



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA
ESPECIALIDAD EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

**COMPARACIÓN ENTRE LAS ECUACIONES DE FRIEDEWALD, MARTIN Y
SAMPSON, Y LA CUANTIFICACIÓN DE COLESTEROL UNIDO A
LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD SEPARADAS POR
ULTRACENTRIFUGACIÓN SECUENCIAL EN UNA POBLACIÓN MEXICANA**

TESINA

QUE PARA OBTENER EL:
TÍTULO DE ESPECIALISTA

EN:
BIOQUÍMICA CLÍNICA

PRESENTA:
JOSÉ ANTONIO GARCÍA VALDIVIA

TUTOR DE TESIS:
DRA. CLAUDIA HUESCA GÓMEZ

CIUDAD DE MÉXICO, 2023





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dra. Martha Alicia Menjívar Iraheta

Vocal: M. en C. Miriam Cruz Gómez

Secretario: Dra. Bárbara Itzel Peña Espinoza

1er. Suplente: Dr. Hugo Antonio Hernández Pérez

2do. Suplente: Dr. Jesús Norberto Lozano Ruiz

Trabajo realizado en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, Departamento de Fisiología, Laboratorio 4.

Asesor del Tema:

(Firma)

Dra. Claudia Huesca Gómez

Sustentante:

(Firma)

Q.F.B. José Antonio García Valdivia

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por haberme dado la oportunidad de crecer en todo momento y por su amor incondicional.

A mi amigo Giovanni y a Yazmín, quien me enseñó las técnicas del laboratorio de para poder llevar a cabo este trabajo.

A la Dra. Huesca, por permitir desempeñar este trabajo en el laboratorio y por su apoyo en redacción del trabajo.

ÍNDICE GENERAL

Portada -----	1
Jurado asignado -----	2
Dedicatorias y agradecimientos -----	3
Índice general -----	4
Resumen de la tesina -----	5
Introducción-----	6
Planteamiento del problema -----	13
Hipótesis -----	13
Objetivo general -----	13
Objetivos específicos -----	13
Materiales y métodos -----	14
Resultados -----	20
Discusión de resultados -----	25
Conclusión -----	26
Bibliografía -----	27
Anexos -----	31

RESUMEN

Los niveles de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) son considerados un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades arterioscleróticas. Aunque existen causas tanto genéticas como por el estilo de vida de un individuo, La elevación de C-LDL aumenta el riesgo de generar ateromas en sus vasos sanguíneos que pueden derivar en Enfermedad Arterial Coronaria (EAC). En México el perfil de lípidos está caracterizado por niveles elevados de Triglicéridos (Tg) y Colesterol Total (CT), acompañado por niveles disminuidos de Colesterol unido a Lipoproteínas de Alta Densidad (C-HDL); suponen un factor de riesgo latente para el desarrollo de EAC.

Para evitar el desarrollo de EAC se sugieren cambios en los hábitos de consumo y estilo de vida, iniciar tratamientos con hipolipemiantes, sobre todo mantener las concentraciones de C-LDL normales en sangre. En los últimos años diversas técnicas para cuantificar y estimar el C-LDL entre las que destacan el método de referencia “cuantificación de C-LDL tras aislamiento por ultracentrifugación secuencial”, y de más fácil y generalizado empleo ecuaciones para estimar este tipo de colesterol. Las ecuaciones son una herramienta práctica puesto que traen consigo muchas ventajas versus otras técnicas realizadas en el laboratorio clínico, pero para ser aplicadas debe evaluarse su desempeño en grupos poblacionales a fin de verificar cual presenta el mejor desempeño. Actualmente se encuentran las ecuaciones de Friedewald, Martin y Sampson disponibles, siendo autorizada para su uso en México únicamente la primera.

En México, es válido estimar C-LDL a través de la ecuación de Friedewald, desafortunadamente esta tiene limitaciones para las condiciones fisiológicas de los mexicanos: la ecuación muestra subestimación del C-LDL cuando los niveles de Tg superan los 400 mg/dL y los niveles de C-LDL estimados menores a 70 mg/dL no son válidos puesto que no fueron validados en la ecuación cuando esta fue propuesta en 1972; esto supone una desventaja ya que en pacientes con EAC que mantienen un tratamiento hipolipemiente, por ejemplo, suelen tener niveles de C-LDL cercanos a ese límite o incluso menores. Aunque es estas condiciones se recomienda usar otras técnicas, lo cierto es que el utilizar otra ecuación puede ser una alternativa de solución a este problema.

El objetivo de este estudio fue determinar que ecuación es la adecuada para la estimación de las concentraciones plasmáticas de C-LDL de acuerdo con las características lipídicas de sujetos mexicanos sanos y pacientes con EAC con concentraciones de C-LDL meta, utilizando como método de referencia la cuantificación de C-LDL tras aislamiento por ultracentrifugación secuencial, y que mejore los resultados en comparación a la ecuación de Friedewald. En este estudio se consideró a 80 participantes mexicanos del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, donde 32 fueron control y 48 pacientes con EAC. Se realizó un análisis de correlación y de concordancia para evaluar el desempeño de las estimaciones de las ecuaciones de Friedewald, Martin y Sampson en ambos grupos. poniéndose de manifiesto que la ecuación de Martin estima las concentraciones de C-LDL muy parecida a la estimada por ultracentrifugación secuencial.

INTRODUCCIÓN

Características de las lipoproteínas

Los lípidos por su naturaleza hidrofóbica no pueden transportarse por sí mismos a través del torrente sanguíneo por lo que el cuerpo humano emplea lipoproteínas: estructuras globulares constituidas por un núcleo y una corteza (Figura 1).

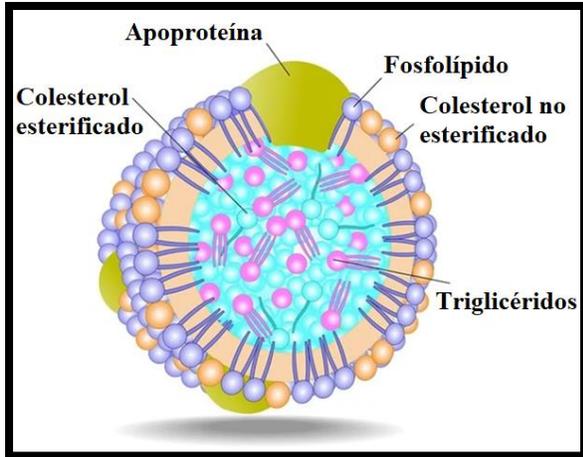


Figura 1. Estructura de una lipoproteína (Robertson, 2020).

Las apoproteínas (Apo) estabilizan e imparten solubilidad a las lipoproteínas y facilitan la entrada y salida de las lipoproteínas de las células. Estas estructuras se denominan con letras del abecedario según fueron descubiertas y se subclasifican con un número de acuerdo con la función que cumplen (Lozano et al., 2005).

Las lipoproteínas se diferencian entre sí por exhibir distintas proporciones de lípidos y apoproteínas, lo cual les confiere distinta densidad de flotación. De menor a mayor densidad, se encuentran los quilomicrones (Qm), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL),

lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL); Esta clasificación es inversa si se habla del diámetro aparente. Por los lípidos que transportan en mayor proporción, hay Qm y VLDL con los Tg, y las LDL y HDL con el CE (Lozano et al., 2005).

Tabla 1. Características principales de las lipoproteínas (Lozano et al., 2005).

Lipoproteína	Densidad (g/mL)	Diámetro (Å)	Lípido principal	Movilidad electroforética
Qm	<0.950	10,000-1,000	Tg	Origen
VLDL	0.950-1.006	750-250	Tg	Pre-β (α ₂)
IDL	1.006-1.019	250	Ninguno predomina	β
LDL	1.019-1.063	300-200	Colesterol	β
HDL	1.063-1.210	150-50	Fosfolípidos	α (α ₁)

Metabolismo de las LDL

Las LDL son las principales transportadoras de colesterol esterificado (CE), contienen Apo B-100 y es reconocida por el receptor de LDL (r-LDL) de glándulas suprarrenales, gónadas, intestino y en el hígado (Venugopal et al., 2022). Las VLDL disminuyen el contenido de Tg

conforme lo depositan en tejidos, hasta convertirse en IDL, que reciben CE de las HDL y ceden Tg, Apo C-II y Apo E (Lozano et al., 2005; Venugopal et al., 2022). En el hígado 50% de las IDL son reabsorbidas por los r-LDL hepáticos (Lozano et al., 2005; Piranhachi et al., 2022) y el resto es hidrolizada por la lipasa hepatica convertidas a LDL (Figura 2) (Elshourbagy et al., 2014).

