นิพนธ์ต้นฉบับ

การวัดระดับซีรั่ม chylomicrons และ very low density lipoproteins โดยวิธี Nephelometry

นารา ผริตโภคี* ชมพูนุช อ่องจริต**
สมพงษ์ จินายน* สุดา ธีรัทธานนท์*

Paritpokee N, Ongcharit C, Chinayon S, Teerattanont S. The estimation of serum chylomicrons and very low density lipoproteins by nephelometry. Chula Med J 1982 Jul; 26 (4) : 241-252

Nephelometry and ultrafiltration technique were used for quantitating serum lipoprotein fractions. The nephelometric measurement depends on the light scattering properties of the lipid particles. By using the quality assurance program, coefficient of variation of intra-assay precision for chylomicrons and very low density lipoproteins (VLDL) measurement were 5.9 and 7.0 percents, respectively. The validity of the test was evaluated by comparing the level of serum chylomicrons plus VLDL with the result obtained by the direct determination of triglycerides in the identical samples. The percent recovery was 111. The correlation coefficient (r) between serum chylomicrons plus VLDL and triglycerides was 0.80, $p<0.001$. As well the light scattering intensity (LSI) of sera and theirs triglyce rides level were highly correlated ($r = 0.80$, $p < 0.001$.) Moreover, the mean values of serum chylomicrons and VLDL of 93 healthy subjects were 5.46 ± 2.22 and 93.95 ± 42.41 mg/100 ml, respectively. The quantities of the two lipoproteins were higher in aged persons (31-60 years) than those of the young ones (20-30 years). Therefore, the nephelometry is simple and rapid technic that is suitable for lipid screening test in health-service laboratory and community survey.

* ภาควิชาเวชศาสตร์ชันสูตร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
** ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาวะที่มีระดับสารไขมันในเลือดสูง (hyperlipoproteinaemia) เป็นสาเหตุเสี่ยงอันตรายประการหนึ่งที่อาจทำให้ผนังหลอดโลหิตแดงแข็ง (atherosclerosis) ซึ่งเป็นสาเหตุของ coronary artery disease [1,2] การเพิ่มระดับสารไขมันในเลือดอาจเป็นภาวะทางพันธุกรรมเช่น familial hyperlipoproteinaemia[3] หรือเป็นผลสืบเนื่องจากโรคอื่น เช่น เบาหวาน[4] และการมีน้ำหนักตัวเพิ่ม[5] การวินิจฉัยภาวะ hyperlipoproteinaemia ทำได้โดยการตรวจขั้นพื้นฐานในห้องปฏิบัติการ เช่น การวัดระดับซีรั่ม cholesterol และ triglycerides[3] แต่การแยกชนิดจำเป็นต้องใช้เทคนิคพิเศษ ได้แก่การทำ lipoprotein electrophoresis[3,6] และ ultracentrifugation[3,7,8,9] การตรวจทั้ง 2 วิธีต้องใช้อุปกรณ์ราคาสูง และมีขั้นตอนการตรวจซับซ้อน นอกจากนั้นผู้วิเคราะห์ต้องมีความชำนาญโดยเฉพาะ จึงเป็นปัญหาสำหรับห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลที่ให้บริการด้านการรักษาผู้ป่วย เพราะมีงบประมาณจำกัด มีงานประจำมาก และต้องปฏิบัติงานอย่างรวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามการแยกชนิดของภาวะ hyperlipidaemia ยังจำเป็นสำหรับการรักษา พยากรณ์โรค และติดตามผู้ป่วย[3] การใช้เครื่อง micronephelometer[3,10,11,12,13] เพื่อวัดระดับซีรั่ม chylomicrons และ very low density lipoproteins (VLDL) อาจจะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้บ้าง ดังที่ได้เคยมีผู้ศึกษาแล้วในต่างประเทศ[10,11] และเมื่อใช้ร่วมกับการตกตะกอนซีรั่ม lipoproteins โดยการใช้สารพวก polyanions[14] ก็ทำให้การศึกษาด้าน lipid profile สมบูรณ์ขึ้น[15] วิธีการ nephelometry ทำได้รวดเร็ว จึงเหมาะสำหรับเป็นการทดสอบขั้นต้นเพื่อสำรวจหาอุบัติการของภาวะ hyperlipoproteinaemia ในชุมชนซึ่งมีประชากรจำนวนมากด้วย[11,12]

