

KHẢO SÁT GIÁ TRỊ CỦA XÉT NGHIỆM LDL-CHOLESTEROL (LDL-C) BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG TRỰC TIẾP SO SÁNH VỚI TÍNH TOÁN THEO CÔNG THỨC

**NGUYỄN THỊ CẨM CHÂU, Bệnh viện Đại học Y Dược Tp. HCM
VŨ QUANG HUY, Đại học Y Dược Tp. HCM**

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát giá trị xét nghiệm LDL-C bằng phương pháp mới định lượng trực tiếp trên hai hệ thống sử dụng so sánh với phương pháp tính toán theo công thức Friedewald. Vật liệu và thiết bị: Hai hệ thống Máy sinh hóa tự động: Hitachi 917 và Olympus AU 2700 với hóa chất tương ứng của Invicon Diagnostics và Olympus Diagnostics. Phương pháp định lượng LDL-C trực tiếp của Denka Seiken, tính toán theo công thức của Friedewald, trên 913 mẫu bệnh phẩm chia nhóm theo các nồng độ của Triglycerid (mg/ dL): ≤ 300 (nhóm 1), 300 – 400 (nhóm 2) and > 400 (nhóm 3). Kết quả: không có sự khác biệt giữa hai hệ thống sử dụng; Trên các nhóm bệnh phẩm cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa ở các nhóm 2, 3 và trên toàn bộ mẫu nói chung, nhưng không có khác biệt có ý nghĩa trên nhóm 2. Kết luận: Phương pháp định lượng trực tiếp không thể hiện ưu

thế so với phương pháp tính toán ở vùng nồng độ Triglycerid thấp (≤ 300), nhưng có giá trị ưu việt so với phương pháp tính toán khi nồng độ Triglycerid cao, đặc biệt với những trường hợp không tính được LDL-C bằng công thức.

Từ khóa: xét nghiệm LDL-C, công thức Friedewald

SUMMARY:

Comparatively evaluate the new technique of LDL-C direct measurement to calculation.

Objective: Comparatively evaluate the new technique to direct measure LDL-cholesterol using two systems with the calculation one; Meteria and Instruments: two systems use reagents of Invicon Diagnostics and Olympus Diagnostics with automated chemistry instruments of Hitachi 917 and Olympus AU 2700 respectively; Methods: Liquid assay to direct measure LDL-cholesterol (LDL-C) applying the

Denka-Seiken method comparing to indirect calculation using Friedewald formula. Sera from 913 divided into 3 groups depending on Triglycerid concentration (mg/dL): ≤ 300 (group 1), $300 - 400$ (group 2) and > 400 (group 3); Results: No significant different between Olympus and Invicon reagent; Comparison between direct measurement and calculation showing significant differences on overall samples, group 2 and 3; no significant difference at group 1. Conclusion: the direct measurement technique showed no advantage at the low Triglycerid concentration (≤ 300 mg/dL), but significant advantages to the calculation one at Triglycerid medium and high concentration, particularly >400 mg/dL.

Keywords: low density lipoprotein - Cholesterol (LDL-C); National Cholesterol Education Program – NCEP, direct measure LDL-C, Friedewald calculation.

ĐẶT VẤN ĐỀ

LDL-Cholesterol (LDL-C) đã được thừa nhận rộng rãi là yếu tố nguy cơ chính gây vữa xơ động mạch và bệnh tim mạch. Xét nghiệm LDL-C giúp đánh giá nguy cơ bệnh mạch vành, xơ vữa động mạch và theo dõi điều trị hạ lipid trong máu đã trở thành khuyến cáo của Chương trình đào tạo quốc gia về Cholesterol (NCEP - Hoa Kỳ) (3, 4).

Xác định nồng độ LDL-C huyết thanh bằng công thức Friedewald đã được sử dụng từ xưa, và đến nay hầu hết các phòng xét nghiệm vẫn sử dụng. Phương pháp này đòi hỏi phải thực hiện 3 xét nghiệm là Cholesterol toàn phần, HDL-C và Triglycerid, nên phụ thuộc rất lớn vào độ chính xác của các xét nghiệm đó, nhất là Triglycerid; đây là giá trị ước tính nên không chính xác hoặc không tính được trong một số trường hợp như: có nhiều Chylomicron, tăng lipoprotein týp III hoặc Triglycerid máu > 400 mg/dl.

