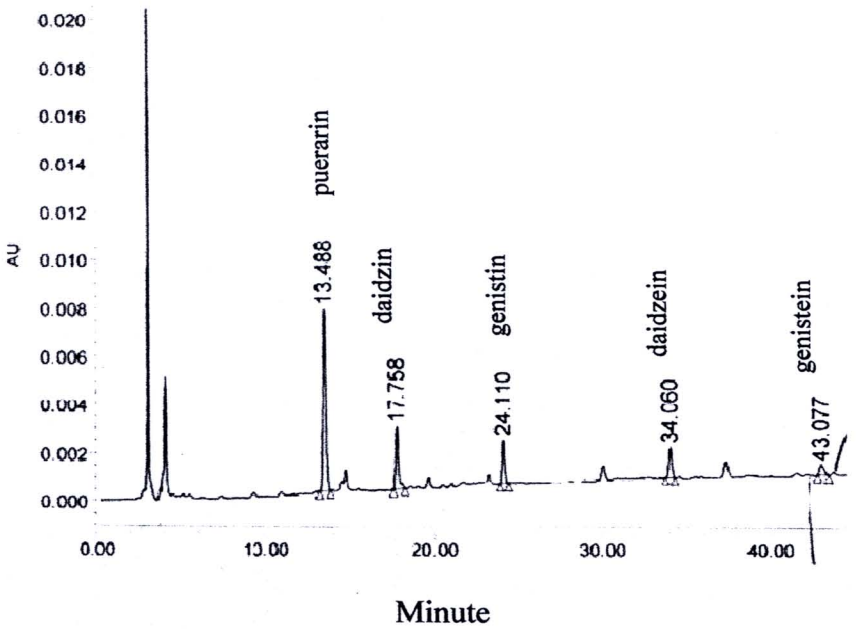
ผลการวิจัย

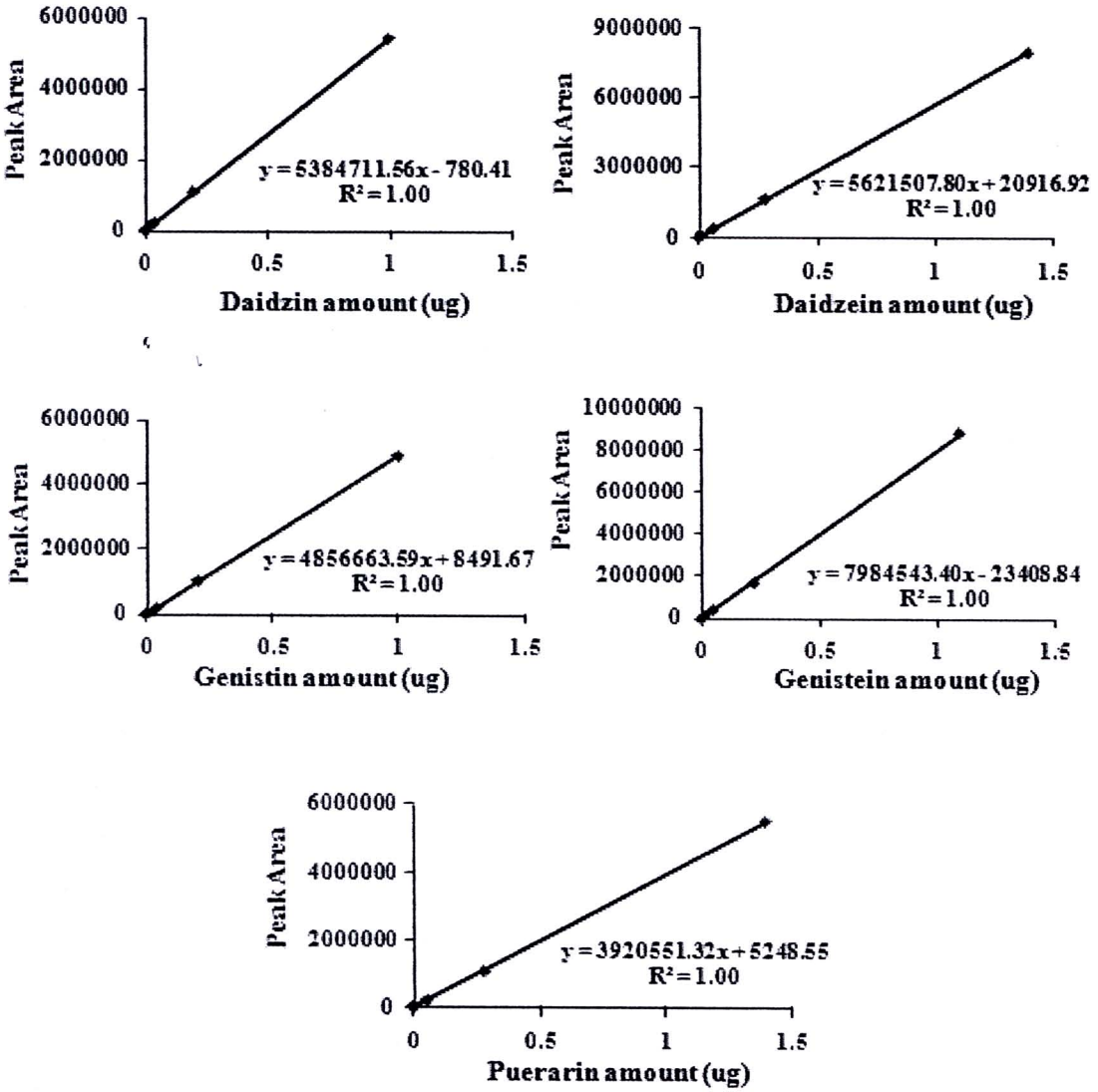
1. ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบไฟโตเอสโตรเจนจากกวาวเครือขาวโดยวิธี HPLC

สารไฟโตรเอสโตรเจน ไอโซฟลาโวนมาตรฐาน 5 ชนิด คือ Puerarin, daidzin, genistin, daidzein และ genistein เมื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC จะเคลื่อนออกมาจากคอลัมน์ที่เวลา 12.95, 17.75, 24.68, 33.35 และ 42.18 นาที ตามลำดับ (ดังรูปที่ 5) เมื่อนำค่าสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และค่าพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) มาวาดลงบนกราฟ และคำนวณหาค่าความสัมพันธ์พบมีค่า R^2 = 1.0 (ดังรูปที่ 6) จากการวิเคราะห์ผงกวาวเครือขาวปริมาณ 100 กรัม พบว่ามีสารไอโซฟลาโวน 5 ชนิด รวม 77.21 มิลลิกรัม เมื่อแยกเป็นแต่ละชนิดพบมีปริมาณของ puerarin, daidzin, genistin, daidzein and genistein เท่ากับ 46.15, 11.94, 9.45, 1.42 และ 8.25 มิลลิกรัม ตามลำดับ

รูปที่ 5. แสดง HPLC fingerprints ของสารไอโซฟลาโวนมาตรฐาน 5 ชนิดคือ puerarin, daidzin, genistin, daidzein และ genistein



รูปที่ 6. แสดงค่าไอโซฟลาโวนมาตรฐาน 5 ชนิดคือ puerarin, daidzin, genistin, daidzein และ genistein และค่าพื้นที่ใต้กราฟ (peak area)



2. การศึกษาผลของการให้กวาวเครือขาว ต่อการรักษาภาวะกระดูกพรุนในหนูแรทเพศเมีย ที่ถูกชักนำให้เกิดภาวะกระดูกพรุนโดยการตัดรังไข่ออก

2.1. น้ำหนักตัวหนู

จากการเปรียบเทียบน้ำหนักตัวหนูทั้ง 2 กลุ่ม เมื่อเริ่มการทดลองในวันที่ D_0 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$; รูปที่ 7) แต่ภายหลังจากการตัดรังไข่ในหนูกลุ่ม OVX พบว่าน้ำหนักตัวหนูเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) เริ่มตั้งแต่วันที่ 14 (D_{14}) ของการทดลอง โดยค่าน้ำหนักตัวหนูใน

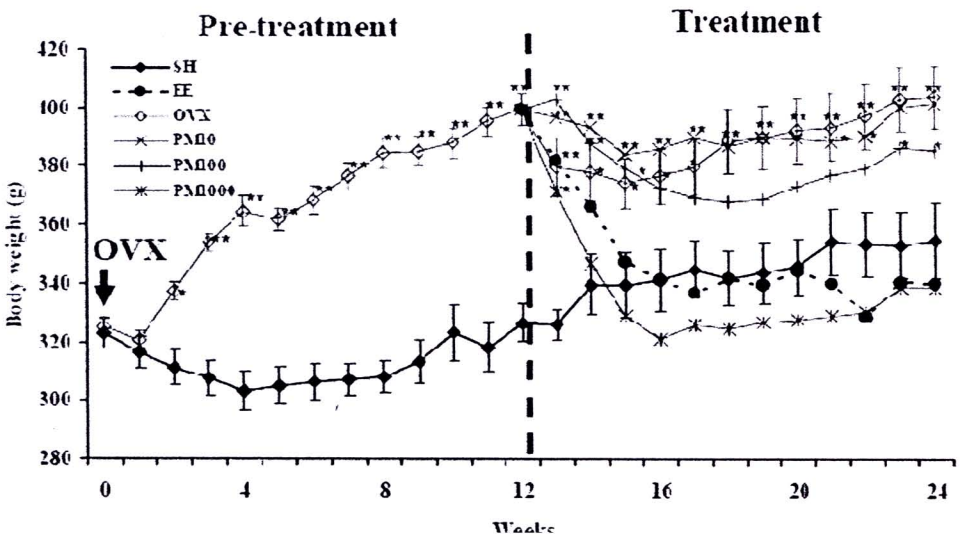
วันที่ 90 (D_{90}) มีค่าสูงกว่าวันที่ D_0 ประมาณ 1.25 เท่า (325.26 $\pm$ 3.19 กรัม และ 395.35 $\pm$ 5.27 กรัม ในวันที่ 0 และ 90 ตามลำดับ) แต่ในทางกลับกันพบว่าน้ำหนักตัวหนูในกลุ่ม SH มีค่าลดลงเล็กน้อยในช่วง 60 วันแรกของการทดลอง จากนั้นค่าจึงกลับคืนสู่สภาวะปกติในวันที่ 90 (D_{90}) ของการทดลอง ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม OVX และ กลุ่ม SH จึงมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ <0.01) ตั้งแต่วันที่ 14 ของการทดลอง

