

Direkt LDL-C Ölçümü ile Martin Hopkins ve Friedewald Hesaplaması: RCV ile Değerlendirme

Martin Hopkins and Friedewald Calculation with Direct LDL-C Measurement: Evaluation with RCV

Erdem Çokluk*, Mehmet Ramazan ŞEKEROĞLU*,
Fatıma Betül TUNCER* M. Ramazan Akdemir**

* Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

** Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye

Uluslararası Laboratuvar Tıbbi ve XX. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur

Başvuru Tarihi: 28 Kasım 2020

Kabul Tarihi: 11 Ocak 2021

ÖZET

Amaç: Çalışmada Enzimatik(direkt) ve hesaplamalı yöntemle belirlenen LDL-C düzeylerinin uyumunun saptanması, tekrarlayan LDL-C ölçümlerinin yüzde değişiminin % referans değişim değeri(%RCV) ne göre anlamlılığı incelenerek optimal istem sıklığı hakkında fikir sahibi olmak amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Bir yıl içinde iki defa lipid profile analiz edilen 18-65 yaş arası toplam 179 bireyin tetkik sonuçları laboratuvar bilgi yönetim sisteminden alındı. Ölçülen LDL-C düzeyleri ile Martin/Hopkins ve Friedewald formülü ile hesaplanan LDL-C düzeylerinin ilişkisi incelendi. Sonuçların karşılaştırılmasında Bland-Altman analizi kullanıldı. Ayrıca tekrarlayan LDL-C sonuçlarının yüzde değişimi, hesaplanan RCV ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Her iki hesaplamalı LDL-C düzeyi de direkt ölçüme göre düşük saptandı. Direkt ve hesaplamalı yöntemlerin korelasyonu yüksek saptansa da Blant Altman analizinde farkların ortalaması LDL için hesaplanan %RCV den yüksek saptandı. Direkt ölçümde ilk LDL-C sonucu 130mg/dL'nin, Friedewald hesaplamasında ise 160mg/dL'nin üzerinde olan tekrarlayan ölçümlerin % değişimi, % RCV'ye göre anlamlı bulundu.

Sonuç: LDL-C sonucu verirken yöntemler arası varyasyonlara bağlı hataları önlemek için LDL-C takibinde aynı yöntemin kullanılması gerektiği kanaatindeyiz. Ayrıca sonuçlar arası değişim değerlendirilirken analitik ve biyolojik varyasyonların ölçüm sonuçlarına etkisinin de dikkate alınması gerekmektedir. Böylece gereksiz istemlerin ve meydana gelebilecek kayıpların, yanlış tanı ve tedavilerin önüne geçilebileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: LDL Kolesterol; Martin/Hopkins Formülü; Friedewald formülü; Referans Değişim Değeri; Lipid parametreleri; Optimal test istem Sıklığı

Erdem Çokluk : 0000-0002-6205-5109
Mehmet Ramazan ŞEKEROĞLU : 0000-0001-8383-6740
Fatıma Betül TUNCER : 0000-0002-4034-4188
M. Ramazan Akdemir : 0000-0002-2262-3087

Yazışma adresi: Dr. Erdem Çokluk
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Adapazarı, Sakarya
Telefon: 0506 49716 15
E-mail: erdemcokluk205@hotmail.com

ABSTRACT

Objective: In the study, it was aimed to determine the harmony of LDL-C levels determined by enzymatic(direct) and computational method, to have an idea about the optimal request frequency by examining the significance of the percentage changes of repeated LDL-C measurements according to the reference change value(RCV).

Materials and Methods: Results of a total of 179 individuals aged 18-65, whose lipid profiles were analyzed twice in a year, were obtained from the laboratory information management system. The relationship between the measured LDL-C levels and the LDL-C levels calculated by Martin/Hopkins and Friedewald formulas was examined. Bland-Altman analysis was used to compare the results. In addition, the percentage changes of repeated LDL-C results was compared with the calculated RCV were evaluated.

Results: Both computational LDL-C levels were lower than direct measurement. Although the correlation of direct and computational methods was found to be high, the mean of the differences was found to be higher than the %RCV calculated for LDL in Blant Altman analysis. The change in the repeated measurements of those with the first LDL-C result above 130mg/dL in direct measurement and above 160mg/dL in the Friedewald calculation was significant compared to the RCV%.

Conclusion: While presenting the LDL-C result, we believe that the same method should be used in monitoring LDL-C in order to avoid errors due to variations between methods. The effect of analytical and biological variations on measurement results should also be taken into account while evaluating the variation between results. Thus, unnecessary tests, misdiagnoses and treatments can be avoided.

Keywords: LDL Cholesterol; Martin / Hopkins Formula; Friedewald formula; Reference Change Value; Lipid parameters; Optimal test order frequency

GİRİŞ

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerdeki ölüm nedenlerinin en başında kardiyovasküler hastalıklar (KVH) gelmektedir (1). Kardiyovasküler hastalıklar için değiştirilebilen ve değiştirilemeyen bir çok risk faktörü mevcuttur. Dislipidemi, sigara, hipertansiyon ve obezite riskin yaklaşık %80'ini oluşturmaktadır (2). Bu faktörlerden dislipidemi; plazmada bulunan şilomikronlar, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL), orta yoğunluklu lipoprotein (IDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) ve lipoprotein a (Lpa)'nın yapılarındaki Apo-B aracılığıyla ateroskleroz zemininde kardiyovasküler hastalık riskini arttırmaktadır (3).