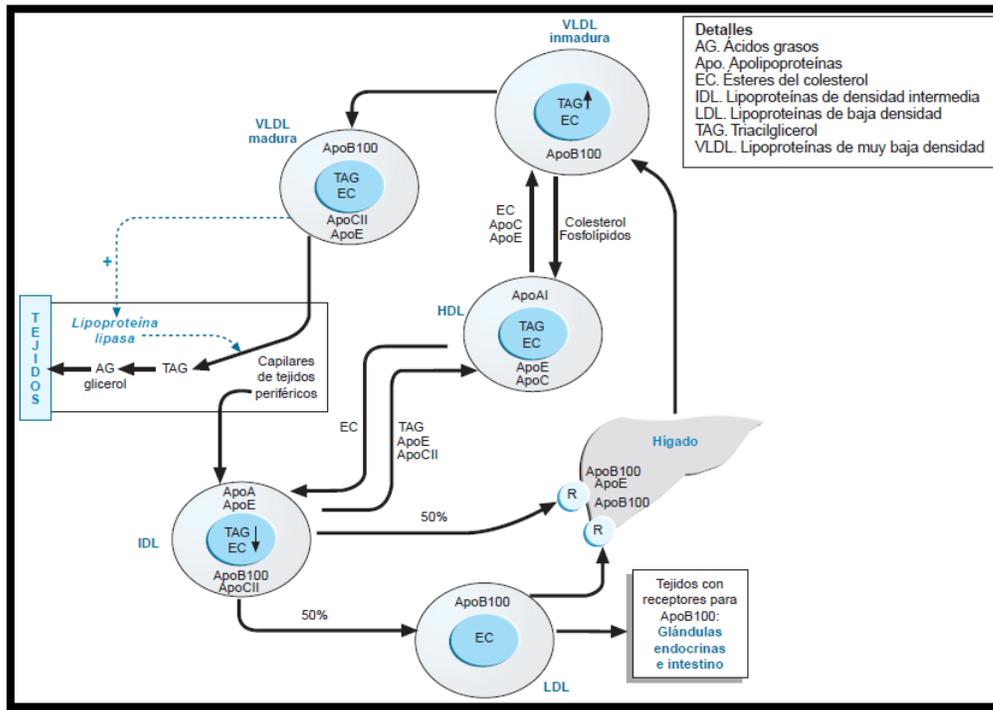


Figura 2. Metabolismo de las LDL (Lozano et al., 2005).

Cuando r-LDL reconoce a Apo B-100 comienza una endocitosis del complejo r-LDL-LDL que forma un endosoma y conforme avanza hacia el interior de la célula el pH ácido disocia al r-LDL de la LDL (Errico et al., 2013; Venugopal et al., 2022; Piranhachi et al., 2022). El endosoma se divide en uno que contiene al r-LDL para volver a ser empleado en la membrana citoplasmática o ser degradado por la Proproteína Convertasa Subtilisina/Kexina tipo 9 (PCSK9), mientras que la otra fracción de endosoma que contiene a la LDL se fusiona con un lisosoma cuyas hidrolasas degradarán en aminoácidos a Apo B-100, y en colesterol y ácidos grasos al CE (Figura 3) (Errico et al., 2013; Venugopal et al., 2022; Piranhachi et al., 2022).

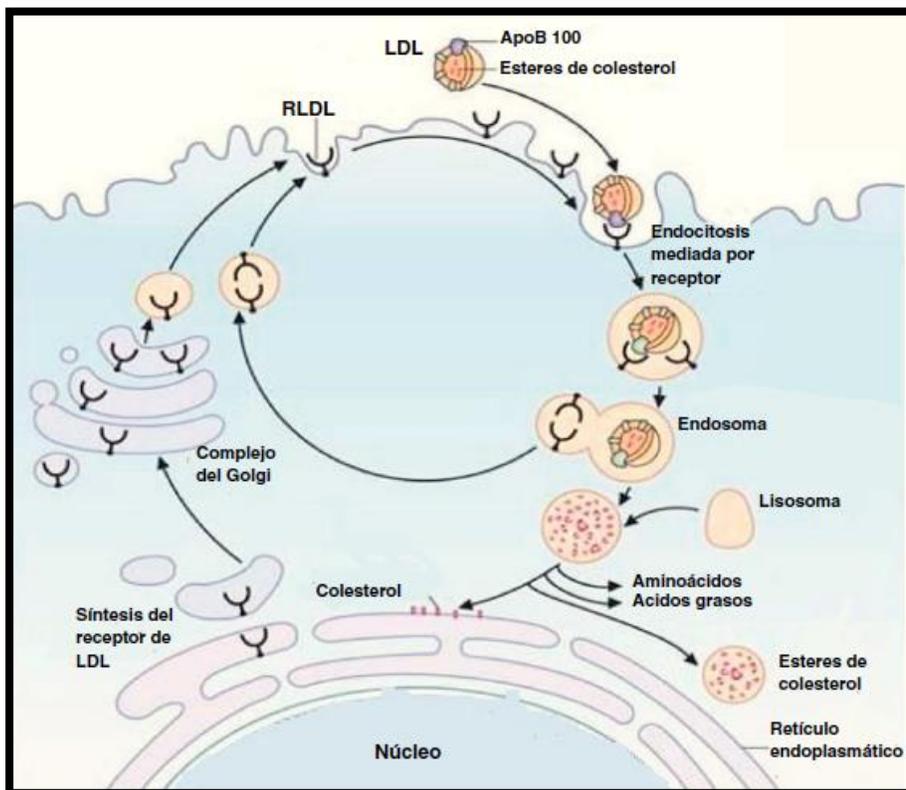


Figura 3. Ciclo del receptor de LDL (Errico et al., 2013).

Enfermedades asociadas a LDL y prevalencia en México y el mundo

A nivel mundial la principal causa de muerte son las enfermedades cardiovasculares (Elshourbagy et al., 2014). De acuerdo con datos de la Sociedad Americana del Corazón uno de los principales causantes de las enfermedades cardiovasculares es la aterosclerosis: esta se produce cuando las arterias se engrosan y endurecen, por agregación de lipoproteínas, principalmente LDL acompañada de la deposición de células de estirpe inmunológica, factores de coagulación, entre otros (Elshourbagy et al., 2014).

Afín a la Sociedad Americana del Corazón, la Sociedad Europea de Cardiología determina a la Enfermedad Aterosclerótica Cardiovascular, entre ellas la enfermedad arterial coronaria (EAC), como la principal causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (FERENCE et al., 2017). Las manifestaciones clínicas en las cuales puede derivar la EAC es el infarto agudo al miocardio, angina de pecho, accidente cerebrovascular e incluso la muerte (FERENCE et al., 2017).

Los principales factores de riesgo en la concentración de lípidos identificados para el desarrollo de EAC incluyen elevación de las concentraciones plasmáticas de LDL y Tg, y disminución de las HDL (Elshourbagy et al., 2014). Empero, en los últimos años, se ha puesto de manifiesto que las lipoproteínas ricas en Apo B son las protagonistas en el desarrollo de la

enfermedad, en este sentido, las LDL son las más relevantes ya que contienen el 90% de Apo B que circula en sangre (FERENCE et al., 2017).

Desarrollar EAC puede deberse a factores genéticos, como en la Hipercolesterolemia Familiar (HF) el cual es un trastorno de carácter autosómico dominante en donde una mutación de pérdida de función en el r-LDL merma el reconocimiento de Apo B-100 (Elshourbagy et al., 2014; FERENCE et al., 2017). Esta condición deriva en que los r-LDL hepáticos no pueden reconocer e internalizar LDL para su eliminación del torrente sanguíneo, por lo que la lipoproteína comienza a acumularse en circulación lo que favorece su deposición en arterias.

Por otra parte, patrones del estilo de vida como tabaquismo, actividad física disminuida o nula, dieta rica en grasas, alcoholismo, así como edad mayor a 65 años, y comorbilidades con otras enfermedades como la diabetes e hipertensión pueden desencadenar EAC. Estos factores acumulan alrededor del 80% de los casos de EAC (Elshourbagy et al., 2014). Si se presentan alguna de estas patologías, así como factores de riesgo resulta de vital importancia vigilar los niveles de C-LDL.

Por otra parte, el desarrollo de EAC con la diabetes como factor de riesgo se atribuye principalmente a dos eventos: la insulina es un vasodilatador que en presencia de glucosa elevada y en estados de resistencia a insulina la acción vasodilatadora se ve disminuida, además, los niveles elevados de glucosa en torrente sanguíneo disminuyen la cantidad de óxido nítrico del endotelio vascular y con ello las células endoteliales aumentan la producción de factores de adhesión proateroscleróticos que favorecen el desencadenamiento de EAC (Sánchez-Recalde y Kaski, 2001).

En los últimos años múltiples estrategias han sido desarrolladas para disminuir la incidencia y prevalencia de EAC. Tendencias a la baja han sido descritas en países desarrollados al norte de América y en Europa, empero en México ocurre lo contrario: cada año los casos de EAC, así como de desarrollo de dislipidemias va en aumento (Alvirde-García, 2016). Esto se debe a consumo excesivo de grasas, bebidas azucaradas, diabetes, alcoholismo, sobrepeso, obesidad, HF, niveles bajos de HDL (hipoalfalipoproteinemia), etc. (Alvirde-García, 2016).

A nivel mundial, México ocupa el primer lugar en obesidad infantil y el segundo lugar en obesidad en edad adulta (Turnbull et al., 2019). Los sujetos con obesidad tienen una probabilidad incrementada hasta 4 veces, con respecto a los no obesos, de presentar niveles altos de C-LDL y Tg e hipoalfalipoproteinemia (Alvirde-García, 2016). Los mexicanos se caracterizan por tener un patrón de hipoalfalipoproteinemia e hipercolesterolemia. La hipercolesterolemia se considera un problema de salud nacional desde finales de los años 80 y aunque múltiples estrategias se han empleado para combatirlo, poco se ha logrado (Alvirde-García, 2016).

