

INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGIA

Optimización de la determinación del índice beta-prebeta lipoproteínas para su aplicación en los laboratorios clínicos de nuestra red de salud

Lic. Enrique J. Ezcurra Ferrer

Ezcurra Ferrer, E. J.: *Optimización de la determinación del índice beta-prebeta lipoproteínas para su aplicación en los laboratorios clínicos de nuestra red de salud.*

Las determinaciones bioquímicas en las que se sustentan la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de las hiperlipoproteinemias, implican a menudo procedimientos analíticos que requieren equipos, reactivos y materiales que no están a disposición de la mayor parte de los laboratorios de nuestra red de salud. Entre los procedimientos simplificados que permiten un pesquísaje primario de las hiperlipoproteinemias, la medición del índice beta-prebeta lipoproteínas, introducido por *Berenson* en 1972, resulta uno de los más útiles. Con vistas a extender la aplicabilidad de esta determinación a los laboratorios de diversos niveles de nuestra red de salud, se optimizó la metodología en los siguientes aspectos: 1) se desarrolló un método simplificado que utilizara un reactivo único de fácil preparación en el laboratorio, 2) se emplearon como valores de referencia los niveles séricos de colesterol (Col) y triglicéridos (T6) obtenidos por métodos enzimáticos automatizados de elevada precisión y exactitud, y 3) se midió el índice beta-prebeta lipoproteínas en 6 modelos de fotómetros (Pye-Unicam, Chino, Eppendorf, Erma, Bausch-Lomb y Spekol), que son los que se encuentran con mayor frecuencia en los laboratorios clínicos de nuestro país, con vistas a establecer valores de referencia de utilidad diagnóstica para cada equipo. Se estudiaron 383 muestras a las que se les determinaron en paralelo colesterol y triglicéridos a índice beta-prebeta lipoproteínas: este último se midió de forma simultánea en los 6 fotómetros antes mencionados. Se estableció para cada equipo el valor de absorbancia capaz de detectar más del 90% de los casos patológicos y el menor número posible de falsos positivos, los que resultaron ser, respectivamente: Pye-Unicam: 0,65, Chino: 0,30, Eppendorf: 0,40, Bausch-Lomb: 0,40, Spekol: 0,40 y Erma: 0,27. La rapidez, sencillez, economía y potencial diagnóstico del índice beta-prebeta lipoproteínas, le confiere una gran utilidad en el pesquísaje de hiperlipoproteinemias, pues lo hace asequible a laboratorios de modestos recursos y en laboratorios más desarrollados implica un considerable ahorro de los recursos humanos y materiales que requieren las determinaciones bioquímicas de mayor complejidad técnica.

INTRODUCCION

Las hiperlipoproteinemias constituyen uno de los factores de riesgo más relevantes en la aparición y progresión de la aterosclerosis,¹ cuyas manifestaciones clínicas resultan uno de los principales problemas de salud en nuestro país y en todo el mundo.

Las determinaciones bioquímicas en las que se sustenta la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de las hiperlipoproteinemias implican a menudo procedimientos analíticos que requieren equipos, reactivos y materiales que no están a la disposición de la mayor parte de los laboratorios de nuestra red de salud.

La literatura ha descrito procedimientos simplificados que permiten un pesquaje primario de las hiperlipoproteinemias, entre los que se pueden citar la prueba de frío, la medición de la turbiedad sérica y la determinación del índice beta-prebeta lipoproteínas.²³

*Berenson y colaboradores*⁴ desarrollaron, en 1972, un procedimiento para la determinación del índice beta-prebeta lipoproteínas que se fundamenta en que éstas forman complejos insolubles con heparina en presencia de iones calcio; la medición de la turbiedad resultante es un índice de la presencia de hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, o de ambas.

En el Instituto Nacional de Endocrinología (INE), dicho procedimiento fue adoptado en 1974 y estandarizado en un espectrofotómetro Pye Unicam *versus* los valores séricos de colesterol y triglicéridos medidos por los métodos químicos en uso en ese momento en la Institución.⁵

Con vistas a extender la aplicabilidad del método de determinación del índice beta-prebeta lipoproteínas a laboratorios de diversos niveles de la red de salud, se reevaluó la metodología en los siguientes aspectos:

1. Se desarrolló un método simplificado que utilizara un reactivo único de fácil preparación en el laboratorio.
2. Se emplearon como valores de referencia para las determinaciones de colesterol y triglicéridos, los obtenidos por métodos enzimáticos automatizados de elevada precisión y exactitud.
3. Se midió la turbiedad resultante al determinar el índice beta-prebeta lipoproteínas en los 6 modelos de fotómetros que se encuentran más diseminados en los laboratorios clínicos de nuestro país, con vistas a establecer valores de referencia de utilidad clínica para cada equipo.

MATERIALES Y METODOS

Se procesaron 383 muestras provenientes de la Consulta Externa del INE (22%) y del Banco de Sangre Provincial (78%). En todos los casos se obtuvieron de 10 a 12 ml de sangre venosa que fueron recogidos en tubo seco sin anticoagulante. Se separó el suero por centrifugación a 3 000 *rev/min* durante '10 *min* y cada suero fue dividido en 2 alícuotas: una para la determinación de colesterol y triglicéridos (realizada dentro de los 7 días siguientes a la recogida de la muestra) y otra que se utilizó para la determinación, el mismo día de la extracción, del índice beta-prebeta lipoproteínas.

La determinación del índice se realizó simultáneamente en 6 fotómetros de diversas marcas, que son los modelos que se pueden encontrar con más frecuencia en los laboratorios clínicos de nuestro país. Los equipos utilizados fueron: Pye-Unicam SP-500, Erma, Spekol, Eppendorf 6114 S, Bausch-Lomb y Chino.

El número de muestras procesadas en cada uno fue variable, ya que no se pudo disponer de los 6 equipos mencionados desde el inicio mismo del estudio (mín: 286; máx: 383).

La determinación del índice se realizó utilizando un reactivo único, preparado en el laboratorio, cuya composición por litro de solución es la siguiente:

Cloruro de calcio: 2,8 g.
 Cloruro de sodio: 222 mg.
 Heparina (5 000 U/ml): 2 ml.

Al tener en cuenta la sensibilidad de los diversos equipos de medición, el procedimiento se optimizó de la siguiente manera en lo que respecta a cantidades de muestra y reactivo:

Equipo	Longitud de onda (nm)	Suero (ml)	Reactivo (ml)
Pye-Unicam	600	0,1	2,4
Chino	590	0,5	4,0
Eppendorf	620	0,1	2,4
Bausch-Lomb	600	0,1	2,4
Spekol	600	0,1	2,4
Erma	620	0,3	4,0

En todos los casos se mezclaron la muestra y el reactivo con agitación vigorosa. Los tubos se dejaron en reposo 15 *min* y se agitaron de nuevo antes de leer contra blanco de reactivo a la longitud de onda señalada anteriormente para cada equipo. Los resultados se expresan directamente en unidades de absorbancia.

Se utilizó un autoanalizador de colesterol⁵ y triglicéridos,⁷ cuyos respectivos coeficientes de variación en condiciones de rutina son 3,9 y 4,2%.

Se siguieron los criterios de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia establecidos en el INE,⁸ por lo que se consideran como patológicos los niveles de colesterol sérico superiores a 250 *mg/dl* y de triglicéridos a los mayores de 140 *mg/dl*, determinados mediante los métodos enzimáticos automatizados referidos anteriormente.

RESULTADOS

La tabla 1 recoge la frecuencia de hipercolesterolemia, de hipertrigliceridemia y la combinada en las 383 muestras estudiadas.

Tabla 1. Frecuencia de hiperlipoproteinemias en la muestra estudiada (n = 383)

	No.	%
Colesterol ↑*	43	11
Triglicéridos ↑**	84	22
Colesterol y triglicéridos ↑	44	12
Total	171	45

* > 250 *mg/dl*.
 ** > 140 *mg/dl*.

Como se observa, casi el 50% de la población estudiada presenta algún tipo de trastorno del metabolismo lipídico, a pesar de que la mayor parte de los casos (78%) eran donantes de sangre supuestamente sanos. Este hallazgo nos motivó a determinar la frecuencia de estos trastornos entre los 300 donantes de sangre y encontramos que casi el 40% de los mismos (117 de 300) presentaban cifras elevadas de colesterol, de triglicéridos, o de ambos.

En las tablas 2-7 se presentan los resultados obtenidos al correlacionar las cifras de colesterol y triglicéridos con el valor del índice beta-prebeta lipoproteínas de cada muestra, medido en los 6 fotómetros utilizados en este estudio.

Absorbancia	Col ↑ n=43		TG ↑ n=84		Col y TG ↑ n=44		Normales n=212	
	Falsos negativos				Falsos positivos			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
≥ 0,50	16	37	21	25	9	20	37	17
≥ 0,65	2	5	4	5	3	7	22	10
≥ 0,80	1	2	2	2	0	0	3	1

Absorbancia	Col ↑ n=32		TG ↑ n=61		Col y TG ↑ n=36		Normales n=182	
	Falsos negativos				Falsos positivos			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
≥ 0,35	13	42	22	36	7	19	32	21
≥ 0,40	3	9	8	13	1	2	13	7
≥ 0,45	1	1	1	2	0	0	2	1

Absorbancia	Col ↑ n=27		TG ↑ n=50		Col y TG ↑ n=28		Normales n=105	
	Falsos negativos				Falsos positivos			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
≥ 0,22	13	48	20	39	6	23	58	55
≥ 0,27	5	19	6	11	3	9	33	31
≥ 0,32	2	7	2	3	1	3	13	12

Absorbancia	Col ↑ n=27		TG ↑ n=50		Col y TG ↑ n=28		Normales n=105	
	Falsos negativos				Falsos positivos			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
≥ 0,35	7	27	16	32	4	14	19	18
≥ 0,40	4	14	3	5	1	3	12	11
≥ 0,45	1	3	1	2	0	0	1	1

Tabla 6. Sensibilidad y especificidad del índice. Fotómetro Chino (n=383)

Absorbancia	Col ↑ n=43		TG ↑ n= 84		Col y TG ↑ n=44		Normales n=212	
	Falsos negativos				Falsos positivos			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
≥ 0,25	12	28	18	21	10	33	28	13
≥ 0,30	3	7	9	11	2	5	16	8
≥ 0,35	0	0	3	4	0	0	6	3

Tabla 7. Sensibilidad y especificidad del índice. Fotómetro Bausch-Lomb(n=286)

Absorbancia	Col ↑ n=27		TG ↑ n=50		Col y TG ↑ n=28		Normales n=105	
	Falsos negativos				Falsos positivos			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
≥ 0,35	10	37	18	35	8	29	26	25
≥ 0,40	3	12	3	6	1	4	15	14
≥ 0,45	1	4	1	1	0	0	2	2

Se consideran falsos negativos los casos que al presentar elevados los niveles de colesterol, de triglicéridos, o de ambos, tienen un índice beta-prebeta lipoproteínas inferior a cada una de las respectivas absorbancias tomadas como valores límites, y falsos positivos a aquéllos en que el índice es superior a las absorbancias límites, pero que tienen, sin embargo, cifras normales de colesterol y triglicéridos.

Las absorbancias límites se tomaron empíricamente en la búsqueda precisamente de un valor para el cual la especificidad y sensibilidad del índice beta-prebeta lipoproteínas fuera mayor, es decir, que fueran lo menor posible el número de falsos positivos y de falsos negativos.

En la tabla 8 se resumen nuestros resultados; se señala para cada fotómetro cuál absorbancia debe considerarse como límite y el número de falsos negativos y de positivos que resultan a partir de esta definición.

Tabla 8. Sensibilidad y especificidad del índice. Tabla resumen

Equipo (absorbancia)	Falsos negativos		Falsos positivos	
	No.	%	No.	%
Pye-Unicam (≥ 0,65)	9/171	5	22/212	10
Chino (≥ 0,30)	14/171	8	16/212	8
Eppendorf (≥ 0,40)	12/129	9	13/182	7
Bausch-Lomb (≥ 0,40)	7/105	7	15/105	14
Spekol (≥ 0,40)	8/105	8	12/105	11
Erma (≥ 0,27)	14/105	13	33/105	31

Como se observa, a excepción del fotómetro Erma, los límites establecidos para cada equipo resultan en niveles semejantes de falsos negativos y de positivos de alrededor del 10%. Aun en el caso del fotómetro Erma, a pesar del relativamente elevado número de falsos positivos (31%),

el por ciento de falsos negativos, es de sólo el 13%, lo que significa en términos prácticos que se detecta el 87% de los casos patológicos cuando se considera como valor límite para el índice beta-prebeta una absorbancia de 0,27.

