



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ฤทธิ์ของกวาวเครือแดง (*Butea superba*) ต่อการทำงานและระดับพาร์วัลบูมิน
ของกล้ามเนื้อลายของหนูที่ถูกตัดอัณฑะ

Effects of red Kwao Krua (*Butea superba*) on skeletal muscle and
parvalbumin levels in orchidectomized rats

คณะนักวิจัย

ผศ.นพ.ทพ. สุรพงษ์	วงศ์วีชรานนท์
ผศ.ดร. อุวาพร	วงศ์วีชรานนท์
ดร.วันดี	อุดมอักษร
ผศ.ดร. เอกสิทธิ์	กุมารสิทธิ์
น.ส. ฟาดิละห์	บินอาลี

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก เงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี

งบประมาณ 2555 รหัสโครงการ DEN5501255

ฤทธิ์ของกวาวเครือแดง (*Butea superba*) ต่อการทำงานและระดับพาร์วัลบูมิน ของกล้ามเนื้อ
ลายของหนูที่ถูกตัดอัณฑะ

Effects of red Kwao Krua (*Butea superba*) on skeletal muscle and parvalbumin levels
in orchidectomized rats

คณะนักวิจัย

ผศ.นพ.ทพ. สุรพงษ์ วงศ์วิชานนท์

วิสัญญีแพทย์ ภาควิชาศัลยศาสตร์

คณะทันตแพทยศาสตร์

ผศ.ดร. อูราพร วงศ์วิชานนท์

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์

ดร.วันดี อุดมอักษร

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์

ผศ.ดร. เอกสิทธิ์ กุมารสิทธิ์

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์

น.ส. ฟาดิละห์ บินอาลี

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขากายวิภาคศาสตร์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	iv
สารบัญภาพประกอบ	v
บทคัดย่อ	1
ABSTRACT	3
บทที่ 1 บทนำ	5
บทที่ 2 วิธีการทดลอง	19
บทที่ 3 ผลการทดลอง	25
บทที่ 4 วิจารณ์ผลการทดลอง	59
บทสรุปและข้อเสนอแนะ	69
เอกสารอ้างอิง	71
ภาคผนวก	82

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1-1	แสดงองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของควาวเครีอแดง	9
3-1	แสดงน้ำหนักตัว อัตราการเพิ่มน้ำหนักตัว น้ำหนัก และน้ำหนัก/น้ำหนัก ของเอพิดีไดมิส เซมินัล เวซิคูล ต่อมลูกหมาก และหลอดนำอสุจิ กล้ามเนื้อ gastrocnemius และกล้ามเนื้อ EDL ใน 90 วัน	27
3-2	แสดงระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน, free testosterone, bioavailable testosterone, SHBG และ albumin	30
3-3	แสดงค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (Complete Blood Count; CBC)	35

สารบัญภาพประกอบ

รูปที่		หน้า
1-1	แสดงต้นและรากของกวาวเครือแดง (<i>Butea superba</i> Roxb.)	8
1-2	โครงสร้างของพาร์วัลบูมิน	16
1-3	การทำงานของพาร์วัลบูมินในกล้ามเนื้อลาย	18
1-4	จลนศาสตร์ของการจับและปล่อยแมกนีเซียมและแคลเซียมของพาร์วัลบูมิน	18
3-1	แสดงน้ำหนักตัวเฉลี่ยใน 90 วันของหนูแต่ละกลุ่ม	28
3-2	แสดงอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัวใน 90 วันของหนูแต่ละกลุ่ม	28
3-3	แสดงระดับเอนไซม์ SGOT และ SGPT ในกระแสเลือดของหนูแต่ละกลุ่ม	37
3-4	แสดงค่าเฉลี่ยพื้นที่หน้าตัดของเซลล์กล้ามเนื้อ EDL และ gastrocnemius	38
3-5	แสดงลักษณะของเซลล์กล้ามเนื้อ EDL	39
3-6	แสดงลักษณะของเซลล์กล้ามเนื้อ gastrocnemius	40
3-7	แสดงแรงหดตัวสูงสุดเมื่อกระตุ้นเดี่ยว (peak twitch tension) และกระตุ้นต่อเนื่อง (peak tetanic tension) ของกล้ามเนื้อ EDL ของหนูแต่ละกลุ่ม	42
3-8	แสดงแรงหดตัวสูงสุดเมื่อกระตุ้นเดี่ยว (peak twitch tension) และกระตุ้นต่อเนื่อง (peak tetanic tension) ของกล้ามเนื้อ gastrocnemius ของหนูแต่ละกลุ่ม	43
3-9	แสดงเวลาที่ใช้ในการหดตัว (contraction time) ของกล้ามเนื้อ EDL และ gastrocnemius ของหนูแต่ละกลุ่ม	44