El C-LDL ha tomado relevancia para evaluar el riesgo cardiovascular al que está expuesto un sujeto, sobre todo en pacientes diagnosticados con EAC. Los niveles de C-LDL, así como un diagnóstico positivo a EAC da pauta para iniciar un tratamiento hipolipemiente y mantener en observación la efectividad de este. La efectividad de tratamientos con

hipolipemiantes se supervisa con metas: son los niveles de C-LDL a los cuales se desea llegar, es decir, son niveles establecidos como objetivos a alcanzar en un paciente para disminuir el riesgo de progresión de la EAC (Ference et al., 2017).

Dentro de los medicamentos hipolipemiantes se encuentran las estatinas. Estas son moléculas encargadas de inhibir a la Hidroximetilglutaril Coenzima A (HMG CoA) reductasa que inhibe a la vía intrínseca del colesterol intracelular al no permitir la interconversión de HMG CoA a mevalonato, lo que fuerza a la célula a aumentar la expresión r-LDL para obtener colesterol. Con r-LDL incrementados la cantidad de colesterol que se absorbe del torrente sanguíneo es mayor y con ello se disminuye el C-LDL circulante (González-Jiménez y Álvarez-Ferre, 2011; Ramos, 2015).

Métodos para cuantificar C-LDL

Para conocer las concentraciones de C-LDL se tienen múltiples alternativas: cuantificación de CT en autoanализador tras el aislamiento de LDL por ultracentrifugación secuencial, kit de cuantificación por anticuerpos y estimación por medio de ecuaciones.

El aislamiento de LDL por ultracentrifugación secuencial para la posterior cuantificación del colesterol unido a esta es considerado el método de referencia. Dentro de sus ventajas destaca que permite determinar la composición de las lipoproteínas y que el colesterol cuantificado corresponde al unido a las LDL. Empero, el procedimiento suele ocupar volúmenes grandes de muestras respecto a los kit de cuantificación por anticuerpos, conlleva mucho tiempo el procedimiento y hay riesgo de alterar las LDL por la fuerza centrífuga (Nauck et al., 2022).

Con la finalidad de encontrar una alternativa al método de ultracentrifugación, varias ecuaciones se han construido y validado para estimar C-LDL. Tienen como ventaja ser de fácil aplicación no implican un gasto persé puesto que toma en cuenta componentes de un perfil de lípidos: CT, HDL, Tg y No HDL. Las desventajas son que para ser empleadas deben ser validadas y estar autorizadas para su uso en cada país, además de tener problemas de estimación frente a condiciones fisiológicas particulares (Martin et al., 2013; Sampson et al., 2020).

A la par del desarrollo de ecuaciones, se crearon múltiples kits para cuantificar C-LDL. Estos tienen la ventaja de ser precisos, emplear volúmenes pequeños y tener alta sensibilidad. El fundamento se basa en el inmunoensayo enzimático tipo sándwich donde las placas de microtitulación están recubiertas con anticuerpos para LDL; posteriormente se añaden anticuerpos conjugados con biotina específicos para la LDL seguido de avidina conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP) para incubar y finalmente 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) para generar un cambio de color que se mide espectrofotométricamente a 450 nm. La reacción se detiene con ácido sulfúrico al desnaturalizar a las enzimas que catalizan al TMB (Elabscience, 2023).

Estimación del C-LDL en laboratorios convencionales y hospitalarios de México

Para el ejercicio de actividades clínicas en México, se cuenta con las Normas Oficiales Mexicanas (NOM), que son de observancia obligatoria; la “NOM-037-SSA2-2012, para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias” establece que está autorizado el uso de la ecuación de Friedewald para la estimación de C-LDL siempre y cuando los Tg sean inferiores a 400 mg/dL (Secretaría de Salud, 2012). Dictan además que, si los Tg son superiores al límite permitido, deberá reportarse No C-HDL: restar C-HDL al CT (Secretaría de Salud, 2012).

Esta normativa se encuentra publicada además en diversas guías clínicas del país, por mencionar un ejemplo, en la guía de práctica clínica del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) “Diagnóstico y tratamiento de DISLIPIDEMIAS en el adulto”, recomienda para estimar C-LDL el empleo de la ecuación de Friedewald ($C\text{-LDL} = CT - C\text{-HDL} + Tg / 5$) con la misma condicionante de los niveles de Tg mencionados en el párrafo anterior (Instituto Mexicano del Seguro Social, 2016).

La ecuación de Friedewald fue desarrollada en principios de los años setenta (Friedewald et al., 1972). En su momento resultó innovadora ya que permitía conocer los niveles de C-LDL sin necesidad de la ultracentrifugación. Aunque fue desarrollada inicialmente para su uso en investigación, fue bien recibida en el área clínica para su uso generalizado. Empero posee dos problemas: subestima C-LDL cuando los Tg exceden los 400 mg/dL y las estimaciones de $C\text{-LDL} < 70\text{mg/dL}$ no son válidas (Friedewald et al., 1972; Sathiyakumar et al., 2020).

Los mexicanos se caracterizan por presentar hipertrigliceridemia lo que puede conllevar a limitantes al emplear la ecuación de Friedewald para estimar sus niveles de C-LDL. Por otra parte, aquellos pacientes que se encuentren bajo tratamiento hipolipemiente, como con estatinas, presentarán niveles bajos de C-LDL, cercanos o incluso por debajo de 70 mg/dL, lo que supone otra limitante para la ecuación de Friedewald ya que las estimaciones no serán válidas.

Otras ecuaciones para la estimación de C-LDL: Martin y Sampson

En 2013, Martin y cols. realizaron una modificación a la ecuación de Friedewald en donde el factor que divide a los Tg entre 5, será ajustable de acuerdo con los niveles de Tg y No C-HDL (Martin et al., 2013). Esto resultó en una precisión mejorada para la estimación de C-LDL ya que considera la relación cambiante de Tg: VLDL, aunado a que valida las estimaciones cuando son menores a 70 mg/dL (Martin et al., 2013). En contraparte, comparte la misma limitante de Friedewald con respecto a los Tg (Sathiyakumar et al., 2020; Martin et al., 2013).

Para inicios de 2020, Sampson y cols. desarrollaron una ecuación con miles de pacientes de Estados Unidos y aseguran que su propuesta tiene una precisión similar a la ecuación de Martin y que es válida con Tg de hasta 800 mg/dL. Aunque resulta provechosa para poblaciones en las que la prevalencia por niveles altos de Tg, actualmente hace falta evidencia que demuestre y valide en diferentes poblaciones el rendimiento de esta nueva propuesta (Sathiyakumar et al., 2020; Sampson et al., 2020).

El objetivo de estas ecuaciones es mejorar la estimación de las concentraciones plasmáticas de C-LDL a fin de reemplazar a la ecuación de Friedewald. De acuerdo con Sathiyakumar et al. el uso de la ecuación de Martin es ideal cuando los niveles de triglicéridos son menores a 400 mg/dL mientras que la ecuación de Sampson es recomendable usar en niveles de Tg entre 400 mg/dL a 800 mg/dL (2020). Si se excede el límite de 800 mg/dL se recomienda cuantificar el C-LDL por medio de kits o tras aislamiento por ultracentrifugación secuencial (Sathiyakumar et al., 2020).

Validación de un nuevo método: protocolos piloto y a gran escala

Para validar una nueva ecuación o un conjunto de ellas los resultados obtenidos de las estimaciones de cada ecuación se realizan comparaciones con las cuantificaciones obtenidas con el método de referencia. La ecuación que se establece como la ideal es aquella que muestre el mejor desempeño: los resultados de la ecuación presentan la mejor correlación y concordancia, y la menor dispersión con los datos obtenidos por el método de referencia. Este procedimiento puede hacerse a gran escala con miles de pacientes o como un programa piloto que incluya de 30 a 50 individuos (García-García et al., 2013).

En varias poblaciones se han estudiado la aplicación de las ecuaciones existentes para determinar las concentraciones de C-LDL. Sararsiz et al. compararon 80,000 cuantificaciones de C-LDL realizadas por kits basados en reacciones colorimétricas enzimáticas de pacientes turcos con las estimaciones de las ecuaciones de Friedewald, Martin y Sampson, y determinaron a la segunda como la ideal para individuos de Turquía (2022). Song et al. Tomaron como referencia los valores de C-LDL en 170,000 pacientes de Corea del Sur y al comparar el desempeño de las tres ecuaciones antes mencionadas con los datos de cuantificación por kit (reacción colorimétrica enzimática) encontraron a la ecuación de Martin como la ideal para estimar el C-LDL en individuos surcoreanos (2021).

