ผลกึ่งเฉียบพลันของกวาวเครือขาวต่อการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์และค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมันในตับของหนูแรทเพศผู้

Sub-acute Effects of Kwao Khruea Khao [*Puerariacandollei* Wall. Ex Benth. Var. *mirifica* (Airy Shaw & Suvat.) Niyomdham] on Growth of Reproductive Organs and Hepatic Lipid Metabolic Parameters in Male Rats

ปัทมา จันทาศรี,[1] ประยุกต์ ศรีวิไล,[2] พนิดา เล้าชาญวุฒิ[3*]

Patthama Chanthasri,[1] Prayook Srivilai,[2] Panida Loutchanwoot[3*]

Received: 26 January 2017 ; Accepted: 27 April 2017

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและประเมินความเป็นพิษของกวาวเครือขาวต่อการทำงานของอวัยวะสืบพันธุ์และเมแทบอลิซึมของไขมันในตับของหนูแรทเพศผู้ โดยแบ่งหนูออกเป็น 4ก ลุ่ม กลุ่มละ 12 ตัว และให้สารทดสอบโดยป้อนเข้าทางปากสู่กระเพาะอาหารโดยตรง เป็นเวลา 28 วัน ตามระเบียบวิธีวิจัยของ OECD Test Guideline No.407 (Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents) กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา ได้แก่ น้ำกลั่น (0.7 มล.ต่อตัวต่อวัน) กลุ่มที่ 2 ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาดต่าง ๆ ได้แก่ 10 100 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน กลุ่มที่ 3 กลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน ได้แก่ ฟลูตาไมด์ (10 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน) กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนได้แก่ 17 บีตา-เอสตราไดออล (2 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน) โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เมื่อสิ้นสุดการทดลองการุณยฆาตหนูผ่าเก็บอวัยวะเป้าหมาย ได้แก่ อัณฑะ ต่อมลูกหมาก เซมินัล เวสิเคิลอีพิดิไดมิสตับ และไต โดยชั่งน้ำหนักสดของอวัยวะเป้าหมายภายหลังการุณยฆาตทันที และนำซีรั่มมาตรวจวัดค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมันในตับ ผลการวิจัยพบว่ากวาวเครือขาวที่ขนาด 100 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันมีผลลดอัตราการกินอาหารโดยเฉลี่ย แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวสุดท้ายและไม่ก่อให้เกิดการตายของหนู กวาวเครือขาวที่ขนาด 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของเซมินัล เวสิเคิล ต่อมลูกหมาก และอีพิดิไดมิสลดลงคล้ายกับผลของฮอร์โมนเอสโตรเจนและฟลูตาไมด์ หนูที่ได้รับกวาวเครือขาวที่ขนาด 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีระดับคอเลสเตอรอลรวม ไตรกลีเซอไรด์คอเลสเตอรอลชนิดไลโพโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำและสูงในซีรั่มลดลง โดยมีผลคล้ายกับหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลส่วนฟลูตาไมด์ให้ผลตรงกันข้าม งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่แสดงให้เห็นว่ากวาวเครือขาวออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนมากกว่าต้านฤทธิ์ฮอร์โมนแอนโดรเจนต่อการทำงานของอวัยวะสืบพันธุ์และเมแทบอลิซึมของไขมันในตับของหนูแรทเพศผู้

คำสำคัญ:ไฟโตเอสโตรเจน อัณฑะ ต่อมลูกหมาก เซมินัล เวสิเคิลไขมัน

---

[1] นิสิตปริญญาโท, [2] รองศาสตราจารย์, [3]ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

[1] Master degree student, [2] Associate Professor, [3]Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Khamriang Sub-district, Kantharawichai District, Mahasarakham Province 44150, Thailand

[*] Corresponding Author: PanidaLoutchanwoot,Department of Biology, Faculty of Science, MahasarakhamUniversity, Mahasarakham Province 44150, Thailand. E-mail address: panida.l@msu.ac.th Alternate E-mail address: oupanida@hotmail.com

Abstract

This study aims at investigating the subacuteeffects, and mechanisms of action and toxicity of Kwao Khruea Khao (*Puerariamirifica*; PM) on the growth of reproductive organs and hepatic lipid metabolism in male rats. Animal maintenance and treatments were carried out in accordance with the OECD Test Guideline No.40 7(Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents). Rats were allocated into 4 major groups (12 rats per group). Group 1 was orally gavaged with distilled water (Control). Group 2 was orogastric treated with PM suspended in distilled water of 10, 100, 750, and 1,500 mg/kg BW/day. Group 3 was orally gavaged with 10 mg/kg BW/day of the pure anti-androgenic reference drug, flutamide (FLUT). Group 4 was subcutaneously injected with 2 mg/kg BW/day of the positive estrogenic reference compound, 17β-estradiol (E2). Test compounds were given in the volume of 0.7 ml/rat/day for 28 consecutive days. At the end of treatment interval, animals were sacrificed and the target organs, i.e., testes,ventral prostate,seminal vesicles,epididymides,liver and kidneys were dissected and weighed. Serum levels of hepatic lipids metabolic parameters were measured. The results demonstrated that PM at the doses of 100, 750 and 1,500 mg/kg BW/day significantly decreased the average food intakes without altering the mean final body weights, and no treatment-related toxicity, or mortality were observed. Relative weights of seminal vesicles, ventral prostate, and epididymides were significantly decreased in the rats treated with 750 and 1,500 mg PM/kg BW/day, as well as estradiol- and flutamide-treated rats. The marked decreases in plasma levels of total cholesterol, triglycerides, high- and low-density lipoprotein cholesterols were observed in rats given 750 and 1,500 mg PM/kg BW/day, as well as estradiol-treated rats, whereas flutamide exerted opposite effects.Taken together, the data revealed for the first time that PM may exert estrogenic rather than anti-androgenic activity on the growth of reproductive organs and hepatic lipids metabolic parametersin the intact male rat.

Keywords: Phytoestrogen, Testes, Prostate, Seminal vesicle, Lipid

บทนำ

กวาวเครือขาว (KwaoKhrueaKhao) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Puerariacandollei* Wall. ex Benth. var. *mirifica* (Airy Shaw & Suvat.) Niyomdham จัดอยู่ในพืชวงศ์ Fabaceae พบมากในบริเวณพื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเล 300-800 เมตร พื้นที่ราบเชิงเขา พื้นที่ลาดชันและป่าเบญจพรรณทางภาคเหนือ ภาคตะวันตกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย[1] จากรายงานการวิจัยพบว่ารากสะสมอาหารของกวาวเครือขาวอุดมไปด้วยไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogens) ในปริมาณสูง ซึ่งพบอย่างน้อย 19 ชนิด[2,3] ไฟโตเอสโตรเจนเป็นสารประกอบที่พืชสามารถสร้างขึ้นเองได้ตามธรรมชาติ และมีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยเฉพาะชนิด 17 บีตา-เอสตราไดออล (17β-estradiol; E2) และสามารถจับกับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen receptor; ER) ได้จึงสามารถออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน[4]

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ากวาวเครือขาวออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนโดยจากการศึกษาในสภาวะนอกร่างกาย (*in vitro* assay) โดยใช้เทคนิค Cell proliferation assay พบว่ากวาวเครือขาวมีผลกระตุ้นการเจริญแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนของเซลล์สายพันธุ์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ (human mammary adenocarcinoma cancer cell line; MCF-7)[5,6] และจากการศึกษาในสภาวะร่างกายพบว่ากวาวเครือขาวมีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของมดลูกทั้งทางด้านน้ำหนักการเจริญแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุโพรงมดลูกและการเพิ่มความหนาของชั้นบุโพรงมดลูก (endometrium) อีกทั้งยังทำให้มดลูกบวมเต่งและมีปริมาณของเหลวภายในมดลูกเพิ่มมากขึ้น กระตุ้นการเจริญพัฒนาของถุงไข่และการตกไข่ในหนูแรทเพศเมียที่ไม่ได้ตัดรังไข่[7,8] และหนูแรทเพศเมียที่ตัดรังไข่[6,9] นอกจากนี้กวาวเครือขาวมีผลเพิ่มการขยายของรอบประจำเดือน และยับยั้งการหลั่งลูเทียไนซิงฮอร์โมน (luteinizing hormone; LH) และฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมน (follicle stimulating hormone; FSH) ในลิงเพศเมีย[10-12] จากการศึกษาทางคลินิกพบว่ากวาวเครือขาวช่วยบรรเทาอาการวัยหมดประจำเดือนในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน[13]