Klinik olarak KVH riskini azaltmak, erken saptanmasını sağlamak ya da hastaları takip etmek için belirli aralıklarla dolaşımdaki lipit parametrelerinin ölçümü yapılmaktadır. Optimal ölçüm sıklığı yaşa göre ya da iskemik kalp hastalığı (İKH) riskine göre belirlenmektedir (2, 4-6). Tarama yöntemi olarak ise Amerikan Endokrinologlar Birliği-2017 (AACE- 2017) kılavuzunda LDL-C, HDL-C, Trigliserit (TG), total kolesterol ölçümü yapılması önerilmektedir(4)

Tedavi, özellikle ApoB içeren lipoproteinlerin büyük çoğunluğunu oluşturan (>%90) LDL-C düzeyine göre planlanmaktadır (7). LDL-C düzeyi kolesterol oksidaz aracılığıyla katalizlenen enzimatik reaksiyonla direkt olarak ölçülebilmekle beraber Friedewald denklemi (1972) kullanılarak da hesaplanabilmektedir. LDL-C düzeyi Friedewald denklemi kullanılarak hesaplanacaksa TG düzeyinin 400 mg/dL'den düşük olması ve açlık kanından (12-14 saatlik açlık) numune alınması doğru sonuç için önem arz etmektedir. Ayrıca LDL-C 70 mg/dL düzeyinin altında ölçüldüğünde de formülde hatalar meydana gelmektedir (2, 8).

Friedewald formula ile; $LDL-C = (Total\ kolesterol - HDL-C) - TG/5$ şeklinde hesaplanmaktadır.

Diğer hesaplama metodu olan Martin/Hopkins Formülü ise 2013 yılında geliştirilmiştir. Friedewald hesaplanmasındaki gibi açlık zorunluluğu olmayan numunelerde de hesaplama yapabilen bir formüldür. Bu formül kapsamında TG standart olarak 5 e bölünmek yerine her bireyin TG ve non-HDL kolesterol (non HDL= Total Kolesterol -HDL-C) düzeyine göre 3.1 ila 9.5 arasında değişen

180 farklı faktörden oluşan bir matris oluşturulmuştur. Ayrıca Martin/Hopkins Formülü ile elde edilen sonuçların LDL-C ölçümünde altın standart olan ultrasantrifüj yöntemi ile daha korele olduğu ve daha düşük LDL-C düzeylerinde de doğru sonuç verdiği bildirilmiştir(9, 10).

KVH riskinde tedavi hedefleri olarak LDL kolesterolün düşük riskli grup için 160 mg/dL'nin, orta derece riskli grup için 130 mg/dL'nin, yüksek riskli grup için 100 mg/dL'nin, çok yüksek riskli grup için ise 70 mg/dL'nin altında tutulması önerilmektedir. Laboratuvarımızda kullandığımız referans aralıkları NCEP-2003 ve TEMD-2019 kılavuzuna paralel olarak 100 mg/dL'nin altı Optimal, 100 – 129 mg/dL arası Optimuma Yakın / Optimumun Üzerinde, 130–159 mg/dl arası Üst Sınır, 160 – 189 mg/dL arası yüksek ve 190 mg/dL ve üzeri ise çok yüksek olarak belirlenmiştir (4, 5).

Hiperlipidemi tedavisinde bireylerde ilaç tedavisi ya da yaşam tarzı değişikliği ile LDL-C düzeylerini risk faktörlerine göre optimal seviyelere çekmek esas amaçtır. Bu nedenle bireylerin lipit parametreleri takip edilmekte ve tedavi planlanmaktadır. Ancak ölçüm sonuçlarının anlamlılığını değerlendirirken preanalitik, analitik, bireysel biyolojik varyasyona bağlı değişimleri de akılda bulundurmak gerekmektedir. Bu nedenle bir bireyde aynı analit için seri ölçümler arasındaki farkın anlamlılığı değerlendirirken referans değişim değeri (RCV) kullanılmalıdır (11). RCV değerinin anlamlılığı %95 ve %99 güven aralığında değerlendirilir ve % RCV olarak ifade edilir. Ölçüm sonuçları arasında değişimin anlamlı olarak kabul edilebilmesi için ölçümler arasındaki farkın, hesaplanan % RCV değerinden yüksek olması beklenmektedir (11).

Bu bilgiler ışığında rutin biyokimya laboratuvarımızda enzimatik analizle direkt yöntemle tespit ettiğimiz LDL-C düzeyini (E-LDL-C); Friedewald LDL-C (F-LDL-C) ve Martin/Hopkins LDL-C (MH-LDL-C) kolesterol değerleri ile karşılaştırarak yöntemlerin birbirleri ile uyumunu saptamayı amaçladık. Ayrıca tekrarlayan LDL-C ölçümlerinin yüzde değişimi-

nin ilk LDL-C sonucuna ve iki ölçüm arası süreye göre de gruplandırarak %RCV' ye göre değişiminin anlamlı olup olmadığını incelemeyi planladık. Bu sonuçlar kapsamında direkt ve hesaplamalı LDL kolesterol ölçümleri için optimal istem sıklığı hakkında fikir sahibi olmayı planlıyoruz.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Ocak 2019 - Ocak 2020 tarihleri arasında kardiyoloji polikliniğine başvuran ve bir yıl içinde iki defa lipid profili (HDL-C, LDL-C, Total kolesterol, Trigliserit) ve eş zamanlı olarak serumda Alanin aminotransferaz (ALT), Aspartat aminotransferaz (AST), Üre, Kreatinin, Sodyum (Na), Potasyum (K), glukoz değerleri analiz edilen 18-65 yaş arası 113 Erkek 66 Kadın olmak üzere toplam 179 bireyin analiz sonuçları laboratuvar bilgi yönetim sisteminden (LBYS) alınarak retrospektif olarak gerçekleştirildi.