Ejemplos como los anteriores ponen de manifiesto ejemplos de validaciones que se han hecho en diversas poblaciones alrededor del mundo, en el caso de México, Aguilar Salinas et al por medio de aislamiento de C-VLDL aproximaron los niveles de C-LDL por diferencia con C-HDL; tras comparar las cuantificaciones indirectas de C-LDL con las estimaciones de las ecuaciones de Friedewald, Martin y Sampson, determinaron a la última como la mejor para emplear en pacientes mexicanos con hipercolesterolemia familiar combinada (2021).

Ahora bien, estas validaciones se han realizado con aproximaciones al método de referencia: cuantificación por kit de reacciones colorimétricas enzimáticas o por estimación de C-LDL por diferencia de C-VLDL con C-HDL. Actualmente en México no se ha evaluado el desempeño de las ecuaciones de Martin y Sampson con resultados de cuantificación de C-LDL aislado por ultracentrifugación secuencial. Esto supone una oportunidad para encontrar un modelo que estime mejor el C-LDL a fin de sustituir a la ecuación autorizada de Friedewald.

El método de Bland Altman es un procedimiento que permite determinar si dos métodos concuerdan en sus mediciones lo suficiente para que puedan ser considerados intercambiables (Martínez-Curbelo et al., 2016). En la comparación de métodos se requiere de al menos 100

individuos: si el número de individuos es menor existen diferencias significativas por error al azar concluyendo que un método no es intercambiable cuando podría serlo por falta de muestra; o por el lado contrario, las diferencias podrían no ser identificadas entre los métodos, pudiendo llegar a un sesgo al considerar que un nuevo método es intercambiable cuando puede que no lo sea (Cardemil, 2017; Bunce, 2009). De acuerdo con lo reportado por Cardemil y Bunce, los resultados de concordancia deberán ser verificados con una muestra mínima de 100 individuos por grupo para evitar sesgos en los resultados (2017; 2009).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La NOM-037-SSA2-2012 “Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias” autoriza el uso de la ecuación de Friedewald en la práctica clínica de instituciones sanitarias de México para estimar indirectamente las concentraciones plasmáticas de C-LDL, sin embargo, se necesita evaluar las otras ecuaciones actuales que se ajusten mejor al perfil de los mexicanos para mejorar la estimación de C-LDL en términos de correlación y concordancia la cuantificación de C-LDL tras aislamiento por ultracentrifugación secuencial la cual no están disponible para la práctica clínica.

HIPÓTESIS

Por las concentraciones del perfil de lípidos de población mexicanos, una ecuación diferente a la de Friedewald proporcionará una concentración indirecta más semejante a las concentraciones de C-LDL cuantificadas en las LDL separadas por ultracentrifugación secuencial.

OBJETIVO GENERAL

Identificar cual es la mejor estimación de los niveles de C-LDL realizada por formula tomando en comparación con la determinada en las LDL aisladas por ultracentrifugación secuencial.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar el aislamiento de LDL de muestras de plasma de la población de estudio y de pacientes con EAC.
- Cuantificar las concentraciones del C-LDL aisladas por ultracentrifugación secuencial
- Estimar las concentraciones de C-LDL con las ecuaciones de Friedewald, Martin y Sampson de los sujetos de estudio
- Evaluar los valores de C-LDL estimados por cada ecuación en comparación con lo obtenido por ultracentrifugación secuencial.

- Determinar la correlación y concordancia de los valores de C-LDL entre las ecuaciones y la ultracentrifugación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Estudio piloto de tipo descriptivo, experimental y retrospectivo.

Tamaño de muestra

Este estudio es de tipo piloto. Las muestras de plasma utilizadas para este trabajo pertenecen al estudio 18-1075 (véase Anexo 3) aprobado por el Comité de Ética del INC. Todos los sujetos de estudio firmaron una carta de consentimiento informado (véase anexo 2), de acuerdo con los principios éticos para la investigación médica con seres humanos, conforme a lo estipulado en la Declaración de Helsinki, modificada por el Congreso de Tokio, Japón (Asociación Médica Mundial, 2013). Un total de 80 participantes fueron seleccionados y divididos en dos grupos: 32 pertenecen al grupo control y 48 al grupo de pacientes con EAC con concentraciones de C-LDL meta.

Criterios de selección

- Criterios de inclusión:
 - Grupo control:
 - Sujetos con Grosor de la Íntima Media Carotídeo (GIMc) normal.
 - Estar de acuerdo en participar en el protocolo de investigación. Firma del consentimiento informado.
 - Ser mexicano de nacimiento con al menos 2 generaciones anteriores de origen mexicano.
 - Cumplir con las condiciones siguientes en el perfil lipídico: CT<200 mg/dL, C-HDL \geq 35 mg/dL y Tg<150 mg/dL.
 - Grupo con EAC:
 - Pacientes con diagnóstico de EAC estable.
 - Estenosis coronaria mayor del 50% determinada por angiografía.

- Pacientes programados para cirugía de revascularización de arterias en el Departamento de Cirugía del INC.
 - Estar de acuerdo en participar en el protocolo de investigación. Firma del consentimiento informado.
 - Ser mexicano de nacimiento, con al menos 2 generaciones anteriores de origen mexicano.
 - Valores de C-LDL meta (<100 mg/dL)
- Criterios de exclusión:
 - Grupo control:
 - Presentar un GIMc elevado y/o presencia de placa.
 - Tener antecedentes de enfermedad cardiovascular.
 - Presencia de insuficiencia cardiaca congestiva.
 - Presentar alguna enfermedad inflamatoria.
 - Padecer alguna enfermedad crónico-degenerativa.
 - Presentar las siguientes condiciones plasmáticas: $CT \geq 200$ mg/dL, $C-HDL < 35$ mg/dL y/o $Tg \geq 150$ mg/dL.
 - Grupo con EAC
 - Presencia de insuficiencia cardiaca congestiva.
 - Presentar alguna enfermedad inflamatoria.
 - Padecer alguna enfermedad crónico-degenerativa.
- Criterios de eliminación:
 - Volumen de sangre total insuficiente.
 - No estar de acuerdo en participar en el estudio.

Definición, operalización e interrelación de variables

Tabla 2. Definición y operalización de variables.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida
Sexo	Características fenotípicas inherentes al ser humano y que son derivadas de la configuración de su par 23° de cromosomas	Proporcionado al momento del llenado del registro	Cualitativa nominal	Masculino/ Femenino
Edad	Tiempo trascurrido desde el nacimiento del individuo	Años cumplidos al momento del llenado del registro	Cuantitativa discreta	Años
Índice de Masa Corporal (IMC)	Relación de distribución de la masa por unidad de área	Kilogramos de masa por metro cuadrado de un individuo	Cuantitativa continua	Kg/m ²
Triglicéridos (Tg)	Principal constituyente de grasa en el ser humano. Formado por un glicerol esterificado con tres ácidos grasos	Concentración cuantificada de Tg plasmático	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol total (CT)	Colesterol transportado por las diferentes lipoproteínas que circulan en sangre	Concentración cuantificada de CT plasmático	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (C-HDL)	Colesterol transportado por lipoproteínas de alta densidad	Concentración cuantificada de C-HDL plasmático	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol no unido a lipoproteínas de alta densidad (No C-HDL)	Colesterol que es transportado en sangre por lipoproteínas excepto las HDL	Concentración estimada de No C-HDL plasmático	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) ultracentrifugación	C-LDL aislado por ultracentrifugación secuencial	Concentración cuantificada de C-LDL plasmático	Cuantitativa continua	mg/dL

Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) Friedewald	Aproximación de la concentración de C-LDL por medio de la ecuación de Friedewald	Concentración estimada de C-LDL plasmático	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) Martin	Aproximación de la concentración de C-LDL por medio de la ecuación de Martin	Concentración estimada de C-LDL plasmático	Cuantitativa continua	mg/dL
Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) Sampson	Aproximación de la concentración de C-LDL por medio de la ecuación de Sampson	Concentración estimada de C-LDL plasmático	Cuantitativa continua	mg/dL
Glucosa	Principal molécula para la obtención de energía en el cuerpo humano a través de la glucólisis y que es cuantificable en sangre	Concentración cuantificada de glucosa plasmática	Cuantitativa continua	mg/dL
Consumo de estatinas	Grupo de medicamentos utilizado para disminuir los niveles elevados de colesterol en sangre	Proporcionado al momento del llenado del registro	Cualitativa nominal	Sí/No

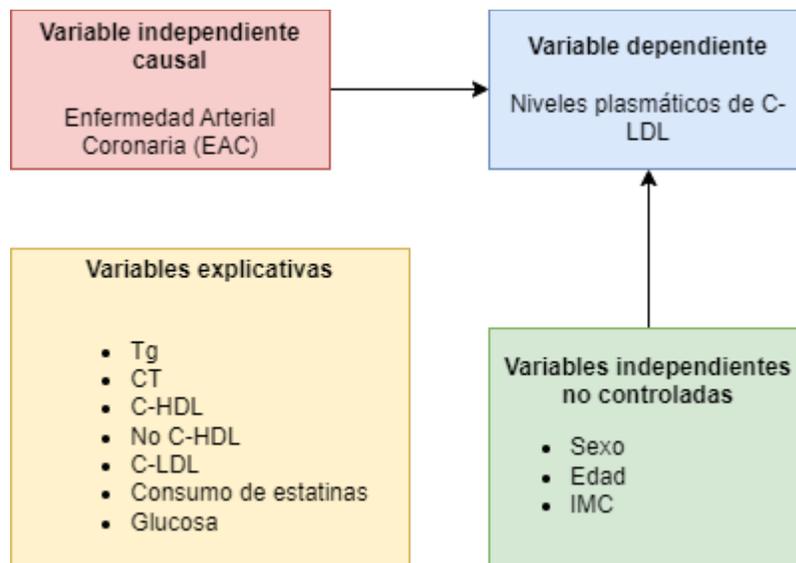


Figura 5. Interrelación de variables.