แต่ปัจจุบันพบว่ายังไม่มีข้อกำหนดที่ชัดเจนในการนำกวาวเครือขาวมาใช้กับผู้บริโภคและพบว่ายังมีการศึกษาน้อยและขาดข้อมูลที่แน่ชัดเกี่ยวกับฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและทางเภสัชวิทยาของกวาวเครือขาวในสัตว์เพศผู้ ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ากวาวเครือขาวมีผลทำให้น้ำหนักสดของอวัยวะสืบพันธุ์ของหนูแรทเพศผู้ลดลง[7,14,15] แต่

เนื่องจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ไม่มีการใช้กลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนและกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจนประกอบควบคู่กัน และไม่ได้ทำตามระเบียบวิธีวิจัยมาตรฐานสากล OECD Test Guideline No.407 (Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์กลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความเป็นพิษของกวาวเครือขาวต่อการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์และค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมันในตับของหนูแรทเพศผู้โดยใช้ฮอร์โมน 17 บีตา-เอสตราไดออล เป็นสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน (positive estrogenic compound)และฟลูตาไมด์ (flutamide; FLUT) เป็นสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน (positive anti-androgenic compound) เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในการแพทย์ทางเลือก เพื่อใช้ในการรักษาและป้องกันโรคที่เกี่ยวเนื่องกับฮอร์โมนเพศและเพื่อเสริมสร้างความมั่นใจต่อผู้บริโภคในการนำกวาวเครือขาวไปใช้ประโยชน์อย่างปลอดภัยต่อสุขภาพโดยรวม

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

สารทดสอบที่ใช้กับสัตว์ทดลอง

ผงกวาวเครือขาว สายพันธุ์วิชัย 3 (ได้รับความอนุเคราะห์จากรองศาสตราจารย์ ดร.วิชัย เชิดชีวศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

น้ำมันมะกอกบริสุทธิ์ (extra virgin olive oil; laboratory grade) บริษัท SOS Cuetaraประเทศสเปน

ฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ (17β-estradiol; E2) (1,3,5-Estratriene-3,17β-diol; $C_{18}H_{24}O_2$;CAS-number 50-28-2) บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี

สารต้านฤทธิ์ฮอร์โมนแอนโดรเจน (flutamide; FLUT) (2-methyl-*N*-[4'-nitro-3'-(trifluoromethyl) phenyl]-propanamide; $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ CAS-number 13311-84-7) บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี

สัตว์ทดลอง

หนูแรทเพศผู้ (*Rattusnovegicus*) อายุ 14 สัปดาห์ สายพันธุ์สปราก-ดาวเลย์ (Sprague-Dawley) ชนิด Outbred น้ำหนักตัวประมาณ 430-450 กรัม (สำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม)

การเลี้ยงและการแบ่งกลุ่มสัตว์ทดลอง

การเลี้ยงและการปฏิบัติกับสัตว์ทดลองของงานวิจัยนี้เป็นไปตามระเบียบวิธีวิจัยมาตรฐานสากลที่ได้รับการยอมรับโดยองค์กรนานาชาติ Organization for Economic Co-operation and Development (OECD guidelines for the testing of chemicals No.407) และได้รับการรับรองอนุมัติจริยธรรมและจรรยาบรรณการวิจัยในสัตว์ทดลองจากคณะกรรมการกำกับและส่งเสริมการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม (เลขที่การรับรอง : 0006/2558) โดยดำเนินการเลี้ยง และปฏิบัติกับสัตว์ทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการหนูแรท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เริ่มเลี้ยงสัตว์ทดลองวันที่ 1-28 มีนาคม 2557 เป็นระยะเวลา 28 วันโดยนำหนูแรทมาเลี้ยงก่อนเริ่มการทดลองเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อให้ร่างกายหนูได้ปรับสภาพ โดยเลี้ยงหนูในห้องเลี้ยงที่มีการควบคุมแสงสว่าง โดยกำหนดระยะเวลาของการได้รับแสงสว่างในแต่ละวันเท่ากับ 12 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 24±1 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ 50-55 เปอร์เซ็นต์ โดยให้หนูสามารถเข้าถึงอาหารสำเร็จรูปชนิดที่ปราศจากถั่วเหลืองเจือปน (บริษัท SsniffSpezialdiäten GmbH ประเทศเยอรมนี) และน้ำกลั่นได้เพียงพอต่อความต้องการ (*ad libitum*) นำหนูจำนวน 84 ตัวมาชั่งน้ำหนักและจัดกลุ่มโดยการสุ่มให้แต่ละกลุ่มมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยใกล้เคียงกันและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 435.96 ± 0.08 กรัม)และแบ่งกลุ่มออกเป็น 4 กลุ่มหลัก กลุ่มละ 12 ตัวดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา (Vehicle control group) ได้แก่ น้ำกลั่นปริมาตร 0.7 มล.ต่อตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปากสู่กระเพาะอาหารโดยตรง (orogastric gavage)

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มทดลอง (Treatment group) ที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 100 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปากสู่กระเพาะอาหารโดยตรง

กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนได้แก่ 17 บีตา-เอสตราไดออลขนาด 2 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนังปริมาตร 0.2 มล.ต่อตัวต่อวันโดยมีน้ำมันมะกอกเป็นสารตัวพา

กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจนได้แก่ ฟลูตาไมด์ขนาด 10 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันโดยป้อนเข้าทางปากสู่กระเพาะอาหารโดยตรง ปริมาตร 0.7 มล.ต่อตัวต่อวัน โดยมีน้ำมันมะกอกเป็นสารตัวพา

โดยให้สารทดสอบกับหนูทุกวัน ๆ ละ 1 ครั้ง ระหว่างเวลา 08.00-09.00 น. เป็นระยะเวลาติดต่อกัน 28 วัน โดยใน

ระหว่างระยะเวลาการทดลองทุก ๆ 5 วัน บันทึกน้ำหนักหนู และอัตราการกินอาหารและตรวจอาการความผิดปกติทางคลินิกทุกวัน

การการุณยฆาตสัตว์ทดลองและการเก็บตัวอย่างอวัยวะเป้าหมาย

เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดลองการุณยฆาตหนูโดยทำให้สลบด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ CO_2 asphyxiation) และตัดคอด้วยเครื่องกิโยติน (guillotine) เก็บเลือดจากส่วนลำตัว และผ่าเก็บอวัยวะเป้าหมายที่ตอบสนองต่อฤทธิ์ฮอร์โมนแอนโดรเจนได้แก่ อัณฑะ (Testes) ต่อมลูกหมาก (ventral prostate) เซมินัล เวสิเคิล (seminal vesicles) และอีพิดิไดมิส (epididymides) รวมทั้งตับและไตชั่งน้ำหนักสดของอวัยวะเป้าหมายภายหลังการุณยฆาตทันที

การปั่นแยกและเก็บตัวอย่างซีรั่ม เพื่อการตรวจวัดค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมันในตับ

นำตัวอย่างเลือดที่เก็บได้จากส่วนลำตัวของหนูมาปั่นแยกซีรั่มโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนำซีรั่มมาตรวจวัดค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมันในตับ โดยใช้เทคนิค Enzymatic colorimetric assay ด้วยเครื่องวิเคราะห์ทางเคมีอัตโนมัติ ยี่ห้อ VitrosECi รุ่น 3600 (บริษัท Johnson & Johnson ประเทศสหรัฐอเมริกา)

ปัจจัยตรวจสอบ

น้ำหนักตัวของหนูเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

อัตราการกินอาหาร (กรัมต่อตัวต่อวัน)

น้ำหนักสดของอัณฑะ ต่อมลูกหมาก เซมินัล เวสิเคิล อีพิดิไดมิสตับ และไต

ค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมันในตับในซีรั่ม ได้แก่ คอเลสเตอรอลรวม (total cholesterol; TC) คอเลสเตอรอลชนิดไลโพโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ (low-density lipoprotein cholesterol; LDL-C) และคอเลสเตอรอลชนิดไลโพโปรตีนที่มีความหนาแน่นสูง (high-density lipoprotein cholesterol; HDL-C) และไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides; TG)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

บันทึกข้อมูลที่ได้จากการทดลองในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (Mean ± S.E.M.) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบปัจจัยเดียว (One-way ANOVA) และทดสอบหลังการวิเคราะห์ (Post hoc test) โดยการเปรียบเทียบพหุคูณ (Multiple comparison) โดยใช้วิธี Dunnett's post hoc test ด้วยโปรแกรม Graph Pad Prism (version 5.0) (บริษัท Graph Pad Solfware ประเทศสหรัฐอเมริกา) ถ้าค่า *P*-value มีค่าน้อยกว่าระดับนัยสำคัญที่ 0.05 และ 0.01 แสดงว่าข้อมูลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ผลการศึกษา

น้ำหนักตัว

จากผลการวิจัยพบว่า ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวเริ่มต้นของหนูทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา โดยมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวเริ่มต้นเท่ากับ 435.96 ± 0.08 กรัม และน้ำหนักตัวสุดท้ายของหนูทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*>0.05) ยกเว้นหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวสุดท้ายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*<0.01) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 83.46 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

Table 1 Mean initial and final body weights and averagedaily food consumption of adult male rats treated with *Puer-ariamirifica* (PM), 17β-estradiol (E2),and flutamide(FLUT) for 28consecutivedays.

Treatment	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Food intake (g/animal/day)
Vehicle control	440.20 ± 14.33	450.60 ± 15.30	17.89 ± 0.26
PM-10	430.10 ± 5.05	446.60 ± 4.54$^{\#\#}$	17.58 ± 0.25$^{\#+}$
PM-100	437.00 ± 5.06	439.70 ± 6.95$^{\#\#}$	16.39 ± 0.36$^{*\#+}$
PM-750	439.60 ± 8.11	406.70 ± 10.57	14.87 ± 0.82*
PM-1500	442.00 ± 11.93	413.90 ± 12.21$^{\#}$	14.39 ± 0.96*
FLUT	436.50 ± 11.44	431.60 ± 13.81$^{\#\#}$	14.62 ± 0.54*
E2	437.10 ± 16.20	376.10 ± 10.37**	13.49 ± 0.49*

Data represent means ± S.E.M. (*P<0.05 versus vehicle controlgroup; **P<0.01 versus vehicle control group; $^{\#}P$<0.05 versus E2 group; $^{\#\#}P$<0.01 versus E2 group; ^{+}P<0.05 versus FLUT group)

อัตราการกินอาหาร

เมื่อพิจารณาอัตราการกินอาหารเฉลี่ย (กรัมต่อตัวต่อวัน) ของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์และหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลมีอัตราการกินอาหารโดยเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยมีค่าลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 91.6183.1180.4381.72 และ 75.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นขนาด 10และ100 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีอัตราการกินอาหารเฉลี่ยแตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (Table 1) และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 และ 100 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีอัตราการกินอาหารเฉลี่ยแตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) (Table 1)

น้ำหนักสดสัมพัทธ์ (relative wet weight) ของอวัยวะเป้าหมายเมื่อสิ้นสุดการวิจัย

น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะ

จากการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นทุกกลุ่ม ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะ ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมีค่าลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 27.10 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) ในทางตรงกันข้ามหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 109.92 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะของหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะแตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (Table 2) และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะแตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (Table 2)

น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของเซมินัล เวสิเคิล

จากการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของเซมินัล เวสิเคิลของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน หนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์ และหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของเซมินัล เวสิเคิลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (Table 2) โดยมีค่าลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 45.69 41.24 62.61 และ 17.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของเซมินัล เวสิเคิล แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 (P<0.01) 100 (P<0.01) 750 (P<0.05) และ 1,500 (P<0.05) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของเซมินัล เวสิเคิลแตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต่อมลูกหมากส่วนล่าง

จากการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต่อมลูกหมากส่วนล่างของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 (P<0.05) 750 (P<0.05) และ 1,500 (P<0.01) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน หนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์ (P<0.05) และหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออล (P<0.01) มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต่อมลูกหมากส่วนล่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 70.23 63.09 44.04 72.61 และ 16.66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่ม

ควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต่อมลูกหมากส่วนล่างแตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (Table 2) และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 (P<0.01) และ 1,500 (P<0.05) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต่อมลูกหมากส่วนล่างแตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2)

น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอีพิดิไดมิส

จากการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอีพิดิไดมิสของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน หนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์และหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอีพิดิไดมิสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมีค่าลดต่ำลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 82.60 78.26 และ 26.08 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอีพิดิไดมิสแตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 (P<0.01) 100 (P<0.01) และ 750 (P<0.05) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอีพิดิไดมิส แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของตับ

จากการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของตับของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 (P<0.05) 750 (P<0.01) และ 1,500 (P<0.01) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน หนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์ (P<0.01) และหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของตับเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยมีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 105.29 114.17 120.12 113.20 และ 112.61เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของตับแตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวทุกกลุ่ม มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของตับไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.01)

น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของไต

จากการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของไตของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน และหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของไตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 109.00 114.41 111.11 และ 119.96 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของไต และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 (P<0.01) 100 (P<0.01) และ 1,500 (P<0.05) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของไตแตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 750 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของไต แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) การเปลี่ยนแปลงของค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมันในตับ

ระดับ TC ในตับ

จากการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยของระดับ TC ของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อ

วัน และหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออล มีค่าเฉลี่ยของระดับ TC ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมีค่าลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 48.43 42.82 35.13 และ 26.40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Table 3) ในขณะที่พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยของระดับ TC และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของระดับ TC กับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 (P<0.01) 100 (P<0.01) และ 750 (P<0.05) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีค่าเฉลี่ยของระดับ TC แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (Table 3)

ระดับ LDL-C ในตับ

จากการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยของระดับ LDL-C ของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 (P<0.05) 750 (P<0.01) และ 1,500 (P<0.01) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน และหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออล มีค่าเฉลี่ยของระดับ LDL-C ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมีค่าลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัว

Table 2 Relative wet weights of reproductive and accessory organs of adult male rats treated with *Puerariamirifica* (PM), 17β-estradiol (E2), and flutamide(FLUT) for 28 consecutive days.

Treatment	Testes (g/100g)	Seminal vesicles (g/100g)	Ventral prostate (g/100g)	Epididymides (g/100g)	Liver (g/100g)	Kidneys (g/100g)
Vehicle control	0.856±0.018	0.337±0.014	0.084±0.006	0.0023±0.0001	3.210±0.052	0.666±0.010
PM-10	0.863± 0.022$^{\#\#}$++	0.330±0.026$^{\#\#++}$	0.099±0.007$^{\#\#++}$	0.0024±0.0001$^{\#\#++}$	3.230±0.057$^{\#++}$	0.683±0.010$^{\#\#}$
PM-100	0.855±0.016$^{\#\#++}$	0.309±0.006$^{\#\#++}$	0.059±0.005*$^{\#\#}$	0.0024±0.0000$^{\#\#++}$	3.380±0.083*	0.726±0.016**$^{\#\#}$
PM-750	0.839±0.035$^{\#\#++}$	0.154±0.020**$^{\#\#+}$	0.053±0.010*$^{\#\#}$	0.0022±0.0001$^{\#\#+}$	3.665±0.089**	0.762±0.006**$^{++}$
PM-1500	0.820±0.047$^{\#\#++}$	0.139±0.026**$^{\#\#+}$	0.037±0.004*$^{\#\#+}$	0.0019±0.0001**$^{\#\#}$	3.856±0.044**	0.740±0.025**$^{\#}$
FLUT	0.941±0.013**$^{\#\#}$	0.211±0.011**$^{\#\#}$	0.061±0.005*$^{\#\#}$	0.0018±0.0000**$^{\#\#}$	3.634±0.067**	0.690±0.012$^{\#\#}$
E2	0.232±0.012**	0.059±0.002**$^{\#\#}$	0.014±0.001**	0.0006±0.0000**	3.615±0.127*	0.799±0.015**

Data represent means ± S.E.M. (*P<0.05 versus vehicle control group; **P<0.01 vehicle control group; $^{\#}P$<0.05 versus E2 group; $^{\#\#}P$<0.01 versus E2 group; ^{+}P<0.05 versus FLUT group;^{++}P<0.01 versus FLUT group)

Table 3 Serum levels of total cholesterol (TC), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high- density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and triglycerides (TG) of adult male rats treated consecutively with *Puerariamirifica* (PM), 17β-estradiol (E2), and flutamide (FLUT) for 28 consecutive days.

Treatment	TC (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)	HDL-C (mg/dl)	TG (mg/dl)
Vehicle control	80.17 ± 5.461	24.00 ± 2.352	30.33± 5.025	211.5 ± 16.84
PM-10	74.00± 5.046$^{\#\#}$	25.00 ± 1.770$^{\#\#++}$	30.67 ± 4.326$^{\#\#++}$	207.0± 8.311$^{\#\#}$
PM-100	38.83± 3.754**$^{\#\#++}$	16.50 ± 2.391*$^{++}$	13.33± 3.180*$^{++}$	182.7± 15.760$^{\#\#}$
PM-750	34.33 ± 3.639**$^{\#++}$	9.333 ± 2.140**$^{++}$	7.833± 1.887**$^{++}$	153.8± 9.061*$^{\#\#}$
PM-1500	28.17 ± 3.291**$^{++}$	13.00 ± 2.266**$^{++}$	7.000 ± 1.238**$^{++}$	124.0 ± 7.506**$^{++}$
FLUT	75.17± 6.096$^{\#\#}$	44.50 ± 3.686**$^{\#\#}$	53.83 ± 2.688**$^{\#\#}$	180.3 ± 11.660$^{\#\#}$
E2	21.17 ± 3.745**	14.00 ±2.082**	7.667 ± 1.406**	111.5 ± 8.433**

Data represent means ± S.E.M. (*P<0.05versus vehicle control group; **P<0.01versus vehicle control group; $^{\#}P$<0.05versus E2 group; $^{\#\#}P$<0.01versus E2 group; ^{++}P<0.01versus FLUT group)

พาเท่ากับ 68.7538.8854.16 และ 58.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในทางตรงกันข้าม หนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์มีค่าเฉลี่ยของระดับ LDL-C เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 185.41 เปอร์เซ็นต์ (Table 3) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของระดับ LDL-C ของหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 (P<0.01) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของระดับ LDL-C แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (Table 3)

ดับ HDL-C ในตับ

จากการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยของระดับ HDL-C ของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 (P<0.05) 750 (P<0.01) และ 1,500 (P<0.01) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันและหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออล มีค่าเฉลี่ยของระดับ HDL-C ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 43.9425.8223.07 และ 25.27เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในทางตรงกันข้ามหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์มีค่าเฉลี่ยของระดับ HDL-C เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมีค่าเพิ่มขึ้นคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 177.48 เปอร์เซ็นต์ (Table 3) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 (P<0.01) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (Table 3) และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของระดับ HDL-C แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (Table 3)

ระดับ TG ในตับ

จากการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยของระดับ TG ของหนูทุกกลุ่มกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพา พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 750 (P<0.05) และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน และหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออล มีค่าเฉลี่ยของระดับ TG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมีค่าลดลงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารตัวพาเท่ากับ 72.7158.62 และ 52.71 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Table 3) ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยของระดับ TG และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 100 และ 750 (P<0.01) มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) และเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีค่าเฉลี่ยของระดับ TG แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) (Table 3)

อภิปรายผลการวิจัย

กวาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรไทยที่อุดมไปด้วยสารไฟโตเอสโตรเจนเช่น พิวราริน เจนิสเทอิน ดาอิดเซอิน และสารเมแทบอไลต์ ได้แก่ อีควอล[1,3,16] โดยอีควอลสามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นได้ทั้งคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน[17-20]และต้านฤทธิ์ฮอร์โมนแอนโดรเจน[21-23]แต่ในปัจจุบันพบว่าในสัตว์เพศผู้ยังมีการศึกษาน้อยและยังขาดข้อมูลที่แน่ชัดเกี่ยวกับฤทธิ์กลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและทางเภสัชวิทยาของกวาวเครือขาวในสัตว์เพศผู้ และเนื่องจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ไม่มีการใช้กลุ่มควบคุมที่ได้รับสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนและสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจนประกอบควบคู่กัน นอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาตามระเบียบวิธีวิจัยมาตรฐานสากลของ OECD Test Guideline No.407 งานวิจัยนี้เป็นงานแรกที่นำสารอ้างอิงที่เป็นทั้งสารที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน ได้แก่ 17 บีตา-เอสตราไดออล และสารที่ออกฤทธิ์ต้านฤทธิ์ของฮอร์โมนแอนโดรเจน ได้แก่ ฟลูตาไมด์ มาใช้ควบคู่กันในการประเมิน

ฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์และการเปลี่ยนแปลงของค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมันในตับของหนูแรทเพศผู้

จากการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นฮอร์โมนเอสตราไดออลและฟลูตาไมด์เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่าไม่มีการตายของหนูทุกกลุ่มเกิดขึ้น น้ำหนักตัวสุดท้ายของหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่มีการให้หนูเม้าส์เพศผู้อายุ 50-60 วัน ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 และ100 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปากเป็นระยะเวลา 8สัปดาห์ ไม่มีผลทำให้น้ำหนักตัวสุดท้ายเปลี่ยนแปลง[14] และหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์ที่ขนาด 10 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันไม่มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวสุดท้าย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่มีการให้หนูแรทเพศผู้ ได้รับฟลูตาไมด์ที่ขนาด 10 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันโดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 28 วัน ไม่มีผลทำให้น้ำหนักตัวสุดท้ายเปลี่ยนแปลง[24,25]แต่หนูในกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลที่ขนาด 2 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันมีน้ำหนักตัวสุดท้ายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับฮอร์โมนเอธินิลเอสตราไดออล (ethinylestradiol) ที่ขนาด 0.2 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 28 วัน มีผลทำให้น้ำหนักตัวสุดท้ายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[26,27] อย่างไรก็ตามพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันมีแนวโน้มที่จะมีน้ำหนักตัวลดลงสอดคล้องกับอัตราการกินอาหารที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีการให้หนูแรทเพศผู้ น้ำหนัก 100 ± 20 กรัม ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 และ 1,000 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 90 วัน มีผลทำให้น้ำหนักตัวและอัตราการกินอาหารลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[28] ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากไอโซฟลาโวนส์ที่พบในกวาวเครือขาว ได้แก่ เจนิสเทอินและดาอิดเซอิน[1,3,16] มีผลลดอัตราการกินอาหาร โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของศูนย์ควบคุมความหิวในระบบประสาทส่วนกลาง[29] เช่นเดียวกับหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลมีอัตราการกินอาหารลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่มีการให้หนูแรทเพศผู้ อายุ 49 วัน ได้รับอาหารที่มีฮอร์โมนเอสตราไดออลผสมอยู่ที่ขนาด 2.5 10 และ 50 ppm เป็นระยะเวลา 90 วัน มีผลทำให้อัตราการกินอาหารลดลง[30] ทั้งนี้เนื่องจากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนภายในร่างกายสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารของหนูแรท[31,32] โดยออกฤทธิ์ปรับลดการทำงานของเพปไทด์ฮอร์โมนหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการกินอาหารและกระตุ้นความอยากอาหารในระบบประสาทส่วนกลาง[29,31,32] เช่น นิวโรเพปไทด์ วาย (Neuropeptide Y) ซึ่งสังเคราะห์และหลั่งออกมาจากสมองส่วนไฮโพธาลามัส (hypothalamus)[29,32-34]และเกรลิน (ghralin) หรือเลโนมอเรนิน (lenomorenin) ซึ่งสังเคราะห์มาจากท่อทางเดินอาหาร[29,32] เป็นต้น

นอกจากนี้หนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์มีอัตราการกินอาหารลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่าการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับฟลูตาไมด์ที่ขนาด 0.25 1 และ 4 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 28 วัน[35] และที่ขนาด 25 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 10 วัน[36] มีผลทำให้อัตราการกินอาหารลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ลดความอยากอาหารของฟลูตาไมด์ซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกการออกฤทธิ์ต้านการทำงานของฮอร์โมนแอนโดรเจนของฟลูตาไมด์ โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าฮอร์โมนแอนโดรเจนภายในร่างกายออกฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อ เสริมสร้างมวลร่างกาย และความอยากอาหารผ่านการทำงานของตัวรับฮอร์โมนแอนโดรเจน (androgen receptor) ในหนูแรทเพศผู้[31,37] จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่ากวาวเครือขาวน่าจะออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนอย่างอ่อนต่อการลดอัตราการกินอาหารในหนูแรทเพศผู้ เนื่องจากกวาวเครือขาวสามารถจับกับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน[38-40] แต่ไม่สามารถจับกับตัวรับฮอร์โมนแอนโดรเจนได้[41]

จากผลการศึกษาฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกวาวเครือขาวต่อการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้พบว่าผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของเซมินัล เวสิเคิล ต่อมลูกหมากส่วนล่าง และอีพิดิไดมิสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jaroenpornและคณะ (2006)[14] ที่มีการให้หนูเม้าส์เพศผู้ อายุ 50-60 วัน ได้รับผงกวาวเครือขาวที่แขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ส่งผลทำให้น้ำหนักสดสุทธิของเซมินัล เวสิเคิล และอีพิดิไดมิสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่น้ำหนักสดสุทธิของอัณฑะไม่เปลี่ยนแปลง เช่นเดียวกับการให้หนูแรทเพศผู้ตัวเต็มวัยได้รับ

ผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 14 วัน มีผลทำให้น้ำหนักสดของเซมินัล เวสิเคิล และอีพิดิไดมิสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[42] และเช่นเดียวกันกับการศึกษาของวิไลพร ประสิทธิ์และคณะ (2544)[43] ซึ่งพบว่าการให้หนูแรทเพศผู้อายุ 4 สัปดาห์ ได้รับกวาวเครือขาวที่ขนาด 100 มิลลิกรัมวันละ 3 ครั้ง เป็นระยะเวลา 14 วัน มีผลทำให้น้ำหนักสดของเซมินัล เวสิเคิลและอีพิดิไดมิสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะดาอิดเซอินที่พบในกวาวเครือขาวสามารถถูกเมแทบอไลท์โดยแบคทีเรียในลำไส้ได้เป็นอีควอล (equol)[44] ซึ่งมีโครงสร้างทางโมเลกุลคล้ายกับฮอร์โมน 17 บีตา-เอสตราไดออลและสามารถเข้าจับกับทั้งตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและตัวรับฮอร์โมนแอนโดรเจน (androgen receptor; AR)[45-47] โดยอีควอลสามารถออกฤทธิ์เป็นได้ทั้งคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน[17-20] และต้านฤทธิ์ฮอร์โมนแอนโดรเจน[21,23] มีผลทำให้น้ำหนักของเซมินัล เวสิเคิล[18,19] ต่อมลูกหมากและอีพิดิไดมิส[21] ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การให้หนูแรทเพศผู้ อายุ 14 สัปดาห์ ได้รับฟลูตาไมด์ที่ขนาด 10 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของเซมินัล เวสิเคิล ต่อมลูกหมากส่วนล่าง และอีพิดิไดมิสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่มีการให้หนูแรทตัวเต็มวัยเพศผู้ได้รับฟลูตาไมด์ที่ขนาด 10 และ 100 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 28 วัน มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของต่อมลูกหมากและอีพิดิไดมิสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[24,25] เช่นเดียวกับการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับฟลูตาไมด์ที่ขนาด 20 50 และ 100 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 15 วัน มีผลทำให้น้ำหนักสดสุทธิของเซมินัล เวสิเคิล ต่อมลูกหมาก และอีพิดิไดมิสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[48] และจากงานวิจัยของ Toyoda และคณะ (2000)[35] พบว่าการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับฟลูตาไมด์ ที่ขนาด 0.25 1 และ 4 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน เป็นระยะเวลา 28 วัน และที่ขนาด 100 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน เป็นระยะเวลา 5 วัน[19] โดยป้อนเข้าทางปาก มีผลทำให้น้ำหนักของอัณฑะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับขนาดการได้รับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่งานวิจัยในครั้งนี้หนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์ที่ขนาด 10 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน ซึ่งเป็นขนาดการให้ที่มากกว่า ในระยะเวลา 28 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลาที่นานกว่าจึงทำให้น้ำหนักของอัณฑะเพิ่มขึ้นชัดเจนกว่าทั้งนี้เนื่องจากฟลูตาไมด์ออกฤทธิ์ต้านฤทธิ์ฮอร์โมนแอนโดรเจน โดยแย่งจับกับตัวรับของฮอร์โมนแอนโดรเจน ทำให้เกิดการยับยั้งการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนแอนโดรเจนส่งผลลดการเจริญเติบโตของอวัยวะที่มีความไวในการตอบสนองต่อการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนแอนโดรเจนอย่างจำเพาะได้แก่ เซมินัล เวสิเคิล ต่อมลูกหมาก และอีพิดิไดมิส[24,25,48]

นอกจากนี้หนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลซึ่งเป็นสารอ้างอิงเชิงบวกที่ออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ที่ขนาด 2 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะ เซมินัล เวสิเคิล ต่อมลูกหมากส่วนล่าง และอีพิดิไดมิสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีการให้หนูแรทตัวเต็มวัยเพศผู้ได้รับฮอร์โมนเอธินิลเอสตราไดออลที่ขนาด 0.2 มก.ต่อกก.น้ำหนักต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปากเป็นระยะเวลา 28 วัน ทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของเซมินัล เวสิเคิล ต่อมลูกหมากส่วนบนร่วมข้างและต่อมลูกหมากส่วนล่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[26,27]เช่นเดียวกันกับการให้หนูเม้าส์เพศผู้อายุ 50-60วัน ได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ไดเอสธิลสทิลเบสทอล (diesthylstilbestol) ที่ขนาด 200 ไมโครกรัมต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ มีผลทำให้น้ำหนักสดสุทธิของอัณฑะ เซมินัล เวสิเคิล และอีพิดิไดมิสลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[14] เนื่องจากฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ได้รับเพิ่มจากภายนอกร่างกายทำให้เกิดการควบคุมย้อนกลับแบบยับยั้ง (negative feedback) ต่อการทำงานของชุดอวัยวะไฮโพธาลามัส-ต่อมพิทูอิทารี-ต่อมเพศ (hypothalamic-pituitarygonadal-axis) ที่ระดับของสมองส่วนไฮโพธาลามัสและต่อมพิทูอิทารี ส่งผลทำให้มีการสร้างและหลั่งของโกนาโดทรอพิน รีลิสซิงฮอร์โมน (gonadotropin-releasing hormone) และลูทีไนซิงฮอร์โมนลดลง ตามลำดับ ทำให้ลดขบวนการชีวสังเคราะห์ของฮอร์โมนแอนโดรเจน และส่งผลลดการเจริญเติบโตของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์และมีความไวต่อการตอบสนองต่อการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนแอนโดรเจนอย่างมาก ได้แก่ เซมินัล เวสิเคิลต่อมลูกหมาก และอีพิดิไดมิส[24,25,48] ดังนั้นกวาวเครือขาวที่ขนาดสูงที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ คือ 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นไปได้ทั้งคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนหรือต้านฤทธิ์ฮอร์โมนแอนโดรเจนต่อการเจริญเติบโตของเซมินัล เวสิเคิล ต่อมลูกหมากส่วนล่าง และอีพิดิไดมิส ถึงแม้ว่ากวาวเครือขาวไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของอัณฑะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่กวาวเครือขาวมีแนวโน้มต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะลดลงคล้ายกับผลของฮอร์โมนเอสตราไดออล ในขณะที่ฟลูตาไมด์มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของอัณฑะเพิ่มขึ้น จึงสามารถคาดคะเนได้ว่ากวาวเครือขาวน่าจะออกฤทธิ์ทาง

ชีวภาพที่เป็นไปได้ต่อการเจริญเติบโตของอัณฑะคล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจนอย่างอ่อนมากกว่าต้านฤทธิ์ฮอร์โมนแอนโดรเจน

นอกจากนี้ยังพบว่าการได้รับกวาวเครือขาวที่ขนาด 100 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน ฮอร์โมนเอสตราไดออลและฟลูตาไมด์มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของตับเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 และ 1,000 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันโดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 90 วัน มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของตับเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[28]เช่นเดียวกับการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนและฟลูตาไมด์มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของตับเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [17,20,27,48] ซึ่งการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักสดสัมพัทธ์ของตับอาจเกิดจากการมีกิจกรรมของเอนไซม์ในตับเพิ่มขึ้นเนื่องจากตับทำหน้าที่หลักในการควบคุมขบวนการเมแทบอลิซึมสารซีโนไบโอติก (xenobiotic compounds)[49-51]

ไตเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่หลักในการกำจัดและกรองของเสียออกจากร่างกาย การได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 100 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน และฮอร์โมนเอสตราไดออล มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของไตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการให้หนูเพศแรทเพศผู้ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 1,000 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันโดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 90 วัน มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของไตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[28]ในทำนองเดียวกับการให้หนูเม้าส์เพศผู้ อายุ 30 วัน ได้รับเจนิสเทอินขนาด 2.5 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 90 วัน มีผลทำให้น้ำหนักสดสัมพัทธ์ของไตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[52]สอดคล้องกับการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลเบนโซเอทที่ขนาด 0.01 และ 0.04 มิลลิลิตรต่อตัวต่อวัน โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เป็นระยะเวลา 21 และ 42 วัน มีผลทำให้น้ำหนักสดสุทธิของไตเพิ่มขึ้น[53] ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากดาอิดเซอินที่พบในกวาวเครือขาวสามารถถูกเมแทบอไลท์เป็นอีควอลซึ่งการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับอีควอลส่งผลทำให้เกิดการเพิ่มการทำงานของไตทำให้มีการขับน้ำออกจากท่อไตเพิ่มมากขึ้น[54]

จากการตรวจวัดระดับของค่าทางชีวเคมีในซีรั่มที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมันในตับได้แก่ TC LDL-C HDL-C และ TG โดยใช้เทคนิค Enzymatic colorimetic assay พบว่ากวาวเครือขาวที่ขนาด 100 750 และ 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีผลลดระดับของ TC LDL-C และ HDL-C ในซีรั่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระดับของ TG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉพาะในหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 1,500 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของทรงพล ชีวะพัฒน์และคณะ (2543)[28] ที่ให้หนูแรทเพศผู้ น้ำหนัก 100±20 กรัม ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 10 100 และ 1,000 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันมีผลทำให้ระดับของ TC ในซีรั่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระดับของ TG ในซีรั่มลดลงในหนูกลุ่มที่ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นที่ขนาด 1,000 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน ในทำนองเดียวกับการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับดาอิดเซอิน ซึ่งเป็นไฟโตเอสโตรเจนชนิดหนึ่งที่พบในกวาวเครือขาว[1,3,16] ที่ขนาด 20 และ 60 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันโดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 60 วันมีผลลดระดับของTCTG และ LDL-C ในซีรั่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[55]และการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับเจนิสเทอินและดาอิดเซอินที่ขนาด 30 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันโดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ส่งผลให้ระดับของ TCHDL-C และ LDL-C ในซีรั่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[56] จากงานวิจัยนี้พบว่าผลของกวาวเครือขาวต่อการลดระดับไขมันในซีรั่มคล้ายกับผลของฮอร์โมนเอสตราไดออล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ให้หนูแรทเพศผู้ อายุ 3 เดือน ได้รับฮอร์โมนเอสตราไดออลวาลีเรทที่ขนาด 0.6 มก.ต่อกก.น้ำหนักต่อวัน โดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 5 วันส่งผลทำให้ระดับของ TC LDL-C และ HDL-C ในซีรั่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[17]และการให้หนูแรทที่ถูกตัดรังไข่ได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ขนาด 0.2 ม.ล โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เป็นระยะเวลา 4 วัน มีผลทำให้ระดับของ TC และ HDL-C ในซีรั่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[57]

ในทางตรงกันข้ามหนูกลุ่มที่ได้รับฟลูตาไมด์ที่ขนาด 10 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน มีระดับของ TC LDL-C และ HDL-C ในซีรั่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Loutchanwoot และคณะ (2015)[20] ที่ให้หนูแรทเพศผู้ได้รับฟลูตาไมด์ที่ขนาด 100 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวัน โดยป้อนทางปากสู่กระเพาะอาหารโดยตรงเป็นระยะเวลา 5 วัน มีผลทำให้ระดับของ TC LDL-Cและ HDL-C เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับการให้หนูแรทเพศผู้ได้รับฟลูตาไมด์ ที่ขนาด 30 มก.ต่อกก.น้ำหนักตัวต่อวันโดยป้อนเข้าทางปาก เป็นระยะเวลา 60 วัน มีผลทำให้ระดับของTC และ LDL-Cในซีรั่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[55]

สรุปผลการวิจัย

จากการประเมินฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และความเป็นพิษของกวาวเครือขาวต่อการเจริญเติบโตของอวัยวะ

สืบพันธุ์และค่าทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมันในตับของหนูแรทเพศผู้โดยให้หนูแรทเพศผู้ได้รับผงกวาวเครือขาวแขวนตะกอนในน้ำกลั่นโดยป้อนเข้าทางปาก และให้ได้รับน้ำและอาหารสำเร็จรูปที่ปราศจากถั่วเหลืองเจือปน เป็นระยะเวลา 28 วัน ตามระเบียบวิธีวิจัยของ OECD Test Guideline No.407 โดยใช้กลุ่มควบคุมที่ได้รับสารออกฤทธิ์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน และกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารต้านฤทธิ์ฮอร์โมนแอนโดรเจนประกอบควบคู่กัน สามารถสรุปได้ว่าการให้หนูเพศผู้ได้รับกวาวเครือขาว ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกาย และไม่ทำให้เกิดการตายของหนู โดยกวาวเครือขาวสามารถออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนอย่างอ่อนมากกว่าต้านฤทธิ์ฮอร์โมนแอนโดรเจนต่อการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์และเมแทบอลิซึมของไขมันในตับของหนูแรทเพศผู้ ดังนั้นการนำกวาวเครือขาวไปใช้ในเพศชายควรคำนึงถึงฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของกวาวเครือขาวซึ่งออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนซึ่งเป็นฮอร์โมนชนิดหลักที่ทำหน้าที่ควบคุมและกระตุ้นให้เกิดพัฒนาการและการแสดงออกซึ่งลักษณะทางเพศของเพศหญิง

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อพัฒนานิสิตระดับบัณฑิตศึกษา (ปริญญาโท) งบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เอกสารอ้างอิง

1. Malavijitnond S,Kiatthaipipat P,Cherdshewasart W, Watanabe G, Taya K. Different effects of *Pueraria-amirifica*, a herb containing phytoestrogens, on LH and FSH secretion in gonadectomized female and male rat, J PharmacolSci 2004;96(4):428-35.
2. Chansakaow S, Ishikawa T, Seki H, Sekine K, Okada M, Chaichantipyuth C. Identification of deoxymiroestrol as the actual rejuvenating principle of "KwaoKeur," *Puerariamirifica*. The known miroestrol may be an artifact. J Nat Prod 2000;63(2):173-75.
3. Cherdshewasart W, Subtang S, Dahlan W. Major isoflavonoid contents of the phytoestrogen rich-herb *Puerariamirifica* in comparison with *Puerarialobata*. J Pharm Biomed Anal 2007;43(2):428-34.
4. Murkies AL, Wilcox G, Davis SR. Clinical review 92: Phytoestrogens. J ClinEndocrinolMetab 1998;83(2): 297-03.
5. Cherdshewasart W, Cheewasopit W, Picha P. The differential antiproliferation effect of white (*Puerari-amirifica*), red (*Butea superba*), and black (Mucunacollettii) KwaoKrua plants on the growth of MCF-7 cells. J Ethnopharmacol 2004;93(2-3):255-60.
6. Cherdshewasart W, Traisup V, Picha P. Determination of the estrogenic activity of wild phytoestrogen-rich *Puerariamirifica* by MCF-7 proliferation assay. J Reprod Dev 2008;54(1);63-7.
7. Chivapat S, Chavalittumrong P, Rattanajarasroj S, Chuthaputti A, panyamang S. Toxicity study of *Pu-erariamirifica*Airy Shaw et Suvatabandhu. Bull Med Sci2000;42(3):202-23.
8. Saenphet K, Kantaoop P, Saenphet S, Aritajat S. Mutagenicity of *Puerariamirifica* Airy Shaw &Suvatabandhu and antimutagenicity of Thunbergialaurifolia Linn. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2005;36(Suppl 4):238-41.
9. Malaivijitnond S, Tungmunnithum D, Gittarasanee S, Kawin K, Limjunyawong N. Puerarin exhibits weak estrogenic activity in female rats. Fitoterapia 2010;81(6):569-76.
10. Trisomboon H, Malaivijitnond S, Watanabe G, Taya K. Estrogenic effects of *Puerariamirifica* on the menstrual cycle and hormone-related ovarian functions in cyclic female cynomolgusmonkeys. J PharmacolSci 2004;94(1):51-9.
11. Trisomboon H, Malaivijitnond S, Watanabe G, Taya K. Ovulation block by *Puerariamirifica*: a study of its endocrinological effect in female monkeys. Endocrine 2005;26(1):33-9.
12. Trisomboon H, Malaivijitnond S, Watanabe G, Cherdshewasart W, Taya K. The estrogenic effect of *Pu-erariamirifica* on gonadotrophin levels in aged monkeys. Endocrine 2006; 29(1):129-34.
13. Muangman V, Cherdshewasart W. Clinical trails of the phytoestrogen-rich herb, *Puerariamirifica*, as a crude drug in the treatment of symptoms in menopausal women. SirirajHospGaz 2001;53(5):300–9.
14. Jaroenporn S, Malaivijitnond S, Wattanasirmkit K. Effects of *Puerariamirifica*, an herbcontaining phytoestrogens, on reproductive organs and fertility of

adult male mice. Endocrine2006;30(1):93-101.

15. Urasopon N, Hamada Y, Asaoka K, Cherdshewasart W, Malaivijitnond S.*Puerariamirifica,* a phytoestrogen-rich herb, prevents bone loss in orchidectomized rats. Maturitas2007;56(3):322-31.
16. Malaivijitnond S. Medical applications of phytoestrogens from the Thai herb *Puerariamirifica*. Front Med. 2012;6(1):8-21.
17. มัลลิกา สระศรี, ประยุกต์ ศรีวิไล, พนิดา เล้าชาญวุฒิ. ผลของอีควอลต่อการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์และอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์และเมแทบอลิซึมของไขมันในตับในหนูแรทตัวเต็มวัยเพศผู้. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 2015;34(2):140-55.
18. Loutchanwoot P, Srivilai P, Jarry H. Effects of the natural endocrine disruptor equol on the pituitary function in adult male rats. Toxicology 2013;304:69-75.
19. Loutchanwoot P, Srivilai P, Jarry H. Lack of antiandrogen effects of equol on reproductive neuroendrocrinefunction in the adult rat. HormBehav 2014;65:22-31.
20. Loutchanwoot P, Srivilai P, Jarry H. The influence of equol on the hypothalamic-pituitary-thyroid axis and hepatic lipid metabolic parameters in adult male rats. Lifsci 2015;128:1-7.
21. Lund TD, Munson JD, Haldy EM, Setchell KD,Lephart ED, Handa JR. Equol is a novel antiandrogen that inhibits prostate growth and hormonefeedback.Biol-Reprod 2004; 70(4):1188-95.
22. Lund TD, Blake C, Bu L, Hamaker AN, Lephart ED.Equol an isoflavonoid: potential for improved prostatehealth, *in vitro* and *in vivo* evidence. Reprod-BiolEndocrinol 2011;9(4):1-9.
23. Hedlund TE, Johannes WU, Miller GJ. Soy isoflavonoidequol modulates the growth of benign andmalignant prostatic epithelial cells in vitro. Prostate2003;54 (1):68-78.
24. Andrews P, Freyberger A, Hartmann E, Eiben R, Loofl, Schmidt U, Temerowski M, Becka M. Feasibilityand potential gains of enhancing the subacute ratstudy protocol (OECD test guideline no. 407) byadditional parameters selected to determine endocrine modulation. A pre-validation study to determineendocrine-mediated effects of the antiandrogenicdrug flutamide. Arch Toxicol2001;75(2):65-73.
25. Kunimatsu T, Yamada T, Miyata K, Yabushita S, SekiT, Okuno Y, Matsuo M. Evaluation for reliability andfeasibility of the draft protocol for the enhanced rat28-day subacute study (OECD Guideline 407)using androgen antagonist flutamide. Toxicology2004; 200(1):77-89.
26. Andrews P, Freyberger A, Hartmann E, Eiben R, Loofl, Schmidt U, Temerowski M, Folkerts A, Stahl B,Kayser M, Sensitive detection of the endocrine effectsof the estrogen analogue ethinylestradiol using amodified enhanced subacute rat study protocol(OECD Test Guideline no. 407). Arch Toxicol2002;76(4): 194-202.
27. Yamasaki K, Sawaki M, Noda S, Imatanaka N, Takatsuki M. Subacute oral toxicity study of ethynylestradiol and bisphenol A, based on the draft protocol forthe “Enhanced OECD Test Guideline no. 407”. ArchToxicol 2002;76(2):65-74.
28. ทรงพล ชีวะพัฒน์, ปราณี ชวลิตธำรง, สดุดี รัตนจรัสโรจน์, อัญชลี จูฑะพุทธิ, สมเกียรติ ปัญญามัง. พิษวิทยาของกวาวเครือขาว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2543;42(3) :202-23.
29. Zhang Y, Na X, Zhang Y, Li L, Zhao X,Cui H. Isoflavone reduces body weight by decreasing food intake in ovariectomized rats. Ann Nutrmetab 2009;54:163-70.
30. Biegel LB, Flaws JA, Hirshfield AN, O’Connor JC, Elliott GS, Ladics GS, et al. 90-day feeding and one-generation reproduction study in Crl:CD BR rats with 17 beta-estradiol. Toxicol Sci. 1998 44(2):116-42.
31. Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL, KalraPS. Interacting appetite-regulating pathways in thehypothalamic regulation of body weight. Endocr Rev1999;20(1):68-100.
32. Santollo J, Eckel LA.Estradiol decreases the orexigenic effect of neuropeptide Y,but not agouti-related protein,in ovariectomized rats. Behave brain res 2007;191(2):173-77.
33. Daniels AJ, Grizzle MK, Wiard RP, Matthews JE, Heyer D. Food intake inhibition and reduction in body

weight gain in lean and obese rodents treated with GW438014A, a potent and selective NPY-Y5 receptor antagonist. RegulPept2002;106:47-54.

34. Kanatani A, Ishihara A, Asahi S, Tanaka T, Ozaki S, Ihara M. Potent neuropeptideY Y1 receptor antagonist, 1229U91; blockade of neuropeptide Y-induced andphysiological food intake. Endocrinology 1996;137:3177-82.
35. Toyoda K, Shibutani M, Tamura T, Koujitani T,Uneyama C, Hirose M. Repeated dose (28 days) oraltoxicity study of flutamide in rats, based on the draftprotocol for the 'Enhanced OECD Test Guideline 407'for screening for endocrine-disrupting chemicals. Arch Toxicol 2000;74(3):127-32.
36. Kim SS, Lee RD, Lim KL, Kwack SJ, Rhee GS, SeokJH, Lee GS, An BS, Jeung EB, Park KL. Potentialestrogenic and antiandrogenic effects of permethrinin rats. J Reprod Dev 2005;51(2):201-10.
37. Dupont A, Cusan L, Gomez JL, Koutsilieris M, Suburu R, Emond J, et al. Combination therapy with flutamide and the LHRH agonist [D-Trp6, des-Gly-NH(2)10]LHRH ethylamide in stage C prostatic carcinoma. Br J Urol1993;72(5 Pt 1):629-34.
38. Lee YS, Park JS, Cho SD, Son JK, Cherdshewasart W, Kang KS.Requirement of Metabolic Activation for Estrogenic Activity of Puerariamirifica. J Vet Sci. 2002;3(4):273-7.
39. Boue SM, Wiese TE, Nehls S, Burow ME, Elliott S, Carter-Wientjes CH, et al. Evaluation of the Estrogenic Effects of Legume ExtractsContaining Phytoestrogens. J Agric Food Chem 2003 Apr 9;51(8):2193-9.
40. Boonchird C, Mahapanichkul T, Cherdshewasart W.Differential binding with ERalpha and ERbeta of the phytoestrogen-rich plant Puerariamirifica.Braz J Med Biol Res. 2010;43(2):195-200.
41. Okamura S, Sawada Y, Satoh T, Sakamoto H, Saito Y, Sumino H, et al. *Puerariamirifica* phytoestrogens improve dyslipidemia in postmenopausal women probably by activating estrogen receptor subtypes. Tohoku J Exp Med 2008;216(4):341-51.
42. ยุพดี ลางคลิจันทร์. การศึกษาผลของกวาวเครือขาว (*Puerariamirifica*) ที่มีต่ออวัยวะสืบพันธุ์ ต่อมหมวกไตับ พฤติกรรมการสืบพันธุ์และการสืบพันธุ์ในหนูขาวเพศผู้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2527.
43. วิไลพร ประสิทธิ์, วรรณดา สจุริต, ผกาวดี พงษ์เกษ. ผลของกวาวเครือขาวต่ออวัยวะของระบบสืบพันธุ์ในหนูขาวเพศผู้. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39, 5-7 กุมภาพันธ์ 2544, กรุงเทพฯ, หน้า 537-42.
44. Yuan JP, Wang JH, Liu X. Metabolism of dietary soyisoflavones to equol by human intestinal microfloraimplications for health. MolNutr Food Res 2007;51(7):765-81.
45. Bovee TF, Schoonen WG, Hamers AR, Bento MJ,Peijnenburg AA. Screening of synthetic and plant-derivedcompounds for (anti)estrogenic and (anti) androgenicactivities. Anal BioanalChem 2008;390(4):1111-9.
46. Muthyala RS, Ju YH, Sheng S, Williams LD, DoergeDR, Katzenellenbogen BS, Helferich WG, Katzenellenbogen JA. Equol, a natural estrogenic metabolitefrom soy isoflavone: convenient preparation andresolution of R- and S-equols and their differingbinding and biological activity through estrogenreceptors alpha and beta. Bioorg Med Chem2004;12(6):1559-1567.
47. Sathyamoorthy N, Wang TT. Differential effects ofdietary phyto-oestrogensdaidzein and equol onhuman breast cancer MCF-7 cells. Eur J Cancer1997;33(14):2384-2389.
48. O'Connor JC, Frame SR, Ladics GS. Evaluation ofa 15-day screening assay using intact male rats foridentifying antiandrogens. ToxicolSci 2002;69(1):92-108.
49. Mannaa F, Ahmed HH, Estefan SF, Sharaf HA,Eskander EF. Saccharomyces cerevisiae interventionfor relieving flutamide-induced hepatotoxicity in malerats. Pharmazie 2005;60:689-95.
50. Sato K, Ohuchi A, Sook SH, Toyomizu M, Akiba Y.Changes in mRNA expression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase and cholesterol 7alpha-hydroxylase in chickens. BiochimBiophysActa2003;1630:96-102.

51. Spady DK, Cuthbert JA, Willard MN, Meidell RS.Overexpression of cholesterol 7-hydroxylase (CYP7A) in mice lacking the low density lipoprotein (LDL) receptor gene. J BiolChem 2003;273:126-32.
52. Kyselovaa V, Peknicovaa J, Boubelikb M, Buckiovac D. Body and organ weight, sperm acrosomal statusand reproduction after genistein anddiethylstilbestrol treatment of CD1mice in a multigenerational study. Theriogenology2004;61(7-8):1307-25.
53. Ludden JB,Krueger E,. Wright IS. Effect Oftestosteronepropionate, estradiolbenzoateanddesoxycorticosteroneacetateonthekidneysofadultrats. Endrocrinology 1941;28(4):619-29.
54. Gimenez I, Lou M, Vargas F, Alvarez-Guerra M,Mayoral JA, Martinez RM, Garay RP, Alda JO. Rena and vascular actions of equol in the rat. J Hypertens1997;15:1303-08.
55. Lateef A, Khan AQ, Tahir M, Khan R, Rehman MU,Ali F, Hamiza OO, Sarwat S. Androgen deprivationby flutamide modulates uPAR, MMP-9 expressions,lipid profile, and oxidative stress: amelioration bydaidzein. Mol Cell Biochem 2013;374:49-59.
56. Sosic-Jurjevic B, Filipovic B, Ajdzanovic V, Brkic D, Ristic N, Stojanoski MM, et al. Subcutaneously administrated genistein and daidzein decrease serum cholesterol and increase triglyceride levels in male middle-aged rats.ExpBiol Med (Maywood) 2007;232(9):1222-7.
57. Lundeen SG, Carver JM, McKean ML, Winneker RC.Characterization of the ovariectomized rat model forthe evaluation of estrogen effects on plasma cholesterollevels. Endocrinology 1997;138(4):1552-8.