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อการประเมินผลการใช้เครื่อง micronephelometer ร่วมกับวิธีการ ultrafiltration สำหรับวัดระดับซีรั่ม chylomicrons และ VLDL ในห้องปฏิบัติการภาควิชาเวชศาสตร์ชันสูตร เครื่องมือนี้ใช้หลักของ nephelometry คือวัดความเข้มข้นของแสงที่กระจายออกจากโมเลกุล (light scattering intensity หรือ LSI) จึงได้ตรวจสอบถึงความแม่นยำ (precision) และความถูกต้องของเทคนิคโดยใช้หลักการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการ (quality control) และยังใช้เทคนิคนี้ตรวจระดับ chylomicrons และ VLDL ในซีรั่มของกลุ่มคนไทยสุขภาพปกติด้วย

วัสดุและวิธีการ

1. เครื่องมือ micronephelometer Mark IV ดังแสดงในรูปที่ 1 (ของบริษัท

Scientific Furnishing Ltd., Poynton, Cheshire, England) ซึ่งได้สร้างขึ้นตามคำแนะนำของ Thorp และคณะ[12] เพื่อใช้วัดความเข้มข้นของสาร โดยใช้สมบัติทางฟิสิคส์ คือ การกระจายแสง (LSI) ของโมเลกุล และ LSI ขึ้นอยู่กับจำนวนและขนาด (เส้นผ่าศูนย์กลาง) ของสารที่กระจายตัวอยู่ในน้ำยา นอกจากนั้นยังเกี่ยวข้องกับความแตกต่างระหว่างค่าดัชนีหักเหของสารและน้ำยาที่สารนั้นกระจายตัวด้วย หลักการของเครื่องนี้ คือ ให้แสงสีแดงที่ความยาวคลื่นแสง 650 nm ผ่านหลอดทดลองที่มีวัตถุตัวอย่างบรรจุอยู่ในแนวตรง และ LSI ซึ่งกระจายออกจากโมเลกุลนั้นวัดโดยเซลล์วัดแสง (cadmium sulphide photo-conductive cells) ของเครื่องมือ[12] และเปลี่ยนค่า LSI ที่อ่านได้เป็นความเข้มข้นของสารโดยอ่านจากมาตรที่สร้างขึ้นเฉพาะสำหรับใช้กับเครื่องมือนี้

2. ซีรั่มตัวอย่าง

2.1 เจาะเลือดจากหลอดโลหิตดำของคนที่มีสุขภาพปกติภายหลังงดอาหาร 12 ชม. ปั่นแยกซีรั่มเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C และวัด LSI ภายใน 24 ชั่วโมง ซีรั่มส่วนที่จะวัดระดับ triglycerides เก็บไว้ที่อุณหภูมิ −20°C จนถึงเวลาที่ทำการวิเคราะห์

2.2 ผู้ถูกทดสอบจำนวน 93 คน หญิง 42 คน ชาย 51 คน อายุระหว่าง 20–60 ปี เป็นผู้ที่ประกอบอาชีพแล้วและได้แบ่งกลุ่มคนสุขภาพปกตินี้ ออกเป็นกลุ่มย่อย 4 กลุ่ม ตามอายุ คือ 20–30 ปี 31–40 ปี 41–50 ปี และ 51–60 ปี

3. การแยกส่วน lipoprotein–triglycerides โดยวิธี ultrafiltration[10,11,12,13]

นำซีรั่มตัวอย่างมาปั่นซ้ำอีกครั้งหนึ่งด้วยอัตราความเร็ว 3,600 rpm นาน 20 นาที เพื่อขจัดสิ่งปลอมปนอย่างอื่นที่อาจกระจายแสงได้ เช่น พวกเซลล์เม็ดโลหิตหรือชิ้นส่วนของเซลล์ หรือสาร fibrin แล้วนำส่วนใสของซีรั่มมาทำให้เจือจางโดยผสมกับ 0.85% sodium chloride ด้วยสัดส่วน 1 : 10 และอ่านค่า LSI ด้วย micronephelometer ขั้นต่อไปกรองผ่านเยื่อกรอง คือ cellulose acetate membrane (sartorius) membranfilter ผลิตโดยบริษัท Boehringer Mannheim (GmbH) ซึ่งทำหน้าที่คล้ายตะแกรงประกอบด้วยรูเล็กขนาด 50 nm และบรรจุอยู่ในกรอบโลหะ ซึ่งมีส่วนต่อกับ syringe ซีรั่มที่เจือจางจะผ่านเยื่อกรอง ทำให้แยกโมเลกุลของ chylomicrons ที่มีขนาดใหญ่ออกจากซีรั่มได้ แล้วนำส่วนซีรั่มที่ผ่านการกรองแล้วมาอ่านค่า LSI อีกครั้ง ค่าที่วัดได้ครั้งแรกเป็น LSI ของ chylomicrons และ VLDL ส่วนครั้งที่สองแสดงถึง LSI ของ VLDL เพียงอย่างเดียว ดังนั้นความแตกต่าง