Parámetros antropométricos y bioquímicos.

Los datos se obtuvieron de la base de datos obtenida los registros médicos obtenidos del protocolo del INC 18-1075. Se registró el sexo, edad e IMC de los sujetos seleccionados. En el caso de los pacientes con EAC se registró el consumo de estatinas. Los parámetros bioquímicos registrados, realizados en el Laboratorio Central del INC, incluyeron niveles de glucosa en sangre y perfiles lipídicos con las concentraciones plasmáticas de CT, C-HDL, No C-HDL y Tg.

Estimación de C-LDL

Para la estimación de C-LDL se emplearon las siguientes ecuaciones:

- Friedewald: $C_{C-LDL} = C_{CT} - C_{C-HDL} - \frac{C_{Tg}}{5}$.
- Martin-Hopkins: $C_{C-LDL} = C_{CT} - C_{C-HDL} - \frac{C_{Tg}}{\text{Factor ajustable}}$ (para detalles de los factores ajustables véase Anexo 1).
- Sampson: $C_{C-LDL} = \frac{C_{CT}}{0.948} - \frac{C_{C-HDL}}{0.971} - \left[\frac{C_{Tg}}{8.56} + \left(\frac{C_{Tg} \cdot C_{NO C-HDL}}{2140} \right) - \frac{C_{Tg}^2}{16100} \right] - 9.44$.

Donde: C_{C-LDL} : Concentración de Colesterol unido a Lipoproteínas de Baja Densidad (mg/dL). C_{CT} : Concentración de Colesterol Total (mg/dL). C_{C-HDL} : Concentración de Colesterol unido a Lipoproteínas de Alta Densidad (mg/dL). C_{Tg} : Concentración de Triglicéridos (mg/dL). $C_{NO C-HDL}$: Concentración de Colesterol no unido a Lipoproteínas de Alta Densidad (mg/dL).

Aislamiento de C-LDL

Las LDL se separaron del plasma de los sujetos por ultracentrifugación secuencial. Para cada muestra, se tomó 1 mL de plasma que se ajustó a densidad 1.019 g/mL con disoluciones de Bromuro de Potasio (KBr) y posteriormente se ultracentrifugó por 3 horas 15 minutos a 95,000 revoluciones por minuto (r.p.m.) para separar los Qm y las VLDL. Posteriormente las LDL se separaron, con reajuste de densidad a 1.063 g/mL y en las condiciones del ciclo anterior de centrifugación. Las LDL se recuperaron y se les realizó un ciclo extra de centrifugación (lavado) para limpiarlas.

Diálisis de las muestras

Las muestras fueron dializadas para eliminar las sales de potasio y bromuro. Se empleó una membrana con poro de 6-8 kD y como disolución de desalado un amortiguador de fosfatos $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ 1X ajustado a pH=7.4.

Cuantificación de C-LDL

A las muestras de LDL aisladas y dializadas se les cuantificó el colesterol total por medio de un método colorimétrico-enzimático en un autoanalizador respons®910 DiaSys Diagnostic Systems GmbH.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el programa SPSS versión 21 (SPSS Inc. Chicago, USA). Se realizó un análisis descriptivo de todas las variables. Los resultados fueron expresados como “mediana (1° cuartil-3° cuartil)”. La comparación entre grupos se realizó mediante la prueba de U de Mann Whitney para todas las variables cuantitativas continuas no paramétricas. El análisis de correlación fue realizado de acuerdo con Spearman. Los valores de C-LDL se normalizaron mediante logaritmo neperiano (ln). La concordancia promedio entre ultracentrifugación y las ecuaciones empleó los valores normalizados de C-LDL y se evaluó mediante la prueba de t de student. Los diagramas de Bland Altman se construyeron en los casos donde la prueba de concordancia promedio no presentó diferencias estadísticamente significativas. Un valor de $p < 0.05$ fue considerado significativo.

RESULTADOS

Parámetros antropométricos y bioquímicos de la población

Se estudió un total de 80 sujetos mexicanos en el INC que cumplieron todos los criterios de inclusión, de los cuales 32 (40%) fueron grupo control y 48 (60%) grupo con EAC con C-LDL meta. La Tabla 3 muestra las principales características antropométricas y bioquímicas de la población de estudio: el grupo EAC presentó mayor edad en la comparación con el grupo control esto con significado estadístico ($p < 0.001$). El grupo EAC presentó menores concentraciones de CT, C-HDL, no C-HDL en el grupo con EAC con diferencia estadísticamente significativa al control ($p < 0.001$); mayor concentración de Tg ($p = 0.001$) y glucosa ($p < 0.001$).

Tabla 3. Parámetros antropométricos y bioquímicos de los controles y EAC.

Variable	Control n=32	EAC n=48	p
Sexo (%M/%F)	43.8%/56.3%	14.6%/85.4%	-
Edad (años)	48 (44-53)	62.5 (59-70)	<0.001
IMC (kg/m ²)	26.8 (25.4-28.7)	26 (24.4-27.9)	0.223
CT (mg/dL)	170 (153-182)	126.5 (104-144)	<0.001
C-HDL (mg/dL)	47 (40-54)	33 (26-35)	<0.001
No C-HDL (mg/dL)	122 (99-138)	93 (73-109)	<0.001
Tg (mg/dL)	99.5 (81-118)	128.5 (97-168)	0.001
Glucosa (mg/dL)	95 (86-99)	105 (94-137)	<0.001
Estatinas (%)	0%	100%	-

%M/%F: porcentaje de individuos de sexo masculino/ porcentaje de individuos de sexo femenino. IMC: Índice de Masa Corporal, CT: Colesterol Total, C-HDL: Colesterol Unido a Lipoproteínas de Alta Densidad. No C-HDL: Colesterol No Unido a Lipoproteínas de Alta Densidad. Tg: Triglicéridos. EAC: Enfermedad Arterial Coronaria.

Valores expresados como mediana (1° cuartil-3°cuartil). Significancia estadística con $p < 0.05$. Prueba estadística: U de Mann Whitney. Valores en negritas indican significancia estadística menor a 0.05. p: EAC vs. Controles.

Niveles de C-LDL por método, en individuos del grupo Control y en pacientes con EAC

La **Tabla 4** muestra los niveles de C-LDL plasmáticos en mg/dL determinados en las LDL aisladas por ultracentrifugación secuencial y con las tres ecuaciones en ambos grupos de estudio. Las concentraciones de C-LDL en el grupo con EAC presento niveles de C-LDL bajos en comparación con el grupo control con diferencias estadísticamente significativas en todos los métodos utilizados:

Tabla 4. Niveles de C-LDL por método.

Método	Control n=32	EAC n=48	p
LDL aisladas por Ultracentrifugación (mg/dL)	105 (87-124)	75.5 (55-91)	<0.001
Friedewald (mg/dL)	99.5 (81-116)	65.5 (51-81)	<0.001
Martin (mg/dL)	101.5 (85-120)	69 (57-87)	<0.001
Sampson (mg/dL)	101.5 (82-118)	69 (53-85)	<0.001
EAC: Enfermedad Arterial Coronaria.			
Valores expresados como mediana (1° cuartil-3°cuartil). Significancia estadística con $p < 0.05$. Prueba estadística: U de Mann Whitney. Valores en negritas indican significancia estadística menor a 0.05. p: EAC vs. Controles.			

Prueba de correlación

Para corroborar si existe una correlación entre los datos obtenidos por ultracentrifugación y las ecuaciones evaluadas en los grupos de estudio se realizó un análisis de correlación de Spearman. La figura 6 muestra las correlaciones de los 2 grupos de estudio. En el caso del grupo EAC se encontró que el mejor modelo fue Ultracentrifugación vs Martin obteniéndose un Error Cuadrático Medio (RMSE) de 8.962 y un Coeficiente de Correlación de Spearman $R^2 = 0.845$. El grupo control mostró que el mejor modelo lineal fue Ultracentrifugación vs Martin con un RMSE= 10.262 y un $R^2 = 0.797$.