Để góp phần phát triển kỹ thuật mới phục vụ lâm sàng, chúng tôi thực hiện đề tài này tại khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y Dược Tp Hồ Chí Minh, 215 Hồng bàng Q.5 nhằm: Khảo sát giá trị xét nghiệm LDL-C bằng phương pháp mới định lượng trực tiếp so sánh trên hai hệ thống sử dụng và với phương pháp tính toán theo công thức Friedewald.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu: gồm 913 bệnh nhân chia thành 3 nhóm:

Nhóm 1: có Triglycerid ≤ 300 mg/dl gồm 226 người

Nhóm 2: có Triglycerid > 300 mg/dl và ≤ 400 mg/dl gồm 224 người

Nhóm 3: có Triglycerid > 400 mg/dl gồm 463 người

2. Vật liệu và thiết bị nghiên cứu: Dùng hai hệ thống thiết bị và hóa chất:

- Máy sinh hóa tự động Hitachi 917 với hóa chất Invicon Diagnostics: LDL-C, code 217100.

- Máy sinh hóa tự động Olympus AU 2700, hóa chất Olympus Diagnostics. LDL-C: code OSR 6283.

3. Phương pháp nghiên cứu:

3.1. Định lượng LDL-C trực tiếp (tt) trên 2 hệ

thống: theo phương pháp Denka Seiken(1)

So sánh trên cả hai hệ thống sử dụng. Xác định p, R^2 và R.

3.2. Xác định LDL-C gián tiếp (gt): tính toán theo công thức Friedewald. (2)

$$LDL_C = TC - (HDL_C + \frac{TG}{5})$$

3.3. So sánh hai phương pháp định lượng LDL-C trực tiếp và gián tiếp theo Friedewald của mỗi nhóm. Xác định p, R^2 và R.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Kết quả định lượng LDL-C trực tiếp trên hai hệ thống thiết bị hóa chất:

1.1. So sánh kết quả định lượng:

Bảng 1: Kết quả so sánh hai hóa chất Olympus và Invicon

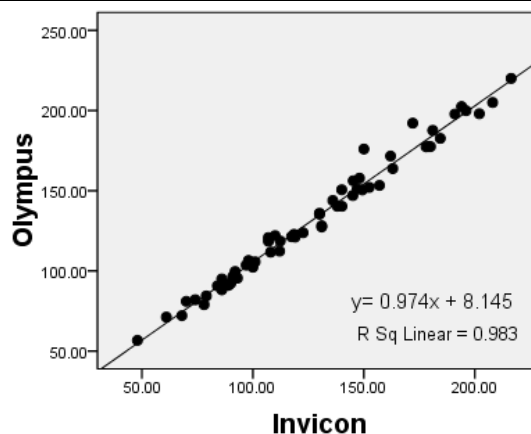
Thông số	Hóa chất Olympus	Hóa chất Invicon
n	65	65
$\bar{X} \pm SEM$ (mg/dl)	130,23 \pm 4,962	125,36 \pm 5,050
SD	40,00	40,72
Giá trị lớn nhất	56,7	48
Giá trị nhỏ nhất	220	216,3
p	0,49	

Kết quả định lượng trên hai hệ thống khác nhau không ý nghĩa ($p = 0,49$, $\alpha = 0,05$).

1.2. Sự tương quan của hai hóa chất Olympus và Invicon

Bảng 2: Tương quan giữa hai hóa chất Olympus và Invicon

Thông số	r	R^2	Phương trình hồi qui	p
Hóa chất Olympus	0,991	0,983	$\hat{y} = 0,974x + 8,145$ B = (0,941 – 1,007) B ₀ = 8,145 (3,848 – 12,441)	< 0,000
Hóa chất Invicon				



Hình 1: Tương quan giữa hai hóa chất Olympus và Invicon

Trắc nghiệm F và t –test để đánh giá tính tương thích của phương trình hồi qui và ý nghĩa của hệ số Bi cho thấy: Hai hóa chất Olympus và Invicon có tương quan thuận với nhau và rất chặt chẽ với R tương ứng là 0,991.

2. Kết quả so sánh hai phương pháp định lượng LDL-C trực tiếp và gián tiếp

2.1. So sánh hai phương pháp định lượng LDL-C trực tiếp (tt) và LDL-C gián tiếp (gt) theo công thức của Friedewald trên toàn bộ mẫu:

Bảng 3: Kết quả so sánh giữa LDL-C gt và LDL-C tt trên toàn bộ mẫu.

Thông số	LDL-C gt mg/dl	LDL-C tt mg/dl	p < 0,000
n	913	913	
$\bar{x} \pm \text{SEM}$ (mg/dl)	92,18 \pm 1,85	127,9 \pm 1,33	
SD	55,86	40,33	
Giá trị lớn nhất	418	431	
Giá trị nhỏ nhất	-205	20	

Trung bình LDL-C tính toán theo công thức Friedewald là 92,18mg/dl và định lượng trực tiếp là 127,9mg/dl, khác biệt có ý nghĩa (p là <0,000, $\alpha=0,05$).

