ความสัมพันธ์ระหว่างระดับไขมันในเลือด ระดับอินซูลินในเลือด
กับลักษณะของความอ้วนในเด็ก

นางสาวสุวรรณี นำเกียรติวงษา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชากุมารเวชศาสตร์ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2545

ISBN:974-17-1880-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

RELATIONSHIP OF LIPID PROFILE AND INSULIN LEVEL TO FAT PATTERNING

IN

OBESE CHILDREN AND ADOLESCENTS

Miss Suwannee Numkiatwongsa

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pediatrics

Department of Pediatrics

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN:974-17-1880-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับไขมันในเลือด ระดับอินซูลินในเลือด กับลักษณะของความอ้วนในเด็ก
โดย	นางสาวสุวรรณี นำเกียรติวงษา
สาขาวิชา	กุมารเวชศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์นายแพทย์สังคม จงพิพัฒน์วณิชย์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์นายแพทย์ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์นายแพทย์สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

....อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์นายแพทย์สังคม จงพิพัฒนวณิชย์)

....อาจารย์ที่ปรึกษา(ร่วม)

(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ไพโรจน์ โชติวิทยธารากร)

....กรรมการ

(อาจารย์นายแพทย์สมชาย ปรีชาวัฒน์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุวรรณี นำเกียรติวงษา : ความสัมพันธ์ระหว่างระดับไขมันในเลือด ระดับอินซูลินในเลือดกับลักษณะของความอ้วนในเด็ก (RELATIONSHIP OF LIPID PROFILE AND INSULIN LEVEL TO FAT PATTERNING IN OBESE CHILDREN AND ADOLESCENTS) อาจารย์ที่ปรึกษา:รองศาสตราจารย์นายแพทย์สังคม จงพิพัฒน์วณิชย์

40หน้า ISBN 974-17-1880-2

จุดประสงค์ เพื่อศึกษาถึงความชุกของระดับไขมันและระดับอินซูลินในเลือดสูงผิดปกติในเด็กอ้วนและความสัมพันธ์ของลักษณะของความอ้วนกับระดับไขมันและระดับอินซูลินในเลือด

รูปแบบการศึกษา เป็นการทำวิจัยแบบสังเกต

สถานที่ศึกษา ภาคกุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และโรงเรียนกรุงเทพคริสเตียน

ประชากรที่ศึกษา มีอายุระหว่าง 3-16 ปีและมีน้ำหนักต่อน้ำหนักความสูงมากกว่าร้อยละ120 โดยไม่มีโรคของต่อมไร้ท่อหรือโรคทางโครโมโซม และไม่ได้รับประทานยาตัวหนึ่งตัวใดในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา

วิธีการศึกษา เด็กที่เข้าร่วมการศึกษาทุกรายได้รับการวัดน้ำหนัก ส่วนสูง เส้นรอบเอว เส้นรอบสะโพก การซักประวัติโรคหัวใจขาดเลือด โรคไขมันในเลือดสูง โรคเบาหวานในครอบครัว และเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำตรวจระดับไขมัน ระดับอินซูลินในเลือดโดยต้องมีการงดอาหารก่อนเจาะเลือด 12 ชั่วโมง

ผลการศึกษา เด็กอ้วน 65 ราย มีระดับโคเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และ LDL โคเลสเตอรอลสูงร้อยละ 19, 28 และ 16 ตามลำดับ และระดับ HDL โคเลสเตอรอลต่ำร้อยละ 3 ระดับอินซูลินในเลือดสูงร้อยละ 26.2 พบว่าการมีระดับไขมันในเลือดสูงไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความอ้วน BMI, waist circumference, hip circumference, waist/hip circumference หรือประวัติครอบครัวที่มีโรคไขมันในเลือดสูงและโรคหัวใจขาดเลือด พบว่าระดับอินซูลินในเลือดสูงสัมพันธ์กับระดับความอ้วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.024) โดยเด็กที่เป็น morbid obesity มีโอกาสมีระดับอินซูลินในเลือดสูงเป็น16 เท่าของเด็ก mild obesity และสัมพันธ์กับกลุ่มที่อายุมากกว่า 10 ปี แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับประวัติโรคเบาหวานในครอบครัวและระดับไขมันในเลือด

สรุป เด็กอ้วนมีความชุกของการมีความผิดปกติของไขมันและระดับอินซูลินในเลือดสูง ความผิดปกติของระดับไขมันไม่มีความสัมพันธ์กับความอ้วนและ BMI แต่ระดับความรุนแรงของความอ้วนมีความสัมพันธ์กับการมีระดับอินซูลินโดยเฉพาะในเด็ก morbid obesity และกลุ่มอายุมากกว่า10ปี

ภาควิชา กุมารเวชศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต..
สาขาวิชา กุมารเวชศาสตร์	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา................................
ปีการศึกษา 2545	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม...............……...

4575271730 MAJOR :PEDIATRIC

Key word : HYPERLIPIDEMIA / OBESE CHILDREN AND ADOLESCENTS / FAT PATTERNING

SUWANNEE NUMKIATWONGSA :RELATIONSHIP OF LIPID PROFILE AND INSULIN LEVEL TO FAT PATTERNING IN OBESE CHILDREN AND ADOLESCENTS , SUNGKOM JONGPIPATVANICH MD, 40Pp ISBN 974-17-1880-2

Objectives : To determine the prevalence of hyperlipidemia, hyperinsulinemia and to identify the relationship of fat patterning, familial history of hyperlipidemia, ischemic heart disease, diabetes mellitus to hyperlipidemia and hyperinsulinemia.

Design : Observational study design.

Setting : Pediatric department of King Chulalongkorn hospital and Bangkok Christian school.

Target populations : Children and adolescents age between 4-16 years, who had body weight greater than 120% of percent weight for height, and did not have any endocrine disease, chromosome abnormalities or taken any drugs.

Intervention: All subjects were measured weight, height, hip circumference, waist circumference, waist/hip circumference ratio and taken familial history of hyperlipidemia, ischemic heart disease and diabetes mellitus. The 12 hours fasting venous blood lipid and insulin level was measured by enzyme colorimetry and immunometric assay .

Results : Sixty-five obese children had hypercholesterolemia19%, hypertriglyceridemia28%, High LDL16% , Low HDL 3% and hyperinsulinemia26.2%.There are no relationship between hyperlipidemia and severity of obesity, BMI, waist circumference, hip circumference, waist/hip circumference ratio and familial history of hyperlipidemia, ischemia heart disease,DM. There was a significant association between hyperinsulinemia with degree of obesity (P-value 0.024) especially morbid obesity(odd ratio=16 as compared to mild obesity)and with age more than 10 years but not associated with hyperlipidemia or BMI.

Conclusions : Obese children and adolescents had high prevalence of hyperlipidemia and hyperinsulinemia. Hyperinsulinemia .There was a significant association with severity of obesity especially morbid obesity and age more than 10 years.

Department of Pediatrics	Student's signature………………………………
Field of study : Pediatrics	Advisor's signature…………………………...
Academic year 2002	Co-advisor's signature………………………..

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยความร่วมมือและความช่วยเหลือจากรองศาสตราจารย์นายแพทย์ไพโรจน์ โชติวิทยธารากร และรองศาสตราจารย์นายแพทย์สังคม จงพิพัฒน์วณิชย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น ตลอดจนช่วยตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์นายแพทย์สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ ที่ได้อนุญาตให้ผู้ทำการวิจัยเก็บข้อมูลพื้นฐานที่หน่วยต่อมไร้ท่อ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ขอขอบคุณแพทย์หญิงภารวี หิรัญรัตน์แพทย์ประจำบ้านเฉพาะทางสาขาต่อมไร้ท่อ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และเพื่อน ๆ แพทย์ประจำบ้านที่ได้เสียสละเวลาในการเก็บข้อมูลพื้นฐานของเด็กโรคอ้วนที่หน่วยต่อมไร้ท่อ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ อีกทั้งผู้ป่วยและผู้ปกครองเด็กโรคอ้วนที่ให้ความร่วมมือในการเข้าร่วมการวิจัยเป็นอย่างดี

ท้ายนี้ผู้วิจัยขอมอบความสำเร็จทุกประการที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ ให้กับผู้ร่วมงาน และผู้เข้าร่วมการศึกษาทุกท่าน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..จ

กิตติกรรมประกาศ...ฉ

สารบัญ..ช

สารบัญตาราง...ซ

บทที่ 1 : บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..1

คำถามของการวิจัย...2

วัตถุประสงค์ของการวิจัยและรูปแบบของการวิจัย................................2

ขอบเขตของการวิจัย...2

ข้อตกลงเบื้องต้นและข้อจำกัดของการวิจัย..3

ข้อจำกัดของการวิจัย...3

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย..3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..5

ปัญหาและอุปสรรคที่คาดว่าจะเกิด..5

ลำดับขั้นตอนในการเสนอผลการวิจัย...6

บทที่ 2 : เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง...7

บทที่ 3 : วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากรและเกณฑ์ในการคัดเลือกและตัดออกจากการศึกษา.....................10

การคำนวณขนาดตัวอย่าง..10

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย...11

การรวบรวมข้อมูล...11

การวิเคราะห์ข้อมูล..12

บทที่ 4 : ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..13

บทที่ 5 : สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย...20

อภิปรายผลการวิจัย...21

ข้อเสนอแนะ..22

รายการอ้างอิง...23

ภาคผนวก1..27

ภาคผนวก2..30

ภาคผนวก3..32

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..44

สารบัญตารางและแผนภูมิ

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กตามDegree of obesity……………………………..…..13

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนและร้อยละเด็กตามค่าWaist/hip circumference……………………..…...13

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนและร้อยละเด็กตามค่าBMI……………………………………………..…….14

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กที่เข้าร่วมศึกษา แบ่งตามระดับอินซูลินในเลือด…….....…..15

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนและร้อยละแบ่งตามอินซูลินในเลือด………………………………………….16

ตารางที่ 6 แสดงภาวะอินซูลินในเลือดและระดับความอ้วน……………………………………………16

ตารางที่ 7 แสดงค่า odd ratio ของระดับความอ้วนเมื่อเทียบกับ mild obesity………………………17

ตารางที่ 8 แสดงระดับอินซูลินและช่วงอายุ(<10ปีและ≥10ปี)………………………………………..17

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษากับระดับไขมันและระดับอินซูลินในเลือด

โดย univariate analysis…………………………………………………………………….18

ตารางที่ 10 แสดงค่าp-value (Binary logistic regression analysis-Enter)ระหว่าง

ภาวะ Hypertriglyceride Hyperinsulinemia และ Waist circumference

Hip circumference Degree of obesity Familial history of DM………………………19

แผนภูมิที่ 1 แสดงร้อยละของเด็กที่เข้าร่วมการศึกษาตามประวัติครอบครัว…………..………..…….14

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (coronary heart disease) และภาวะหลอดเลือดแข็ง (atherosclerosis) เป็นสาเหตุของการเสียชีวิตเป็นอันดับหนึ่งในประเทศไทยและในอีกหลายๆ ประเทศทั่วโลก การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคนี้เริ่มต้นตั้งแต่ในวัยเด็ก และปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญต่อการเกิดโรคได้แก่ ภาวะไขมันในเลือดสูงผิดปกติโรคเบาหวานโรคอ้วน ภาวะความดันโลหิตสูง การสูบบุหรี่ การไม่ได้ออกกำลังกายและความเครียดมักเริ่มตั้งแต่ในวัยเด็กและต่อเนื่องจนถึงวัยผู้ใหญ่ [1,2]

โรคอ้วน (Obesity) กำลังเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศต่างๆ ทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย ผู้ใหญ่ที่เป็นโรคอ้วนมักเสียชีวิตในขณะที่อายุยังน้อยและเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่สำคัญเช่นโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด โรคหลอดเลือดแข็ง โรคความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือดสูง และโรคเบาหวาน (Type 2 diabetes millitus) เป็นต้น และค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการดูแลรักษาการเจ็บป่วยอันสืบเนื่องมาจากโรคอ้วนเพิ่มขึ้นอย่างมาก การศึกษาเกี่ยวกับความชุกของโรคอ้วนในเด็กพบว่าได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกับโรคอ้วนในผู้ใหญ่ จากการศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกาโดย National Health and Nutrition Examination Survey ครั้งที่ 3 (NHANES III) [3]ระหว่างปี พ.ศ..2531-2542 พบความชุกของประชากรเด็กที่เป็นโรคอ้วนเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 15 จากการศึกษาครั้งแรก (NHANES I) ในปี พ.ศ. 2523 เป็นร้อยละ 23 และ 27 ในปี พ.ศ. 2537 และ 2542 ตามลำดับ และการศึกษาความชุกของโรคอ้วนของประชากรในประเทศแถบเอเชียแปซิฟิคพบความชุกของโรคอ้วนในเด็กเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเช่นกันโดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่น เกาหลีและฮ่องกง ซึ่งมีการพัฒนาทางเศรษฐกิจและสังคมอย่างรวดเร็ว และมีลักษณะการบริโภคคล้ายชาวตะวันตกมากขึ้น[4] สำหรับการศึกษาในประเทศไทยพบว่าเด็กนักเรียนระดับอนุบาลและประถมศึกษาในกรุงเทพมหานคร(ศึกษาต่อเนื่องกันเป็นเวลา 3 ปี) มีภาวะโภชนาการเกินเพิ่มขึ้นและจากการศึกษาโรงเรียนอนุบาลทั่วประเทศ พบเด็กที่มีภาวะโภชนาการเกินตั้งแต่ร้อยละ 10.2-20.7[5]

การเกิดโรคอ้วนตั้งแต่ในวัยเด็ก มีผลต่อทั้งปัญหาทางด้านจิตใจ ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเมื่อเติบโตเป็นผู้ใหญ่ในอนาคต และผู้ใหญ่ที่อ้วนประมาณร้อยละ 30 จะมีประวัติของการเป็นโรคอ้วนในวัยเด็ก นอกจากนี้โรคอ้วนในวัยเด็กยังมีความสัมพันธ์กับการเกิดการเจ็บป่วยด้วยโรคที่เกี่ยวข้องกับโรคอ้วนในวัยผู้ใหญ่รวมทั้งอัตราตาย[6] เด็กที่มีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของ body

mass index ในวัยรุ่นช่วงหลัง เมื่อเติบโตเป็นผู้ใหญ่จะมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดการเจ็บป่วยจากโรคที่เกิดจากโรคอ้วนเพิ่มขึ้นกว่าเด็กปกติ[7,8,9]

เด็กอ้วนเมื่อเติบโตเป็นผู้ใหญ่มักมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดมากกว่าเด็กที่มีน้ำหนักปกติ และปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดที่พบตั้งแต่ในวัยเด็กจะยังคงพบอย่างต่อเนื่องเมื่อเติบโตเป็นผู้ใหญ่ โดยเฉพาะในเด็กอ้วนที่มีประวัติของการมีบุคคลในครอบครัวมีระดับไขมันในเลือดสูงมากกว่า 240 mg/dl หรือมีโรคหัวใจขาดเลือดในอายุน้อยกว่า 55 ปี หรือมี BMI มากกว่า 95 percentile สำหรับอายุและเพศ [10]

การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ของผลจากการวัดความเจริญเติบโตต่อความผิดปกติของระดับไขมัน ระดับอินซูลินในเลือดในเด็กอ้วน ซึ่งอาจนำไปใช้ในการคัดกรองหาเด็กอ้วนที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ โดยการคัดเลือกเฉพาะผู้ที่มีความเสี่ยงสูงมาตรวจเพิ่มเติมทางห้องปฏิบัติการ จะช่วยทำให้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายในการตรวจทางห้องปฏิบัติการได้

คำถามของการวิจัย

1.ความชุกของระดับไขมันในเลือดสูง ระดับอินซูลินในเลือดสูงในเด็กไทยอ้วนเป็นเท่าใด

2.ปัจจัยใดที่ได้จากการวัดความเจริญเติบโตที่มีความสัมพันธ์กับการตรวจพบว่ามีระดับไขมันในเลือดสูง ระดับอินซูลินในเลือดสูงในเด็กไทยอ้วน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.เพื่อศึกษาความชุกของระดับไขมันในเลือดสูง ระดับอินซูลินในเลือดสูงในเด็กไทยอ้วน

2.เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ของผลจากการวัดความเจริญเติบโตกับระดับไขมันในเลือดสูง ระดับอินซูลินในเลือดสูงในเด็กไทยอ้วน

รูปแบบการวิจัย

Observational study design

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอบเขตของการวิจัย

OBESE CHILDREN
ANTHROPOMETRIC MEASUREMENT
(weight,height,BMI,waist circumference,hip circumference,waist/hip circumference,blood pressure,familial history of hyperlipidemia-DM-coronary heart disease)

→

Fasting lipid profile
Fasting insulin

ข้อตกลงเบื้องต้น

ไม่มี

ข้อจำกัดของการวิจัย

การวิจัยนี้ ทำการศึกษาในเด็กโรคอ้วนที่มารับการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และเด็กอ้วนจากโรงเรียนกรุงเทพคริสเตียน จึงอาจไม่สามารถนำไปใช้กับเด็กอ้วนทั้งหมดได้

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

เด็กอ้วน (Obese children)

หมายถึง เด็กและวัยรุ่น อายุ 5-18 ปี ที่มีน้ำหนัก (actual weight) ต่อน้ำหนักต่อความสูง (expected weight for height) มากกว่า ร้อยละ 120 โดยแบ่งระดับของความอ้วนดังนี้

ร้อยละ 121-140	อ้วนเล็กน้อย
ร้อยละ 141-160	อ้วนปานกลาง
ร้อยละ 161-200	อ้วนรุนแรง
มากกว่าร้อยละ 200	morbid obesity

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาวะไขมันในเลือดสูง (Hyperlipidemia)

หมายถึง ระดับไขมัน cholesterol, LDL cholesterol, HDL cholesterol และ triglyceride มีค่าสูงกว่าค่าปกติสำหรับอายุ[28] โดยการเจาะเลือดหลังงดอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมง และตรวจด้วยวิธี Enzymatic colorimetry assay คือ

