จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนวิจัย
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานผลการวิจัย

การทดสอบพิษวิทยาของกวาวเครือแดงและกวาวเครือดำในหนูเมาส์ และผลของกวาวเครือขาวต่ออวัยวะสืบพันธุ์และฤทธิ์ในการต่อต้านมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย

โดย

รศ. ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์
รศ. ดร. วิชัย เชิดชีวศาสตร์
รศ. ดร. สุกัญญา วีรวัฒนกุมภะ
อ. ไพลิน สิทธิเชียรวงศ์
รศ. นสพ. ปัญญา เต็มเจริญ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

11 กุมภาพันธ์ 2551

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร. รัตนา ปานเรียนแสน, นางสาวปัทมา เกียรติไทยพิพัฒน์, นางองุ่น เกษสุวรรณ และนางสาวขวัญตา แทนสา ที่ช่วยเหลือในการทำวิจัยในด้านต่าง ๆ ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา คณะเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในการวิเคราะห์หาค่าทางชีวเคมีของซีรัม ขอขอบคุณหน่วยวิจัยไพรเมท และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้สถานที่ทำวิจัย และขอขอบคุณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้ทุนสนับสนุนทุนวิจัยกองทุนรัชดาภิเษกสมโภชปีงบประมาณ 2542 (ครั้งที่ 6)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการวิจัย การทดสอบพิษวิทยาของกวาวเครือแดงและกวาวเครือดำในหนูเมาส์และผลของกวาวเครือขาวต่ออวัยวะสืบพันธุ์และฤทธิ์ในการต่อต้านมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย

ชื่อผู้วิจัย สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์, วิชัย เชิดชีวศาสตร์, สุกัญญา วีรวัฒนกุมภะ, ไพลิน สิทธิเชียรวงศ์, ปัญญา เต็มเจริญ

เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ กุมภาพันธ์ 2551

บทคัดย่อ

ขณะนี้กำลังมีการตื่นตัวกันมากในแง่ของการนำกวาวเครือขาว, กวาวเครือแดง และกวาวเครือดำ มาใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง เป็นยาสมุนไพร และอาหารเสริมที่เกี่ยวข้องกับความต้องการทางเพศและระบบสืบพันธุ์ แต่จะเห็นได้ว่ายังไม่มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการหาขนาดและระยะเวลาที่เหมาะสมของกวาวเครือที่ปลอดภัย ที่จะนำไปใช้ได้ พิษวิทยาและผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้กวาวเครือรวมไปถึงผลต่อระบบสืบพันธุ์ ในการวิจัยครั้งนี้แบ่งออกเป็น 7 การทดลอง โดยการทดลองที่ 1 และ 2 เป็นการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์ และผลต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย การทดลองที่ 3 และ 4 เป็นการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือดำในหนูเมาส์ และผลต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์หนูแรทเพศผู้และเพศเมีย และการทดลองที่ 5, 6 และ 7 เป็นการศึกษาฤทธิ์ของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทโตเต็มวัยและหนูแรทแก่เพศเมีย และผลต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า **กวาวเครือแดง**เป็นสมุนไพรตัวหนึ่งที่เหมาะจะนำมาใช้ในการรักษาหรือป้องกันโรคที่เกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ในเพศชาย เพราะมีฤทธิ์เชิง androgenic effect คล้ายฮอร์โมน testosterone สามารถลดระดับ FSH และ LH ในหนูแรทเพศผู้ แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักและลักษณะทางเนื้อเยื่อของอัณฑะ epididymis และ seminal vesicle และเหมาะที่จะนำไปใช้ในเพศหญิงในเชิง anti-estrogenic (หรือ androgenic) effect อย่างอ่อน เพราะกวาวเครือแดงในขนาดสูง ๆ มีผลไปเพิ่มน้ำหนักและลักษณะทางเนื้อเยื่อของมดลูกและลดระดับ LH ในขณะที่พบว่า**กวาวเครือดำ**ไม่มีฤทธิ์ androgenic effect เพราะไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักและลักษณะทางเนื้อเยื่อของอัณฑะ, epididymis, seminal vesicle, ระดับ testosterone, FSH และ LH ในหนูแรทเพศผู้ แต่อาจจะมีผลเชิง anti – estrogenic effect อ่อน ๆ ในหนูแรทเพศเมีย เพราะกวาวเครือแดงในขนาด 10 และ 100 มก./กก./วัน มีผลไปลดระดับ FSH นอกจากนี้พบว่ากวาวเครือดำมีความเป็นพิษมากกว่ากวาวเครือแดงในขนาดที่เท่ากัน สำหรับผลของ**กวาวเครือขาว**พบว่าเมื่อให้กวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน ซึ่งเป็นขนาดที่ใช้ในคน เป็นเวลานานถึง 200 วัน ในหนูแรทโตเต็มวัยและหนูแรทแก่เพศเมีย ไม่ก่อให้เกิดพิษวิทยาต่อตับ ไต อวัยวะสืบพันธุ์ ปริมาณเม็ดเลือด และค่าทางชีวเคมีในเลือด แต่กวาวเครือขาวในขนาดดังกล่าวสามารถยืดการเข้าสู่สภาวะ perimenopause และ postmenopause ในหนูแรทโตเต็มวัย และหนูแรทแก่เพศเมีย ตามลำดับ อย่างสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน E_2, FSH และ LH และกวาวเครือขาวในขนาด 25 มก./กก./วัน ถ้าให้นาน 150 วัน ภายหลังจากให้สารก่อมะเร็งสามารถชักนำให้เกิดก้อนมะเร็งเร็วขึ้น มีแนวโน้มเพิ่มจำนวนและขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย แต่ถ้าหากได้รับสารก่อมะเร็งในระหว่างที่ได้รับกวาวเครือขาว นาน 240 วัน สามารถลดอุบัติการณ์เกิดมะเร็งเต้านม ลดจำนวนก้อนของมะเร็งเต้านมลงได้ จากผลการทดลองทั้งหมดนี้กล่าวได้ว่ากวาวเครือแดงมีฤทธิ์ androgenic effect ต่อระบบสืบพันธุ์ในเพศผู้ และกวาวเครือขาวมีฤทธิ์ estrogenic effect ต่อระบบสืบพันธุ์และมะเร็งเต้านมในเพศเมีย และกวาวเครือขาวในขนาด 25 มก./กก./วัน ค่อนข้างปลอดภัยที่จะนำไปใช้ในคน ดังนั้นจึงควรที่จะมีการศึกษาถึงสารออกฤทธิ์ของกวาวเครือแต่ละชนิดต่อไปในอนาคต

Project title Toxicity tests of Red Kwao Krua and Black Kwao Krua in mice and effect of White Kwao Krua on the reproductive organs and anti-breast cancer in female rats

Name of the Investigators Suchinda Malaivijitnond, Wichai Cherdshewasart, Sukanya Werawatgommpa, Pailin Sittiwicheanwong, Panya Temcharoen

Year February, 2008

Abstract

Nowadays, White, Red and Black Kwao Krua become popular to use in forms of cosmetics, traditional drugs and food supplements, mostly for the sexual desire and on reproductive organs. However, there have been no scientific data reported on the optimal dose and duration to use, toxicity, side effects and their effects on reproductive organs and related hormones. In this study, 7 experiments were conducted, that is, to study 1)the subchronic effects of Red Kwao Krua (BS) in male and female mice, 2)the effects of BS on reproductive organs and related hormones in male and female rats, 3) the subchronic effects of Black Kwao Krua (MC) in male and female mice, 4)the effects of MC on reproductive organs and related hormones in male and female rats, 5)the effects of White Kwao Krua (PM) on the reproductive organs and related hormones in adult female rats, and 6)in aged female rats, and 7)the effects of PM on 7,12-DMBA-induced tumorigenesis and breast cancer in adult female rats. It was found that BS should be one of the herbal candidates used for male reproductive system, because it has androgenic effects similar to testosterone on reducing FSH and LH levels in male rats. However, it has no effects on weights and histology of epididymis and seminal vesicle. It also has a weak anti-estrogenic (or androgenic) effect in female rats by increasing uterus weights and reducing LH levels after the higher doses treatment. For MC, it has no adrogenic effect in male animals, because there were no changes in weights and histology of testis, epididymis, semial vesicle, testosterone, levels of FSH and LH. However, it has a weak estrogenic activity in females because only the high doses of MC could reduce FSH levels. Moreover, at the same doses, MC showed a higher toxicity than the BS. PM at the dose of 25 mg/kg/BW, the dose of human use, fed to adult and aged female rats for 200 days had no toxicity effects on liver, kidney, reproductive organs, blood cell counts and blood biochemical markers. However, at that dose, PM could delay the time entering to the perimenopausal and post-menopausal periods in adult and aged female rats, respectively, which were related to changes of E_2, FSH and LH levels. Treatment of PM for 150 days after a single feeding of DMBA-carcinogen can potentiate the tumorigenesis, tend to increase the tumor number and tumor cross-sectional area in adult female rats. However, if the rats were fed the carcinogen on the way of PM treatment, for 240 days, PM could reduce the incidence of tumorigenesis and tumor number. Taken the above results together, it can conclude that BS has an androgenic effect on reproductive organ in males and PM has an estrogenic effect on reproductive organs and breast cancer in females. PM at the dose of 25 mg/kg/day is rather safe to use in humans. To get a better understanding, the effects of each chemical in each Kwao Krua should be studied further in the future.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	Ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	Iii
รายการตารางประกอบ	v
รายการภาพประกอบ	viii
บทนำ	1
การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
วิธีการวิจัย	10
1. การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย	10
2. การศึกษาผลของกวาวเครือแดงต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย	12
3. การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือดำในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย	14
4. การศึกษาผลของกวาวเครือดำต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย	16
5. การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย	18
6. การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทแก่เพศเมีย	20
7. การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย	21
ผลการวิจัย	24
1. การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย	24
2. การผลของกวาวเครือแดงต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย	28
3. การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือดำในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย	40
4. การผลของกวาวเครือดำต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย	44
5. การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย	55
6. การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทแก่เพศเมีย	67
7. การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย	78
การอภิปรายผล	98
สรุปผล	118
เอกสารอ้างอิง	120
Output	128
1. บทความที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติและมี impact factor	128
2. ผลงานที่นำเสนอในที่ประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ	128
3. วิทยานิพนธ์	130

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
1	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวหนูเมื่อเริ่มทำการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต และอัณฑะในหนูเมาส์เพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน	24
2	แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์ฮีมาโตรคริต (%Hct), เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิว (N), ลิมโฟซัยต์ (L), อีโอซิโนฟิล (Eo), แบโซฟิล (Ba) และ โมโนซัยต์ (Mo) ระดับครีเอตินิน คลอเลสเตอรอล aspatate animotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) ในหนูเมาส์เพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน	25
3	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวหนูเมื่อเริ่มทำการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต และรังไข่ในหนูเมาส์เพศเมียเมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน	26
4	แสดงค่าเปอร์เซนต์ฮีมาโตรคริต (%Hct), เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิว (N), ลิมโฟซัยต์ (L), อีโอซิโนฟิล (Eo), แบโซฟิล (Ba) และ โมโนซัยต์ (Mo) ระดับครีเอตินิน คลอเลสเตอรอล aspatate animotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) ในหนูเมาส์เพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน	27
5	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสัมพัทธ์ของ epididymis และ seminal vesicle ในหนูแรทเพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงในขนาด 0, 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน และ testosterone propionate ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน	29
6	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสัมพัทธ์ของมดลูกในหนูแรทเพศเมียเมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงในขนาด 0, 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน และ testosterone propionate ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน	35
7	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวหนูเมื่อเริ่มทำการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต และอัณฑะในหนูเมาส์เพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน	40
8	แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์ฮีมาโตรคริต (%Hct), เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิว (N), ลิมโฟซัยต์ (L), อีโอซิโนฟิล (Eo), แบโซฟิล (Ba) และ โมโนซัยต์ (Mo) ระดับครีเอตินิน คลอเลสเตอรอล aspatate animotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) ในหนูเมาส์เพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน	41
9	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวหนูเมื่อเริ่มทำการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และน้ำหนัก	42

	สัมพัทธ์ของตับ ไต และรังไข่ในหนูเมาส์เพศเมียเมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน	
10	แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์ฮีมาโตรคริต (%Hct), เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิว (N), ลิมโฟซัยต์ (L), อีโอซิโนฟิล (Eo), แบโซฟิล (Ba) และ โมโนซัยต์ (Mo) ระดับครีเอตินิน คลอเลสเตอรอล aspatate animotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) ในหนูเมาส์เพศเมียเมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน	43
11	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสัมพัทธ์ของ epididymis และ seminal vesicle ในหนูแรทเพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน (1-MC, 10-MC และ 100-MC ตามลำดับ) และ testosterone propionate ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน	45
12	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสัมพัทธ์ของมดลูกในหนูแรทเพศเมียเมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน (1-MC, 10-MC และ 100-MC ตามลำดับ) และ testosterone propionate ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน	50
13	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวหนูเมื่อเริ่มทำการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	55
14	แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว	55
15	แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ลิมโฟซัยต์ โมโนซัยต์ อีโอสิโนฟิล และนิวโตรฟิล ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว	56
16	แสดงค่าเฉลี่ยของ blood urea nifrogen (BUN), creatinine, uric acid, cholesterol, triglyceride, AST, ALT และค่า alkaline phosphatase ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว	57
17	แสดงค่าเฉลี่ยของความยาวรอบวงสืบพันธุ์ จำนวนวันที่พบ ระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส โปรอีสตรัส และอีสตรัส ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว	59
18	แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมน LH FSH และ E_2 ในแต่ละระยะของรอบวงสืบพันธุ์ ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว	59
19	แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวเริ่มต้น และน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน	67
20	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน	68
21	แสดงค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ลิมโฟซัยต์ โมโนซัยต์ อีโอสิโนฟิล และนิวโตรฟิล ของ	68

หนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน

22 แสดงค่าเฉลี่ยของ blood urea nifrogen (BUN), creatinine, uric acid, cholesterol, triglyceride, SGOT, SGPT และค่า alkaline phosphatase ของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน 69

23 แสดงค่าเฉลี่ยของความยาวรอบวงสืบพันธุ์ จำนวนวันที่พบ ระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส โปรอีสตรัส และอีสตรัส ของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน 71

24 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมน LH FSH และ E_2 ในแต่ละระยะของรอบวงสืบพันธุ์ของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น 71

25 แสดงวันที่เริ่มพบก้อนเนื้อ จำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อ จำนวนก้อนเนื้อต่อตัวหนู จำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อ 1 ก้อนต่อตัว และจำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อมากกว่า 1 ก้อนต่อตัว ของหนูแรทที่ได้รับน้ำกลั่น หรือกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง 79

26 แสดงวันที่เริ่มพบก้อนเนื้อ จำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อ จำนวนก้อนเนื้อต่อตัวหนู จำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อ 1 ก้อนต่อตัว และจำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อมากกว่า 1 ก้อนต่อตัว ของหนูที่ได้รับน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาวนาน 240 วัน และได้รับ DMBA วันที่ 91 ของการทดลอง 90

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการภาพประกอบ

รูปที่		หน้า
1	แสดงลักษณะอีพิดิไดมิส (A, B) และ seminal vesicle (C, D) ของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะภายหลังจากที่หนูได้รับน้ำกลั่น (DW) เป็นเวลานาน 30 วัน	29
2	แสดงลักษณะอีพิดิไดมิสของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะ ภายหลังจากได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน (10-BS, 50-BS และ 250-BS) และ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน (Treatment period) และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารดังกล่าวนาน 14 วัน (Post-treatment period)	30
3	แสดงลักษณะ seminal vesicle ของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะ ภายหลังจากได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน (10-BS, 50-BS และ 250-BS) และ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 ก./วัน นาน 30 วัน (Treatment period) และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารนาน 14 วัน (Post-treatment period)	31
4	แสดงระดับฮอร์โมน testosterone ในซีรัมของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน	33
5	แสดงระดับฮอร์โมน follicle stimulating hormone ในซีรัมของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน	33
6	แสดงระดับฮอร์โมน luteinizing hormone ในซีรัมของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน	34
7	แสดงลักษณะมดลูกของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ภายหลังจากที่หนูได้รับน้ำกลั่น (DW) เป็นเวลานาน 30 วัน	35
8	แสดงลักษณะมดลูกของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ภายหลังจากได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน (10-BS, 50-BS และ 250-BS) และ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน (Treatment period) และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารดังกล่าวนาน 14 วัน (Post-treatment period)	36
9	แสดงระดับฮอร์โมน estradiol ในซีรัมของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน	38
10	แสดงระดับฮอร์โมน follicle stimulating hormone ในซีรัมของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน	38
11	แสดงระดับฮอร์โมน luteinizing hormone ในซีรัมของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน	39
12	แสดงลักษณะอีพิดิไดมิส ของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะภายหลังจากที่หนูได้รับน้ำกลั่น (DW) และกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน (1-MC, 10-MC และ 100-MC) เป็น	45

เวลานาน 30 วัน
13 แสดงลักษณะอีพิดิไดมิสของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะ ภายหลังจากได้รับ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน (Treatment period) และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารดังกล่าวนาน 14 วัน (Post-treatment period) 46
14 แสดงลักษณะ seminal vesicle ของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะภายหลังจากที่หนูได้รับน้ำกลั่น (DW) และกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน (1-MC, 10-MC และ 100-MC ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 30 วัน 46
15 แสดงลักษณะ seminal vesicle ของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะ ภายหลังจากได้รับ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน (Treatment period) และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารดังกล่าวนาน 14 วัน (Post-treatment period) 47
16 แสดงระดับฮอร์โมน testosterone ในซีรัมของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน 48
17 แสดงระดับฮอร์โมน follicle stimulating hormone ในซีรัมของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน 49
18 แสดงระดับฮอร์โมน luteinizing hormone ในเลือดของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน 49
19 แสดงลักษณะมดลูกของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ภายหลังจากที่หนูได้รับน้ำกลั่น (DW) และกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน (1-MC, 10-MC และ 100-MC ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 30 วัน 51
20 แสดงลักษณะมดลูกของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ภายหลังจากได้รับ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารดังกล่าวนาน 14 วัน 51
21 แสดงระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนในเลือดของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน 53
22 แสดงระดับฮอร์โมน follicle stimulating hormone ในเลือดของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน 53
23 แสดงระดับฮอร์โมน luteinizing hormone ในเลือดของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน 54
24 แสดงค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ รอบวงสืบพันธุ์ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น 58
25 แสดงค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูแรทโตเต็ม 58

วัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกวาวเครือขาว
26 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อตับของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน 60
27 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน 61
28 ลักษณะโครงสร้างผนังของมดลูกของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ก) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ข) ในระยะอีสตรัส 62
29 ภาพเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างผนังของมดลูกของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ค) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ง) ในระยะเมตอีสตรัส 63
30 ภาพเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างผนังของมดลูกของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (จ) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ฉ) ในระยะไดอีสตรัส 63
31 ภาพเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างผนังของมดลูกของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ช) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ซ) ในระยะโปรอีสตรัส 64
32 ภาพเปรียบเทียบลักษณะฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ก) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ข) ในระยะอีสตรัส 65
33 ภาพเปรียบเทียบลักษณะฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ค) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ง) ในระยะเมตอีสตรัส 66
34 ภาพเปรียบเทียบลักษณะฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (จ) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ฉ) ในระยะไดอีสตรัส 66
35 ภาพเปรียบเทียบลักษณะฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ช) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ซ) ในระยะโปรอีสตรัส 66
36 แสดงค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น 70
37 แสดงค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน 70
38 แสดงลักษณะความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณ zone 1 (ก) zone 1 และ 2 (ข) ของ 73

	หนูแรทแก่เพศเมียอายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน	
39	แสดงลักษณะความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณ zone 1 และ 2 ของหนูแรทแก่เพศเมียอายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน	73
40	แสดงลักษณะความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณรอบเส้นเลือดและ central vein ของหนูแรทแก่เพศเมียอายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน	73
41	แสดงลักษณะความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณใต้แคปซูล ของหนูแรทแก่เพศเมียอายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน	74
42	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน	74
43	ภาพเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างผนังของมดลูกของหนูแรทแก่เพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจาก ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ก) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ข) ในระยะไดอีสตรัส	75
44	ภาพเปรียบเทียบลักษณะฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูแรทแก่เพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ก) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ข) ในระยะไดอีสตรัส	76
45	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมดลูกผิดปกติของหนูแรทแก่เพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน ในระยะไดอีสตรัส	77
46	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อรังไข่ผิดปกติของหนูแรทแก่เพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน ในระยะไดอีสตรัส	77
47	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อรังไข่ผิดปกติของหนูแรทแก่เพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน ในระยะไดอีสตรัส	77
48	แสดงวันแรกที่พบก้อนเนื้อและเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ (Mean±SE) ของหนูแรทที่ได้รับน้ำกลั่น หรือกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง	79
49	แสดงค่าเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ (Mean±SE) ในทุก ๆ สัปดาห์ ของหนูแรทที่ได้รับน้ำกลั่น หรือกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง	80
50	แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ (Mean±SE) ในทุก ๆ สัปดาห์ ของหนูแรทที่ได้รับน้ำกลั่น หรือกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง เมื่อให้วันแรกที่พบเป็นวันที่ 1 a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น	81
51	แสดงลักษณะก้อนเนื้อของหนูแรทที่ได้รับน้ำกลั่นนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง	82
52	แสดงลักษณะก้อนเนื้อของหนูแรทที่ได้รับกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง	82

53ก-ข	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน	83
53ค-ง	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ที่ถูกรุกรานโดย leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน	84
54	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด ductular ที่เกิดการรุกรานของมะเร็ง ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน	84
55	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด papillary ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน	85
56	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งที่ไต ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน	85
57	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตผิดปกติ subcapsular hemorroghic ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน	86
58	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับกวาวเครือขาว นาน 150 วัน	87
59	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด ductular ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับกวาวเครือขาว นาน 150 วัน	87
60	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด papillary ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับกวาวเครือขาว นาน 150 วัน	88
61	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ที่เกิดการรุกรานของ leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับกวาวเครือขาว นาน 150 วัน	88
62	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตถูกรุกรานโดย leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 150 วัน	88
63	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อตับถูกรุกรานโดย leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 150 วัน	89
64	ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อม้ามถูกรุกรานโดย leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 150 วัน	89
65	แสดงวันแรกที่พบก้อนเนื้อและเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ (Mean±SE) ของหนูที่ได้รับน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาว นาน 240 วัน และได้รับ DMBA ในวันที่ 91 ของการทดลอง	90
66	แสดงค่าเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ (Mean±SE) ในทุก ๆ สัปดาห์ ของหนูที่ได้รับน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาว นาน 240 วัน และได้รับ DMBA ในวันที่ 91 ของการทดลอง	91
67	แสดงค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อบริเวณเต้านม (Mean±SE) ในหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาว นาน 240 วัน และได้รับ DMBA ในวันที่ 91 ของการทดลอง เมื่อให้วัน	91

แรกที่พบก้อนเนื้อเป็นวันที่ 1, a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น
68 แสดงลักษณะก้อนเนื้อของหนูแรทที่ได้รับกวาวเครือขาวนาน 240 วัน และได้รับ DMBA ในวันที่ 91 ของการทดลอง 92
69 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น นาน 240 วัน และให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง 93
70 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมอักเสบของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น นาน 240 วัน และให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง 94
71 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อปอดถูกรุกรานโดย lekemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น นาน 240 วัน และให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง 94
72 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตถูกรุกรานโดย leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น นาน 240 วัน และให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง 94
73 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 240 วัน ให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง 95
74 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด ductular ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 240 วัน ให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง 96
75 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 240 วัน ให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง 96
76 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma เซลล์บุท่อมีการเจริญผิดปกติ ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 240 วัน ให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง 97
77 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งที่ไต ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 240 วัน ที่ให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง 97

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

ในปัจจุบันประชาชนเริ่มให้ความสนใจกับสุขภาพของตนเองมากขึ้น วิธีจัดการกับความเจ็บป่วยก็เปลี่ยนรูปแบบไปเป็นการกลับคืนสู่ธรรมชาติ ซึ่งในปัจจุบันกำลังตื่นตัวกันมากในแง่การนำเอาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมาผ่านกระบวนการขั้นตอนการแปรรูปให้น้อยที่สุดก่อนนำไปใช้ นั่นคือ การหันกลับมาใช้สมุนไพรนั่นเอง (เพ็ญนภา, 2541) โดยสมุนไพรที่กำลังอยู่ในความสนใจของประชาชนทั่วไปอย่างมากมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 จนถึงขณะนี้คือ กวาวเครือ (จีรเดช และคณะ, 2543) กวาวเครือเป็นพืชอยู่ในวงศ์ Leguminosae ที่มีประวัติการใช้ประโยชน์มานานแล้วในรูปของอาหารและยารักษาโรค จากตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร พ.ศ. 2474 กล่าวว่ากวาวเครือมี 4 ชนิด คือ กวาวเครือขาว กวาวเครือแดง กวาวเครือดำ และกวาวเครือมอ โดยมีสรรพคุณดังนี้ คือ เป็นยาอายุวัฒนะสำหรับผู้สูงอายุใช้ได้ทั้งในหญิงและชาย (คนหนุ่มสาวห้ามรับประทาน), ทำให้กระชุ่มกระชวย, ทำให้ผิวหนังเหี่ยวย่นกลับเต่งตึง, ช่วยทำให้เส้นผมที่หงอกกลับดำและเพิ่มปริมาณเส้นผม, ทำให้มีพลัง, การเคลื่อนไหวการเดินเหินคล่องแคล่ว เป็นต้น แต่ขนาดที่ใช้จะแตกต่างกัน จากตำราเดียวกันนี้กล่าวว่ารับประทานกวาวเครือร่วมกับน้ำมันเนยหรือน้ำผึ้งจะทำให้อายุยืน ความจำดี มีกำลังทางเพศดีขึ้น ทำให้มีผู้นำเอากวาวเครือมาใช้กันมาก โดยกวาวเครือแต่ละชนิดมีลักษณะที่แตกต่างกันดังนี้

1. กวาวเครือขาว

กวาวเครือขาวเป็นพืชในอนุวงศ์ Papilionoideae สกุล *Pueraria* และชนิด *Pueraria mirifica* Airy Shaw & Suvatabandhu กวาวเครือขาวเป็นไม้เถาเลื้อยขนาดใหญ่เนื้อแข็งผลัดใบ ใบเป็นใบย่อย 3 ใบ เรียงสลับกัน ปลายใบมีลักษณะรูปไข่ปลายแหลม ดอกออกในระยะผลัดใบ เป็นช่อยาวประมาณ 30 เซนติเมตร ออกดอกตามซอกกิ่ง ช่อดอกเป็นช่อเดี่ยว และช่อแยกแขนงออกตามปลายกิ่ง ดอกมีกลีบดอกประดับรองรับ ดอกสีฟ้าอมม่วงถึงสีน้ำเงิน 2-3 ดอกต่อช่อ ฝักแก่มีสีน้ำตาลแบน หัวเป็นหัวใต้ดินคล้ายหัวมันแกว การใช้ให้เลือกหัวแก่ เอามีดปาดดูจะมียางสีขาวคล้ายน้ำนม เป็นพืชสมุนไพรที่ขึ้นบริเวณป่าเบญจพรรณในภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่จะพบมากในภาคเหนือของประเทศไทย

2. กวาวเครือแดง

กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นต้นขึ้นจากดินโดยไม่ต้องอาศัยพันต้นไม้อื่น ๆ เลย แต่ถ้ามีต้นไม้ใหญ่ก็ชอบพันขึ้นต้นไม้ใหญ่ ในฤดูหนาวจะทิ้งใบออกดอกสีทองเป็นพวงสวยงาม มีดอกและใบคล้ายต้นทองกวาว เพียงแต่เป็นเถาเท่านั้น ทางภาคอีสานเรียกจานเครือ ถ้าขุดที่โคนต้นจะพบรากขนาดน่องหรือขา รากจะยาวเลื้อยไปตามดิน เมื่อสะกิดที่เปลือกจะมียางสีแดงคล้ายเลือดไหลออกมา รากที่เป็นหัวจะนำมาใช้ทำยา

3. กวาวเครือดำ

กวาวเครือดำได้มีการตรวจสอบทางอนุกรมวิธานแล้วโดย รศ.ดร.วิชัย เชิดชีวศาสตร์ โดยพบว่ามีชื่อวิทยาศาสตร์ *Mucuna collettii* ลำต้นและเถาเหมือนกวาวเครือแดง หนึ่งก้านมีสามใบแต่เล็กกว่า มียางสีดำ เถาอ่อนนุ่ม กวาวเครือดำมีฤทธิ์ทางยาสูง

4. กวาวเครือมอ

ทุกส่วนต้น เถา ใบ หัว เหมือนกับกวาวเครือดำ แต่ส่วนเนื้อในหัวและยางมีสีมอ ๆ มีหัวเล็กขนาดมันเทศ ค่อนข้างหายากเช่นเดียวกับกวาวเครือดำ

เนื่องจากพบว่าในขณะนี้กำลังมีการตื่นตัวกันมากในแง่ของการนำกวาวเครือขาว, กวาวเครือแดง และกวาวเครือดำ มาใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง เป็นยาสมุนไพร และอาหารเสริม เป็นต้น แม้จะมีรายงานการใช้กวาวเครือขาวกับคนไข้ในประเทศไทย (Sukavattana, 1940) และการใช้ miroestrol ซึ่งเป็นสารเคมีที่ได้สกัดจากกวาวเครือขาวในคน (Cain, 1960) และหนูเมาส์ (Jones and Pope, 1960; Benson et al., 1961) บ้างแล้วก็ตาม แต่จะเห็นได้ว่าจนกระทั่งปัจจุบันนี้ ยังไม่มีรายงานการวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการหาขนาดและระยะเวลาที่เหมาะสมของกวาวเครือขาวที่ปลอดภัยที่จะนำไปใช้ได้ ผลของการใช้กวาวเครือขาวติดต่อกันเป็นเวลานาน ๆ อาการข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นและความเป็นพิษของกวาวเครือขาวในสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีรายงานการวิจัยน้อยมากเกี่ยวกับการทดสอบพิษวิทยาของกวาวเครือแดงและกวาวเครือดำ และผลต่อระบบสืบพันธุ์ (จีรเดช, 2542)

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จะทำการทดสอบพิษวิทยาของกวาวเครือแดง และกวาวเครือดำในหนูเมาส์ เนื่องจากหนูเมาส์เป็นสัตว์ที่มีขนาดเล็ก ทำให้จับต้องและควบคุมได้ง่าย มีการขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในการทดสอบความปลอดภัยของยาชนิดต่าง ๆ เช่นสมุนไพร ใช้ทดลองทางด้านพิษวิทยาและสรีรวิทยาการสืบพันธุ์ และจะใช้หนูแรทเพศเมียในการศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่ออวัยวะสืบพันธุ์และฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องและฤทธิ์ในการต่อต้านมะเร็งเต้านม เนื่องจากหนูแรทมีขนาดใหญ่สามารถจับต้องและทนทานต่อการทดลองกว่าหนูเมาส์ จึงเหมาะที่จะนำไปใช้ในการทดลองทางด้านวิทยาการต่อมไร้ท่อ พิษวิทยาและการเกิดมะเร็ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กวาวเครือแดง

กวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) เป็นต้นไม้ขึ้นจากดินโดยไม่ต้องอาศัยพันต้นไม้อื่น ๆ เลย แต่ถ้ามีต้นไม้ใหญ่ก็ชอบพันขึ้นต้นไม้ใหญ่เสมอ ถ้าอายุมาก ๆ เถาจะกลายเป็นลำต้น ส่งกิ่งก้านไปไกลมาก ถึงฤดูหนาวจะทิ้งใบออกดอกสีทองอร่ามเป็นพวงสวยงาม มีดอกและใบคล้ายต้นทองกวาว เพียงแต่เป็นเถาเท่านั้น ทางอีสานเรียก จานเครือ ถ้าขุดที่โคนต้นจะพบรากขนาดน่องหรือขา รากจะยาวเลื้อยซอกซอนไปตามดิน เมื่อถูกสะกิดที่เปลือกจะมียางสีแดงคล้ายเลือดไหลออกมา รากก็คือหัว ใช้ทำยา สมัยก่อนใช้ขนาดเท่าเม็ดมะกล่ำ (หลวงอนุสารสุนทร, 2474)

ส่วนประกอบและพิษวิทยาของกวาวเครือแดง

จากการตรวจสอบกวาวเครือแดงโดยวิธีโครมาโตรกราฟฟี (ธนาธิป, 2537) พบว่ามีสาร 5 ชนิด คือ

1. ของผสมกรดอินทรีย์โซ่ตรง (C 22 - C 66)

2. ของผสมสเตียรอยด์ 3 ชนิด คือ Campesterol, Stigmasterol และ Beta - sitosterol

3. ของผสมสเตียรอยด์ไกลโคไซด์ คือ Beta - sitosteryl - 3 - O - beta - D - glucopyranoside และ stigmasteryl - 3 - O - beta - D - glucopyranoside

4. ฟลาโวนอยด์ คือ 3 ,7 , 5' - trihydroxy - 4' - methoxy flavone

5. ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ คือ 3, 5 ' -dihydroxy - 4' - methoxy flavone - 7 - O - beta - D – glucopyranoside

สารฟลาโวนอยด์และฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์มีฤทธิ์เป็น cAMP phosphodiesterase inhibitor ในกวาวเครือแดง (Roengsumran et al., 2000) ตามตำราโบราณระบุไว้ว่าให้รับประทานกวาวเครือแดงขนาดเท่าเม็ดมะกล่ำครั้งละหนึ่งเม็ดห้ามรับประทานมากกว่านี้มิฉะนั้นจะเกิดอันตรายได้ เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน พบว่ามี LD_{50} ที่ 20 กรัมต่อกิโลกรัม จึงจัดเป็นสมุนไพรประเภท practically nontoxic (จีรเดช, 2542) และต่อมาได้มีการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดงในหนูแรทเพศผู้ (ภาพงษ์, 2543) พบว่าน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาดต่าง ๆ (10, 100, 150 และ 200 มก./กก./วัน) นาน 90 วัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สำหรับพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดงในหนูแรทเพศเมีย (นภสร, 2543) พบว่า น้ำหนักตัว รวมทั้งน้ำหนักของอวัยวะภายใน เช่น ตับ, ไต, ม้าม, สมอง, รังไข่และมดลูกของหนูที่ให้กวาวเครือแดงขนาดต่าง ๆ (10, 100, 150 และ 200 มก./กก./วัน) นาน 90 วัน มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

ผลของกวาวเครือแดงต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์

ในปัจจุบันประชาชนชาวไทยนิยมใช้สมุนไพรในการรักษาโรคมากขึ้น เนื่องจากสมุนไพรมีสรรพคุณหลายอย่าง เช่น ยับยั้งเชื้อโรค รักษาอาการเจ็บป่วย ในเพศชายสมุนไพรที่ให้ความสนใจกันมากนั้นจะเป็นในแง่ การแก้ไขภาวะหย่อนสมรรถภาพทางเพศ สมุนไพรที่กำลังนิยมนำมาใช้ในปัจจุบัน คือ กวาวเครือแดง ใช้ในการรักษาภาวะผิดปกติทางเพศ (erectile dysfunction) หรือขาดความรู้สึกทางเพศ

จากการทดลองที่ผ่านมา พบว่า การให้กวาวเครือแดงมีผลทำให้น้ำหนักของอัณฑะหนูแรทเพศผู้เพิ่มสูงขึ้น (อรัญญา, 2543) ในหนูแรทกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาด 150 มก./กก./วัน ระดับของ Luteinizing hormone (LH) มีแนวโน้มลดลง และในหนูแรท กลุ่มที่ให้กวาวเครือแดงขนาด 200 มก./กก./วัน นาน 90 วัน ระดับฮอร์โมน testiosterone ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพงษ์, 2543) และจากการทดสอบการใช้กวาวเครือแดงเป็นอาหารเสริมสุขภาพในกลุ่มบุรุษวัยเจริญพันธุ์ พบว่าเกิดการตอบสนองในเชิงบวกต่อสมรรถภาพทางเพศ โดยมีผลทำให้องคชาติแข็งตัวได้เร็วขึ้นและนานขึ้น (วิชัย, 2541) คาดว่าองคชาติที่แข็งตัวได้เร็วขึ้นและนานขึ้นนั้นเป็นผลมาจากสาร 2 ชนิดที่สกัดได้จากกวาวเครือแดง คือ สารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และสารฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ (flavonoid glycosides) (ธนาธิป, 2537; ภาพงษ์, 2543; Roengsamran et al., 2000) จะไปยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ไซคลิกเอเอ็มพีฟอสโฟไดเอสเตอเรส (cAMP-phosphodiesterase) ซึ่งเอ็นไซม์ตัวนี้ทำหน้าที่เปลี่ยนไซคลิก-เอเอ็มพี (cAMP) ซึ่งเป็นสารสำคัญในการกระตุ้นให้เอ็นไซม์ไซคลิกเอเอ็มพี-ดีเพ็นเด้นท์-โปรตีนไคเนส (cAMP-dependent protein kinase) เกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตให้แก่โปรตีนอย่างจำเพาะเจาะจงต่อไปเรื่อย ๆ จนเกิดการตอบสนองของเซลล์เกิดขึ้น เป็นเอเอ็มพี (AMP) ซึ่งเป็นสารเคมีที่ไม่สามารถกระตุ้นให้เอ็นไซม์ไซคลิกเอเอ็มพี-ดีเพ็นเด้นท์-โปรตีนไคเนสเกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตให้แก่โปรตีนได้ (Hadley, 1992; Norris, 1997; Raven and Johnson, 1999; Bourne and Zastrow, 2001) มีผลทำให้เกิดการคั่งของไซคลิกเอเอ็มพีที่องคชาติ กล้ามเนื้อเรียบบริเวณคอร์ปัส คาเวอร์โนสั่ม (corpus cavernosum) และหลอดเลือดขยายตัว ทำให้เลือดมาคั่งที่องคชาติมากโดยเฉพาะบริเวณคอร์ปัส คาเวอร์โนสั่ม มีผลไปกดทับเส้นเลือดดำภายในองคชาติทำให้เลือดไหลออกจากองคชาติไม่สะดวกเกิดการแข็งตัวขององคชาติขึ้น แต่การให้กวาวเครือแดงแก่หนูเพศเมียปกติ พบว่าไม่มีผลต่อน้ำหนักของมดลูก (uterus) และรังไข่ (ovary) (นภสร, 2543) จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นพอที่จะกล่าวได้คร่าว ๆ ว่ากวาวเครือแดงออกฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมนเพศชาย เช่น ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน

ทั้งที่ในปัจจุบันกวาวเครือแดงเป็นสมุนไพรที่กำลังเป็นที่นิยมนำมาใช้กันมากในเพศชาย โดยเฉพาะใช้ในการรักษาภาวะหย่อนสมรรถภาพทางเพศ แต่อย่างไรก็ตาม พบว่ายังไม่มีรายงานแสดงความเป็นพิษของกวาวเครือแดง ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>กวาวเครือดำ</u>

กวาวเครือดำมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่เช่น สะบ้าลิง (กาญจนบุรี), หมักบ้าลืมดำ (สุโขทัย), มะบ้าลืมดำ, มะบ้าแมง (เหนือ), ยางดำ (โคราช), แฮนเฮาห้อม (อีสาน) มีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์ว่า *Mucuna collettii* Lace (synonym; *Mucuna macrocarpa* Wallich) (สะอาด, 2525) เป็นพืชตระกูลถั่วอยู่ในวงศ์ Leguminosae อนุวงศ์ Papilionoidae ขึ้นในป่าเบญจพรรณ บนพื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเล 200 - 800 เมตร ในป่าสูงทางภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เป็นไม้เถาเนื้อแข็งขนาดใหญ่ยาว 30 - 40 เมตร พบขึ้นเลื้อยทอดคลุมต้นไม้ใหญ่ตามบริเวณใกล้ ๆ ลำห้วยในป่าดงดิบลำต้นเกลี้ยง เปลือกนอกของลำต้นมีสีน้ำตาลเข้มและค่อนข้างแข็ง ใบเป็นช่อ ๆ ละ 3 ใบ แต่ละช่อเรียงสลับกัน ใบย่อยรูปไข่หรือมน ใบคู่ล่างโคนเบี้ยว ส่วนใบยอดโคนใบสอบและจะมีขนาดใหญ่กว่าใบคู่ล่าง มีขนสาก ๆ ประปราย ขอบใบเรียบ ก้านใบยาว 5-10 เซนติเมตร โคนก้านอวบ ดอกออกเป็นช่อยาวเป็นพวงห้อยลงตามลำดับยาวถึง 30 เซนติเมตร กลีบรองกลีบดอกสีน้ำตาล โคนกลีบเชื่อมติดกันเป็นรูประฆังปลายแยกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มบนหยัก 2 ลอน กลุ่มล่างหยักเป็นแฉกแหลมๆ 3 แฉก มีขนสาก ๆ ทั่วไป กลีบดอกสีม่วงคล้ำ รูปไข่ เหมือนดอกถั่วขนาดใหญ่มี 5 กลีบ ยาวประมาณ 6 เซนติเมตร เกสรตัวผู้มี 10 อัน แยกเป็น 2 กลุ่ม แต่ส่วนก้านชูอับเรณูเชื่อมติดกัน ฝักแบนมีสีน้ำตาลยาวถึง 40 เซนติเมตร หยักเป็นข้อๆแต่ละข้อมีเมล็ดแบน ๆ แข็ง ๆ อยู่หนึ่งเมล็ด ออกดอกเดือนมกราคม-มีนาคม (เต็ม, 2520) ลำต้นกวาวเครือดำจะมียางสีดำ ใช้ทำเป็นยามีฤทธิ์แรงมากจึงใช้ในขนาดที่น้อยมาก รับประทานวันละ 1 ใน 3 ส่วนของเม็ดพริกไทย (หลวงอนุสารสุนทร, 2474)

ส่วนประกอบและพิษวิทยาของกวาวเครือดำ

ส่วนหัวของกวาวเครือดำ พบว่ามีสาร 3 ชนิด คือ kaempferol, quercetin และ hopeaphenol ซึ่งสารทั้งสามชนิดนี้มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ cyclic AMP phosphodiesterase ซึ่งสามารถทำให้องคชาติแข็งตัวได้นานขึ้น โดยยับยั้งการทำงานของสาร kaempherol, quercetin และ hopeaphenol ต่อการทำงานของเอนไซม์หรือค่า median inhibitory concentration ; IC_{50} มีค่าเท่ากับ 081.83, 80.9 และ 22.75 µg/ml ตามลำดับ (Roengsamran et al., 2001 ; Roengsamran at al., 2003)

Kellis and Vickery (1984) รายงานว่า quercetin มีผลยังยั้งการเกิด aromatization ของ androstenedione ไปเป็น estradiol ที่รกของคน นอกจากนี้ quercetion ยังยั้งการสังเคราะห์ progesterone โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 17β - hydroxysteroid dehydrogenase ใน human granulosa – luteal cell (Whitehead and Lacey, 2003) แต่อย่างไรก็ตามไม่พบรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ของ kaempferol และ hopeaphenol ต่อระบบสืบพันธุ์

จากการศึกษาความเป็นพิษของกวาวเครือดำต่อระบบเลือดพบว่าเมื่อให้กวาวเครือดำขนาด 200, 300 และ 400 มก./กก. แก่หนูแรทเพศผู้ พบว่าปริมาตรเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด (differential cell count) ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่จำนวนเม็ดเลือดขาว (white blood cell count) มีแนวโน้มลดต่ำลงกว่ากลุ่มควบคุมตามขนาดที่ให้ (สุลักษณ์ และคณะ, 2544)

ผลของกวาวเครือดำต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์

จากสารานุกรมสมุนไพรของวุฒิ พ.ศ. 2540 กล่าวว่ากวาวเครือแดงและกวาวเครือดำมีสรรพคุณต่างๆ เหมือนกัน สามารถใช้รักษาโรคผิวหนังทุกชนิด แก้มะเร็งคุดทะราด แก้พิษเซื่องซึม แก้พิษร้อน เป็นต้น จึงอาจเป็นไปได้ว่ากวาวเครือแดงและกวาวเครือดำ จะมีผลต่อการทำงานของร่างกายในรูปแบบอื่นอีกที่เหมือนกัน จากที่ได้มีการทดสอบการใช้กวาวเครือแดงในปริมาณที่แสดงผลจะเกิดการตอบสนองในเชิงบวกต่อสมรรถภาพทางเพศในกลุ่มบุรุษวัยเจริญพันธุ์ (วิชัย, 2541) จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจที่จะศึกษาผลของกวาวเครือดำต่อระบบสืบพันธุ์ด้วยเช่นกัน ซึ่งในขณะนี้พบรายงานการวิจัยเกี่ยวกับผลของกวาวเครือดำต่อระบบสืบพันธุ์เพียงชิ้นเดียวเท่านั้น โดยพบว่าเมื่อให้กวาวเครือดำแก่หนูแรทเพศผู้ ในขนาด 400 มก./กก./วัน นาน 30 วัน ทำให้น้ำหนักอัณฑะเพิ่มขึ้น และจำนวนอสุจิใน cauda epididymis และในอัณฑะ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น น้ำหนักของ seminal vesicle ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (สุลักษณ์ และคณะ, 2544)

จากตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร (2474) กล่าวไว้ว่ากวาวเครือดำมีฤทธิ์แรงกว่ากวาวเครือแดง เมื่อนำไปใช้ทำยาจึงใช้กวาวเครือดำในขนาดที่น้อยมาก คือ นำกวาวเครือดำมาปั้นรับประทานวันละ 1 ใน 3 ส่วนของเม็ดพริกไทย หรือประมาณ 60 มิลลิกรัม/50 กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน หรือ 1.20 มก/กก/วัน หากว่าต้องการนำเอากวาวเครือดำไปใช้กับคนต่อไปในอนาคตจำเป็นต้องนำกวาวเครือดำไปปฏิบัติตามขั้นตอนการพัฒนายา โดยทั่วไปแล้วการนำสารใดๆมาทดลองกับสัตว์ทดลองนั้นขนาดสารที่ให้แก่สัตว์ทดลองจะสูงกว่าที่ให้ในคน (Berkowitz and Katzung, 2001) จากหลักและวิธีการทางพิษวิทยาของ Andrew (1989) กล่าวไว้ว่าขนาดของสารที่ทดลองให้ในหนูนั้นจะสูงกว่าที่ให้ในคน 5 เท่า ยกตัวอย่างเช่น การให้ทามอกซิฟิน (tamoxifen) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่ไม่ใช่สารประกอบ สเตียรอยด์ มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจน (Gill-Sharman, 1993; Bentrem et al., 2001) แก่หนูแรทเพศผู้จะให้ในขนาดที่สูงกว่าในผู้ชายสูงอายุที่มีสุขภาพแข็งแรงถึง 5-10 เท่า (Gill-Sharman, 1993) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเภสัชจลนศาสตร์และกระบวนการเมตะบอลิสึมภายในร่างกายที่กระทำต่อสารต่างๆที่ให้เข้าไป โดยทั่วไปกระบวนการเมทาบอลิสมของหนูและคนจะคล้ายคลึงกันเป็นส่วนใหญ่แต่แตกต่างกันบ้างตรงที่หนูแรทมีกระบวนการเมทาบอลิสมสูงกว่าในคน และเกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่าการชักนำให้เกิดปริมาณเอ็นไซม์และการทำงานของเอ็นไซม์ที่ไมโครโซมของตับ (microsomal enzyme induction) ได้สูงกว่าในคนหลายเท่า นอกจากนี้ยังมีไมโครฟอรา (microflora) ซึ่งมีความสามารถในการเมตะบอลิสึมสารที่ให้เข้าไปทางปากได้ดีกระจายตัวอยู่ในลำไส้ของหนูแรทมากกว่าลำไส้ของคน (Chengelis, 1992) จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นจึงเลือกให้กวาวเครือดำขนาด 1, 10 และ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวันแก่หนูในการทดลองครั้งนี้โดยขนาดของกวาวเครือดำที่ให้แก่หนูแรท ในการทดลองครั้งนี้จะสูงกว่าที่ให้ในคนตามตำรายาหัวกวาวเครือของหลวงอนุสารสุนทร (2474) 5-10 เท่า

<u>กวาวเครือขาว</u>

กวาวเครือขาวเป็นพืชในอนุวงศ์ Papilionoideae สกุล *Pueraria* และชนิด *Pueraria mirifica* Airy Shaw & Suvatabandhu กวาวเครือขาวเป็นไม้เถาเลื้อยขนาดใหญ่เนื้อแข็งผลัดใบ ใบเป็นใบย่อย 3 ใบ เรียงสลับกัน ปลายใบมีลักษณะรูปไข่ปลายแหลม ดอกออกในระยะผลัดใบ เป็นช่อยาวประมาณ 30 เซนติเมตร ออกดอกตามซอกิ่ง ช่อดอกเป็นช่อเดี่ยว และช่อแยกแขนงออกตามปลายกิ่ง ดอกมีกลีบดอกประดับรองรับ ดอกสีฟ้าอมม่วงถึงสีน้ำเงิน 2-3 ดอกต่อช่อ ฝักแก่มีสีน้ำตาลแบน หัวเป็นหัวใต้ดินคล้ายหัวมันแกว การใช้ให้เลือกหัวแก่ เอามีดปาดดูจะมียางสีขาวคล้ายน้ำนม เป็นพืชสมุนไพรที่ขึ้นบริเวณป่าเบญจพรรณในภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่จะพบมากในภาคเหนือของประเทศไทย

ส่วนประกอบและพิษวิทยาของกวาวเครือขาว

กวาวเครือขาว เป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่คนพื้นเมืองนำส่วนหัวของรากมาใช้เป็นยาอายุวัฒนะ โดยเชื่อว่ามีสรรพคุณที่ช่วยบำรุงร่างกาย แก้อ่อนเพลีย ทำให้ผิวพรรณนุ่มนวล และสามารถกลับมาเป็นหนุ่มเป็นสาวอีกครั้ง (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2542) เมื่อวิเคราะห์สารประกอบในหัวกวาวเครือขาวโดยวิธีโครมาโตกราฟฟี พบว่าประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิดที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับฮอร์โมน estrogen ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่มีบทบาทสำคัญต่อระบบสืบพันธุ์ของเพศหญิง ดังนั้นจึงจัดให้สารประกอบเหล่านี้อยู่ในกลุ่ม Phytoestrogens สารประกอบเหล่านี้ได้แก่ miroestrol, beta-sitosterol, stigmasterol, coumestrol, diadzein, puerarin, kwakhurin, genistein, mirificoumestan, mirificoumestan glycol, mirificoumestan hydrate, diadzin, genistin, puerarin-6-monoacetate, และ kwakurin hydrate (อ้างตามเฉลิมพล, 2541)

จากตำรายาของ หลวงอนุสารสุนทร (2474) ได้ระบุว่ากวาวเครือขาวเมื่อรับประทานวันละ 1 เม็ด (ขนาดเท่าเม็ดพริกไทย) มีผลทำให้ทรวงอกเต่งตึงขึ้นมาได้ จึงทำให้มีการนำเอากวาวเครือขาวมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เสริมความงาม ใช้ขยายขนาดหน้าอกสตรี บำรุงร่างกาย และบำรุงผิวพรรณอย่างแพร่หลาย และกำลังเป็นที่สนใจของประชาชนทั่วไป เพื่อประเมินความปลอดภัยในการนำกวาวเครือขาวมาใช้เป็นยานั้นจึงได้มีการศึกษาทางพิษวิทยาของกวาวเครือขาวทั้งฤทธิ์เฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลันโดยให้กวาวเครือขาวขนาด 10, 100 และ 1,000 มก/กก/วัน นาน 90 วัน พบว่าค่า lethal dose ที่ 50% (LD_{50}) เท่ากับ 16 กรัม ไม่พบลักษณะทางจุลพยาธิสภาพของอวัยวะทางเดินอาหารและระบบสืบพันธุ์ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีทางเลือด (ทรงพลและคณะ, 2543; ปัทมา และคณะ, 2543; Cherdshewasart *et al*., 2000)

ผลของกวาวเครือขาวต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์

จากที่พบว่ากวาวเครือขาวประกอบด้วยสารหลายชนิดที่จัดอยู่ในกลุ่ม phytoestrogens นั่นคือเป็นสารจากพืชที่มีฤทธิ์เช่นเดียวกับ estrogen ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ควบคุมลักษณะทางเพศตลอดจนการทำงานของระบบสืบพันธุ์ในเพศหญิง จึงทำให้มีการรายงานจำนวนมากเกี่ยวกับการศึกษาผลของกวาวเครือขาวหรือสารสกัดจากกวาวเครือขาวต่อระบบสืบพันธุ์ เช่น ธระ (2492) ทำการศึกษาให้สารสกัดจากกวาวเครือขาวกับหนูแรทเพศเมียที่ตัดรังไข่ พบว่าเมื่อทำ vaginal smear พบแต่ cornified cells และมดลูกโตขึ้น เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มที่

ตัดรังไข่และให้ olive oil ยุทธนาและบรรจบ (2528) รายงานว่าผงกวาวเครือขาวสามารถยับยั้งการเจริญของฟอลลิเคิลที่รังไข่ และยับยั้งการตกไข่ในนกกระทา

กนกพร (2535) ได้ศึกษาถึงผลของน้ำสกัดจากใบกวาวเครือขาวขนาด 200 มก./มล./วัน นาน 2 เดือน ในหนูเมาส์ พบว่ามีผลลดขนาดและน้ำหนักของ seminal vesicles และ prostate gland ลดความหนาแน่นของตัวอสุจิจาก epididymis แต่ไม่มีผลต่อขนาดและน้ำหนักอัณฑะในหนูเพศผู้ และสามารถยับยั้งการตกไข่ได้บ้างในหนูเพศเมีย

Malaivijitnond และคณะ (2000) และ Trisomboon และคณะ (2000) รายงานว่าการให้กวาวเครือขาวขนาด 10,100, 1000 มก/กก/วัน ในลิงหางยาวเพศเมียวัยหมดประจำเดือน นาน 90 วัน ไม่มีผลต่อระดับฮอร์โมน estrogen

Muangman and Cherdshewasart (2001) รายงานว่าการให้กวาวเครือขาวขนาด 200 มก. นาน 12 เดือน แก่ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน พบว่าสามารถฟื้นสภาพของกลุ่มอาการที่เกี่ยวกับระยะหมดประจำเดือนหรือกลุ่มอาการอันเนื่องมาจากการขาดฮอร์โมน estrogen เช่น อาการร้อนวูบวาบ กระสับกระส่าย นอนไม่หลับ ผิวแห้ง มีระดับโคเลสเตอรอลในเลือดสูง ได้

Pope และคณะ (1958) ได้ทำการศึกษาและแยกสาร miroestrol ออกจากส่วนหัวของรากกวาวเครือขาว และพบว่าสาร miroestrol มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับฮอร์โมน estrogen โดยมีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญของต่อมน้ำนมในหนูแรทที่ถูกตัดรังไข่ (Benson et al; 1961) มีฤทธิ์เพิ่มน้ำหนักในมดลูกในหนูเมาส์วัยเยาว์ (Jones and Pope, 1960; Kashemsanta *et al*., 1963)

นอกจาก miroestrol แล้วยังมีรายงานของสาร phytoestrogens อื่นๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงของระบบสืบพันธุ์ด้วยเช่นกัน โดยพบว่า coumestrol สามารถลดอัตราการตกไข่ในหนูเมาส์ (Fredricks *et al*., 1981) เพิ่มน้ำหนักมดลูกและยืดระยะอีสตรัสในหนูแรท ไม่สามารถกระตุ้นให้มีการหลั่ง LH เพิ่มขึ้นเมื่อกระตุ้นด้วย estrogen (Whittten *et al*., 1993; Medlock *et al*., 1995) ลดอัตราการผสมพันธุ์และการหลั่งอสุจิของหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับ coumestrol ผ่านทางน้ำนมมารดาตั้งแต่แรกเกิด โดยไม่มีผลต่อน้ำหนักอัณฑะ และระดับ testosterone ในพลาสมา (Whitten *et al*., 1995)

จากรายงานการศึกษาผลของ phytoestrogens ในคนพบว่าผู้หญิงอายุระหว่าง 20 - 29 ปี เมื่อได้รับสารพวก isoflavone จากถั่วเหลืองซึ่งเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของ phytoestrogens จะยืดระยะ follicular ของรอบประจำเดือน รวมทั้งยืดระยะเวลาที่ระดับฮอร์โมน progesterone เพิ่มขึ้นสูงสุด และลดระดับ LH และ follicle stimulating hormone (FSH) ในพลาสมา (Cassidy *et al*., 1994; 1995) ในทางตรงกันข้ามจากรายงานที่ได้ทำการศึกษาผลของ phytoestrogens ในผู้หญิงสูงอายุที่ได้รับ phytoestrogens จากถั่วเหลืองทุกวันเป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ พบว่าไม่มีผลต่อระดับ LH และ FSH ในซีรัม แม้ว่าจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ที่ช่องคลอด (Wilcox *et al*., 1990; Baird *et al*., 1995) และลดอัตราการเกิดอาการร้อนวูบวาบ (hot flushes) (Adlercreutz, 1992; Knight and Eden, 1996)

จากรายงานหลาย ๆ ฉบับที่ผ่านมา ได้กล่าวถึงผลกระทบของสาร phytoestrogens ต่อการทำงานของอวัยวะสืบพันธุ์ทั้งในคนและสัตว์ทดลอง แต่ยังไม่มีรายงานใด ๆ ที่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจนถึงผลของกวาวเครือขาวต่อการสร้างและหลั่งฮอร์โมนเพศที่เกิดขึ้นตามปกติ ทั้งในระดับต่อมใต้สมองส่วนหน้าและระดับอวัยวะสืบพันธุ์ (anterior pituitary-gonadal axis) ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระบบสืบพันธุ์ตามมาเป็นลำดับขั้น เช่น การยับยั้งการตกไข่ รอบประจำเดือน (menstrual cycle) หรือรอบวงอีสตรัส (estrous cycle) ที่ผิดปกติ เป็นต้น เนื่องจาก estrogen และ testosterone เป็นฮอร์โมนที่สร้างและหลั่งมาจากรังไข่และอัณฑะตามลำดับ ซึ่งจะถูกควบคุมการสร้างและหลั่งโดยฮอร์โมน LH และ FSH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า และขณะเดียวกัน estrogen และ testosterone จะสามารถมีผลควบคุมยับยั้งย้อนกลับ (negative feedback effect) ต่อการสร้างและหลั่งฮอร์โมน LH และ FSH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Johnson and Everitt, 1988) ดังนั้นถ้าหากกวาวเครือขาวมีสาร phytoestrogens ที่มีฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมน estrogen ก็ควรจะมีฤทธิ์ควบคุมการสร้างและการหลั่งฮอร์โมน estrogen, testosterone, LH และ FSH ด้วย แต่ก็ไม่มีรายงานใดๆ เกี่ยวกับผลของกวาวเครือขาวต่อฮอร์โมนดังกล่าวเลย ซึ่งถ้าได้มีการศึกษาดังกล่าวจะทำให้สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจนถึงกลไกการยับยั้งการตกไข่ หรือการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์อันเนื่องมาจากการได้รับกวาวเครือขาวของรายงานที่มีมาในอดีตได้เป็นอย่างดี รวมทั้งในปัจจุบันนี้ได้มีผู้นิยมนำเอากวาวเครือมาใช้ในรูปของครีมบำรุงเต้านมให้เต่งตึงขึ้น และใช้บำรุงผิวพรรณในผู้หญิงวัยเจริญพันธุ์ และใช้ในแง่ของ hormone replacement therapy ในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน เนื่องจากเชื่อว่าจะให้ผลเช่นเดียวกับฮอร์โมน estrogen โดยที่ยังไม่ทราบถึงผลกระทบข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น จากเหตุผลดังกล่าว จึงนับว่าเป็นเรื่องที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง ที่จะทำการศึกษาผลกระทบของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนที่ควบคุมการทำงานของรังไข่ในผู้หญิงวัยเจริญพันธ์และวัยหมดประจำเดือน แต่อย่างไรก็ตามการนำกวาวเครือมาศึกษาถึงผลกระทบต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในคนอย่างลึกซึ้งเป็นเรื่องที่ทำได้ยาก เนื่องจากสาร phytoestrogens ในกวาวเครือขาวสามารถพบได้ในอาหารทั่ว ๆ ไปที่คนนิยมรับประทานในชีวิตประจำวัน เช่น ในถั่วเหลือง ดังนั้นในการศึกษาถึงผลของกวาวเครือขาวในคนจะต้องมีการควบคุมหรือกำหนดตารางการกินอาหารของผู้ที่เข้ารับการทดลอง เพื่อลดหรือตัดปัญหาจากปัจจัยภายนอกในขณะที่ทำการทดลองด้วย นอกจากนั้นในการติดตามศึกษาอย่างละเอียดเป็นระยะเวลานาน ๆ ถึงการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์และการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาอื่น ๆ ในคนภายหลังได้รับกวาวเครือขาวยังเป็นไปได้ยาก นอกเหนือไปจากข้อจำกัดทางจริยธรรมที่มีอยู่ ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงได้ทำการศึกษาในหนูแรทโตเต็มวัยและหนูแรทแก่เพศเมีย เพื่อว่าข้อมูลที่ได้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ในผู้หญิง และผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน (menopausal woman) ตามลำดับ

วิธีการวิจัย

แบ่งการทดลองออกเป็น 7 การทดลอง โดยการทดลองที่ 1 และ 2 **เป็นการศึกษาผลของกวาวเครือแดง** โดยเป็นการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์ และศึกษาผลของกวาวเครือแดงต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย การทดลองที่ 3 และ 4 **เป็นการศึกษาผลของกวาวเครือดำ** โดยเป็นการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือดำในหนูเมาส์ และศึกษาผลของกวาวเครือดำต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์หนูแรทเพศผู้และเพศเมีย และการทดลองที่ 5, 6 และ 7 **เป็นการศึกษาฤทธิ์ของกวาวเครือขาว**ในหนูแรท ดังรายละเอียดต่อไปนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย

<u>สัตว์ทดลอง</u>

หนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย พันธุ์ ICR อายุประมาณ 60 วัน น้ำหนัก 35-45 กรัม จำนวน 80 ตัว (เพศละ 40 ตัว) จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จ.นครปฐม เลี้ยงในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง ณ หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง (12:12) หนูได้รับอาหารสำเร็จรูป (โภคภัณฑ์อาหารสัตว์, ประเทศไทย) และน้ำตลอดเวลา

แบ่งหนูทั้งสองเพศออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว และให้สารทางปากทุกวัน นาน 90 วัน ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ให้น้ำกลั่นปริมาตร 0.3 มล./ตัว/วัน

กลุ่มที่ 2 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือแดง ในปริมาณ 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน/0.3 มล. น้ำกลั่น

กลุ่มที่ 3 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือแดง ในปริมาณ 100 มก./กก./วัน /0.3 มล. น้ำกลั่น

กลุ่มที่ 4 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือแดง ในปริมาณ 500 มก./กก./วัน/0.3 มล. น้ำกลั่น

<u>การเตรียมสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดง</u>

หัวกวาวเครือแดง (*Butea superbai* Roxb) ที่เก็บมาจากจังหวัดลำปาง ระหว่างเดือนเมษายน 2543 ได้นำมาจำแนกชนิดโดย รศ. ดร. วิชัย เชิดชีวศาสตร์ โดยอาศัยพืชอ้างอิงของ Kasemsanta et al., (1952) ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการจำแนกชนิด (Voucher herbarium specimen, No. BCU 11046) ถูกเก็บไว้ที่ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นำหัวกวาวเครือแดงมาปอกเปลือก ล้างให้สะอาด ฝานเป็นแว่นบาง ๆ อบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส บดเป็นผงละเอียด และกรองผ่านตะแกรงขนาด 100 Mesh เก็บผงกวาวเครือแดงที่ได้ให้พ้นแสงในที่แห้งและเย็น

นำผงกวาวเครือแดงที่ได้มาผสมในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 10, 100 และ 500 มก./กก. น้ำหนักตัวหนู / น้ำกลั่น 0.3 มล. เก็บสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส สารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงที่ใช้มีการเตรียมใหม่ ทุก ๆ 2 สัปดาห์

ขั้นตอนการทดลอง

1. ป้อนน้ำกลั่น หรือกวาวเครือแดงให้หนู โดยใช้ gastric feeding needle ทุกวัน ในช่วงเวลา 0800 - 10.00 น. เป็นเวลา 90 วัน

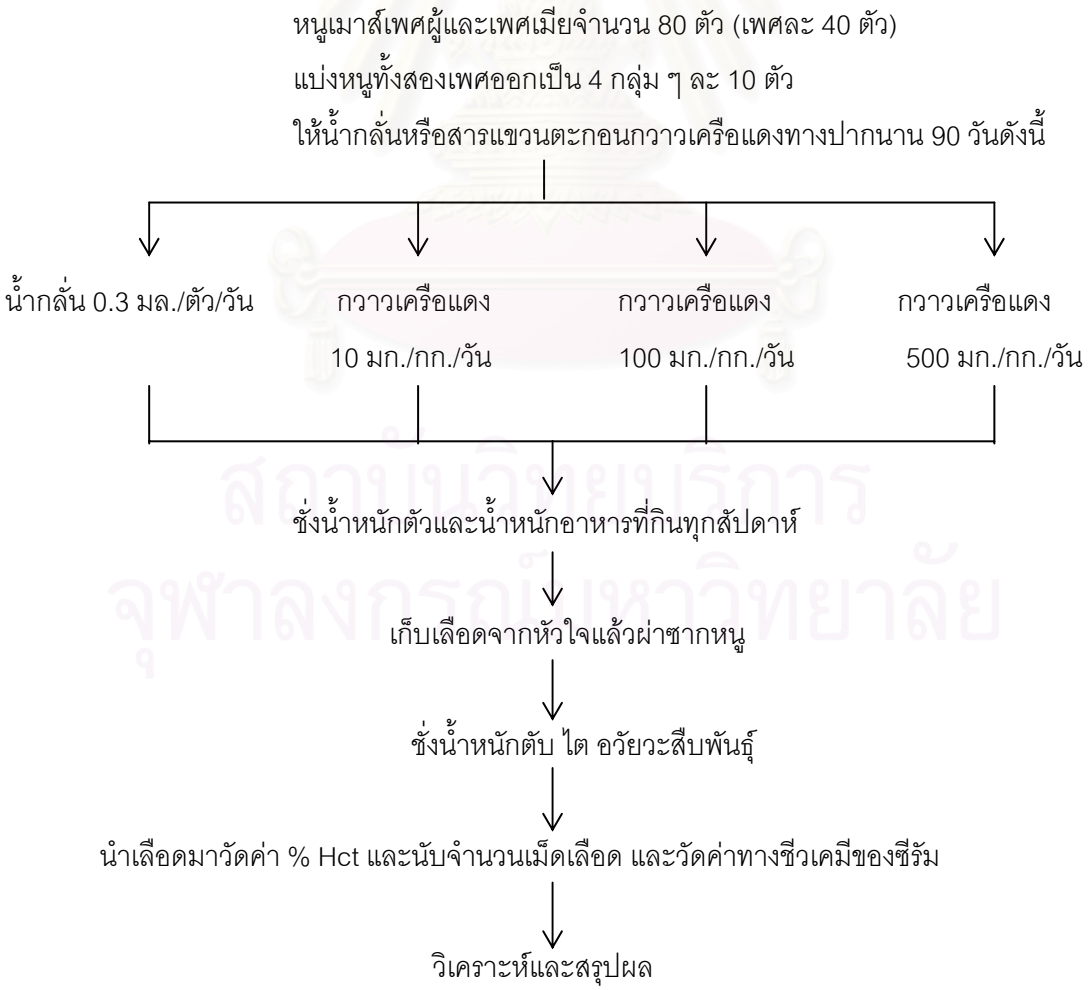
2.ชั่งน้ำหนักตัวหนู และน้ำหนักอาหารที่หนูกิน ทุกสัปดาห์ ทำการสังเกตลักษณะขน อาการผิดปกติ และการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นกับหนูทุกวัน ในขณะที่ป้อนสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดง

3.หลังจากป้อนน้ำกลั่นหรือสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงครบ 90 วัน อดอาหารหนูเป็นเวลา 16 – 24 ชั่วโมง ทำการเก็บเลือดจากหัวใจ จากนั้นนำหนูไปทำการุณยฆาตด้วยอีเธอร์ และผ่าซากเพื่อเก็บอวัยวะต่าง ๆ

-ตัดตับ ไต และอวัยวะสืบพันธุ์ เช่น อัณฑะ มดลูก และรังไข่ ออกมาชั่งน้ำหนัก

-นำเลือดมาวัดค่าเปอร์เซนต์ฮีมาโตคริต (%Hct) ตรวจดูลักษณะของเม็ดเลือดแดง และนับจำนวนเม็ดเลือดขาว เช่น ลิมโฟซัยต์, โมโนซัยต์, อิโอซิโนฟิล และนิวโตฟิล และนำซีรัมมาวิเคราะห์หาค่าทางชีวเคมีของซีรัม คือ BUN, Creatinine, total cholesterol, triglyceride, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) โดยการตรวจวัดค่าดังกล่าวจะทำโดยส่งตัวอย่างไปที่ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา คณะเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แผนผังการทดลอง



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของกวาวเครือแดงต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย

สัตว์ทดลอง

หนูแรทเพศผู้และเพศเมีย พันธุ์ Wistar อายุประมาณ 60 วัน น้ำหนัก 200-250 กรัม ในเพศเมีย และ 250-300 กรัม ในเพศผู้ จำนวน 100 ตัว (เพศละ 50 ตัว) จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จ.นครปฐม เลี้ยงในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง ณ หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง (12:12) หนูได้รับอาหารสำเร็จรูป (โภคภัณฑ์อาหารสัตว์, ประเทศไทย) และน้ำตลอดเวลา

แบ่งหนูทั้งสองเพศออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว และให้สารทางปากทุกวัน ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ให้น้ำกลั่นปริมาตร 0.7 มล./ตัว/วัน

กลุ่มที่ 2 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือแดง ในปริมาณ 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน

กลุ่มที่ 3 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือแดง ในปริมาณ 50 มก./กก./วัน /0.7 มล. น้ำกลั่น

กลุ่มที่ 4 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือแดง ในปริมาณ 250 มก./กก./วัน

กุ่มที่ 5 ฉีดสาร testosterone propionate ทางใต้ผิวหนัง ในปริมาณ 600 ไมโครกรัม/100 ก. น้ำหนักตัว/วัน/ 0.2 มล. sesame oil

การเตรียมสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดง

เตรียมผงกวาวเครือแดงเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

นำผงกวาวเครือแดงที่ได้มาผสมกับน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 10, 50 และ 250 มก./กก. น้ำหนักตัวหนู / น้ำกลั่น 0.7 มล. เก็บสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส สารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงที่ใช้มีการเตรียมใหม่ ทุก ๆ 2 สัปดาห์

การเตรียมสาร testosterone propionate

สาร testosterone propionate ที่ใช้ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว/วัน เป็นขนาดที่เคยมีรายงานว่ามีผลต่อ hypothalamic-pituiatry-gonadal axis ในหนูแรท (Borg et al., 1995; Gay and Boganove, 1969) ในการเตรียม ละลายผง testosterone propionate ใน absolute ethanol ปริมาตรเล็กน้อยจนกระทั่งสารละลายหมด เติม sesame oil จนได้สาร testosterone propionate ในขนาด 600 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 100 กรัม/วัน ใน sesame oil 0.2 มล. ทิ้งสารไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่ง ethanol ระเหยหมด เก็บสารที่ได้ในขวดสีชา ไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ขั้นตอนการทดลอง

1. นำหนูเพศเมียในระยะ diestrus ของ estrous cycle ที่ตรวจสอบโดยการทำ vaginal semar และหนูเพศผู้ มาตัดต่อมบ่งเพศออก (ตัดรังไข่ในหนูเพศเมีย และตัดอัณฑะในหนูเพศผู้) และเจาะเลือด นับวันนี้เป็นวันที่ -14 (D_{-14}) ของการทดลอง พักหนูไว้ 14 วัน

2. แบ่งหนูออกเป็น 5 กลุ่ม แต่ละกลุ่มแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ระยะ ระยะก่อนการทดลอง ระยะทดลอง และระยะหลังทดลอง ในระยะก่อนและหลังการทดลอง หนูได้รับน้ำกลั่นปริมาตร 0.7 มล. ทางปาก นาน 15 วัน และระยะทดลองหนูได้รับสารต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น ทุกวัน ในช่วงเวลา 0800 - 10.00 น. นาน 30 วัน เจาะเลือด ทุก ๆ 15 วัน

3. เมื่อสิ้นสุด**ระยะทดลอง** สุ่มหนูจากแต่ละกลุ่มมา กลุ่มละ 5 ตัว นำหนูไปทำการุณยฆาตด้วยอีเธอร์ และผ่าซากเพื่อเก็บอวัยวะต่าง ๆ ของหนู และเมื่อสิ้นสุด**ระยะหลังทดลอง** นำหนูที่เหลือในแต่ละกลุ่ม ๆ ละ 5 ตัว ไปฆ่าโดยการุณด้วยอีเธอร์ และผ่าซากเพื่อเก็บอวัยวะต่าง ๆ ของหนู

4.ชั่งน้ำหนักตัวหนู และน้ำหนักอาหารที่หนูกิน ทุกสัปดาห์ ทำการสังเกตลักษณะของขน อาการผิดปกติ และการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นกับหนูทุกวัน ในขณะที่ป้อนสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดง

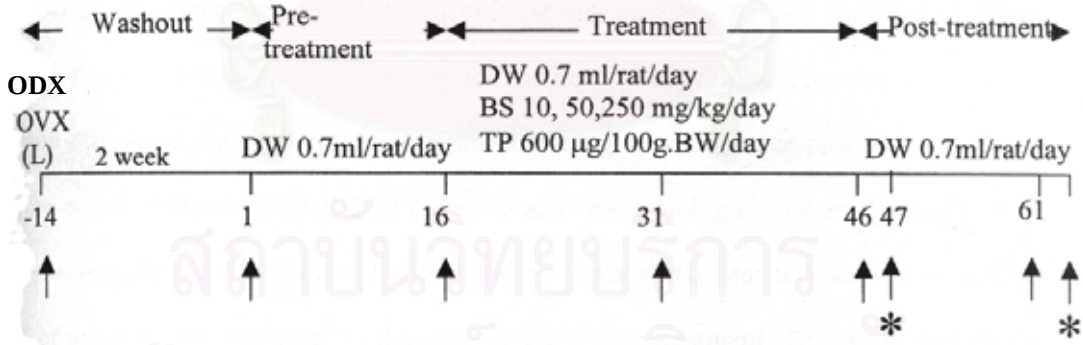
5. เก็บเลือดจากหัวใจครั้งละ 1 มิลลิลิตร ทุก ๆ 15 วัน นำซีรัมไปวิเคราะห์หาปริมาณ ฮอร์โมน estradiol (E_2; ในเพศเมีย), testosterone (ในเพศผู้), FSH, และ LH โดยวิธี RIA ที่หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. หลังจากนำหนูมาทำการุณยฆาตด้วยอีเธอร์และผ่าซากหนู ตัดตับ ไต และอวัยวะสืบพันธุ์ เช่น มดลูก seminal vesicle และ prostate gland ออกมาชั่งน้ำหนัก และนำอวัยวะทั้งหมดที่กล่าวมาแช่ใน 10 % formalin buffer เพื่อนำไปศึกษาทางด้านจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ

<u>แผนผังการทดลอง</u>

หนูแรทเพศผู้และเพศเมียจำนวน 100 ตัว (เพศละ 50 ตัว)

แบ่งหนูทั้งสองเพศออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว และแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ระยะ ดังนี้



DW = distilled water, BS = กวาวเครือแดง, TP = testosterone propionate, OVX = ovariectomy, ODX = orchidectomy, ↑ = blood collection, * = decapitation

การทดลองที่ 3 การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือดำในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย

สัตว์ทดลอง

หนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย พันธุ์ ICR อายุประมาณ 60 วัน น้ำหนัก 35-45 กรัม จำนวน 80 ตัว (เพศละ 40 ตัว) จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จ.นครปฐม เลี้ยงในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง ณ หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง (12:12) หนูได้รับอาหารสำเร็จรูป (โภคภัณฑ์อาหารสัตว์, ประเทศไทย) และน้ำตลอดเวลา

แบ่งหนูทั้งสองเพศออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว และให้สารทางปากทุกวัน นาน 90 วัน ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ให้น้ำกลั่นปริมาตร 0.3 มล./ตัว/วัน

กลุ่มที่ 2 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือดำ ในปริมาณ 10 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน/0.3 มล. น้ำกลั่น

กลุ่มที่ 3 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือดำ ในปริมาณ 100 มก./กก./วัน/0.3 มล. น้ำกลั่น

กลุ่มที่ 4 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือดำ ในปริมาณ 500 มก./กก./วัน/0.3 มล. น้ำกลั่น

การเตรียมสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำ

หัวกวาวเครือดำ (*Mucuna callettii*) ที่เก็บมาจากจังหวัดเชียงราย ระหว่างเดือนเมษายน 2543 ได้นำมาจำแนกชนิดโดย รศ. ดร. วิชัย เชิดชีวศาสตร์ โดยอาศัยพืชอ้างอิงของ Smitinand (1997) ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการจำแนกชนิด (Voucher herbarium specimen, No. BCU 11047) ถูกเก็บไว้ที่ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นำหัวกวาวเครือดำมาปอกเปลือก ล้างให้สะอาด ฝานเป็นแว่นบาง ๆ อบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส บดเป็นผงละเอียด และกรองผ่านตะแกรงขนาด 100 Mesh เก็บผงกวาวเครือดำที่ได้ให้พ้นแสงในที่แห้งและเย็น

นำผงกวาวเครือดำที่ได้มาละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 10, 100 และ 500 มก./กก. น้ำหนักตัวหนู /น้ำกลั่น 0.3 มล. เก็บสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส สารแขวนตะกอนกวาวเครือดำที่ใช้มีการเตรียมใหม่ ทุก ๆ 2 สัปดาห์

ขั้นตอนการทดลอง

1. ป้อนน้ำกลั่น หรือ กวาวเครือดำให้หนูโดยใช้ gastric feeding needle ทุกวัน ในช่วงเวลา 0800 - 10.00 น. เป็นเวลา 90 วัน

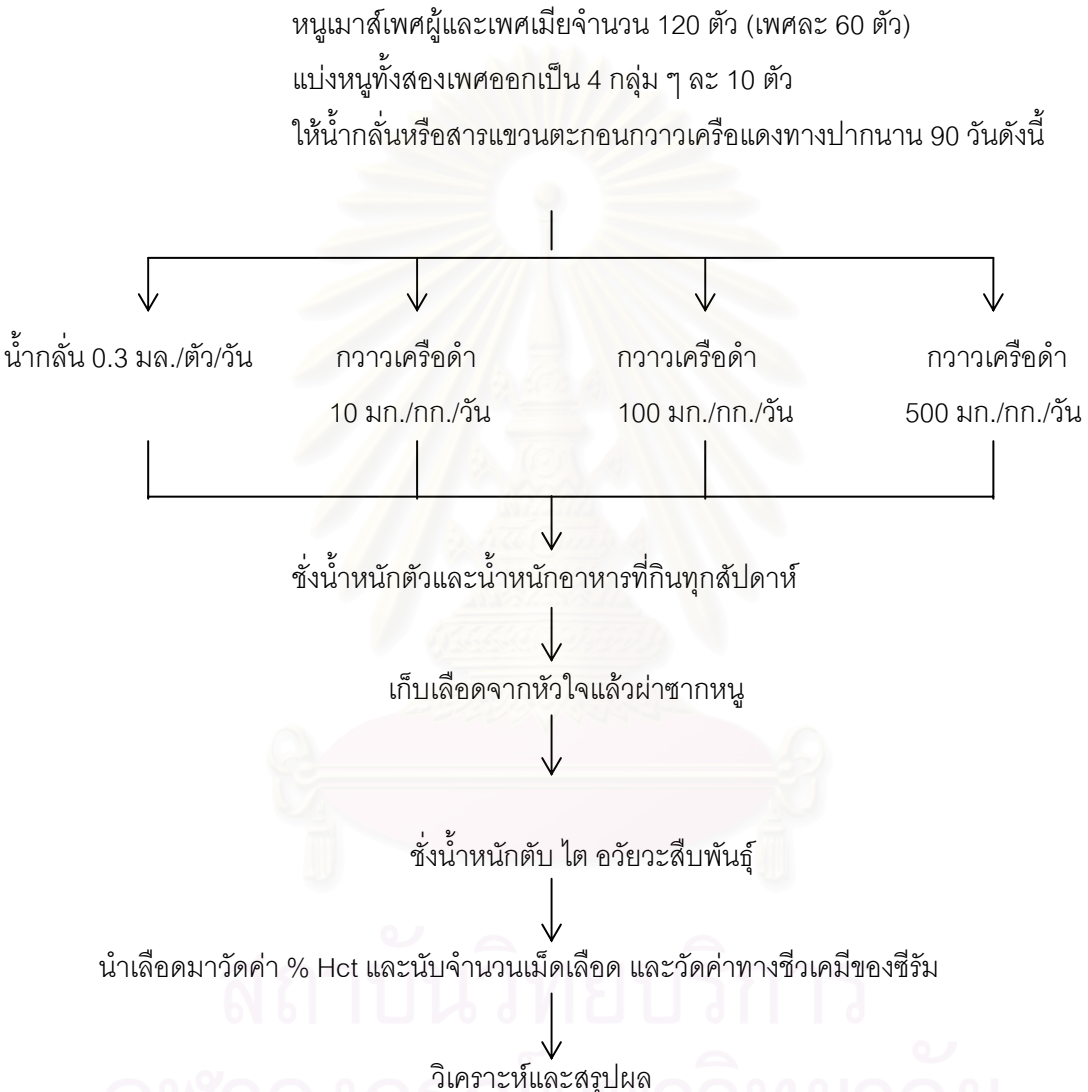
2.ชั่งน้ำหนักตัวหนู และน้ำหนักอาหารที่หนูกิน ทุกสัปดาห์ ทำการสังเกตลักษณะขน อาการผิดปกติและการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นกับหนูทุกวัน ในขณะที่ป้อนสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำ

3.หลังจากป้อนน้ำกลั่นหรือสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำครบ 90 วัน อดอาหารหนูเป็นเวลา 16 – 24 ชั่วโมง ทำการเก็บเลือดจากหัวใจ จากนั้นนำหนูไปทำการุณยฆาตด้วยอีเธอร์ และผ่าซากเพื่อเก็บอวัยวะต่าง ๆ

-ตัดตับ ไต และอวัยวะสืบพันธุ์ เช่น อัณฑะ มดลูก และรังไข่ ออกมาชั่งน้ำหนัก

-นำเลือดมาวัดค่าเปอร์เซนต์ฮีมาโตคริต (%Hct) ตรวจดูลักษณะของเม็ดเลือดแดง และนับจำนวนเม็ดเลือดขาว เช่น ลิมโฟซัยต์, โมโนซัยต์, อิโอซิโนฟิล และนิวโตฟิล และนำซีรัมมาวิเคราะห์หาค่าทางชีวเคมีของซีรัม คือ BUN, Creatinine, total cholesterol, triglyceride, alkaline phosphatase, AST และ ALT โดยการตรวจวัดค่าดังกล่าวจะทำโดยส่งตัวอย่างไปที่ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา คณะเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>แผนผังการทดลอง</u>



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของกวาวเครือดำต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย

สัตว์ทดลอง

หนูแรทเพศผู้และเพศเมีย พันธุ์ Wistar อายุประมาณ 60 วัน น้ำหนัก 200-250 กรัม ในเพศเมีย และ 250-300 กรัม ในเพศผู้ จำนวน 100 ตัว (เพศละ 50 ตัว) จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จ.นครปฐม เลี้ยงในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง ณ หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง (12:12) หนูได้รับอาหารสำเร็จรูป (โภคภัณฑ์อาหารสัตว์, ประเทศไทย) และน้ำตลอดเวลา

แบ่งหนูทั้งสองเพศออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว และให้สารทางปากทุกวัน ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ให้น้ำกลั่นปริมาตร 0.7 มล./ตัว/วัน

กลุ่มที่ 2 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือดำ ในปริมาณ 1 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน

กลุ่มที่ 3 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือดำ ในปริมาณ 10 มก./กก./วัน /0.7 มล. น้ำกลั่น

กลุ่มที่ 4 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือดำ ในปริมาณ 100 มก./กก./วัน

กุ่มที่ 5 ฉีดสาร testosterone propionate ทางใต้ผิวหนัง ในปริมาณ 600 ไมโครกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว/วัน/ sesame oil 0.2 มล.

การเตรียมสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำ

เตรียมผงกวาวเครือดำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3 นำผงกวาวเครือดำที่ได้มาผสมกับน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 1, 10 และ 100 มก./กก. น้ำหนักตัวหนู /น้ำกลั่น 0.7 มล. เก็บสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส สารแขวนตะกอนกวาวเครือดำที่ใช้มีการเตรียมใหม่ ทุก ๆ 2 สัปดาห์

การเตรียมสาร testosterone propionate

สาร testosterone propionate ที่ใช้ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม น้ำหนักตัว/วัน เป็นขนาดที่เคยมีรายงานว่ามีผลต่อ hypothalamic-pituiatry-gonadal axis ในหนูแรท (Borg et al., 1995; Gay and Boganove, 1969) ละลายผง testosterone propionate ใน absolute ethanol ปริมาตรเล็กน้อยจนกระทั่งสารละลายหมด เติม sesame oil จนได้สาร testosterone propionate ในขนาด 600 ไมโครกรัม/น้ำหนักตัว 100 กรัม/วัน/ใน sesame oil 0.2 มล. ทิ้งสารไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่ง ethanol ระเหยหมด เก็บสารที่ได้ในขวดสีชา ไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ขั้นตอนการทดลอง

1. นำหนูเพศเมียในระยะ diestrus ของ estrous cycle ที่ตรวจสอบโดยการทำ vaginal semar และหนูเพศผู้ มาตัดต่อมบ่งเพศออก (ตัดรังไข่ในหนูเพศเมีย และตัดอัณฑะในหนูเพศผู้) และเจาะเลือด นับวันนี้เป็นวันที่ -14 (D_{-14}) ของการทดลอง พักหนูไว้ 14 วัน

2. แบ่งหนูออกเป็น 5 กลุ่ม แต่ละกลุ่มแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ระยะ ระยะก่อนการทดลอง ระยะทดลอง และระยะหลังทดลอง ในระยะก่อนและหลังการทดลอง หนูได้รับน้ำกลั่นปริมาตร 0.7 มล. ทางปาก

นาน 15 วัน และระยะทดลองหนูได้รับสารต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้น ทุกวัน ในช่วงเวลา 0800 - 10.00 น. นาน 30 วัน เจาะเลือด ทุก ๆ 15 วัน

3. เมื่อสิ้นสุด**ระยะทดลอง** สุ่มหนูจากแต่ละกลุ่มมากลุ่มละ 5 ตัว นำหนูไปทำการุณยฆาตด้วยอีเธอร์ และผ่าซากเพื่อเก็บอวัยวะต่าง ๆ ของหนู และเมื่อสิ้นสุด**ระยะหลังทดลอง** นำหนูที่เหลือในแต่ละกลุ่ม ๆ ละ 5 ตัว ไปทำการุณยฆาตด้วยอีเธอร์ และผ่าซากเพื่อเก็บอวัยวะต่าง ๆ ของหนู

4.ชั่งน้ำหนักตัวหนู และน้ำหนักอาหารที่หนูกิน ทุกสัปดาห์ ทำการสังเกตลักษณะขน อาการผิดปกติ และการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นกับหนูทุกวัน ในขณะที่ป้อนสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำ

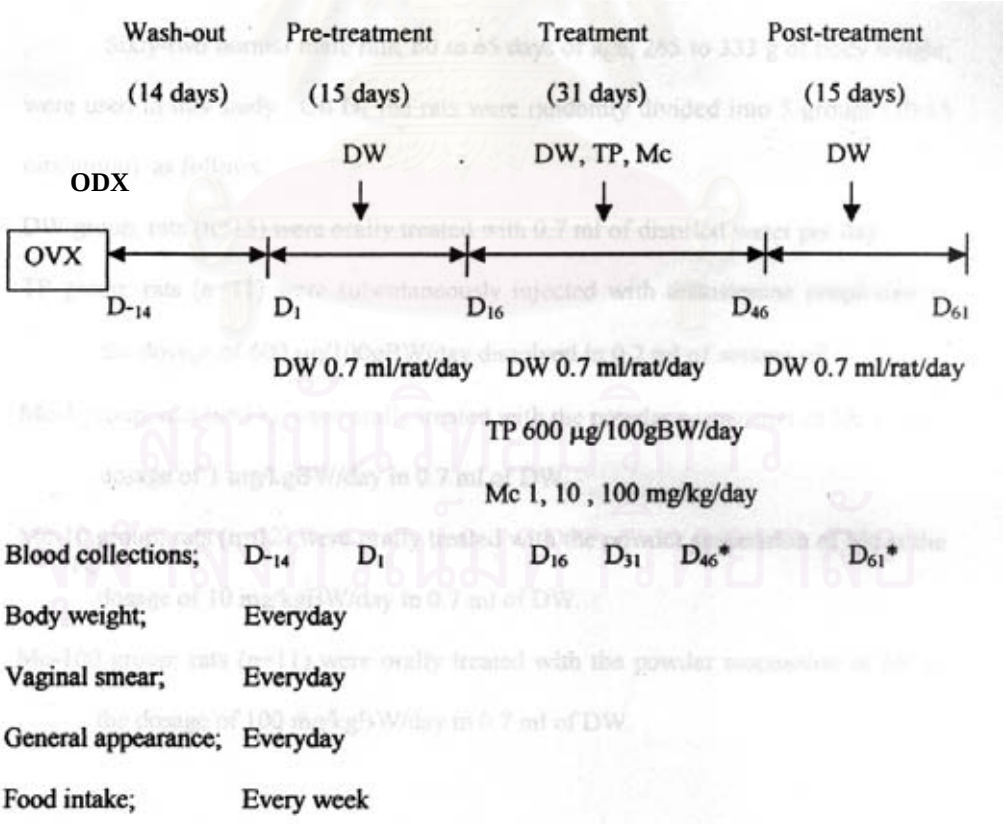
5. เก็บเลือดจากหัวใจครั้งละ 1 มิลลิลิตร ทุก ๆ 15 วัน นำซีรัมไปวิเคราะห์หาปริมาณ ฮอร์โมน E_2 (ในเพศเมีย), testosterone (ในเพศผู้), FSH, และ LH โดยวิธี RIA ที่หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. หลังจากนำหนูมาฆ่าโดยการุณด้วยอีเธอร์และผ่าซากหนู ตัดตับ ไต และอวัยวะสืบพันธุ์ เช่น มดลูก seminal vesicle และ prostate gland ออกมาชั่งน้ำหนัก และนำอวัยวะทั้งหมดที่กล่าวมาแช่ใน 10 % formalin buffer เพื่อนำไปศึกษาทางด้านจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ

<u>แผนผังการทดลอง</u>

หนูแรทเพศผู้และเพศเมียจำนวน 100 ตัว (เพศละ 50 ตัว)

แบ่งหนูทั้งสองเพศออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว และแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ระยะ ดังนี้



DW = distilled water, Mc = กวาวเครือดำ, TP = testosterone propionate, OVX = ovariectomy, ODX = orchidectomy, * = decapitation

การทดลองที่ 5 การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย

สัตว์ทดลอง

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย พันธุ์ Wistar อายุประมาณ 100 วัน น้ำหนัก 170-190 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จ.นครปฐม เลี้ยงในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง ณ หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง (12:12) หนูได้รับอาหารสำเร็จรูป (โภคภัณฑ์อาหารสัตว์, ประเทศไทย) และน้ำตลอดเวลา คัดเลือกหนูที่ทำการตรวจดูเยื่อบุช่องคลอดแล้วพบว่ามีรอบวงสืบพันธุ์ (estrous cycle) ปกติติดต่อกันนาน 3 รอบวง จำนวน 20 ตัว

แบ่งหนูออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว และให้สารทางปากทุกวัน นาน 200 วัน ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ให้น้ำกลั่น 0.5 มล/ตัว/วัน

กลุ่มที่ 2 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือขาว ในปริมาณ 25 มก/กก/วัน/0.5 มล.น้ำกลั่น

การเตรียมสารแขวนตะกอนกวาวเครือขาว

หัวกวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*) สายพันธุ์ Wichai-III ที่เก็บมาจากจังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือนเมษายน 2543 ได้นำมาจำแนกชนิดโดย รศ. ดร. วิชัย เชิดชีวศาสตร์ ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการจำแนกชนิด (Voucher herbarium specimen, No. BCU 11045) ถูกเก็บไว้ที่ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นำหัวกวาวเครือขาวมาปอกเปลือก ล้างให้สะอาด ฝานเป็นแว่นบาง ๆ อบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส บดเป็นผงละเอียด และกรองผ่านตะแกรงขนาด 100 Mesh เก็บผงกวาวเครือขาวได้ให้พ้นแสงในที่แห้งและเย็น

นำผงกวาวเครือขาวได้มาผสมกับน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณ 25 มก./กก. น้ำหนักตัวหนู /น้ำกลั่น 0.5มล. เก็บสารแขวนตะกอนกวาวเครือขาวไว้ในตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส สารแขวนตะกอนกวาวเครือขาวใช้มีการเตรียมใหม่ ทุก ๆ 2 สัปดาห์

ขั้นตอนการทดลอง

1. ป้อนน้ำกลั่น หรือกวาวเครือขาวให้หนูโดยใช้ gastric feeding needle ทุกวัน ในช่วงเวลา 0800 - 10.00 น. เป็นเวลา 200 วัน

2. ตรวจดูเยื่อบุช่องคลอด (vaginal cytology assay) และทำการสังเกตลักษณะขน อาการผิดปกติและการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นทุกวัน ในขณะที่ป้อนสารละลายกวาวเครือขาว

3. ชั่งน้ำหนักตัวหนู และน้ำหนักอาหารที่หนูกินทุกสัปดาห์

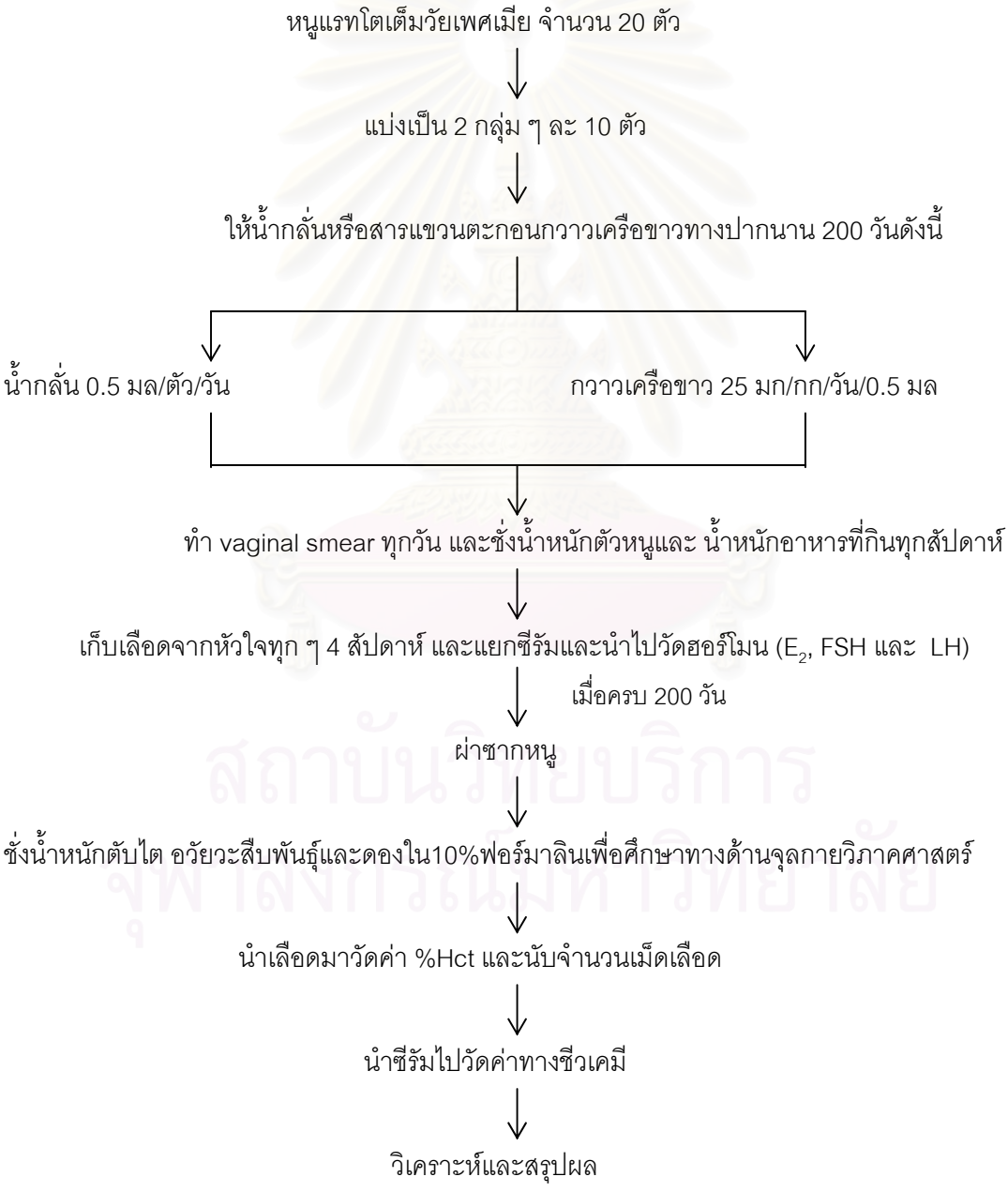
4. เก็บเลือดจากหัวใจครั้งละ 1 มิลลิลิตร ทุก ๆ 4 สัปดาห์ นำซีรัมไปวิเคราะห์หาปริมาณ ฮอร์โมน E_2, FSH, และ LH โดยวิธี RIA ที่หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. หลังจากป้อนน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาวครบ 200 วัน เก็บเลือดจากหัวใจ นำหนูมาทำการุณยฆาตด้วยอีเธอร์และผ่าซากหนู

-ตัดมดลูก และรังไข่ทั้งสองข้าง ตับ ไต ม้าม มาชั่งน้ำหนัก และนำอวัยวะทั้งหมดที่กล่าวมาแช่ใน 10 % formalin buffer เพื่อนำไปศึกษาทางด้านจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อ

-นำเลือดมาวัดค่า % Hct และนับจำนวนเม็ดเลือดขาว เช่น ลิมโฟซัยต์ โมโนซัยต์ อิโอซิโนฟิล และนิวโตรฟิล และนำซีรัมมาวิเคราะห์หาค่าทางชีวเคมีของซีรัม คือ BUN, creatinine, total cholesterol, triglyceride, alkaline phosphatase, AST และ ALT โดยการตรวจวัดค่าดังกล่าวทำโดยส่งตัวอย่างไปที่ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>แผนผังการทดลอง</u>



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดลองที่ 6 การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทแก่เพศเมีย

สัตว์ทดลอง

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย พันธุ์ Wistar อายุประมาณ 100 วัน น้ำหนัก 170-190 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติมหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จ.นครปฐม เลี้ยงในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง ณ หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง (12:12) หนูได้รับอาหารสำเร็จรูป (โภคภัณฑ์อาหารสัตว์, ประเทศไทย) และน้ำตลอดเวลา จนกระทั่งหนูแรทแก่ อายุประมาณ 1 ปี น้ำหนัก 300-350 กรัม คัดเลือกหนูจำนวน 20 ตัว ตรวจดูเยื่อบุช่องคลอดนาน 14 วัน (เป็นระยะเวลานานประมาณ 3 รอบวงของวงสืบพันธุ์ปกติ) และพบ estrous cycle ที่ผิดปกติ

แบ่งหนูออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว และให้สารทางปากทุกวัน นาน 200 วัน ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ให้น้ำกลั่น 0.5 มล/ตัว/วัน

กลุ่มที่ 2 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือขาว ในปริมาณ 25 มก/กก/วัน/0.5 มล.น้ำกลั่น

การเตรียมสารแขวนตะกอนกวาวเครือขาว

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 5

ขั้นตอนการทดลอง

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 5

แผนผังการทดลอง

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดลองที่ 7 การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย

สัตว์ทดลอง

หนูแรทเพศเมีย พันธุ์ Wistar อายุประมาณ 50 วัน ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ตอบสนองต่อสาร 7,12-DMBA ในการเกิดมะเร็งเต้านมได้สูง (Kesara, 1987) น้ำหนัก 150-160 กรัม จำนวน 75 ตัว จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา จ.นครปฐม เลี้ยงในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลอง ณ หน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง (12:12) หนูได้รับอาหารสำเร็จรูป (โภคภัณฑ์อาหารสัตว์, ประเทศไทย) และน้ำตลอดเวลา

แบ่งหนูออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 25 ตัว และให้สารทางปากทุกวัน ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม ชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านมโดยให้ 7,12 dimethylbenx(a)anthracene (7, 12-DMBA) ในขนาด 170 มก/กก (Kesara, 1987) ทางสายยางส่งเข้ากระเพาะเพียงครั้งเดียวในวันที่ 1 ของการทดลอง หลังจากนั้นให้น้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./ตัว/วัน ทางปากนาน 150 วัน

กลุ่มที่ 2 ชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านมโดยให้ 7, 12-DMBA ในขนาด 170 มก/กก ทางสายยางส่งเข้ากระเพาะเพียงครั้งเดียวในวันที่ 1 ของการทดลอง หลังจากนั้นให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือขาว ในปริมาณ 25 มก/กก/วัน/0.5 มล. น้ำกลั่น ทางปากนาน 150 วัน

กลุ่มที่ 3 ให้น้ำกลั่นในปริมาตร 0.5 มล./ตัว/วัน ทางปากนาน 90 วัน แล้วชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านมโดยให้ 7, 12-DMBA ในขนาด 170 มก/กก ทางสายยางส่งเข้ากระเพาะเพียงครั้งเดียวในวันที่ 91 ของการทดลอง หลังจากนั้นให้น้ำกลั่นในปริมาตร 0.5 มล./ตัว/วัน ทางปากนาน 150 วัน

กลุ่มที่ 4 ให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือขาว ในปริมาณ 25 มก/กก/วัน/0.5 มล. น้ำกลั่น ทางปากนาน 90 วัน แล้วชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านมโดยให้ 7, 12-DMBA ในขนาด 170 มก/กก ทางสายยางส่งเข้ากระเพาะเพียงครั้งเดียวในวันที่ 91 ของการทดลอง หลังจากนั้นให้สารแขวนตะกอนกวาวเครือขาว ปริมาณ 25 มก/กก/วัน/0.5 มล. น้ำกลั่น ทางปากนาน 150 วัน

การเตรียมสารแขวนตะกอนกวาวเครือขาว

เช่นเดียวกับการทดลองที่ 5

ขั้นตอนการทดลอง

1. ป้อนน้ำกลั่น หรือกวาวเครือขาวให้หนู โดยใช้ gastric feeding needle ทุกวัน ในช่วงเวลา 10.00 – 11.00 น.

2. ทำการสังเกตลักษณะขน อาการผิดปกติและการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นทุกวัน ในขณะที่ป้อนสารแขวนตะกอนกวาวเครือขาว

3. ชั่งน้ำหนักตัวหนู และน้ำหนักอาหารที่หนูกินทุกสัปดาห์

4. สังเกตการเกิดมะเร็งโดยการคลำที่บริเวณเต้านมทุกเต้าทุกวัน ถ้าพบก้อนเนื้อบริเวณเต้านม จะสังเกตและบันทึกรายละเอียดไว้ดังนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

-วัดขนาดโดยใช้ caliper ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของก้อนตามแนวนอนและแนวตั้ง นำเส้นผ่านศูนย์กลางที่ยาวที่สุดคูณกับความลึกหรือความหนา นำผลที่คูณได้ในแต่ละครั้งมาเปรียบเทียบกันในการติดตามผล

-สังเกตตำแหน่งที่พบ

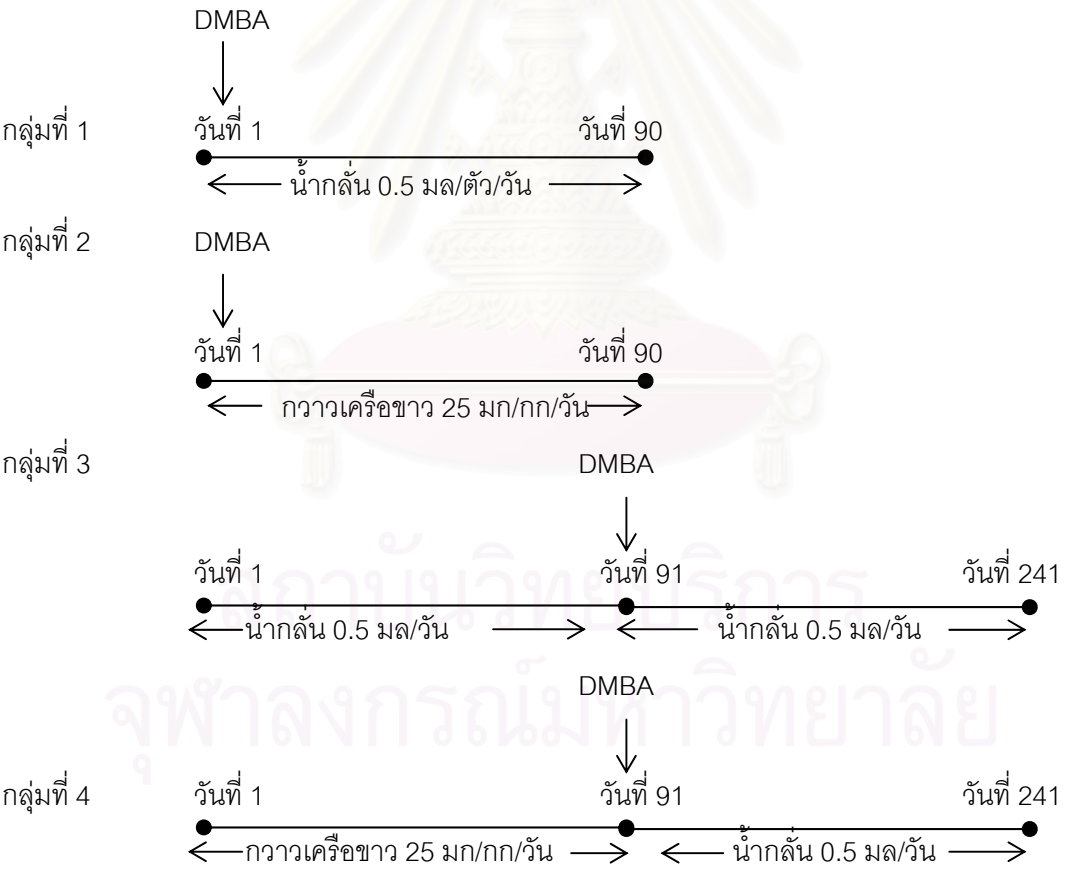
-คลำขอบเขต (boundary) ของก้อน และสังเกตลักษณะพื้นผิว (surface) ของก้อน

-สังเกตความอ่อนและแข็งของก้อน

5. เก็บเลือดจากหัวใจครั้งละ 1 มล. ทุก ๆ 90 วันของการทดลอง นำซีรัมไปวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมน E_2 โดยวิธี RIA

6. หลังจากทำการทดลองครบ 150 วัน ในกลุ่มที่ 1 และ 2 และครบ 240 วัน ในกลุ่มที่ 3 และ 4 ทำการผ่าซากหนูและตัดเอาชิ้นเนื้อเยื่อบริเวณเต้านมที่พบลักษณะเป็นก้อนไปศึกษาทางด้านจุลกายวิภาคศาสตร์โดยส่งตัวอย่างเนื้อเยื่อไปที่ ห้องปฏิบัติการภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

<u>แผนผังการทดลอง</u>



หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย จำนวน 100 ตัว

แบ่งหนูออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 25 ตัว ดังกลุ่มทดลองข้างต้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทำ vaginal smear ทุกวัน และชั่งน้ำหนักตัวหนูและ น้ำหนักอาหารที่กินทุกสัปดาห์

↓

สังเกตการเกิดมะเร็งเต้านมและบันทึกรายละเอียดทุกวัน

↓

เก็บเลือดจากหัวใจทุก ๆ 90 วันและนำซีรัมไปวัดฮอร์โมน E_2

↓

หลังสิ้นสุดการทดลองผ่าซากหนู และนำชิ้นเนื้อเยื่อที่คาดว่าจะเป็นมะเร็งไป

ศึกษาทางด้านจุลกายวิภาคศาสตร์

↓

วิเคราะห์และสรุปผล

วิธีการเก็บเลือด

ทำการเก็บเลือดจากหัวใจที่เวลา 08.00-12.00 น. ภายหลังจากที่สลบสัตว์ทดลองโดยอีเธอร์ จากนั้นนำเลือดที่ได้ไปปั่นที่ความเร็ว 2,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แยกเก็บซีรัมไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมน

การวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนโดยวิธี RIA

ตรวจหาปริมาณ E_2 และ testosterone โดยใช้ kit และดำเนินการตามวิธีของ WHO programme (Sufi et al, 1986) ตรวจหาปริมาณ FSH และ LH โดยดำเนินการตามวิธีของ Watanabe et al (1990)

วิธีตรวจดูเยื่อบุช่องคลอดในหนูแรท

ตรวจดูเยื่อบุช่องคลอดโดยใช้แท่งแก้วปลายแบนขนาดเล็กค่อย ๆ สอดเข้าช่องคลอดของหนู และป้ายเบา ๆ บริเวณด้านข้างของช่องคลอด และนำมาแตะบนหยดน้ำเกลือที่เตรียมไว้บนแผ่นสไลด์ แล้วนำสไลด์ไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สังเกตว่าพบเซลล์ชนิดใด และจัดอยู่ในระยะใดของ วงสืบพันธุ์ ทำการบันทึกผล

การวิเคราะห์ข้อมูล

แสดงผลในรูปของค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน น้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์คำนาณจากน้ำหนักอวัยวะ/น้ำหนักตัว ในการเปรียบเทียบค่าข้อมูลของกลุ่มต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุม หรือเปรียบเทียบที่ระยะต่าง ๆ กับระยะก่อนการทดลอง (D_1) โดยใช้สถิติ One-way ANOVA และทดสอบค่าความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยใช้ LSD test ยอมรับค่าความแตกต่างทางสถิติที่ $p<0.05$

ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย

1.1. ผลของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์เพศผู้

1.1.1 ผลต่อน้ำหนักตัวและลักษณะภายนอกที่ปรากฏ

น้ำหนักตัวเมื่อเริ่มทำการทดลอง (D_1) ในหนูเมาส์เพศผู้ทั้ง 4 กลุ่ม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) หนูมีการเติบโตที่เป็นปกติตลอดการทดลอง กินอาหารได้ตามปกติประมาณ 3.5 – 5.0 กรัม/ตัว/วัน ไม่มีอาการขนร่วง หรือเซื่องซึม ภายหลังสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 90 (D_{90}) พบว่าหนูทุกกลุ่มมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงกว่าค่าที่ D_1 แต่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่ม

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SE) น้ำหนักตัวหนูเมื่อเริ่มทำการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต และอัณฑะในหนูเมาส์เพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน * และ ** = $p<0.05$ และ <0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Weight	Administered dose (mg/B.W./day)			
	0	10	100	500
Initial body wt (g)	36.60±1.40	37.60±0.78	38.60±1.21	34.90±0.70
Final body wt (g)	40.70±0.96	39.20±1.50	41.70±1.00	38.60±0.69
Liver(10^{-2})	3.84±0.07	4.67±0.19**	4.47±0.16*	3.86±0.20
Kidney(10^{-2})	1.72±0.06	1.82±0.10	1.70±0.04	1.49±0.04*
Testis(10^{-2})	0.76±0.04	0.67±0.02	0.70±0.02	0.64±0.03*

1.1.2 ผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสมและอวัยวะสืบพันธุ์

เมื่อให้กวาวเครือแดงในขนาด 10 และ 100 มก./กก./วัน แก่หนูเมาส์เพศผู้นาน 90 วัน พบว่ามีผลเพิ่มน้ำหนักตับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$ และ $p< 0.05$ ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (ตารางที่ 1) เมื่อให้กวาวเครือแดงในขนาด 500 มก./กก./วัน ให้แก่หนูเมาส์เพศผู้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตับ แต่มีผลลดน้ำหนักไตและอัณฑะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

1.1.3 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

ผลของกวาวเครือแดงต่อค่าทางโลหิตวิทยา สัมพันธ์กับผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสมนั่นคือ กวาวเครือแดงที่ขนาด 10 มก./กก/วัน เพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิว และกวาวเครือแดงที่ขนาด 100 มก./กก/วัน (ตารางที่ 2) เพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) แต่ในขณะเดียวกันกลับพบว่ากวาวเครือแดงที่ขนาด 10 และ 100 มก./กก./วัน มีผลไปลดปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟซัยต์ และ แบโซฟิล ($p<0.05$)

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SE) เปอร์เซนต์ฮีมาโตรคริต (%Hct), เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิว (N), ลิมโฟซัยต์ (L), อีโอซิโนฟิล (Eo), แบโซฟิล (Ba) และ โมโนซัยต์ (Mo) ระดับครีเอตินิน คลอเลสเตอรอล aspatate animotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) ในหนูเมาส์เพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน

* และ ** = $p<0.05$ และ <0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Parameter	Administered dose (mg /b.w./day)			
	0	10	100	500
% Hct	50.00±0.96	48.50±1.34	49.90±1.39	47.11±0.64
% Differential				
N	22.40±2.08	32.89±2.88**	28.40±1.89	17.63±1.34
L	76.60±1.98	66.44±2.81*	67.10±2.03*	82.30±1.37
Eo	0.80±0.26	0.67±0.45	0	0
Ba	0.20±0.14	0*	0*	0*
Mo	0	0	4.56±0.91**	0.13±0.11
Creatinine(mg/dL)	0.46±0.03	0.57±0.04	0.37±0.06	0.22±0.03**
Cholesterol(mg/dL)	134.60±6.67	130.60±13.69	118.10±10.47	-
AST(mg/dL)	914.10±110.59	680.00±125.55	625.10±120.30	240.22±37.99**
ALT(mg/dL)	122.40±22.25	99.30±10.52	105.70±11.39	30.88±2.98**

1.1.4 ผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือด

พบว่าเฉพาะกวาวเครือแดงในขนาด 500 มก./กก./วันเท่านั้นที่ไปมีผลไปลดระดับ creatinine, AST และ ALT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น ($p<0.01$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2. ผลของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์เพศเมีย

1.2.1 ผลต่อน้ำหนักตัวและลักษณะภายนอกที่ปรากฏ

น้ำหนักตัวเริ่มต้นที่ D_1 ในหนูเมาส์เพศเมียทั้ง 4 กลุ่ม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 3) หนูมีการเจริญเติบโตที่เป็นปกติตลอดการทดลองไม่มีอาการขนร่วงหรือเซื่องซึม กินอาหารได้ตามปกติ ประมาณ 3.0 - 5.5 กรัม/ตัว/วัน ภายหลังสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 90 (D_{90}) พบว่าหนูทุกตัวมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงกว่าค่าที่ D_1 ในหนูเพศเมียที่ได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 100 มก./กก./วัน พบว่าที่ D_{90} หนูมีน้ำหนักตัวสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SE) น้ำหนักตัวหนูเมื่อเริ่มทำการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต และรังไข่ในหนูเมาส์เพศเมียเมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน * และ ** = $p<0.05$ และ <0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Weight	Administered dose (mg /b.w./day)			
	0	10	100	500
Initial body wt (g)	29.50±0.34	29.60±0.31	30.90±0.38	29.90±0.74
Final body wt (g)	30.00±0.61	31.60±0.54	34.90±1.00**	32.10±0.90
Liver(10^{-2})	4.43±0.19	4.47±0.22	4.20±0.24	4.28±0.15
Kidney(10^{-2})	1.50±0.19	1.39±0.06	1.22±0.03	1.40±0.09
Uterus and ovary(10^{-2})	0.78±0.06	0.87±0.11	0.51±0.05*	0.71±0.04

1.2.2 ผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสมและอวัยวะสืบพันธุ์

กวาวเครือแดงที่ขนาดต่าง ๆ ไม่มีผลต่อน้ำหนักตับและไต และพบว่าเฉพาะในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 100 มก./กก./วัน เท่านั้น ที่มีน้ำหนักมดลูกและรังไข่ ต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุม ($p<0.05$) (ตารางที่ 3)

1.2.3 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

ผลของกวาวเครือแดงต่อค่าทางโลหิตวิทยาในหนูเมาส์เพศเมียแตกต่างไปจากหนูเพศผู้ โดยกวาวเครือแดงที่ขนาดต่าง ๆ ไม่มีผลต่อค่า % ฮีมาโตคริต, เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล ลิมโฟซัยต์ อีโอซิโนฟิล แบโซฟิล และโมโนซัยต์ ยกเว้นกวาวเครือแดงที่ขนาด 500 มก./กก./วัน ที่มีผลไปลดจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟซัยต์ ($p<0.05$) และเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนซัยต์ ($p<0.01$) ในขณะที่กวาวเครือแดงในขนาด 100 มก./กก./วัน มีผลไปเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาวชนิดแบโซฟิล ($p<0.01$) (ตารางที่ 4)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 แสดงค่า (mean ± SE) เปอร์เซนต์ฮีมาโตรคริต (%Hct), เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิว (N), ลิมโฟซัยต์ (L), อีโอซิโนฟิล (Eo), แบโซฟิล (Ba) และ โมโนซัยต์ (Mo) ระดับครีเอตินิน คลอเลสเตอรอล aspatate animotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) ในหนูเมาส์เพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน

* และ ** = $p<0.05$ และ <0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Parameter	Administered dose (mg /b.w./day)			
	0	10	100	500
% Hct	51.22±0.75	50.70±0.94	49.14±1.81	49.50±1.41
% Differential				
N	23.85±2.09	21.50±2.21	27.77±3.46	27.66±2.29
L	74.71±2.25	77.60±2.12	68.11±3.91	64.66±2.06*
Eo	1.14±0.50	0.90±0.27	1.88±0.82	2.33±0.76
Ba	0	0	1.11±0.38**	0
Mo	0	0	0	5.33±1.11**
Creatinine(mg/dL)	0.56±0.03	0.67±0.09	0.66±0.03	0.90±0.32
Cholesterol(mg/dL)	99.66±7.95	105.10±19.45	171.80±70.76	107.90±8.80
AST(mg/dL)	707.22±92.58	736.40±71.14	805.00±60.69	750.88±57.71
ALT(mg/dL)	103.55±23.38	96.70±12.53	99.00±10.25	95.13±5.91

1.2.4 ผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือด

กวาวเครือแดงที่ขนาดต่าง ๆ ไม่มีผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือดในหนูเมาส์เพศเมีย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดลองที่ 2 การผลของกวาวเครือแดงต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย

2.1 ผลของกวาวเครือแดงต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้

2.1.1 ผลต่ออวัยวะสืบพันธุ์

Epididymis

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักอีพิดิไดมิสสัมพัทธ์ระหว่างระยะทดลอง และระยะหลังทดลองในหนูกลุ่มต่าง ๆ พบว่าน้ำหนักอีพิดิไดมิสสัมพัทธ์ในระยะหลังทดลองมีค่าสูงกว่าระยะทดลองในหนูทุกกลุ่ม (ตารางที่ 5) ยกเว้นในหนูกลุ่ม TP ที่น้ำหนักอีพิดิไดมิสสัมพัทธ์ในระยะหลังทดลองมีค่าต่ำกว่าระยะทดลอง ไม่พบความแตกต่างของน้ำหนักอีพิดิไดมิสสัมพัทธ์ระหว่างหนูกลุ่มควบคุม และหนูที่ได้รับกวาวเครือแดงทั้ง 3 กลุ่ม ทั้งในระยะทดลองและหลังทดลอง ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับ TP มีค่า อีพิดิไดมิสสัมพัทธ์สูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระยะทดลอง ($p<0.01$) และมีแนวโน้มสูงกว่าในระยะหลังทดลอง ($p>0.05$)

เมื่อศึกษาลักษณะทางจุลภายวิภาค พบว่าหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงภายหลังจากตัดอัณฑะ (รูปที่ 1 A, B และ 2) ไม่มีลักษณะของเซลล์ชนิด stereocilia ที่บุท่ออีพิดิไดมิส และไม่พบสเปิร์ม ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับ TP เซลล์บุท่ออีพิดิไดมิสมีลักษณะของ psuedostratified และทรงกระบอกสูง (tall columnar cells) และมี stereocilia ที่ยาว ไม่พบความแตกต่างกันของลักษณะทางจุลกายวิภาคระหว่างระยะทดลองและหลังทดลองในหนูทุกกลุ่ม แต่ในหนูกลุ่ม TP พบว่าลักษณะ stercocilia ลดลงในระยะหลังทดลอง (รูปที่ 2; Post-treatment period, TP)

Seminal Vesicle

การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเซมินัล เวสสิเคิลสัมพัทธ์ คล้ายคลึงกับการเปลี่ยนของน้ำหนักอีพิดิไดมิสสัมพัทธ์ นั่นคือ ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาดต่าง ๆ ไม่พบความแตกต่างของน้ำหนักเซมินัส เวสสิเคิลสัมพัทธ์ระหว่างระยะทดลอง และระยะหลังทดลอง (ตารางที่ 5) และไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มในทั้ง 2 ระยะการทดลอง แต่หนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบว่า น้ำหนักเซมินัล เวสสิเคิลสัมพัทธ์ในระยะทดลองสูงกว่าระยะหลังทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และค่าน้ำหนักสัมพัทธ์ในทั้ง 2 ระยะของหนูกลุ่ม TP สูงกว่าหนูกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน ($p<0.01$)

เมื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาค พบว่าหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงภายหลังจากตัดอัณฑะ มีการพับงอของเซลล์บุท่อที่ลดลง (decreasing of epithelial folding pattern) ไม่พบ seminal vesicle secretion (รูปที่ 1 C, D และ 3) ในขณะที่หนูกลุ่ม TP พบว่ามีการพบงอของท่อบุเซลล์จำนวนมาก (folding pattern of tubular gland) ทั้งชนิด primary, secondary และ tertiary และพบว่า seminal vesicle secretion จำนวนมาก (รูปที่ 3; Treatment period) ไม่พบความแตกต่างกันของลักษณะทางจุลกายวิภาคระหว่างระยะทดลองและระยะหลังทดลอง ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาดต่าง ๆ แต่ในหนูกลุ่ม TP พบว่าลักษณะ folding pattern ลดลงในระยะหลังทดลอง (รูปที่ 3; Post-treatment period; TP)

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SE) น้ำหนักสัมพัทธ์ของ epididymis และ seminal vesicle ในหนูแรทเพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงในขนาด 0, 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน และ testosterone propionate ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน

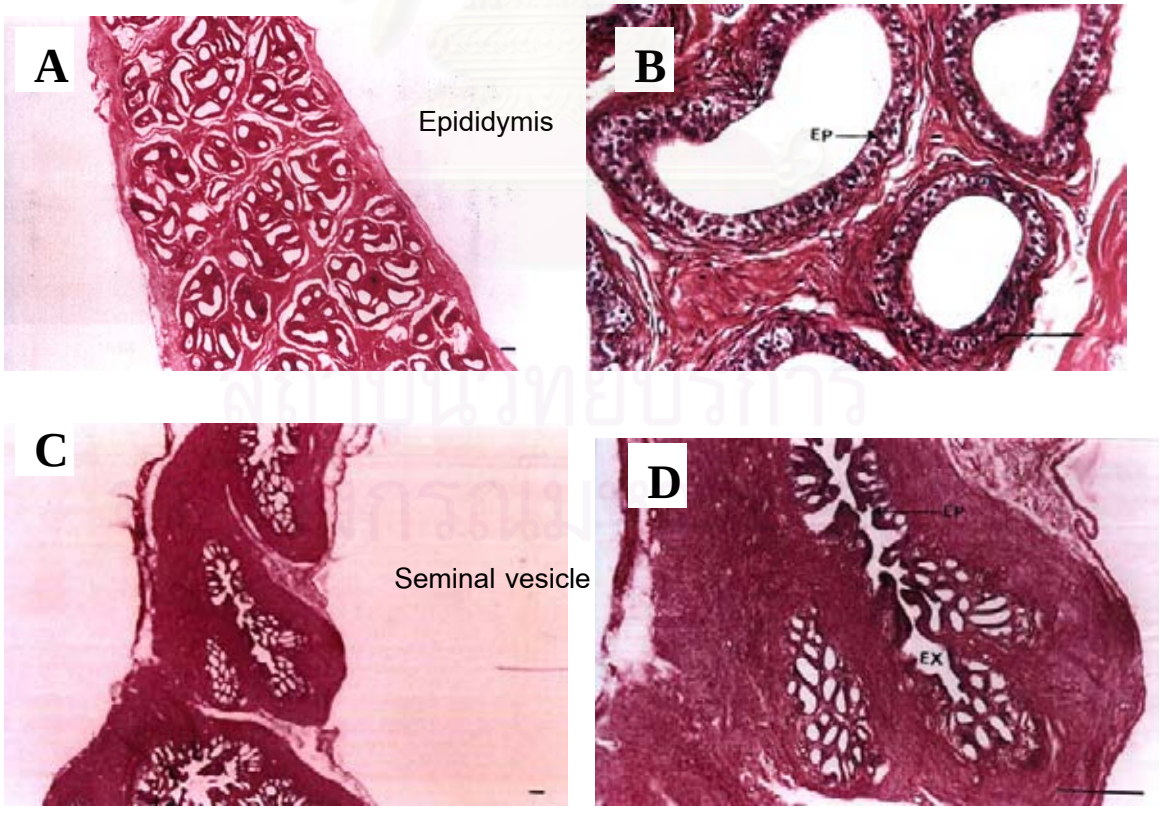
Treatment	Eididymis weight		Seminal vesicle weight	
	Treatment($X10^{-4}$)	Post-treatment($X10^{-4}$)	Treatment ($X10^{-4}$)	Post-treatment ($X10^{-4}$)
DW	3.29±0.01	4.08±0.21*	2.63±0.32	2.12±0.15
10-BS	$2.56±0.11^{b2}$	4.20±0.43*	$2.63±0.55^{b2}$	$2.57±0.28^{b2}$
50-BS	$2.64±0.11^{b2}$	5.40±0.65*	$2.64±0.11^{b2}$	$2.35±0.17^{b2}$
250-BS	$2.77±0.56^{b2}$	4.09±0.68*	$2.79±0.17^{b2}$	$2.00±0.13^{b2}$
TP	$9.20±0.49^{a2}$	6.86±0.51**	$84.60±5.28^{a2}$	$44.39±11.35^{**,a2}$

*,** = P<0.05 and P<0.01 compared to the end of treatment period

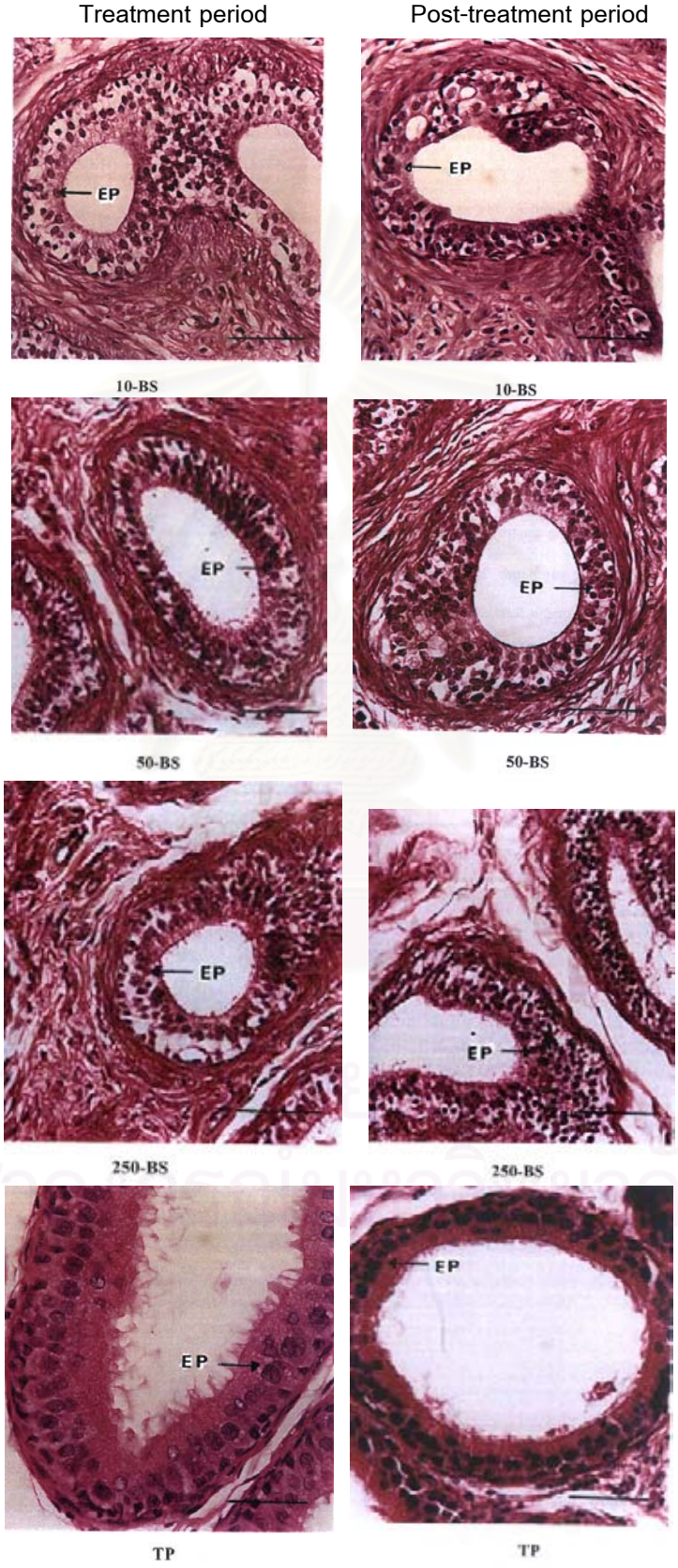
^{a2} = P<0.01 compared to DW group

^{b2} = P<0.01 compared to TP group

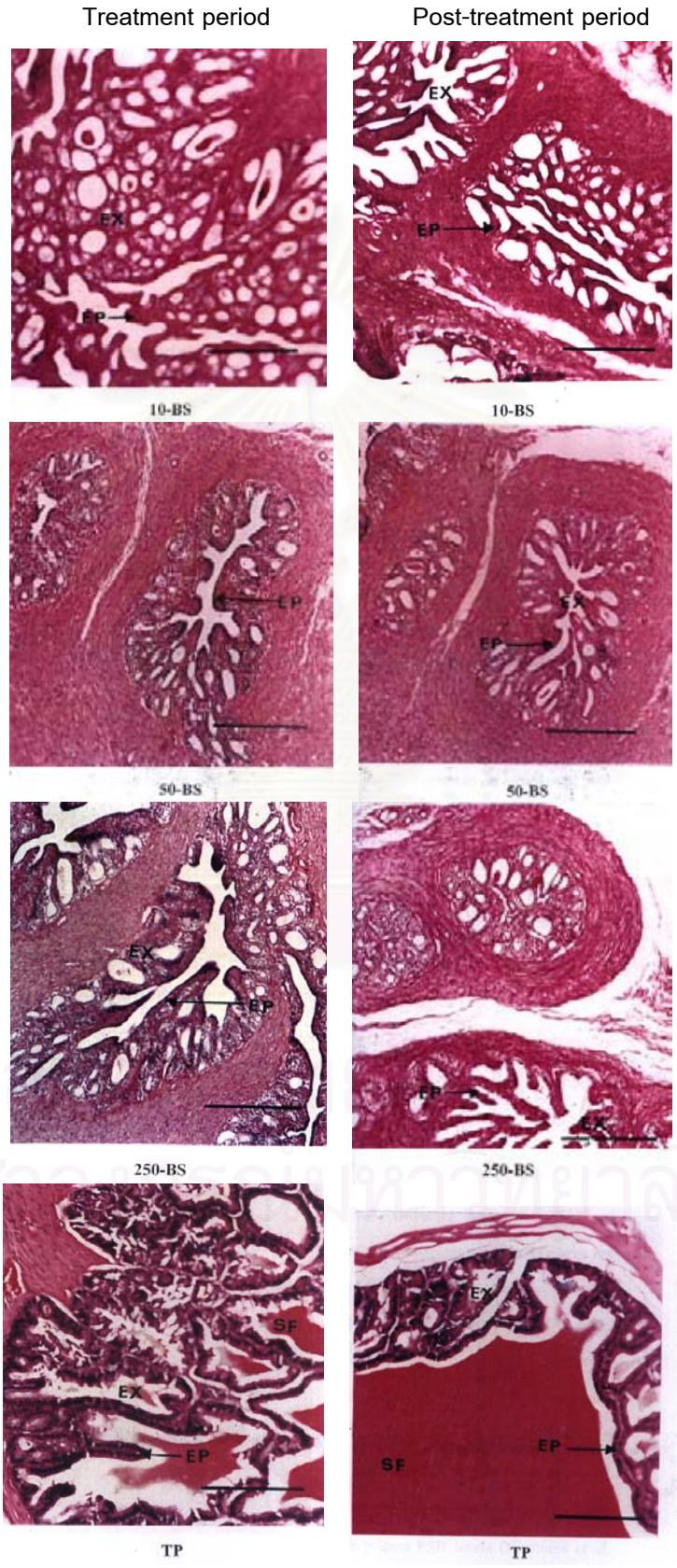
รูปที่ 1 แสดงลักษณะอีพิดิไดมิส (A, B) และ seminal vesicle (C, D) ของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะภายหลังจากที่หนูได้รับน้ำกลั่น (DW) เป็นเวลานาน 30 วัน (scale bars = 50 μm) EP = epithelium กำลังขยาย A, C = x40 กำลังขยาย B, D = x100



รูปที่ 2 แสดงลักษณะอีพิดิไดมิสของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะ ภายหลังจากได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน (10-BS, 50-BS และ 250-BS) และ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน (Treatment period) และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารดังกล่าวนาน 14 วัน (Post-treatment period)



รูปที่ 3 แสดงลักษณะ seminal vesicle ของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะ ภายหลังจากได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน (10-BS, 50-BS และ 250-BS) และ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 ก./วัน นาน 30 วัน (Treatment period) และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารนาน 14 วัน (Post-treatment period)



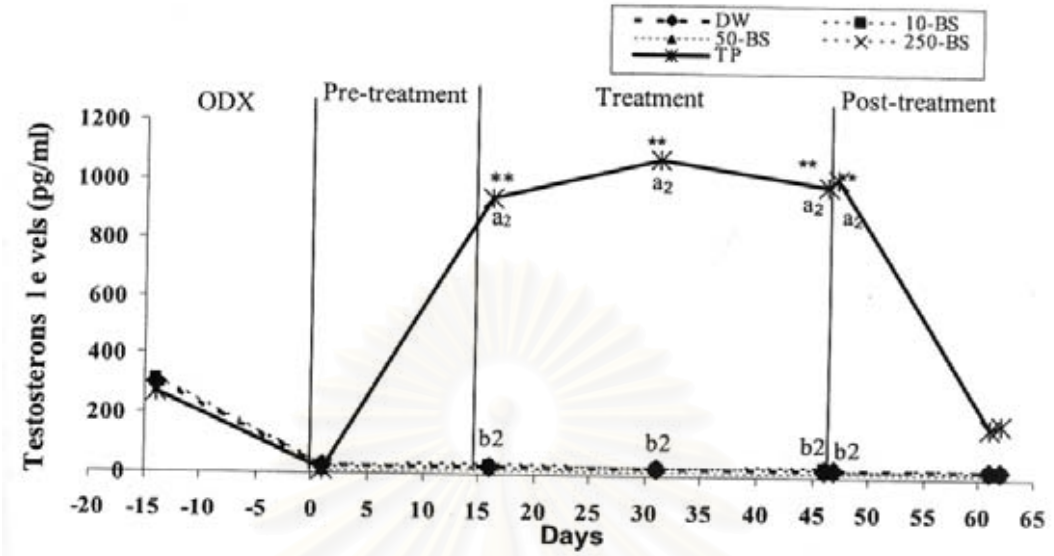
2.1.2 ผลต่อปริมาณฮอร์โมน LH, FSH และ testosterone ในซีรัม

เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน testosterone ระหว่างก่อนตัดอัณฑะ (D_{-14}) และภายหลังจากตัดอัณฑะนาน 14 วัน (D_1) พบว่ามีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม (286.11 ± 56.93 pg/ml ใน D_{-14} และ 17.72 ± 2.07 pg/ml ใน D_1) (รูปที่ 4) และเมื่อเปรียบเทียบระยะก่อนทดลอง (D_1) กับระยะทดลอง ($D_{16} – D_{46}$) และระยะหลังทดลอง ($D_{47} – D_{61}$) พบว่าไม่แตกต่างกันในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดง และไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มด้วย แต่ในหนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบว่าระดับฮอร์โมน testosterone สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใน $D_{16} – D_{47}$ (วันแรกของระยะหลังทดลอง) เมื่อเปรียบเทียบกับ D_1 และค่าดังกล่าวก็สูงกว่ากลุ่มควบคุมด้วย ($p<0.01$)

ภายหลังจากตัดอัณฑะพบว่าระดับฮอร์โมน FSH ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (5.28 ± 0.32 ng/ml ที่ D_{-14} และ 26.41 ± 2.88 ng/ml ที่ D_1 $p<0.01$) (รูปที่ 5) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะก่อนทดลอง (D_1) กับระยะทดลอง ($D_{16} – D_{46}$) และระยะหลังทดลอง ($D_{47} – D_{61}$) พบว่าระดับฮอร์โมน FSH เพิ่มสูงขึ้นตลอดการทดลองในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดง และหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงมีระดับฮอร์โมน FSH ที่มีแนวโน้มต่ำกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบว่าระดับฮอร์โมน FSH ในระยะทดลอง ($D_{16} – D_{46}$) ลดต่ำลงกว่า D_1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและค่าดังกล่าวก็ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมด้วย

ภายหลังจากตัดอัณฑะพบว่าระดับฮอร์โมน LH ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ (0.66 ± 0.16 ng/ml ที่ D_{-14} และ 21.38 ± 3.28 ng/ml ที่ D_1, $p<0.05$ และ 0.01) (รูปที่ 6) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะก่อนการทดลอง (D_1) กับระยะทดลอง ($D_{16} – D_{46}$) และระยะหลังทดลอง ($D_{47} – D_{61}$) พบว่าระดับฮอร์โมน LH สูงขึ้นตลอดการทดลองในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาด 10 มก. ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาด 50 มก. และ 250 มก. พบว่าระดับฮอร์โมน LH ในระยะทดลองและระยะหลังทดลอง ($D_{16} – D_{61}$) ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับระยะก่อนการทดลอง (D_1) และมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ $p<0.01$) ในช่วงเวลาดังกล่าว สำหรับหนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบว่าระดับ LH ในระยะทดลอง ($D_{16} – D_{46}$) และวันแรกของระยหลังทดลอง (D_{47}) ลดต่ำกว่าระยะก่อนการทดลอง (D_1) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และในวันที่ 61 ระดับฮอร์โมนจะสูงกลับคืนและไม่แตกต่างจากระยะก่อนการทดลอง และในช่วงเวลา $D_{16} – D_{47}$ ระดับฮอร์โมน LH ในหนูกลุ่ม TP มีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ $p<0.01$)

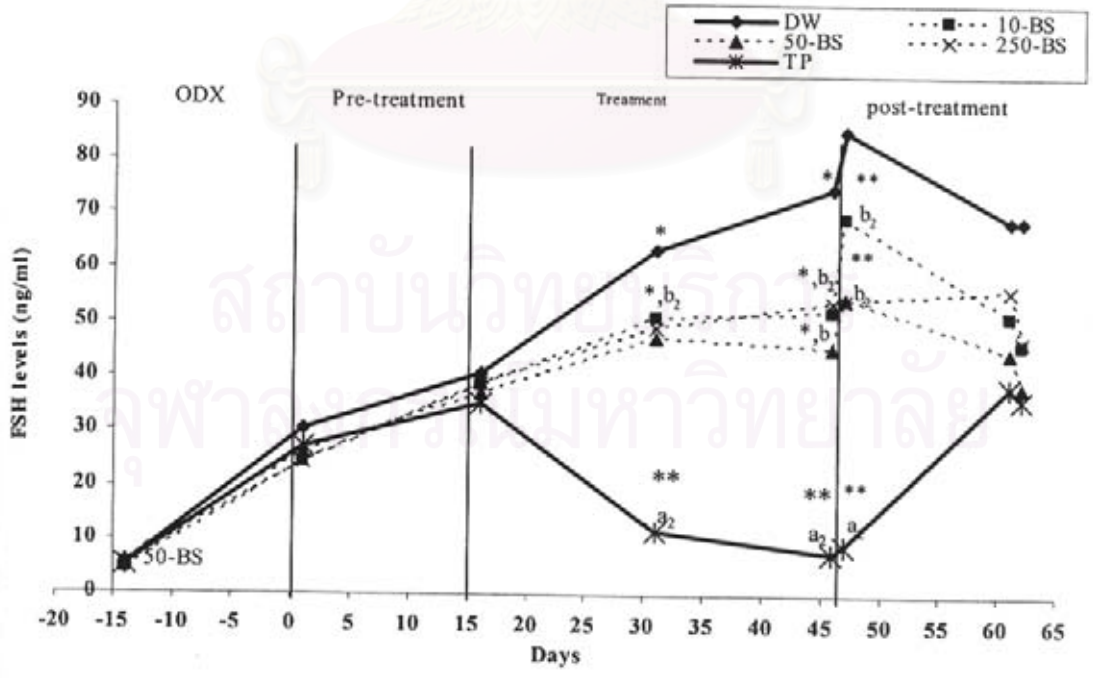
รูปที่ 4 แสดงระดับฮอร์โมน testosterone ในซีรัมของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



** = p<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับระยะก่อนการทดลอง (D_1)

a_2 = p<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม, b_2 = p<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม TP

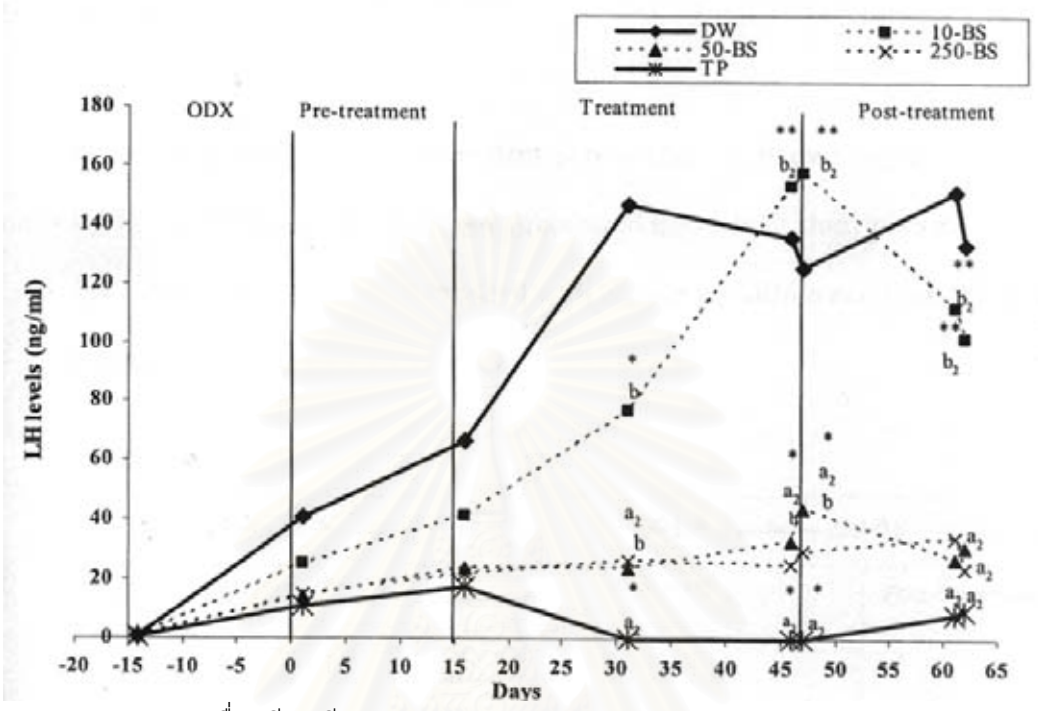
รูปที่ 5 แสดงระดับฮอร์โมน follicle stimulating hormone ในซีรัมของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



*, ** = p<0.05 และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับระยะก่อนการทดลอง (D_1)

a_2 = p<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม, b_2 = p<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม TP

รูปที่ 6 แสดงระดับฮอร์โมน luteinizing hormone ในซีรัมของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



*, ** = $p<0.05$ และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับระยะก่อนการทดลอง (D_1)

a_2 = $p<0.01$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม, b, b_2 = $p<0.05$ และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม TP

2.2 ผลของกวาวเครือแดงต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศเมีย

2.2.1 ผลต่ออวัยวะสืบพันธุ์

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ระหว่างระยะทดลองและระยะหลังทดลองในหนูกลุ่มต่าง ๆ พบว่าไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 6) ยกเว้นในหนูกลุ่มที่ฉีด testosterone propionate พบว่าน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ในระยะทดลองสูงว่าระยะหลังทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ระหว่างหนูกลุ่มต่าง ๆ ในระยะทดลองและระยะหลังทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างหนูที่ได้รับกวาวเครือแดงในขนาดต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุม แต่หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 250 มก. มีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่พบว่าน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ของหนูกลุ่มที่ได้รับ TP มีค่าสูงกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงและกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ทั้งในระยะทดลอง และระยะหลังทดลอง

เมื่อศึกษาลักษณะทางจุลภายวิภาค พบว่ามดลูกในระยะทดลองของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 10 มก. มี endometrial mucosa layer บางลง เซลล์มีรูปร่างแบบ cuboidal ที่ไม่สูงมาก จำนวนและขนาดของ uterine gland ก็ลดลงด้วย (รูปที่ 7 และ 8-treatment period-10-BS) แต่พบว่ามดลูกหนูที่ได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 50 และ 250 มก. มดลูกหนากว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดง 10 มก. (รูปที่ 8; Treatment period; 10-BS, 50-BS และ 250-BS) ในขณะที่จำนวนและ

ขนาดของ uterine gland ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดง 50 มก. ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม แต่กลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 250 มก. พบว่ามีค่าสูงกว่า มดลูกในหนูกลุ่มที่ได้รับ TP มีขนาดใหญ่กว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดง และเซลล์ที่บุภายในท่อมดลูก (epithelial cell lining) เพิ่มขึ้น ทำให้เห็นรอบพับภายในท่อมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบจำนวนและขนาดของ uterine gland ที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 8; Treatment period)

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางจุลกายวิภาค ระหว่างระยะทดลองและระยะหลังทดลองของมดลูกหนูทุกกลุ่มพบว่าไม่แตกต่างกัน ยกเว้นหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาด 250 มก. และกลุ่มที่ได้รับ TP ที่มดลูกมีขนาด (เส้นผ่านศูนย์กลาง) ลดลงในระยะหลังทดลองเมื่อเทียบกับระยะทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่ม TP เซลล์บุมดลูกมีจำนวนลดลง ทำให้เห็นรอยพับลดลง (รูปที่ 8; Post-treatment period)

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SE) น้ำหนักสัมพัทธ์ของมดลูกในหนูแรทเพศเมียเมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงในขนาด 0, 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน และ testosterone propionate ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน

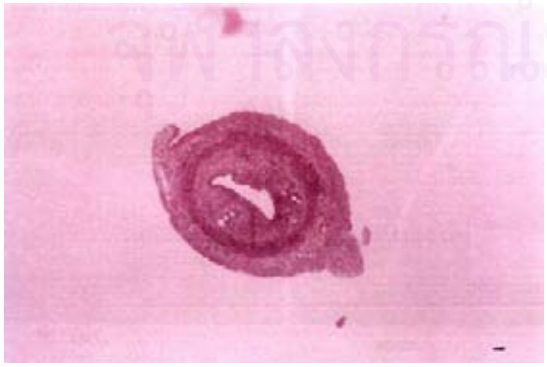
Treatment	Treatment ($X10^{-4}$)	Post-treatment ($X10^{-4}$)
DW	3.34±0.09	3.27±0.64
10-BS	3.19 ± 0.11^{b2}	3.04 ± 0.34^{b2}
50-BS	3.16 ± 0.19^{b2}	2.73 ± 0.23^{b2}
250-BS	3.71 ± 0.32^{b2}	2.93 ± 0.43^{b2}
TP	18.32 ± 0.82^{a2}	$9.68\pm1.70^{a2,**}$

** = P<0.01 compared to the end of treatment period

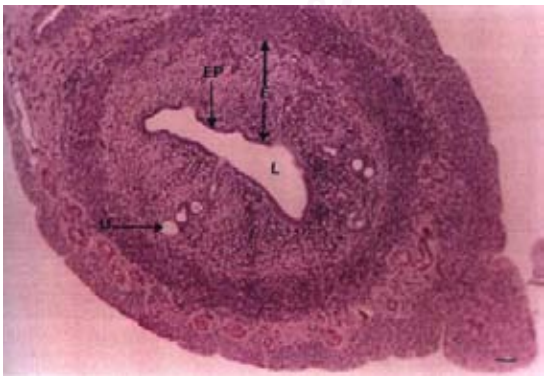
^{a2} = P<0.01 compared to DW group

^{b2} = P<0.01 compared to TP group

รูปที่ 7 แสดงลักษณะมดลูกของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ภายหลังจากที่หนูได้รับน้ำกลั่น (DW) เป็นเวลานาน 30 วัน EP = epithelial cell, E = endometrium, L = uterine lumen, U = uterine gland

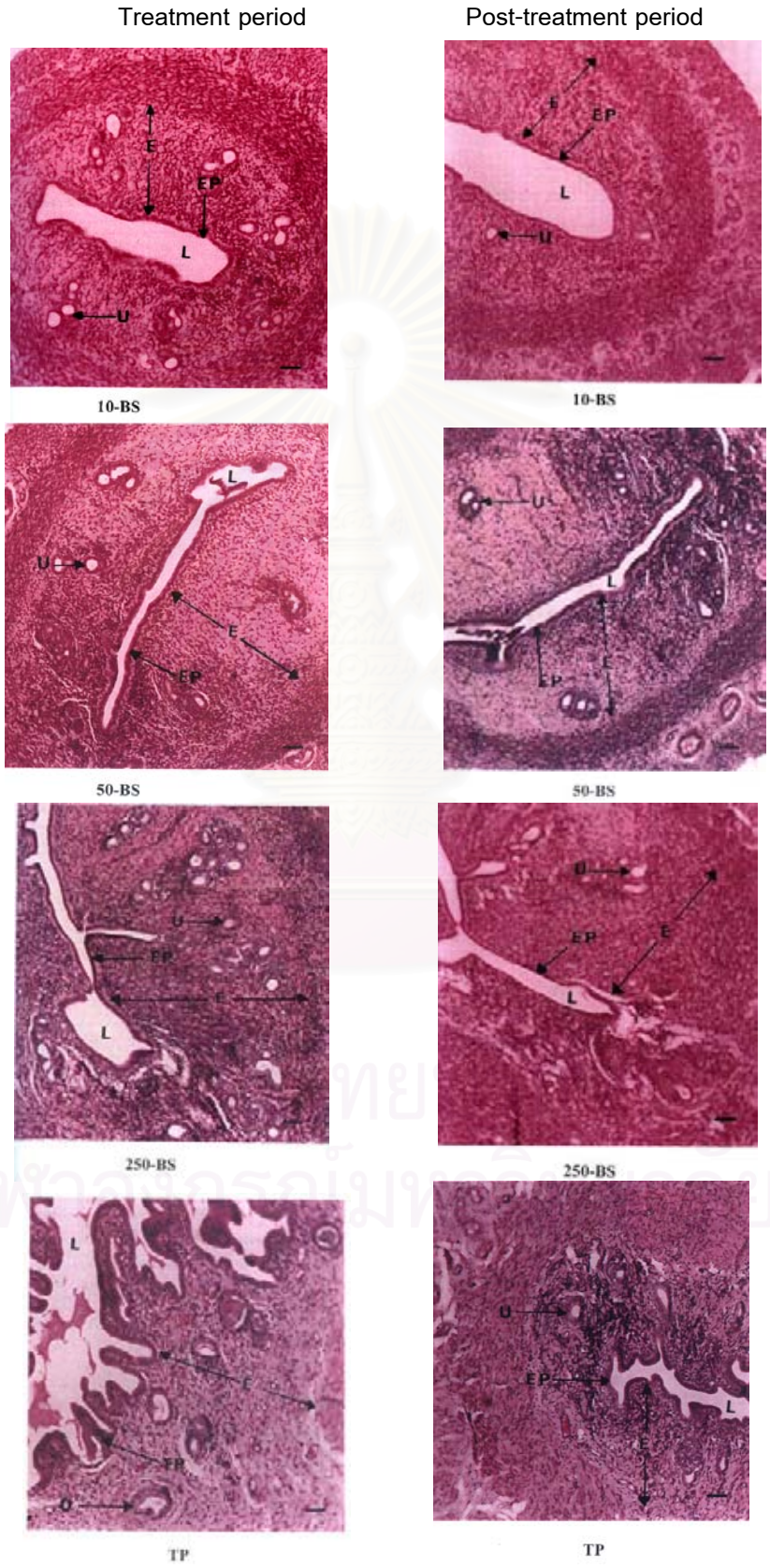


กำลังขยาย x40



กำลังขยาย x100

รูปที่ 8 แสดงลักษณะมดลูกของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ภายหลังจากได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน (10-BS, 50-BS และ 250-BS) และ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน (Treatment period) และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารดังกล่าวนาน 14 วัน (Post-treatment period)



2.2.2 ผลต่อปริมาณฮอร์โมน LH, FSH และ E_2ในซีรัม

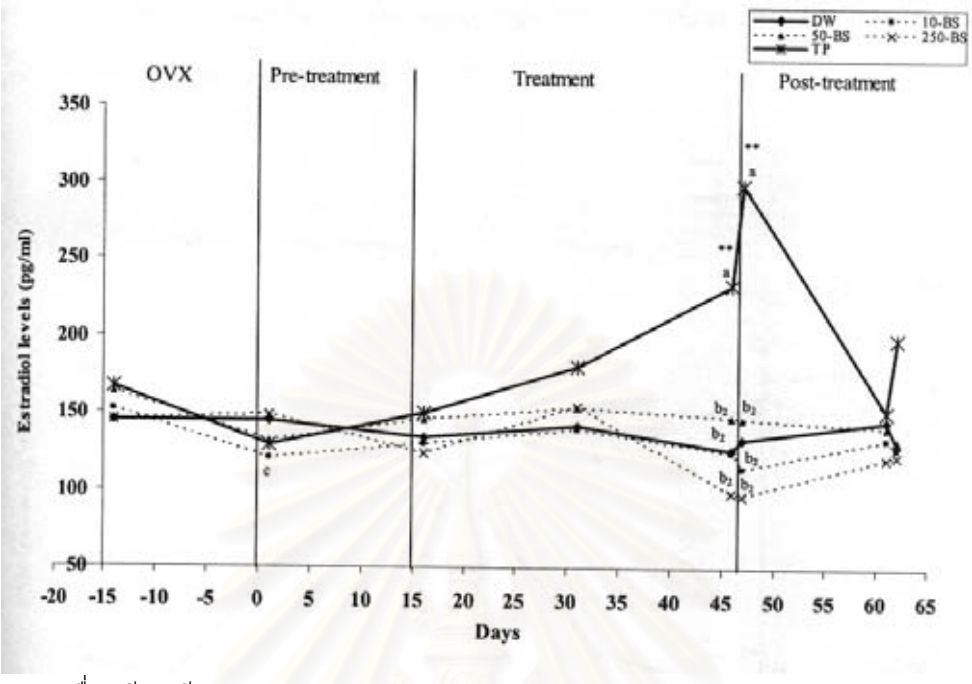
เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน E_2 ระหว่างก่อนการตัดรังไข่ (D_{-14}) เมื่อหนูเพศเมียอยู่ในระยะ diestrus และภายหลังจากตัดรังไข่นาน 14 วัน (D_1) พบว่าไม่แตกต่างกัน ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม (รูปที่ 9) และเมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน E_2 ในระยะก่อนทดลอง (D_1) กับระยะทดลอง ($D_{16} - D_{46}$) และระยะหลังทดลอง ($D_{47} - D_{61}$) ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม ไม่พบความแตกต่างของระดับฮอร์โมนในหนูกลุ่มควบคุมและหนูที่ได้รับกวาวเครือแดง และระดับฮอร์โมน E_2 ดังกล่าวที่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่ม แต่พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับ TP ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนเพิ่มสูงในวันสุดท้ายของระยะทดลอง (D_{46}) และวันแรกของระยะหลังทดลอง (D_{47}) และมีค่าสูงกว่าระยะก่อนทดลอง (D_1) ระดับฮอร์โมน E_2 ในหนูกลุ่ม TP ในช่วงระยะเวลา D_{46-47} มีค่าสูงกว่าหนูกลุ่มอื่น ๆ ด้วยเช่นกัน

เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน FSH ระหว่างก่อนตัดรังไข่ (D_{-14}) และภายหลังจากตัดรังไข่นาน 14 วัน (D_1) พบว่าระดับฮอร์โมน FSH มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหนูทั้ง 5 กลุ่ม (1.77 ± 0.19 ng/ml ที่ D_{-14} และ 20.7 ± 1.53 ng/ml ที่ D_1) (รูปที่ 10) และเมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน FSH ในระยะก่อนทดลอง (D_1) กับระยะทดลอง ($D_{16} - D_{46}$) และระยะหลังทดลอง ($D_{47} - D_{61}$) ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม พบว่าระดับฮอร์โมน FSH ในหนูกลุ่มควบคุมและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดง มีค่าสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องใน $D_{16} - D_{31}$ จากนั้นค่าคงที่ ไม่มีความแตกต่างของระดับฮอร์โมน FSH ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดง แต่อย่างไรก็ตามในหนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบว่าระดับฮอร์โมน FSH เริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (เมื่อเทียบกับ D_1) ในวันที่ 31 (D_{31}) จนถึงวันสุดท้ายของระยะหลังทดลอง (D_{61}) ซึ่งค่า FSH ของหนูกลุ่มที่ได้รับ TP ในระหว่างวันที่ $D_{31} - D_{61}$ ต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)

การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน LH มีรูปแบบที่คล้ายคลึงกับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน FSH นั่นคือ ระดับฮอร์โมน LH มีค่าสูงขึ้นภายหลังจากตัดรังไข่ (D_1) และค่าเริ่มคงที่ใน D_{31} ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดง (รูปที่ 11) แต่ลักษณะที่ต่างไปจากการเปลี่ยนแปลงของระดับ FSH คือ ระดับฮอร์โมน LH ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาด 50 และ 250 มก. มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมใน D_{31} และสูงกว่ากลุ่มควบคุมใน D_{46} และ D_{61} ในหนูที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาด 50 มก. แต่ในทางตรงกันข้ามพบว่าระดับ LH ในหนูกลุ่มที่ได้รับ TP มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่ $D_{31} - D_{61}$ และระดับฮอร์โมน LH ในช่วงดังกล่าวยังต่ำกว่าระยะก่อนการทดลอง (D_1) ด้วย แต่ไม่แตกต่างจากระยะก่อนการตัดรังไข่ (D_{-14})

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

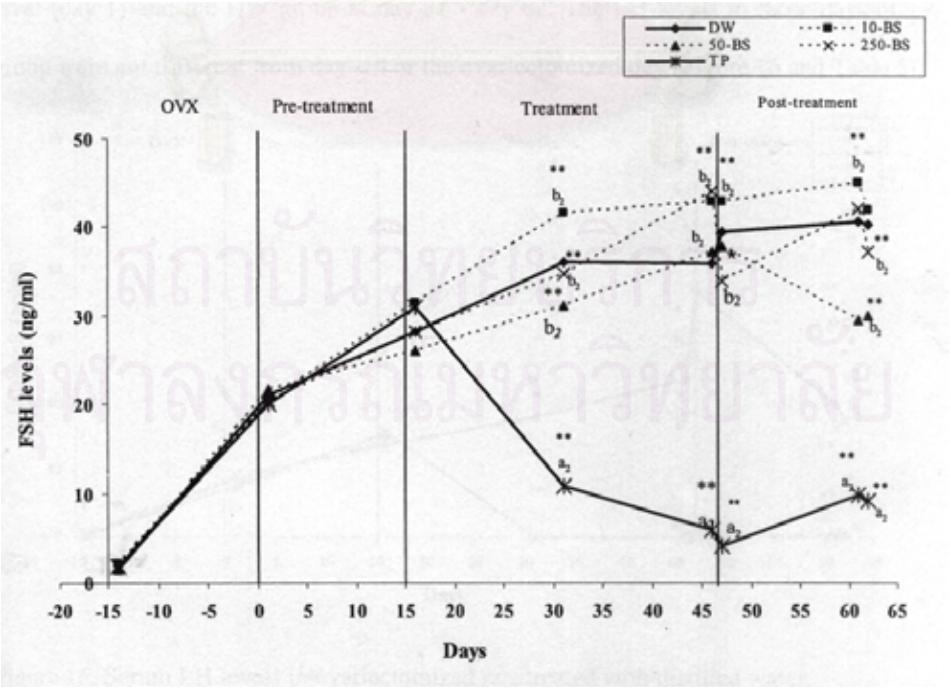
รูปที่ 9 แสดงระดับฮอร์โมน estradiol ในซีรัมของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



** = p< 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับระยะก่อนการทดลอง (D_1)

a = p<0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม, b_2 = p<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม TP

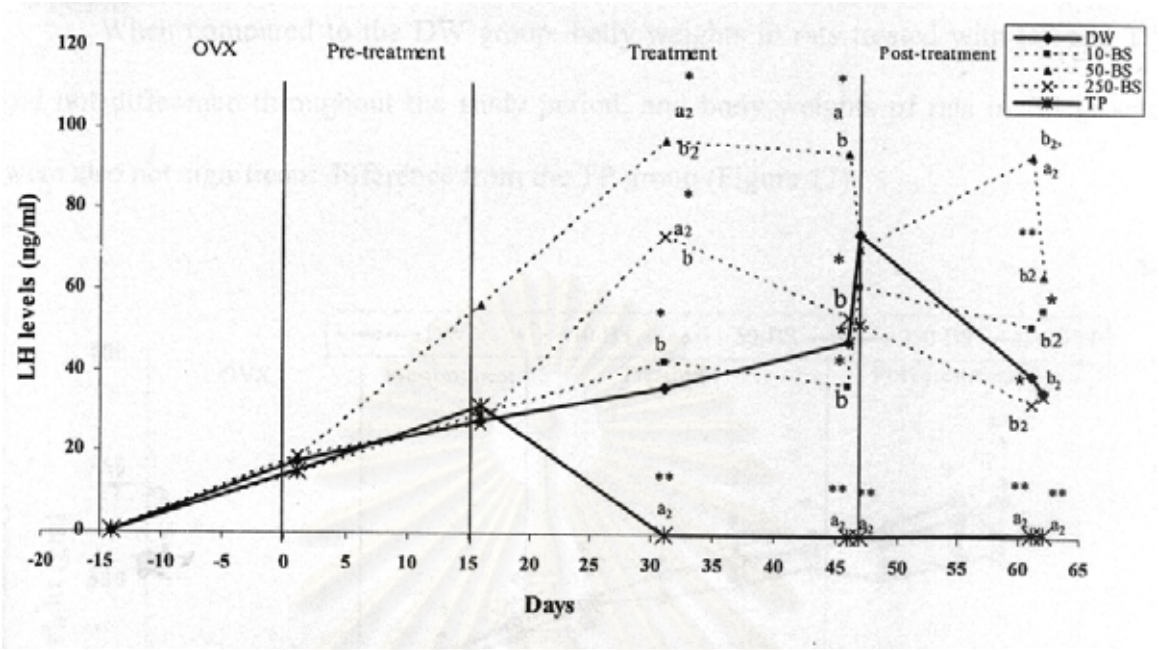
รูปที่ 10 แสดงระดับฮอร์โมน follicle stimulating hormone ในซีรัมของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



*, ** = p<0.05 และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับระยะก่อนการทดลอง (D_1)

a_2 = p<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม, b_2 = p<0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม TP

รูปที่ 11 แสดงระดับฮอร์โมน luteinizing hormone ในซีรัมของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือแดง (BS) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



*, ** = $p<0.05$ และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับระยะก่อนการทดลอง (D_1)

a_1, a_2 = $p<0.05$ และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม, b, b_2 = $p<0.05$ และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม TP

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดลองที่ 3 การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือดำในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย

3.1. ผลของกวาวเครือดำในหนูเมาส์เพศผู้

3.1.1 ผลต่อน้ำหนักตัวและลักษณะภายนอกที่ปรากฏ

น้ำหนักตัว เมื่อเริ่มทำการทดลอง (D_1) ในหนูเมาส์เพศผู้ทั้ง 4 กลุ่ม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 7) หนูมีการเติบโตที่เป็นปกติตลอดการทดลอง กินอาหารได้ตามปกติประมาณ 3.5 – 5.0 กรัม/ตัว/วัน ไม่มีอาการขนร่วง หรือเซื่องซึม ภายหลังสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 90 (D_{90}) พบว่าหนูทุกกลุ่มมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงกว่าค่าที่ D_1 นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักตัวหนูในกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาด 10 มก./กก./วัน มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SE) น้ำหนักตัวหนูเมื่อเริ่มทำการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต และอัณฑะในหนูเมาส์เพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน * และ ** = $p<0.05$ และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Weight	Administered dose (mg /b.w./day)			
	0	10	100	500
Initial body wt (g)	39.00±1.46	35.85±0.41	38.83±1.85	36.00±0.52
Final body wt (g)	41.64±1.06	45.08±0.58*	42.58±1.57	40.08±0.68
Liver(10^{-2})	3.90±0.13	5.57±0.14**	4.43±0.15*	4.80±0.22**
Kidney(10^{-2})	1.78±0.06	1.82±0.06	1.64±0.07	1.62±0.10
Testis(10^{-2})	0.72±0.02	0.58±0.02**	0.65±0.02**	0.65±0.02**

3.1.2 ผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสมและอวัยวะสืบพันธุ์

เมื่อให้กวาวเครือดำในขนาด 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน แก่หนูเมาส์เพศผู้นาน 90 วัน พบว่าไม่มีผลต่อน้ำหนักไต เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 7) แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากวาวเครือดำมีผลเพิ่มน้ำหนักตับโดยไม่สัมพันธ์กับขนาดที่ให้ ไม่พบความแตกต่างระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาด 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน ตามลำดับ ในทางกลับกันพบว่าหนูเพศผู้ที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาดต่าง ๆ มีน้ำหนักอัณฑะลดลง ($p < 0.01$) โดยขนาดที่ลดลงไม่สัมพันธ์กับขนาดของกวาวเครือดำที่ให้

3.1.3 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

ผลของกวาวเครือดำต่อค่าทางโลหิตวิทยา สัมพันธ์กับผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสมนั่นคือ กวาวเครือดำมีผลลดค่า % ฮีมาโตคริต (%Hct) และ เม็ดเลือดขาวชนิดลิวโคซัยต์ (L) และเพิ่มค่านิวโทรฟิล (N) โดยไม่สัมพันธ์กับขนาดที่ให้ (ตารางที่ 8) กวาวเครือดำในขนาด 10 และ 100 มก./กก./วัน

เท่านั้นที่มีผลดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ และ $p < 0.01$) ในขณะที่กวาวเครือดำในขนาด 500 มก./กก./วัน มีแนวโน้มในการลดค่า % ฮีมาโตคริต และลิวโคซัยต์ และเพิ่มค่านิวโทรฟิล แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กวาวเครือดำที่ขนาดต่าง ๆ ไม่มีผลต่อเม็ดเลือดขาวชนิดอีโอซิโนฟิล, แบโซฟิล และ โมโนซัยต์ ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น

ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SE) เปอร์เซนต์ฮีมาโตรคริต (%Hct), เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิว (N), ลิมโฟซัยต์ (L), อีโอซิโนฟิล (Eo), แบโซฟิล (Ba) และ โมโนซัยต์ (Mo) ระดับครีเอตินิน คลอเลสเตอรอล aspatate animotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) ในหนูเมาส์เพศผู้ เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน

* และ ** = $p<0.05$ และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Parameter	Administered dose (mg /b.w./day)			
	0	10	100	500
% Hct	50.75±0.85	45.69±0.66**	46.09±1.05**	48.27±0.95
% Differential				
N	22.40±2.94	36.46±3.10*	47.72±4.61**	32.16±3.06
L	76.60±2.80	63.08±3.02*	52.58±4.54*	67.58±4.54
Eo	0.80±0.37	0	0	0
Ba	0.20±0.20	0	0.08±0.08	0
Mo	0	0.31±0.21	0.17±0.17	0.50±0.33
Creatinine(mg/dL)	0.43±0.33	0.46±0.05	0.49±0.07	0.44±0.09
Cholesterol(mg/dL)	132.15±5.27	151.69±7.72	132.25±9.48	160.50±13.76
AST(mg/dL)	799.46±109.84	786.15±89.76	901.67±100.42	276.82±39.03**
ALT(mg/dL)	110.77±18.02	106.15±6.68	50.18±10.82	50.18±10.83

3.1.4 ผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือด

กวาวเครือดำที่ขนาดต่าง ๆ ไม่มีผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือดของหนูเมาส์เพศผู้ ได้แก่ ค่า creatinine, cholesterol, AST และ ALT โดยพบว่าค่าดังกล่าวไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น ยกเว้นกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาด 500 มก./กก./วัน มีค่า AST ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ดังตารางที่ 8

3.2. ผลของกวาวเครือดำในหนูเมาส์เพศเมีย

3.2.1 ผลต่อน้ำหนักตัวและลักษณะภายนอกที่ปรากฏ

น้ำหนักตัวเริ่มต้นที่ D_1 ในหนูเมาส์เพศเมียทั้ง 4 กลุ่ม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ตารางที่ 9) หนูมีการเจริญเติบโตที่เป็นปกติตลอดการทดลองไม่มีอาการขนร่วงหรือเซื่องซึม กินอาหารได้ตามปกติ ประมาณ 3.5 – 5.0 กรัม/ตัว/วัน ภายหลังสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 90 (D_{90}) พบว่าหนูทุกตัวมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงกว่าค่าที่ D_1 นอกจากนี้น้ำหนักตัวของหนูในกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำขนาด 10 และ 100 มก ที่ D_{90} มีค่าสูงกว่าของกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น (กลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำขนาด 500 มก./กก./วัน ค่ามีแนวโน้มสูงกว่ากลุ่มควบคุม แต่เมื่อทดสอบทางสถิติไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากค่าความแปรปรวนของข้อมูลในกลุ่มนี้ (standard deviation) ค่อนข้างสูง)

ตารางที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SE) น้ำหนักตัวหนูเมื่อเริ่มทำการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และน้ำหนักสัมพัทธ์ของตับ ไต และรังไข่ในหนูเมาส์เพศเมียเมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน * และ ** = $p<0.05$ และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Weight	Administered dose (mg /b.w./day)			
	0	10	100	500
Initial body wt (g)	29.89±0.55	29.78±0.47	30.10±0.61	29.60±0.88
Final body wt (g)	30.21±0.61	32.89±0.82*	34.80±0.73**	33.30±1.42
Liver(10^{-2})	4.40±0.22	4.57±0.13*	4.31±0.16	4.05±0.15
Kidney(10^{-2})	1.33±0.03	1.17±0.02**	1.15±0.04**	1.16±0.03**
Uterus and ovary(10^{-2})	0.82±0.06	0.88±0.12	0.75±0.08	0.42±0.05**

3.2.2 ผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสมและอวัยวะสืบพันธุ์

ผลของกวาวเครือดำต่อน้ำหนักตับและไตในหนูเมาส์เพศเมียแตกต่างไปจากหนูเมาส์เพศผู้ พบว่ากวาวเครือดำในขนาดต่าง ๆ มีผลทำให้น้ำหนักไตลดลง ($p < 0.05$) โดยไม่สัมพันธ์กับขนาดที่ให้ (ตารางที่ 9) และเฉพาะกวาวเครือดำในขนาด 10 มก./กก./วัน เท่านั้นที่มีผลเพิ่มน้ำหนักตับในหนูเพศเมีย

3.2.3 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

ผลของกวาวเครือดำต่อค่าทางโลหิตวิทยาในหนูเมาส์เพศเมียแตกต่างอย่างสิ้นเชิงจากหนูเพศผู้ โดยกวาวเครือดำที่ขนาดต่าง ๆ ไม่มีผลต่อค่า %hematocrit, neutrophil, lymphocyte, eosinophil, basophil และ monocyte ยกเว้นกวาวเครือดำที่ขนาด 100 มก./กก./วัน มีผลเพิ่มจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ย (mean ± SE) เปอร์เซนต์ฮีมาโตรคริต (%Hct), เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิว (N), ลิมโฟซัยต์ (L), อีโอซิโนฟิล (Eo), แบโซฟิล (Ba) และ โมโนซัยต์ (Mo) ระดับครีเอตินิน คลอเลสเตอรอล aspatate animotransferase (AST) และ alanine aminotransferase (ALT) ในหนูเมาส์เพศเมียเมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 0, 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน นาน 90 วัน

* และ ** = $p<0.05$ และ 0.01 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Parameter	Administered dose (mg /b.w./day)			
	0	10	100	500
% Hct	51.73±0.75	52.86±1.06	51.52±1.15	51.00±1.00
% Differential				
N	24.60±1.56	22.00±1.94	28.67±2.85	21.60±2.16
L	74.10±1.69	74.56±2.31	69.11±3.09	77.07±2.06
Eo	1.10±0.28	0.33±0.22	4.57±0.13*	4.31±0.16
Ba	0	0	0	0
Mo	0	3.11±1.30	2.00±0.75	0.80±0.04
Creatinine(mg/dL)	0.59±0.03	0.60±0.06	0.42±0.06*	0.04±0.04*
Cholesterol(mg/dL)	102.46±6.87	125.60±4.10	140.80±8.51**	97.20±14.61
AST(mg/dL)	689.73±76.29	1199.20±131.87	1314.00±185.00**	630.93±115.89
ALT(mg/dL)	99.27±19.20	151.20±13.09*	152.00±15.91**	92.47±8.89

3.2.4 ผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือด

ผลของกวาวเครือดำต่อค่าทางชีวเคมีในเลือดในหนูเพศเมียแตกต่างอย่างสิ้นเชิงจากหนูเพศผู้ เช่นเดียวกันกับค่าทางโลหิตวิทยา โดยพบว่ากวาวเครือดำในขนาด 100 และ 500 มก./กก./วัน มีผลลดระดับ creatinine เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น กวาวเครือดำในขนาด 100 มก./กก./วัน มีผลเพิ่มระดับ choletsterol, AST และ ALT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น นอกจากนี้ยังพบว่าหนูที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาด 10 มก./กก./วัน ก็มีผลเพิ่มระดับ ALT เช่นกัน ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 10)

การทดลองที่ 4 การผลของกวาวเครือดำต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย

4.1 ผลของกวาวเครือดำต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้

4.1.1 ผลต่ออวัยวะสืบพันธุ์

Epididymis

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักอีพิดิไดมิสสัมพัทธ์ระหว่างระยะทดลอง และระยะหลังทดลองในหนูกลุ่มต่าง ๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 11) ยกเว้นหนูกลุ่ม TP ที่น้ำหนักอีพิดิไดมิสสัมพัทธ์ในระยะหลังทดลองมีค่าต่ำกว่าระยะทดลอง ไม่พบความแตกต่างของน้ำหนักอีพิดิไดมิสสัมพัทธ์ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมและหนูที่ได้รับกวาวเครือดำขนาดต่าง ๆ ทั้งในระยะการทดลอง และระยะหลังทดลอง ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับ TP มีค่า อีพิดิไดมิสสัมพัทธ์สูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในระยะทดลองและระยะหลังทดลอง

เมื่อศึกษาลักษณะทางจุลภายวิภาค พบว่าหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำภายหลังจากตัดอัณฑะ ไม่พบสเปร์ม (รูปที่ 12) ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับ TP เซลล์บุท่ออีพิดิไดมิสมีลักษณะของ psuedostratified และทรงกระบอกสูง (tall columnar cells) และมี stereocilia ที่ยาว ไม่พบความแตกต่างกันของลักษณะทางจุลกายวิภาคระหว่างระยะทดลองและหลังทดลองในหนูทุกกลุ่ม แต่ในหนูกลุ่ม TP พบว่าลักษณะ stercocilia ลดลงในระยะหลังทดลอง (รูปที่ 13)

Seminal Vesicle

การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเซมินัล เวสสิเคิลสัมพัทธ์ คล้ายคลึงกับการเปลี่ยนของน้ำหนักอีพิดิไดมิสสัมพัทธ์ นั่นคือ ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำขนาดต่าง ๆ ไม่พบความแตกต่างของน้ำหนักเซมินัส เวสสิเคิลสัมพัทธ์ระหว่างระยะทดลอง และระยะหลังทดลอง และไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มในทั้ง 2 ระยะการทดลอง (ตารางที่ 11) แต่หนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบว่า น้ำหนักเซมินัล เวสสิเคิลสัมพัทธ์ในระยะทดลองสูงกว่าระยะหลังทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และค่าน้ำหนักสัมพัทธ์ในทั้ง 2 ระยะของหนูกลุ่ม TP สูงกว่าหนูกลุ่มอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน ($p<0.01$)

เมื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาค พบว่าหนูกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำภายหลังจากตัดอัณฑะ มีการพับงอของเซลล์บุท่อที่ลดลง (decreasing of epithelial folding pattern) ไม่พบ seminal vesicle secretion เซลล์บุท่อมีรูปร่างเป็น simple cuboidal (รูปที่ 14) ในขณะที่หนูกลุ่ม TP พบว่ามีการพับงอของท่อบุเซลล์จำนวนมาก (folding pattern of tubular gland) ทั้งชนิด primary, secondary และ tertiary และพบ seminal vesicle secretion จำนวนมาก ไม่พบความแตกต่างกันของลักษณะทางจุลกายวิภาคระหว่างระยะทดลองและระยะหลังทดลอง แต่ในหนูกลุ่ม TP พบว่าลักษณะ folding pattern ลดลงในระยะหลังทดลอง (รูปที่ 15)

ตารางที่ 11 แสดงค่า (mean ± SE) น้ำหนักสัมพัทธ์ของ epididymis และ seminal vesicle ในหนูแรทเพศผู้เมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน (1-MC, 10-MC และ 100-MC ตามลำดับ) และ testosterone propionate ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน

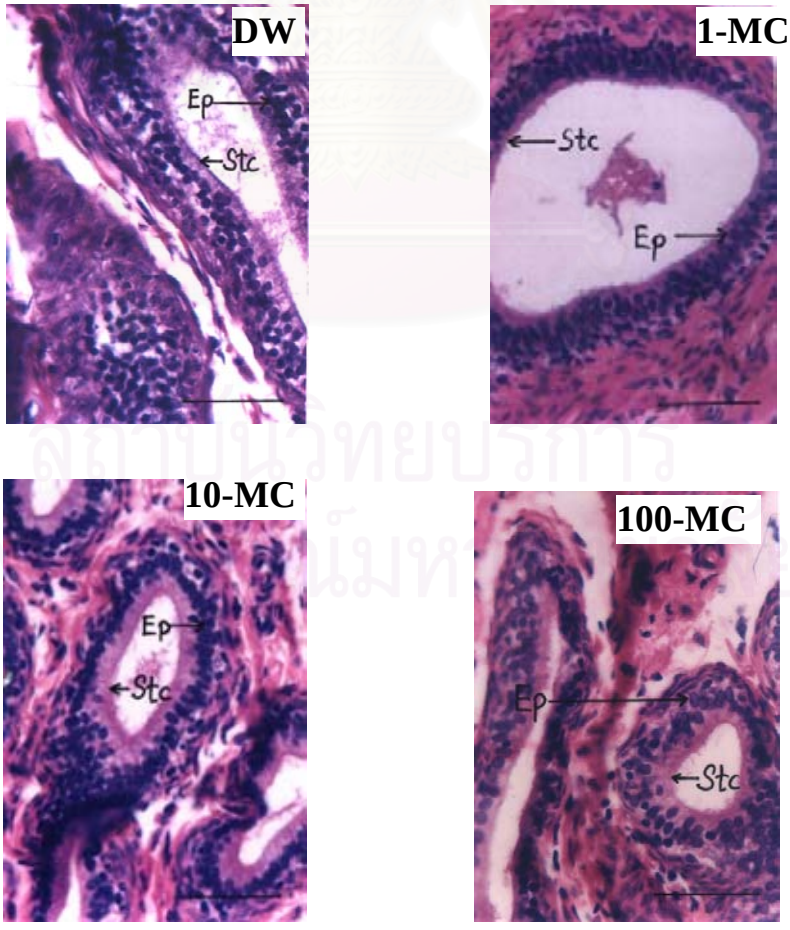
Treatment	Eididymis weight		Seminal vesicle weight	
	Treatment ($X10^{-4}$)	Post-treatment ($X10^{-4}$)	Treatment ($X10^{-4}$)	Post-treatment ($X10^{-4}$)
DW	7.10±0.82	7.90±1.40	2.40±0.20	2.20±0.20
1-MC	6.50±0.90[b]	8.70±0.50[b]	2.10±0.30[b]	2.00±0.20[b]
10-MC	8.20±1.30[b]	8.80±0.50[b]	2.70±0.40[b]	2.00±0.10[b]
100-MC	6.50±0.90[b]	8.30±0.50[b]	2.10±0.20[b]	1.80±0.20[b]
TP	20.70±2.00[a]	15.70±1.50[a]	80.40±3.60[a]	37.90±5.10[*,a]

* = $p<0.05$ เปรียบเทียบระหว่างระยะทดลองและระยะหลังการทดลอง

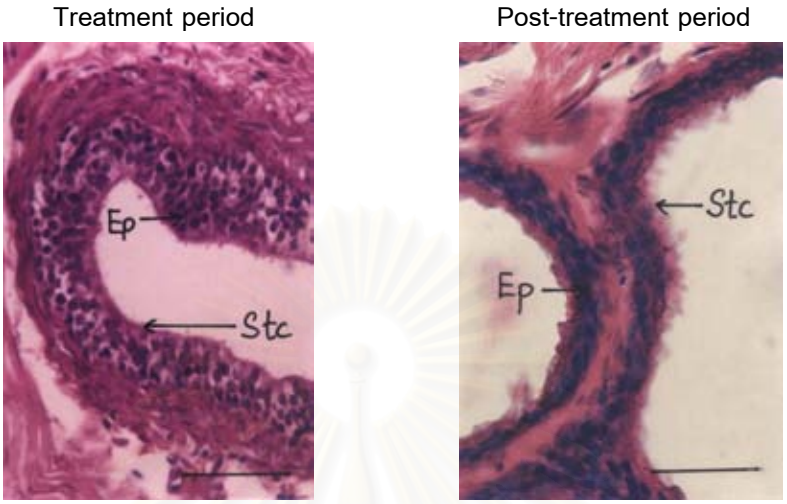
a = $p<0.05$ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำและ TP กับกลุ่มควบคุม

b = $p<0.05$ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำ กับกลุ่มที่ได้รับ TP

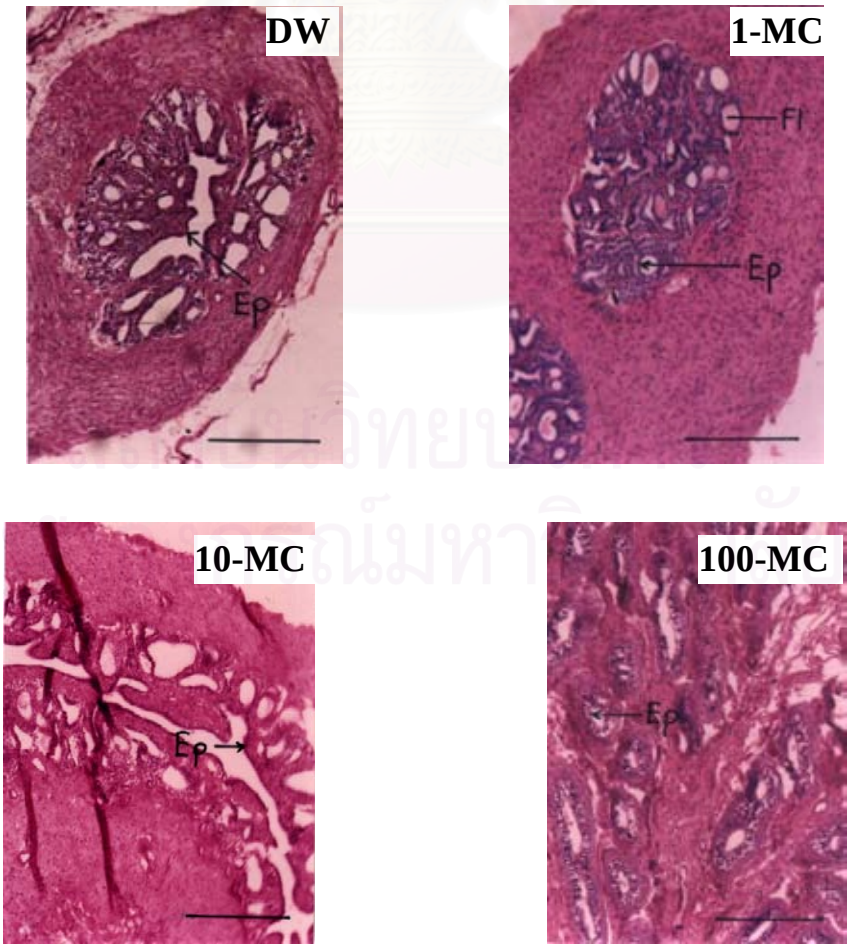
รูปที่ 12 แสดงลักษณะอีพิดิไดมิส ของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะภายหลังจากที่หนูได้รับน้ำกลั่น (DW) และกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน (1-MC, 10-MC และ 100-MC) เป็นเวลานาน 30 วัน



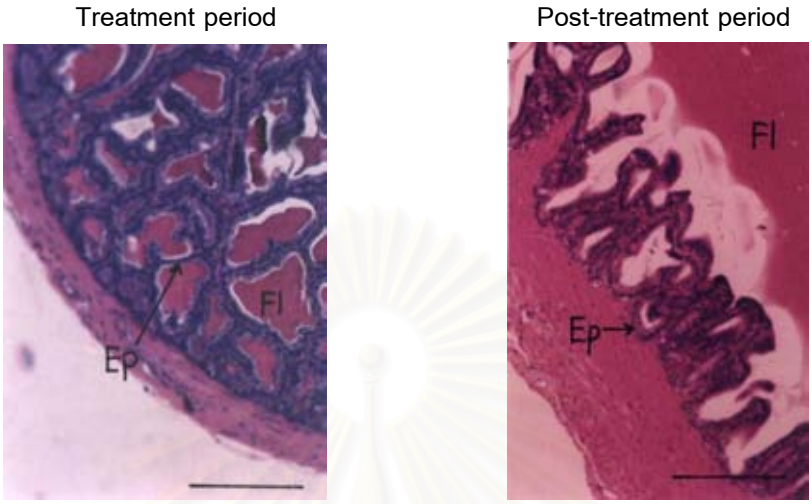
รูปที่ 13 แสดงลักษณะอีพิดิไดมิสของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะ ภายหลังจากได้รับ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน (Treatment period) และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารดังกล่าวนาน 14 วัน (Post-treatment period) Ep = epithelial cell, Sfc = sterocilia



รูปที่ 14 แสดงลักษณะ seminal vesicle ของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะภายหลังจากที่หนูได้รับน้ำกลั่น (DW) และกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน (1-MC, 10-MC และ 100-MC ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 30 วัน Ep = epithelial cell, Fl = fluid



รูปที่ 15 แสดงลักษณะ seminal vesicle ของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะ ภายหลังจากได้รับ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน (Treatment period) และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารดังกล่าวนาน 14 วัน (Post-treatment period) Ep = epithelial cell, Fl = secretory fluid



4.1.2 ผลต่อปริมาณฮอร์โมน LH, FSH และ testosterone ในซีรัม

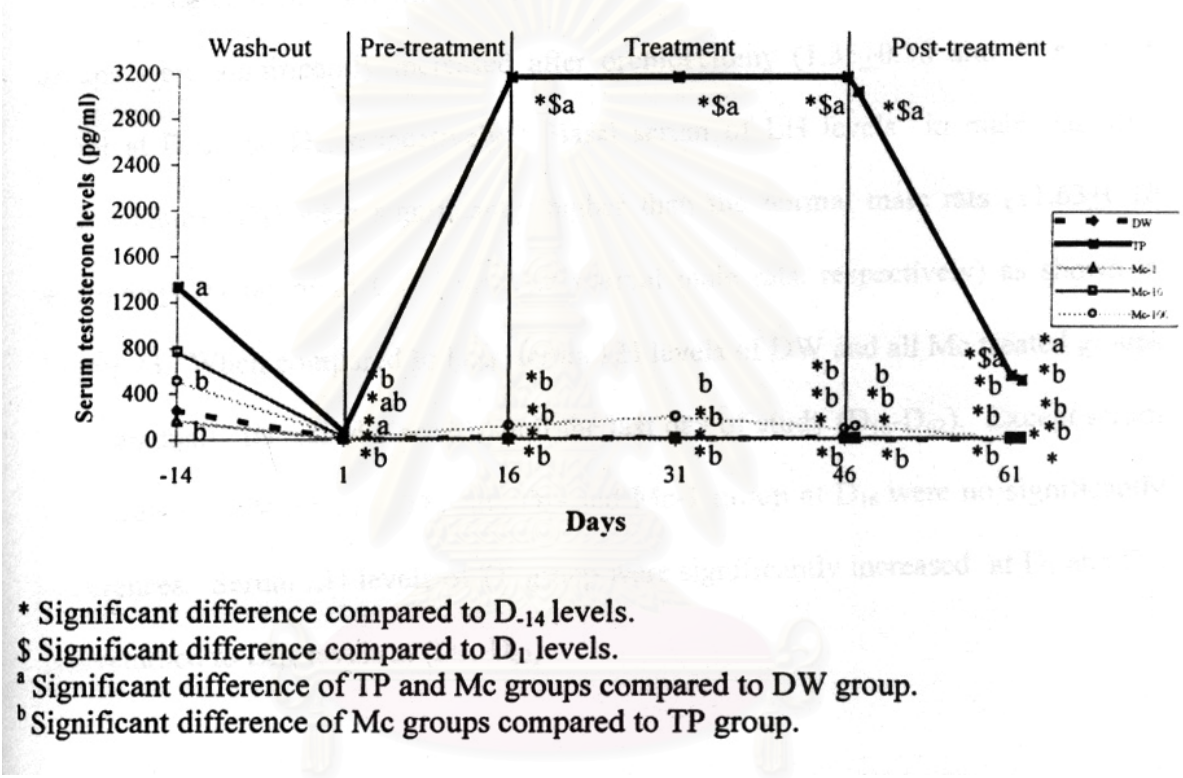
เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน testosterone ระหว่างก่อนตัดอัณฑะ (D_{-14}) และภายหลังจากตัดอัณฑะนาน 14 วัน (D_1) พบว่ามีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม (607.79 ± 210.09 pg/ml ใน D_{-14} และ 21.03 ± 13.20 pg/ml ใน D_1) (รูปที่ 16) และเมื่อเปรียบเทียบระยะก่อนทดลอง (D_1) กับระยะทดลอง ($D_{16} – D_{46}$) และระยะหลังทดลอง ($D_{47} – D_{61}$) พบว่าไม่แตกต่างกันในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำ และไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มด้วยเช่นกัน แต่ในหนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบว่าระดับฮอร์โมน testosterone ใน $D_{16} – D_{46}$ สูงกว่า D_{-14} และ D_1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และใน D_{61} มีค่าลดลงเท่ากับที่ระดับ D_{-14} และค่าดังกล่าวระหว่าง $D_{16} – D_{61}$ ก็สูงกว่ากลุ่มควบคุมด้วย

ภายหลังจากตัดอัณฑะพบว่าระดับฮอร์โมน FSH ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (5.74 ± 0.65 ng/ml ที่ D_{-14} และ 27.15 ± 0.28 ng/ml ที่ D1; $p<0.01$) (รูปที่ 17) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะก่อนทดลอง (D_1) กับระยะทดลอง ($D_{16} – D_{46}$) และระยะหลังทดลอง ($D_{47} – D_{61}$) พบว่าระดับฮอร์โมน FSH เพิ่มสูงขึ้นตลอดการทดลองในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำขนาดต่าง ๆ ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบว่าระดับฮอร์โมน FSH ลดต่ำลงกว่า D_1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่าง $D_{31} – D_{47}$ ของการทดลอง ไม่พบความแตกต่างของระดับ FSH ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำตลอดการทดลอง ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบมีค่า FSH ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมตลอดระยะการทดลองและระยะหลังทดลอง ระหว่าง $D_{31} – D_{61}$

ภายหลังจากตัดอัณฑะพบว่าระดับฮอร์โมน LH ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ (1.35 ± 0.58 ng/ml ที่ D_{-14} และ 11.63 ± 0.16ng/ml ที่ D_1) (รูปที่ 18) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะก่อนการทดลอง (D_1) กับระยะทดลอง ($D_{16} – D_{46}$) และระยะหลังทดลอง ($D_{47} – D_{61}$) พบว่าระดับฮอร์โมน LH สูงขึ้นในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาดต่าง ๆ ในช่วงเวลาดังกล่าว

สำหรับหนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบว่าระดับ LH ลดต่ำกว่าระยะก่อนการทดลอง (D_1) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ในระยะทดลอง และระยะหลังทดลองที่ $D_{31} - D_{61}$ และในช่วงเวลา $D_{31} - D_{61}$ ระดับฮอร์โมน LH ในหนูกลุ่ม TP มีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ไม่พบความแตกต่างระหว่างหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำในทุกระยะ ยกว้นที่ D_{16} ของหนูที่ได้รับกวาวเครือดำขนาด 10 และ 100 มก. มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

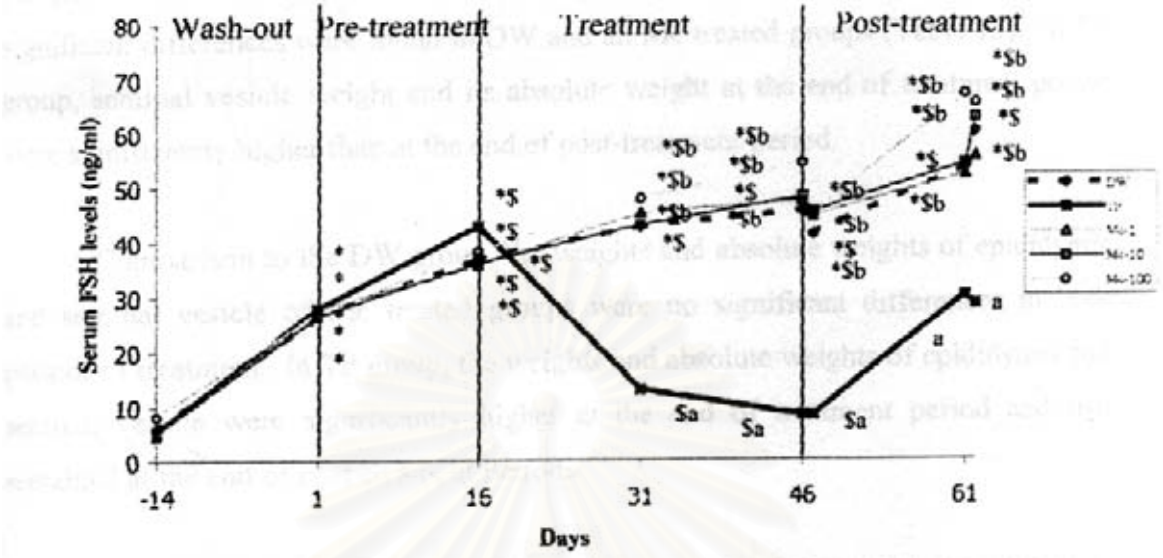
รูปที่ 16 แสดงระดับฮอร์โมน testosterone ในซีรัมของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



* Significant difference compared to D_{-14} levels.
$ Significant difference compared to D_1 levels.
[a] Significant difference of TP and Mc groups compared to DW group.
[b] Significant difference of Mc groups compared to TP group.

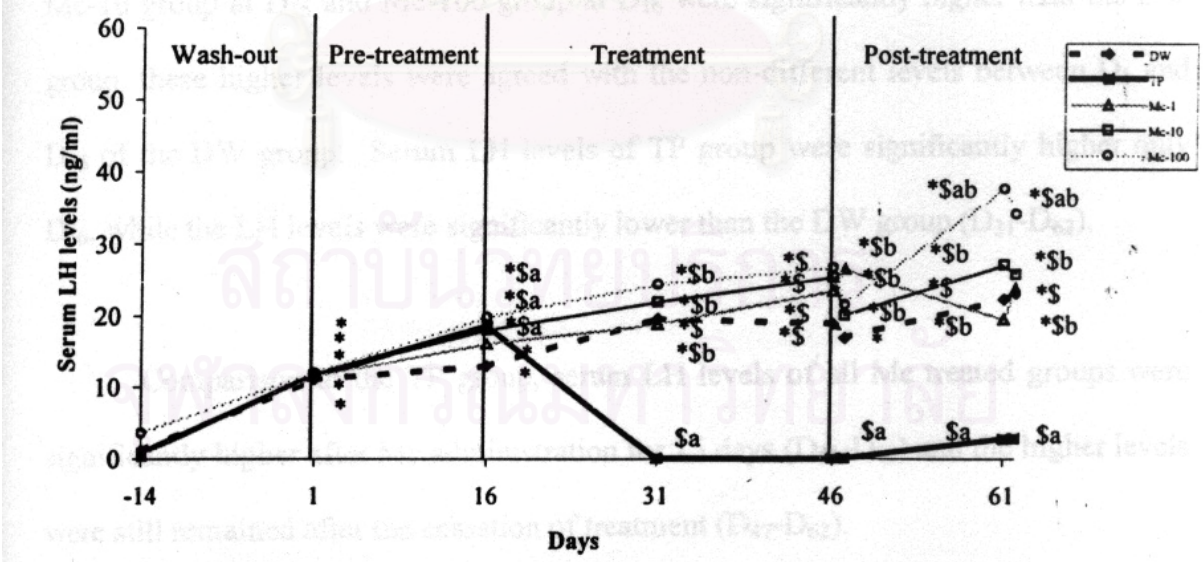
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 17 แสดงระดับฮอร์โมน follicle stimulating hormone ในซีรัมของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



* Significant difference compared to D_{-14} levels.
$ Significant difference compared to D_1 levels.
[a] Significant difference of TP and Mc groups compared to DW group.
[b] Significant difference of Mc groups compared to TP group.

รูปที่ 18 แสดงระดับฮอร์โมน luteinizing hormone ในเลือดของหนูแรทเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



* Significant difference compared to D_{-14} levels.
$ Significant difference compared to D_1 levels.
[a] Significant difference of TP and Mc groups compared to DW group.
[b] Significant difference of Mc groups compared to TP group.

4.2 ผลของกวาวเครือดำต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศเมีย

4.2.1 ผลต่ออวัยวะสืบพันธุ์

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ระหว่างระยะทดลองและระยะหลังทดลองในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำขนาดต่าง ๆ พบว่าไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 12) ยกเว้นในหนูกลุ่มที่ฉีด testosterone propionate พบว่าน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ในระยะทดลองสูงว่าระยะหลังทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ในระยะทดลองและระยะหลังทดลองในหนูพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาดต่าง ๆ กับกลุ่มควบคุมทุกกลุ่ม แต่พบว่าน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ของหนูกลุ่มที่ได้รับ TP มีค่าสูงกว่าหนูกลุ่มที่ไดรับกวาวเครือดำและกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ทั้งในระยะทดลอง และระยะหลังทดลอง

เมื่อศึกษาลักษณะทางจุลภายวิภาค ของมดลูกในระยะทดลองของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาดต่าง ๆ พบว่า endometrial mucosa layer มีขนาดบางลง เซลล์มีรูปร่างแบบ cuboidal ที่ไม่สูงมาก จำนวนและขนาดของ uterine gland ลดลงและพบกระจายอยู่เพียงบางพื้นที่ของมดลูก (รูปที่ 19) ในทางกลับกันพบว่ามดลูกหนูที่ได้รับ TP หนาตัวขึ้น เซลล์เป็นรูปทรงสูง columnar จำนวนและขนาดของ endometrial gland เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางจุลกายวิภาค ระหว่างระยะทดลองและระยะหลังทดลองของมดลูกหนูทุกกลุ่มพบว่าไม่แตกต่างกัน ยกเว้นหนูกลุ่มที่ได้รับ TP ผนังมดลูกในระยะหลังทดลองบางกว่าระยะทดลอง จำนวน และขนาด (เส้นผ่านศูนย์กลาง) ของ endometrial gland ก็ลดลง จึงทำให้เห็นรอยพับของผนังชั้น endometrium ลดลง (รูปที่ 20)

ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SE) น้ำหนักสัมพัทธ์ของมดลูกในหนูแรทเพศเมียเมื่อได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน (1-MC, 10-MC และ 100-MC ตามลำดับ) และ testosterone propionate ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน

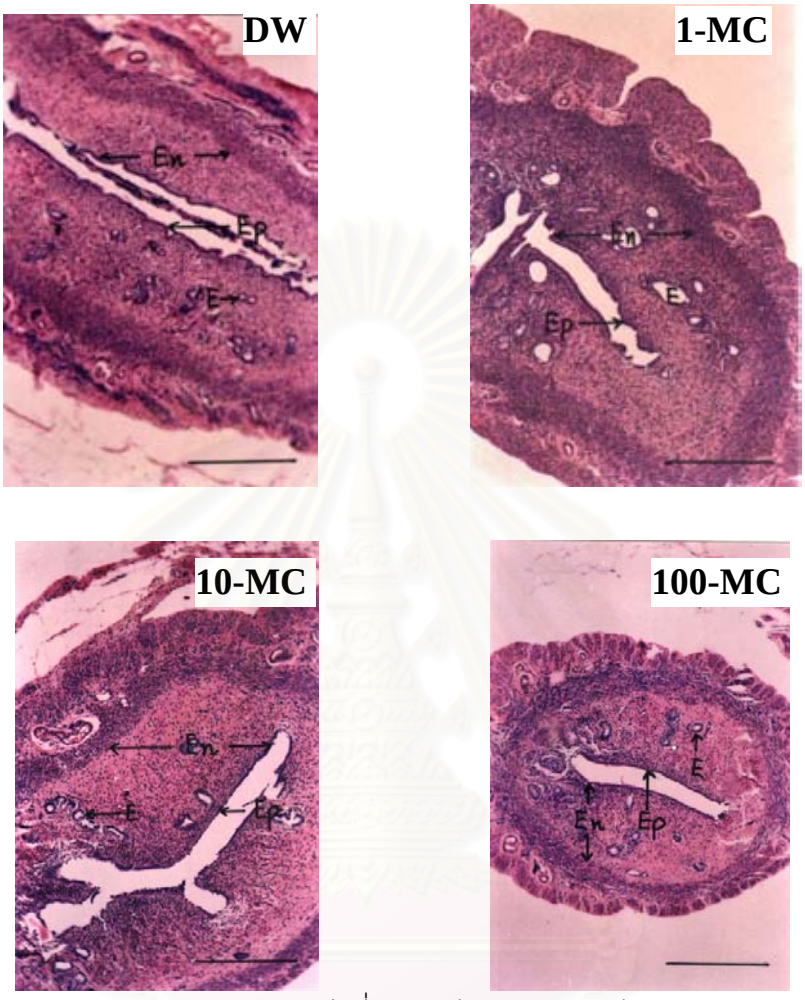
Treatment	Uterus weight at the end of treatment ($X10^{-4}$)	Uterus weight at the end of post-treatment ($X10^{-4}$)
DW	3.80 ± 0.20	3.30±0.30
1-MC	3.90±0.30^{c}	3.90±0.60^{c}
10-MC	3.20±0.20^{c}	3.40±0.20^{c}
100-MC	3.70±0.30^{c}	3.70±0.30^{c}
TP	16.20±0.30^{b}	8.40±0.60^{ab}

a = $p<0.05$ เปรียบเทียบระหว่างระยะทดลองและระยะหลังการทดลอง

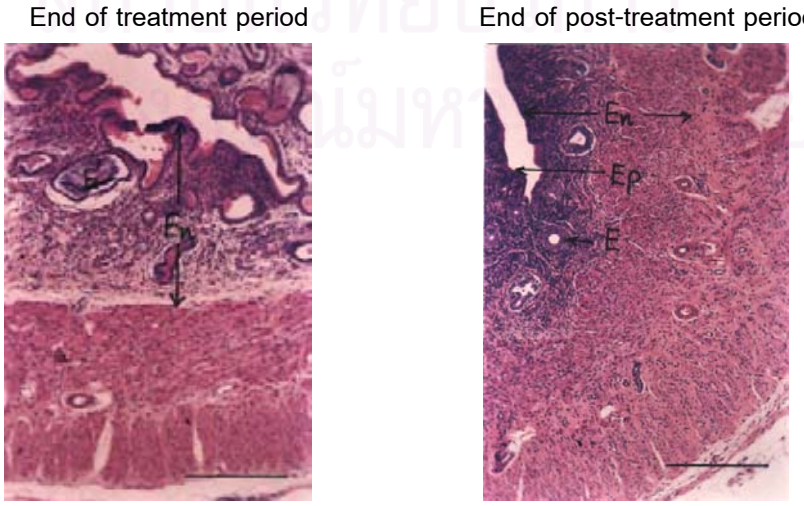
b = $p<0.05$ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำและ TP กับกลุ่มควบคุม

c = $p<0.05$ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำ กับกลุ่มที่ได้รับ TP

รูปที่ 19 แสดงลักษณะมดลูกของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ภายหลังจากที่หนูได้รับน้ำกลั่น (DW) และกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน (1-MC, 10-MC และ 100-MC ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 30 วัน



รูปที่ 20 แสดงลักษณะมดลูกของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ภายหลังจากได้รับ testosterone propionate (TP) ในขนาด 600 ไมโครกรัม/100 กรัม/วัน นาน 30 วัน และภายหลังจากที่หยุดได้รับสารดังกล่าวนาน 14 วัน



4.2.2 ผลต่อปริมาณฮอร์โมน LH, FSH และ E_2ในซีรัม

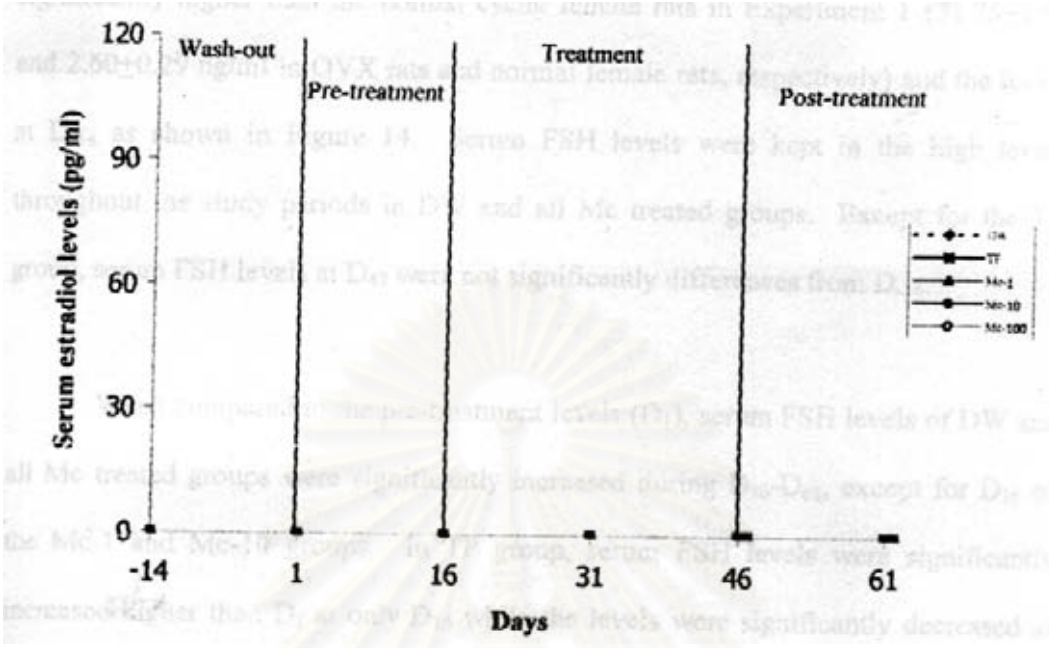
เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนระหว่างก่อนการตัดรังไข่ (D_{-14}) เมื่อหนูเพศเมียอยู่ในระยะ diestrus และภายหลังจากตัดรังไข่นาน 14 วัน (D_1) พบว่าไม่แตกต่าง ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม (รูปที่ 21) และเมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนในระยะก่อนทดลอง (D_1) กับระยะทดลอง ($D_{16} – D_{46}$) และระยะหลังทดลอง ($D_{47} – D_{61}$) ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม ไม่พบความแตกต่างของระดับฮอร์โมนในหนูกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำขนาดต่าง ๆ และกลุ่มที่ได้รับ TP และเมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนระหว่างหนูทั้ง 5 กลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (ดังรูปที่)

เมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน FSH ระหว่างก่อนตัดรังไข่ (D_{-14}) และภายหลังจากตัดรังไข่นาน 14 วัน พบว่าระดับฮอร์โมน FSH มีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหนูทั้ง 5 กลุ่ม (รูปที่ 22) และเมื่อเปรียบเทียบระดับฮอร์โมน FSH ในระยะก่อนทดลอง (D_1) กับระยะทดลอง ($D_{16} – D_{46}$) และระยะหลังทดลอง ($D_{47} – D_{61}$) ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม พบว่าระดับฮอร์โมน FSH ในหนูกลุ่มควบคุมและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำทุกขนาด มีค่าสูงกว่าระยะก่อนการทดลอง (D_1) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่าง $D_{16} – D_{61}$ ยกว้นที่ D_{16} ของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำขนาด 1 และ 10 มก. แต่อย่างไรก็ตามในหนูกลุ่มที่ได้รับ TP พบว่าระดับฮอร์โมน FSH เริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (เมื่อเทียบกับ D_1) ในวันที่ 31 (D_{31}) จนถึงวันสุดท้ายของระยะหลังทดลอง (D_{61}) ซึ่งค่า FSH ของหนูกลุ่มที่ได้รับ TP ในระหว่างวันที่ $D_{31} – D_{61}$ ต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำขนาด 1 มก. พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติตลอดการทดลอง แต่พบว่าระดับฮอร์โมน FSH ในระยะทดลองของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาด 10 มก. ($D_{31} – D_{61}$) และ 100 มก. ($D_{31} – D_{61}$) มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม

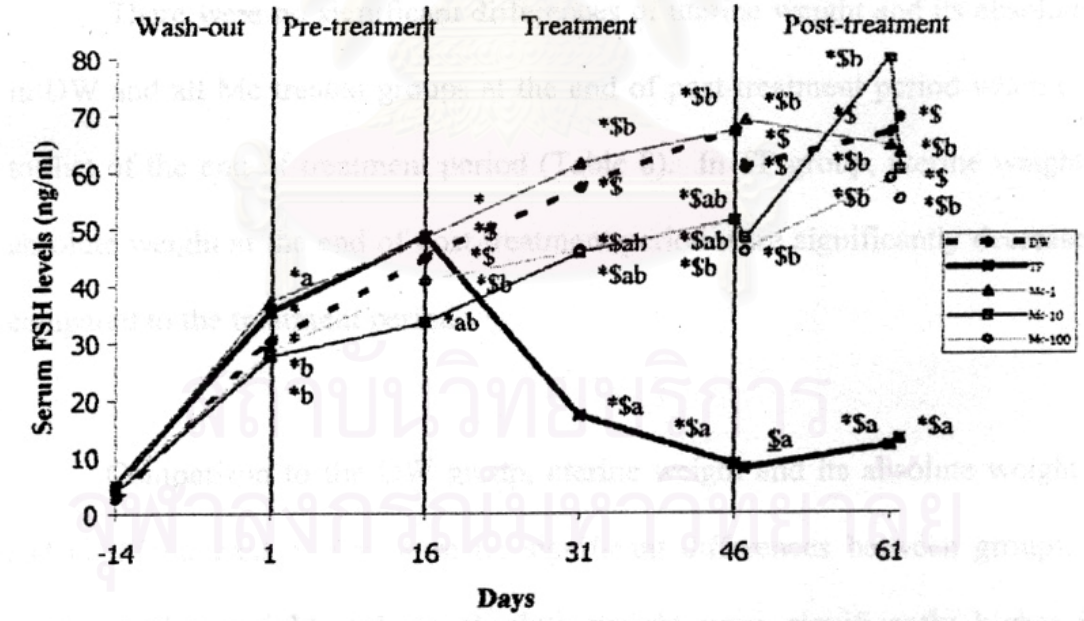
การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน LH มีรูปแบบที่คล้ายคลึงกับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน FSH นั่นคือ ระดับฮอร์โมน LH มีค่าสูงขึ้นภายหลังจากตัดรังไข่ และค่าเริ่มคงที่ใน D_{31} ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำ (รูปที่ 23) แต่ลักษณะที่ต่างไปจากการเปลี่ยนแปลงของระดับ FSH คือ ระดับฮอร์โมน LH ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือดำขนาด 1, 10 และ 100 มก. ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมตลอดการทดลอง ยกว้นที่ D_{31} ของหนูที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาด 10 มก. ที่มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในหนูกลุ่มที่ได้รับ TP มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่ $D_{31} – D_{61}$ และระดับฮอร์โมน LH ในช่วงดังกล่าวยังต่ำกว่าระยะก่อนการทดลอง (D_1) ด้วย แต่ไม่แตกต่างจากระยะก่อนการตัดรังไข่ (D_{-14})

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 21 แสดงระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนในเลือดของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน

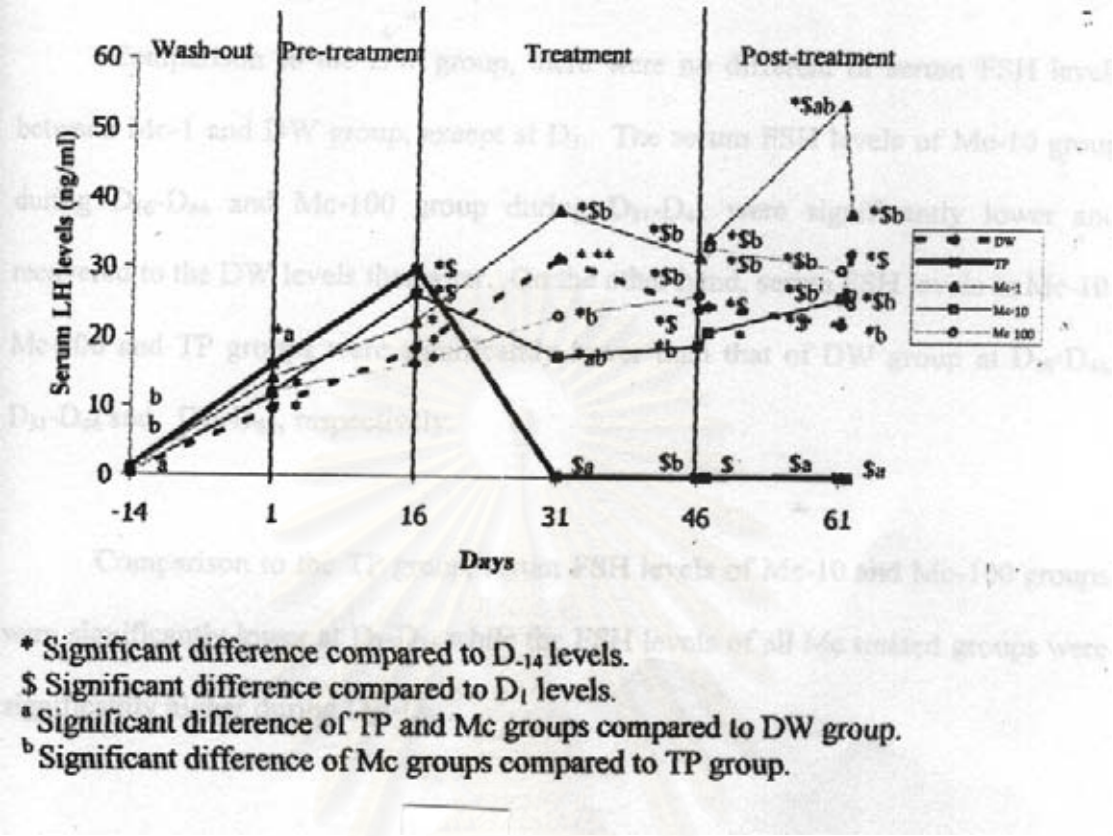


รูปที่ 22 แสดงระดับฮอร์โมน follicle stimulating hormone ในเลือดของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



* Significant difference compared to D_{-14} levels.
$ Significant difference compared to D_1 levels.
[a] Significant difference of TP and Mc groups compared to DW group.
[b] Significant difference of Mc groups compared to TP group.

รูปที่ 23 แสดงระดับฮอร์โมน luteinizing hormone ในเลือดของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับน้ำกลั่น (DW), กวาวเครือดำ (MC) และ testosterone propionate (TP) เป็นเวลานาน 30 วัน



* Significant difference compared to D_{-14} levels.
$ Significant difference compared to D_1 levels.
[a] Significant difference of TP and Mc groups compared to DW group.
[b] Significant difference of Mc groups compared to TP group.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดลองที่ 5 การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย

5.1 ผลต่อน้ำหนักตัวและลักษณะภายนอกที่ปรากฏ

หนูแรทเพศเมียโตเต็มวัยกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน โดยเปรียบเทียบน้ำหนักตัวของหนูทั้งสองกลุ่มที่สัปดาห์เดียวกันตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึง สัปดาห์ที่ 30 พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และพบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัว ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึง สัปดาห์ที่ 30 ของหนูที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวนาน 200 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 13)

หนูทั้งสองกลุ่มเจริญเติบโตขึ้นอย่างช้า ๆ ตลอดการทดลอง โดยหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น น้ำหนักเริ่มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 7 ของการทดลองเป็นต้นไป เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัวเริ่มต้นที่ทำการทดลอง (สัปดาห์ที่ 1) ส่วนหนูในกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าน้ำหนักเริ่มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 13 ของการทดลองเป็นต้นไปเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัวเริ่มต้นที่ทำการทดลอง (สัปดาห์ที่ 1) การกินอาหารของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวไม่แตกต่างกัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.57 $\pm$0.15 และ 12.29 $\pm$ 0.17 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ

ตารางที่ 13 แสดงค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SE) น้ำหนักตัวหนูเมื่อเริ่มทำการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

Weight	Administered dose (mg /b.w./day)	
	0	25
Initial body wt (g)	193.00±2.79	192.00±3.18
Final body wt (g)	216.01±1.01	220.60±1.69

5.2 ผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสมและอวัยวะสืบพันธุ์

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพัทธ์ ของอวัยวะต่าง ๆ คือ ตับ ไต มดลูกและรังไข่ ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 แสดงค่าเฉลี่ย(Mean$\pm$ SE) ของน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะ ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว

Weight	Administered dose (mg /b.w./day)	
	0	25
Liver (10^{-3})	31.7$\pm$0.99	30.3$\pm$1.10
Kidney (10^{-3})	6.37$\pm$0.12	6.15$\pm$0.17
Uterus (10^{-3})	2.19$\pm$0.43	2.06$\pm$0.59
Ovary (10^{-3})	0.47$\pm$0.14	0.42$\pm$0.08

5.3 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยา เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ลิมโฟซัยต์ โมโนซัยต์ อีโอสิโนฟิล และนิวโตรฟิล ระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 แสดงค่าเฉลี่ย(Mean$\pm$ SE) ของเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ลิมโฟซัยต์ โมโนซัยต์ อีโอสิโนฟิล และนิวโตรฟิล ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว

Parameter	Administered dose (mg /B.W./day)	
	0	25
%Hematocrit	41.70$\pm$1.20	40.10$\pm$1.50
%Differential		
L	71.56$\pm$2.91	65.44$\pm$4.14
M	5.67$\pm$0.44	4.38$\pm$1.00
Eo	1.71$\pm$0.42	1.00$\pm$0.00
N	21.56$\pm$2.74	30.44$\pm$3.91

5.4 ผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือด

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางชีวเคมีคลินิกของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าค่า BUN, creatinine, triglyceride, AST, ALT และค่า alkaline phosphatase ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้นค่า uric acid ในหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และ ค่า cholesterol ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีค่าสูงกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 16)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 16 แสดงค่าเฉลี่ย (Mean± SE) ของ blood urea nifrogen (BUN), creatinine, uric acid, cholesterol, triglyceride, AST, ALT และค่า alkaline phosphatase ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว

a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบค่า uric acid และ cholesterol ระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว

Parameter	Administered dose (mg /B.W./day)	
	0	25
BUN (mg%)	21.58± 1.18	24.90±2.59
Creatinine (mg%)	0.74± 0.03	0.70± 0.03
Uric acid (mg/gl)	1.95± 0.30	1.01± 0.31[a]
Cholesterol (mg/gl)	58.10± 4.37	74.80± 4.66[a]
Triglyceride (mg/gl)	139.38±23.41	143.70±32.13
AST (U/L)	200.70±18.36	224.20±23.27
ALT (U/L)	62.10± 3.08	62.90± 5.81
Alkaline phosphatase (U/L)	96.80±10.49	69.50± 7.31

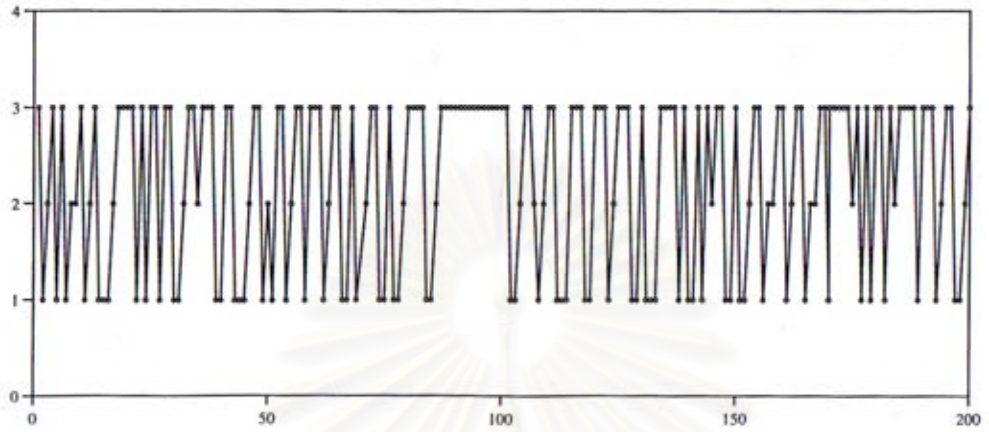
5.5 ผลต่อรอบวงสืบพันธุ์

เมื่อพิจารณาค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ประกอบด้วยระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส โปรอีสตรัส และอีสตรัส ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูทั้ง10 ตัว ในหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นมีรอบวงสืบพันธุ์ที่ปกติตลอดการทดลองยกเว้นระหว่างวันที่ 80-100 ของการทดลอง ที่พบเฉพาะระยะอีสตรัส ที่พบเซลล์ชนิด cornified cell เมื่อทำ vaginal smear (รูปที่ 24) สำหรับหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวพบว่ามีรอบวงสืบพันธุ์ที่ปกติตลอดการทดลอง (รูปที่ 25)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ของความยาวรอบวงสืบพันธุ์ จำนวนวันที่พบระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ คือ ระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส โปรอีสตรัส และอีสตรัสของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้น จำนวนวันที่พบระยะเมตอีสตรัส ในหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 17)

รูปที่ 24 แสดงค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ รอบวงสืบพันธุ์ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น

1, 2, 3 หมายถึง ระยะเมตอีสตรัสและไดอีสตรัส ระยะโปรอีสตรัส ระยะอีสตรัส ตามลำดับ



วันที่ทำการทดลอง

รูปที่ 25 แสดงค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกวาวเครือขาว

1, 2, 3 หมายถึง ระยะเมตอีสตรัสและไดอีสตรัส ระยะโปรอีสตรัส ระยะอีสตรัส ตามลำดับ

วันที่ทำการทดลอง

ตารางที่ 17 แสดงค่าเฉลี่ย (Mean± SE) ของความยาวรอบวงสืบพันธุ์ จำนวนวันที่พบ ระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส โปรอีสตรัส และอีสตรัส ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว

* หมายถึง จำนวนวันที่พบระยะต่าง ๆ เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับจำนวนวันทั้งหมด a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนวันที่พบระยะเมตอีสตรัสระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว

Estrous cycle (days)	Administered dose (mg /B.W./day) 0	25
Cycle length	4.76±0.05	4.80±0.09
Metestrus	40.80±1.31 (21.60±0.67)	33.80±0.98 (17.70±0.56)[a]
Diestrus	56.30±1.52 (29.60±0.83)	60.60±2.77 (31.60±1.34)
Proestrus	41.40±0.69 (21.70±0.30	42.20±1.17 (22.20±0.59)
Estrus	51.20±1.20 (27.00±0.60)*	54.30±3.32 (28.60±1.78)

5.6. ผลต่อปริมาณฮอร์โมน LH, FSH และ E_2ในซีรัม

เนื่องจากหนูที่ใช้ในการทดลองชุดนี้เป็นหนูที่ยังมีรอบวงสืบพันธุ์อยู่ และปริมาณฮอร์โมน LH FSH และ E_2 จะแกว่งไกวตามระยะของรอบวงสืบพันธุ์ ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนจึงแบ่งออกตามระยะในรอบวงสืบพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณฮอร์โมน LH FSH และ E_2 ในแต่ละระยะรอบวงสืบพันธุ์ ระยะเมตอีสตรัส ระยะไดอีสตรัส ระยะโปรอีสตรัส และระยะอีสตรัส ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าค่าเฉลี่ยของ ปริมาณ LH ในระยะไดอีสตรัสของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ปริมาณฮอร์โมน FSH ในระยะอีสตรัส ระยะไดอีสตรัส และระยะโปรอีสตรัส ของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และปริมาณฮอร์โมน E_2 ในทุกระยะ ของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 แสดงค่าเฉลี่ย (Mean± SE) ปริมาณฮอร์โมน LH FSH และ E_2 ในแต่ละระยะของรอบวงสืบพันธุ์ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น

Estrous stage	LH (mg/ml)		FSH (pg/ml)		E_2 (ng/ml)	
	WKK 0	WKK 25	WKK 0	WKK 25	WKK 0	WKK 25
Metestrus	0.48±0.05	0.60±0.15	1768±387	5963±3444	0.18±0.03	1.26±0.30[a]
Diestrus	0.61±0.09[a]	0.26±0.03	2076±456	15433±5270[a]	0.27±0.11	0.85+0.09[a]
Proestrus	0.50±0.07	0.47±0.08	2940±866	12419±4496[a]	0.18±0.06	0.86±0.05[a]
Estrus	0.68±0.25	0.49±0.08	2042±548	7995±2540[a]	0.18±0.04	0.93±0.09[a]

5.7ผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อ

ผลต่อเนื้อเยื่อตับ

เมื่อเปรียบเทียบเนื้อเยื่อตับของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่ามีความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวเกิดขึ้นในบริเวณรอบเส้นเลือดและ central vein โดยมีโครงสร้างที่มีเป็น hepatic lobule มี central vein อยู่ตรงกลาง และเซลล์ตับไม่เรียงตัวแนวรัศมี (radiate) ออกจาก central vein ช่อง sinusoid ไม่ชัดเจน (รูปที่ 26-ก, ข) พบเซลล์ตับบวมน้ำ (hydrophic swelling) เซลล์มีขนาดใหญ่และกลมไซโตพลาสมติดสีจาง แต่ nucleus ยังคงไม่เปลี่ยนแปลง บางเซลล์มี perichromatin clumping และพบบางเซลล์เกิดการตายในลักษณะ karyolysis อิโอสิโตฟิลิกไซโตพลาสมกับ pyknotic nucleaus หรือไม่พบ nucleus (รูปที่ 26-ก) sinusoid มีการขยายตัว (dilation) ดันให้เซลล์ตับมีการหดตัว ทำให้เกิด pyknotic nucleus (รูปที่ 26-ข)

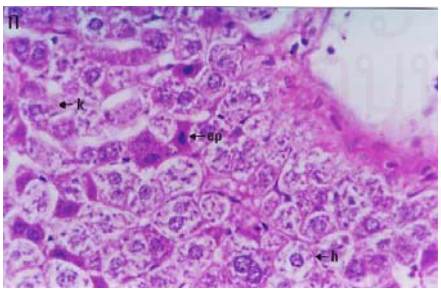
ความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณใต้แคปซูลหุ้มตับ มีโครงสร้างที่ไม่เป็น hepatic lobule เซลล์ตับไม่เรียงตัวแนวรัศมี ออกจาก central vein ช่อง sinusoid ไม่ชัดเจน พบเซลล์ตับบวมน้ำ (hydrophic swelling) เซลล์มีขนาดใหญ่และกลมไซโตพลาสมติดสีจาง แต่ nucleus ยังคงไม่เปลี่ยนแปลง และพบบางเซลล์เกิดการตายในลักษณะ karyolysis อิโอสิโนฟิลิกไซโตพลาสมกับ pyknotic nucleaus หรือไม่พบ nucleus sinusoid มีการขยายตัวดันให้เซลล์ตับมีการหดตัว ทำให้เกิด pyknotic nucleaus (รูปที่ 26-ค)

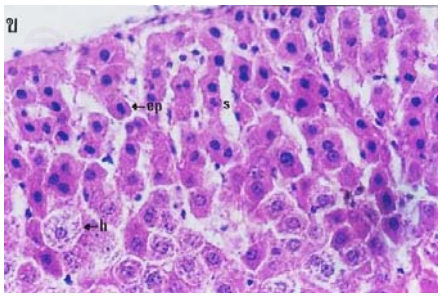
เกิดความผิดปกติต่อระบบเลือด มีการคั่งของเลือดในเส้นเลือด และcentral vein (blood congestion) (รูปที่ 26-ค)

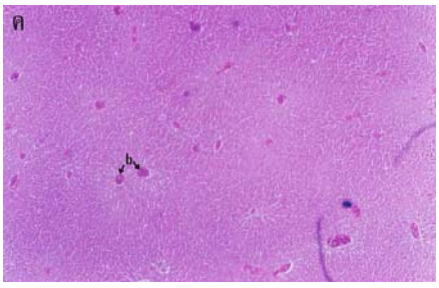
รูปที่ 26 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อตับของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน

รูป ก และ ข แสดง hydrophic swelling (h), karyolysis (k), eosinophilic cytoplasm และ pignotic nucleus (ep), sinusoid dilation (s) รูป ค แสดง blood congestion ในเส้นเลือด (b)

กำลังขยาย ก, ข และ ค x 13.2 ย้อมสี H&E





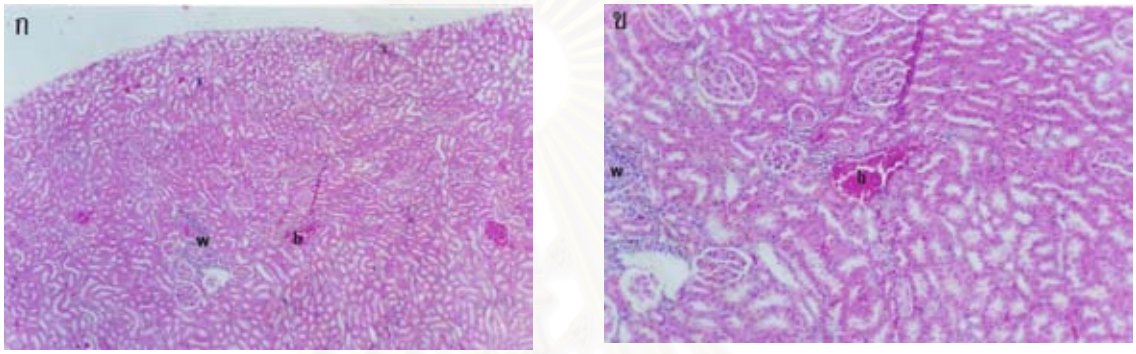


ผลต่อเนื้อเยื่อไต

เมื่อเปรียบเทียบเนื้อเยื่อไตของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่ามีความผิดปกติของเนื้อเยื่อไตของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวในเส้นเลือดคือพบเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในเส้นเลือดเป็นจำนวนมาก (รูปที่ 27-ก และ ข)

รูปที่ 27 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน

รูป ก และ ข แสดง blood congestion (b) white blood cell infiltrate (w) กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข X 33 ย้อมสี H&E



ผลต่อเนื้อเยื่อมดลูก

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและที่ได้รับกวาวเครือขาว พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของมดลูกในชั้น endometrium ตามระยะของรอบวงสืบพันธุ์

<u>ระยะอีสตรัส</u>

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (รูปที่ 28-ก): endometrium มีการเจริญ พบ endometrium stroma หนาขึ้นมีเส้นเลือดมาเลี้ยงมาก uterine gland มีจำนวนมากและมีการเจริญ พบ lumen ของ uterine gland มีขนาดใหญ่ เพราะเซลล์ที่บุ uterine gland สร้างสารเก็บไว้ใน lumen

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว (รูปที่ 28-ข): endometrium มีการเจริญมากเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นที่ระยะเดียวกัน พบ uterine lumen มีการหยักเป็นร่องไปมา endometrium stroma หนาขึ้นมีเส้นเลือดมาเลี้ยงมาก uterine gland มีจำนวนมากและมีการเจริญ พบ lumen ของ uterine gland มีขนาดใหญ่ เพราะเซลล์ที่บุ uterine gland สร้างสารเก็บไว้ใน lumen

<u>ระยะเมตอีสตรัส</u>

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (รูปที่ 29-ค): endometrium ไม่มีการเจริญ พบ uterine lumen มีการหยักไปมาลดลง เกิดการ reabsorption พบเม็ดเลือดขาว ใน uterine lumen เพื่อจับกิน epithelial cell ที่ตายแล้วเนื่องจากเส้นเลือดที่มาเลี้ยงมาน้อยลง uterine gland มีการเจริญลดลงเนื่องจาก พบ lumen ของ uterine gland มีขนาดเล็กลง

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว (รูปที่ 29-ง): endometrium ยังคงมีการเจริญอยู่เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นในระยะเดียวกัน พบ utrine lumen มีการหยักเป็นร่องไปมา ชั้น endometrium stroma ยังคงหนามีเส้นเลือดมาเลี้ยงมาก uterine gland มีจำนวนมากและมีการเจริญ พบ lumen ของ uterine gland มีขนาดใหญ่ เพราะเซลล์ที่บุ uterine gland สร้างสารเก็บไว้ใน lumen

ระยะไดอีสตรัส

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (รูปที่ 30-จ): endometrium ไม่มีการเจริญ พบ uterine lumen มีการหยักไปมาลดลง พบเซลล์บุ uterine gland ในชั้น endometrium stroma เริ่มตายเนื่องจากเส้นเลือดที่มาเลี้ยงน้อยลง

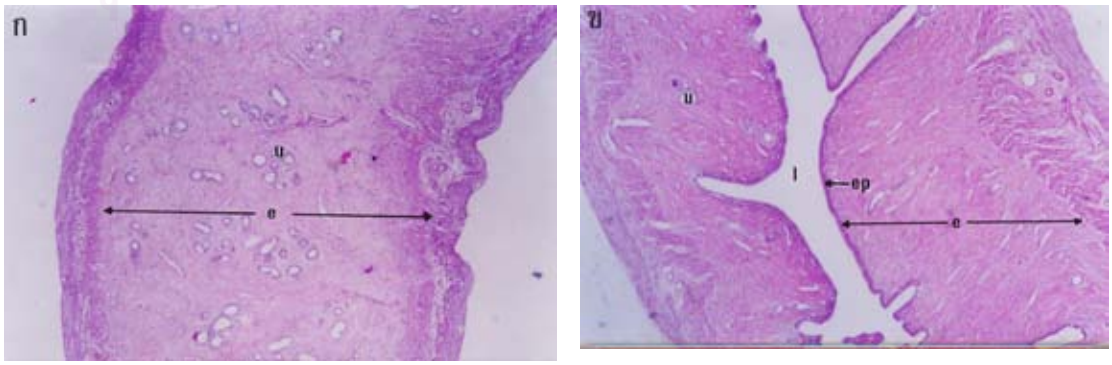
หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว (รูปที่ 30-ฉ): endometrium ยังคงมีการเจริญอยู่เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นในระยะเดียวกัน พบ utrine lumen มีการหยักเป็นร่องไปมาลดลง ชั้น endometrium stroma ยังคงหนามีเส้นเลือดมาเลี้ยงมาก uterine gland มีจำนวนมากและมีการเจริญ พบ lumen ของ uterine gland มีขนาดใหญ่ เพราะเซลล์ที่บุ uterine gland สร้างสารเก็บไว้ใน lumen

ระยะโปรอีสตรัส

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (รูปที่ 31-ช): endometrium มีการเจริญมาก epithelial cell มีการสร้างสารเก็บไว้ในเซลล์ พบ uterine lumen มีการหยักเป็นร่องไปมา endometrium stroma หนาขึ้นมีเส้นเลือดมาเลี้ยงมาก uterine gland มีจำนวนมากและมีการเจริญ พบ lumen ของ uterine gland มีขนาดใหญ่ เพราะเซลล์ที่บุ uterine gland สร้างสารเก็บไว้ใน lumen

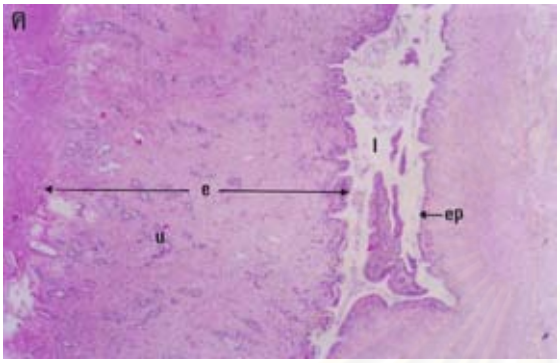
หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว (รูปที่ 31-ซ): endometrium มีการเจริญมาก เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นที่ระยะเดียวกันโดยพบ epithelial cell มีการสร้างสารเก็บไว้ในเซลล์ พบ uterine lumen มีการหยักเป็นร่องไปมามาก endometrium stroma หนาขึ้นมีเส้นเลือดมาเลี้ยงมาก uterine gland มีจำนวนมากและมีการเจริญ พบ lumen ของ uterine gland มีขนาดใหญ่ เพราะเซลล์ที่บุ uterine gland สร้างสารเก็บไว้ใน lumen

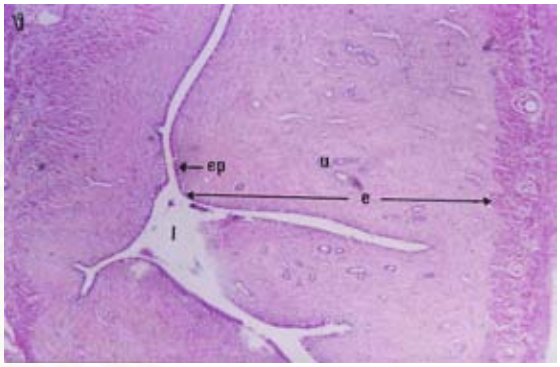
รูปที่ 28 ลักษณะโครงสร้างผนังของมดลูกของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ก) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ข) ในระยะอีสตรัส
รูป ก และ ข แสดง uterine lumen (l), endometrium (e), epithelial cell (ep), uterine gland (u)
กำลังขยาย ก และ ข x 13.2 ย้อมสี H&E



