

เอกสารอ้างอิง

- กาญจน์. 2005. สารรบกวนฮอร์โมนในสิ่งแวดล้อม. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย
คริสเตียน. 11, 3.
- จนตรี จุฬาวรรณทล, ชัยณัฐร สวัสดิวัฒน์, ยงยุทธ ยุทธวงศ์, ภิญโญ พานิชพันธ์, ประหยัด โก
มารทัต, พิณทิพย์ รื่นวงษา, ชัยยศ วิจิตรสุวรรณกุล, บุรชัย สนธยานนท์, สุมาลี ตั้งประดับ
กุล, มธุรส พงษ์ลิขิตมงคล. 2542. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
หน้า 409-430.
- นิชาอุคชะห์ ระเด่นอาหมัด, อุร่าพร วงศ์วัชรานนท์, บุญเสริม ชำนาญกุล และ James R. Cancer. 2549
ระดับของ 17β -estradiol ในเลือดของหนูที่ถูกตัดรังไข่ออกและได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนและ
ผลต่อการสมานบาดแผล. วารสารสงขลานครินทร์. 28(5), 897-910.
- นทีทิพย์ กฤษณามระ. 2538. ฮอร์โมน กลไกและการออกฤทธิ์ร่วม. กรุงเทพฯ. บริษัทโรงพิมพ์ไทย
วัฒนาพานิช จำกัด.
- ปรีชาติ ศักดา. 2547. ผลของกวางเครือขาว (*Pueraria mirifica*) ต่อประสิทธิภาพการผลิต, ระดับ
ฮอร์โมน 17β -estradiol ในซีรัมและต่อมม้ามของไก่กระทง. บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พรงาม ลิ้มตระกูล. 2546. ผลของไบโอฟลาโวนอยด์ต่อการทำงานของพี-กลัยโคโปรตีน ใน
เซลล์มะเร็งปากมดลูกมนุษย์. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วัฒนา จิตนิรันดร์. 2550. ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาการสลายตัวของเอสโตรเจนในน้ำ. วิทยานิพนธ์
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- วีรพล คู่คงวิริยพันธุ์, เบญจพร บุราณรัตน์. 2552. ยุทธวิธีใหม่ของยาเคมีบำบัดในการรักษามะเร็ง.
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ และศูนย์วิจัยพยาธิใบไม้ตับและมะเร็งท่อน้ำดี
มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 24(1), 78-90.
- วีระ วงศ์คำ. 2548. เทคนิคพื้นฐานของเทคโนโลยีเซลล์สัตว์ในห้องปฏิบัติการ. ภาควิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วรางคณา วิเศษมณี. 2553. การปนเปื้อนของสารรบกวนการทำงานของต่อมไร้ท่อในสิ่งแวดล้อม.
วารสารวิชาการและวิจัยพระนคร. คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระ
เกียรติ จังหวัดสมุทรปราการ.

- Arao, Y., Kanamori, N., Kikkawa, E., Otsuka, H., Arimoto, Y., Ikeda, K., Inakuma, T. and Kayama, F. 2007. A two step screening method using estrogen receptor mediated transactivation to measure estrogenicity in edible plants. *Food Chemistry*. 104, 1288-1294.
- Arao, Y., Hamilton, K.J., Ray, M. K., Scott, G., Mishina, Y., Korach, K. S., 2011. Estrogen receptor AF-2 mutation results in antagonist reversal and reveals tissue selective function of estrogen receptor modulators. *Proceedings of the National Academy of Science*. 108, 14986-14991.
- Atienzar, F.A., Evenden, A. J., Jha, A. N., Depledge, M. H. 2002. Use of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) for the detection of DNA damage and mutations possible implication of confounding factors. *Biomarker*. 7, 94-101.
- Akiyama, T., Ishida, J., Nakagawa, S., Ogawara, H., Watanabe, S., Itoh, N., Shibuya, M., Fukami, Y., 1987. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinase. *Journal of Biological Chemistry*. 262, 5592.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., 2002. *Molecular Biology of the Cells*. Garland Science: Taylor & Francis Group, New York.
- Anderson, H. R., Vinggaard, A. M., Rasmussen, T. H., Gjermansen, I. M. and Eva, C. B. J. 2002. Effects of Currently Used Pesticides in Assays for Estrogenicity Androgenicity, and aromatase Activity in *Vitro*. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 179, 1-12.
- APHA, AWWA, WPCF. 1992. *Standard method for examination of water and waste water*. Washington DC., American Public Health Association.
- Barronti, C., Curini, R. D., Ascenzo, G., Di Corcia, A., Gentili, A. and Samperi, R. 2000. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. *Environmental Science Technology*. 34, 5059-5066.
- Bae, Y.H., Ding, Z., Das, T., Wells, A., Gertler, F., Roy, P., 2010. Profilin1 regulates PI (3.4) P2 and lamellipodin accumulation at the leading edge thus influencing motility of MDA-MB-231 cells. *Proceedings of the National Academy of Science*. 107, 21547.

- Bartucci, C.C., Scott, G. K., Sarup, J. C., Johnson, R. M., Tripathy, D., Coronado, E., Shepard, H.M., Osborne, C.K., 2001. Estrogen-dependent, tamoxifen-resistant tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER/neu. *Breast Cancer Research and Treatment*. 24, 85-95.
- Baek, S.H., Ohgi, K.A., Rose, D.W., Koo, E.H., Glass, C. K., Rosenfeld, M.G., 2002. Exchange of N-Corepressor and Tip60 Coactivator Complexes Links Gene Expression by NF- κ B and β -Amyloid Precursor Protein. *Cell*. 110, 55-67.
- Batsch, Desroches, J., Bilodeau, S., Gauthier, Y., Drouin, J., 2005. Rb enhances p160/SRC coactivator-dependent activity of nuclear receptors and hormone responsiveness. *Journal of Biological Chemistry*. 280, 19746.
- Ballschmiter, Z., Clare, S. A., Matsumura, K. and Depledge, H. M. 2001. Induction of cypris major protein in barnacle larvae by exposure to 4-n-nonylphenol and 17 β -estradiol. *Aquatic Toxicology*. 47, 203-212.
- Bennett, M. J., Lebr n, J. A., Bjorkman, P. J., 2000. Cryatal structure of the hereditary haemochromatosis protein HFE complexed with transferrin receptor. *Nature* 403, 46-53.
- Bernier, F., Leblanc, G., Labrie, F., 1994. Structure of human estrogen and aryl sulfotranferase gene. Two mRNA species issued from a single gene. *Journal of Biology Chemistry*. 269, 28200.
- Benz, C.C., Scott, G.K., Sarup, J.C., Johnson, R. M., Tripathy, D., Coronado, E., Shepared, H. M., Osborne, C. K., 1992. Estrogen-dependent, tamoxifen-resistant tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER2/neu. *Breast Cancer Research and Treatment*. 24, 85-95.
- Berry, M., Nunez, A. M., Chambon, P., 1989. Estrogen-responsive element of the human pS2 gene is an imperfectly palindromic sequence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 86, 1218.

- Belfroid, A. C., Van der Horst A., Vethaak, A. D., Schafer, A. J., Rijs, G. B. J., Wegener, J. and Cofino, W. P. 1999. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and wastewater in the Netherlands. *Science Total Environmental*. 225, 101-108.
- Bigsby, R., Chapin, E. R., Daston, P. G., Davis, J. B., Gorski, J., Gray, E. L. Howdeshell, L. K., Zoeller, T. R. and Sall, S. F. 1999. Evaluating the effects of endocrine disruptors on endocrine function during development. *Environmental Health Perspectives*. 107, 413-423
- Brown, J. R., Conradi, M. and Depledge, H. M. 1999. Long-term exposure to 4-nonylphenol affects sexual differentiation and growth of the amphipod *Corophium volutator*. *The Science of the total Environment*. 233, 77-88.
- Bolger, R., Wiese, T. E., Ervin, K., Nestich, S., and Checovich, W. 1999. Rapid screening of environmental chemicals for estrogen receptor binding capacity. *Environmental Health Perspectives*. 106(9), 551.
- Borgeest, C., Greenfeld, C., Tomic, D., Flaw, J., 2002. The effects of endocrine disrupting chemicals on the ovary. *Frontiers in Bioscience*. 7, 1941-1948.
- Brandenger, A. W., Tee, M. K., Lee, J. Y., Chao, V., Jaffe, R. B., 1997. Tissue distribution of estrogen receptors alpha (ER α) and beta (ER β) mRNA in the midgestational human fetus. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 82, 3509.
- Bushee, E. I., Edwards, D. R. and Moore, P. A., 1998. Quality of runoff from plots treated with municipal sludge and horse bedding. *Journal of the American Society of Agricultural and Biological Engineers*. 41, 1035-1041.
- Bushee, E.I., Edward, D.R. and Moore, P.A., 1998. Quality of runoff from plots treated with municipal sludge and horse bedding. *Environmental Science Technology*. 41, 1035-1041.
- Bulayeva, N. N. and Watson, S. C. 2004. Xenoestrogen induced ERK-1 and ERK-2 Activation via multiple membrane-initiated signaling pathways. *Environmental Health Perspectives*. 112, 1481-1487.

- Capodanno, A., Camerini, A., Orlandini, C., Baldini, E., Resta, R. L., Bevilacqua, G. and Collecchi, P. 2009. Dysregulated PI3K/Akt/PTEN pathway is a marker of a short disease-free survival in node-negative breast carcinoma. *Human Pathology*. 40, 1408-1417.
- Ching, Y. H., Ross, C. S., Sandra, Z. H. and William, G. H. 1998. Estrogenic effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cell in vitro and in vivo. *Cancer Research*. 58, 3833-3838.
- Chang, L. H., Sugimoto, Y., Liu, S., Wang, S. L., Huang, W. Y., Ye, W. and Lin, C. Y. 2009. Keratinocyte growth factor (KGF) regulates estrogen receptor- α (ER- α) expression and cell apoptosis via phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt pathway in human breast cancer cells. *Anticancer Research*. 29, 3195-3206.
- Chan, F., Lee, J., Navolanic, P., Steelman, L., Shelton, J., Blalock, W., Franklin, R., and McCubrey, J. 2005. Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy. *Leukemia* 17(3), 590-603.
- Chansakaow, S., Ishikawa, T., Sekine, K., Okada, M. and Chaichantipyuth, C. 2000. Identification of dexamethasone as the actual rejuvenating principle of *Pueraria mirifica* the known phytoestrogen may be an artifact. *Journal Natural Product*. 63(2), 173-175.
- Chakravarti, D., Lamorte, V.J., Nelson, M.C., Nakajima, T., Schulman, I. G., Juilow, H., Montminy, M., Evans, R. M., 1996. Role of CBP/p300 in nuclear receptor signaling. *Nature*. 383, 99-103.
- Chitambar, C.R., Massey, E. J., Seligman, P. A., 1983. Regulation of transferrin receptor expression on glioma and dimethylsulfoxide. *Journal of Clinical Investigation*. 72, 1314.
- Cossette, L.J., Gaumond, I. and Martinoli, M.G. 2002. Combined effect of xenoestrogens and growth factors in two estrogen-responsive cell lines. *Journal of Endocrine*. 18, 303-308.

- Cosnefroy, A., Brion, F., Guillet, B., Laville, N., Porcher, J., Balaguer, P., A t-A, S., 2009. A stable fish reporter cell line to study estrogen receptor transactivation by environmental (xeno) estrogens. *Toxicology in Vitro*. 23, 1450-1454.
- Counihan, K.A., Vertosick, F.T., Kelly, R.H., 1991. Anti-estrogen antibodies in systemic lupus erythematosus: a quantitative evaluation of serum levels. *Immunology Investigation*. 20, 317-331.
- Cui, Y., Zhang, M., Pestell, R., Curran, M. E. Welshons, V. W. and Fuqua, S. 2004. Phosphorylation of Estrogen Receptor & Blocks Its Acetylation and Regulates Estrogen Sensitivity. *Cancer Research*. 64, 9199-9208.
- Danish Environmental Protection Agency (Danish EPA), 2003. Evaluation of analytical chemical methods for detection of estrogens in the environment. Working Report Danish Ministry of the Environment, Denmark. 44.
- Dang, Z., Ru, S., Wang, W., Rorije, E., Betty, H., Theo, V. 2011. Comparison of chemical-induced transcriptional activation of fish and human estrogen receptors Regulatory implications. *Toxicology Letters*. 201, 152-175.
- Darbre, D. P., Aljarrah, A., Miller, R. W., Coldham, G. N., Sauer, J. M., Pope, S. G. 2004. Concentrations of parabens in human breast tumours. *Journal Application Toxicology*. 24, 5-13.
- Desbrow, C., Routledge, E. J., Brighty, G. C., Sumpter, J. P. and Waldock, M. 2000. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. I. Chemical fractionation and in vitro biological screening. *Environmental Science Technology*. 32, 1549-1558.
- Desai, N. A. 2007. Effect of perinatal polychlorinated biphenyl mixtures on estrogen receptor beta, hippocampus and learning and memory. Department to the graduate of howling green state university in partial fulfillment of the requirements for the degree. *Toxicology*. 30, 49-58.
- Depledge, M. H. and Billingham, Z. 2003. Ecological significance of endocrine disruption in marine invertebrates. *Marine Pollution Bulletin*. 39(12), 32-38.