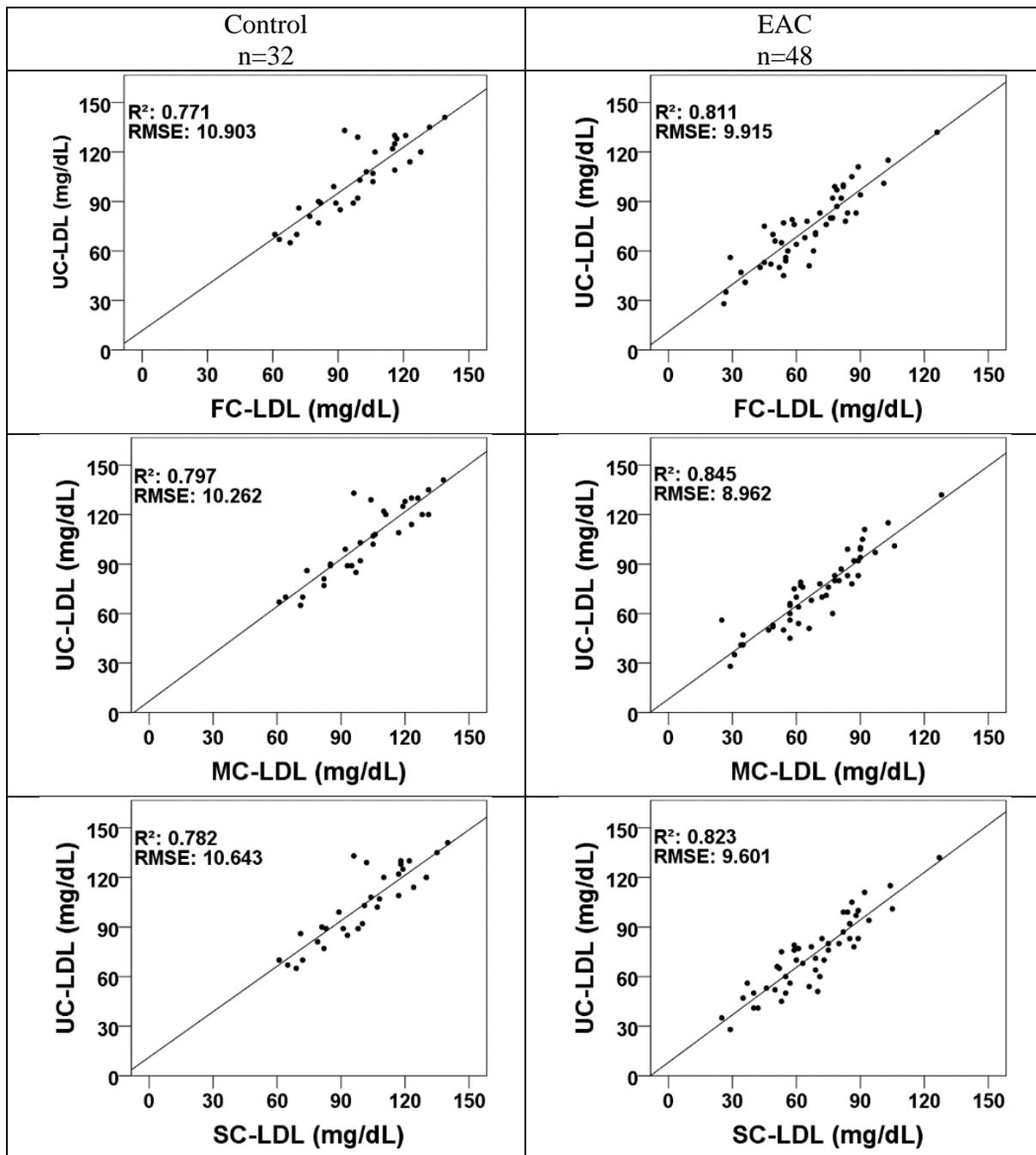


Figura 6. Gráficos de correlación de la ultracentrifugación con las tres ecuaciones, en ambos grupos. EAC: Enfermedad Arterial Coronaria. UC-LDL: C-LDL aislado por ultracentrifugación y cuantificado con autoanalizador (mg/dL). FC-LDL: C-LDL estimado con la ecuación de Friedewald (mg/dL). MC-LDL: C-LDL estimado con la ecuación de Martin (mg/dL). SC-LDL: C-LDL estimado con la ecuación de Sampson (mg/dL). R^2 : Coeficiente de Correlación de Spearman al Cuadrado. RMSE: Error Cuadrático Medio.

Prueba de concordancia

Fue necesario realizar un análisis de Bland Altman para verificar si los datos obtenidos por los diferentes métodos son concordantes e intercambiables con suficiente precisión. En principio, debido a la distribución no paramétrica de los datos, se hizo una aproximación a la normalidad de los datos de C-LDL registrados de todos los métodos, transformándolos con logaritmo natural. Con los datos normalizados se verificó la concordancia promedio por medio de una t de student: se hicieron las diferencias entre los datos de ultracentrifugación y las tres ecuaciones, en ambos grupos, y se realizó una prueba de t de student.

La tabla 6 muestra los resultados de las concordancias promedio por medio de las p calculadas de la t de student realizadas en cada grupo de estudio. Sólo en el caso de los controles, al comparar Ultracentrifugación versus las ecuaciones de Martin y Sampson no se obtuvieron diferencias significativas, concluyendo que los métodos son concordantes. Se realizaron sólo los diagramas de Bland Altman de las pruebas de t de student que no presentaron diferencias significativas.

Los diagramas de Bland Altman (Figura 7) muestran, para la comparación de la Ultracentrifugación con la ecuación de Martin, un coeficiente de Bland Altman (B) de 0.043, error sistemático (d) de 0.0229 con límites de concordancia entre -0.1651 a 0.2109. La comparación de la Ultracentrifugación con la ecuación de Sampson mostró B=0.004 y d=0.0279 con límites de concordancia entre -0.1697 a 0.2255.

Tabla 6. Concordancias promedio entre Ultracentrifugación y las ecuaciones de Friedewald, Martin y Sampson, en los tres grupos.

Ecuación	Ultracentrifugación	
	Control n=32	EAC n=48
Friedewald	0.023	<0.001
Martin	0.187	<0.001
Sampson	0.128	<0.001

EAC: Enfermedad Arterial Coronaria.

Significancia estadística con $p < 0.05$. Prueba estadística: t de student. Valores en negritas indican $p < 0.05$.

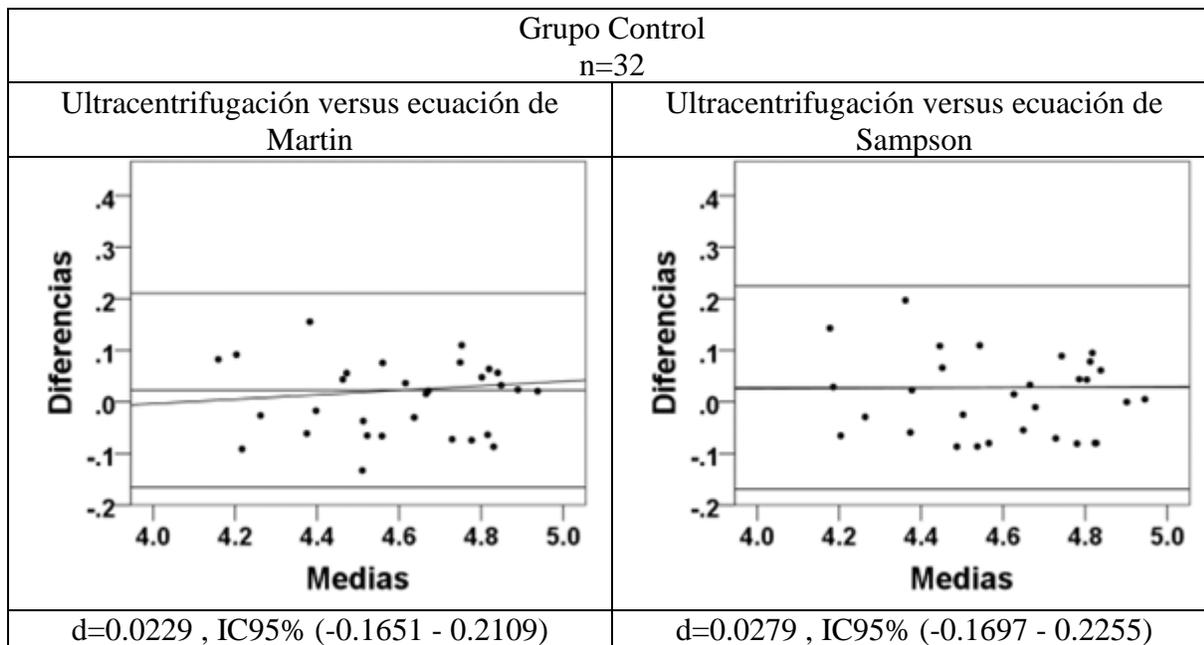


Figura 7. Gráficas de Bland Altman de controles. d= error sistemático entre ambos métodos. IC95%: límites de concordancia con 95% de confianza. B: coeficiente de Bland Altman. p: significancia estadística con $p < 0.05$.

DISCUSIÓN

Este estudio tuvo como objetivo identificar cual es la mejor ecuación para la determinación de C-LDL entre las ecuaciones de Friedewald, Martin y Sampson, en comparación con la cuantificación de C-LDL de LDL aisladas por ultracentrifugación secuencial, en sujetos control y en pacientes con EAC con C-LDL meta mexicanos.