3-10	แสดงเวลาที่ใช้ในการคลายตัวครึ่งหนึ่ง (one-half relaxation time) ของกล้ามเนื้อ EDL และ gastrocnemius ของหนูแต่ละกลุ่ม	45
3-11	แสดงเวลาที่ใช้ในการหดตัวจนได้แรงสูงสุดเมื่อกระตุ้นต่อเนื่อง (time to peak tension) ของกล้ามเนื้อ EDL และ gastrocnemius	46
3-12	แสดงเวลาที่ใช้ในการหดตัวจนล้มเหลือ 25% ของแรงหดตัวสูงสุด (time to 25% fatigue) ของกล้ามเนื้อ EDL และ gastrocnemius	47
3-13	ความถี่ต่ำสุดที่ทำให้เกิด complete tetanus เมื่อกระตุ้นคู่และกระตุ้นต่อเนื่องของกล้ามเนื้อ EDL	48
3-14	ความถี่ต่ำสุดที่ทำให้เกิด complete tetanus เมื่อกระตุ้นคู่และกระตุ้นต่อเนื่องของกล้ามเนื้อ gastrocnemius	49
3-15	แสดงปฏิกิริยาอิมมูโนของแอนโดรเจน รีเซพเตอร์	50
3-16	แสดงปฏิกิริยาอิมมูโนของแอนโดรเจน รีเซพเตอร์ (ปลายศรสีขาว) ที่พบในนิวเคลียส ของเซลล์กล้ามเนื้อ EDL	51
3-17	แสดงปฏิกิริยาอิมมูโนของแอนโดรเจน รีเซพเตอร์ (ปลายศรสีขาว) ที่พบในนิวเคลียส ของเซลล์กล้ามเนื้อ gastrocnemius	52
3-18	แสดงปฏิกิริยาอิมมูโนของโปรตีนพาร์วัลบูมินในเซลล์กล้ามเนื้อลาย	53
3-19	แสดงปฏิกิริยาอิมมูโนของโปรตีนพาร์วัลบูมินในเซลล์กล้ามเนื้อ EDL	54
3-20	แสดงปฏิกิริยาอิมมูโนของโปรตีนพาร์วัลบูมินในเซลล์กล้ามเนื้อ gastrocnemius	55
3-21	แสดงภาพแถบโปรตีนพาร์วัลบูมินในกล้ามเนื้อ EDL	56

3-22	แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มของแถบโปรตีนพาร์วัลบูมินในกล้ามเนื้อ EDL	56
3-23	แสดงเปอร์เซ็นต์ความเข้มของแถบโปรตีนพาร์วัลบูมินในกล้ามเนื้อ EDL	57
3-24	ภาพแถบโปรตีนพาร์วัลบูมินในกล้ามเนื้อ gastrocnemius	57
3-25	แสดงค่าเฉลี่ยความเข้มของแถบโปรตีนพาร์วัลบูมินในกล้ามเนื้อ gastrocnemius	58
3-26	แสดงเปอร์เซ็นต์ความเข้มของแถบโปรตีนพาร์วัลบูมินในกล้ามเนื้อ gastrocnemius	58