- Driggers, P. H. and Segars, J. H., 2002. Estrogen action and cytoplasmic signaling pathways. Part II; the role of growth factors and phosphorylation in estrogen signaling. *Trends in Endocrinology. Metabolism.* 13, 422-427.
- Erb, R. E., Chew, B. P. and Keller, H. F. 1977. Relative concentrations of estrogen and progesterone in milk and bold, and excretion of estrogen in urine. *Journal of Animal Science.* 46, 617-626.
- Erb, R.E., Chew, B.P. and Keller, H.F. 1988. Relation concentrations of estrogen and progesterone in milk and bold, and excretion of estrogen in urine. *Journal of Animal Science.* 46, 617-626.
- Falany, N. C., Strom, P. and Swedmark, S. 2005. Sulphation of o-desmethylnaproxen and related compounds by human cytosolic sulfotransferase. *British Journal of Clinical Pharmacology.* 10, 1365-2125.
- Felicia, V. C., Najla, G., Chamber, F. A., Kenneth, K. C. 1997. Inhibition of proliferation of estrogen receptor-positive MCF-7 human breast cancer cells by flavonoids in the presence and absence of excess estrogen. *Cancer Letters.* 112, 127-133
- Freshney, R.I. 2000. *Culture of animal cells a mammal of basic technique.* 4th edition. A John Wiley & Sons, Inc New York, USA. 577.
- Freshney, R.I., 2010. *Culture of Animal Cells A manual of Basic Technique and Specialized Applications.* John Wiley & Sons Hoboken New Jersey.
- Gadd, J. B., Tremblay, L. A. and Northcott, G. L. 2009. Steroid estrogens conjugated estrogens and estrogenic activity in farm dairy shed effluents. *Environmental Pollution.* 1, 1-7.
- Geffroy, N., Guedin, A., Dacquet, C. and Lefebvre, P. 2005. Cell cycle regulation of breast cancer cells through estrogen-induced activities of ERK and Akt protein kinase. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 237, 11-23.
- Gronemeyer, H., Gustafsson, J., Laudet, V., 2004. Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. *Nature Reviews Drug Discovery.* 3, 950-964.

- Gower, D.B. 1975. Catabolism and excretion of steroids biochemistry of steroid hormones. Oxford Blackwell. 127-148.
- Goodman, R. H. and Smolik, S., 2000. CBP/p300 in cell growth. Transformation and development. *Gene & development*. 14, 1553.
- Guthrie, N., Gapor, A., Chambers, A.F., Carroll, K.K., 1997. Inhibition of proliferation of estrogen receptor-negative MDA-MB-435 and positive MCF-7 human breast cancer cells by plam oil tocotrienols and tamoxifen, alone and in combination. *The Journal of nutrient*. 127, 544s.
- Guo, R. X., Wei, L. H., Tu, Z., Sun, P. M., Wang, J. L., Zhao, D., Li, X. P., Tang, J., 2006. 17beta-Estradiol activates PI3K/Akt signaling pathway by estrogen receptor ER-dependent and ER-independent mechanisms in endometrial cancer cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 99, 9-18.
- Girault, I., Bieche, I., Lidereau, R., 2006. Role oof estrogen receptor transcriptional coregulators in tamoxifen resistance in breast cancer. *Maturitas*. 54, 342-351.
- Glatt, H., Boeing, H., Engelke, C. E. H., Ma, L., Kuhlow, A., Pabel, U., Pomplun, D., Teuner, W., Meintl, W., 2001. Human cytosolic sulphotransferases genetics characteristics toxicological aspects. *Mutation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 482, 27-40.
- Harries, J. E., Sheahan, D. A., Jobling, S., Matthiessen, P., Neall, P., Routledge, EJ., Rycroft, R., Sumpter, JP. and Tylor, T. 1996. A survey of estrogenic activity in United Kingdom inland waters. *Environmental Toxicology Chemetry*. 15, 1993 – 2002.
- Harries, J. E., Janbakhsh, A., Jobling, S., Matthiessen, P., Sumpter, J. P., and Tylor, C.R. 1999. Estrogenic potency of effluent from two sewage treatment works in the United Kingdom. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18, 923-937.

- Haynes, M. P., Sinha, D., Russell, K. S., Collinge, M., Fulton, D., Morales-Ruiz, M., Sessa, W. C., Bender, J. R. 2000. Membrane estrogen receptor engagement activates endothelial nitric oxide synthase via the PI3-kinase-Akt pathway in human endothelial cells. *Circulation research*. 87, 677.
- Heussen, C., and Dowdle, E. B. 1980. Electrophoretic analysis of plasminogen activators in polyacrylamide gels containing sodium dodecyl sulfate and copolymerized substrates. *Analytical Biochemistry*. 102, 196-202.
- Hernando, M. D., Mezcuca, M., Gómez, M. J., Malato, O., Aqüera, A. and Fernández-Alba, A. R. 2004. Comparative study of analytical methods involving gas chromatography-mass spectrometry after derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of selected endocrine disrupting compounds in wastewaters. *Journal of Chromatography A*. 1047, 129-135.
- Heather, B. P., Patricia, L. W. and Larry, J. Y. 1999. Regulation of estrogen receptor beta mRNA in the brain opposite effects of 17β -estradiol and the phytoestrogen coumestrol. *Molecular Brain Research*. 67, 165-171.
- Hennessy, B. T., Smith, D. L., Ram, P. T., Lu, Y., and Mills, G. B. 2005. Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*. 4(12), 988-1004.
- Hiroshi Y., Howard, M. L., Yoshihisa, S. and Masatoshi, M. 2003. Effects of physical-chemical characteristics on the sorption of selected endocrine disruptors by dissolved organic matter surrogates. *Environmental Science Technology*. 37, 2646-2657.
- Hisamoto, K., Ohmichi, M., Kurachi, H., Hayakawa, J., Kanda, Y., Nishio, Y., Adachi, K., Miyoshi, E., Fujiwara, N., 2001. Estrogen induces the Akt-dependent activation of endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*. 276, 3459.

- Hsieh, C. Y., Santell, R.C., Haslam, S.Z., Helferich, W.G., 1998. Estrogenic effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells in vitro and in vivo. *Cancer Research* 58, 3833.
- Hye, S. S., Ji, H. J., Kibeom, J. and Incheol, S. 2011. Induction of apoptotic cell death by phytoestrogens by up-regulating the levels of phosphor-p53 and p21 in normal and malignant estrogen receptor alpha-negative breast cells. *Nutrition Research*. 31, 139-146.
- Iwakura, A., Luedemann, C., Shastry, S., Hanley, A., Kearney, M., Aikawa, R., Isner, J. M., Asahara, T., Losordo, D. W., 2003. Estrogen-derived endothelial progenitor cells contributes to reendothelialization after arterial injury. *Circulation*, 10000106r.
- Jayachandran, M., Miller, V., 2002. Ovariectomy upregulates expression of estrogen receptors, NOS, and HSPs in porcine platelets. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. 283, H220.
- Je, H. K., Kim, K. N., Nam, K. W., Cho, H. M. and Ma, R.W. 2005. *TERT* mRNA expression is up-regulated in MCF-7 cells and a mouse mammary organ culture (MMOC) system by endosulfan treatment. *Archives Pharmacal Research*. 28, 351-357.
- Jin, T., H., Hsiao, C. H., Ching, J. C., Wei, L. H. and Chingwen, Y. 1999. Effect of the dietary phytoestrogen biochanin a on cell growth in the mammary carcinoma cell line MCF-7. *Journal Nutrient Biochemistry*. 10, 510-517.
- Jih, J.O., Shastina, V.V., Shin, S.W., Xu, Q., Park, J.I., Rasskazov, V.A., Avilov, S.A., Fedorov, S.N., Stonik, V.A., Kwak, J.Y. 2009. Differential effects of triterpene glycosides, frondoside and cucumarioside A2-2 isolated from sea cucumbers on caspase activation and apoptosis of human leukemia cells. *FEBS Letters*. 583(4), 697-702.
- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C. R., Brighty, G. and Sumpter, J. P. 1998. Widespread sexual disruption in wild fish. *Environmental Science Technology*. 32, 2498-2506.
- Johnson, A. C., Belfroid, A., and Di Corcia, A. 2000. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *Science Total Environmental*. 256, 163-173.

- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C. R., Brighty, G., Sumpter, J. P., 1998. Widespread sexual disruption in wild fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 32, 2498-2506.
- Jungbauer, A. and Medjakovic. 2005. Phytoestrogen in der Nahrung. *Ernahrung* 29, 406-423.
- Jugan, M. L., Oziol, L., Bimbot, M., Huteau, V., Karolak, S. T., Blondeau, J. P. and Levi, Y. 2009. In vitro assessment of thyroid and estrogenic endocrine disruptors in wastewater treatment plant river and drinking water supplies in the greater Paris area. *Science of The Total Environment*. 407, 3579-3587.
- Kato, S., Endoh, H., Masuhiro, Y., Kitamoto, T., Uchiyama, S., Sasaki, H., Masushige, S., Gotoh, Y., Nishida, E., Kawashima, H., 1995. Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. *Science*. 270, 1491.
- Katzenellenbogen, B. S. and Katzenellenbogen, J. A., 2000. Estrogen receptor transcription and transactivation estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta-regulation by selective estrogen receptor modulators and importance in breast cancer. *Breast Cancer Research*. 2, 335-344.
- Kawabata, H., Germain, R., Vuong, P., Nakamaki, T., Said, J., Koeffler, H., 2000. Transferrin receptor 2-alpha supports cell growth both in iron-chelated cultured cells and in vivo. *The Journal of biological chemistry*. 275, 16618.
- Katzenellenbogen, S. B., Kendra, L. K. Norman, J. M. and Berthois, Y. 1987. Proliferation hormonal responsiveness and estrogen receptor content of MCF-7 human breast cancer cells grown in the short-term and long-term absence of estrogen. *Cancer Research*. 47, 4355-4360.
- Kapoor, R. R. and Sheng, J. J. 2007. Transfection of human prostate cancer CA-HPV-10 cells with cytosolic sulfoltransferase SULT1E1 affects estrogen signaling and gene transcription. *Drug Metabolism and Disposition*. 36, 316-321.

- Karlock, R., Daston, P. G., Derosa, C., Crisp, F. P., Gray, E., K, S., Lucier, G., Luster, M., Mac, J. M., Maczka, C., Milleer, R., Moore, J., Rolland, R., Scott, G., Sheehan, M. D., Sink, T. and Tilson, A. H. 1996. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors a report of U S EPA-sponsored workshop. *Environmental Health Perspectives*. 104, 715-740.
- Kelly, M. J., Levin, E. R., 2001. Rapid actions of plasma membrane estrogen receptors. *Trends in Endocrinology & amp. Metabolism*. 12, 152-156.
- Kim, S. D., Ch⁶o, J. 2006. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface drinking and waste water research. *Environmental*. 7, 119-128.
- Kojima, H., Katsura, E., Takeuchi, S., Niyama, K. and Kobayashi, K. 2004. Screening for Estrogen and Androgen Receptor Activities in 200 Pesticides by in vitro receptor gene assay using Chinese hamster ovary cells. *Environmental Health Perspectives*. 112, 524-531.
- Knoblauch, R. and Garabedian, M. J., 1999. Role for Hsp90-associated cochaperone p23 in estrogen receptor signal transduction. *Molecular and Cellular biology*. 19, 3748.
- Kuch, H. M. and Ballschmiter, K. 2001. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the pictogram per liter range. *Environmental Science Technology*. 35, 3201-3206.
- Kuske, B., Naughton, C., Moore, K., MarLeod, K. G., Miller, R. W., Clarke, R., Langdon, P.S. and Cameron, A.D. 2006. Endocrine therapy resistance can be associated with high estrogen receptor α (ER α) expression and reduced ER α phosphorylation in breast cancer models. *Endocrine Related Cancer*. 13, 1121-1133.
- Kuiper, G. G. J. M., Caisson, B., Grandien, K., Enmark, E., H. ggblad, J., Nilsson, S., Gustafsson, J., 1997. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors. *Endocrinology* 138, 863.

- Kuiper, G. G. J. M., Lemmen, J. G., Carlsson, B., Corton, J. C., Safe, S. H., van der Saag, P. T., van der Burg, B., Gustafsson, J., 1998. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor. *Endocrinology*. 139, 4252.
- Kumar, V., Green, S., Stack, G., Berry, M., Jinn, J. R., Chambon, P., 1987. Functional domains of the human estrogen receptor. *Cell*. 51, 941-951.
- Kumar, R., Wang, R. A., Mazumdar, A., Talukder, A. H., Mandal, M., Yang, Z., Bagheri-Yarmand., Sahin, A., Hortobagui, G., Adam, L., 2002. A naturally occurring MTA1 variant sequesters oestrogen receptor in the cytoplasm. *Nature*. 418, 654-657.
- Kumar, R., Blakemore, S. J., Elis, E. C., Petricoin, F. E., Pratt, D. Marcoritto, M. A., Loureiro, J. J. and Eliston, K. 2010. Causal reasoning identifies mechanisms of sensitivity for a novel AKT kinase inhibitor GSK690693. *Boimed Cental*. 11, 1471-2164.
- Kummalue, T., O-charoenrat, P., Jiratchariyakul, W., Chanchai, M., Pattanapanyasat, K., Sukapirom, K., Iemsri, S. 2007. Antiproliferative effect of *Erycibe elliptilimba* on human breast cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*. 110(3), 439-443.
- Lai, K. M., Johmson, K. L., Scrimshaw, M. D. and Lester, J. N. 2000. Binding of waterborne steroid estrogens to solid phases in river and estuarine systems. *Environmental Science Technology*. 34, 3890-3894.
- Lawrence, C. M., Ray, S., Babyonyshev, M., Galluser, R., Borhani, D. W., Harrison, S. C., 1999. Crystal structure of the ectodomain of human transferring receptor. *Science*. 286, 779.
- Lampe, W. J. 2003. Isoflavonoid and lignan phytoestrogens as dietary biomarkers. *American Society for Nutritional Sciences*. 3, 202-659.
- Lee, Y. R., Park, J., Yu. H. N., Kim, J. S., Youn, H. J., Jung, S. H., 2005. Up-regulation of PI3K/Akt signaling by 17beta-estradiol through activation of estrogen receptor, but not estrogen receptor -(alpha) but not estrogen receptor-beta and stimulates cell growth in breast cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 336, 1221-1226.

- Legler, J., van den Brink, C.E., Brouwer, A., Murk, A.J., van der Sag, P. T., Vethak, A. D., van der Burg, B., 1999. Development of a stably transfected estrogen receptor-mediated luciferase receptor gene assay in the human T47D breast cancer cell line. *Toxicological Science* 48, 55.
- Ling, W., Yaqi, C., Bin, H., Chungang, Y., Dazhong, S., Jing, S. and Guibin, J. 2006. Determination of estrogens in water by HPLC-UV-using cloud point extraction. *Journal of Talanta*. 70, 47-51.
- Lui, B., Pyne, S. and Liu, X. 2003. Direct photolysis of estrogens in aqueous solution. *Science Total Environmental*. 320, 269-274.
- Louis, F.F. and Mary, F. 1959. Library of congress catalog card number. 59-12534.
- Lo, R. and Matthews, j., 2010. A New class of Estrogen Receptor Beta-Selective Activators. *Molecular Interventions*. 10, 133.
- Lorenzo, J. 2003. A new hypothesis for how sex steroid hormones regulate bone mass. *Journal of Clinical Investigation*. 111, 1641-1642.
- Long, S. J., Edwards, J., Watson, C., Tovey, S., Mair, M. K., Schiff, R., Natarajan, V., Pyne, J. N. and Pyne, S. 2010. Sphingosine kinase 1 induce tolerance to human epidermal growth factor receptor 2 and prevents formation of a migratory phenotype in response to sphingosine 1-phosphate in estrogen receptor-positive breast cancer cells. *American Society for Microbiology*. 30, 3827-3841.
- Li, L., and Falany, C.N. 2004. Elevated hepatic *SULT1E1* activity in mouse models of cystic fibrosis alters the regulation of estrogen responsive proteins. *Journal of Cystic Fibrosis* . 6(1), 23-30.
- Lykkesfeldt, A.E., Cremoux, P., Brockdorff, B.L., Boudou, E. and Brunner, H.M. 2003. Validation of real time RT-PCR for analysis of human breast cancer cell lines resistant or sensitive to treatment with antiestrogens. *Endocrine Related Cancer*. 10, 409-418.
- Maddedu, A., Asai, D. J. and Forney, J. D. 1988. Methods in Cell Biology. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 62, 199-202.

- Maggiolini, M., Bonofiglio, D., Marsico, S., Panno, M.L., Cenni, B., Picard, D., And, S., 2001. Estrogen receptor mediates the proliferative but not the cytotoxic dose-dependent effects of two major phytoestrogens on human breast cancer cells. *Molecular pharmacology* 60, 595.
- Martin, A. L., Farmer, I., Johnston, S. R., Ali, S. and Dowsett, M. 2005. Elevated RK1/ERK2/estrogen receptor cross-talk enhances estrogen-mediated signaling during long-term estrogen deprivation. *Endocrine Related Cancer*. 12, 75-84.
- Mark, R. F., Ih, C., Brock, C., Stephen, H., S. and Timothy, R. Z. 1997. Examination of the Estrogenicity of 2,4,6,2,6-Pentachlorobiphenyl (PCB 104), Its Hydroxylated Metabolite 2,3,6,2,6-Pentachloro-4Biphenylol (HO-PCB 104) and a Further Chlorinated Derivative, 2,4,6,2,4,6 Hexachlorobiphenyl (PCB 155). *Environmental Health Perspectives*. 105, 1238-1248.
- Manosroi, J., Dhumtanom, P., Manosroi, A. 2006. Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines. *Cancer Letters*, 235, 114-120
- Marek and Kataryzynna. 2005. Menopause hormonal imbalance and herbal management of clinical symptoms. *Reproductive Biology Laboratory*. 247-667.
- Mckinlay, R. Plant, J. A., Bell, J. N. B. and Voulvoulis, N. 2007. Endocrine disrupting pesticides Implications for risk assessment. *Environmental International*. 34, 168-183.
- Merry, J. O., Larry, P., Lorraine, F. and Rigs, L. 1994. Human giant cell tumors of the bone (osteoclastomas) are estrogen target cells. *Biochemistry*. 91, 5227-5231.
- Metcalfe, C. D., Metcalfe, T. L., Kiparissis, Y., Koenig, B. G., Khan, C., Hughes, R. J., Croley, T. R., March, R. E., Potter, T. 2001. Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by *vivo* assays with Japanese medaka. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20, 297-308.

- Michael, H., Hrknen, P., Kangas, L., Vn nen, H., Hentunen, T., 2007. Differential effects of selective Oestrogen receptor modulators (SERMs) tamoxifen, ospemifene and raloxifene on human Osteoclasts in vitro. *British Journal of Pharmacology*. 151, 384-395.
- Mishra, S. K., Mazumdar, A., Vadlamudi, R. K., Li, F., Wang, R. A., Yu, W., Jordan, V. C., Santen, R. J., Kumar, R., 2003. MICOA, a novel metastasis-associated protein 1 (MTA1) interacting protein Coactivator, regulates estrogen receptor- transactivation functions. *Journal fo Biological Chemisty*. 278, 19209.
- Moggs, J. G. and Orphanides, G., 2001. Estrogen receptors: orchestrators of pleiotropic cellular responses. *EMBO Reorts*. 2, 775-781.
- Monks, A., Scudiero, D., Skehan, P., Shoemaker, R., Paull, K., Vistica, D., Hose, C., Langley, J., Cronise, P., Vaigro-Wolff, A., Gray-Goodrich, M., Cambell, H., Mayo, J. and Boyd, M. 1991. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *Journal of the National Cancer Institute*. 83, 757-766.
- Nakamura, Y., Miki, Y., Suzuki, T., Nakata, T., Parnel, D. A., Moriya, T., Tazawa, C., Saito, H., Ishibashi, T., takahashi, S., Yamada, S. and Sasang, H. 2003. Steroid Sulfatase and Estrogen Sulfotransferase in the Atheroscterotic Human Aorta. *American Journal of Patbology*. 163, 4.
- Nasu, M., Goto, M., Kato, H., Oshima, Y., Tanaka, H. 2000. Study on endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants. *Water Science Technology*. 43, 101-108.
- Nghiem, L. D., Schafer. A. I. and Waite T. D. 2002. Adsorption interactions between membranes and trace contaminants. *Desalination*. 147, 269-274.
- Nichols, D. J., Daniel, T. C., Moore, Jr. P. A., Edwards, D. R., Pote, D. H., 1997. Runoff of estrogen hormone 17β -estradiol from poultry litter applied to pasture. *Journal of Environmental Quaity*. 26, 1002-1106.
- Nichols, D. J., Daniel, T.C., Moore, Jr. P. A. and Pote, D. H. 1998. Use of grass filter strips to reduce 17β -estradiol in runoff from fescue-applied poultry litter. *Journal of Soil Water Conservation*. 53, 74-77.



- Nussey, S. and Whitehead, S., 2001. *Endocrinology: An Integrated Approach*. BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford, UK.
- Obrero, M., Yu, D.V., Shapiro, D.J., 2002. Estrogen receptor-dependent and estrogen receptor-dependent pathways for tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen-induced programmed cell death. *Journal of Biological Chemistry* 277, 45695.
- Oehlmann, J. and Schulte, O. U. Endocrine disruption in invertebrates. 2003. *Pure and Applied Chemistry*. 75, 11-12.
- Oetken, M., Bachmann, J., Oehlmann, O. S. U. and Oehimann, J. 2004. Evidence for endocrine disruption in invertebrates. *Toxicology*, 21, 70-80.
- Ogawa, S., Inoue, S., Watanabe, T., Hiroi, H., Orimo, A., Hosoi, T., Ouchi, Y., Muramatsu, M., 1998. The Complete Primary Structure of Human Estrogen Receptor [beta](Her [beta]) and its Heterodimerization with ER [alpha] in Vivo and in Vitro* 1,*2. *Biochemical and biophysical. Research Communications*. 243, 122-129.
- Okoumassoun, L. E., Diana, A. B., Francois, G., Michel, M., Francine, D. 2002. Assessing the estrogenic potential of organochlorine pesticide in primary cultures of male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes using vitellogenin as a biomarker. *Toxicology*. 178, 193-207.
- Paech, K., Webb, P., Kuiper, G.G.J.M., S., Gustafsson, J., Kushner, P.J., Scanlan, T.S., 1997. Differential ligand activation of estrogen receptors ER and ER at AP1 sites. *Science*. 277, 1508.
- Pardee, A.B., 1989. G1 events and regulation of cell proliferation. *Science*. 246, 603.
- Peterson, E.W., Davis, R.K., Orndorff, H.A., 2001. 17β -Estradiol as an indicator of animal waste contamination in karst aquifers. *Journal of Environmental Quality*. 29, 826-34.
- Purdom, C. E., Hardiman, P. A., Bye, V. J., Eno, N. C., Tyler, C. R. and Sumpter, J. P. 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chemistry Ecology*. 8, 275-285.

- Pinder, V. C. L., Pottinger, Z. and Depledge, H. M. 1999. Endocrine function in aquatic invertebrates and evidence for disruption by environmental pollutants. *Endocrine Modulators Steering Group*. 20, 40-48.
- Prayong, P. 2008. "Screening of fourteen Thai plants for cytotoxicity and apoptosis induction in cancer cell lines". Thesis of Master of Pharmacy in Pharmaceuticals, Khon Kaen University. Khon Kaen.
- Prouillac, C. and Lecoecur. 2010. The Role of the Placenta in Fetal Exposure to xenobiotics Importance of membrane transporters and human models for transfer studies. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 38, 1623-1635.
- Prossnitz, E.R., Arterburn, J.B., Sklar, L.a., 2007. GPR30: A G protein-coupled receptor for estrogen. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 265-266, 138-142.
- Quintana, J. B., Carpinteiro, J., Rodriguez, I., Lorenzo, R. A., Carro, A. M. and Cela, R. 2004. Determination of natural and synthetic estrogens in water by gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 1024, 177-185.
- Rayala, S.K., Talukder, A.H., Balasenthil, S., Tharakan, R., Barnes, C.J., Wang, R.A., Aldaz, M., Khan, S., Kumar, R., 2006. P21-activated kinase 1 regulation of estrogen receptor-activation involves Serine 305 activation linked with serine 118 phosphorylation. *Cancer Research*. 66, 1694.
- Refsdal, A. O., 2000. To treat or not to treat a proper use of hormones and antibiotics. *Amino Chemistry Ecology Reprod Science*, 61 : 109-119.
- Routledge, E. J., Sheahan, D., Desbrow, C., Brighty, G. C., Waldock M., Sumpter, J. P., 1998. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent 2 In vivo responses in trout and roach. *Environmental Science Technology*. 32, 1559-1565.
- Robert, J. K. and Jack, P. D. 1990. Research need for the risk assessment of health and Environmental effects of endocrine disruptors. *Environmental Health Perspectives*. 104, 715-803.

- Riches, Z., Stanley, L. E., Bloomer, C. J. and Coughtrie, H. W. M. 2009. Quantitative evaluation of the expression and activity of five major sulfotransferase (SULTs) in human tissues: the SULT. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 37, 2255-2261.
- Ryschich, E., Huszty, G., Knaebel, H.P., Hartel, M., Buchler, M.W., Schmidt, J., 2004. Transferrin receptor Is a marker of malignant phenotype in human pancreatic cancer and in neuroendocrine carcinoma of the pancreas. *European Journal of Cancer*. 40, 1418-1422.
- Salama, J., Tandra, R. C., Laurie, N. and Gore, C. A. 2003. Effects of polychlorinated bisphenyls on estrogen receptor β -expression in the anteroventral periventricular nucleus. *Environmental Health Perspectives*. 111, 1278-1290.
- Sampey, P. B., Stewart, J. B. and Petersen, R. D. 2007. Ethanol induced modulation of hepatocellular extracellular signal regulated kinase $\frac{1}{2}$ Activity via 4-Hydroxynonenal. *Biological Chemistry*. 19, 1928-1937.
- Safe, S., Kim, K., 2008. Non-classical genomic estrogen receptor (ER)/ specificity protein and ER/activating protein-1 signaling pathways. *Journal of molecular endocrinology*. 41, 263.
- Segars, J.H., Driggers, P.H., 2002. Estrogen action and cytoplasmic signaling cascades. Part I: membrane-Associated signaling complexes. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 13, 349-354.
- Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenney, S., Boyd, M. R. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal of the National Cancer Institute*. 82(13), 1107-1112.
- Skeen, J. E., Bhaskar, P. T., Chen, C. C., Chen, W. S., Peng, X., Nogueira, V., Hahn-Windgassen, A., Kiyokawa, H., and Hay, N. 2006. Akt deficiency impairs normal cell proliferation and suppresses oncogenesis in a p53-independent and mTORC1-dependent manner. *Cancer Cell*. 10(4), 269-280.

- Soto, S. M. D. and Slichter, C. P. 1995. NMR studies of The normal and superconducting states of the organic superconductor. *Journals of The American Physical Society*. 52 , 10364.
- Song, R.X.D., McPhersom, R.A., Adam, L., Bao, Y., Shupnik, M., Kumar, R., Santen, R.J., 2002. Linkage of Rapid estrogen action to MAPK activation by ER-Shc association and Shc pathway Activation. *Molecular Endocrinology* 16, 116.
- So, F.V., Guthrie, N., Chamber, A. F., Carroll, K.K., 1997. Inhibition of proliferation of estrogen receptor-positive MCF-7 human breast cancer cells by flavonoids in the presence and absence of excess estrogen. *Cancer letters* 112, 127-133.
- Shah, K. N. and Faridi. 2011. Estrogen tamoxifen and Akt modulate expression of putative housekeeping genes in breast cancer cell. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 3635, 1-7.
- Shore, L. S., Correll, D. L., Chakraborty, P. K., 1995a. Relationship of Fertilization with Chick Manure and Concentrations of Estrogens in Small Streams. *Aminal Waste and The Land-Water Interface*, 155-162.
- Shore, L. S., Kapulnik, Y., Gurevich, M., Wininger, S., Badamy H., Shemesh M., 1995b. Induction of phytoestrogen production in medicago sativa leaves by irrigation with sewage water. *Environmental and Experiment Botany*. 35, 363-369.
- Shekhar, M. V. P., Well, J. and Basrur, S. V. 1997. Environmental estrogen stimulation of growth and estrogen receptor function in preneoplastic and cancerous human breast cell lines. *Environmental*. 7, 19-38.
- Shemesh, M. and Shore, L.S. 1994. Effect of Hormones in The Environment on Reproduction in Cattle. In Fileds M.J, Sand R.S, editors. *Factors Affecting Calf Crop*. Boca Raton, 287-297.
- Shiau, A.K., Barstad, D., Loria, P.M., Cheng, L., Kushner, P.J., Agard, D.A., Greene, G.L., 1998. The Structural Basis of Estrogen Receptor/Coactivator Recognition and Antagonism of This Interaction by Tamoxifen. *Cell*. 95, 927-937.

- Signh, M.N., Martin-Hirsch, P.L., Martin, F.L., 2008. The multiple applications of tamoxifen: an example Pointing to SERM modulation being the aspirin of the 21st century. *Medical Science Monitor*. 14.
- Simoncini, T., Rabkin, E., Liao, J.K., 2003. Molecular basis of cell membrane estrogen receptor interaction With phosphatidylinositol 3-kinase in endothelial cell. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 23, 198-203.
- Smuc, T., and Rizner, T. L. 2009. Expression of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases and other estrogen-metabolizing enzymes in different cancer cell lines. *Chemico Biological Interactions*. 178(1-3), 228-33.
- Suiko, M., Sakakibara, Y., Liu, Y. M., Yang, S. Y. and Cheh Liu, M. 2005. Cytosolic sulfotransferases and environmental estrogenic chemicals. *Pesticide Science Society of Japan*. 30, 345-353.
- Syed, F.A., M dder, U.I.L., Fraser, D.G., Spelsberg, T.C., Rosen, C.J., Krust, A., Chambon, P., Jameson, J.L., Khosla, S., 2005. Skelatal effects of estrogen are mediated by opposing actions of classical And nonclassical estrogen receptoe pathways. *Journnal of Bone and Minaral Research*. 20, 1992-2001.
- Szekeres, T., Sedlak, J., Novotny, L., 2002. Benzamide Riboside, a Recent Inhibitor of Inosine 5-Monophosphate Dehydrogenase Induces Transferrin Receptors in Cancer Cell. *Current Midicinal Chemistry*. 9, 759-764.
- Tabata, A., Kashiwa, S., Ohnishi, Y., Ishikawa, H., Miyamoto, N., Itoh, M. 2001. Estrogenic influence of 17 β -estradiol, p-nonylphenol and bisphenol A on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) at detected environmental concentrations. *Water Science Technology*. 43(2), 109-116.
- Ternes, T. A., stumpf, M., Mueller, J., Haberer, K., Wilken, R-D. and Servos M. 1999. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants-I Investigations in Germany Canada and Brazil. *Science Total Environmental*. 225, 81-90.

- Tully, D. B., Cox, T. V., Mumtaz, M. M., Davis, V. L. and Chapin, R. E. 1999. Six high-priority organochlorine pesticides either singly or in combination are nonestrogenic in transfected HeLa cells. *Reproductive Toxicology*. 14, 95-102.
- Trowbridge, I. S., and Omary, M. B. 1987. Human cell surface glycoprotein related to cell proliferation is the receptor for transferring. *Proceeding of the National Academy of Science*. 78(5), 3039-43.
- Urruticoechea, A., 2007. The oestrogen-dependent biology of breast cancer. Sensitivity and resistance to Aromatase inhibitors revisited: a molecular perspective. *Clivncal and Translational Oncology*. 9, 752-759.
- Vasudevan, N., Kow, L.M., Pfaff, D.W., 2001. Early membrane estrogenic effects required for full Expression of slower genomic actions in a nerve cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 98, 12267.
- Voss, M.R., Stallone, J.N., Li, M., Cornelussen, R.N.M., Knuefermann, P., Knowlton. A.A., 2003. Gender Differences in the expression of heat shock protein: the effect of estrogen. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 285, H687.
- Vichai, V. and Kirtikara, K. 2003. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature Protocols*. 1112 - 1116.
- Vanicha, V. and Kanyawim, K. 2006. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature Protocol*. 1(3), 1112-1116.
- Wang, T. T. Y. and Phang, J. M. Effects of Estrogen on Apoptotic Pathways in Human Breast Cancer Cell Line MCF-7. *Cancer Research*. 55, 2487-2489.
- Watson, W.H. and yager, J.D. 2007. Arsenic extention of its endocrine disruption potential to interference with estrogen receptor mediated signaling. *Toxicology Science*. 98, 1-4.
- Watson, W. H. and Yager, J. D. 1995. Toxicological highlight arsenic extension of its endocrine disruption potential to interference with estrogen receptor mediated signaling. *Toxicology Science*. 98, 1-4.

- Wellness and Occupational Health Service Center. 1967. Ga Highway Kathleen. 31, 478-988.
- Weinshilboun, R.M., Otterness, D., Aksoy, I.A., Wood, T.C., Her, C., Raftogianis, R., 1997. Sulfation and Sulfotransferases 1: Sulfotransferase molecular biology cDNAs and genes. The FASEB Journal. 11, 3.
- Wong, C.W., McNally, C., Nickbarg, E., Komm, B.S., Cheskis, B.J., 2002. Estrogen receptor-interacting Protein that modulates its nongenomic activity-ceosstalk with Src/Erk phosphorylation Cascade. Proceedings of the National Academy of Sciences. 99, 14783.
- William, C. L., and Stancel, G. M., 1996. Hardman, J. G., Gilman, A., and Limbird. Estrogens and Progestins. Toxicology. 9, 1-3.
- Wichai, C., Traisup, V. and Picha, P. 2008. Determination of the estrogenic activity of Wild Phytoestrogen-rich *Pueraria mirifica* by MCF-7 proliferation assay Thailand. Journal of Reproduction and Development. 54, 63-67.
- Wolf, F., Li, W., Li, F., Li, C.Y., 2011. Non-invasive, quantitative monitoring of hyperthermia-induced EGFR activation in xenograft tumours. International Journal of Hyperthermia 27, 427-434.
- Yamashita, H., Nishio, M., Kobayashi, S., Ando, Y., Sugiura, H., Zhang, Z., Hamaguchi, M., Mita, K., Fuji, Y., lwase, H., 2005. Phosphorylation of estrogen receptor serine 167 is predictive of response to endocrine therapy and increases survival in metastatic breast cancer. Breast Cancer Research. 7, R753-R764.
- Yuliya, D., Williams, L. R. and Blackmore, F. P. 1999. Trans- resveratrol inhibits calcium influx in thrombin-stimulated human platelets. British Journal of Pharmacology. 129, 149-157.
- Zasshi, Y. 2003. Study on estrogenic activities of food additives with human breast cancer MCF-7 cells and mechanism of estrogenicity by BHA and OPP1. Shinjuku Tokyo, 73-169.
- Zachary, I., 2003. Determination of cell Number. BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford, UK.
- Zhao, X., Huang, L., Yin, Y., Fang, Y., Zhao, J. and Chen, J. 2008. Estrogen induces endothelial progenitor cells proliferation and migration by estrogen receptors and PI3K-dependent pathways. Microvascular Research. 75, 45-52.

Zheng J., Xiao, X., Lui, Jiangbin., Zheng, S., Yin, Q. and Yu, Y. 2007. Growth promoting effect of environmental endocrine disruptors on human neuroblastoma SK-N-SH cell. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. 7, 119-128.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. ตู้เย็น 4 °C
2. เครื่อง Cytospin
3. เครื่องชั่งสารเคมี
4. เครื่องวัด pH (TOLEDO)
5. เครื่องไมโครเวฟ (SHARP)
6. เครื่อง vortex (SHELTON VSM-3)
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง (KOKUSAN H-103N)
8. ถังไนโตรเจนเหลว (AIR LIQUIDE GT40)
9. Thermal cycler (BIORAD, USA รุ่น MyRun)
10. Electrophoresis สำหรับเจล agarose (Cosmobio)
11. ตู้ทำงานปลอดเชื้อ Biohazard class II (type TUV2)
12. ตู้แช่อุณหภูมิต่ำ -20 °C (SONGSERM INTERCOOL)
13. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) (MEMMERT, Germany)
14. เครื่องล้างปิเปต (siphon pipette washer) (NALGENE, USA)
15. เครื่องฉายภาพใต้ UV (UV transilluminator) (BIORAD, USA)
16. หม้อนึ่งอ autoclave (SANYO AUTOCLAVE MLS-3780)
17. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) (UV mini-1240)
18. ตู้แช่แข็งควบคุมอุณหภูมิ -80 °C (SANYO ULTRA LOW MDF-792)
19. เครื่อง micro ultracentrifuge (Hettich รุ่น mikro 22R)
20. ตู้อบที่มีปริมาณ CO₂ 5% ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 °C และความชื้นสัมพัทธ์ 95% (CO₂ incubator) (Thermo Forma)
21. กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ (compound microscope) (OLYMPUS BH-2)
22. กล้องจุลทรรศน์เลนส์วัตถุอยู่ด้านล่าง (inverted microscope) (OLYMPUS CK40)

2. อุปกรณ์ที่ปลอดเชื้อ (sterile)

1. ผ้าก๊อช
2. จานเลี้ยงชนิด 6 หลุม
3. PCR tube ขนาด 200 μ l
4. Petri dish
5. Cover slip
6. Pasteur pipette
7. กระบอกใส่ปิเปต
8. กระบอกใส่ผ้าก๊อช
9. Vacuum filtration (Nunc)
10. Tip ขนาดเล็ก, กลาง และใหญ่
11. Volumetric pipette ขนาด 5 และ 10 ml
12. Microcentrifuge tube ขนาด 0.5 และ 2.0 ml
13. ขวด Duran ขนาด 100, 250, 500 และ 1000 ml
14. Centrifuge tube ขนาด 10, 20 และ 50 ml. (TPP)
15. Microcentrifuge tube 1.5 ml และ 0.6 ml
16. Autopipette ขนาด P2, P10, P20, P200, P1000 μ l
17. ขวดเลี้ยงเซลล์ (culture flask) ขนาดพื้นที่เพาะเลี้ยง 25 และ 75 cm^2

3. อุปกรณ์ที่ไม่ปลอดเชื้อ (nonsterile)

1. สำลี
2. สไตรค์
3. ไฟแช็ค
4. ปีกเกอร์
5. ถังมือยาง
6. พาราฟิล์ม
7. เข็มเขี่ยเชื้อ

8. ถาดน้ำแข็ง
9. กระดาษชำระ
10. Waste bottle
11. ถังมือพลาสติก
12. อลูมิเนียมฟลอย
13. Glass spreader
14. Centrifuge rack
15. ตะเกียงแอลกอฮอล์
16. เครื่องปั่นสุญญากาศ
17. เครื่องนับจำนวนเซลล์
18. Haemocytometer และ cover slip

4. สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. EDTA
3. Giemsa
4. DEPC-treated water
5. KCl (Merck, Germany)
6. HCl (Merck, Germany)
7. NaCl (Merck, Germany)
8. Forward primer (Mission biotech, Singapore)
9. Reverse primer (Mission biotech, Singapore)
10. DMSO (dimethyl sulfoxide) (SIGMA) Ca#D5879
11. $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot (-\text{H}_2\text{O})$ (Merck, Germany)
12. HCl (LAB-SCAN, Ireland)
13. KH_2PO_4 (Merck, Germany)
14. Na_2HPO_4 (LAB-SCAN, Ireland)

15. NaOH (LAB-SCAN, Ireland)
16. Ethanol (LAB-SCAN, Ireland)
17. Oligo dT₁₂ (Finnzymes Phusion, Finland)
18. 10X RT buffer (Finnzymes Phusion, Finland)
19. RT enzyme mix (Finnzymes Phusion, Finland)
20. Methanol (LAB-SCAN, Ireland)
21. NaHCO₃ (BDH-Anala®, England)
22. Chloroform (LAB-SCAN, Ireland)
23. Isopropanol (LAB-SCAN, Ireland)
24. Proteinase K (AMRESCO, USA)
25. Tris (Vivantis, USA) Cat # PR0612
26. Glacial acetic acid (Merck, Germany)
27. dNTP (Finnzymes Phusion, Finland)
28. PBS (phosphate buffer saline)
29. Agarose (Vivantis, USA) Cat# PC0701
30. Penicillin – Streptomycin (Gibco, USA)
31. DMEM (Gibco, USA) Cat # 12100-038
32. RPMI1640 (Gibco, USA) Cat # 31800-04
33. trypsin (1:250) (Gibco, USA) Cat # 25200-056
34. 6X Loading dye (Vivantis, USA) Cat # NM0410
35. Trypsin EDTA (Gibco, USA) Cat # 15400-054
36. Trizol® reagent (Invitrogen, USA) Cat # 15596-026
37. Trypan blue stain (Gibco, USA) Cat # 15250-061
38. Fetal Bovine Serum (FBS) (Bio west, USA) Ca# S1800
39. Sodium dodecyl sulphate (Vivantis, USA) Cat # PR06011
40. Ethidium bromide solution (Invitrogen, USA) Cat # 15596
41. 1000 bp DNA ladder plus (Vivantis, USA) Cat # SM0321
42. 2X PCR master mix (iNtRON biotechnology, Korea)

5. โปรแกรมคอมพิวเตอร์

1. SPSS version 17
2. Microsoft Excel[®]
3. Adobe Photoshop 7.0[®]
4. Quantity One V.4.4.1: Gel doc

6. เซลล์ที่นำมาทำการทดลอง

1. เซลล์เชื้อสายมะเร็งปากมดลูก HeLa (human epithelial cervical cancer cell line)
2. เซลล์เชื้อสายมะเร็งเต้านม MCF-7 (human breast adenocarcinoma cell)
3. เซลล์เชื้อสายมะเร็งเต้านม MDA-MB-231 (human breast cancer cell line)

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมี

1. สารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงเซลล์

1.1 culture medium

Medium	DMEM	RPMI-1640
powder medium	1 ซอง	1 ซอง
NaHCO ₃	3.7 g.	
deionized distilled water (DI)	800 ml	800 ml

ผสมสารที่ใช้เตรียมอาหาร แต่ละชนิดเข้าด้วยกัน ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 7.3 -7.6 ด้วย NaCl หรือ HCl ความเข้มข้น 1 N ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 ml ด้วยน้ำ DI จากนั้นจึงกรองด้วย กระดาษกรอง (membrane filter) ขนาด 0.2 µm ด้วย แล้วยกเก็บไว้ที่ 4°C

1.2 complete medium

culture medium	89 ml
FBS	10 ml
antibiotic	1 ml

เตรียมสารทั้งหมดในตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) แล้วยกเก็บไว้ที่ 4 °C

1.3 freezing medium

DMSO	0.5 ml
FBS	2 ml
culture medium	7.5 ml

เตรียมสารทั้งหมดในตู้ปลอดเชื้อ ผสมให้เข้าด้วยกัน เก็บไว้ที่ 4 °C

1.4 อาหารสำหรับเลี้ยงเซลล์เพื่อเป็น stock

Growth media

(DMEM, RPMI-1640)	1	ซอง
-------------------	---	-----

NaHCO ₃	1.2	g
--------------------	-----	---

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1.0 l ปรับ pH เป็น 7.2-7.4 แล้วกรองด้วย vacuum filter ขนาดรู
ตะแกรง 0.2 μ m ใส่ลงในขวด Duran 1,000 ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C หากจะนำมาใช้ให้
aliquot ทีละ 49 ml ผสมกับ 10% FBS 5 ml และ penicillin-streptomycin 0.5 ml

1.5 Phosphate buffer solution (PBS)

NaCl	8.0	g
------	-----	---

KCl	0.2	g
-----	-----	---

Na ₂ HPO ₄	1.5	g
----------------------------------	-----	---

KH ₂ PO ₄	0.1	g
---------------------------------	-----	---

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1.0 l ปรับ pH เป็น 7.2-7.4 แล้วนำไป autoclave (121 °C 15
นาทื) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

1.6 trypsin EDTA

Trypsin (sterile)	1.0	ml
-------------------	-----	----

PBS	9.0	ml
-----	-----	----

ผสมสารให้เข้ากันแล้วกรองด้วย vacuum filter ขนาดรูตะแกรง 0.2 μ m เก็บไว้ที่อุณหภูมิ
4 °C

1.7 50X Tris-Acetate EDTA (TAE) buffer

Tris	242.0	g
------	-------	---

Acetic acid	57.1	g
-------------	------	---

0.5 M EDTA pH 8.0	100	ml
-------------------	-----	----

เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	1,000	ml
--------------------------	-------	----

1.8 10X TE buffer

1.0 M Tris pH 8.0	50	ml
0.5 M EDTA pH 8.0	0.5	ml
เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร	500	ml

1.9 10% Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)

Electrophoresis-grade SDS	10	g
น้ำกลั่น	90	ml
ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง		

1.10 0.5 M EDTA pH 8.0

EDTA	186.1	g
น้ำกลั่น	750	ml
ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากันแล้วปรับ pH ด้วย HCl เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง		

1.11 DEPC-treated water

DEPC	1.0	ml
น้ำกลั่น	1,000	ml
ผสมสารละลายแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 37 °C แล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธี autoclave (121 °C 30 นาที)		

1.12 1.5 % agarose gel

Agarose	2.0	g
1.0X TAE buffer	150	ml
ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน อุ่นด้วย microwave จนเนื้อเจลละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ทุกครั้งก่อนนำไปใช้		

1.13 การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีการดูดเอาฮอร์โมนออกโดยใช้ Charcoal stripped

Charcoal stripped 0.2 g

10% Serum 10 ml

นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2000 รอบ เป็นเวลา 15 นาที แล้วกรองด้วย vacuum filter

ขนาดรูตะแกรง 0.2 μm เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C

หมายเหตุ เก็บ Charcoal stripped ไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.14 10 mM tris-HCl (pH 10.5)

tris-HCl 1.1214 g.

deionized distilled water 500 ml.

ปรับ pH ให้เท่ากับ 10.5 ด้วย 1 N HCl แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 ml

1.15 phosphate buffer saline (PBS)

NaCl 8.0 g

KCl 0.2 g

Na_2HPO_4 1.5 g

KH_2PO_4 0.1 g

deionized distilled water (DI) 800 ml

ผสมสารทั้งหมดละลายเข้าด้วยกัน ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 7.2-7.4 ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 ml ด้วยน้ำ DI จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (121 °C 15 นาที) เก็บไว้ที่ 4 °C

1.16 trypsin EDTA

trypsin EDTA (sterile) 10% 5.0 ml

PBS (sterile) 45.0 ml

เตรียมสารทั้งหมดในตู้ปลอดเชื้อ แล้วเก็บไว้ที่ 4 °C

2. สารเคมีที่ใช้ในเทคนิค SRB assay

2.1 10% trichloroacetic acid (TCA)

TCA 10 g

ละลายในน้ำ DI แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml

2.2 1% acetic acid

acetic acid 10 ml

ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 ml

2.3 0.057% SRB dye

สี SRB 0.57 g

ละลายใน 1% acetic acid แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 ml

ภาคผนวก ก
เทคนิคในการทดลองและการคำนวณ

1. การเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์

1. ดูอาหารเลี้ยงในขวดเดิมออกให้หมดแล้วทิ้งไป
2. เติมน้ำเลี้ยงใหม่ลงไป
3. นำขวดเซลล์ไปไว้ในตู้บ่มที่ 37°C

2. การ trypsinization

1. ดูอาหารเลี้ยงเซลล์ออกให้หมด
2. ล้างเซลล์ด้วย PBS
3. ใส่ trypsin/EDTA Solution ปริมาตร 1.5 ml ลงในขวดเพาะเลี้ยงเซลล์ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที จึงดูทิ้งให้หมด
4. นำขวดเลี้ยงเซลล์ไปใส่ในตู้บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 10 นาที ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงว่าเซลล์หลุดออกจากพื้นขวดเลี้ยงเซลล์หรือไม่
5. เซลล์หลุดหมด เติมน้ำเลี้ยงเซลล์ลงไป 4 ml หลังจากผสมกันดีแล้วดูออกด้วยอัตราส่วน (split ratio) 1:2 , 1:4 หรือ 1:8
6. นำเซลล์ที่ดูออกมา นับจำนวนเซลล์และคำนวณหาจำนวนเซลล์ทั้งหมดในขวด (cell/ ml)

3. การนับเซลล์โดยใช้ Hemocytometer

เป็นการนับเซลล์เพื่อให้ทราบจำนวนเซลล์ (cell/ml) โดย

1. นำเซลล์มา 20 μ l ผสมกับ 0.2% trypan blue ใน PBS 20 ml ผสมกันในหลอด eppendorf จากนั้นใช้ micropipette ดูดส่วนผสมที่ได้ออกมาประมาณ 20 μ l
2. เติมน้ำลงในช่องว่างระหว่าง cover slip และ hemocytometer
3. นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงประกอบ นับเซลล์ภายในช่อง A (ภาพ 1) ซึ่งจำนวนเซลล์ที่นับได้จะเป็นจำนวนเซลล์ที่มีอยู่ในปริมาตร 0.1 cm^3 (แต่ละช่องมีพื้นที่ $1 \times 1 \text{ mm}^2$ และมีความลึก 0.1 mm) นับทั้ง 4 ช่องนำจำนวนที่นับได้ไปคำนวณหา

จำนวนเซลล์ทั้งหมด (total cell count) ในปริมาตร 1 cm^3 และหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ (%viability) โดยใช้สูตรดังนี้

สูตรการหาจำนวนเซลล์ทั้งหมด (total cell count)

$$t = \frac{(X \times d) \times 10^4}{n}$$

t = total cell count (cell/ml)

X = จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้ใน 4 ช่อง A (ทั้งเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ที่ไม่มีชีวิต) (เซลล์ที่มีชีวิตจะไม่ติดสีน้ำเงินของ trypan blue)

d = จำนวนการผสมสีกับเซลล์ (ในที่นี้ = 2 คือ สี 1 ส่วน : เซลล์ 1 ส่วน)

n = จำนวนซ้ำที่นับ (4 ช่อง A)

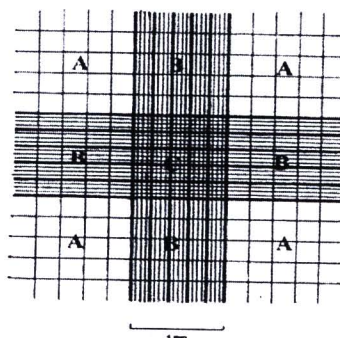
สูตรการหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์ (%viability)

$$\%v = 100X / X + Y$$

%v = %viability

X = ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (ไม่ติดสี) ที่นับได้จากช่อง A

Y = ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ที่ตายแล้ว (ติดสี) ที่นับได้จากช่อง A



ภาพ ก-1 ตารางนับเซลล์ ใน hemocytometer



4. การคำนวณหาค่าความเข้มข้นของ DNA ($OD_{260/280}$)

การหาปริมาณดีเอ็นเอที่นิยมใช้คือ การวัดค่าการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลต (UV) โดยอาศัยคุณสมบัติการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 nm ของหมู่ไนโตรเจนในโครงสร้างของดีเอ็นเอ โดยใช้เครื่องมือ UV spectrophotometer ในช่วงความยาวคลื่น 180-340 nm ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณกรดนิวคลีอิก จึงสามารถหาปริมาณของดีเอ็นเอได้ดังนี้

ความเข้มข้นของ DNA ($\mu\text{g/ml}$) = $A_{260} \times \text{dilution factor} \times 50$
--

นอกจากนี้ จะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 nm ร่วมด้วย และนำมาหาอัตราส่วนของ A_{260}/A_{280} โดยสารละลายดีเอ็นเอที่มีความบริสุทธิ์จะมีค่า A_{260}/A_{280} เท่ากับ 1.8-2 ถ้าได้ต่ำกว่านี้ แสดงว่ามีการปนเปื้อนของโปรตีนมาก

5. การตรวจสอบระดับการแสดงออกของยีนด้วยโปรแกรม Quantity One V.4.4.1

1. ทำการถ่ายรูปเจลที่ได้หลังจากการตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV-transilluminator
2. เลือกฟังก์ชัน volume บนแถบ tool bar ของโปรแกรม จากนั้นเลือก volume contour tool ของโปรแกรม Quantity One V.4.4.1
3. ทำการคลุมแถบสว่างของ PCR product ในรูปเจลที่ถ่ายได้
4. เลือก volume analysis report ในฟังก์ชัน volume
5. ข้อมูลที่ได้คือ ค่าความสว่างของ PCR product ในพื้นที่ทั้งหมดหรือเรียกว่า volume ซึ่งมีหน่วยเป็น $\text{intensity} \times \text{mm}^2$ ($\text{INT} \times \text{mm}^2$)

6. การคำนวณค่า Standard deviation (SD)

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X - M)^2}{N - 1}}$$

เมื่อ x คือ ค่าของตัวอย่างในแต่ละซ้ำ

M คือ ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง

N คือ จำนวนซ้ำของตัวอย่าง

$\sum$ คือ ผลรวมทั้งหมด

7. การคำนวณหาค่า Standard error (SE)

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ

$$SE = \frac{SD}{\sqrt{N}}$$

เมื่อ SD คือ ค่า standard deviation ของตัวอย่าง

N คือ จำนวนซ้ำของตัวอย่าง

8. การคำนวณอัตราส่วนระดับการแสดงออกของยีน (expression fold) ด้วยวิธี normalization

1. คำนวณ housekeeping gene normalization โดยการนำค่า volume ของยีน β -actin ค่า น้อยที่สุดไปหารกับค่า volume ของทุกยีนที่ศึกษารวมถึงยีน β -actin จำนวนซ้ำที่เหลือ
2. คำนวณ condition normalization โดยทำการคำนวณแยกแต่ละสถานะที่เซลล์ได้รับ เช่น ในสถานะที่เซลล์ได้รับอาหารเลี้ยงเซลล์ปกติ (กลุ่มควบคุม) คำนวณโดยนำค่าที่คำนวณได้จากข้อ 1 ของยีน β -actin ในทุกซ้ำของตัวอย่างที่ทดลอง หารด้วยค่าของตัวมันเองในแต่ละซ้ำจะได้ค่าอัตราการแสดงออกของยีน β -actin มีค่าเท่ากับ 1 จากนั้นนำค่าที่ได้จากข้อ 1 ในยีนที่ต้องการคำนวณในแต่ละซ้ำหารด้วยค่าที่ได้จากข้อ 1 ในแต่ละซ้ำ ของยีน

β -actin และคำนวณเป็นค่าเฉลี่ยจะได้เป็นค่าอัตราการแสดงออกของยีนเป็นจำนวนเท่าของการแสดงออกของยีน β -actin

9. วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำบางประการ

9.1 วัดอุณหภูมิตัวอย่าง

โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์

9.2 วัดค่าการนำไฟฟ้า

โดยใช้ Conductivity meter

9.3 วัด pH

โดยใช้ pH meter

9.4 วัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

การวิเคราะห์ออกซิเจนที่ละลายในน้ำตัวอย่างโดยวิธี azide modification (APHA, 1992) มีขั้นตอนดังนี้

- (1) ล้างขวด BOD ด้วยน้ำตัวอย่าง 2-3 ครั้ง
- (2) เก็บตัวอย่างน้ำด้วยขวด BOD โดยระวังไม่ให้มีฟอง ฟองอากาศและปิดฝาขวดให้สนิท ขณะอยู่ในน้ำ
- (3) เติมสารละลาย MnSO_4 1 ml และสารละลาย alkali-iodide azide reagent 1 ml ปิดฝาขวดจนเริ่มตกตะกอน
- (4) เติม conc. H_2SO_4 1 ml ปิดฝาขวดให้เข้ากัน
- (5) รินสารละลายที่ได้ปริมาตร 10 ml ใส่ใน flask ไตเตรตด้วย $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.02 M จนได้สี เหลืองจาง ๆ แล้วเติมน้ำแข็ง 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน ไตเตรตต่อไป จนสีน้ำเงินจางหายไป จดปริมาตร $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ที่ใช้แล้ว ไปคำนวณตามสูตร

$$\text{DO (mg.l}^{-1}\text{)} = \text{ปริมาตร Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ ที่ใช้ (ml)} \times 2$$

9.5 วัดปริมาณความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี

การวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยวิธี azide modification (APHA, 1992) มีขั้นตอนดังนี้

- (1) ถ้างวด BOD ชนิดขวดดำ ด้วยน้ำตัวอย่าง 2-3 ครั้ง
- (2) เก็บตัวอย่างด้วยขวด BOD ดำ เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ
- (3) นำขวด BOD ที่เก็บน้ำตัวอย่างเรียบร้อยแล้ว ใส่ตู้ 20 °C เป็นเวลา 5 วัน
- (4) เติมสารละลายและทำการไตเตรทเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ
- (5) คำนวณตามสูตร

$$\text{BOD (mg.l}^{-1}\text{)} = \text{ค่า DO วันแรก} - (\text{ปริมาตร Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ ที่ใช้ (ml)} \times 2)$$

9.6 วัดปริมาณไนเตรทไนโตรเจน

ใช้วิธี Cadmium reduction method

- (1) เปิดเครื่อง Spectrophotometer แล้วตั้งค่าดูดกลืนแสง
- (2) นำน้ำตัวอย่างมาใส่ใน flask 25 ml แล้วเติม Nitra Ver 5 Nitrate reagent Powder Pillow แล้วจับเวลา 1 นาที พร้อมเขย่าไปด้วย แล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
- (3) นำน้ำตัวอย่างแต่ละจุดศึกษามา 25 ml ใส่ cell เพื่อใช้เป็น blank ของแต่ละจุดศึกษา
- (4) นำ blank ไปใส่ในเครื่อง Spectrophotometer แล้วตั้งค่าเป็นศูนย์ นำ blank ออก
- (5) นำน้ำตัวอย่างในข้อ 2.2 ใส่ในเครื่อง Spectrophotometer แล้วอ่านค่าและบันทึกข้อมูล

9.7 วัดปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจน

โดยใช้วิธี Nessler method มีขั้นตอนดังนี้

- (1) เปิดเครื่อง Spectrophotometer แล้วตั้งค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 380 นาโนเมตร

- (2) นำน้ำตัวอย่างที่เก็บมาจากแต่ละจุดศึกษามาอย่างละ 25 ml ใส่ใน flask (ทำทีละตัวอย่าง) และนำ flask อีกใบใส่น้ำกลั่น 25 ml ซึ่งจะนำมาเป็น blank (ทุกจุดศึกษาใช้ blank ตัวเดียวกันตลอด)
- (3) เติม Mineral stabilizer 3 หยด ลงใน flask ทั้ง 2 ใบ แล้วเขย่า
- (4) เติม Polyvinyl reagent 1 ml ลงใน flask ทั้ง 2 ใบแล้วเขย่า
- (5) ปิเปต Nessler reagent 1 ml ลงใน flask ทั้ง 2 ใบแล้วเขย่า
- (6) เท blank ใส่ cell (vial) นำไปใส่ในเครื่อง Spectrophotometer แล้วตั้งค่าเป็นศูนย์
- (7) นำ blank ออกแล้วใส่น้ำตัวอย่างที่ใส่สารต่างๆ แล้วดัดข้างต้นลงไป อ่านค่า และบันทึกข้อมูล

9.8 วัดปริมาณออร์โธฟอสเฟต

โดยใช้วิธี Ascorbic method

- (1) เปิดเครื่อง Spectrophotometer ตั้งค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 nm
- (2) นำน้ำตัวอย่างมาใส่ใน flask 10 ml แล้วเติม Phos Ver 3 phosphate Powder Pillow แล้วเขย่า เมื่อเขย่าจนเข้ากันแล้วจับเวลาต่ออีก 2 นาที
- (3) นำน้ำตัวอย่างของแต่ละจุดศึกษามา 10 ml เพื่อใช้เป็น blank นำไปใส่ cell แล้วใส่ในเครื่อง Spectrophotometer แล้วตั้งค่าเป็นศูนย์
- (4) นำน้ำตัวอย่างในข้อ 3.2 ใส่ในเครื่อง Spectrophotometer แล้วบันทึกข้อมูล

ภาคผนวก ง

ข้อมูลทางตัวเลขจากการทดลองและคำนวณทางสถิติ

1. ผลการวิเคราะห์หาคัดเลือกเซลล์เชื้อสายเป็นโมเดลในการทดสอบการออกฤทธิ์ของเอสโตรเจนและสารออกฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน

1.1 เซลล์เชื้อสายมะเร็งปากมดลูก HeLa

Turkey HSD: HeLa					
treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		a	b	c	d
12	3	0.071			
4	3	0.110	0.110		
3	3	0.111	0.111		
2	3	0.128	0.128	0.128	
11	3	0.134	0.134	0.134	
10	3	0.140	0.140	.140	
9	3		0.152	.152	.152
8	3		0.168	.168	.168
7	3		0.176	.176	.176
6	3		0.185	.185	.185
1	3			.199	.199
5	3				.227
Sig		0.142	0.087	.120	.084

1.2 เซลล์เชื้อสายมะเร็งเต้านม MCF-7

Tukey HSD : MCF-7						
treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		a	b	c	d	e
5	3	0.11				
4	3	0.114	0.114			
3	3	0.14	0.14			
6	3	0.155	0.155	0.155		
7	3	0.1647	0.1647	0.1647		
8	3		0.185	0.185	0.185	
12	3			0.1983	0.1983	
11	3			0.2107	0.2107	
2	3			0.211	0.211	
10	3			0.2243	0.2243	0.2243
9	3				0.2403	0.2403
1	3					0.2907
Sig.		0.253	0.051	0.061	0.239	0.083

1.3 เซลล์เชื้อสายมะเร็งเต้านม MDA-MB-231

Turkey HSD: MDA-MB-231			
treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		a	b
12	3	0.0627	
11	3	0.0673	
10	3	0.0747	
9	3	0.0983	
8	3	0.1077	
7	3	0.1123	
6	3	0.1307	
4	3	0.1717	
3	3	0.1753	
5	3	0.1787	
2	3	0.2073	
1	3	0.2253	
Sig		0.061	

2. การศึกษาความเข้มข้นของสารมาตรฐานและสารตัวอย่างที่นำมาทดสอบเซลล์ MCF-7

2.1 aldrin (AD)

Turkey HSD : aldrin (AD)			
treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		a	b
6	3	0.131	
7	3	0.133	
12	3	0.1473	
5	3	0.156	
11	3	0.1653	0.1653
4	3	0.1667	0.1667
8	3	0.1923	0.1923
3	3	0.1943	0.1943
9	3	0.2037	0.2037
10	3	0.2087	0.2087
2	3	0.236	0.236
1	3		0.2903
Sig.		0.22	0.078

2.2 endrin (ED)

Turkey HSD : endrin (ED)			
treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		a	b
11	3	0.121	
12	3	0.1283	
10	3	0.1437	
9	3	0.1467	
5	3	0.147	
4	3	0.1667	0.1667
6	3	0.1797	0.1797
3	3	0.1943	0.1943
7	3	0.1973	0.1973
2	3	0.236	0.236
8	3	0.2393	0.2393
1	3		0.2903
Sig		0.071	0.051

2.3 น้ำทิ้งฟาร์มสุกร (PF)

Turkey HSD : Pig farm (PF)			
treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		a	b
8	3	0.1983	
7	3	0.2007	
6	3	0.2113	
5	3	0.2127	
4	3	0.229	0.229
2	3	0.231	0.231
3	3	0.2347	0.2347
1	3		0.267
sig		0.184	0.15

2.4 น้ำทิ้งฟาร์มวัว (CF)

Turkey HSD : Cow farm (CF)			
treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		a	b
8	3	0.1643	
7	3	0.1873	0.1873
6	3	0.1987	0.1987
5	3	0.2033	0.2033
4	3	0.2153	0.2153
3	3	0.2237	0.2237
2	3	0.231	0.231
1	3		0.267
Sig.		0.355	0.181

2.5 น้ำทิ้งฟาร์มกบ (FF)

Turkey HSD : Frog farm (FF)			
treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		a	b
8	3	0.1937	
7	3	0.1983	
6	3	0.2007	
5	3	0.2037	
4	3	0.2227	
2	3	0.231	
3	3	0.2487	
1	3	0.267	
Sig.		0.092	

2.6 น้ำเสียบ่อบำบัดโรงพยาบาลในจังหวัดเชียงใหม่ (SH)

Turkey HSD : น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)			
treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		a	b
8	3	0.104	
7	3	0.1293	0.1293
6	3	0.1553	0.1553
3	3	0.1783	0.1783
4	3	0.189	0.189
5	3	0.203	0.203
2	3	0.2043	0.2043
1	3		0.2437
Sig		0.173	0.089

2.7 สมุนไพรบำรุงกำลัง (AH)

Turkey HSD : สมุนไพรบำรุงกำลัง (AH)

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		a	b	c	d
5	3	.0863a			
4	3	.1403a	.1403b		
6	3	.1430a	.1430b		
7	3	.1540a	.1540b		
8	3		.1573b		
3	3		.1607b		
9	3		.1727b	.1727c	
10	3		.1883b	.1883c	
11	3		.1943b	.1943c	
12	3		.2047b	.2047c	
2	3			.2380c	.2380d
1	3				.2887d
Sig.		.058	.084	.075	.309

2.8 สารสกัดกาวเครือขาว (BH)

Turkey HSD : สารสกัดกาวเครือขาว (BH)

treatment	N	Subset for alpha = 0.05					
		a	b	c	d	e	f
4	3	0.114					
5	3	0.123					
3	3	0.14	0.14				
6	3	0.1553	0.1553	0.1553			
12	3		0.2003	0.2003	0.2003		
7	3			0.2087	0.2087	0.2087	
2	3			0.211	0.211	0.211	
11	3			0.2117	0.2117	0.2117	
8	3				0.2227	0.2227	
9	3				0.2273	0.2273	
10	3					0.2623	0.2623
1	3						0.2907
Sig		0.414	0.054	0.088	0.893	0.121	0.861

2.9 น้ำใบข้าวบด (TH)

Tukey HSD : ใบข้าวบด (TH)						
treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		a	b	c	d	e
5	3	0.0263				
6	3		0.1363			
4	3		0.1403			
7	3		0.148	0.148		
3	3		0.1607	0.1607		
8	3		0.1877	0.1877	0.1877	
9	3		0.191	0.191	0.191	
10	3			0.2037	0.2037	
11	3				0.2207	
2	3				0.238	0.238
12	3				0.239	0.239
1	3					0.2887
Sig		1	0.072	0.063	0.111	0.12

2.10 น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)

Turkey HSD : Coconut juice (CJ)		
Subset for alpha =		
0.05		
treatment	N	a
5	3	0.1273
6	3	0.157
7	3	0.174
4	3	0.1843
8	3	0.1863
3	3	0.1913
9	3	0.1923
2	3	0.2043
10	3	0.2067
11	3	0.2117
12	3	0.227
1	3	0.2437
Sig.		0.395

3. ผลการวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีนที่ทำหน้าที่ในวิถีเอสโตรเจน

3.1 ค่าความสว่างของ PCR product ในพื้นที่ทั้งหมด (volume) ซึ่งมีหน่วยเป็น
intensity*mm² (INT*mm²)

3.1.1 การวิเคราะห์ค่าความสว่างของยีน β -actin

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น	Volume (INT*mm2)			ค่าเฉลี่ย
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	-	2989.37	4213.94	4010.48	3737.93
17 β -estradiol (E2)	10 ⁻¹² M	2162.41	2266.71	3666.79	2698.64
endrin (ED)	1000 nM	985.11	4109.43	4165.31	3086.62
aldrin (AD)	250 nM	987.01	4352.42	6014.61	3784.68
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	10 ⁻⁴ μ g/ml	2059.12	5689.49	5735.95	4494.86
ฟาร์มวัว (FC)	10 μ l/ml	3546.82	4739.45	6988.53	5091.60
ฟาร์มสุกร (FP)	10 μ l/ml	3557.81	6995.85	6157.50	5570.39
ฟาร์มกบ (FF)	10 μ l/ml	4629.86	4850.87	5940.01	5140.25
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	10 ⁻⁴ μ l/ml	4764.88	7311.61	5563.22	5879.90
น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)	10 μ l/ml	3352.32	7746.04	5201.01	5433.12
สมุนไพรบำรุงกำลัง(AH)	10 ⁻⁴ μ l/ml	1831.05	2869.87	4574.45	3091.79

3.1.2 การวิเคราะห์ค่าความสว่างของยีน *ERα*

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น	Volume (INT*mm2)			ค่าเฉลี่ย
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	-	2989.37	4213.94	4010.48	3737.93
17β-estradiol (E2)	10 ⁻¹² M	377.671	379.5708	381.8088	379.6835
endrin (ED)	1000 nM	531.8874	533.3116	531.2771	532.1587
aldrin (AD)	250 nM	603.4342	602.417	597.4663	601.1058
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	10 ⁻⁴ μg/ml	509.1688	333.1163	332.7772	391.6874
ฟาร์มวัว (FC)	10 μl/ml	447.5911	445.0819	445.7601	446.1444
ฟาร์มสุกร (FP)	10 μl/ml	502.59	514.0516	512.424	509.6885
ฟาร์มกบ (FF)	10 μl/ml	526.0552	523.9529	525.1058	525.038
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	10 ⁻⁴ μl/ml	578.6133	576.5787	585.5984	580.2635
น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)	10 μl/ml	470.3776	1265.8691	1274.346	1003.531

3.1.3 การวิเคราะห์ค่าความสว่างของยีน *Akt*

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น	Volume (INT*mm2)			ค่าเฉลี่ย
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	-	2989.37	4213.94	4010.48	3737.93
17β-estradiol (E2)	10 ⁻¹² M	1396.7556	1394.5855	2106.7302	1632.69
endrin (ED)	1000 nM	1735.772	1719.8351	1575.1139	1676.907
aldrin (AD)	250 nM	2003.5129	1988.7967	2495.4563	2162.589
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	10 ⁻⁴ μg/ml	1887.3427	1907.4165	2071.0585	1955.273
ฟาร์มวัว (FC)	10 μl/ml	1784.9393	1789.4152	2113.8509	1896.068
ฟาร์มสุกร (FP)	10 μl/ml	1331.0411	1333.0078	2795.9527	1820.001
ฟาร์มกบ (FF)	10 μl/ml	2108.629	2103.8819	2316.2842	2176.265
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	10 ⁻⁴ μl/ml	2168.986	2163.1538	2153.6594	2161.933
น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)	10 μl/ml	2383.4907	2375.8274	1816.135	2191.818

3.1.4 การวิเคราะห์ค่าความสว่างของยีน *PI3K*

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น	Volume (INT*mm2)			ค่าเฉลี่ย
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	-	2989.37	4213.94	4010.48	3737.93
17 β -estradiol (E2)	10 ⁻¹² M	1191.745	1640.96	1492.038	1441.583
endrin (ED)	1000 nM	1663.615	2288.61	2069.092	2007.107
aldrin (AD)	250 nM	800.7812	1253.46	1243.761	1099.334
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	10 ⁻⁴ μ g/ml	1792.942	2265.83	2022.027	2026.932
ฟาร์มว้าว (FC)	10 μ l/ml	1752.591	2286.92	2134.332	2057.947
ฟาร์มสุกร (FP)	10 μ l/ml	1730.143	1573.96	1387.261	1563.789
ฟาร์มกบ (FF)	10 μ l/ml	1841.499	2630	2428.996	2300.166
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	10 ⁻⁴ μ l/ml	1726.617	1658.8	1490.207	1625.208
น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)	10 μ l/ml	1011.217	1462.54	1396.01	1289.922

3.1.5 การวิเคราะห์ค่าความสว่างของยีน *TFRC*

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น	Volume (INT*mm2)			ค่าเฉลี่ย
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	-	2989.37	4213.94	4010.48	3737.93
17 β -estradiol (E2)	10 ⁻¹² M	766.06	530.73	593.53	630.11
endrin (ED)	1000 nM	803.70	987.96	736.83	842.83
aldrin (AD)	250 nM	600.65	546.33	387.44	511.47
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	10 ⁻⁴ μ g/ml	1015.01	1223.14	1148.61	1128.92
ฟาร์มว้าว (FC)	10 μ l/ml	314.94	485.77	384.18	394.97
ฟาร์มสุกร (FP)	10 μ l/ml	1801.83	2345.58	2272.27	2139.89
ฟาร์มกบ (FF)	10 μ l/ml	1895.96	1769.75	2568.36	2078.02
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	10 ⁻⁴ μ l/ml	2466.57	2712.74	2741.29	2640.20
น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)	10 μ l/ml	1695.69	2254.16	2301.23	2083.70
สมุนไพรบำรุงกำลัง(AH)	10 ⁻⁴ μ l/ml	781.59	978.80	987.41	915.93

3.1.6 การวิเคราะห์ค่าความสว่างของยีน *SULT1E1*

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น	Volume (INT*mm2)			ค่าเฉลี่ย
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	-	2989.37	4213.94	4010.48	3737.93
17β-estradiol (E2)	10 ⁻¹² M	1014.3365	999.1455	780.504	931.3287
endrin (ED)	1000 nM	1171.7394	1178.1142	638.4277	996.0938
aldrin (AD)	250 nM	866.767	863.1049	849.2025	859.6915
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	10 ⁻⁴ µg/ml	609.26651	604.5871	823.09302	678.9822
ฟาร์มวัว (FC)	10 µl/ml	1284.1797	1181.0303	756.6325	1073.948
ฟาร์มสุกร (FP)	10 µl/ml	2101.7117	2047.3226	1159.668	1769.567
ฟาร์มกบ (FF)	10 µl/ml	1063.368	1100.2604	808.648	990.7588
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	10 ⁻⁴ µl/ml	948.215	956.76	855.7129	920.2293
น้ำมะพร้าว อ่อน(CJ)	10 µl/ml	803.9686	810.6147	567.22	727.2678

3.2 อัตราค่าความเข้มของแถบสว่างต่อพื้นที่ (expression fold) ของแต่ละยีนเปรียบเทียบกับยีน *β-actin* และค่าเฉลี่ยของอัตราส่วน ในเซลล์แต่ละชนิด ด้วยวิธี normalization

3.2.1 ตัวอย่าง 17β-estradiol (E2)

ยีน	Expression fold			ค่าเฉลี่ย	SD	SE
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
β-actin	1.6	1.7	1.8	1.7	0.1	0.05
ERα	2.4	2.5	2.4	2.4	0.1	0.05
Akt	1.8	1.5	1.5	1.6	0.0	0.00
PI3K	1.9	1.7	2.2	1.9	0.3	0.17
TFRC	0.5	0.3	0.5	0.4	0.1	0.05
SULT1E1	0.5	0.6	0.5	0.5	0.0	0.00

3.2.2 ตัวอย่าง endrin (ED)

ยีน	Expression fold			ค่าเฉลี่ย	SD	SE
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
<i>β-actin</i>	1.7	1.6	1.7	1.7	0.1	0.05
<i>ERα</i>	2.3	2.3	2.2	2.3	0.0	0.00
<i>Akt</i>	1.5	1.5	1.4	1.5	0.0	0.00
<i>PI3K</i>	0.5	0.5	0.5	0.5	0.0	0.00
<i>TFRC</i>	0.8	1.0	0.7	0.8	0.1	0.05
<i>SULT1E1</i>	0.5	0.5	0.4	0.5	0.1	0.05

3.2.3 ตัวอย่าง aldrin (AD)

ยีน	Expression fold			ค่าเฉลี่ย	SD	SE
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
<i>β-actin</i>	0.9	1.2	0.9	1.0	0.2	0.11
<i>ERα</i>	1.2	2.0	1.2	1.5	0.5	0.28
<i>Akt</i>	1.2	1.2	1.1	1.2	0.1	0.05
<i>PI3K</i>	0.4	0.4	0.4	0.4	0.0	0.00
<i>TFRC</i>	0.6	0.5	0.4	0.5	0.1	0.05
<i>SULT1E1</i>	0.6	0.6	0.3	0.5	0.2	0.11

3.2.4 ตัวอย่างสารสกัดจากกาวเครือขาว (AH)

ยีน	Expression fold			ค่าเฉลี่ย	SD	SE
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
<i>β-actin</i>	1.8	1.7	1.6	1.7	0.1	0.05
<i>ERα</i>	2.0	2.0	2.1	2.0	0.1	0.05
<i>Akt</i>	1.6	1.5	1.7	1.6	0.1	0.05
<i>PI3K</i>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.00
<i>TFRC</i>	1.0	1.2	1.1	1.1	0.1	0.05
<i>SULT1E1</i>	0.5	0.5	0.5	0.5	0.0	0.00

3.2.5 ตัวอย่างน้ำทิ้งฟาร์มวัว (FC)

ยีน	Expression fold			ค่าเฉลี่ย	SD	SE
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
<i>β-actin</i>	2.2	2.1	1.8	2.0	0.2	0.11
<i>ERα</i>	1.2	0.9	1.0	1.0	0.2	0.11
<i>Akt</i>	2.0	2.1	2.2	2.1	0.1	0.05
<i>PI3K</i>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.00
<i>TFRC</i>	0.3	0.5	0.4	0.4	0.1	0.05
<i>SULT1E1</i>	0.3	0.3	0.4	0.4	0.1	0.05



3.2.6 ตัวอย่างน้ำทิ้งฟาร์มสุกร (PF)

ยีน	Expression fold			ค่าเฉลี่ย	SD	SE
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
<i>β-actin</i>	2.2	2.2	2.1	2.2	0.0	0.00
<i>ERα</i>	2.5	2.3	2.3	2.4	0.1	0.05
<i>Akt</i>	1.9	1.9	2.3	2.0	0.2	0.11
<i>PI3K</i>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.00
<i>TFRC</i>	1.8	1.7	2.3	1.9	0.3	0.17
<i>SULT1E1</i>	0.7	0.6	0.4	0.6	0.1	0.05

3.2.7 ตัวอย่างน้ำทิ้งฟาร์มกบ (FF)

ยีน	Expression fold			ค่าเฉลี่ย	SD	SE
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
<i>β-actin</i>	2.3	2.2	2.3	2.3	0.1	0.05
<i>ERα</i>	2.7	2.8	2.6	2.7	0.1	0.05
<i>Akt</i>	2.4	2.5	3.0	2.6	0.3	0.17
<i>PI3K</i>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.00
<i>TFRC</i>	1.9	1.8	2.5	2.1	0.4	0.23
<i>SULT1E1</i>	1.1	1.1	0.6	0.9	0.3	0.17

3.2.8 ตัวอย่างสมุนไพรรักษาโรคมะเร็ง (AH)

ยีน	Expression fold			ค่าเฉลี่ย	SD	SE
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
<i>β-actin</i>	1.6	1.6	1.4	1.5	0.1	0.05
<i>ERα</i>	1.3	1.1	1.2	1.2	0.1	0.05
<i>Akt</i>	1.2	1.3	1.1	1.2	0.1	0.05
<i>PI3K</i>	0.1	0.1	0.2	0.1	0.0	0.00
<i>TFRC</i>	0.8	1.0	1.0	0.9	0.1	0.05
<i>SULT1E1</i>	0.4	0.4	0.3	0.4	0.1	0.05

3.2.9 ชุดควบคุม

ยีน	Expression fold			ค่าเฉลี่ย	SD	SE
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3			
<i>β-actin</i>	1.7	1.7	1.7	1.7	0.1	0.05
<i>ERα</i>	1.2	1.2	1.2	1.2	0.0	0.00
<i>Akt</i>	1.8	1.8	1.6	1.7	0.1	0.05
<i>PI3K</i>	1.1	1.1	1.1	1.1	0.0	0.00
<i>TFRC</i>	1.1	1.2	1.3	1.2	0.1	0.05
<i>SULT1E1</i>	1.5	1.3	1.1	1.3	0.1	0.05

3.3 ค่าอัตราส่วนที่หาได้ (ค่า ratio)

3.3.1 ค่าอัตราส่วนของการแสดงออกของยีน β -actin ในแต่ละตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ค่าความสว่างหารด้วยอัตราส่วน			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	10648.74	11126.15	10654.38	10809.76
17 β -estradiol (E2)	9402.01	9625.66	10433.79	9820.4897
endrin (ED)	10021.44	9134.56	9921.5	9692.4984
aldrin (AD)	5487.55	6827.42	5122.06	5812.3408
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	10395.09	10043.58	9268.44	9902.3708
ฟาร์มวัว (FC)	12857.14	12315.09	10543.53	11905.253
ฟาร์มสุกร (FP)	12912.6	12599.82	12406.21	12639.548
ฟาร์มกบ (FF)	13276.33	12726.14	13327.59	13110.018
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	10222.22	10609.55	10415.77	10415.848
น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)	10865.59	10329.04	10606.55	10600.394

3.3.2 ค่าอัตราส่วนของการแสดงออกของยีน *ERα* ในแต่ละตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ค่าความสว่างหารด้วยอัตราส่วน			
	หาร			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	13576.76	12994.02	12673.71	13081.5
17β-estradiol (E2)	9974.54	11026.27	11379.65	10793.48
endrin (ED)	7569.6	6980.28	6980.28	7176.718
aldrin (AD)	6734.57	11579.97	7036.49	8450.347
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	9983.55	10419.37	12085.31	10829.41
ฟาร์มวัว (FC)	6990.66	5306.92	5559.33	5952.302
ฟาร์มสุกร (FP)	14640.02	13394.07	13394.07	13809.39
ฟาร์มกบ (FF)	15776.16	16143.49	15133.83	15684.49
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	6666.48	6659.52	6634.28	6653.425
น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)	14945.07	15447.3	14669.87	15020.75

3.3.3 ค่าอัตราส่วนของการแสดงออกของยีน *PI3K* ในแต่ละตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ค่าความสว่างหารด้วยอัตราส่วน			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	2689.37	2573.94	2510.48	2591.26
17 β -estradiol (E2)	3859.19	3118.5	2959.19	3312.294
endrin (ED)	2793.04	2957.98	2793.04	2848.016
aldrin (AD)	2364.37	2595.43	2564.37	2508.053
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	864.39	858.7	864.39	862.4946
ฟาร์มวัว (FC)	667.72	665.42	667.72	666.956
ฟาร์มสุกร (FP)	470.51	467.8	470.51	469.609
ฟาร์มกบ (FF)	623.64	623.58	623.64	623.6211
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	832.86	832.38	832.86	832.7004
น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)	920.75	918.92	920.75	920.1389

3.3.4 ค่าอัตราส่วนของการแสดงออกของยีน *SULT1E1* ในแต่ละตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ค่าความสว่างหารด้วยอัตราส่วน			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	8317.84	7960.83	7764.59	8014.42
17 β -estradiol (E2)	3031.28	3205.792	2730.922	2989.33
endrin (ED)	3137.2	3090.221	2413.992	2880.47
aldrin (AD)	3624.03	3643.746	1974.57	3080.78
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	2680.79	2669.466	2626.467	2658.91
ฟาร์มวัว (FC)	1884.38	1869.905	2545.714	2100
ฟาร์มสุกร (FP)	3971.79	3652.766	2340.161	3321.57
ฟาร์มกบ (FF)	6500.31	6332.089	3586.695	5473.03
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	3288.85	3402.955	2501.038	3064.28
น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)	2932.7	2959.128	2646.603	2846.14

3.3.5 ค่าอัตราส่วนของการแสดงออกของยีน *TFRC* ในแต่ละตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ค่าความสว่างหารด้วยอัตราส่วน			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	15517.71	14851.67	14485.55	14951.64
17β-estradiol (E2)	4420.18	3062.35	3002.35	3494.66
endrin (ED)	4637.35	5700.53	4251.53	4863.135
aldrin (AD)	3465.79	3152.35	2235.52	2951.22
สารสกัดกัววเครือขาว(BH)	5856.66	7057.57	6627.53	6513.92
ฟาร์มวัว (FC)	1817.22	2802.92	2216.74	2278.959
ฟาร์มสุกร (FP)	10396.58	10072.04	13111.06	11193.23
ฟาร์มกบ (FF)	10939.71	10211.49	14819.49	11990.23
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	14232.15	15652.58	15817.32	15234.02
น้ำมะพร้าวอ่อน (CJ)	9784.18	13006.58	13278.14	12022.97

3.3.6 ค่าอัตราส่วนของการแสดงออกของยีน *Akt* ในแต่ละตัวอย่าง

ตัวอย่าง	ค่าความสว่างหารด้วยอัตราส่วน			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
กลุ่มควบคุม	16836.74	16114.09	15716.85	16222.56
17 β -estradiol (E2)	10196.39	10164.97	13805.63	11388.99
endrin (ED)	8744.37	8730.78	8180.77	8551.973
aldrin (AD)	7736.53	7010.71	7982.83	7576.693
สารสกัดกวางเครือขาว(BH)	9412.72	8694.54	9988.33	9365.199
ฟาร์มวัว (FC)	11815.68	11941.36	12965.83	12240.96
ฟาร์มสุกร (FP)	11174.59	11202.61	13233.73	11870.31
ฟาร์มกบ (FF)	8332.96	8345.28	17504.02	11394.09
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	11573.32	9415.03	10118.73	10369.02
น้ำมะพร้าว (CJ)	11700.76	9786.1	10352.71	10613.19

3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนในเซลล์เชื้อสายแต่ละชนิดจากการศึกษาด้วย semi-quantitative reverse transcriptase PCR โดยใช้โปรแกรม SPSS version 17

3.4.1 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเมื่อทดสอบด้วย 17β-estradiol (E2) ต่อเซลล์ MCF-7

Tukey HSD: 17β-estradiol (E2)

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		a	b	c
5	3	.4333a		
6	3	.5333a		
3	3		1.6000b	
1	3		1.7000b	
4	3		1.9333b	
2	3			2.4333c
Sig.		.951	.116	1.000

3.4.2 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเมื่อทดสอบด้วย endrin (ED) ต่อเซลล์ MCF-7

Tukey HSD: endrin (ED)					
Subset for alpha = 0.05					
treatment	N	a	b	c	d
6	3	.4667a			
4	3	.5000a			
5	3		.8333b		
3	3			1.4667c	
1	3			1.6667c	
2	3				2.2667d
Sig.		.994	1.000	.073	1.000

3.4.3 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเมื่อทดสอบด้วย aldrin (AD) ต่อเซลล์ MCF-7

Tukey HSD: aldrin (AD)				
Subset for alpha = 0.05				
treatment	N	a	b	c
4	3	.4000a		
5	3	.5000ab	.5000ab	
6	3	.5000ab	.5000ab	
1	3		1.0000bc	1.0000bc
3	3			1.1667c
2	3			1.4667c
Sig.		.992	.125	.167

3.4.4 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจาก
กวาวเครือขาว (BH) ต่อเซลล์ MCF-7

Tukey HSD: สารสกัดจากกวาวเครือขาว (BH)						
treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
		a	b	c	d	e
4	3	.1000a				
6	3		.5000b			
5	3			1.1000c		
3	3				1.6000d	
1	3				1.7000d	
2	3					2.0333e
Sig.		1.000	1.000	1.000	.589	1.000

3.4.5 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเมื่อทดสอบด้วยน้ำทิ้งฟาร์มวัว (CF)
ต่อเซลล์เชื้อ MCF-7

Tukey HSD: Cow farm (CF)				
treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		a	b	c
4	3	.1000a		
6	3	.3333a		
5	3	.4000a		
2	3		1.0333b	
1	3			2.0333c
3	3			2.1000c
Sig.		.091	1.000	.983

3.4.6 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเมื่อทดสอบด้วยน้ำทิ้งฟาร์มสุกร (PF) ต่อเซลล์ MCF-7

Tukey HSD: Pig farm (PF)			
treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		a	b
4	3	.1000a	
6	3	.5667a	
5	3		1.9333b
3	3		2.0333b
1	3		2.1667b
2	3		2.3667b
Sig.		.070	.101

3.4.7 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเมื่อทดสอบด้วยน้ำทิ้งฟาร์มกบ (FP) ต่อเซลล์ MCF-7

Tukey HSD: น้ำทิ้งฟาร์มกบ (FF)				
treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		a	b	c
4	3	.1000a		
6	3		.9333b	
5	3			2.0667c
1	3			2.2667c
3	3			2.6333c
2	3			2.7000c
Sig.		1.000	1.000	.061

3.4.8 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเมื่อทดสอบด้วยน้ำเสียบำบัด
โรงพยาบาลในจังหวัดเชียงใหม่ (SH) ต่อเซลล์ MCF-7

Tukey HSD: น้ำเสียบำบัด (SH)

Subset for alpha = 0.05						
treatment	N	a	b	c	d	e
4	3	.1333a				
6	3		.5333b			
2	3			1.1000c		
3	3				1.7667d	
1	3				1.8000d	
5	3					2.6000e
Sig.		1.000	1.000	1.000	.999	1.000

3.4.9 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเมื่อทดสอบด้วยตัวอย่างน้ำมะพร้าว
(CJ) ต่อเซลล์ MCF-7

Subset for alpha = 0.05						
treatment	N	a	b	c	d	e
4	3	.2000a				
6	3	.5000a				
2	3		1.8333b			
3	3		1.8333b		1.7667d	
1	3		2.0667b		1.8000d	
5	3			2.6000c		2.6000e
Sig.		.228	.462	1.000	.999	1.000

3.4.10 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนเมื่อทดสอบด้วยสารตัวอย่าง
สมุนไพรบำรุงกำลัง (AH) ต่อเซลล์ MCF-7

Subset for alpha = 0.05						
treatment	N	a	b	c	d	e
4	3	.1333a				
6	3	.3667a				
2	3		.9333b			
3	3			1.2000c		
1	3			1.2000c		
5	3				1.5333d	2.6000e
Sig.		.086	1.000	1.000	1.000	1.000

3.4.11 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีน เป็นชุดควบคุม

Tukey HSD: control (MCF-7)

Subset for alpha = 0.05			
treatment	N	1	2
4	3	1.1000a	
2	3	1.2000a	
5	3	1.2000a	
6	3	1.3000a	
1	3		1.7000b
3	3		1.7333b
Sig.		.235	.998

4. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีของตัวอย่างน้ำทั้งฟาร์มปศุสัตว์และน้ำเสียบ่อบำบัดโรงพยาบาลในจังหวัดเชียงใหม่

ตาราง ง-1 แสดงคุณภาพน้ำทางกายภาพและเคมีตัวอย่างน้ำทั้งจากฟาร์มสุกร (PF), ฟาร์มวัว (CF), ฟาร์มกบ (FF) และน้ำเสียบ่อบำบัดโรงพยาบาลในจังหวัดเชียงใหม่ (SH)

Location	Time	Temperature (°C)	pH	Conductivity (µs/cm)	DO (mg/l)	BOD (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	NH ₃ -N (mg/l)	PO ₄ -4(mg/l)
ฟาร์มวัว (CF)	10.00	28.0	7.11	296	1	16	24.8	58.4	12.32
ฟาร์มกบ (FF)	10.45	28.7	7.55	1183	0	152	1.6	1.69	3.13
ฟาร์มสุกร (PF)	12.00	30.1	6.43	1609	0	1020	80	90.6	73.2
น้ำเสียบ่อบำบัด (SH)	15.00	28.4	8.27	517	3.0	44	2.5	17.16	8.4

Tukey HSD : อุณหภูมิของตัวอย่างน้ำ (Temperature (°C))

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1.00	3	28.0000		
4.00	3	28.0000		
3.00	3		28.7000	
2.00	3			30.1000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Tukey HSD : ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
2.00	3	6.4300			
1.00	3		7.1133		
3.00	3			7.5500	
4.00	3				8.2700
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Tukey HSD : ค่าการนำไฟฟ้า (conductivity (µs/cm))

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.00	3	296.0000			
4.00	3		517.0000		
3.00	3			1183.3333	
2.00	3				1609.3333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Tukey HSD : ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO (mg/l))

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
2.00	3	.0000		
3.00	3	.0000		
1.00	3		1.0333	
4.00	3			3.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Tukey HSD : ค่าความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (BOD (mg/l))

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.00	3	16.0000			
4.00	3		44.0000		
3.00	3			152.0000	
2.00	3				1020.3333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Tukey HSD : ไนเตรท-ไนโตรเจน (NO₃-N (mg/l))

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
3.00	3	1.6000			
4.00	3		2.5000		
1.00	3			24.8000	
2.00	3				80.0333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Tukey HSD : แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (NH₃-N (mg/l))

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
3.00	3	1.6933			
4.00	3		17.1600		
1.00	3			58.4333	
2.00	3				90.6000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Tukey HSD : ฟอสฟอรัส (PO₄-4 (mg/l))

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
3.00	3	3.1367			
1.00	3		8.4000		
4.00	3			12.3233	
2.00	3				73.2333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล นางสาวละมัย จันทะขาว

วัน เดือน ปีเกิด 13 ตุลาคม พ.ศ. 2529

ประวัติการศึกษา -สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา
มหาวิทยาลัยนเรศวร ปีการศึกษา 2552
-สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์
สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2554

ทุนการศึกษา ได้รับทุนเรียนดีจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม พิษวิทยา
และการบริหารจัดการสารเคมี

ผลงานวิจัย

Junthakhao L., and Wongkham W. 2010. Cytobioassay for Estrogenic Activity Monitoring in Natural Water Resources and Consumable Product Samples. Thai Journal Toxicology. 25(2), 196.

Junthakhao L., Inthanon K., Wongkham W. 2011. Estrogenic Activity of Aldrin on the Human Breast cancer cell line (MCF-7). Perspectives in Environmental Health Research of Center of Excellence on Environmental Health, Toxicology and Management of Chemicals. Thailand.