รูปที่ 29 ภาพเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างผนังของมดลูกของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ค) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ง) ในระยะเมตอีสตรัส

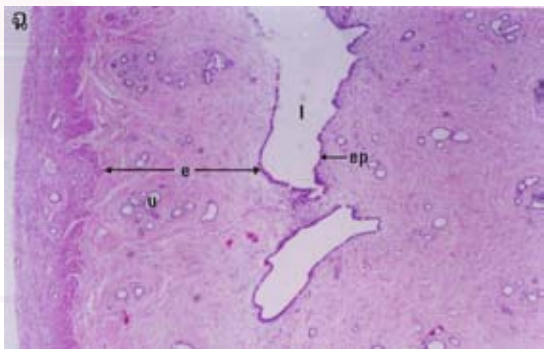
รูป ค และ ง แสดง uterine lumen (l), endometrium (e), epithelial cell (ep), uterine gland (u) กำลังขยาย ค และ ง x 13.2 ย้อมสี H&E





รูปที่ 30 ภาพเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างผนังของมดลูกของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (จ) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ฉ) ในระยะไดอีสตรัส

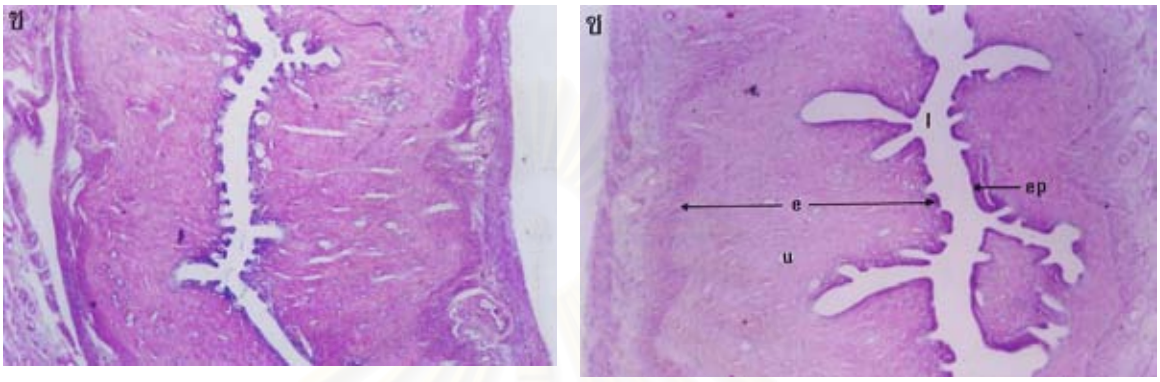
รูป จ และ ฉ แสดง uterine lumen (l), endometrium (e), epithelial cell (ep), uterine gland (u) กำลังขยาย จ และ ฉ x 13.2 ย้อมสี H&E



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 31 ภาพเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างผนังของมดลูกของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ช) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ซ) ในระยะโปรอีสตรัส

รูป ช และ ซ แสดง uterine lumen (l), endometrium (e), epithelial cell (ep), uterine gland (u) กำลังขยาย ช และ ซ x 13.2 ย้อมสี H&E



ผลต่อเนื้อเยื่อรังไข่

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและที่ได้รับกวาวเครือขาว พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิลในรังไข่ตามระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ เนื่องจากกำลังขยายต่ำสุดที่ใช้คือ x 13.2 สามารถสังเกตรังไข่ได้เกือบหมดทุกบริเวณขาดเพียงบริเวณขอบ ๆ ที่พบ corpus luteum ขนาดใหญ่ ซึ่งอาจขาดหายเพียงบางส่วน ทำให้สามารถเปรียบเทียบการเจริญและจำนวนฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูทั้งสองกลุ่มได้

<u>ระยะอีสตรัส</u>

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (รูปที่ 32-ก): รังไข่มีการเจริญ แต่พบ growing follicles ไม่มาก เช่น late primary follicle secondary follicle และ graafian follicle พบ corpus luteum จำนวนมากและพบยังมีเลือดขังอยู่ แสดงว่ามีการตกไข่ และพบมีเส้นเลือดมาเลี้ยงรังไข่เพิ่มขึ้น

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว (รูปที่ 32-ข): รังไข่มีการเจริญมาก พบ growing follicles จำนวนมากเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นในระยะเดียวกัน growing follicle ที่พบเช่น early primary follicle late primary follicle และ secondary follicle พบ corpus luteum ที่ยังมีเลือดขังอยู่ แสดงว่ามีการตกไข่ และพบเส้นเลือดมาเลี้ยงรังไข่เพิ่มขึ้น

<u>ระยะเมตอีสตรัส</u>

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (รูปที่ 33-ค): รังไข่ไม่มีการเจริญ พบ growing follicles มีจำนวนลดลงจากระยะอีสตรัส พบเพียง late primary follicle และ graafian follicle ที่ไม่พบ secondary oocyte พบ corpus luteum ที่ไม่พบเลือดขัง เส้นเลือดที่มาเลี้ยงรังไข่ลดลง

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มทีได้รับกวาวเครือขาว (รูปที่ 33-ง): รังไข่มีการเจริญมาก พบ growing follicles จำนวนมากเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นที่ระยะเดียวกัน growing follicle ที่พบเช่น

early primary follicle late primary follicle secondary follicle และ graafian follicle พบ corpus luteum ยังคงมีเส้นเลือดมาเลี้ยงรังไข่เป็นจำนวนมาก

ระยะไดอีสตรัส

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (รูปที่ 34-จ): เริ่มมีการเจริญของรังไข่อีกครั้ง พบ growing follicles เพิ่มขึ้นมากกว่าหนูในกลุ่มเดียวกันที่ระยะเมตอีสตรัส growing follicle ที่พบเช่น early primary follicle late primary follicle และ secondary follicle

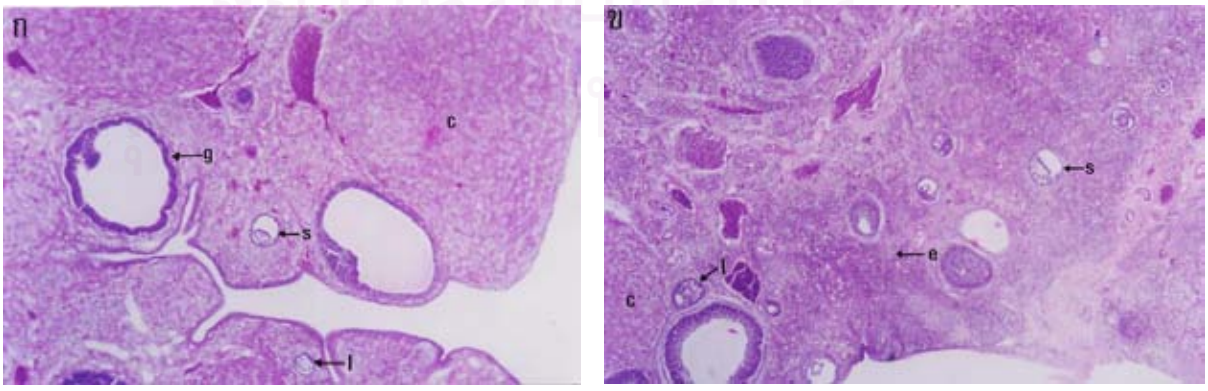
หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว (รูปที่ 34-ฉ): มีการเจริญของรังไข่ พบ growing follicles จำนวนมาเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นที่ระยะเดียวกัน growing follicle ที่พบเช่น early primary follicle late primary follicle และ secondary follicle พบ corpus luteum ยังคงมีเส้นเลือดมาเลี้ยงรังไข่เป็นจำนวนมาก

ระยะโปรอีสตรัส

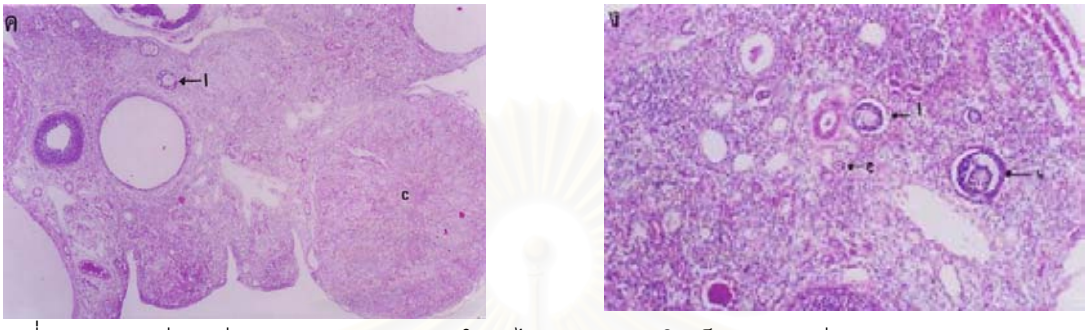
หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (รูปที่ 35-ช): มีการเจริญของรังไข่ พบ growing follicles ขนาดใหญ่ เช่น secondary follicle และ graafian follicle เป็นจำนวนมาก แสดงว่าพร้อมที่จะมีการตกไข่ในระยะอีสตรัส

หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว (รูปที่ 35-ซ): มีการเจริญของรังไข่ พบ growing follicles มากเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นที่ระยะเดียวกัน growing follicle ที่พบเช่น early primary follicle late primary follicle และ secondary follicle พบ corpus luteum ยังคงมีเส้นเลือดมาเลี้ยงรังไข่เป็นจำนวนมาก

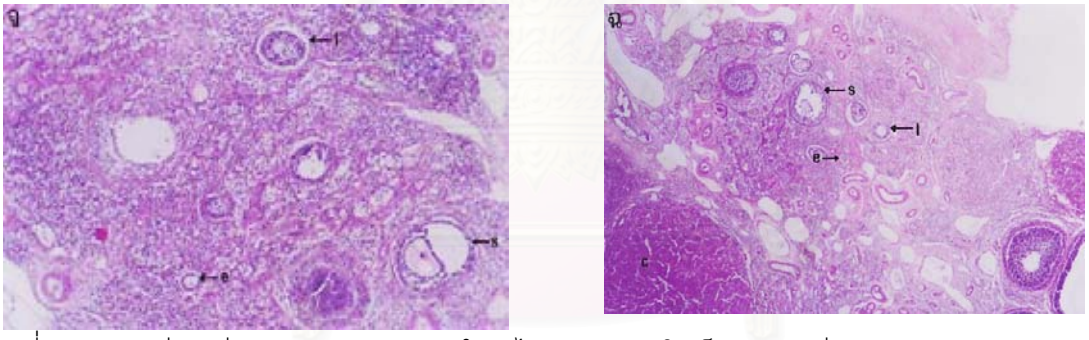
รูปที่ 32 ภาพเปรียบเทียบลักษณะฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ก) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ข) ในระยะอีสตรัส รูป ก และ ข แสดง early primary follicle (e) late primary follicle (l) secondary follicle (s) graafian follicle (g) corpus luteum (c) กำลังขยาย ก และ ข x 13.2 ย้อมสี H&E



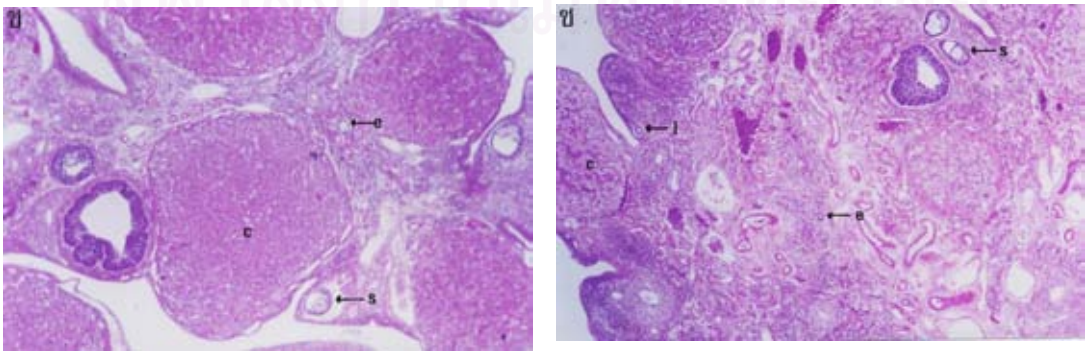
รูปที่ 33 ภาพเปรียบเทียบลักษณะฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ค) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ง) ในระยะเมตอีสตรัส รูป ค และ ง แสดง early primary follicle (e) late primary follicle (l) secondary follicle (s) graafian follicle (g) corpus luteum (c) กำลังขยาย ค และ ง x 13.2 ย้อมสี H&E



รูปที่ 34 ภาพเปรียบเทียบลักษณะฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (จ) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ฉ) ในระยะไดอีสตรัส รูป จ และ ฉ แสดง early primary follicle (e) late primary follicle (l) secondary follicle (s) graafian follicle (g) corpus luteum (c) กำลังขยาย จ และ ฉ x 13.2 ย้อมสี H&E



รูปที่ 35 ภาพเปรียบเทียบลักษณะฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 300 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ช) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ซ) ในระยะโปรอีสตรัส รูป ช และ ซ แสดง early primary follicle (e) late primary follicle (l) secondary follicle (s) graafian follicle (g) corpus luteum (c) กำลังขยาย ช และ ซ x 13.2 ย้อมสี H&E



การทดลองที่ 6 การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทแก่เพศเมีย

6.1 ผลต่อน้ำหนักตัวและลักษณะภายนอกที่ปรากฏ

หนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบน้ำหนักตัวของหนูทั้งสองกลุ่มที่สัปดาห์เดียวกันตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึง สัปดาห์ที่ 30 พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และพบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัว ในสัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 30 ของหนูที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูที่ได้รับกวาวเครือขาว 200 วัน ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 19)

หนูทั้งสองกลุ่มไม่มีการเจริญเติบโต โดยดูจากน้ำหนักตัวของหนูทั้งสองกลุ่มไม่เปลี่ยนแปลงตลอดการทดลอง ($p>0.05$) ยกเว้นหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น น้ำหนักเริ่มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 28 ของการทดลองเป็นต้นไปเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัวเริ่มต้น (สัปดาห์ที่ 1) นอกจากนี้พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นตายไปจำนวน 4 ตัว จากจำนวนทั้งหมด 10 ตัว ในสัปดาห์ที่ 26 ของการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักอาหารที่หนูทั้งสองกลุ่มกินพบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักอาหารที่กินตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 30 ของหนูที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวนาน 200 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (13.33 ± 0.27 และ 13.01 ± 0.24 กรัม/ตัว/วัน; $p>0.05$)

ตารางที่ 19 แสดงค่าเฉลี่ย (Mean$\pm$SE) ของน้ำหนักตัวเริ่มต้น และน้ำหนักตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลองของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน

Weight	Administered dose (mg /B.W./day)	
	0	25
Initial body wt (g)	346.50±2.79	358.70±3.18
Final body wt (g)	410.00±12.00	376.70±20.00

6.2 ผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสมและอวัยวะสืบพันธุ์

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะต่าง ๆ คือ ตับ ไต และมดลูก ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่น้ำหนักรังไข่ของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวสูงกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองในครั้งนี้พบว่ามีหนู 2 ตัว จากทั้งหมด 10 ตัว ที่มีน้ำหนักรังไข่สูงผิดปกติ คือ มีค่าเท่ากับ 0.402 และ 1.593 กรัม เมื่อตัดค่าน้ำหนักที่สูงผิดปกติออกไป ไม่นำค่าดังกล่าวมาร่วมคำนวณทางสถิติ พบว่าน้ำหนักรังไข่ระหว่างหนูทั้ง 2 กลุ่ม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 แสดงค่าเฉลี่ย (Mean± SE) น้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่นและที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน

a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น ค่าในวงเล็บ หมายถึง ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักรังไข่ที่ตัดค่าน้ำหนักที่สูงผิดปกติออกไป

Weight	Administered dose (mg /b.w./day)	
	0	25
Liver (10^{-3})	32.40±8.40	29.50±12.30
Kidney (10^{-3})	4.60+0.50	5.00±0.90
Uterus (10^{-3})	1.67±0.40	1.71±0.40
Ovary (10^{-3})	0.41±0.09	0.81±0.53 [a] (0.31±0.07)

6.3 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางโลหิตวิทยา เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ลิมโฟซัยต์ โมโนซัยต์ อีโอสิโนฟิล และนิวโตรฟิล ระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 แสดงค่าเฉลี่ย (Mean± SE) ของเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ลิมโฟซัยต์ โมโนซัยต์ อีโอสิโนฟิล และนิวโตรฟิล ของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน

Parameter	Administered dose (mg /b.w./day)	
	0	25
%Hematocrit	44.83±0.48	44.10±0.53
%Differential		
L	22.67±3.03	22.60±3.00
M	75.50±3.34	66.90±7.61
Eo	1.17±0.65	0.60±0.34
N	0.17±0.17	0.10±0.10

6.4 ผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือด

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางชีวเคมีในเลือด ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าค่า BUN, creatinine,uric acid, cholesterol, triglyceride, AST, ALT และค่า alkaline phosphatase ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22 แสดงค่าเฉลี่ยของ blood urea nifrogen (BUN), creatinine, uric acid, cholesterol, triglyceride, SGOT, SGPT และค่า alkaline phosphatase (Mean± SE) ของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน

Parameter	Administered dose (mg /b.w./day)	
	0	25
BUN (mg%)	16.03±1.10	18.10±1.12
Creatinine (mg%)	0.75±0.03	0.77±0.04
Uric acid (mg/gl)	2.03±0.23	2.00±0.37
Cholesterol (mg/gl)	85.33±3.18	77.00±3.15
Triglyceride (mg/gl)	244.00±60.52	178.60±6.88
SGOT (U/L)	167.33±29.85	117.30±9.02
SGPT (U/L)	53.00±7.77	44.8±3.79
Alkaline phosphatase (U/L)	24.83±6.23	21.70±4.17

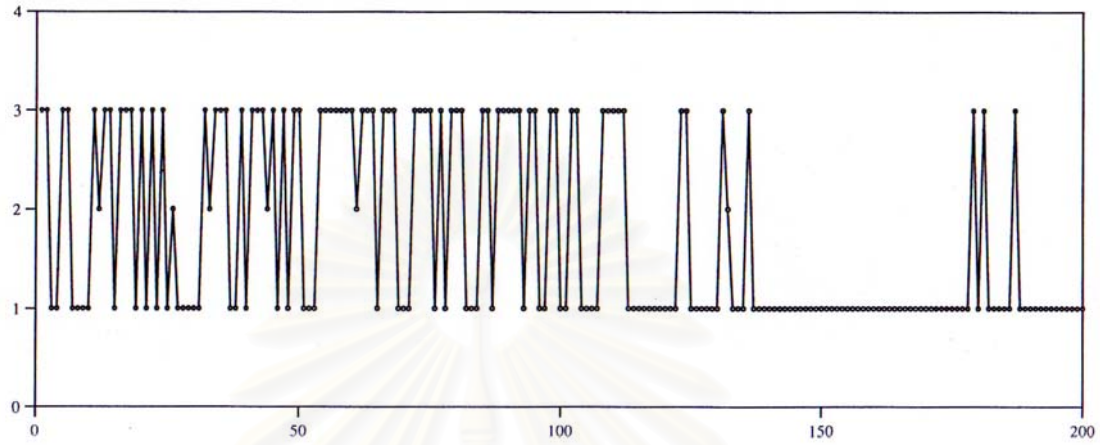
6.5 ผลต่อรอบวงสืบพันธุ์

เมื่อพิจารณาค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ประกอบด้วยระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส โปรอีสตรัส และอีสตรัส ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นเริ่มมีรอบวงสืบพันธุ์ที่ผิดปกติ โดยมีระยะไดอีสตรัสที่พบเฉพาะเซลล์ชนิด leukocyte เมื่อทำ vaginal smear ยาวติดกันนาน 40 วันตั้งแต่วันที่ 135 ของการทดลอง (รูปที่ 36) แต่หนูในกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวเริ่มมีรอบวงสืบพันธุ์ที่ผิดปกติคือ พบระยะไดอีสตรัสยาวติดต่อกันนานประมาณ 30 วัน ตั้งแต่ประมาณวันที่ 150 ของการทดลอง (รูปที่ 37) นั่นคือช่วงที่เริ่มเปลี่ยนเข้าสู่ช่วงไม่พบรอบวงสืบพันธุ์ของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวช้ากว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความยาวรอบวงสืบพันธุ์ จำนวนวันที่พบ ระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส โปรอีสตรัสและอีสตรัส ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น และหนูที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้นจำนวนวันที่พบระยะโปรอีสตรัส ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 23)

รูปที่ 36 แสดงค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูแรทแก่เพศเมีย กลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น

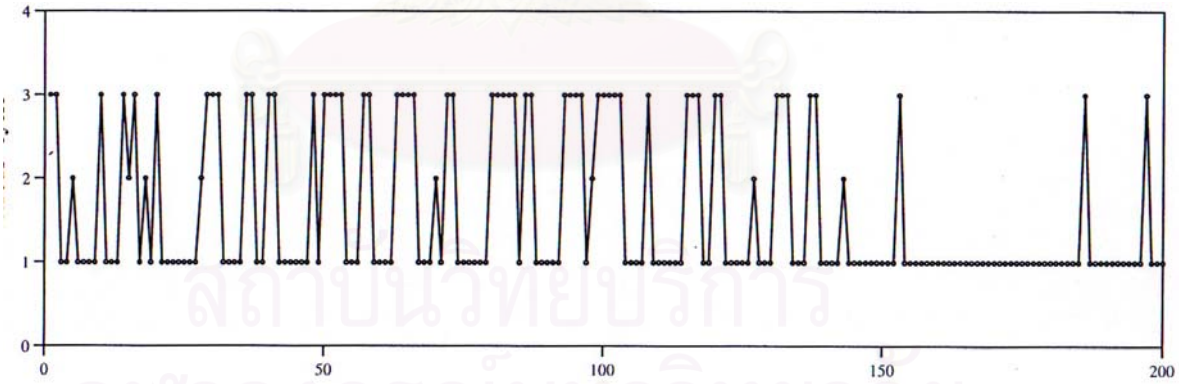
1, 2, 3 หมายถึง ระยะเมตอีสตรัสและไดอีสตรัส ระยะโปรอีสตรัส ระยะอีสตรัส ตามลำดับ



วันที่ทำการทดลอง

รูปที่ 37 แสดงค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูแรทแก่เพศเมีย กลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน

1, 2, 3 หมายถึง ระยะเมตอีสตรัสและไดอีสตรัส ระยะโปรอีสตรัส ระยะอีสตรัส ตามลำดับ



วันที่ทำการทดลอง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 23 แสดงค่าเฉลี่ย (Mean± SE) ของความยาวรอบวงสืบพันธุ์ จำนวนวันที่พบ ระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส ระยะโปรอีสตรัสและอีสตรัส ของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก./วัน

* หมายถึง จำนวนวันที่พบระยะต่าง ๆ เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับจำนวนวันทั้งหมด

a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ได้รับน้ำกลั่น

Estrous cycle (days)	Administered dose (mg /B.W./day) 0	25
Cycle length	7.80±0.41	6.89±0.32
Metestrus	49.32±5.81 (25.00±2.87)	40.80±5.46 (21.30±1.30)
Diestrus	71.50±4.98 (36.67±2.65)	72.70±3.91 (38.00±1.99)
Proestrus	21.83±0.55 (11.00±0.31)	28.50±1.81[a] (14.80±0.89)
Estrus	52.00±8.16 (26.67±4.13)*	50.20±3.89 (26.20±2.04)

6.6 ผลต่อปริมาณฮอร์โมน LH, FSH และ E_2 ในซีรัม

เนื่องจากหนูที่ใช้ในการทดลองชุดนี้เป็นหนูที่ยังมีรอบวงสืบพันธุ์อยู่ และปริมาณฮอร์โมน LH FSH และ E_2 จะแกว่งไกวตามระยะของรอบวงสืบพันธุ์ ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนจึงแบ่งออกตามระยะในรอบวงสืบพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณฮอร์โมน LH, FSH และ E_2 ในแต่ละระยะของรอบวงสืบพันธุ์ คือ ระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส โปรอีสตรัสและอีสตรัส ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณฮอร์โมน LH, FSH และ E_2 ในแต่ละระยะของรอบวงสืบพันธุ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้น ปริมาณ FSH ในระยะโปรอีสตรัส ของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 24)

ตารางที่ 24 แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมน LH FSH และ E_2 ในแต่ละระยะของรอบวงสืบพันธุ์ (Mean± SE) ของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาว a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น

Estrous stage	LH (mg/ml)		FSH (pg/ml)		E_2 (ng/ml)	
	WKK 0	WKK 25	WKK 0	WKK 25	WKK 0	WKK 25
Metestrus	0.68±0.18	0.90±0.40	2867.84±377.78	3323.90±782.63	1.02±0.73	0.30±0.06
Diestrus	0.58±0.08	0.54±0.10	1677.05±233.07	1660.87+200.06	0.63±0.15	0.44±0.06
Proestrus	0.49±0.09	0.57±0.09	1073.08±266.71	2828.56±468.33[a]	0.79±0.23	0.42±0.11
Estrus	0.83±0.08	0.71±0.19	3487.86±1435.28	2596.43±465.64	0.40±0.05	0.62±0.23

6.7ผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อ

ผลต่อเนื้อเยื่อตับ

หนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณ zone 1 โดยมีโครงสร้างที่มีเป็น hepatic lobule มี central vein อยู่ตรงกลาง และเซลล์ตับไม่เรียงตัวแนวรัศมี (radiate) ออกจาก central vein ช่อง sinusoid ไม่ชัดเจน พบเซลล์ตับเกิด hydrophic swellign เซลล์มีขนาดใหญ่และกลมไซโตพลาสมติดสีจาง แต่นิวเคลียสยังคงไม่เปลี่ยนแปลง และพบบางเซลล์เกิดการตายในลักษณะ karyolysis (รูปที่ 38-ก)

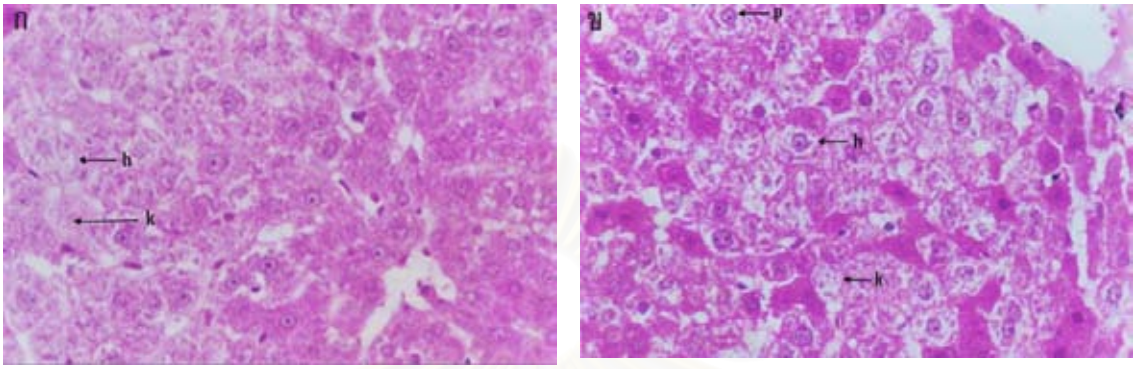
ความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณ zone 1 และ 2 โดยมีโครงสร้างที่มีเป็น hepatic lobule มี central vein อยู่ตรงกลาง และเซลล์ตับไม่เรียงตัวแนวรัศมี (radiate) ออกจาก central vein ช่อง sinusoid ไม่ชัดเจน พบเซลล์ตับเกิด hydrophic swellign เซลล์มีขนาดใหญ่และกลมไซโตพลาสมติดสีจาง แต่นิวเคลียสยังคงไม่เปลี่ยนแปลง บางเซลล์พบ pignotic nucleaus และพบบางเซลล์เกิดการตายในลักษณะ karyolysis และ diffuse necrosis เซลล์ติดสีชมพูเป็นอิโอสิโนฟิลิกไซโตพลาสม พบ pignotic nucleaus หรือไม่พบนิวเคลียส (รูปที่ 38-ข)

ความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณ zone 1 และ 2 โดยมีโครงสร้างที่มีเป็น hepatic lobule มี central vein อยู่ตรงกลาง และเซลล์ตับไม่เรียงตัวแนวรัศมี (radiate) ออกจาก central vein ช่อง sinusoid ไม่ชัดเจน พบเซลล์ตับมีการสะสมของ fat droplet แต่นิวเคลียสยังคงไม่เปลี่ยนแปลง (รูปที่ 39-ค) และพบเซลล์ตับเกิด พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับในลักษณะเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) เป็นเซลล์ที่มีการเพิ่มจำนวนมาก และไม่พบลักษณะของเซลล์เดิม เช่น เซลล์ตับพบมีการเจริญเพิ่มจำนวนมากและมีขนาดเล็กติดสีเข้ม นิวเคลียสมีขนาดใหญ่และใส เซลล์กำลังแบ่งตัว พบเซลล์มี 2 นิวเคลียส เซลล์ตับอยู่อัดแน่นรวมกันเป็นกลุ่ม เซลล์ที่บุท่อมีการเจริญเพิ่มจำนวนมากเบียดกันแน่นและไม่เห็นขอบเขตของเซลล์ที่ชัดเจน ไซโตพลาสมติดสีจาง นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ติดสีจาง ไม่พบนิวคลีโอลัส (รูปที่ 39-ง)

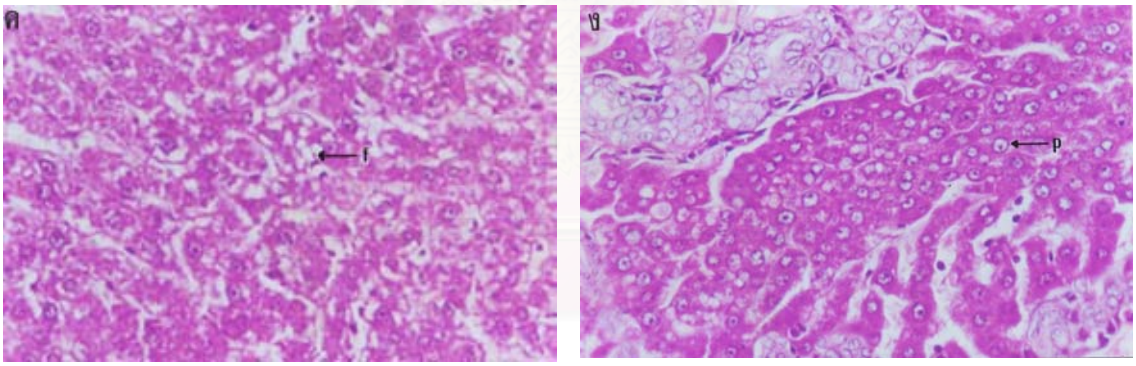
ความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณรอบเส้นเลือดและ central vein โดยมีโครงสร้างที่มีเป็น hepatic lobule มี central vein อยู่ตรงกลาง และเซลล์ตับไม่เรียงตัวแนวรัศมี (radiate) ออกจาก central vein ช่อง sinusoid ไม่ชัดเจน sinusoid dilation ดันให้เซลล์ตับมีการหดตัว เกิด perichromatin clumping มี hyaline granule (รูปที่ 40-จ และ ฉ)

ความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณใต้แคปซูลหุ้มตับ มีโครงสร้างที่ไม่เป็น hepatic lobule เซลล์ตับไม่เรียงตัวแนวรัศมี ออกจาก central vein ช่อง sinusoid ไม่ชัดเจน เซลล์ตับเกิด hydrophic swelling เซลล์มีขนาดใหญ่และกลมไซโตพลาสมติดสีจาง แต่นิวเคลียสยังคงไม่เปลี่ยนแปลง และพบบางเซลล์เกิดการตายในลักษณะ karyolysis อิโอสิโตฟิลิกไซโตพลาสมกับ pignotic nucleaus (รูปที่ 41-ช)

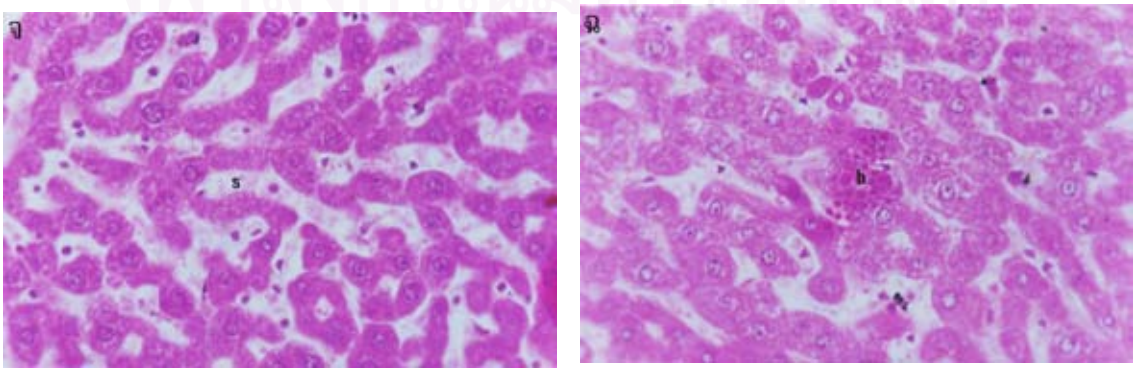
รูปที่ 38 แสดงลักษณะความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณ zone 1 (ก) zone 1 และ 2 (ข) ของหนูแรทแก่เพศเมียอายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน
รูป ก และ ข แสดง hydrophic swelling (h) karyolysis (k) perichromatin clumping (p)
กำลังขยาย ก และ ข x 132 ย้อมสี H&E



รูปที่ 39 แสดงลักษณะความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณ zone 1 และ 2 ของหนูแรทแก่เพศเมียอายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน
รูป ค แสดง fat droplet ใน hepatocyte (f) perichromatin clumping (p)
รูป ง แสดง บริเวณเนื้อเยื่อตับที่เกิดมะเร็ง กำลังขยาย ค และ ง x 132 ย้อมสี H&E

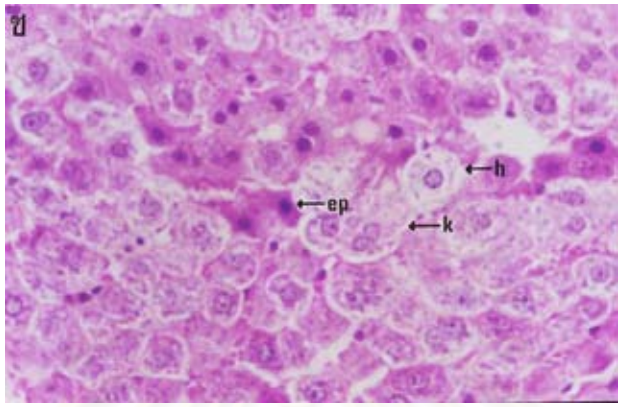


รูปที่ 40 แสดงลักษณะความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณรอบเส้นเลือดและ central vein ของหนูแรทแก่เพศเมียอายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน
รูป จ และ ฉ แสดง sinusoid dilation (s) hyaline granule (h) กำลังขยาย จ และ ฉ x 132 ย้อมสี H&E



รูปที่ 41 แสดงลักษณะความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเกิดขึ้นในบริเวณใต้แคปซูล ของหนูแรทแก่เพศเมียอายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน

รูปช แสดง hydrophic swelling (h) karyolysis (k) eosinophilic cytoplasm และ pignotic nucleus (ep) กำลังขยาย ช x 132 ย้อมสี H&E



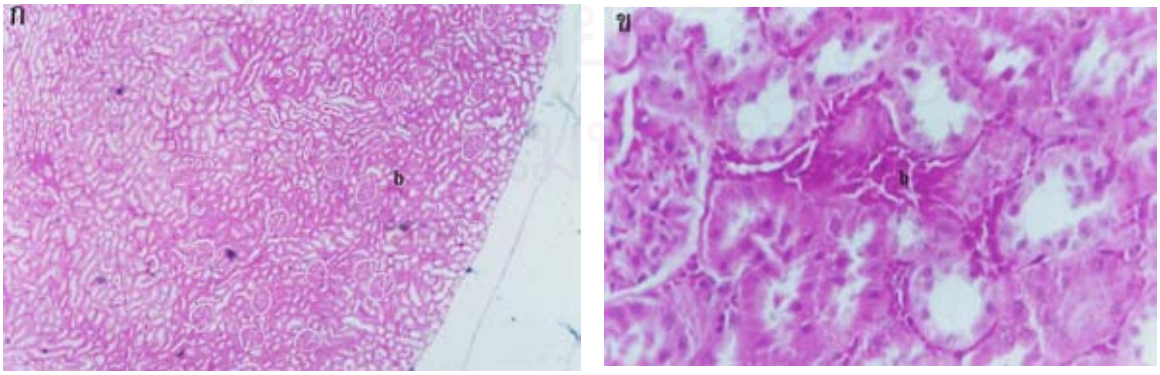
ผลต่อเนื้อเยื่อไต

เมื่อเปรียบเทียบเนื้อเยื่อไตของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่ามีความผิดปกติของเนื้อเยื่อไตของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวในเส้นเลือดคือ พบเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในเส้นเลือดเป็นจำนวนมาก (รูปที่ 42-ก และ ข)

รูปที่ 42 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน

รูป ก และ ข แสดง blood congestion (b)

กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข X 33 ย้อมสี H&E



ผลต่อเนื้อเยื่อมดลูก

หนูแรทแก่เพศเมีย (อายุ 556 วัน) กลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและที่ได้รับกวาวเครือขาว พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของมดลูกในชั้น endometrium เพียงระยะเดียวคือ ไดอีสตรัส

ระยะไดอีสตรัส

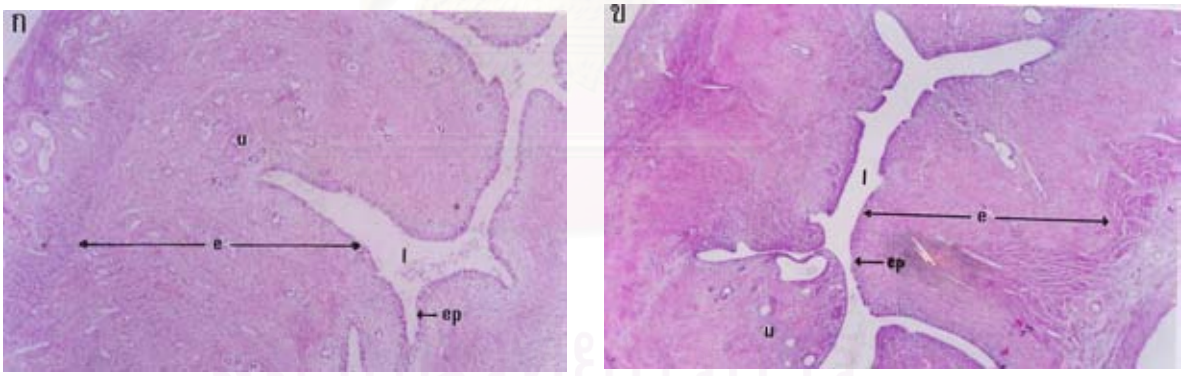
หนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (รูปที่ 43-ก): endometrium ไม่มีการเจริญมากพบ uterine lumen มีการหยักไปมาลดลง และ epithelial cell พบ mitotic figure เซลล์เริ่มผิดปกติ และพบเซลล์บุ uterine gland ในชั้น endometrium stroma เริ่มตายเนื่องจากเส้นเลือดที่มาเลี้ยงน้อยลง

หนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว (รูปที่ 43-ข): endometrium ยังคงมีการเจริญอยู่เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นในระยะเดียวกัน พบ utrine lumen มีการหยักเป็นร่องไปมา endometrium stroma ยังคงหนามีเส้นเลือดมาเลี้ยงมาก uterine gland มีจำนวนมากและมีการเจริญ พบ lumen ของ uterine gland มีขนาดใหญ่ เพราะเซลล์ที่บุ uterine gland สร้างสารเก็บไว้ใน lumen

รูปที่ 43 ภาพเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างผนังของมดลูกของหนูแรทแก่เพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ก) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ข) ในระยะไดอีสตรัส

รูป ก และ ข แสดง uterine lumen (l), endometrium (e), epithelial cell (ep), uterine gland (u)

กำลังขยาย ก และ ข x 13.2 ย้อมสี H&E



ผลต่อเนื้อเยื่อรังไข่

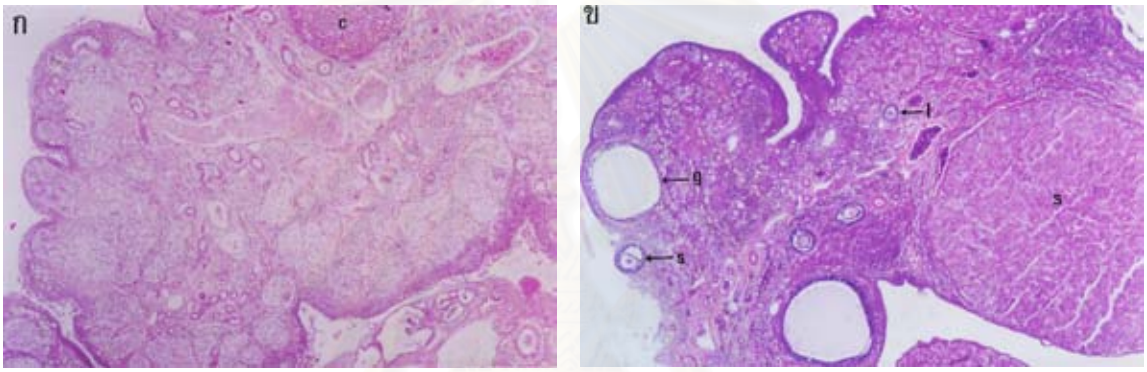
หนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและที่ได้รับกวาวเครือขาว พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิลในรังไข่เพียงระยะเดียวคือ ไดอีสตรัส เนื่องจากกำลังขยายต่ำสุดที่ใช้คือ x 13.2 สามารถสังเกตรังไข่ได้เกือบหมดทุกบริเวณขาดเพียงบริเวณขอบ ๆ ที่พบ corpus luteum ขนาดใหญ่ ซึ่งอาจขาดหายเพียงบางส่วน ทำให้สามารถเปรียบเทียบการเจริญและจำนวนฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูทั้งสองกลุ่มได้

ระยะไดอีสตรัส

หนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น (รูปที่ 44-ก): รังไข่มีการเจริญน้อย ไม่พบ growing follicles พบแต่ corpus luteum และ atretic follicle เป็นจำนวนมาก

หนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว (รูปที่ 44-ข): มีการเจริญของรังไข่ พบ growing follicles จำนวนมาเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นที่ระยะเดียวกัน growing follicle ที่พบเช่น late primary follicle secondary follicle และ graafian follicle พบ corpus luteum ยังคงมีเส้นเลือดมาเลี้ยงรังไข่เป็นจำนวนมาก

รูปที่ 44 ภาพเปรียบเทียบลักษณะฟอลลิเคิลในรังไข่ของหนูแรทแก่เพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับน้ำกลั่น 0.5 มล/วัน (ก) และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน (ข) ในระยะไดอีสตรัส
รูป ก และ ข แสดง late primary follicle (l) secondary follicle (s) graafian follicle (g)
corpus luteum (c)
กำลังขยาย ก และ ข x 13.2 ย้อมสี H&E



ผลต่อเนื้อเยื่อมดลูกและรังไข่ผิดปกติ

พบในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวเพียงหนึ่งตัว ในระยะไดอีสตรัส

<u>เนื้อเยื่อมดลูกผิดปกติ</u>

พบกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวนมาก แทรกในบริเวณ lumen เช่น neutrophil เม็ดเลือดขาวที่แทรกในเนื้อเยื่อของ endometrium และ myometrium คือ mast cell plasma cell macrophage และ histiocyte ภายในพบ hemosiderin pigment (รูปที่ 45-ก และ ข)

<u>เนื้อเยื่อรังไข่ผิดปกติ</u>

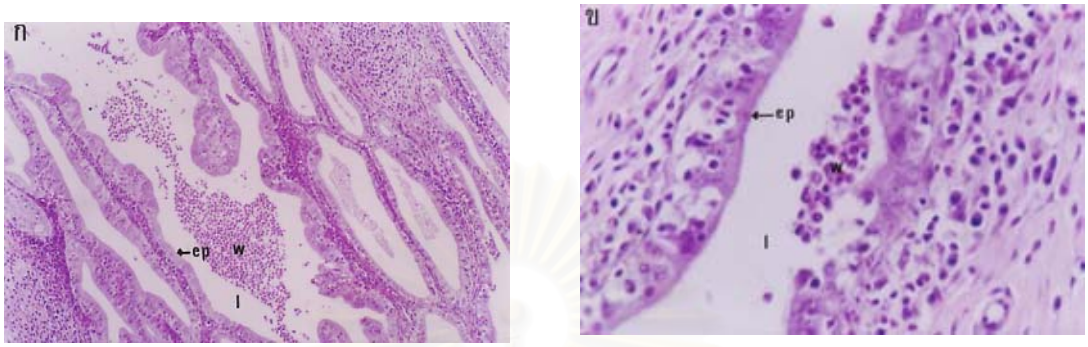
รังไข่พบกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวนมาก แทรกใน lumen คือ neutrophil mast cell plasma cell macrophage และ histiocyte ภายในพบ hemosiderin pigment (รูปที่ 46-ก, ข และ 47ค)

พบหนูมีรังไข่ขนาดใหญ่ภายใน follicle พบมีของเหลวสะสมมากมีขนาดใหญ่ (รูปที่ 47-ง)

รูปที่ 45 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมดลูกผิดปกติของหนูแรทแก่เพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน ในระยะไดอีสตรัส

รูป ก และ ข แสดง บริเวณที่พบ white blood cells (w) lumen (l) epithelial cell (ep)

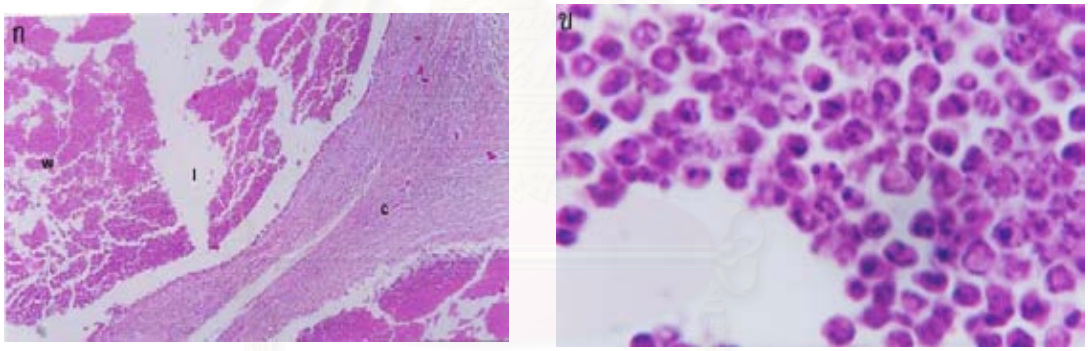
กำลังขยาย ก x 33.3 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



รูปที่ 46 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อรังไข่ผิดปกติของหนูแรทแก่เพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน ในระยะไดอีสตรัส

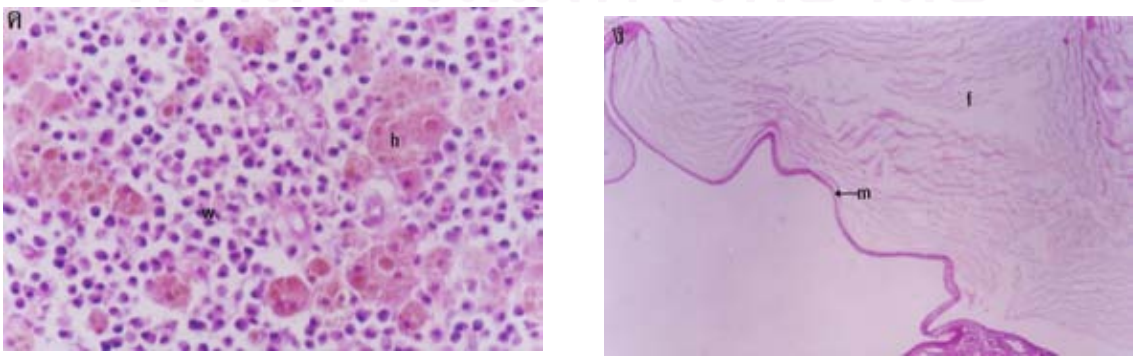
รูป ก และ ข แสดง บริเวณที่พบ white blood cells (w) lumen (l) connective tissue (c)

กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



รูปที่ 47 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อรังไข่ผิดปกติของหนูแรทแก่เพศเมีย อายุ 556 วัน ภายหลังจากได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 200 วัน ในระยะไดอีสตรัส รูป ค และ ง แสดง บริเวณที่พบ white blood cells (w) hemosiderin pigment (h) follicle มีของเหลวสะสมมาก (f) เยื่อหุ้ม follicle (m)

กำลังขยาย ค x 132 และ ง x 13.2 ย้อมสี H&E



การทดลองที่ 7 การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย

จากการเปรียบเทียบผลการทดลองของหนูกลุ่มที่ 1 และ 2 คือหนูกลุ่มที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง หลังจากนั้นจะได้รับน้ำกลั่น (กลุ่มที่ 1) หรือกวาวเครือขาว (กลุ่มที่ 2) นาน 150 วัน และผลการทดลองของหนูกลุ่มที่ 3 และ 4 คือหนูกลุ่มที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 91 ของการทดลอง ในช่วงเวลาที่หนูได้รับน้ำกลั่น (กลุ่มที่ 3) หรือกวาวเครือขาว (กลุ่มที่ 4) นาน 240 วัน ได้ผลดังนี้

7.1 เปรียบเทียบผลการทดลองของหนูกลุ่มที่ 1 และ 2

7.1.1 ผลต่อน้ำหนักตัวและลักษณะภายนอกที่ปรากฏ

หนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันโดยเปรียบเทียบน้ำหนักตัวของหนูทั้งสองกลุ่มที่สัปดาห์เดียวกันตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึง สัปดาห์ที่ 21 พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

หนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูได้รับกวาวเครือขาวมีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วมาก โดยดูจากน้ำหนักตัวหนูทั้งสองกลุ่มที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตลอดการทดลอง โดยหนูทั้งสองกลุ่มน้ำหนักตัวเริ่มเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 2 เป็นต้นไปจนถึงสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัวเริ่มต้นที่ทำการทดลอง (สัปดาห์ที่ 1)

7.1.2 จำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อและจำนวนก้อนเนื้อต่อตัวหนู

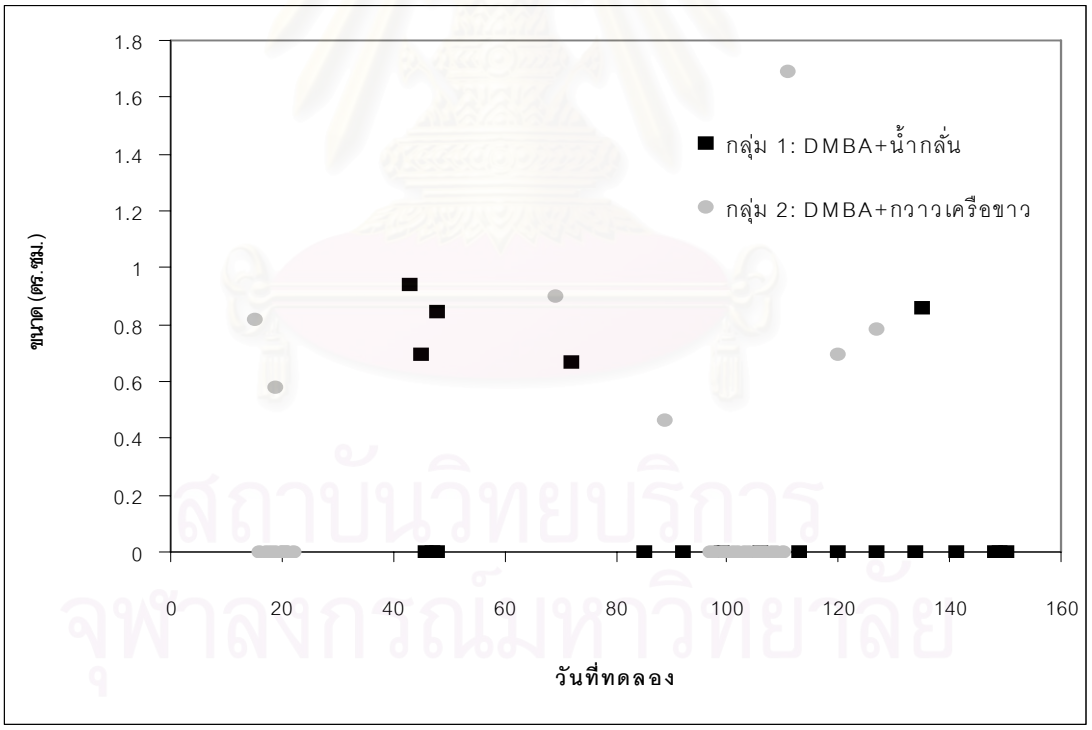
จากการสังเกตการณ์เกิดก้อนเนื้อในวันแรกของหนู พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบก้อนเนื้อช้ากว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว วันแรกที่พบก้อนเนื้อในหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นคือ ระหว่างวันที่ 43-135 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 78.87 ± 12.49 และในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวพบ ระหว่างวันที่ 15-127 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 71.50 ± 16.45 ของการทดลองตามลำดับ แต่เมื่อนำค่าดังกล่าวไปทดสอบทางสถิติ พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (รูปที่ 48)

จากหนูที่ทำการทดลองทั้งหมดจำนวน 25 ตัว ต่อกลุ่ม พบว่าหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวมีก้อนเนื้อจำนวน 7 ตัว (28% ของจำนวนทั้งหมด) ซึ่งมากกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นที่มีก้อนเนื้อจำนวน 5 ตัว (20% ของจำนวนทั้งหมด) เมื่อนำค่าดังกล่าวมาทดสอบทางสถิติ พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนก้อนเนื้อต่อตัวหนู พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นมีจำนวนก้อนเนื้อเป็น 1.40 ก้อนต่อตัว แต่หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมี 1.14 ก้อนต่อตัว โดยหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวที่พบก้อนเนื้อจำนวน 1 ก้อน มี 6 ตัว (24% ของจำนวนทั้งหมด) และหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบ 4 ตัว (16% ของจำนวนทั้งหมด) เมื่อนำค่าดังกล่าวมาทดสอบทางสถิติ โดยใช้ Chi-square พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) พบก้อนเนื้อมากกว่า 1 ก้อน ในหนูทั้งสองกลุ่ม 1 ตัวเท่ากัน (ตารางที่ 25)

ตารางที่ 25 แสดงวันที่เริ่มพบก้อนเนื้อ จำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อ จำนวนก้อนเนื้อต่อตัวหนู จำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อ 1 ก้อนต่อตัว และจำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อมากกว่า 1 ก้อนต่อตัว ของหนูแรทที่ได้รับน้ำกลั่น หรือกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง

Tumor appearance	Administered dose (mg /b.w./day)	
	0	25
First day of tumor detected (mean ± SE)	43-135 (78.87±12.49)	15-127 (71.50±16.45)
No. of rats found tumor (%)	5 (20)	7 (28)
No. of tumor/rat	1.40	1.14
No. of rat bearing 1 tumor (%)	4 (16)	6 (24)
No. of rat bearing > 1 tumor (%)	1 (4)	1 (4)

รูปที่ 48 แสดงวันแรกที่พบก้อนเนื้อและเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ (Mean±SE) ของหนูแรทที่ได้รับน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง

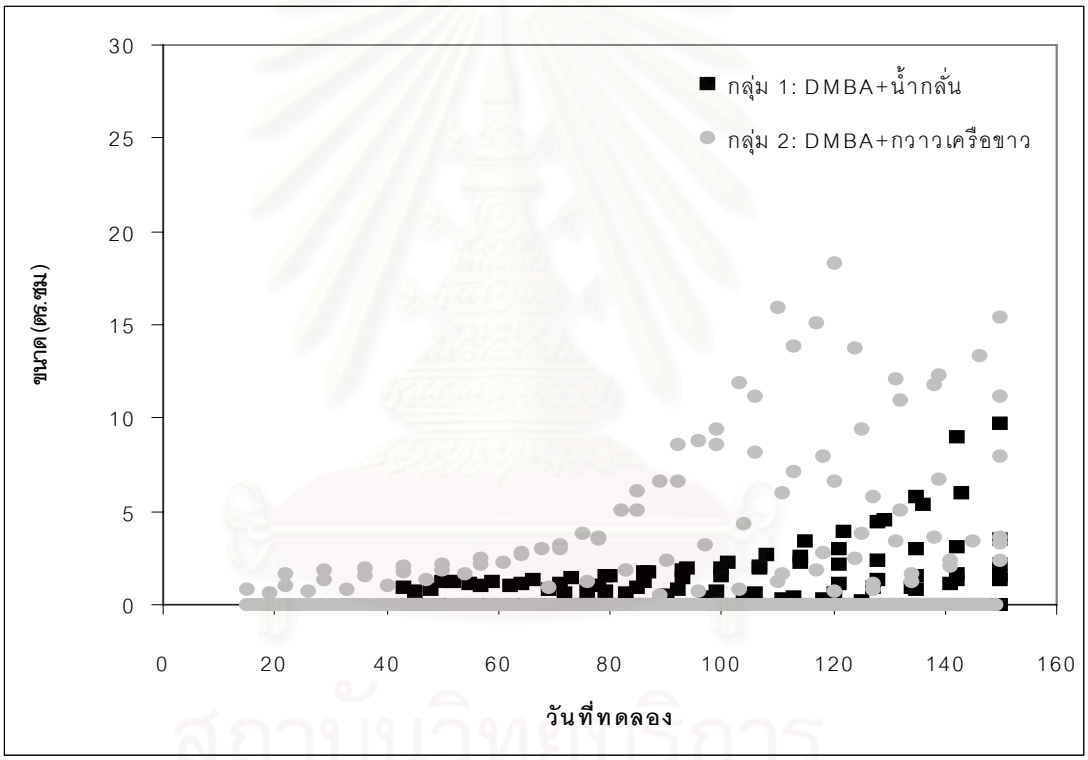


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7.1.3 ตำแหน่งที่พบก้อนเนื้อและขนาดก้อนเนื้อ

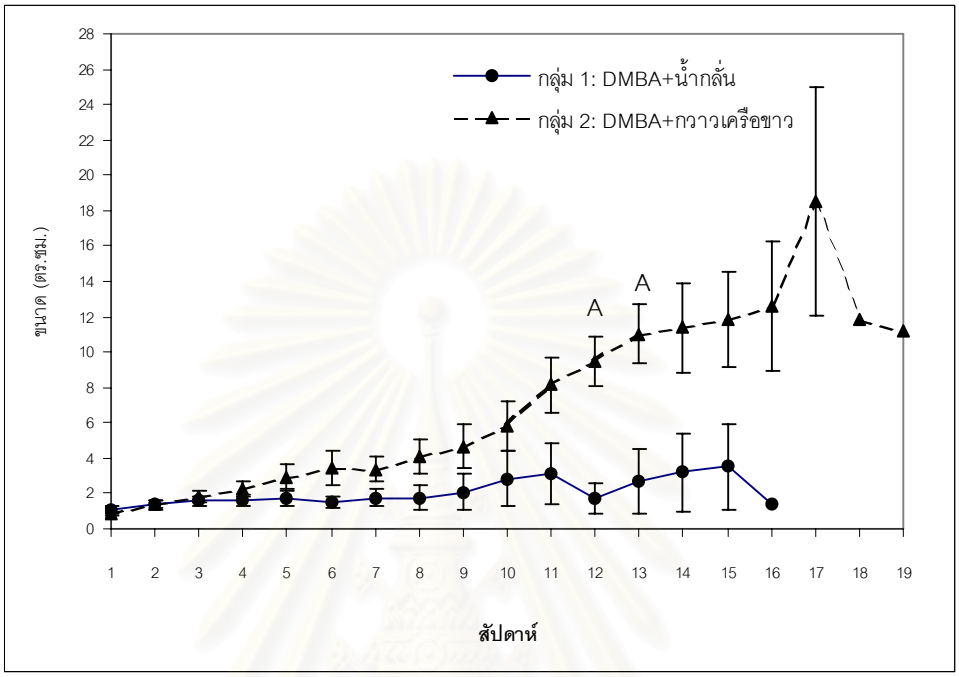
หนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบก้อนเนื้อกระจายไปตามตำแหน่งต่าง ๆ ทั้งในบริเวณเต้านม และบริเวณขา โดยพบที่บริเวณเต้านมมากกว่าที่บริเวณขา จากกราฟค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ พบว่า หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีการเพิ่มขนาดของก้อนเนื้ออย่างรวดเร็ว (รูปที่ 49) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อของหนูทั้งสองกลุ่มที่สัปดาห์เดียวกันทุก ๆ สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 7-9 แล 11-13 (วันที่ 49-63 และ 77-91) หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อใหญ่กว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (รูปที่ 50)