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก เงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประเภท ทั่วไป ประจำปี 2555 ขอขอบคุณ คุณ เพทาย หิรัญพันธ์ และภาควิชาสรีรวิทยา สำหรับความ อนุเคราะห์ในการสอนและการอนุญาตให้ใช้เครื่องมือในการวัดการทำงานกล้ามเนื้อ ขอขอบคุณเรือน สัตว์ทดลอง สำหรับความอนุเคราะห์ในการผลิตและการดูแลสัตว์ทดลองระหว่างการทดลอง ขอขอบคุณภาควิชาเวชศาสตร์นิวเคลียร์ โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ สำหรับความอนุเคราะห์ในการ ตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนเอสโตรเจนในเลือด

คณะผู้ดำเนินการวิจัย

บทคัดย่อ

ผู้ชายวัยทอง เป็นภาวะที่ฮอร์โมนเพศลดต่ำลง โดยเฉพาะฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน มักพบภาวะที่มีการสูญเสียมวล ความแข็งแรงและประสิทธิภาพของกล้ามเนื้อลดลง เรียกว่า ภาวะซาร์โคพีเนีย (sarcopenia) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาผลของการตัดอวัยวะและการได้รับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนทดแทน รวมทั้งการได้รับกวาวเครือแดงทดแทนในขนาดที่ต่างกันต่อโครงสร้างประสิทธิภาพการทำงาน ระดับโปรตีนพาร์วัลบูมิน ปฏิกริยาอิมมูโนของโปรตีนพาร์วัลบูมิน และ แอนโดรเจน รีเซพเตอร์ของกล้ามเนื้อลายหนูเพศผู้ที่ถูกตัดอวัยวะในกล้ามเนื้อ extensor digitorum longus (EDL) และ gastrocnemius โดยศึกษาในหนูขาวใหญ่สายพันธุ์ Wistar เพศผู้ อายุ 12 สัปดาห์ โดยแบ่งเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มไม่ตัดอวัยวะ (SHAM) กลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะ (BS-0) กลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะและได้รับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนทดแทน ขนาด 6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (TP) กลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะและได้รับกวาวเครือแดงทดแทนขนาด 5 (BS-5), 50 (BS-50) และ 500 (BS-500) มิลลิกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 90 วัน จากการศึกษาพบว่า กลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะมีระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน น้ำหนักเอพิไดไมส เซมินัล เวซิคเคิล ต่อมลูกหมาก และหลอดน้ำอสุจิ มวลของกล้ามเนื้อ ความแข็งแรงและความทนทานของกล้ามเนื้อ EDL และ gastrocnemius ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนทดแทน และพบว่ากลุ่มที่ได้รับกวาวเครือแดงทดแทน มวลของกล้ามเนื้อ ความแข็งแรงและความทนทานของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนและน้ำหนักเอพิไดไมส เซมินัลเวซิคเคิล ต่อมลูกหมาก และหลอดน้ำอสุจิลดลง นอกจากนี้พบว่าระดับโปรตีนพาร์วัลบูมิน ปฏิกริยาอิมมูโนของโปรตีนพาร์วัลบูมิน และแอนโดรเจนรีเซพเตอร์ลดลงในกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะ และเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนและกวาวเครือแดงทดแทนของกล้ามเนื้อ EDL และ gastrocnemius จากการศึกษานี้อธิบายได้ว่าการลดลงของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ส่งผลให้ความหนาแน่นของแอนโดรเจนรีเซพเตอร์ลดลง มีผลทำให้มวลของกล้ามเนื้อและโปรตีนพาร์วัลบูมินลดลง ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนทดแทนมีความหนาแน่นของแอนโดรเจน รีเซพเตอร์เพิ่มขึ้น ทำให้มวลของกล้ามเนื้อและโปรตีนพาร์วัลบูมินเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อประสิทธิภาพของกล้ามเนื้อ จึงอาจนำไปสู่การอธิบายกลไกการของฮอร์โมนเพศ