Bảng 4 : Tương quan giữa LDL-C gt và LDL-C tt trên toàn bộ mẫu

Thông số	r	R ²	Phương trình hồi qui	p
LDL-C gt LDL-C tt	0,802**	0,644	$\hat{y} = 1,111x - 49,93$ B = (1,057 – 1,165) B ₀ = (-57,140 -- 42,724)	< 0,000

(**): mức ý nghĩa là 0,01

Hai phương pháp định lượng không tương quan tuyến tính với nhau (R²=0,644). Tương quan giữa 2 phương pháp là tương quan thuận chặt chẽ có ý nghĩa (r = 0,802, $\alpha = 0,0$).

2.2. Kết quả so sánh hai phương pháp định lượng LDL-C gt và LDL-C tt trên nhóm 1 (Triglycerid \leq 300 mg/dl)

Trung bình LDL-C được tính toán theo công thức là 121,02mg/dl và định lượng trực tiếp là 126,92mg/dl, không có sự khác biệt về thống kê (p là 0,185, $\alpha = 0,05$).

Tương quan giữa LDL-C gt và LDL-C tt

Bảng 5 : tương quan giữa LDL-C gt và LDL-C tt ở nhóm 1

Thông số	r	R ²	Phương trình hồi qui	p
LDL-C gt LDL-C tt	0,977**	0,954	$\hat{y} = 0,994x + 7,082$ B = (0,965 – 1,023) B ₀ = (3,317 – 10,848)	< 0,000

(**): mức ý nghĩa $\alpha = 0,01$

Hai phương pháp định lượng LDL-C có liên quan tuyến tính với nhau theo phương trình hồi qui $\hat{y} = 0,994x + 7,082$, R² = 0,954 và tương quan thuận rất tốt với hệ số tương quan tương ứng là 0.977.

2.3. Kết quả so sánh hai phương pháp định lượng LDL-C gt và LDL-C tt trên nhóm 2 (Triglycerid \geq 301 mg/dl và \leq 400 mg/dl)

Trung bình của LDL-C gt là 107,22 mg/dl và LDL-C tt là 127,83 mg/dl, khác nhau có ý nghĩa thống kê

(p=0,000).

Tương quan giữa LDL-C gt và LDL-C tt

Bảng 6: tương quan giữa LDL-C gt và LDL-C tt

Thông số	r	R ²	Phương trình hồi qui	p
LDL-C gt LDL-C tt	0,943	0,889	$\hat{y} = 0,867x + 34,848$ B ₀ = (0,827 – 908) B = (30,221 – 39,475)	< 0,000

Hai phương pháp định lượng không tương quan tuyến tính với nhau R² = 0,889

2.4. Kết quả so sánh hai phương pháp định lượng LDL-C gt và LDL-C tt trên nhóm 3 (Triglycerid \geq 401 mg/dl)

Trung bình của LDL-C gt là 70,83 mg/dl và LDL-C tt là 128,19 mg/dl, khác nhau có ý nghĩa thống kê (p<0,000).

Trong nhóm này có một số mẫu không tính được bằng công (LDL-C_{gt} < 0.): là những mẫu huyết tương rất đục hoặc nồng độ Triglycerid cao và Cholesterol thấp:

Bảng 7: Kết quả so sánh giữa LDL-C gt và LDL-C tt trên nhóm LDL-C không tính được

Thông số	LDL-C gt	LDL -C tt	P < 0,000
n	40	40	
$\bar{x} \pm \text{SEM}$ (mg/dl)	-42,68 \pm 6,63	82,15 \pm 4,521	
SD	41,931	28,593	
Giá trị lớn nhất	-3	152	
Giá trị nhỏ nhất	-205	20	

Trung bình của LDL-C gt là -42,68 mg/dl và LDL-C tt là 82,15 mg/dl, khác nhau có ý nghĩa thống kê (p=0,000).

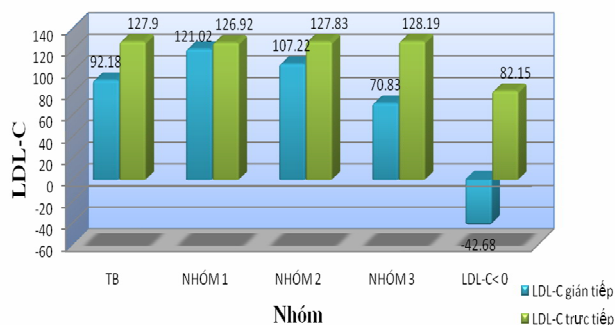
BÀN LUẬN VÀ KẾT LUẬN:

1. Kết quả định lượng LDL-C bằng phương pháp trực tiếp trên hai hệ thống thiết bị với hóa chất Olympus và Invicon khác biệt không có ý nghĩa thống kê: có thể sử dụng tương đương nhau.