เมื่อป้อนสารแขวนลอยกวาวเครือขาวให้แก่หนูกลุ่ม OVX ทางปากทุกวันเป็นเวลานาน 90 วัน พบว่าน้ำหนักตัวหนูลดลงอย่างสัมพันธ์กับขนาดของกวาวเครือขาวที่ให้ นั่นคือ น้ำหนักตัวหนูลดลงมากขึ้นเมื่อให้กวาวเครือขาวในขนาดที่สูงขึ้น โดยน้ำหนักตัวหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวในขนาด 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM 1000) มีขนาดเท่ากับหนูที่ได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ (17α-ethinylestradiol) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (EE) และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกับหนูในกลุ่ม SH ตลอดระยะเวลานาน 90 วัน ของการให้สาร

แม้ว่าน้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม SH มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในช่วงสุดท้ายของการทดลอง แต่ก็ยังคงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับวันที่ 0 (D_0)

รูปที่ 7. แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดรังไข่ (OVX) ภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเฉพาะกลุ่ม SH และ OVX เท่านั้น

* และ ** = $p < 0.05$ และ 0.01 ตามลำดับเมื่อเทียบกับกลุ่ม SH



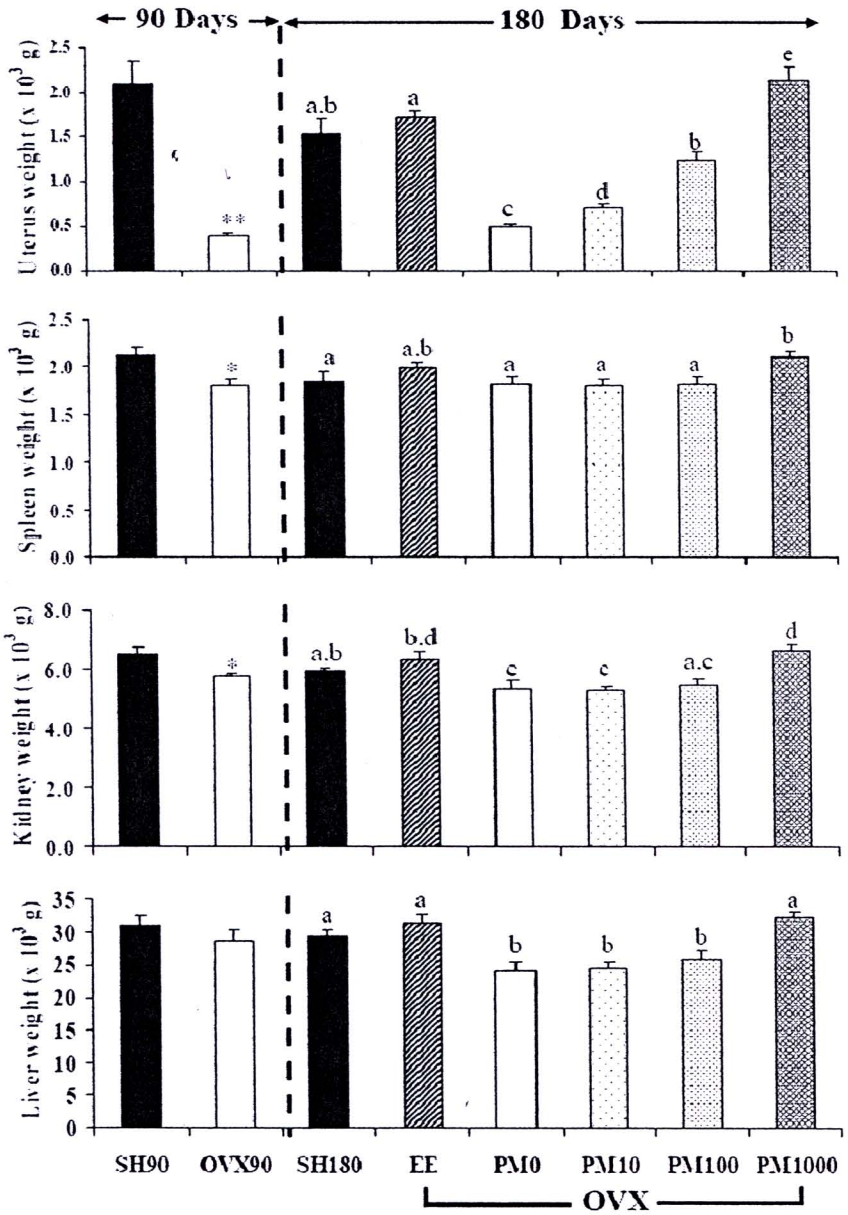
2.2. น้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์

เนื่องจากน้ำหนักตัวของหนูแต่ละกลุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในแต่ละช่วงเวลา ดังนั้น น้ำหนักอวัยวะจึงคำนวณเป็นน้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์ (น้ำหนักอวัยวะ/น้ำหนักตัว) เพื่อที่จะสามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ระหว่างกลุ่มต่าง ๆ

ภายหลังจากตัดรังไข่เป็นเวลานาน 90 วัน พบว่าน้ำหนักสัมพัทธ์ของมดลูก, ม้าม และไตในหนูกลุ่มที่ตัดรังไข่ (OVX) มีค่าต่ำกว่ากลุ่ม SH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ <0.01, รูปที่ 8) ยกเว้นน้ำหนักตับที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่อเลี้ยงหนูต่อไปอีกเป็นเวลานาน 90 วัน (D_{180}) พบว่าน้ำหนักสัมพัทธ์ของมดลูก, ไต และตับ ในหนูกลุ่มที่ตัดรังไข่ (OVX/PM0) มีค่าต่ำกว่ากลุ่ม SH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ <0.01) และเมื่อให้สารแขวนลอยกวาวเครือขาวแก่หนูพบว่าน้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์สามารถกลับคืนมามีค่าใกล้เคียงกับหนูกลุ่ม SH อย่างสัมพันธ์กับขนาดของกวาวเครือขาวที่ให้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ (EE) น้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์ทั้งหมดกลับคืนมาใกล้เคียงกับกลุ่ม SH ($p>0.05$)

รูปที่ 8. แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสัมพัทธ์ของมดลูก, ม้าม. ไต และตับในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดรังไข่ (OVX) นาน 90 และ 180 วัน และภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน หลังจากถูกตัดรังไข่

* และ ** = $p < 0.05$ และ 0.01 ตามลำดับเมื่อเทียบกับกลุ่ม SH ตัวอักษรบนแท่งกราฟแต่ละอันถ้าแตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)