Bireylerin lipid ve biyokimya parametreleri Olympus AU5800 (Beckman Coulter, Inc. Brea, CA92821 U.S.A.) ve AU680 Beckman Coulter (Beckman Coulter, Inc. Brea, CA92821 U.S.A.) biyokimya otoanalizörüyle çalışılmıştır. Kurumumuzda LDL-C düzeyi otoanalizör ile enzimatik olarak direkt yöntemle çalışmaktadır (E-LDL-C). Bu metotta öncelikle koruyucu bir ajanla LDL reaksiyona girmesi engellenerek LDL olmayan tüm lipoproteinler (HDL, VLDL, CM) kolesterol esteraz (CHE) ve kolesterol oksidazla (CHO) reaksiyona girmesi sağlanmakta ve ortaya çıkan hidrojen peroksit reaktif içerisindeki katalaz tarafından parçalanmaktadır. Daha sonar kolesterol oksidaz ve kolesterol esteraz reaksiyonları aşamalı olarak tekrarlanmakta ve meydana gelen hidrojen peroksitten peroksitaz ile kromojen madde oluşması sağlanmaktadır. Bu renk değişimi ile LDL konsantrasyonu hesaplanmaktadır. Direkt LDL-C ölçümü yapılan aynı bireylerde ayrıca HDL-C, total kolesterol, trigliserit sonuçlarından Martin/Hopkins Hesaplama şablonu (12) kullanılarak Martin/Hopkins LDL-C (MH-LDL-C) değeri ve yine aynı parametreler kullanılarak Friedewald formülü ile de Friedewald LDL-C (F-LDL-C) değeri hesaplandı (8).

Elde edilen verilerin istatistiksel hesaplamaları SPSS 20.0 programıyla yapıldı. Her üç yöntemle elde edilen LDL-C düzeyleri ile yöntemler arası farkların ortalamaları ve standart sapmaları kadın, erkek ve toplam olacak şekilde hesaplandı. Verilerin normallik dağılımını saptamak için Shapiro-wilk testi uygulandı. Normal dağılıma uymadığı tespit edilen veriler için Spearman Korelasyon analizi yapıldı. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi. LDL-C düzeyleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi için regresyon analizi yapıldı. Direkt ölçülen LDL-C ile hesaplanan LDL-C sonuçlarının karşılaştırılması için Bland-Altman analizi yapıldı. Ayrıca bireylerin aynı yıl içinde tekrarlayan LDL-C sonuçlarının değişim yüzdesi tüm bireyler dahil edilerek ve bireyler ilk LDL-C seviyelerine göre (LDL-C ilk ölçüm sonucu 100 mg/dL, 130 mg/dL, 160 mg/dL üzerinde olanlar olarak gruplandırıldı) istem aralığına göre (4 haftadan sık istem aralığı, 3 aydan sık istem aralığı, 3 aydan uzun istem aralığı) gruplandırılarak ayrı ayrı hesaplandı. Gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığı Kruskal Wallis analizi ile değerlendirildi. Ek olarak hastanın ilk sonucu ve ikinci sonucu arasındaki farkın ilk sonucuna göre yüzde değişimi LDL parametresi için hesaplanan referans değişim değeri (RCV) ile karşılaştırıldı. RCV hesabı yapılırken laboratuvar iç kalite kontrol (IKK) sonuçlarından analitik varyasyon katsayısı (CV_A) hesaplandı. CV_A hesabı için enzimatik olarak ölçülen direkt LDL-C parametresi için IKK sonuçları kullanıldı [*LDL Cholesterol calibrator (ODC0012-1059A), HDL Cholesterol Cal (ODC0011-1056A), System Serum Cal. Olympus 66300-1121J), HDL/LDL Cholesterol CNT Olympus (ODC0005-1027A/B), Control Serum 1 Olympus (ODC0003-1041L), Control Serum 2 Olympus (ODC0004-1042L)*]. Hesaplamayla elde edilen Friedewald ve Martin/Hopkins sonuçları için bu formüllerin içerdiği lipid parametrelerinin (HDL-C, total kolesterol, trigliserit) IKK sonuçları kullanılarak CV_A hesaplandı (13). Elde edilen CV_A değerleriyle European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) biyolojik varyasyon veritabanı CV_I değerleri kullanılarak %90, %95, %99 güven aralığında RCV'ler

hesaplandı (13). LDL-C sonuçlarının değişimi RCV düzeyine göre değerlendirildi.

18-65 yaş aralığı dışında olan ve aynı yıl içinde iki kez eş zamanlı olarak (aynı gün içinde) lipid ve biyokimya parametreleri bakılmayan bireyler ile trigliserit düzeyi 400 mg/dl üzerinde bulunan bireyler çalışma dışı bırakıldı.

Çalışma için Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi girişimsel olmayan etik kurulundan 04/04/2020 tarih ve 89 sayılı karar ile etik kurul onayı alındı

BULGULAR

Değerlendirilen 179 bireyin yaş ortalaması $52,6 \pm 19,6$ (erkekler için ortalama $54,9 \pm 13,8$, kadınlar için $48,6 \pm 24,8$ yaş) olarak hesaplandı. Çalışmaya dahil edilen bireylere ait çalışılan ve hesaplanan analitlerin sonuçları $X \pm SD$ olarak kadın, erkek ve toplam olacak şekilde Tablo 1'de sunulmuştur. Bireylerin E-LDL-C analiz sonucu ile hesaplanan LDL-C değerinin (MH-LDL-C, F-LDL-C) korelasyon katsayıları ve regresyon denklemleri Tablo 2'de verilmiştir. E-LDL-C ile hesaplanan LDL-C değerinin (MH-LDL-C, F-LDL-C) uyumunu değerlendirmek için yapılan Bland-Altman Grafiği Şekil 1'de gösterilmiştir (14). Bland-Altman Grafiğinde enzimatik ölçüm ile Martin/Hopkins formülü ile hesaplanan LDL-C düzeylerinin, Friedewald formülü ile hesaplanan LDL-C düzeylerinde uyum sınır değerleri sırasıyla 34,2, 47,1 olarak saptandı. Direkt ve hesaplanan LDL-C sonuçlarının %90, %95, %99 Güven aralığında hesaplanan RCV değerleri ise Tablo 3'te verilmiştir.

Tekrarlayan ölçümler incelendiğinde; istem aralığına göre LDL-C düzeyindeki % değişim 3 aydan uzun istem aralığı olan numunelerde yüksek saptansa da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Tablo 4). % Değişimler RCV 'ye göre incelendiğinde ise %90 güven aralığında E-LDL-C ölçümü % değişimi tüm bireylerde ve 3 aydan uzun istem aralığında anlamlı değişim gösterdi. Ancak hesaplama sonucu elde edilen LDL-C düzeyleri yüzde

değişimi %90, %95, %99 güven aralığında RCV' den düşük olarak tespit edildi.

Bireyler ilk LDL-C sonuçlarına göre gruplandırılarak (4, 6) % değişimin RCV ye göre anlamlı olup olmadığı incelendiğinde ise; ilk LDL-C sonucu enzimatik ölçüm için 130

mg/dL'nin üstü, F-LDL-C düzeyi ise 160 mg/dL'nin üstü olan hastalarda takipteki bir diğer ölçüme göre LDL-C % değişimi %95 güven aralığında RCV değerine göre anlamlı bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 5).

Tablo 1. Bireylere ait hesaplanan ve ölçülen analitlerin karşılaştırılması ($X \pm SD$)
Table 1. Comparison of calculated and measured analytes belonging to individuals ($X \pm SD$)

	Toplam (n:179)	Erkek (n:113)	Kadın (n:66)
E-LDL-C (mg/dL)	120,9 \pm 80	115,6 \pm 76	129,9 \pm 82
MH-LDL-C (mg/dL)	110,53 \pm 83*	105,3 \pm 82,2	119,4 \pm 83
F-LDL-C (mg/dL)	106,6 \pm 85*	100,7 \pm 83	116,7 \pm 84
Total Kolesterol (mg/dL)	181,6 \pm 104	172,4 \pm 99	197,4 \pm 105
Trigliserit (mg/dL)	148,3 \pm 146	153,4 \pm 146	139,7 \pm 146
HDL-C (mg/dL)	45,3 \pm 24	52,7 \pm 25	41,0 \pm 19
ALT (U/L)	26,1 \pm 47	29,4 \pm 54	20,4 \pm 26
AST (U/L)	22,4 \pm 27	23,7 \pm 31	20,2 \pm 15
Na (mmol/L)	139,6 \pm 5,2	139,3 \pm 5,2	139,7 \pm 0,34
K (mmol/L)	4,4 \pm 0,8	4,4 \pm 0,8	4,3 \pm 0,6
Üre (mg/dL)	181,6 \pm 104	172,4 \pm 99	197,4 \pm 104
Kreatinin (mg/dL)	0,8 \pm 0,4	0,89 \pm 0,3	0,65 \pm 0,36
Glukoz (mg/dL)	114,8 \pm 81	119,4 \pm 5,6	106,8 \pm 75

X : Ortalama, SD: Standart Sapma, *E-LDL-C ile anlamlı fark $p < 0,001$

E-LDL-C: Direkt LDL-C düzeyi; F-LDL-C: Friedewald LDL-C; MH-LDL-C: Martin/Hopkins LDL-C

Tablo 2. E-LDL-C ile MH-LDL-C ve F-LDL-C Sonuçlarının Korelasyon Katsayısı ve Regresyon Denklemi
Table 2. Correlation Coefficient of E-LDL-C, MH-LDL-C and F-LDL-C Results and Regression Equation

	r		Lineer Regresyon Denklemi		r²	
	F-LDL-C	MH-LDL-C	F-LDL-C	MH-LDL-C	F-LDL-C	MH-LDL-C
Toplam	0,951	0,978	F-LDL-C = (1.015*E-LDL-C) - 16,136	MH-LDL-C = (1.023*E-LDL-C) - 13,188	0,920	0,964
Erkek	0,944	0,979	F-LDL-C = (1.031*E-LDL-C) - 18,507	MH-LDL-C = (1.046*E-LDL-C) - 15,683	0,929	0,963
Kadın	0,958	0,976	F-LDL-C = (0,984*E-LDL-C) - 11,014	MH-LDL-C = (0,991*E-LD-C) - 9,348	0,912	0,965

E-LDL-C: Direkt LDL-C düzeyi; F-LDL-C: Friedewald LDL-C; MH-LDL-C: Martin/Hopkins LDL-C

r: Korelasyon Katsayısı; r²: regresyon katsayısı

Tablo 3. LDL-C Referans Değişim Değeri (RCV)
Table 3. LDL-C Reference Change Value (RCV)

RCV %90		RCV %95		RCV %99	
E-LDL-C	MH-LDL-C & F-LDL-C	E-LDL-C	MH-LDL-C & F-LDL-C	E-LDL-C	MH-LDL-C & F-LDL-C
20,40	29,30	24,20	34,80	31,8	45,90

RCV için (IKK) sonuçlarından elde edilen CV_A değerleriyle EFLM biyolojik varyasyon veritabanı CV_I değerleri kullanılarak %90, %95, %99 güven aralığında RCV'ler hesaplandı.

CV_A E-LDL-C = 3,48

CV_A MH-LDL-C & F-LDL-C = 9,69 (Hesaplamalı yöntem için HDL, Total kolesterol, Trigliserit değerlerinden elde edilen CV_A)

Tablo 4. Tüm Bireyler ve İstem Aralığına Göre Gruplandırılmış LDL-C % Değişimi
Table 4. LDL-C% Change Grouped by All Individuals and Request Range

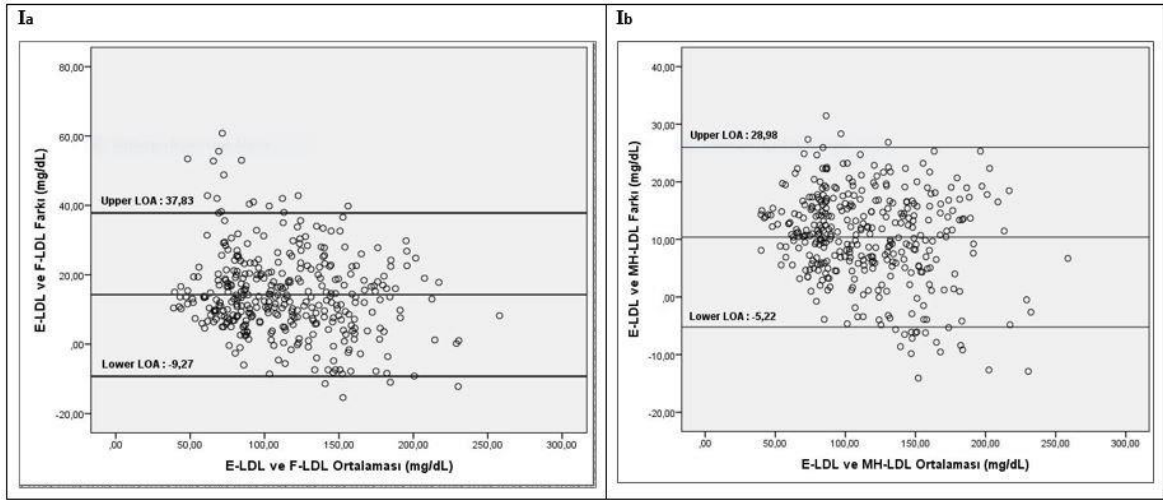
İstem Aralığı	E-LDL-C % Değişim	MH-LDL-C % Değişim	F-LDL-C % Değişim
Tüm Bireyler	20,86*	26,42	24,03
4 Haftadan Sık İstem Aralığı	20,11	22,33	24,32
3 Aydan Kısa İstem Aralığı	18,34	21,14	24,20
3 Aydan Uzun İstem Aralığı	22,64*	26,07	27,98

E-LDL-C: Direkt LDL-C düzeyi; F-LDL-C: Friedewald LDL-C; MH-LDL-C: Martin/Hopkins LDL-C
% Değişim = (Hastanın ikinci sonucu-hastanın ilk sonucu) / hastanın ilk sonucu x 100
 * % 90 Güven aralığında RCV değişimine göre anlamlı değişim gösteren parametreler

Tablo 5. Bireylerin İlk LDL-C Düzeyine Göre Gruplandırılmış LDL-C % Değişimi
Table 5. LDL-C% Change Grouped by Initial LDL-C Level of Individuals

İlk LDL-C Düzeyi	E-LDL-C % Değişim	MH-LDL-C % Değişim	F-LDL-C % Değişim
Tüm Bireyler	20,86*	26,42	24,03
LDL-C > 100 mg/dL	22,41*	27,14	29,29
LDL-C > 130mg/dL	26,49**	31,17*	34,68*
LDL-C > 160 mg/dL	31,35**	34,51*	38,98**

E-LDL-C: Direkt LDL-C düzeyi; F-LDL-C: Friedewald LDL-C; MH-LDL-C: Martin/Hopkins LDL-C
% Değişim = (Hastanın ikinci sonucu-hastanın ilk sonucu) / hastanın ilk sonucu x 100
 * %90 Güven aralığında % RCV değişimine göre anlamlı değişim gösteren parametreler
 ** %95 Güven aralığında % RCV değişimine göre anlamlı değişim gösteren parametreler



Şekil 1. 1a. Enzimatik Ölçüm ve Friedewald LDL Bland-Altman Grafiği, 1b. Enzimatik Ölçüm ve Martin/Hopkins LDL Bland-Altman Grafiği

Figure 1. 1a. Enzymatic Measurement and Friedewald LDL Bland-Altman Plot, 1b. Enzymatic Measurement and Martin / Hopkins LDL Bland-Altman Plot

Lower LOA (Kabul edilebilir en düşük değer) = $X (Ort) - 1,96 SD$; Upper LOA (Kabul edilebilir en yüksek değer) = $X (Ort) + 1,96 SD$

E-LDL-C: Direkt LDL-C düzeyi; F-LDL-C: Friedewald LDL-C; MH-LDL-C: Martin/Hopkins LDL-C

TARTIŞMA

Ateroskleroz zemininde KVH'ların en önemli nedenlerinde birisi dislipidemilerdir. Ateroskleroz için küçük LDL-C partiküllerinin daha yüksek risk oluşturduğu bilinse de boyutlarından bağımsız olarak tüm LDL-C partiküllerinin aterojenik olduğu kabul edilmektedir. Bu nedenle büyük ve küçük LDL-C alt fraksiyonlarını ayırma çabası olmadan LDL-C'un azaltılması tedavinin birincil hedefidir. LDL-C düzeyi rutinde otoanalizörler ile enzimatik olarak ölçülebilmekte veya ayrıca lipit profilini oluşturan diğer analitlerden de hesaplanarak elde edilebilmektedir (15, 16).

Direkt ve hesaplamalı LDL-C sonuçlarının ilişkisi incelendiğinde; Cartier ve ark. aterosklerotik kardiyovasküler hastalık öyküsü olan hastalarda Martin/Hopkins ve Friedewald formüllerine göre hesaplanmış LDL-C sonuçlarını karşılaştırdıkları çalışma kapsamında TG düzeyi 400 mg/dL den düşük olan bireylerin lipit profili verilerini incelemişlerdir. Martin/Hopkins formülü ile hesaplanan LDL-C değerlerinin Friedewald formülü ile hesaplanan LDL-C değerlerinden daha yüksek (0.15 mmol/L -5,79 mg/dL) olduğunu saptamışlardır. Ayrıca TG düzeyleri yüksek hastalarda Martin/Hopkins formülü ile hesaplanan LDL-C değerlerinin Friedewald formülüne göre hesaplanandan daha iyi düzeyde aterojenik yükü tahmin edebildiğini belirtmişlerdir (17). Hopkins ve ark. da kendi formülleri ile hesaplanan LDL-C sonuçlarının direkt ölçüm sonuçları ile yüksek korelasyon gösterdiğini, ayrıca regresyon eğrisindeki homojenliğin de iyi düzeyde olduğunu saptamışlardır. Özellikle düşük LDL-C seviyelerinde (40 mg / dL nin altında LDL-C düzeylerinde) LDL-C tahmini için Martin/Hopkins hesaplamasının tercih edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir (10). EFLM'de Friedewald denkleminin TG konsantrasyonu 175-400 mg/dL düzeyleri aralığında olduğunda kullanılabilirliği, Ayrıca TG değeri 400 mg/dl nin üzerine çıktığında hesaplamalı LDL-C sonuçlarının referans metotla uyumsuzluğa neden olacağı için tercih edilmemesi gerektiği vurgulanmıştır. Bununla birlikte Martin/Hopkins formülünün 70 mg/dL altındaki LDL-C düzey-

lerinde daha doğru sonuç verdiğini de ifade edilmiştir (15).

Mehta ve ark. hiperlipidemili bireylerde Apo-lipoprotein B ve HDL-C ile hesaplamalı LDL kolesterol ilişkisini inceledikleri çalışmalarında MH-LDL-C sonuçlarının yüksek oranda korelasyon gösterdiğini ve F-LDL-C' e göre kardiyovasküler riski daha iyi yansıttığını belirtmişlerdir (18). Sathiyakumar ve ark.'da bu sonuca benzer şekilde LDL-C tahmininde Martin/Hopkins ile hesaplamının Friedewald formülünden daha üstün olduğunu ifade etmişlerdir (19).

Enzimatik ölçüm (direkt yöntem) ve Friedewald hesaplamalı LDL-C sonuçlarını karşılaştıran Teerakanchana ve ark. 'da iki yöntemin sonuçlarının anlamlı derecede korele olduğunu saptamışlardır. Ancak enzimatik ölçümünün analitik performans hedeflerini daha iyi karşıladığını ayrıca Friedewald formülünün farklı TG seviyelerine sahip numunelerde homojen performans göstermediğini, dolayısı ile tanı ve tedavide doğrudan ölçümün daha yararlı olacağını belirtmişlerdir (20). Charuruks ve ark (21) da her ne kadar 400 mg/dL'nin altında olan TG düzeylerinde Friedewald formülünün kullanılabilirliği çeşitli çalışmalarda ifade edilse de sonuçların kesinlik ve doğruluğu dikkate alındığında 200 mg/dL'nin üzerindeki TG düzeylerinde doğrudan ölçümün (direkt yöntem) tercih edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Bizim çalışmamızda ise enzimatik analizle (direkt yöntemle) saptanan LDL-C konsantrasyonları, hesaplamalı LDL-C sonuçlarının her ikisinden de anlamlı olarak yüksek saptandı ($p < 0,01$). Hesaplamalı iki yöntem arasındaki karşılaştırmamızda ise Martin/Hopkins LDL-C sonuçlarını Cartier ve ark.' (17) na benzer şekilde daha yüksek saptasak da bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Enzimatik ölçüm ile hesaplamalı sonuçların ilişkisini değerlendirdiğimizde Martin/Hopkins formülü kullanılarak hesaplanan LDL-C sonuçlarının daha yüksek olmak üzere her iki hesaplamalı sonucun da enzimatik ölçümle anlamlı korelasyon gösterdiğini söyleyebiliriz (Tablo 2). Literatürde yön-