รูปที่ 1 เครื่อง nephelometer

ระหว่างค่าทั้งสองก็คือ LSI ของ chylomicrons และเมื่อเปลี่ยนค่า LSI โดยใช้มาตรที่จัดสร้างขึ้นจากผลการศึกษาของ Thorp และคณะ[13] ก็จะทราบระดับของ VLDL และ chylomicrons ในซีรั่ม

4. การปรับมาตรฐานของเครื่อง micro-nephelometer นั้น ใช้ LSI standard ซึ่งประกอบด้วย polystyrene latex particles กระจายตัวอยู่ในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ ในสัดส่วน 10% w/v เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Dow chemical company, U.S.A. และมีค่า LSI = 100 หน่วย

5. ปริมาณ triglycerides วัดโดยใช้การสกัดแยกซีรั่มด้วย isopropanol และ Zeolite mixture[16] ซึ่งได้ดัดแปลงจากวิธีของ Fletcher [17]

ตารางที่ 1 ระดับซีรั่ม chylomicrons และ VLDL กลุ่มคนสุขภาพปกติ จำนวน 93 คน

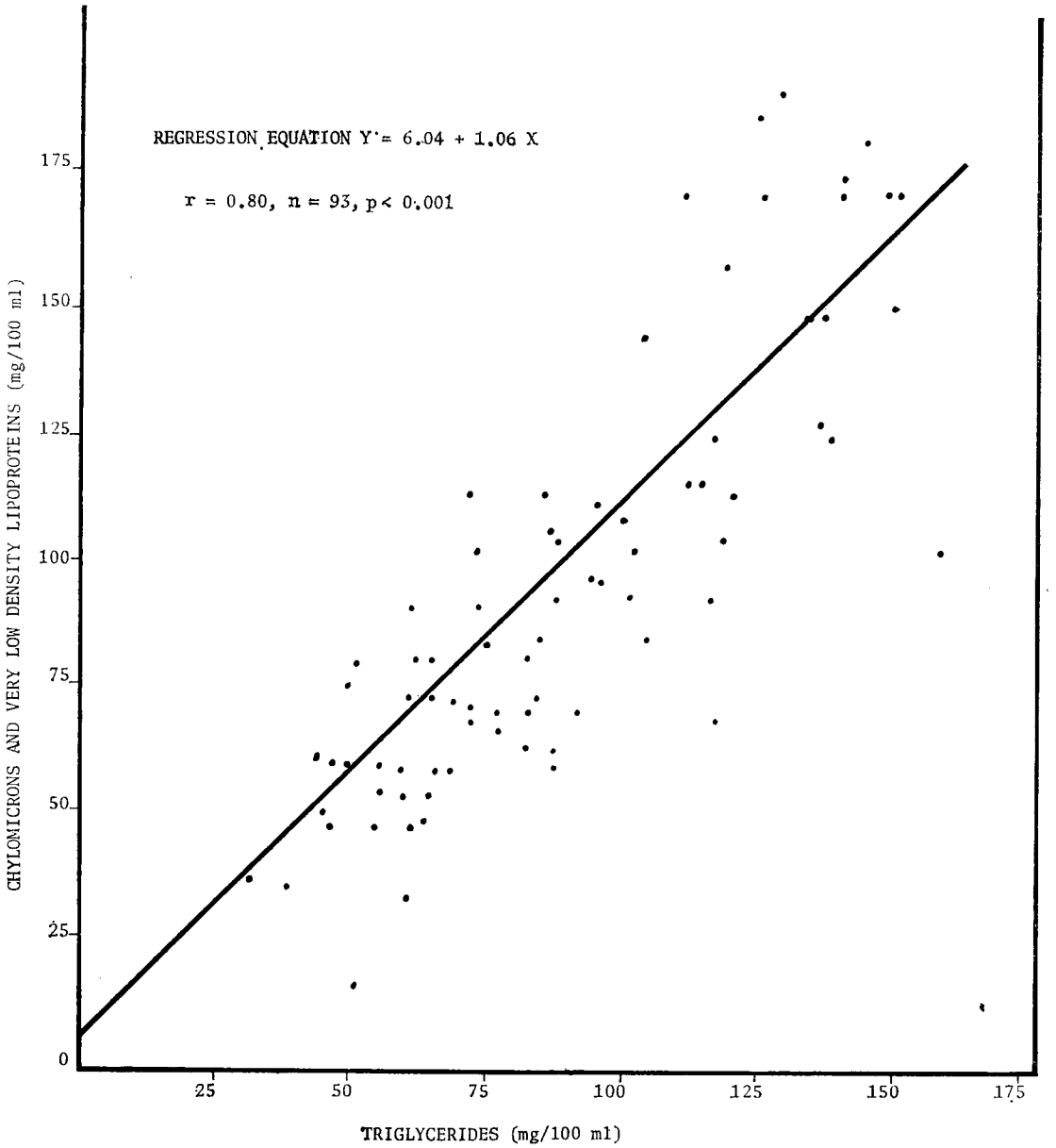
จำแนกกลุ่ม	อายุ (ปี)	จำนวน (ราย)	เพศ		Serum chylomicrons* (mg/100 ml)		VLDL** (mg/100 ml)	
			หญิง (ราย)	ชาย (ราย)	range	mean ± SD	range	mean ± SD
กลุ่มคนทั้งหมด	20–60	93	42	51	3.24–7.68	5.46 ± 2.22	51.54–136.36	93.95 ± 42.41
ก. 1	20–30	22	12	10	3.58–5.82	4.7 ± 1.12	32.09–99.11	65.6 ± 33.51
ก. 2	31–40	23	8	15	3.84–8.36	6.1 ± 2.26	46.94–139.46	93.2 ± 46.26
ก. 3	41–50	34	19	15	3.63–7.77	5.7 ± 2.07	57.86–150.74	104.3 ± 46.44
ก. 4	51–60	14	3	11	4.44–8.56	6.5 ± 2.06	89.05–147.15	118.1 ± 29.05

* ซีรั่ม chylomicrons

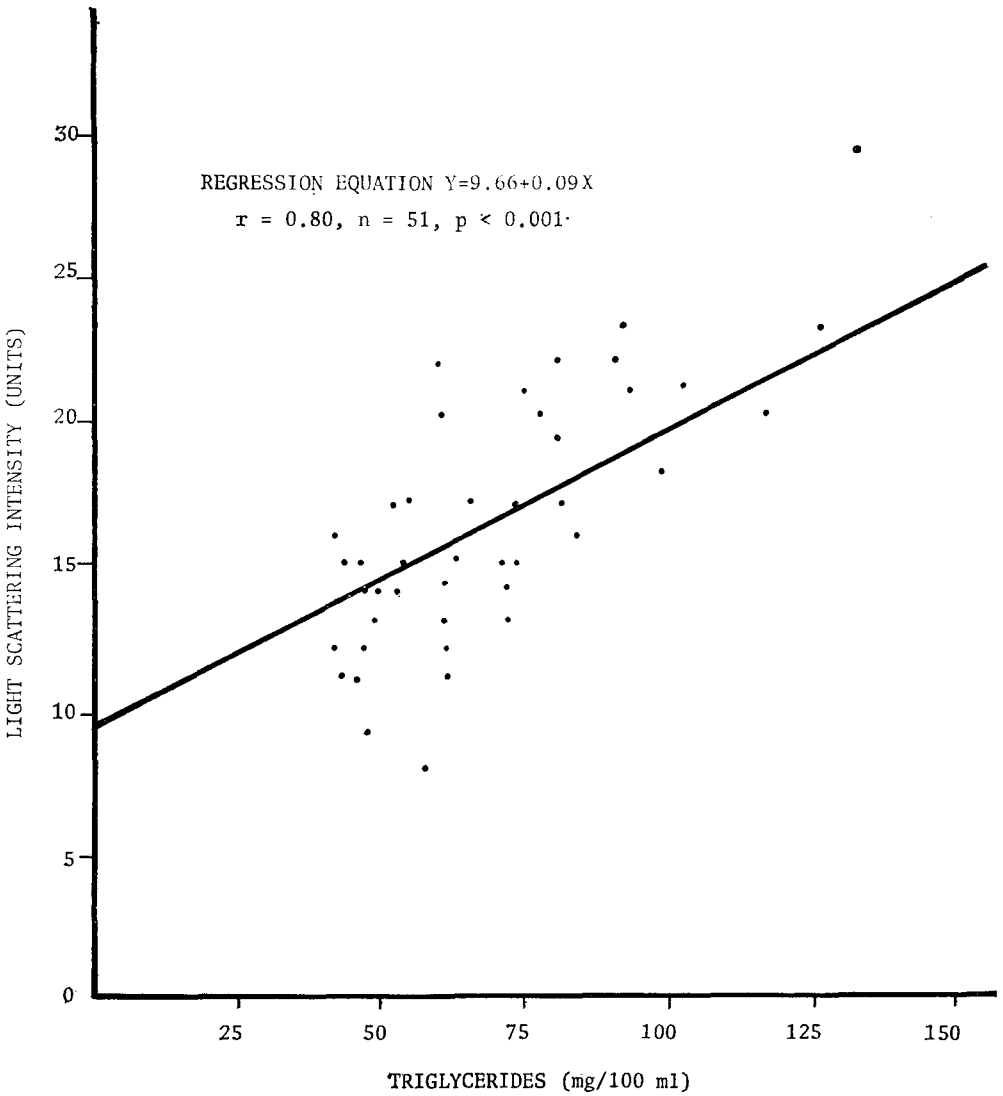
ค่าเปรียบเทียบระหว่างคนกลุ่ม ก 1 และ ก 2 มีความแตกต่างที่สำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)
ค่าเปรียบเทียบระหว่างคนกลุ่ม ก 1 และ ก 3 มีความแตกต่างที่สำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
ค่าเปรียบเทียบระหว่างคนกลุ่ม ก 1 และ ก 4 มีความแตกต่างที่สำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)
ค่าเปรียบเทียบระหว่างคนกลุ่ม ก 2 และ ก 3, ก 2 และ ก 4, ก 3 และ ก 4 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (non significance)

** ซีรั่ม VLDL

ค่าเปรียบเทียบระหว่างคนกลุ่ม ก 1 และ ก 2 มีความแตกต่างที่สำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
ค่าเปรียบเทียบระหว่างคนกลุ่ม ก 1 และ ก 3 มีความแตกต่างที่สำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)
ค่าเปรียบเทียบระหว่างคนกลุ่ม ก 1 และ ก 4 มีความแตกต่างที่สำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)
ค่าเปรียบเทียบระหว่างคนกลุ่ม ก 2 และ ก 3, ก 2 และ ก 4, ก 3 และ ก 4 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (non significance)



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับซีรั่ม chylomicrons และ very low density lipoproteins กับ triglycerides



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า light scattering intensity (ISI) กับ triglycerides ในซีรั่ม

ผล

1. การประเมินผลการใช้เครื่อง nephelometer

1.1 ความแม่นยำ จากการทดลองพบว่าวิธีวัด chylomicrons และ VLDL โดยใช้เครื่อง micronephelometer มีความแม่นยำที่ใช้ได้ คือ เมื่อนำ pooled serum อย่างหนึ่งมาวัดหาค่า parameters ทั้งสอง ซ้ำ 10 ครั้ง ในการทดสอบคราวเดียวกัน และคำนวณหา intraassay precision ได้ค่า coefficient of variation (CV) ของ chylomicrons และ triglycerides = 5.9 และ 7.0 % ตามลำดับ

1.2 การทดสอบความถูกต้องของเทคนิค

1.2.1 คำนวณหา % recovery โดยเปรียบเทียบผลรวมของปริมาณ chylomicrons และ VLDL ในซีรั่มตัวอย่าง จำนวน 93 ราย ซึ่งวัด LSI โดยใช้ micronephelometer กับค่า triglycerides ของซีรั่มตัวอย่างเดียวกัน แต่วิเคราะห์โดยวิธีของ Fletcher[16,17] ได้ค่าเฉลี่ยของ % recovery เท่ากับ 111.3 % (range = 81.0–141.6 %)

1.2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างผลรวม ระดับ chylcmicrons และ VLDL (วัดโดยวิธี nephelometry) กับปริมาณ triglycerides (วิธีของ Fletcher) ในซีรั่มตัวอย่างเดียวกันแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งมีความสัมพันธ์กันอย่างมีความสำคัญทางสถิติ ค่า $r = 0.80$ $P = < 0.001$, $n = 93$ และ เป็นเส้นตรงดังมี regression equation $Y = 6.04 + 1.06X$ แต่เมื่อเปรียบเทียบค่ารวม chylomicrons และ VLDL กับ triglycerices ที่ได้จากผู้ถูกทดสอบกลุ่มเดียวกันนี้ ได้ค่า mean ± SD = 100.03 ± 45.89 vs 88.68 ± 27.97 mg/100 ml. พบว่าความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.5$

1.2.3 นอกจากนั้น ค่า LSI ของซีรั่มจำนวน 51 ราย ซึ่งวัดโดยวิธี nephelometry ก่อนการกรองก็มีความสัมพันธ์กับค่า triglycerides ซึ่งวิเคราะห์โดยวิธีทางเคมี ดังแสดงในรูปที่ 3 $r = 0.80$, $P < 0.001$, regression equation $y = 9.66 + 0.09X$.

2. ค่าซีรั่ม chylomicrons และ VLDL ของกลุ่มคนสุขภาพปกติ

ตารางที่ 1 แสดงระดับของ serum lipoproteins คือ chylomicrons และ VLDL ในกลุ่มคนสุขภาพปกติ ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มตามอายุ จะเห็นได้ว่าคนที่มีอายุระหว่าง 20–30 ปี (กลุ่ม ก 1) มีทั้งระดับ chylomicrons และ VLDL ในซีรั่มต่ำกว่าคนที่มีอายุสูงกว่า คือ ระหว่าง 31 ถึง 60 ปี และตั้งแต่อายุ 30 ปีขึ้นไป ค่าที่ได้นั้นคงที่

วิจารณ์

การใช้เครื่อง micronephelometer เพื่อวัดระดับซีรั่ม chylomicrons และ VLDL มีความแม่นยำที่ยอมรับได้ เพราะว่าจากการทดสอบหา intra-assay precision มีค่า CV ต่ำ ส่วนความถูกต้องของเทคนิคนั้นเมื่อพิจารณาจากการเปรียบเทียบค่าที่ตรวจโดยวิธี nephelometry กับค่าซีรั่ม triglycerides ที่วิเคราะห์ด้วยวิธีทางเคมีซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน[16, 17] โดยคำนวณหาค่า % recovery ซึ่งจากการทดลองนี้ได้เท่ากับ 111 % แสดงว่าปริมาณรวมของ chylomicrons และ VLDL โดยวิธี nephelometry สูงกว่าการวัดปริมาณซีรั่ม triglycerides โดยตรงเล็กน้อย และค่าที่ได้มีแนวโน้มที่สูงกว่าระดับซีรั่ม triglycerides ที่ทดสอบจริง (ดูผลการทดลองข้อ 1.2.2) ค่า lipoprotein-triglycerides ที่วัดด้วยเครื่อง nephelometer จึงเหมาะสำหรับที่จะใช้เป็นค่าทดลองเบื้องต้นที่แสดงว่าผู้ถูกทดสอบอาจมีภาวะ hyperlipoproteinaemia การวินิจฉัยที่แน่นอนต้องอาศัยทั้งการตรวจทางคลินิคและการตรวจทางห้องปฏิบัติการพิเศษต่อไปอีก แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าผลรวมของค่าซีรั่ม chylomicrons และ VLDL หรือ LSI (ก่อนผ่านเยื่อกรอง) มีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับ triglycerides ในซีรั่มเช่นเดียวกับที่เคยมีผู้รายงานไว้[10, 11, 12] โดยเฉพาะเมื่อพิจารณาค่า correlation coefficient (r) หรือเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ (regression equation) เช่น ในการศึกษาครั้งนี้ ค่า r ระหว่าง LSI และซีรั่ม triglycerides ได้เท่ากับ 0.80, regression equation y = 9.66 ซึ่งใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Ruys และคณะ[11] ซึ่งได้ค่า r = 0.88 และ y = 8.51 ดังนั้นสรุปได้ว่าวิธีวัดระดับซีรั่ม lipoproteins คือ chylomicrons และ VLDL โดยวิธี nephelometry ให้ผลที่มีความแม่นยำและเป็นที่เชื่อถือได้ การวัดระดับ lipoproteins โดยวิธีนี้ทำได้โดยใช้ทั้งซีรั่มและพลาสม่า[11] แต่ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ซีรั่มเพราะมีรายงานแสดงว่าผลที่ได้มีความสัมพันธ์กับระดับ triglycerides ดีกว่าเมื่อทดสอบโดยใช้พลาสม่า[11] เมื่อใช้ micronephelometer ตรวจหาระดับ chylomicrons และ VLDL ในซีรั่ม คนสุขภาพปกติ 93 คน ได้ค่าเท่ากับ 5.46 ± 2.22 และ 93.95 ± 42.41 (mean ± SD) mg/100 ml. ตามลำดับ ค่าที่ได้ดังกล่าวใกล้เคียงกับรายงานของ Stone และคณะ[18] คือ 5 ± 7.5 และ 77 ± 52 mg/100 ml. นอกจากนี้ ยังได้ศึกษาพบว่าค่าซีรั่ม chylomicrons และ VLDL ของกลุ่มคนอายุน้อยกว่า 30 ปี ต่ำกว่าของกลุ่มคนอายุสูงกว่า (ดูตารางที่ 1) เช่นเดียวกับการศึกษาอื่น[16, 19] ทั้งนี้เพราะว่าอายุที่เพิ่มขึ้นเป็นสาเหตุอย่างหนึ่งที่ทำให้การใช้สารไขมันในร่างกายลดน้อยลง[20] ระดับในซีรั่มจึงสูงขึ้น

ในคนปกติหลังงดอาหาร 12–14 ชั่วโมง lipoproteins ชนิดที่มี triglycerides เป็นส่วนประกอบสูงที่สุด คือ VLDL[21] ส่วน chylomicrons นั้นพบจำนวนน้อยมากหรือไม่พบเลย[22] ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของ VLDL จึงแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของซีรั่ม triglycerides ด้วย และข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในคนไทย[16] และคนต่างประเทศ[19] พบว่าคนที่มีอายุระหว่าง 30 ถึง 50 ปี มีค่าซีรั่ม triglycerides สูงกว่าคนที่อายุน้อยกว่า ค่าซีรั่ม chylomicrons และ VLDL ที่พบในรายงานนี้จึงเป็นสิ่งที่ควรพบได้ในคนปกติ

จากผลการศึกษาข้างต้นแสดงว่า การใช้วิธี nephelometry และ ultrafiltration เพื่อแยกชนิด lipoproteins ในซีรั่ม โดยเฉพาะชนิด chylomicrons และ VLDL นั้น ให้ผลเป็นที่เชื่อถือได้ เช่นเดียวกับที่ได้มีผู้รายงานไว้ในต่างประเทศ[10, 11, 12, 13] และได้มีผู้ใช้วิธีการนี้สำหรับศึกษา lipid profile ในหญิงไทยที่มีครรภ์[15] และเมื่อวิเคราะห์ระดับของ high density lipoprotein ตามวิธีของ Burstein และคณะ[14] ก็สามารถทราบปริมาณของ lipoproteins แต่ละชนิดได้[15] และห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลก็อาจทำการวิเคราะห์ได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่ายมากเพราะทำได้ง่ายและรวดเร็ว โดยเฉพาะการใช้เครื่อง micronephelometer นั้นสามารถใช้วัดระดับ low density lipoprotein ได้ด้วย[13] แต่อย่างไรก็ตามวิธีมาตรฐานสำหรับการแยกชนิดของ lipoproteins คือ การใช้ ultracentrifugation สำหรับ micronephelometer นั้น เหมาะสำหรับเป็นการวิเคราะห์ขั้นแรก เมื่อหาความผิดปกติเกี่ยวกับเมตาบอลิสมของ lipoproteins[3, 11, 12] หรือใช้ในการสำรวจอุบัติการของการเกิดภาวะ hyperlipoproteinaemia ในชุมชนที่มีประชากรมาก[11, 12] เพราะเป็นการวิเคราะห์ที่ทำได้โดยรวดเร็วใช้เวลาประมาณ 20 นาที ต่อหนึ่งการทดลอง เครื่อง micronephelometer นี้มีขนาดเล็กซึ่งวางบนโต๊ะในห้องปฏิบัติการได้และสามารถเคลื่อนย้ายได้สะดวก แต่ผู้วิเคราะห์ควรต้องใช้หลักการของการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการทางเคมีคลินิคด้วย ผลที่ได้จึงมีความถูกต้องและคงที่ ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคหรือติดตามผลการรักษา

อ้างอิง

1. Kannel WB, Castelli WP, Gordon J, McNamara P. Serum cholesterol, lipoproteins and the risk of coronary heart disease. The Framingham Study. Ann Intern Med 1971 Jul ; 74 (1) : 1-12

2. Logan RL, Riemersma RA, Thomson M, Olsson AG, Walldius G, Rossner S, Kaijser L, Callmer E, Carlson LA, Lockerbie L, Lutz W. Risk factors of ischaemic heart-disease in normal men aged 40. Edinburgh-Stockholm Study. Lancet 1978 May 6 : 1 (8071) : 949-954

3. Beaumont JL, Carlson LA, Cooper GR, Fejfar Z, Fredrickson DS, Strasser T. Classification of hyperlipidaemias and hypertriglyceridaemias. Bull WHO 1970; 43 (6) : 891-915

4. Bierman EI, Porte D Jr., Bagdade JD. Hypertriglyceridaemia and glucose intolerance in man. In : Jeanrenaud B, Hepp P, eds. Adipose tissue : Regulation and Metabolic Functions. New York : Academic Press, 1970 : 209-212

5. Blacket RB, Woodhill JM, Leelarthaepin B, Palmer AJ. Type-IV hyperlipidaemia and weight-gain after maturity. Lancet 1975 Sep 20 ; 21 (7934) : 517-520

6. Lopez-A, Srinivasan SR, Dugan FA, Radhakrishnamuthy B, Berenson GS. Detection of subtle abnormalities of serum beta and pre-beta-lipo-proteins in normal individuals by turbidimetric and electrophoretic methods. Clin Chim Acta 1971 ; 31 (2) : 123-132

7. Kane JP, Sata T, Hamilton RL, Havel RJ. Apoprotein composition of very low density lipoproteins of human serum. J Clin Invest 1975 Dec; 56 (6) : 1622-1634

8. Kekki M, Nikkila EA. Turnover of plasma total and very low density lipoprotein triglyceride in man. Scand J Clin Lab Invest 1975 Mar ; 35 (2) : 171-179

9. Van der Bijl P, Van Gent CM. Lipid and protein contents of low density lipoproteins (LDL) from patients with various types of hyperlipoproteinemia. Clin Chim Acta 1975 ; 56 (1) : 95-97

10. Farid NR, Menzies R, Anderson J. Micronephelometry and serum triglycerides. Lancet 1972 Nov 18 ; 2 (7787) : 1090-1091

11. Ruys J, Crollini C, Hickie JB. The estimation of serum triglycerides by nephelometry. A simple method for the estimation of serum triglycerides suitable for the small laboratory. Med J Aust 1975 Mar 22 , 1 (2) : 385-387

12. Stone MC, Thorp JM. A new technique for the investigation of the low-density lipoproteins in health and disease. Clin Chem Acta 1966 ; 14 (6) : 812-830
13. Stone MC, Thorp JM, Mills GL, Dick TBS. Comparison of membrane filtration and nephelometry with analytical ultracentrifugation, for the quantitative analysis of low density lipoprotein fractions. Clin Chem Acta 1970 ; 30 (3) : 809-828
14. Burstein M, Scholnick HR, Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. J Lipid Res 1970 Nov ; 11 (11) : 583-595
15. ดวงมณี วิเศษกุล, วิชัย จุฬาโรจน์มนตรี, สมสิทธิ์ ชูประเสริฐ, วิไล เบญกาญจน์ The high-density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease in pregnant women. จดหมายเหตุทางแพทย์ 2522 กรกฎาคม ; 62 (7) : 354-359
16. น้อย ตันตยาภิวัธน์, สุดา ธีรัฑธานนท์. ซีรั่ม triglycerides ในคนปกติ จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2521 กรกฎาคม ; 22 (3) : 179-183
17. Fletcher MJ. A colorimetric method for estimating serum triglycerides. Clin Chim Acta 1868 ; 22 (2) : 393-397
18. Stone MC, Thorp JM, Mills GI, Dick TB. Diagnosis and classification of abnormal lipoprotein patterns. Clin Chim Acta 1971 ; 31 (2) : 333-354
19. Bengtsson C, Tibblin E, Blohme C, Gustafson A. Serum cholesterol and serum triglycerides in middle-aged women. Scand J Clin Lab Invest 1974 Jan ; 34 (1) : 61-66
20. Kritchevsky D. Influence of aging on lipid metabolism. Scand J Clin Lab Invest (Suppl) 1974 ; 141 : 68-69
21. Whitby LG, Percy-Robb IW, Smith AF. Lipid metabolism. In : Lecture notes on Clinical Chemistry. Oxford : Blackwell Scientific, 1977 ; 214
22. Robinson DS. Plasma triglyceride metabolism. J Clin Pathol 1973 ; 26 (Suppl 5) : 5-10