2. So sánh hai phương pháp định lượng LDL-C trực tiếp và gián tiếp tính toán:

2.1. Trên toàn bộ mẫu (n = 913), kết quả định lượng của hai phương pháp khác nhau có ý nghĩa thống kê (p < 0,000; $\alpha = 0,05$).

Đồ thị, cho thấy giữa các nhóm, Triglycerid càng cao sự chênh lệch về LDL-C giữa 2 phương pháp càng tăng dần.



Hình 2: LDL-C_{gt} và LDL-C_{tt} giữa các nhóm nghiên

cứu

2.2. Nhóm 1 (Triglycerid ≤ 300 mg/dl)

Kết quả định lượng của hai phương pháp không khác biệt về thống kê ($p = 0,185$ và $\alpha = 0,05$), và có mối tương quan thuận rất chặt chẽ ($r = 0,977$, $\alpha = 0,01$).

Như vậy, với vùng nồng độ Triglycerid ≤ 300 mg/dl thì phương pháp định lượng LDL-C trực tiếp không ưu việt hơn phương pháp tính toán.

2.3. Nhóm 2 (Triglycerid 301 – 400 mg/dl)

Kết quả định lượng giữa LDL-C gián tiếp và trực tiếp khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,000$ và $\alpha = 0,05$): phương pháp định lượng trực tiếp ưu việt hơn của so với tính toán

Chia nhóm này thành 2 nhóm nhỏ: Triglycerid: 301 – 350 mg/dl (A) và 351 – 400 mg/dl (B), và sử dụng công thức Friedewald hiệu chỉnh (LDL-C_{hc}) để thay thế, kết quả :

Bảng 8: Kết quả so sánh giữa LDL-C_{gt}, LDL-C_{tt} và LDL-C_{hc} trong nhóm 2

Thông số	LDL-C _{gt}	LDL-C _{tt}	LDL-C _{hc}
Nhóm A (n = 120)	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 106,7 ± 3,604	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 125,32 ± 3,623	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 117,51 ± 3,607
Nhóm B (n = 104)	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 107,83 ± 3,841	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 130,71 ± 3,576	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 120,75 ± 3,583

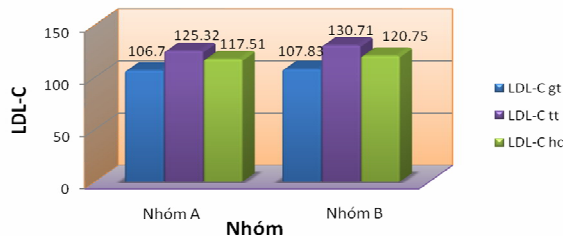
Trong nhóm A:

- Không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa LDL-C_{tt} với LDL-C_{hc} ($p = 0,109$).
- Không có khác biệt có ý nghĩa giữa LDL-C_{gt} với LDL-C_{hc} ($p = 0,07$).
- Sự khác biệt giữa LDL-C_{gt} và LDL-C_{tt} có ý nghĩa thống kê ($p < 0,000$).

Trong nhóm B :

- Khác biệt không có ý nghĩa giữa LDL-C_{tt} với LDL-C_{hc} ($p = 0,061$).
- Khác biệt không có ý nghĩa giữa LDL-C_{gt} với LDL-C_{hc} ($p = 0,054$).
- Khác biệt giữa LDL-C_{gt} và LDL-C_{tt} có ý nghĩa thống kê ($p < 0,000$).

Do đó có thể sử dụng công thức Friedewald hiệu chỉnh đối với những bệnh phẩm có Triglycerid từ 301 – 400 mg/dl.



Hình 3: Kết quả so sánh giữa LDL-C_{gt}, LDL-C_{tt} và LDL-C_{hc} trong nhóm 2

Tóm lại: Đối với nhóm 2 (Triglycerid từ 300 – 400 mg/dl), có thể sử dụng công thức Friedewald để xác định LDL-C do có HSTQ tốt tuy nhiên kết quả này có chênh lệch khoảng 12 %. Do đó nên sử dụng công thức của Friedewald hiệu chỉnh để kết quả có độ tin

cậy hơn

2.4 Nhóm 3 (Triglycerid > 400 mg/dl)

Kết quả định lượng LDL-C giữa hai phương pháp khác biệt rất có ý nghĩa ($p < 0,000$): phương pháp định lượng trực tiếp ưu việt rõ hơn tính toán.

Chia thành ba nhóm nhỏ theo Triglycerid: 401 – 440 mg/dl (nhóm C), 476 – 500 mg/dl (nhóm D) và 501 – 530 mg/dl (nhóm E), kết quả:

Bảng 2: Kết quả so sánh giữa LDL-C_{gt}, LDL-C_{tt} và LDL-C_{hc} trong nhóm 3

Thông số	LDL-C _{gt}	LDL-C _{tt}	LDL-C _{hc}
Nhóm C (n=56)	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 107,86 ± 5,165	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 136,41 ± 5,306	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 121,97 ± 5,162
Nhóm D (n= 31)	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 94,74 ± 9,065	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 134,45 ± 7,646	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 110,97 ± 9,076
Nhóm E (n = 41)	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 86,66 ± 6,089	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 131,12 ± 5,261	$\bar{x} \pm SEM$ (mg/dl) 103,91 ± 6,083

Trong nhóm C:

- Khác biệt không có ý nghĩa giữa LDL-C_{tt} với LDL-C_{hc} ($p = 0,054$).
- Khác biệt không có ý nghĩa giữa LDL-C_{gt} với LDL-C_{hc} ($p = 0,056$).
- Sự khác biệt giữa LDL-C_{gt} và LDL-C_{tt} có ý nghĩa thống kê ($p < 0,000$).

Trong nhóm D

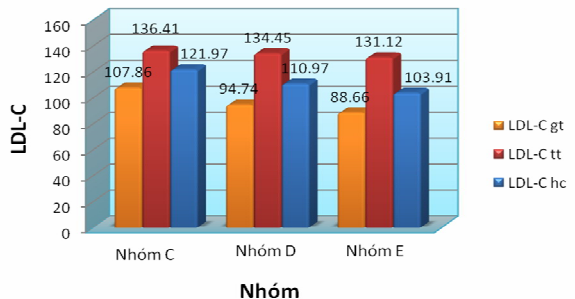
- Khác biệt không có ý nghĩa giữa LDL-C_{tt} với LDL-C_{hc} ($p = 0,052$).
- Khác biệt không có ý nghĩa giữa LDL-C_{gt} với LDL-C_{hc} ($p = 0,211$).
- Sự khác biệt giữa LDL-C_{gt} và LDL-C_{tt} có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

Trong nhóm E:

Có sự khác biệt có ý nghĩa giữa cả ba phương pháp định lượng LDL-C với p là :

- $p = 0,001$ đối với cặp LDL-C_{tt} với LDL-C_{hc}
- $p = 0,048$ đối với cặp LDL-C_{gt} với LDL-C_{hc}
- $p < 0,000$ đối với cặp LDL-C_{gt} với LDL-C_{tt}

Như vậy xác định LDL-C bằng công thức Friedewald hiệu chỉnh có thể áp dụng được đối với những trường hợp có Triglycerid nhỏ hơn hoặc bằng 500 mg/dl.



Hình 4: Kết quả so sánh giữa LDL-C_{gt}, LDL-C_{tt} và LDL-C_{hc} trong nhóm 3

Với những trường hợp LDL-C tính toán theo công thức có kết quả < 0 (không tính được), việc thay thế

bằng phương pháp định lượng trực tiếp là lựa chọn rõ ràng và tối ưu.

Điều này giúp khắc phục được hạn chế của phương pháp xác định LDL-C bằng tính toán theo công thức Friedewald, đặc biệt trong những trường hợp: có nhiều Chylomicron (mẫu có huyết tương đục như sữa), tăng lipoprotein týp III, Triglycerid cao > 400 mg/dl (theo một số tài liệu), và theo nghiên cứu của chúng tôi là > 300 mg/dl.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sakaue T, Hirano T, Yoshino G, Sakai K, Takeuchi H, Adachi M. Reactions of direct LDL-cholesterol assays with pure LDL fraction and IDL: comparison of three homogeneous methods. *Clin Chim*

Acta 2000;295: 97-106.

2. Friedewald WF, Levy RI, Frederickson DS - Estimation of LDL-Cholesterol Concentration without Use of the Preparative Ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972, 18: 499-502.

3. Executive Summary of The Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adult (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-97.

4. American Academy of Pediatrics. National Cholesterol Education Panel on Blood Levels in Children and Adolescents. *Pediatrics* 1992; 89: 525-84.