รูปที่ 49 แสดงค่าเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ (Mean$\pm$SE) ในทุก ๆ สัปดาห์ ของหนูแรทที่ได้รับน้ำกลั่น หรือกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 50 แสดงค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ (Mean±SE) ในทุก ๆ สัปดาห์ ของหนูแรทที่ได้รับน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง เมื่อให้วันแรกที่พบเป็นวันที่ 1 a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น



7.1.4 ลักษณะของก้อนเนื้อ

จากการสังเกตลักษณะของก้อนเนื้อ ได้แก่ ขอบเขต ลักษณะพื้นผิว และความอ่อนแข็งของก้อนเนื้อ โดยการคลำสามารถแบ่งการเปลี่ยนแปลงลักษณะของก้อนเนื้อในหนูทั้งสองกลุ่มออกได้เป็น 2 ช่วงคือ

หนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น

ในช่วงแรกตั้งแต่สัปดาห์แรกจนถึงประมาณสัปดาห์ที่ 5 จะพบลักษณะขอบเขตชัดเจน ผิวเรียบ อ่อน ขนาดเล็ก และเคลื่อนที่ได้ มีการเพิ่มขนาดของก้อนเนื้อช้า

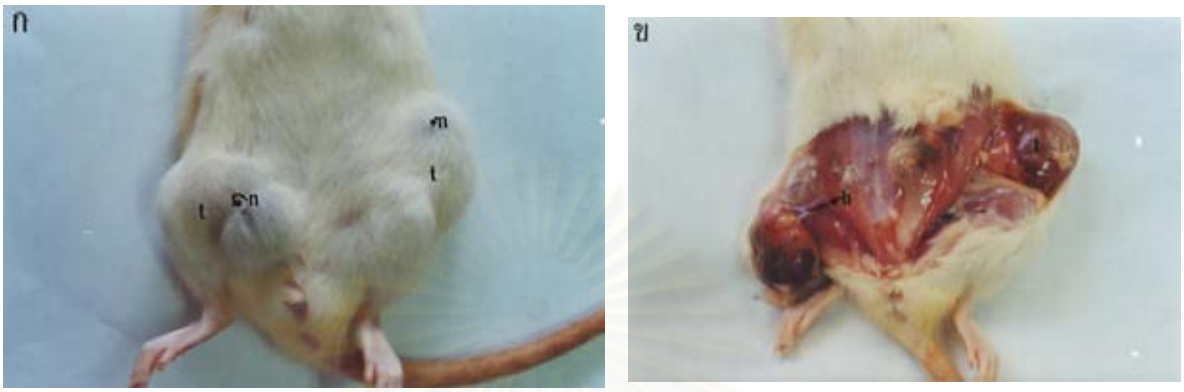
ช่วงที่สอง หลังจากนั้นก้อนเนื้อเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยเริ่มมีผิวขรุขระ ก้อนมีความแข็งขึ้น ก้อนเริ่มมีลักษณะพบเป็นหลายก้อนอยู่รวมกัน มีเส้นเลือดมาเลี้ยงก้อนมากขึ้นทำให้เห็นก้อนเนื้อเป็นสีม่วง เคลื่อนที่ได้น้อย มีการเพิ่มขนาดของก้อนเนื้อเร็ว และพบว่าเมื่อมีการเพิ่มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 2 เซนติเมตร ก้อนจะมีการแตกออกเป็นแผลเปิด และมีการติดเชื้อในเวลาต่อมา ช่วงนี้หนูจะมีการแทะเล็มแผล ทำให้ปากแผลกว้าง ต่อมาแผลจะแห้ง และพบว่าหนูที่มีก้อนเนื้อขนาดใหญ่มากจะผอมและไม่แข็งแรง (รูปที่ 51-ก และ ข)

หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว

พบเช่นเดียวกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น แต่การเปลี่ยนแปลงในช่วงที่สองพบได้ชัดเจนในหนูเกือบทุกตัวและมีการเพิ่มขนาดของก้อนเนื้อเร็วมาก (รูปที่ 52ง)

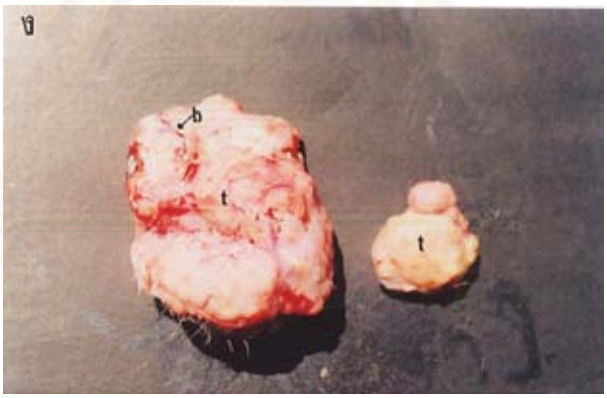
รูปที่ 51 แสดงลักษณะก้อนเนื้อของหนูแรทที่ได้รับน้ำกลั่นนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง

รูป ก และ ข แสดง ก้อนเนื้อ (t) หัวนม (n) เส้นเลือดที่มาเลี้ยงก้อนเนื้อ (b)



รูปที่ 52 แสดงลักษณะก้อนเนื้อของหนูแรทที่ได้รับกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง

รูป ง แสดง ก้อนเนื้อ (t) แผลแตก (s) เส้นเลือดที่มาเลี้ยงก้อนเนื้อ (b)



7.1.5 ผลต่อปริมาณฮอร์โมน E_2 ในซีรัม

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมน E_2 ในแต่ละระยะรอบวงสืบพันธุ์ คือ ระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส โปรอีสตรัสและอีสตรัส ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณฮอร์โมน E_2 ในระยะอีสตรัสของหนูทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และพบว่าฮอร์โมน E_2 ในระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส และโปรอีสตรัส ของหนูทั้งสองกลุ่มมีปริมาณต่ำมากจนไม่สามารถวัดได้

7.1.6 ลักษณะพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านม

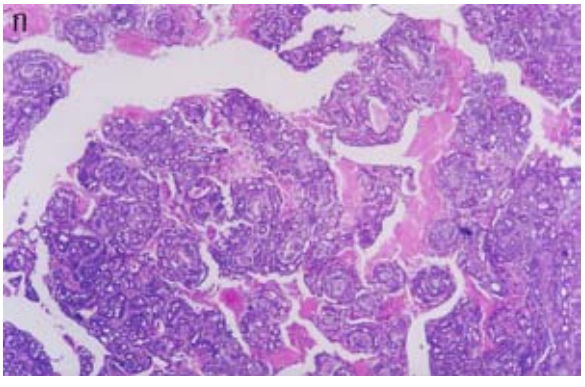
<u>หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น</u> ที่มีลักษณะของพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของเต้านมที่ไม่ปกติ พบมะเร็งเต้านมชนิดต่าง ๆ ได้แก่ พบลักษณะก้อนเนื้อบริเวณเต้านม และขา ขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.74 เซนติเมตร เมื่อนำมาศึกษาเนื้อเยื่อพบว่า ลักษณะโครงสร้างของ lobule ผิดปกติ lobule ไม่แบ่งขอบเขตชัดเจน มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเพิ่มขึ้น ภายใน alveolus เซลล์บุ (epithelial cell) มีการเพิ่มจำนวนหนาแน่นและมีโครงสร้างเปลี่ยนแปลงเป็น alveolar (รูปที่ 53-ก, ข, ค และ ง) ductular (รูปที่ 54-ก, ข และ ค) papillary (รูปที่ 55-ก และ ข) และ epithelial cell พบหนึ่งหรือหลายชั้น มีเซลล์รูปร่างและขนาดต่าง ๆ กัน (pleomorphism) ซึ่งเป็นลักษณะของ Adenocarcinoma

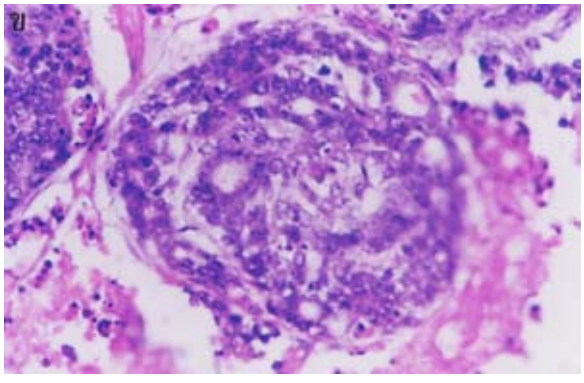
กลุ่มเซลล์มะเร็งที่ศึกษามีลักษณะดังนี้ บางเซลล์มีนิวเคลียสใหญ่และประกอบด้วยยูโครมาติน (active nucleaus) พบเซลล์ที่มี mitotic figure ปรากฏอยู่ และพบบริเวณที่มีการทำลาย necrotic cell ชนิด karyolysis ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมีเซลล์ผิดปกตินิวเคลียสมีรูปร่างกลมใหญ่แทรกระหว่างเส้นใย (รูปที่ 53-ก, และ ข) พบการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งอยู่ภายใน lumen โดยทั่วไป ลักษณะของเซลล์เป็น pleomorphism (รูปที่ 54-ข และ ค) ในสภาพนี้ยังพบการเกิดแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia) บุกรุกกระจายเข้าไปในบริเวณ alveoli และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ในหนูจำนวน 2 ตัว จากหนูทั้งหมด 25 ตัว (รูปที่ 53-ข, ค และ ง)

พบก้อนเนื้อที่ไต ผิวไตมีลักษณะเป็นก้อนนูนขนาดประมาณครึ่งหนึ่งของไตปกติมีสีซีดขาว เมื่อดูเนื้อเยื่อพบว่าในบริเวณชั้น cortex พบกลุ่มเซลล์มะเร็งแทรกตัวเป็นบริเวณกว้าง ซึ่งมีลักษณะเป็น adenocarcinoma ปนอยู่กับเนื้อเยื่อท่อหน่วยไตที่ยังปกติบางบริเวณ ในบริเวณเนื้อเยื่อมะเร็ง พบลักษณะของเซลล์เป็น pleomorphism นิวเคลียสติดสีเข้ม และพบมีเลือดออก (hemorraghe) ในบริเวณเนื้อไตใกล้กลุ่มเซลล์มะเร็ง glomerulus มีลักษณะผิดปกติ คือมีการหดตัวของ glomerulus ท่อหน่วยไตชนิดต่าง ๆ lumen มีขนาดกว้าง และเซลล์บุท่อมีการหดตัว (รูปที่ 56-ก และ ข)

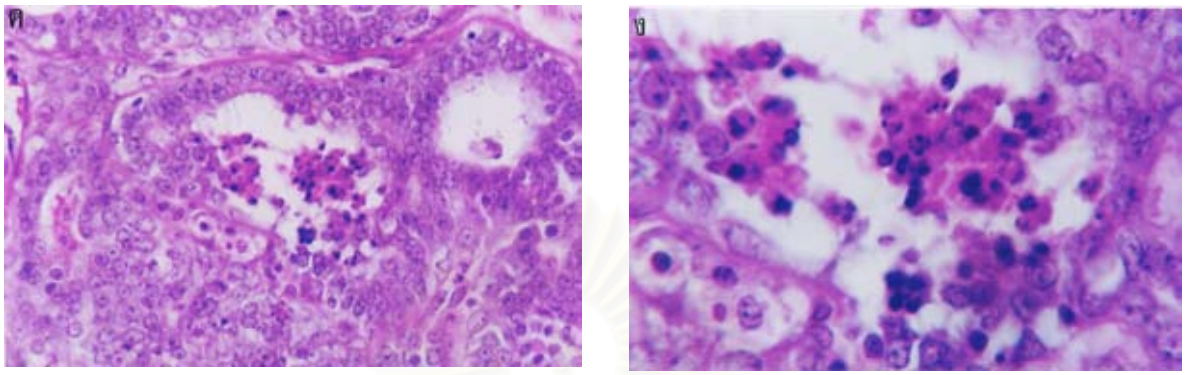
พบไตบริเวณใต้แคปซูล พบก้อนเลือดขนาดใหญ่ และท่อหน่วยไตบริเวณใต้แคปซูลมีการเปลี่ยนแปลง lumen มีขนาดกว้าง เซลล์บุท่อมีการหดตัว และ glomerulus หดตัว (รูปที่ 57-ก และ ข)

รูปที่ 53-ก และ ข ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน
กำลังขยาย ก x 33 และ ข x 132 ย้อมสี H&E

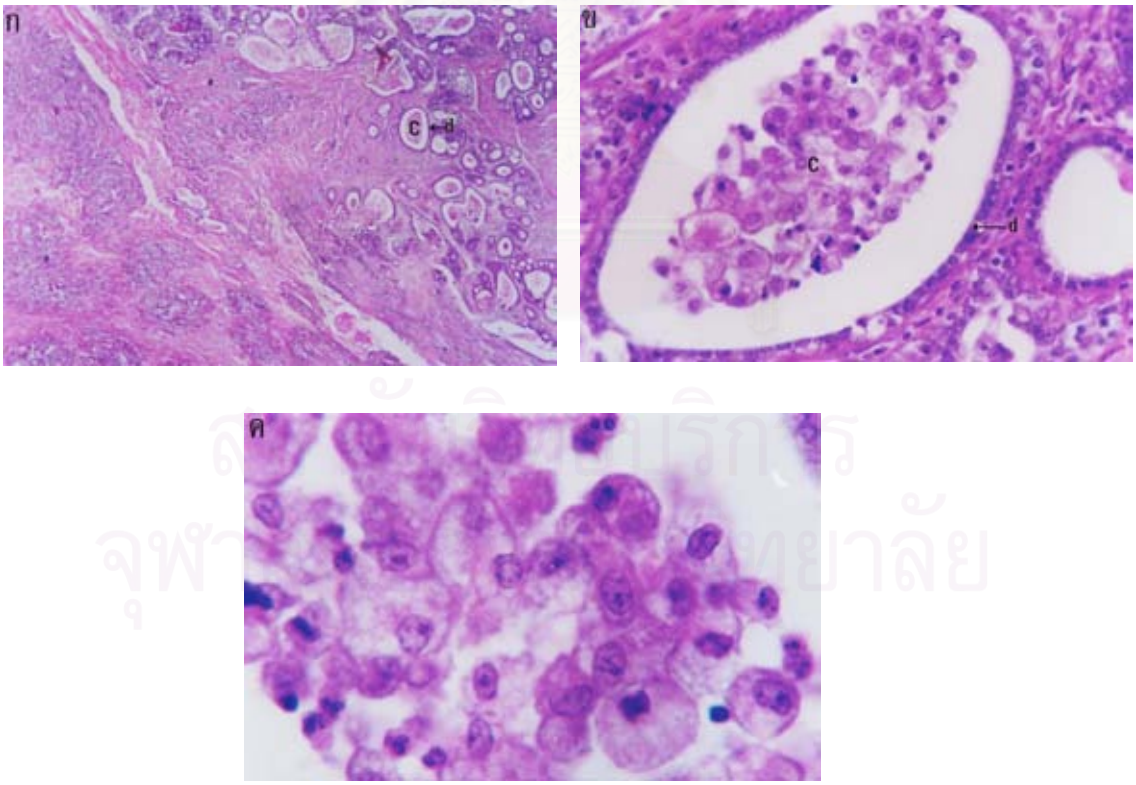




รูปที่ 53-ค และ ง ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ที่ถูกรุกรานโดย leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน
กำลังขยาย ค x 132 และ ง x 330 ย้อมสี H&E

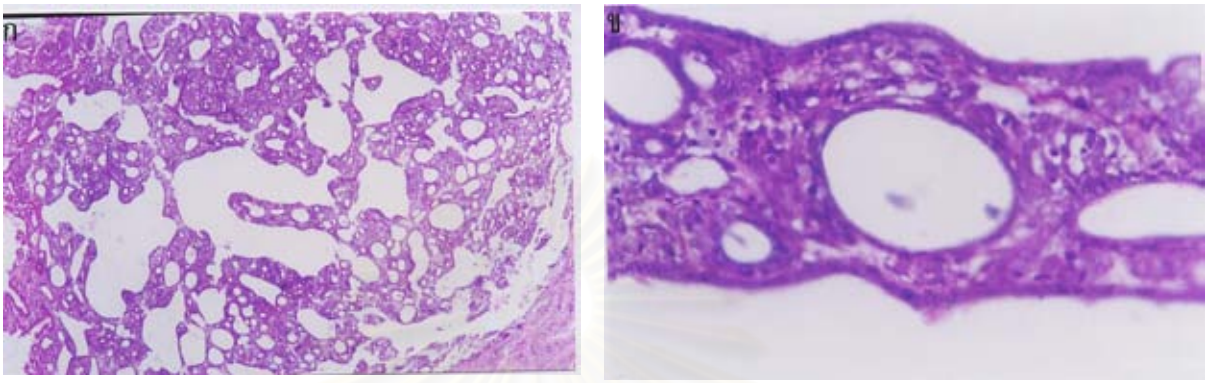


รูปที่ 54 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด ductular ที่เกิดการรุกรานของมะเร็ง ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน
รูป ก และ ข แสดง duct (d) เซลล์มะเร็ง (c) กำลังขยาย ก x 33 และ ข x 132 ย้อมสี H&E
รูป ค แสดง เซลล์มะเร็ง กำลังขยาย ค x 330 ย้อมสี H&E



รูปที่ 55-ก และ ข ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด papillary ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน

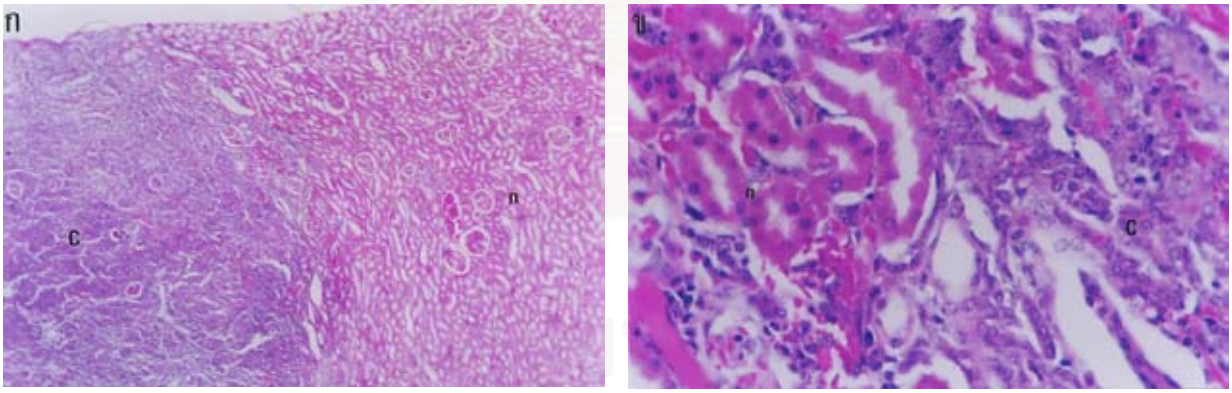
กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



รูปที่ 56 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งที่ไต ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน

รูป ก และ ข แสดง บริเวณเกิดมะเร็ง (c) บริเวณเนื้อไตปกติ (n)

กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E

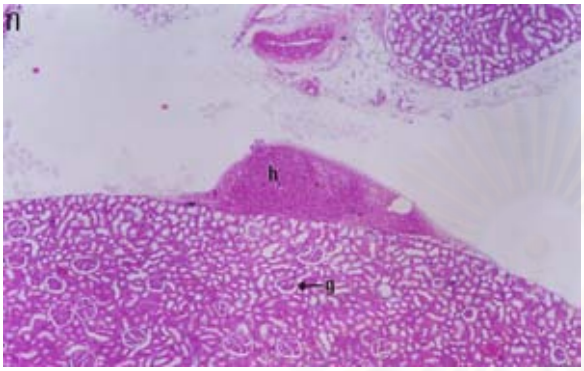


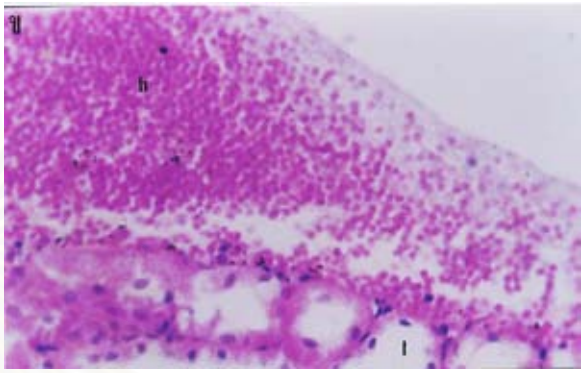
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 57 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตผิดปกติ subcapsular hemorroghic ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย กลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับน้ำกลั่น นาน 150 วัน

รูป ก และ ข แสดง hemorraghe (h) lumen dilation (l) glomerulus contraction (g)

กำลังขยาย ก x 33 และ ข x 132 ย้อมสี H&E





หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว ที่มีลักษณะของพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของเต้านมที่ไม่ปกติ พบมะเร็งเต้านมชนิดต่าง ๆ ได้แก่

พบลักษณะก้อนเนื้อบริเวณเต้านม และขา ขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4.88เซนติเมตร เมื่อนำมาศึกษาเนื้อเยื่อพบว่า ลักษณะโครงสร้างของ lobule ผิดปกติ lobule ไม่แบ่งขอบเขตชัดเจน มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเพิ่มขึ้น ภายใน alveolus เซลล์บุ (epithelial cell) มีการเพิ่มจำนวนหนาแน่นและมีโครงสร้างเปลี่ยนแปลงเป็น alveolar (รูปที่ 58-ก, ข และ ค) ductular (รูปที่ 59-ก และ ข) papillary (รูปที่ 60-ก และ ข) และ epithelial cell พบหนึ่งหรือหลายชั้น มีเซลล์รูปร่างและขนาดต่าง ๆ กัน (pleomorphism) ซึ่งเป็นลักษณะของ Adenocarcinoma

กลุ่มเซลล์มะเร็งที่ศึกษามีลักษณะดังนี้ บางเซลล์มีนิวเคลียสใหญ่และประกอบด้วยยูโครมาติน (active nucleaus) พบเซลล์ที่มี mitotic figure ปรากฏอยู่ ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมีการเพิ่มจำนวนมากมีเซลล์ผิดปกติ นิวเคลียสมีรูปร่างกลมใหญ่แทรกระหว่างเส้นใย (รูปที่ 58-ข และ ค รูปที่ 59-ก และ ข และรูปที่ 60-ก และ ข) ในสภาพนี้ยังพบการเกิดแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (รูปที่ 61-ก และ ข) พบการรุกรามของ leukemia ในหนู 2 ตัว จากหนูทั้งหมด 25 ตัว พบบริเวณเต้านมที่เป็นมะเร็งและอวัยวะต่าง ๆ

พบไตมีสีน้ำตาลคล้ำ เมื่อดูพบ leukemia ลักษณะของเซลล์เป็น pleomorphism นิวเคลียสติดสีเข้ม ในบริเวณเนื้อไตระหว่าง renal tubule (รูปที่ 62-ก และ ข)

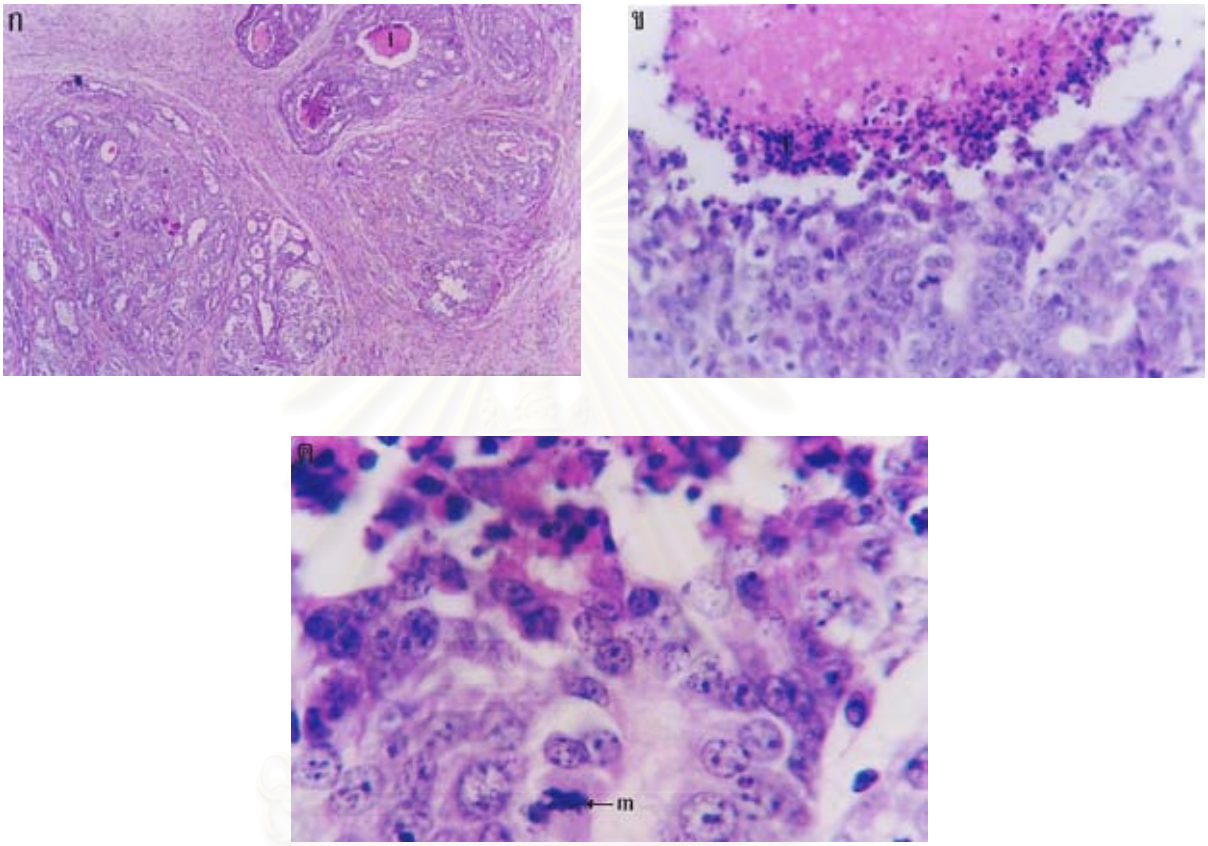
พบตับโตและมีสีน้ำตาลคล้ำ เมื่อดูพบ leukemia ลักษณะของเซลล์เป็น pleomorphism นิวเคลียสติดสีเข้ม ในบริเวณ portal triad central vein และ sinusoid (รูปที่ 63-ก, ข)

พบม้ามโตและมีสีคล้ำ เมื่อดูพบ leukemia ลักษณะของเซลล์เป็น pleomorphism นิวเคลียสติดสีเข้ม ในบริเวณเนื้อเยื่อม้าม พบ megakaryocytes (รูปที่ 64-ก และ ข)

รูปที่ 58 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับกวาวเครือขาว นาน 150 วัน

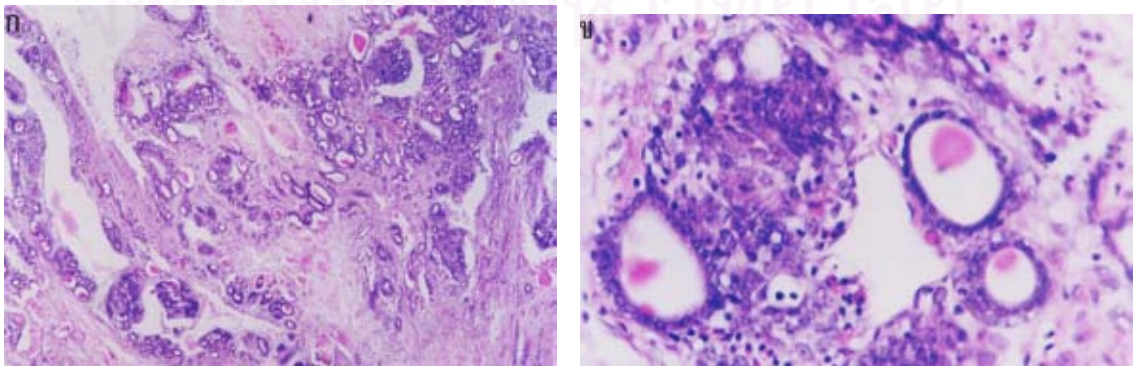
รูป ก และ ข แสดง leukemia (l) กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E

รูป ค แสดง การรุกรามโดย leukemia (l) mitotic figure (m) กำลังขยาย ค x 330 ย้อมสี H&E



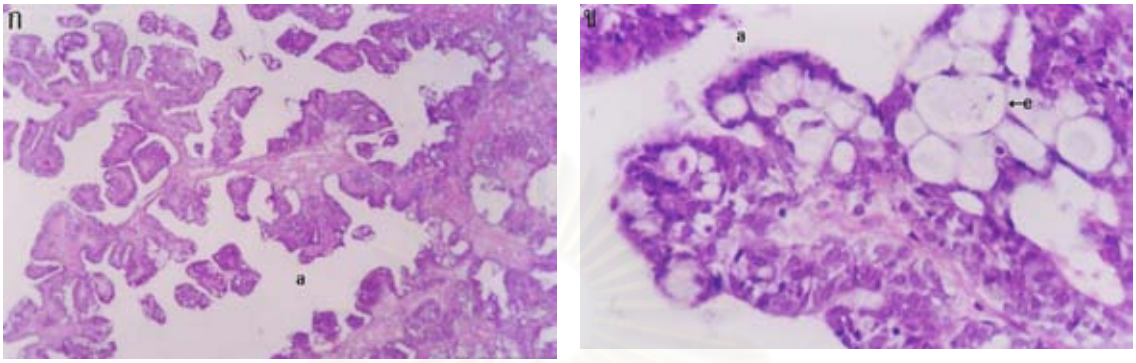
รูปที่ 59-ก และ ข ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด ductular ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับกวาวเครือขาว นาน 150 วัน

กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



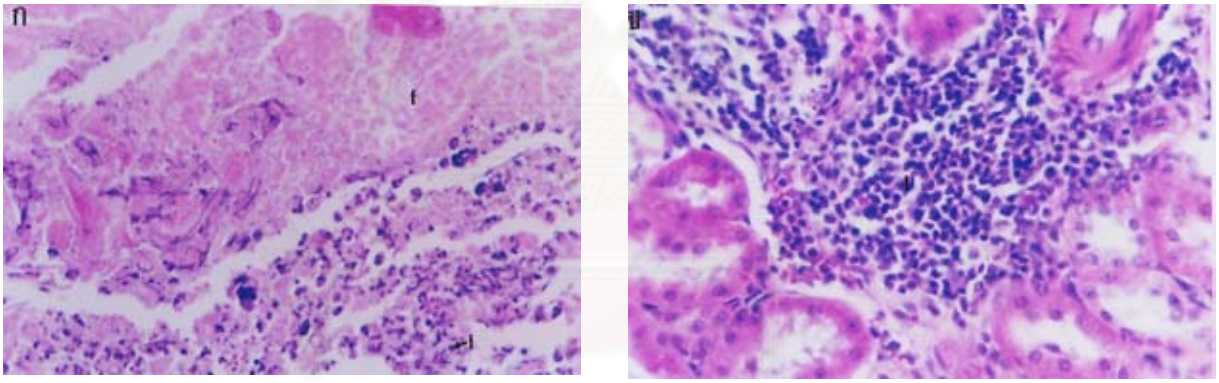
รูปที่ 60 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด papillary ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับกวาวเครือขาว นาน 150 วัน

รูป ก และ ข แสดง alveoli dilation (a) epithelial cell active (e) กำลังขยาย ก x 13.2 ข x 132 ย้อมสี H&E



รูปที่ 61 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ที่เกิการรุกรานของ leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและได้รับกวาวเครือขาว นาน 150 วัน

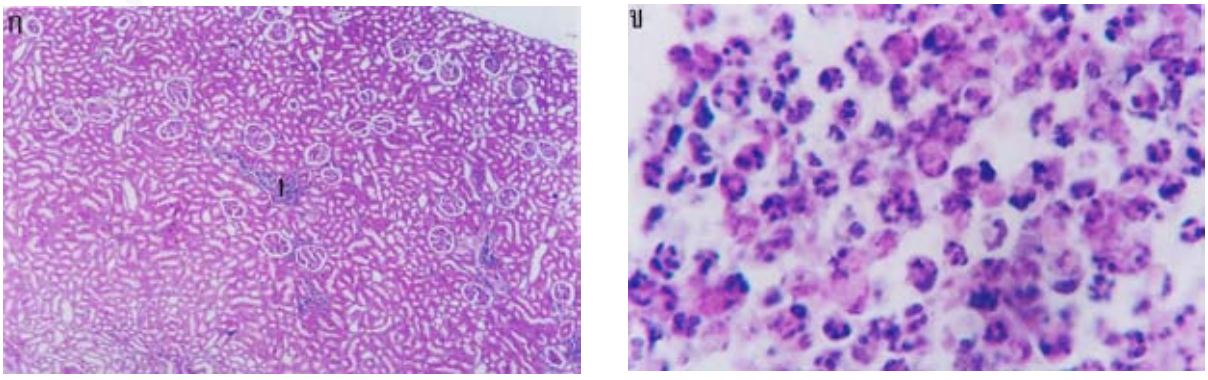
รูป ก และ ข แสดง บริเวณที่เกิด leukemia (l) fibrous tissue (f) กำลังขยาย ก x 132 และ ข x 330 ย้อมสี H&E



รูปที่ 62 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตถูกรุกรานโดย leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 150 วัน

รูป ก และ ข แสดง leukemia (l)

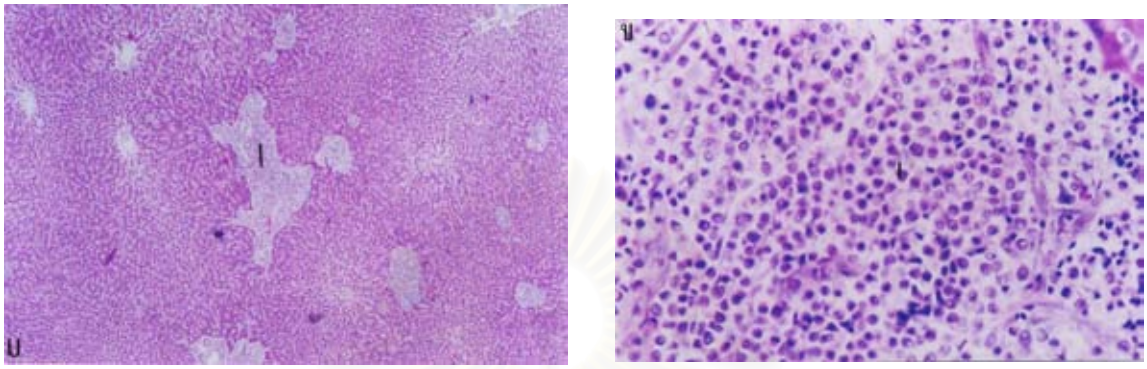
กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 63 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อตับถูกรุกรานโดย leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 150 วัน

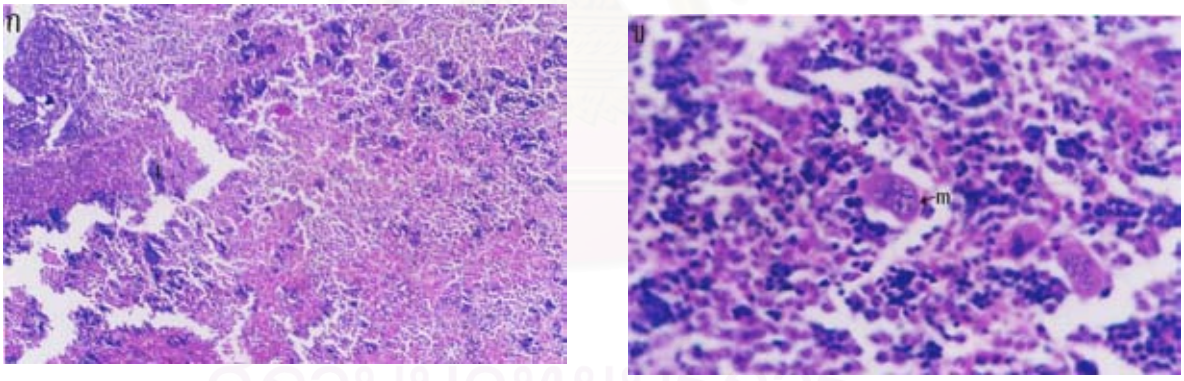
รูป ก และ ข แสดง leukemia (l) กำลังขยาย ก x 33 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



รูปที่ 64 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อม้ามถูกรุกรานโดย leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 150 วัน

รูป ก และ ข แสดง บริเวณที่พบ leukemia (l) megakaryocytes (m)

กำลังขยาย ก x 33 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



7.2 เปรียบเทียบผลการทดลองของหนูกลุ่มที่ 3 และ 4

7.2.1 จำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อและจำนวนก้อนเนื้อต่อตัวหนู

จากการสังเกตการเกิดก้อนเนื้อของหนู พบว่าวันแรกที่พบก้อนเนื้อในหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น คือ ระหว่างวันที่ 89-125 และในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว ระหว่างวันที่ 89-127 ของการทดลองตามลำดับ เมื่อนำค่าที่ได้ไปทดสอบทางสถิติ พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 26 และรูปที่ 65)

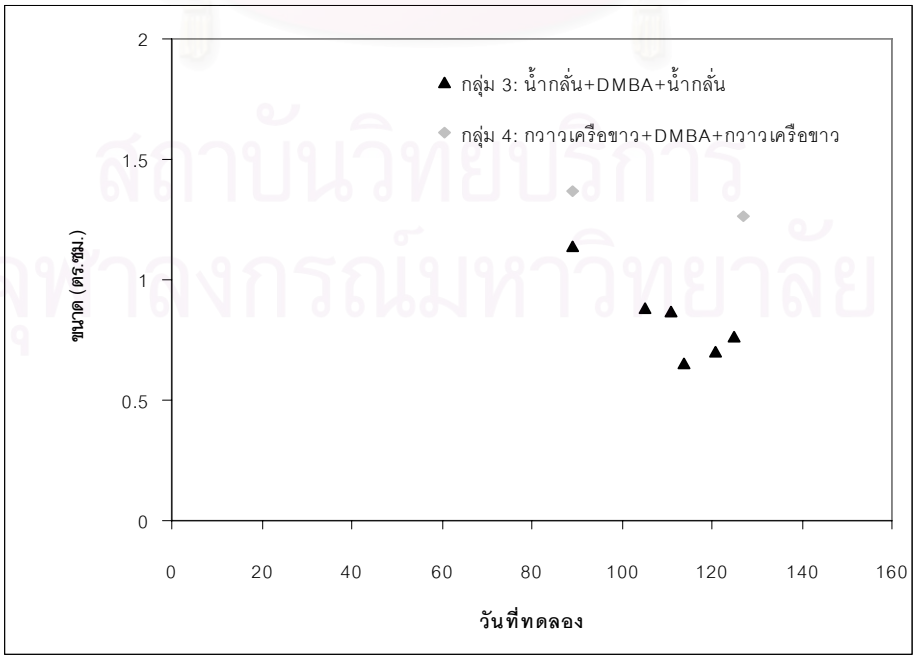
จากการสังเกตการเกิดก้อนเนื้อบริเวณเต้านมของหนู จากหนูที่ทำการทดลองทั้งหมดจำนวน 25 ตัวต่อกลุ่ม พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นมีก้อนเนื้อบริเวณเต้านม 6 ตัว (24%ของจำนวนหนูทั้งหมด) ซึ่งมากกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวที่พบหนูที่มีก้อนเนื้อ 2 ตัว (8% ของจำนวนหนูทั้งหมด) เมื่อนำค่าดังกล่าวมา

ทดสอบทางสถิติ พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนก้อนเนื้อต่อตัวหนู พบว่าหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวมีจำนวนก้อนเนื้อต่อหนู 1 ตัว มากกว่าคิดเป็น 1.50 ก้อนต่อตัว แต่หนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นคิดเป็น 1.00 ก้อนต่อตัว หนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบหนูที่มีก้อนเนื้อ 1 ก้อน จำนวน 5 ตัว (20%) ซึ่งมากกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวพบ 1 ตัว (4% ของจำนวนหนูทั้งหมด) เมื่อนำค่าดังกล่าวมาทดสอบทางสถิติ พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) พบก้อนเนื้อมากกว่า 1 ก้อน ในหนูทั้งสองกลุ่มพบ 1 ตัวเท่ากัน (ตารางที่ 26 และ รูปที่ 65 และ 66)

ตารางที่ 26 แสดงวันที่เริ่มพบก้อนเนื้อ จำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อ จำนวนก้อนเนื้อต่อตัวหนู จำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อ 1 ก้อนต่อตัว และจำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อมากกว่า 1 ก้อนต่อตัว ของหนูที่ได้รับน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาวนาน 240 วัน และได้รับ DMBA วันที่ 91 ของการทดลอง

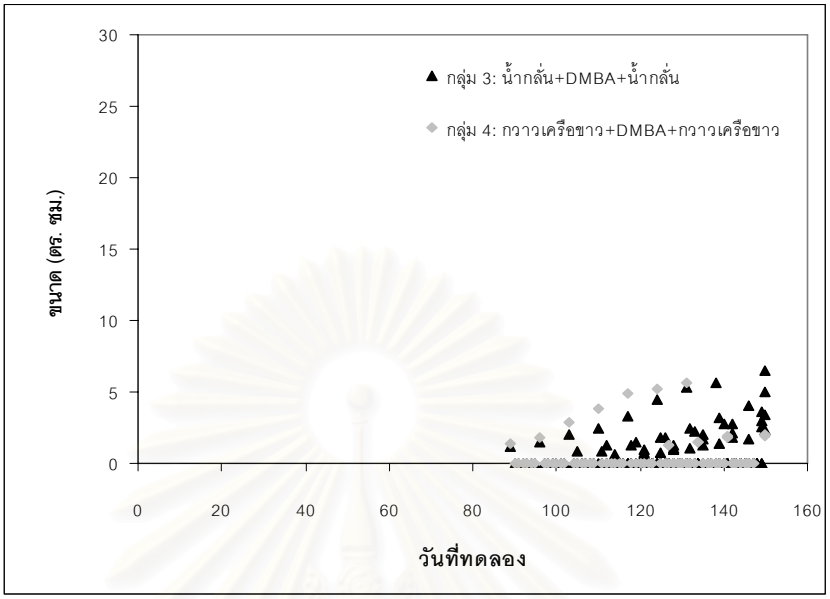
Tumor appearance	Administered dose (mg /b.w./day)	
	0	25
First day of tumor detected (mean ± SE)	89-125 (113.29±3.87)	89-127 (114.33±12.67)
No. of rats found tumor (%)	6 (24)	2 (8)
No. of tumor/rat	1.00	1.50
No. of rat bearing 1 tumor (%)	5 (20)	1 (4)
No. of rat bearing > 1 tumor (%)	1 (4)	1 (4)

รูปที่ 65 แสดงวันแรกที่พบก้อนเนื้อและเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ (Mean±SE) ของหนูที่ได้รับน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาว นาน 240 วัน และได้รับ DMBA ในวันที่ 91 ของการทดลอง



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

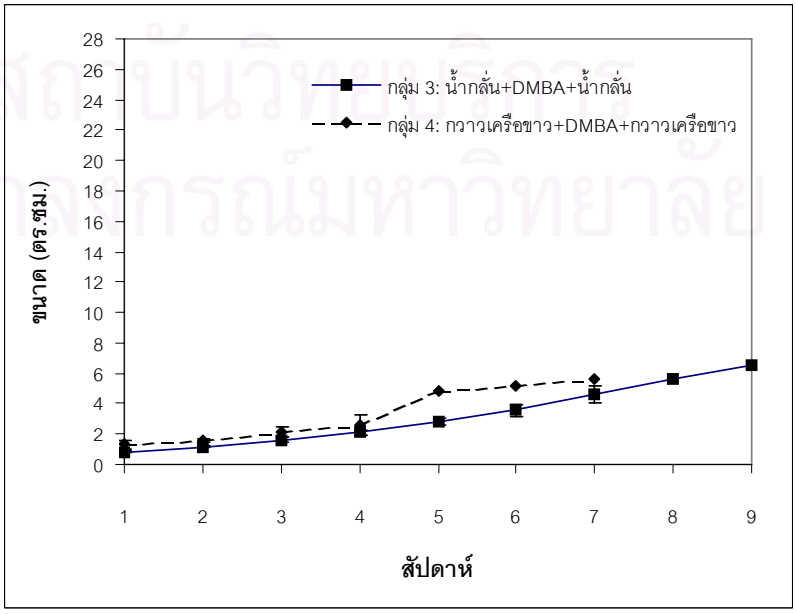
รูปที่ 66 แสดงค่าเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อ (Mean±SE) ในทุก ๆ สัปดาห์ ของหนูที่ได้รับน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาว นาน 240 วัน และได้รับ DMBA ในวันที่ 91 ของการทดลอง



7.2.2 ตำแหน่งที่พบก้อนเนื้อและขนาดของก้อนเนื้อ

ในหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบก้อนเนื้อเฉพาะในบริเวณเต้านมข้างซ้ายและขวาเท่านั้น โดยหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวพบที่บริเวณเต้านมมากกว่าที่บริเวณขา เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อของหนูทั้งสองกลุ่มที่สัปดาห์เดียวกันทุกสัปดาห์ พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีขนาดของก้อนเนื้อใหญ่กว่าหนูกลุ่มที่ให้น้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 1 เท่านั้น (รูปที่ 67)

รูปที่ 67 แสดงค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อบริเวณเต้านม (Mean±SE) ในหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาว นาน 240 วัน และได้รับ DMBA ในวันที่ 91 ของการทดลอง เมื่อให้วันแรกที่พบก้อนเนื้อเป็นวันที่ 1, a หมายถึง $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7.2.3 **ลักษณะของก้อนเนื้อ**

จากการสังเกตลักษณะของก้อนเนื้อ ได้แก่ ขอบเขต ลักษณะพื้นผิว และความอ่อนแข็งของก้อนเนื้อโดยการคลำ สามารถแบ่งการเปลี่ยนแปลงลักษณะของก้อนเนื้อในหนูทั้งสองกลุ่ม ออกได้เป็น 2 ช่วงคือ

<u>หนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น</u>

ในช่วงแรกตั้งแต่สัปดาห์แรกจนถึงประมาณสัปดาห์ที่ 6 จะพบลักษณะขอบเขตชัดเจน ผิวเรียบ อ่อน ขนาดเล็ก และเคลื่อนที่ได้ มีการเพิ่มขนาดของก้อนเนื้อช้า

ช่วงที่สอง หลังจากนั้นก้อนเนื้อเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยเริ่มมีผิวขรุขระ ก้อนมีความแข็งขึ้น ก้อนเริ่มมีลักษณะพบเป็นหลายก้อนอยู่รวมกัน มีเส้นเลือดมาเลี้ยงก้อนมากขึ้นทำให้เห็นก้อนเนื้อเป็นสีม่วง เคลื่อนที่ได้น้อย มีการเพิ่มขนาดของก้อนเนื้อเร็ว และพบว่าเมื่อมีการเพิ่มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 2 เซนติเมตร ก้อนจะมีการแตกออกเป็นแผลเปิด พบเพียงตัวเดียวจากจำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อ 6 ตัว และมีการติดเชื้อในเวลาต่อมา ช่วงนี้หนูจะมีการแทะเล็มแผลทำให้ปากแผลกว้าง ต่อมาแผลจะแห้ง และพบว่าหนูที่มีก้อนเนื้อขนาดใหญ่มากจะผอมและไม่แข็งแรง

<u>หนูที่ได้รับกวาวเครือขาว</u>

พบการเปลี่ยนแปลงของก้อนเนื้อแบ่งออกได้เป็น 2 ช่วง เช่นเดียวกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น แต่การเปลี่ยนแปลงในช่วงที่สองพบหนูเกิดแผลแตก 1 ตัว จากหนูที่พบก้อนเนื้อ 2 ตัว (รูปที่ 68)

รูปที่ 68 แสดงลักษณะก้อนเนื้อของหนูแรทที่ได้รับกวาวเครือขาวนาน 240 วัน และได้รับ DMBA ในวันที่ 91 ของการทดลอง รูป ก แสดง ก้อนเนื้อ (t)

7.2.4 **ผลต่อปริมาณฮอร์โมน E_2 ในซีรัม**

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมน E_2 ในแต่ละระยะรอบวงสืบพันธุ์ คือ ระยะเมตอีสตรัส ไดอีสตรัส โปรอีสตรัสและอีสตรัส พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณฮอร์โมน E_2 ในทุกระยะของรอบวงสืบพันธุ์ของหนูทั้งสองกลุ่มมีปริมาณต่ำมากจนไม่สามารถวัดได้

7.2.5 ลักษณะพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านม

เมื่อหนูอายุ 50 วัน กลุ่มที่ 1 ได้รับน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร/ตัว/วัน กลุ่มที่ 2 ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 240 วัน วันที่ 91 ของการทดลองชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านมโดยให้สาร DMBA 170 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว 1 ครั้ง ในหนูแรทเพศเมีย ได้ติดตามศึกษาการศึกษาทางด้านพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อ โดยฆ่าหนูเพื่อพิสูจน์ซากเมื่อหนูอายุ 290 วัน ลักษณะพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านม

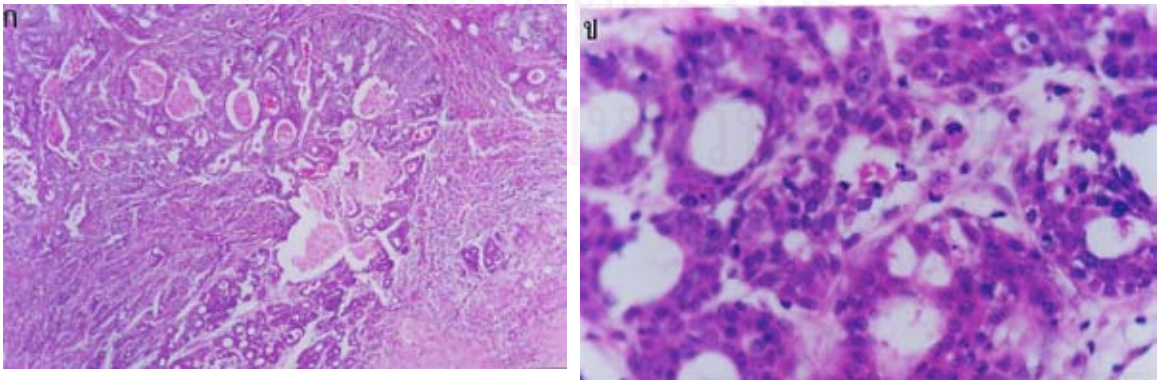
หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น ที่มีลักษณะของพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของเต้านมที่ไม่ปกติ พบมะเร็งเต้านมชนิดต่าง ๆ ได้แก่

พบลักษณะก้อนเนื้อบริเวณเต้านม และขา ขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.98เซนติเมตร เมื่อนำมาศึกษาเนื้อเยื่อพบว่า ลักษณะโครงสร้างของ lobule ผิดปกติ lobule ไม่แบ่งขอบเขตชัดเจน มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเพิ่มขึ้น ภายใน alveolus เซลล์บุ (epithelial cell) มีการเพิ่มจำนวนหนาแน่นและมีโครงสร้างเปลี่ยนแปลงเป็น alveolar (รูปที่ 69-ก และ ข) และ epithelial cell พบหนึ่งหรือหลายชั้น มีเซลล์รูปร่างและขนาดต่าง ๆ กัน (pleomorphism) ซึ่งเป็นลักษณะของ Adenocarcinoma

กลุ่มเซลล์มะเร็งที่ศึกษามีลักษณะดังนี้ บางเซลล์มีนิวเคลียสใหญ่และประกอบด้วยยูโครมาติน (active nucleaus) (รูปที่ 69-ข)

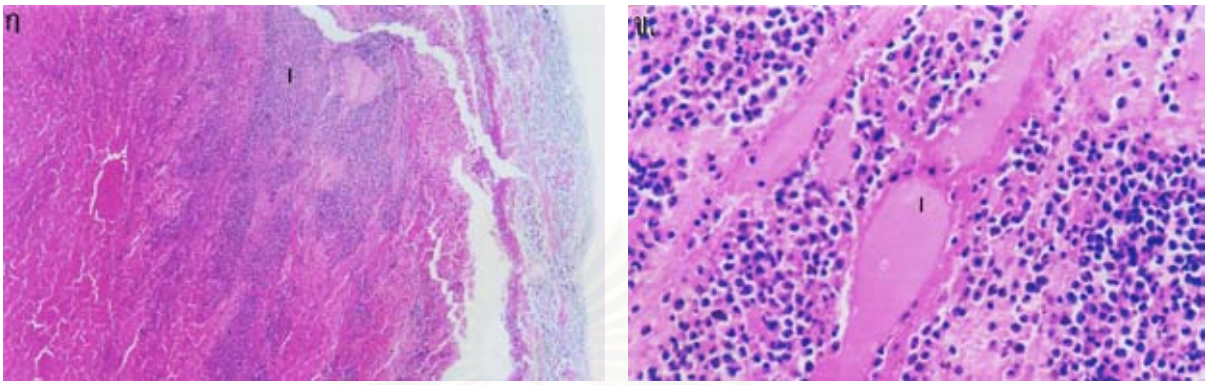
หนูที่เกิดการรุกรามของมะเร็งเม็ดเลือดขาวจำนวน 2 ตัว จากหนู 25 ตัวในอวัยวะต่าง ๆ และพบมีการอักเสบที่เต้านมพบเม็ดเลือดขาวจำนวนมาก (รูปที่ 70-ก และ ข) พบปอดผิดปกติ เนื้อเยื่อปอดถูกรุกรานโดย leukemia และพบมากบริเวณเส้นเลือด (รูปที่ 71-ก และ ข) ไตมีสีน้ำตาลคล้ำ และพบเนื้อเยื่อไตถูกรุกรานโดย leukemia แทรกอยู่ระหว่าง renal tubule และ renal tubule มีการ contraction มี lumen แคบ (รูปที่ 72-ก และ ข)

รูปที่ 69-ก และ ข ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น นาน 240 วัน และให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง
กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



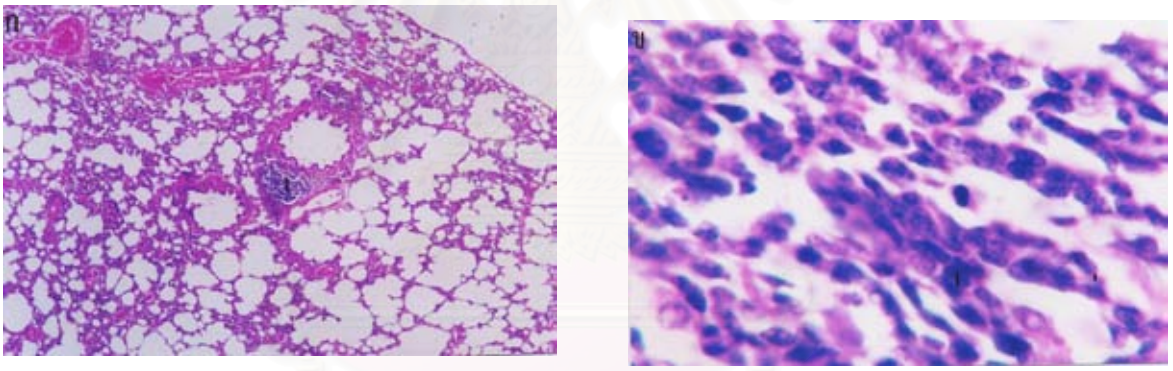
รูปที่ 70 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมอักเสบของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น นาน 240 วัน และให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง

รูป ก และ ข แสดง บริเวณที่พบ leukemia (l) กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



รูปที่ 71 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อปอดถูกรุกรานโดย lekemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น นาน 240 วัน และให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง

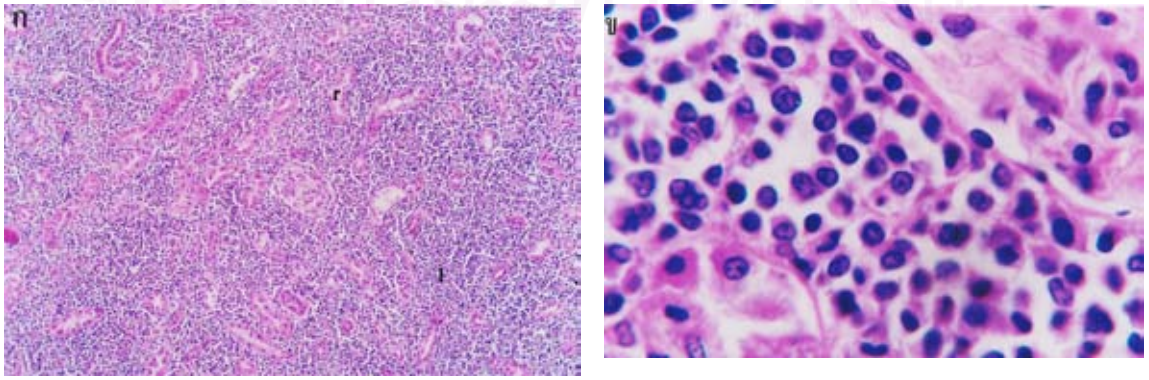
รูป ก และ ข แสดง บริเวณที่พบ leukemia (l) กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 330 ย้อมสี H&E



รูปที่ 72 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อไตถูกรุกรานโดย leukemia ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น นาน 240 วัน และให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง

รูป ก และ ข แสดง บริเวณที่พบ leukemia (l) renal tubule มีขนาดเล็ก (r)

กำลังขยาย ก x 33 และ ข x 330 ย้อมสี H&E

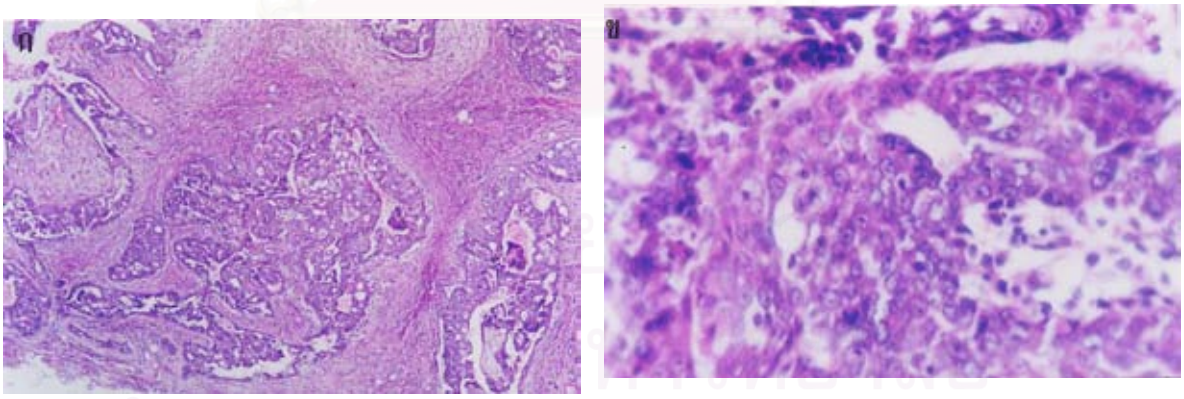


หนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว ที่มีลักษณะของพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อของเต้านมที่ไม่ปกติ พบมะเร็งเต้านมชนิดต่าง ๆ ได้แก่

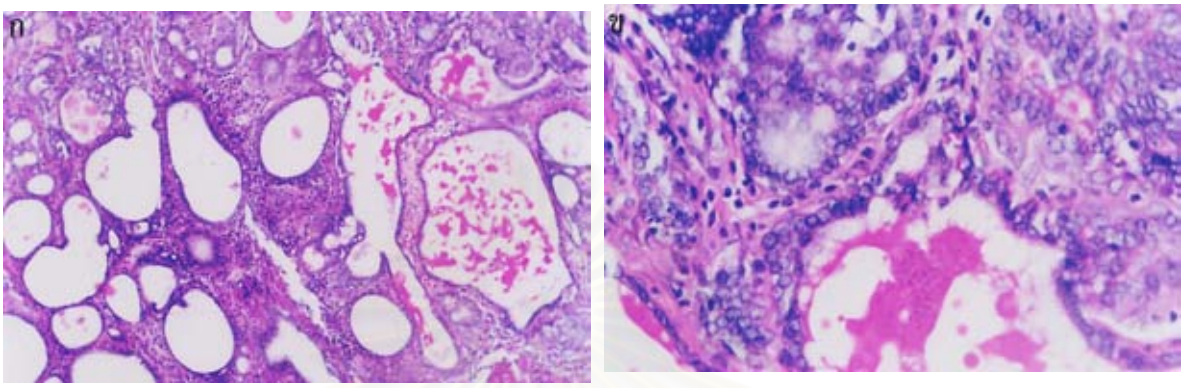
พบลักษณะก้อนเนื้อบริเวณเต้านม และขา ขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2.24เซนติเมตร เมื่อนำมาศึกษาเนื้อเยื่อพบว่า ลักษณะโครงสร้างของ lobule ผิดปกติ lobule ไม่แบ่งขอบเขตชัดเจน มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเพิ่มขึ้น ภายใน alveolus เซลล์บุ (epithelial cell) มีการเพิ่มจำนวนหนาแน่นและมีโครงสร้างเปลี่ยนแปลงเป็น alveolar (รูปที่ 73-ก และ ข) ductular (รูปที่ 74-ก และ ข) และ epithelial cell พบหนึ่งหรือหลายชั้น มีเซลล์รูปร่างและขนาดต่าง ๆ กัน (pleomorphism) ซึ่งเป็นลักษณะของ Adenocarcinoma

กลุ่มเซลล์มะเร็งที่ศึกษามีลักษณะดังนี้ บางเซลล์มีนิวเคลียสใหญ่และประกอบด้วยยูโครมาติน (active nucleaus) พบเซลล์ที่มี mitotic figure ปรากฏอยู่ พบมีการรุกรามของมะเร็งเม็ดเลือดขาวในหนู 1 ตัว จาก 25 ตัว (รูปที่ 73-ก และ ข และ รูปที่ 74-ข) ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมีการเพิ่มจำนวนมากมีเซลล์ผิดปกติ นิวเคลียสมีรูปร่างกลมใหญ่แทรกระหว่างเส้นใย (รูปที่ 25-ก และ ข) และเซลล์บุท่อมีเซลล์รูปร่างและขนาดต่าง ๆ กัน (pleomorphism) และ pigtotic nucleus และมีการเจริญยื่นเข้าไปใน lumen (รูปที่ 76-ก และ ข) เนื้อเยื่อมะเร็งที่ไต ลักษณะของเซลล์เป็น pleomorphism นิวเคลียสติดสีเข้ม ในบริเวณเนื้อไตระหว่าง renal tubule และ glomerulus contraction นี้ บางเซลล์มีนิวเคลียสใหญ่และประกอบด้วยยูโครมาติน (active nucleaus) (รูปที่ 77-ก และ ข)

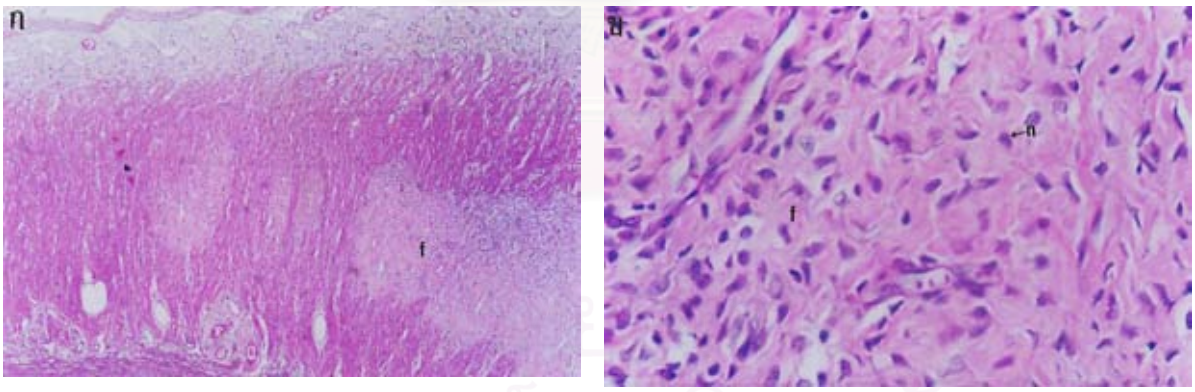
รูปที่ 73-ก และ ข ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 240 วัน ให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



รูปที่ 74-ก และ ข ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด ductular ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 240 วัน ให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E



รูปที่ 75 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma ชนิด alveolar ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 240 วัน ให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง
รูป ก และ ข แสดง บริเวณ fibrous tissue (f) nucleus (n)
กำลังขยาย ก x 13.2 และ ข x 132 ย้อมสี H&E

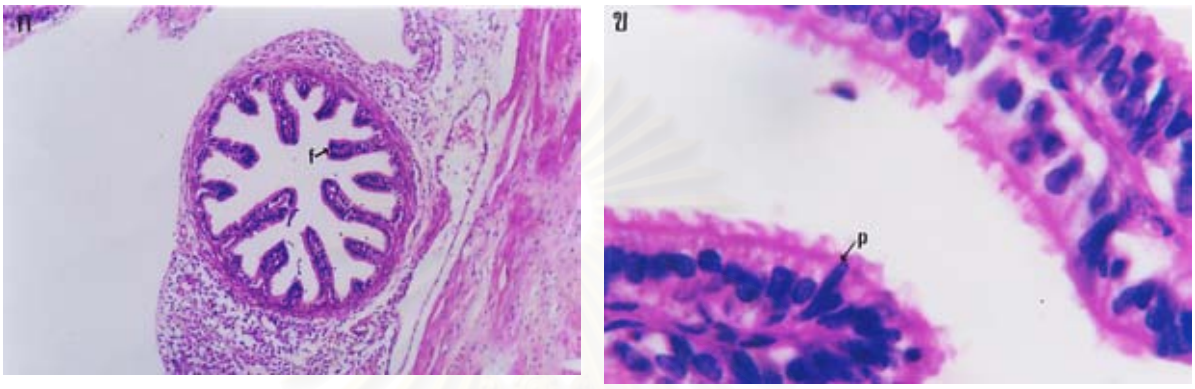


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 76 ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม adenocarcinoma เซลล์บุท่อมีการเจริญผิดปกติ ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 240 วัน ให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง

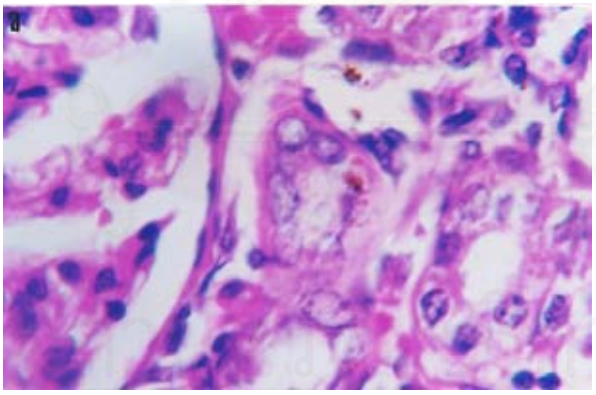
รูป ก และ ข แสดง บริเวณเซลล์บุท่อยื่นเป็นนิ้วมือ (f) pignotic nucleus (p)

กำลังขยาย ก x 33 และ ข x 330 ย้อมสี H&E



รูปที่ 77-ก ภาพแสดงลักษณะเนื้อเยื่อมะเร็งที่ไต ของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและให้กวาวเครือขาว นาน 240 วัน ที่ให้สารก่อมะเร็งวันที่ 91 ของการทดลอง

กำลังขยาย x 330 ย้อมสี H&E



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การอภิปรายผล

การทดลองที่ 1 การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย

1.1 ผลของกวาวเครือแดงต่อน้ำหนักตัว

จากการเปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ยตลอดการทดลองของหนูเมาส์เพศผู้ที่ได้รับกวาวเครือแดง กับกลุ่มควบคุมพบว่าการได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน เป็นเวลานาน 90 วัน ติดต่อกัน ไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลที่ได้คล้ายคลึงกับที่มีรายงานในหนูแรทเพศผู้ที่ให้กวาวเครือแดงในขนาด 10, 50 และ 250 มก./กก/วัน นาน 30 วัน (Ketsuwan, 2003) และในหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับสารแขวนตะกอนกวาวเครือแดงในขนาด 2, 25, 250 และ 1,250 มก./กก./วัน นาน 8 สัปดาห์ (Manosroi et al., 2006) ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่ากวาวเครือแดงไม่มีฤทธิ์ในเชิง estrogenic effect จากการทดลองในหนูแรทเพศเมียเมื่อถูกตัดรังไข่ (ovariectomy) ที่ทำให้ระดับฮอร์โมนในเอสโตรเจน (endogenous estrogen) ลดลง พบว่าทำให้หนูมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น (Devareddy et al., 2006 ; McMillan et al., 2007 ; Urasopon et al., 2008) และเมื่อให้สารเอสโตรเจนสังเคราะห์ ethinylestradio หรือกวาวเครือขาวที่มีสารประกอบ phytoestrogen อยู่ จะทำให้น้ำหนักตัวของหนูลดลง (Urasopon et al., 2008) Dang et al., (2002) ได้รายงานว่า หนูแรทในสภาวะ estrogen deficient state จะมีการสะสมไขมันและทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับเอสโตรเจนทดแทนทำให้กระบวนการดังกล่าวถูกยับยั้งไป นอกจากนี้ ยังมีรายงานกวาวเครือแดงมีฤทธิ์ในเชิง anti-proliferation effect ต่อ MCF-7 cells (Cherdshewasart et al., 2004a) และ HeLa cell (cherdshewasert et al., 2004b) แต่เมื่อติดตามผลของกวาวเครือแดงต่อน้ำหนักตัวของหนูเมาส์เพศเมีย พบว่าน้ำหนักตัวของหนูเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับกวาวเครือแดง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในขนาด 100 มก./กก./วัน มีค่าเพิ่มสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Cherdshewasart et al., (2004a) ได้อภิปรายไว้ในบทความว่า กวาวเครือแดงไม่ฤทธิ์ในเชิง estrogenic effect แต่ด้วยที่มันมีฤทธิ์เป็น anti - proliferation MCF – 7 cells ดังนั้นกวาวเครือแดงจึงน่าจะมีฤทธิ์ในเชิง anti – estrogenic หรือ androgenic effect แต่จากผลต่อน้ำหนักตัวของหนูเมาส์เพศเมียที่เพิ่มขึ้นในการทดลองครั้งนี้ อาจทำให้กล่าวได้ว่ากวาวเครือแดงมีฤทธิ์ในเชิง anti – estrogenic effect

1.2 ผลของกวาวเครือแดงต่อน้ำหนักอวัยวะ ค่าทางโลหิตวิทยา และค่าทางชีวเคมีในเลือด

ผลของกวาวเครือแดงต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสม คือ ตับ และไต พบว่าให้ผลที่ต่างกันระหว่างหนูเพศผู้และเพศเมีย โดยกวาวเครือแดงมีผลเพิ่มน้ำหนักตับ และลดน้ำหนักไตในหนูเพศผู้ที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาด 10 – 500 มก./กก./วัน แต่ไม่มีผลต่ออวัยวะทั้งสองในหนูเพศเมีย แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากวาวเครือแดงมีผลไปลดระดับเอนไซม์ ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของตับ (aspartate transaminase (AST) และ alanine trancaminase (ALT)) และไต (creatine) เมื่อได้รับกวาวเครือแดงขนาด 500 มก./กก./วัน โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าวในหนูเพศเมีย จะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักอวัยวะไม่สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงค่าทางชีวเคมีในหนูเพศผู้ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่ากวาวเครือแดง ไม่ได้มีผลในด้านความเป็นพิษที่ร้ายแรงต่ออวัยวะต่าง ๆ ดังกล่าวในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย แต่

อย่างไรก็ตามพบว่าหนูเมาส์เพศผู้ที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาด 10 และ 100 มก./กก./วัน พบการเพิ่มสูงขึ้นของเม็ดเลือดขาวชนิดแบโซฟิว และโมโนซัยต์ ตามลำดับ และในเพศเมียที่ได้รับกวาวเครือแดงขนาด 100 และ 500 มก./กก./วัน พบการเพิ่มสูงขึ้นของเม็ดเลือดขาวชนิดแบโซฟิลและโมโนซัยต์ ดังนั้นการใช้กวาวเครือแดงในขนาดที่สูงจึงควรที่จะต้องระมัดระวัง แต่อย่างไรก็ตามขนาดของกวาวเครือแดงที่มีผลต่อค่าทางโลหิตวิทยาในการทดลองครั้งนี้ ถือว่าเป็นค่าที่สูงมาก (50 และ 250 เท่า) เมื่อเทียบกับขนาดองค์การอาหารและยาแนะนำในการรับประทานในคน ที่มีขนาดเท่ากับ 100 มก/50 กก. น้ำหนักตัว/วัน หรือ 2 มก./กก./วัน (kwao krua, 1999) และจากรายงานของ Manosoi et al., (2006) เมื่อให้กวาวเครือแดงในขนาด 2 – 1,250 มก./กก./วัน ในหนูแรทเพศผู้ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักหัวใจ, ม้าม, ตับ และไต และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าทางโลหิตวิทยา และค่าชีวเคมีต่าง ๆ และเมื่อติดตามผลของการให้กวาวเครือแดงในขนาด 250 มก./กก./วัน นาน 3 เดือน ในผู้ชาย ไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าทางชีวเคมี ได้แก่ BUN, creatinine, calcium, AST, ALT, cholesterol และ น้ำตาล (cherdshewasart and Nimsakul, 2003) ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่ากวาวเครือแดงค่อนข้างปลอดภัยถ้าในขนาดที่ไม่สูงจนเกินไป

เมื่อติดตามผลของกวาวเครือแดงต่อน้ำหนักอวัยวะสืบพันธุ์ ได้แก่ อัณฑะในหนูเพศผู้ และรังไข่ในหนูเพศเมีย พบว่ากวาวเครือแดงในขนาด 500 มก./กก./วัน มีผลไปลดน้ำหนักอัณฑะ ($p<0.05$) ซึ่งผลที่ได้ต่างจากที่มีรายงานในหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 2 – 250 มก./กก./วัน นาน 8 สัปดาห์ ที่พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักอัณฑะ seminal vesicle และ prostate gland และมีเฉพาะหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับกวาวเครือแดงทุกขนาดมีจำนวน สเปร์ม (sperm count) เพิ่มสูงขึ้นประมาณ 16% โดยไม่ขึ้นกับขนาดที่ให้ ในทางตรงกันข้ามพบว่าหนูเมาส์เพศเมียที่ได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 100 มก./กก./วัน ในการทดลองครั้งนี้ มีน้ำหนักที่ต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุม ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับน้ำหนักตัวหนูที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นการยืนยันผลในเชิง anti – estrogenic effect ของกวาวเครือแดง

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของกวาวเครือแดงต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย

จากการศึกษาผลของกวาวเครือแดงในหนูแรทที่ถูกตัดต่อมบ่งเพศออก เพื่อตัดปัจจัยภายใน (ฮอร์โมนเพศที่มีอยู่ภายในตัวหนูที่สร้างมาจากอวัยวะสืบพันธุ์) ที่อาจจะรบกวนการออกฤทธิ์ของกวาวเครือแดงและการแปลผล พบว่ากวาวเครือแดงในขนาด 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน นาน 30 วัน ไม่มีผลต่อน้ำหนักและลักษณะทางจุลกายวิภาคของ epididymis และ seminal vesicle ในหนูแรทเพศผู้ และมดลูกในหนูแรทเพศเมีย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในหนูแรทเพศผู้ปกติ (intact male rat) ที่ได้รับกวาวเครือแดงในขนาด 2 – 1,250 มก./กก./วัน นาน 8 สัปดาห์ ที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก seminal vesicle และ prostate gland (Manosroi et al., 2006) แต่เมื่อติดตามดูผลของกวาวเครือแดงต่อระดับฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมียที่ตัดต่อมบ่งเพศออก ได้แก่ LH, FSH, testosterone (ในเพศผู้) และ estradiol (ในเพศเมีย) พบว่ากวาวเครือแดงในขนาด 10, 50 และ 250 มก./กก./วัน ไม่มีผลต่อระดับฮอร์โมน testosterone มีแนวโน้มลดระดับ FSH (แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ) และลดระดับ LH

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในขนาด 50 และ 250 มก./กก./วัน ในหนูเพศผู้ ไม่มีผลต่อระดับฮอร์โมน estrodiol และ FSH และเพิ่มระดับ LH ในเพศเมีย ซึ่งทำให้ดูเหมือนว่ากวาวเครือแดงออกฤทธิ์ต่อ hypothalamic – pituitary – gonadal axis ที่ต่างกันในหนูเพศเมียและเพศผู้ โดยดูเหมือนว่ากวาวเครือแดงออกฤทธิ์ในเชิง androgenic effect ในหนูเพศผู้ เพราะผลที่ได้คล้ายกับการเปลี่ยนแปลงของหนูในกลุ่มที่ได้รับ testosterone propionate (TP) ซึ่งเป็น positive control ของการทดลองโดย TP ในขนาด 600 มก/100 กรัม/วัน มีฤทธิ์ที่แรงกว่า ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า androgenic effect ของ กวาวเครือแดงในหนูเพศผู้ที่ขนาด 50 และ 250 มก./กก./วัน มีฤทธิ์ต่ำกว่า (mild effect) 600 มก/100 กรัม/วัน ของ TP ในขณะที่หนูเพศเมียกวาวเครือแดงมีผลในเชิง anti – estrogenic effect เพราะไปเพิ่มระดับ LH ซึ่งผลที่ได้จะแตกต่างไปจากหนูกลุ่มที่ได้รับ TP ที่ระดับ LH ลดลง จนกระทั่งไม่สามารถตรวจวัดได้ (undetectable level) ในระหว่างวันที่ 31 – 61 ของการทดลอง ซึ่งผลดังกล่าวเป็นการยืนยันข้อสรุปของ Cherdshewasart et al., (2004a) ที่ว่ากวาวเครือแดงน่าจะมีฤทธิ์เป็น anti – estrogenic หรือ androgenic effect ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้ทำให้ได้ข้อสรุปว่ากวาวเครือแดงมีฤทธิ์ในทั้งสองแบบ โดยผลจะเป็นแบบใดขึ้นอยู่กับเพศของสัตว์ทดลอง

จากรายงานที่มีมาก่อนหน้านี้ที่พบว่ากวาวเครือแดง ประกอบด้วยสาร flavonoids และ flavonoid glycoside (ธนาธิป, 2537) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CAMP phospodiesterase (Roengsumran et al., 2000) เช่นเดียวกันกับยาที่นิยมใช้กันทั่วไปในท้องตลาดคือ sildenafil (หรือ ชื่อการค้าคือ Viagra) ที่ใช้ในการรักษาอาการ erectile dysfunction (Ballard et al., 1998 ; Ueno et al., 2002) และเมื่อนำไปทดสอบในหนูแรทพบว่าสารสกัดกวาวเครือแดงสามารถไปเพิ่ม intra cavernous pressure ที่ไปกระตุ้นให้เกิด penile erection ได้ (Tocharus et al., 2006) และเมื่อนำเอากวาวเครือแดงไปทดลองใช้เป็นผู้ป่วยเพศชายที่มีปัญหาเกี่ยวกับ erectile dysfunction ในขนด 250 มก/วัน นาน 3 เดือน พบว่าทำให้ erectile function ดีขึ้น (Cherdshewasart and Nimsakul, 2003) นอกจากนี้ยังพบว่ากวาวเครือแดงยังมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase (Ingkaninan et al., 2003) จึงทำให้สามารถที่จะนำไปผลิตเป็นยาในการรักษาโรค Alzheimer ได้ (Enz et al., 1993) กวาวเครือแดงยังมีฤทธิ์ anti – oxidant activity (Nuengchamnong et al., 2005) ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคที่เกี่ยวกับภาวะชรา เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ ต้อกระจก ความเสื่อมของสมอง และระบบภูมิคุ้มกันได้ อีกทั้งยังมีรายงานจำนวนมากถึงผล anti – proliferation ของกวาวเครือแดงต่อเซลล์มะเร็งชนิดต่าง ๆ เช่น breast cancer cell (MCF – 7 and BC cells), cervical cancer cell (HeLa cell), human epidermoid carcinoma of carity CKB cells) และ human small cell lung carcinoma (NCI – H 187) (Cherdshewasart et al., 2004a ; 2004b, Ngamro , anavanich et al., 2007) ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากวาวเครือแดงเป็นสมุนไพรตัวเลือก (herbal candidate) ตัวหนึ่งที่เหมาะจะนำมาใช้ในการรักษาหรือป้องกันโรคที่เกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ในเพศชาย เพราะมีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนtestosteroneมีผลเพิ่มจำนวนสเปร์ม และยังทำให้สภาวะ erectile function ดีขึ้น และมีความเป็นพิษต่ำ อีกทั้งยังมีผลพลอยได้อื่น ๆ ที่มีประโยชน์ดังกล่าวข้างต้น

การทดลองที่ 3 การศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือดำในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย

3.1 ผลของกวาวเครือดำต่อน้ำหนักตัว

จากการเปรียบเทียบน้ำหนักเฉลี่ยตลอดการทดลองของหนูเมาส์ที่ได้รับกวาวเครือดำ กับกลุ่มควบคุมพบว่าเมื่อให้กวาวเครือดำเป็นเวลานาน 90 วัน ติดต่อกัน ในขนาด 10 มก./กก./วัน ในหนูเพศผู้ และในขนาด 10, 100 และ 500 มก./กก./วัน ในหนูเพศเมีย ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่ากวาวเครือดำไม่มีฤทธิ์ในเชิง estrogenic effect แต่น่าจะมีฤทธิ์ในเชิง anti-estrogenic effect ดังที่พบต่อฤทธิ์ของกวาวเครือแดงต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวของหนูเมาส์เพศเมีย ที่ได้รายงานมาดังข้างต้น (Urasopon et al., 2008) Cherdshewasart et al. (2004a) พบว่ากวาวเครือดำไม่มีผลแบบ biphasic effect ต่อการเจริญของเซลล์ MCF-7 เมื่อเพิ่มความเข้มข้น และได้สรุปว่ากวาวเครือดำไม่มีฤทธิ์เชิง estrogenic effect

3.2 ผลของกวาวเครือแดงต่อน้ำหนักอวัยวะ ค่าทางโลหิตวิทยา และค่าทางชีวเคมีในเลือด

ผลของกวาวเครือดำต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสม คือ ตับ และไต พบว่ากวาวเครือดำมีผลเพิ่มน้ำหนักตับในหนูเพศผู้ และน้ำหนักตับ (เฉพาะกวาวเครือดำในขนาด 10 มก./กก./วัน) และไตในหนูเพศเมีย ซึ่งผลของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในเพศผู้ ไม่สัมพันธ์กับค่าชีวเคมีในเลือดเพราะเนื่องจากค่า AST ลดลง และลดลงเฉพาะในหนูเพศผู้ที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาด 500 มก./กก./วัน ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักไตในหนูเมาส์เพศเมียสัมพันธ์กับระดับ creatinine ที่ลดลง และนอกจากนี้ยังพบว่าค่า AST และ ALT ในหนูแรทเพศเมียที่ได้รับกวาวเครือดำในขนาด 10 และ 100 มก./กก./วัน ก็สูงกว่ากลุ่มควบคุมเช่นกัน จากผลที่ได้จะเห็นได้ว่ากวาวเครือดำมีความเป็นพิษมากกว่ากวาวเครือแดงในขนาดที่เท่ากัน เพราะนอกจากค่าทางชีวเคมีแล้ว พบว่ากวาวเครือดำยังมีผลไปลดค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตรคริต และเพิ่มปริมาณเม็ดเลือดขาวในหนูเมาส์เพศผู้ด้วย ซึ่งผลดังกล่าวจะสอดคล้องกับการรายงาน Cherdshewasart et al., (2008) ที่ทดสอบความเป็นพิษของกวาวเครือดำโดยวิธี Ames test พบว่ากวาวเครือดำมีฤทธิ์ cytotoxic effect และฤทธิ์ขึ้นกับขนาดที่ให้ จนกระทั่งปัจจุบันนี้ พบว่ารายงานเกี่ยวกับพิษวิทยาของกวาวเครือดำมีการศึกษากันน้อย ที่เป็นเช่นนี้อาจจะเนื่องมากจากว่ากวาวเครือดำหาได้ยากในป่า

การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของกวาวเครือดำต่อฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย

จากการศึกษาผลของกวาวเครือดำต่อน้ำหนัก และลักษณะทางจุลกายวิภาคของอวัยวะสืบพันธุ์ พบว่ากวาวเครือดำไม่มีผลต่อมดลูก และลักษณะทางจุลกายวิภาคของมดลูกในหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่และได้รับกวาวเครือดำในขนาด 1, 10 และ 100 มก./กก./วัน นาน 30 วัน และกวาวเครือดำในขนาดดังกล่าวก็ไม่มีผลต่อน้ำหนัก และลักษณะทางจุลกายวิภาคของ epididymis และ seminal vesicle ซึ่งแสดงว่ากวาวเครือดำไม่มีฤทธิ์ estrogenic effect ในหนูเพศเมีย และไม่มีฤทธิ์ androgenic effect ในหนูเพศผู้ แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาผลของกวาวเครือดำต่อฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ พบว่าผลที่ได้ไม่

สอดคล้องกับผลต่ออวัยวะสืบพันธุ์ นั่นคือกวาวเครือดำในขนาด 10 และ 100 มก./กก./วัน พบว่าระดับฮอร์โมน LH ลดลงในวันที่ 31 - 46 และ FSH ลดลงในวันที่ 31 – 46 และ 16 – 46 ตามลำดับ ในขณะที่หนูเพศผู้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน LH และ FSH เมื่อได้รับกวาวเครือดำในขนาดต่าง ๆ ซึ่งผลต่อระดับฮอร์โมน LH และ FSH ของกวาวเครือดำค่อนข้างคล้าย (แต่ฤทธิ์ต่ำกว่า) ผลของ TP ที่จัดเป็น androgenic substance แต่สิ่งที่ต่างกันก็คือ TP ซึ่งจัดเป็น positive control group ในการทดลองครั้งนี้สามารถลดระดับ LH และ FSH ได้ทั้งในหนูเพศผู้และเพศเมีย และมีผลเพิ่มน้ำหนักมดลูกในหนูเพศเมีย และน้ำหนัก epididymis และ seminal vesicle ในหนูเพศผู้ที่สอดคล้องกันกับการเปลี่ยนแปลงทางจุลภายวิภาคของอวัยวะต่าง ๆ ดังนั้นผลของกวาวเครือดำต่อระดับฮอร์โมน LH และ FSH ในหนูแรทเพศเมีย จึงไม่น่าที่จะเป็นฤทธิ์ androgenic effect ของกวาวเครือดำ แต่อาจจะเป็นฤทธิ์อย่างอื่นที่มีผลต่อการสังเคราะห์และการหลั่ง LH และ FSH ในหนูแรทเพศเมีย ดังนั้นเพื่อให้เข้าใจประเด็นดังกล่าวให้ชัดเจนขึ้นควรที่จะทำการศึกษาต่อไป โดยอาจจะเพิ่มขนาดของกวาวเครือดำให้สูงขึ้น (สูงกว่า 500 มก./กก./วัน) หรือเพิ่มระยะเวลาการทดลองให้นานขึ้น (นานกว่า 30 วัน)

ในอดีตมีความเชื่อกันว่ากวาวเครือดำมีฤทธิ์ androgenic effect ในตำรายาโบราณ (Suntara, 1931) แต่จากการทดลองในครั้งนี้พบว่ากวาวเครือดำในขนาด 10 มก./กก./วัน ซึ่งเป็นขนาดที่ใช้กันในตำรายาโบราณ ไม่พบผล androgenic effect ในหนูแรทเลย ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าความเชื่อที่ว่ากวาวเครือดำไปเพิ่มสมรรถภาพทางเพศอาจเป็นต่อสภาพจิตใจของผู้ใช้ ที่เมื่อกินกวาวเครือดำเข้าไปทำให้ลดความเครียดลง ซึ่งผลสุดท้ายก็จะไปทำให้ระบบสืบพันธุ์ดีขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากความเครียดสามารถไปเพิ่มระดับฮอร์โมน cortisol ได้ จากนั้น contisol สามารถไปยับยั้งการหลั่ง GnRH ได้ (Johson and Everritt, 1995 ; Kacsoh, 2000) จากการทดลองก่อนหน้านี้พบว่าเมื่อให้กวาวเครือดำในขนาด 400 มก./กก./วัน ในหนูแรทเพศผู้มีผลไปเพิ่มน้ำหนักอัณฑะและเพิ่มจำนวนสเปร์มใน epididymis และอัณฑะ (Wuteeraphon et al., 2001) ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งที่ศึกษาผลของกวาวเครือดำในขนาด 400 มก./กก./วัน มีผล androgenic effect ต่อ pituitary gland หรือต่อระดับฮอร์โมน LH และ FSH หรือไม่ แต่อย่างไรก็ตามก็มีรายงานกวาวเครือดำอาจจะมีผลกระตุ้น penile erection ผ่านการขยายตัวของหลอดเลือดที่องคชาติ อันเนื่องมาจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CAMP phosphodiesterase จากสารเคมีที่สกัดได้จากกวาวเครือดำ 3 ตัว คือ quercetin, kaempferol และ hopeaphenol (Roengsumran et al., 2001) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า quercetin มีผลเพิ่ม sperm quality และ seminal vesicle และ epidymis ในหนูแรทเพศผู้ด้วย (Taepongsorat et al., 2008)

จากการศึกษาผลของกวาวเครือดำต่อระบบสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้และเพศเมียในครั้งนี้ สรุปได้ว่ากวาวเครือดำไม่มีฤทธิ์ estrogenic และ androgenic effect แต่อาจจะมีผลเชิง anti – estrogenic ซึ่งถ้าจะนำไปใช้ผลที่ได้ควรจะเป็นผลโดยตรงของกวาวเครือดำต่อระบบสืบพันธุ์โดยตรง เช่น penile erection หรือการเพิ่ม sperm quality แต่อย่างไรก็ตามในการใช้ควรจะต้องระวังถึงความเป็นพิษของสารต่อตับ, ไต และค่าทางโลหิตวิทยา และค่าทางชีวเคมีต่าง ๆ เพราะจากผลการศึกษาถึงความเป็นพิษของกวาวเครือดำในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย พบว่ากวาวเครือดำมีความเป็นพิษมากกว่ากวาวเครือแดงในขนาดที่เท่ากัน แต่

อย่างไรก็ตาม ในขณะนี้จะเห็นได้ว่าข้อมูลพื้นฐานที่เกี่ยวกับการออกฤทธิ์ของกวาวเครือดำยังมีการศึกษากันน้อยมาก ดังจะเห็นได้จากผลงานการตีพิมพ์ที่น้อยมากเมื่อเทียบกับกวาวเครือขาว และกวาวเครือแดง ดังนั้นเพื่อให้มีความมั่นใจถึงความปลอดภัยถ้าจะนำเอากวาวเครือดำไปใช้ในคน จึงควรต้องมีการศึกษาหาข้อมูลพื้นฐานเพิ่มเติมเสียก่อน

การทดลองที่ 5 การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย

5.1 ผลต่อน้ำหนักตัวและลักษณะภายนอกที่ปรากฏ

ผลการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือขาวในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียเป็นเวลานาน 200 วัน หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น และพบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของหนูที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ทรงพล ชีวะพัฒน์ และคณะ (2543) ทำการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือขาวในหนูแรทเพศเมีย พบว่าหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 10 มิลลกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน นาน 90 วัน มีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม และจากการศึกษาของ Coral et al. (2002) ทำการศึกษาผลของ daidzein ซึ่งจัดเป็น phytoestrogens ที่อยู่ในกลุ่มของ isoflavone พบว่าหนูแรทเพศเมียที่ได้รับ daidzein ปริมาณ 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว มีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุม แต่จากการทดลองของทรงพล ชีวะพัฒน์ และคณะ (2543) พบว่าเมื่อให้กวาวเครือขาวขนาด 100 และ 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน นาน 90 วันในหนูแรทเพศเมียทำให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการรับประทานหัวกวาวเครือขาวในขนาดที่ใช้กันทั่ว ๆ ไปในคน คือ ประมาณ 250 มิลลิกรัม/วัน (หรือเท่ากับ 5 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ซึ่งเทียบเท่ากับ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ของหนูแรท ในการทดลองครั้งนี้) (เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ, 2541) ไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว แต่ถ้ารับประทานในขนาดสูงกว่านี้ จะทำให้น้ำหนักตัวลดลง ซึ่งการลดลงของน้ำหนักตัวจะสอดคล้องกับการกินอาหารที่ลดลง

แต่เมื่อดูแนวโน้มของการเจริญเติบโตของหนูทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบน้ำหนักตัวทุก ๆ สัปดาห์กับน้ำหนักตัวเริ่มต้น (สัปดาห์ที่ 1) พบว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นน้ำหนักตัวเริ่มแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 7 และกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว น้ำหนักเริ่มแตกต่างจากน้ำหนักตัวเริ่มต้น อย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 13 จากผลการทดลองดังกล่าวเสมือนว่า หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีแนวโน้มการเจริญเติบโตช้ากว่ากลุ่มควบคุม แต่เมื่อพิจารณาจากข้อมูลดิบที่ได้พบว่า น้ำหนักตัวหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวในแต่ละสัปดาห์มีความแตกต่างกันมาก จึงทำให้ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าสูง เมื่อนำมาคำนวณผลทางสถิติจึงทำให้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษาการกินอาหารของหนูทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบน้ำหนักอาหารที่กินระหว่างหนูทั้งสองกลุ่มที่สัปดาห์เดียวกัน พบว่ามีความแตกต่างกันเกือบทุกสัปดาห์ เนื่องจากค่าน้ำหนักอาหารที่หนูกิน ทั้งสองกลุ่มมีความผันผวนมาก ซึ่งความผันผวนของข้อมูลอาจเนื่องจากค่าน้ำหนักอาหารที่กินคำนวณจาก

ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักอาหารที่หนูแต่ละตัวกินในแต่ละกรงจึงทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้ (เนื่องจากเลี้ยงหนู 5 ตัว/กรง) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำค่าการกินอาหารของทุกสัปดาห์มาหาค่าเฉลี่ย พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น อย่างสอดคล้องกันกับผลของน้ำหนักตัว

5.2 ผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสมและอวัยวะสืบพันธุ์

ผลการผ่าซากชันสูตรและชั่งน้ำหนักอวัยวะต่าง ๆ เช่น สมอง ตับ ไต และอวัยวสืบพันธุ์คือ มดลูก และ รังไข่ พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน มีน้ำหนักและน้ำหนักสัมบูรณ์ของอวัยวะต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้น ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น แต่จาการทดลองของ ทรงพล ชีวะพัฒน์ และคณะ (2543) พบว่ากวาวเครือขาวขนาด 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ทำให้น้ำหนักของตับ หัวใจ ปอด และไต ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่นนาน 90 วัน ในหนูแรทเพศผู้ โดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะดังกล่าวในหนูแรทเพศเมีย จึงสามารถสรุปได้ว่ากวาวเครือขาวในปริมาณสูงจึงจะสามารถมีผลต่อน้ำหนักอวัยวะที่สำคัญ ๆ ที่มีบทบาทต่อการกำจัดของเสียออกจากร่างกาย เช่น ตับ ปอด และไต เป็นต้น และเพศผู้จะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมากกว่าเพศเมีย สำหรับผลต่ออวัยวะสืบพันธุ์ พบว่ากวาวเครือขาวขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ที่ให้แก่หนูแรทเพศเมียในการทดลองครั้งนี้ไม่มีผลต่อน้ำหนักมดลูก แต่จากการทดลองของ ทรงพล ชีวะพัฒน์ และคณะ (2543) พบว่ากวาวเครือขาวขนาด 100 และ 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ทำให้หนูแรทเพศเมียมีน้ำหนักมดลูกมากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งลักษณะดังกล่าวน่าจะเป็นผลของกวาวเครือขาวที่ออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนอีสโตรเจนที่มีต่อมดลูกโดยตรง (direct effect) หรือมีผลผ่าน hypothalamic-pituitary-uterus axis (indirect effect) โดยอีสโตรเจนสามารถกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์เยื่อบุผนังมดลูกชั้น endometrium จึงทำให้มดลูกหนาตัวและมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นได้ (Johson and Everitt, 1988) ดังจะพบได้ในเพศหญิงที่ตั้งครรภ์ที่มีระดับฮอร์โมนอีสโตรเจนสูง (Greenspan, 1991) และที่สามารถสรุปได้ว่าผลดังกล่าวเป็นผลผ่าน hypothalamic-pituitary-uterus axis เนื่องจากเมื่อทำการตรวจวัดระดับฮอร์โมน FSH และ E_2 พบว่าระดับฮอร์โมน FSH เกือบทุกระยะและ E_2ในทุกระยะของรอบวงสืบพันธุ์ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งก็ คือ กวาวเครือขาวสามารถกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้า (anterior pituitary gland) หลั่งฮอร์โมน FSH ออกมาได้ จากนั้น FSH จะไปกระตุ้น granulosa cells ที่รังไข่ให้หลั่ง E_2และท้ายที่สุด endogenous E_2 สามารถไปกระตุ้นมดลูกให้หนาตัวและมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นตามลำดับ (Yu, 1994; Jones, 1997)

ขนาดของรังไข่

เมื่อเปรียบเทียบขนาดของรังไข่ ข้างซ้ายและข้างขวา ในหนูตัวเดียวกันพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่ารังไข่ข้างซ้ายและขวาในหนูแต่ละตัวมีการตอบสนองต่อสารที่ให้ (น้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาว) ได้เท่าเทียม จึงนำค่าขนาดของรังไข่ทั้งสองข้างมาหาค่าเฉลี่ย และเปรียบเทียบค่าที่ได้ระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและที่ได้รับกวาวเครือขาวพบว่าไม่แตกต่างกัน จึงอาจกล่าวได้ว่าสาร phytoestrogens

จากกวาวเครือขาวไม่ได้กระตุ้นให้เกิด proliferation หรือ edema ของเซลล์ที่รังไข่หรือถ้ากระตุ้นก็กระตุ้นไม่มากนัก จึงทำให้น้ำหนักของรังไข่ของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวไม่ต่างจากกลุ่มน้ำกลั่น และการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมน FSH ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีบทบาทเพียงแค่ไปกระตุ้นให้มีการหลั่งฮอร์โมน E_2 จากรังไข่เท่านั้น และเมื่อนำค่าขนาดของรังไข่ แต่ละข้าง ในหนูแต่ละกลุ่มไปหาความสัมพันธ์กับน้ำหนักรังไข่แต่ละข้างในหนูแต่ละกลุ่มตามลำดับ พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจกล่าวได้ว่าสามารถใช้ข้อมูลที่ได้จากขนาดของรังไข่ทดแทนข้อมูลน้ำหนักของรังไข่ได้ ในการศึกษาใด ๆ ที่ต้องการทราบผลการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักรังไข่ แต่ไม่สามารถชั่งน้ำหนักของรังไข่ได้ เช่น ในกรณีที่ทำการศึกษาในภาคสนามที่ไม่มีเครื่องชั่งหรือไม่สามารถใช้เครื่องชั่งได้

5.3 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

ผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยา เช่น เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต นิวโตรฟิล ลิมโฟซัยต์ โมโนซัยต์ และอีโอสิโนฟิล พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีค่าโลหิตวิทยาไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากหนูกลุ่มควบคุม และสอดคล้องกับการศึกษาของ ทรงพล ชีวะพัฒน์และคณะ (2543) พบว่าหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน มีค่าทางโลหิตวิทยาไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากหนูกลุ่มควบคุม ที่ได้รับน้ำกลั่นทุกวัน เป็นเวลา 90 วัน แต่จากการทดลองของ ทรงพล ชีวะพัฒน์ และคณะ (2543) พบว่าเมื่อให้กวาวเครือขาวขนาด 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ทำให้เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต จำนวนเม็ดเลือดแดง และปริมาณฮีโมโกลบิน ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมทั้งในหนูแรทเพศผู้และเพศเมีย และจำนวนเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดลดลงในหนูเพศผู้ จึงสามารถสรุปได้ว่า กวาวเครือขาวในขนาดสูง ๆ จึงจะสามารถมีผลต่อการสร้างเม็ดเลือดและการเกิดภาวะโลหิตจาง และหนูเพศผู้จะไวต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมากกว่าหนูเพศเมีย หรืออีกนัยหนึ่งอาจสรุปได้ว่า กวาวเครือขาวในขนาดที่รับประทานกันทั่วไปในปัจจุบันมีความปลอดภัยสูงในแง่ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

5.4 ผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือด

ผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าทางชีวเคมีคลินิกในซีรัม เช่น BUN creatinine uric acid cholesterol triglyceride AST ALT และค่า alkaline phosphatase ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างหนูทั้งสองกลุ่ม ยกเว้น ปริมาณ uric acid ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งปริมาณ uric acid เป็นไนโตรเจนที่ไม่ได้มาจากโปรตีนและเป็นตัวบอกถึงสมรรถภาพการทำงานของไต ซึ่งจากปริมาณ uric acid ที่ลดลงอาจเกิดจากการดูดซึมกรดยูริคกลับคืนโดยหลอดหลอดไตลดลงเพราะกวาวเครือขาวไปมีผลรบกวนหรือทำลายเซลล์บุหลอดไต (อ้างตาม วีกูล วีรานุวัตติ์ และ กนกนาถ ชูปัญญา, 2525) และจากผลการศึกษาพบว่าปริมาณ cholesterol ของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญสอดคล้องกับการศึกษาของ Anuntalabhochai and Jesrichai (1986) ที่ทำการศึกษาผลของกวาวเครือขาวในขนาด 5% และ 10% ของกวาวเครือขาวในน้ำหนักอาหาร ต่อระดับโคเลสเตอรอล ในเลือด ของนกกระทาพันธุ์ญี่ปุ่น พบว่านกกระทามีปริมาณโคเลสเตอรอลในเลือดสูงขึ้น

5.5 ผลต่อรอบวงสืบพันธุ์

จากผลค่าฐานนิยมของระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธ์ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นมีรอบวงสืบพันธุ์ที่ปกติจนกระทั่งถึงช่วงวันที่ 80-100 วันของการทดลอง ที่พบเฉพาะระยะอีสตรัสหรือพบเฉพาะ cornified cell เท่านั้น จากการศึกษาของ Aschheim (1961) และ Huang และ Meites (1975) พบว่าหนูแรทเริ่มเข้าสู่สภาวะ aging เมื่ออายุได้ประมาณ 8-12 เดือน หรืออายุที่น้อยกว่านี้ โดยเมื่อทำ vaginal smear พบว่ารอบวงสืบพันธุ์ของหนูแรทจะค่อย ๆ เปลี่ยน จากรอบวงสืบพันธุ์ปกติ เป็นรอบวงสืบพันธุ์ที่ผิดปกติและจากนั้นจะพบระยะอีสตรัสติดต่อกันเป็นเวลานาน หลังจากนั้นจึงเข้าสู่สภาวะท้องเทียมที่ทำ vaginal smear จะพบเฉพาะเซลล์ leukocyte และท้ายที่สุดจะไม่พบรอบวงสืบพันธุ์เลย ซึ่งการเปลี่ยนแปลงลำดับขั้นดังกล่าวก่อนที่จะไม่พบรอบวงสืบพันธุ์เลยนั้น เทียบได้กับในคนเป็นสภาวะ perimenopause ซึ่งจะมีความผิดปกติของรอบประจำเดือน (irregular cycle) และมีระดูไหลออกน้อยลง (oligomenorrhea) ก่อนที่จะเข้าสู่สภาวะ postmenopause ซึ่งจะไม่พบประจำเดือน (amenorrhea) เลย (Cutler and Garcia, 1984; Barber, 1988) ดังนั้นในหนูกลุ่มที่ให้น้ำกลั่นที่พบระยะอีสตรัสติดต่อกันเป็นเวลานานในช่วงวันที่ 80-100 วันของการทดลอง นั่นคือเมื่อหนูมีอายุได้ 180-200 วัน หรือประมาณ 6-7 เดือนนั้น แสดงว่าเป็นช่วงที่หนูเข้าสู่สภาวะ aging หรือ perimenopause แต่ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีรอบวงสืบพันธุ์ที่ปกติตลอดการทดลอง ไม่พบระยะอีสตรัสติดต่อกันเป็นเวลานานเลย แสดงว่าการได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน สามารถช่วยยืดเวลาการเข้าสู่สภาวะ perimenopause ในหนูแรทพันธุ์วิสตาร์ได้

ค่าเฉลี่ยจำนวนวันและเปอร์เซ็นต์ในระยะเมตอีสตรัสในหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นสูงกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่ากวาวเครือขาวนอกจากจะยืดระยะเวลาการเข้าสู่สภาวะ perimenopause แล้ว ยังทำให้ระยะเมตอีสตรัสลดลงอีกด้วย

5.6. ผลต่อปริมาณฮอร์โมน LH, FSH และ E_2ในซีรัม

ผลการศึกษาปริมาณฮอร์โมน FSH โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณฮอร์โมน FSH ในแต่ละระยะของรอบวงสืบพันธุ์ ของหนูทั้งสองกลุ่ม พบว่า ปริมาณ FSH ในระยะอีสตรัส ระยะไดอีสตรัส และระยะโปรอีสตรัส ของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวสูงกว่า กลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแสดงว่า phytoestrogens จากกวาวเครือขาวในขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน สามารถออกฤทธิ์กระตุ้นการหลั่ง FSH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า ได้เช่นเดียวกันกับ endogenous estrogen (Johnson and Everitt, 1988) ซึ่งการกระตุ้นการหลั่งดังกล่าวของ phytoestrogens อาจเป็นการกระตุ้นการหลั่ง FSH จากต่อมใต้สมองโดยตรง หรือมีผลกระตุ้นการหลั่ง GnRH ที่ไฮโปรทาลามัส (Chappell and Levine, 2000) เช่นเดียวกันกับการกระตุ้นการหลั่ง FSH ของ endogenous E_2 ในหนูที่อยู่ในสภาวะ prepuberty ก่อนที่จะเข้าสู่สภาวะ puberty ตาม Gonadostat hypothesis (Lloyd *et al*., 1971) ซึ่งการเพิ่มสูงขึ้นของ FSH ดังกล่าวสามารถกระตุ้น follicular cells ในรังไข่ให้มีการเจริญและหลั่งฮอร์โมน E_2 ออกมาสู่กระแสเลือดได้ ดังนั้นเมื่อตรวจระดับฮอร์โมน E_2 จึงพบว่า E_2 ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นในทุกระยะของ

รอบวงสืบพันธุ์ อย่างสอดคล้องกันกับระดับ FSH นอกจากนี้ยังพบว่าผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อของรังไข่ที่พบว่าจำนวน growing follicle ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมากกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น

หรือเช่นเดียวกันกับการกระตุ้นของ E_2 peak ต่อการหลั่ง FSH ให้เกิด FSH surge ในช่วงก่อนที่จะมีการตกไข่ในหนูที่มีรอบวงสืบพันธุ์ปกติ (Johnson and Everitt, 1988) แต่อย่างไรก็ตามกลไกการออกฤทธิ์ของ phytoestrogens ต่อการกระตุ้นการหลั่ง FSH ในหนูแรทยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจนเนื่องจากยังไม่พบรายงานใด ๆ เลย

5.7ผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อ

จากที่พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน พบโครงสร้างและเซลล์ตับเปลี่ยนแปลงไปจากกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น โดยโครงสร้างของเซลล์ตับเสียไป ซึ่งการเสียหายของเซลล์ตับเป็นทั้งแบบ reversible injury และ irreversible injury แต่ลักษณะ irreversible injury พบเป็นส่วนน้อยของเนื้อเยื่อตับทั้งหมด ซึ่งอาจเนื่องจากการเก็บเนื้อเยื่อตับดองใน 10% formalin ในขั้นตอนการ fixation ใช้เวลานานมาก มีผลทำให้เซลล์ตับ เกิดการย่อยสลายตัวเอง แต่อย่างไรก็ตามลักษณะดังกล่าวจะพบเพียงเล็กน้อย ซึ่งจะสอดคล้องกับค่าทางชีวเคมีคลินิก คือ AST และ ALT ที่ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับที่พบว่าไม่แตกต่างกันระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวและหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น

พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบว่า โครงสร้างของเนื้อเยื่อไตและลักษณะเซลล์ไตไม่เปลี่ยนแปลง แต่หนูในกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน พบการผิดปกติของระบบเลือดในไต โดยพบว่าเกิดมีการคั่งของเม็ดเลือดแดงในหลอดเลือดขนาดใหญ่และหลอดเลือดขนาดเล็กของไต และพบมีเม็ดเลือดขาวสะสมเป็นกลุ่มเป็นส่วนน้อย อาจเนื่องจากการเก็บเนื้อเยื่อไตดองใน 10% formalin ในขั้นตอนการ fixation ไม่ได้ drain เลือดที่ไตออกก่อนจึงทำให้พบเลือดคั่งในหลอดเลือดของไต

พยาธิสภาพของผนังมดลูกของหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น พบว่าการเปลี่ยนแปลงของผนังมดลูกเปลี่ยนแปลงไปตามระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ เป็นไปอย่างปกติ เมื่อเปรียบเทียบจากการศึกษาของ Long and Evans (1922) แต่หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวจะกระตุ้นให้ endometrial cell เซลล์บุท่อ และเส้นเลือดที่มาที่มดลูก มีการเจริญดี อย่างสอดคล้องกันกับการศึกษาของ Smitasiri et al. (1986) พบว่าเมื่อให้ผงกวาวเครือขาวมีผลทำให้มดลูกของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและมีปริมาณของเหลวมากขึ้น

พยาธิสภาพของการเปลี่ยนแปลงของ ovarian follicle ในรังไข่ของหนูโตเต็มวัยเพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น พบว่าการเปลี่ยนแปลงของ รังไข่ไปตามระยะต่าง ๆ ของรอบวงสืบพันธุ์ เป็นไปอย่างปกติ แต่หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวทุกระยะของรอบวงสืบพันธุ์พบ growing follicle มากเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มสูงขึ้นของฮอร์โมน FSH และ E_2 ดังได้กล่าวไปแล้ว

การทดลองที่ 6 การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทแก่เพศเมีย

6.1 ผลต่อน้ำหนักตัวและลักษณะภายนอกที่ปรากฏ

ผลการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือขาวในหนูแรทแก่เพศเมียเป็นเวลานาน 200 วัน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน มีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น แสดงว่าการให้กวาวเครือขาว ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของหนูแก่เช่นเดียวกับหนูโตเต็มวัย แต่อย่างไรก็ตามพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวน้ำหนักมีแนวโน้มเริ่มลดลงในสัปดาห์ที่ 14 เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้น (สัปดาห์ที่ 1) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จากการทดลองของ Benson et al. (1961) ทำการศึกษาโดยให้สาร miroestrol 0.1 ไมโครกรัม/วัน นาน 30 วัน กับหนูแรทเพศเมียอายุ 20 วันที่ตัดรังไข่สองข้าง ซึ่งเป็นการเลียนแบบสภาวะ postmenopause ที่พบในหนูแก่ พบว่าทำให้น้ำหนักตัวหนูลดลง ซึ่งการลดลงของน้ำหนักตัวอาจเป็นผลของสาร phytoestrogens ที่มีต่อระบบประสาทส่วนกลาง จากการศึกษาของ Cain (1960) พบว่าเมื่อให้ miroestrol ขนาด 1 หรือ 5 มิลลิกรัม/วัน ในคนจะทำให้มีอาการปวดศีรษะ และคลื่นไส้อาเจียน ซึ่งเป็นอาการที่บ่งชี้ว่า miroestrol มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง แต่อย่างไรก็ตามการลดลงของน้ำหนักตัวหนูไม่ได้สัมพันธ์กันกับน้ำหนักอาหารที่หนูกิน เนื่องจากค่าน้ำหนักอาหารที่หนูกิน ทั้งสองกลุ่มมีความผันผวนมาก ซึ่งความผันผวนอาจเนื่องจากค่าน้ำหนักอาหารที่กินคำนวณจากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักอาหารที่หนูแต่ละตัวกินในแต่ละกรงทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้ (เนื่องจากเลี้ยงหนู 5 ตัว/กรง) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำค่าการกินอาหารของหนูทุกสัปดาห์มาหาค่าเฉลี่ย พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างหนูทั้งสองกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น อย่างสอดคล้องกับผลของน้ำหนักตัว

6.2 ผลต่ออวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิสมและอวัยวะสืบพันธุ์

ผลการผ่าซากชันสูตรและชั่งน้ำหนักอวัยวะต่าง ๆ เช่น สมอง ตับ ไต และอวัยวะสืบพันธุ์ คือ มดลูก และ รังไข่ พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีน้ำหนักและน้ำหนักสัมบูรณ์ของอวัยวะต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น ยกเว้นน้ำหนักสมองในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่น้ำหนักสมองสัมบูรณ์ไม่แตกต่าง การที่น้ำหนักสมองของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอาจเนื่องจากจำนวนหนูในกลุ่มที่ได้น้ำกลั่นตายไปจำนวน 4 ตัว จากจำนวนทั้งหมด 10 ตัว น้ำหนักตัวหนูที่ได้รับน้ำกลั่นที่เหลืออยู่ 6 ตัวสุดท้ายมีค่าสูง จึงทำให้น้ำหนักสมองสูงไปด้วย ดังนั้นเมื่อคำนวณเทียบน้ำหนักสมองกับน้ำหนักตัวได้เป็นค่าน้ำหนักสมองสัมบูรณ์จึงไม่พบความแตกต่างทางสถิติ

จากที่พบว่าขนาดของรังไข่ข้างซ้ายและขวา ในหนูตัวเดียวกันไม่แตกต่างกัน และขนาดของรังไข่เฉลี่ยในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น จึงอาจสรุปได้ว่าการให้กวาวเครือขาวในขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน นาน 200 วัน ในหนูแก่ ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อขนาดรังไข่ เช่นเดียวกันกับผลในหนูโตเต็มวัย

6.3 ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

ผลการศึกษาค่าโลหิตวิทยา เช่น เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต นิวโตรฟิล ลิมโฟซัยต์ โมโนซัยต์ และอีโอสิโนฟิล พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีค่าโลหิตวิทยาที่กล่าวมาดังข้างต้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากหนูกลุ่มควบคุม แสดงว่ากวาวเครือขาวขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ไม่มีผลต่อการสร้างเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวในหนูแก่เช่นเดียวกันกับหนูโตเต็มวัย และผลดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Verasing Muangman และ Wichai Cherdchiwasart (2544) ที่ให้ผงกวาวเครือขาวปริมาณ 200 มิลลิกรัม/วัน กับผู้หญิงวัยทอง 5 คน ที่อยู่ในสภาวะ perimenopause และ postmenopause นานติดต่อกัน 3 สัปดาห์ในแต่ละเดือน เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าไม่มีผลต่อค่า haemoglobin haematocrit และ blood cell count

6.4 ผลต่อค่าทางชีวเคมีในเลือด

ผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าทางชีวเคมีคลินิกในซีรัม คือ BUN creatinine uric acid cholesterol triglyceride AST ALT และค่า alkaline phosphatase ของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น แสดงว่ากวาวเครือขาวไม่มีผลต่อการทำงานของตับ ไต และการกลไกการสร้างและใช้ไขมัน อย่างสอดคล้องกันกับการศึกษาของ Muangman และ Cherdchisawart (2001) ที่ได้ทำการศึกษาให้ผงกวาวเครือขาวปริมาณ 200 มิลลิกรัม/วัน กับผู้หญิงวัยทอง 5 คน นานติดต่อกัน 3 สัปดาห์ ในแต่ละเดือน เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าไม่มีผลต่อค่าทางชีวเคมีคลินิกในซีรัม คือ BUN creatinine AST ALT cholesterol triglyceride และ uri nalysis

6.5 ผลต่อรอบวงสืบพันธุ์

จากการทดลองในครั้งนี้หนูแก่ที่นำมาใช้ในการทดลองมีอายุประมาณ 12 เดือน และมีรอบวงสืบพันธุ์ที่ไม่ปกติ (irregular cycle) จึงสามารถกล่าวได้ว่าหนูที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้อยู่ในสภาวะ perimenopause (Aschheim 1961; Huang and Meites, 1975) และจากผลค่าฐานนิยมของรอบวงสืบพันธ์ทุกวันตลอดการทดลอง ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นมีระยะไดอีสตรัสหรือพบเซลล์ชนิด leukocyte ยาวติดต่อกันหลายวัน โดยเริ่มพบประมาณวันที่ 120 ของการทดลอง โดยพบนาน 40 วันซึ่งลักษณะดังกล่าวถือว่าเป็นสภาวะท้องเทียม (pseudopregnancy) (Long and Evans, 1922) ซึ่งจัดเป็นดัชนีบ่งชี้ว่าหนูเข้าสู่สภาวะ aging แล้ว หรืออยู่ในช่วง late perimenopause ซึ่งท้ายที่สุดหนูจะเข้าสู่สภาวะ anestrous นั่นคือจะตรวจพบเฉพาะ leukocyte เพียงอย่างเดียว หรือเข้าสู่สภาวะ postmenopause นั่นเอง (Aschheim 1961; Huang and Meites, 1975) จากการทดลองในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าหนูแรทพันธุ์วิสตาร์ปกติจะเริ่มเข้าสู่สภาวะ postmenopause ที่อายุประมาณ 480 วัน หรือประมาณ 16 เดือน ในขณะที่หนูในกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีระยะไดอีสตรัสยาวติดกันหลายวันหรือพบสภาวะท้องเทียม ประมาณวันที่ 150 ของการทดลอง แสดงว่าการเข้าสู่สภาวะท้องเทียมของหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวช้ากว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น จึงสรุปได้ว่าการได้รับกวาวเครือขาวขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน ในระยะ perimenopause ของหนูแรทแก่สามารถยืดระยะเวลาการเข้าสู่สภาวะ

postmenopause ได้ และจากที่พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนวันและเปอร์เซ็นต์ที่พบระยะโปรอีสตรัสในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวสูงกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่ากวาวเครือขาวขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน เมื่อให้ในหนูแก่สามารถกระตุ้นการเจริญของเซลล์ที่ vagina ได้จึงทำให้จำนวนวันที่พบระยะโปรอีสตรัสสูงขึ้น หรือยืดระยะโปรอีสตรัสของรอบวงสืบพันธุ์ได้ เช่นเดียวกันกับการให้ isoflavone จากถั่วเหลืองขนาด 45 มิลลิกรัม/วัน แก่ผู้หญิงระยะ premenopause ที่สามารถยืดระยะ follicular ของรอบประจำเดือนได้ (Cassidy *et al*., 1995) ทั้งนี้เนื่องจากระยะโปรอีสตรัส ในหนูแรทเทียบได้กับระยะ follicular ในคน (Long and Evan, 1922)

6.6 ผลต่อปริมาณฮอร์โมน LH, FSH และ E_2ในซีรัม

จากที่พบว่าปริมาณ FSH ในระยะโปรอีสตรัสหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่ากวาวเครือขาวในขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน สามารถกระตุ้นการหลั่ง FSH ในระยะโปรอีสตรัสในหนูแก่ ได้เช่นเดียวกับในหนูโตเต็มวัย แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มสูงขึ้นของ FSH ดังกล่าวไม่สามารถไปกระตุ้นการหลั่ง E_2 ให้เพิ่มสูงขึ้นได้ ทั้งนี้เนื่องจากฮอร์โมน E_2 ในทุกระยะของรอบวงสืบพันธุ์ในหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Baird et al. (1995) ได้ทำการศึกษาผลของ phytoestrogens ต่อระดับ endogenous estrogens ในผู้หญิงระยะ postmenopause พบว่าไม่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับ endogenous estrogens และเนื่องจากไม่พบการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน LH ในทุกระยะของรอบวงสืบพันธุ์ในหนูแก่เช่นเดียวกันกับหนูโตเต็มวัย จึงอาจสรุปได้ว่า phytoestrogens จากกวาวเครือขาวสามารถกระตุ้นให้มีการหลั่ง FSH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าได้ดีกว่าการกระตุ้น LH

6.7 ผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อ

พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อตับของหนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบว่า โครงสร้างของเนื้อเยื่อตับและลักษณะเซลล์ตับไม่เปลี่ยนแปลงและพบการสะสมของไขมันในเซลล์ แต่หนูในกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน พบโครงสร้างและเซลล์ตับเปลี่ยนแปลงไปจากกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น โดยพบว่าโครงสร้างของเซลล์ตับเสียไปทั้งแบบ reversible injury และ irreversible injury เช่นเดียวกันกับหนูโตเต็มวัย

พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตของหนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบว่า โครงสร้างของเนื้อเยื่อไตและลักษณะเซลล์ไตไม่เปลี่ยนแปลง แต่หนูในกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน พบการผิดปกติของระบบเลือดในไต โดยพบว่าเกิดมีการคั่งของเม็ดเลือดแดงในหลอดเลือดขนาดใหญ่และหลอดเลือดขนาดเล็กของไต และพบ hemosiderin pigment เล็กน้อย ซึ่งอาจเกิดจาก macrophage หรือ histiocyte เข้าจับกินเม็ดเลือดแดงที่แตก พยาธิสภาพของผนังมดลูกของหนูแรทแก่เพศเมียกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น มีการเปลี่ยนแปลงอย่างสอดคล้องกันกับผลของ vaginal smear ที่พบเฉพาะระยะไดอีสตรัสเท่านั้น ในหนูทุกตัวในวันที่ฆ่าหนูเพื่อพิสูจน์ซาก และการเปลี่ยนแปลงของผนังมดลูกในระยะไดอีส

ตรัสของหนูแก่ พบว่าคล้ายกับหนูโตเต็มวัยแต่มีการเจริญของ endometrial cell เซลล์บุท่อ และเส้นเลือดที่มาที่มดลูกน้อยกว่า และพบ hemosiderin pigment บริเวณรอบ ๆ เส้นเลือด ในชั้น myometrium แสดงว่ามีการจับกินเม็ดเลือดแดงที่แตกของเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น แต่หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวการเปลี่ยนแปลงของผนังมดลูกในระยะเดียวกันจะพบ endometrial cell เซลล์บุท่อ และเส้นเลือดที่มาที่มดลูก มีการเจริญดี จากการทดลองของ Smitasiri et al. (1986) พบว่าเมื่อให้ผงกวาวเครือขาวมีผลทำให้มดลูกของหนูแรทเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและมีปริมาณของเหลวมากขึ้น และหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวยังพบมีความผิดปกติที่เนื้อเยื่อมดลูก โดยพบมีเม็ดเลือดขาวจำนวนมากมาแทรกตัวอยู่ในเนื้อเยื่อของมดลูก แสดงว่ากวาวเครือขาวอาจมีผลกระตุ้นการเจริญและเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาวในหนูตัวดังกล่าวหรืออาจเกิดจากการอักเสบของรังไข่หรือมดลูก และพบ hemosiderin pigment บริเวณรอบ ๆ เส้นเลือดได้เช่นเดียวกันกับหนูที่ได้รับน้ำกลั่น

พยาธิสภาพของการเปลี่ยนแปลงของ ovarian follicle ในรังไข่ของหนูแรทแก่เพศเมียที่ได้รับน้ำกลั่น พบว่า growing follicle มีจำนวนลดลงมาก พบแต่ corpus luteum และ atretic follicle อย่างสอดคล้องกันกับผลของการทำ vaginal smear ที่พบเป็นระยะไดอีสตรัส มีการศึกษาพบว่าการสูญเสีย follicle ในคนจะเกิดขึ้นอย่างค่อยเป็นค่อยไปในระยะของวัยเจริญพันธุ์ และจะเกิดอย่างรวดเร็วเมื่อมีฟอลลิเคิลเหลืออยู่ในรังไข่เพียง 25,000 ใบ (Faddy et al., 1992) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวพบจำนวน growing follicle มากกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น ซึ่งการเพิ่มจำนวนของ growing follicle ในหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวอาจจะเป็นผลโดยตรงของ phytoestrogensในกวาวเครือขาวต่อรังไข่ ในการกระตุ้นให้มีการเจริญของ follicle มากขึ้นเพราะ อีสโตรเจนสามารถทำให้ท่อนำไข่โต และเพิ่มน้ำหนักและจำนวนฟอลลิเคิลในรังไข่ได้ (Sturkie, 1976) หนูในกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวที่พบเนื้อเยื่อมดลูกผิดปกติจะพบเนื้อเยื่อรังไข่ที่ผิดปกติด้วย โดยพบมีเม็ดเลือดขาวจำนวนมาแทรกตัวอยู่ในเนื้อเยื่อของรังไข่ แสดงว่ากวาวเครือขาวอาจมีผลกระตุ้นการเจริญและเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาวในหนูตัวดังกล่าวหรืออาจเกิดจากการอักเสบของรังไข่หรือมดลูก และพบ hemosiderin pigment บริเวณรอบ ๆ เส้นเลือดได้เช่นเดียวกันกับหนูที่ได้รับน้ำกลั่น

การทดลองที่ 7 การศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อการเกิดมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย

7.1 เปรียบเทียบการเกิดมะเร็งเต้านมในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย เมื่อได้รับกวาวเครือขาวหรือน้ำกลั่นนาน 150 วันภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 1 ของการทดลอง

7.1.1 การเจริญเติบโตและการกินอาหาร

จากการศึกษาพบว่าหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน มีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น สอดคล้องกับการศึกษาของ Lisa และ Reicks (1999) เมื่อให้สารสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองที่ผสมกับ isoflavonoids ในปริมาณ 0.03 0.4 และ 0.81 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักอาหารในหนูแรทนาน 2 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มที่ได้รับ isoflavone ไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับเฉพาะ casein (casien control diet) เมื่อดูแนวโน้มการเจริญเติบโตของหนูทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบน้ำหนักตัวทุก ๆ สัปดาห์กับน้ำหนักตัวเริ่มต้นในสัปดาห์ที่ 1 พบว่าหนูทั้งสองกลุ่มมีน้ำหนักตัว

เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่สัปดาห์ที่ 2 เป็นต้นไป เนื่องจากหนูที่นำมาใช้ในการทดลองนี้มีอายุ 50 วัน จัดอยู่ในช่วงที่กำลังมีการเจริญเติบโต (Melby and Altman, 1974; ปานเทพ รัตนากร, 2535) ทำให้น้ำหนักตัวในหนูทั้งสองกลุ่มมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว

ผลการศึกษาการกินอาหารของหนูทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบน้ำหนักอาหารที่กินระหว่างหนูทั้งสองกลุ่มที่สัปดาห์เดียวกัน พบว่ามีความแตกต่างกันตลอดการทดลอง โดยแยกออกเป็น 2 ช่วง โดยช่วงแรกหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวมีการกินอาหารมากกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น แต่ในช่วงที่สองหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นมีการกินอาหารมากกว่ากลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาว ซึ่งความผันผวนของข้อมูลอาจเนื่องจากค่าน้ำหนักอาหารที่กินคำนวณจากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักอาหารที่หนูแต่ละตัวกินในแต่ละกรงทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้ (เนื่องจากเลี้ยงหนู 5 ตัว/กรง) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำค่าการกินอาหารของทุกสัปดาห์มาหาค่าเฉลี่ยพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น อย่างสอดคล้องกันกับผลของน้ำหนักตัว

7.1.2 ระยะเวลาการพบก้อนเนื้อ

จากการสังเกตการเกิดก้อนเนื้อบริเวณเต้านมของหนูแรทพันธุ์วิสตาร์ที่ได้รับน้ำกลั่น และที่ได้รับกวาวเครือขาวนาน 150 วัน ภายหลังจากที่ได้รับสารก่อมะเร็ง DMBA ในวันที่ 1 พบว่าวันแรกที่พบก้อนเนื้อในหนูทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wayne et al. (1998) ทำการศึกษาในหนูแรทเพศเมียสายพันธุ์ Spague Dawley อายุ 7 สัปดาห์ โดยให้กินอาหารที่มี genistein ขนาด 0 25 และ 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักอาหาร จนกระทั่งหนูมีอายุครบ 9 สัปดาห์ จากนั้นนำหนูเพศเมีย ไปผสมพันธุ์กับหนูเพศผู้ ปล่อยให้ท้องและคลอด นำลูกหนูเพศเมียอายุ 21 วัน มาเลี้ยงต่อโดยให้อาหารที่ไม่มี genistein เมื่ออายุครบ 50 วัน ชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านมโดยให้ DMBA ปริมาณ 80 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่าช่วงวันที่พบมะเร็งครั้งแรกของหนูทั้งสามกลุ่ม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

7.1.3 จำนวนหนูและจำนวนก้อนเนื้อบริเวณเต้านม

จากการสังเกตการเกิดก้อนเนื้อบริเวณเต้านมของหนู พบว่าหนูกลุ่มให้สารก่อมะเร็งและกวาวเครือขาวมีก้อนเนื้อบริเวณเต้านม ไม่แตกต่างกันจากกลุ่มที่ได้รับสารก่อมะเร็งและน้ำกลั่น ซึ่งผลที่ได้จะคล้ายกับผลการศึกษาของ Ross et al. (2000) ทำการศึกษาโดยชักนำให้หนูเป็นมะเร็งเต้านมโดยให้ MDA-MB-231 และเมื่อพบก้อนเนื้องอกแข็งภายหลังจากการชักนำจึงให้ genistein ปริมาณ 750 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักตัว/วัน นาน 5 สัปดาห์ พบว่าจำนวนหนูที่เกิดมะเร็งเต้านมในกลุ่มที่ได้รับ genistein ก่อนพบก้อนเนื้องอก (n=25) และกลุ่มควบคุม(n=32) พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

7.1.4 ตำแหน่ง

ตำแหน่งที่พบก้อนเนื้อบริเวณเต้านมของหนูทั้งสองกลุ่มพบกระจายไปตามเต้านม ต่าง ๆ (บริเวณอกกับท้อง) มากกว่า บริเวณขา สอดคล้องกับการศึกษาของ Reza *et al*. (2000) ทำการศึกษาโดยใช้หนูแรทเพศ

เมียสายพันธุ์ Sprague Dawley แบ่งหนูออกเป็น 3 กลุ่ม โดยให้ casein, soy และ whey ตามลำดับ นำหนูไปผสมกับผู้เพศผู้ นำลูกหนูเพศเมียมาเลี้ยงและให้ได้รับอาหารและสาร เหมือนกับแม่ เมื่ออายุ 50 วัน ชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านม โดยใช้ DMBA ปริมาณ 80 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่าตำแหน่งที่เกิดมะเร็งเต้านมจะพบบริเวณ บริเวณคอและอกของด้านท้องเป็นส่วนมาก

7.1.5 การเพิ่มขนาดของก้อนเนื้อบริเวณเต้านม

จากค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อบริเวณเต้านม พบว่า หนูกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและกวาวเครือขาวพบก้อนเนื้อบริเวณเต้านมก่อนหนูกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและน้ำกลั่น และมีการเพิ่มขนาดอย่างรวดเร็ว และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อบริเวณเต้านมของหนูทั้งสองกลุ่มที่สัปดาห์เดียวกันทุก ๆ สัปดาห์ พบว่าสัปดาห์ที่ 7 8 9 11 12 และ 13 หนูกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและกวาวเครือขาวมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อบริเวณเต้านมใหญ่กว่าหนูกลุ่มที่ให้สารก่อมะเร็งและน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในสัปดาห์ต่อมาพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับการศึกษาของ Petrakis et al.(1996) ทำการศึกษาถึงผลของสารสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองเพื่อการค้า ในผู้หญิง premenopausal และ postmenopausal เป็นระยะเวลา 1 ปี พบว่าสารสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองเพื่อการค้าทำให้มีการไหลของหยดน้ำนมที่พบเซลล์ hyperplastic epithelial cell แสดงว่าสารสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองเพื่อการค้าทำให้เกิดมีการเจริญที่ผิดปกติของเซลล์เต้านม แสดงว่าโปรตีนจากถั่วเหลืองเพื่อการค้าสามารถกระตุ้น epithelial cell ที่เต้านมให้มีการเพิ่มจำนวนและเจริญผิดปกติ

7.1.6 การสังเกตการเกิดมะเร็ง

โดยทำการคลำที่บริเวณเต้านมทุกสัปดาห์ โดยสังเกตตำแหน่งที่พบ คลำขอบเขต ลักษณะพื้นผิว และความอ่อนและแข็งของก้อนเนื้อ สังเกตพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของก้อนเนื้อแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงแรกที่มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า และช่วงที่สองที่ก้อนเนื้อมีการเจริญเติบโตเร็วและมีเส้นเลือดมาเลี้ยงเป็นจำนวนมาก และแผลอาจมีการแตก พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวจะพบระยะที่สองแสดงผลชัดเจนและรุนแรงกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่น สอดคล้องกับการศึกษาของ Fotsis *et al*. (1993) ทำการศึกษาผลของ genistein ในการยับยั้งการเกิด angiogenesis (การสร้างหลอดเลือด) ในหลอดทดลอง พบว่า genistein สามารถยับยั้งการเจริญของ endothelial cell ในการสร้างหลอดเลือดมาเลี้ยงเซลล์มะเร็ง แสดงว่าการให้กวาวเครือขาวปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน นาน 150 วันภายหลังให้สารชักนำให้เกิดมะเร็งเต้านม (DMBA) กับหนูแรทเพศเมียอายุ 50 วัน กระตุ้นให้มีการเกิด angiogenesis มาเลี้ยงก้อนมะเร็งเต้านม

7.1.7 ผลการศึกษาปริมาณฮอร์โมน Estradiol (E_2)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมน E_2 ในแต่ละระยะรอบวงสืบพันธุ์ พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณฮอร์โมน E_2 ในระยะอีสตรัสของหนูทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าหนูทั้งสองกลุ่มมีค่าปริมาณฮอร์โมน E_2 ในระยะที่เหลือมีค่าต่ำมาก สอดคล้องกับการศึกษา Lee *et al*. (2001)

ทำการศึกษาผลของนมถั่วเหลืองกับ isoflavones ต่อระดับฮอร์โมนจากรังไข่ในผู้หญิง premenopausal พบว่านมถั่วเหลืองกับ isoflavones มีผลลดปริมาณ estradiol 17β และ progesterone

7.1.8 พยาธิสภาพของมะเร็งเต้านม

เมื่อชักนำให้หนูเกิดมะเร็งเต้านมและให้น้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน นาน 150 วัน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวเกิดมะเร็งชนิด Adenocarcinoma คือมะเร็งที่เกิดจากเซลล์ของต่อม และพบโครงสร้างของการเกิดมะเร็งแตกต่างกันไป โดยในหนูทั้งสองกลุ่มจะพบโครงสร้างเป็นแบบ alveolar มากที่สุดรองลงมาคือ ductular และ paillary และหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบหนูเพียงตัวเดียวที่พบเนื้องอกที่ไตร่วมด้วย และยังพบหนูที่มีก้อนเลือดใต้แคปซูลของไต และหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบมีการรุกรามของมะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia) ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม 2 ตัว เช่นเดียวกันกับหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวพบหนู 2 ตัวเกิด leukemia รุกรามไปที่ตับ ไต ม้าม ร่วมกับการเกิดมะเร็งเต้านม แสดงว่าสารชักนำให้เกิดมะเร็งเต้านม (DMBA) นอกจากจะชักนำให้เกิดมะเร็งเต้านมแล้วยังชักนำให้เกิดเนื้องอกที่ไตและมะเร็งเม็ดเลือดขาว ซึ่งการพบหนูเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวร่วมด้วยกับการเกิดมะเร็งเต้านมในหนูทั้งสองกลุ่มสอดคล้องกับงานวิจัยของ Huggin *et al.*, (1961) ทำการศึกษาให้ DMBA ปริมาณ 20 มิลลิกรัม/หนู เพียงครั้งเดียว กับหนู Sprague Dawley rat อายุ 50 วัน พบหนูเป็นมะเร็งเต้านมและมะเร็งเม็ดเลือดขาวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว

7.2 เปรียบเทียบการเกิดมะเร็งเต้านมในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย เมื่อได้รับกวาวเครือขาวหรือน้ำกลั่นนาน 240 วันภายหลังจากที่ได้รับ DMBA ในวันที่ 91 ของการทดลอง

7.2.1 ระยะเวลาการพบ

จากการสังเกตการเกิดก้อนเนื้อบริเวณเต้านมของหนู ช่วงที่พบวันแรกของหนูกลุ่มให้น้ำกลั่นสารก่อมะเร็ง (DMBA) และน้ำกลั่น หนูทั้งสองกลุ่มจะมีการพบก้อนเนื้อบริเวณเต้านมใกล้เคียงกัน และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับการศึกษาของ Wayne *et al.* (1998) โดยให้หนูแรทเพศเมียสายพันธุ์ Spague Dawley อายุ 7 สัปดาห์ กินอาหารที่มี genistein 0 25 และ 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักอาหาร เมื่ออายุครบ 9 สัปดาห์ นำหนูเพศเมีย 2 ตัว ไปผสมพันธุ์กับหนูเพศผู้ 1 ตัว เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยช่วงนี้จะให้อาหารที่ไม่มี genistein เมื่อหนูท้องและคลอดนำลูกหนูเพศเมียอายุ 21 วัน มาเลี้ยงต่อโดยให้อาหารที่ไม่มี genistein เมื่ออายุครบ 50 วัน ชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านมโดยให้ DMBA ปริมาณ 80 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่าช่วงวันที่พบมะเร็งครั้งแรกของหนูทั้งสามกลุ่ม ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

7.2.2 จำนวนหนูและจำนวนก้อนเนื้อบริเวณเต้านม

จากการสังเกตการเกิดก้อนเนื้อบริเวณเต้านมของหนู โดยให้สารก่อมะเร็งกับหนูจำนวน 25 ตัว ต่อกลุ่ม พบว่าหนูกลุ่มให้น้ำกลั่นสารก่อมะเร็งและน้ำกลั่น จะมีการพบหนูที่มีก้อนเนื้อบริเวณเต้านม มากกว่าหนูกลุ่มให้กวาวเครือขาวสารก่อมะเร็งและกวาวเครือขาว แต่พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จำนวนก้อน

เนื้อบริเวณเต้านมต่อตัวหนู พบว่าหนูกลุ่มให้กวาวเครือขาวสารก่อมะเร็งและกวาวเครือขาวมีจำนวนก้อนเนื้อบริเวณเต้านมต่อหนู 1 ตัว มากกว่า หนูกลุ่มให้สารก่อมะเร็งและกวาวเครือขาว หนูกลุ่มให้น้ำกลั่นสารก่อมะเร็งและน้ำกลั่นพบจำนวนหนูที่พบก้อนเนื้อบริเวณเต้านม 1 ก้อน มากกว่าหนูในกลุ่มให้กวาวเครือขาวสารก่อมะเร็งและกวาวเครือ พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หนูที่พบก้อนเนื้อบริเวณเต้านมมากกว่า 1 ก้อน พบเฉพาะหนูในกลุ่มที่ให้กวาวเครือขาวสารก่อมะเร็งและกวาวเครือขาวพบ 1 ตัวเท่ากัน จากผลการทดลองที่กล่าวมาดังข้างต้น สอดคล้องกับการทดลองของ Wayne *et al*. (1998) โดยให้หนูแรทเพศเมียสายพันธุ์ Spague Dawley อายุ 7 สัปดาห์ กินอาหารที่มี genistein 0 25 และ 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักอาหาร เมื่ออายุครบ 9 สัปดาห์ นำหนูเพศเมีย 2 ตัว ไปผสมพันธุ์กับหนูเพศผู้ 1 ตัว เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยช่วงนี้จะให้อาหารที่ไม่มี genistein เมื่อหนูท้องและคลอดนำลูกหนูเพศเมียอายุ 21 วัน มาเลี้ยงต่อโดยให้อาหารที่ไม่มี genistein เมื่ออายุครบ 50 วัน ชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านมโดยให้ DMBA ปริมาณ 80 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่าลูกหนูกลุ่มที่แม่หนูได้รับอาหารที่ไม่มี genistein , มี genistein ปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว และ มี genistein ปริมาณ 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว พบจำนวนก้อนเนื้อบริเวณเต้านมต่อตัวหนู 8.8$\pm$0.8, 7.1$\pm$0.8 และ 4.4$\pm$0.6 ตามลำดับ แสดงว่าการได้รับ genistein ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม phytoestrogens เช่นเดียวกับกวาวก่อนสามารถป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมได้โดยขึ้นกับปริมาณ โดย genistein ปริมาณสูงสามารถป้องกันการเกิดมะเร็งได้มากกว่า genistein ปริมาณต่ำกว่า

7.2.3 ตำแหน่ง

ตำแหน่งที่พบก้อนเนื้อบริเวณเต้านมของหนูทั้งสองกลุ่มพบกระจายไปตามเต้านมต่าง ๆ (บริเวณอกกับท้อง) มากกว่า บริเวณขา สอดคล้องกับการศึกษาของ Reza *et al*. (2000) ทำการศึกษาโดยใช้หนูแรทเพศเมียสายพันธุ์ Sprague Dawley แบ่งหนูออกเป็น 3 กลุ่ม โดยให้ casein, soy และ whey ตามลำดับ นำหนูไปผสมกับผู้เพศผู้ นำลูกหนูเพศเมียมาเลี้ยงและให้ได้รับอาหารและสาร เหมือนกับแม่ เมื่ออายุ 50 วัน ชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านม โดยใช้ DMBA ปริมาณ 80 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่าตำแหน่งที่เกิดมะเร็งเต้านมจะพบบริเวณ ช่วงคอและช่วงอกของด้านท้องเป็นส่วนมาก

7.2.4 การเพิ่มขนาดของก้อนเนื้อบริเวณเต้านม

จากค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อบริเวณเต้านม พบว่า หนูทั้งสองกลุ่มพบค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของก้อนเนื้อบริเวณเต้านมใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางก้อนเนื้อบริเวณเต้านมของหนูทั้งสองกลุ่มที่สัปดาห์เดียวกันทุกสัปดาห์ พบว่าสัปดาห์ที่ 1 เท่านั้น หนูกลุ่มที่ให้กวาวเครือขาวสารก่อมะเร็งและกวาวเครือขาวมีขนาดใหญ่กว่าหนูกลุ่มที่ให้น้ำกลั่นสารก่อมะเร็งและน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในสัปดาห์ต่อมาพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องการศึกษาของ Wayne *et al*. (1998) โดยให้หนูแรทเพศเมียสายพันธุ์ Spague Dawley อายุ 7 สัปดาห์ กินอาหารที่มี genistein 0 25 และ 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักอาหาร เมื่ออายุครบ 9 สัปดาห์ นำหนูเพศเมีย 2 ตัว ไปผสมพันธุ์กับหนูเพศผู้ 1 ตัว เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยช่วงนี้จะให้อาหารที่ไม่มี genistein เมื่อ

หนูท้องและคลอดนำลูกหนูเพศเมียอายุ 21 วัน มาเลี้ยงต่อโดยให้อาหารที่ไม่มี genistein เมื่ออายุครบ 50 วัน ชักนำให้เป็นมะเร็งเต้านมโดยให้ DMBA ปริมาณ 80 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่าลูกหนูกลุ่มที่แม่หนูได้รับอาหารที่ไม่มี genistein , มี genistein ปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว และ มี genistein ปริมาณ 250 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่าค่าเฉลี่ยของขนาดเต้านมของหนูทั้งสองกลุ่มที่อายุ 21 และ 50 วัน ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

7.2.5 การสังเกตการเกิดมะเร็ง

โดยทำการคลำที่บริเวณเต้านมทุกสัปดาห์ โดยสังเกตตำแหน่งที่พบ คลำขอบเขต ลักษณะพื้นผิว และความอ่อนและแข็งของก้อนเนื้อ สังเกตพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของก้อนเนื้อแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงแรกที่มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า และช่วงที่สองที่ก้อนเนื้อมีการเจริญเติบโตเร็วและมีเส้นเลือดมาเลี้ยงเป็นจำนวนมาก และแผลอาจมีการแตก แต่พบจำนวนหนูที่แผลแตกน้อยกว่าการทดลองที่ 3.1 และความชัดเจนและความรุนแรงในช่วงที่สองน้อยกว่าการทดลองที่ 3.1 สอดคล้องกับการศึกษาของ Fotsis *et al.* (1993) ทำการศึกษาผลของ genistein ในการยับยั้งการเกิด angiogenesis (การสร้างหลอดเลือด) in vitro พบว่า genistein สามารถยับยั้งการเจริญของ endothelial cell ในการสร้างหลอดเลือดมาเลี้ยงเซลล์มะเร็ง

7.2.6 ผลการศึกษาปริมาณฮอร์โมน Estradiol (E_2)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณฮอร์โมน E_2 ในแต่ละระยะรอบวงสืบพันธุ์ พบว่าหนูทั้งสองกลุ่มมีค่าปริมาณฮอร์โมน E_2 ในทุกระยะของรอบวงสืบพันธุ์มีค่าต่ำมาก สอดคล้องกับการศึกษาของ Lee *et al.* (2001) ทำการศึกษาผลของนมถั่วเหลืองกับ isoflavones ต่อระดับฮอร์โมนจากรังไข่ในผู้หญิง premenopausal พบว่านมถั่วเหลืองกับ isoflavones มีผลลดปริมาณ estradiol 17β และ progesterone

7.2.7 พยาธิสภาพของมะเร็งเต้านม

เมื่อให้น้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาวปริมาณ 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว/วัน นาน 240 วัน และชักนำให้หนูเกิดมะเร็งเต้านมในวันที่ 91 ของการทดลอง พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นและหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวเกิดมะเร็งชนิด Adenocarcinoma คือมะเร็งที่เกิดจากเซลล์ของต่อม และพบโครงสร้างของการเกิดมะเร็งแตกต่างกันไป โดยหนูในกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นจะพบโครงสร้างเป็นแบบ alveolar เพียงแบบเดียว และหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวพบโครงสร้างของการเกิดมะเร็งเป็นแบบ alveolar ductular และ พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมีการเจริญเพิ่มขึ้นมาก และหนูในกลุ่มที่ได้รับน้ำกลั่นพบมีการรุกรามของมะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia) ในปอดและไตพบหนูจำนวน 2 ตัว หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวพบหนูเกิด leukemia รุกรามไปที่เนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมพบหนูจำนวน 1 ตัว และพบเนื้องอกที่ไต แสดงว่าสารชักนำให้เกิดมะเร็งเต้านม (DMBA) นอกจากจะชักนำให้เกิดมะเร็งเต้านมแล้วยังชักนำให้เกิดเนื้องอกที่ไตและมะเร็งเม็ดเลือดขาว ได้ด้วย เช่นเดียวกับการทดลองในกลุ่มที่ชักนำให้เกิดมะเร็งเต้านมและให้น้ำกลั่นหรือกวาวเครือขาวนาน 150 วัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Huggin *et al*., (1961) ทำการศึกษาให้ DMBA ปริมาณ 20 มิลลิกรัม/หนู เพียง

ครั้งเดียว กับหนู Sprague Dawley rat อายุ 50 วัน พบหนูเป็นมะเร็งเต้านมและมะเร็งเม็ดเลือดขาวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปผล

จากการศึกษาผลของกวาวเครือแดงในหนูเมาส์และหนูแรทโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย

กวาวเครือแดงเป็นสมุนไพรตัวเลือก (herbal candidate) ตัวหนึ่งที่เหมาะจะนำมาใช้ในการรักษาหรือป้องกันโรคที่เกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ในเพศชาย เพราะมีฤทธิ์เชิง androgenic effect คล้ายฮอร์โมน testosterone เพราะมีผลไปลดระดับ LH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีแนวโน้มไปลดระดับ FSH ในหนูแรทเพศผู้ แต่ไม่มีผลต่อน้ำหนักและลักษณะทางเนื้อเยื่อของอัณฑะ epididymis และ seminal vesicle ในหนูแรทเพศผู้ และใช้ในเพศหญิงในเชิง anti-estrogenic (androgenic) effect อย่างอ่อน เพราะมีผลไปเพิ่มน้ำหนักมดลูกและลักษณะทางเนื้อเยื่อ และลดระดับ LH เมื่อให้กวาวเครือแดงในที่ขนาดสูง ๆ แต่อย่างไรก็ตามควรจะต้องระวังความเป็นพิษที่อาจเกิดขึ้นต่อปริมาณเม็ดเลือดขาว และการทำงานของอวัยวะที่เกี่ยวกับกระบวนการเมทาบอลิสม ซึ่งผลที่เกิดขึ้นไม่สัมพันธ์กับขนาดที่ให้ และเกิดได้ทั้งในหนูเพศผู้และเพศเมีย

จากการศึกษาผลของกวาวเครือดำในหนูเมาส์และหนูแรทโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย

จากผลการทดลองสรุปได้ว่ากวาวเครือดำไม่มีฤทธิ์ androgenic effect เพราะไม่พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักและลักษณะทางเนื้อเยื่อของ epididymis และ seminal vesicle ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ testosterone, FSH และ LH ในหนูแรทเพศผู้ แต่อาจจะมีผลเชิง anti – estrogenic อ่อน ๆ เพราะมีผลไปลดระดับ FSH เมื่อให้กวาวเครือแดงในขนาด 10 และ 100 มก./กก./วันในหนูแรทเพศเมีย แต่อย่างไรก็ตามในการใช้ควรจะต้องระวังถึงความเป็นพิษของสารต่อตับ, ไต และค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีต่าง ๆ เพราะจากผลการศึกษาถึงความเป็นพิษของกวาวเครือดำในหนูเมาส์เพศผู้และเพศเมีย พบว่ากวาวเครือดำมีความเป็นพิษมากกว่ากวาวเครือแดงในขนาดที่เท่ากัน แต่อย่างไรก็ตามในขณะนี้จะเห็นได้ว่าข้อมูลพื้นฐานที่เกี่ยวกับการออกฤทธิ์ของกวาวเครือดำยังมีการศึกษากันน้อยมาก เพื่อให้มีความมั่นใจถึงความปลอดภัยถ้าจะนำเอากวาวเครือดำไปใช้ในคน จึงควรต้องมีการศึกษาหาข้อมูลพื้นฐานเพิ่มเติมเสียก่อน

จากการศึกษาผลของกวาวเครือขาวในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมียและหนูแรทแก่เพศเมีย

กวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน ซึ่งเป็นขนาดที่ใช้ในคน เป็นเวลานานถึง 200 วัน ในหนูแรทโตเต็มวัยและหนูแรทแก่เพศเมีย ไม่ก่อให้เกิดพิษวิทยาต่อตับ ไต สมอง อวัยวะสืบพันธุ์ ปริมาณเม็ดเลือดและค่าทางชีวเคมีในเลือด ยืดการเข้าสู่สภาวะ perimenopause ในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย และยืดการเข้าสู่สภาวะ postmenopause ในหนูแรทแก่เพศเมียได้ อย่างสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน E_2, FSH และ LH กระตุ้นให้มีการเจริญของ foliicle เพิ่มมากขึ้นพร้อม ๆ กับการเพิ่มสูงขึ้นของ E_2 ที่รังไข่ โดยการกระตุ้นดังกล่าวจะผ่าน pituitary-ovarian axis และกวาวเครือขาวมีสาร phytoestrogens ที่สามารถออกฤทธิ์ต่อระบบสืบพันธุ์และฮอร์โมนเพศได้เช่นเดียวกับฮอร์โมน estrogen ทั้งในหนูแรทโตเต็มวัยและหนูแรทแก่เพศเมีย แต่ในการทดลองนี้ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นสารตัวใด

จากการศึกษาผลของกวาวเครือขาวต่อ DMBA ในการชักนำให้เกิดมะเร็งเต้านมในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย

กวาวเครือขาวปริมาณ 25 มก./กก./วัน นาน 150 วัน ในหนูแรทโตเต็มวัยเพศเมีย ภายหลังจากให้สารก่อมะเร็ง (D_1) ทำให้เกิดก้อนมะเร็งเร็วขึ้น มีแนวโน้มเพิ่มจำนวนและขนาดของก้อนมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย และมะเร็งเต้านมที่พบส่วนใหญ่เป็นชนิด Adenocarcinoma แต่การได้รับสารก่อมะเร็ง (D_{91}) ในระหว่างที่ได้รับกวาวเครือขาวนาน 240 วัน สามารถลดอุบัติการร์การเกิดมะเร็งเต้านม ลดจำนวนก้อนของมะเร็งเต้านมลงในหนูแรทเพศเมีย ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่ากวาวเครือขาวไม่มีผลกระตุ้นให้เกิดมะเร็งเต้านม แต่แสดงผลเป็นตัวเสริม (promotor) ให้ก้อนมะเร็งเต้านมที่เป็นอยู่ก่อนแล้ว จากการกระตุ้นด้วยสารก่อมะเร็ง มีการเติบโตได้รวดเร็วมากขึ้น แต่การได้รับสารก่อมะเร็ง (D_{91}) ในระหว่างที่ได้รับกวาวเครือขาวอยู่ กวาวเครือขาวมีแนวโน้มที่จะไปลดอุบัติการร์การเกิดมะเร็งเต้านมได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

กนกพร กวีวัฒน์. 2535. ผลของน้ำสกัดจากใบกวาวขาว (*Pueraria mirifica Shaw and Suvatabandhu*) ต่อการสืบพันธุ์และผลข้างเคียงต่อหนูถีบจักร. วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

จีรเดช มโนสร้อย สุดา เสาวคนธ์และอรัญญา มโนสร้อย. 2543 กวาวเครือ. ในบรรณาธิการ อรัญญา มโนสร้อย และจีรเดช มโนสร้อย. สารใหม่และวิทยาการใหม่ทางเครื่องสำอางค์. กรุงเทพฯ:โอเดียนสโตร์.

เต็ม สมิตินันท์. 2520. พันธุ์ไม้อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่. สมาคมเพื่อนเขาใหญ่. กรุงเทพฯ.

ทรงพล ชีวะพัฒน์,ปราณี ชวลิตธำรง,สดุดี รัตนจรัสโรจน์, อัญชลี จูฑะพุทธิ, สมเกียรติ ปัญญามัง. 2543. พิษของกวาวเครือขาว (Toxicity of *Pueraria mirifica*). ว กรมวิทย. 42 (3): 202-223.

ธนาธิป รักศิลป์. 2537. องค์ประกอบทางเคมีในหัวกวาวเครือแดง *Butea superba* Roxb..วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิตภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยใ

นภสร โพธิ์สาชัย. 2543. พิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดง *Butea superba Roxb.* ต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาในหนูแรทเพศเมีย *Rattus norvegicus*. โครงการการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาฯ.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. 2541. การใช้กวาวเครือในการแพทย์แผนไทยและแพทย์พื้นบ้าน. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ; 1 ธันวาคม 2541. นนทบุรี:สถาบันการแพทย์แผนไทย, กระทรวงสาธารณสุข. 1-12.

ภาพงษ์ บุญตะคุ. 2543. พิษกึ่งเรื้อรังของกวาวเครือแดง *Butea superba Roxb.* ต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาในหนูแรทเพศผู้ *Rattus norvegicus*. โครงการการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาฯ.

วิชัย เชิดชีวศาสตร์. 2541. การทดสอบการใช้ไฟโตรเอสโตรเจนจากกวาวเครือแดงเป็นอาหารเสริมสุขภาพในกลุ่มบุรุษวัยเจริญพันธุ์. (บทคัดย่อ) เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการเรื่องกวาวเครือ;1 ธันวาคม 2541. นนทบุรี:สถาบันการแพทย์แผนไทย;กระทรวงสาธารณสุข, 2541. 32.

สุลักษณ์ วุทธีรพล, กนกพร กวีวัฒน์, สุภาพแสนเพชร, รจนา หลวงไผ่. 2544. ผลของกวาวเครือดำต่ออวัยวะสืบพันธุ์และความเป็นพิษต่อหนูขาวเพศผู้. การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ .

สะอาด บุญเกิด จเร สดากร และ ทิพวรรณ สดากร. 2525. ชื่อพันธุ์ไม้ในเมืองไทย. กองทุนจัดพิมพ์ตำราป่าไม้ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อรัญญา มโนสร้อย สาลิกา อริธชาติ กนกพร กวีวัฒน์และจีรเดช มโนสร้อย. 2543 การศึกษาความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันและผลต่อระบบสืบพันธุ์ของสมุนไพรกวาวเครือแดง (*Butea superba* Roxb.) ในหนูเพศผู้ (in press)

ธระ สุขะวัจน์. 2492. การทดลองเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดหัวกวาวเครือขาวกับ Oestrogenic hormone. วารสารวิทยาศาสตร์. 3:104-110.

ปานเทพ รัตนากร. 2535. คู่มือการใช้สัตว์ทดลอง. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย:กรุงเทพฯ. 114 หน้า.

ยุทธนา สมิตสิริ และบรรจบ ธุปพงธ์. 2528. การยับยั้งการเจริญของฟอลลิเคิลและการตกไข่ในนกกระทาโดยกวาวเครือขาว. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 23. สาขาวิทยาศาสตร์, กรุงเทพฯ. 57-64.

วีกูล วีรานุวัตติ์ และ กนกนาถ ชูปัญญา. เคมีคลินิค.โครงการตำรา-ศิริราช. คณะพยาบาลศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ

หลวงอนุสารสุนทร. 2474. ตำรายาหัวกวาวเครือ. กรมการพิเศษ. โรงพิมพ์อุปะติพงศ์. เชียงใหม่.

Adlercreutz H, Hamalainen E, Gorbach S, Golden B. 1992. Dietary phytoestrogens and the menopause in Japan. The Lancet. 339:1233.

Anantalabhochai, S. and Jesrichai, S. 1986. Effects of high dosages of a local Thai plant, White GWOW (*Pueraria mirifica* Shaw et Suvat) on coturnix quials :II Changes in calcium, total protein and cholesterol concentration in blood serum. J. Sci. Fac. CMU. 13(1):29-37.

Andrew WH. 1989. Principle and methods of toxicology. U.S.A.:Raven Press.

Aschheim, P. 1961. La pseudogestation a repetition chez les rattes seniles. C.R. Acad. Sci. 253:1988-1990.

Baird, D., Umbach, D. and Lansdell, L. 1995. Dietary intervention study to assess estrogenicity of dietary soy among postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab. 80:1685-1690.

Ballard SA, Gingell CJ, Tang K, Turner LA, Price ME, Naylor AM. 1998. Effects of sildenafil on the relaxation of human corpus cavernosum tissue in vitro and on the activities of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes. J Urol. 159: 2164-2171.

Barber, H.R.K. 1988. Perimenopausal and Geriatric Gynecology. Macmillan Publishing Company: New York.

Benson GK, Cowie AT, Hosking ZD. 1961. Mammogenic activity of miroestrol. J. Endocrinol. 21:401-409.

Bentrem DJ, Dardes RC, Liu H. Macgragor-Schafer J., Zapf J.W. and Jordan V.C. 2001. Molecular mechanism of action at estrogen receptor α of a new clinically relevant Antiestrogen (GW 7604) related to tamoxifen. Endocrinology. 142:833-846.

Berkowitz BA, Katzung BG. 2001. Basic and clinical evaluation of new drugs. In Katzung B.G. (ed.) Basic and clinical pharmacology. McGraw-Hill. Pp. 64-74.

Bourne HR, von Zastrow M. 2001. Drug receptors and pharmacodynamics In Katzung B.G., (ed.) Basic and clinical pharmacology. McGraw-Hill. 9-27.

Cain JC. 1960. Miroestrol: An oestrogen from the plant *Pueraria mirifica*. Nature 188: 774 - 77.

Cain, J.C. 1960. Miroestrol: and estrogenic from the plant *Pueraria mirifica*. Nature. 188:774-777.

Cassidy A, Bingham S, Sethell KDR. 1994. Biological effects of a diet of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenoupausal women. Am J Clin Nutr. 60:333-340.

Cassidy A, Bingham S, Sethell KDR. 1995. Biological effects of isoflavones in young women: importance of the chemical composition of soyabean products. Br. J. Nutri. 74:587-601.

Cassidy, A., Bingham, S. and Sethell, K.D.R. 1995. Biological effects of a diet of isoflavones in young women: importance of the chemical composition of soybean products. Br. J. Nutri. 74:587-601.

Chappell, E.P. and Levine, J.E. 2000. Stimulation of gonadotropin-releasing hormone surges by estrogen. I. Role of hypothalamic progesterone receptors. Endocrinology. 141(4):1477-1485.

Chengelis CP. 1992. The rat. In Shayne C.G. and Chengelis C.P.,(ed) Animal models in toxicology. New York:Academic Press. Pp. 103-134.

Cherdshewasart W, Cheewasopit W, Picha P. 2004a. The differential anti-proliferation effect of white (*Pueraria mirifica*), red (*Butea superba*) and black (*Mucuna collittii*) Kwao Krua plants on the growth of MCF-7 cells. J Ethnopharmacol. 93:255-260.

Cherdshewasart W, Cheewasopit W, Picha P. 2004b. Anti-proliferation effects of the white (*Pueraria mirifica*), red (*Butea superba*) and black (*Mucuna collittii*) Kwao Krua plants on the growth of HeLa cells. J. Sci res. Chula Univ. 29:27-32.

Cherdshewasart W, Malaivijitnond S, Wattanasermkit K, *et al*. 2000. Toxicity tests of white kwao krua (*Pueraria mirifica*) cultivar Wichai-III in experimental animals. The Fifth Joint Seminar Natural Medicines. Bangkok, Thailand. pp. 109-111.

Cherdshewasart W, Nimsakul N. 2003. Cinical trial o Butea superba, an alternative herbal treatment for erectile dysfunction. Asian J Androl. 5:243-246.

Cherdshewasart W, Sutijit W, Pulcharoen K, Panriansaen R, Chulasiri M. 2008. Antimutagenic potential of the Thai herb, Mucuna collettii Lace. J Ethnopharmacol. 115: 96-103.

Coral, A.L., Jun, W., Michelle, S.J. and Isam, E.E. 2002. Daidzein: bioavailability, potential for reproductive toxicty, and breast cancer chemoprevention in female rats. Toxicological Scineces. 65:228-238.

Cutler, W.B. and Garcia, C.R. 1984. The Medical Management of Menopause and Premenopause: Their Endocrinology Basis. J.B. Lippincott Company: Philadelphia.

Dang ZC, van Bezooijen RL, Karperien M, et al. Exposure of KS483 cells to estrogen enhances osteogenesis and inhibits adipogenesis. J Bone Miner Res 2002;17:394-405.

Devareddy L, Khalil DA, Smith BJ, et al. Soy moderately improves microstructural properties without affecting bone mass in an ovariectomized rat model of osteoporosis. Bone 2006;38:686-93.

Enz A, Amstutz R, Boddeke H, Gmelin G, Malonowski J. 1993. Brain selective inhibition of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacol. 7: 88-95.

Faddy, M.J., Gosden, R.G., Gougeon, A., Richardson, S.J. and Nelson, J.F. 1992. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. Human Reprod. 7:1342-1346.

Fotsis, T., Peper, M., Adlercreutz, H., Fleischamann, G., Hase, T., Montesano, R. and Schweigerer, L. 1993. Genistein, a dietary derived inhibitor of angiogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:2690-2694.

Fredricks, G.K., Kincaid, R.L., Bondioli, K.R. and Wright, R.W. 1981. Ovulation rates and embryo degeneracy in female mice fed the phytoestrogen, coumestrol. P.S.E.B.M. 167:237-241.

Gill-Sharman MK, Gopalkrishman K, Balasinor N, Parte P, Jayaraman S, Junija HS. 1993. Effect of tamoxifen on the fertility of male rats. J. Reprod. Fertil. 99:395-402.

Greenspan, F.S. 1991. Basic and clinical endocrinology. 3rd ed. USA:Prentice-Hall International Inc.

Hadley ME. 1992. Endocrinology. New Jersey;Prentice Hall International. Pp. 65-97.

Huang, H.H. and Meites, J. 1975. Neuroendocrine status of old constant estrous rats.Brain Research. 52:261-276.

Huggins, C.L.C., Grand, L.C. and F,P. Brillantes. 1961. Mammary cancer incuced by a single feeding of polynuclear hydrocarbons and its suppression. Nature. 109:204-507.

Ingkaninan K, Temketthawon P, Chuenchom K, Yuyaem T, Tongnoi W. 2003. Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. J. Ethnopharmacol. 89: 261-264.

Johnson M, Everitt B. 1988. Essential Reproduction 3rd ed. Oxford : Blackwell Scientific Publications.

Jones HEH, Pope GS. 1960. A study of the action of miroestrol and other estrogen on the reproductive tract of the immature female mouse. J Endocrinol.. 20: 229-235.

Jones, R.E. 1997. Human Reproductive Biology (2nd ed.). Academic Press: San Diego. pp. 581.

Kacsoh B. 2000. The male reproductive system. In J Dolan (ed.), Reproductive Endocrinology. Endocriphysiology, pp. 471-503. USA: McGraw-Hill.

Kashemsanta, M.D.L., Suvatabandu, K., Bartlett, S. and Pope, G.S. 1963. The oestrogenic subtance (miroestrol) from the tuberous roots of Pueraria mirifica. Proceeding of the 9th Pacific Science Association. 5:36-40.

Kellis JT, Vickery LE. 1984. Inihibition of human estrogen synthetase (aromatase) by flavones. Science. 223: 1032-1034.

Ketsuwan A. 2003. Effect of Red Kwao Krua (Butea superba Roxb.) on serum sex hormone levels and reproductive organs in adult female and male rats. Master Degree's Thesis, Inter-department of Physiology, Chulalongkorn Unviersity.

Knight DC, Eden JA. 1996. A review of the clinical effects of phytoestrogens. Obstet Gynecol. 87:897-904.

Kwao Krua. 1990. Hope of Thai Medicinal Pant. Vol 14, p.40.

Lee, W.L., Jane, W.L., Karl, E.A., James, J.G., Fortune, K. and Manubai, N. 2001. Effects of an isoflavone-free soy diet on ovarian hormones in premenopausal women. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 86(7):3045-3052.

Lisa, C.A. and Maria, M.R. 1999. Soy induces phase II enzymes but does not inhibit dimethylbenz (a) anthracene induced carcinogenesis in female rats. Journal of Nutrition. 129:1820-1826.

Lloyd, C.W., Lobotsky, J., Weisz, J., Baird, D.T., McCracken, J.A. and Pupkin, M. *et al*. 1971. Concentration of uncongated estrogens, androgens and gestagens in ovarian and peripheral venous plasma of woman:the normal menstrual cycle. J. Clin. Encocrinol. Metab. 32:155-166.

Long, J.A. and Evans, H.M. 1922. The oestrous cycle uin the rat and its associated phenomena. Mem. Univ. California, Vol. 6:1-148.

Malaivijitnond S, Trisomboom H, Cherdshewasart W, Suzuki J, Hamada Y, Kikuchi Y, Takenaka O. 2000. Changes of age related factors in various age of cynomolgus monkeys and after treated with *Pueraria mirifica* phytoestrogens. COE International Symposium: Development and Aging of Primates. Inuyama Internationa.Sightseeing Center "Freude", Japan. pp.68.

Manosroi A, Sanphet K, Saowakon S, Aritajat S, Manosroi J. 2006. Effects of Butea superba on reproductive systems of rats. Foliterapia. 77: 435-438.

McMillan J, Kinney RC, Ranly DM, et al. Osteoinductivity of demineralized bone matrix in immunocompromised mice and rats is decreased by ovariectomy and restored by estrogen replacement. Bone 2007;40:111-21.

Medlock KL, Branham WS, Sheehan DM. 1995. Effects of coumestrol and equol on the developing reproductive tract of the rat. P.S.E.B.M. 208:67-71.

Melby, E.C. and Altman, N.H. 1974. Handbook of Laboratory Animal Science Volume I. CRC Press: Ohio. pp. 451.

Muangman V, Cherdshewasart W. Clinical trial of the phytoestrogen-rich herb, *Pueraria mirifica* as a crude drug in the treatment of symptoms in menopausal women. Siriraj Hosp Gaz. 2001;53:300-309.

Ngamrojanavanich N, Loontaisong A, Pengpreecha S, Cherdshewasart W, Pornpakakul S, Pudhom K, Roengsumran S, Petsom A. 2007. Cytotoxic constituents from Butea superba Roxb. 109: 354-358.

Norris DO. 1997. Vertebrate endocrinology. San Diego:Academic Press. Pp 36-53.

Nuengchamonong N, de Jong CF, Niessen WMA, Irth H, Ingkaninan K. 2005. HPLC coupled on-line to ESI-MS and a DPPH-based assay fopr the rapid identification of anti-oxidants in Butea superba. Phytochem Anal. 16: 422-428.

Petrakis, N.L., Barnes, S. and King E.B. et al. 1996. Stimulatory influence of soy protein isolate on breast secretion in pre- and post-menopausal women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 5:785-794.

Pope Gs, Gruny HM, Jones HEH, Tait SAS. 1958. The oestrogenic substance (miroistrol) from the tuberous roots of *Pueraria mirifica*. J. Endocrinol. 17:XV-XVI.

Raven PH, Johnson GB. 1999. Biology. McGraw-Hill. Pp. 134-137.

Reza, H., Soheila, K., Susan R.S., Shelly, L., Martin, J.J.R. and Thomas, M.B. 2000. Diets containing why proteins or soy protein isolate protect against 7,12-dimethylbenz anthracene induced mammary tumors in female rats. Cancer Epidemiolgy Biomarkers & Prevention. 9:113-117.

Roengsumran S, et al. 2001. Cyclic AMP phosphodiesterase inhibitors from stems of *Mucuna collettii* Lace. 27th Congress on Science and Technology of Thailand: pp. 424 (abstract).

Roengsumran S, Petsom A, Ngamrojanavanich N et al. 2000. Flavonoid and flavonoid glucoside from Butea superba Roxb. And their cAMP phosphodiesteras inhibitory activity. J Sci. res Chula Univ. 25: 169-176.

Ross, C.S., Ngoc, K. and William, G.H. 2000. Genistein inhibits growth of estrogen-independent human breast cancer cells in culture but not in athymic mice. Journal of Nutrition. 130:1665-1669.

Smitasiri, Y., Yunyatum, U., Songjitsawad, A., Sripromma, P., Trisirsilp, S. and Anuntalabhochai, S.1986. Postcoital antifertility effects of Pueraria mirifica in rat. J. Sc. Fac. CMU. 13:19-28.

Sturkie, P.D. 1976. Avain Physiology. Spring-Verlay, New York Inc.

Sukavattana T. 1940. Oestrogenic principle of *Butea superba*, preliminary report. J Med Assoc Thai. 24: 183 - 94 (in Thai).

Taepongsorat L, Tangpraprutgul P, Kittana N, Malaivijitnond S. 2008. Stimulating effects of quecertin on sperm quality and reproductive organs in adult male rats. *Asian Journal of Andrology*. In press. 10.1111/j.1745-7262.2008.00306.x

Tocharus C, Smitasiri Y, Jeenapongsa R. 2006. Butea superba Roxb. Enhances penile erection in rats. Phytother res. 20: 484-489.

Trisomboon H, Malaivijitnond S, Cherdshewasart W. 2000. Long-term effects of white kwao krua on serum lipid levels in aged female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). 5th Graduate Congress:Traditions, Merges and Shifts in Biological Research. The National University of Singapore, Singapore. pp. 44.

Ueno N, Iwamoto Y, Segawa N, Koshima M, Ueda H, Katsuoka Y. 2002. The effect of seldenafil on electrostimulation induced erection in the rat model. Int J Impot Res. 14: 251-255.

Urasopon N, Hamada Y, Asaoka K, Cherdshewasart W, Malaivijitnond S. 2008. *Pueraria mirifica*, a phytoestrogen-rich herb, prevents bone loss in ovariectomized rats. *Maturitas*. doi: 10.1016/j.maturitas.2008.01.001

Wayne, A.F., Lori, C., Jun, W.and Coral, A.L. 1998. Dietary genistein: perinatal mammary cancer prevention, bioavailability and toxicity testing in the rat. Carcinogenesis. 19(12):2151-2158.

Whitehead SA, Lacey M. 2003. Phytoestrogens inhbit aromatase but not 17B-hydroxysteroid dehydrogenase (HSD) type 1 in human granulose-luteal cells: evidence for FSh induction of 17B-HSD. Human Reproduction. 18: 487-494

Whitten PL, Lewis C, Naftolin F. 1993. A Phytoestrogen diet induces the premature anovulatory syndrome in lactationally exposed female rats. Biol. Reprod. 4:1117-1121.

Whitten PL, Lewis C, Russell E, Naftolin F. 1995. Phytoestrogen influences on the development of behavior and gonadotropin function. P.S.E.B.M. 208:82-86.

Wilcox G, Wahlqvist ML, Burger HG, Medley G. 1990. Oestrogenic effects of plant foods in postmenopausal woman. Br. Med. J. 301:905-906.

Wuteeraphon et al. 2001. Effect of *Mucuna collettii* on reproductive organs and its toxicity on male rat. 27th Congress on Science and Technology of Thailand. Pp. 424.

Yu, H-S. 1994. Human Reproductive Biology. CRC Press: London. pp. 294. Zarrow, M.X., Yochim, J.M. and Carthy, J.L. 1964. Experimental Endocrinology. A Source Book of Basic Techniques. Academic Press. New York.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Output

Papers

1. Malaivijitnond S, Kiatthaipipat P, Cherdshewasart W, Watanabe G, Taya K. 2004. Different effects of *Pueraria mirifica*, an herb containing phytoestrogens, on LH and FSH secretion in gonadectomized female and male rats. *Journal of Pharmacological Sciences*. 96: 428-435. (IF2005 = 1.792)
2. Malaivijitnond S, Chansri K, Kijkuokul P, Urasopon N, Cherdshewasart W. 2006. Using vaginal cytology to assess the estrogenic activity of phytoestrogen-rich herb. *Journal of Ethnopharmacology*. 107:354-360. (IF 2005= 1.554)
3. Cherdshewasart W, Sujit W, Pulcharoen K, Panriansaen R, Chulasiri M. 2008. Antimutagenic potential of the Thai herb, *Mucuna collettii* Lace. *Journal of Ethnopharmacology*. 115: 96-103. (IF2007 = 2.049)
4. Cherdshewasart W, Bhuntaku P, Panriansaen R, Dahlan W, Malaivijitnond S. 2008. Androgen disruption and toxicity tests of *Butea superba* Roxb., a traditional herb used for treatment of erectile dysfunction, in male rats *Maturitas*. 60: 131-137. (IF2007 = 2.023)
5. Malaivijitnond S, Ketsuwan A, Watanabe G, Taya K, Cherdshewasart W. 2008. Androgenic activity of the Thai traditional male potency herb, *Butea superba* Roxb., in female rats. *Journal of Ethnopharmacology*. Submitted. (IF2007 = 2.049)
6. Malaivijitnond S, Ketsuwan A, Watanasermkit K, Cherdshewasart W. 2008. Effects of *Butea superba* Roxb on reproductive organs and related-hormone in male rats. In preparation.
7. Malaivijitnond S, Thansa K, Watanasermkit K, Cherdshewasart W. 2008. Effects of *Mucuna collettii* on reproductive organs and related-hormone in rats. In preparation.
8. Malaivijitnond S, Ketsuwan A, Watanasermkit K, Cherdshewasart W. 2008. Effects of *Mucuna collettii* on reproductive organs and related-hormone in gonadectomizd rats. In preparation.

Proceedings

1. ปัทมา เกียรติไทยพิพัฒน์, สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ และ วิชัย เชิดชีวศาสตร์. 2543. ผลของกวาวเครือขาวขนาด 25 มก./กก. ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในหนูแรทเพศเมียโตเต็มวัย. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วทท.) ครั้งที่ 26. ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพมหานคร, 18-20 ตุลาคม 2543, หน้า 387.
2. วิชัย เชิดชีวศาสตร์, สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์, กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ, โสภณเรืองสำราญ และคณะ. 2545. เทคโนโลยีชีวภาพกวาวเครือขาว กวาวเครือแดง และกวาวเครือดำ. การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 10 ประจำปี 2545 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หน้า B-15.

3. Thansa K, Malaivijitnond S, Wattanasirmkit K. 2002. Effects of *Mucuna colletii* on serum testosterone levels and reproductive organs in adult normal male rats. 7th Biological Science Graduate Congress, 9-11 December 2002, Faculty of Science, Bangkok, p. 84.
4. Ketsuwan A, Malaivijitnond S, Wattanasirmkit K. 2002. Effects of *Butea superba* colletii on serum testosterone levels and reproductive organs in adult normal male rats. 7th Biological Science Graduate Congress, 9-11 December 2002, Faculty of Science, Bangkok, p. 84.
5. Malaivijitnond S, Keatthaipipat P, Tansa K, Jaroenporn S, Ketsuwan A, Watanabe G, Taya K, Cherdshewasart W. 2003. Biotechnology of phytoestrogen-rich; *Pueraria mirifica*: XIII. Sex differences in responses of anterior pituitary *to P. mirifica* phytoestrogens in rats. *29th Congress on Science and Technology of Thailand*. 20-22 October, Golden Jubilee Convention Hall, Khon Kaen University, pp.84 (SB-259P).
6. Malaivijitnond S, Kiatthaipipat P, Cherdshewasart W, Watanabe G, Taya K. 2004. Sex differences in response to *Pueraria mirifica* phytoestorgens in rats. . *The Fifth Congress of AOSCE in Conjunction with the Annual Meeting of JSCE*, March 26 – 30, 2004, Nara, Japan. pp. 441-443. (full paper)
7. Malaivijitnond S, Chansri K, Jareonporn S, Trisomboon H, Cherdshewasart W. 2005. Effects of *Pueraria mirifica*, an herb containing phytoestrogens, on reproduction in rodents and monkeys. The 15th International Congress of Comparative Endocrinology, Boston, Massachusetts, USA, 22-27 May 2005.
8. Jaroenporn S, Malaivijitnond S, Kiatthatipipat P, Cherdshewasart W, Watanabe G, Taya K. 2006. Short- and long-tem exposure to Pueraria mirifica, an herb containing phytoestrogens, on reproductive functions and fertility in male rodents. Asian Journal of Andrology. 5 Supplement 1:66., The Proceedings of the Second Asia-Pacific Forum on Andrology, 26-30 October 2006, Shanhai, China.
9. Malaivijitnond S, Jareonporn S, Trisomboon H, Wannaprasert T, Urasopon N, Chershewasart W, Taya K. 2007. Studies with a medicinal herb in rodents and monkeys: effects on reproduction, cancer and bone. The 6th Congress of the Asia and Oceania Society for Comparative Endocrinology (AOSCE), North Bengal University, India, December 10-14, 2007. pp. 106-109. (Invited speaker).
10. Cherdshewasart W, Patcharaporn S, Sriwatcharakul, Malaivijitnond S. 2008. The differential estrogenic activity of the phytoestrogen-rich herb, *Pueraria mirifica*. The 7th Joint Meeting of AFERP, ASP, PSE & SIF. August 3-8, 2008, Athens, Greece. Pp. 1015.

วิทยานิพนธ์

1. ปัทมา เกียรติไทยพิพัฒน์. 2544. ผลเรื้อรังของกวาวเครือขาวต่ออวัยวะสืบพันธุ์และฮอร์โมนเพศและผลต่อ DMBA ในการชักนำให้เกิดมะเร็งเต้านมในหนูแรทเพศเมีย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 195 หน้า.
2. องุ่น เกษสุวรรณ. 2546. ผลของกวาวเครือแดงต่อระดับฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศเมียและเพศผู้โตเต็มวัย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสหสาขาวิชาสรีรวิทยา คณะบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 135 หน้า.
3. ขวัญตา แทนสา. 2546. ผลของกวาวเครือดำ (*Mucuna colletii*) ต่อระดับฮอร์โมนเพศและอวัยวะสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศเมียและเพศผู้โตเต็มวัย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสหสาขาวิชาสรีรวิทยา คณะบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 138 หน้า.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย