ผลการตรวจวัดไขมันชนิดของ LDL- Cholesterol โดยวิธี Direct กับวิธีการใช้สูตรคำนวณ Friedewald ของผู้มารับบริการ ตามแนวทางการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการอย่างสมเหตุสมผล RLU (LDL-Cholesterol analysis results by Direct method and using Friedewald calculation formula according to the Rational Laboratory Use RLU guideline)

กนิษฐา นิลผาย*
Kanistha Nilphai
Corresponding author: E-mail: Kanisrtha087@gmail.com
(Received: November 5, 2024; Revised: November 12, 2024; Accepted: December 10, 2024)

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาระดับ LDL-cholesterol ค่าที่ได้จาก สูตรคำนวณของ Friedewald เปรียบเทียบกับการวัดค่า LDL-cholesterol โดยตรงจากเครื่องตรวจอัตโนมัติ

รูปแบบการวิจัย : กึ่งทดลอง (Quasi – Experimental Research)

วัสดุและวิธีการศึกษา : กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้มารับบริการที่ตรวจ Lipid profile ที่คลินิกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลทุ่งเขาหลวง ระหว่าง 1 กรกฎาคม 2566 ถึง 30 กันยายน 2566 ได้จากการสุ่มอย่างง่ายตามคุณสมบัติจำนวนกลุ่มละ 472 คน เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย ได้แก่ ระบบ LIS เครื่องตรวจอัตโนมัติ สูตรคำนวณของ Friedewald G*program การเก็บรวบรวมข้อมูลโดยใช้แบบบันทึกผลทางห้องปฏิบัติการและวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และการทดสอบแบบ Independent t- test ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ที่ระดับ Triglyceride <100,100-199.200-299, 300-399,400 mg/dl

ผลการวิจัย : การวัด LDL- cholesterol โดยตรงกับการคำนวณพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ r=0.995, 0.986, 0.947, 0.914 เป็นไปในทิศทางเดียวกันอย่างดีมาก ทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<.001, p<.001, p=.014, p=.021) สามารถใช้แทนกันได้ ในช่วงความเข้มข้น Triglyceride < 400 mg/dl ในขณะที่ค่า Triglyceride > 400 mg/dl พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p= .096) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ลดลงมาก r= 0.665 ทำให้การวิเคราะห์ LDL- cholesterol โดยคำนวณใช้สูตร Friedewald มีความคลาดเคลื่อนมาก จึงจำเป็นต้องใช้วิธีการตรวจวัด LDL- cholesterol โดยตรง

สรุปและข้อเสนอแนะ : วิธีคำนวณมีความสัมพันธ์กันดีกับวิธี Direct สามารถใช้แทนกันได้ที่ Triglyceride < 400 mg/dl แต่ระดับ Triglyceride > 400 mg/dl ควรตรวจหาค่า LDL- cholesterol โดยใช้วิธีวัดโดยตรงจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติจะมีความน่าเชื่อถือ ถูกต้องมากกว่าประโยชน์จากการศึกษานี้ ช่วยลดรายจ่ายในการจัดซื้อน้ำยาตรวจวัดค่า LDL- cholesterol คิดเป็นเงิน เท่ากับ 111,000 บาท ราคาต้นทุนวัสดุวิทยาศาสตร์การแพทย์ลดลงร้อยละ 2.92

คำสำคัญ : LDL-cholesterol; Lipid profile; RLU

*นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลทุ่งเขาหลวง

Abstract

Purposes : To study level LDL-cholesterol values obtained from Friedewald calculation formula are compared with the measurement. LDL-cholesterol directly from the automatic detector.

Study design : Quasi – Experimental Research.

Materials and Methods : The sample group were patients who received lipid profile testing at the outpatient clinic. Thung Khao Luang Hospital between 1 July 2023 to 30 September 2023, obtained from simple random sampling according to qualifications, numbering 472 people per group. Tools used in the research include the LIS system, automatic examination machine, Friedewald calculation formula G*program collects data using laboratory results records and analyzes the data using statistics: percentage, mean, and standard deviation. And Independent t- test, correlation coefficient. At the Triglyceride level <100,100-199.200-299,300-399,400 mg/dl.

Main findings : Measuring LDL-cholesterol directly with calculations revealed that the correlation coefficients were r=0.995, 0.986, 0.947, 0.914, very well in the same direction. The two methods have a statistically significant relationship (p<.001, p<.001, p=.014, p=.021). Can be used interchangeably in the concentration range Triglyceride < 400 mg/dl, while Triglyceride values > 400 mg/dl were found to be statistically significantly different (p= .096). The correlation coefficient was greatly reduced, r= 0.665, making the analysis of LDL- Cholesterol calculated using the Friedewald formula has large inaccuracies. Therefore, a direct method for measuring LDL-cholesterol is required.

Conclusion and recommendations : The calculation method has a good relationship with the method. Direct can be used interchangeably. At Triglyceride < 400 mg/dl but Triglyceride level > 400 mg/dl, LDL-cholesterol should be measured using a direct measurement method from an automatic analyzer to be reliable. More correct Benefits from this study Helps reduce expenses in purchasing LDL-cholesterol measurement solution, equivalent to 111,000 baht. Cost of medical science materials decreased by 2.92 percent.

Keywords : LDL-cholesterol; Lipid profile; RLU

*Medical Technologist Department of Medical Technology Thung Khao Luang Hospital.

บทนำ

องค์การอนามัยโลกรายงานว่าโรคหัวใจและหลอดเลือด (Coronary vascular disease: CVD) เป็นโรคที่มีอัตราการเสียชีวิตสูงอันดับหนึ่งของประชากรโลก โดยพบว่าประชากรจำนวน 17.3 ล้านคน[1] ปัจจุบันปัญหาด้าน Metabolic syndrome ที่เกิดจากความไม่สมดุลของสารประเภทไขมันชนิดต่างๆ ที่เกิดในกระบวนการทำงานของร่างกาย ได้แก่ Cholesterol, Triglyceride, HDL- Cholesterol (Highdensity lipoprotein cholesterol) และ LDL- Cholesterol (Low-density lipoprotein cholestero)[2] โดย LDL มีหน้าที่หลักในการขนส่งคอเลสเตอรอลและสารประเภทไขมันอื่นๆ ในร่างกาย การมีระดับ LDL- Cholesterol ในเลือดที่สูง ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงและสัมพันธ์กับการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลันโรคหัวใจและหลอดเลือดนับเป็นสาเหตุการตายอันดับต้นๆ ของคนไทย ลำดับที่ 3 ของประชากรหรือมากกว่า 30,000 คนต่อปี[3] ดังนั้น LDL ในบางครั้งจึงถูกเรียกว่าเป็น ไขมันชนิดเลว[4] ส่วนใหญ่อยู่ในวัยทำงานและผู้สูงอายุ การควบคุมระดับ LDL- cholesterol สามารถช่วยป้องกันการเกิดหลอดเลือดตีบและอุดตันได้[5] กำหนดมาตรฐานระดับของไขมัน LDL-cholesterol ในเลือดโดยสมาคม NCEP[6] mg/dl ถือว่าเป็นระดับที่ดีที่สุด แม้ว่าระดับที่ยอมรับได้ จะอยู่ที่น้อยกว่า 129 mg/dl การตรวจวิเคราะห์ค่า LDL-cholesterol โดยตรงทำได้หลายวิธี เช่น วิธี Electrophoresis, Chromatography[7] แต่วิธีที่กล่าวมา เป็นวิธีที่ยุ่งยากซับซ้อน หลายขั้นตอนและใช้เวลานาน ไม่เหมาะกับการใช้ในงานวิเคราะห์ประจำวัน จึงมีการคิดและนำสูตรคำนวณของ Friederwald มาใช้ในการวัดระดับ LDL-cholesterol กันอย่างแพร่หลาย โดยใช้สูตรในการคำนวณคือ (LDL-cholesterol = Total Cholesterol - HDL-cholesterol - Triglyceride/5) โดยหน่วยทั้งหมดที่ใช้เป็น mg/dl[8] ซึ่งการคำนวณนี้เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และราคาถูก แต่มีข้อกำหนดว่าผู้ที่ได้รับการตรวจจะต้องงดอาหารอย่างน้อย 10 - 12 ชั่วโมง และมีค่าการตรวจ Triglyceride ไม่สูงกว่า 400 mg/dl หรือต่ำกว่า 50 mg/dl ถือว่า LDL ที่ตรวจมีผลที่น่าเชื่อถือ การตรวจสุขภาพประจำปีไม่สามารถเบิกค่าตรวจ LDL-cholesterol ได้ และ การวัดค่า LDL-cholesterol โดยตรงมีราคาค่อนข้างแพงกว่าการวัดสารไขมันตัวอื่นๆ ทางห้องปฏิบัติการ จากความเสี่ยงด้านการเงินการคลัง ประเมินประสิทธิภาพ TPS การบริหารจัดการต้นทุนและค่าใช้จ่าย MC ค่าวัสดุวิทยาศาสตร์การแพทย์เกินค่ากลางกลุ่มโรงพยาบาล F3 ทำให้ไม่ผ่านเกณฑ์ การทบทวนราคาตุ้นทุนวัสดุวิทยาศาสตร์การแพทย์ให้เป็นไปตามราคาอ้างอิงของเขต 7 ทุกรายการ มีสั่งตรวจทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์เกินความจำเป็นไม่สมเหตุผล RLU เช่น การตรวจ Lipid profile, A1C ไม่เกิน 90 วัน สั่งแลปชุด TFT ซึ่งมีราคาแพงทำให้ต้นทุนวัสดุการแพทย์สูงตามไปด้วย จึงมีแนวคิดที่จะนำเอาสูตรการคำนวณ หาระดับสาร LDL-cholesterol ตามสูตร ของ Friedewald formula จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องสอดคล้องกับ จุฑาภรณ์ เอกาทศ[9] ด้วยวิธี Homogeneous enzymatic assayและวิธีวัดด้วยสูตรคำนวณ Friedewald ดังกล่าวข้างต้นมาประยุกต์เข้าในระบบ LIS (Laboratory Information System) เพื่อให้เกิดการคำนวณตามสูตรที่วางไว้ซึ่งจะสามารถช่วยลดค่าใช้จ่ายในส่วนต้นทุนของการทดสอบที่ต้องมีการวัดค่า LDL -cholesterol จากการทำปฏิกิริยาโดยตรงได้และยังสอดคล้องกับ กาญจนา กิจบูรณะ[10] ค่า LDL-C ในพลาสมาระหว่างวิธีการตรวจวัดโดยตรงและค่าที่ได้จากการคำนวณจากสูตรของ Friederwald มีความสัมพันธ์กันดีมากที่ระดับ Triglyceride น้อยกว่าหรือเท่ากับ 400 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยวิธีการ การศึกษานี้ ต้องการเปรียบเทียบ ค่า LDL-cholesterol ที่เกิดจากการคำนวณและค่าที่วัดได้โดยตรงจากการวิเคราะห์แต่ละช่วงค่า ด้วยเครื่องอัตโนมัติว่ามีความต่างกันเกินค่ ที่ยอมรับได้หรือไม่โดยใช้ค่า Total Allowable Error ของค่า LDL-cholesterol ซึ่งเท่ากับ 10% หรือ 7.73 mg/dl โดยนำข้อมูลผลการตรวจของผู้ป่วย DM HT ผู้ตรวจสุขภาพประจำปี 2566 ของผู้รับบริการและบุคลากรของโรงพยาบาลทุ่งเขาหลวง มีจำนวนทั้งสิ้น 472 ราย มาวิเคราะห์เปรียบเทียบผล LDL-cholesterol โดย 2 วิธีดังกล่าวข้างต้น และเพื่อใช้

ในการติดตามระดับ LDL-cholesterol ว่าช่วงค่าที่ได้จาก สูตรคำนวณของ Friedewald เปรียบเทียบกับการวัดคำ LDL-cholesterol โดยตรง มีค่าใกล้เคียงกันเป็นที่ยอมรับทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญซึ่งค่า LDL-cholesterol ที่ได้จาก สูตรการคำนวณของ Friedewald formula จะสามารถช่วยลดการทดสอบ และสามารถนำมาใช้ทดแทนการวัดคำ LDL -cholesterol จากการทำปฏิกิริยาโดยตรงได้ เพื่อใช้ในการประเมินความเสี่ยงของโรคหัวใจ หลอดเลือดหัวใจ และไขมันในเลือดสูงต่อไป[11] ซึ่งในปีงบประมาณ พ.ศ.2561-2566 โรงพยาบาลทุ่งเขาหลวงมีอัตราการตรวจ LDL- cholesterol เพิ่มขึ้นทุกปีเท่ากับ 2054, 2157, 2593, 2905, 3110, 3310 ตามลำดับ การตรวจซ้ำ Lipid profile ไม่เกิน 90 วัน ปี 2564-2566 มีจำนวน 73,52,114 ครั้ง เป็นจำนวนเงิน 10,474.80, 7,461.80 และ 16,357.86 บาทตามลำดับ

ตารางที่ 1 เกณฑ์ระดับไขมันในกระแสเลือดที่กำหนดโดย NCEP (National Cholesterol Education Program)

ชนิดไขมัน	ระดับที่ยอมรับได้ mg/dl	ระดับกำกึ่ง mg/dl	ระดับเสี่ยงสูง mg/dl	ระดับเสี่ยงสูงมาก mg/dl	
cholesterol	100	100-200	200-300	300-400	>400
LDL-C	130	130-159	160	200	
HDL-C	60		< 35		
Triglyceride	150	150-199	200-300	300-400	>400

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาระดับ LDL-cholesterol ค่าที่ได้จากสูตรคำนวณของ Friedewald เปรียบเทียบกับการวัดค่า LDL-cholesterol โดยตรงจากเครื่องตรวจอัตโนมัติ

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยกึ่งทดลอง (Quasi – Experimental Research) เพื่อใช้ในการหาค่าระดับค่า LDL- cholesterol ของห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลทุ่งเขาหลวง จังหวัดร้อยเอ็ด ทำการเก็บข้อมูลระหว่าง 1 กรกฎาคม 2566 ถึง 30 กันยายน 2566

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากร ที่ใช้ศึกษาครั้งนี้ คือ ผู้มารับบริการที่ตรวจ Lipid profile คลินิกผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลทุ่งเขาหลวง จำนวน 1,743 คน

กลุ่มตัวอย่าง ผู้มารับบริการที่ตรวจ Lipid profile คลินิกผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลทุ่งเขาหลวง จำนวน 472 คน

เกณฑ์คัดเข้า

1. ผู้มารับบริการที่มีอายุมากกว่า 35 ปี ผู้ป่วยโรคเบาหวาน ความดันหิตสูง มาตรวจสุขภาพประจำปีที่คลินิกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลทุ่งเขาหลวง
2. ผู้ป่วยมีความยินยอมเข้าร่วมการวิจัย

เกณฑ์คัดออก

1. ผู้ป่วยโรคเบาหวานมาตรวจเลือดประจำปีที่คลินิกผู้ป่วยนอก ที่มีโรคอื่นร้ายแรงแทรกซ้อนระหว่างทำการวิจัย
2. ผู้ป่วยที่ไม่สามารถเจาะเลือดและเก็บสิ่งส่งตรวจได้

ขนาดตัวอย่าง กำหนดค่ากำลังทดสอบ (Power analysis) ได้จากการคำนวนค่า Effect size เท่ากับ 0.15 (ขนาดกลาง) อำนาจการทดสอบ (Power analysis-1- β) เท่ากับ 0.95 กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติ (Level of significant- α) เท่ากับ 0.05 นำมาเข้า G*program ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างกลุ่มละ 472 คน

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. ระบบสารเทศทางห้องปฏิบัติการ (LIS)
2. เครื่องตรวจอัตโนมัติ Sysmex BX4000
3. โปรแกรม HOSXP
4. สูตรคำนวณของ Friedewald
5. G*program

เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูล

1. แบบบันทึกผลการตรวจ ไม่มีการระบุชื่อ นามสกุล และ HN ไม่สามรถตรวจสอบกลับไปยังบุคคลนั้นได้
2. บันทึกผลใน Excel
3. แบบบันทึกโปรแกรม SPSS

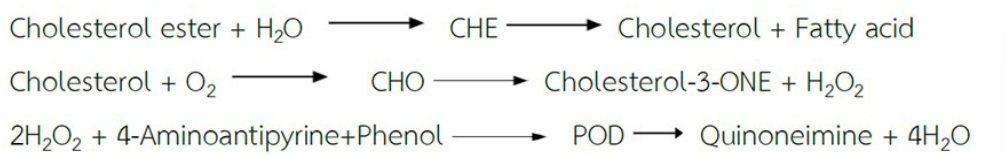
ขั้นตอนการดำเนินการ

2.1 ผู้วิจัยจัดเก็บตัวอย่างเลือดที่แพทย์สั่งตรวจผู้ป่วยเบาหวาน ความดันโลหิตสูง ผู้มารับบริการตรวจสุขภาพ สำหรับตรวจระดับไขมันในเลือดจากผู้ป่วยรายเดียวกันจำนวน 472 ราย โดยทุกคนงดอาหารก่อนทำการเก็บตัวอย่างเลือดอย่างน้อย 8-12 ชั่วโมง ตัวอย่างเลือดเจาะจากเส้นเลือดดำใส่หลอดเลือดที่มีสารกันเลือดแข็ง Lithium Heparin

2.2 นำตัวอย่างเลือดเจาะจากเส้นเลือดดำ 2-3 มิลลิลิตรใส่หลอด Lithium Heparin ไปปั่นแยกพลาสมาด้วยเครื่อง Centrifuge (NUVE NF 200) ที่ความเร็วรอบ 3500 rpm /นาที เป็นเวลา 5 นาที

2.3 นำหลอดเลือดแยกพลาสมาแล้วมาตรวจหาปริมาณ Cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol และ LDL-cholesterol ซึ่งจะทำการตรวจวิเคราะห์หาระดับไขมันทุกวัน ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ SYSMEX BX4000 โดยใช้หลักการ Enzymatic Colorimetric Assay with Endpoint Method ในการตรวจตามมาตรฐานของเครื่องตรวจอัตโนมัติควรมีการทดสอบขั้นต่ำ 380 การทดสอบต่อชั่วโมงระดับ Cholesterol การตรวจวิเคราะห์ได้ตั้งแต่ 2-750 mg/dl

2.4 ทำการตรวจวิเคราะห์ Cholesterol, Triglycerides, HDL-Cholesterol และ LDL-Cholesterol ในสารควบคุมคุณภาพ Internal Quality Control เพื่อทำการควบคุมคุณภาพและความถูกต้องแม่นยำในการตรวจวิเคราะห์ โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติยี่ห้อ Sysmex รุ่น BX4000 น้ำยาตรวจทางเคมีคลินิก Cholesterol Gen.2 เป็นน้ำยาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทาเคมีคลินิกในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ เพื่อใช้สำหรับตรวจหาระดับ Cholesterol ในเลือดน้ำยาตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก ใช้หลักการ Enzymatic Colorimetric Assay โดย Cholesterol จะดูด Enzyme Cholesterol Ester ย่อยเป็น Cholesterol กับ Fatty Acid Cholesterol ที่เกิดขึ้นถูก Enzyme Cholesterol oxidase ออกซิไดซ์ เป็น Cholesterol – 3 – one กับ H_2O_2, H_2O_2 ที่เกิดขึ้นจะช่วยให้ 4-Aminoantipyrine ทำปฏิกิริยากับ Phenol โดยมี Enzyme Peroxidase เป็นตัวเร่งเกิดสารประกอบ Quinonimine ในตัวอย่างตรวจจะทำปฏิกิริยากับในน้ำยา ตามสมการเคมี ดังนี้



น้ำยาตรวจทางเคมีคลินิก Triglyceride เป็นน้ำยาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ เพื่อใช้สำหรับตรวจหาระดับ Triglyceride ในเลือด ความเข้มของสีแดงจาก Quinonimine dye ที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงกับปริมาณของ Cholesterol ในตัวอย่างตรวจน้ำยาตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก ใช้หลักการ Enzymatic Colorimetric Assay ซีรัม Triglyceride จะถูกเอ็นไซม์ Lipoprotein Lipase ย่อยสลายได้

กรดไขมันอิสระ และ กลีเซอรอล ซึ่งกลีเซอรอลที่เกิดขึ้นจะถูกรีดิวซ์ด้วย ATP โดยมีเอ็นไซม์ Glycerol kinase (GK) อยู่ด้วยสาร Glyceride – 3 – phosphate และ ADP ซึ่ง Glyceride – 3 – phosphate จะถูกออกซิไดซ์เป็น Dihydroxyacetone phosphate กับ H_2 O_2 โดยเอ็นไซม์ Glyceride – 3 – phosphate – oxidase (GPG) ซึ่ง H_2 ที่เกิดจะช่วยให้ 4-Aminoantipyrine ทำปฏิกิริยากับ Aminu antipyrine โดยมีเอ็นไซม์ Peroxidase (POD) เป็นตัวเร่งเกิดสารประกอบ Quinonimine น้ำยาตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกใช้หลักการ Enzymatic Colorimetric Assay โดยในตัวอย่างตรวจจะทำปฏิกิริยากับในน้ำยา ตามสมการเคมี ดังนี้

Triglycerides $\xrightarrow{LDL}$ glycerol + fatty acids

Glycerol + ATP $\xrightarrow{GK}$ glycerol –3-phosphate + ADP

Glycerol-3-phosphate + O_2 $\xrightarrow{GPO}$ dihydroxyacetone Phosphate + H_2O_2

H_2O_2 + 4- amino phenazone + $\xrightarrow{POD}$ quinonimine dye + HCL + $4H_2O$

น้ำยาตรวจทางเคมีคลินิก HDL-C 2nd generation เป็นน้ำยาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ เพื่อใช้สำหรับตรวจหาระดับ HDL-Cholesterol ในเลือด

หลักการ

Anti-human β - lipoprotein antibodies

LDL, VLDL, Chylomicrons $\longrightarrow$ Ag-Ab complex + HDL CHE & CHO

HDL – cholesterol + H_2O + O_2 $\longrightarrow$ Cholesterol – 3 – one + fatty acid + H_2 O_2 POD

H_2O_2 + F + DAOS + 4 – Aminu antipyrine $\longrightarrow$ Blue complex + H_2O

ความเข้มของสีฟ้าจาก Blue quinonimine dye ที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงกับปริมาณของ HDL-Cholesterol ในตัวอย่างตรวจน้ำยาตรวจทางเคมีคลินิก LDL-Cholesterol Direct gen2 เป็นน้ำยาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ เพื่อใช้สำหรับตรวจหาระดับ LDL-Cholesterol Direct ในเลือดหลักการวิเคราะห์อาศัยหลักการ Enzymatic colorimetric measurement ตามสมการ ดังนี้

1) LDL+protecting reagent $\longrightarrow$ Protected LDL CHE & CHO

HDL,VLDL,Chylomicrons $\longrightarrow$ Cholestenone + H_2O_2

H_2O_2 $\longrightarrow$ Catalase H_2O

2) Protected LDL + deprotecting reagent $\longrightarrow$ LDL

LDL-C $\xrightarrow{CHE\ \&\ CHO}$ Cholestenone + H_2O_2

H_2O_2 + 4-Aminoantipyrine + H-DAOS $\xrightarrow{POD}$ Color

2. คำนวณหาค่า LDL- Cholesterol ของผู้ป่วยจากสูตรของ Friedewald, et al.[8] คือ

LDL-Cholesterol (mg/dl) = Total Cholesterol (mg/dl) - HDL-Cholesterol (mg/dl) - Triglyceride/5) (mg/dl)

นำสูตรคำนวณใส่ในระบบ LIS ระบบจะคำนวนค่า LDL-Cholesterol และส่งผลไปยังระบบ HOSXP

การเก็บรวบรวมข้อมูล

เก็บข้อมูลจากบันทึก/ทะเบียนลงผลการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกผู้ป่วยโรคเรื้อรัง ของกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์โรงพยาบาลทุ่งเขาหลวงโดยเลือกเอาผลการตรวจไขมันทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ Total cholesterol, Triglycerides, HDC-Cholesterol และ LDL-Cholesterol แล้วบันทึกผลลงในตารางเก็บข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้

วิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าเฉลี่ยแตกต่าง ค่าเฉลี่ยเลขคณิต ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมประสิทธิ์ความผันแปร ด้วยโปรแกรม Microsoft excel 2007 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ วิเคราะห์การกระจายตัวของข้อมูล Independent t-test โดยใช้โปรแกรม SPSS

การพิทักษ์สิทธิ์และจริยธรรมการวิจัย

โครงร่างวิจัยผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมวิจัยในมนุษย์สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดร้อยเอ็ด ลงวันที่ 22 ธันวาคม พ.ศ. 2565 หมายเลขใบรับรอง COE 1732565 ผู้วิจัยมาทำการพิทักษ์สิทธิ์กลุ่มตัวอย่างโดยจัดทำเอกสารชี้แจงวัตถุประสงค์ของการศึกษาและการรวบรวมข้อมูลให้พิจารณา และเมื่อตกลงเข้าร่วมการศึกษาให้ลงชื่อยินยอมไว้ก่อนการสัมภาษณ์ การตัดสินใจในการให้ความร่วมมือครั้งนี้เป็นสิทธิของผู้ป่วย การตอบรับหรือปฏิเสธในการตอบแบบสัมภาษณ์ จะไม่มีผลต่อการรักษาพยาบาลที่ผู้ป่วยจะได้รับคำตอบที่ได้จากการตอบแบบสัมภาษณ์จะถือเป็นความลับ และนำมาใช้เฉพาะการศึกษานี้เท่านั้นและกลุ่มตัวอย่างสามารถขอถอนตัวออกจากการศึกษาได้ตามต้องการ

ผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ต้องการหาความสัมพันธ์ของค่า LDL- cholesterol จากการคำนวณและวิธีการวัดโดยตรง จึงต้องมีการเก็บข้อมูลเพื่อแปรียบเทียบและหาความสัมพันธ์ทางสถิติของทั้งวิธีวัดค่าโดยตรงและการคำนวณจากสูตรและนำมาวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS ในการคำนวณหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และสมการถดถอยเชิงเส้นตรงที่ระดับนัยสำคัญ .05 เพื่อเปรียบเทียบค่า LDL-cholesterol จากวิธีคำนวณและวีการวัดโดยตรง จากการแบ่งกลุ่มข้อมูลการวัดค่า LDL ทั้ง 2 กลุ่ม จำนวน 472 ตัวอย่าง และมีการทดสอบความถูกต้องของพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการคำนวณ โดยมีการควบคุมคุณภาพภายนอก External Quality Control ที่มีการเข้าร่วมโครงการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข และใช้วิธีการวัดความถูกต้อง ด้วยค่า Z-score ≤ 2.0 รวมทั้ง Total cholesterol, HDL- cholesterol, Triglyceride นอกจากนี้ยังมีการคำนวณค่าความแม่นยำ แบบ Within run จากตัวแอย่างเดียวกันหลายครั้งในวันเดียวกัน และแบบ Between run ตัวอย่างเดียวกันในแต่ละวัน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD.) และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) การทดสอบความแม่นยำ Within – run และ Between -run วิเคราะห์การทดสอบ Cholesterol, Triglyceride, HDL-C และ LDL-C มีความถูกต้องแม่นยำดี ดังแสดงในตาราง ที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความเที่ยงตรง (Precision) ชนิด Within- run ของการทดสอบ Cholesterol, Triglyceride, HDL-C และ LDL-C

N=20	Cholesterol (mg/dl)		Triglyceride (mg/dl)		HDL-C (mg/dl)		LDL-C (mg/dl)	
	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
Mean	174	253	95	173	54	84	103	186

ตารางที่ 1 (ต่อ)

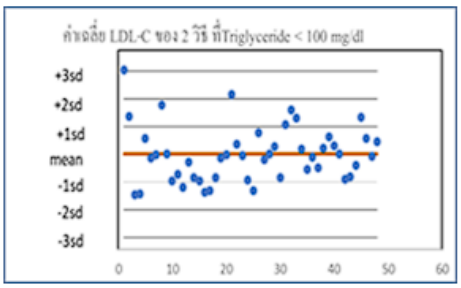
N=20	Cholesterol (mg/dl)		Triglyceride (mg/dl)		HDL-C (mg/dl)		LDL-C (mg/dl)	
	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
SD.	1.10	1.23	0.84	1.02	0.55	0.51	0.64	0.74
%CV	0.63	0.49	0.88	0.59	0.92	0.60	0.62	0.27

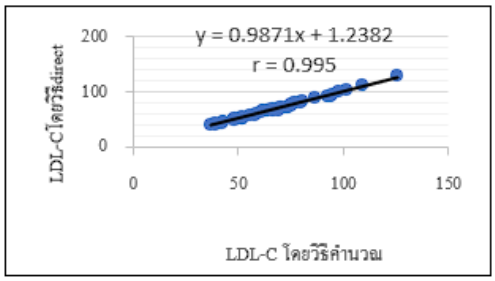
ตารางที่ 2 ผลการตรวจวิเคราะห์ LDL-C โดยวิธีตรวจวัดโดยตรง Direct เปรียบเทียบกับวิธีคำนวณโดยสูตร Friedewald ที่ระดับ Triglyceride ต่างกัน

LDL-CHOL	Mean(SD.)	95% CI	Mean diff.(SE)	p	r
		Lower Upper			
Triglyceride <100 mg/dl, n=45					
LDL-Direct	100.5(23.2)	0.41, 1.25	0.60(0.39)	<.001	0.995
LDL-Cal	99.8(22.5)				
Triglyceride 100-199 mg/dl, n=90					
LDL-Direct	106.1(25.9)	1.12, 3.81	1.74(0.95)	<.001	0.986
LDL-Cal	103.5(24.1)				
Triglyceride 200-299 mg/dl, n=122					
LDL-Direct	117.6(32.4)	3.45, 9.62	6.11(2.57)	.014	0.947
LDL-Cal	113.5(29.7)				
Triglyceride 300-399 mg/dl, n=178					
LDL-Direct	119.8(35.3)	5.687, 15.21	7.50(4.76)	.021	0.914
LDL-Cal	114.4(30.8)				
Triglyceride >400 mg/dl, n= 37					
LDL-Direct	139.2(42.6)	8.61, 20.21	15.80(11.64)	.096	0.665
LDL-Cal	118.3(33.9)				

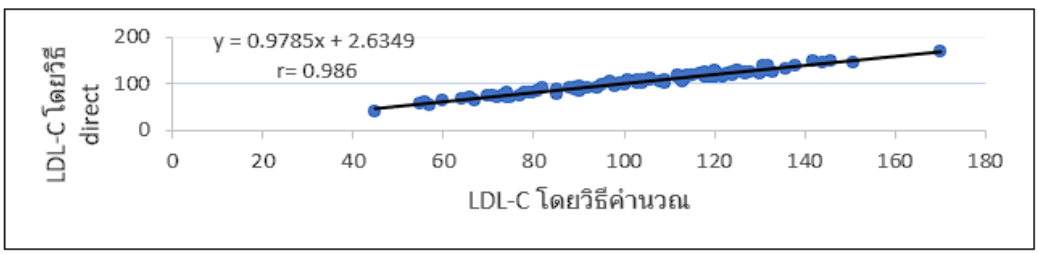
ผลการตรวจวิเคราะห์ LDL-cholesterol ที่ได้จากกลุ่มตัวอย่าง 472 ราย การตรวจโดยวิธี Direct และวิธีการคำนวณโดยสูตร Friedewald โดยเปรียบเทียบที่ระดับ Triglyceride ต่างกันที่ระดับน้อยกว่า 100 mg/dl, 100-199 mg/dl, 200-299 mg/dl, 300-399 mg/dl และน้อยกว่า 400 mg/dl พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ r=0.995, 0.986, 0.947, 0.914 ตามลำดับมีความสัมพันธ์กันดี ทั้งสองวิธีมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<.05$) สารถใช้แทนกันได้ ในขณะ Triglyceride>400 mg/dl พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(p<.05) จะทำให้การตรวจวิเคราะห์ LDL-cholesterol จากวิธีคำนวณโดยสูตร Friedewald มีความคลาดเคลื่อนมาก

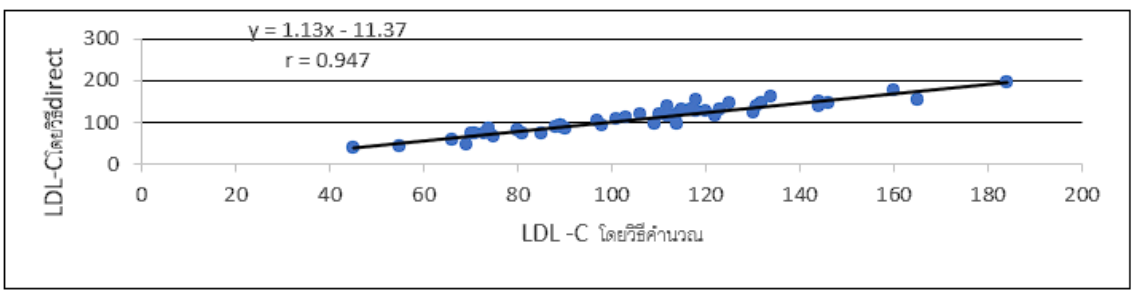




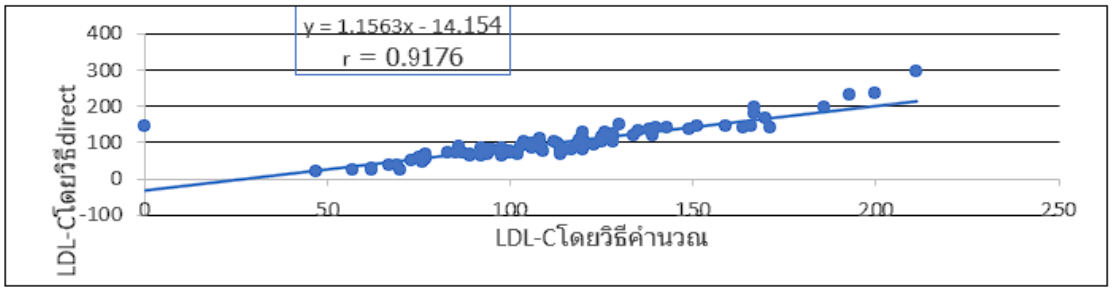
กราฟที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของการตรวจวิเคราะห์ LDL-C โดยวิธี direct เปรียบเทียบกับการคำนวณโดย Friedewald ที่ Triglyceride < 100 mg/dl



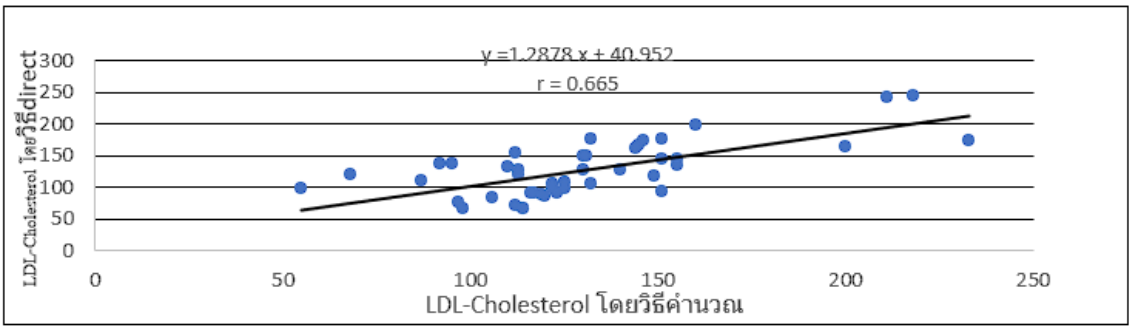
กราฟที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของการตรวจวิเคราะห์ LDL-C โดยวิธี direct เปรียบเทียบกับการคำนวณโดย Friedewald ที่ triglyceride 100 -199 mg/dl



กราฟที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของการตรวจวิเคราะห์ LDL-C โดยวิธี direct เปรียบเทียบกับการคำนวณโดย Friedewald ที่ triglyceride 200 -299 mg/dl



กราฟที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของการตรวจวิเคราะห์ LDL-C โดยวิธี direct เปรียบเทียบกับการคำนวณโดย Friedewald ที่ triglyceride 300 -399 mg/dl



กราฟที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของการตรวจวิเคราะห์ LDL-C โดยวิธี direct เปรียบเทียบกับการคำนวณโดย Friedewald ที่ triglyceride > 400 mg/dl

วิจารณ์

จากการเปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์ระดับ LDL-cholesterol โดยวิธี Direct ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Sysmex รุ่น BX4000 กับการใช้สูตรการคำนวณหาระดับสาร LDL-cholesterol ตามสูตรของ Friedewald formulaมาประยุกต์เข้าในระบบ LIS เพื่อให้เกิดการคำนวณตามสูตรที่วางไว้สามารถใช้การวัดค่า LDL-cholesterol ด้วยสูตรการคำนวณแทนการใช้น้ำยาตรวจวัดโดยตรง ในด้านประสิทธิภาพ สำหรับการติดตามระดับ LDL-cholesterol เพื่อประยุกต์ใช้ในโครงการตรวจสุขภาพประจำปี โรงพยาบาลทุ่งเขาหลวง จากตัวอย่างเลือดของผู้มารับบริการตรวจวิเคราะห์ Cholesterol, Triglyceride และ HDL- cholesterol กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์โรงพยาบาลทุ่งเขาหลวงจำนวน 472 ราย เมื่อจำแนกค่า LDL- cholesterol ตามระดับ Triglyceride เป็นกลุ่มที่มี Triglyceride น้อยกว่า 100 mg/dl, 100-199 mg/dl, 200-299 mg/dl, 300-399 mg/dl ซึ่งมีค่า Triglyceride < 400 mg/dl พบว่าค่าเฉลี่ยของวิธีวัดโดยตรงมีความสัมพันธ์จากวิธีคำนวณอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของแพ็ญศิริ ชูส่งแสง และคณะ[12] แต่ได้ผลแตกต่างจากการศึกษาของ Mendes de Cordava CM, et al.[13] ที่ได้ค่าเฉลี่ยของวิธีคำนวณ สูงกว่าวิธีวัดโดยตรงซึ่งอาจมีสาเหตุจากการใช้น้ำยาตรวจวิเคราะห์แตกต่างกัน และความแตกต่างของกลุ่มตัวอย่าง ได้แก่ รูปร่างลักษณะ น้ำหนัก เพศ อาหารที่รับประทาน ถิ่นที่อยู่ รวมถึงกรรมพันธุ์ ระดับ Triglyceride

มากกว่า 400 mg/dl พบค่าเฉลี่ยจากวิธีวัดโดยตรงสูงกว่าวิธีคำนวณอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<.05) ในกลุ่มศึกษาสอดคล้อง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการคำนวณระดับ LDL-cholesterol จากสูตร Friedewald ได้จากความสัมพันธ์ของระดับ Cholesterol, Triglyceride และ HDL-cholesterol ในภาวะงดอาหารซึ่ง Triglyceride ส่วนใหญ่อยู่ใน LDL- cholesterol และมีสัดส่วนของ Triglyceride กับ Cholesterol คงที่ เมื่อมี Chylomicron จากการงดอาหารไม่เพียงพอ

จากผลการศึกษาพบว่าการตรวจทั้ง 2 วิธีมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p< .05) และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีความสัมพันธ์กันดี (r= 0.995, 0.986, 0.947, 0.914) ระหว่างวิธีการวัดค่า LDL-cholesterol ด้วยสูตรการคำนวณโดยใช้สูตร Friedewald และการวัดโดยตรงเป็นไปในทิศทางเดียวกันอย่างดีมากในช่วงความเข้มข้นTriglyceride น้อยกว่า 400 mg/dl สอดคล้องกับการศึกษา รุ่งอรุณ ดีอินทร์[14] แสดงว่าการตรวจวิเคราะห์ LDL-cholesterol ทั้ง 2 วิธีสามารถใช้แทนกันได้ และประโยชน์จากการศึกษานี้ ช่วยลดรายจ่ายในการจัดซื้อน้ำยาตรวจวัดค่า LDL-cholesterol ของโรงพยาบาลทุ่งเขาหลวงลงได้ ของการตรวจสุขภาพประจำปี คิดเป็นเงินเท่ากับ 111,000 บาท ในขณะที่ค่า Triglyceride > 400 mg/dl พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p .096) แสดงว่าเมื่อค่า Triglyceride > 400 mg/dl จะทำให้การวิเคราะห์ LDL-cholesterol โดยวิธีคำนวณใช้สูตร Friederwald มีความคลาดเคลื่อนมาก จึงจำเป็นต้องใช้วิธีการตรวจวัด LDL-cholesterol โดยตรง

ข้อเสนอแนะ

1. ระดับ Triglyceride > 400 mg/dl ควรตรวจหาค่า LDL-C โดยใช้วิธีวัดโดยตรงจากน้ำยาเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติจะมีความน่าเชื่อถือ ถูกต้องมากกว่า

2. เครื่องตรวจอัตโนมัติต้องมีการทำควบคุมคุณภาพภายในทุกวันเพื่อความถูกต้อง แม่นยำ น่าเชื่อถือได้มาตรฐาน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณนายแพทย์ชาญชัย วันทอง ผู้อำนวยการโรงพยาบาลทุ่งเขาหลวง เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ หัวหน้ากลุ่มการพยาบาล ดร.เสฐียรพงษ์ ศิวินา และทุกท่านที่ช่วยอำนวยความสะดวกและให้คำปรึกษาในการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. World Heart Federation. World Heart Day Campaign 2015 [Internet]. 2014. [cited 2021 May 11]. Available from: http://www.world-heartfederation.org/whatwedo/awareness/world-heart-day- 2015/
2. Charuraks N, Milintagas A. Evaluation of caleulatedlow - density lipoprotein against a direct assay. J Med Assoc Thai. 2005;88(4):274 -79.
3. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. สถานการณ์โรคหลอดเลือดหัวใจ Coronary Artery Disease ปี 2564. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2564.
4. ศุภทัต ชุมนุมวัฒน์. ไขมันในเลือดสูงกับโรคหลอดเลือด. ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์: มหาวิทยาลัยมหิดล [อินเทอร์เน็ต]. 2557 [เข้าถึงเมื่อ 12 มกราคม 2561]. เข้าถึงได้จาก: http:/wwww.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/349.
5. นวพรรณ จารุรักษ์. ไขมันในเลือด:ความสำคัญทางคลินิก และการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ. Chula Med J. 2549;50:443-58.
6. National Cholesterol Educatiopn Program (NCEP). Third report of the expert panel detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). J Am Med Assoc. 2001;285:2486-97.
7. Mamniemi J, Maki J, Maatela J, Jarvisalo J, Impivaara O.Poor applicability of Friedewald formula in theassessment of serum LDL -

cholesterol for clinicalpurposes. Clinical Biochemistry. 1995;28:285-89.

8. Friedewald W P, Levy R I, Fredrickson Ds. Estimation of the concentration of low - density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of thepreparative uluracentrifuge. Clinical chemistry. 1972;18:499-02.
9. จุฑาภรณ์ เอกาทศ. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลการวัดค่า LDL-cholesterol ด้วยวิธี Homogeneous enzymatic assay และวิธีวัดด้วยสูตรคำนวณ Friedewald เพื่อใช้พัฒนาโปรแกรม LIS ในการลดค่าใช้จ่ายของน้ำยาในโครงการตรวจสุขภาพประจำปีของสถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี. วารสารกรมการแพทย์. 2561;43(4):148-53.
10. กาญจนา กิจบูรณะ. ความสัมพันธ์ของระดับไตรกลีเซอไรด์ที่มีผลต่อการคำนวณค่าไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจวัดโดยตรง. วารสารวิชาการแพทย์และสาธารณสุข เขตสุขภาพที่ 3. 2565;19(2):101-12.
11. พงษ์ศักดิ์ จรัสรังสีชล, กนกกาญจน์ สวัสติภาพ, วิสุทธิ์ ศรีจันทราพันธุ์, การศึกษาอัตราเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้ใช้บริการโรงพยาบาลค่ายสรรพสิทธิประสงค์. วารสารเทคนิคการแพทย์. 2550;35:1997-09.
12. เพ็ญศิริ ชูส่งแสง, ปนัดดา มุสิกวัณณ์, วรรณี ชยานันต์นุกูล, นุชรัตน์ วรรณพงศ์, อโณทัย โภคาธิกรณ์. การเปรียบเทียบผลการตรวจวัด LDL-cholesterol ด้วยสูตร Friedewald และวิธี Homogeneous enzymatic assay. สงขลานครินทร์เวชสาร. 2551;26:43-52.
13. Mendes de Cordova CM, Schneider Cr, Juttel ID, Mendes de Codova M. Comparison of LDL-cholesterol direct measurement with the estimate using the Friedewald formula in a sample of 10,664 patients. Arq Bras Cardiol. 2004;83;482-487.
14. รุ่งอรุณ ดีอินทร์. การตรวจกรองหาระดับ cholesterol, triglyceride, low - density lipoprotein (LDL) cholesterol และ high - density lipoprotein (HDL)cholesterol ในข้าราชการตำรวจ ผู้บริหารระดับกลางวัยกลางคน. วารสารเทคนิคการแพทย์. 2548;33:959-68.