separa en cadenas A, B y C (7,8).

El Polipéptido inhibidor gástrico (PIG) es una hormona que estimula la secreción de insulina. Este es elaborado por las células del intestino delgado en respuesta a la absorción de glucosa. El pico mayor de secreción insulínica se produce durante la absorción de glucosa tardía, y su estímulo principal es el ingreso de glucosa en las células beta (9).

Existe similitud en el estado de ayuno, en el cual se movilizan macromoléculas con el objeto de llevar a cabo una oxidación rápida de sustancia, con el estado diabético, en el cual el mismo proceso es mucho más catabólico. En un adulto de peso normal, la concentración plasmática de insulina en ayunas varía entre 5 y 25 uU/ml, según sea la duración del intervalo transcurrido desde la ingestión de alimento (10). Este nivel es mantenido mediante la secreción de 0.2 a 1 unidad de insulina por hora. En un paciente diabético insulino dependiente la secreción de insulina se aproxima a cero (11).

Las acciones más importantes de la insulina consisten en la estimulación de la síntesis hepática de glucógeno, la estimulación de la transferencia de glucosa y aminoácidos desde la sangre hacia los tejidos insulino-dependientes para su almacenamiento macromolecular y la inhibición de procesos catabólicos como la glucogenólisis, proteólisis y lipólisis. Pequeños incrementos de la glucosa plasmática inhiben la acción del glucagón, y la reducción de los niveles de glucagón complementa la elevación de los niveles de insulina para garantizar las funciones anabólicas (7,8).

Los agentes hiperglucémicos más importantes que actúan en períodos de ayuno en respuesta a la disminución de los niveles sanguíneos de glucosa son el glucagón, epinefrina, cortisol, tiroxina, hormona del crecimiento y ciertas hormonas intestinales. Estos agentes actúan sobre el metabolismo intermedio para formar glucosa a partir de las macromoléculas almacenadas. La glucosa formada en el hígado representa la fuente más importante de glucosa sanguínea no dietética. Debido a que no libera iones de hidrógeno no provoca acidosis, aun con concentraciones sanguíneas muy altas. La tendencia de los diabéticos para desarrollar hiperglicemia durante una enfermedad aguda que necesita intervención quirúrgica, podría ser causada por varios mecanismos: mayor producción de glucosa, disminución de la utilización tisular y de la depuración renal de la glucosa (12).

Los efectos perjudiciales de la hiperglicemia son secundarios a la actividad osmótica de la glucosa, que provoca desplazamiento del agua entre los compartimentos del cuerpo e induce a una diuresis osmótica. Esos desplazamientos ocurren porque ésta se mueve libremente por todos los tejidos del cuerpo, mientras que el transporte de la glucosa, a través de las membranas celulares, depende de múltiples factores de los cuales la insulina no es el menos importante. Se presenta diuresis osmótica considerable siempre que la concentración de glucosa plasmática excede el umbral renal de la misma (aproximadamente 180 a 250 mg/dL). La diuresis osmótica provoca pérdida de agua, lo cual, a su vez, produce deshidratación y excreción de numerosos iones con el agua (sodio, potasio, cloruro, magnesio y fosfato), que tendrán efectos nocivos sobre el volumen vascular y la función de la membrana celular (13).

## **2. Clasificación etiológica de la Diabetes mellitus.**

### **a) Diabetes mellitus tipo 1**

Diabetes mellitus insulino-dependiente (DMID), denominada también diabetes juvenil, afecta a niños y adolescentes, y se cree producida por un mecanismo autoinmune. Constituye de un 10 a un 15% de los casos y es de evolución rápida.

Los expertos de la Asociación Americana de Diabetes (AAD) revisaron la clasificación etiológica de la enfermedad y definieron la diabetes tipo 1, como aquella que se presenta a cualquier edad y es el resultado de la destrucción autoinmune de los islotes pancreáticos (14).

#### **b) Diabetes mellitus tipo 2**

En la Diabetes mellitus (DM) tipo 2, el trastorno central es la resistencia de todos los tejidos periféricos a la acción de la insulina, debido a que se produce una hormona defectuosa porque existen trastornos del receptor o, lo que es más importante, a la presencia de alteraciones en los mecanismos intracelulares desencadenados por la unión de la hormona al receptor. Al respecto, se ha demostrado la deficiencia en la actividad, en modelos animales y humanos, de la enzima tirosina cinasa, encargada de la fosforilación de la proteína IRS-1 (Insulin Receptor Substrate 1) y la hipoactividad de la enzima cinasa 3 - fosfatidil inositol (15).

Comprende entre 85 y 90% de los diabéticos. Por lo general se trata de pacientes mayores de 40 años, obesos, en quienes la enfermedad se desarrolla paulatinamente y su expresión clínica puede pasar desapercibida por años. En algunos de estos pacientes, se presenta rápidamente un importante déficit en la producción de insulina, y el paciente debe recibir la hormona para obtener control metabólico. Sin embargo, esta forma de tratamiento no hace al individuo insulino dependiente (16).

#### **c) Otros tipos de Diabetes mellitus**

En la tercera categoría se encuentra la diabetes asociada con causas específicas: alteraciones genéticas claramente identificadas, como mutaciones en el gen de la glucosinasa, entre otras, que dan origen a la diabetes tipo MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young). En esta categoría, también se incluyen defectos genéticos que impiden la acción de la insulina, como las mutaciones en el receptor, características del Leprechaunismo y otros síndromes genéticos raros. En cuanto a las endocrinopatías, quizás las más frecuentes asociadas como causa de diabetes antiguamente llamada "secundaria", son la acromegalia y el síndrome de Cushing. Hacen parte de este subgrupo los

glucocorticoides, tiazidas, diazóxido y ácido nicotínico. Hay infecciones, en las que se cuenta la rubéola congénita o el citomegalovirus, que pueden ser causa de diabetes. La enfermedad, puede ser parte del complejo sintomático de otras enfermedades de origen genético, tal es el caso del síndrome de Down, Klinefelter y Turner (17).

#### **d) Diabetes gestacional**

Existe una cuarta categoría en la que está incluida la diabetes gestacional, o sea, el aumento de la glicemia que se inicia durante el embarazo. No se justifica el uso universal de pruebas de tamizaje, mediante la administración de 50 gm de glucosa hacia la semana 24 a 28 de gestación, pues no todas las mujeres están en riesgo de sufrir la enfermedad.

### **3. Manifestaciones clínicas de los síndromes diabéticos**

Aunque la hiperglucemia es tradicionalmente empleada como índice químico del comportamiento bioquímico de todos los tipos de diabetes, también pueden utilizarse otros indicadores de este trastorno del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas.

#### **a) Diabetes mellitus tipo 1**

Dado que invariablemente existe una disminución de la síntesis pancreática y de la liberación de insulina, los diversos grados de expresión de esta hipoinsulinemia se hacen rápidamente evidentes. Entre ellos se puede mencionar: poliuria (aumento del volumen urinario), polidipsia (aumento de la sed), polifagia (aumento del apetito) y pérdida de peso. Si la producción de insulina es muy baja se movilizan ácidos grasos libres desde el tejido adiposo y se producen cetoácidos. Si esta producción es elevada y la ingestión de agua disminuye puede provocarse hipovolemia; también se produce cetoacidosis diabética (18).

#### **b) Diabetes mellitus tipo 2**

La diabetes mellitus tipo 2 puede ser asintomática o sus síntomas pueden ser leves o, estar enmascarados por los de otras enfermedades crónicas como insuficiencia cardíaca, artritis o enfermedad vascular periférica. Por otra parte algunos pacientes muestran los

síntomas típicos de una hiperglucemia: polidipsia, poliuria, polifagia y pérdida de peso (19).

Existen algunos síntomas que pueden orientar hacia la investigación de una posible diabetes tipo 2. Entre ellos: vaginitis (por *Candida*), miopía (por engrosamiento del cristalino y aumento en su hidratación), forúnculos (por trastornos en la defensa a *Staphylococcus* que se encuentran en la piel), síndrome del túnel carpiano (por compresión del nervio medio) y neuropatía periférica (ardor bilateral y simétrico de los pies, pérdida de reflejos en tobillos y rodillas y disminución de sensación vibratoria, dolorosa y postural) (19).

#### **4. Criterios Diagnósticos para la Diabetes mellitus**

En 1997, los expertos del comité asesor de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la AAD, propusieron nuevos criterios para el diagnóstico de la DM y definieron la enfermedad como la presencia (en dos o más ocasiones) de una glicemia en ayunas superior a 126 mg/dL ( $> 7$  mmol/L), en lugar de los 140 mg/dL que era el punto de referencia que se había establecido. De otra parte, las cifras de glicemia entre 110 mg/dL y 125 mg/dL, corresponden a la categoría de "glicemia alterada en ayunas". Hace diagnóstico de DM, el hallazgo de una glicemia (200 mg/dL (11,1 mmol/L) 2 horas después de una carga de 75 g de glucosa oral (1.75 g/kg de peso) (19,20).

Esta prueba debe ser reservada, preferiblemente, para los casos en los cuales la glicemia en ayunas no es conclusiva, pero puede ser utilizada como único criterio en estudios epidemiológicos. Es diagnóstico de diabetes una glicemia (de 200 mg/dL, realizada en cualquier momento del día sin tener en cuenta la última comida, en un individuo que presente síntomas de diabetes (poliuria, polidipsia, polifagia, etc.). La intolerancia a la glucosa se diagnostica si se encuentra una glicemia entre 140 mg/dL (7.8 mmol/L), y 199 mg/dL (11,1 mmol/L) a las 2 horas de una carga oral de 75 g de glucosa, siempre y cuando la glicemia basal sea menor de 126 mg/dL (20).

Para realizar un diagnóstico definitivo de DMID hay que detectar marcadores de autoinmunidad (20).

## **5. Complicaciones de la diabetes mellitus**

Las complicaciones de la DM son agudas y crónicas. Las agudas son básicamente, la cetoacidosis diabética (de importancia en el diabético tipo 1), el estado no cetósico hiperosmolar (más frecuente en el diabético tipo 2), los estados metabólicos mixtos y los cuadros de hipoglicemia resultante del tratamiento médico intensivo. Estas no sólo deterioran la calidad de vida del individuo y le causan la muerte, sino que su manejo es la mayor fuente de consumo de recursos. El compromiso microvascular es causa de ceguera y de insuficiencia renal. La microalbuminuria, definida como la excreción urinaria de 30 a 200 mcg/min de albúmina, o entre 30 a 300 mg en orina de 24 h, es una condición que antecede el desarrollo de nefropatía franca (13).

Por su parte, la enfermedad macrovascular se ve favorecida por la presencia de factores de riesgo aterogénicos como son, obesidad, sedentarismo, hipertensión, dislipidemia e hiperfibrinogenemia. Además, la DM es la causa más frecuente de amputaciones de miembros inferiores debido a la oclusión vascular progresiva y al desarrollo de neuropatías y de complicaciones infecciosas (pie diabético).

### **a) Fisiopatología de las complicaciones agudas de la Diabetes mellitus**

La cetoacidosis diabética (CAD) y el coma hiperosmolar no cetósico (CHNC), son dos de las complicaciones agudas más comunes de la DM que tienen desenlaces fatales, si no son tratados rápidamente. La cetoacidosis diabética se caracteriza por hiperglicemia, acidosis y cetosis (13).

Después de la ingestión de una comida, los carbohidratos, las proteínas y las grasas son convertidas en glucosa, aminoácidos y ácidos grasos libres, respectivamente. La insulina desempeña el papel principal en la utilización de la glucosa, aminoácidos y ácidos grasos, en el estado de no ayuno. Los valores adecuados de insulina aseguran el almacenamiento de

glucosa como glucógeno en el hígado; de aminoácidos como proteínas en el músculo; y de ácidos grasos libres como triglicéridos en la grasa. El glucagón, la hormona catabólica más importante, es suprimida en el estado de alimentación. Al declinar el nivel de la glucosa sanguínea un lapso después de la comida, se reduce la secreción de insulina y sube el nivel de glucagón (12).

El estado de ayuno, comparado con el de alimentación, puede describirse como una reacción de alarma, en la cual el organismo utiliza sus defensas metabólicas y hormonales para proteger el cerebro de la lesión hipoglicémica. El nivel de la insulina es suprimido; en este momento el glucagón desempeña un papel considerable en un intento compensador para elevar los niveles de glucosa en la sangre al principio del ayuno; esto se realiza por medio de su efecto sobre la producción de combustible a partir de las sustancias de almacenamiento intracelular. En forma específica, el glucagón estimula la glucogenólisis en el hígado y músculo, inhibe la síntesis del glucógeno, estimula la gluconeogénesis e inhibe la glucólisis. Estos cambios fisiológicos, que son de índole compensatoria en el estado de ayuno, también pueden ocurrir fisiopatológicamente como consecuencia de infección, estrés o lesión grave (21).

La deficiencia de insulina y el aumento de la secreción de hormonas contrarreguladoras (glucagón, cortisol, catecolaminas) activa las vías gluconeogénica, glucogenolítica y lipolítica. También estimulan la lipólisis, cuyo resultado es la producción de ácidos grasos libres y glicerol. Este es convertido a glucosa y los ácidos grasos libres en cuerpos cetónicos en el hígado. Como las reservas de glucógeno son limitadas, la gluconeogénesis es el mecanismo principal, por medio del cual se conserva la euglicemia (nivel normal de glucosa en sangre) durante el ayuno prolongado o la cetoacidosis diabética (CAD) (16).

En presencia de niveles suprimidos de insulina, el cortisol desempeña un papel más indirecto en la compensación del bajo nivel de glucosa sanguínea en el estado de ayuno, estimulando la producción de aminoácidos a partir de los músculos, que sirven como el mayor sustrato para la gluconeogénesis (18).



La CAD se caracteriza no sólo por un metabolismo anormal de la glucosa, grasas y proteínas, sino también por trastornos de electrolitos y agua, debidos especialmente a la hiperglicemia, la glicosuria y la diuresis osmótica concomitante. Esta diuresis se manifiesta por poliuria y polidipsia, y puede dar lugar a grandes pérdidas de sodio y potasio (16).

El síndrome de coma hiperosmolar no cetósico (CHNC) con hiperglicemia, se puede definir como un estado hiperosmolar, consecutivo a hiperglicemia de varias causas. Dentro de éstas, la más frecuente es la diabetes tipo 2 no diagnosticada, en la cual el paciente tarda en acudir al médico. Entre los factores precipitantes cabe mencionar la infección, el uso de esteroides, la coexistencia de una enfermedad renal, diálisis peritoneal, hiperalimentación, infarto del miocardio, neumonía Gram negativa seguida de uremia y vómitos (1,2).

Se han propuesto tres posibles mecanismos para explicar su aparición y para diferenciarlos de la cetoacidosis diabética: 1. Los niveles de hormonas contrarreguladoras son más bajos que en la CAD. 2. La secreción de insulina es más alta en el CHNC, en tal forma que habría insulina circulante residual suficiente para prevenir la lipólisis, pero no lo bastante para evitar la producción hepática exagerada de glucosa y para facilitar la utilización de ésta en los tejidos periféricos. 3. El estado hiperosomolar puede inhibir la lipólisis, lo cual disminuye el suministro de ácidos grasos libres al hígado, con grado mínimo de cetogénesis (22).

#### **b) Aspectos fisiopatológicos de las complicaciones crónicas de la diabetes**

Los daños que conducen a las complicaciones de la diabetes mellitus comprometen a muchos tejidos: nervios, riñones, piel, retina, corazón y cerebro. En todos ellos, la mayor causa de su lesión es la enfermedad vascular que afecta tanto la micro como macrovasculatura. La patología microvascular más común ocurre en el riñón y la retina. La macrovascular se presenta en las grandes arterias periféricas de los miembros inferiores, en los vasos cerebrales y las arterias coronarias. Estas alteraciones vasculares, pueden afectar todas las funciones importantes de la vasculatura como la entrega de nutrientes, la defensa contra los cuerpos extraños, la hemostasis / fibrinólisis, y la función de reparo ante la injuria. Los estudios clínicos recientes han informado que el tratamiento intensivo con

insulina, con casi normalización del control glicémico, lentifica la progresión de las complicaciones microvasculares y la neuropatía en pacientes con diabetes tipo 1 (23). Las evidencias señalan también, una relación entre la hiperglicemia no controlada por mucho tiempo y la enfermedad macrovascular en población diabética de tipo 2. La coexistencia de diabetes e insulino resistencia, está fuertemente asociada con hipertensión esencial y parece acelera el desarrollo de la aterosclerosis (24).

### **c) Diabetes y complicaciones del sistema cardiovascular**

La enfermedad cardíaca es una causa de mayor morbilidad y mortalidad en los pacientes diabéticos. Las complicaciones cardíacas son las que más afectan el resultado quirúrgico. Los estudios indican un incremento en la tasa de infartos del miocardio en el perioperatorio y la más grande morbilidad después del mismo (25). El riesgo para padecerla es dos veces mayor en hombres y se triplica en mujeres (ateroesclerosis cardíaca, cerebral, vascular periférica y falla cardíaca congestiva). Si los otros factores de riesgo son ajustados (cigarrillo, hipercolesterolemia, hipertensión y la hipertrofia ventricular izquierda), la diabetes permanece como un mayor factor independiente. La mujer parece responder más tempranamente a los efectos cardiovasculares de la enfermedad. La falla cardíaca congestiva y la muerte cardiovascular, son más altas en ella, cuando se comparan con el sexo opuesto.

Un hecho que tiene importancia en la acentuada morbilidad en individuos diabéticos con conocida enfermedad coronaria o de un infarto previo, es el rechazo a recibir tratamiento con antagonistas de los receptores beta adrenérgicos, por temor a que éstos puedan enmascarar su respuesta a la hipoglucemia, aunque el uso de esta clase de drogas, ha demostrado que disminuye la tasa de reinfartos y la mortalidad de una manera significativa, cuando se emplean en el período temprano o tardío del infarto (26).

### **d) Diabetes y complicaciones vasculares en los miembros inferiores**

La fisiopatología compleja del pie diabético, resulta de la tríada, isquemia, neuropatía e infección. El éxito en el tratamiento del pie diabético, requiere un constante conocimiento del sinergismo de estos diversos mecanismos.

Es importante tener en cuenta, solo para nombrar lo menos, que la incidencia de amputación de miembro inferior es de 37 a 137 por cada 10.000 pacientes con Diabetes, que representa una tasa de 15 a 40 veces mayor que en personas no diabéticas. Se calcula que se podría prevenir 85% de amputaciones en miembros inferiores mejorando los programas de prevención primaria y secundaria en lo referente a úlceras del pie diabético, educando a los pacientes sobre el cuidado apropiado del pie diabético y previniendo la recurrencia de estas. Estos datos se podrían extrapolar a otras complicaciones frecuentes de la DM como Neuropatía (Daño neurológico), Retinopatía (Daños en la Retina), Nefropatía (Daño en Riñón), Gastropatía (Daño en funcionamiento gástrico), etc. (16).

#### **e) Aterosclerosis y trombogénesis**

En la diabetes, numerosos factores contribuyen a acelerar el proceso de aterosclerosis, incluyendo hiperlipidemia, hipertensión, anormalidades en la coagulación y en las plaquetas (27-29).

La diabetes afecta a las plaquetas en numerosas formas que pueden predisponer a trombosis coronaria. Los estudios han sugerido, que existe la tendencia a exagerada liberación del contenido de gránulos alfa (tromboglobulina y factor 4 plaquetario) de las plaquetas de los afectados cuando se les compara con los no diabéticos. También se ha observado que sus plaquetas tienen disminuidos los niveles de serotonina y el factor de crecimiento plaquetario (PDGF), lo que presupone una liberación aumentada de ellos (28).

Los niveles de lipoproteínas de muy baja densidad, son más altos y las de alta densidad, son más bajos. El colesterol total y las lipoproteínas de baja densidad no son estadísticamente importantes en los grupos. Esto puede ser debido a diferentes calidades en las fracciones de las lipoproteínas. En las personas diabéticas, las lipoproteínas oxidadas están incrementadas, en parte a hipertrigliceridemia. Los niveles de superóxidos celulares en los pacientes con hipertrigliceridemia, son más altos que en los controles. Las propiedades oxidativas de células y tejidos en diabéticos, especialmente aquellos con microangiopatías, están aumentados y se correlacionan con los niveles de hemoglobina glicosilada. Todos estos hallazgos, sugieren que la oxidación de lipoproteínas, en particular

las de baja densidad, parece que se intensifica en presencia de niveles elevados de glucosa y triglicéridos, lo cual juega un papel muy importante en el incremento de la aterosclerosis en esta población (29).

Las recomendaciones de la AAD para pacientes diabéticos con Hiperlipidemia son el rastreo para Dislipidemia anualmente en todos los pacientes con Diabetes Mellitus (Colesterol Total HDL, LDL, Triglicéridos), e iniciar tratamiento si Colesterol LDL se encuentra elevado ( $>130\text{mg/dl}$  si no hay evidencia de Enfermedad Macrovascular,  $>$  de  $100\text{mg/dl}$  si hay evidencia de enfermedad Macrovascular), además sí los Triglicéridos se encuentran elevados ( $> 200\text{mg/dl}$  sin Enfermedad Macrovascular,  $> 150$  con Enfermedad Macrovascular) o en el caso de HDL bajo ( $<35\text{mg/dl}$ ) (14).

## **6. Prevención de la Diabetes**

En lo referente a prevención debemos tener en cuenta tres niveles bien definidos:

**a) Prevención primaria:** dirigida a la población general, por un lado intentando educar sobre los factores de riesgo para desarrollar la enfermedad y además, en lo posible identificar a estas personas en riesgo para determinar políticas encaminadas a reducir los factores de riesgo modificables que reduzcan la incidencia de la enfermedad o sus consecuencias (19). Los factores de riesgo son los siguientes:

- i)** Mayores de 40 años
- ii)** Antecedentes familiares de primer grado de consanguinidad con DM
- iii)** Menores de 50 años con Enfermedad Coronaria
- iv)** Dislipidemia
- v)** Grupos étnicos (Hispanos - Americanos)
- vi)** Hipertensión Arterial
- vii)** Madres de hijos macrósomáticos al nacer ( $>9$ libras)
- viii)** Obesidad
- ix)** Nivel cultural y de ingresos económicos bajos

- b) **Prevención Secundaria:** dirigida a pacientes ya diagnosticados, en los que el control se encamina especialmente a evitar las complicaciones inherentes a la enfermedad (30).
  
- c) **Prevención terciaria:** dedicada al control de las complicaciones crónicas propias de la enfermedad (30).

## **B. Lípidos y Lipoproteínas.**

### **1. Generalidades**

Los lípidos son sustancias orgánicas, que desempeñan en el organismo funciones muy diversas. Existen distintos tipos de lípidos, pero todos poseen estructuras no polares hidrocarbonadas que los hacen insolubles en el agua, por lo que requieren de un medio de transporte proteico. Aunque existen diferentes proteínas específicas para el transporte de ciertos lípidos como es el caso de la transcortina, son las lipoproteínas las microemulsiones responsables de la movilización de la inmensa mayoría de ellos a través del torrente circulatorio. La movilización la realizan desde la absorción en el intestino delgado de los lípidos, hasta los órganos de depósito (tejido adiposo, tejido muscular, corteza suprarrenal, etc.) y desde el órgano de síntesis, el hígado, hasta los órganos periféricos donde serán utilizados (músculo cardiaco, músculo esquelético, tejido adiposo, etc.) (31).

### **2. Metabolismo de los lípidos**

Existen dos tipos de lípidos dentro del organismo: endógenos y exógenos.

Los lípidos exógenos son los lípidos que son consumidos en la dieta. Estos son incorporados al cuerpo en tres fases: digestión, absorción y transporte. La fase de digestión se lleva a cabo en el lumen del intestino, en él las sales biliares separan las grandes masas de lípidos y las enzimas los hidrolizan hasta ácidos grasos libres. Durante la fase de absorción, las partículas de lípidos digeridos penetran en las células de la mucosa intestinal y posteriormente el sistema linfático y circulatorio. En esta etapa, la naturaleza del

mecanismo de transporte de lípidos depende del tipo de molécula que se transporta. Los ácidos grasos de cadena corta e intermedia se unen a la albúmina y se transportan en la circulación portal, mientras que los ácidos grasos de cadena larga se empaquetan en quilomicrones en las células de la mucosa y son liberados al conducto torácico del sistema linfático para después penetrar al sistema circulatorio (32).

El organismo produce la mayor parte del colesterol en forma endógena. Las fuentes dietéticas aportan tan sólo de 150 a 300 mg diarios mientras que el hígado sintetiza 1.5 g al día (33).

El exceso de carbohidratos y proteínas de la dieta se utiliza para producir moléculas de acetato, que posteriormente sirven para producir colesterol y ácidos grasos. Los lípidos endógenos que genera el hígado son transportados posteriormente en forma de lipoproteínas para su uso en todo el cuerpo (33,34).

### **C. Apoproteínas**

Son los componentes proteicos de las lipoproteínas, es decir, la fracción que queda de los complejos lipoproteicos tras eliminar los lípidos. Siguiendo la nomenclatura propuesta por Aulapovic et al, se les designa por las letras A, B, C, etc. Subclasificadas a su vez en diferentes subtipos (34).

Sus funciones principales incluyen:

1. Mantenimiento de la estructura de la lipoproteína con fijación de los lípidos gracias a la interacción que presentan con los fosfolípidos, formando complejos estables que son capaces de solubilizar y transportar a los triglicéridos y a los ésteres de colesterol. Esta función la realizan principalmente las apoproteínas del grupo B (apoB-48 y apoB-100). Además, al aumentar la densidad de la lipoproteína, disminuyen su flotabilidad.
2. Regulación de la actividad de los enzimas claves que intervienen en el metabolismo de las proteínas dentro del torrente circulatorio, así la apo A-I y la apo C-I se

requieren específicamente para activar el enzima lipoproteinlipasa, como se verá más adelante.

3. Reconocimiento de superficie que une a las lipoproteínas con determinados receptores específicos de la superficie celular.

Cabría añadir que su presencia aumenta la densidad de la estructura micelar y con ello se disminuye su índice de flotabilidad haciendo que las lipoproteínas densidad similar a la del suero en el que se desenvuelven y con ello ni decanten ni floten (34,35).

Excepto las del grupo B que no pueden pasar de un tipo de lipoproteínas a otro, debido a su alto peso molecular, el resto se encuentran en distintas proporciones en las diferentes lipoproteínas, contribuyendo a dirigir su metabolismo en el organismo (35).

#### **a) Apolipoproteína A-I**

Constituye la principal lipoproteína de las partículas HDL. Sus concentraciones bajas se correlacionan con concentraciones bajas de HDL. Posee una enorme tendencia a ser absorbida en interfases polares y actúa como una molécula anfipática. Una de sus funciones es actuar como cofactor de la LCAT (lecitin colesterol acil transferasa), enzima responsable de la esterificación del colesterol en el plasma, además, parece que facilita la salida del colesterol de las células (35).

#### **b) Apolipoproteína del grupo B**

Conforma el grupo de mayor peso molecular que se encuentra constituido por dos formas, la ApoB<sub>-100</sub> y la ApoB<sub>48</sub>.

La B<sub>-100</sub> es de origen hepático, se encuentra en las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), las de densidad intermedia (IDL) y principalmente en LDL que solo poseen una copia de esta proteína y que representan a las diferentes formas de maduración de un mismo tipo de lipoproteína (36).

La apoB<sub>48</sub> de origen intestinal, las más abundantes en los quilomicrones que pueden poseer más de una copia de esta lipoproteína. La apoB<sub>48</sub> representa aproximadamente el 48% inicial de la secuencia de aminoácidos que poseen la apoB<sub>100</sub> (36).

Ambos tipos se encuentra fuertemente anclada por su porción hidrofóbica lo que hace que no se produzca su intercambio entre las diferentes lipoproteínas durante su paso por el torrente circulatorio (37).

#### **c) Apolipoproteína C**

Se le ha aislado en los quilomicrones, VLDL, IDL y en las HDL. Se conocen tres tipos. Apo CI que funcionalmente, se la ha implicado en la activación del enzima LCAT (Lecitin Colesterol Acil Tranferasa), la Apo CII la cual actúa como activador de la LPL (lipoproteín lipasa) enzima que cataliza la hidrólisis de los triglicéridos plasmáticos. Y la Apo CIII que tiene un efecto opuesto al de la apoC-II, actuando como inhibidor de la LPL (38).

#### **d) Apolipoproteína D**

Sintetizada por el hígado y se la ha aislado en las partículas HDL tiene capacidad para ligar bilirrubina. Se ha observado, que tras la albúmina, la HDL es la forma en que se transporta una mayor proporción de bilirrubina plasmática y esta afinidad se debe a su contenido en apoD (39).

#### **e) Apolipoproteína del grupo E**

En el adulto se sintetiza principalmente en el hígado. Actúa como ligando para el receptor de la LDL y para la proteína relacionada con el receptor de la LDL (LRP; Lipoprotein Receptor Protein) Se encuentra en los quilomicrones, en la VLDL y en la HDL (40).

De su ausencia se deriva la acumulación de lipoproteínas de baja densidad enriquecidas en colesterol. Por la técnica de enfoque isoelectrico, se han descrito tres isoformas (apoE2, apoE3 y apoE4) que difieren entre sí en la secuencia de los aminoácidos de las posiciones



112 y 158 con diferentes afinidades por el receptor de la LDL que se traduce en un mayor o menor aclaramiento de estas partículas (41).

Se consideran normales los patrones designados como E2 y E3. Parece ser que la apoE2 tiene un efecto antioxidante en los sujetos sin factores mayores de riesgo cardiovascular, sin embargo, este efecto desaparece cuando el sujeto es fumador o presenta una hipertrigliceridemia relacionada con la obesidad. Los homocigotos para la apoE4 tienen aumentada la afinidad de las VLDL por los receptores hepáticos de LDL, lo que se asocia a una mayor propensión a padecer fenómenos de aterosclerosis (42,43).

#### **f) Apolipoproteína J**

Ha sido descrita recientemente. Se transporta principalmente como parte de las HDL. Esta apolipoproteína se ha encontrado en multitud de tejidos, con especial abundancia en los testículos, ovarios, hígado y cerebro. Su función no está claramente definida y parece presentar afinidad por la proteína relacionada con el receptor de la LDL-2 (LRP-2) (43).

### **D. Estructura general de las lipoproteínas**

La mayoría de las lipoproteínas tienen forma de microesferas en las que clásicamente se han definido dos zonas, la corteza formada por compuestos de naturaleza anfipática y un núcleo hidrófobo. En la corteza se encuentran: los fosfolípidos (con su cabeza hidrófila hacia el exterior y sus colas hidrófobas hacia el interior), las moléculas de colesterol libre, sin esterificar y las apoproteínas o apolipoproteínas (con sus porciones hidrófobas ancladas en el núcleo y mostrando su porción globular hacia el exterior de la micropartícula). En el ambiente hidrofóbico del núcleo viajan las moléculas hidrófobas como triglicéridos y colesterol esterificado (43).

Toda la estructura se mantiene gracias a las interacciones de naturaleza hidrofóbica que se originan por el hecho de estar viajando todas ellas en un medio acuoso como es el plasma (28).

Las diferentes lipoproteínas se han clasificado conforme a su disposición en un medio de densidad creciente entre 1,210 y 1,006 KBr y tras ser sometidas a ultracentrifugación de 144.000 veces la gravedad durante 24h en:

### **1. Quilomicrón (Qm)**

Densidad inferior a 0,96 g/ml. son las de mayor tamaño y menor densidad. Transportan los lípidos de la dieta (principalmente triglicéridos) desde el intestino al resto del organismo (28).

### **2. VLDL (Very Low Density Lipoprotein, lipoproteínas de muy baja densidad)**

Densidades en el rango de 0,96-1,006 g/mL. Lipoproteínas de muy baja densidad, compuestas en un 50% por triglicéridos. Transportan los lípidos sintetizados en el hígado a otras partes del cuerpo (28).

### **3. LDL (Low Density Lipoprotein, lipoproteínas de baja densidad)**

Densidades en el rango de 1,006-1,063 g/mL. Lipoproteínas de baja densidad, cuyo principal componente es el colesterol (50%). Circulan por todo el organismo transportando colesterol, triglicéridos y fosfolípidos y dejándolo disponible para las células.

### **4. HDL (High Density Lipoprotein, lipoproteínas de alta densidad)**

Densidades en el rango de 1,063-1,21. Estas lipoproteínas suelen dividirse lipoproteínas de alta densidad, en cuya composición la parte más importante son las proteínas. Transportan el colesterol desde las células al hígado para ser eliminado.

Además, existen algunas familias minoritarias, que se encuentran en situaciones fisiológicas en muy bajas concentraciones, por lo que normalmente no son detectables, y que pueden adquirir importancia en ciertas condiciones patológicas:

IDL (Intermediate Density Lipoprotein, lipoproteínas de densidad intermedia), con densidades en el rango 1,006-1,019 g/mL. Su detección está asociada con aterosclerosis precoz. Estas contienen cantidades iguales de colesterol y triglicéridos y principalmente Apo B y E.

Lp(a), con una densidad de 1,055-1,085 g/mL. Es un complejo macromolecular que presenta en su estructura, elementos propios de las lipoproteínas con otros pertenecientes al sistema de la coagulación sanguínea. Su composición es muy similar a la LDL, sus niveles plasmáticos correlacionan con la enfermedad arterial coronaria y cerebrovascular.

#### **E. Formación de IDL y LDL a partir de VLDL**

Las apoC-II activa LPL (lipoproteín lipasa) enzima que cataliza la hidrólisis de los triglicéridos, con lo que las VLDL se transforman en primer lugar en IDL y ocasionalmente en LDL sin llegar a dejar el plasma.

Estas partículas poseen una menor cantidad de triglicéridos en su núcleo pero mantienen el de ésteres de colesterol y el colesterol no esterificado de su superficie. Con ello se mantiene la apoB100 mientras que aumentan "relativamente" los ésteres de colesterol, el colesterol no esterificado y los fosfolípidos hasta llegar a las proporciones propias de las partículas que denominamos LDL.

La insulina facilita la hidrólisis de los triglicéridos por activar la migración de la LPL desde los adipocitos hasta los proteoglicanos del endotelio vascular (28,44,45).

#### **F. Catabolismo de las IDL y de las LDL**

Una vez degradada parcialmente en la periferia la VLDL, no va a ser captada tan eficientemente por el hígado y solo será procesada parcialmente por la LPL del hepatocito que la transformará en LDL y regresará como tal al plasma (28).

Las partículas de LDL están conformadas por una molécula de apoB<sub>100</sub> que ha cambiado de conformación con respecto a la que se encontraba presente en la VLDL, por fosfolípidos junto con colesterol no esterificado en su superficie. Su core hidrofóbico contiene básicamente ésteres de colesterol. No olvidemos que la estructura tridimensional de la proteína está determinada por el medio en el que se encuentra inmersa y éste, al poseer un volumen menor y una diferente composición cualitativa se ha modificado (44, 45).

La finalidad de las LDL parece no ser otra que la de ser degradadas, puesto que todas las células del organismo pueden sintetizar su propio colesterol y tanto los quilomicrones como las VLDL o las HDL lo pueden intercambiar con sus membranas, de hecho, en los niños recién nacidos, cuando las necesidades de producción celular son las más elevadas, solo circulan de 0,5 a 1,0 mmol/L de colesterol en forma de LDL mientras que las cifras que se encuentran en adultos occidentales se mantienen en intervalos de 3 a 5 mmol/L (46,47).

El interés por su estudio se debe al indudable papel que supone en la patología aterosclerótica, cuando sus concentraciones plasmáticas están elevadas y no tanto al papel fisiológico que pudiera representar (46).

Las partículas de LDL, como ocurre con las de IDL son captadas por receptores proteicos específicos apoB/E o receptor de la LDL que se encuentran en depresiones que presentan acumulaciones de clatrina (45).

Como dichas depresiones se encuentran continuamente formando vesículas, cualquier molécula de LDL unida a sus receptores será internalizada. Una vez formada la vesícula se acidifica su medio interno, con lo que la especificidad LDL-receptor disminuye y con ello, el receptor libera la partícula. Este proceso se continúa con la digestión celular de las LDL, el reciclaje de los receptores y la correspondiente obtención de aminoácidos procedentes de la apoB pero, sobre todo, da origen a importantes cantidades de colesterol que están a disposición de la célula.

Cuando estas cantidades son excesivas para las necesidades particulares de dicha célula, ésta responde deteniendo su síntesis endógena tanto la de colesterol como la de los receptores, con lo que se mantienen los niveles homeostáticos de la célula pero a cambio, los niveles plasmáticos aumentarán.

El principal órgano responsable, que no es el único, de la degradación de las LDL es el hígado y procesa del 50 al 60% del colesterol que se encuentra en plasma en forma de LDL. Lo emplea en la síntesis de sales biliares secretando su exceso, en condiciones fisiológicas, por la bilis, donde sufrirá circulación enterohepática. Le siguen las glándulas suprarrenales y las gónadas que lo utilizan como sillar en la síntesis de las respectivas hormonas esteroideas (48,49).

### **G. Relación de las diversas lipoproteínas en la génesis de la placa de Ateroma**

La aterosclerosis es la lesión de la pared arterial debida a la formación de placas de ateroma en sus paredes, que se pueden revertir, no solo en su fase inicial, sino también, aunque más lentamente, en ciertas formas avanzadas (50).