Los resultados del presente estudio en pacientes coronarios tratados con estatinas y con CLDL en meta ($< 100/dL$) muestran que el grupo con EAC presenta una edad mayor en comparación con el grupo control y esto corresponde a lo reportado por varios estudios: la edad incrementa el riesgo de desarrollar EAC por que el individuo se expone durante un mayor tiempo a factores de riesgo cardiovascular (Alegría-Ezquerria et al., 2022), por otra parte, el envejecimiento ejerce su efecto en el endotelio vascular por pérdida de flexibilidad, lo que deriva en endurecimiento de las arterias (The Texas Heart Institute, 2022), además, la producción de especies antiinflamatorias como el óxido nítrico se ve disminuida, trayendo como consecuencia disminución de la función vasomotora y del efecto protector de esta especie antiagregante, antiadhesiva, antiproliferativa y antioxidante (Abbasi et al., 2009; Sánchez-Recalde y Kaski, 2001).

Los pacientes con EAC con C-LDL en meta mostraron niveles disminuidos de CT, C-HDL, No C-HDL y C-LDL en comparación con los individuos control debido al tratamiento con estatinas. Como se mencionó anteriormente, las estatinas inhiben la vía intrínseca del colesterol lo que fuerza a la célula a producir r-LDL para captar colesterol circulante, además, las estatinas disminuyen la síntesis de VLDL, lo que reduce la cantidad de colesterol unido a ellas (González-Jiménez y Álvarez-Ferre, 2011; Ramos, 2015). La reducción de C-VLDL y C-LDL por el consumo de estatinas conlleva a una disminución del No C-HDL y del CT, lo que justifica los niveles disminuidos de colesterol en el grupo EAC.

Los análisis de regresión lineal mostraron que en el grupo control la ecuación de Martin resultó tener el mejor desempeño ($R^2= 0.797$ y $RMSE= 10.262$) al igual que el grupo de pacientes EAC ($R^2= 0.845$ y $RMSE= 8.962$). La correlación de datos es ampliamente usada en el área clínica, sin embargo, no justifica por completo si un método de cuantificación y/o estimación es intercambiable por otro (Fisterra, 2004). La prueba de concordancia realizada por el método de Bland Altman mostró resultados de precisión similar de la ultracentrifugación con las ecuaciones de Martin y Sampson en el grupo control. La ecuación de Martin resulta tener la mejor concordancia con la ultracentrifugación respecto a la ecuación de Sampson debido a que su error sistemático es menor: 0.0229 versus 0.0279 respectivamente, sin embargo, si se considera el coeficiente de Bland Altman esto resulta ser falso. El coeficiente de Bland Altman describe la pendiente generada de la regresión lineal de los datos, es decir, como varía la diferencia entre las medidas de cada método (Cardemil, 2017).

Como puede observarse, la comparación de ultracentrifugación con la ecuación de Martin muestra una pendiente positiva, que describe que a mayor cantidad de C-LDL, la diferencia entre los valores de cada método aumenta, haciéndolos menos concordantes. Por otra parte, la pendiente de ultracentrifugación con la ecuación Sampson es positiva y casi constante,

lo que describe que independientemente del nivel de C-LDL, la diferencia se mantendrá casi siempre igual. De acuerdo con lo anterior, la ecuación de Sampson es la que presenta mejor concordancia para individuos del grupo control.

Finalmente, se encontraron diferencias significativas para la ecuación de Friedewald versus Ultracentrifugación del grupo control y con todas las ecuaciones versus la ultracentrifugación en ambos grupos de pacientes con EAC. Esto hace referencia a que los métodos no son intercambiables, empero, por la naturaleza del estudio realizado (estudio piloto). Se necesita incrementar el tamaño de la población para corroborar esta aseveración.

CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en la evaluación del desempeño de las ecuaciones de Friedewald, Martin y Sampson por medio de los análisis de correlación y concordancia, la ecuación de Martin es la que mejor estima C-LDL en sujetos control y pacientes con EAC con C-LDL meta mexicanos.

Limitaciones del Trabajo

El estudio tiene algunas limitaciones. Primero la ausencia de un grupo con EAC sin medicación (hipolipemiente o hipoglucemiante) pudiera ser una limitación, sin embargo, es poco probable encontrar este grupo de pacientes. Segundo, las concentraciones de C-HDL y Tg están en valores normales. En estudios futuros, se considera no solamente justificable sino necesario incluir pacientes con EAC con hipoalfalipoproteinemia e hipertrigliceridemia. Tercero y muy importante es que deben evaluarse un mayor número de muestras para verificar la significancia obtenida entre las ecuaciones evaluadas y la ultracentrifugación secuencial.

BIBLIOGRAFÍA

1. J. A. Lozano, et al. (2005). Bioquímica y Biología Molecular para Ciencias de la Salud. McGRAW-HILL - INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.U.
2. Robertson, S. (2020). LDL Cholesterol and Heart Disease. <https://www.news-medical.net/health/LDL-Cholesterol-and-Heart-Disease.aspx>
3. Venugopal, S.K., Anoruo M.D., Jialal, I. (2022). Biochemistry, Low Density Lipoprotein. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500010/>
4. Elshourbagy, N. A., Meyers, H. V., Abdel-Meguid, S. S. (2014). Cholesterol: the good, the bad, and the ugly - therapeutic targets for the treatment of dyslipidemia. Medical principles and practice: international journal of the Kuwait University, Health Science Centre, 23(2), 99–111. <https://doi.org/10.1159/000356856>
5. Errico, T. L., Chen, X., Martin Campos, J. M., Julve, J., Escolà-Gil, J. C., Blanco-Vaca, F. (2013). Mecanismos Básicos: Estructura, Función y metabolismo de las lipoproteínas plasm. Clínica e Investigación en Arteriosclerosis. <https://www.elsevier.es/es-revista-clinica-e-investigacion-arteriosclerosis-15-articulo-mecanismos-basicos-estructura-funcion-metabolismo-S0214916813000314>
6. Pirahanchi, Y., Sinawe, H., Dimri, M. (2022). Biochemistry, LDL Cholesterol. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519561/>
7. Ference, B. A., Ginsberg, H. N., Graham, I., Ray, K. K., Packard, C. J., Bruckert, E., Hegele, R. A., Krauss, R. M., Raal, F. J., Schunkert, H., Watts, G. F., Borén, J., Fazio, S., Horton, J. D., Masana, L., Nicholls, S. J., Nordestgaard, B. G., van de Sluis, B., Taskinen, M. R., Tokgözoğlu, L., Catapano, A. L. (2017). 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, 38(32), 2459–2472. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx144>
8. Sánchez-Recalde, Á., Kaski, J. C. (2001). Diabetes mellitus, Inflamación y aterosclerosis coronaria: Perspectiva actual y futura. Revista Española de Cardiología. <https://www.revespcardiol.org/es-diabetes-mellitus-inflamacion-aterosclerosis-coronaria-articulo-13013868>
9. Alvirde-García, U. (2016). Dislipidemias e hipertensión arterial. https://www.anmm.org.mx/GMM/2016/s1/GMM_152_2016_S1_056-062.pdf
10. Turnbull, B., Gordon, S. F., Martínez-Andrade, G. O., & González-Unzaga, M. (2019). Childhood obesity in Mexico: A critical analysis of the environmental factors,

- behaviours and discourses contributing to the epidemic. *Health psychology open*, 6(1), 2055102919849406. <https://doi.org/10.1177/2055102919849406>
11. González-Jiménez, E., Álvarez-Ferre, J. (2011). Estatinas: Características y Efectos sobre el Control Lipídico en el Niño y Adolescente Obeso. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 4(1), 69-75. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2011000100010&lng=es&tlng=es
 12. Ramos, P. M. (2015). Del concepto de estatinas de alta potencia a Los Efectos Extralipídicos de las estatinas. *Revista Española De Cardiología Suplementos*, 15, 22–27. [https://doi.org/10.1016/s1131-3587\(15\)70121-4](https://doi.org/10.1016/s1131-3587(15)70121-4)
 13. Nauck, M., Warnick, G. R., Rifai, N. (2002). Methods for measurement of LDL-cholesterol: a critical assessment of direct measurement by homogeneous assays versus calculation. *Clinical chemistry*, 48(2), 236–254.
 14. Martin, S. S., Blaha, M. J., Elshazly, M. B., Toth, P. P., Kwiterovich, P. O., Blumenthal, R. S., Jones, S. R. (2013). Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile. *JAMA*, 310(19), 2061–2068. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.280532>
 15. Sampson, M., Ling, C., Sun, Q., Harb, R., Ashmaig, M., Warnick, R., Sethi, A., Fleming, J. K., Otvos, J. D., Meeusen, J. W., Delaney, S. R., Jaffe, A. S., Shamburek, R., Amar, M., Remaley, A. T. (2020). A New Equation for Calculation of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients With Normolipidemia and/or Hypertriglyceridemia. *JAMA cardiology*, 5(5), 540–548. <https://doi.org/10.1001/jamacardio.2020.0013>
 16. Elabscience. (2023). Human LDL(Low Density Lipoprotein) ELISA Kit <https://www.elabscience.com/p-human-ldl-low-density-lipoprotein-elisa-kit-18825.html>
 17. Secretaría de Salud, et al. (2012). NORMA Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5259329&fecha=13/07/2012
 18. Instituto Mexicano del Seguro Social. (2016). Diagnóstico y tratamiento de dislipidemias (hipercolesterolemia) en el adulto. <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/233GER.pdf>
 19. Friedewald, W. T., Levy, R. I., Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*, 18(6), 499–502.
 20. Sathiyakumar, V., Blumenthal, R. S., Elshazly, M. B. (2020). New Information on Accuracy of LDL-C Estimation.