tem karşılaştırmalarında korelasyon katsayısı ve regresyon analizi ile birlikte Bland-Altman grafiği kullanılmasının gerekliliği de vurgulanmaktadır (14, 22). İki ölçümün farklarının, iki ölçümün ortalamasına karşı saçılımını gösteren Bland-Altman Grafiği ile değerlendirildiğimizde ise enzimatik ölçüm ile Martin/Hopkins formülü ile hesaplanan LDL-C düzeylerinin uyum sınır değerini 34,2, enzimatik yöntem ile Friedewald formülü ile hesaplanan LDL-C düzeylerinde ise uyum sınır değerimizi 47,1 olarak saptadık. İki ölçüm yönteminin uyum sınırları arası aralık ne kadar küçük olursa yöntemlerin uyumunun o kadar iyi olduğu (birbiri yerine kullanılabilirliği) bilinmektedir (23). Sonuçlarımızda Martin/Hopkins LDL-C 'ün Friedewald LDL-C 'e göre enzimatik ölçümle daha uyumlu olduğunu saptadık. Her iki yöntemin de korelasyon katsayısı yüksek olmasına rağmen Martin/Hopkins yönteminin enzimatik ölçüm ile daha uyumlu olduğunu düşünüyoruz. Ayrıca Friedewald ve enzimatik ölçüm sonucu elde edilen LDL-C düzeyinin uyum sınırlarının (upper LOA ve lower LOA arası fark) laboratuvarımızda hesapladığımız RCV değerinden daha büyük olduğunu (%95 CI RCV: 34,8) ardışık iki ölçümde birbiri yerine kullanılırsa hasta takibinde sanki anlamlı değişim varmış gibi değerlendirilebileceğini ve hatalara neden olabileceğini düşünüyoruz (Şekil 1).

Laboratuvarımızda LDL-C için analitik varyasyonun hesapladığımızda enzimatik (direct) ölçümün CV_A değerinin tek parametre (LDL-C) içerdiği için daha düşük olduğunu saptadık (Tablo 3). EFLM de hesaplamalı LDL-C sonucunun üç laboratuvar (TG, Total kolesterol ve HDL-C) tahlilinin analitik varyasyonuna bağlı olmasından dolayı ölçüm belirsizliği direkt analizden yüksek olacağını belirtmiştir. Bu nedenle hasta sonuçlarının takibinde hataları azaltmak için ilk ölçüm hangi yöntemle yapılmışsa takibinde de aynı yöntemin (direct ya da hesaplamalı yöntem) kullanılması önerilmektedir (15). Bizim sonuçlarımız da bunu destekler niteliktedir.

Dislipidemi takibinde LDL-C düzeyi için optimal izlem aralıklarını incelediğimizde litera-

türde farklı öneriler mevcuttur. Jellinger ve ark. hiperlipidemi tedavisine başladıktan sonra tedavi amacına ulaşılan kadar 6 haftalık aralıklarla, kararlı lipit tedavisi sırasında ise 6-12 aylık aralıklarla bireylerin lipit durumunun yeniden değerlendirilmesini önermişlerdir (2, 24). Patolojide Ulusal Test Tekrar Aralıkları raporunda ise tedavi başlanmasında ve değişiminde 1-3 ay ara ile kontrol önerilmektedir (6). Ancak LDL-C düzeyinin takipteki değişimi sadece tedaviye yanıtı göstermemektedir. LDL-C ölçüm sonucu; bireysel varyasyon, pre-analitik ve analitik süreçten de (rastgele ve sistematik hatalar) etkilenmektedir. Bu nedenle ölçüm sonuçları arasında anlamlı değişim vardır diyebilmek için RCV değerinden fazla bir değişim izlenmesi gerekmektedir (11, 25).

Çalışmamızda ayrıca optimal izlem aralığını değerlendirmek için bireylerin iki LDL-C ölçüm sonucu arasındaki değişimi inceledik. Sadece hastaların 3 aydan uzun aralıklarla ölçülen enzimatik (direkt) LDL-C (E-LDL-C) sonuçlarının % değişiminin **%90 güven aralığında % RCV**'ye göre anlamlı olduğunu saptadık. Hesaplamalı LDL-C ölçümleri istem aralıklarına göre gruplandırıldığında bulunan % değişim %RCV' ye göre anlamlı değildi. Bu sonuçlar bize takipteki LDL-C değişiminin preanalitik, analitik ve biyolojik varyasyona bağlı olabileceğini (direkt tedaviye yanıtı ifade etmediğini) bu nedenle özellikle 3 aydan sık LDL-C izleminde hesaplamalı sonuçlardan kaçınılması gerektiğini göstermektedir (Tablo 4).

Bireyler ilk LDL-C düzeyine göre gruplandırılarak değerlendirildiğinde ise; enzimatik (direkt) ölçümde üst sınırdaki ya da yüksek olan bireylerde (E-LDL-C ölçüm sonuçları 130 mg/dL ve 160 mg/dL üzerinde olduğunda); F- LDL-C' da ise ilk sonucu yüksek olan bireylerde (F-LDL-C düzeyi 160 mg/dL üzerinde olduğunda) LDL-C'ün % değişimi **%95 güven aralığında RCV** değerine göre anlamlı bulundu (Tablo 5) (4, 5). Bu sonuçlar bize eğer direkt enzimatik ölçüm yapıyorsa 130mg/dL'nin altındaki sonuçlarda; hesaplamalı ölçümlerde ise 160 mg/dL nin altındaki sonuçlarda tekrarlayan ölçümlerin klinik

değişimi yansıtmayabileceğini göstermektedir. Bu nedenle ilk LDL-C ölçüm sonucu yüksek olmayan bireylerin takibinde sık aralıklarla analizden kaçınılması gerektiğini düşünüyoruz.

Sonuç olarak dislipidemi tedavi ve takibinde LDL-C düzeyi birincil hedeftir. LDL-C sonucu için doğrudan (direkt) ve hesaplamalı yöntemler arasında korelasyon olsa bile yöntemler arası varyasyonlar nedeniyle hataları önlemek için LDL-C takibinde birinci ölçümün yapıldığı aynı yöntemin (doğrudan ölçüm ya da hesaplama) kullanılması gerektiği kanaatindeyiz. Ayrıca sonuçlar arası

değişim değerlendirilirken analitik ve biyolojik varyasyonların ölçüm sonuçlarına etkisinin de dikkate alınması gerektiğini düşünüyoruz. Hastaların, klinik hekimlerinin bu konuda bilgilendirilmesiyle gereksiz istemlerin ve bu istemlere bağlı meydana gelebilecek maddi kayıpların, yanlış tanı ve tedavilerin önüne geçilebileceğini umuyoruz.