En su progresión se producen tres procesos celulares fundamentales:

- Una entrada de monocitos/macrófagos con proliferación de macrófagos, células de músculo liso y quizás de linfocitos
- La formación de una matriz de tejido conjuntivo fibroso debido a la acumulación de las células de músculo liso
- Un almacenamiento de lípidos intra y extracelular, especialmente como colesterol libre y esterificado en los macrófagos y en las células musculares (28).

Para que el proceso comience, se exige el paso de la lipoproteína al espacio subendotelial cruzando el endotelio vascular.

Estudios experimentales in vitro han demostrado la LDL del plasma no es capaz de inducir la formación de la placa de ateroma. Se precisa de transformaciones químicas como

su oxidación y glucación que originen un cambio en su conformación que conlleve a un diferente comportamiento metabólico.

Las LDL así transformadas pasan a ser internalizadas por los macrófagos derivados de los monocitos y por las células de la musculatura lisa dando lugar, ambas estirpes celulares a las células espumosas (29,51).

Este fenómeno no se produce con la LDL normal que sigue la ruta del receptor apoB/E porque cuando la concentración en el exterior de las células es muy alta, éstas se protegen inhibiendo la síntesis del receptor, con lo que no penetran las partículas al citoplasma. Cuando se sobrepasa la capacidad de utilización de colesterol por parte de estas células, el colesterol libre, al exceder ciertas concentraciones se hace citotóxico y el macrófago se defiende de esta situación acumulándolo en vacuolas, lo que lo transforma en el tipo de células que denominamos células espumosas debido al aspecto que adquiere al presentar dicha vacuolización. Este mecanismo defensivo tiene su límite. Una vez sobrepasado se produce su lisis con el correspondiente vertido del colesterol al exterior lo que se piensa que da origen de los centros necróticos que se observan en las placas(52-55).

## **H. Hiperlipemias, hiperlipoproteinemias y dislipemias**

1. La hiperlipemia (HLP) es la elevación plasmática de las concentraciones plasmáticas de colesterol, triglicéridos o de ambos.
2. Las hiperlipoproteinemias son trastornos del transporte de los lípidos que se producen debido a una anomalía en la síntesis o en la degradación de las lipoproteínas plasmáticas.
3. Como dislipemia se denomina a aquellas alteraciones de los lípidos plasmáticos que suponen una elevación del colesterol total y del transportado por las lipoproteínas de baja densidad (cLDL), con aumento de la trigliceridemia y el descenso del colesterol ligado a las lipoproteínas de alta densidad (CHDL).

Uno de los problemas que surgen cuando se plantea el tratamiento de esta patología es la determinación de las concentraciones que se deben de considerar fisiológicas. El criterio estadístico tiene escasa importancia en la búsqueda de la prevención de las enfermedades de origen arteriosclerótico puesto que normalidad, el valor más frecuente, no es sinónimo de saludable y los objetivos no serán los mismos en un sujeto con antecedentes de patología aterosclerótica que si estos no existen o si coexisten otros factores de riesgo (HPT, tabaquismo, diabetes, etc.) que cuando éstos están ausentes.

### **I. Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP)**

En 1985 nace en los Estados Unidos el Programa Nacional de Educación sobre el colesterol, al aumentar el índice de mortalidad por infartos agudos al miocardio. El fin de dicho programa es incrementar el conocimiento de la población de la relación entre altos niveles de colesterol en sangre y el riesgo de desarrollar enfermedades coronarias. El programa está conformado por profesionales de la salud en los que se incluyen: Expertos en la detección, evaluación y tratamiento de elevados niveles de colesterol en sangre tanto en adultos como en niños, laboratorios estandarizados para la medición y reporte de los test de medición del colesterol y un grupo de investigadores que trabajan en la medición de las lipoproteínas elaborando recomendaciones y guías para mejorar la detección del LDL y HDL.

Actualmente este programa contiene la información más reciente sobre lo relacionado a el colesterol en sangre, por lo que la OMS sugiere que todas las recomendaciones y guías que el NCEP propone deben ser tomadas como estrategias en los distintos programas de salud a nivel mundial (30).

### **J. Determinación de los lípidos**

La determinación de la masa de las lipoproteínas, a la que contribuyen tanto las proteínas como los lípidos que la componen, requiere de técnicas sofisticadas como la ultracentrifugación, que se basa en la separación de las partículas con respecto a su

diferencia de densidad. Puede realizarse en suero o plasma. La primera fracción que flota son los triglicéridos, quilomicrones y VLDL y la segunda es el LDL, HDL y ILD. La adición de sales como KBr y la ultracentrifugación hace que flote las LDL. Debido a que ésta técnica es tediosa ya que se realiza en varios pasos y demanda mucho tiempo es casi imposible de emplear en las determinaciones analíticas de rutina (20).

Con los métodos que se citarán a continuación, los cuales son empleados en los laboratorios clínicos, se determinan las concentraciones del colesterol asociadas a las diferentes subpoblaciones de lipoproteínas que se correlacionan muy bien con las determinaciones de las lipoproteínas realizadas con los métodos de referencia (20).

Actualmente, se requieren cada vez más las determinaciones de apoB y de apoA-I como complemento para identificar mejor a los sujetos que tienen elevado su riesgo a padecer una patología cardiovascular (56,57).

Algunos autores recomiendan que en sujetos con predisposición a patologías asociadas al metabolismo de lípidos, que pueden llegar a presentar variaciones fisiológicas en la concentración del colesterol hasta de un 6.5%, se realicen diferentes determinaciones tomadas a lo largo de varias semanas, con el fin de encontrar la concentración habitual en el sujeto que es objeto de estudio y no una única determinación que puede dar valores "normales" en este tipo de paciente (58).

## **1. Colesterol total**

El método más empleado es el colorimétrico enzimático. Se emplea una serie de reacciones acopladas que partiendo del éster de colesterol del suero, lo transforman en colesterol libre (si se suprime este paso se obtienen los valores del colesterol no esterificado) y éste junto con el no esterificado presente en la muestra, por acción de la enzima presente en los reactivos *colesterol oxidasa* y en presencia de oxígeno de la atmósfera, da lugar a un derivado del colesterol (Coolest-4-en-3-ona) y una molécula de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.



Esta molécula de  $\text{H}_2\text{O}_2$  junto con fenol y 4 aminoantipirina y en presencia de una peroxidasa forma un compuesto coloreado (quinoneimina) que absorbe la luz a 500 nm. La concentración de la quinoneimina es proporcional a la que existe de colesterol lo que hace que la intensidad del color sea proporcional a la concentración del lípido (59).

Midiendo el color formado con un espectrofotómetro y comparándolo con un suero de concentración conocida (suero estándar) podemos determinar la concentración del colesterol de la muestra.

La presencia en la muestra de concentraciones significativas de compuestos reductores como la bilirrubina o el ácido ascórbico consumen el  $\text{H}_2\text{O}_2$ , lo que falsea las determinaciones. Además, la bilirrubina ( $>5$  mg/dL) absorbe luz a 500 nm lo que puede interpretarse como un falso aumento en la concentración de colesterol.

Son métodos bastante precisos, con CV que oscilan entre 1 y 2% (59).

## **2. Triglicéridos**

Los métodos empleados actualmente de modo habitual son de tipo colorimétrico con empleo de enzimas específicos.

El método es similar al anterior con la diferencia que, la última reacción acoplada produce  $\text{NAD}^+$ , que absorbe la luz en el rango de 500-600 nm.

Dependiendo del fabricante que provea de los reactivos y empleando las indicaciones que le facilita, se han obtenido CV que varían desde un 3% hasta el 10% (60).

## **3. Métodos para determinación de apolipoproteínas**

Existen ciertas evidencias que parecen demostrar como la determinación de la apoB y de la apoA-I representan mejores discriminantes del riesgo para padecer una enfermedad aterosclerótica que cuando se analizan lípidos o lipoproteínas.

La mayoría de los métodos se basan en la identificación inmunológica (RIA, ELISA, RID, etc) de las apolipoproteínas, relacionándose posteriormente la inmunoreactividad con la masa determinada por otros medios (15).

#### **4. Métodos para determinación de lipoproteínas**

Existen múltiples sistemas que permiten su determinación, si bien algunos, por su extrema complejidad son de uso experimental y no clínico. El método de ultracentrifugación en gradiente de densidades se basa en el hecho de que todas las proteínas plasmáticas tienen una densidad aproximada de 1,350g/ml con excepción de las lipoproteínas que presentan densidades menores y se mantienen en suspensión por la agitación térmica, por su interacción con las moléculas de agua del entorno y por el flujo sanguíneo (20).

Si se las somete a una ultracentrifugación de 100.000 g la fuerza centrífuga actúa como si se incrementará mucho la fuerza de la gravedad y, todas las proteínas presentes en el suero, excepto las lipoproteínas tenderán a depositarse en el fondo del tubo, mientras que dichas lipoproteínas formarán una capa superficial opalescente.

Si se deposita un volumen de plasma en el fondo de un tubo y sobre él se dispone un gradiente de concentraciones de bromuro potásico (BrK) que ocupa el rango desde 1,210g/ml hasta 1,006 g/ml, cuando se someta al conjunto a una ultracentrifugación a 140.000 g durante 24h, por el principio de Arquímedes, el contenido del plasma se colocará formando bandas estables que se corresponderán con las zonas de su misma densidad. Si existe un colorante de grasas en el medio, se aprecian una serie de bandas que se corresponden con las diferentes familias de lipoproteínas (60).

##### **a) Empleo de analizadores automáticos de sobremesa de química seca**

Emplean tiras de reactivo a las que se les impregna con 10 a 30  $\mu$ l de la muestra donde se disuelven los reactivos que la contienen y posteriormente se mide la refractancia de la mezcla de reacción (59,60).

Si bien su exactitud y precisión es menor que los sistemas automáticos tradicionales, pueden ser empleados para un despistaje, teniendo presente que cuando la muestra procede de sangre capilar, los valores obtenidos suelen ser algo más bajos que los de punción venosa que son los que se han empleado para obtener los datos epidemiológicos que se emplean en los diagnósticos (59).

#### **b) Métodos electroforéticos**

Se realiza sobre un soporte de gel de agarosa adecuadamente tamponado. Tras aplicar una corriente continua y teñir con tinte para lípidos (rojo O ó el negro Sudán), se obtienen una serie de bandas electroforéticas que tienen su correlación con los diferentes tipos de lipoproteínas.

La técnica es laboriosa y pocas veces se hace necesaria en la determinación de la lipoproteinemia.

Presenta una serie de limitaciones como el hecho de que la VLDL se mueven en la banda electroforética correspondiente a las LDL o que la Lp(a) se mueve en electroforesis en la banda que se corresponde con la VLDL, lo que dará errores en la interpretación (59).

#### **c) Métodos de precipitación polianiónica**

Las lipoproteínas precipitan en presencia de polianiones y de ciertos cationes divalentes (56).

Dicha precipitación depende del pH, de la concentración del reactivo, de la carga iónica, de la presencia de otras proteínas séricas y del tipo de anticoagulante empleado (56,59).

Se han establecido las condiciones necesarias para que vayan precipitando los diferentes tipos de lipoproteínas, analizándose el colesterol presente en el sobrenadante. Así, en

condiciones en las que todas las que poseen apo B ya han precipitado, las HDL siguen siendo solubles.

La separación entre LDL y VLDL resulta más difícil por lo que actualmente solo se emplea para el primer caso (20,56).

#### **d) Cálculo con fórmula de Friedewald**

La fórmula de Friedewald y colaboradores fue introducida en 1972, la cual permite estimar el valor de la concentración de las LDL a partir de los valores plasmáticos de colesterol total (CT), triglicéridos (TG) y lipoproteína de alta densidad (HDL). Se fundamenta en que la mayoría de TG son transportados por las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), y la concentración de colesterol de las VLDL corresponde a un quinto del valor de TG (57).

La fórmula es:  $cLDL = \text{Colesterol Total} - \text{Colesterol HDL} - \text{Triglicéridos}/5$

Este cálculo es utilizado generalmente en los laboratorios de rutina pero tiene limitaciones bien establecidas: la precisión del cálculo disminuye considerablemente con el incremento en la concentración de triglicéridos; muestras con concentración de triglicéridos menores a 200 mg/dL da un excelente grado de correlación con métodos directos en un porcentaje de 86-92% mostrando una desviación menor al 10%. En muestras con concentración de triglicéridos de 200-300 mg/dL y de 300-400 mg/dL, la concordancia disminuye a 75% y 61% respectivamente. En muestras donde la concentración asciende a 400-500 mg/dL o mayores la concordancia disminuye a 41% y 20% respectivamente. Por tal razón la Fórmula de Friedewald no puede ser utilizada en estos casos (57-59).