- <https://www.acc.org/latest-in-cardiology/articles/2020/03/19/16/00/new-information-on-accuracy-of-ldl-c-estimation#:~:text=Estimation%20in%20the%20non%2Dfasting%20state&text=Better%20accuracy%20than%20Friedewald's%20in,in%20the%20non%2Dfasting%20state>
21. García-García, J. A., Reding-Bernal, A., López-Alvarenga, J. C. (2013). Cálculo del Tamaño de la Muestra en investigación en Educación Médica. *Investigación En Educación Médica*, 2(8), 217–224. [https://doi.org/10.1016/s2007-5057\(13\)72715-7](https://doi.org/10.1016/s2007-5057(13)72715-7)
 22. Zararsız, G., Bolat, S., Cephe, A., Kochan, N., Yerlitaş, S. İ., Doğan, H. O., & Zararsız, G. (2022). Validation of Friedewald, Martin-Hopkins and Sampson low-density lipoprotein cholesterol equations. *PloS one*, 17(5), e0263860. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263860>
 23. Song, Y., Lee, H. S., Baik, S. J., Jeon, S., Han, D., Choi, S. Y., Chun, E. J., Han, H. W., Park, S. H., Sung, J., Jung, H. O., Lee, J. W., & Chang, H. J. (2021). Comparison of the effectiveness of Martin's equation, Friedewald's equation, and a Novel equation in low-density lipoprotein cholesterol estimation. *Scientific reports*, 11(1), 13545. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92625-x>
 24. Aguilar-Salinas, C. A., Olaiz, G., Valles, V., Torres, J. M., Gómez Pérez, F. J., Rull, J. A., Rojas, R., Franco, A., Sepulveda, J. (2001). High prevalence of low HDL cholesterol concentrations and mixed hyperlipidemia in a Mexican nationwide survey. *Journal of lipid research*, 42(8), 1298–1307.
 25. Martínez-Curbelo, G., Cortés-Cortés, M. E., Pérez-Fernández, A. C. (2016). METODOLOGÍA PARA EL ANÁLISIS DE CORRELACIÓN Y CONCORDANCIA EN EQUIPOS DE MEDICIONES SIMILARES. *Revista Universidad y Sociedad*, 8(4), 65-70. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202016000400008&lng=es&tlng=es.
 26. Cardemil, F. (2017). Comparison analysis and applications of the Bland-Altman Method: Correlation or agreement?. *Medwave*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28141786/>
 27. Bunce C. (2009). Correlation, agreement, and Bland-Altman analysis: statistical analysis of method comparison studies. *American journal of ophthalmology*, 148(1), 4–6. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2008.09.032>
 28. Asociación Médica Mundial. (2013). DECLARACIÓN DE HELSINKI DE LA AMM – PRINCIPIOS ÉTICOS PARA LAS INVESTIGACIONES MÉDICAS EN SERES HUMANOS. <https://www.wma.net/es/policias-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>

29. Alegría Ezquerro, E., Alegría Barrero, A., Alegría Barrero, E. (2012). Estratificación del Riesgo Cardiovascular: Importancia Y Aplicaciones. Revista Española De Cardiología Suplementos, 12, 8–11. [https://doi.org/10.1016/s1131-3587\(12\)70039-0](https://doi.org/10.1016/s1131-3587(12)70039-0)
30. The Texas Heart Institute. (2022). Factores de Riesgo Cardiovascular. <https://www.texasheart.org/heart-health/heart-information-center/topics/factores-de-riesgo-cardiovascular/>
31. Fistera. (2004). La fiabilidad de las mediciones clínicas: el análisis de concordancia para variables numéricas. <https://www.fistera.com/formacion/metodologia-investigacion/la-fiabilidad-mediciones-clinicas-analisis-concordancia-para-variables-numericas/#sec2>

ANEXO 1: FACTORES AJUSTABLES DE MARTIN

Para determinar el factor a sustituir en la ecuación de Martin, se elige de acuerdo con los niveles de Tg y No C-HDL (Martin et al, 2013).

Tabla 7. Factores ajustables de Martin

Tg (mg/dL)	No C-HDL (mg/dL)					
	<100	100-129	130-159	160-189	190-219	>220
7-49	3.5	3.4	3.3	3.3	3.2	3.1
50-56	4	3.9	3.7	3.6	3.6	3.4
57-61	4.3	4.1	4	3.9	3.8	3.6
62-66	4.5	4.3	4.1	4	3.9	3.9
67-71	4.7	4.4	4.3	4.2	4.1	3.9
72-75	4.8	4.6	4.4	4.2	4.2	4.1
76-79	4.9	4.6	4.5	4.3	4.3	4.2
80-83	5	4.8	4.6	4.4	4.3	4.2
84-87	5.1	4.8	4.6	4.5	4.4	4.3
88-92	5.2	4.9	4.7	4.5	4.4	4.3
93-96	5.3	5	4.8	4.6	4.5	4.4
97-100	5.4	5.1	4.8	4.6	4.5	4.3
101-105	5.5	5.2	5	4.7	4.6	4.5
106-110	5.6	5.3	5	4.8	4.6	4.5
111-115	5.7	5.4	5.1	4.8	4.7	4.5
116-120	5.8	5.5	5.2	4.9	4.8	4.6
121-126	6	5.5	5.3	5	4.8	4.6
127-132	6.1	5.7	5.3	5	4.9	4.7
133-138	6.2	5.8	5.4	5.1	5	4.7
139-146	6.3	5.9	5.6	5.2	5	4.8
147-154	6.5	6	5.7	5.3	5.1	4.8
155-163	6.7	6.2	5.8	5.4	5.2	4.9
164-173	6.8	6.3	5.9	5.5	5.3	5
174-185	7	6.5	6	5.7	5.4	5.1
186-201	7.3	6.7	6.2	5.8	5.5	5.2
202-220	7.6	6.9	6.4	6	5.6	5.3
221-247	8	7.2	6.6	6.2	5.9	5.4
248-292	8.5	7.6	7	6.5	6.1	5.6
293-399	9.5	8.3	7.5	7	6.5	5.9
400-13975	11.9	10	8.8	8.1	7.5	6.7

ANEXO 2: CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre: del Paciente: _____

Domicilio: _____

Teléfono casa: _____ Cel: _____

No. Expediente/afiliación: _____

Por medio de la presente doy mi consentimiento para participar de manera voluntaria y sin percepción económica alguna, en el protocolo de investigación intitulado “Estudio de los polimorfismos de PON-1 y ABCA-1 y la expresión de los miRNAs y su asociación a la Enfermedad Arterial Coronaria en pacientes mexicanos”.

Por lo cual acepto donar que me sea tomada una muestra de sangre y de grasa epicárdica durante el procedimiento quirúrgico al cual voy a ser sometida. Entiendo que los datos generados, así como el nombre (s) de (los) participante (s) son totalmente confidenciales y anónimos. Me han explicado la importancia y utilidad de la investigación, así mismo he comprendido las aplicaciones las cuales se me han dado de manera clara y sencilla, y que el médico que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado. También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación alguna puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE

NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE
DEL PROYECTO

NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO

NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO

MÉXICO D.F. A _____ DEL MES DE _____ DEL 2019

ANEXO 3: CARTA DE ACEPTACIÓN POR EL COMITÉ DE ÉTICA DEL INC

				Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez Evolución Continua	
-----------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

Carta de Aceptación de Proyecto de Investigación

Ref: INCAR-DG-DI-182-2018

No. de protocolo en el INCAR:	18-1075
Nombre del estudio:	Estudio de miRNAs asociados a HDL y su implicación en la formación de placa aterosclerótica en pacientes con EAC.
Número del estudio:	----
Sitio donde se realizará el estudio:	Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez
Domicilio del sitio donde se realizará el estudio:	Juan Badiano No. 1, Colonia Sección XVI, C.P. 14080. Tlalpan, Ciudad de México.

Ciudad de México, a 28 de septiembre de 2018.

Dr. Ricardo Gamboa Ávila
Investigador Responsable del Proyecto
Departamento de Fisiología
Presente.

Dr. Gamboa:

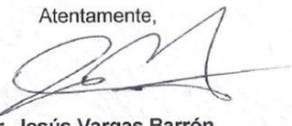
Me permito informar a usted, que su propuesta de proyecto de investigación, ha sido revisada y aprobada por los Comités de Investigación y de Ética en Investigación, en sus sesiones ordinarias del 28 de agosto y 18 de septiembre de 2018, respectivamente.

Ambos Comités revisaron y aprobaron la siguiente documentación:

1. Propuesta de proyecto de investigación, en español.
2. Consentimiento Informado, en español.

Le envío un cordial saludo.

Atentamente,


Dr. Jesús Vargas Barrón
Director de Investigación.

c.c.p. Subdirección de Investigación Básica y Tecnológica
Departamento de Trabajo Social
Expediente

JVB'ehg