โทสเตรอนต่อมวลและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อในภาวะซาร์โคพีเนียในผู้ชายวัยทองที่ขึ้นกับฮอร์โมนเทสโทสเตรอนได้ ในขณะที่การได้รับกวางเครือแดงทดแทนมีผลทำให้มวลของกล้ามเนื้อ ความแข็งแรงและความทนทานของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น รวมทั้งระดับโปรตีนพาร์วัลบูมิน ปฏิกริยา อิมมูโนของโปรตีนพาร์วัลบูมิน และ แอนโดรเจน รีเซพเตอร์ในเซลล์กล้ามเนื้อลายเพิ่มขึ้น กวางเครือแดงประกอบด้วยสาร flavonoid (3, 7, 3'-Trihydroxy-4'-methoxyflavone), flavonoiglycoside (3, 3'-dihydroxy-4'-methoxyflavone-7-O- β -D-glucopyranoside) และ isoflavanolignans (butesuperins A และ butesuperins B) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ phosphodiesterase ซึ่งทำหน้าที่ในการสลาย cAMP ซึ่ง cAMP มีบทบาทสำคัญในกลไกการเพิ่ม ขนาดของกล้ามเนื้อลาย จึงทำให้กล้ามเนื้อมีความแข็งแรงและความทนทานของกล้ามเนื้อเพิ่มขึ้น

ABSTRACT

Hypogonadism is characterized by a decline in sex hormone levels, especially testosterone. It has been shown to be an important contributor to the decrease in muscle mass, muscle strength and performance, known as sarcopenia. This study aimed to investigate the effects of orchidectomy, testosterone replacement and different doses of *Butea superba* Roxb. on the structure, performance, levels of parvalbumin, parvalbumin and androgen receptor immunoreactivities in the orchidectomized rat extensor digitorum longus (EDL) and gastrocnemius muscle. Twelve-week old male Wistar rats were randomly divided into 6 groups; sham-operated (SHAM), orchidectomized (BS-0), orchidectomized group that treated testosterone replacement of 6 µg/kg (TP) and orchidectomized group treated with various dose *Butea superba* Roxb. extract; 5 mg/kg (BS-5), 50 mg/kg (BS-50) and 500 mg/kg (BS-500) for 90 days. The testosterone level, epididymis, seminal vesicle, prostate gland, vas deference weight, muscle fiber size, strength and endurance in both the EDL and gastrocnemius muscle were decreased in the BS-0 group but increased in the testosterone replacement group. Treatment with *B. superba* extract replacement group improved muscle fiber size, strength and endurance, but not total testosterone level, epididymis, seminal vesicle, prostate gland, vas deference weight. Furthermore, the parvalbumin level, parvalbumin and androgen receptor immunoreactivities were reduced in the BS-0 group but increased in the testosterone replacement group and the *B. superba* extract groups for both EDL and gastrocnemius muscle. This study indicated that the reduction of testosterone level led to a decrease of the androgen receptor density resulting in a decline in muscle mass and parvalbumin levels. The decrease of parvalbumin levels affected muscle performance. Whereas, testosterone replacement increased the androgen receptor density led to an increase of muscle mass and parvalbumin levels. The increase in the parvalbumin levels may result in an improvement of muscle performance. This may explain one mechanism of testosterone on muscle mass and strength in testosterone dependent sarcopenia. While *B. superba* extract groups improved muscle mass, strength and endurance, parvalbumin level, parvalbumin and

androgen immunoreactivities. *Butea superba* consisted of flavonoid (3, 7, 3'-Trihydroxy-4'-methoxyflavone), flavonoglycoside (3, 3'-dihydroxy-4'-methoxyflavone-7-O- β -D-glucopyranoside) and isoflavanolignans (butesuperins A and butesuperins B) that found to inhibit the cAMP phosphodiesterase enzyme. Therefore, cAMP signaling may have adaptive effects on skeletal muscle by increasing muscle mass, strength and endurance.