#### **e) Métodos directos para la Determinación de LDL**

##### **i) Métodos de primera generación**

Estos se basan en la precipitación de las partículas de LDL con reactivos químicos específicos, como: heparina a pH 5.12, polivinilsulfato, polímeros anfipáticos o extrán

sulfato. Después de la centrifugación se mide el colesterol. El LDL es calculado en base a la diferencia entre el colesterol total en suero y el del sobrenadante (60).

Sin embargo este procedimiento de precipitación temprana no reemplaza el cálculo por la fórmula de Friedewald ya que la misma tiene mayores ventajas en cuanto a precisión, exactitud y especificidad si se aplica en personas cuyo nivel de triglicéridos no exceda los 400mg/dL (61,62).

### **ii) Métodos de Segunda Generación**

Fueron introducidos desde 1994 usando como principio la inmunoseparación. El reactivo contiene anticuerpos humanos contra apo A-I y apo E y es diseñado para remover quilomicrones, HDL, VLDL y IDL, seguido de la determinación directa de LDL (63).

La precisión del método es buena en individuos con normocolesteronemia, combinado con hiperlipidemia, en contraste con la hipercolesteronemia que produce resultados erróneos. La ventaja de este método es que abolió la necesidad de centrifugar con el uso de agentes precipitantes. Pero en general el método requiere grandes volúmenes de muestra y equipo especial y su especificidad no es muy alta (64).

### **iii) Métodos de tercera generación**

En 1998, siguiendo la introducción de métodos homogéneos para HDL, el primer método para LDL de este tipo fue reportado en Japón. El de mayor capacidad de llegar a una completa automatización, permitiendo tener mayor precisión, ya que eliminaba errores de pipeteo y adicionaba control de tiempo y temperatura de reacción.

Hasta el momento son los métodos recomendados por el Programa Nacional de Educación del Colesterol (NCEP). Estos métodos si poseen una gran ventaja con el cálculo por la fórmula de Friedewald, demostrando únicamente que las ventajas de la fórmula sobre estos métodos son la economía (65).

Estos métodos contienen diferentes detergentes y otros químicos los cuales realizan un bloqueo específico o solubilizan la lipoproteína específica LDL. El colesterol contenido en las LDL es medido enzimáticamente en la misma cubeta.

La imprecisión que presentan estos métodos es  $\leq 4\%$ . Su detección límite es de 0.2mg/dL, y el método conserva su linealidad hasta rangos de 410-420mg/dL de LDL (66).

#### **iv) Principio de la prueba a utilizar**

Roche Diagnostics LDL-C plus emplea la solubilización micelar selectiva del colesterol LDL por un detergente no iónico y la interacción de un compuesto de azúcar y lipoproteínas (VLDL y quilomicrones). Se incluye un detergente en él.

Método enzimático para la determinación del colesterol (reacción de acoplamiento de colesteroles-esterasa-colesterol oxidasa), las actividades relativas de colesterol en las fracciones de lipoproteínas aumentan en el siguiente orden: HDL < quilomicrones < VLDL < LDL. En presencia de magnesio  $Mg^{2+}$ , un compuesto de azúcar reduce pronunciadamente la reacción enzimática de la medición de colesterol en VLDL y quilomicrones. La combinación del compuesto de azúcar y un detergente permite la determinación selectiva del colesterol LDL en el suero.

### **K. Niveles de Colesterol en Pacientes Diabéticos**

La mayoría de los pacientes diabéticos tienen disminuidos sus niveles de colesterol HDL incluso más a menudo que elevados los niveles de colesterol LDL que en ocasiones pueden estar incluso normalizados. El colesterol HDL no siempre está valorado en las intervenciones clínicas, a pesar de que hay numerosas evidencias científicas sobre su valor cardioprotector. El incremento del colesterol HDL resulta fundamental en los pacientes diabéticos (30).

Los expertos señalan que, para prevenir problemas cardiovasculares, los niveles de colesterol en las personas diabéticas deben ser incluso menores que en las personas no

diabéticas. Las guías internacionales recomiendan que en un diabético se mantengan las siguientes cifras:

Colesterol LDL debe ser menor de 100 mg/dL

Colesterol HDL debe ser mayor de 35 mg/dL

En caso de que los niveles de colesterol en un diabético estén alterados, se deben utilizar fármacos, especialmente estatinas (que han demostrado ser los más eficaces) solas o combinadas con fibratos (otro tipo de medicamentos comúnmente utilizados) para conseguir prevenir problemas cardiovasculares. El Estudio Escandinavo de Supervivencia con Simvastatina (Estudio 4S) demostró que reduciendo el colesterol LDL y aumentando el HDL en pacientes diabéticos se conseguía reducir a menos de la mitad el riesgo de sufrir un infarto de miocardio, el número de muertes por este motivo e incluso redujo en un 40 por ciento el riesgo de ser hospitalizado por este motivo (30).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Algunas evidencias experimentales sugieren que las lipoproteínas de baja densidad (LDL), las mayores transportadoras de colesterol en sangre, están involucradas en la fase temprana del proceso arterogénico, como resultado de su modificación oxidativa. Por ésta razón su incremento constituye un elevado factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad coronaria.

Entre las condiciones médicas que están asociadas con un riesgo elevado de contraer enfermedades coronarias están diabetes mellitus, obesidad e hipertensión. En estas condiciones la membrana basal de venas y arterias puede inflamarse, oxidar lipoproteínas, lisar la matriz extracelular, acumular material rico en lípidos, activar plaquetas y formar trombos. Estas secuencias de disfunción endotelial contribuyen a la expresión de arterosclerosis que causa síndromes coronarios agudos. La diabetes mellitus tipo II frecuentemente es acompañada de un conjunto de irregularidades que incluyen obesidad (el factor principal que origina la resistencia a la insulina), aumento de la grasa abdominal, hipertensión y niveles anormales de lípidos en la sangre.

A pesar de que en la actualidad se dispone de métodos de determinación directa de la concentración de LDL, el uso de la fórmula introducida por Friedewald y colaboradores en 1972, permite estimar el valor de la LDL a partir de los valores plasmáticos de CT, TG y colesterol HDL; fundamentándose para ello en que la mayoría de TG son transportados por las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), y la concentración de colesterol de las VLDL corresponde a un quinto del valor de TG. La aplicación de esta fórmula sólo es válida mientras la concentración de triglicéridos no exceda de 300mg/dl o en muestras sin quilomicrones. Sin embargo en los últimos años, algunos autores han indicado diferentes grados de inexactitud y limitaciones en su uso, por lo que puede no cumplir con el actual requerimiento en las determinaciones de la LDL que puede llevar a una subestimación y algunos pacientes puedan ser catalogados como normales sin serlo (falsos negativos).



En el presente estudio se realizó la determinación directa de las LDL por un método enzimático, el cálculo de la concentración de LDL por la fórmula de Friedewald y la correlación entre ambos métodos, en pacientes adultos con Diabetes mellitus tipo II.

## V. OBJETIVOS

### A. General

Correlacionar el método directo enzimático con el cálculo por la Fórmula de Friedewald para la determinación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) en pacientes con diabetes mellitus tipo II.

### B. Específicos

1. Cuantificar los niveles séricos de lipoproteína de baja densidad (LDL) por método enzimático, en los pacientes con diabetes mellitus tipo II.
2. Determinar el error en el cálculo por la fórmula de Friedewald.
3. Evaluar la corrección del cálculo con la aplicación del análisis de regresión múltiple.
4. Promover el uso del mejor método de rutina para la determinación de la concentración de la lipoproteína de baja densidad (LDL).

## **VI. HIPÓTESIS**

No existe una buena correlación entre los resultados proporcionados por la fórmula de Friedewald para la determinación de colesterol LDL y el método enzimático de tercera generación recomendado por el Programa Americano de Educación del Colesterol para pacientes diabéticos.

## VII. MATERIALES Y METODOS

### A. Universo y Muestra

#### Universo de Trabajo

Pacientes con diabetes mellitus tipo II, de ambos sexos, que acudieron al Hospital Nacional Pedro de Bethancourt.

#### Muestra

75 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, que asistieron al Hospital Nacional Pedro de Bethancourt y desearon participar en el estudio, durante los meses de junio y julio de 2004.

### B. Recursos

#### Humanos

Adriana Galindo	Tesista
Licda. Alba Marina Valdés de García	Asesora

#### Institucionales

Hospital Nacional Pedro de Bethancourt.

Liga Guatemalteca del Corazón.

Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

#### Materiales y Equipo

##### a) Equipo

Equipo automatizado para pruebas bioquímicas Roche/ Hitachi ® (para Colesterol LDL) Liga Guatemalteca del Corazón

Equipo automatizado para pruebas bioquímicas Express Plus Bayer Diagnostics.  
(para colesterol total, colesterol HDL y triglicéridos) (No cuenta con prueba  
para colesterol LDL) Hospital Nacional Pedro de Bethancourt

Centrifuga

Congelador

Balanza

Agitador Vortex

## **b) Reactivos**

### **Para Equipo Roche/ Hitachi ®**

Tampón de ácido de 3-morfolinopropano sulfónico:20.1mmol/l, pH 6.5; 0.3g/l  
de ascorbato oxidasa y peroxidasa de rábano.

Tampón de ácido de 3-morfolinopropano sulfónico:20.1mmol/l, pH 6.8;  
MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 4-aminoantipirina, 0.5g/l de colesterol-estearasa; colesterol  
oxidasa, peroxidasa y detergente.

Kit para la determinación de Colestero LDL ( LDL-C plus de Roche ®)

Control 1 Precinorm V control normal.

Control 2 Precipath V control patológico

Control 3 Precinorm L control normal HDL/LDL

Control 4 Precipath HDL/LDL-C control patológico

Calibradores para sistemas automatizados: C.f.a.s (Calibrator for automated  
systems) Universal y C.f.a.s HDL/LDL-C plus (Calibrator for automated  
systems)

### **Para Equipo Express Plus Bayer Diagnostics ®**

Controles normal y patológico de BIORAD

Multicalibradores 1 y 2 de Bayer

Kit para determinación de Colesterol HDL, Colesterol Total y Triglicéridos

Alcohol

**c) Materiales**

Algodón

Jeringas

Tubos de ensayo sin anticoagulante

Guantes descartables

Maskin tape

Ligadura

Marcador indeleble

Boletas de selección y consentimiento informado para cada paciente

**C. Procedimiento****Reclutamiento de pacientes y determinación de factores asociados**

- a) Se seleccionó la muestra de 75 pacientes que acudieron a realizarse la determinación de colesterol LDL en el Hospital Nacional Pedro de Bethancourt.
- b) Se obtuvo consentimiento por escrito para participar en el presente estudio, incluyendo autorización para obtener muestra de sangre.
- c) Se realizó una entrevista con la información contenida en la boleta de selección del paciente (ver anexo no. 3)

**Criterios de Inclusión**

Ser adulto edad 25-60 años.

Tener diabetes mellitus tipo II diagnosticada

No estar usando tratamiento farmacológico para disminuir el colesterol.

Tener un ayuno de 12 horas.

**Obtención de la Muestra**

Se extrajeron 5cc de sangre a cada uno de los pacientes seleccionados para este estudio. La sangre se colocó en tubos de ensayo sin anticoagulante. Se separaron los sueros por centrifugación a 2,500 rpm por 10 minutos. Todos los sueros se almacenaron en tubos eppendorf en condiciones de congelación a -20°C hasta su procesamiento.

## 2. Procedimiento para el análisis de sueros

Se corrieron los sueros de acuerdo a los procedimientos para determinación de Colesterol total, Triglicéridos, Colesterol HDL y Colesterol LDL del aparato utilizado.

### **Determinación de Colesterol Total, Triglicéridos y Colesterol HDL**

Esta determinación se realizó en el Hospital Nacional Pedro de Bethancourt

- a) Se seleccionó con F1 la lista de trabajo
- b) Se seleccionó el tipo de muestra (control o muestra)
- c) Se seleccionaron controles
- d) Se seleccionó tipo de control Bio 1
- e) Se presionó F4 para insertar nueva petición y se guardó la seleccionada
- f) Se seleccionó control Bio 2
- g) Se presionó F4 para insertar nueva petición y guardar seleccionada
- h) Se presionó la tecla comenzar, se revisó lista de reactivos cargados y se presionó Enter.
- i) Se revisaron los resultados de controles ingresados
- j) Se colocaron las muestras en el equipo.
- k) Se ingresó la posición y los test analizados para cada muestra.
- l) Se realizaron las determinaciones de colesterol Total, Colesterol HDL y Triglicéridos.

### **Determinación de Colesterol LDL**

Esta determinación se realizó en La Liga Guatemalteca del Corazón

- a) Procedimiento antes de arrancar:
  - Se chequeó el nivel de Hightergent
  - Se observó el nivel de agua desionizada
  - Se chequeó el nivel de reactivos: se presionó Rutina1 enter
- b) Limpieza y ajuste de pipetas:
  - Se limpiaron las pipetas de muestra y reactivos con gasa humedecida con Hightergent al 2% seguido de agua desionizada

Se presionó MANTENIMIENTO AJUSTE DE PIPETAS

Se comprobó la alineación de las pipetas y se reajustaron si fue necesario

Se presionó STOP (las pipetas regresaron a sus posiciones originales)

c) Lavado de cubetas:

Se colocó una copa de muestra con NaOH 1N en posición W del disco de muestras.

Se colocó un frasco de 100 ml lleno de Hightergent al 2% en el canal 32 del disco R1 y R2 de reactivos.

Se presionó Rutina 5 enter: CONDICIONES DE INICIO. Se llevó el cursor a LAVADO y se presionó 2 enter: CELDAS

d) Chequeo del Fotómetro:

Se presionó Rutina 5 enter: CHEQUEO DEL FOTOMETRO. Enter

Se llevó el cursor a CHEQUEO DEL FOTOMETRO. Se examinaron los valores impresos. Estos debían ser menores de 16,000

e) Borrado de resultados anteriores:

Se presionó Rutina 5 enter

Se llevó el cursor a BORRADO DE RESULTADOS

Se seleccionó el No. 4: TODO (borrar todo)

Se confirmó con 1 enter

f) Borrado de programaciones anteriores:

Se llevó el cursor a Rutina 2 enter

Se llevó el cursor a BORRAR

g) Calibración de los test y corrida de controles

Se presionó Rutina 3 enter

Se seleccionó CALIBRACION INICIO

Se seleccionaron los test que se iban a calibrar

h) Corrida de muestras de rutina:

Se colocaron en las posiciones de 1 a 50 del disco de muestras

Se fue a Rutina 3 enter

Se ingresó la posición y los test para cada muestra

Inicio de la corrida



Se fue a Rutina 5 enter  
Se revisó el número de muestras a procesar  
Se fue a OPERATION MONITOR  
Se presionó START

### **Cálculo de la Concentración de la Lipoproteína de baja densidad por la fórmula de Friedewald**

Se calculó la concentración de LDL con la siguiente fórmula:  
$$CLDL = \text{Colesterol Total} - \text{Colesterol HDL} - \text{Triglicéridos}/5$$

### **Análisis estadístico**

Se utilizó el coeficiente de correlación intraclase.

#### **1. Tamaño de muestra**

Se tomaron 75 pacientes diabéticos que asistieron al Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, que cumplían con los criterios de inclusión.

#### **2. Muestreo**

Se muestrearon a 75 pacientes diabéticos que asistieron al Hospital Nacional Pedro de Bethancourt, que cumplían con los criterios de inclusión. Cada muestra se identificó con un número que correspondía a la boleta de recolección de datos. En esta boleta se incluyó la autorización por escrito de cada paciente para colaborar con la investigación.

## VIII. RESULTADOS

La edad promedio de los pacientes fue de  $46.83 \pm 8.18$  años (media  $\pm$  DE), 25.3% correspondió al sexo masculino y 74.7% al sexo femenino. Los valores promedio obtenidos de colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidad (HDL), triglicéridos (TG), lipoproteína de baja densidad (LDL) obtenida por el método enzimático y LDL obtenida por medio de la fórmula de Friedewald se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1 Valores promedio obtenidos**

Edad años	Colesterol Total mg/dL	Colesterol HDL mg/dL	Triglicéridos mg/dL	C LDL Fórmula de Friedewald mg/dL	Colesterol LDL Enzimático mg/dL
46.83	180.91	45.20	195.30	96.65	112.08

Fuente: datos experimentales

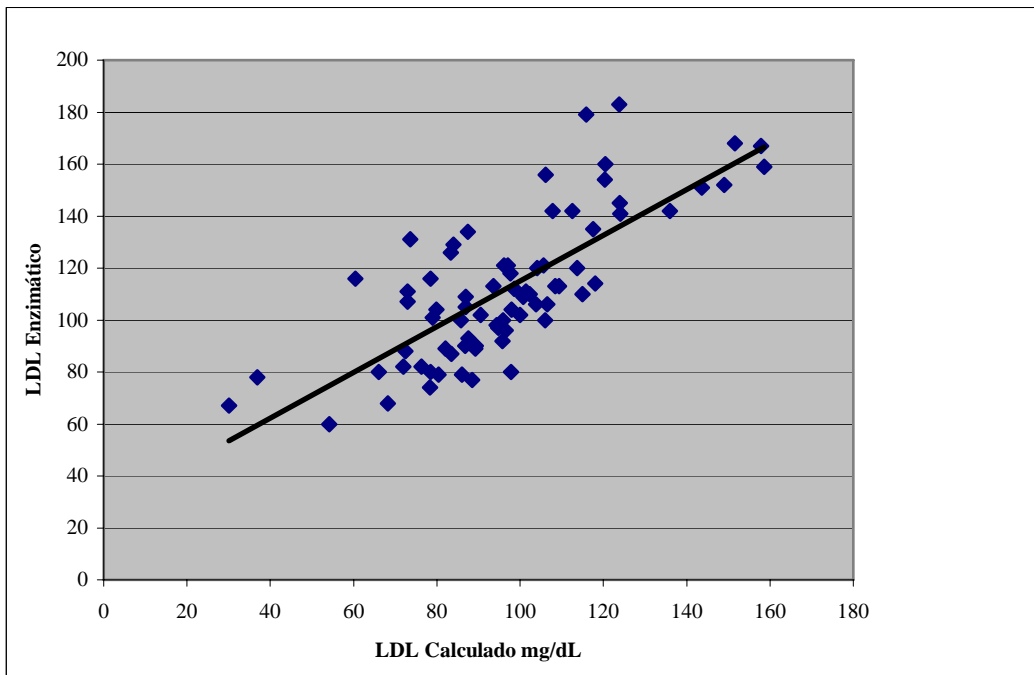
**Tabla 2 Análisis de coeficiente de correlación intraclass del Colesterol LDL enzimático y calculado**

	Colesterol LDL Calculado	Colesterol LDL Enzimático	Diferencia LDL Calculado- LDL Enzimático
Media	96.648	112.08	-15.432
Desviacion	24.15319463	27.807135	18.142432
Varianza	583.3768108	773.2367568	329.147838
DIF			
MEDIA	-15.432		
Icc=	1356.613568	1027.46573	238.146624
	1118.466944		
ri =	0.918637547		

Fuente: datos experimentales

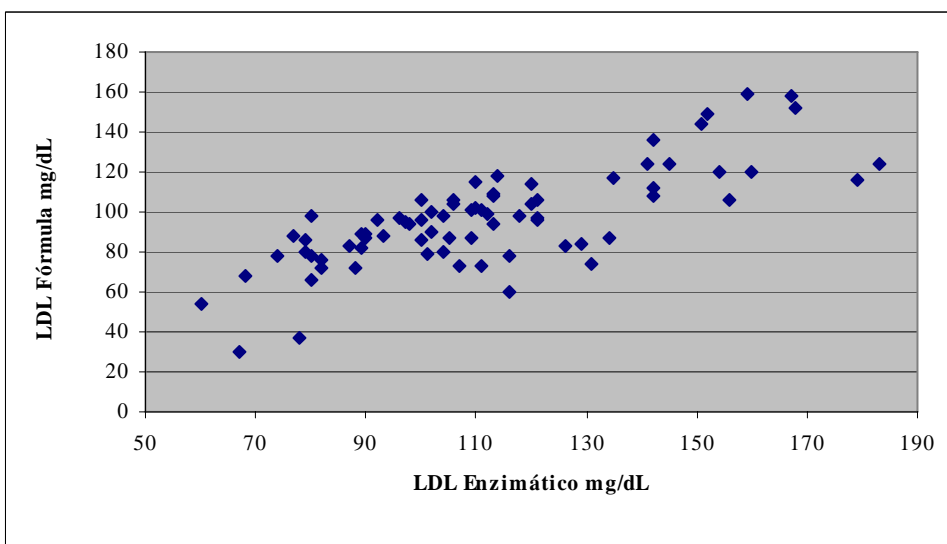
### Gráfica 1

Muestra la correlación entre la concentración de colesterol LDL por el método enzimático y la fórmula de Friedewald (n=75)



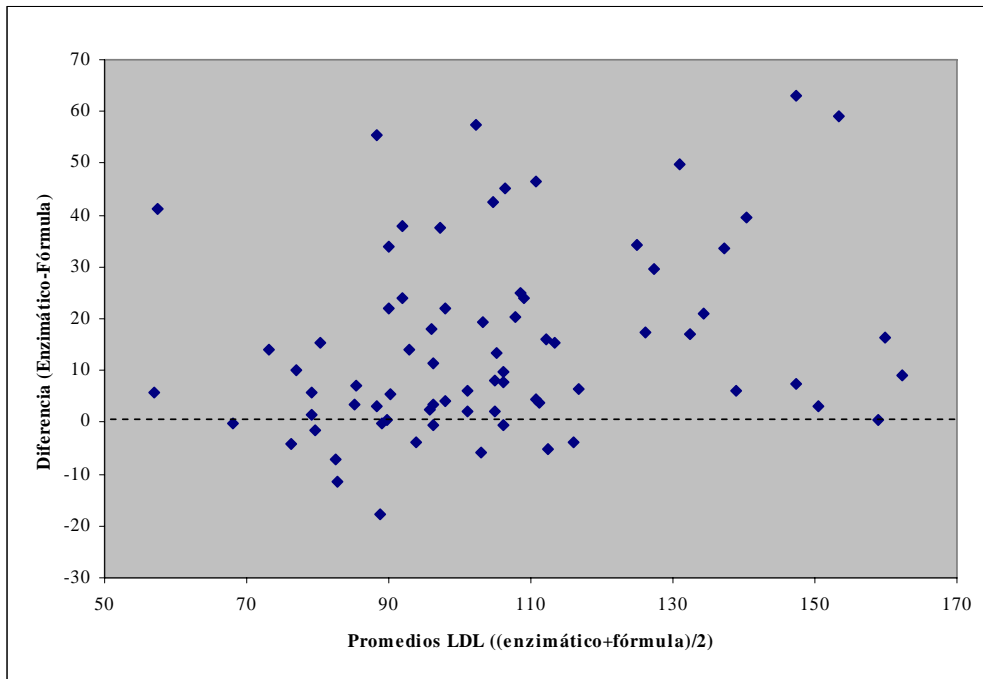
### Gráfica 2

Correlación entre los valores de LDL enzimático y por fórmula de Friedewald (n=75)



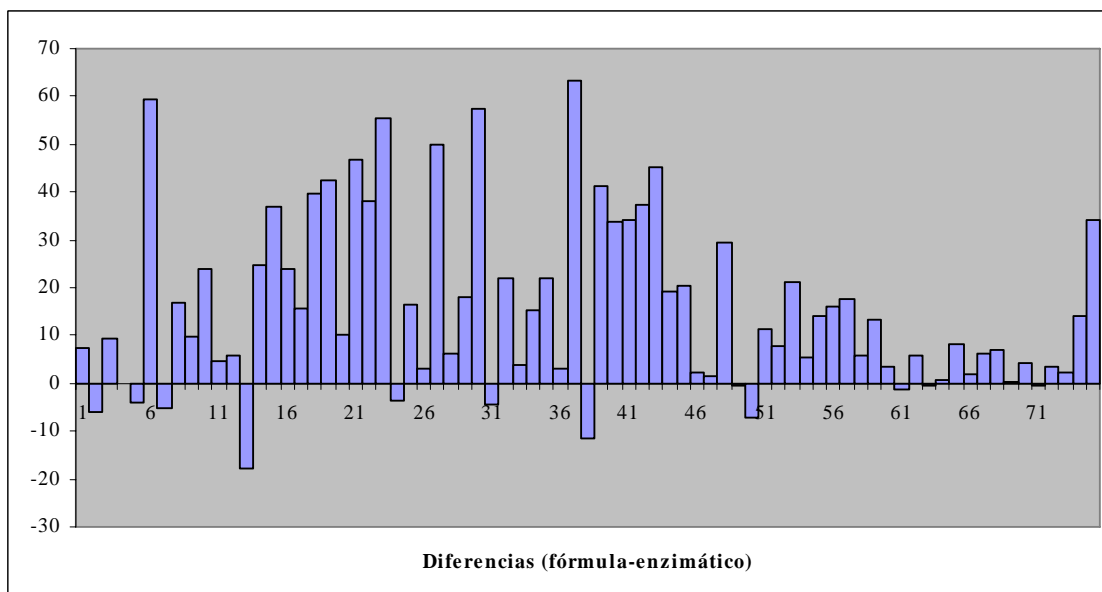
### Gráfica 3

Muestra la diferencia en los valores de LDL obtenidos por fórmula de Friedewald y LDL enzimático. Método Bland y Altman (n=75)



### Gráfica 4

Histograma de las diferencias entre el método de fórmula y el método enzimático para el cálculo del colesterol LDL (n=75)



## IX. DISCUSION DE RESULTADOS

La mayoría del colesterol en circulación es acarreado por las lipoproteínas de baja densidad (LDL), el aumento de estos niveles supone uno de los principales factores de riesgo en pacientes con diabetes mellitus tipo II ya que aumenta el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular .

En el presente estudio se determinaron las concentraciones plasmáticas de CT, TG, HDL y LDL mediante métodos enzimáticos directos, en pacientes adultos con diabetes mellitus tipo II. La concentración de LDL medida por métodos enzimáticos de tercera generación se utilizó como método base, debido a que es el recomendado por el Programa Nacional de Educación del Colesterol (NCEP) de los Estados Unidos.

La fórmula de Friedewald es muy utilizada por la mayoría de laboratorios clínicos en Guatemala para calcular las concentraciones de LDL tanto en pacientes ambulatorios como en emergencias. Esta fórmula puede utilizarse si los valores de triglicéridos son <400 mg/dL. Por esta razón se trabajó con pacientes con valores de triglicéridos dentro de este rango.

Al realizar el análisis estadístico de coeficiente de correlación intraclass para comparar los dos métodos de medición de LDL utilizados en el estudio se observó que tienen una concordancia muy buena (tabla 2). Esta concordancia puede observarse mejor en la gráfica 1 que muestra que la variación en conjunto está muy relacionada.

Se han propuesto nuevos protocolos de determinación directa de LDL que tratan de mejorar los resultados obtenidos con la fórmula de Friedewald. Sin embargo, la mayoría de los mismos representan incrementos de costos ya sea en reactivos o recursos tecnológicos, lo que los aleja como posibilidad real de centros de salud de los países en vías de desarrollo.

Un sencillo procedimiento gráfico para evaluar la concordancia entre dos métodos de medición es el propuesto por Band y Altman que consiste en representar las diferencias

entre dos mediciones frente a su media. La correlación existente entre ambos métodos ( $r=0.76$ ;  $p<0.05$ ) se presenta en la gráfica 2, donde se observa una correlación positiva y estadísticamente diferente de cero.

En la gráfica 3 se observa que algunas mediciones han concordado. La mayoría de veces el análisis enzimático de LDL ha proporcionado valores superiores que la fórmula de Friedewald, de hecho la media de dichas diferencias es positiva (15.43). Sin embargo esta discordancia no aumenta proporcionalmente con el aumento del valor de LDL. Las diferencias son homogéneas a lo largo de eje horizontal.

La distribución de las diferencias puede observarse mejor en el histograma (gráfica 4) donde se ve claramente el predominio de las diferencias positivas mostrando por lo tanto cómo la medición enzimática proporciona valores más elevados que la fórmula de Friedewald.

A pesar de que en las gráficas no se observa una concordancia absoluta de las mediciones por ambos métodos, con el resultado del análisis estadístico se demostró que existe una muy buena correlación entre la determinación directa de LDL por el método enzimático y la fórmula de Friedewald en pacientes diabéticos tipo II y que dicha fórmula presenta las ventajas de fácil aplicación y bajo costo, lo que permite sugerir su aplicación en estudios clínicos.

## **X. CONCLUSIONES**

1. Existe correlación entre la determinación de LDL enzimático y el cálculo por la fórmula de Friedewald en pacientes con diabetes mellitus tipo II.
2. El análisis enzimático de LDL proporciona la mayoría de veces, valores superiores que la fórmula de Friedewald.
3. Los resultados de la aplicación de la fórmula de Friedewald no se diferencian estadísticamente de los obtenidos con métodos analíticos directos en pacientes diabéticos con colesterol LDL en un rango de 60-180 mg/dl.

## **XI. RECOMENDACIONES**

1. Se debe utilizar un método enzimático para la medición de colesterol LDL cuando sea posible, debido a que en pacientes diabéticos los niveles elevados de LDL constituyen un riesgo elevado de enfermedad cardiovascular.



## XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Kaplan LA. Química Clínica; Técnicas de Laboratorio, Fisiopatología, Métodos de análisis. Argentina: Editorial Panamericana, 1988. 773p. (p. 580-623).
2. Murray, Mayes R, Granner P. Bioquímica de Harper. México: Editorial El manual moderno, 1997. 968p. (p. 341-359).
3. Isselbacher et al. Principios de Medicina Interna de Harrison. 13. ed. México: McGraw-Hill, 1995. 2010 p. (p. 1979-1999).
4. Guyton H. Fisiología médica. México: Editorial: Mc. Graw-Hill Interamericana, 1997. 736 p. (p. 250-264).
5. Cotran, Kumar, Collins. Patología estructural y funcional. 6. ed. México: Editorial Mc. Graw-Hill Interamericana, 1999. 1050 p. (p. 689-714).
6. Wyngaarden JB, Smith H. Cecil Tratado de medicina interna. 18. ed. México: Editorial Mc. Graw Hill Interamericana, 1991. 958p. (p. 223-237).
7. Steiner DF. The biosynthesis of insulin and a probable precursor of insulin by a human islet cell. Proc Natt Acad Sci. 1997; 57:473-477.
8. Rubenstein AH. Proinsulin and its derivatives; Diabetes mellitus diagnosis and treatment. 8. ed. New York: American Diabetes Association, 1991.
9. Cataland S *et al.* Gastric inhibitory polypeptide (GIP) stimulation by oral glucose in man. J Clin Endocrinol Metab 1994; 39:232-240.
10. Eaton RP. Physiology of insulin in man. Diabetes Care 1995; 62:695-703.
11. DeGraef J. Pathophysiology of Diabetes mellitus. Med Clin North Am. 1998; 25:136-142.
12. McGilvery RW. Conceptos Bioquímicos. España: Editorial Reverté, 1997. 594 p.
13. Guyton AC, Hall JE. Fisiología Médica. 9. ed. Estados Unidos: Editorial Saunders, 1996. 480p (p. 196-209)
14. American Diabetes Association: Detection and management of Lipid disorders in Diabetes. Diabetes Care 1993; 16/ 2:106.
15. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. Nature 2001; 414:799-806.
16. Zimmet P, Alberti KGMM, Shaw J. Global and societal implications of the diabetic epidemic. Nature 2001; 414:782-787.

17. Polonsky KS, Sturis J, Bell GI. Non-insulin dependent diabetes mellitus. A genetically programmed failure of the b-cell to compensate for insulin resistance. *N Engl J Med* 1996; 334:777-783.
18. Masbad S. Role of residual insulin secretion in protectind against Ketoacidosis in insulin dependent diabetes. *Br Med J.* 1999; 2:257.
19. *Diabetes Care* 1997; 20:7.
20. Bernard H. Diagnóstico y tratamientos clínicos por el laboratorio. 9. ed. España: Ediciones Científicas y Técnicas, 1993. 300p. (p200-212).
21. Rorsman P. The pancreatic b-cell as a fuel sensor: an electrophysiologist's viewpoint. *Diabetologia* 1997; 40: 487-495.
22. Takahashi N *et al.* Fusion pore dynamics and insulin granule exocytosis in the pancreatic islet. *Science* 2002; 297:1349-1352.
23. Brun T *et al.* Long chain fatty acids inhibit acetyl-CoA carboxylase gene expression in the pancreatic b-cell line INS-1. *Diabetes* 1997; 46:393-400.
24. Liu YQ, Tornheim K, Leahy JL. Fatty acid-induced b-cell hypersensitivity to glucose. Increased phosphofructokinase activity and lowered glucose-6-phospahte content. *J Clin Invest* 1998; 101:1870-1875.
25. Kannel W, Mc Gee D. Diabetes and Cardiovascular disease: The Framingham Study. *JAMA* 1979; 241:2035-2038.
26. Kuusisto J *et al.* NIDDM and its metabolic control predict coronary heart disease in elderly subjects. *Diabetes* 1994; 43:960–967.
27. Barret, Connor E, Wingard D. Sex differential in Isquemic Heart Disease Mortality in Diabetics: A prospective population - based study. *Am J Epidemiol.* 1983; 118: 489 – 496.
28. Roos R. The patogénesis of atherosclerosis. *N Engl J Med.* 1976; p.295-369.
29. Ross R. The patogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; p.801.
30. Control de la Colesterolemia en España, 2000: Un instrumento para la Prevención Cardiovascular”. *Rev Esp Cardiol.* 2000; p.815 – 837.
31. Tietz NW. Fractionation of lipoproteins; Textbook. *Clinical Chemistry Philadelphia,* WB Saunders. 1986. 276p. (p.89-101).

32. Isselbacher K *et al.* Principios de Medicina Interna. 13. ed. Madrid, España: Interamericana McGraw-Hill. Vols, 2, 1994, 1436p. (p1096).
33. Interamerican Heart Foundation. Dedicated to reducing disability and death from cardiovascular diseases in the Americas. Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases in The Americas 1996; 210:39,66.
34. Jauhiainen M. 1997. Clasificación, prevalencia, detección, evaluación. USA. Consultado en septiembre de 2002.  
[Http://www.lymetel.com/formación/lclsifi/html/septiembre2002](http://www.lymetel.com/formación/lclsifi/html/septiembre2002).
35. Philips M. Studies of apolipoproteins at the air-water interface. En: Segrest J, Albers J, editores. Methods in enzyme. Orlando:Academic Press, 1986. (p387-402).
36. Breslow JL. Apolipoprotein genetic variation and human disease. Physiol Rev. 1988; p85-132.
37. Mahley RW *et al.* Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. J Lipid Res. 1984; p1277-1294.
38. Jackson CL, Bruns GA. Isolation and sequence of a human apolipoprotein C-II cDNA clone and isolate and map to human chromosome 19 the gene for apolipoprotein C-II. Proc Natl Acad Sci. 1984; p2945-2949.
39. Wolfram, G y Stephen D. Role of apolipoprotein D in the transport of bilirubin in plasma. Am J Physiol. 2000. Pp. 279.
40. Beisiegel U. The LDL receptor-related- protein, LRP, is an apolipoprotein E-binding protein. Nature 1989; p162-164
41. Sreelainen S *et al.* Association between Apolipoprotein E Alleles and Autoantibodies against Oxidised Low-Density Lipoprotein. Clin Chem Lab Med 2000; p477-478
42. Cyril D *et al.* Comparison of the LDL-receptor binding of VLDL and LDL from apoE4 and apoE3 homozygotes. Am J Pathol. 1999; pE553-E557.
43. Christie RH *et al.* Expression of the macrophage scavenger receptor, a multifunctional lipoprotein receptor, in microglia associated with senile plaques in Alzheimer's disease. Am J Pathol. 1996; p399-403.
44. Batal R *et al.* Plasma kinetics of apoC-III and apoE in normolipidemic and hypertriglyceridemic subjects. J. Lipid Res. 2000, p706-718.

45. Brown MS. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; p34-47.
46. Drake TA *et al.* Minimally oxidized low-density lipoprotein induces tissue factor expression in cultured human endothelial cells. *Am J Pathol* 1991; p601-607.
47. Febbraio M *et al.* Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J Clin Invest.* 2000; 105: 1049-1056.
48. Steimberg D *et al.* Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N England J Med.* 1989; p915.
49. Brown MS. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; p34-47.
50. Brown BG *et al.* Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid-lowering therapy in men with high apolipoprotein B. *N Engl J Med.* 1990; p1289
51. Vijayagopal P. Macrophages stimulate cholesteryl ester accumulation in cultured smooth muscle cell incubated with lipoprotein-proteoglycan complex. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996, p1112-1121.
52. Schwenke DC. Initiation of atherosclerosis lesion in cholesterol fed rabbits. Selective retention of LDL versus selective increases in LDL permeability in susceptible sites of arteries. *Arteriosclerosis.* 1989. p908-918.
53. Smith EB *et al.* Distribution of plasma protein across the human aortic wall: barrier functions and endothelium and internal elastic lamina. *Atherosclerosis.* 1980; p579-590.
54. Lewis B *et al.* Selective retention of VLDL, IDL and LDL in the arterial intima of genetically hyperlipidemic rabbits in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995; p534-542.
55. Simionescu N, Lupu F. Prelesional events in atherogenesis. *Am J Pathol.* 1986; 109-125.
56. Siekmeier R, Marz. Precipitation of LDL with sulfated polyanions: three methods compared. *Clin Chim.* 1990; 36:2109-2113.
57. Warnick GR *et al.* Estimation of low-density lipoprotein cholesterol by Friedewald equation is adequate for classifying patients on the basis of nationally recommended cutpoints. *Clin. Chem.* 1990; 36:15-19.

58. Mcnamara JR. *et al.* Calculated values for LDL in the assessment of lipid abnormalities and coronary disease risk. *Clin. Chem.* 1990; 36:36-42.
59. Nauck M *et al.* Methods for Measurement of LDL-Cholesterol: A Critical assessment of Direct Measurement by Homogeneous Assays versus Calculation. *Clin. Chem.* 2002; 2:236-254.
60. Nauck M *et al.* Measurement of LDL and VLDL cholesterol with precipitation techniques. A comparison with the ultracentrifugation method. *Clin. Lab.* 1994; 40:167-76.
61. Rifai N. *et al.* Measurement of low density lipoprotein cholesterol in serum. *Clin. Chem.* 1992; 38:150-60.
62. Nauck M *et al.* A simple precipitation-based method for screening of type III hyperlipoproteinemia. *Clin. Chem* 1999; 45:909-11.
63. Pisani T. Accurate direct determination of LDL using an immunoseparation reagent and enzymatic cholesterol assay. *Arch. Pathol Lab. Med* 1995; 119:1127-1135.
64. Small DM. Progression and regression of atherosclerosis lesions: insights from lipids physical biochemistry. *Atherosclerosis* 1988. (p 103-129).
65. Duerschmidt N *et al.* Angiotensin II Induces LOX-1, the Human Endothelial Receptor for Oxidized Low-Density Lipoprotein *Circulation.* 1999. (p 899-902).
66. Rifai N *et al* Analytical and clinical performance of a homogeneous enzymatic LDL-cholesterol assay compared with the ultracentrifugation dextran sulfate-Mg 2+ method. *Clin Chem* 1998; 44/2:1242-1250.
67. Pita Fernández S, Pértegas Díasz S. La fiabilidad de las mediciones clínicas: el análisis de concordancia para variables numéricas. *Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. España.* 12/01/2004.  
[http://www.fisterra.com/mbe/investiga/conc\\_numerica/top#top](http://www.fisterra.com/mbe/investiga/conc_numerica/top#top)

## Anexo 1

### Carta de consentimiento informado

**Establecimiento:** \_\_\_\_\_

Lugar: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre del Entrevistador: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Yo \_\_\_\_\_ hago constar que \_\_\_\_\_

Nombre completo

Nombre del entrevistador

me explicó que la lipoproteína de baja densidad es un factor de alto riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. Me explicó que las personas con diabetes mellitus tipo II son las que tienen un mayor riesgo de padecer de hipertrigliceridemia. El también me explicó que se puede hacer un examen de sangre para saber si uno tiene elevada la lipoproteína de baja densidad.

El entrevistador me explicó que el estudio tiene como objetivo realizar la determinación directa de las LDL por un método enzimático, el cálculo de la concentración de LDL por la fórmula de Friedewald y la correlación entre ambos métodos, en pacientes con diabetes mellitus tipo II; me preguntó si quiero participar y me aclaró que para eso necesitan tomar una muestra de sangre del brazo y que esto no da ningún malestar, pero si puede producir un morete que se quita en pocos días.

Además me informó que el estudio no me pagará si estoy interesado en formar parte de éste ni me dará un tratamiento si padezco la enfermedad. Me explicó que los resultados de los exámenes de sangre y mi nombre se mantendrán en forma anónima. Me aclaró que tengo la libertad de decidir si quiero participar y de retirarme en cualquier momento que lo desee sin ningún compromiso.

El me explicó que puedo preguntar cualquier duda a Adriana Galindo al teléfono 8315967 o a los doctores especialistas.

Habiendo preguntado todo lo necesario acepto participar voluntariamente y firmo esta hoja de consentimiento informado o pongo mi huella digital para indicar que entendí las explicaciones y estoy de acuerdo.

## **Anexo 2**

### **Guía del entrevistador**

Esta guía incluye las definiciones de cada término científico que se le explicará de forma comprensible a cada paciente entrevistado.

- Diabetes mellitus: elevación de azúcar en la sangre.
- Diabetes mellitus tipo II: elevación de azúcar en la sangre a consecuencia del sobrepeso por el tipo de alimentos que consume.
- Diabetes mellitus tipo I: elevación de azúcar en la sangre desde el nacimiento.
- Tratamiento de la diabetes mellitus tipo II: para bajar el azúcar en la sangre debe hacer dieta, ejercicios o tomar pastillas para bajar el azúcar y/o inyectarse insulina.
- Hipertrigliceridemia: elevación de la grasa en sangre.
- Hiperlipidemia: elevación de colesterol bueno y malo en la sangre.
- Enfermedades crónicas: enfermedades que se tienen por un largo tiempo.
- Hipotiroidismo: si ha aumentado mucho de peso sin comer en exceso, dificultad para defecar, intolerancia a las temperaturas frías, piel seca y voz ronca.
- Hipertiroidismo: ha bajado de peso alimentándose siempre igual, temblor de las manos, intolerancia al calor, sudoraciones, diarreas y no duerme bien.
- Enfermedad renal: se levanta en las mañanas hinchado, la hinchazón se mantiene o aumenta durante el día, orina poco.
- Lipoproteína de baja densidad: colesterol malo en la sangre.

### Anexo 3

#### Boleta de selección del paciente

#### DETERMINACIÓN DE LA LIPOPROTEÍNA DE BAJA DENSIDAD LDL

Yo \_\_\_\_\_ estoy de acuerdo en participar en el estudio. Sé que no estaré expuesto(a) a ningún riesgo y que mi participación es completamente voluntaria y confidencial.

Fecha \_\_\_\_\_ No. de muestra \_\_\_\_\_ No. de encuesta \_\_\_\_\_

Paciente \_\_\_\_\_

Edad \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_ Departamento \_\_\_\_\_

Favor marcar con una X lo que se le pregunta a continuación:

- |   |    |    |
|---|----|----|
| 1. Padece de Diabetes mellitus  | Si | No |
| 2. Está bajo tratamiento para controlar la diabetes                                 | Si | No |
| 3. Fuma más de cinco cigarrillos diarios  | Si | No |
| 4. Padece de hipertensión arterial (mayor o igual 140/90 mmHg)                      | Si | No |
| 5. Está bajo tratamiento antihipertensivo   | Si | No |
| 6. Tiene historia familiar de enfermedades coronarias                               | Si | No |
| 7. Se ha realizado chequeos anteriormente sobre su nivel de<br>colesterol en sangre | Si | No |
| 8. Está bajo tratamiento farmacológico para disminuir el colesterol                 | Si | No |
| 9. Realizó un ayuno estricto de 12 horas  | Si | No |

#### Resultados del perfil lipídico

Colesterol total \_\_\_\_\_ mg/dl      Triglicéridos \_\_\_\_\_ mg/dl

HDL \_\_\_\_\_ mg/dl      LDL calculado \_\_\_\_\_ mg/dl

LDL enzimático \_\_\_\_\_ mg/dl



**Anexo 4**  
**Valores de referencia para el perfil lipídico (15)**

<b>Analito</b>	<b>Valor mg/dl</b>	<b>Nivel de referencia</b>	<b>Riesgo cardiovascular</b>
<b>Colesterol total</b>	< 200	Deseable	Bajo
	200-239	Límite alto	Moderado
	> 240	Alto	Alto
<b>Colesterol HDL</b>	< 35	Bajo	Alto
	35-60	Medio	Depende de otros factores
	> 60	Alto	Negativo
<b>Colesterol LDL</b>	< 130	Deseable	Bajo

<b>Analito</b>	<b>Valor mg/dl</b>	<b>Nivel de referencia</b>	<b>Riesgo de pancreatitis</b>
<b>Triglicéridos</b>	< 200	Deseable	No
	200-240	Límite alto	No
	> 800	Alto	Si

**Anexo 5**  
**Valoración de la concordancia según los valores del Coeficiente de Correlación  
 Intraclase (CCI) (67)**

<b>Valor del CCI</b>	<b>Fuerza de la Concordancia</b>
>0,90	Muy buena
0,71-0,90	Buena
0,51-0,70	Moderada
0,31-0,50	Mediocre
<0,30	Mala o nula

### Anexo 6

#### Resultados de las concentraciones séricas del perfil lipídico y las estimaciones del colesterol LDL por la fórmula de Friedewald

Edad	Sexo	Colesterol Total	Colesterol HDL	Triglicéridos	Colesterol LDL Calculado	Colesterol LDL Enzimático
43	F	217	41.3	160	143.7	151
52	F	195.1	30	295.6	105.98	100
60	F	254	50	231	157.8	167
56	M	161	27	224	89.2	89
57	F	206	40	240	118	114
59	F	199	42	166	123.8	183
45	M	198.8	43.4	202	115	110
50	F	209	52	165	124	141
50	F	157	25	153	101.4	111
56	F	211	48	330	97	121
53	F	190	54	138	108.4	113
61	F	168	30	200	98	104
43	F	157	29.6	148	97.8	80
48	M	178.5	46.4	180	96.1	121
35	F	141.5	74	187	30.1	67
46	F	175	38.7	282	79.9	104
49	F	159	35.7	254	72.5	88
51	F	194.5	36.4	188	120.5	160
53	M	184.1	36.1	323	83.4	126
48	F	147.2	47.6	138	72	82
36	F	203.8	41.4	375	87.4	134
34	F	160.3	54.3	165	73	111
39	M	152.5	44.3	238.9	60.42	116
41	M	189.7	38.3	278	95.8	92
59	F	254	69.6	164	151.6	168
30	F	169.9	56.5	133	86.8	90
43	F	187.4	48.3	165	106.1	156
38	F	213.2	41.7	178	135.9	142
45	F	170.2	55.1	141	86.9	105
47	F	160.8	55.4	159	73.6	131
32	M	161	46.9	179	78.3	74
53	F	155.3	45.7	153	79	101

---

44	F	192.5	58.4	124	109.3	113
55	F	208.7	74.1	145	105.6	121
37	F	164.1	49.8	137	86.9	109
33	F	224.8	42.4	167	149	152
39	M	232.6	52.4	322	115.8	179
46	F	169.5	39.9	206	88.4	77
42	M	125.3	39.6	244	36.9	78
52	F	218.9	54.9	218	120.4	154
57	F	189.5	50.3	157	107.8	142
60	F	186.1	49.6	290	78.5	116
43	F	170.2	48.2	190	84	129
55	F	165.1	27.1	222	93.6	113
39	M	180.5	34.6	241	97.7	118
40	M	150.9	28.2	140	94.7	97
38	F	137.9	32.4	135	78.5	80
43	F	206	36.1	287	112.5	142
51	F	168.3	45	134	96.5	96
56	F	151.6	41.6	120	86	79
40	F	183.7	46.2	235	90.5	102
49	F	186.2	37.1	234	102.3	110
50	F	199.1	42	166	123.9	145
38	M	165.4	45.8	160	87.6	93
32	M	142.7	50.4	131	66.1	80
46	M	169.5	40.2	126	104.1	120
49	F	208.2	63.3	137	117.5	135
31	F	136	46.9	175	54.1	60
55	F	185	43.4	215	98.6	112
35	M	193.9	60.9	193	94.4	98
51	F	173.1	64.7	140	80.4	79
48	F	145.7	33.6	179	76.3	82
37	F	193.1	47.6	195	106.5	106
40	F	172.3	43.3	198	89.4	90
52	F	187.6	37.4	247	100.8	109
47	F	193.4	51.4	210	100	102
52	F	206.8	55.3	189	113.7	120
48	F	168.2	57	146	82	89
55	M	249	51.4	195	158.6	159
44	F	187.8	38.5	267	95.9	100
50	M	163.5	61.4	169	68.3	68
61	M	155.7	36	181	83.5	87

---

50	M	149	28	86	103.8	106
49	F	168	25	286	85.8	100
61	F	162	54	175	73	107
46.83		180.91	45.20	195.30	96.65	112.08