Kısıtlılıklar

Bu çalışma tek bir hastanede yapıldığı için veri sayısı kısıtlıdır. Daha büyük örneklemle yapılacak çalışmalarla desteklenmeye ihtiyacı olduğu kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Yang Q, Zhong Y, Ritchey M, Loustalot F, Hong Y, Merritt R, et al. Predicted 10-year risk of developing cardiovascular disease at the state level in the US. *American Journal of Preventive Medicine* 2015;48(1): 58-69.
2. Jellinger PS, Handelsman Y, Rosenblit PD, Bloomgarden ZT, Fonseca VA, Garber AJ, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology guidelines for management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease. *Endocrine Practice* 2017; 23(s2): 1-87.
3. Kılınçarslan MG, Şahin GK. Güncel kılavuzlar ışığında dislipidemi yönetiminin ilk basamağı: Yaşam tarzı değişiklikleri. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi* 2019; 23(1):31-40.
4. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002;106(25):3143-421.
5. Dislipidemi Tani ve Tedavi Kılavuzu: Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği; 2019, http://temd.org.tr/admin/uploads/tbl_kilavuz/20190506163838-2019tbl_kilavuz61855bdd04.pdf (ET: 05.10.2020).
6. Patolojide kullanılmak üzere düzenlenmiş, minimum test tekrar aralıklarının belirlenmesi konusundaki ayrıntılı son rapor 2017 Ceviri: Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği, Türkiye <http://www.kbud.org.tr/haber.php?haber=28> (ET: 02.10.2020).
7. Ference BA, Ginsberg HN, Graham I, Ray KK, Packard CJ, Bruckert E, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *European heart journal* 2017;38(32):2459-72.
8. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry* 1972;18(6):499-502.
9. Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, Toth PP, Kwotherovich PO, Blumenthal RS, et al. Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile. *JAMA* 2013;310(19): 2061-8.
10. Martin SS, Giugliano RP, Murphy SA, Wasserman SM, Stein EA, Češka R, et al. Comparison of low-density lipoprotein cholesterol assessment by Martin/Hopkins estimation, Friedewald estimation, and preparative ultracentrifugation: insights from the FOURIER trial. *JAMA* 2018;3(8):749-53.
11. Biyolojik Varyasyon: İlkelerden Uygulamaya http://www.turkbiyokimyaderneği.org.tr/upload/48/biyolojik_varyasyon.pdf (ET: 02.09.2020).
12. <http://www.ldlcalculator.com/> (ET: 23.10.2020).
13. https://biologicalvariation.eu/meta_calculations (ET: 12.10.2020).
14. Genç Y, Sertkaya D, Demirtaş S. Klinik araştırmalarda iki ölçüm tekniğinin uyumunu incelemeye kullanılan istatistiksel yöntemler. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2003;56(1):1-6.
15. Langlois MR, Chapman MJ, Cobbaert C, Mora S, Remaley AT, Ros E, et al. Quantifying atherogenic lipoproteins: current and future challenges in the era of personalized medicine and very low concentrations of LDL cholesterol. A consensus statement from EAS and EFLM. *Clinical Chemistry* 2018;64(7):1006-33.
16. Mora S. Response to Mora. *Circulation* 2009; 119(17):2396-404.
17. Cartier L-J, St-Coeur S, Robin A, Lagace M, Douville P. Impact of the Martin/Hopkins modified equation for estimating LDL-C on lipid target attainment in a high risk patient population. *Clinical Biochemistry* 2020;76:35-7.
18. Mehta R, Reyes-Rodríguez E, Bello-Chavolla OY, Guerrero-Díaz AC, Vargas-Vázquez A, Cruz-Bautista I, et al. Performance of LDL-C calculated with Martin's formula compared to the Friedewald equation in familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2018;277:204-10.

19. Sathiyakumar V, Park J, Quispe R, Elshazly MB, Michos ED, Banach M, et al. Impact of novel LDL-C assessment on the utility of secondary non-HDL-C and ApoB targets in selected worldwide dyslipidemia guidelines 2018.
20. Teerakanchana T, Puavilai W, Suriyaprom K, Tungtrongchitr RJ. Comparative study of LDL-cholesterol levels in Thai patients by the direct method and using the Friedewald formula. *Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 2007;38(3):519.
21. Charuruks N, Milintagas A. Evaluation of calculated low-density lipoprotein against a direct assay. *Journal-Medical Association of Thailand* 2005;88:S274.
22. Dewitte K, Fierens C, Stockl D, Thienpont L. Application of the Bland-Altman plot for interpretation of method-comparison studies: a critical investigation of its practice. *Clinical chemistry* 2002;48(5):799-801.
23. Myles PS, Cui J. I. Using the Bland-Altman method to measure agreement with repeated measures. Oxford University Press 2007. p.309-311.
24. Jellinger PS. American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology Management of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease clinical practice guidelines. *Diabetes Spectrum* 2018;31(3):234-45.
25. Çokluk E. Klinik biyokimya da biyolojik varyasyon: Referansdeğişim değeri ve bireysellik indeksi. *Turkish Journal of Clinics and Laboratory* 2019; 10(4):526-32.