ระดับ Total cholesterol มากกว่า 200 mg/dl ระดับ LDL cholesterol มากกว่า 130mg/dl

ระดับ HDL cholesterol น้อยกว่า 35 mg/dl

ระดับ Triglyceride มากกว่า 100 mg/dl สำหรับเด็กที่มีอายุน้อยกว่า 10 ปี

ระดับ Triglyceride มากกว่า 130 mg/dl สำหรับเด็กที่มีอายุมากกว่า 10 ปี

โดยแบ่งระดับความรุนแรงของระดับไขมันในเลือดสูงดังนี้

Measurement(mg/dl)	High(mg/dl)	Borderline level(mg/dl)	Desirable level(mg/dl)
Total cholesterol	≥200	170-199	<170
LDL cholesterol	≥130	110-129	<110
HDL cholesterol	<35	35-45	>45
Triglyceride(age<10 years)	≥100	75-99	<75
Triglyceride (age10-19 years)	≥130	90-129	<90

ภาวะอินซูลินในเลือดสูง

หมายถึง ระดับอินซูลินในเลือดมากกว่า 25mU/L[29] โดยการเจาะเลือดหลังงดอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมง และตรวจด้วยวิธี Immunometric assay

โรคไขมันในเลือดสูง (hyperlipidemia) ในครอบครัว

หมายถึงการที่มีบุคคลใดบุคคลหนึ่งในครอบครัวมีระดับ total cholesterol มากกว่า 240 mg/dl

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) ในครอบครัว

หมายถึงการมีบุคคลในครอบครัวเป็นโรคเบาหวานและได้รับการรักษาจากแพทย์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โรคหัวใจขาดเลือด (Coronary heart disease)ในครอบครัว

หมายถึง การมีอาการของโรคหัวใจขาดเลือด เช่น angina pectoris, myocardial infraction, sudden death หรือตรวจพบว่า มีการอุดตันของหลอดเลือดหัวใจโดยการทำ coronary angiography หรือ เคยได้รับการรักษาโดยวิธี balloon angioplasty หรือ coronary bypass grafting (CABG)

Body mass index

หมายถึงดัชนีมวลของร่างกาย คำนวณจากน้ำหนักและความสูงดังสมการ

$$\text{Body mass index} = \text{Body weight (kg)/ Height (meter)}^2$$

บุคคลในครอบครัว

หมายถึง บิดา มารดา ปู่ ย่า ตา ยาย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ทำให้ทราบความชุกของภาวะไขมันในเลือดสูง ภาวะอินซูลินในเลือดสูงในเด็กอ้วน

2.สามารถนำการวัดความเจริญเติบโตมาเป็นตัวคัดกรองในการที่จะตรวจค่าไขมันและอินซูลินในเลือด

3.สามารถค้นหาเด็กอ้วนที่จะมีความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดในอนาคต

ปัญหาและอุปสรรคที่คาดว่าจะเกิด

เนื่องจากการคำนวณจำนวนประชากรที่นำมาศึกษาคำนวณมาจากค่า hypercholesterolemia อาจทำให้การศึกษาในส่วนของความชุกของhyperinsulinemiaและค่าความสัมพันธ์ระหว่าง hyperinsulinemiaกับanthropometric measurement คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริงได้ และผู้ป่วยโรคอ้วนที่มารับการตรวจรักษาที่แผนกหน่วยพัฒนาการ และหน่วยโภชนาการยังมีจำนวนน้อย แต่ได้ทำการแก้ไขโดยการเก็บข้อมูลเพิ่มจากเด็กอ้วนที่เข้าโครงการควบคุมน้ำหนักของโรงเรียนกรุงเทพคริสเตียนซึ่งดำเนินการโดยเจ้าหน้าที่จากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยหากตรวจพบว่ามีภาวะโรคอ้วนก็จะแนะนำให้มาเข้าร่วมโครงการนี้

ลำดับขั้นตอนในการเสนอผลการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	ปีพ.ศ.2545											ปีพ.ศ.2546			
	กพ	มีค	เมย	พค	มิย	กค	สค	กย	ตค	พย	ธค	มค	กพ	มีค	เมย
1.พบอาจารย์ที่ปรึกษาศึกษาและเตรียมงาน	───	──→													
2.เขียนและนำเสนอโครงร่างวิทยานิพนธ์		───	──→												
3.เสนอคณะกรรมการบัณฑิตศึกษาของภาควิชา			───	──→											
4.เสนอคณะกรรมการบัณฑิตศึกษาของคณะและมหาวิทยาลัย				───	──→										
5.ดำเนินการวิจัยและเก็บข้อมูล					───	───	───	───	───	───	──→				
6.การวิเคราะห์ข้อมูล												───	───	──→	
7.รายงานผลการวิจัย														───	──→

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี

ความอ้วนมีความสัมพันธ์กับการมีระดับไขมันในเลือดสูงและระดับอินซูลินในเลือดสูง และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด หลอดเลือดอุดตัน ภาวะความดันโลหิตสูงโรคเบาหวาน และระดับความอ้วนเพิ่มขึ้นจะทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเหล่านี้สูงขึ้น การตรวจระดับไขมันในเลือด ระดับอินซูลินในเลือดจึงมีความจำเป็นที่ต้องทำในเด็กอ้วน เพื่อบอกถึงการพยากรณ์โรคและการป้องกัน แต่หากต้องตรวจในผู้ป่วยโรคอ้วนทุกรายจะเป็นการสิ้นเปลืองมากเกินไป การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความสัมพันธ์ของผลจากการวัดความเจริญเติบโต ระดับความอ้วน และประวัติโรคในครอบครัวที่มีผลต่อความผิดปกติของระดับไขมัน ระดับอินซูลินในเลือดในเด็กอ้วน ซึ่งอาจนำไปใช้ในการคัดกรองหาเด็กอ้วนที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ โดยการคัดเลือกเฉพาะผู้ที่มีความเสี่ยงสูงมาทำการตรวจเพิ่มเติมทางห้องปฏิบัติการ ทำให้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายในการตรวจทางห้องปฏิบัติการได้

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดในเด็กอ้วนโดย Bogalusa Heart Study [11]พบว่าเด็กอ้วนส่วนใหญ่มักตรวจพบว่ามีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดเพียงร้อยละ 39 เท่านั้นที่ไม่พบปัจจัยเสี่ยงเหล่านี้ และเด็กอ้วนร้อยละ 34, 16 และ11 มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด 1, 2 และ 3 ชนิดหรือมากกว่าตามลำดับ โดยปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด ได้แก่ ระดับไขมันในเลือดสูง ระดับอินซูลินในเลือดสูง ความดันโลหิตสูงในเด็กที่ทำการศึกษาที่มีอายุระหว่าง 5-17 ปี และมี BMI ที่มากกว่า 85 percentile สำหรับอายุและเพศ พบว่ามีความเสี่ยงต่อการมี diastolic และ systolic blood pressure สูงเป็น 2.4 เท่าและ 4.5 เท่าของเด็กปกติตามลำดับ และมีโอกาสของการตรวจพบความผิดปกติของระดับไขมันในเลือดได้แก่การมีระดับ LDL cholesterol สูง มีระดับ HDL cholesterol ต่ำ และมีระดับ triglyceride สูงเป็น 3.0 3.4 และ 7.1 เท่าของเด็กปกติตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีโอกาสพบการมีระดับอินซูลินสูงผิดปกติเป็น 12.6 เท่า

การศึกษาใน European Study[12] พบว่า มีเพียงร้อยละ 14.4 ของเด็กอ้วนเท่านั้นที่ไม่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดและโรคหลอดเลือดแข็ง ในขณะที่เด็กร้อยละ 79มีน้ำหนักปกติที่ไม่พบปัจจัยเสี่ยงดังกล่าว และร้อยละ 8.9 ของเด็กอ้วนจะมีปัจจัยเสี่ยงถึง 4 ชนิด การ

ที่เด็กอ้วนมีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดสูงแสดงว่าเด็กเหล่านี้มีโอกาสเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดหรือโรคของหลอดเลือดเมื่อเติบโตเป็นผู้ใหญ่ตั้งแต่อายุยังน้อย (premature coronary artery disease อายุน้อยกว่า 55 ปี) ได้สูงกว่าเด็กที่มีน้ำหนักปกติ และจากการศึกษาเกี่ยวกับพยาธิสภาพของการเกิด atherosclerosis พบว่าเริ่มมีไขมันเกาะที่บริเวณผนังของหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจเกิดขึ้นตั้งแต่ในวัยเด็กและมีความสัมพันธ์กับโรคอ้วนและการพบปัจจัยเสี่ยงต่างๆ [13]โดยเฉพาะการมีระดับไขมันในเลือดสูงผิดปกติ อีกทั้งยังพบว่าลักษณะของความอ้วนที่เป็นแบบ central obesity (android fat pattern) เป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการมีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดอีกด้วย[14]

การศึกษาของ Muscatine Heart Study[15] โดยการติดตามเด็กที่มีระดับไขมันในเลือดที่สูงกว่าระดับ 95 percentile ไปจนถึงวัยผู้ใหญ่ พบว่ามีความต่อเนื่องของการมีความผิดปกติของระดับไขมันในเลือดตั้งแต่ในวัยเด็กจนถึงวัยผู้ใหญ่ เด็กเหล่านี้เมื่อเติบโตเป็นผู้ใหญ่ร้อยละ 43 จะยังคงมีระดับไขมันในเลือดที่สูงกว่า 90 percentile และร้อยละ 60 มีระดับไขมันในเลือดสูงกว่า 75 percentile

การศึกษาของ พ.ญ. อวยพรและคณะ[16] ในเด็กที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้แก่การที่มีบุคคลในครอบครัวเป็นโรคหัวใจขาดเลือดเมื่ออายุน้อยกว่า 55 ปีหรือมีระดับ cholesterol ในเลือดสูงกว่า 240 mg/dl พบว่าไม่มีความแตกต่างของการพบความผิดปกติของระดับ cholesterol ในเลือดที่สูงกว่า 170 mg/dl ระหว่างเด็กที่อ้วนและเด็กที่ไม่อ้วน และการศึกษาของ พ.ญ.ภารวี [17]เกี่ยวกับความชุกของการมีระดับไขมันในเลือดสูงผิดปกติในเด็กนักเรียนที่อ้วนในปี พ.ศ.2543 พบว่าเด็กอ้วนไม่ได้มีความชุกของภาวะ cholesterol ในเลือดสูงมากกว่าเด็กปกติ และระดับความอ้วนมากหรือน้อยไม่สามารถใช้เป็นตัวบอกระดับ cholesterol ในเลือดที่สูงผิดปกติได้ แต่พบว่าหากใช้ความอ้วนร่วมกับการมีระดับ cholesterol ในเลือดสูงของบิดา/มารดา จะสามารถตรวจพบภาวะ cholesterol ในเลือดสูงในเด็กอ้วนได้สูงเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ความอ้วนอย่างเดียว (42% และ 28% ตามลำดับ) จากการศึกษาของ พ.ญ.อวยพรและการศึกษาของพ.ญ.ภารวี ดังกล่าวข้างต้นได้ผลแตกต่างจากการศึกษาในต่างประเทศที่ผ่านมา การทำการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโรคอ้วนในเด็กให้ครอบคลุมมากขึ้น โดยหาความสัมพันธ์ของปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (ระดับไขมันในเลือดสูง ระดับอินซูลินในเลือดสูง)กับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ประวัติโรคหัวใจขาดเลือดในครอบครัว ประวัติโรคไขมันในเลือดสูงในครอบครัว ระดับของความอ้วน และการกระจายของไขมันแบบandroid type เพื่อนำมาเป็นตัวคัดกรองในการตรวจระดับไขมันและระดับอินซูลินในเลือดของเด็กอ้วนต่อไป

การศึกษาเรื่องความอ้วนในเด็กกับการกระจายของไขมันในปี ค.ศ.1998ของ Arnold H. และคณะ[18] พบว่าเด็กอ้วนมี hypertriglyceride, low HDL, NIDDM หรือมีความผิดปกติใน glucose tolerance สูงขึ้น และ distribution of fat มีความสัมพันธ์กับ metabolic complication ส่วนในผู้ใหญ่ พบว่าการวัด body mass index, waist circumference, waist/hip circumference ratio โดยที่ waist circumference มีความไวและความจำเพาะกับ visceral fat area มากที่สุด[19] และการศึกษาในจีน[20] พบว่า body mass index สามารถนำมาคำนวณเป็น obesity index (BMI ≥24) และ waist circumference (WC≥85cm ในผู้ชาย WC≥80 cm ในผู้หญิง)

การศึกษาใน Yugoslavia[21] พบว่าอายุของการเกิดโรคอ้วนมีผลต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อน โดยกลุ่มที่มีโรคอ้วนตั้งแต่ก่อนอายุ 19 ปีมีระดับ triglyceride ที่สูงกว่า ระดับ HDL ที่ต่ำกว่า และมีค่าความดันโลหิตที่สูงกว่ากลุ่มที่มีโรคอ้วนหลังอายุ 19 ปี ส่วนการศึกษา PDAY study[22,23] พบว่าการมีระดับ VLDL- cholesterol และ LDL- cholesterol สูง , HDL cholesterol ต่ำ ความดันโลหิตสูง และน้ำตาลในเลือดสูง มีความสัมพันธ์กับการเกิด atherosclerosis ตั้งแต่ในเด็ก ซึ่งจะทำให้เกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดตามมาในผู้ใหญ่ได้ อีกทั้งเด็กและวัยรุ่นที่มีระดับ cholesterol ในเลือดสูง มีแนวโน้มที่จะเติบโตเป็นผู้ใหญ่ที่มีระดับ cholesterol ในเลือดสูงด้วย[24,25] จากผลการศึกษาดังกล่าว การป้องกันและรักษาภาวะโรคอ้วนควรทำตั้งแต่อายุยังน้อยจะมีประโยชน์ในระยะยาวมากกว่า

การศึกษาเกี่ยวกับระดับ insulin ในเด็กอ้วนพบว่า ในกลุ่มที่มีค่าระดับ insulin สูงจะมีค่า Triglyceride สูง,มีความดันโลหิตสูง และมีค่า HDL cholesterol ต่ำด้วย[26] Bogalusa Heart Study ก็พบว่ากลุ่มที่มีค่า Insulin สูง มีค่า Serum triglyceride, LDL cholesterol, VLDL cholesterol, glucose level, blood pressure สูง และมีค่า serum HDL cholesterol ต่ำ[27] อีกทั้งในศึกษาระยะยาวในกลุ่ม Syndrome X ก็พบว่าปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือด (dyslipidemia, hyperinsulinemia) สัมพันธ์กับ BMI ที่มีค่าเพิ่มขึ้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากร

<u>ประชากรเป้าหมาย</u>

เด็กอ้วนที่มารับบริการตรวจรักษาที่คลินิกหน่วยพัฒนาการและหน่วยโภชนาการ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และเด็กอ้วนที่เข้าโครงการบำบัดโรคอ้วนและภาวะไขมันในเลือดสูงในเด็กวัยเรียนจากโรงเรียนกรุงเทพคริสเตียน

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา(Inclusion criteria)

1) เด็กและวัยรุ่นที่ผู้ปกครองยินดีให้ความร่วมมือในการศึกษา

2) มีน้ำหนัก(actual weight) ต่อ น้ำหนักต่อความสูง(expected weight for height) มากกว่าร้อยละ 120

กฎเกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1) มีโรคทางโครโมโซม กลุ่มอาการต่าง ๆ โรคทางระบบต่อมไร้ท่อ

2) รับประทานยาที่มีผลต่อระดับ cholesterol อินซูลินในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา ได้แก่ ยาขับปัสสาวะ ยารักษาเบาหวาน ยาลดระดับไขมันในเลือด

การคำนวณขนาดตัวอย่าง(Sample Size Determination)

คำนวณจากการศึกษาของ พ.ญ.ภารวี หิรัญรัตน์ ซึ่งพบว่า ความชุกของภาวะ cholesterol ในเลือดสูงในเด็กอ้วน มีประมาณร้อยละ 35 โดยยอมรับให้มีความคลาดเคลื่อนไม่เกินร้อยละ 10 กำหนดความเชื่อมั่นในการสรุปข้อมูลเท่ากับ 95%

$Z_\alpha = Z_{0.05/2} = 1.96$ (two tail)

สูตร $n = Z_\alpha{}^2PQ/d^2$

P = อัตราการเกิดเหตุการณ์ = 0.3

$Q = 1 - P = 1 - 0.35 = 0.65$

d = acceptable error = 0.1

แทนค่า $n = (1.96)^2(0.35)(0.65)/(0.1)^2$

$= 87.39$

ดังนั้น จึงต้องใช้ขนาดตัวอย่าง อย่างน้อย 88 ตัวอย่าง

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1) เครื่องชั่งน้ำหนักมาตรฐานแบบสปริงที่มีความละเอียดในการวัดเท่ากับ 0.1 กิโลกรัม ทำการวัดโดยเจ้าหน้าที่ประจำแผนกต่อมไร้ท่อ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

2) เครื่องวัดส่วนสูงมาตรฐาน(Harpenden Standiometer)ที่มีความละเอียดในการวัดเท่ากับ 0.5 เซนติเมตร ทำการวัดโดยเจ้าหน้าที่ประจำแผนกต่อมไร้ท่อ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

3) สายวัดทำจากพลาสติกที่มีความละเอียดในการวัดเท่ากับ 0.1 เซนติเมตร ทำการวัดโดยแพทย์ประจำบ้านปี 2 แผนกต่อมไร้ท่อ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

4) เครื่อง sphygomanometer ที่มีความกว้างและความยาวของ cuff ที่เหมาะสมกับผู้เข้าร่วมการศึกษาแต่ละคน (2/3ของความยาวของต้นแขน) และทำการวัดโดยเจ้าหน้าที่ทางสาธารณสุขที่ได้รับการอบรมวิธีการวัดความดันโลหิตและวัดหลังจากประชากรที่ทำการศึกษานั่งพักแล้วอย่างน้อย 5 นาที และหากมีความดันโลหิตที่สูงสำหรับอายุและเพศ ก็จะให้นั่งพักอย่างน้อย 30 นาทีจึงทำการวัดความดันโลหิตซ้ำ

5) เครื่องตรวจวัดระดับไขมันในเลือดของบริษัท Roche diagnostic cooperation ตรวจโดยห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

6) เครื่องตรวจวัดระดับอินซูลินในเลือดของบริษัท Immulite ตรวจโดยห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