DISCUSION

Como se ha señalado anteriormente, el índice beta-prebeta lipoproteínas constituye una alternativa útil, económica y sencilla a las determinaciones de colesterol y triglicéridos en la detección y evaluación de trastornos del metabolismo lipídico.

Una serie limitante que impide su aplicación en los laboratorios clínicos de nuestra red de salud, era el hecho de que se requería definir para cada tipo de fotómetro el valor de absorbancia que sirviera de punto límite entre los casos normales y los patológicos. Esto implicaba a su vez, la necesidad de determinar colesterol y triglicéridos en un número adecuado de muestras en paralelo con la determinación del índice.

La posibilidad de concentrar en nuestro laboratorio 6 de los tipos de fotómetros más utilizados en los laboratorios clínicos del país y de disponer de métodos automatizados para las determinaciones de colesterol y triglicéridos, hizo posible establecer los valores de referencia para cada equipo y corroborar la sensibilidad y especificidad diagnóstica del índice beta-prebeta lipoproteínas.

En el presente trabajo se recomienda además, un procedimiento analítico simplificado para la determinación del índice, utilizando un reactivo único de fácil preparación en el laboratorio y un método rápido y directo. El costo por determinación resulta inferior a los 3 centavos y se requieren reactivos y materiales de fácil adquisición.

Los resultados obtenidos demuestran la utilidad diagnóstica del índice beta-prebeta lipoproteínas en el pesquisaje primario de hiperlipoproteinemias, el cual puede ser utilizado por su rapidez, sencillez y economía en laboratorios que posean modestos recursos. Creemos además, que la utilidad del índice se extiende aun a laboratorios que puedan realizar determinaciones de colesterol y triglicéridos, pues se ahorrarían recursos humanos y materiales si el índice se empleara como pesquisaje para definir cuáles muestras requieran realmente la cuantificación específica de determinados componentes lipoproteicos.

El hallazgo colateral de la elevada presencia de trastornos lipídicos en la muestra estudiada, refuerza la necesidad de una búsqueda activa de estas enfermedades aún en sujetos supuestamente sanos, para lo cual la sencilla determinación del índice beta-prebeta lipoproteínas pudiera ser de gran utilidad.

SUMMARY

Escurra Ferrer, E. J.: *To become eminently good the determination of beta-prebeta lipoprotein index for its application in clinical laboratories of our public health network.*

Biochemical determinations in which prevention, diagnosis and treatment of hyperlipoproteinemias are supported, often involve analytical procedures requiring equipments, reagents and materials which are not available to great part or laboratories in our public

health network. Within simplified procedures allowing primary screening of hyperlipoproteinemias, measurement of beta-prebeta lipoprotein index, introduced by *Berenson* in 1972, is one of the most useful. In order to extend the application of this determination to laboratories at different levels in our public health network, methodology was become eminently good in the following aspects: 1) a simplified method that should use a unique reagent, easy to be prepared in the laboratory, was developed; 2) serum cholesterol (chol) and triglyceride (tg) levels obtained by automated enzymatic methods, highly accurate and exact, were used as reference values; and 3) beta-prebeta lipoprotein index was measured in six photometer models (Pye-Unicam, Chinese, Eppendorf, Erma, Bausch-Lomb and Spekol), which are those more frequently found in clinical laboratories of our country, in order to establish reference values of diagnostic usefulness for each equipment. In total of 383 samples was studied, where cholesterol and triglycerides and beta-prebeta lipoprotein index were parallelly determined; the last one was simultaneously measured in the six photometers above mentioned. Absorbance value able to detect more than 90% of the pathologic cases and less possible number of positive-false was established for each equipment, resulting, respectively: Pye-Unicam: 0,65; Chinese: 0,30; Eppendorf: 0,40; Bausch-Lomb: 0,40; Spekol: 0,40 and Erma: 0,27. Celerity, simplicity, economy and potential diagnosis of beta-prebeta lipoprotein index gives it a great usefulness in the screening of hyperlipoproteinemias, since makes it available to modest laboratories in resources and in more developed laboratories involves a great saving of human and material resources required for biochemical determinations with greater technical complexity.

RÉSUMÉ

Escurra Ferrer, E. J.: *Optimisation de la détermination de l'indice bêta-prêbêta lipoprotéines pour son application dans les laboratoires cliniques de notre réseau de santé.*

Les dosages biochimiques sur lesquels s'appuient la prévention, le diagnostic et le traitement des hyperlipoprotéinémies, imposent souvent des procédés analytiques qui utilisent des équipements, des réactifs et des matériaux qui ne sont pas à la portée de la plupart des laboratoires de notre réseau de santé. Parmi les procédés simplifiés qui permettent un dépistage primaire des hyperlipoprotéinémies, le dosage des bêta-prêbêta lipoprotéines, introduit par *Berenson* en 1972, est l'un des plus utiles. Afin d'étendre l'applicabilité de cette détermination aux laboratoires des différents niveaux de notre réseau de santé, on a optimisé la méthodologie dans les aspects suivants: 1) il a été développé une méthode simplifiée n'utilisant qu'un réactif facile à préparer dans le laboratoire, 2) Il a été employé comme valeurs de référence les taux sériques de cholestérol (chol) et de triglycérides (tg) obtenus par des méthodes enzymatiques automatisées ayant un haut degré de précision et d'exactitude, et 3) il a été déterminé l'indice bêta-prêbêta lipoprotéines à partir de 6 modèles de photomètres (Pye-Unicam, Chinois, Eppendorf, Erma, Bausch-Lomb et Spekol), qui sont ceux que l'on rencontre plus fréquemment dans les laboratoires cliniques de notre pays, en vue d'établir des valeurs de référence d'utilité, diagnostique pour chaque appareil. Il a été étudié 383 échantillons sur lesquels on a déterminé parallèlement le cholestérol, les triglycérides et l'indice bêta-prêbêta lipoprotéines; ce dernier a été mesuré simultanément dans les 6 photomètres mentionnés ci-dessus. Il a été établi pour chaque appareil la valeur d'absorbance susceptible de détecter plus de 90% des cas pathologiques et la moindre quantité de cas faussement positifs; ces valeurs ont été: Pye-Unicam: 0,65; Chinois: 0,30; Eppendorf: 0,40; Bausch-Lomb: 0,40; Spekol: 0,40 et Erma: 0,27. La rapidité, la simplicité, l'économie et le potentiel diagnostique de l'indice bêta-prêbêta lipoprotéines, lui accordent une grande utilité dans le dépistage des hyperlipoprotéinémies, car il est à la portée des laboratoires ayant les plus faibles ressources et, dans les laboratoires plus développés, il apporte une considérable économie des ressources humaines et matérielles nécessaires pour les déterminations biochimiques techniquement plus complexes.

BIBLIOGRAFIA

1. *Inkeles, S.; D. Eisenberg*: Hyperlipidemia and coronary atherosclerosis. A review. *Medicine* 60: 110, 1981.

2. *Stone, M. C.; J. M. Thorp*: A new technique for the investigation of the low density lipoproteins in health and disease. Clin Chim Acta 14: 812, 1966.
3. *Berenson, G. S. y otros*: Clinical application of an indirect method for quantitating serum lipoproteins. Clin Chim Acta 36: 175, 1972.
4. *Berenson, G. S. y otros*: Simplified primary screening procedure for detection of hyperlipidemias in healthy individuals. Clin Chem 18: 1463, 1972.
5. *González, R.*: Determinaciones bioquímicas en el pesquiasaje de hiperlipidemias. Cuadernos de Endocrinología y Metabolismo 2: 142, 1975.
6. *Roschlau, P.; E. Berni; IN. Gruber*: Enzymatische Bestimmung des Gesamt-Cholesterins in Serum. Z Klin Chem Klin Biochem 12 : 226, 1974.
7. *Buccolo, G.; H. David*: Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. Clin Chem 19: 476, 1973.
8. Cuba, MINSAP: Hiperlipoproteinemias. Normas de diagnóstico y tratamiento en Endocrinología y Metabolismo. Actualidad en Endocrinología 5: 124, 1981.

Recibido: 9 de septiembre de 1985

Aprobado: 8 de diciembre de 1985

Lic. *Enrique J. Ezcurra Ferrer*

Instituto Nacional de Endocrinología

Zapata y C, Vedado, Municipio Plaza de la Revolución

Ciudad de La Habana

Cuba