



Lipids and Lipoproteins

รศ. ดร. วาริน แสงกิติโกมล



วัตถุประสงค์ เพื่อให้นิสิตมีความสามารถ :-

- ◆ อธิบายสรีรวิทยาและเมตาบอลิซึมของไขมันและ lipoprotein
- ◆ ทราบความหมายของศัพท์ต่างๆ เช่น lipoprotein, chylomicron, fatty acid, phospholipid, triglyceride, cholesterol, VLDL, LDL, HDL Lp(a)
- ◆ อธิบายวิธีตรวจและทฤษฎีที่ใช้หาปริมาณ ไขมัน, lipoprotein ทางเคมีคลินิก
- ◆ ทราบเกณฑ์ของค่าอ้างอิงของไขมันแต่ละชนิดเพื่อนำมาประกอบการประเมินผล
- ◆ อธิบายปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างไขมัน lipoproteins กับ hormones ต่างๆในร่างกาย
- ◆ ทราบความสำคัญทางคลินิกของระดับไขมันที่ผิดปกติเพื่อใช้ประเมินความเสี่ยงต่อโรคหัวใจและหลอดเลือด
- ◆ ทราบอุบัติการณ์ของโรคที่เกิดจากความผิดปกติของไขมันชนิดต่างๆในคนไข้

Contents

Lipids and Lipoproteins

I. Lipid chemistry

1. Lipids and lipoproteins constituents
2. Lipoproteins

II. Lipid physiology and metabolism

1. Lipid absorption
2. Lipid synthesis
3. Lipid metabolism
4. Lipid receptors
5. Effect of hormones

III. Lipids and lipoproteins analysis

1. Lipid measurement

2. Apolipoprotein measurement

3. Lipoprotein methods
4. Compact analysis

IV. Lipid and lipoprotein distribution in the population

V. Disease prevention, diagnosis, and treatment

1. Atherosclerosis
2. Hyperlipoproteinemias
3. Lp (a) elevation
4. Hypoproteinemias

VI. Case study

VII. References





Introduction

- ◆ *Lipoprotein* เปรียบเสมือนรถน้ำมันเชื้อเพลิงเคลื่อนที่คอยเติมเชื้อเพลิงให้กับเซลล์ในร่างกาย ไขมันในพลาสมาถูกขนส่งในรูปแบบของ *Lipoprotein particles*



Lipoprotein particles ซึ่งประกอบด้วย

- ◆ ไขมันหลายชนิด
- ◆ โปรตีนที่ เรียกว่า apolipoproteins



ไขมันใน *Lipoproteins* เช่น

- ◆ Triglyceride
- ◆ free cholesterol
- ◆ cholesteryl ester
- ◆ phospholipid



Lipoproteins

- ◆ Lipoproteins แบ่งออกเป็น 5 ชนิด โดยแบ่งตาม
 - ขนาด
 - ความหนาแน่น
 - การเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้า
 - อัตราส่วนระหว่างปริมาณไขมันและโปรตีน ของ lipoproteins (ดูตารางที่ 1)

Table 1**Characteristics of human lipoproteins ^(...)**

protein	Density (g/mL)	Electro- phoretic Mobility	source	Apolipo- proteins major & <i>minor (Italic)</i>	Molecular Weight (10⁶)	Diameter (nm)
Chylomicron	~ 0.93	Origin	Intestine	C I, II, III : B-48 <i>A-I, II IV, E</i>	50-1,000	80-1200
VLDL	0.93-1.006	Pre-beta	Liver	B-100 <i>CI, II, III, E</i>	10-80	40-80
IDL	1.006-1.009	Slow pre- beta	Catabolism of VLDL	B-100 <i>CIII, E</i>	5-15	30-40
LDL	1.019-1.063	Beta	Catabolism of IDL	B-100 <i>C</i>	~ 3	18-30
HDL	1.063-1.21	Alpha	Liver, intestine	A-I, II <i>C I, II, III, E, D</i>	0.36-0.20	5-12
Apoprotein (a) Lp (a)	1.050-1.100 (sinking pre-beta)	Pre-beta	Liver	B-100 & apo(a)	~ 5	25-35



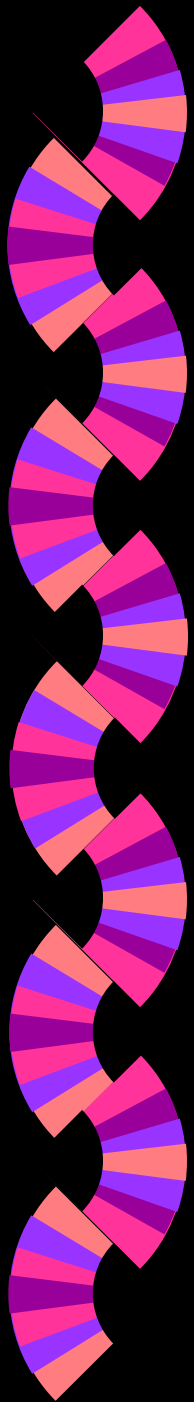
ระดับ lipoproteins ที่ผิดปกติ

- ◆ เป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดภาวะผนังเส้นเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) ได้แก่
 - การมีระดับ cholesterol สูงและ/หรือ
 - low-density lipoprotein (LDL) สูง และ / หรือ
 - triglyceride สูง และ / หรือ มี
 - high density lipoprotein-cholesterol ลดลง⁽²⁾

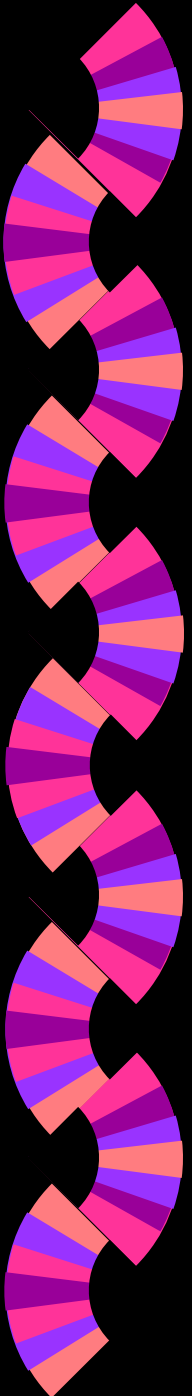


การศึกษาเรื่องไขมันและ lipoproteins มีความสำคัญทางคลินิก เกี่ยวกับ

- ◆ โรคหัวใจและหลอดเลือด มีงานวิจัยมากมายที่กล่าวถึงความสัมพันธ์ของคนที่ยกินอาหารที่มีไขมันสูงกับโรคหัวใจและหลอดเลือด
- ◆ ความดันโลหิตสูง
- ◆ โรคเส้นเลือดอุดตันในสมอง



I. Lipid chemistry

- 
- ◆ ไขมันในร่างกายของเรามี triglyceride, cholesterol, phospholipids, และ glycolipids ซึ่งทำหน้าที่ต่างๆ ในร่างกาย คือ เป็นเชื้อเพลิงให้ร่างกาย เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ และ องค์ประกอบอื่นๆ ของเซลล์ ไขมันในกระแสเลือดอยู่ในรูป lipoproteins



1. Lipid and Lipoprotein constituents

- ◆ **Fatty acids**
- ◆ **Triglycerides (TG)**
- ◆ **Cholesterol**
- ◆ **Phospholipids**
- ◆ **Glycolipids**
- ◆ **Prostaglandin (PG)**
- ◆ **Apolipoproteins (apos)**



1.1. Fatty acids

เป็นองค์ประกอบของ triglyceride และ phospholipids
แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มตามจำนวนอะตอมของ carbon

- ◆ Short chain fatty acids (4-6 carbon atoms)
- ◆ Medium chain fatty acids (8-12 carbon atoms)
- ◆ Long chain fatty acids (> 12 carbon atoms)



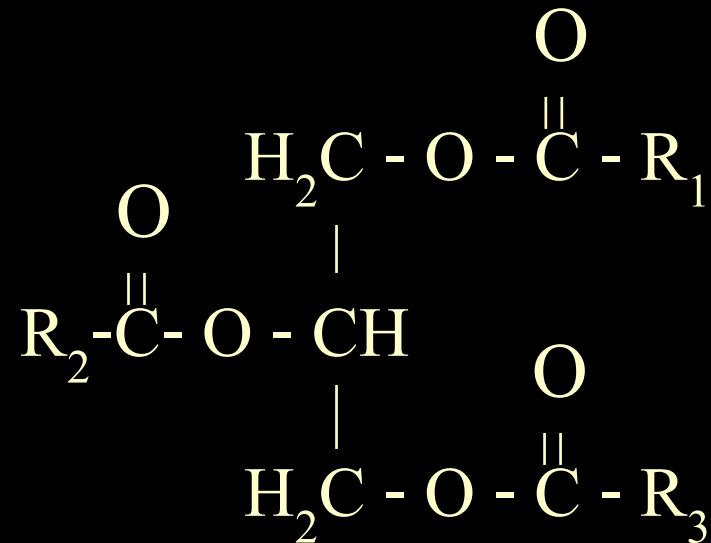
1.1. Fatty acids cont.

แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตามจำนวน double bonds
ของ carbon atoms คือ

- ◆ Saturated fatty acids (no double bond)
- ◆ Monounsaturated fatty acids (one double bond)
- ◆ Polyunsaturated fatty acids (two or more double bonds)



1.2. Triglycerides (TG)



$\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3 = \text{fatty acids}$



1.2. Triglycerides (TG)

- ◆ TG 1 โมเลกุลประกอบด้วย fatty acids 3 โมเลกุล และ glycerol 1 โมเลกุล
- ◆ TG ที่มี saturated fatty acids เป็นองค์ประกอบ จะเป็นไข คือ ที่อุณหภูมิห้องจะแข็งตัว (fat) เพราะสายของ carbon chain เป็นเส้นตรงอัดกันแน่น
- ◆ TG ที่มี unsaturated fatty acids เป็นองค์ประกอบ สายของ carbon chain จะโค้งงอจึงไม่อัดแน่น จึงมีสถานะเป็นของเหลว (oil) ในอุณหภูมิห้อง



Sources of Triglyceride

◆ TG ส่วนใหญ่ที่ได้จากพืช

- ข้าวโพด เมล็ดทานตะวัน
- ซึ่งมี fatty acids อยู่ในกลุ่ม polyunsaturated fatty acids ซึ่งเรียงตัวแบบ cis-form จะไม่เป็นไขแม้จะอยู่ในตู้เย็น (4°C)

◆ TG ได้จากไขมันสัตว์

- ไขมันหมู
- ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น saturated fatty acids จะเป็นไขในอุณหภูมิห้อง



เซลล์ของร่างกายได้รับ TG จาก

- ◆ อาหาร (exogenous source)
- ◆ การสร้าง ที่ตับ และเนื้อเยื่ออื่น (endogenous source)
- ◆ ร่างกายจะเก็บ TG เป็นแหล่งพลังงานในช่วงระหว่างมื้อและช่วงอดอาหาร TG ให้พลังงานสูง
- ◆ ร่างกายเก็บสะสมไขมันในรูป TG 95%



TG ทำหน้าที่

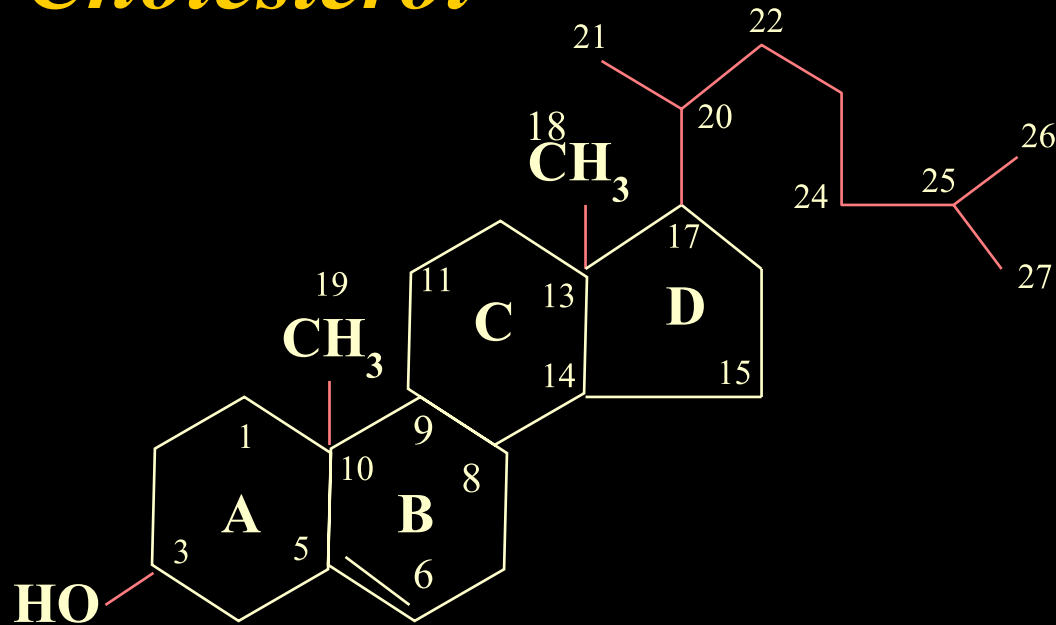
- ◆ เป็นฉนวนความร้อน โดยมันเก็บสะสมในเซลล์ไขมัน
- ◆ ร่างกายนำ TG ไปใช้มันจะสลายให้ fatty acids ให้กับเซลล์นำไปเปลี่ยนเป็นพลังงาน ส่วน glycerol ถูกนำกลับไป recycle สร้าง TG



การย่อยสลายไขมัน

- ◆ โดยใช้ enzyme hepatic lipase (HP) ที่ตับ & lipoprotein lipase (LPL) ซึ่ง LPL เกาะติดที่ heparan sulphate stalks บริเวณผนังหลอดเลือด เมื่อ Chylomicrons หรือ VLDL ซึ่งมี TG สูง มายัง บริเวณหลอดเลือด TG ถูกย่อยสลาย
- ◆ ฮอร์โมนที่ควบคุม epinephrine และ cortisol จะมีผล ต่อ adipose cells ดึงไขมันออกมาโดยขนส่งในรูปแบบ ของ VLDL และปล่อย TG ออกมาใช้เป็นพลังงาน เมื่อแหล่งพลังงานชนิดแรก (glucose) ของร่างกายหมด

1.3. Cholesterol



- ◆ โมเลกุลขนาดใหญ่เป็น unsaturated steroid alcohol
- ◆ มีองค์ประกอบที่เป็น perhydrocyclopentanophenan-
-threne (sterane) ring และมี side chain ที่มี 8
carbon atoms



Source of cholesterol

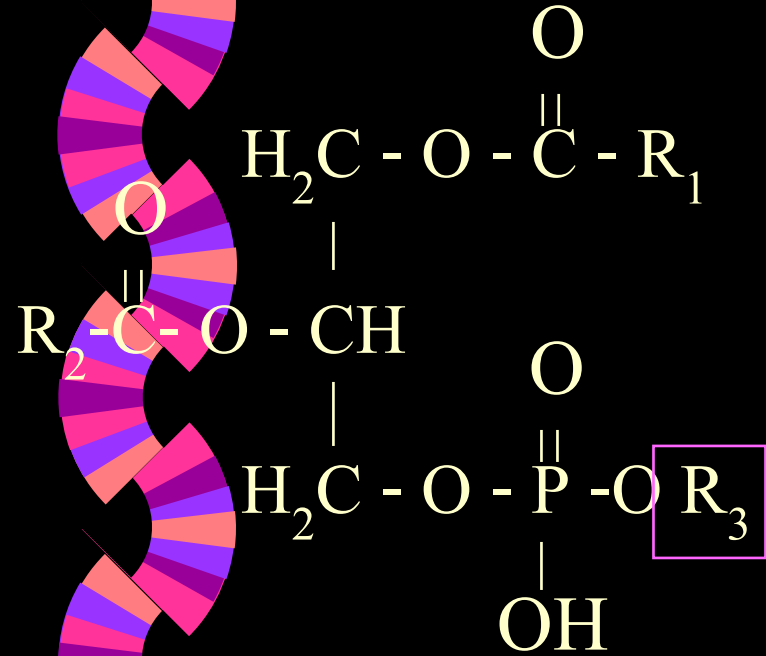
- ◆ ร่างกายได้รับ cholesterol จากอาหารที่มาจากสัตว์เป็นส่วนใหญ่ ปกติร่างกายได้รับ cholesterol จากอาหารวันละ 100-700 mg/day (ผู้ใหญ่ควรได้รับ < 300 mg/day)
- ◆ สร้าง cholesterol ได้ภายในร่างกาย
 - ที่ตับสร้างขึ้นอีกวันละ 500-1000 mg/day และ
 - เนื้อเยื่ออื่นๆ 600-1000 mg/day



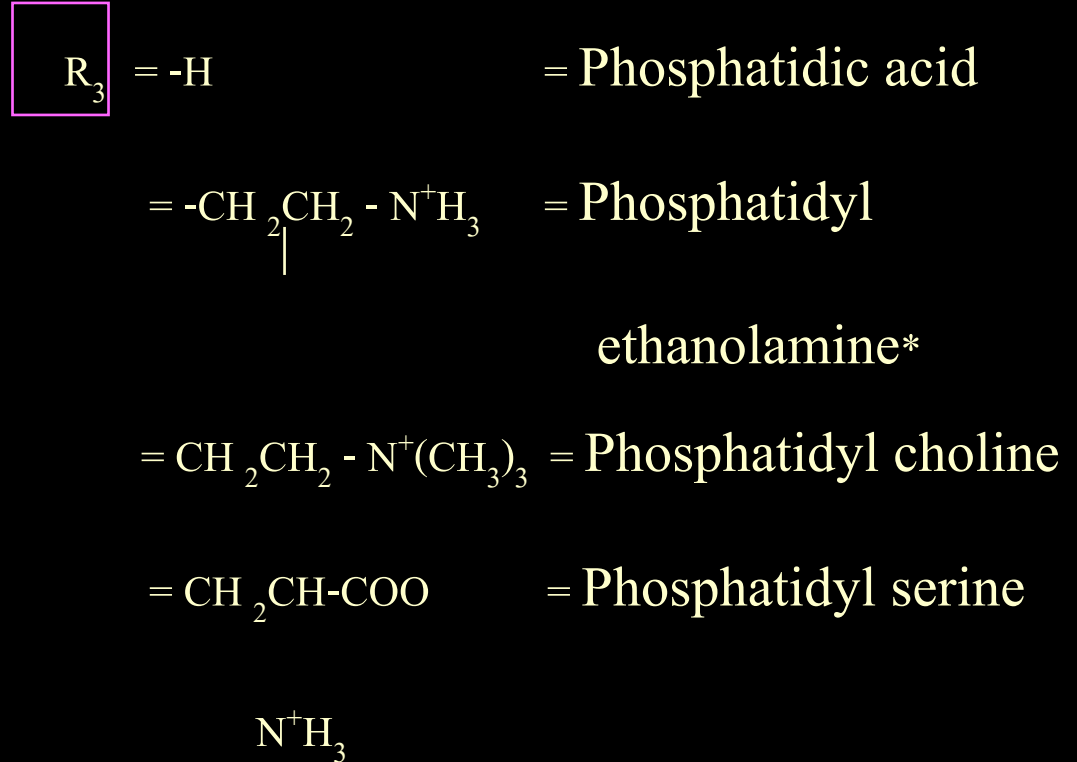
Function of cholesterol

- ◆ 70% ของ cholesterol เก็บสะสมบริเวณผิวหนัง เซลล์ไขมัน เซลล์กล้ามเนื้อ ทุกเซลล์ใช้ cholesterol ในการสร้างและซ่อมแซมผนังเซลล์ 30% เก็บในรูปแบบของ lipoproteins และไหลเวียนเข้าสู่ตับ
- ◆ 2 ใน 3 ของ cholesterol ในเลือดอยู่ในรูป esterified ที่เหลืออยู่ในรูปอิสระ
- ◆ Cholesterol เป็นสารตั้งต้นในการผลิต ฮอว์โมน (steroid hormones : progesterone, glucocorticoids, mineralocorticoids, androgen, estrogens) bile acids และ vitamin D

1.4. Phospholipids



Phosphoglyceride



* commonly known as inositol



1.4. *Phospholipids*

- ◆ ทั้ง phospholipids glycolipid และ cholesterol เป็นองค์ประกอบของผนัง เซลล์
- ◆ phospholipid เป็นโมเลกุลพวก amphipathic
 - ซึ่งในส่วนปลายของโมเลกุลเป็น polar hydrophilic (water-loving) เป็นส่วนที่ละลายน้ำได้ และ
 - ส่วนต้นของโมเลกุลเป็นพวก non-polar hydrophobic (water-hating) ซึ่งเป็น fatty acids ไม่ละลายน้ำ
 - การมีโมเลกุลแบบนี้ เหมาะที่จะทำหน้าที่เป็นแนวเชื่อมต่อระหว่างผนังเซลล์ ในการพาสารต่างๆ เข้า ออกเซลล์

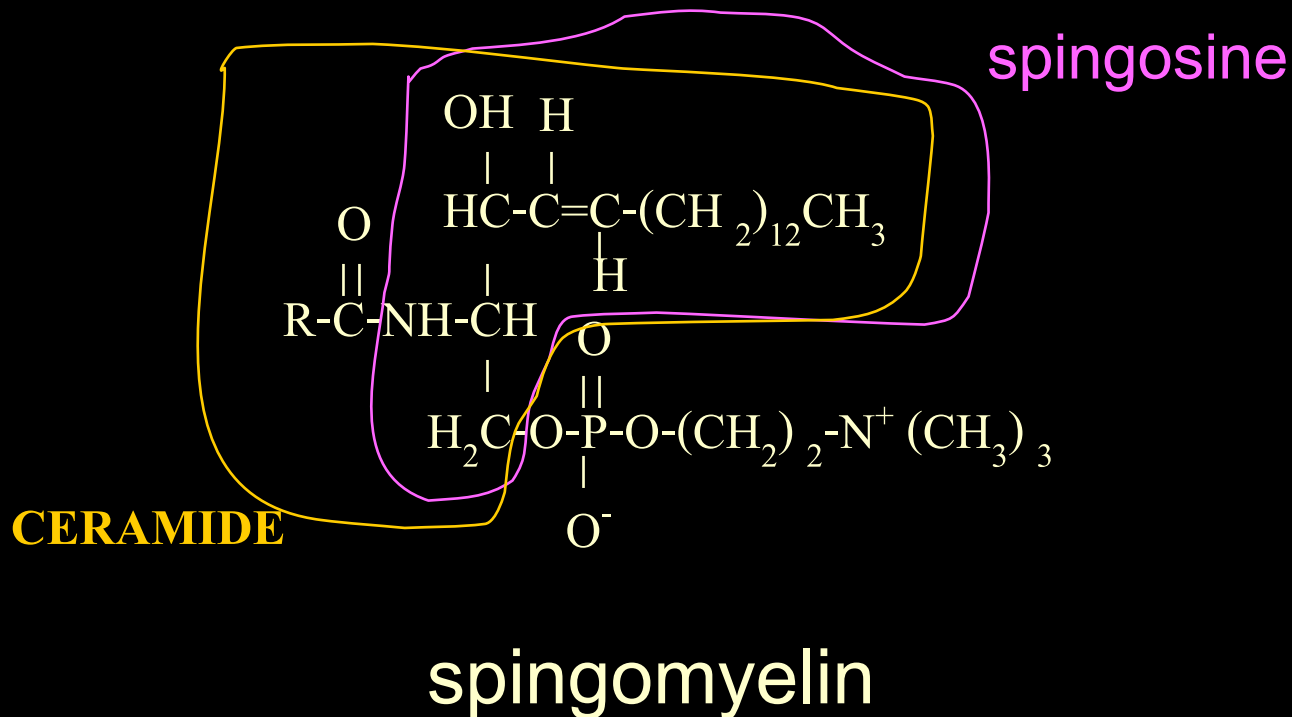


1.4. *Phospholipids cont.*

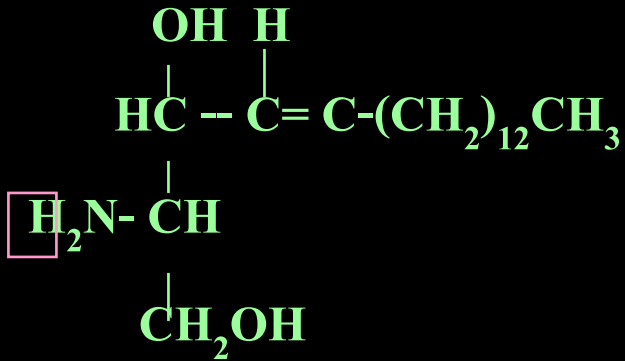
- ◆ phospholipid 1 โมเลกุล ประกอบด้วย fatty acids 2 โมเลกุล และ phosphorylated glycol 1 โมเลกุล
- ◆ ซึ่ง fatty acids 2 โมเลกุล นี้ส่วนใหญ่จะเป็น 14-24 carbon atoms เป็น saturated 1 โมเลกุล และอีก 1 โมเลกุลเป็น unsaturated

1.4. Phospholipids cont.

- ◆ spingomyelin เป็น phospholipid ในผนังเซลล์ชนิดเดียวที่ใช้ amino alcohol ที่ชื่อว่า spingosine แทน glycerol



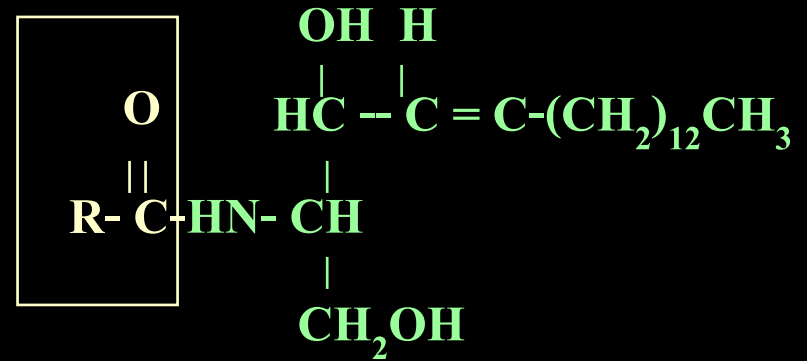
1.5. Glycolipids



Sphingosine

(Sugar containing lipid)

Fatty acid



Ceramide



1.5. Glycolipids

- ◆ เป็น sugar containing lipids ซึ่งประกอบด้วย sphingosine ที่มี fatty acid เกาะเกี่ยวที่ amino group และ sugar เกาะเกี่ยว alcohol group ซึ่งทั้งโมเลกุลมักจะถูกเรียกว่า ceramide เช่น
 - galactosylceramide และ glucosylceramide
 - gangliosides เป็นไขมันหลักที่ผนังเซลล์ของเซลล์สมอง ซึ่งสร้างจาก ceramides และ glucosphingolipids
 - ที่ผนังเซลล์มีบทบาทสำคัญในเรื่องการจดจำของเซลล์ (recognition) และ blood typing



1.6. Prostaglandins (PG)

- ◆ เป็น Long-chain polyunsaturated fatty acids ที่เรียกว่า eicosanoids ซึ่งมี 20 carbon atoms โดยมี 5-carbon (cyclopentane) ring
- ◆ ซึ่ง PG มีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางสรีรวิทยา
- ◆ PG สร้างจากเซลล์เกือบทุกชนิด โดยใช้ arachidonate กับ polyunsaturated fatty acids
- ◆ PG หลักแบ่งออกได้เป็น PGA และ PGI
PG-related compounds (thromboxanes, leukotrienes)



1.7. Apolipoprotein (apo) มี 5 ชนิด

- 1. Apo A**
- 2. Apo B**
- 3. Apo C**
- 4. Apo E**
- 5. Apo (a)**



1.7. *Apolipoproteins (apos)*

- ◆ เป็นโปรตีนโครงสร้างรอบนอกของเม็ดไขมัน (lipoprotein particle)
- ◆ apos ทำให้เม็ดไขมันละลายในส่วนของน้ำในกระแสเลือด
- ◆ apos เป็นตัวกระตุ้นและตัวห้ามการเกิดปฏิกิริยาในกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเม็ดไขมัน โดยที่ apo ไปจับกับ receptor ที่เหมาะสมของเนื้อเยื่อในส่วนต่าง ๆ



Apo A

- ◆ เป็นโปรตีนโครงสร้างหลักที่อยู่ใน HDL
- ◆ มี 3 ชนิด คือ
 - Apo A I
 - Apo A II และ
 - apo A IV



Apo B

- ◆ เป็นตัวหลักในการ binding ระหว่าง LDL กับ LDL receptor ทำหน้าที่ขนถ่าย cholesterol ไปให้เซลล์ต่างๆ
- ◆ ใน LDL มี Apo B > 95% ของโปรตีนทั้งหมด
- ◆ Apo B มี 2 isoform คือ
 - Apo B-100 อยู่ในตับ ซึ่ง apo B-100 พบใน VLDL , IDL และ LDL
 - Apo B-48 อยู่ในลำไส้เล็ก ส่วน apo-B-48 พบใน chylomicrons
 - ซึ่ง apo B-48 มี amino acids 48% ในช่วงแรกเหมือน apo B-100



Apo C

◆ เป็นตัวหลักที่ช่วยในการสร้างและสลาย ไชมัน ซึ่งมี 3 ชนิด คือ

- Apo C I,
- Apo CII และ
- Apo CIII



Apo E

- ◆ ช่วยในการจับของ Lipoprotein (LDL, VLDL และ HDL) กับ LDL receptor และ specific chylomicron remnant receptor
- ◆ ซึ่งทำหน้าที่ในการขนถ่าย cholesterol ใน plasma และกระจาย cholesterol ไปในเนื้อเยื่อต่างๆ
- ◆ มีอยู่ 3 isoforms คือ apo E-2, apo E-3, apo E-4
- ◆ ในคนแต่ละคนจะมี genotype เป็นได้ทั้ง homozygous และ heterozygous



Apo E cont.

- ◆ Apo E-3 และ apo E-4 สามารถ bind ได้ดีกับ LDL receptor
- ◆ apo E-2 ไม่สามารถจับกับ LDL receptor มีผลกระทบต่อระดับ cholesterol ในกระแสเลือด
- ◆ ในคนที่มี phenotype apo E-4 (4/2, 4/3 และ 4/4) โดยเฉลี่ยมีระดับ cholesterol สูงกว่า 10% ของคนในกลุ่มที่มี apo E-3 (3/3)
- ◆ คนในกลุ่ม apo E-2/2 phenotype จะมีไขมันสูง ชนิด Type III hyperlipoproteinemia



Apo (a)

- ◆ เป็นโมเลกุลที่ glycosylated apolipoprotein ได้ง่าย
- ◆ โดยมี 70% ของโครงสร้างเหมือน plasminogen
- ◆ apo (a) หลาย isoforms มีขนาดโมเลกุล ตั้งแต่ 300-700 kDa ซึ่งถูกควบคุมโดย พันธุกรรม



2. *Lipoproteins*

- ◆ แบ่งกลุ่มตามความหนาแน่นและการเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้า ได้เป็นกลุ่ม 4 กลุ่ม โดยปั่นแยกด้วย ultracentrifugation คือ

- chylomicrons
- VLDL
- LDL และ
- HDL



2. *Lipoproteins cont.*

- ◆ แต่ละกลุ่มนั้นมีความแตกต่างกัน
 - องค์ประกอบไขมันและProteins
 - ขนาด และ
 - ความเสี่ยงในการก่อโรคเส้นเลือดฝอยอุดตัน
- ◆ การขนส่ง cholesteryl ester และ triglyceride รวมกันเป็นหยด ไขมัน (particles) ซึ่งมีส่วนนอกละลายในสารละลายในเลือด เป็น apolipoproteins, phospholipids และ free cholesterol (polar groups) ที่ใจ กลาง particles เป็น cholesteryl ester และ triglyceride (non-polar groups)

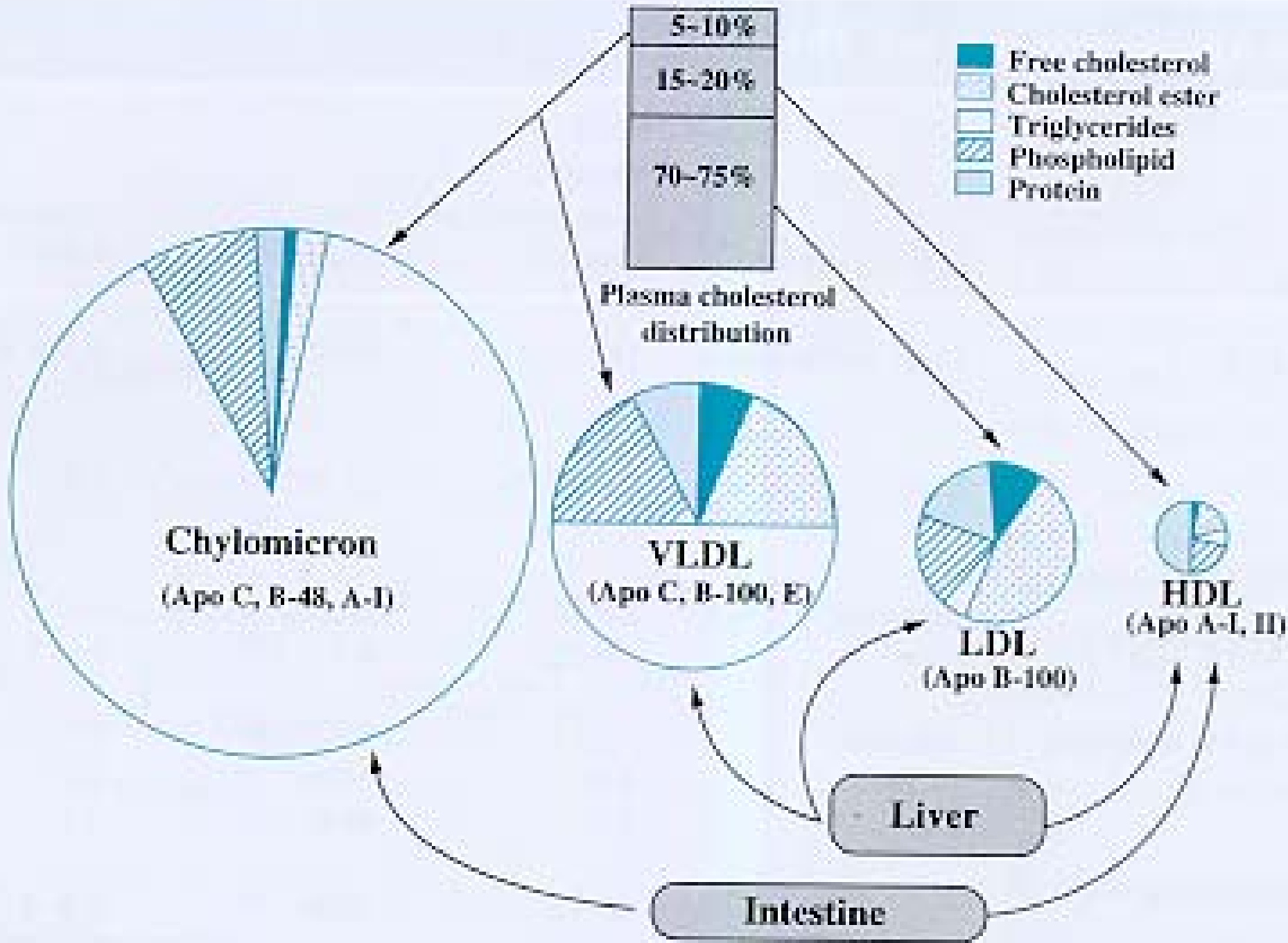


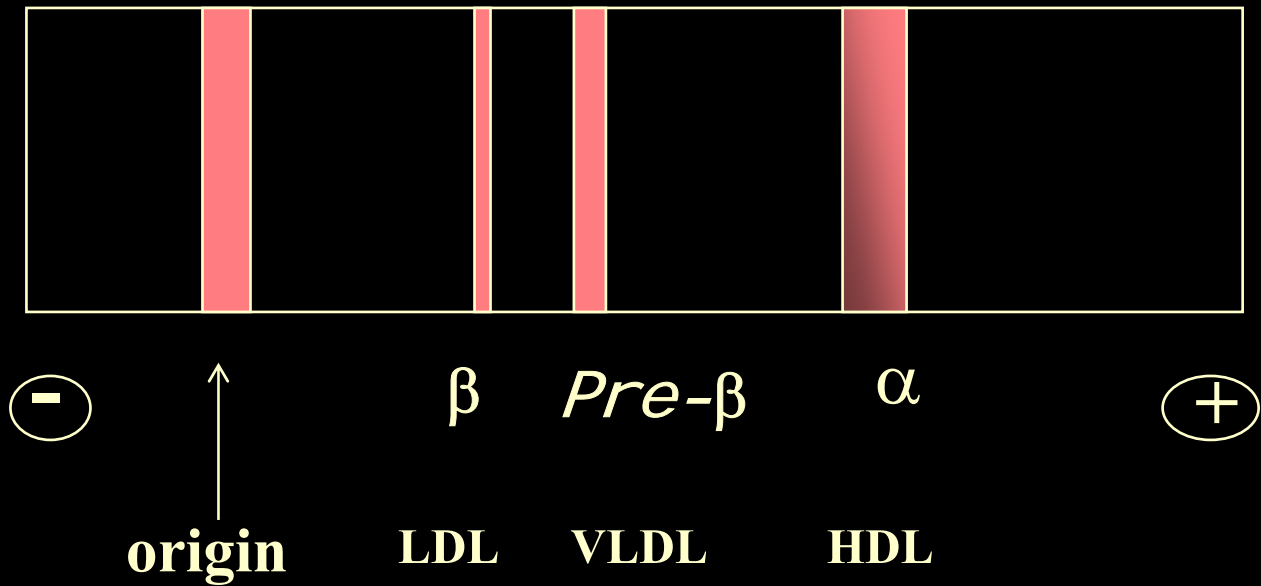
Table 2**Composition of lipid and protein in lipoprotein**

Lipoprotein	Type of lipid %				Protein (%)
	C	CE	TG	PL	
Chylomicron	1	2-4	90-95	2-6	1-2
LDL	6-15	35-45	4	22-26	22-26
VLDL	4-7	8-14	50-65	12-16	5-10
HDL	5	15-20	3	25-30	45-59

C = Cholesterol , CE = Cholesteryl ester , PL = Phospholipid , TG = Triglyceride

ELECTROPHORESIS

Chylomicron



2.1 Chylomicrons

- ◆ เป็น lipoprotein ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด มีเส้นผ่านศูนย์กลางกลาง 80-1200 nm ความหนาแน่น < 0.95 g/ml
- ◆ ซึ่งองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็น TG (90-95%) phospholipid (2-6%) และ cholesteryl ester (2-4%) free cholesterol (1%)
- ◆ และ apolipoprotein (1-2%) ซึ่งเป็น apo C และ apo B-48 เป็นส่วนใหญ่ มีส่วนน้อยที่เป็น apo E, apo A-I และ apo A-IV



2.1 Chylomicrons cont.

- ◆ มีหน้าที่ ขนส่ง TG และบางส่วนของ cholesterol จากลำไส้เล็กไปยังส่วน ต่าง ๆ ของร่างกาย
- ◆ ซึ่งจะถูกย่อยสลายหมดภายใน 6 ชั่วโมง โดยปกติจะไม่พบ chylomicrons ในเลือดของคนอดอาหาร 12-14 ชั่วโมง
- ◆ หากพบชั้นครีมบนซีรัมของคนไข้หลังจากแช่ตู้เย็น (4°C) ข้ามคืน แสดงว่า คนไข้มีปัญหาเกี่ยวกับการกำจัดไขมันออกจาก กระแสเลือด



2.2 *Very-low density lipoprotein (VLDL)*

- ◆ ซึ่ง VLDL เป็นตัวขนส่ง TG ที่สร้างจากตับ ไปสู่เซลล์อื่นๆ
- ◆ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางกลาง 40-80 nm ความหนาแน่น 0.95 – 1.006 g/ml
- ◆ ซึ่งมี TG 50-65% cholesteryl ester 8-14% phospholipid 12-16% , free cholesterol 4-7% apolipoprotein 5-10%
- ◆ ซึ่งมี apo C 40- 50% , apo B-100 30-40% และ apo E 10-15%



หากคนเรารับประทานคาร์โบไฮเดรต สูง

- ◆ จะกระตุ้นให้ตับสร้าง TG
- ◆ เป็นการเพิ่มระดับการสร้าง VLDL
- ◆ จึงทำให้ตรวจพบ TG สูงในกระแสเลือดและทำให้ไขมันพอกพูนขาว



2.3. *Low density lipoprotein (LDL)*

- ◆ สร้างจากตับ LDL
- ◆ ขนส่ง cholesterol จากตับไปยังเนื้อเยื่ออื่น
- ◆ LDL มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 18-30 nm ความหนาแน่น 1.019-1.063 g/ml 35-45%
- ◆ ประกอบด้วย cholesteryl esters 6-15% เป็น free cholesterol 22-26% เป็น phospholipid, 4% เป็น TG และ 22-26%
- ◆ เป็น apolipoprotein ชนิด apo B-100



LDL cont.

- ◆ LDL มีขนาดต่างกันและองค์ประกอบก็ต่างกัน
- ◆ ใช้วิธี density ultracentrifugation หรือโดย gradient electrophoresis gels
- ◆ ขนาดของ LDL จะแปรการผันกับปริมาณของ TG ในซีรัม
- ◆ LDL ขนาดเล็กและมีความหนาแน่นมาก จะทำให้เสี่ยงต่อการเป็นโรค coronary heart disease (CHD)



2.4. High density lipoprotein (HDL)

- ◆ เป็น lipoprotein ที่มีขนาดเล็กที่สุด
- ◆ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5-12 nm ความหนาแน่น 1.063 – 1.21 g/ml
- ◆ สร้างที่ตับและลำไส้เล็ก
- ◆ ประกอบด้วย 25-30% phospholipid, 15-20% cholesteryl ester, 5% free cholesterol, 3% triglyceride และ
- ◆ 45-59% apolipoprotein ซึ่งเป็น apo A-I 70% และ apo A-II 10-23% ส่วนน้อยเป็น apo C และ apo E
- ◆ ขนส่ง 20-35 % total plasma cholesterol



HDL cont.

- ◆ HDL ต่างจาก LDL คือ HDL จะขนส่ง cholesterol จากเนื้อเยื่อต่างๆ กลับไปให้ที่ตับ (reverse transport)
- ◆ HDL แบ่งได้ 2 กลุ่มตามความหนาแน่นคือ
 - HDL₂ และ
 - HDL₃
- ◆ HDL₂ มีขนาดใหญ่และมีไขมันมากกว่า HDL₃ และ
- ◆ HDL₂ มีความสามารถในการขนส่ง cholesterol จากเนื้อเยื่อไปยังตับสูงกว่า



2.5. Lipoprotein (a) [Lp (a)]

- ◆ Lp (a) เป็น LDL-like lipoprotein particle
- ◆ Lp(a) มีทั้งขนาดและความหนาแน่น แตกต่างกันขึ้นกับปริมาณของ peptide sequences เรียกว่า kringles apo (a)
- ◆ Lp (a) มีความหนาแน่น 1.050-1.13 g/ mL
- ◆ ทำ electrophoresis อยู่ตำแหน่ง pre- β position
- ◆ ความเข้มข้นของ Lp (a) แปรผกผันกับขนาดของแต่ละ isoform



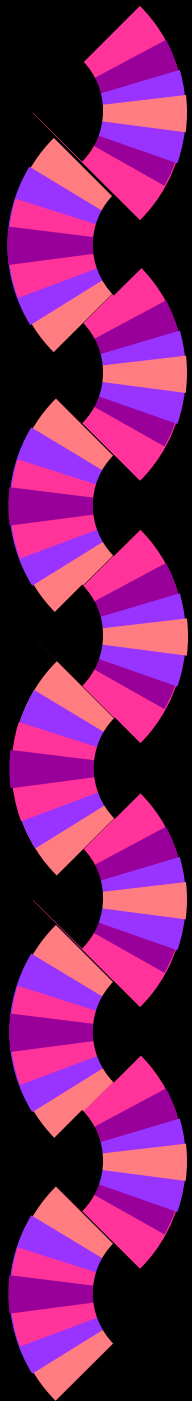
Lp (a) cont.

- ◆ หากมีปริมาณ Lp(a) สูงจะเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรค
 - Coronary heart disease (CHD) ,
 - Myocardial infarction และ
 - Cerebrovascular disease

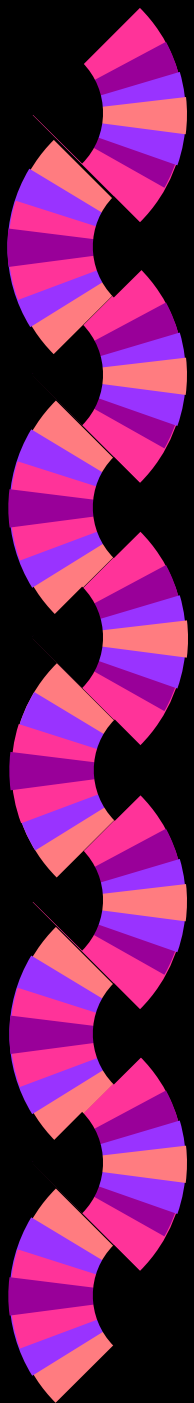


Lp (a) cont.

- ◆ Lp(a) มีลักษณะเหมือน plasminogen
- ◆ Lp(a) แข่งขันกับ plasminogen ในปฏิกิริยาการแข็งตัวของเลือด ทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือดในหลอดเลือดอยู่นาน
- ◆ Lp(a) มีปริมาณสูงพบใน 10-15% ของคนผิวขาว
- ◆ ปัจจัยที่มีผลต่อระดับของ Lp(a) เช่น พันธุกรรม อายุ เชื้อชาติ ระดับของฮอร์โมน การทำหน้าที่ของตับและไต



II. Lipoprotein physiology and metabolism



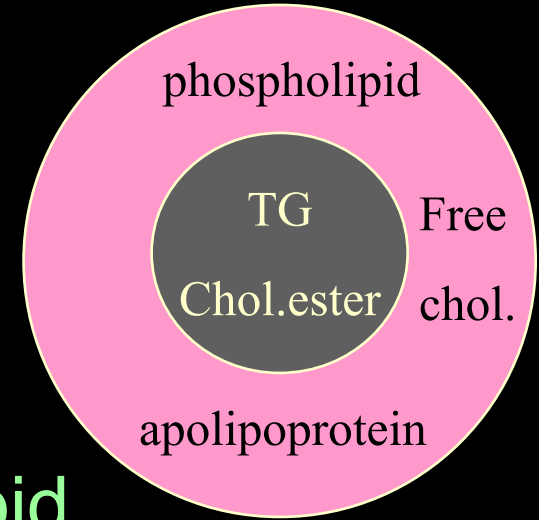
- ◆ **Lipid absorption**
- ◆ **Lipid synthesis**
- ◆ **Lipoprotein metabolism**
 - **The Exogenous pathway**
 - **Endogenous pathway**
 - **The Reverse Cholesterol transport pathway**
- ◆ **Lipoprotein Receptors**
 - **LDL Receptors**
 - **Remnant receptors**
 - **Scavenger receptors**
- ◆ **Effect of hormones**
 - **Insulin**
 - **Growth hormones**
 - **Sex hormones**
 - **Thyroid hormone**



1. Lipid absorption

- ◆ วันหนึ่งๆ ภาวะอาหารของคนเรามีการย่อย, ดูดซึม, นำไขมันกลับมาสร้างใหม่ และขนส่งไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ประมาณ 60-130 กรัมส่วนใหญ่คือ TG
 - ◆ ที่ผนังลำไส้เล็กย่อยและเปลี่ยนไขมันให้ละลายในน้ำ (amphophilic properties)
 - เปลี่ยน TG เป็น monoglycerides, diglycerides และ free fatty acids
 - cholesteryl ester เปลี่ยนเป็น free cholesterol
 - phospholipids เปลี่ยนเป็น lyso-derivatives
- รวมกับน้ำดี (bile salts) เป็นหยดน้ำมัน (micelles)

1. Lipid absorption cont.



◆ คุณสมบัติเป็น amphipathic lipid

- มีส่วนของไขมันที่ไม่ละลายน้ำ (non-polar group) อยู่ด้านในและ
- มีส่วนของสารที่สามารถละลายน้ำ (polar groups) เรียงตัวอยู่ด้านนอกรอบๆ หยอดน้ำมัน



1. Lipid absorption cont.

- ◆ free fatty acids ขนาด < 10 carbon atoms ถูกดูดซึมเข้า microvillus membrane ของลำไส้เล็ก เข้ากระแสเลือดไปยังตับโดยมี carrier คือ albumin
- ◆ fatty acids สายยาวๆ monoglycerides และ diglycerides ถูกดูดซึมและสร้าง TG, cholesteryl esters กลับมาใหม่ และจะรวมที่ใจกลางของ chylomicrons เพื่อไปในกระแสเลือด
- ◆ TG ประมาณ 90-95% และ cholesterol ประมาณ 50% ในอาหารถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็ก



2. Lipid synthesis

2.1. Triglyceride synthesis (TG)

- ◆ Fatty acids เก็บสะสม ในรูปของ TG ที่เซลล์ตับ เนื้อเยื่อไขมัน และเนื้อเยื่อของอวัยวะอื่นๆ
- ◆ การสร้าง TG เริ่มจาก
 - การกระตุ้น fatty acids เปลี่ยนเป็น acyl-CoA ester ซึ่งต้องการพลังงาน ATP และ
 - อีกกระบวนการ โดยใช้ 2 โมเลกุลของ acyl-CoA รวมกับ glycerol-3-phosphate เป็น phosphatidate ในที่สุดมีการดึงเอา phosphoryl group ออก และเติมหมู่ acetyl group ก็ได้ TG



2.2. Cholesterol Synthesis

- ◆ ตับเป็นอวัยวะสำคัญในการสร้าง cholesterol แม้ว่าอวัยวะอื่น ๆ ก็สามารถสร้างได้
- ◆ cholesterol สร้างจาก acetyl-CoA 3 โมเลกุล รวมตัวกันเป็น 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG CoA) จากนั้นเปลี่ยนไปเป็น mevalonic acid โดย enzyme HMG-CoA reductase จากนั้น mevalonic acid ถูกเปลี่ยนแปลงหลายขั้นตอนจนได้ squalene จากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงในการเรียงตัวของวงแหวนไปเป็น lanosterol และไปเป็น cholesterol



2.2. Cholesterol Synthesis cont.

- ◆ การสร้าง cholesterol ในตับถูกควบคุมโดย
 - ระดับของ cholesterol ในเซลล์และ
 - การทำงานของ HMG-CoA reductase เป็นตัวกำหนดอัตราการสร้าง cholesterol ในร่างกาย
- ◆ ยาลดไขมันหลายชนิดที่มุ่งการห้ามการทำงานของ HMG-CoA reductase



การกำจัด cholesterol ออกจากร่างกาย

◆ ที่ตับ cholesterol บางส่วนถูก
เปลี่ยนไปเป็น bile acids ซึ่งมี

- cholic acid และ
- chenodeoxycholic acid

ใช้ในการย่อยไขมันในอาหาร



3. Lipoprotein metabolism

- ◆ กระบวนการย่อยสลาย การขนส่งและการขับ lipoprotein ออกจากร่างกายมีความ ซับซ้อน มี
 - ตัวรับ (special receptors)
 - เอนไซม์ต่างๆ
 - transfer proteins (apos) และ
 - วิธีในการขนส่ง
- ◆ ข้อบกพร่องในการขนส่งและการขับทิ้งของ cholesterol เป็นสาเหตุของโรคเส้นเลือดตีบตัน (atherosclerosis)



ขนส่ง Lipoproteins มี 3 แบบ

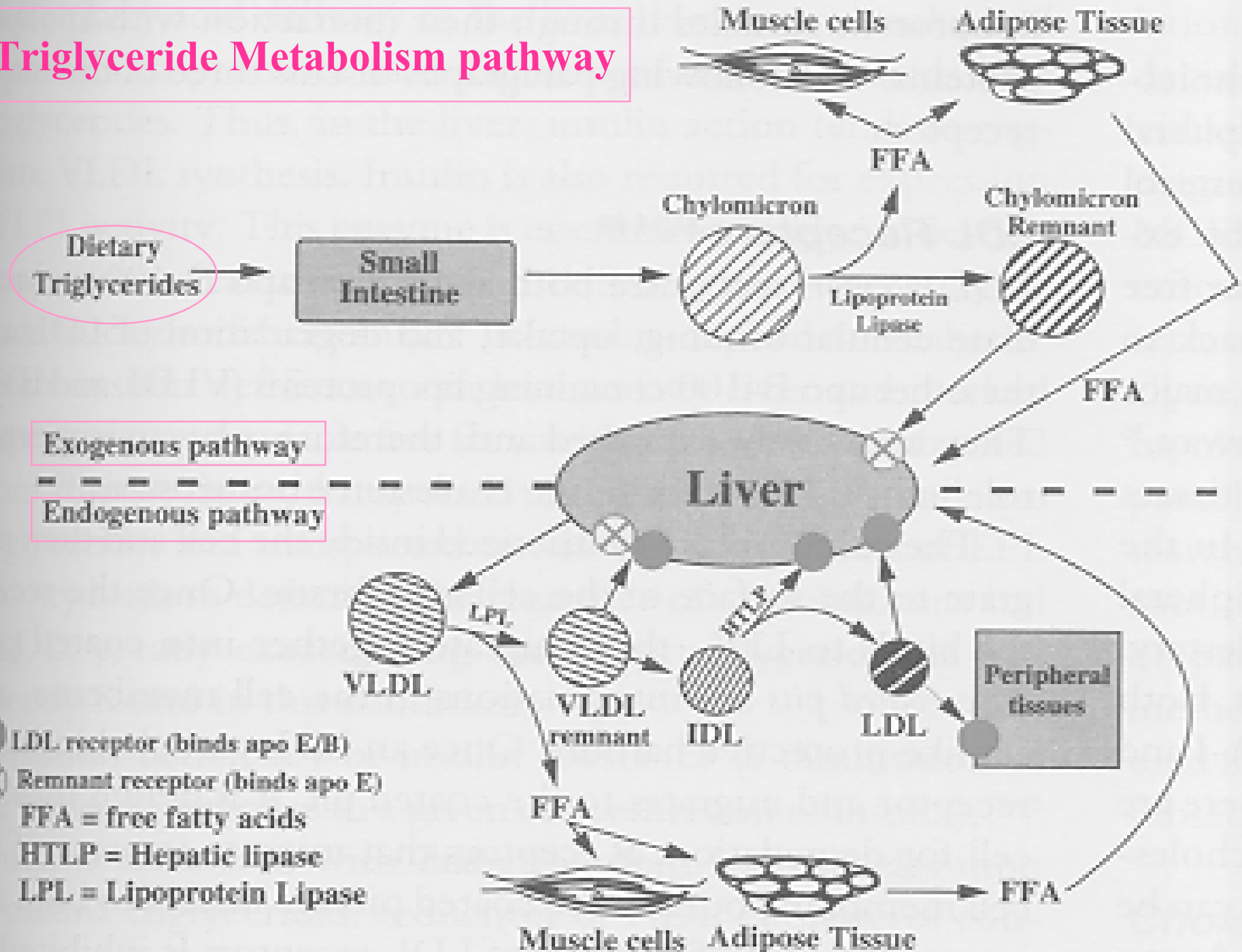
- ◆ Exogenous pathway ขนส่งไขมันจากอาหารในรูป chylomicrons จากลำไส้เล็กไปตับ
- ◆ Endogenous pathway ขนส่งไขมันจากตับในรูป VLDL และ LDL ไปเนื้อเยื่อต่างๆ
- ◆ Reverse cholesterol transport pathway ใช้ HDL ขนส่งไขมันจากเนื้อเยื่อต่างๆ กลับสู่ตับเพื่อขับทิ้งหรือนำกลับมาใช้ใหม่

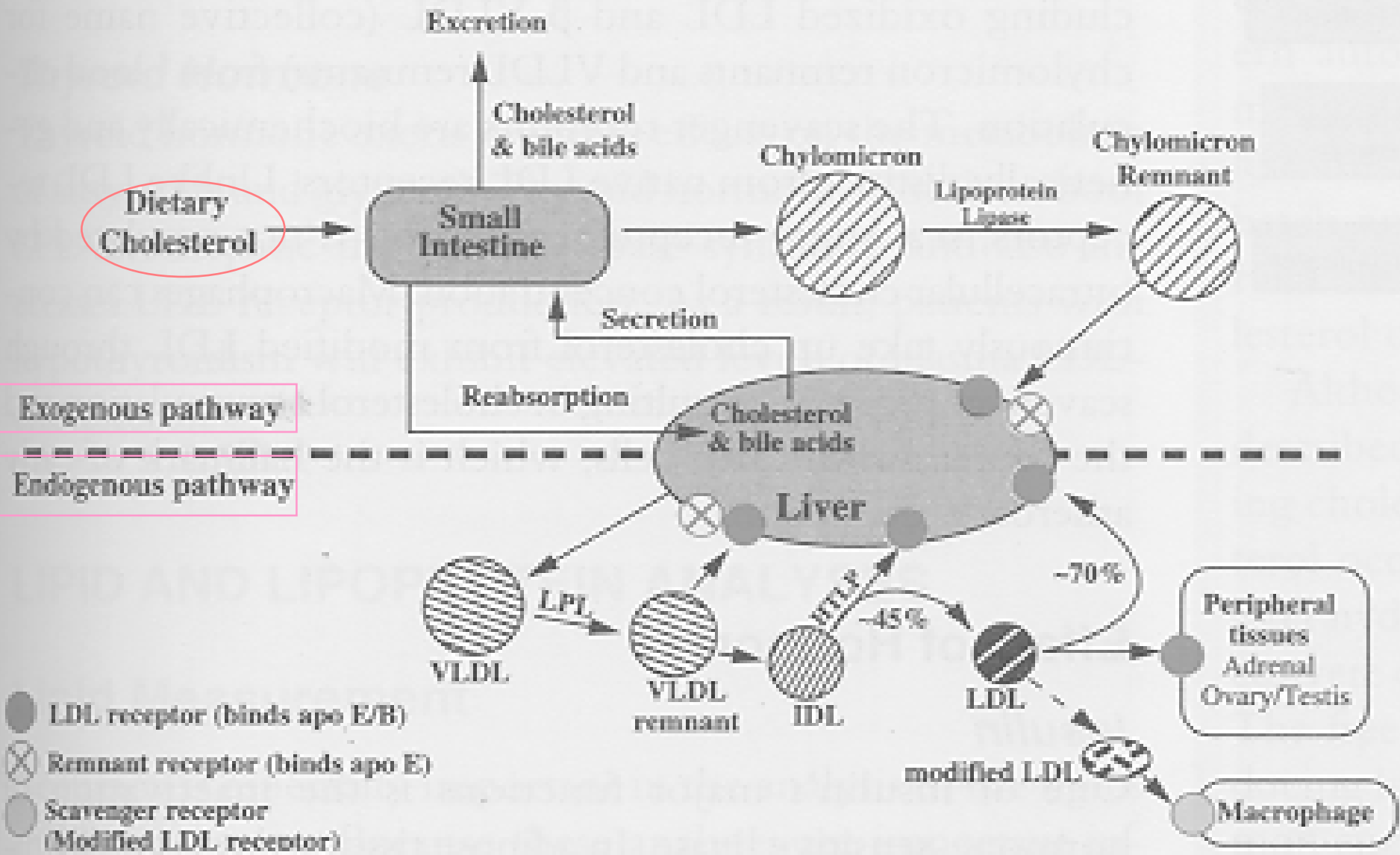
Table 3 Characteristics of human apolipoproteins and their variants

lipoproteins	Functions	Major source	Normal plasma conc. (mg / dL)	Relative mass (Mr)	Isoelectric point
Apo A-I	Major structural protein in HDL Activates LCAT Ligand for HDL binding	Liver & Intestine	100-200	27,000	5.3-5.4
Apo A-II	Structural protein in HDL Activates LCAT Enhances hepatic triglyceride lipase activity	Liver	20-50	17,400 (dimer)	5.0
Apo A-IV	Component of intestinal lipoproteins	Intestine	10-20	38,000	-
Apo B-100	Major structural protein in VLDL & LDL Ligand for the LDL receptor	Liver	70-125	5.4×10^5	-
Apo B-48	Primarily structural protein in chylomicrons	Intestine	< 5	2.6×10^5	-
Apo C-I	Activates lipoprotein lipase	Liver	5-8	6,630	6.5
Apo C-II	Activates lipoprotein lipase Activate LCAT	Liver	3-7	8,835	4.8
Apo C-III	Inhibits lipoprotein lipase Inhibits receptor recognition of apo E	Liver	10-12	9,960	4.5-4.9
Apo E 2, 3, 4	Binds to LDL-receptor and Remnant-receptor	Liver	3-15	34,145	5.4-6.1
Apo (a)	Structural protein Lp(a) May inhibit plasminogen binding	Liver	< 30	$3-7 \times 10^5$	5.4-6.1

There are many minor apolipoproteins, such as apo D, apo J, apo H, apo F and apo G

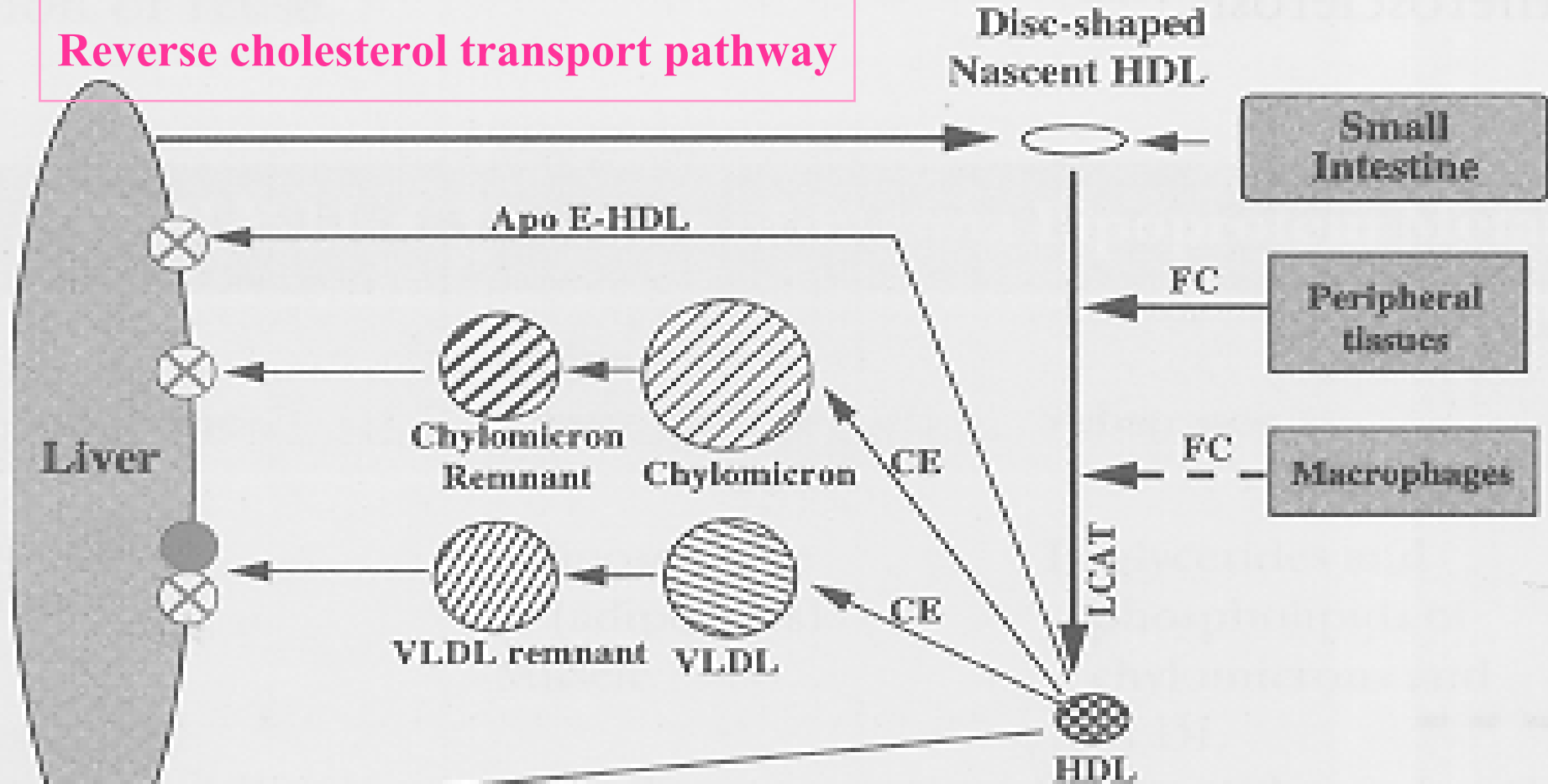
Triglyceride Metabolism pathway





Cholesterol Metabolism pathway

Reverse cholesterol transport pathway



- FC= Free cholesterol
- CE= cholesterol ester
- LDL receptor (binds apo E/B)
- ⊗ Remnant receptor (binds apo E)
- ⊙ HDL receptor (recognizes apo A-I)
- LCAT= lecithin-cholesterol acyltransferase

Table 3 Enzymes of plasma lipoprotein metabolism ()

Enzyme	Major tissue source	substrates	Function	Location	Cofactors
Lipoprotein lipase (LPL)	Adipose tissue (adipocytes) Muscle	TG and phospholipids of chylomicron and VLDL	Hydrolyzes TG	Muscle, Adipose Capillary	Apo-C II Apo C III Inhibits
Hepatic lipase (HTLP)	Liver (Hepatocytes)	TG and phospholipids of VLDL, LDL & HDL	Hydrolyze TG	Liver	Apo-C II
Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT)	Liver	Cholesterol and phosphatidylcholine of HDL	Esterifies free cholesterol	plasma	Apo A-I Apo C-I



4. *Lipoprotein Receptors*

- ◆ เป็น plasma membrane protein สำคัญใน lipoprotein metabolism
- ◆ lipoprotein receptors ที่ผิวของเซลล์ต่างๆ จับกับ apolipoproteins บนผิวของ lipoprotein ในการกำจัด lipoproteins จาก
 - กระแสเลือด และ
 - tissue อื่นๆ



4.1 LDL Receptors

- ◆ LDL receptor สามารถจับทั้ง apo E และ apo B-100 จึงสามารถจับอย่างจำเพาะ และนำ lipoproteins เข้าเซลล์และย่อยสลาย
 - LDL และ
 - B-100 containing lipoprotein (VLDL และ IDL)
- ◆ LDL-receptor มีปรากฏอยู่ทั่วๆ ไปบนเซลล์ มันจึงมีบทบาท สำคัญต่อการรักษาสมดุลระดับของไขมันในเซลล์และทั้งระบบของร่างกาย



4.1 LDL Receptors cont.

- ◆ receptors ถูกสร้างขึ้นในเซลล์ แล้วจึงเคลื่อนย้ายมาที่บริเวณผิวของเซลล์ที่เรียกว่า coated pits
- ◆ coated pits ทำหน้าที่เหมือนเกราะป้องกันทันทีที่ LDL particles จับกับ receptor มันก็จะถูกดึงเข้าไปในเซลล์เพื่อการย่อยสลาย
- ◆ หาก receptor เคลื่อนไปบริเวณอื่นที่ไม่ใช่ coated pits มันจะไม่สามารถจับกับ LDL
- ◆ การสร้าง LDL receptors ถูกห้ามโดยระดับความเข้มข้นของ cholesterol ในเซลล์ ซึ่งจะเป็นการควบคุมการรับ cholesterol เข้าเซลล์



Familial hypercholesterolemia

- ◆ คนไข้ที่มี heterozygotes ในโรค familial hypercholesterolemia (ประมาณ 1 ใน 500 ที่มีโอกาสเป็นโรคนี้)
 - มีครึ่งหนึ่งของ LDL receptors บกพร่อง ทำให้ LDL เข้าเซลล์ไม่เพียงพอ จึงทำให้อัตราการกำจัด LDL-c ออกจากกระแสเลือดประมาณ 40% และ
 - ระดับของ LDL-c ในกระแสเลือดมีเป็น 2 เท่า
- ◆ คนไข้ที่มี genotype แบบ homozygotes ซึ่งมี receptor บกพร่องทั้งหมด ทำให้มี LDL สูงมากในกระแสเลือดจนถึงขั้นรุนแรง



4.2 Remnant receptors

- ◆ เป็น receptors หลักในการกำจัดจำเพาะ โดยจับกับ apo E ใน β -VLDL (เป็นชื่อที่ใช้เรียก chylomicron remnants และ VLDL remnants) จากกระแสเลือด
- ◆ สามารถจับกับ apo E ใน HDL



4.3 Scavenger receptors

- ◆ มีที่บนผิวของ macrophages และเซลล์อื่น เช่น muscle cells
- ◆ ใช้กำจัด modified LDL ซึ่งรวมถึง oxidized LDL และ β -VLDL จากกระแสเลือด
- ◆ scavenger receptors แตกต่างกับ LDL receptors
 - มันจะไม่ปรากฏในภาวะปกติและ
 - ไม่ใช่ระดับ cholesterol ในเซลล์เป็นตัวควบคุมการสร้าง receptor



Scavenger receptors จะปรากฏ เมื่อ

- ◆ มี oxidized LDL เกิดขึ้น
 - macrophages สามารถจับกิน modified LDL ได้อย่างต่อเนื่อง
 - เป็นผลทำให้มี cholesterol สะสมอยู่ในเซลล์จนทำให้เซลล์มีลักษณะเป็น foam cells
 - ลักษณะที่แสดงให้ทราบถึงระยะเริ่มของ atherosclerotic lesions



5. Effect of hormones

5.1 Insulin

- ◆ ห้ามการทำงานของ hormone-sensitive lipase ภายในเซลล์ไขมัน ผลคือ
 - ห้ามการปล่อย fatty acids ออกมา
 - ทำให้ลดปริมาณ free fatty acids ที่จะไปสู่ตับ
- ◆ insulin และ glucose ส่งเสริมให้มีการนำเอา free fatty acid ไปสร้างเป็น TG (esterification) ที่ตับ
- ◆ insulin ควบคุมการสร้าง VLDL
- ◆ insulin มีส่วนในการปล่อย enzyme LPL ซึ่งจำเป็นในการกำจัด TG-rich lipoprotein



5.1 Insulin cont.

- ◆ หากเป็นโรคทางพันธุกรรมที่ขาด enzyme LPL จะทำให้มี chylomicronemia
- ◆ คนไข้เบาหวานชนิดที่ต้องฉีด insulin เมื่อขาด insulin อย่างรุนแรง จะเป็นสาเหตุทำให้มีอาการ fatty liver และมี hypertriglyceridemia ซึ่งเป็นผลจาก
 - การปล่อย free fatty acid จากเนื้อเยื่อไขมันอย่างไม่มีควบคุม
 - ส่งไปที่ตับจึงมีการนำ free fatty acids กลับมาสร้างเป็น TG และขนส่งออกจากตับในรูป VLDL

5.1 Insulin cont.

- ◆ การสูญเสียการทำงานของ enzyme LPL ทำให้การกำจัด chylomicrons และ VLDL บกพร่องไป ทำให้ไขมันสูงชนิด hypertriglyceridemia
- ◆ การขาด insulin หรือการดื้อต่อ insulin ในคนเป็นโรคเบาหวาน
 - ทำให้มีระดับของ plasma TG สูง
 - ระดับของ HDL-c ต่ำ และ
 - มีอาการทางหลอดเลือดฝอยอุดตัน (aterogenic) และ
 - มี small dense LDL สูง
- ◆ ซึ่งการมี lipid metabolism ที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ เพิ่มความเสี่ยงในคนไข้เบาหวาน ต่อโรค coronary heart disease : CHD



5.2 Growth hormone

- ◆ เพิ่มการผลิต VLDL โดยการเพิ่มการผลิต apo E และ apo B-48
- ◆ กระตุ้นการปล่อยไขมัน (lipolysis) จากเนื้อเยื่อไขมัน
- ◆ กระตุ้นการสร้าง TG ในตับ
- ◆ กระตุ้นการสร้าง LDL receptors
- ◆ เพิ่มการกำจัด lipoprotein ของตับ
- ◆ ในคนไข้ที่ขาด growth hormone เมื่อรับฮอร์โมน สามารถทำให้ไขมันอยู่ในระดับปกติ (normalization of dyslipidemia)



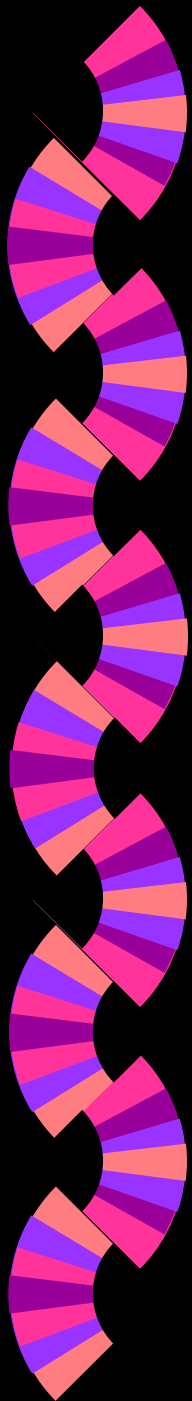
5.3 Sex hormones

- ◆ Estrogens ทำให้เพิ่มอัตราการผลิต TG rich VLDL โดยเพิ่มปริมาณของ LDL-receptors
 - มีผลทำให้ระดับของ LDL ลดต่ำลง และ
 - เพิ่มการผลิต apo A-I จึงมีผลทำให้มีระดับของ HDL สูงขึ้น
- ◆ progesterone มาทำให้ระดับของ VLDL และ TG ลดลงให้อยู่ใน สมดุล โดยการเพิ่มการเผาผลาญของร่างกาย ซึ่งจะทำให้อุณหภูมิของร่างกายสูงขึ้น

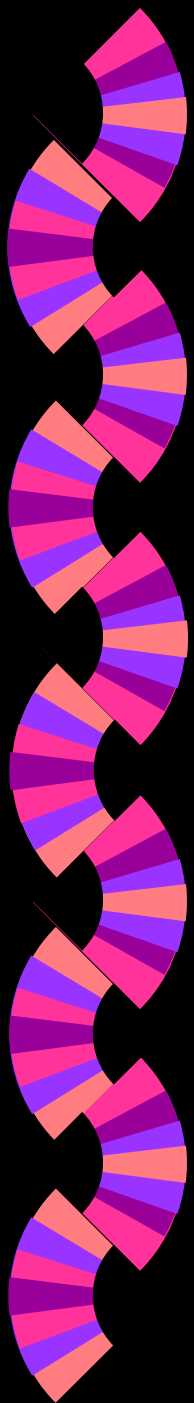


5.4 *Thyroid hormone*

- ◆ กระตุ้นการทำงานของ LPL
- ◆ กระตุ้นการสร้าง hepatic triglyceride lipase และ
- ◆ เพิ่มจำนวนของ LDL receptors
- ◆ ซึ่งในคนไข้ที่มีระดับ hormone ต่ำ (hypothyroidism) จะมีระดับของ LDLC สูงในพลาสมา



*III. Lipids and
Lipoproteins
analysis*



- ◆ *Lipid measurement*
- ◆ *Apolipoprotein measurement*
- ◆ *Lipoprotein methods*
- ◆ *Compack analysis*



1. *Lipid measurement*

- ◆ ใช้ในการทำนายความเสี่ยงในการเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือด (CHD) ทำการศึกษา
 - เพื่อหาค่า cut-points ที่ทำให้เกิดความเสี่ยงของโรคที่ถูกต้อง
 - ค่า cut – point จาก National Cholesterol Education Program (NCEP) ได้จากคนไข้โรคหัวใจและปัจจัยเสี่ยงในประชากรกลุ่มใหญ่ ช่วงระยะเวลานาน ใช้นักวิเคราะห์มากมาย
 - ใช้วิธีตรวจวัดที่ได้มาตรฐาน ซึ่งค่า cut – points นี้ได้นำไปตรวจรักษาคนไข้



Table 5 Adult reference range for lipids

Analyte	reference range
◆ Total cholesterol	140 - 200 mg/dL
◆ HDLC	29 - 75 mg/dL
◆ LDLC	57 - 130 mg/dL
◆ Triglyceride	67 - 157 mg/dL

Table 6 Dietary guidelines developed by the American Heart Association and Recommended by the adult treatment panel II of the National cholesterol Education program (as compared to the average American diet)

Dietary Nutrient	Step I Diet	Step II diet	Average American Diet
Total fat (% of calories)	$\leq 30\%$	$\leq 30\%$	36%
Saturated	$< 10\%$	$< 7\%$	15%
Monosaturated	$< 15\%$	$< 15\%$	15%
Polyunsaturated	$< 10\%$	$< 10\%$	6%
Cholesterol	$< 300 \text{ mg/day}$	$< 200 \text{ mg/day}$	$> 400 \text{ mg / day}$

Table 7 Positive risk factors associated with coronary heart disease, as determined by the (adult) treatment panel of the National cholesterol Education program.

- . Age ≥ 45 y for men; ≥ 55 for premature menopause for women**
- . Family history of premature CHD**
- . Current cigarette smoking**
- . Hypertension (BP $\geq 140/90$ mmHg or taking antihypertensive medication)**
- . LDL-Cholesterol concentration ≥ 160 mg/dL (≥ 4.1 mmol/L), with < 2 risk factors**
- . LDL-Cholesterol concentration $\geq 130-159$ mg/dL (3.4-4.1 mmol/L), with < 2 risk factors**
- . HDL-Cholesterol concentration < 35 mg/dL (< 0.9 mmol/L)**
- . Diabetes mellitus**

Negative risk factor associated with coronary heart disease

- . HDL cholesterol concentration ≥ 60 mg/dL (≥ 1.6 mmol/L)**

Table 8 Treatment guidelines established by the adult treatment panel of the National Cholesterol Education program Initial testing (can be nonfasting)

<u>Risk category</u>	<u>Action</u>
Total cholesterol < 200 mg/dL (5.2 mmol/L) and HDLC \geq 35 mg/dL (0.9 mmol/L)	Repeat within 5 years Provide risk reduction information
Total cholesterol < 200 mg/dL (5.2 mmol/L) and HDLC < 35 mg/dL (0.9 mmol/L)	Perform lipoprotein analysis (see next slide)
Total cholesterol 200-239 mg/dL (5.2 – 6.2 mmol/L), HDLC \geq 35 mg/dL (0.9 mmol/L) and < 2 risk factors	Repeat in 1-2 years Provide risk reduction information
Total cholesterol 200-239 mg/dL (5.2-6.2 mmol/L) HDLC < 35 mg/dL (0.9 mmol/L) or \geq 2 risk factors	Perform lipoprotein analysis
Total cholesterol \geq 240 mg/dL (6.2 mmol/L)	Perform lipoprotein analysis

Follow-up Testing (lipoprotein analysis after 12-hour fasting)

Risk category

Action

LDLC < 130 mg/dL (3.4 mmol/L)

Repeat total cholesterol and HDL-c within
5 years. Provide risk reduction information

LDLC 130-159 mg/dL (3.4-4.1 mmol/L)

and < 2 risk factors

Provide step 1 diet and physical activity
information and reevaluate in 1 year

LDLC 130 – 159 mg/dL (3.4-4.1 mmol/L)

and ≥ 2 risk factors

Do clinical evaluation, including family
history start dietary therapy (see below)

LDLC ≥ 160 mg/dL (4.1 mmol/L)

Do clinical evaluation, incl. Family history
start dietary therapy (see below)

Treatment decisions

Risk category

Action level goal

Dietary therapy :

No CHD : < 2 risk factors, LDL ≥ 160 mg/dL (4.1 mmol/L) < 160 mg/dL (4.1 mmol/L)

No CHD : ≥ 2 risk factors, LDL ≥ 130 mg/dL (3.4 mmol/L) < 130 mg/dL (3.4 mmol/L)

CHD > 100 mg/dL (2.6 mmol/L) < 100 mg/dL (2.6 mmol/L)

Drugtherapy :

No CHD : < 2 risk factors, LDL ≥ 190 mg/dL (4.9 mmol/L) < 160 mg/dL (4.1 mmol/L)

No CHD : ≥ 2 risk factors LDL ≥ 160 mg/dL (4.1 mmol/L) < 130 mg/dL (3.4 mmol/L)

CHD ≥ 130 mg/dL (3.4 mmol/L) ≤ 100 mg/dL (2.6 mmol/L)



Lipid profile ที่เป็น *routine tests* มี :

- ◆ Cholesterol ,
- ◆ Triglyceride (TG),
- ◆ LDLC (LDL-c),
- ◆ HDLC (HDL-c)

ส่วนใหญ่จะใช้เป็นน้ำยาสำเร็จรูปมี
ขั้นตอนง่าย ๆ ไม่ยุ่งยาก



1.1. Cholesterol measurement

- ◆ แต่ก่อนการตรวจระดับ cholesterol นั้นใช้กรดเข้มข้น (sulfuric และ acetic) และสารเคมี acetic anhydride หรือ ferric chloride ทำปฏิกิริยาจนเกิดสี และวัดสีซึ่งแปรผันตามความเข้มข้นของ cholesterol นั้น
- ◆ แต่กรดทำปฏิกิริยาไม่จำเพาะ จึงต้องมีการสกัดสารให้บริสุทธิ์ก่อน จึงเพิ่มความจำเพาะมากขึ้น เช่น การตรวจด้วยวิธี Liebermann – Burchard reaction



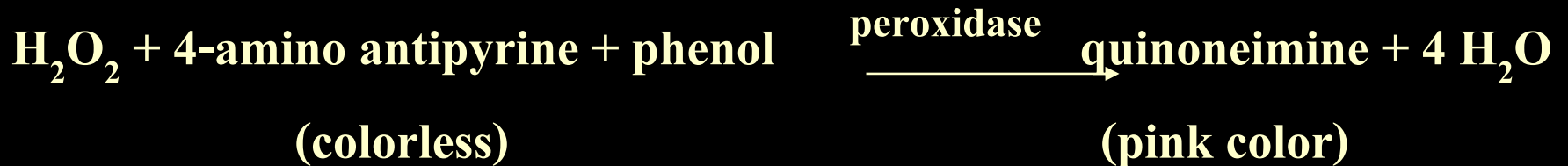
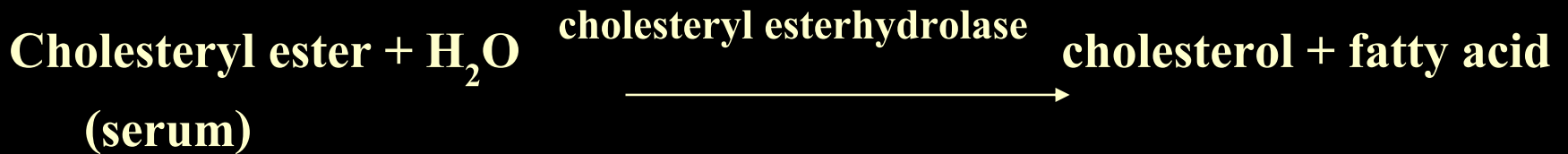
วิธี *gold standard* ของ *cholesterol*

- ◆ ที่ใช้ใน U.S National Institute for Standards and Technology ที่เรียกว่า Definitive method
- ◆ ใช้ isotope dilution mass spectrometry

ห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลใช้วิธี *enzymatic method*

- ◆ เป็นวิธีง่าย ๆ ไม่ต้องสกัดสารหรือเตรียมสิ่งตัวอย่างให้ยุ่งยาก
- ◆ สารเคมีอันตรายน้อยกว่าการใช้กรดอย่างวิธีข้างต้น
- ◆ ใช้ได้กับเครื่องอัตโนมัติ

Enzymatic method



spectrophotometer 500 nm ซึ่งวิธีนี้ใช้กับ โดยตรง



Enzymatic method

- ◆ ให้ผลมีความถูกต้องและแม่นยำดี
- ◆ ไม่ค่อยมีสารรบกวน ยกเว้น reducing agents บางชนิดในปริมาณสูง สามารถรบกวนการทำงานของ enzyme peroxidase คือ
 - vitamin C
 - bilirubin และ
 - hemoglobin

1.2. Triglyceride measurement

- ◆ เดิมใช้ enzymes ในการตรวจวัด TG ดังนี้
 - ใช้ lipase ย่อยสลาย TG ให้ได้ FA + glycerol
 - ใช้ enzymes มาทำปฏิกิริยาต่อกับ glycerol หลายขั้นตอน เพื่อให้ได้ end product ที่วัดการดูดกลืนแสงในช่วงคลื่น UV. Light โดย enzyme glycerol kinase และ pyruvate kinase เปลี่ยน NADH เป็น NAD^+ วัด absorption ที่ลดลง
 - ซึ่งวิธีนี้ไวต่อสารรบกวนมาก
- ◆ วิธีทำให้เกิดสี โดยใช้
 - enzyme glycerol kinase และ
 - glycerol-phosphate oxidase
 - ซึ่งทำให้เกิดสีในปฏิกิริยา peroxidase reaction

สารรบกวน;

ascorbic acid, bilirubin, hemolysis (Hb)

endogenous หรือ free glycerol

วิธีการแก้ไขการรบกวนของ *endogenous* หรือ *free glycerol*

1. External blanking
2. Internal blanking

ข้อควรทราบ เกี่ยวกับ *endogenous glycerol*:

ในคนปกติหรือผู้ป่วยนอกมักมี ไม่เกิน 10-20 mg/dL

ควรทำในผู้ป่วยที่ค่า TG > 250 (โดยเฉพาะค่าสูงแต่ไม่ชุน)



วิธี gold standard ของ Triglyceride

- ◆ สถาบัน CDC ใช้ reference method ใ้ตรวจ TG
 - ต้องมีการย่อยสลายไขมันด้วยด่าง (alkaline hydrolysis)
 - สกัดด้วยตัวทำละลาย
 - ทำปฏิกิริยาให้เกิดสีกับ chromotropic acid
 - เป็นวิธีที่ยุ่งยาก ใช้เวลานาน ตรวจได้น้อยราย
 - มีการพัฒนามาใช้อีกวิธีหนึ่ง คือ หลังจากสกัดได้ด้วยตัวทำละลายแล้ว จึงนำมาทำปฏิกิริยาแบบ enzymatic reaction

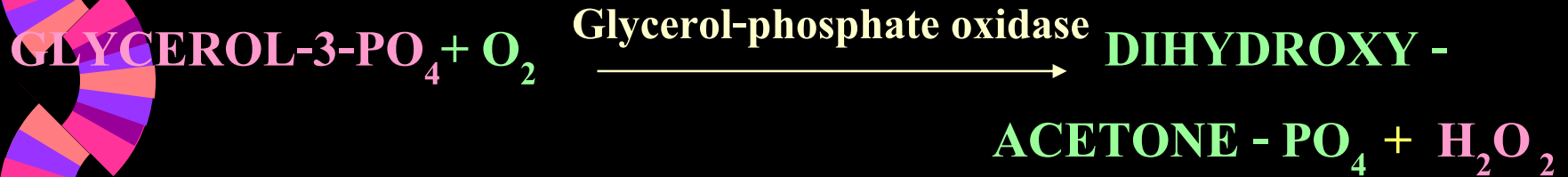
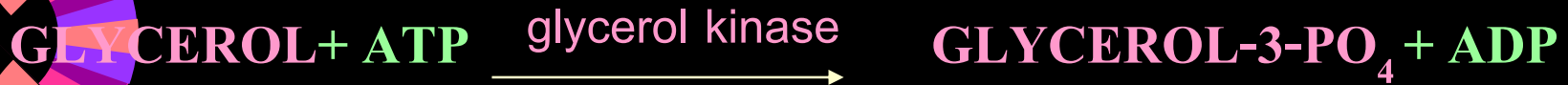
Reference method

วิธีที่ CDC กำหนด เป็นวิธีของ Carlson and Wadstrom

- สกัด lipid ด้วย chloroform
- treat ด้วย silicic acid (กำจัด phospholipid , glycerol)
- saponify เพื่อให้ได้ glycerol
- glycerol ถูก oxidise \longrightarrow formaldehyde
- formaldehyde + chromatropic acid \longrightarrow chromogen

วัด absorbance ที่ 570 nm

ENZYMATIC METHOD



\downarrow
peroxidase





การ แปลผล TG

- ◆ การตรวจ TG มี cut-points กว้าง และ
- ◆ จากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาค่อนข้างมาก เนื่องจาก **อาหาร แอลกอฮอล์ การออกกำลังกาย** การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว ทำให้ค่า CV มากถึง 25-30%
- ◆ ค่าความแปรปรวนที่เกิดจากการตรวจวัด (CV) จะได้ค่ามาก
- ◆ ผลการตรวจจึงดูไม่สำคัญนัก
- ◆ ต่างจากการตรวจ cholesterol ซึ่งสำคัญ เพราะใช้ทำนายความเสี่ยงของโรค CHD



การแปลผล TG

- ◆ **200 mg/dL = Desirable**
- ◆ **200-400 mg/dL = Borderline high risk**
- ◆ **400-1000 mg/dL = High risk CHD**
- ◆ **>1000 mg/dL = High risk,
pancreatitis**



1.3. HDL determination

- ◆ Ultracentrifugation
- ◆ Electrophoresis
- ◆ Chemical method
 - *Precipitation method*
 - *Nonprecipitation method*



Precipitating agents for HDL-C determination

- ◆ HEPARIN - MANGANESE CHLORIDE
- ◆ HEPARIN- CALCIUM CHLORIDE
- ◆ DEXTRAN SULFATE -MAGNESIUM CHLORIDE
- ◆ SODIAM PHOSPHOTUNGSTATE -MAGNESIUM CHLORIDE
- ◆ POLYETHYLENE GLYCOL

Non-precipitation method

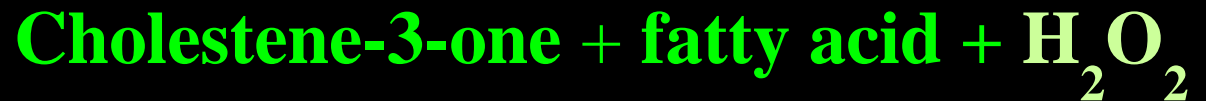
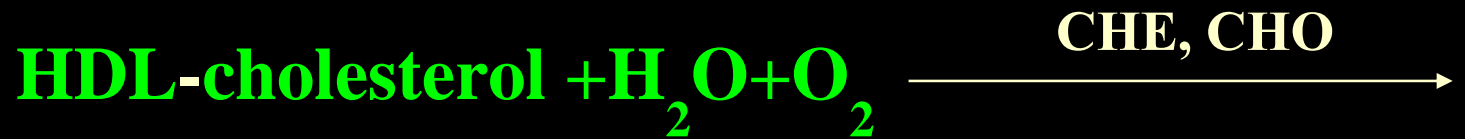
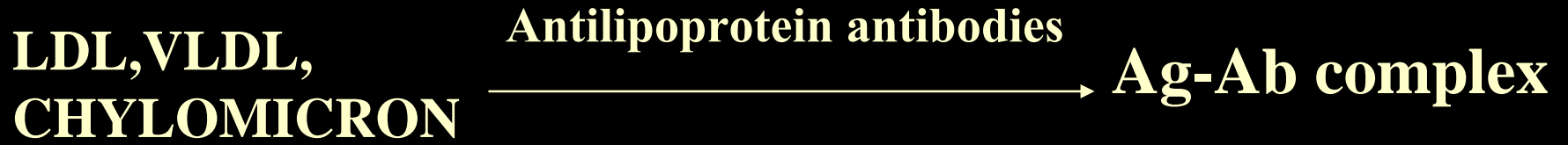
Principle R1.. Polyanion + synthetic polymer

R2.. detergent + cholesterol enzyme

Polyanion aggregate the LDL, VLDL, chylomicron and also strengthen the binding of the polymer to those particles, forming soluble *lipoprotein - polyanion - polymer complex*

Detergent solubilized HDL particle resulting in the release of HDL cholesterol and then react with cholesterol enzymes

Immuno inhibition method





Reference method for HDL-C

- **Ultracentrifugation** remove CM, VLDL
- **Selective precipitation** heparin-MnCl₂
remove LDL
- **Cholesterol analysis** modified Abell-Kendall



Reference range HDL

Desirable>55 mg / dL



ประโยชน์ของ การหาค่า *HDL-C*

- ◆ เพื่อดูความเสี่ยงต่อ *CHD*
- ◆ เพื่อกำหนดค่า *LDL-C*



1.4. LDL-Cholesterol

ในงานประจำ แล้วมักใช้คำนวณค่า LDL-C
จาก Friedewald formula

$$\begin{aligned} \text{LDL-C} &= \text{TC} - (\text{HDL-C} + 1/5 \text{ TG}) \quad \text{mg\%} \quad \text{หรือ} \\ &= \text{TC} - (\text{HDL-C} + 1/2.2 \text{ TG}) \quad \text{mmol/l} \end{aligned}$$

$$(\text{VLDL} \sim 1/5 \text{ TG})$$

*ทั้งนี้ TG ต้องไม่เกิน 400 mg/dl



Direct method for LDL-C Immuno-separation

- ◆ VLDL, IDL และ HDL จะถูกแยกออกไป หลังจาก การ aggregate กับ latex bead ที่มี Antibody ของ Apo A1 และ Apo E
- ◆ คงเหลือ LDL และ Lp(a) (ถ้ามี) ซึ่งจะไม่ aggregate กับ bead
- ◆ แล้วนำมากรอง ใช้ filtrate ไปหาค่า cholesterol จะเป็นค่า LDL-C

Selective measurement of LDL-C

ขั้นที่ 1 ใช้ protecting reagent protect LDL
จากการทำปฏิกิริยากับ CE/CO ขณะที่ LP อื่น เช่น
HDL, VLDL CM ไม่ ถูก protect จะ ทำปฏิกิริยากับ
เอนไซม์ได้ H_2O_2 ซึ่งเปลี่ยนเป็น H_2O โดย catalase

ขั้นที่ 2 การ protect ของ LDL จะถูกทำให้หมดไป
โดย deprotecting reagent ซึ่งจะทำให้ LDL-
cholesterol ทำปฏิกิริยากับ CE/CO , peroxidase ,
chromogenic system



LDL-C IN CHD ASSESSMENT

LDL-C(mg/dl)

CHD risk

<130

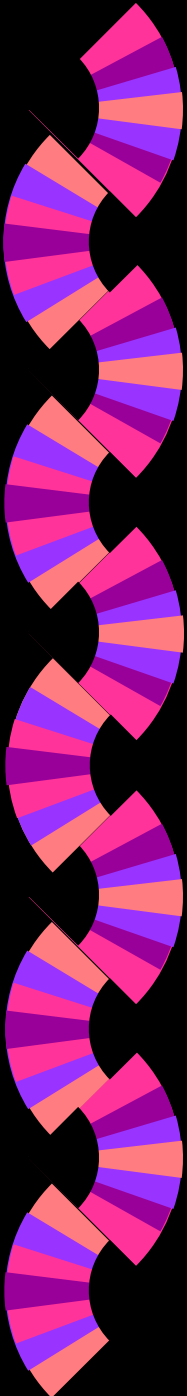
desirable LDL

130-150

borderline

>160

high LDL



แนวทางการประเมินโรคหัวใจ coronary artery heart disease

จากผลการตรวจสอบไขมันทางห้องปฏิบัติการ

	Desirable	Borderline
Total cholesterol	<200	200-249 mg/dL
HDL-cholesterol	>55	35-54 mg/dL
LDL- cholesterol	<130	130-159 mg/dL
Triglycerides	<200	200-400 mg/dL



1.5. *Fatty acids (FA)*

- ◆ การตรวจวัด fatty acid ใช้ในงานวิจัย
- ◆ เพื่อศึกษาทางด้านโภชนาการแต่ใช้น้อยมาก
ในงานตรวจประจำทางห้องปฏิบัติการ
- ◆ เพื่อตรวจความผิดปกติจากพันธุกรรม



การตรวจ FA ใช้วิธี *gas-liquid chromatography (GLC)* ทำโดย

- ◆ การสกัดของ FA โดยการย่อยสลายด้วยด่าง (alkaline hydrolysis)
- ◆ เปลี่ยน FA ให้อยู่ในรูปของ methyl ester ของ diazomethane ซึ่งสามารถระเหยได้
- ◆ นำไปตรวจด้วยเครื่อง GLC
- ◆ Reference standard ใช้มี laurate, myristate, palmitate, palmitoleate, phytanate stearate oleate lonoleate linolenate arachidate และ arachidonate



1.6 . Stool Fat

- ◆ คนปกติจะพบปริมาณไขมันในอุจจาระวันละ < 6 กรัม หากพบมีปริมาณสูงกว่านี้ แสดงว่าคนไข้ มีความผิดปกติ
- ◆ ในการดูดซึมไขมันพบในเด็กเล็ก
- ◆ ของตับอ่อน (pancreatic insufficiency) พบในผู้ใหญ่
- ◆ วิธีตรวจเก็บสะสมอุจจาระ 72 ชั่วโมง ตรวจหาปริมาณไขมัน แล้วคำนวณกลับทั้งหมดใน 72 ชั่วโมง



1.7. Compact analyzers

- ◆ การตรวจอย่างรวดเร็วได้มีการพัฒนาขึ้น เพื่อใช้ตรวจในคนไข้ที่ได้รับการดูแลพิเศษ (point of care testing) โดย
 - ตรวจข้างเตียงคนไข้ หรือ
 - ในห้องตรวจของแพทย์ หรือ
 - คนไข้ใช้ตรวจเองที่บ้าน
- ◆ มีการทำเครื่องตรวจอย่างง่ายออกจำหน่ายใน ค.ศ. 1980 ใช้ตรวจ TG และ cholesterol ใช้เลือดเจาะจากปลายนิ้ว ได้พัฒนาขึ้นมาเรื่อยๆ จนปัจจุบันสามารถตรวจ lipid และ lipoprotein อื่นๆ ได้



2. Apolipoprotein measurement

apolipoproteins ที่ใช้ในการรักษาคนไข้ CHD

- ◆ Apo B เป็นโปรตีนที่พบใน LDL และ VLDL ใช้เป็นดัชนีชี้วัดความเข้มข้นของ LDL และ VLDL วิธีตรวจ apo B ใช้ immunoassay method
- ◆ Apo A I เป็นโปรตีนที่พบมากใน HDL ใช้เป็นดัชนีชี้วัดความเข้มข้นของ HDL
- ◆ Lp (a) ใช้เป็นดัชนีชี้วัดความเสี่ยงของโรค CHD ปกติตรวจ ในงานวิจัย และ คลินิกโรคหัวใจ



การตรวจ apolipoprotein มีประโยชน์

- ◆ ใช้ในการตรวจติดตามคนไข้โรค CHD
- ◆ แต่ยังไม่แนะนำโดย NCEP ให้ใช้ตรวจเป็นงานประจำ
 - เพราะการศึกษาใน prospective studies ยังไม่บอกแน่ชัดในเรื่องความ เสี่ยงของโรค CHD กับการควบคุมระดับ LDL-c และ HDL-c



Immuno-precipitation method for apolipoprotein measurement

- ◆ มีผลิตชายในรูปน้ำยาสำเร็จรูปมากมาย นิยมใช้ turbidimetric assay และ Nephelometric assays
- ◆ ที่นิยมใช้ตรวจหา Apo B และ Lp (a) เป็นวิธีวัดความขุ่นของปฏิกิริยา Ag-Ab Complex ตกตะกอน
- ◆ หาก serum ของคนไข้ที่มีระดับ TG-rich LDL, chylomicron, VLDL สูง จะทำให้ serum ขุ่นด้วย จึงทำให้รบกวนการตรวจด้วยวิธีนี้



ELISA method for apolipoprotein measurement

- ◆ วิธี ELISA นิยมใช้มาก
- ◆ RID และ RIA ไม่ค่อยนิยมแล้วเพราะต้องใช้สารรังสี
- ◆ Antibodies ในปฏิกิริยา immunoassay ที่ใช้ได้ทั้ง monoclonal และ polyclonals
- ◆ การตรวจ Lp(a) นิยมหา isoforms ขนาดต่างๆ กัน ด้วย ทั้งนี้เพราะ ความสัมพันธ์ของโรค CHD ขึ้นกับขนาดของ Lp (a) ด้วย



3. Lipoprotein methods

การตรวจโดยการแยกชนิดต่างๆ ของ
Lipoproteins อาศัยคุณสมบัติทางฟิสิกส์ เช่น

- ความหนาแน่น
- ขนาด
- ประจุ และ
- ปริมาณ



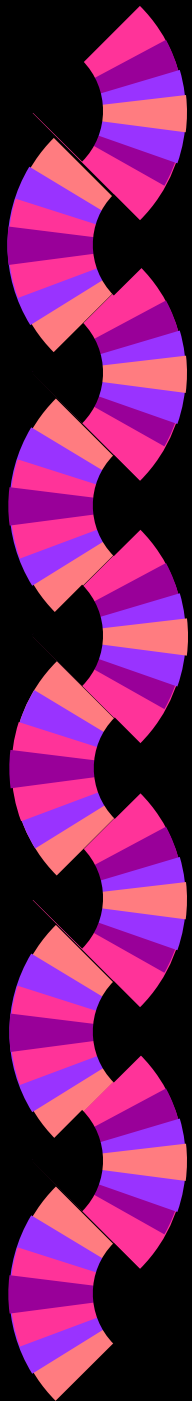
3. *Lipoprotein methods (cont.)*

- ◆ วิธี ultra-centrifugation ค่าความหนาแน่นขึ้นกับสัดส่วนของโปรตีน และไขมัน ซึ่งสามารถใช้การปั่นแยก Lp แต่ละชนิดได้ด้วย
- ◆ วิธี electrophoresis อาศัยขนาดและประจุที่แตกต่างกันของ Lp
- ◆ วิธีทางเคมี อาศัยคุณสมบัติทางขนาด ประจุ และชนิดของ apolipoprotein มาเป็นหลักในการแยก โดยใช้ antibodies ที่ specific ต่อ apo แล้วทำให้เกิดการจับตัวตกตะกอน แยกออกจากกัน
- ◆ วิธีทาง chromatography อาศัยขนาดและประจุแตกต่างกัน มาทำ molecular sieving method หรือใช้ affinity method มาใช้แยก Lp. ชนิดต่างๆ

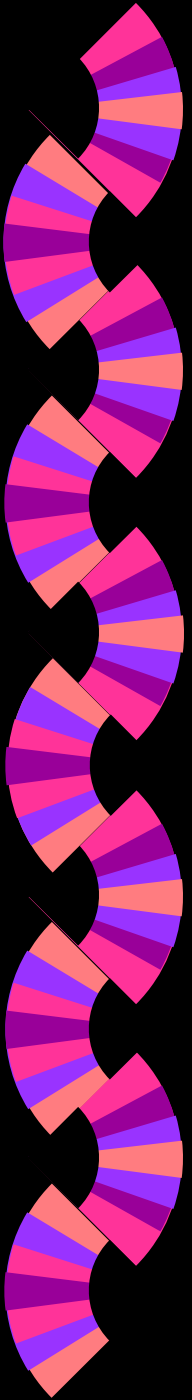


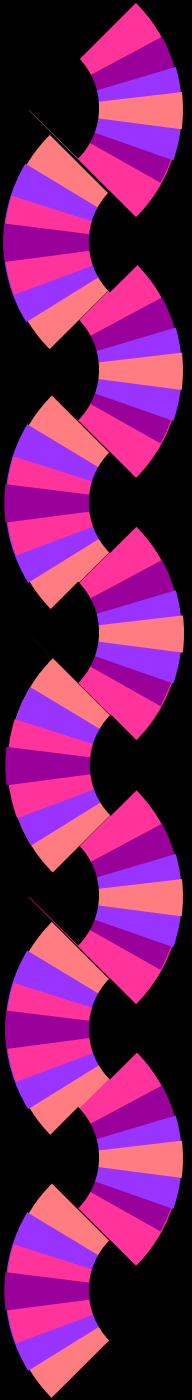
Reference methods

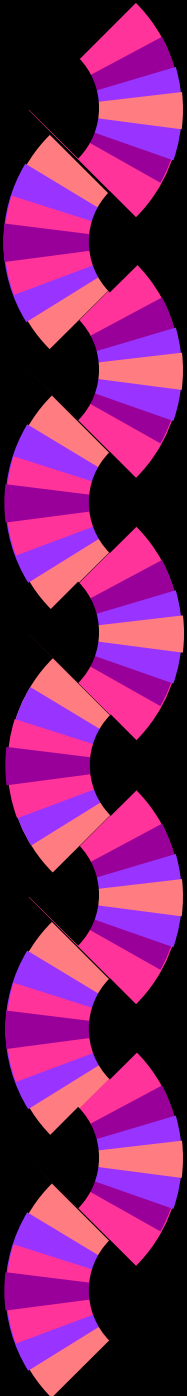
- ◆ Quantitative method for lipoprotein ใช้วิธี ultracentrifugation
- ◆ Quantitative method for lipoprotein ใช้วิธี electrophoresis ใช้แยกดูความผิดปกติของ LP ของคนไข้ ดูความผิดปกติของชนิดต่างๆ ของ LP ซึ่งเป็นที่นิยม เพราะทำไม่ยาก



***IV. Lipid and Lipoprotein
distribution
in the population***

- 
- ◆ ระดับของ lipoproteins แตกต่างกันระหว่างชายและหญิง เพราะมีระบบฮอร์โมนเพศ แตกต่างกัน ผู้หญิงมี estrogen สูงกว่าผู้ชายทำให้
 - ผู้หญิงมีระดับ HDL-c สูงกว่าผู้ชาย และมีระดับของ TG total cholesterol ต่ำกว่าผู้ชาย

- 
- ◆ ระดับของ cholesterol จะไม่แตกต่างกัน
เมื่อหญิงอยู่ในวัยหมดประจำเดือนระดับ
ฮอร์โมน estrogen ลดลง
 - ทั้งเพศชายและหญิง วัยสูงขึ้น ค่าของ LDL-c
total cholesterol และ TG ก็สูงตามด้วย
 - แต่ค่า HDL-c ค่อนข้างคงที่ หลังจากเข้าสู่วัย
เจริญพันธุ์ ในหญิงแม้จะหมดประจำเดือน
HDL-c ก็ไม่ลดลง

- 
- ◆ ในเด็กเล็กระดับของ cholesterol, TG, LDL-c มีระดับต่ำกว่าวัยเจริญพันธุ์และไม่แตกต่างกันระหว่างเพศ
 - ◆ LDL-c ในเด็กชายและหญิงมีค่าใกล้เคียงกับหญิงวัยเจริญพันธุ์
 - ◆ เด็กชายเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ ค่า HDL-c ลดลง 20% เด็กหญิง HDL-c ไม่เปลี่ยนแปลง
 - ◆ ระดับ HDL-c ลดต่ำลงในชาย จึงทำให้มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรค CHD



ระบาดวิทยาของโรค CHD

- ◆ พบว่า ผู้ที่มี cholesterol สูงเสี่ยงต่อโรค CHD โดย ศึกษาอาหารการกินของประชากร
 - คนในเอเชียกินอาหารพวก เมล็ดพืช ผัก ผลไม้ กินไขมันสัตว์ต่ำ จึงมีระดับ LDL-c ต่ำ จึงพบคนไข้โรค CHD ต่ำ
 - เปรียบกับคนในประเทศทางยุโรป ที่กินไขมันสัตว์มาก มีอุบัติการณ์ของ CHD สูง



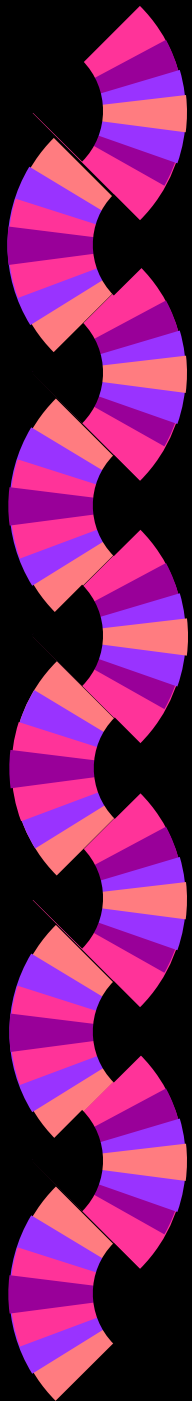
การลดอุบัติการณ์ของโรค CHD ใช้วิธีป้องกันโดย

- ◆ การเรียนรู้และกินอาหารอย่างถูกต้องในการลดความเสี่ยงตั้งแต่เยาว์วัย และตลอดชีวิต
- ◆ ไม่สูบบุหรี่
- ◆ ควบคุมความดันโลหิต
- ◆ ตรวจกรอง Total cholesterol , HDL-c, TG, LDL-c เมื่อพบความผิดปกติจะได้รับการรักษาแต่เนิ่นๆ
- ◆ ลดความเสี่ยงและโรคอื่นๆที่มีผลกระทบต่อ metabolism ของ lipoproteins



อาหารที่เหมาะสมต่อการมีสุขภาพที่ดี

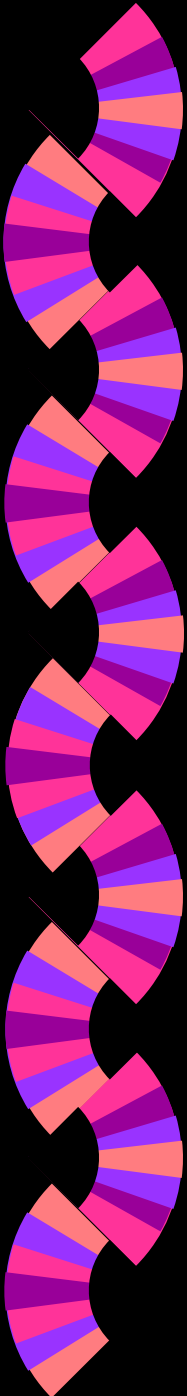
- ◆ อาหารที่มีไขมัน และ cholesterol ต่ำ
 - จำพวก saturated fatty acids มีความเสี่ยงที่ทำให้เกิดผนังหลอดเลือดอุดตันมากกว่าไขมันในกลุ่ม unsaturated fatty
- ◆ ปริมาณคาโลรีที่เหมาะสมกับเพศและวัย
- ◆ รักษาน้ำหนักคงที่ ให้มีการออกกำลังกายสม่ำเสมอ
- ◆ ลดอาหารกลุ่มไขมัน สามารถลดความเสี่ยงต่อโรค CHD และมะเร็งลำไส้



*V. Disease Prevention,
Diagnosis and
Treatment*



- ◆ Atherosclerosis
- ◆ Hyperlipoproteinemias
- ◆ Lp (a) elevation
- ◆ Hypoproteinemias



♦ โรคที่เกิดจากความผิดปกติของระดับไขมันในเลือด เรียกว่า dyslipidemia สาเหตุ จาก

- พันธุกรรมผิดปกติ หรือ
- สิ่งแวดล้อม / การกินอาหารไม่สมดุล หรือ
- ผลกระทบจากการเป็นโรคอื่น ๆ



1. *atherosclerosis*

- ◆ สาเหตุการตายอันดับต้น ๆ ของคนในประเทศพัฒนาแต่อัตราการตาย เริ่มลดลงไม่นานในประเทศอเมริกา เนื่องจาก
 - การวินิจฉัยที่แม่นยำ และการรักษาถูกวิธี
 - การเปลี่ยนวิถีชีวิตการรับประทานโดยตระหนักถึงระดับของ cholesterol มีความสัมพันธ์กับโรคหัวใจ
 - เพิ่มความระมัดระวังในการตรวจวัดระดับ cholesterol ในเลือดให้อยู่ในภาวะปกติ



1. atherosclerosis cont.

- ◆ แต่ก็ยังคงเป็นสาเหตุติดอันดับต้น ๆ นำโรคอื่น ๆ
- ◆ เป็นได้ทั้งชายและหญิง
 - เพศหญิง จะเป็นในอายุสูงกว่าชาย 10 ปี
 - เพราะระดับของ hormone estrogen ในวัยเจริญพันธุ์ของหญิงช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคได้
 - เมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนระดับ hormone ลดลงจึงทำให้มีโอกาสเสี่ยงต่อโรคเท่า ๆ กับผู้ชาย



ความผิดปกติของไขมันในเลือด

- ◆ ส่วนใหญ่ คือไขมันชนิด cholesterol ester
- ◆ ที่เกาะบริเวณผนังหลอดเลือดชั้นบางๆ ที่เรียกว่า fatty streaks
- ◆ จากการศึกษาชิ้นเนื้อของศพ พบว่าเส้นเลือดมี fatty streaks เกือบทุกศพ ที่มีอายุมากกว่า 15 ปีขึ้นไป ที่ไม่ได้ระบุว่าเป็นสาเหตุของการตาย
- ◆ ภาวะปกติ fatty streaks มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อมีอายุมากขึ้น จนผนังหนาจนเป็นก้อน (plaques)

ความผิดปกติของไขมันในเลือด cont.

- ◆ plaque ที่เกิดขึ้นจะทำลายเซลล์รอบๆ
- ◆ มีการสะสมของสารต่างๆ
- ◆ มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้นมาซ่อมแซมบริเวณรอยโรค
- ◆ macrophage และ platelets จากกระแสเลือดถูกกระตุ้นให้มารักษาบาดแผล
- ◆ LDL ในกระแสเลือด พาเอา cholesterol มาบริเวณเซลล์ที่เพิ่มจำนวนที่ plaque



ความผิดปกติของไขมันในเลือด cont.

- ◆ ซึ่ง LDL จะถูก oxidized ทำให้สารเคมีในเลือดเปลี่ยนแปลงไป
- ◆ macrophage มี scavenger receptor มาจับ oxidized LDL เข้าเซลล์ ทำให้มีลักษณะเป็น foam cells
- ◆ ซึ่ง foam cells จะเกาะติดบริเวณรอยโรคใกล้กับ endothelial layer ของ arterial wall
- ◆ ขนาดของ plaque จะมีขนาดใหญ่ขึ้นๆ ทำให้หลอดเลือดแคบลง จึงทำให้เลือดที่จะไหลผ่านต้องเพิ่มความดัน จึงผ่านไปได้ บางครั้งก็อุดตันทางเดินของเลือด



Plaque

- ◆ เกิดบริเวณเส้นเลือด (*arteries*) ของแขนหรือขา เรียกว่า “*peripheral vascular disease (PVD)*”
- ◆ เกิดบริเวณหัวใจ เรียกว่า “*coronary artery disease : CAD*”
- ◆ เกิดบริเวณหลอดเลือดที่สมอง เรียกว่า *cerebrovascular disease (CVD)*



CAD

- ◆ คนไข้มีอาการเจ็บหน้าอก (angina)
- ◆ หัวใจขาดเลือด (myocardial infarction)

CVD

- ◆ คนไข้มีอาการเส้นเลือดในสมองแตก (stroke)
- ◆ เลือดคั่งในสมอง อาจเป็นอัมพาต หรือ
- ◆ หากสมองที่มีเลือดคั่งส่วนนั้นควบคุมการหายใจ คนไข้จะตาย



โรคทางพันธุกรรม และจากสิ่งแวดล้อม เป็นสาเหตุ

- ◆ ให้มีการสะสมของไขมันในตับและไตทำให้อวัยวะทำหน้าที่ไม่ปกติ
- ◆ หากไขมันสะสมใต้ผิวหนัง จะเรียกว่า “*Xanthomas*” ซึ่งจะบ่งบอกถึงความผิดปกติทางพันธุกรรม ลักษณะของไขมันเราจะพบเห็นเป็นตุ่มไขมันที่ผิวหนังทำให้ดูไม่สวย ซึ่งจะบ่งบอกว่าคนนั้นมีความผิดปกติให้เห็นได้

การสะสมไขมันที่ผนังหลอดเลือดมีความสัมพันธ์ กับ

- ◆ การมีระดับความเข้มข้นของ LDL-c ที่มากขึ้น
- ◆ การมีระดับความเข้มข้น HDL-c ลดลง
- ◆ การลดระดับ LDL-c มีความสำคัญในการป้องกัน และรักษาโรค CHD ซึ่งคาดว่าทุกๆ 1% LDL-c ลดลง จะทำให้ลดความเสี่ยงต่อโรค atherosclerosis ได้ 2%
- ◆ คนไข้เป็นโรคหัวใจ เมื่อได้รับการรักษาเพื่อลด LDL-c ให้ต่ำกว่า 100 mg/dL (2.6 mmol/L) จะทำให้คนไข้ไม่มีอาการกำเริบ และบางครั้ง อาจช่วยลดขนาดของ plaques



คนส่วนใหญ่ที่มีไขมันสูงเป็นเพราะ

- ◆ กินอาหารไขมันสูง
- ◆ สูบบุหรี่
- ◆ ขาดการออกกำลังกาย หรือ
- ◆ อาจเป็นเพราะเป็นโรคอื่น ๆ ที่มีผลต่อไขมันสูงในเลือด เช่น
 - เบาหวาน,
 - ความดันโลหิตสูง,
 - hyperthyroidism,
 - โรคอ้วน
 - โรคที่มีระดับฮอร์โมนผิดปกติ,
 - โรคตับ,
 - โรคไต และ
 - alcoholism



การมีระดับ HDL-c ต่ำ มีความสัมพันธ์กับ

- ◆ การมีความเสี่ยงต่อโรคหัวใจ
- ◆ แต่คนไข้ไม่สามารถทนต่อยาที่จะเพิ่มระดับ HDL-c ได้
- ◆ จึงยังไม่ทราบแน่ชัดเกี่ยวกับการเพิ่มระดับ HDL-c สามารถลดความเสี่ยงต่อโรคได้
- ◆ การตรวจ LDL-c 2 ครั้ง ที่สัปดาห์ที่ 1 และ 8 ใช้ในการดูผลของยาที่ใช้ในการรักษาเพื่อลดระดับไขมันในเลือดได้ผลหรือไม่



ยา *cholestyramine* หรือ *cholestipol*

- ◆ ยาจับ cholesterol ในทางเดินอาหาร ทำให้ไม่สามารถดูดซึมได้
- ◆ ยาตัวนี้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมได้ จึงปลอดภัยที่จะนำไปใช้ในเด็ก
- ◆ ผลข้างเคียงของยาทำให้ท้องผูก



ยา Niacin

- ◆ สามารถลด LDL-c ได้ผลดีมาก
- ◆ สามารถเพิ่ม HDL-c
- ◆ เป็นสารที่เป็นพิษต่อตับ
- ◆ ทำให้เพิ่มระดับ glucose intolerance และ
- ◆ ทำให้เกิด hyperuricemia



ยาในกลุ่ม *HMG-CoA reductase inhibitors*

- ◆ lovastatin simvastatin และ pravastatin
- ◆ สามารถลด LDL-c 20-40%
- ◆ มันห้ามการสร้าง cholesterol ในเซลล์โดยห้ามการทำงานของ enzyme HMG CoA reductase แต่ราคาแพงมาก
- ◆ ยา probucol ป้องกันการ oxidation ของ lipid และห้ามการนำไขมันเข้าเซลล์ macrophage



2. *Hyperlipoproteinemia*

- ◆ โรคที่เกิดจากความผิดปกติของไขมันในเลือด โดยทั่วไป มักมีสาเหตุ มาจาก
 - ความสามารถในการสร้างไขมันผิดปกติ
 - ความสามารถในการขนส่งไขมันผิดปกติ
 - ความสามารถในการย่อยสลายไขมันผิดปกติ



Dyslipidemias จึงแบ่งออกเป็น 2 ประเภท

- ◆ **Hyperlipoproteinemia** คือโรคที่เกิดจากการมีระดับไขมันสูงในเลือด ซึ่งแบ่งออกเป็น
 - Hyper cholesterolemia
 - Hypertriglyceridemia
 - Combined hyperlipidemia ซึ่งมีทั้ง cholesterol และ TG สูงในเลือด
- ◆ **Hypolipoproteinemia** คือโรคที่เกิดจากการมีระดับไขมันในเลือดต่ำ



Hypercholesterolemia

- ◆ มีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับโรคหัวใจ
 - โรคทางพันธุกรรมที่ทำให้ cholesterol สูง ซึ่งเรียกว่า familial hypercholesterolemia (FH)
 - Homozygotes FH เพียง 1 :1,000,000 ประชากรโลก ซึ่งมีระดับ cholesterol ในเลือดสูงถึง 800-1,000 mg/dL (20 – 26 mmol/L) มักพบคนไข้มีอาการหัวใจวายในวัยรุ่น
 - Heterozygotes พบได้บ่อยกว่า ซึ่งเป็นแบบ autosomal codominant disorder คนไข้ในกลุ่มนี้มีระดับ cholesterol 300 – 600 mg / dL (8 – 15 mmol/L)



Hypercholesterolemia

- หากไม่ได้รับการรักษาคนไข้จะมีอาการโรคหัวใจ เมื่ออายุ 20 – 50 ปี
- ประมาณ 5% ของคนไข้ที่มีอาการ CAD อายุน้อยกว่า 50 ปี
- อาการอื่นๆ ที่ปรากฏให้เห็น จะพบ
 - xanthomas คือมีไขมัน cholesterol สะสมใต้ผิวหนัง และ
 - พบ arcus ซึ่งบ่งชี้ว่ามี cholesterol เกาะอยู่ในเส้นเลือดของดวงตา

Hypercholesterolemia cont.

- ◆ Homozygotes และ heterozygotes นั้นมี cholesterol สูง ซึ่งมี LDL-c สูง ร่วมด้วย
- ◆ ในตอนเริ่มแรก คนไข้สร้าง cholesterol ในเซลล์ปกติ
- ◆ แต่ขาด LDL receptors จึงไม่สามารถเอา cholesterol ที่ได้จากอาหาร เข้าสู่เซลล์ ได้
- ◆ เซลล์ต้องการ cholesterol ไปใช้ที่ผนังเซลล์และสร้างฮอร์โมน
- ◆ จึงทำให้เซลล์มีการสร้าง cholesterol เพิ่มมากขึ้นมาชดเชยกับการไม่สามารถนำ cholesterol เข้าเซลล์โดยกระบวนการ receptor-mediated mechanism ได้



การรักษา

- ◆ ยา ใช้รักษาโดยลดระดับ cholesterol ใช้ได้
ในกลุ่ม Heterozygotes
- ◆ กลุ่ม homozygotes ต้องรักษาโดยการกรอง
เลือดแยกเอาส่วนไขมันออกจากเลือดที่
เรียกว่า LDL pheresis คล้ายกับคนไข้โรค
ไต ที่กรองของเสียออกจากร่างกาย



การรักษา

- ◆ คนไข้ที่ไม่ใช่ FH มีโอกาสเสี่ยงต่อ CHD ต้องรักษาระดับไขมันให้ต่ำ
- ◆ ควบคุมปริมาณคอเลสเตอรอล เพื่อให้ร่างกายมีน้ำหนักเหมาะสม
- ◆ ออกกำลังกายสม่ำเสมอ และ
- ◆ รักษาโดยใช้ยาคุมเป็นครั้งคราวเมื่อจำเป็น



Hypertriglyceridemia สาเหตุจาก

- ◆ ความผิดปกติทางพันธุกรรม เรียกว่า familial hypertriglyceridemia
- ◆ Secondary causes เช่น hormones ผิดปกติจาก
 - ตับอ่อน
 - ต่อมหมวกไต
 - ต่อม pituitary หรือ
 - จากโรคเบาหวาน หรือ
 - โรคไต



Hypertriglyceridemia cont.

◆ โรคเบาหวาน

- จากการขาด insulin ไม่สามารถใช้ glucose เป็นพลังงาน
- glucose ถูกนำไปสร้างใน pentose pathway ทำให้มีการสร้าง fatty acids เพิ่มขึ้น

◆ โรคไต

- ไม่สามารถขับสารโมเลกุลใหญ่ เช่น TG จึงทำให้มีระดับ TG สูงขึ้นในเลือด



Hypertriglyceridemia cont.

- ◆ ภาวะ hypertriglyceridemia เกิดจากความไม่สมดุลย์ระหว่างการสร้าง และการกำจัด VLDL ในกระแสเลือด
- ◆ คนไข้ที่เป็นโรค CHD ส่วนใหญ่มีระดับ TG สูง ปานกลาง และมีระดับ HDL-c ต่ำ
- ◆ แต่จากการศึกษา hypertriglyceridemia ทางสถิติ ไม่ใช่เป็น independent risk factor ของ CHD



ระดับของ TG

- ◆ มีฮอร์โมนหลายชนิดมีส่วนเกี่ยวข้อง
 - insulin และ glucagon จากตับอ่อน
 - growth hormone จากต่อม pituitary
 - ACTH และ thyrotropin epinephrine และ norepinephrine จาก ระบบประสาท
- ◆ ฮอร์โมนนี้กระตุ้นให้สร้าง hormone-sensitive lipase ที่ adepose tissue
- ◆ ส่งผลให้มีการเพิ่มระดับของ serum TG



Severe hypertriglyceridemia

- ◆ > 1000 mg/dL แม้จะไม่เป็นสาเหตุของโรค CHD แต่
- ◆ ทำให้ร่างกายผิดปกติ คือ ทำให้ตับอ่อนอักเสบ (pancreatitis)
- ◆ สาเหตุมาจากการขาด enzyme lipoprotein lipase (LPL) หรือขาด apo C II ซึ่งเป็น cofactor ของ enzyme LPL
- ◆ ปกติ LPL อยู่ใน chylemicron และ VLDL ทำหน้าที่ย่อยไขมันให้ fatty acids กับ เซลล์ใช้เป็นพลังงาน
- ◆ คนไข้ที่ขาด LPL หรือ apo C-II มีระดับของ chylomicron และ VLDL สูงในเลือดแม้จะอดอาหาร 12-14 ชั่วโมง



การรักษา *hypertriglyceridemia*

- ◆ การควบคุมอาหารให้มี TG ต่ำ และ
- ◆ การใช้ยาเช่น
 - Primarily fibric acid derivatives ในคนไข้ที่มีความเสี่ยงต่อ CHD คือ
 - มี TG สูงร่วมกับ
 - HDL-c ต่ำในเลือด



Combined hyperlipoproteinemia

- ◆ คนไข้ที่มีทั้ง TG และ cholesterol สูงในเลือด
- ◆ คนไข้กลุ่มนี้มีความเสี่ยงสูงต่อโรค CHD
 - สาเหตุมาจากพันธุกรรม ที่เรียกว่า familial combined hyperlipoproteinemia (FCH)
 - และที่พบน้อยราย คือ familial dysbetalipoproteinemia (type III hyperlipoproteinemia ซึ่งปัจจุบันเลิกใช้ชื่อนี้แล้ว)
- ◆ ซึ่งพบว่ามีระดับของ cholesterol-rich VLDL และ chylomicron remnant สูง



Combined hyperlipoproteinemia *cont.*

- ◆ อาจพบ apo E 2/2 ร่วมด้วย คนไข้มักมี
 - ระดับ cholesterol 200 – 300 mg/dL และ
 - TG 300-600 mg/dL
 - ซึ่งคนไข้ Type III นี้ จะมี ratio ของ cholesterol ใน VLDL / total serum TG มากกว่า 0.30
 - จึงสามารถแยกคนไข้กลุ่มนี้ออกจาก FCH อื่นๆ ได้



Lp (a) elevation

- ◆ หากมีปริมาณ Lp(a) สูงจะเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรค
 - Coronary heart disease (CHD) ,
 - Myocardial infarction และ
 - Cerebrovascular disease



การรักษาเพื่อลดระดับ Lp(a) ในเลือด

- ◆ ยาที่ใช้ลด LDL ไม่มีผลที่จะไปลด Lp(a) แม้ว่าระดับ LDL-c จะลดลงต่ำมาก
- ◆ Niacin สามารถลด Lp(a) ได้ แต่ไม่แนะนำให้ใช้หากไม่มีอาการของไขมันอื่น ๆ ร่วมด้วย
- ◆ หากเป็นหญิงวัยหมดประจำเดือนได้ รับ estrogen สามารถลด Lp(a) ได้



4. Hypolipoproteinemia

- ◆ ระดับของไขมันในเลือดต่ำ ซึ่ง แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ
 - Hypobeta lipoproteinemia พบว่ามี LDL-c ต่ำ โดยที่ไม่พบความผิดปกติของ lipoprotein อื่นๆ ไขมันไม่มีความสัมพันธ์กับโรค CHD จึงไม่ขอกล่าวถึง
 - Hypoalphalipoproteinemia



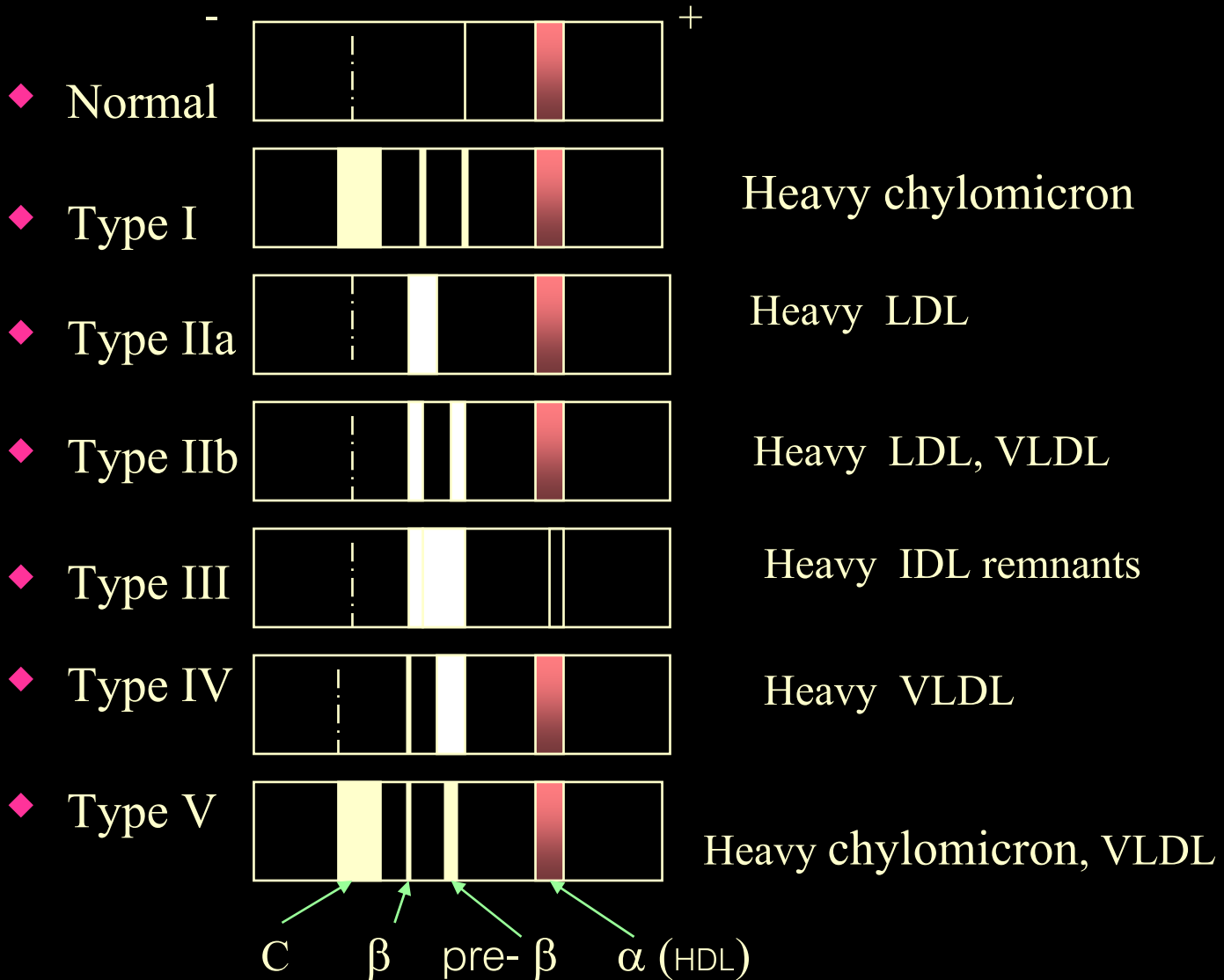
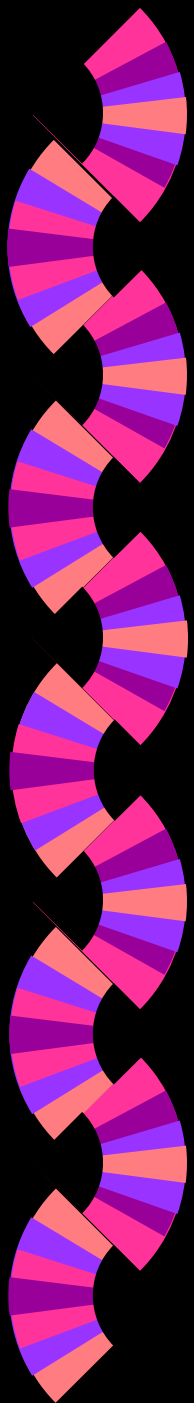
Hypoalphalipoproteinemia

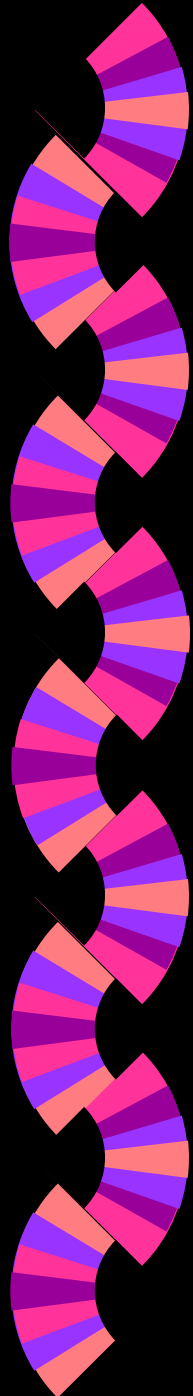
- ◆ พบว่า HDL ต่ำในกระแสเลือด มีระดับ HDL-c น้อยกว่า 35 mg/dL (0.9 mmol/L)
- ◆ ไม่พบว่ามีระดับ TG สูง
- ◆ ที่ใช้ชื่อ alpha เพราะว่าเมื่อแยกด้วย electrophoresis HDL จะอยู่ที่ alpha region
- ◆ คนไข้กลุ่มนี้เสี่ยงต่อโรค CHD เช่น คนไข้โรค Tangier disease ที่มี HDL-c 1 – 2 mg/dL (0.03 – 0.05 mmol/L) และมีระดับ cholesterol 50 – 80 mg/dL (1.3 – 2.1 mmol/L)

อดีตการแบ่งชนิดของ hyperlipidemia ตามลักษณะของ serum เมื่อแช่ในตู้เย็นข้ามคืน

- ◆ Type I increase chylomicron ; serum : creamy layer, infranateclear or slightly turbid
- ◆ Type II a increase LDL ; serum :clear, posible increase in yellow orange tint
- ◆ Type II b increase LDL,VLDL; serum :clear to slightly turbid
- ◆ Type III increase IDL and remnants ; serum : turbid to opaque with thin cream layer occasionally present
- ◆ Type IV increase VLDL; serum : turbid to opaque
- ◆ Type V increase VLDL chylomicron; serum : cream layer infranate turbid to opaque

ทำ ELECTROPHORESIS ได้





VI. Case Study



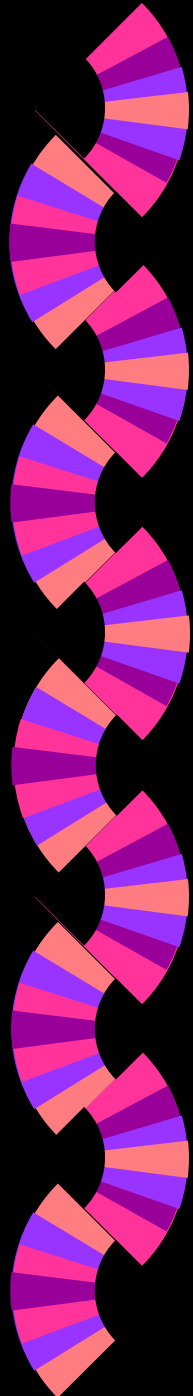
Case study I

52-year-old male went to his doctor for a physical. The patient was 24 pounds overweight and had been a district manager for an automobile insurance company for the last 10 years. He had missed his last two appointments to the physician because of business. The urinalysis dipstick was not remarkable. His blood pressure was elevated. The blood chemistry results list in case study Table I were obtained.



Table I. Laboratory results

Analyte	Patient Value	Reference Range
Na⁺	151	1.35-143 mEq/L
K⁺	4.5	3.0-5.0 mEq/L
Cl⁻	106	98-103 mEq/L
CO₂ content	13	22-27 mEq/L
Total protein	5.7	6.5-8.0 mEq/L



Analyte	Patient Value	Reference Range	
Albumin	1.6	3.5-5.0	g/dL
Calcium	7.9	9.0-10.5	g/dL
Cholesterol	210	140-200	mg/dL
Uric acid	6.2	3.5-7.9	mg/dL
Creatinine	2.5	0.5-1.2	mg/dL
BUN	95	7-25	mg/dL
Glucose	88	75-105	mg/dL
Total bilirubin	1.2	0.2-1.0	mg/dL
Alkaline phosphatase	27	7-59	IU/L
Lactate dehydrogenase	202	90-190	IU/L
Aspartate transaminase	39	8-10	IU/L
Amylase	152	76-375	IU/L



Question

- 1. Given the abnormal tests, what additional information would you like to have?**
- 2. If this patient had triglycerides of 100 mg/dL (1.1 mmol/L) and an HDL cholesterol of 23 mg/dL (0.6 mmol/L), what would be his calculated LDL-cholesterol value?**
- 3. If, on the other hand, his triglycerides were 476 mg/dL (5.4 mmol/L), with an HDL cholesterol of 23 mg/dL (0.6 mmol/L), what would be his calculated LDL-cholesterol value?**



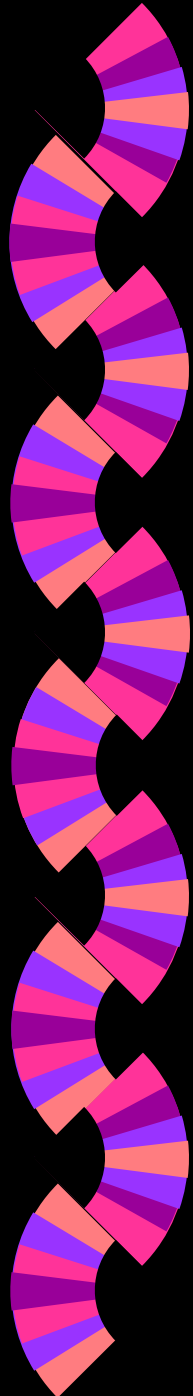
Case Study II

30-year-old male was brought to the ER with chest pain after a softball game. He was placed in the coronary care unit when his ECG showed erratic waves in the ST region. A family history revealed that his father died of a heart attack when he was 45 years old. The patient had always been athletic in high school and college, so he had not concerned himself with a routine physical. The laboratory tests listed in Case Study Table 2. were run.



Table II. Laboratory results

Analyte	Patient Value	Reference Range
Na^+	139	1.35-143 mEq/L
K^+	4.1	3.0-5.0 mEq/L
Cl^-	101	98-103 mEq/L
CO_2 content	29	22-27 mEq/L
Total protein	6.9	6.5-8.0 mEq/L



Analyte	Patient Value	Reference Range	
Albumin	3.2	3.5-5.0	g/dL
Calcium	9.3	9.0-10.5	g/dL
Cholesterol	278	140-200	mg/dL
Uric acid	5.9	3.5-7.9	mg/dL
Creatinine	1.1	0.5-1.2	mg/dL
BUN	20	7-25	mg/dL
Glucose	97	75-105	mg/dL
Total bilirubin	0.8	0.2-1.0	mg/dL
Alkaline phosphatase	20	7-59	IU/L
Lactate dehydrogenase	175	90-190	IU/L
Aspartate transaminase	35	8-10	IU/L
Amylase	98	76-375	IU/L



Question

1. Given the symptoms and the family history, what additional tests should be recommended?
2. If his follow-up total cholesterol remains in the same range after he has been released from the hospital, and his triglycerides and HDL cholesterol are within the normal range, what course of treatment should be recommended?



Case study III

A 43-year-old white man was diagnosed with hyperlipidemia at age 13 years when his father died of a myocardial infarction at age 34 years. The man's grandfather had died at age 43 years, also of a myocardial infarction. Currently, the man is active and asymptomatic with regard to CHD. He is taking 40 mg of Mevacor (lovastatin), two times per day (maximum dose). He has previously taken niacin, but could not tolerate it because of flushing and gastrointestinal distress, nor could he tolerate Questran (cholestyramine Resin). His physical exam is remarkable for bilateral Achilles tendon thickening/xanthomas and a right carotid bruit.



Laboratory Results

Triglycerides, 91 mg/dL

Total cholesterol, 269 mg/dL

HDL cholesterol, 47 mg/dL

LDL cholesterol, 204 mg/dL

Aspartate aminotransferase (AST), 34 U/L

Alanine aminotransferase (ALT), 36 U/L

Alkaline phosphatase (ACP), 53 U/L

Electrolytes and fasting glucose, normal



Question

1. What is his diagnosis?
2. Does he need further work up?
3. What other laboratory tests should be done?
4. Does he need further drug treatment, and, if so, what?



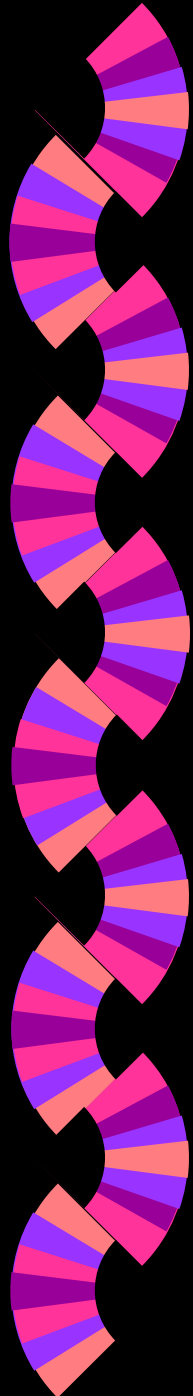
Case study IV

A 60-year-old female came to her physician because A she was having urination troubles. Her previous history included hypertension and episodes of edema. The physician ordered various laboratory tests on blood drawn in his office. The results are shown in Case Study Table IV



Case study Table IV. Laboratory results

Analyte	Patient Value	Reference Range
Na ⁺	149	1.35-143 mEq/L
K ⁺	4.5	3.0-5.0 mEq/L
Cl ⁻	120	98-103 mEq/L
CO ₂ content	12	22-27 mEq/L
Total protein	5.7	6.5-8.0 mEq/L



Analyte	Patient Value	Reference Range	
Albumin	2.3	3.5-5.0	g/dL
Calcium	7.6	9.0-10.5	g/dL
Cholesterol	201	140-200	mg/dL
Uric acid	15.4	3.5-7.9	mg/dL
Creatinine	4.5	0.5-1.2	mg/dL
BUN	87	7-25	mg/dL
Glucose	88	75-105	mg/dL
Total bilirubin	1.3	0.2-1.0	mg/dL
Alkaline phosphatase	327	7-59	IU/L
Lactate dehydrogenase	200	90-190	IU/L
Aspartate transaminase	45	8-10	IU/L
Amylase	380	76-375	IU/L



Question

1. What are the abnormal results in this case?
2. Why do you think the triglycerides are abnormal?
3. What is the primary disease exhibited by this patient's laboratory data?



Case study V

A 49-year-old woman was referred for a lipid evaluation by her dermatologist after developing a papular rash over her trunk and arms. The rash consisted of multiple red raised lesions with yellow centers. She had no previous history of such a rash, and had no family history of lipid disorders or CHD. She is postmenopausal, on standard estrogen replacement therapy, and otherwise healthy .



Laboratory Results

Serum, grossly lipemic

Triglycerides, 6200 mg/dL

Total cholesterol, 458 mg/dL

Fasting glucose, 160 mg/dL

Liver function tests and electrolytes, normal

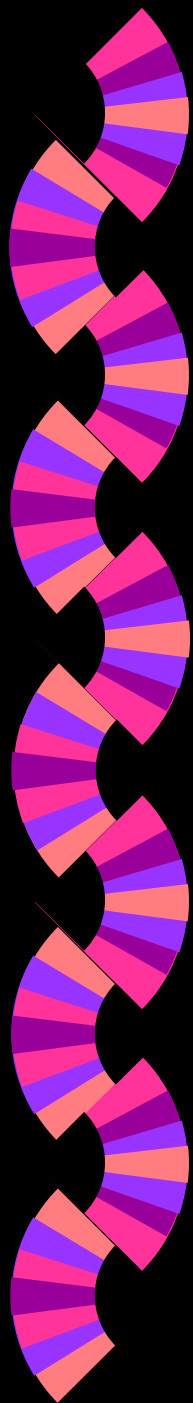
1. What is the cause of her rash and what is the rash ?
2. Is her oral estrogen contributing?
Is her glucose contributing?
3. What treatments are warranted and what is her most acute risk?



Case study VI

Three patients are seen in clinic:

. The first patient is a 40-year-old man with hyper-tension, and who also smokes, but has not been previously diagnosed with CHD. His father developed CHD at age 53 years. He is fasting, and the results of his lipids include a total cholesterol concentration of 210 mg/dL, triglycerides of 150 mg/dl, and an HDL cholesterol value of 45 mg/dl. He has a fasting glucose level of 98 mg/dL.



. The second patient is a 60-year-old woman with no family history of CHD who is normotensive, and does not smoke, with a total cholesterol concentration of 220 mg/dL, triglycerides of 85 mg/dL, and an HDL cholesterol Value of 80 mg/dL. Her fasting glucose level is 85 mg / d L

. The third patient is a 49-year-old man with no personal or family history of CHD, and who is not hypertensive and does not smoke. His fasting total cholesterol level is 260 mg/dL. His triglycerides are 505 mg/dL his HDL cholesterol is 25 mg/dL, and his glucose level is 134 mg / d L



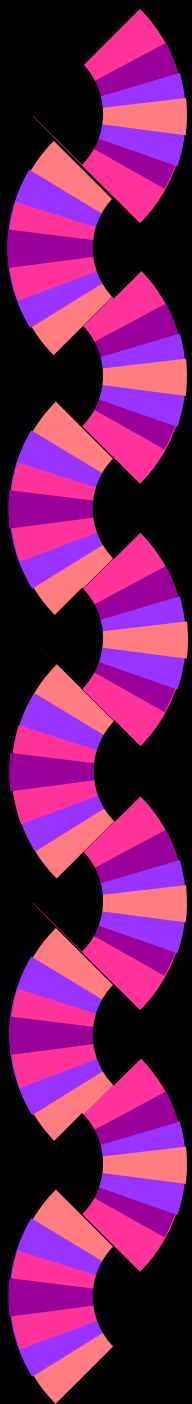
For each of the three patients seen in clinic

- ◆ What is the LDL cholesterol level, as calculate by using the Friedewald calculation ?
- ◆ Which , if any ,of the patients should have their LDL cholesterol measured, rather than calculated ? Why ?
- ◆ How many known CHD risk factors does each have ?
- ◆ Based on what is known, are these patients recommended for lipid therapy (diet or drug), and , if so, on what basis ?



VII. References

- ◆ **McNamara JR, Warnick GR, Wu LL. Chaper 11 Lipid and Lipoproteins In : Clinical Chemistry Principles, Procedures, Correlations 4th Edition. Bishop ML, Duben-Engelkirk JL, Fody EP. (editors) Lippincott Williams and Wilkins A Wolters Kluwer Company, Philadelphia, USA, 2000; 233-255.**
- ◆ **Stein EA. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins . In : Fundamentals of Clinical Chemistry 3th Tietz NW.(editor) WB. Saunder Company, Philadelphia, USA, 1987;448-481.**
- ◆ **Lehninger AL. Biochemistry : The molecular basis of cell structure and function. 2th Edition, Worth, New York, USA,1975.**
- ◆ **National Cholesterol Education Program Laboratory Standardization Panel. Current status of blood cholesterol measurement in clinical laboratories in the United States. Clin Chem 1988;34:193.**



- ◆ **Bachorik PS, Ross JW, For the National Cholesterol Program Working Group on Lipoprotein Measurement. National Cholesterol Education Program Recommendations for measurement of low -density lipoprotein cholesterol: excecutive summary.Clin Chem 1995;41:1414-1420.**
- ◆ **Stein EA, Myers GL. For the National Cholesterol Program Working Group on Lipoprotein Measurement. National Cholesterol Education Program Recommendations for measurement of triglyceride measurement : excecutive summary.Clin Chem 1995;41:1421-1426.**
- ◆ **Warnick GR, WoodPD TW, For the National Cholesterol Program Working Group on Lipoprotein Measurement. National Cholesterol Education Program Recommendations for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: excecutive summary.Clin Chem 1995;41:1427-1433.**