7) แบบสอบถามและบันทึกข้อมูลพื้นฐาน ข้อมูลครอบครัว ข้อมูล anthropometric measurement ซึ่งถามโดยผู้วิจัยและแพทย์ประจำบ้านปี 2 ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้วิจัยเป็นผู้เก็บรวบรวมข้อมูล บันทึกข้อมูลลงในแบบสอบถามของการวิจัย และตรวจสอบความสมบูรณ์ของข้อมูลเพื่อให้ได้ครบถ้วนตามจำนวนที่ต้องการ และได้รับความร่วมมือจากหน่วยต่อมไร้ท่อภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ในการดำเนินการเจาะเลือดและเก็บข้อมูล

1)ข้อมูลของเด็ก ได้แก่

1.1)ข้อมูลพื้นฐาน

-เพศ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

-อายุ (ปี และเดือน)

1.2)Anthropometric measurement

-น้ำหนัก (กิโลกรัม)

-ความสูง (เซนติเมตร)

-% Weight for height=(Actual weight/Expected weight for height) * 100

-Waist circumference

-Waist/hip circumference ratio

1.3)Blood pressure

1.4)ระดับไขมันในเลือด

1.5)ระดับอินซูลินในเลือด

2)ข้อมูลของบุคคลในครอบครัว

ประวัติโรคหัวใจขาดเลือดในครอบครัว

ประวัติโรคไขมันในเลือดสูงในครอบครัว

ประวัติโรคเบาหวานในครอบครัว

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ความชุกของภาวะไขมันในเลือดสูง ภาวะอินซูลินในเลือดสูงในเด็กอ้วนได้จากการคำนวณเป็นร้อยละ

2. การทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ กับภาวะไขมันในเลือดสูง ภาวะอินซูลินในเลือดสูง โดยวิธี Univariate analysis

-ถ้าข้อมูลและ Outcome เป็น Proportion ใช้ Chi-square test

-ถ้าข้อมูลเป็น Continuous data ใช้ Unpaired T-test

3. การทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเลือดสูง ภาวะอินซูลินในเลือดสูง โดยวิธี Binary logistic regression analysis

4. การทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างระดับอินซูลินในเลือดกับระดับความอ้วน โดยใช้ Sensitvity Specificity Positive predictive value Negative predictive value และ Odd ratio

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั่วไป

เด็กอ้วนที่เข้าร่วมการวิจัยทั้งหมด 65 คน มีอายุระหว่าง 3 ปี 4 เดือนถึงอายุ 16 ปีเป็นเพศชาย 50 คน (ร้อยละ 77) เพศหญิง 15 คน (ร้อยละ 23) แบ่งเป็น mild obesity 9 คน (ร้อยละ 13.8) moderate obesity 22 คน(ร้อยละ 33.8) severe obesity 22 คน (ร้อยละ 33.8) และ morbid obesity 9 คน(ร้อยละ 13.8) ดังตารางที่ 1

<u>ตารางที่ 1</u> แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กอ้วนตามค่า Degree of obesity

Degree of obesity	**จำนวน(คน)**	**ร้อยละ**
Mild	8	13
Moderate	22	36
Severe	13	37
Morbid	9	14
รวม	62	100

การวัดน้ำหนัก ความสูง เส้นรอบเอว (waist circumference) และ hip circumference นำมาคำนวณเป็น waist circumference/hip circumference ratio พบว่าร้อยละ22ของเด็กอ้วนมี Waist/Hip circumference ratio≥1(android type of obesity)ดังตารางที่ 2 และคำนวณ body mass indexเป็นดังตารางที่ 3

<u>ตารางที่ 2</u> แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กตาม Waist /Hip circumference ratio

Waist circumference/Hip circumference(cm)	**จำนวน(คน)**	**ร้อยละ**
0.81-0.90	13	22
0.91-1.00	33	56
1.01-1.10	11	19
1.11-1.20	2	3
รวม	59	100

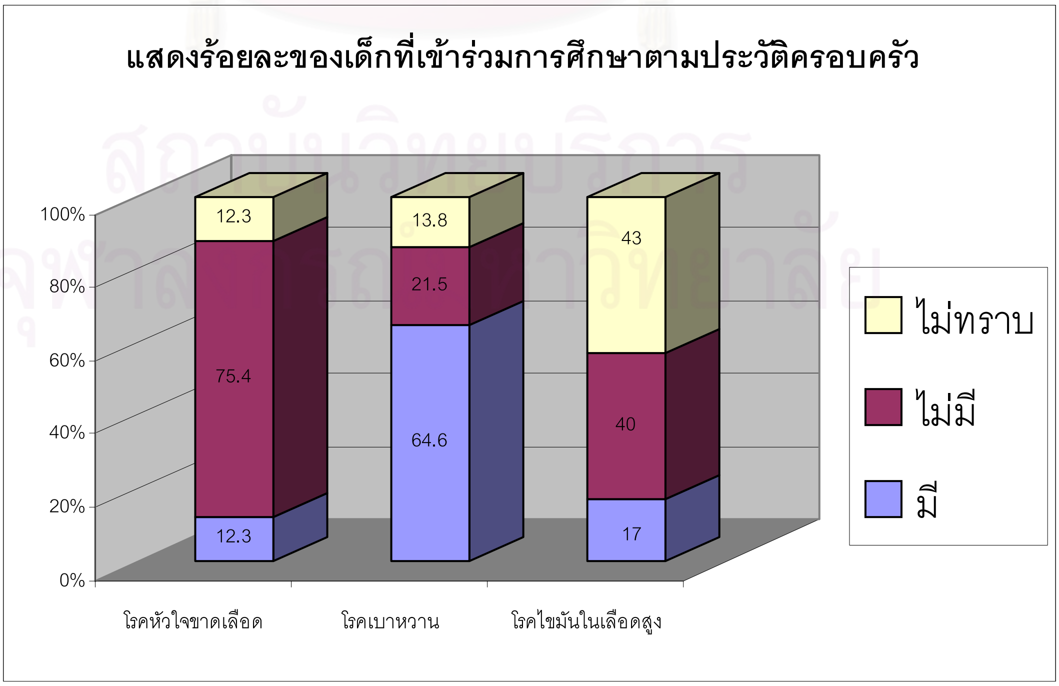
<u>ตารางที่ 3</u> แสดงจำนวนและร้อยละเด็กตามค่า BMI (body mass index)

BMI (Body mass index)	จำนวน(คน)	ร้อยละ
<25.00	12	19
25.01-30.00	325	40
30.01-35.00	13	21
35.01-40.00	6	9
40.01-45.00	2	84
45.01-50.00	3	5
>50.00	1	2
รวม	62	100

<u>ประวัติโรคหัวใจขาดเลือด โรคเบาหวาน โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดในครอบครัว</u>

ร้อยละ 12.3 เป็นเด็กอ้วนที่มีประวัติโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดในครอบครัว ร้อยละ 64.6 เป็นเด็กอ้วนที่มีประวัติโรคเบาหวานในครอบครัว ร้อยละ 17 เป็นเด็กอ้วนที่มีประวัติโรคไขมันในเลือดสูงในครอบครัว และร้อยละ 43 เป็นเด็กอ้วนที่ไม่ทราบประวัติโรคไขมันในเลือดสูงในครอบครัว ดังแผนภูมิที่ 1

แผนภูมิที่ 1 แสดงร้อยละของเด็กที่เข้าร่วมการศึกษาแบ่งตามประวัติครอบครัว



<u>การตรวจวัดระดับไขมันในเลือด</u>

เด็กอ้วนร้อยละ 19 มีระดับไขมันในเลือดสูงโดย cholesterol≥200mg/dl ร้อยละ 28 มีระดับtriglycerideสูง(ร้อยละ 7.6สำหรับอายุ<10ปี ร้อยละ20.4 สำหรับอายุ10-19ปี) ร้อยละ 16 มีระดับ LDLสูง ร้อยละ 3 มีระดับHDLต่ำ ดังตารางที่ 4

<u>ตารางที่ 4</u>แสดงผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ(ระดับ cholesterol triglyceride ระดับLDL cholesterol ระดับHDL cholesterol)

ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ	จำนวน(คน)	ร้อยละ
ระดับ cholesterol(mg/dl)		
<170	28	43
170-199	25	38
≥200	12	19
ระดับ triglyceride(mg/dl)อายุ <10 ปี		
<75	12	18.4
75-99	5	7.6
≥100	5	7.6
ระดับ triglyceride(mg/dl)อายุ 10-19 ปี		
<90	11	17
90-129	19	29
≥130	13	20.4
ระดับ LDL cholesterol(mg/dl)		
<110	28	64
110-129	9	20
≥130	7	16
ระดับ HDL cholesterol(mg/dl)		
<35	1	3
35-45	16	37
≥45	26	60

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>การตรวจวัดระดับอินซูลินในเลือด</u>

จากการตรวจระดับอินซูลินในเลือดหลังจากงดอาหารก่อนตรวจ 12 ชั่วโมง โดยวิธี Immunometric assay พบว่าเด็กที่เข้าร่วมการศึกษามีระดับอินซูลิน<25 mU/L จำนวน 48ราย คิดเป็นร้อยละ 73.8 และมีระดับอินซูลิน ≥25 mU/L จำนวน 17 ราย คิดเป็นร้อยละ 26.2 ดังตารางที่ 5

<u>ตารางที่ 5</u> แสดงจำนวนและร้อยละของเด็กที่เข้าร่วมศึกษา แบ่งตามระดับอินซูลินในเลือด

ระดับอินซูลินในเลือด(mU/L)	จำนวน(คน)	ร้อยละ
<25	48	72
≥25	17	28
รวม	65	100

สำหรับระดับอินซูลินและระดับความอ้วนพบว่า (ตารางที่ 6)

ร้อยละ 67ในกลุ่ม morbid obesity มี Insulin≥25mU/L ร้อยละ 20 ในกลุ่ม severe obesity มีInsulin≥25mU/L ร้อยละ 23ในกลุ่ม moderate obesity มี Insulin≥25mU/L ร้อยละ 11 ในกลุ่ม mild obesity มี Insulin≥25mU/L

<u>ตารางที่ 6</u> แสดงภาวะอินซูลินในเลือดและระดับความอ้วน

Degree of obesity	Insulin≥25 mU/L	ร้อยละ	Insulin<25 mU/L	ร้อยละ	รวม (ราย)
Mild	1	11	8	89	9
Moderate	5	23	17	77	22
Severe	5	20	20	80	25
morbid	6	67	3	33	9

จากการศึกษาพบว่าในกลุ่ม morbid obesity มีระดับอินซูลิน≥25mU/Lเป็น 16 เท่าของกลุ่ม mild obesity อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value=0.041) ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงค่า Odd ratio ของระดับความอ้วนเมื่อเทียบกับ mild obesity

Degree of obesity	**Odd ratio**	**p-value**	**95%CI**
Moderate	2.35	0.868	-3.12-7.82
Severe	2	0.658	-1.08-5.08
morbid	16	0.041	4.8-27.2

จากข้อมูลตารางที่ 8สามารถนำมาคำนวณค่าทางสถิติได้ดังนี้

Sensitivity = 14/17 = 82%

Specificity = 30/48 = 62.5%

Positive predictive value = 14/44 = 32%

Negative predictive value = 18/21 = 86%

แสดงว่า ถ้าเด็กอ้วนมีผล Insulin≥25mU/L จะเป็นกลุ่มที่อายุ ≥10 ปี คือ ร้อยละ82

ถ้าเด็กอ้วนมีผล Insulin<25mU/L จะเป็นกลุ่มที่อายุ <10 ปี คือ ร้อยละ62.5

ถ้าเด็กอ้วนอายุ ≥10ปี จะมีโอกาสที่ผล Insulin≥25mU/L คือ ร้อยละ32

ถ้าเด็กอ้วนอายุ<10 ปี จะมีโอกาสที่ผล Insulin<25mU/L คือ ร้อยละ 86

ตารางที่ 8 แสดงระดับอินซูลินและช่วงอายุ (<10 ปี และ≥10 ปี)

Age(years)	**Insulin level(mU/L)**		**Total**
	Insulin≥25mU/L	**Insulin<25mU/L**	
≥10	14	30	44
<10	3	18	21
Total	17	48	65

<u>การหาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ศึกษากับระดับไขมันและระดับอินซูลินในเลือด</u>

จากการเปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ Sex Waist circumference Hip circumference Waist/Hip circumference ratio Degree of obesity BMI Familial history of DM Familial history of IHD Familial history of hyperlipidemia กับระดับไขมันและระดับอินซูลินในเลือด พบว่า ระดับ cholesterol HDL และLDLที่สูงไม่มีความสัมพันธ์กับปัจจัยที่ศึกษา แต่ระดับtriglycerideที่สูงมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ Waist circumference Hip circumference และ Familial

history of DM (0.014,0.009และ0.046ตามลำดับ) ส่วนระดับ insulin ที่สูงมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ Waist circumference Hip circumference และ Degree of obesity (0.001,0.001 และ0.004ตามลำดับ) ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบปัจจัยที่ศึกษากับระดับไขมันและระดับอินซูลินในเลือดโดย Univriate analysis

ปัจจัยที่ศึกษา	Cholesterol	Triglyceride	HDL cholesterol	LDL cholesterol	Insulin
Sex	0.864	0.532	0.692	0.052	0.960
Waist circumference	0.506	0.014*	0.650	0.497	0.001*
Hip circumference	0.632	0.009*	0.874	0.890	0.001*
Waist/Hip circumference ratio	0.645	0.867	0.417	0.165	0.483
Degree of obesity	0.163	0.215	0.609	0.764	0.004*
BMI	0.608	0.939	0.961	0.539	0.160
Cholesterol	-	0.133	0.423	0.248	0.133
Triglyceride	0.395	-	0.972	0.453	0.136
HDL	0.182	0.138	-	0.349	0.118
LDL	0.368	0.606	0.976	-	0.791
Familial history of DM	0.137	0.046*	0.651	0.451	0.178
Familial history of IHD	0.531	0.875	0.689	0.323	0.531
Familial history of hyperlipidemia	0.808	0.227	0.753	0.642	0.722

และเมื่อนำปัจจัยศึกษาที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมาหาค่าความสัมพันธ์โดยใช้ Binary logistic regression analysis พบว่า มีเพียง Degree of obesity เท่านั้นที่มีความสัมพันธ์กับระดับinsulinที่สูง(p-value=0.024) ส่วน hypertriglyceridemia ไม่มีความสัมพันธ์กับ waist circumference hip circumference หรือ familial history of DM ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงค่า p-value(Binary logistic regression analysis-Enter) ระหว่างภาวะ Hypertriglyceride Hyperinsulinemia และ Waist circumference Hip circumference Degree of obesity

ปัจจัยที่ศึกษา	Hypertriglyceridemia	Hyperinsulinemia
Waist circumference	0.777	0.895
Hip circumference	0.316	0.120
Degree of obesity	-	0.024*
Familial history of DM	0.501	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษานี้พบความชุกของภาวะไขมันในเลือดสูงและภาวะอินซูลินในเลือดสูงในเด็กอ้วนที่มารับการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และจากโรงเรียนกรุงเทพคริสเตียนตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ.2545-กุมภาพันธ์ พ.ศ.2546 ดังนี้

- ความชุกของภาวะCholesterol ในเลือดสูง = ร้อยละ 19
- ความชุกของภาวะ triglycerideในเลือดสูง = ร้อยละ 28
- ความชุกของภาวะLDLในเลือดสูง = ร้อยละ 16
- ความชุกของภาวะ HDL ในเลือดต่ำ = ร้อยละ 3
- ความชุกของภาวะ Insulinในเลือดสูง = ร้อยละ 26.2

พบว่าภาวะไขมันในเลือดสูงไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความอ้วน(Degree of obesity)หรือลักษณะของความอ้วนในเด็ก(ดูจากการวัดค่า Waist circumference, Hip circemference , Waist circumference / Hip circumference ratio) ส่วนภาวะอินซูลินในเลือดสูงมีความสัมพันธ์กับระดับความอ้วน(Degree of obesity)อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(p-value 0.024) เมื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณเป็นOdd ratio เทียบกับ mild obesity แล้วกลุ่มmorbid obesityมีระดับอินซูลินสูงมากกว่ากลุ่มmild obesity 16 เท่า

เมื่อนำช่วงอายุและระดับอินซูลินในเลือดมาคำนวณค่าทางสถิติได้ดังนี้

Sensitivity = 14/17 = 82%

Specificity = 30/48 = 62.5%

Positive predictive value = 14/44 = 32%

Negative predictive value = 18/21 = 86%

แสดงว่า ถ้าเด็กอ้วนมีผล Insulin≥25mU/L จะเป็นกลุ่มที่อายุ ≥10 ปี คือ ร้อยละ82

ถ้าเด็กอ้วนมีผล Insulin<25mU/L จะเป็นกลุ่มที่อายุ <10 ปี คือ ร้อยละ62.5

ถ้าเด็กอ้วนอายุ ≥10ปี จะมีโอกาสที่ผล Insulin≥25mU/L คือ ร้อยละ32

ถ้าเด็กอ้วนอายุ<10 ปี จะมีโอกาสที่ผล Insulin<25mU/L คือ ร้อยละ 86

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการศึกษาเด็กอ้วนที่มารับการตรวจรักษาที่แผนกกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ร้อยละ 57(37ราย)มีcholesterol≥170 mg/dl ซึ่งสูงกว่าเมื่อเทียบกับการศึกษาความชุกของเด็กอ้วนที่มีภาวะ cholesterol ในเลือดสูงของแพทย์หญิงภารวี(ร้อยละ34.58) อีกทั้งยังสูงกว่าการศึกษาของความชุกของเด็กอ้วนที่มีภาวะ cholesterol ในเลือดสูงของนายแพทย์ประสงค์ เทียนบุญและคณะ(ร้อยละ38.7) และแพทย์หญิงอุมาพร สุทัศน์วรวุฒิและคณะ(ร้อยละ40.4) แสดงว่า เด็กอ้วนที่มารับการตรวจรักษาที่ภาคกุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์มีความชุกของภาวะ cholesterol ในเลือดสูงมากกว่า อาจเกิดจากการที่ผู้ปกครองจะเห็นความสำคัญของการนำเด็กอ้วนมารักษาก็ต่อเมื่อเด็กอ้วนมากแล้ว (ในการวิจัยนี้พบว่ามีกลุ่มmoderate obesityร้อยละ33.8 และกลุ่ม severe obesityร้อยละ33.8) อีกทั้งยังพบว่าระดับความอ้วนมากหรือน้อย หรือลักษณะของความอ้วนในเด็ก (ดูจากการวัดค่า Waist circumference, Hip circemference , Waist circumference / Hip circumference ratio) ไม่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ของการมีระดับไขมันในเลือดที่มีค่าผิดปกติได้ ซึ่งเหมือนกับการศึกษาของแพทย์หญิงภารวีที่พบว่าระดับความอ้วนไม่สามารถใช้เป็นตัวบอกระดับ cholesterol ในเลือดได้ แต่แตกต่างจากการศึกษาโดย Morrison และคณะ ที่พบว่ายิ่งมีระดับความอ้วนเพิ่มขึ้นก็จะยิ่งมีระดับ cholesterol ในเลือดสูงมากขึ้น อาจเกิดจากความแตกต่างระหว่างเชื้อชาตินิสัยในการรับประทานอาหาร โดยความอ้วนในกลุ่มเด็กอ้วนไทยไม่พบว่าสัมพันธ์กับระดับไขมันในเลือดสูง

ระดับอินซูลินในเลือดสูงในการศึกษานี้มีความชุก(ร้อยละ26.2)ซึ่งใกล้เคียงกับที่พบในการศึกษาของ Sonia Caprioและคณะ[30](ร้อยละ25) และพบว่ามีความสัมพันธ์กับระดับความอ้วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value = 0.024) โดยเปรียบเทียบค่า Odd ratioกับ Mild obesity แล้วพบว่า ระดับ Morbid obesity มีค่าเป็น 16 เท่า แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับประวัติโรคเบาหวานในครอบครัว และกลุ่มที่มีระดับอินซูลินในเลือดสูงไม่ได้มีความสัมพันธ์กับการมีระดับไขมันในเลือดสูงซึ่งแตกต่างกับการศึกษาโดย Bogalusa Heart study[28] และพบว่าในกลุ่มที่มีระดับอินซูลินในเลือดสูง

(≥25mU/L) สัมพันธ์กับอายุที่มากกว่า 10 ปี ซึ่งอาจจะเกิดจากเปลี่ยนแปลงเมื่อเข้าสู่ช่วงวัยรุ่น

สำหรับAnthropometric measurement ในการศึกษาของ Arnold H.และคณะ เด็กอ้วนมี hypertroglyceride,low HDL,Impaired glucose tolerance,distribution of fat สัมพันธ์กับ metabolic complication และการศึกษาในผู้ใหญ่ชาวจีนโดย Jia Wและคณะพบว่า waist circumference มีความไวและจำเพาะกับ visceral fat area มากที่สุด แต่ในการศึกษานี้กลับพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับระดับไขมันในเลือดนั้น อาจเกิดจากการศึกษานี้ใช้ข้อมูลทั้งจากchildren&adolescents ซึ่งในกลุ่มchildren

การกระจายของไขมันยังไม่ได้เป็นแบบ android typeอย่างชัดเจนเท่า adult อีกทั้งการศึกษานี้ทำในเด็กอ้วนที่มารับการตรวจรักษาที่แผนกกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และจากโรงเรียนกรุงเทพคริสเตียน ดังนั้นค่าที่ได้จึงอาจไม่สามารถนำไปใช้ในประชากรทั่วไปได้

ข้อเสนอแนะ

ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้ยังมีขนาดประชากรน้อย (จากที่ตั้งไว้ 88 คนแต่สามารถรวบรวมข้อมูลได้เพียง 65 คน) อีกทั้งข้อมูลในรายละเอียดยังไม่สมบูรณ์ ซึ่งหากได้มีการเก็บข้อมูลเพิ่มขึ้นน่าจะสามารถบอกความแตกต่างของความสัมพันธ์ได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้นเพื่อให้ได้ปัจจัยที่จะสามารถนำมาคัดกรองหาเด็กอ้วนที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ โดยการคัดเลือกเฉพาะผู้ที่มีความเสี่ยงสูงมาทำการตรวจเพิ่มเติมทางห้องปฏิบัติการ ทำให้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายในการตรวจทางห้องปฏิบัติการได้ต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

1. Newman WP III, Wagigney W, Berenson GS. Autopsy studies in U.S children and adolescents : relationship of risk factors to atherosclerotic lesions. Ann NY Acad Sci1991;623:16-25

2. Berenson GS, Srivisan SR, Bao W, Newman WPIII, Tracy RE, Wattigney Wa. Association between Multiple Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerosis in children and young adults. N Engl J Med 1998;338:1650-6

3. Khaodhiar L, Blackburn GL. Obesity assesment. Am Heart J 2001 ; 142:1095-1101

4.The Asia-Pacific perspective redefining obesity and its treatment. Australia Health Communication Australia ;2000.http://www.obesityasiapacific.com/title.htm.

5. The National Health Foundation. The Thailand Research Fund.

6. Guo SS, Huang C, Maynard LM, et al. Body mass index during childhood , adolescence and young adulthood in relation to adult overweight and adiposity: The Fels Longitudinal Study. Int J Obes Relat Metab Disrd 2000;24:1628-35.

7. Wright CH, Parker L, Lamont D, Craft AW. Implication of childhood obesity for adult health: finding from thousand families cohort study. BMJ 2001;323:1280-4.

8. Gunnell DJ, Frankel SJ, Namchahal K, et al. Childhood obesity and adult cardiovascular mortality: A 57-year follow-up study on the Boyd Orr cohort. Am J Clin Nutr 1998;67;1111-8.

9. Must A, Jacques PF, Dallal GE. Long term morbidity and mortality of overweight adolescents: A follow-up of the Haward Growth Study of 1922to1935.N Eng J Med 1992;327;1350-5.

10. American Academy of Pediatrics, Committee on Nutrition.Cholesterol in Childhood. Pediatrics 1998; 101: 141-47.

11. Freedman DS, Khan LK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study. Pediatrics 2001:108;712-8.

12. Csabi G, Torok K, Jeges S. Presence of metabolic cardiovascular syndrome in obese children. Eur J Pediatric2000;159:91-4.

13. Strong JP, Oalmann MC, Malcolm GT. Atherosclerosis in youth: relationship of risk factors to arterial lesions. In Filter LJ, Leauer RM, Luepker RV, ed. Prevention of artherosclerosis and hypertension beginning in youth. Lea & Febiger.Philadelphia.1994:13-8.

14. Stephen RD, Morrison JA, et al.Association of body fat distribution and cardiovascular risk factors in children and adolescents. Circulation.1999;99:541-545.

15. Lauer RM, Lee J, Clake WR. Predicting adult cholesterol levels from measurements in childhood and adolescence: The Muscatine Study. Bull N Y Acad Med 1989;65:1127-42.

16. Chevathavorn A, Chotivitayatarakorn P. Hyperlipidemia in children with coronary heart disease risk factors. Thesis for degree of Master of Science in Pediatrics :Chulalongkorn University;1999

17.Hiranrat P, Chotivitayarakorn P. Correlation of body mass index and percent weight for height in Thai male adolescent .(Abstract)54th Thai congress of Pediatrics.

18. Slyper AH. Childhood obesity, adipose tissue, distribution and the Pediatric Practitioner. Pediatrics 1998;102 :e4

19 Savva SC et al.Waist circumference and waist-to-height ratio are better predictors of cardiovascular disease risk factors in children than body mass index.Int J Obes Relat Metab Dis 2000;24:1453-8

20.Jia W et al.Evaluation of abdominal visceral obesity from anthropometric parameter varying receive operating characteristic curves.Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi 2002 Feb 23(1);20-3

21.Mijailoviv V,Mijalovi M.Effects of Childhood and Adolescent obesity on morbidity in adult ife.J Ped Endocr Metb 2001;14 Suppl 5:1339-44

22.Mcgill HC,Mcmahan CA,and the Pathological Determinant of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group.Determinants of atherosclerosis in the young.Am J Cardiol 1998 Nov;82 (10 B):30T-36T

23.PDAY Research Group.Relationship in young men to serum lipoprotein cholesterol concentrations and smoking:a preliminary report from the PDAY Group.JAMA 1990;264:3018-24

24.Lauer RM,Lee J,Clarke WR.Factor affecting the relationship between childhood and adult cholesterol levels : The Muscatine Study.PEDIATRICS1988;82:309-18

25.Bao W,Srinivasan SR,Wattigney WA,Berenson GS.Usefulness of childhood low-density lipoprotein cholesterol level in predicting adult dyslipidemia and other cardiovascular risks:The Bogalusa Heart Study.Arch Intern Med 1996;156:1315-20

26.Ronnemaa T,Knip M,Lautala P, et al.Serum insulin and other cardiovascular risk indicators in children,adolescents and young adults.Ann Med 1991:23:67-72

27.Bao W,Srinivasan SR,Berenson GS.Persistent elevation of plasma insulin levels is associated with increased cardiovascular risk in children and young adults.The Bogalusa Heart Study.Circulation 1996:93:54-9

28. Reference Range-Table 726-6.Nelson Textbook of Pediatrics 16 th edition.2202

29. Reference Range-Table 726-6.Nelson Textbook of Pediatrics 16 th edition.2200

30. Sonia Caprio,Robert S. Sherwin,Gina Barbetta,Sara Taksali,Vera Rieger,et al.Prevalence of impaired glucose tolerance among children and adolescents with marked obesity 2002;346:802-9

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ใบยินยอมให้ทำการเจาะเลือดสำหรับโครงการวิจัย
"ความสัมพันธ์ระหว่างระดับไขมันในเลือด
ระดับอินซูลินในเลือดกับลักษณะของความอ้วนในเด็กอ้วน"

เด็กที่มีโรคอ้วนพบว่า มีภาวะแทรกซ้อนมากมาย เช่น โรคไขมันในเลือดสูง โรคเบาหวาน โรคเส้นเลือดหัวใจขาดเลือด โรคถุงน้ำดีอักเสบ โรคมะเร็งบางอย่าง ซึ่งเด็กอ้วนเมื่อโตเป็นผู้ใหญ่ก็มักจะมีภาวะอ้วนอยู่ด้วย และพบว่ามีภาวะแทรกซ้อนมากกว่าผู้ใหญ่ซึ่งในวัยเด็กไม่อ้วน โดยเฉพาะในเรื่องของหัวใจขาดเลือด

การศึกษานี้เป็นการศึกษาความชุกและปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิดโรคระบบหัวใจและหลอดเลือดในเด็กอ้วน บุตรหลานของท่านจะได้รับการตรวจระดับไขมันในเลือด ระดับอินซูลินในเลือด (ซึ่งมีผลต่อการเกิดโรคเบาหวาน)โดยการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำด้วยวิธีปลอดเชื้อและทำการเปลี่ยนหัวเข็มทุกครั้ง ซึ่งการตรวจนี้จะต้องได้รับการงดอาหารก่อนเจาะเลือดจึงจะได้ผลการตรวจที่ถูกต้อง และหากพบว่าบุตรหลานของท่านมีผลดังกล่าวอยู่ในระดับอันแสดงถึงว่ามีปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนจากโรคอ้วนในอนาคต จะได้รับคำแนะนำในการตรวจ ดูแลสุขภาพ และการดูแลรักษาต่อไปตามแต่ความรุนแรงของโรค

การเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ โดยทั่วไปจะไม่เกิดอันตรายร้ายแรงใด ๆ ข้อมูลทั้งหมดจะถูกเก็บเป็นความลับ และจะเปิดเผยเฉพาะในภาพรวมเพื่อประโยชน์ในทางการแพทย์เท่านั้น อีกทั้งต้องได้รับความยินยอมจากเด็กโดยไม่ใช่การบังคับขู่เข็ญ

ลงชื่อ...
(พ.ญ.สุวรรณี นำเกียรติวงษา)
วันที่.....เดือน................พ.ศ.........

ข้าพเจ้าได้รับทราบรายละเอียดทั้งหมด และยินยอมสมัครใจที่จะให้บุตรหลานของข้าพเจ้าเข้าร่วมการศึกษานี้ ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีอิสระที่จะยุติการเข้าร่วมการศึกษาเมื่อใดก็ได้ และบุตรหลานของข้าพเจ้าจะยังได้รับการดูแลรักษาอย่างดีที่สุดจากแพทย์

ผู้ปกครอง ลงชื่อ.......................................
(.......................................)

ลงชื่อ....................................... ลงชื่อ..
(...) (..)
พยาน พยาน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบบบันทึกข้อมูล

วันที่…………………… เลขที่……

ข้อมูลพื้นฐานของเด็ก

ชื่อ……………………………. สกุล………………………………………..

เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

วันเดือนปี เกิด………………………….. อายุ……….ปี………….เดือน

ที่อยู่ปัจจุบัน…………………………………………………………………………………

โทรศัพท์……………………………………………………….

โรคประจำตัว ☐ ไม่มีมี ระบุ…………………………………

การใช้ยาประจำ ☐ ไม่มี มี ระบุ…………………………………

น้ำหนัก………………………กิโลกรัม

ส่วนสูง………………………เซนติเมตร

%Weight for Height…………………….

Waist circumference……………………cm

Hip circumference………………………cm

Waist/Hip circumference ratio…………

Blood pressure………………………….mmHg

Lipid Profile-TG………………………..mg/dl

Cholesterol……………….mg/dl

LDL………………………mg/dl

HDL………………………mg/dl

Fasting insulin level……………………..mU/L

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อมูลของบุคคลในครอบครัว

ข้อมูลของบิดา

อายุ…………ปี

น้ำหนัก…………กิโลกรัม ส่วนสูง…………เซนติเมตร

โรคประจำตัว

☐โรคไขมันในเลือดสูง

☐โรคหัวใจขาดเลือด ทราบว่าเป็นเมื่ออายุ………ปี

☐โรคเบาหวาน

☐อื่น ๆ ระบุ…………………………………………..

ระดับไขมันในเลือด(ถ้าทราบ)…………………มิลลิกรัม/เดซิลิตร

ข้อมูลของมารดา

อายุ…………ปี

น้ำหนัก…………กิโลกรัม ส่วนสูง……………เซนติเมตร

โรคประจำตัว

☐โรคไขมันในเลือดสูง

☐โรคหัวใจขาดเลือด ทราบว่าเป็นเมื่ออายุ………ปี

☐โรคเบาหวาน

☐อื่น ๆ ระบุ…………………………………………

ระดับไขมันในเลือด (ถ้าทราบ)…………………..มิลลิกรัม/เดซิลิตร

ประวัติครอบครัว

ประวัติโรคหัวใจขาดเลือดของบุคคลในครอบครัว(หมายถึง ปู่ ย่า ตา ยาย)

☐ไม่มี ☐มี ระบุ……………………..

ประวัติโรคไขมันในเลือดสูงของบุคคลในครอบครัว (หมายถึง ปู่ ย่า ตา ยาย)

☐ไม่มี ☐มี ระบุ…………………….

ประวัติโรคเบาหวานของบุคคลในครอบครัว (หมายถึง ปู่ ย่า ตา ยาย)

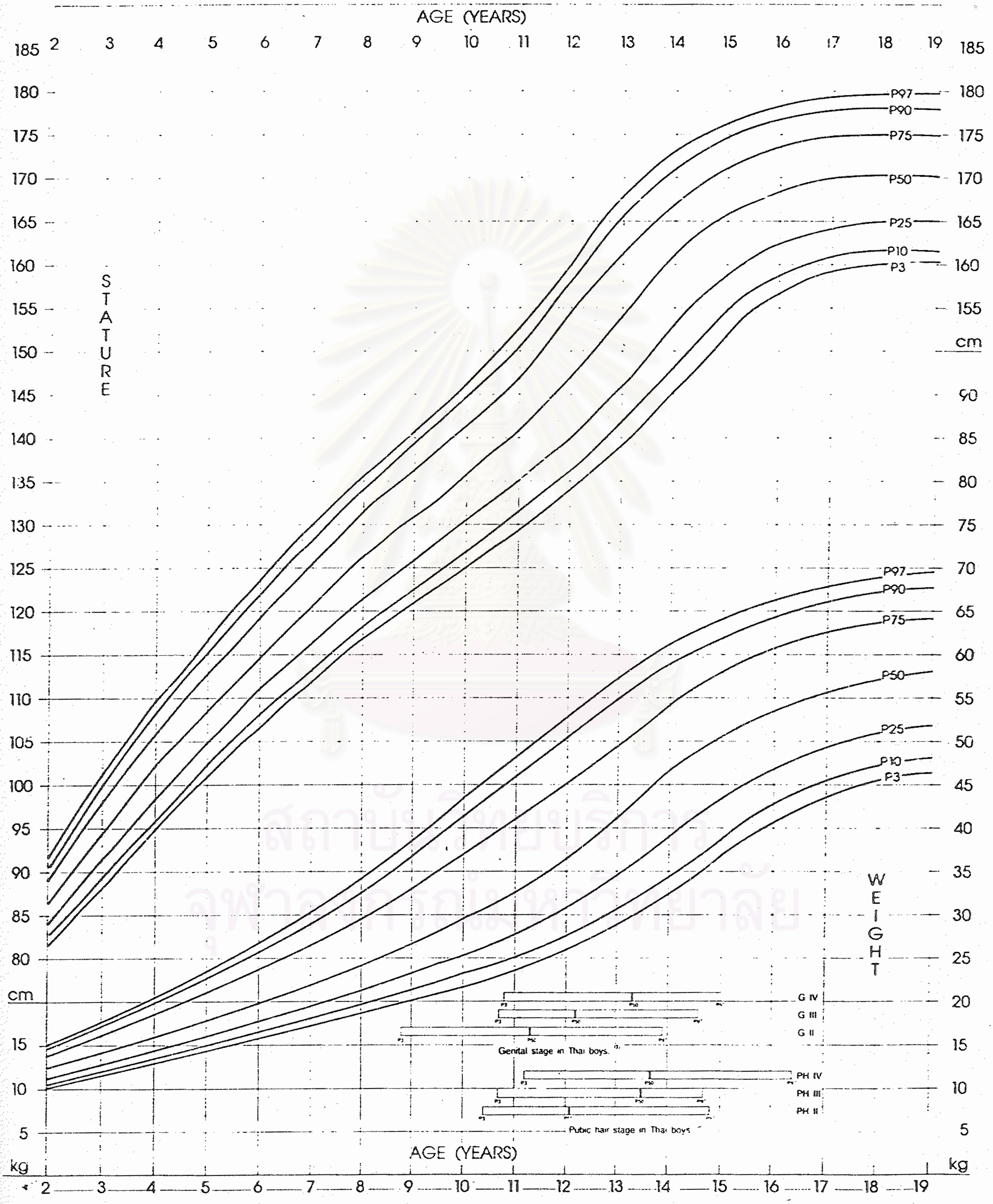
☐ไม่มี ☐มี ระบุ……………………..

