

Mondia whitei L. (VUKA)水萃物連續餵飼大鼠7天之生理安全及雄性生殖功能評估¹

郭肇凱²、廖俊旺³、張隆仁²、陳榮五²

摘 要

本研究主要探討*Mondia whitei* L. (VUKA)水萃冷凍乾燥粉末連續餵飼雄性大鼠7天之生理安全及睪丸生殖功能評估，劑量選擇為100、500及1,000 mg/kg BW，對照組則為蒸餾水，每日以胃管餵飼大鼠連續7天。結果顯示處理組之雄性大鼠體重、心、肝、腎、脾、睪丸與副睪等臟器重量與對照組比較均無明顯差異。檢查血清酵素，VUKA水萃冷凍乾燥粉末可降低肝功能之麩氨酸氨基轉氨酶(aspartate aminotransferase, AST)與麩氨酸丙酸轉氨酶(alanine aminotransferase, ALT)；對麩氨基轉氨酶(γ -glutamyltranspeptidase, GGT)、鹼性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、乳酸脫氫酶(lactate dehydrogenase, LDH)、膽固醇(cholesterol)、三酸甘油脂(triglyceride)、總蛋白(total protein)、白蛋白(albumin)、尿酸(uric acid)、鈉離子(sodium)、鉀離子(potassium)氯離子(chloride)及鈣離子(calcium)濃度等項目均無影響，但中與高劑量處理組白蛋白與球蛋白比例(albumin/globulin ratio, A/G ratio)則有明顯降低；高劑量處理組之腎功能血清中尿素氮(blood urea nitrogen)值則有顯著性上升，但低與中劑量處理組之肌氨酸(creatinine)則有顯著性下降。但VUKA水萃冷凍乾燥粉末均不會造成上述體內重要臟器之明顯肉眼及組織病理變化。在生殖功能評估方面，各處理組之精蟲濃度相較於對照組有顯著性增加，但對精蟲活動力及畸形率則無影響。分析睪丸組織及血清之睪固酮(testosterone)、雌激素(estrodial)及黃體素(pregesterone)荷爾蒙變化，除雌激素因微量無法被偵測出來外，各處理組對雄鼠睪固酮含量均無影響，但血清中黃體素含量則呈劑量與反應之顯著性降低作用。綜合以上結果顯示，VUKA水萃冷凍乾燥粉末連續餵飼雄性大鼠7天並無毒性作用，亦不影響雄性生殖功能，但對降低雄鼠黃體素之生理作用，仍有待進一步探討。

關鍵字：*Mondia whitei*、VUKA、連續7天餵食、大白鼠、精蟲、荷爾蒙。

¹ 行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第 0670 號。

² 行政院農業委員會臺中區農業改良場國防訓儲研究助理、副研究員、場長。

³ 國立中興大學獸醫病理學研究所副教授。

前 言

臺中區農業改良場新引進具發展潛力之蘿藦科藥用植物*Mondia whitei* L. (VUKA)，在相關功能性之試驗研究前必需先確保其安全性，依據農委會(86農特字第30713號函)及衛生署(食字第85024204號函)均明文規定藥用與農產保健食品之開發與利用，應先進行一系列之安全評估以作為後續推廣之依據，確保對人體食用之安全並提升附加價值⁽⁴⁾。有鑑於此，臺中區農業改良場為評估VUKA之安全性，已完成水萃物之單一劑量口服急性毒性試驗⁽¹⁾，本試驗則繼續評估較長時程(連續7天)之VUKA水萃物食用後，以多種生理指標來判斷是否會影響雄性試驗動物(大鼠)之安全性，同時評估對雄性大鼠睪丸生殖功能之影響。

材料與方法

一、樣品製備

本試驗以兩年生之VUKA地下部為材料，洗淨後剪切成小段於40°C烘箱中連續乾燥約60 hrs，以70°C的一次蒸餾水(1:10, w/v)浸泡8 hrs後，再煮沸2 hrs以獲得初萃液，過濾收集濾液並將殘留物再加一次蒸餾水(1:6, w/v)煮沸2 hrs後過濾，收集並混合所有濾液於55°C減壓濃縮至固形物約10% (w/v)，零下80°C冷凍後以真空冷凍乾燥法獲得VUKA地下部水萃冷凍乾燥粉末⁽¹⁾。

二、試驗動物

4週齡之雄性大鼠(male SD rat)，購自樂斯科生技園區實驗動物培育及研發中心(宜蘭，臺灣)，動物房溫度為20~22°C以及光照12 hrs /黑暗12 hrs之光照週期條件。採自由進食方式供應逆滲透水及鼠專用粒狀飼料(LabDiet[®] 5001 Rodent diet)，經4週適應期後進行試驗，實驗動物之使用操作均依照中華實驗動物學會之「實驗動物管理與使用指南」規範進行⁽¹⁸⁾。試驗依據參考衛生署公告之「健康食品安全性評估方法」⁽⁵⁾以及美國環保署(USEPA)農藥及毒物試驗準則處理⁽⁸⁾。

三、餵食試驗

試驗分為100、500與1,000 mg/kg BW之劑量組以及對照組，每組各5隻大鼠依體重調整至相近之平均值隨機分組，並於尾部畫記編號標識，每隻大鼠單獨飼養於懸吊式不鏽鋼網籠內(長30 cm×寬26 cm×高20 cm)，採自由進食方式供應逆滲透水及鼠專用粉狀飼料(LabDiet[®] 5001 Rodent diet)。將VUKA冷凍乾燥粉末分別以一次蒸餾水配製濃度為10、50與100 mg/ml，每日秤量記錄體重後以不鏽鋼胃管依體重投予餵食體積量為10 ml/kg，即100、500與1,000 mg/kg body BW之劑量組，另外對照組亦依體重以胃管餵食10 ml/kg之一次蒸餾水，連續餵食處理7日並每日觀察大鼠，待餵食最後1日後，移除飼料器皿使大鼠空腹禁食約18 hrs至試驗結束。

四、臟器重、肉眼及組織病理檢測

待餵食試驗結束，大鼠經麻醉後自腹部大動脈放血犧牲進行解剖，秤量心(heart)、肝(liver)、腎(kidney)、脾(spleen)、睪丸(testis)及副睪(epididymis)等臟器重量(g)，以最後1日之

最終體重(g)作為體內臟器重量比率(%)之計算基準。觀察肉眼病理變化，並將臟器浸泡於10%中性福馬林溶液中固定，之後再放入Davison固定液⁽⁹⁾中約24 hrs，經粗修組織與石蠟包埋後，以石蠟組織切片機(Leica RM 2145, Nussloch, Germany)製成2 μm之切片，經Hematoxylin & Eosin (H&E)染色後，以一般光學顯微鏡觀察切片之組織病理變化。

五、血清生化檢測

將大鼠腹部大動脈所採集之全血放入含EDTA之抗凝血劑試管(K3 EDTA syringe)後冰浴，以775 xg離心15 mins後取上清液部分之血清(serum)，以血清生化儀(Chiron Diagnostics Corporation, USA)檢測血液生化值，包括麩氨酸氨基轉氨酶(AST)、麩氨酸丙酸轉氨酶(ALT)、麩氨基轉氨酶(GGT)、鹼性磷酸酶(ALP)、乳酸脫氫酶(LDH)、膽固醇(cholesterol)、三酸甘油酯(triglyceride)、總蛋白(TP)、白蛋白(albumin)、白蛋白與球蛋白比例(A/G ratio)、尿素氮(BUN)、肌氨酸(creatinine)、尿酸(uric acid)、鈉離子(sodium)、鉀離子(potassium)氯離子(chloride)及鈣離子(calcium)濃度等項目。

六、生殖功能檢測

(一)精蟲品質分析

1. 精蟲活動力

依據曾等人(2001)之方法⁽²⁾，取下大鼠右側副睪尾端(cauda epididymis)，以剪刀尖端剪開副睪並擠壓出精蟲至直徑3.5 cm之培養盤中內，加入1 ml經37°C回溫之DMEM培養液，置於60°C水浴鍋水面上以蒸氣略作加熱使精蟲分散，而後取均勻混合精蟲之培養液100 μl於凹槽載玻片上，觀察每個玻片檢體的視野內200隻精蟲以上具活動力(motility)，並計算其活動力百分比(motility %)，即視野內觀察具活動力精蟲占全部精蟲之比例。

2. 精蟲濃度

將剩餘之精蟲培養液置於水浴鍋內(60°C)約5 mins，經過熱處理後從中取100 μl置入細胞計數盤內，由於經過熱處理之精蟲不具運動力，可便於計算精蟲數目。

3. 精蟲畸形率

另取一滴經過熱處理之精蟲培養液，觀察每個玻片檢體視野內(200隻精蟲以上)之精蟲形態，畸形評斷標準依據Wyrobek等⁽¹⁷⁾方法，即由大鼠精蟲尖體(acrosome)、頭部(head)及軸絲(axoneme)等形態是否正常來判定，並計算其畸形率百分比(abnormality %)。

(二)睪丸組織及血清荷爾蒙分析

將大鼠右側睪丸放入裝有3 ml PBS之離心管內，並置入數顆小鋼珠(直徑0.1 cm)，使用均質機(EYELA CD-1000, JAPAN)以2500 rpm進行均質，而後進行離心取睪丸組織上清液部分，另外再取血清分別以ELISA kit (Cayman Chemical Company, USA)分析睪固酮(testosterone)、雌激素(estrodial)及黃體素(progesterone)之含量。本試驗所使用之ELISA kit係以競爭型酵素免疫連結分析(competitive enzyme immunoassay)^(10,13)，ELISA盤中每well預

先coating小鼠睪固酮、雌激素或黃體素之單株抗體，試驗直接分別加入試驗樣品血清或睪丸組織PBS上清液，與乙酰膽鹼脂酶(acetylcholinesterase)標定之睪固酮、雌激素或黃體素，以及相對睪固酮、雌激素或黃體素專一性之抗體一同進行競爭型酵素免疫連結反應約2 hrs，經清洗後以Ellman's 試劑進行呈色約反應約1 hr，最後測定405 nm之吸光值，並比對標準曲線計算睪丸組織及血清樣品各荷爾蒙之含量。

七、結果分析

試驗期間各組之數據以MS-Excels求出平均值及標準機差值(mean±SD)，並以統計分析軟體進行單向變方分析法(One-way ANOVA)之Duncan's test與Student-Newman-Keuls tests進行組間比較分析，其組間顯著差異水準為 $p<0.05$ 。

結果與討論

一、劑量選擇與病理檢測

本試驗參照衛生署所公佈之『28天餵飼毒性試驗』方法中，試驗物質之最高投予劑量為每天1,000 mg/kg BW，並參考小鼠口服急性毒性試驗⁽¹⁾之投予劑量結果得知，其口服LD₅₀值大於15 g/kg BW，且依據世界衛生組織(WHO)對毒性之等級分類⁽⁷⁾是屬於「正常使用時無毒性(unlikely to present hazard in normal use)」。因此，本次試驗對於安全劑量之選擇採用衛生署所公佈之最高處理劑量1,000 mg/kg BW作為最高劑量組，其次500與100 mg/kg BW分別為中劑量及低劑量組，連續7天餵飼大鼠。試驗期間，VUKA水萃物不同劑量處理組之大鼠均無任何慢性中毒症狀或死亡發生，各處理組大鼠之每日體重變化與對照組皆無顯著差異($p>0.05$) (圖一)，VUKA水萃物不同劑量處理組之心、肝、腎、脾、睪丸及副睪等臟器重量均與對照組無顯著($p>0.05$)之差異(表一)，且經肉眼檢查各臟器均無明顯的肉眼病理變化發生。另外，將左側睪丸及副睪浸泡於10%中性福馬林溶液與Davison固定液後進行組織切片之結果如圖二所示，結果顯示，各處理組之睪丸及副睪並沒有發現睪丸生精小管內精母細胞壞死，或是副睪管腔內壞死與精細胞脫落等現象發生^(2,12)，與前人研究⁽¹⁵⁾發現餵食VUKA水萃物會造成大鼠睪丸生精小管精母細胞壞死以及萎縮產生空泡化等現象有所不同。

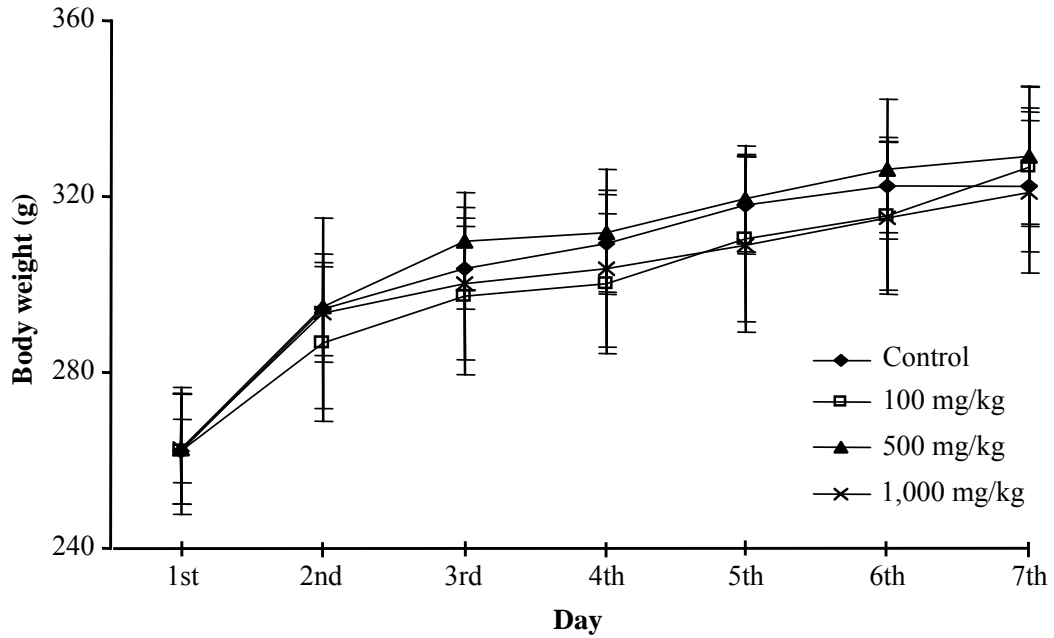
表一、以管餵連續餵 VUKA 水萃物七天對大鼠之臟器重量變化

Table 1. Organ weight changes of rats treated with VUKA extracts at different concentrations by gastric gavage consecutively for 7 days

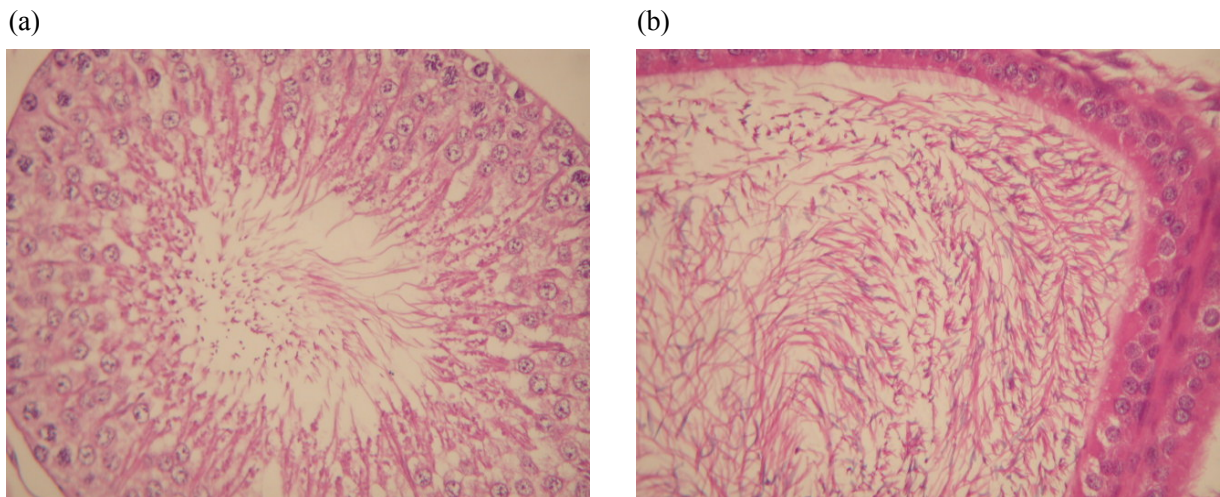
| Dose (g/kg) | Heart ¹ (%) | Liver (%) | Kidney (%) | Spleen (%) | Testis (%) | Epididymis (%) |
|-------------|------------------------|-----------|------------|------------|------------|----------------|
| Control | 0.37±0.04 ² | 2.65±0.17 | 0.73±0.05 | 0.20±0.05 | 0.47±0.03 | 0.04±0.005 |
| 100 | 0.35±0.02 | 2.77±0.10 | 0.70±0.03 | 0.21±0.07 | 0.48±0.04 | 0.05±0.003 |
| 500 | 0.35±0.02 | 2.65±0.03 | 0.67±0.06 | 0.18±0.01 | 0.49±0.05 | 0.04±0.002 |
| 1,000 | 0.33±0.02 | 2.51±0.02 | 0.66±0.05 | 0.17±0.02 | 0.48±0.05 | 0.04±0.003 |

¹ Organ weight (%) = [Organ weight (g) / final body weight (g)]×100.

² Data were expressed as the mean±SD (n=5).



圖一、以管餵連續餵食 VUKA 水萃物七天之大鼠每日體重，所有試驗組大鼠皆無顯著變化。
Fig. 1. Daily body weight changes of rats treated with VUKA extracts at different concentrations by gastric gavage consecutively for 7 days. No significant change was found in all rats.



圖二、以管餵連續餵食 VUKA 水萃物七天之大鼠(a)睪丸與(b)副睪之切片，所有試驗組大鼠皆無顯著壞死或是異常現象發生。

Fig. 2. Histopathological changes of (a) cauda epididymis and (b) testis of rats treated with VUKA extracts at different concentrations by gastric gavage consecutively for 7 days. No spermatic necrosis was found in all rats (H&E stain, 400 \times).

二、對大鼠血清生化之影響

(一)血清中肝功能指數變化

血清中各種關於肝功能指數之酵素、膽固醇以及三酸甘油酯之分析結果如表二所示，其中處理組之GGT、ALP、LDH、cholesterol以及triglyceride等數值均與對照組無顯著差異($p>0.05$)，而高劑量處理組之AST與中劑量處理組ALT數值相對於對照組則有下降($p<0.05$)，但是一般來說常見會引起肝功能障礙與病變時，可能由於肝細胞會受損造成細胞膜之破壞或通透性改變，使原本存在肝細胞漿中之AST與ALT等酵素會快速釋出至血液中⁽³⁾，因而在血清分析時AST與ALT數值會有上升之現象發生，然而本次試驗卻呈現降低的結果，推測可能具保護肝細胞自發性損傷或死亡，但仍待進一步的試驗研究與確認。

表二、以管餵連續餵食 VUKA 水萃物七天對大鼠血清之肝功能指數變化

Table 2. Serum biochemical changes in liver function in rats treated with VUKA extracts at different concentrations by gastric gavage consecutively for 7 days

| Dose (mg/kg) | AST ¹ (U/l) | ALT (U/l) | GGT (U/l) | ALP (U/l) | LDH (U/l) | Cholesterol (mg/dl) | Triglyceride (mg/dl) |
|--------------|-------------------------|-----------|-----------|------------|--------------|---------------------|----------------------|
| Control | 181.4±54.1 ² | 31.9±6.7 | 1.0±0.0 | 188.2±32.2 | 2671.2±826.0 | 57.6±9.3 | 51.8±12.3 |
| 100 | 150.9±39.7 | 24.8±4.8 | 0.8±0.5 | 153.4±12.2 | 2188.8±922.6 | 62.8±10.3 | 43.8±15.4 |
| 500 | 147.7±32.5 | 21.8±1.8* | 1.0±0.7 | 171.8±33.2 | 2219.8±612.9 | 57.4±8.0 | 42.0±8.8 |
| 1,000 | 122.7±24.0* | 25.1±6.5 | 1.2±0.8 | 174.0±46.7 | 1606.8±476.0 | 64.0±15.8 | 37.0±10.0 |

¹ AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; GGT: γ -glutamyltranspeptidase; ALP: Alkaline phosphatase; LDH: Lactate dehydrogenase.

² Data were expressed as the mean±SD (n=5).

* Significant difference between the control and treated groups at $p<0.05$.

(二)血清中蛋白質之變化

血清中蛋白質之分析結果如表三所示，處理組之TP與albumin之數值均與對照組無顯著性差異($p>0.05$)，而中劑量與高劑量處理組(500、1,000 mg/kg BW)之A/G ratio數值相對於對照組則有下降的現象($p<0.05$)。由於肝細胞在血清蛋白的合成中扮演重要角色，所以也可以藉由此些蛋白之數值反映出肝機能是否正常，白蛋白與球蛋白的比例(A/G ratio)常作為此一判讀之參考，由於白蛋白係由肝細胞所合成，球蛋白則由肝細胞與免疫細胞分泌合成，如果肝功能受損時，白蛋白的合成減少並引致血清中白蛋白的數值下降，肝臟本身消滅體內病菌能力下降時會使免疫細胞與外來的抗原接觸而分泌較多的球蛋白，造成血清中的球蛋白數值上升，因此A/G之比例就會有所下降，由於本次試驗中白蛋白之數值無顯著之差異，推測造成A/G ratio下降之可能為個體差異所致。

(三)血清中腎功能指數變化

血清中各種關於腎功能指數之分析結果如表四所示，處理組之uric acid數值與對照組無顯著($p>0.05$)之差異。低劑量與中劑量處理組(100、500 mg/kg BW)之creatinine數值相較於對照組雖然有下降的現象($p<0.05$)，但是不具劑量之正相關性。而高劑量處理組(1,000

mg/kg BW)之BUN數值相較於對照組則有上升的現象($p<0.05$)，但於腎臟組織切片下並未發現有明顯病理變化，且此一結果與小鼠口服急性毒性試驗之結果相似⁽¹⁾。由於BUN是血液中尿素所含的氮，也是在體內當作能源使用的蛋白質殘渣，BUN可藉由腎臟的絲球體過濾後排泄到尿中，如果腎臟的排泄機能變差則血液中尿素氮的濃度便會增加。另外，亦有研究^(11,16)指出BUN的多寡具有調控乳牛繁殖生育力之影響，此一觀點值得後續深入探究。因此餵食VUKA水萃物是否會影響正常腎臟機能仍有待進一步的試驗與確認。

表三、以管餵連續餵食 VUKA 水萃物七天對大鼠血清中蛋白質之變化

Table 3. Serum biochemical changes in proteins in rats treated with VUKA extracts at different concentrations by gastric gavage consecutively for 7 days

| Dose (mg/kg) | TP ¹ (g/dl) | Albumin (g/dl) | A/G (ratio) |
|--------------|------------------------|----------------|-------------|
| Control | 5.18±0.42 ² | 4.08±0.32 | 3.72±0.22 |
| 100 | 4.86±0.48 | 3.82±0.30 | 3.76±0.64 |
| 500 | 5.34±0.48 | 4.00±0.38 | 3.01±0.37* |
| 1,000 | 5.36±0.28 | 3.97±0.29 | 2.90±0.37* |

¹ TP: Total protein; A/G ratio: Albumin/Globulin ratio.

² Data were expressed as the mean±SD (n=5).

* Significant difference between the control and treated groups at $p<0.05$.

表四、以管餵連續餵食 VUKA 水萃物七天對大鼠血清之腎功能指數之變化

Table 4. Serum biochemical changes in renal function in rats treated with VUKA extracts at different concentrations by gastric gavage consecutively for 7 days

| Dose (mg/kg) | BUN ¹ (mg/dl) | Creatinine (mg/dl) | Uric acid (mg/dl) |
|--------------|--------------------------|--------------------|-------------------|
| Control | 12.88±1.62 ² | 0.46±0.05 | 1.98±0.95 |
| 100 | 12.66±0.92 | 0.36±0.05* | 0.21±0.07 |
| 500 | 14.86±2.13 | 0.38±0.04* | 0.18±0.01 |
| 1,000 | 16.60±2.48* | 0.48±0.08 | 0.17±0.02 |

¹ BUN: Blood urea nitrogen.

² Data were expressed as the mean±SD (n=5).

* Significant difference between the control and treated groups at $p<0.05$.

(四)血清中電解質之變化

血清中各種電解質變化之分析結果如表五所示，處理組各劑量之鈉離子(Na^+)、鉀離子(K^+)、氯離子(Cl^-)及鈣離子(Ca^{2+})濃度皆與對照組無顯著性差異($p>0.05$)。電解值在體液中的組成和絕對量應保持一定的濃度，才能維持細胞的正常運作，不致產生某些內分泌失調所造成之疾病。

表五、以管餵連續餵食 VUKA 水萃物七天對大鼠血清中電解質之變化

Table 5. Serum biochemical changes in electrolyte function in rats treated with VUKA extracts at different concentrations by gastric gavage consecutively for 7 days

| Dose (mg/kg) | Na ⁺ (mM) | K ⁺ (mM) | Cl ⁻ (mM) | Ca ²⁺ (mg/dl) |
|-----------------|---------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Control | 164.20±22.88 ¹ | 5.78±0.85 | 119.80±16.53 | 9.08±0.70 |
| 100 | 168.25±10.90 | 6.10±1.17 | 135.80±22.60 | 8.46±0.53 |
| 500 | 164.33±17.39 | 6.25±0.80 | 135.60±18.41 | 8.20±0.64 |
| 1,000 | 171.75±15.67 | 6.08±1.41 | 137.80±25.29 | 8.64±0.72 |

¹Data were expressed as the mean±SD (n=5).

三、對大鼠生殖功能之影響

(一)精蟲品質之分析

大鼠精蟲品質分析結果如表六所示，各劑量處理組之精蟲濃度相較於對照組有顯著 ($p<0.05$) 之增加，但是活動力與畸形率則是沒有顯著之差異 ($p>0.05$)。在精蟲濃度方面，前人研究結果^(6,13,17)發現大鼠雙側睪丸精蟲總數正常值約為 $5\sim 8\times 10^7$ 個，本試驗所取得之精蟲數量(約 $4\sim 6\times 10^7$ 個)仍應屬於正常範圍值內。在精蟲活動力方面，精蟲活動力高低會因品系間有所差異，試驗中各組之精蟲運動力偏低，平均約為 40~47%，可能與精蟲直接自副睪中取出，未經由射精過程使精液中缺乏能量供給運動有關⁽¹⁴⁾。在精蟲畸形率方面，精蟲畸形多發生於頭部(圖三)，造成精蟲頭部鉤狀部消失或呈圓形狀異常等，本試驗各組之精蟲畸形率約為 10%，除了受試樣品可能會造成部分精蟲畸形變異外，顯微鏡下觀察亦有可能受到空間立體結構角度之誤判所影響。

表六、以管餵連續餵食 VUKA 水萃物七天對大鼠精蟲品質之影響

Table 6. Quality of spermatozoa in rats treated with VUKA extracts at different concentrations by gastric gavage consecutively for 7 days

| Dose (mg/kg) | Concentration of spermatozoa ($\times 10^5$) | Abnormality of spermatozoa (%) | Motility of spermatozoa (%) |
|-----------------|--|--------------------------------------|-----------------------------------|
| Control | 414±57 ¹ | 10.8±1.3 | 42.6±8.7 |
| 100 | 655±219* | 8.2±1.9 | 40.3±6.2 |
| 500 | 634±128* | 9.2±2.1 | 38.5±5.8 |
| 1,000 | 615±78* | 9.4±1.8 | 46.7±7.5 |

¹Data were expressed as the mean±SD (n=5).

* Significant difference between the control and treated groups at $p<0.05$.



圖三、以管餵連續餵食 VUKA 水萃物七天之正常大鼠精蟲與畸形大鼠精蟲(箭頭處)之比較。

Fig. 3. The compare of normal sperm and abnormal sperm (arrow) from rats treated with VUKA extracts at different concentrations by gastric gavage consecutively for 7 days. Spontaneous abnormal sperms showed rounding on the head (400×).

(二) 睪丸組織及血清荷爾蒙分析

睪丸組織及血清荷爾蒙分析結果如表七所示，試驗中各組之睪丸組織及血清中睪固酮含量則是沒有顯著差異($p>0.05$)，由於睪固酮為睪丸所分泌，在製造精子與產生性慾中扮演重要角色，因此顯示並無影響睪丸正常功能。本次試驗中，雌激素無法在該ELISA kit偵測範圍內被測出(none detected)，睪丸組織中黃體素亦無法被測出，但各劑量處理組之血清中黃體素含量相較於對照組則有顯著下降($p<0.05$)。黃體素雖屬於雌性激素，主要是由雌性卵巢中所分泌，但是雄性睪丸也可以產生少量黃體素。黃體素、雌激素與睪固酮的作用與消長調控了生理生殖的作用，但詳盡的機制仍待進一步的研究。

表七、以管餵連續餵食 VUKA 水萃物七天對大鼠睪丸組織及血清荷爾蒙之變化

Table 7. Hormone changes in testis and serum in rats treated with VUKA extracts at different concentrations by gastric gavage consecutively for 7 days

| Dose (mg/kg) | Testosterone (pg/ml) | | Estrodial (pg/ml) | | Progesterone (pg/ml) | |
|--------------|-------------------------|------------|-------------------|-------|----------------------|-------------|
| | Testis | Serum | Testis | Serum | Testis | Serum |
| Control | 391.6±11.8 ¹ | 401.7±40.1 | ND ² | ND | ND | 339.2±147.2 |
| 100 | 376.0±10.2 | 356.3±17.4 | ND | ND | ND | 193.5±87.3* |
| 500 | 363.1±5.2 | 360.4±24.9 | ND | ND | ND | 138.2±65.4* |
| 1,000 | 336.6±8.9 | 329.4±44.5 | ND | ND | ND | 89.6±54.1* |

¹ Data were expressed as the mean±SD (n=5).

² ND: None detected.

* Significant difference between the control and treated groups at $p<0.05$.

綜合上述結果，本試驗評估VUKA水萃物經大量食用後，對於試驗動物之生理健康是否產生影響，結果顯示大鼠經以100、500、1,000 mg/kg BW不同劑量之VUKA水萃物連續餵飼7天後，處理組之大鼠體重以及心、肝、腎、脾、睪丸與副睪等臟器重量均與對照組無明顯差異，且臟器亦無明顯之病灶發生。血清中部分處理組關於肝與腎機能之生化檢測值相較於對照組則有顯著之差異，其他生化值則是沒有顯著差異，除了儘速釐清探討處理組與對照組間可能造成差異之因子外，並可再嘗試更長時程之28天餵飼試驗以確定VUKA水萃物之安全性。另外，在生殖功能評估方面，發現經餵食VUKA水萃物之大鼠精蟲濃度有顯著之增加，且血清中黃體素含量相較於對照組則有顯著之下降。由於動物試驗常會因個體本身差異造成誤差可能，所以處理重複數可以再嘗試更多，以期使結果誤差減少且可以更為客觀。

誌 謝

承蒙中興大學獸醫病理研究所廖俊旺博士惠借動物房及悉心指導試驗相關操作，以及獸病所研究生陳忠信先生與臺北縣衛生局檢驗科技士楊舒秦小姐鼎力協助，俾使本研究能順利完成，特申謝忱。

參考文獻

1. 郭肇凱、張隆仁、陳榮五、廖俊旺 2006 新引進藥用植物VUKA (*Mondia whitei* L.)對小鼠餵飼之安全性評估 臺中區農業改良場研究彙報 91: 21-29。
2. 曾麗娟、賴俊雄、廖俊旺、王順成 2001 鉛對雄性ICR小鼠睪丸之毒害 中華獸醫誌 27(2): 113-121。
3. 游明謙、李誌雄、賴呈委、江宜平、王櫻諭、許清祥 2003 保肝中藥提取物對半乳糖胺誘發急性肝細胞損傷之療效評估 中華醫學雜誌 14(2): 99-108。
4. 廖俊旺、王順成、劉新裕、黃振聲 2002 山藥冷凍乾燥粉對大鼠28天餵飼之安全評估 植物保護學會刊 44: 75-88。
5. 衛生署 1999 健康食品安全性評估方法 衛署食字第88037803號 臺北。
6. Barrat, C. L. R., A. D. Davis, M. R. Bansal and M. E. Williams. 1988. The effects of lead on the male rat reproductive system. *Andrologia*. 21: 161-166.
7. Copplestone, J. F. 1988. The development of the WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard. *Bull. WHO* 66: 545-551.
8. Environmental Protection Agency (EPA), Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances. 1998. Subchronic oral toxicity (rodent and non-rodent): 90-day study, 82-1, p. 66-75. In: *Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision F, Hazard Evaluation: Human and Domestic Animals. Serious 82, Subchronic Testing*, Washington, DC.

9. Latendresse, J. R., A. R. Warbritton, H. Jonassen and D. M. Creasy. 2002. Fixation of testes and eyes using a modified Davidson's fluid: comparison with Bouin's fluid and conventional Davidson's fluid. *Toxicol Pathol.* 30: 524-533.
10. Maxey, K. M., K. R. Maddipati and J. Birkmeier. 1992. Interference in enzyme immunoassays. *J. Clin. Immunoassay.* 15: 116-120.
11. Melendez, P., A. Donovan and J. Hernandez. 2000. Milk urea nitrogen and infertility in Florida Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 83: 459-463.
12. Oakberg, E. F. 1958. A description of spermitogenesis in the mouse and its use in analysis of the cycle of the seminiferous epithelium and germ cell renewal. *Am J. Anat.* 99: 391-413.
13. Pradelles, P., J. Grassi and J. A. Maclouf. 1985. Enzyme immunoassays of eicosanoids using acetylcholine esterase as label: An alternative to radioimmunoassay. *Anal. Chem.* 57: 1170-1173.
14. Scott, J. V. and P. J. Dziuk. 1959. Evaluation of the electroejaculation technique and the spermatozoa thus obtained from rats, mice and guinea pig. *Anat. Res.* 133: 655-664.
15. Watcho, P., P. Kamtchouing, S. Sokeng, P. F. Moundipa, J. Tanchou, J. L. Essame and N. Koueta. 2001. Reversible antispermatogenic and antifertility activities of *Mondia whitei* L. in male albino rat. *Ptythoter. Res.* 15: 26-29.
16. Witter, F. G., P. Gallardo, J. Reys and H. Opitz. 1999. Bulk milk urea concentrations and their relationships with cow fertility in grazing dairy herds in Southern Chile, *Prevent Vet. Med.* 38: 159-166.
17. Wyrobek, A. and W. R. Bruce. 1978. The induction of sperm-shape in mice and human. In: Chapter 5, "Chemical mutagens principles and methods for the detection." C. A. Hollanender. 257-280.
18. Yu, J. Y. L., C. K. Cheng, B. J. Chen, M. J. Cheng, H. H. Cheng, W. J. Chang, H. H. C. Chen, C. C. Hong, P. J. Lee, S. C. Liang, K. S. Sheu, Y. Y. Sung, C. N. Weng, C. W. Tsai, C. S. Wang, M. H. Wang, L. S. Yen, C. K. Yu and J. Y. L. Yu. 2004. A Guideline for the Care and Use of Laboratory Animals. Chinese Society for the Laboratory Animals Science, 2nd Edition, 207 pp. Taipei, Taiwan, ROC.

Physiological Safety and Reproductive Evaluations on A Seven-day Consecutive Feeding of *Mondia whitei* L. (VUKA) Water Extract to Male Rats¹

Khao-Kai Kuo², Jiunn-Wang Liao³, Long-Zen Chang² and Yung-Wu Chen²

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate physiological safety and reproductive function for a 7-day consecutive feeding of VUKA freeze-dried water extract in Sprague Dawley (SD) male rats. The VUKA extract was administered daily by gavage to each group at different doses of 0, 100, 500 and 1000 mg/kg BW for 7 days. Body and organ weights of different treatments had no significant difference ($p>0.05$) from control. Serum biochemical changes in liver such as aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) levels in treated rats showed significant decreases ($p<0.05$) as compared with of the control. Besides, albumin/globulin ratio (A/G ratio), blood urea nitrogen (BUN) and creatinine were comparable to those of control. But, the levels of γ -glutamyltranspeptidase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), cholesterol, triglyceride, total protein (TP), albumin, uric acid, sodium, potassium, chloride and calcium in serum had no significant differences ($p>0.05$) with those of the control. There were no significant lesions of testis and epididymis founded at gross and histopathological observation in the treated rats. For reproductive function versus control, concentrations of spermatozoa in all treatments showed significant increases ($p<0.05$), while progesterone in serum in all treatments had significant decrease ($p<0.05$). The results showed that feeding of VUKA freeze-dried water extract in male rats for 7 days had no toxic effects and did not affect the reproductive function of male rats. Further study will be carried out to find the phenomenon of lower progesterone value in treatment.

Key words: *Mondia whitei* (VUKA), 7-day consecutive feeding, rats, sperm, hormone

¹ Contribution No. 0670 from Taichung DARES, COA.

² DIRDS Research Assistant, Associate Agronomist and Director of Taichung DARES, COA.

³ Associate Professor, Graduate Institute of Veterinary Pathology, National Chung Hsing University.