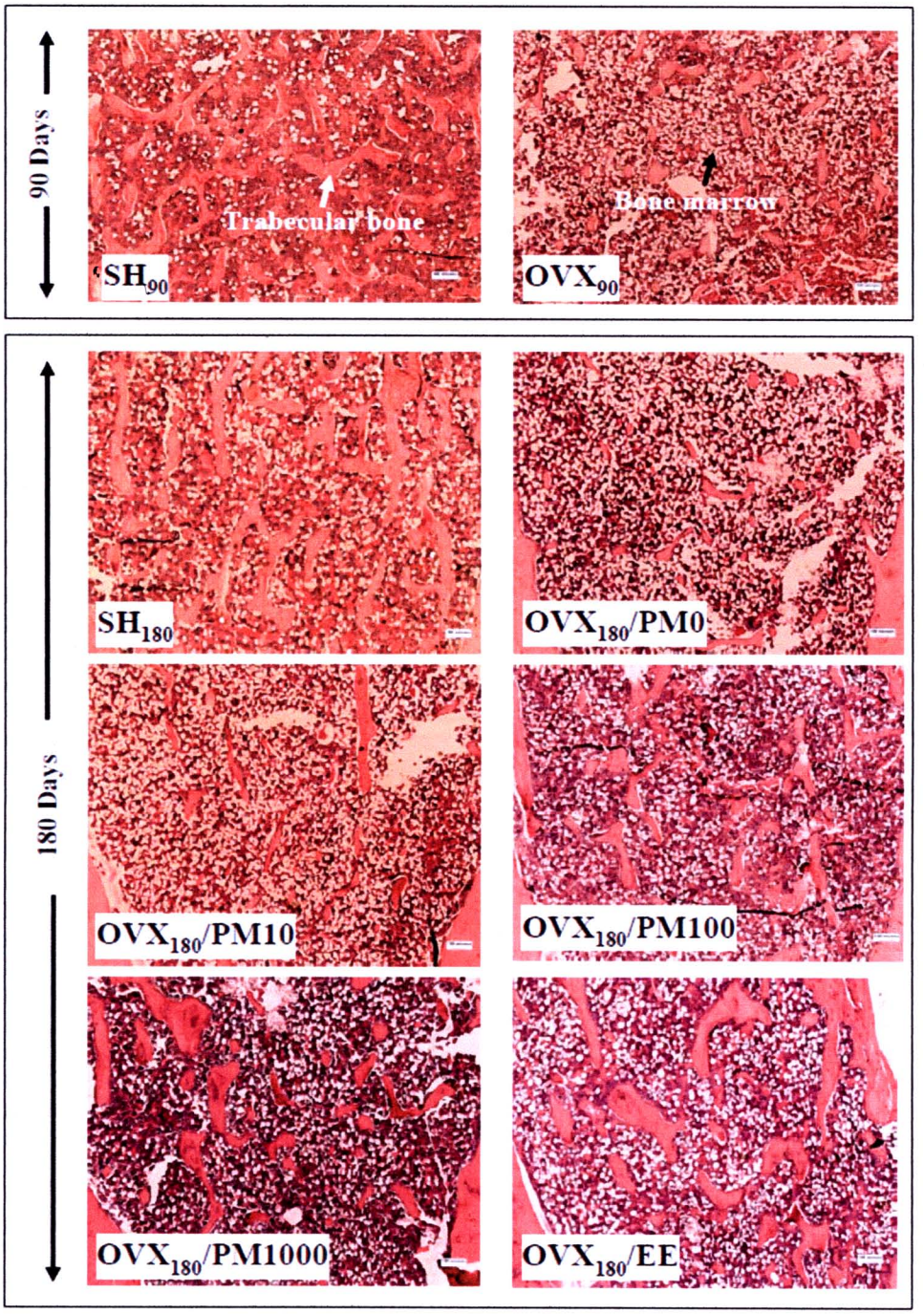
2.3. โครงสร้างระดับจุลภาคของกระดูก

ภายหลังตัดรังไข่นาน 90 วัน (OVX_{90}) trabecular bone area ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับกลุ่ม SH_{90} ในขณะที่ bone marrow cavity เพิ่มขึ้น (รูปที่ 9) จากลักษณะดังกล่าวเป็นการยืนยันได้ว่าการตัดรังไข่และทิ้งไว้นาน 90 วัน สามารถชักนำให้หนูแรทเพศเมียเกิดสภาวะกระดูกพรุนได้จริง และเมื่อทิ้งหนูภายหลังจากตัดรังไข่ไว้นานถึง 180 วัน (OVX_{180}/PM0) ยิ่งทำให้สภาวะกระดูกพรุนเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสภาวะดังกล่าวสามารถฟื้นกลับคืนมาได้เมื่อหนูได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาว (PM) และฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ (EE)

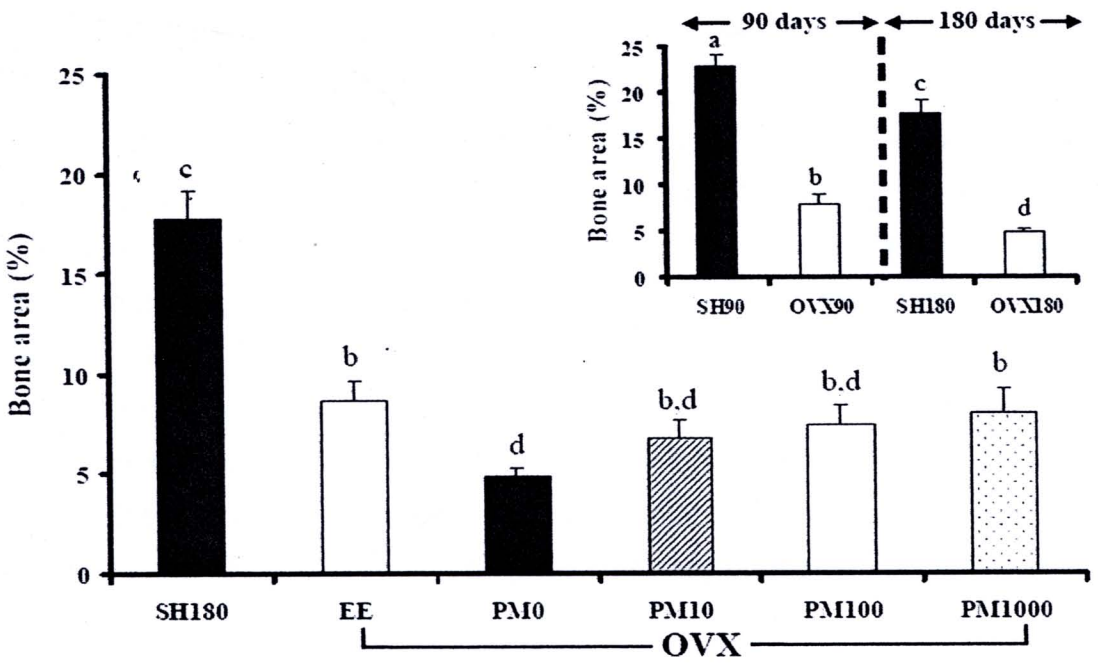
เมื่อเปรียบเทียบค่า %trabecular bone area (%BA) ระหว่างกลุ่ม SH และ OVX ภายหลังการตัดรังไข่นาน 90 และ 180 วัน พบว่าค่า %BA ของหนูกลุ่ม OVX_{90} มีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่ม SH_{90} อยู่ 65.4% (22.79 ± 1.34 และ 7.88 ± 0.99 สำหรับหนูกลุ่ม SH_{90} และ OVX_{90} ตามลำดับ ($p < 0.001$)) และ %BA ของหนูกลุ่ม OVX_{180}/PM0 มีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่ม SH_{180} เท่ากับ 72.72% (17.71 ± 1.42 และ 4.83 ± 0.42 สำหรับหนูกลุ่ม SH_{180} และ OVX_{180} ตามลำดับ ($p < 0.001$)) ดังแสดงในรูปที่ 10 เมื่อเปรียบเทียบค่า %BA ในหนูปกติที่ไม่ได้ตัดรังไข่ ในแง่ของอายุหนูที่เพิ่มขึ้น พบว่าค่า %BA ลดลง 22.29% ($p = 0.004$) เมื่อหนูอายุเพิ่มขึ้นจาก 9 เดือน (SH_{90}) เป็น 12 เดือน (SH_{180}) และเมื่อพิจารณาค่า %BA ที่เปลี่ยนแปลงไปอย่างสัมพันธ์กับอายุและการตัดรังไข่ ระหว่างหนูกลุ่ม OVX ที่มีอายุ 9 เดือน (OVX_{90}) กับหนูกลุ่ม OVX ที่มีอายุ 12 เดือน (OVX_{180}) พบว่าค่า %BA ลดลงสูงถึง 38.70% ($p < 0.01$)

เมื่อให้สารแขวนลอยกวาวเครือขาวในหนูที่ตัดรังไข่และทิ้งไว้นาน 90 วัน พบว่าสามารถป้องกันการลดลงของค่า %BA ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อให้กวาวเครือขาวในขนาดที่สูงขึ้น นั่นคือ %BA ในหนูกลุ่ม OVX_{90} เท่ากับ 7.88±0.99 และในหนูกลุ่ม PM0, PM10, PM100 และ PM1000 มีค่าเท่ากับ 4.83 ± 0.42, 6.73 ± 0.92, 7.45 ± 0.93 และ 8.01 ± 1.27 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 10 และค่า %BA ของหนูกลุ่ม PM1000 มีค่าใกล้เคียงกับหนูกลุ่ม EE (%BA = 8.67 ± 0.96) นอกจากนี้พบว่าค่า %BA ของหนูกลุ่ม PM1000 และ EE มีค่าสูงกว่าหนูกลุ่ม PM0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เท่ากับ 65.8% และ 79.5% ตามลำดับ และสูงกว่ากลุ่ม OVX_{90} เล็กน้อย ($P>0.05$) เท่ากับ 1.64% และ 10.9% ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่าการได้รับกวาวเครือขาวในขนาด 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน และฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน นาน 90 วัน ในหนูแรทเพศเมีย สามารถทำให้กระดูกหนาตัวกลับคืนมาได้ แต่อย่างไรก็ตามค่า %BA ในหนูกลุ่ม PM1000 และ EE ยังคงต่ำกว่าของหนูกลุ่ม SH_{180} อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (-54.77% และ -51.04% ตามลำดับ, $p<0.01$)

รูปที่ 9. แสดงโครงสร้างระดับจุลภาคของกระดูกในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดรังไข่ (OVX) นาน 90 และ 180 วัน และภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน หลังจากถูกตัดรังไข่



รูปที่ 10. แสดงค่าเฉลี่ย %trabecular bone area ในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดรังไข่ (OVX) นาน 90 และ 180 วัน (กราฟเล็กมุมบนขวา) และภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน หลังจากถูกตัดรังไข่ ตัวอักษรบนแท่งกราฟแต่ละอันถ้าแตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)



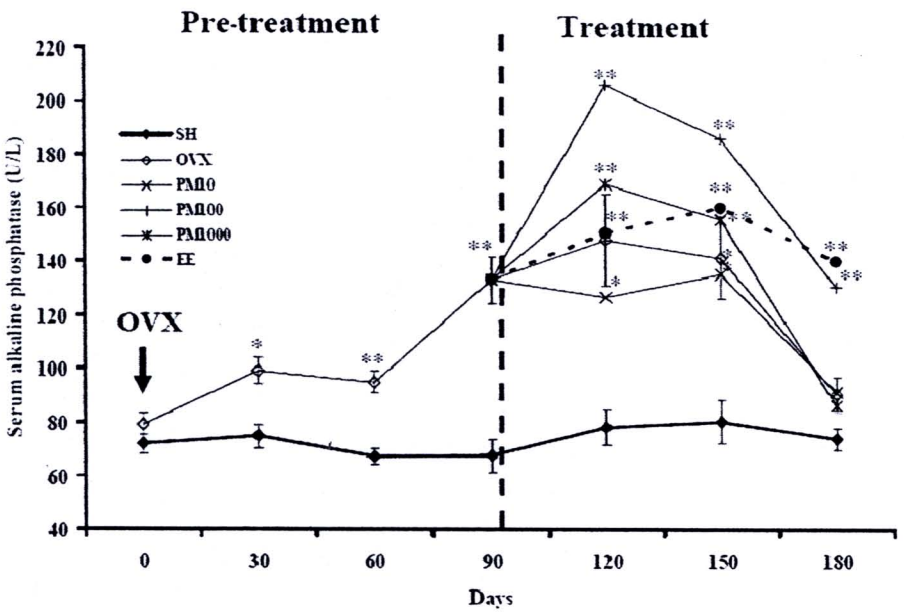
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

2.4. ระดับ alkaline phosphatase ในซีรั่ม

ภายหลังการตัดรังไข่นาน 90 และ 180 วัน (กลุ่ม OVX) พบว่าระดับ alkaline phosphatase ในซีรั่มมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ 0.01) ในช่วง 90 วันแรก เมื่อเทียบกับกลุ่ม SH (รูปที่ 11) และยังคงเพิ่มสูงขึ้นต่อไปอีกนาน 30 วัน ก่อนที่จะลดต่ำลงมาใกล้เคียงกับกลุ่ม SH ในช่วง 60 วันสุดท้ายของการทดลอง (D_{150} และ D_{180}) และเมื่อให้สารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/ วัน (PM0, PM10 และ PM1000) นาน 90 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม OVX พบว่าไม่มีผลต่อระดับ alkaline phosphatase ในซีรั่ม โดยไม่ทำให้ค่าเพิ่มขึ้นหรือลดลงไปจากกลุ่ม OVX ยกว้นกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวขนาด 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/ วัน (PM100) ที่ระดับ alkaline phosphatase ในซีรั่มมีค่าสูงกว่ากลุ่ม OVX ตลอดระยะเวลาที่ได้รับสาร เช่นเดียวกับกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน EE ที่ระดับalkaline phosphatase ในซีรั่มมีค่าสูงอยู่ตลอดเวลา ไม่ต่างจากกลุ่ม OVX ในระหว่างวันที่ 120 และ 150 (D_{120} และ D_{150}) ซึ่งค่าที่สูงนี้ ยังคงสูงอยู่จนกระทั่งวันที่ 180 (D_{180}) จึงทำให้ค่า alkaline phosphotose ของหนูกลุ่ม EE ใน D_{180} สูงกว่าของหนูกลุ่ม OVX และไม่กลับคืนสู่ระดับของหนูกลุ่ม SH ในขณะที่ระดับalkaline phosphatase ในซีรั่มของหนูกลุ่ม SH มีค่าคงที่ตลอดการทดลอง 180วัน

รูปที่ 11. แสดงค่าเฉลี่ย alkaline phosphatase ในซีรั่ม ในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดรังไข่ (OVX) ภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเฉพาะกลุ่ม SH และ OVX เท่านั้น

* และ ** = $p < 0.05$ และ 0.01 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่ม SH



2.5. ค่าความหนาแน่นกระดูก (Bone mineral density; BMD)

ความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อโปร่ง (Bone mineral density of trabecular bone)

ภายหลังจากตัดรังไข่นาน 90 วัน พบว่าความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อโปร่งทั้ง 3 ส่วน คือ tibial metaphysis, femur metaphysis และ 4th lumbar vertebra มีค่าลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่ม SH (รูปที่ 12) จากลักษณะดังกล่าวเป็นการยืนยันได้ว่าการตัดรังไข่และทิ้งไว้นาน 90 วัน สามารถชักนำให้หนูเกิดสภาวะกระดูกพรุนได้จริง แต่เมื่อทิ้งหนูภายหลังจากตัดรังไข่ไว้นานถึง 180 วัน (PM0) พบว่าภาวะกระดูกพรุนไม่ลดลงไปจากเดิม นั่นคือไม่แตกต่างจากกลุ่ม OVX_{90}

เมื่อให้สารแขวนลอยกวาวเครือขาวในหนูที่ตัดรังไข่และทิ้งไว้นาน 90 วัน พบว่าสามารถป้องกันการลดลงของค่าความหนาแน่นกระดูกได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อให้กวาวเครือขาวในขนาด 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM1000) ความ์หนาแน่นกระดูกมีค่าสูงกว่าของหนูกลุ่ม OVX_{90} นั่นคือ ค่าความหนาแน่นกระดูกส่วน tibial metaphysis, femur metaphysis และ 4th lumbar vertebra ในหนูกลุ่ม OVX_{90} เท่ากับ 0.212±0.023, 0.282±0.038 และ 0.249±0.010 x 10^3 mg/cm^3 และของหนูกลุ่ม PM1000 เท่ากับ 0.239±0.012, 0.299±0.007 และ 0.285±0.008 x 10^3 mg/cm^3 (หรือค่าความหนาแน่นกระดูกในกลุ่ม PM มีค่าสูงกว่ากลุ่ม OVX เท่ากับ 12.76, 6.02 และ 14.45% ตามลำดับ) ซึ่งค่าที่ได้ของกลุ่ม PM1000 ใกล้เคียงกับของหนูกลุ่ม EE ที่มีค่าเท่ากับ 0.233±0.011, 0.296±0.015 และ 0.282±0.009 x 10^3 mg/cm^3 ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามค่าความหนาแน่นกระดูกของหนูกลุ่ม PM1000 และ EE ยังคงต่ำกว่าของหนูกลุ่ม SH_{180} อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่มีค่าเท่ากับ 0.346±0.022, 0.412±0.014 และ 0.301±0.010 x 10^3 mg/cm^3 ตามลำดับ

ความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อแน่น (Bone mineral density of cortical bone)

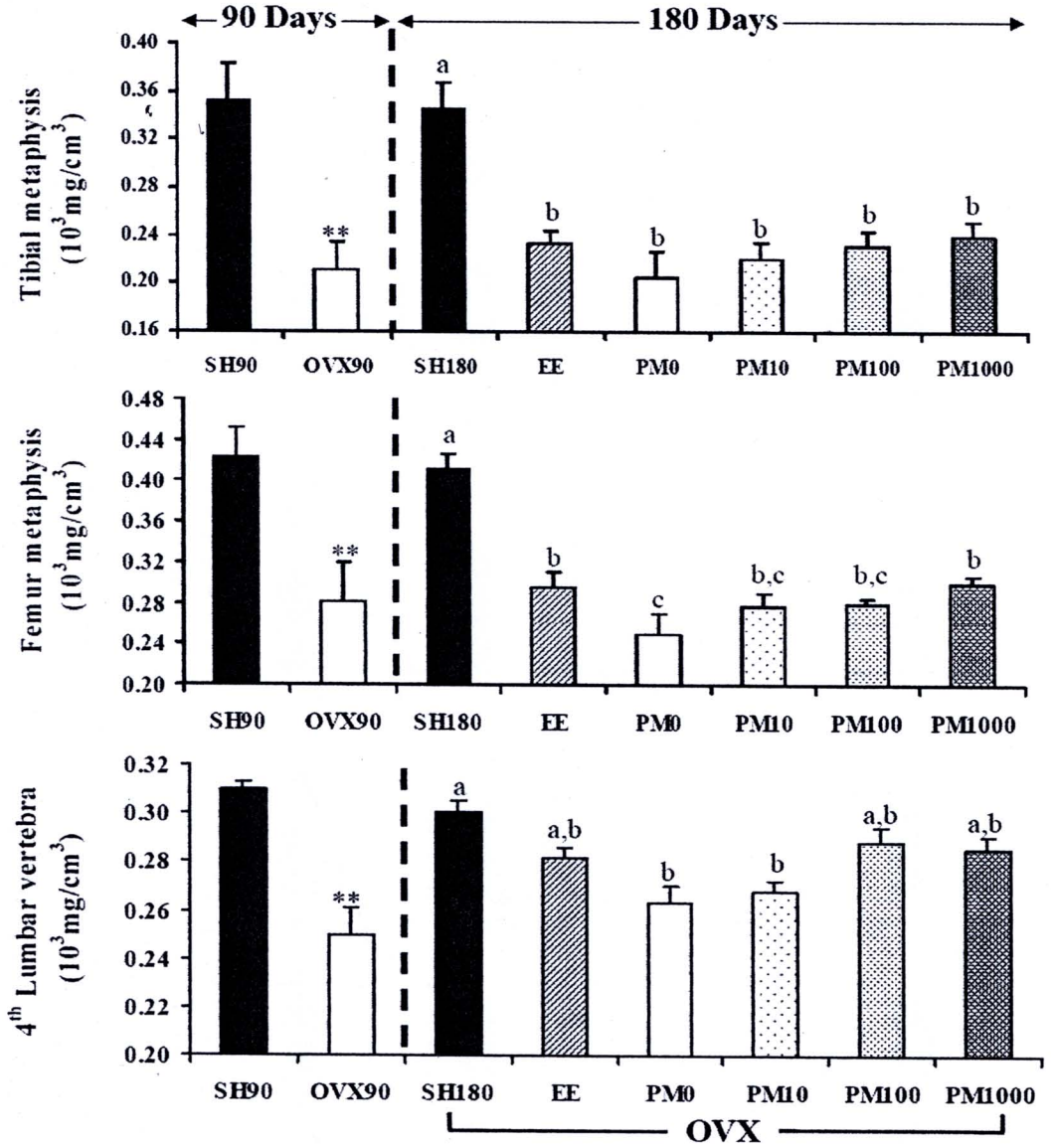
ภายหลังจากตัดรังไข่นาน 90 วัน พบว่าความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อแน่นทั้ง 5 ส่วน คือ tibial metaphysis, tibial diaphysis, femur metaphysis, femur diaphysis และ 4th lumbar vertebra ของหนูกลุ่ม OVX_{90} ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) (รูปที่ 13) เมื่อเทียบกับหนูกลุ่ม SH_{90} แต่เมื่อทิ้งหนูไว้ภายหลังจากตัดรังไข่นานถึง 180 วัน (PM0) พบว่าความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อแน่น 4 ส่วน คือ tibial diaphysis, femur metaphysis, femur diaphysis และ 4th lumbar vertebra ของหนูกลุ่ม OVX/PMO ลดต่ำกว่าหนูกลุ่ม SH_{180} ซึ่งแสดงว่าการชักนำให้เกิดภาวะกระดูกพรุนในกระดูกเนื้อแน่นจะใช้เวลานานกว่าในกระดูกเนื้อโปร่ง

เมื่อให้สารแขวนลอยกวาวเครือขาวในหนูที่ตัดรังไข่และทิ้งไว้นาน 90 วัน พบว่าสามารถป้องกันการลดลงของค่าความหนาแน่นกระดูกได้ โดยสามารถป้องกันได้แม้แต่เมื่อให้กวาวเครือขาวในขนาดต่ำเพียง 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM10) เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งว่าค่าความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อแน่นที่เพิ่มขึ้นไม่สัมพันธ์กับขนาดของกวาวเครือขาวที่ให้ ยกเว้นที่กระดูก 4th lumbar vertebra

รูปที่ 12. แสดงค่าเฉลี่ยความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อโปร่ง ในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดรังไข่ (OVX) นาน 90 และ 180 วัน และภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน หลังจากถูกตัดรังไข่

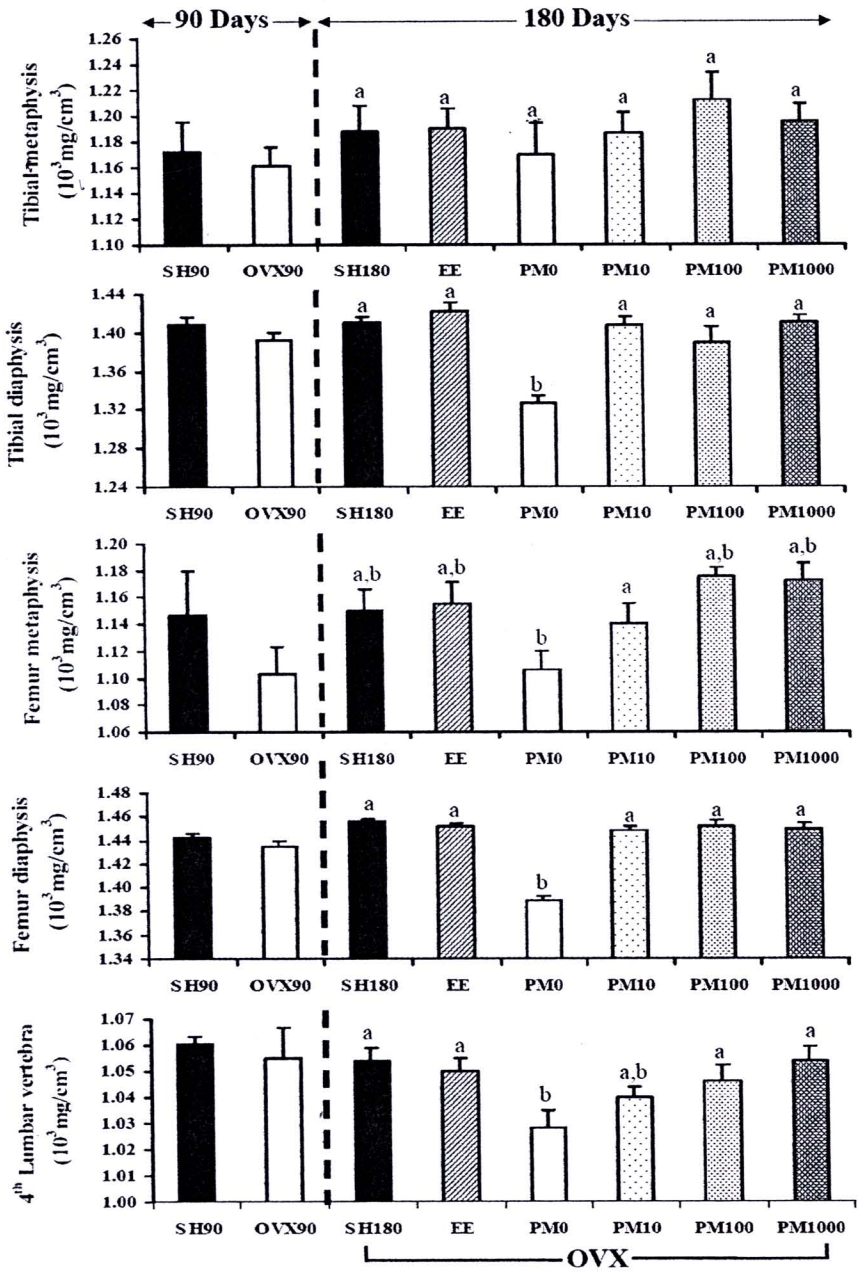
* และ ** = $p < 0.05$ และ 0.01 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่ม SH

ตัวอักษรบนแท่งกราฟแต่ละอันถ้าแตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 13. แสดงค่าเฉลี่ยความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อแน่น ในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดรังไข่ (OVX) นาน 90 และ 180 วัน และภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน หลังจากถูกตัดรังไข่

ตัวอักษรบนแท่งกราฟแต่ละอันถ้าแตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)



3. การศึกษาผลของการให้กวาวเครือขาว ต่อการรักษาภาวะกระดูกพรุนในหนูแรทเพศผู้ ที่ถูกชักนำให้เกิดภาวะกระดูกพรุนโดยการตัดอัณฑะออก

3.1. น้ำหนักตัวหนู

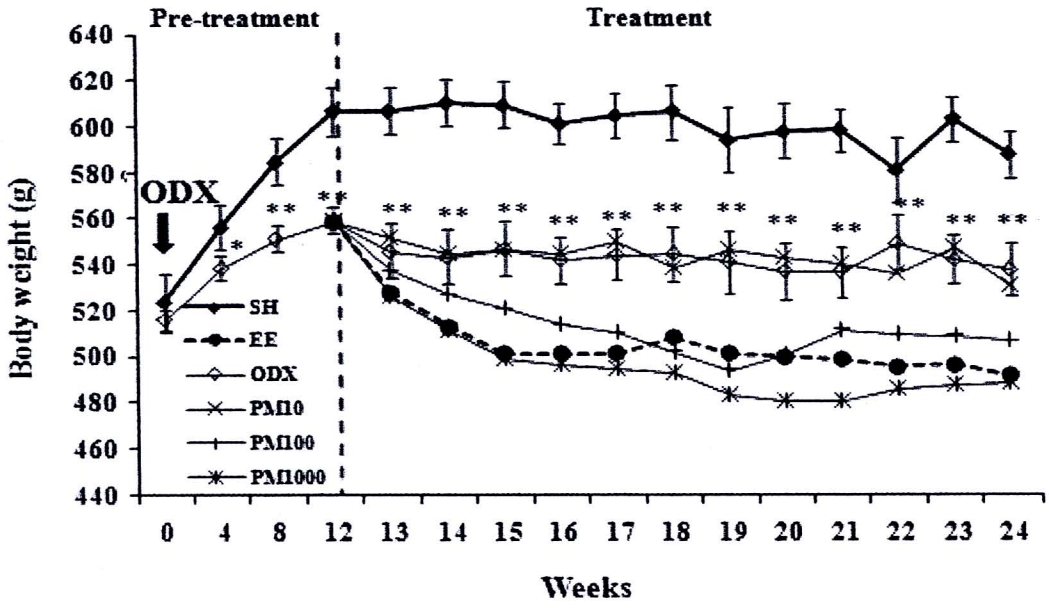
จากการเปรียบเทียบน้ำหนักตัวหนูทั้ง 2 กลุ่ม เมื่อเริ่มการทดลองในวันที่ D_0 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$; รูปที่ 14) ในระหว่างการทดลอง หนูทั้งสองกลุ่มมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมียัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ 0.01) ในสัปดาห์ที่ 4 หรือวันที่ 28 (D_{28}) ของการทดลอง แต่ในหนูกลุ่มที่ตัดอัณฑะ (ODX) พบว่าน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นน้อยกว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้ตัดอัณฑะ (SH) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ 0.01) เริ่มตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 หรือวันที่ 28 (D_{28}) ของการทดลอง โดยในวันที่ 90 (D_{90}) ค่าน้ำหนักตัวหนูกลุ่มที่ตัดอัณฑะ มีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้ตัดอัณฑะประมาณ 1.09 เท่า (559.41 $\pm$ 6.05 กรัม และ 607.00 $\pm$ 10.55 กรัม ในหนูกลุ่ม ODX และ กลุ่ม SH ตามลำดับ)

เมื่อป้อนสารแขวนลอยกวาวเครือขาวให้แก่หนูกลุ่ม ODX ทางปากทุกวัน เป็นเวลานาน 90 วัน พบว่าน้ำหนักตัวหนูลดลงอย่างสัมพันธ์กับขนาดของกวาวเครือขาวที่ให้ นั่นคือ น้ำหนักตัวหนูลดลงมากขึ้นเมื่อให้กวาวเครือขาวในขนาดที่สูงขึ้น โดยน้ำหนักตัวของหนูที่ได้รับกวาวเครือขาวในขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM 10) มีค่าไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ตัดอัณฑะและได้รับน้ำกลั่นอย่างเดียว (ODX) ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวในขนาด 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM 1000) มีน้ำหนักตัวลดลงต่ำสุด เทียบเท่ากับหนูที่ได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ (EE) ตลอดระยะเวลานาน 90 วัน ของการให้สาร

แม้ว่าน้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม SH มีค่าสูงขึ้นในช่วง 90 วันแรกของการทดลอง (จากหนูอายุ 6 เดือน จนกระทั่งมีอายุได้ 9 เดือน) แต่ภายหลังจากนั้นอีก 90 วัน น้ำหนักตัวหนูมีค่าคงที่ ($p>0.05$) จนกระทั่งวันที่ 180 ของการทดลอง หรือเมื่อหนูอายุได้ 12 เดือน

รูปที่ 14. แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดอัณฑะ (ODX) ภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเฉพาะกลุ่ม SH และ ODX เท่านั้น

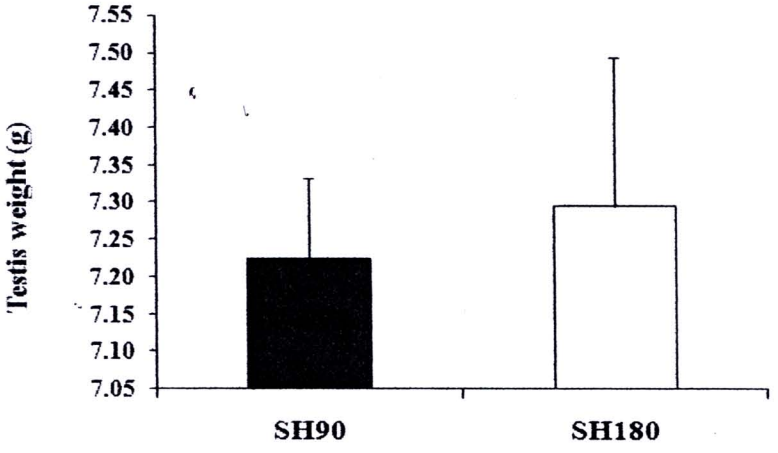
* และ ** = $p < 0.05$ และ 0.01 ตามลำดับเมื่อเทียบกับกลุ่ม SH



3.2. น้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์

เนื่องจากน้ำหนักตัวของหนูแต่ละกลุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในแต่ละช่วงเวลา ดังนั้น น้ำหนักอวัยวะจึงคำนวณเป็นน้ำหนักอวัยวะสัมพัทธ์ เพื่อที่จะสามารถนำมาเปรียบกันได้ระหว่างกลุ่มต่าง ๆ พบว่า ภายหลังจากที่เลี้ยงหนูไว้เป็นเวลานาน 90 วัน (SH90) และ 180 วัน (SH180) หรือเมื่อหนูมีอายุได้ 9 และ 12 เดือน ตามลำดับ พบว่าน้ำหนักอัณฑะมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเมื่อหนูมีอายุมากขึ้น แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$, รูปที่ 15)

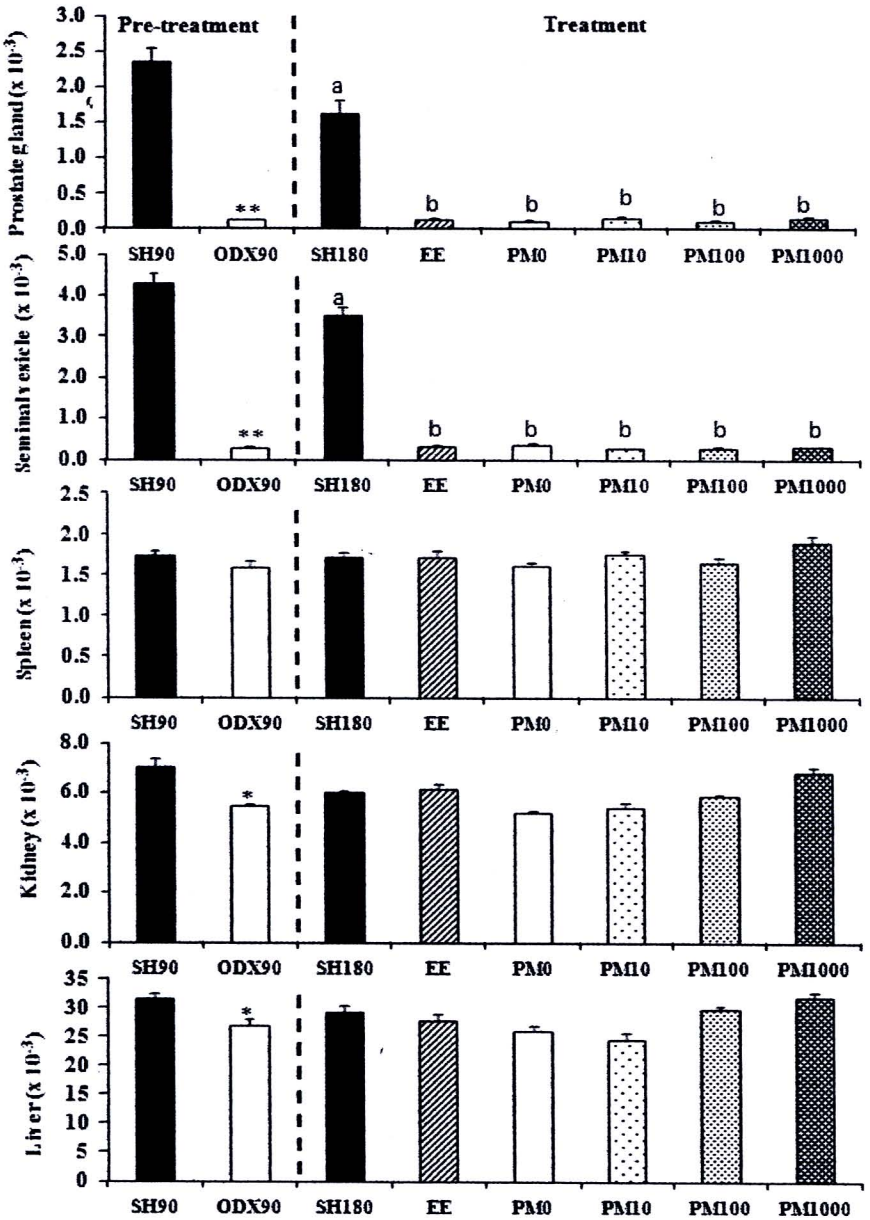
รูปที่ 15. แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสัมพัทธ์ของอัณฑะในหนูกลุ่ม sham (SH) นาน 90 และ 180 วัน



ภายหลังจากตัดอัณฑะเป็นเวลานาน 90 วัน พบว่าน้ำหนักสัมพัทธ์ของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ คือ ต่อมลูกหมาก และเซมินัล เวสซิเคิล ในหนูกลุ่มที่ตัดอัณฑะ (ODX) มีค่าต่ำกว่ากลุ่ม SH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$, รูปที่ 16) และอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิสม คือ ม้าม, ตับ และไต ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างหนูทั้งสองกลุ่ม ยกเว้นน้ำหนักไต ในหนูกลุ่มที่ตัดอัณฑะมีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่ม SH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และเมื่อเลี้ยงหนูต่อไปอีกเป็นเวลานาน 90 วัน (D_{180}) พบว่าน้ำหนักสัมพัทธ์ของต่อมลูกหมาก และเซมินัล เวสซิเคิล ในหนูที่ตัดอัณฑะทุกกลุ่ม (EE, PM0, PM10, PM100 และ PM1000) มีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่ม SH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p <0.01$) ในขณะที่น้ำหนักสัมพัทธ์ของม้าม, ไต และตับ ไม่มีความแตกต่างกันในหนูทั้ง 6 กลุ่ม ($p>0.05$)

รูปที่ 16. แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสัมพัทธ์ของต่อมลูกหมาก, seminal vesicle, ม้าม. ไต และตับในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดอัณฑะ (ODX) นาน 90 และ 180 วัน และภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน หลังจากถูกตัดอัณฑะ

* และ ** = $p < 0.05$ และ 0.01 ตามลำดับเมื่อเทียบกับกลุ่ม SH ตัวอักษรบนแท่งกราฟแต่ละอันถ้าแตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)



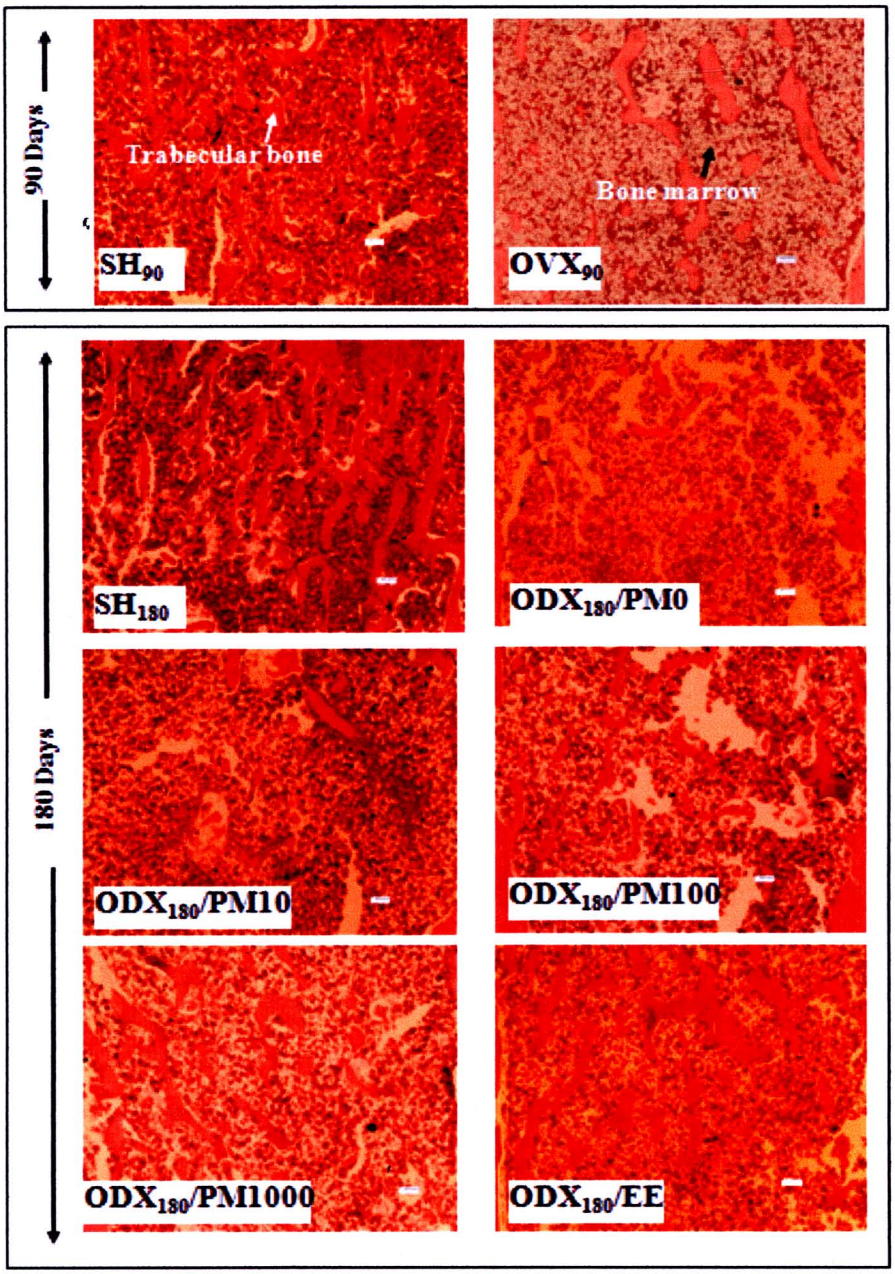
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

3.3. โครงสร้างระดับจุลภาคของกระดูก

ภายหลังการตัดอัณฑะนาน 90 วัน (ODX_{90}) trabecular bone area ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน เมื่อเทียบกับกลุ่ม SH_{90} ในขณะที่ bone marrow cavity เพิ่มขึ้น (รูปที่ 17) จากลักษณะดังกล่าวเป็นการยืนยันได้ว่าการตัดอัณฑะและทิ้งไว้นาน 90 วัน สามารถชักนำให้หนูแรทเพศผู้เกิดสภาวะกระดูกพรุนได้จริง และเมื่อทิ้งหนูภายหลังจากตัดอัณฑะไว้นานถึง 180 วัน (ODX_{180}/PM0) ยิ่งทำให้สภาวะกระดูกพรุนเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสภาวะดังกล่าวสามารถฟื้นกลับคืนมาได้เมื่อหนูได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาว (PM) และฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ (EE) โดยการฟื้นตัวของกระดูกจะขึ้นกับขนาดของกวาวเครือขาวที่ให้ นั่นคือ trabecular bone area เพิ่มมากขึ้นเมื่อให้กวาวเครือขาวในขนาดที่สูงขึ้น โดย trabecular bone area ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวในขนาด 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM 1000) มีค่าใกล้เคียงกับหนูที่ได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ (EE) แต่อย่างไรก็ตาม trabecular bone area ก็ยังต่ำกว่าในหนูกลุ่ม SH_{180}

ซึ่งในขณะนี้กำลังวิเคราะห์ค่า %trabecular bone area (%BA) และจะทำการเปรียบเทียบค่า %BA ระหว่างกลุ่ม SH และ ODX ภายหลังการตัดอัณฑะนาน 90 และ 180 วัน และเปรียบเทียบระหว่างการให้กวาวเครือขาวขนาดต่าง ๆ และเมื่อให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ ต่อไป

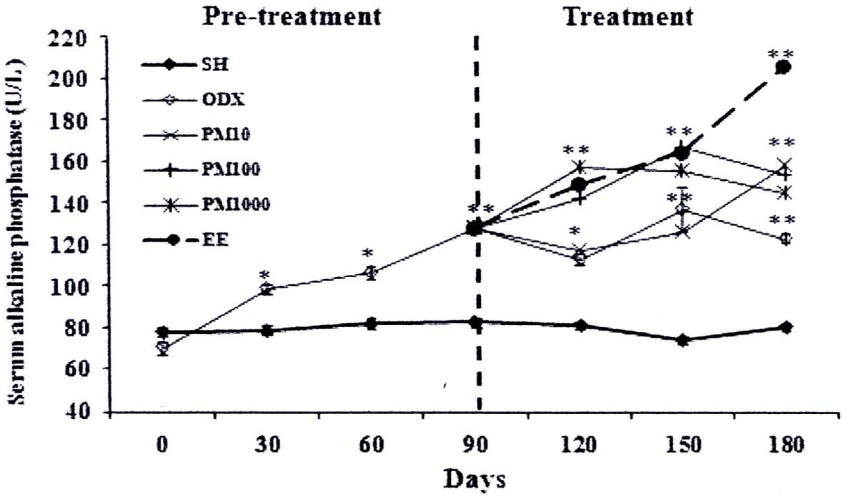
รูปที่ 17. แสดงโครงสร้างระดับจุลภาคของกระดูกในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดอัณฑะ (ODX) นาน 90 และ 180 วัน และภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน หลังจากถูกตัดอัณฑะ



3.4. ระดับ alkaline phosphatase ในซีรั่ม

ภายหลังการตัดอัณฑะนาน 90 และ 180 วัน (กลุ่ม ODX) พบว่าระดับ alkaline phosphatase ในซีรั่มในหนูเพศผู้ มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ 0.01) ในช่วง 90 วันแรก เมื่อเทียบกับกลุ่ม SH (รูปที่ 18) เช่นเดียวกับหนูเพศเมีย แต่ภายหลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ โดยระดับ alkaline phosphatase ในระหว่างวันที่ 120 – 180 มีค่าแกว่งไกวใกล้เคียงกับของวันที่ 90 (D_{90}) (113.40 – 137.30 U/L สำหรับ D_{120} - D_{180} และ 128.52 ± 2.66 U/L สำหรับ D_{90}) และเมื่อให้สารแขวนลอยกวาวเครือขาวทำให้ระดับ alkaline phosphatase เพิ่มสูงขึ้นอย่างสัมพันธ์กับขนาดที่ให้ นั่นคือ ในหนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวในขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/ วัน (PM10) นาน 90 วัน ระดับ alkaline phosphatase ในซีรั่ม ไม่แตกต่างจากกลุ่ม ODX ในขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับกวาวเครือขาวในขนาด 100 และ 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/ วัน (PM100 และ PM1000) มีค่าสูงกว่ากลุ่ม ODX อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีค่าใกล้เคียงกับหนูกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ (EE) แต่ในวันสุดท้ายของการทดลอง (D_{180}) ระดับ alkaline phosphatase ในหนูกลุ่ม EE มีค่าสูงกว่าหนูทุกกลุ่ม และระดับ alkaline phosphatase ในหนู ODX ทุกกลุ่ม ที่ได้รับกวาวเครือขาวและฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ ในระหว่างวันที่ 90 – 180 มีค่าสูงกว่าหนูกลุ่ม SH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ 0.01)

รูปที่ 18. แสดงค่าเฉลี่ย alkaline phosphatase ในซีรั่ม ในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดอัณฑะ (ODX) ภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเฉพาะกลุ่ม SH และ ODX เท่านั้น * และ ** = $p < 0.05$ และ 0.01 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่ม SH



3.5. ค่าความหนาแน่นกระดูก (Bone mineral density; BMD)

ความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อโปร่ง (Bone mineral density of trabecular bone)

ภายหลังจากตัดอัณฑะนาน 90 วัน พบว่าความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อโปร่งทั้ง 3 ส่วน คือ tibial metaphysis, femur metaphysis และ 4th lumbar vertebra มีค่าลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่ม SH (รูปที่ 19) จากลักษณะดังกล่าวเป็นการยืนยันได้ว่าการตัดอัณฑะและทิ้งไว้นาน 90 วัน สามารถชักนำให้หนูเพศผู้เกิดสภาวะกระดูกพรุนได้จริง และเมื่อทิ้งหนูหลังจากตัดอัณฑะไว้นานถึง 180 วัน (PM0) พบว่าความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อโปร่งทั้ง 3 ส่วน ลดต่ำลงกว่าเมื่อทิ้งไว้นาน 90 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าความหนาแน่นของกระดูกเนื้อโปร่งทั้ง 3 ชนิดในหนูกลุ่ม SH_{180} มีค่าต่ำกว่ากลุ่ม SH_{90} อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$ และ 0.05) ซึ่งแสดงว่าเมื่อหนูมีอายุมากขึ้นจาก 9 เดือน เป็น 12 เดือน ทำให้ความหนาแน่นของกระดูกเนื้อโปร่งลดลงด้วยเช่นกัน

เมื่อให้สารแขวนลอยกวาวเครือขาวในหนูที่ตัดอัณฑะและทิ้งไว้นาน 90 วัน พบว่าสามารถป้องกันการลดลงของค่าความหนาแน่นกระดูกได้อย่างสัมพันธ์กับขนาดที่ให้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อให้กวาวเครือขาวในขนาด 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM1000) ความหนาแน่นกระดูกมีค่าสูงกว่าของหนูกลุ่ม ODX_{90} และใกล้เคียงกับกลุ่ม EE โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กระดูกส่วน tibia metaphysis และ 4th lumbar vertebra ในหนูกลุ่ม PM1000 มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากหนูกลุ่ม SH_{180}

ความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อแน่น (Bone mineral density of cortical bone)

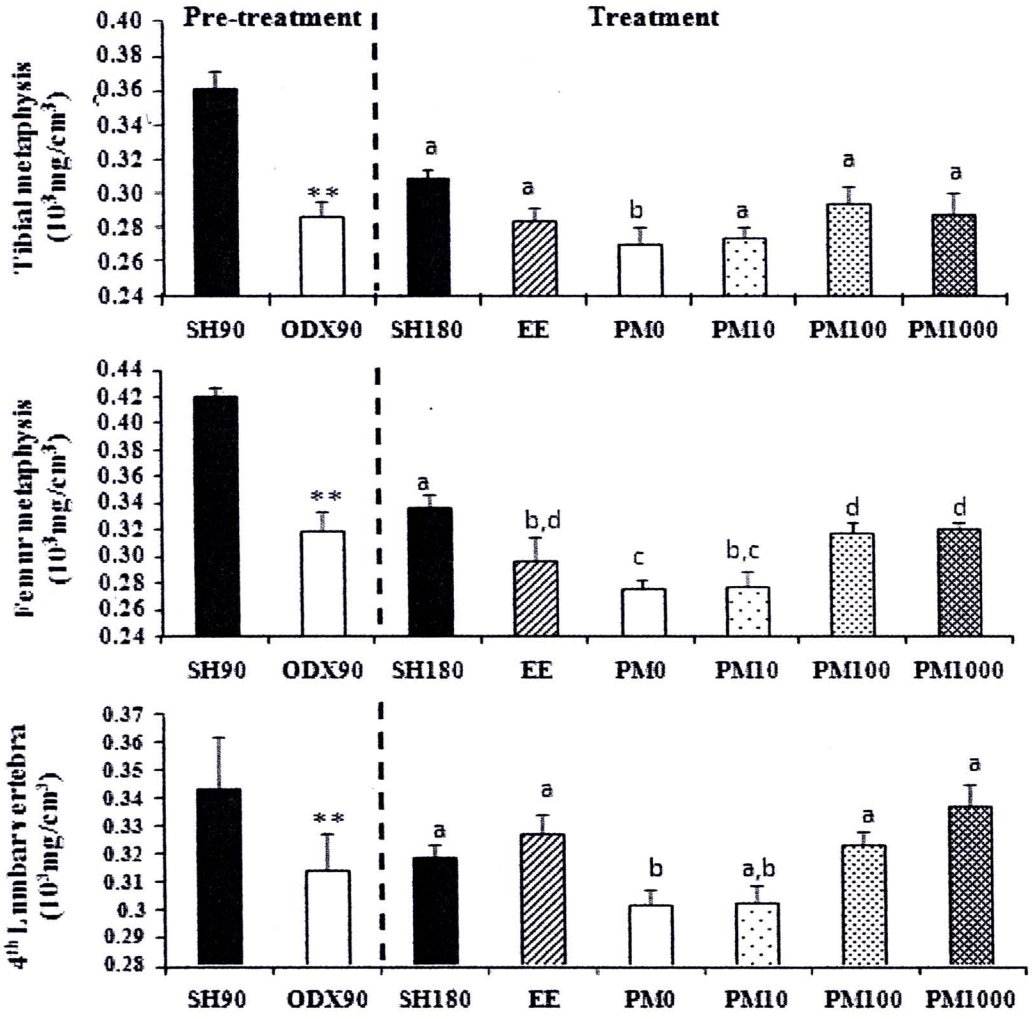
ภายหลังจากตัดอัณฑะนาน 90 วัน พบว่าความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อแน่นทั้ง 4 ส่วน คือ tibial metaphysis, tibial diaphysis, femur diaphysis และ 4th lumbar vertebra ของหนูกลุ่ม ODX_{90} มีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่ม SH_{90} อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$ และ 0.01) ยกเว้นกระดูกส่วน femur metaphysis ที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อเทียบกับหนูกลุ่ม SH_{90} (รูปที่ 20) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากค่าความหนาแน่นกระดูกส่วน femur metaphysis ของหนูแต่ละตัวในกลุ่ม ODX_{90} มีความแตกต่างกันมาก จึงทำให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสูง และเมื่อเลี้ยงหนูต่อไปอีก 90 วัน พบว่าความหนาแน่นกระดูกส่วน tibial metaphysis และ femur diaphysis ของหนูกลุ่ม SH_{90} มีค่าสูงกว่าหนูกลุ่ม SH_{180} อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในขณะที่หนูกลุ่มที่ตัดอัณฑะ 180 วัน (ODX/PM0) พบว่าความหนาแน่นกระดูกส่วน tibial metaphysic, femur metaphysis, femur diaphysis และ 4th lumbar vertebra ลดต่ำกว่าหนูกลุ่ม SH_{180} ซึ่งแสดงว่าการชักนำให้เกิดภาวะกระดูกพรุนในกระดูกเนื้อแน่นส่วน tibia diaphysis จะใช้เวลานานมากกว่า 180 วัน

เมื่อให้สารแขวนลอยกวาวเครือขาวในหนูที่ตัดอัณฑะและทิ้งไว้นาน 90 วัน พบว่าสามารถป้องกันการลดลงของค่าความหนาแน่นกระดูกได้ แต่ไม่สัมพันธ์กับขนาดที่ให้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระดูกส่วน femur metaphysis

รูปที่ 19. แสดงค่าเฉลี่ยความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อโปร่ง ในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดอัณฑะ (ODX) นาน 90 และ 180 วัน และภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน หลังจากถูกตัดอัณฑะ

* และ ** = $p < 0.05$ และ 0.01 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่ม SH

ตัวอักษรบนแท่งกราฟแต่ละอันถ้าแตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 20. แสดงค่าเฉลี่ยความหนาแน่นกระดูกของกระดูกเนื้อแน่น ในหนูกลุ่ม sham (SH) และหนูที่ได้รับการตัดอัณฑะ (ODX) นาน 90 และ 180 วัน และภายหลังจากได้รับสาร esthinylestradiol (EE) ในขนาด 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน หรือได้รับสารแขวนลอยกวาวเครือขาวในขนาด 0, 10, 100 และ 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว/วัน (PM0, PM10, PM100 และ PM1000 ตามลำดับ) เป็นเวลานาน 90 วัน หลังจากถูกตัดอัณฑะ ตัวอักษรบนแท่งกราฟแต่ละอันถ้าแตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)