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Boys aged 2-19 years: height and weight

Name ______________________ Date of Birth ____________ H.N. ____________

Father height ________ Mother height ________ Mid parental height ____________

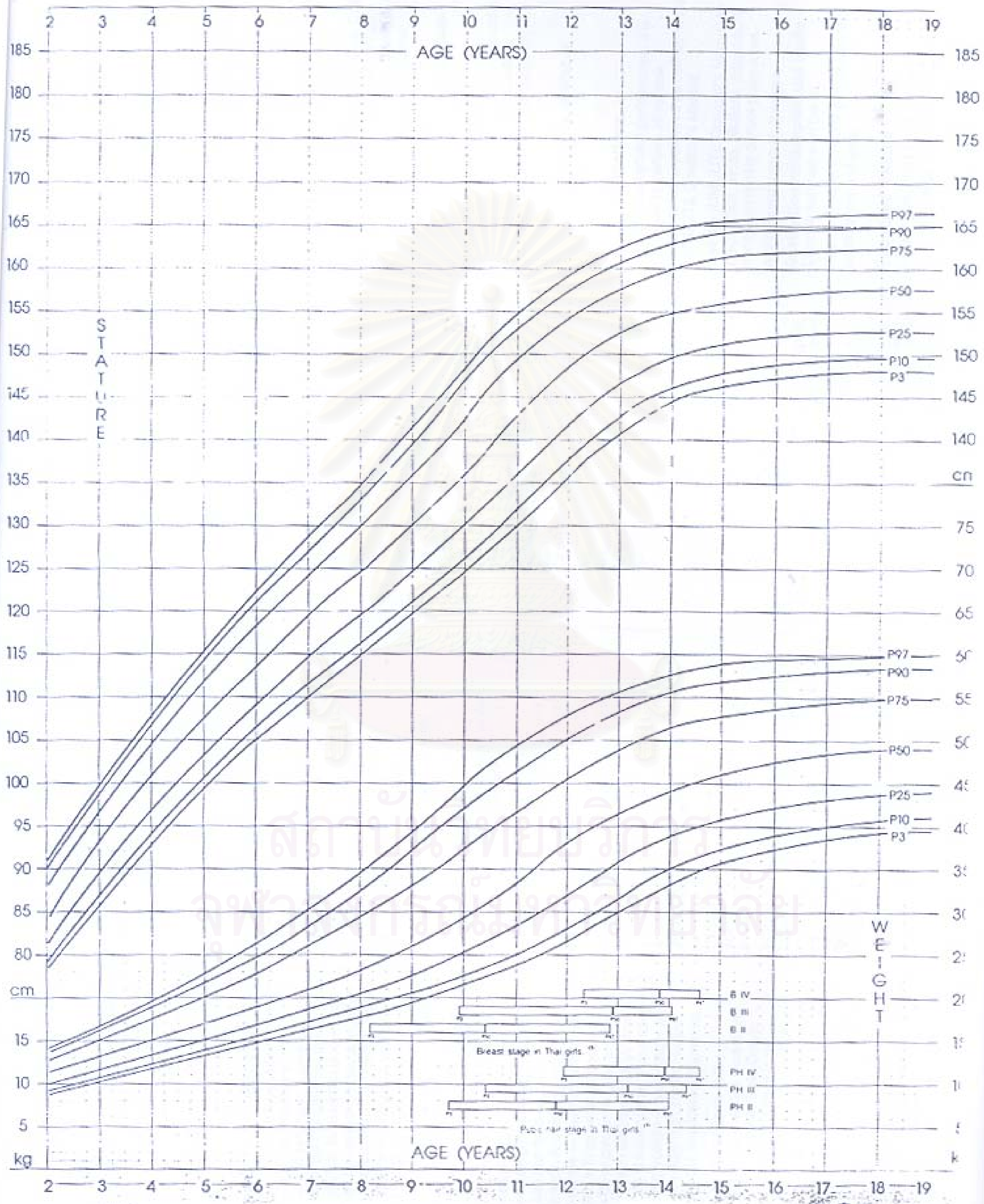


Data source: National Growth References for Children Under 20 Years of Age, 1999
Nutrition Division, Department of Health, Ministry of Public Health, Thailand.

Girls aged 2-19 years: height and weight

Name ______________________ Date of Birth ____________ H.N. ____________

Father height ________ Mother height ________ Mid parental height ____________



Data source: National Growth References for Children Under 20 Years of Age, 1999
Nutrition Division, Department of Health, Ministry of Public Health, Thailand.

IMMULITE® Insulin

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE Analyzer — for the quantitative measurement of insulin in, serum or heparinized plasma, for the management of diabetes.

Catalog Number: LKIN1 (100 tests), LKIN5 (500 tests)

Test Code: INS Color: Orange

Summary and Explanation

Human insulin is a polypeptide hormone originating in the beta cells of the pancreas and serving as a principal regulator for the storage and production of carbohydrates. Its secretion is normally stimulated by increases in the amount of glucose in circulation. This leads to higher insulin levels and more rapid tissue-assimilation of glucose — followed by a decline in the insulin level as the glucose level subsides.

In a number of conditions, notably insulinoma and diabetes, this relationship is impaired. Insulin tends to circulate at inappropriately high levels in patients with insulin-secreting pancreatic tumors; such tumors can thus be a cause of hypoglycemia. Accordingly, insulin immunoassays — used sometimes in connection with provocative doses of tolbutamide or calcium — play an essential role in the identification (and localization) of insulinomas. The finding of fasting hypoglycemia in association with an *inappropriately high* serum insulin concentration is considered diagnostic.

Insulin levels do not figure in the subclassification of diabetes worked out by the National Diabetes Data Group. Nevertheless, when obtained in the course of a glucose tolerance test, they appear to be of some prognostic value in predicting the benefits of insulin therapy and the likelihood of progression to insulin-dependence and the complications (such as retinopathy) characteristic of diabetes.

The application of insulin immunoassay to patients already undergoing insulin therapy is complicated by the fact that such therapy typically leads to the formation of anti-insulin antibodies capable of interfering with the assay. Some investigators have sought therefore to measure insulin in urine, or in serum samples subjected to column chromatography or PEG precipitation. But the measurement of "free" insulin remains of limited interest as a technique for monitoring insulin therapy in the absence of statistics establishing therapeutic or toxic ranges. So far it appears that glucose control in diabetics cannot in general be achieved by normalizing the insulin profile. Nor is it known at what point abnormally high insulin levels become dangerous.

Principle of the Procedure

Immunometric Assay.

Incubation Cycles: 1 × 60 minutes.

Specimen Collection

EDTA tubes should *not* be used in the IMMULITE Insulin procedure.

In collecting samples for insulin determinations, it is important to avoid hemolysis, which can lead to spuriously low values.[22,23]

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Volume Required: 100 µL serum or heparinized plasma. (Sample cup must contain at least 250 µL more than the total volume required.)

Storage: 7 days at 2–8°C, or 3 months at –20°C.[21]

Warnings and Precautions

For *In vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

Insulin Test Units (LIN1)
Each barcode-labeled unit contains one bead coated with monoclonal murine anti-insulin. Stable at 2–8°C until expiration date.
LKIN1: 100 units. **LKIN5:** 500 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

Insulin Reagent Wedge (LIN2)
With barcode. 6.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal chicken anti-insulin in buffer. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date. Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.
LKIN1: 2 wedges. **LKIN5:** 10 wedges.

Insulin Adjustors (LINL, LINH)
Two vials (Low and High) of lyophilized insulin in a nonhuman serum matrix. At least 30 minutes before use, reconstitute each vial by adding **4.0 mL** distilled or deionized water. Mix by *gentle* swirling or inversion. Aliquot and freeze: stable at –20°C for 60 days after reconstitution.
LKIN1: 1 set. **LKIN5:** 2 sets.

Insulin Controls (LINC1, LINC2)
Two vials of lyophilized insulin in a nonhuman serum matrix. Reconstitute each vial by adding **4.0 mL** distilled or deionized water. Mix by *gentle* swirling or inversion. Aliquot and freeze: stable at –20°C for 60 days after reconstitution. Refer to Insulin Control insert for the respective concentrations in µIU/mL.
LKIN1: 1 set. **LKIN5:** 2 sets.

Kit Components Supplied Separately

Insulin Sample Diluent (LINZ)
For the manual dilution of samples. One vial with 25 mL of ready-to-use, insulin-free nonhuman serum matrix. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

LSUBX: Chemiluminescent Substrate
LPWS2: Probe Wash Module
LKPM : Probe Cleaning Kit
LCHx-y: Sample Cup Holders (barcoded)
LSCP: Sample Cups (disposable)
LSCC: Sample Cup Caps (optional)

Also Required
Sample transfer pipets, distilled or deionized water.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE Operator's Manual.

See the IMMULITE Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Adjustment Interval: 2 weeks.

Quality Control Samples: Use Insulin Controls supplied with the kit.

Each Sample cup holder can be followed by up to four test units.

Expected Values

A study performed on 52 fasting, apparently healthy laboratory volunteers

yielded a median of 11.9 µIU/mL and a central 95% range of 6 – 27 µIU/mL.

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Circulating anti-insulin antibodies are often found in patients who have been treated with nonhuman forms of insulin. If present, these antibodies may interfere with the assay.

For individuals who are significantly overweight, fasting insulin levels are typically somewhat higher than for adults of normal weight.

EDTA plasma has an effect on the measurement of insulin in the IMMULITE Insulin procedure.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988:34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in in µIU/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: Up to 400 µIU/mL.

Analytical Sensitivity: 2 µIU/mL.

High-dose Hook Effect: None up to 14,220 µIU/mL.

Precision: Samples were assayed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three insulin solutions (354, 712 and 1,473 µIU/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is specific for insulin. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Severe icterus (bilirubin up to 200 mg/L) may cause a depression of values.

Effect of Anticoagulants: Blood was collected from 11 laboratory volunteers into plain, heparinized and EDTA vacutainer tubes. All samples were spiked with insulin and then assayed by the IMMULITE Insulin procedure, with the following results.

(Heparin) = 0.92 (Serum) + 2.9 µIU/mL r = 0.988

(EDTA) = 0.41 (Serum) – 2.8 µIU/mL r = 0.963

Means:
123 µIU/mL (Serum)
116 µIU/mL (Heparin)
48 µIU/mL (EDTA)

These results show that EDTA interferes with the IMMULITE Insulin assay.

Method Comparison: The assay was compared to DPC's Coat-A-Count Insulin on 96 samples. (Concentration range: approximately 5.6 to 96 µIU/mL. See graph.) By linear regression:

(IML) = 1.03 (CAC) – 0.31 µIU/mL r = 0.964

Means:
41.5 µIU/mL (IMMULITE)
40.6 µIU/mL (CAC)

References

1) Bates HM. Insulinoma and pheochromocytoma. Lab Management 1983 (May);21:11–12, 15. 2) Bennett PH. The diagnosis of diabetes; new international classification and diagnostic criteria. Ann Rev Med 1983;34:295–309. 3) Berntorp K et al. Relation between plasma insulin and blood glucose in a cross-sectional population study of the oral glucose tolerance test. Acta Endocrinol 1983;102:549–56. 4) Boehm TM, Lebovitz HE. Statistical analysis of glucose and insulin responses to intravenous tolbutamide: evaluation of hypoglycemic and hyperinsulinemic states. Diabetes Care 1979;2:479–90. 5) Fajans SS, Floyd JC. Diagnosis and medical management of insulinomas. Ann Rev Med 1979;30:313–29. 6) Hirata Y et al. Autoimmunity in diabetes mellitus. Gunma Symposia Endocrinol 1980;17:81–91. 7) Kahn CR, Rosenthal AS. Immunologic reactions to insulin: insulin allergy, insulin resistance and the autoimmune insulin syndrome. Diabetes Care 1979;2:233–95. 8) Kaplan EL, Rubinstein AH et al. Calcium infusion: a new provocative test for insulinomas. Annals Surgery 1979;190:501–7. 9) Malone JI, Root AW. Plasma free insulin concentrations: keystone to effective management of diabetes mellitus in children. J Pediatr 1981;99:862–7. See also *ibid* 1983;102:800–2. 10) Marschner I et al. Group experiments on the radioimmunological insulin determination. Horm Metabol Res 1974;6:293–6. 11) National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes 1979;28:1039–57. 12) Pfeifer MA et al. Insulin secretion in diabetes mellitus. Am J Med 1981;70:579–88. 13) Reeves WG. Insulin antibody determination: theoretical and practical considerations. Diabetologia 1983;24:399–403. 14) Sachse G, Willms B. Klinische Bedeutung der Seruminsulinbestimmung: Diagnose und Prognose bei drohendem Sekundärversagen der Sulfonylharnstofftherapie. Medizin Klinik 1979;74:1635–40. 15) Schade DS, Eaton RP, Spencer W. Normalization of plasma insulin profiles in diabetic subjects with programmed insulin delivery. Diabetes Care 1980;3:9–14. 16) Service FJ et al. Insulinoma: clinical and diagnostic features of 60 consecutive cases. Mayo Clinic Proceed 1976;51:417–29. 17) Turkington RW, Estkowski A, Link M. Secretion of insulin or connecting peptide; a predictor of insulin dependence of obese diabetics. Arch Intern Med 1982;142:1102–5. 18) Turkington RW, Weindling HK. Insulin secretion in the diagnosis of adult-onset diabetes mellitus. JAMA 1978;240:833–36. See also *ibid* 1979;241:1462–3. 19) Yalow R, Bauman WA. Plasma insulin in health and disease. In: Ellenberg M, Rifkin H, editors. Diabetes mellitus; theory and practice. New York: Excerpta Medica, 1983: 119–50. 20) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998. 21) Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994:943-4. 22) Sapin R, Ongagna JC, Gasser F, Grucker D. Insulin measurements in haemolysed serum; influence of insulinase inhibitors. Clin Chim Acta 1998;274:111-7. 23) Chevenne D, Letailleur A, Trivin F, Porquet D. Effect of hemolysis on the concentration of insulin in serum determined by RIA and IRMA. Clin Chem 1998;44:354-6.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.

Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

The Quality System of Diagnostic Products Corporation is registered to ISO 9001:1994.

Tables and Graphs

Precision (µIU/mL)

		Within-Run[1]		Total[2]	
	Mean[3]	SD[4]	CV[5]	SD	CV
1	10.7	0.51	4.8%	0.62	5.8%
2	16.1	0.69	4.3%	0.77	4.8%
3	29.5	1.31	4.4%	1.73	5.9%
4	41.0	2.21	5.4%	3.10	7.6%
5	66.4	2.40	3.6%	2.91	4.4%
6	177	6.81	3.8%	7.40	4.2%
7	439	16.5	3.8%	21.0	4.8%

Linearity (µIU/mL)

	Dilution[1]	Observed[2]	Expected[3]	%O/E[4]
1	4 in 4[5]	8.0	—	—
	2 in 4	4.7	4.0	118%
	1 in 4	2.4	2.0	120%
2	4 in 4	12.5	—	—
	2 in 4	6.9	6.3	110%
	1 in 4	3.5	3.1	113%
3	8 in 8	21	—	—
	4 in 8	11	10	110%
	2 in 8	5.2	5.1	102%
	1 in 8	3.2	2.5	123%
4	8 in 8	124	—	—
	4 in 8	69	62	111%
	2 in 8	30	31	97%
	1 in 8	14.1	15.5	91%
5	8 in 8	159	—	—
	4 in 8	89	80	111%
	2 in 8	44	40	110%
	1 in 8	19.4	19.9	97%
6	8 in 8	378	—	—
	4 in 8	197	189	104%
	2 in 8	95	95	100%
	1 in 8	43	47	91%

CHOL

Cholesterol CHOD-PAP

● Indicates Roche/Hitachi analyzer(s) on which kit(s) can be used

Cat. no.	Bottle	Contents	704	717	736 737	747	747 -400	902	904	911 912	914	917	MODULAR P	MODULAR D
1491458	1	Cholesterol reagent 12 x 65 ml										●	●	
1875540	1	Cholesterol reagent 6 x 258 ml											●	●
1875523	1	Cholesterol reagent 4 x 641 ml												●
2016630*	1	Cholesterol reagent 8 x 20 ml	●	●				●						
1489232	1	Cholesterol reagent 18 x 50 ml	●	●				●	●	●	●			
1489437	1	Cholesterol reagent 10 x 100 ml		●					●	●	●			
1489704	1	Cholesterol reagent 5 x 600 ml			●	●								
1554506	1	Cholesterol reagent 4 x 1020 ml					●							

Some analyzers and kits shown may not be available in all countries. For additional system applications, contact your local Roche representative.
***Working instructions for Roche Mira analyzers are available on request.**

Intended use
Enzymatic in vitro test for the direct quantitative determination of cholesterol in human serum and plasma on automated clinical chemistry analyzers.

Summary
Cholesterol is a steroid with a secondary hydroxyl group in the C position. It is synthesized in many types of tissue, but particularly in the liver and intestinal wall. Approximately three quarters of cholesterol is newly synthesized and a quarter originates from dietary intake. Cholesterol assays are used for screening for atherosclerotic risk and in the diagnosis and treatment of disorders involving elevated cholesterol levels as well as lipid and lipoprotein metabolic disorders.

Cholesterol analysis was first reported by Liebermann in 1885 followed by Burchard in 1889. In the Liebermann-Burchard reaction, cholesterol forms a blue-green dye from polymeric unsaturated carbohydrates in an acetic acid/acetic anhydride/concentrated sulfuric acid medium. The Abell and Kendall method is specific for cholesterol, but is technically complex and requires the use of corrosive reagents. In 1974, Roeschlau and Allain described the first fully enzymatic method.

This method is based on the determination of Δ^4-cholestenone after enzymatic cleavage of the cholesterol ester by cholesterol esterase, conversion of cholesterol by cholesterol oxidase, and subsequent measurement by the Trinder reaction of the hydrogen peroxide formed. Optimization of ester cleavage (> 99.5%) allows standardization using primary and secondary standards and a direct comparison with the CDC and NIST reference methods.[1-9]

Nonfasting sample results may be slightly lower than fasting results.[10-12]
The Roche cholesterol assay meets the 1992 National Institutes of Health (NIH) goal of less than or equal to 3% for both precision and bias.[13]

Test principle
Enzymatic colorimetric test

- Sample, addition of R1 (cholesterol reagent) and start of reaction: Cholesterol is determined enzymatically using cholesterol esterase and cholesterol oxidase.

$$\text{cholesterol esters} + H_2O \xrightarrow[\text{esterase}]{\text{cholesterol}} \text{cholesterol} + RCOOH$$

Cholesterol esters are cleaved by the action of cholesterol esterase to yield free cholesterol and fatty acids.

$$\text{cholesterol} + O_2 \xrightarrow[\text{oxidase}]{\text{cholesterol}} \text{cholest-4-en-3-one} + H_2O_2$$

Cholesterol is converted by oxygen with the aid of cholesterol oxidase to cholest-4-en-3-one and hydrogen peroxide.

$$2\,H_2O_2 + \text{4-aminophenazone} + \text{phenol} \xrightarrow{\text{peroxidase}} \text{4-(p-benzoquinone-monoimino)-phenazone} + 4\,H_2O$$

Hydrogen peroxide created forms a red dyestuff by reacting with 4-aminophenazone and phenol under the catalytic action of peroxidase. The color intensity is directly proportional to the concentration of cholesterol and can be determined photometrically.

Working solution concentration
R1 Cholesterol reagent
PIPES buffer**: 75 mmol/l, pH 6.8; Mg^{2+}: 10 mmol/l; sodium cholate: 0.2 mmol/l; 4-aminophenazone ≥ 0.15 mmol/l; phenol ≥ 4.2 mmol/l; fatty alcohol polyglycol ether: 1%; cholesterol esterase (Pseudomonas spec.) ≥ 0.5 U/ml; cholesterol oxidase (E. coli) ≥ 0.15 U/ml; peroxidase (horseradish) ≥ 0.25 U/ml; stabilizers; preservative

** PIPES = Piperazine-1,4-bis(2-ethane sulfonic acid)

Precautions and warnings
For in vitro diagnostic use.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.
Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.

Reagent handling
R1: Ready for use. The intrinsic pink color of the cholesterol reagent does not interfere with the test.

Storage and stability
Unopened kit components: Up to the expiration date at 2–8°C
R1: 28 days opened and refrigerated on the analyzer when protected from light and contamination by microorganisms.

Specimen collection and preparation
Collect serum using standard sampling tubes.
Heparinized or EDTA plasma. Do not use citrate, oxalate, or fluoride.
Stability[14]: 5–7 days at 4°C
3 months at -20°C
Fasting and nonfasting samples can be used.[11]
Centrifuge samples containing precipitate before performing assay.

Testing procedure
Materials supplied
- Working solutions as described above

Additional materials required
- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl
- General laboratory equipment

Assay
Refer to the appropriate operator's manual and/or the Instrument Settings section of this insert for analyzer specific assay instructions. The performance of applications not validated by Roche is not warranted and must be defined by the user.

Calibration
Standardization[12]: The cholesterol method was calibrated against isotopic dilution/mass spectrometry. This complies with the requirements of the National Institute of Standards and Technology (NIST).
S1: 0.9% NaCl
S2: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems), Cat. No. 759350

CHOL

Calibration frequency
Recalibration is recommended
- as blank calibration after reagent bottle change
- as 2 point calibration after reagent lot change
- as 2 point calibration as required following quality control procedures

Calibration verification: Not necessary.

Quality control
For quality control, use Precinorm L, Precinorm U, Precinorm U plus, Precipath L, Precipath U, Precipath U plus or other suitable control material. The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calculation
Roche/Hitachi systems automatically calculate the cholesterol concentration of each sample.
Conversion factor: mg/dl x 0.026 = mmol/l
mmol/l x 38.66 = mg/dl

Limitations – interference[12,15]
For determination of cholesterol with lipase on Roche/Hitachi 704/717 analyzers, refer to the R1/R2 application in the Instrument Settings section.
US users: Refer to application sheet.
Criterion: Recovery within ± 10% of initial values.
Icterus: No significant interference up to an I index of 25 (approximate conjugated bilirubin concentration: 25 mg/dl or 428 µmol/l) and an I index of 10 (approximate unconjugated bilirubin concentration: 10 mg/dl or 171 µmol/l).
Hemolysis: No significant interference up to an H index of 700 (approximate hemoglobin concentration: 700 mg/dl or 435 µmol/l).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an L index of 1250 (approximate triglycerides concentration: 2500 mg/dl or 28.5 mmol/l). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Measuring/reportable range
3–800 mg/dl (0.08–20.7 mmol/l)
Determine samples with higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute samples with higher concentrations using 0.9% NaCl or distilled/deionized water (e.g. 1 + 2). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 3).

Expected values
Clinical Interpretation according to the recommendations of the European Atherosclerosis Society[16]:

		Lipid metabolic disturbance
Cholesterol Triglycerides	below 200 mg/dl	No
Cholesterol	200–300 mg/dl	Yes, if HDL-cholesterol below 35 mg/dl
Cholesterol Triglycerides	above 300 mg/dl above 200 mg/dl	Yes
Cholesterol 35 mg/dl ≙ 0.9 mmol/l 200 mg/dl ≙ 5.2 mmol/l 300 mg/dl ≙ 7.8 mmol/l		Triglycerides 200 mg/dl ≙ 2.3 mmol/l

Recommendations of the NCEP Adult Treatment Panel for the following risk-cutoff thresholds for the US American population[17]
Desirable cholesterol level: < 200 mg/dl
Borderline high cholesterol: 200–239 mg/dl
High cholesterol: > 240 mg/dl

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes, the cholesterol results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations, and other findings.

At least two measurements of cholesterol on separate occasions should be made before any medical decision is made, since a single point total cholesterol measurement may not represent a patient's usual cholesterol concentration.

Note
The determination can also be performed at 25°C.

Specific performance data
The data determined using a Roche/Hitachi system are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

Imprecision[12]
Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol: n = 63. The following results were obtained.

	Within run			Between day		
Sample	Mean	SD	%CV	Mean	SD	%CV
	mg/dl	mg/dl		mg/dl	mg/dl	
Human serum	231.0	1.9	0.8	210.1	3.3	1.7
Precinorm U	117.5	1.2	1.0	114.7	2.3	2.1
Precipath U	129.4	0.9	0.7	126.7	3.1	2.7

Analytical sensitivity (lower detection limit)[12]
3 mg/dl (0.08 mmol/l)
The lower detection limit represents the lowest measurable cholesterol concentration that can be distinguished from zero. It is calculated as three standard deviations of 21 replicates of the lowest standard.

Method comparison[12]
A. A comparison of the cholesterol determination using the Roche Cholesterol liquid reagent assay on a Roche/Hitachi 917 analyzer (y) with the same assay on a Roche/Hitachi 717 analyzer (x) gave the following correlation (mg/dl):

Passing/Bablok[18,19]	Linear regression
y = 0.618 + 0.992 x	y = 3.575 + 0.977 x
r = 0.997	r = 0.997
SD (md 95) = 8.556	Sy. x = 4.717

Number of samples measured: 154
The sample concentrations were between 49 and 525 mg/dl.

B. A comparison of the Roche Cholesterol determination (y) with the Abell-Kendall reference method (x) on a Roche/Hitachi 747 analyzer gave the following correlation (mg/dl):

Passing/Bablok[18,19]	Linear regression
y = -1.487 + 1.029 x	y = -0.196 + 1.020 x
r = 0.999	r = 0.999
SD (md 95) = 4.6	Sy. x = 3.4

Number of samples measured: 72
The sample concentrations were between 43 and 704 mg/dl.

References

1 Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995;
2 Liebermann C. Ber Dtsch chem Ges 1885;18:1803.
3 Burchard H. Beiträge zur Kenntnis der Cholesterine. Dissertation, Rostock 1889.
4 Abell L et al. Standard Methods in Clinical Chemistry 1958;26:2.
5 Allain CC et al. Clin Chem 1974;20:470.
6 Roeschlau P et al. Z Klin Chem Klin Biochem 1974;12:226.
7 Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24.
8 Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J et al. Clin Chem 1983;29:1075.
9 Wiebe DA, Bernert JT. Clin Chem 1984;30:352.
10 Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin. Chem. 1988;34:2456–2459.
11 Pisani T, Gebski CP, Leary ET et al. Accurate Direct Determination of Low-density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
12 Data on file at Roche.
13 Recommendations for Improving Cholesterol Measurement: A Report from the Laboratory Standardization Panel of the National Cholesterol Education Program. NIH Publication No. 90-2964, February 1990.
14 Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company, 1995:130–131.
15 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470–474.
16 Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
17 Second Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. NIH Publication No. 93-3096. September 1993.
18 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
19 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.

TG

Triglycerides GPO-PAP

● Indicates Roche/Hitachi analyzer(s) on which kit(s) can be used

Cat. no.	Bottle	Contents	704	717	736 737	747	747 -400	902	904	911 912	914	917	MODULAR P	MODULAR D
1730711	1	Buffer/4-chlorophenol/enzymes 12 x 65 ml										●	●	
1876023	1	Buffer/4-chlorophenol/enzymes 6 x 258 ml											●	●
1876040	1	Buffer/4-chlorophenol/enzymes 4 x 641 ml												●
2016648*	1	Buffer/4-chlorophenol/enzymes 8 x 20 ml	●	●				●	●					
1488872	1	Buffer/4-chlorophenol/enzymes 18 x 50 ml	●	●				●	●	●	●			
1488899	1	Buffer/4-chlorophenol/enzymes 10 x 100 ml		●					●	●	●			
1488902	1	Buffer/4-chlorophenol/enzymes 5 x 300 ml			●	●								
1555626	1	Buffer/4-chlorophenol/enzymes 4 x 915 ml					●							

Some analyzers and kits shown may not be available in all countries. For additional system applications, contact your local Roche representative.
*Working instructions for Roche Mira analyzers are available on request.

Intended use

Enzymatic in vitro test for the quantitative determination of triglycerides human serum and plasma on clinical chemistry analyzers.

Summary[1-4]

Triglycerides are esters of the trihydric alcohol glycerol with 3 long-chain fatty acids. They are partly synthesized in the liver and partly ingested in food.

The determination of triglycerides is utilized in the diagnosis and treatment of patients having diabetes mellitus, nephrosis, liver obstruction, lipid metabolism disorders and numerous other endocrine diseases.

The enzymatic triglycerides assay as described by Eggstein and Kreutz still required saponification with potassium hydroxide. Numerous attempts were subsequently made to replace alkaline saponification by enzymatic hydrolysis with lipase. Bucolo and David tested a lipase/protease mixture; Wahlefeld used an esterase from the liver in combination with a particularly effective lipase from Rhizopus arrhizus for hydrolysis.

This method is based on the work by Wahlefeld using a lipoprotein lipase from microorganisms for the rapid and complete hydrolysis of triglycerides to glycerol followed by oxidation to dihydroxyacetone phosphate and hydrogen peroxide. The hydrogen peroxide produced then reacts with 4-aminophenazone and 4-chlorophenol under the catalytic action of peroxidase to form a red dyestuff (Trinder endpoint reaction).

Test principle[6]

Enzymatic colorimetric test

- Sample and addition of R1 (buffer/4-chlorophenol/enzymes) and start of reaction:

$$\text{triglycerides} + 3\,H_2O \xrightarrow{LPL} \text{glycerol} + 3\,RCOOH$$

$$\text{glycerol} + ATP \xrightarrow[Mg^{2+}]{GK} \text{glycerol-3-phosphate} + ADP$$

$$\text{glycerol-3-phosphate} + O_2 \xrightarrow{GPO} \text{dihydroxyacetone phosphate} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-aminophenazone} + \text{4-chlorophenol} \xrightarrow{\text{peroxidase}} \text{4-(p-benzoquinone-monoimino)-phenazone} + 2\,H_2O + HCl$$

Working solution concentration

R1 Buffer/4-chlorophenol/enzymes
PIPES buffer*: 50 mmol/l, pH 6.8; Mg^{2+}: 40 mmol/l; sodium cholate: 0.20 mmol/l; ATP ≥ 1.4 mmol/l; 4-aminophenazone ≥ 0.13 mmol/l; 4-chlorophenol: 4.7 mmol/l; potassium hexacyanoferrate(II): 1 µmol/l; fatty alcohol polyglycol ether: 0.65%; lipoprotein lipase (pseudomonas spec.) ≥ 5.0 U/ml; glycerokinase (Bacillus stearothermophilus) ≥ 0.19 U/ml; Glycerol phosphate oxidase (E. coli) ≥ 2.5 U/ml; peroxidase (horseradish) ≥ 0.10 U/ml; preservative

*PIPES = piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid)

Precautions and warnings

For in vitro diagnostic use.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.
Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.

Reagent handling

R1: Ready for use

Storage and stability

Unopened kit components: Up to the expiration date at 2–8°C
R1: 14 days opened and refrigerated on the analyzer

Specimen collection and preparation

Collect serum using standard sampling tubes.
Heparinized or EDTA plasma
Stability[7]: 5–7 days at 2–8°C
3 months at -20°C
Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Testing procedure

Materials provided
- Working solutions as described above.

Additional materials required
- Calibrators and controls as indicated below.
- 0.9% NaCl
- General laboratory equipment

Assay

Refer to the appropriate operator's manual and/or the Instrument Settings section of this insert for analyzer-specific assay instructions. The performance of applications not validated by Roche is not warranted and must be defined by the user.

Calibration

Standardization: The triglycerides GPO-PAP method was standardized against the ID-MS method.
S1: 0.9% NaCl
S2: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems), Cat. No. 759350
Calibration frequency
Recalibration is recommended:
- as blank calibration after reagent bottle change
- as 2 point calibration after reagent lot change
- as 2 point calibration as required following quality control procedures

Calibration verification: Not necessary.

Quality control

For quality control use, Precinorm U, Precinorm U plus, Precinorm L, Precipath U, Precipath U plus, Precipath L or other suitable control material. The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Calculation

Roche/Hitachi systems automatically calculate the triglycerides concentration of each sample.

Conversion factors: mg/dl x 0.0113 = mmol/l
mmol/l x 87.5 = mg/dl

Limitations – interference[8,9]

For determination of triglycerides on Roche/Hitachi 704/717 systems when lipase and HDL-cholesterol are also requested, see R1/R2 application under "Instrument settings".
US users: Refer to application sheet.

Criterion: Recovery within ± 10% of initial value.

Icterus: No significant interference up to an I index of 12 for conjugated bilirubin and 27 for unconjugated bilirubin (approximate conjugated bilirubin concentration: 12 mg/dl; approximate unconjugated bilirubin concentration: 27 mg/dl).

Hemolysis: No significant interference up to an H index of 600 (approx. hemoglobin concentration: 600 mg/dl).

Lipemia: The L index correlates with sample turbidity but not with triglycerides level. Extremly lipemic samples (triglycerides greater than 3000 mg/dl) can produce a normal result.[10] Dilute such samples 1+4 with saline (0.9 %) and multiply the result by 5 or run the test with decreased sample volume on Roche/Hitachi 911, 912, 917 and MODULAR analyzers.

Measuring/reportable range

Measuring range: 4–1000 mg/dl (0.05–11.4 mmol/l)
Determine samples with higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute samples with higher concentrations using 0.9% NaCl or distilled/deionized water (e.g. 1 + 4). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 5).

Clinical interpretation according to the recommendations of the European Atherosclerosis Society:[11]

		Lipid metabolism disorder
Cholesterol Triglycerides	below 200 mg/dl	No
Cholesterol	200–300 mg/dl	Yes, if HDL-cholesterol below 35 mg/dl
Cholesterol Triglycerides	above 300 mg/dl above 200 mg/dl	Yes
Cholesterol 35 mg/dl ≙ 0.9 mmol/l 200 mg/dl ≙ 5.2 mmol/l 300 mg/dl ≙ 7.8 mmol/l		**Triglycerides** 200 mg/dl ≙ 2.3 mmol/l

Expected values according to NCEP[12]

Normal range: < 200 mg/dl

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference ranges. For diagnostic purposes, the triglycerides results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Note

If the free glycerol is to be taken into account, then 10 mg/dl (0.11 mmol/l) must be subtracted from the triglycerides value obtained.[7]
For control sera, note the target value declaration of the manufacturer.

Specific performance data

The data determined using a Roche/Hitachi system are given below. The results obtained in individual laboratories may differ.

Imprecision[8]

Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol: n = 63. The following results were obtained.

Sample	Within run			Between day		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	%CV	Mean mg/dl	SD mg/dl	%CV
Human serum	201.4	3.1	1.5	224.1	4.0	1.8
Precinorm U	112.9	1.0	0.9	108.8	2.6	2.4
Precipath U	137.2	1.3	0.9	130.5	3.1	2.4

Analytical sensitivity (lower detection limit)[8]

Detection limit: 4 mg/dl (0.05 mmol/l)
The lower detection limit represents the lowest measurable triglycerides concentration that can be distinguished from zero. It is calculated as three standard deviations of 21 replicates of the lowest standard.

Method comparison[8]

A comparison of the Roche triglyceride assay using liquid triglycerides reagents on the Roche/Hitachi 917 (y) and on the Roche/Hitachi 717 (x) gave the following correlation (mg/dl):

Passing/Bablok[13,14]	Linear regression
y = 5.385 + 0.967 x	y = 2.786 + 0.977 x
r = 0.998	r = 0.998
SD (md 95) = 16.014	Sy. x = 8.956

Number of human serum samples measured: 154
The sample concentrations were between 35 and 1000 mg/dl.

References

1 Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995.
2 Eggstein M, Kreutz F. Klin Wschr 1966;44:262–267.
3 Bucolo G, David H. Clin Chem 1973;19:476.
4 Wahlefeld AW, Bergmeyer HU, eds. Methods of Enzymatic Analysis. 2nd English ed. New York, NY: Academic Press Inc, 1974:1831.
5 Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24.
6 Siedel J et al. AACC Meeting Abstract 34. Clin Chem 1993;39:1127.
7 Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Company,1995:610–611.
8 Data on file at Roche.
9 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470–474.
10 Shephard MDS, Whiting MJ. Clin Chem 1990; Vol 36, No.2, 325-329. Falsely Low Estimation of Triglycerides in Lipemic Plasma by the Enzymatic Triglyceride Method with Modified Trinder's Chromogen.
11 Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77.
12 Stein EA, Myers GL. National Cholesterol Education Program Reccomendations for Triglycerides Measurement: Executive Summary. Clin Chem 1995;41:1421–1426.
13 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
14 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.

LDL-C plus 2nd generation

Specimen collection and preparation
Collect serum using standard sampling tubes.
Li-, NH_4- or Na-heparin plasma.
Stability[11]: 7 days at 2–8°C
30 days at -70°C
Fasting and non-fasting samples can be used.[6] EDTA plasma causes decreased values.
Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Testing procedure
Materials provided
- Working solutions as described above

Additional materials required
- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl
- General laboratory equipment

Assay
Refer to the appropriate operator's manual and/or the Instrument Settings section of this insert for analyzer-specific assay instructions. The performance of applications not validated by Roche is not warranted and must be defined by the user.

Calibration
Standardization: The method is traceable to the beta quantification method as defined in the recommendations in the LDL Cholesterol Method Certification Protocol for Manufacturers.[12]
S1: 0.9% NaCl
S2: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems) Lipids, Cat. No. 2172623 or C.f.a.s. HDL/LDL-C plus, Cat. No. 1972235

Calibration frequency
Two point calibration is recommended
- after reagent lot change
- as required following quality control procedures

Calibration verification: Not necessary.

Quality control
For quality control, use Precinorm L and Precipath HDL/LDL-C.
The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calculation
Roche/Hitachi systems automatically calculate the LDL-cholesterol concentration of each sample.
Conversion factor: mg/dl x 0.0259 = mmol/l
mmol/l x 38.66 = mg/dl

Limitations – interference[11]
(US users refer to application sheet for special wash instructions.)
To avoid probe and cuvette carry-over to Tina-quant ⓐ Albumin, Lp(a), Lipase, and Magnesium, use the Evasion software with SMS/Acid Wash, Multiclean, or NaOH D in the LDL-cholesterol assay.
Criterion: Recovery within ± 10% of initial values.
Icterus: No significant interference up to an I index of 39 for conjugated bilirubin and 70 for unconjugated bilirubin (approximate conjugated bilirubin concentration: 39 mg/dl or 667 µmol/l; approximate unconjugated bilirubin concentration: 70 mg/dl or 1197 µmol/l).
Hemolysis: No significant interference up to an H index of 1500 (approximate hemoglobin concentration: 1500 mg/dl or 931 µmol/l).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an L index of 200. Dilute samples with L index > 200 with 0.9% NaCl (e.g. 1 + 3). No significant interference from native triglycerides up to 1200 mg/dl. There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration. Dilute samples with triglycerides > 1200 mg/dl with 0.9% NaCl (e.g. 1 + 3). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 4).
Ascorbic acid up to 50 mg/dl does not interfere.
No significant interference from HDL, VLDL, or chylomicrons.
In rare cases, elevated immunoglobulin concentrations can lead to falsely elevated LDL-cholesterol results.
Abnormal liver function affects lipid metabolism; consequently HDL and LDL results are of limited diagnostic value. In some patients with abnormal liver function, the LDL-C plus result is significantly negatively biased versus beta quantification results.

Measuring/reportable range
3–550 mg/dl (0.03–5.5 g/l or 0.077–14.2 mmol/l)
Determine samples with LDL-cholesterol concentrations > 550 mg/dl via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute samples with 0.9% NaCl (e.g. 1 + 1). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 2).

Expected values[6,13]
Levels in terms of risk for coronary heart disease:
Adult levels:

Recommended (desirable)	< 130 mg/dl (<3.37 mmol/l)
Moderate risk:	130–159 mg/dl (3.37–4.12 mmol/l)
High risk:	≥160 mg/dl (≥ 4.14 mmol/l)

Recommended values according to the GRIPS study[14]

mg/dl	mmol/l	
145	3.8	For patients with manifested coronary heart disease
170	4.4	For patients having one or more risk factors
200	5.2	For persons exhibiting no risk factors and without manifested coronary heart disease

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes, LDL-cholesterol results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Specific performance data
The data determined using a Roche/Hitachi system are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

Imprecision[11]
Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol: n = 21. The following results were obtained.

	Within run			Between day		
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	%CV	Mean mg/dl	SD mg/dl	%CV
Human serum 1*	21.6	0.16	0.71	74.9	0.90	1.20
Human serum 2*	160.3	1.30	0.81	179.5	2.09	1.16
Precinorm L	87.3	1.07	1.22	88.0	0.85	0.96
Precipath HDL/LDL-C	18.2	1.17	0.64	179.5	1.57	0.87

*Different human sera were used for the within-run and between-day studies.

Analytical sensitivity (lower detection limit)[11]
Detection limit: 3 mg/dl (0.03 g/l or 0.078 mmol/l)
The lower detection limit represents the lowest measurable LDL-cholesterol concentration that can be distinguished from zero. It is calculated as the concentration lying three standard deviations above that of the lowest standard (zero standard + 3SD, within run precision, n = 21).

Method comparison[11]
A. A comparison of the LDL-cholesterol determination using the Roche 2nd generation LDL-cholesterol plus assay (y) and the first-generation LDL-cholesterol plus test (x) on a Roche/Hitachi 917 analyzer gave the following correlation (mg/dl):

Passing Bablok[15,16]
$y = 4.614 + 1.010\ x$
$r = 0.993$
SD (md 95) = 8.34

Linear regression
$y = 7.95 + 0.980\ x$

Number of samples measured: 55
The sample concentrations were between 59.0 and 295.8 mg/dl.

B. A comparison of the LDL-cholesterol determination using the Roche LDL-cholesterol plus assay on a Roche/Hitachi 911 analyzer (y) with the beta quantification method (ultracentrifugation and precipitation with phosphotungstic acid/magnesium chloride) for LDL-cholesterol determination (x) gave the following correlation (mg/dl):

Passing Bablok[15,16]
$y = -0.131 + 1.032\ x$
$r = 0.970$
SD (md 95) = 0.27

Linear regression
$y = 0.024 + 0.997\ x$

Number of samples measured: 47
The sample concentrations were between 1.93 and 5.46 mg/dl.

LDL-C plus 2nd generation

LDL-Cholesterol, no pretreatment

● Indicates Roche/Hitachi analyzer(s) on which kit(s) can be used

Cat. No.	Bottle	Contents	704	717	747	902	904	911 912	917	MODULAR P	MODULAR D
3038661	1 2	Buffer, 6 x 21 ml Buffer/enzymes/4-aminoantipyrine, 3 x 15 ml	●			●	●	●			
3038696	1 2	Buffer, 6 x 48 ml Buffer/enzymes/4-aminoantipyrine, 3 x 35 ml		●				●			
3038726 3038742	1 2	Buffer, 4 x 295 ml Buffer/enzymes/4-aminoantipyrine, 2 x 202 ml			●						
3038777	1 2	Buffer, 6 x 20 ml Buffer/enzymes/4-aminoantipyrine, 6 x 8 ml							●	●	
3038807 3038823	1 2	Buffer, 6 x 258 ml Buffer/enzymes/4-aminoantipyrine, 6 x 99 ml								●	●

Some analyzers and kits shown may not be available in all countries. For additional system applications, contact your local Roche representative.

Intended use
Homogeneous enzymatic assay for the direct quantitative determination of LDL-cholesterol in human serum and plasma on automated clinical chemistry analyzers.

Summary
Low Density Lipoproteins (LDL) play a key role in causing and influencing the progression of atherosclerosis and coronary sclerosis in articular. The LDLs are derived from VLDLs (Very Low Density Lipoproteins) rich in triglycerides by the action of various lipolytic enzymes and are synthesized in the liver. The elimination of LDL from plasma takes place mainly by liver parenchymal cells via specific LDL receptors. Elevated LDL concentrations in blood and an increase in their residence time coupled with an increase in the biological modification rate results in the destruction of the endothelial function and a higher LDL-cholesterol uptake in the monocyte/macrophage system as well as by smooth muscle cells in vessel walls. The majority of cholesterol stored in atherosclerotic plaques originates from LDL. The LDL-cholesterol value is the most powerful clinical predictor among all of the single parameters with respect to coronary atherosclerosis. Therefore, therapies focusing on lipid reduction primarily target the reduction of LDL-cholesterol which is then expressed in an improvement of the endothelial function, prevention of atherosclerosis and reducing its progression as well as preventing plaque rupture.

Various methods are available for the determination of LDL-cholesterol such as ultracentrifugation as the reference method, lipoprotein electrophoresis and precipitation methods. In the precipitation methods apolipoprotein-B-containing LDL-cholesterol is, for example, precipitated using either polyvinyl sulfate, dextran sulfate or polycyclic anions. The LDL-cholesterol content is usually calculated from the difference between total cholesterol and cholesterol in the remainder (VLDL- and HDL-cholesterol) in the supernate after precipitation with polyvinyl sulfate and dextran sulfate. Lipid Research Clinics recommend a combination of ultracentrifugation and precipitation methods using polyanions in the presence of divalent cations. The precipitation methods are, however, time-consuming, cannot be automated and are susceptible to interference by hyperlipemic serum, particularly at high concentrations of free fatty acids. A more recent method is based on the determination of LDL-cholesterol after the sample is subjected to immunoadsorption and centrifugation.

The calculation of the LDL-cholesterol concentration according to Friedewald's formula is commonly practised. The formula is based on 2 cholesterol determinations, 1 triglyceride determination as well as precipitation of the HDL particles and presumes that a direct relationship exists between VLDL-cholesterol and triglycerides in fasting blood samples. Even in the presence of small amounts of chylomicrons or abnormal lipoproteins, the formula gives rise to falsely low LDL-cholesterol values. For this reason a great need exists for a simple and reliable method for the determination of LDL-cholesterol without any preparatory steps or calculation.

This automated method for the direct determination of LDL-cholesterol takes advantage of the selective micellary solubilization of LDL-cholesterol by a nonionic detergent and the interaction of a sugar compound and lipoproteins (VLDL and chylomicrons). When a detergent is included in the enzymatic method for cholesterol determination (cholesterol esterase cholesterol oxidase coupling reaction), the relative reactivities of cholesterol in the lipoprotein fractions increase in this order: HDL < chylomicrons < VLDL < LDL. In the presence of Mg^{++}, a sugar compound markedly reduces the enzymatic reaction for the cholesterol measurement in VLDL and chylomicrons. The combination of a sugar compound with detergent enables the selective determination of LDL-cholesterol in serum.[1-8]

Non-fasting sample results are slightly lower than fasting results. Comparable non-fasting results were observed with the beta quantification method.[9-11] This direct assay meets the 1995 NECP goals of < 4% total CV, bias ≤ 4% versus reference method, and ≤ 12% total analytical error.[12]

Test principle
Homogeneous enzymatic colorimetric assay

$$\text{LDL-cholesterol esters} + H_2O \xrightarrow[\text{Cholesterol esterase}]{\text{Detergent}} \text{Cholesterol + free fatty acids (selective micellary solubilization)}$$

Cholesterol esters are broken down quantitatively into free cholesterol and fatty acids by cholesterol esterase.

$$\text{LDL-cholesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{Cholesterol oxidase}} \Delta^4\text{-cholestenone} + H_2O_2$$

In the presence of oxygen, cholesterol is oxidized by cholesterol oxidase to Δ^4-cholestenone and hydrogen peroxide.

$$2H_2O_2 + \text{4-aminoantipyrine} + \text{HSDA}^* + H_2O + H^+ \xrightarrow{\text{peroxidase}} \text{Purple-blue pigment} + 5H_2O$$

(Abs. max = 585 nm)

*HSDA = Sodium N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline

In the presence of peroxidase, the hydrogen peroxide generated reacts with 4-aminoantipyrine and HDSA to form a purple-blue dye. The color intensity of this dye is directly proportional to the cholesterol concentration and is measured photometrically.

Working solution concentration
R1 Buffer
MOPS (3-morpholinopropane sulfonic acid buffer): 20.1 mmol/l, pH 6.5; HSDA: 0.3 g/l; ascorbate oxidase (Eupenicillium spec., recombinant): ≥ 3 kU/l; peroxidase (horseradish): ≥ 10 kU/l; preservative

R2 Buffer/enzymes/4-aminoantipyrine
MOPS (3-morpholinopropane sulfonic acid buffer): 20.1 mmol/l, pH 6.8; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 2.0 g/l; 4-aminoantipyrine: 0.5 g/l; cholesterol esterase (Pseudomonas spec.) ≥ 3.0 kU/l; cholesterol oxidase (Brevibacterium spec., recombinant) ≥ 2.0 kU/l; peroxidase (horseradish) ≥ 20 kU/l; detergent; preservative.

Precautions and warnings
For in vitro diagnostic use.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.
Disposal of all waste material should be in accordance with local guidelines.

Reagent handling
R1: Ready for use
R2: Ready for use

Storage and stability
Unopened kit components: Up to the expiration date at 2–8°C
R1: 28 days opened and refrigerated on the analyzer
R2: 28 days opened and refrigerated on the analyzer

HDL-C plus

HDL-Cholesterol plus

● Indicates Roche/Hitachi analyzer(s) on which kit(s) can be used

Cat. no.	Bottle	Contents	704	717	736 737	747	902	904	911 912	914	917	MODULAR P	MODULAR D
1930648	1 2	α-Cyclodextrin/buffer, 6 x 54 ml PEG-enzymes/4-aminophenazone/buffer, 6 x 20 ml									●	●	
1875850 1875876	1 2	α-Cyclodextrin/buffer, 6 x 267 ml PEG-enzymes/4-aminophenazone/buffer, 6 x 103 ml										●	●
1876112 1876147	1 2	α-Cyclodextrin/buffer, 4 x 653 ml PEG-enzymes/4-aminophenazone/buffer, 4 x 231 ml											●
1930672	1 2	α-Cyclodextrin/buffer, 6 x 29.3 ml PEG-enzymes/4-aminophenazone/buffer, 3 x 20.0 ml	●	●			●	●	●	●			
1930729	1 2	α-Cyclodextrin/buffer, 6 x 72 ml PEG-enzymes/4-aminophenazone/buffer, 3 x 50 ml		●				●	●	●			
1930753 1930770	1 2	α-Cyclodextrin/buffer, 5 x 252 ml PEG-enzymes/4-aminophenazone/buffer, 3 x 150 ml			●	●							

Some analyzers and kits shown may not be available in all countries. For additional system applications, contact your local Roche representative.

Intended use
Enzymatic in vitro assay for the direct quantitative determination of HDL-cholesterol in human serum and plasma on automated clinical chemistry analyzers.

Summary
High density lipoproteins (HDL) are responsible for the reverse transport of cholesterol from the peripheral cells to the liver. Here, cholesterol is transformed to bile acids which are excreted into the intestine via the biliary tract. Monitoring of HDL-cholesterol in serum is of clinical importance since an inverse correlation exists between serum HDL-cholesterol concentrations and the risk of atherosclerotic disease. Elevated HDL-cholesterol concentrations are protective against coronary heart disease, while reduced HDL-cholesterol concentrations, particularly in conjunction with elevated triglycerides, increase the cardiovascular risk.

A variety of methods are available to determine HDL-cholesterol, including ultracentrifugation, electrophoresis, HPLC, and precipitation-based methods. Of these, precipitation-based methods are used routinely. HDL-cholesterol is first separated by precipitating apoprotein B-containing lipoproteins from serum by using a combination of a polyanion and a divalent cation, such as dextran sulfate/magnesium chloride or phosphotungstate/magnesium chloride. Such precipitation-based methods are, however, time-consuming and not amenable to automated analysis. Thus, there is a great clinical need for a convenient and reliable method for measuring HDL-cholesterol in serum without any pretreatment. Several approaches for direct measurement of HDL-cholesterol in serum have been proposed, including the use of magnetically responsive particles as polyanion-metal combinations and the use of polyethylene glycol (PEG) with anti-apoprotein B and anti-apoprotein CIII antibodies.

This automated method for direct determination of HDL-cholesterol in serum and plasma uses PEG-modified enzymes, sulfated α-cyclodextrin and dextran sulfate. When cholesterol esterase and cholesterol oxidase enzymes are modified by PEG, they show selective catalytic activities toward lipoprotein fractions, with the reactivity increasing in the order: LDL < VLDL ≈ chylomicrons < HDL.

In the presence of magnesium ions, sulfated α-cyclodextrin reduces the reactivity of cholesterol, especially in chylomicrons and very low density lipoprotein (VLDL), without the need for precipitation of lipoprotein aggregates.[1-12]

Nonfasting sample results are slightly lower than fasting results. Comparable non-fasting results were observed with the beta quantification method.[13-15]

The Roche direct HDL cholesterol assay meets the 1998 National Institutes of Health (NIH) / National Cholesterol Education Program (NCEP) goals for acceptable performance.[16] The results of this method correlate with those obtained by precipitation-based methods and also by an ultracentrifugation method.

Test principle[1,2]
Homogeneous enzymatic colorimetric test

- Sample and addition of R1 (sulfated α-cyclodextrin/buffer).
  In the presence of slightly alkaline buffer and magnesium sulfate, sulfated α-cyclodextrin and dextran sulfate selectively form water-soluble complexes with LDL, VLDL, and chylomicrons which are resistant to PEG-modified enzymes.
- Addition of R2 (PEG-modified enzymes/4-aminophenazone/buffer) and start of reaction:
  The cholesterol concentration of HDL-cholesterol is determined enzymatically by cholesterol esterase and cholesterol oxidase coupled with PEG to the amino groups (approx. 40%).

$$\text{HDL-cholesterol esters} + H_2O \xrightarrow[\text{esterase}]{\text{PEG-cholesterol}} \text{cholesterol} + \text{RCOOH}$$

Cholesterol esters are broken down quantitatively into free cholesterol and fatty acids by cholesterol esterase.

$$\text{cholesterol} + O_2 \xrightarrow[\text{oxidase}]{\text{PEG-cholesterol}} \Delta^4\text{-cholestenone} + H_2O_2$$

In the presence of oxygen, cholesterol is oxidized by cholesterol oxidase to Δ^4-cholestenone and hydrogen peroxide.

$$2\,H_2O_2 + \text{4-aminophenazone} + \text{HSDA}^* + H^+ + H_2O \xrightarrow{\text{peroxidase}} \text{purple blue pigment} + 5\,H_2O$$

*HSDA = N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline

In the presence of peroxidase, the hydrogen peroxide generated reacts with 4-aminophenazone and HSDA to form a purple blue dye. The color intensity of this dye is directly proportional to the cholesterol concentration and is measured photometrically.

Working solution concentration
R1 α-Cyclodextrin/buffer
MOPS buffer**: 2 g/l, pH 7.0; sulfated α-cyclodextrin: 0.1 g/l; dextran sulfate: 0.7 g/l; magnesium sulfate: 7.0 g/l; HSDA: 0.3 g/l; ascorbate oxidase (Acremonium sp.) ≥ 3 kU/l; peroxidase (horseradish) ≥ 5 kU/l; preservative
R2 PEG-enzymes/4-aminophenazone/buffer
PIPES buffer***: 3 g/l, pH 7.0; PEG-cholesterol esterase (Pseudomonas spec.) ≥ 0.8 kU/l; PEG-cholesterol oxidase (Pseudomonas spec.) ≥ 5.3 kU/l; peroxidase (horseradish) ≥ 16 kU/l; 4-aminophenazone: 0.4 g/l; preservative

** MOPS = 3-morpholino-propanesulfonic acid
*** PIPES = piperazine-1,4-bis(2-ethanesulfonic acid)

Precautions and warnings
For in vitro diagnostic use.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Reagent handling
R1: Ready for use
R2: Ready for use

Storage and stability
Unopened kit components: Up to the expiration date at 2–8°C
R1: 28 days opened and refrigerated on the analyzer
R2: 28 days opened and refrigerated on the analyzer

HDL-C plus

Specimen collection and preparation
Collect serum using standard sampling tubes.
Li- and Na-heparin plasma.
Stability[15]: 7 days at 2–8°C
30 days at –70°C
Fasting and non-fasting samples can be used.[14] EDTA plasma causes decreased results.[16]
Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Testing procedure
Materials provided
• Working solutions as described above
Additional materials required
• Calibrators and controls as indicated below
• 0.9% NaCl
• SMS/Acid Wash

Assay
Refer to the appropriate operator's manual and/or the Instrument Settings section of this package insert for analyzer-specific assay instructions. The performance of applications not validated by Roche is not warranted and must be defined by the user.

Calibration
Standardization:[15] The homogeneous HDL-cholesterol method has been calibrated against the Roche PTA (phosphotungstic acid) precipitation method. The standardization meets the requirements of the "HDL Cholesterol Method Evaluation Protocol for Manufacturers" of the US National Reference System for Cholesterol, CRMLN (Cholesterol Reference Method Laboratory Network), November 1994.
S1: 0.9% NaCl
S2: C.f.a.s. (Calibrator for automated systems) HDL/LDL-C plus or C.f.a.s. HDL-C

Calibration frequency
Two-point calibration is recommended:
• after reagent lot change
• as required following quality control procedures
Calibration verification: Not necessary.

Quality control
For quality control, use Precinorm L, Precipath HDL/LDL-C or other suitable control material. The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calculation
Roche/Hitachi systems automatically calculate the HDL-cholesterol concentration of each sample.
Conversion factors: mg/dl x 0.026 = mmol/l
mmol/l x 38.66 = mg/dl

Limitations – interference[15,17]
(US users refer to application sheet for special wash instructions.)
To avoid needle and cuvette carry-over to Tina-quant ⓐ Albumin, lipoprotein (a), and protein C, and cuvette carry-over to ceruloplasmin and prealbumin use the Evasion software with Multiclean in the HDL-cholesterol assay. To avoid needle and cuvette carry-over to magnesium use the Evasion software with SMS/Acid Wash in the HDL-cholesterol assay.
Perform a cell wash daily with SMS/Acid Wash to prevent magnesium hydroxide from being deposited in the cell wash tubing line.
Criterion: Recovery within ± 10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to an I index of 46 for conjugated bilirubin and 56 for unconjugated bilirubin (approximate conjugated bilirubin concentration: 46 mg/dl or 787 µmol/l; approximate unconjugated bilirubin concentration: 56 mg/dl or 958 µmol/l).
Hemolysis: No significant interference up to an H index of 1000 (approximate hemoglobin concentration: 1000 mg/dl or 621 µmol/l).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an L index of 1000. There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.
The claim for lipemia interference is based on the Glick model[17], which uses Intralipid as an artificial substrate. To date, there is no model available which can mimic interference by triglycerides, as triglyceride levels in patient specimens behave unpredictably, depending on the nature of the esterified fatty acids in the samples. Patient specimens with elevated triglyceride levels are very often lipemic. Therefore customers cannot verify interference by triglycerides in patient specimens.
Ascorbic acid < 30 mg/dl and rheumatoid factors < 100 IU/ml do not interfere.
In rare cases, elevated immunoglobulin concentrations can lead to falsely increased HDL-cholesterol results. Abnormal liver function does affect lipid metabolism; consequently, HDL and LDL results are of limited diagnostic value. In some patients with abnormal liver function, the HDL-C plus result is significantly negatively biased versus the DCM (designated comparison method) result.
Of 20 commonly used drugs tested in vitro, none interfered with the assay.

Measuring/reportable range
3–120 mg/dl (0.08–3.12 mmol/l).
Determine samples with higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute samples with higher concentrations using 0.9% NaCl (e.g. 1 + 1). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 2).

Expected values

	No risk	Moderate risk	High risk
Men[18,19,20]			
mg/dl	> 55	35–55	< 35
mmol/l	> 1.45	0.90–1.45	< 0.90
Women[18,19,20]			
mg/dl	> 65	45–65	< 45
mmol/l	> 1.68	1.15–1.68	< 1.15

National Cholesterol Education Program (NCEP) guidelines[16]
< 35 mg/dl: Low HDL-cholesterol (major risk factor for CHD)
> 60 mg/dl: High HDL-cholesterol ("negative" risk factor for CHD)
HDL-cholesterol is affected by a number of factors, e.g. smoking, exercise, hormones, sex and age.
Each laboratory should investigate the transferability of expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference ranges. For diagnostic purposes, HDL-cholesterol results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.

Specific performance data
The data determined using a Roche/Hitachi system are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

Imprecision[15]
Reproducibility was determined daily using human samples and controls in an internal protocol (n = 21). The following results were obtained.

	Within run			Between day		
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	%CV	Mean mg/dl	SD mg/dl	%CV
Human serum	23	0.30	1.3	23	0.62	2.6
Precinorm L	44	0.30	0.6	44	0.76	1.7
Precipath HDL/LDL-C	33	0.33	1.0	33	0.63	1.9

Analytical sensitivity (lower detection limit)[15]
Detection limit: 3 mg/dl (0.08 mmol/l)
The lower detection limit represents the lowest measurable HDL-cholesterol concentration that can be distinguished from zero. It is calculated as three standard deviations of 21 replicates of the lowest standard.

Method comparison[15]
A. A comparison of the Roche HDL-cholesterol plus assay (y) with HDL-cholesterol precipitating agent from Roche (phosphotungstic acid/magnesium chloride) and a serum-containing standard (x) gave the following correlation in human sera (mg/dl):

HDL-C plus

Roche/Hitachi 717
Temperature: 37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[HDL–C]
ASSAY CODE	[2(2 POINT)]–[24]–[50]
SAMPLE VOLUME	[4]–[3]
R1 VOLUME	[300]–[100]–[NO]
R2 VOLUME	[100]–[50]–[NO]
WAVELENGTH	[700]–[600]
CALIB. METHOD	[LINEAR]–[0]–[0]
STD. (1) CONC.-POS.	[0.0]–[__]
STD. (2) CONC.-POS.	[__]–[__]
STD. (3) CONC.-POS.	[0]–[0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0]–[0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0]–[0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0]–[0]
SD-LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[80]
SENSITIVITY LIMIT	[700]
ABS LIMIT (INC/DEC)	[0]–[INCREASE]
PROZONE LIMIT	[32000]–[UPPER]
EXPECTED VALUE	[__]–[__]
PANIC VALUE	[__]–[__]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

__ Data entered by the operator

Elevated HDL-cholesterol levels occur on the Roche/Hitachi 717 systems after triglyceride assays by the GPO-PAP method. In such cases, perform triglyceride assays with the R1/R2 application.

Roche/Hitachi 747
Temperature: 37°C

PROGRAM 4.2 CHEMISTRY PARAMETERS		
TEST	[HDL–C]	
ASSAY CODE	[2(2 POINT)]–[22]–[50]	
WAVELENGTH	[700 (SUB)]–[600 (MAIN)]	
	SERUM	**URINE**
SAMPLE VOLUME	[4]–[3]	[__]–[__]
EXPECTED VALUE	[__]–[__]	[__]–[__]
PANIC VALUE	[__]–[__]	[__]–[__]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[0]–[INCREASE]	[__]–[__]
PROZONE LIMIT	[32000]–[UPPER]	[__]–[__]
	R1	R2
R1/R2 VOLUMES	[300]	[100]
R1/R2 DUMMY INTERVAL	[0]	[0]
DILUTION VOLUME	[0]	
CALIB. METHOD	[LINEAR]	
POINTS	[0]	
STD 1 CONC RACK POS	[__]–[__]–[__]	
STD 2 CONC RACK POS	[__]–[__]–[__]	
STD 3 CONC RACK POS	[0]–[__]–[0]	
STD 4 CONC RACK POS	[0]–[__]–[0]	
STD 5 CONC RACK POS	[0]–[__]–[0]	
STD 6 CONC RACK POS	[0]–[__]–[0]	
SD-LIMIT	[0.1]	
DUPLICATE LIMIT	[80]	
SENSITIVITY LIMIT	[700]	
STD 1 ABS. LEVEL	[__]–[__]	
INSTRUMENT FACTOR	[1.0]	

__ Data entered by the operator

Roche/Hitachi 902

No.	<Chemistry>	
1	Test Name	HDL-C
2	Assay Code (Mthd)	2 Point End
3	Assay Code (2. Test)	0
4	Reaction Time	10
5	Assay Point 1	17
6	Assay Point 2	35
7	Assay Point 3	0
8	Assay Point 4	0
9	Wavelength (SUB)	700
10	Wavelength (MAIN)	600
11	Sample Volume	4.0
12	R1 Volume	300
13	R1 Pos.	.....
14	R1 Bottle Size	Large
15	R2 Volume	0
16	R2 Pos.	0
17	R2 Bottle Size	Small
18	R3 Volume	100
19	R3 Pos.	.....
20	R3 Bottle Size	Small
21	Calib. Type (Type)	Linear
22	Calib. Type (Wght)	0
23	Calib. Conc. 1	0
24	Calib. Pos. 1	.....
25	Calib. Conc. 2	.....
26	Calib. Pos. 2	.....
27	Calib. Conc. 3	0
28	Calib. Pos. 3	0
29	Calib. Conc. 4	0
30	Calib. Pos. 4	0
31	Calib. Conc. 5	0
32	Calib. Pos. 5	0
33	Calib. Conc. 6	0
34	Calib. Pos. 6	0
35	S1 ABS.	0
36	K Factor	10000
37	K 2 Factor	10000
38	K 3 Factor	10000
39	K 4 Factor	10000
40	K 5 Factor	10000
41	A Factor	0
42	B Factor	0
43	C Factor	0
44	SD Limit	0.1
45	Duplicate Limit	80
46	Sens. Limit	700
47	S1ABS. Limit (L)	-32000
48	S1ABS. Limit (H)	32000
49	ABS. Limit	32000
50	ABS. Limit (D/I)	Increase
51	Prozone Limit	32000
52	Proz Limit (Upp/Low)	Upper
53	Prozone (End Point)	35
54	Expect. Value (L)	.....
55	Expect. Value (H)	.....
56	Instr. Fact. (a)	1.0
57	Instr. Fact. (b)	0.0
58	Key Setting	.....

.... Data entered by the operator

For detailed information, consult the operator manuals for Roche/Hitachi systems, the respective application sheets and the package inserts for the calibrators and control sera. Tina-quant, Precinorm and Precipath are trademarks of a member of the Roche Group.

[i] = Significant additions or changes

©2000 Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany
Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN, USA
US Customer Technical Support 1-800-428-2336

2000-04

Roche

1963953001 04 05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

HDL-C plus

English – 2000-04 – 1963953001 03 05

Passing/Bablok [21,22]	Linear regression
y = 2.86 + 0.95 x	y = 3.09 + 0.94 x
r = 0.992	r = 0.992
SD (md 95) = 2.79	Sy.x = 1.44

Number of samples measured: 107

The sample concentrations were between 5 and 100 mg/dl.

B. A comparison of the Roche HDL-cholesterol plus assay (y) with a CDC HDL-cholesterol designated comparison method (x) gave the following correlation in human sera (mg/dl):

Passing/Bablok [21,22]	Linear regression
y = 2.49 + 0.97 x	y =2.20 + 0.98 x
r = 0.996	r = 0.996
SD (md 95) = 2.41	Sy.x = 1.23

Number of samples measured: 41

The sample concentrations were between 23 and 92 mg/dl.

C. A comparison of the Roche HDL-cholesterol plus assay (y) with HDL-cholesterol precipitating agent from Roche (phosphotungstic acid/magnesium chloride) and an aqueous standard according to Abell Kendall (x) gave the following correlation in human sera (mg/dl):

Passing/Bablok [21,22]	Linear regression
y = 2.96 + 1.03 x	y = 3.49 + 1.01 x
r = 0.996	r = 0.996
SD (md 95) = 2.3	Sy.x = 1.1

Number of samples measured: 118

The sample concentrations were between 18 and 92 mg/dl.

References

1 Sugiuchi H, Uji Y, Okabe H, Irie T et al. Direct Measurement of High-Density Lipoprotein Cholesterol in Serum with Polyethylene Glycol-Modified Enzymes and Sulfated α-Cyclodextrin. Clin Chem 1995;41:717–723.
2 Matsuzaki Y, Kawaguchi E, Morita Y et al. Evaluation of Two Kinds of Reagents for Direct Determination of HDL-Cholesterol. J Anal Bio-Sc 1996;19:419–427.
3 Nauck M, März W, Jarausch J et al. Multicenter evaluation of a homogeneous assay for HDL-cholesterol without sample pretreatment. Clin Chem 1997;43:1622–1629.
4 Zawta B, Klüber J. Brochure "Wissenswertes zu Apolipoproteinen", Fragen/Antworten (Roche 1991)
5 AVP Fettstoffwechselstörungen, Therapieempfehlungen 1, 1st ed. 1996;2–16.
6 Hatch FT, Lees RS. Practical methods for plasma lipoprotein analysis. Adv Lipid Res 1968;6:1–68.
7 Narayan KA, Kummerow FA. Disk electrophoresis of human serum lipoprotein. Nature 1965;205:246–248.
8 Okazaki M, Shiraishi K, Ohno Y et al. Heterogeneity of human high density lipoproteins on high performance liquid chromatography. J Biochem 1982;92:517–524.
9 Burstein M, Scholnick HR, Morfix R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. J Lipid Res 1970;11:583–595.
10 Musto J, Lawlor JF. HDL-cholesterol: online separation and analysis utilizing an automated chemistry analyzer [Abstract]. Clin Chem 1993;39:1125.
11 Kakuyama T, Kimura S, Hashiguchi Y. Fully automated determination of HDL-cholesterol from human serum with Hitachi 911 [Abstract]. Clin Chem 1994;40:1104.
12 Harris N, Galpchian V, Rifai N. Three routine methods for measuring high-density lipoprotein cholesterol compared with the Reference method. Clin Chem 1996;42:738–743.
13 Cohn JS, McNamara JR, Schaefer EJ. Lipoprotein Cholesterol Concentrations in the Plasma of Human Subjects as Measured in the Fed and Fasted States. Clin Chem 1988;34:2456–2459.
14 Pisani T, Gebski CP, Leary ET, et al. Accurate Direct Determination of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Using an Immunoseparation Reagent and Enzymatic Cholesterol Assay. Arch Pathol Lab Med 1995;119:1127.
15 Data on file at Roche.
16 Second Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). NIH Publication No 93-3096; September 1993.
17 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470–474.
18 Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft, 1992:208.
19 Assmann G. At what levels of total low- or high-density lipoprotein cholesterol should diet/drug therapy be initiated? European guidelines. Amer J Cardiol 1990;65:11F.
20 Assmann G, Schriewer H, Schmitz G et al. Quantification of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid/$MgCl_2$. Clin Chem 1983;29:2026–2030.
21 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
22 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.

Instrument settings

US users

Refer to application sheet for additional operating information.

Roche/Hitachi 736 and 914 customers

Refer to application sheet for instrument settings.

Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917, and MODULAR users

Read in the application parameters from the application diskette or barcode sheet, as appropriate.

Roche/Hitachi 704

Temperature: 37°C

PROGRAM 2 CHEMISTRY PARAMETERS	
TEST	[HDL–C]
ASSAY CODE	[2(2 POINT)]–[15]–[32]
SAMPLE VOLUME	[5]
R1 VOLUME	[350]–[50]–[NO]
R2 VOLUME	[115]–[20]–[NO]
WAVELENGTH	[700]–[600]
CALIB. METHOD	[LINEAR]–[0]–[0]
STD. (1) CONC.-POS.	[0.0]–[__]
STD. (2) CONC.-POS.	[__]–[__]
STD. (3) CONC.-POS.	[0]–[0]
STD. (4) CONC.-POS.	[0]–[0]
STD. (5) CONC.-POS.	[0]–[0]
STD. (6) CONC.-POS.	[0]–[0]
UNIT	[__]
SD-LIMIT	[0.1]
DUPLICATE LIMIT	[80]
SENSITIVITY LIMIT	[700]
ABS. LIMIT (INC/DEC)	[0]–[INCREASE]
PROZONE LIMIT	[32000]–[UPPER]
EXPECTED VALUE	[__]–[__]
INSTRUMENT FACTOR	[1.00]

__ Data entered by the operator

Elevated HDL-cholesterol levels occur on Roche/Hitachi 704 systems after triglyceride assays by the GPO-PAP method. In such cases, perform triglyceride assays with the R1/R2 application.

Roche/Hitachi 737

Temperature: 37°C

SYSTEM PARAMETERS CHAPTER 9.0 ...... (CHEMISTRY)				
	TEST NAME			HDL–C
1.	ASSAY CODE			ENDP–08–20
2.	SAMPLE VOLUME			4 µl
3.	R1 VOLUME			300 µl
4.	R2 VOLUME			100 µl
5.	WAVELENGTH 1			600 nm
	WAVELENGTH 2			700 nm
6.	COMPENSATE LIMIT			0.0
7.	CALIBRATION			
	REQ. NO	CALIB. ID		CONC
	1) 01	D	SALINE	0
	2) 02		CALIB.	Ass. value
	3)			__
	4)			__
	5)			__
	6)			__
	7)			__
8.	EQUATION NO (1–5)			1
9.	FACTOR (FIXED)			__
10.	UNIT FACTOR			1.00
11.	ABS. LIMIT (RATE)			0
	INC/DEC			INC

__ Data entered by the operator

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวสุวรรณี นำเกียรติวงษา เกิดวันที่ 22 กุมภาพันธ์ พุทธศักราช 2519 ที่จังหวัดบุรีรัมย์ สำเร็จการศึกษาแพทยศาสตรบัณฑิต จากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2540 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากุมารเวชศาสตร์ ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเมื่อปีพ.ศ. 2544 ปัจจุบันเป็นแพทย์ประจำบ้านภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย