



การตรวจวัดโมเลสเตอร์อล : การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการ และค่าปกติ

ทวี ศิริอุดมรัตน์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
ขวัญชัย รัตนเสถียร Ph.D.*

บทคัดย่อ

ในบทความนี้เราได้บรรยายถึงผลที่ได้จากการศึกษาเปรียบเทียบและค่าปกติ จากวิธีการตรวจวัดโมเลสเตอร์อลในพลาสมาสองวิธี การศึกษาโดยใช้วิธีการของ Huang และคณะพบว่าระดับโมเลสเตอร์อลในหมู่คนไทยปกติมีค่าตั้งแต่ 98.4 ถึง 274.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยมีค่าเฉลี่ย 186.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ในขณะที่เดียวกันพบว่าการใช้วิธีของ Jung และคณะจะได้ผลตั้งแต่ 122.6 ถึง 351.8 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยมีค่าเฉลี่ย 237.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร เมื่อเราใช้วิธีการแบบหลังนี้ในการศึกษาเปรียบเทียบผลของสารบิลิรูบินที่มีต่อการเกิดสีของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง เราจะพบว่าสารนี้มีผลค่าที่ได้สูงขึ้นแต่ไม่เป็นอัตราที่แน่นอน จากการศึกษาเปรียบเทียบนั้นจะพบว่าวิธีการของ Jung และคณะจะดีกว่าในด้านของความถูกต้อง, ความละเอียดและความน่าเชื่อถือในการตรวจวัด แต่ก็มีข้อเสียในด้านเวลาที่ใช้ในการทำการทดลอง

บทนำ

การตรวจวัดระดับของโมเลสเตอร์อลนั้นมีประโยชน์มากมายเกี่ยวข้องกับการศึกษาเมตาโบลิซึมของไลปิด (10,26) การตรวจวัดระดับของโมเลสเตอร์อลนั้น มักจะใช้ปฏิกิริยาของโมเลสเตอร์อล ในอะซิติกแอนไฮไดรด์ กับกรดกำมะถัน ซึ่งจะทำให้เกิดสีตั้งแต่สีแดงไปเป็นสีม่วงจนกระทั่งเป็นสีเขียวแก่ของ Lieber-

mann Reaction (26). ซึ่งต่อมาได้มีการประยุกต์โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย เรียกกันว่า Burchard Reaction (7) หลังจากนั้นมีการนำเอาปฏิกิริยาทั้งสองแบบมาใช้งานร่วมกัน เป็นส่วนใหญ่เรียกว่า Liebermann - Burchard Colour Reaction ซึ่งวิธีการที่อาศัยปฏิกิริยานี้มีเช่น วิธีการของ Bloor (5) และที่ประยุกต์จากวิธีดังกล่าว (27) วิธีของ Schoenheimer

* ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

และ Sperry (32) และวิธีการที่ประยุกต์อีกมากมาย (4,6,10,14,33) นอกจากนี้ยังมีวิธีการของ Carr และ Drekter (8) และของ Abell และคณะ (1,2) รวมทั้งวิธีการที่ประยุกต์อีกมากมาย (9,18,36) วิธีการที่ไม่ต้องสกัดเอาโปรตีนออกก่อนทำการตรวจวัดก็มีอยู่มากมาย (13,16,24,28,31,38) แต่วิธีการเหล่านี้ก็มีปัญหาทางด้านที่เกี่ยวข้องกับ Liebermann-Burchard Colour Reagent ซึ่งมีอายุใช้งานที่ค่อนข้างสั้น และมีปัญหาเนื่องมาจากการรบกวน โดยสาร บิลิรูบิน (35) ต่อมามีการแก้ปัญหาเกี่ยวกับอายุการใช้ของ Liebermann - Burchard Colour Reagent ได้ (16) แต่ก็ยังไม่สามารถแก้ปัญหาในการรบกวนจากสารบิลิรูบินได้ โดยวิธีการดังกล่าว จนกระทั่ง Jung และคณะได้เสนอวิธีใหม่สำหรับการตรวจวัดโผลสเตอรอลได้โดยไม่ทำการสกัดเอาบิลิรูบินออกไปพร้อมกับการสกัดอะกอนโปรตีนด้วย (17,29) ในการศึกษาครั้งนี้ เราได้ศึกษาเพื่อเปรียบเทียบวิธีการที่ได้กับการปรับปรุงที่แล้วสำหรับ Liebermann - Burchard Colour Reagent โดย Huang และคณะ (16) กับวิธีการใหม่ที่ไม่มีการรบกวนจากสารบิลิรูบินของ Jung และคณะ (17,29) ในด้านต่าง ๆ รวมทั้งการศึกษาถึงค่าปกติที่ได้จากวิธีการทั้งสองด้วย.

วัสดุและวิธีการ

การเตรียม Ferric Acetate/Uranyl Acetate reagent

ชั่ง $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 500 มิลลิกรัม แล้วนำมาละลายในน้ำกลั่น 40 มิลลิกรัม ใน conical centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิตร

จากนั้นเติมน้ำแอมโมเนีย 28% ลงไป 3 มิลลิตร แล้วผสมให้เข้ากันก็เสียก่อน ที่จะนำเอาไปปั่นให้ทำการตกตะกอน เมื่อบั่นเสร็จแล้วเทเอาน้ำใส ๆ ทั้งไปแล้วเอาตะกอนที่ได้มาล้างด้วยน้ำกลั่นครั้งละ 40 มิลลิตร ประมาณ 4-5 ครั้ง หรือจนกระทั่งตรวจดูว่าไม่มี คลอไรด์ อยู่ใน ส่วนน้ำใส ๆ (ทำการทดสอบได้โดยนำเอาน้ำใส ๆ ออกมาแล้วหยด ซิลเวอร์ไนเตรตลงไป ถ้าไม่มีตะกอนสีขาวเกิดขึ้นแสดงว่าไม่มี คลอไรด์เหลืออยู่) เมื่อล้างเสร็จแล้วนำเอาตะกอนที่ได้ไปละลายผสมกับ $\text{Uranyl acetate dihydrate}$ จำนวน 100 มิลลิกรัม และกรดอะซิติก อย่างเข้มข้นจนได้ปริมาตรสุดท้ายจำนวน 1 ลิตร สารละลายที่เตรียมได้นี้ สามารถที่จะเก็บไว้ใช้ได้ นานมาก

การเตรียม Sulfuric acid reagent.

ชั่ง anhydrous FeSO_4 จำนวน 100 มิลลิกรัมใส่ในขวดแก้วที่จุ 1 ลิตร จากนั้นเติมกรด อะซิติก อย่างเข้มข้นลงไป 100 มิลลิตร และเติมกรดกำมะถันอย่างเข้มข้นลงไปอีก 100 มิลลิตร จากนั้นเขย่าจนตะกอนของเหล็กจะละลายหมดไปแล้ว เติมกรดกำมะถันลงไปอีก 700 มิลลิตร เมื่อเขย่าจนเข้ากันดีแล้วเอาสารละลายนั้นทิ้งทิ้งไว้ให้อุ่นหมักมิลลิตจนเท่ากับ อุณหภูมิห้องจึงเติมกรดกำมะถันลงไปอีก จนครบ ปริมาตร 1 ลิตร เก็บสารละลายที่เตรียมได้นี้ไว้ในขวดสีน้ำตาล สารละลายนี้เก็บไว้ใช้ได้ นานมาก

การเตรียม Liebermann - Burchard colour reagent.

นำเอากรด อะซิติก อย่างเข้มข้นมา 300

มิลลิลิตร อะซิติกแอนไฮไดรด์ 600 มิลลิลิตร และกรดกำมะถันอย่างเข้มข้น 100 มิลลิลิตร ใส่ไว้ในตุ๋นประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเอาขวดที่ใส่กรดอะซิติก อย่างเข้มข้นนั้นไปแช่ไว้ในถาดใส่น้ำแข็งแล้วเติมอะซิติกแอนไฮไดรด์เข้าไปผสมกัน เมื่อใช้แห้งแก้วกวนให้กรดทั้งสองผสมกันดีแล้วค่อยเทด้วยความระมัดระวัง ให้กรดกำมะถันไหลเข้าไปตามข้างๆ ขวดที่มีกรด 2 อย่างแรกอยู่ก่อนแล้ว ต้องคอยระวังอย่าให้กรดกำมะถันไหลลงไปเร็วเกินไป ในขณะที่เราเทกรดกำมะถันลงไปนั้น เราต้องคอยกวนให้กรดทั้งหมดคนผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกันด้วย (การเทกรดกำมะถันเข้าไปเร็วเกินไปนั้น จะทำให้เกิดปฏิกิริยารุนแรง ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้ทำการทดลองได้ นอกจากนั้นการทำให้เกิดปฏิกิริยารุนแรงเกินไป จะทำให้ได้สารละลายที่เป็นสีน้ำตาล เพราะมีการสลายตัวของสารบางส่วน ถ้าหากสารละลายที่เตรียมได้เป็นสีน้ำตาล จะทำให้ได้ผลการทดลองที่ไม่ดีด้วย) หลังจากที่เราผสมกรดทั้งสามเข้าด้วยกันดีแล้วเติม anhydrous sodium sulfate ลงไป 20 กรัมแล้วใช้แห้งแก้วกวนต่อไปจนตะกอนละลายไปหมด (อาจมีเหลือบ้างในบางครั้ง) แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงมาจนถึงอุณหภูมิห้อง นำไปเทใส่ขวดสีน้ำตาลเก็บไว้ในตู้เย็น (ต้องระวังอย่าให้มีน้ำไหลเข้าไปได้) ก่อนที่จะใช้งานเราต้องนำเอาสารละลายนี้ออกมาจากตู้เย็นก่อนเป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้มันอุ่นขึ้นเท่ากับอุณหภูมิห้องเสียก่อน สารละลายที่เราเตรียมได้นี้จะใช้ได้อย่างน้อย 2 เดือนหรือ

จนกว่ามันจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ซึ่งแสดงว่าเสื่อมคุณภาพ แล้วควรเททิ้งไปด้วยความระมัดระวัง

การศึกษาช่วงการเป็นเส้นตรงของ standard curves

เราได้ศึกษาถึงช่วงการเป็นเส้นตรงของ standard curves สำหรับวิธีการทั้งสองโดยใช้สารละลายของโมเลกุลเทอรอลที่มีความเข้มข้น 50 100 150 200 250 300 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ทำตัวอย่างนั้นเราใช้ n-butanol สำหรับวิธีของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ ส่วนวิธีการของ Huang และคณะนั้นเราใช้กรดอะซิติกอย่างเข้มข้นเป็นตัวอย่างละลาย เมื่อเตรียมสารละลายของโมเลกุลเทอรอลได้ทั้งกล่าว แล้วเราก็นำไปทำให้เกิดปฏิกิริยาตามวิธีการของทั้งสองวิธี^(16 และ 17).

การศึกษา recovery ของวิธีการทั้งสอง

เราทำการศึกษาเกี่ยวกับ recovery ของวิธีการทั้งสองโดยการเตรียมตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาดังต่อไปนี้ เอาสารละลายโมเลกุลเทอรอลดังที่เตรียมได้ข้างบนนั้นมาผสมกันกับ serum ด้วยปริมาณที่เท่า ๆ กัน จากนั้นนำเอาทั้ง serum และสารละลายผสมระหว่าง serum กับสารละลายโมเลกุลเทอรอลไปตรวจวัดหาปริมาณโมเลกุลเทอรอลด้วยวิธีการทั้งสองแบบนั้น แล้วนำเอาผลการทดลองที่ได้มาทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ recovery โดยคิดเทียบทั้งในแง่ของสารละลายโมเลกุลเทอรอลและในแง่ของ serum เราอาจคำนวณค่านี้ได้โดยอาศัยสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ recovery} = 100 \times \frac{\text{ปริมาณโมเลกุลเทอรอลที่วัดได้} - \text{ปริมาณสารละลายโมเลกุลเทอรอลที่เติม}}{\text{ปริมาณของโมเลกุลเทอรอลในส่วนที่ใช้เทียบ}}$$

การเลือกเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างที่เราใช้ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งได้เป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้จากคนปกติกับกลุ่มที่ได้จากคนไข้ที่มีค่าของสารบิลิรูบิน ก่อนข้างสูงและสูงมาก ตัวอย่างสำหรับกลุ่มที่หนึ่งนั้นเราเก็บโลหิตจากผู้ที่มาขายโลหิตให้กับทางโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ ส่วนในกลุ่มที่สองนั้นได้จากตัวอย่างโลหิตที่ส่งมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานั้นเราเก็บเอาเฉพาะซีรัมหลังจากปล่อยให้โลหิตแข็งตัวแล้วประมาณ 2 ชั่วโมง ตัวอย่างซีรัมที่เก็บได้ ถ้าหากมีได้ทำการทดลองในวันนั้นเราจะเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง (อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส) จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ครั้งต่อไป ซึ่งจะไม่เกิน 1 สัปดาห์

การควบคุมคุณภาพของผลการทดลอง

เราใช้วิธีการอย่างง่าย ๆ ในการควบคุมคุณภาพของผลการทดลอง โดยการทำการวิเคราะห์ control serum ทุกครั้งที่ทำการทดลอง

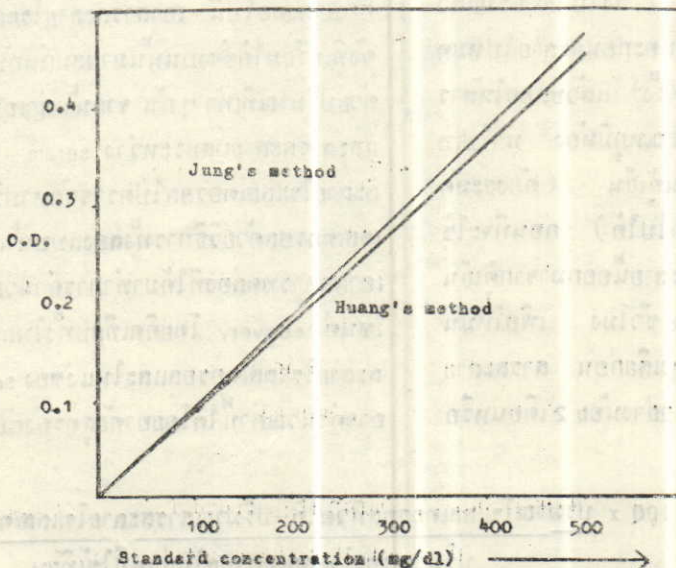
และผลการทดลองทั้งหมดนั้นได้มาจากการทดลองที่มีค่า control serum อยู่ในช่วงที่ใช้งานได้ (เมื่อใช้ค่าความแปรปรวน 10%.)

การบันทึกเกี่ยวกับการศึกษา

ตัวอย่างที่เราเก็บ จะมีการจับบันทึกอายุของเจ้าของตัวอย่างไว้ด้วย เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาเกี่ยวข้องกับระดับของไมเลสเตอรอล ในกลุ่มอายุต่าง ๆ กัน นอกจากนั้นเพศของเจ้าของตัวอย่างก็ได้รับการบันทึกเช่นกัน สำหรับผลการทดลองเกี่ยวกับค่าของบิลิรูบินนั้น เราใช้ผลที่ได้จากห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ซึ่งบริการสำหรับโรงพยาบาลของคณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่โดยตรง.

ผลการทดลอง

ผลการศึกษาเกี่ยวกับ linearity ของ standard curves นั้นแสดงว่าเป็นเส้นตรงตลอดช่วงจนถึงความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1 สำหรับผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์ recovery นั้นแสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2 สำหรับวิธีของ Huang และคณะ กับ



รูปที่ ๑. รูปแสดงว่าทั้งที่เป็นเส้นตรงของวิธีทั้งสองเมื่อศึกษาเกี่ยวกับสารอะลายไมเลสเตอรอล

ตารางที่ 1 Recovery of Liebermann-Burchard Single Colour Reagent Method.

Number	Standard (mg/dl)	Sample (mg/dl)	Detection (mg/dl)	Expection (mg/dl)	% Recovery (Standard)	% Recovery (Unknown)
1	500	109	286	304.5	92.6	66
2	400	160	269	280.0	94.5	86
3	300	158	203	229.0	82.7	67
4	250	150	187	203.0	87.2	79
5	200	149	160	174.5	85.5	80
6	150	161	142	155.5	82.0	83
7	100	157	116	128.5	75.0	84
8	50	182	109	116.0	72.0	92
Average (X)					83.9	79.6
Standard Deviation					7.8	9.0

ตารางที่ 2 Recovery of Jung's method.

Number	Standard (mg/dl)	Sample (mg/dl)	Detection (mg/dl)	Expection (mg/dl)	% Recovery (Standard)	% Recovery (Unknown)
1	500	157	338	328.5	103.8	112
2	400	217	306	308.5	98.8	97
3	300	204	247	252.0	96.7	95
4	250	198	223	224.0	99.2	98
5	200	186	189	193.0	86.0	95
6	150	207	174	178.5	94.0	95
7	100	185	144	142.5	103.0	101
8	50	228	137	139.0	92.0	98
Average (X)					97.9	98.9
Standard Deviation					3.2	5.7

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาเกี่ยวกับระดับบิลิรูบินต่อระดับของโพลีเอสเตอร์ในวิธีของ Huang และคณะ เมื่อใช้วิธีการของ Jung และคณะเป็นวิธีการหลักสำหรับอ้างอิง.

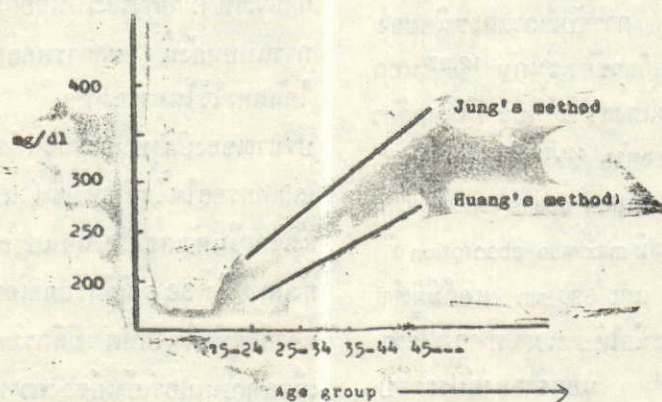
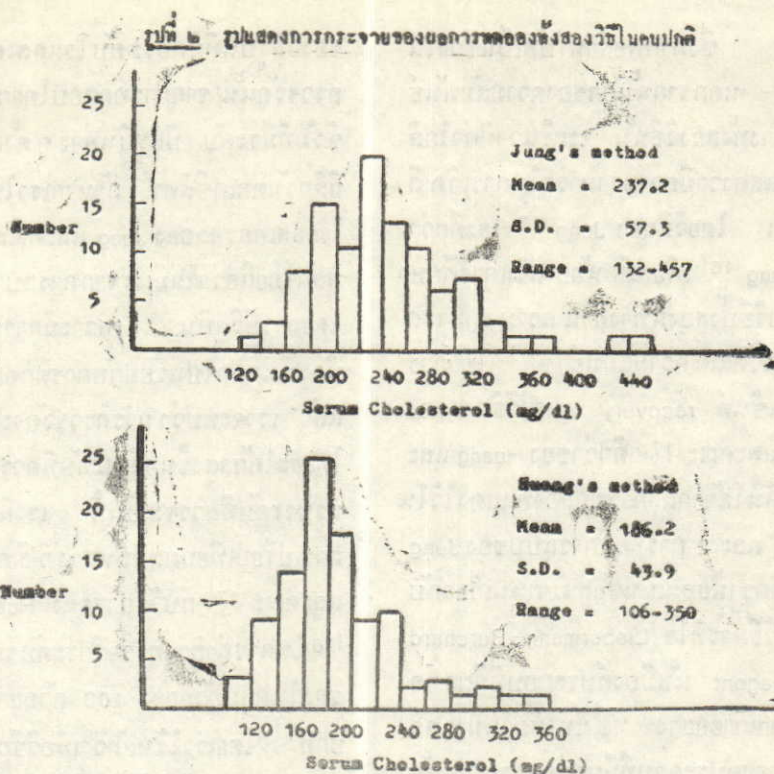
Sample No.	Total Bilirubin (mg/dl)	Cholesterol levels (mg/dl)		Error (mg/dl) per mg/dl of bilirubin	Error %
		Method ¹⁷	Method ¹⁶		
1	1.3	159	175 (125)*	38.5	40.0
2	1.7	255	219 (201)	10.4	99.0
3	2.4	199	190 (156)	14.2	21.8
4	2.8	248	203 (195)	2.9	4.1
5	3.2	294	257 (231)	8.1	11.3
6	3.5	396	309 (311)	—	—
7	5.7	422	361 (332)	5.1	8.7
8	6.6	142	166 (112)	8.2	48.2
9	7.4	194	233 (153)	10.8	52.2
10	8.2	147	150 (116)	4.2	29.3
11	10.6	395	321 (311)	0.9	3.2
12	11.2	363	331 (285)	4.1	16.1
13	13.6	424	366 (333)	2.4	9.9
14	16.2	216	207 (170)	2.3	21.8
15	21.6	153	222 (120)	5.2	85.0
16	25.5	375	364 (295)	2.7	23.3
17	29.4	187	298 (147)	5.1	102.7
Average	10.0	259	257 (211)	7.4	28.6

*ตัวเลขในวงเล็บเป็นค่าของโพลีเอสเตอร์ที่ควรจะได้เมื่อไม่มีการรบกวนจากบิลิรูบินโดยคิดเทียบอัตราส่วนจากผลที่ได้รับจากการศึกษาในคนปกติ

วิธีของ Jung และคณะตามลำดับ ผลการทดลองเกี่ยวกับผลที่เกิดจากสารบิลิรูบินนั้นแสดงไว้ในตารางที่ 3 ส่วนรูปที่ 2 นั้น แสดงให้เห็นถึงการกระจายของผลภาคทดลองจากทั้งสองวิธี รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุ กับ ระดับ ของ โพลีเอสเตอร์ในคนปกติ

บทวิจารณ์

รูปที่ 1 แสดงให้เห็นว่าทั้งวิธีแบบของ Huang¹⁶ และของ Jung¹⁷ นั้นสัณฐานจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายของโพลีเอสเตอร์กับสารละลายที่ทำให้เกิดสีนั้นมีความสัมพันธ์กับ Beer's law ถึงช่วยอย่างน้อยเท่ากับความเข้มข้นของโพลีเอสเตอร์ 590 มิลลิกรัม



รูปที่ ๓ รูปแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับระดับของโคเลสเตอรอลในคนปกติ โดยวิธีทั้งสองที่ใช้ในการศึกษา

ต่อเคชิลิตร ซึ่งมากพอสำหรับที่เป็นช่วงในการใช้งาน นอกจากนั้นค่าของความสัมพันธ์กันระหว่างทั้งสองวิธีนั้น จะเห็นว่ามีค่าใกล้เคียงกันซึ่งแสดงว่ามีความสามารถในการเกิดสีใกล้เคียงกัน โดยวิธีของ Jung⁽¹⁷⁾ จะดีกว่าวิธีของ Huang⁽¹⁶⁾ เพียงเล็กน้อย ส่วนการศึกษาเปรียบเทียบวิธีทั้งสองนี้ทางด้าน ความสามารถในการตรวจวัดและความแม่นยำ โดยการศึกษเปอร์เซ็นต์ recovery พบว่าวิธีการของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ ดีกว่าของ Huang และคณะทั้งจะได้จากผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2 การที่วิธีการแบบของ Jung และคณะ ดีกว่านี้ย่อมเป็นข้อสนับสนุนเกี่ยวกับเหตุผลที่ว่าวิธีการที่ใช้ Liebermann-Burchard Colour Reagent นั้นมีองค์ประกอบที่มีผลต่อการตรวจวัดหลายอย่าง ซึ่งเท่าที่ผ่านมาแล้วนี้จะพบว่าองค์ประกอบที่มีผลต่อการตรวจวัดระดับโพลีเอสเตอร์นั้นมี เช่น ความเข้มข้นของกรดกำมะถัน^(12,27) นอกจากนั้นน้ำก็มีผลต่อการตรวจวัด⁽²⁷⁾ ปริมาณของกรดอะซิติกในอะซิติกแอนไฮไดรต์ ก็นับว่ามีผลต่อการทดสอบด้วย^(12,27) การจับเวลาและชนิดของตัวทำละลายก็มีส่วนเกี่ยวข้องเช่นกัน^(12,27) นอกจากนั้นอุณหภูมิและแสงสว่างก็พบว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการทดลองด้วย^(12,19,21,27) การศึกษาทางด้าน Absorption peaks ของสีที่เกิดขึ้นในวิธีการนี้พบว่า มี maximum absorption ที่ช่วงคลื่นขนาด 430 และ 630 nm แต่ก็ยังมีผู้ทำการทดลองบางคนที่แนะนำให้อ่านผล ที่ความยาวคลื่น 540 nm^(15,20) นอกจากองค์ประกอบต่าง ๆ ดังที่กล่าวแล้วนั้นยังมีสิ่งสำคัญที่มีผลต่อการตรวจวัดระดับของโพลีเอสเตอร์ด้วยนั้นคือสารบิลิรูบินซึ่งมีอยู่ในซีรัม³⁵ สำหรับผล

ของบิลิรูบินที่มีต่อระดับโพลีเอสเตอร์ที่เราตรวจวัดนั้น จากการทดสอบโดยใช้ตัวอย่างซีรัมที่มีระดับ บิลิรูบินต่าง ๆ ตั้งแต่ 1.3-29.4 มิลลิกรัมต่อเคชิลิตร ถ้าหากเราใช้วิธีการตรวจโพลีเอสเตอร์ของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ เป็นวิธีหลักโดยถือว่าไม่มีผลจากการรบกวน โดยสารบิลิรูบิน เพราะมีการตกตะกอนเอาบิลิรูบินออกไปพร้อมกับการตกตะกอนโปรตีนแล้ว เราจะพบว่า การตรวจวัดจะมีข้อผิดพลาดโดยจะได้ผลสูงขึ้นกว่าระดับที่ควรจะเป็น สำหรับระดับที่ควรจะเป็นนี้ เราคิดคำนวณจากการเปรียบเทียบผลระหว่าง วิธีการ ของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ กับวิธีการของ Huang และคณะ⁽¹⁶⁾ ในการทำการตรวจวัดระดับของโพลีเอสเตอร์ในกลุ่มตัวอย่าง 100 ตัวอย่างที่ได้จากคนปกติ โดยเราใช้หลักว่าเมื่อวิธีการของ Jung และคณะตรวจวัดได้ค่าระดับหนึ่งนั้นเราจะได้อีกค่าหนึ่งของตัวอย่างเดียวกัน โดยวิธีของ Huang และคณะ⁽¹⁶⁾ เมื่อเราใช้อัตราส่วนนี้มาเป็นหลักในการคำนวณ ก็จะทำให้เราสามารถคำนวณค่าที่ควรจะเป็นออกมาได้สำหรับวิธีการแบบหลังนี้ ผลการทดลองเกี่ยวกับส่วนนี้ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 ซึ่งเราจะเห็นว่าปริมาณของบิลิรูบินจะมีส่วนทำให้ระดับของโพลีเอสเตอร์ในโลหิตเพิ่มขึ้น และอัตราการเพิ่มนั้นไม่เป็นตัวเลขที่แน่นอนประการใดคือจะมีค่าตั้งแต่ 1 ถึง 38.5 มิลลิกรัมต่อเคชิลิตรต่อปริมาณของบิลิรูบินในโลหิต 1 มิลลิกรัมต่อเคชิลิตร และเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของความผิดพลาด จะได้ค่าตั้งแต่ 3 ถึง 103% ดังนั้นจึงน่าจะเป็นที่เชื่อกันได้ว่า การใช้ค่าใดค่าหนึ่งมาเป็น 'factor' ที่จะใช้ในการแก้ไขข้อผิดพลาดประการนี้ย่อมจะ

ไม่มีใครถูกต้องนัก เนื่องจากเหตุผลดังได้แสดงจากผลการทดลอง (ตารางที่ 3) นี้เราจะเห็นว่าแม้ว่าเราสามารถคำนวณค่าที่แตกต่างออกมาเป็นค่าเฉลี่ยได้ก็ไม่มีประโยชน์นัก เพราะว่าความแปรปรวนของค่าที่ได้ เมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยนั้นมีมาก

การศึกษาระดับของโพลีเอสเตอร์ในคนปกติกลุ่มเดียวกันด้วยวิธีการทั้งสองแบบทั้งที่ได้กล่าวมาแล้วนี้ พบว่าได้ผลการทดลองที่มีความแตกต่างกันดังแสดงไว้ในรูปที่ 2 โดยเราจะพบว่าผลการตรวจวัดด้วยวิธีการของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ นั้นให้ผลที่สูงกว่าที่ได้จากวิธีการของ Huang และคณะ⁽¹⁶⁾ การที่ได้ผลการทดลองเช่นนี้ ทำให้เป็นการยากต่อการอธิบายในด้านผลกระทบกระเทือนจากระดับของบิลิรูบิน แต่ก็อาจเป็นไปได้ว่าผลการทดลองที่ได้จากวิธีการทั้งสองนี้ มีความแตกต่างกันเนื่องมาจากตัวทำลายที่ใช้ไม่เหมือนกัน สำหรับเรื่องราวที่เกี่ยวข้องกับผลของตัวทำลายแบบต่าง ๆ ในการตรวจวัดระดับโพลีเอสเตอร์นั้นเรากำลังทำการศึกษายู่ อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองที่ได้ทำให้เห็นว่าเรามีความจำเป็นต้องทำการศึกษาเพื่อตรวจวัดค่าระดับปกติสำหรับแต่ละวิธีที่เราจะนำมาใช้เป็นประจำเสียก่อน ในการทดลองครั้งนั้นเราจะพบว่าค่าปกติสำหรับวิธีการของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ นั้นมีค่าตั้งแต่ 122.6 ถึง 351.8 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และสำหรับของวิธีของ Huang และคณะมีค่าตั้งแต่ 98.4 ถึง 224.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

การศึกษาเกี่ยวกับระดับโพลีเอสเตอร์ในเพศชายและหญิงนั้น เมื่อเราทำการวิเคราะห์ผลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ แล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งผลการทดลองนั้นเป็นการสอดคล้องกับผลงานซึ่งมีผู้รายงานไว้ก่อนแล้ว

⁽³⁴⁾ ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างระดับโพลีเอสเตอร์กับอายุนั้น เราได้ผลการทดลองสำหรับวิธีการทั้งสองดังแสดงไว้อย่างชัดเจน ในรูปที่ 3 กล่าวคือระดับของโพลีเอสเตอร์ในโลหิตนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นในหมู่ของกลุ่มตัวอย่างที่มีช่วงอายุเพิ่มขึ้น ซึ่งปรากฏการณ์เช่นนี้ก็นับว่าสอดคล้องกับผลงานที่มีผู้รายงานไว้แล้วเช่นกัน⁽³⁰⁾

กล่าวในคำข้อสรุปเกี่ยวกับวิธีการที่ใช้ในการตรวจวัดระดับของโพลีเอสเตอร์นั้น เราอาจจำเป็นต้องทราบข้อมูลบางอย่างเพิ่มเติม เช่นในปฏิกิริยาของ Liebermann-Burchard Colour Reagent นั้น ถ้าหากใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำลายพบว่าจะมีสีในการทำปฏิกิริยากับโพลีเอสเตอร์ ได้ดีกว่าเมื่อทำปฏิกิริยากับโพลีเอสเตอร์ประมาณ 10-30% ดังนั้นถ้าไม่มีขั้นตอนในการทำ saponification ด้วยจะทำให้วิธีการนั้น ๆ ให้ค่า Total cholesterol สูงกว่าที่ควรจะเป็น^(8,11,12,32) แต่ถ้าหากการทำปฏิกิริยาในกรดอะซิติก จะได้ผลการทดลองไม่แตกต่างกันทั้งในโพลีเอสเตอร์ และโพลีเอสเตอร์เอสเทอร์ 8 วิธีการที่ใช้ตรวจวัดโพลีเอสเตอร์ และใช้เป็นวิธีการอ้างอิงในปัจจุบันก็มีเช่นวิธีของ Abell และคณะ^(1,2) และวิธีที่คล้ายกันกับของ Schoenheimer และ Sperry^(3,23,32,37) โดยที่วิธีการในกลุ่มหลังนี้เป็นที่ยอมรับกันในด้านการศึกษาโพลีเอสเตอร์เอสเทอร์⁽³⁵⁾ ส่วนวิธีการที่นิยมใช้กันในห้องปฏิบัติการทั่วไปนั้นวิธีของ Huang และคณะนับว่าเป็นที่นิยม เพราะว่าวิธีการไม่ยุ่งยากและรวดเร็ว แต่มีปัญหาด้านความแม่นยำที่จะใช้ในการตรวจวัดโดยเฉพาะอะซิติกแอนไฮไดรด์ (ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ยาเสพติดให้โทษบางชนิด) นั้นการกำจัดข้อทำให้ก่อนเข้าทำการใช้วิธีการของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ นี้จะช่วย

คัดปัญหาคงกล่าวให้หมดไปได้ นอกจากนั้นวิธีการนี้ ยังมีความสามารถในการตรวจวัดที่ดีกว่า มีข้อเสียอยู่เพียงเวลาที่ใช้ในการทำการตรวจวัดซึ่งนานกว่า

Abstract

Many methods of cholesterol determination are available but most of them were subjected to interference by bilirubin in the colour reaction. Jung and his coworkers^{17,29} report a method that is free from bilirubin interference. In our studies we compared the methods of Liebermann-Burchard single colour reagent that is modified by Huang et al¹⁶ and the method described by Jung et al¹⁷. The studies indicated that by using Huang et al¹⁶ method, the normal range of a hundred healthy Thai subjects is 98.4 to 274.0 mg/ml with a mean value of 186.2 mg/dl while the normal range of the same value of 237.2 mg/dl. When the later method was used as a reference method for the studies of bilirubin effect on the cholesterol levels, it is clearly seen that the values measured by Huang method are elevated in relation to bilirubin concentration. Jung et al method is better in accuracy, precision and reliability but it has disadvantage on the basis of testing time.

เอกสารอ้างอิง

1. Abell, L.L., Levy, B.B., Brodie, B.B., Kendall, F.E.: J. biol. Chem. 195: 357-66, 1952.
2. Abell, L.L., Levy, B.B., Brodie, B.B., Kendall, F.E.: Standard methods of clinical chemistry, edited by Seligson, D., New York, Academic Press, Vol. 2, p 26, 1958.
3. Best, M., Van Loon, E.J., Wathem, J., Seger, A.J.: Am. J. Med. 16 p 601, 1954.
4. Biliimorin, J.D., James, D.C.O.: Clin. Chim. Acta. 2, 644-51, 1960.
5. Bloor, W.R.: J. biol. Chem. 24: 227, 1916.
6. Brown, W.D.: Australian J. Exp. Biol. Med. Sci. 39, 223-33, 1961.
7. Burchard, H.: Chem. Zentr. 61: 25, 1890.
8. Carr, J.J., Drekler, I.J.: Clin. Chem. 2, 353-68, 1956.
9. Conrad, S.M.: Can. J. Med. Tech. 27: 205-20, 1965.
10. Cook, R.P.: Cholesterol. New York, Academic Press, 1958.
11. De Traverse, P.M., Depraire, R., Thirox, G.: Ann. Biol. Clin. (Paris) 17 p. 384, 1959.
12. De Traverse, P.M., Lavergne, G.H., Depraire, R.: Ann. Biol. Clin. (Paris) 14 p. 236, 1956.
13. Ferro, P.V., Ham, A.B.: Am. J. Clin. Pathol. 33: 545-49, 1960.

14. Galloway, L.S., Nielson, P.W., Ethelwyn, B., Lantz, E.M.: *Clin. Chem.* 3: 226-232, 1957.
15. Holmgard, A.: *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 9: 99, 1957.
16. Huang, T.C., Chen, C.P., Wefler, V., Rafferty, A.: *Anal. Chem.* 33: 1405-07, 1961.
17. Jung, D.H., Biggs, H.G., Moorehead, W.R.: *Clin. Chem.* 21: 1526-30, 1975.
18. Jurand, J., Albert-Recht, F.: *Clin. Chim. Acta.* 7: 522-28, 1962.
19. Kabara, J.J.: *J. Lab. Clin. Med.* 44: 246-49, 1954.
20. Kanter, S.L., Goodman, J.R., Yarborough, J.: *J. Lab. Clin. Med.* 40: 303-12, 1952.
21. Kenny, A.P.: *Biochem. J.* 52: 611-19, 1952.
22. Kerr, L.M.H., Bauld, W.S.: *Biochem. J.* 55: 872-75, 1953.
23. Keys, A., Anderson, J.T., Fidanza, F., Keys, M.S., Swahn, B.: *Clin. Chem.* 1: 34-52, 1955.
24. Kim, E., Goldberg, M.: *Clin. Chem.* 15: 1171-79, 1969.
25. Kritchevsky, D.: *Cholesterol*. New York, Wiley, 1958.
26. Liebermann, C.: *Ber. deut. Chem. Ges.* 18: 1803, 1885.
27. Martenson, E.H.: *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 15 (suppl. 69): 164-80, 1963.
28. Ness, A.T., Pastewka, J.V., Peacock, A.C.: *Clin. Chim. Acta.* 10, 229-37, 1964.
29. Parekh, A.C., Jung, D.H.: *Anal. Chem.* 42: 1423-27, 1970.
30. Reed, A.H., Cannon, D.C., Winkelman, J.W., Bhasin, Y.P., Henry, R.J., Pileggi, V.J.: *Clin. Chem.* 18: 57-66, 1972.
31. Runde, I.: *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 18: 461-6, 1966.
32. Schoenheimer, R., Sperry, W.M.: *J. biol. Chem.* 106: 745, 1934.
33. Sperry, W.M., Webb, M.: *J. biol. Chem.* 187: 97, 1950.
34. Spigai, C., Caracristi, R., Lombardi, V.: *G. Gerontol.* 12: 1300-11, 1964.
35. Tonks, D.B.: *Clin. Biochem.* 1: 12-20, 1967.
36. Van Der Honing, J., Saarloos, C.C., Stip, J.: *Clin. Chem.* 6: 960-6, 1968.
37. Wright, L.A., Tonks, D.B., Allen, R.H.: *Clin. Chem.* 6: 243-53, 1960.
38. Zurkowski, P.: *Clin. Chem.* 10: 451-53, 1964.