

บทบาททางสรีรวิทยาของสารรบกวนการทำงานของฮอร์โมนอีควอลและผลกระทบต่อสุขภาพ

Physiological Roles of the Endocrine Disruptor Equol and Implications for Health

มัลลิกา สระศรี,¹ ประยูกต์ ศรีวิไล,² พนิดา เล้าชาญวุฒิ^{3*}

Mallika Srasri,¹ Prayook Srivilai,² Panida Loutchanwoot^{3*}

Received: 20 March 2013 ; Accepted: 5 June 2013

บทคัดย่อ

อีควอลเป็นหนึ่งในสารเมแทบอลิไทต์หลักของไดไซด์เซอิน ซึ่งเป็นไอโซฟลาโวนชนิดหลักที่พบมากในถั่วเหลือง ปัจจุบันพบว่าอีควอลจัดเป็นสารรบกวนการทำงานของฮอร์โมน เนื่องจากอีควอลสามารถจับอย่างจำเพาะเจาะจงกับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนได้ทั้งชนิดอัลฟาและบีตา ทำให้สามารถออกฤทธิ์เป็นได้ทั้งคล้ายหรือต้านฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่ใช้ ทั้งในสภาวะนอกและสภาวะในร่างกาย อีกประเด็นที่น่าสนใจคืออีควอลยังสามารถออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจนโดยแย่งจับกับตัวรับฮอร์โมนแอนโดรเจนและเข้าจับอย่างจำเพาะกับฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน นอกจากนี้อีควอลยังมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและลดระดับไขมันในซีรัม จากกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในลักษณะดังกล่าวทำให้มีการวิจัยถึงความเป็นไปได้อย่างต่อเนื่องในการนำอีควอลมาใช้ประโยชน์ในการแพทย์ทางเลือกเพื่อป้องกันหรือรักษาโรคที่เกิดขึ้นเนื่องจากฮอร์โมนเอสโตรเจนและฮอร์โมนแอนโดรเจน รวมทั้งช่วยป้องกันและลดอุบัติการณ์การเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ บทความนี้จึงมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อรวบรวมและทบทวนงานวิจัยต่างๆ ซึ่งเกี่ยวข้องกับแหล่งที่มา ฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และบทบาททางสรีรวิทยาของอีควอลต่อสุขภาพทั้งของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งความรู้ที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งทั้งต่อแพทย์และผู้ป่วยในแง่ของการตัดสินใจนำอีควอลไปใช้ประโยชน์ในการแพทย์ทางเลือกได้อย่างมั่นใจและปลอดภัยต่อสุขภาพโดยรวม

คำสำคัญ: ไอโซฟลาโวนในถั่วเหลือง ฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน ฤทธิ์ต้านฮอร์โมนเอสโตรเจน ฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มะเร็งที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนเพศ โรคหลอดเลือดหัวใจ

Abstract

Equol is a major bioactive metabolite of the principal soy isoflavone daidzein. Recently, it has been found that equol acts as an endocrine disruptor due to its ability to specifically bind to estrogen receptor both subtypes alpha and beta, and exerts either estrogenic or anti-estrogenic actions depending on the dose applied in both *in vitro* and *in vivo* assays. Of particular interest are the findings that equol has also anti-androgenic properties because it can compete with 5 α -dihydrotestosterone (DHT) for binding to androgen receptor, and thereby preventing the biological effects of DHT. In addition, equol possesses anti-oxidizing and serum lipid-lowering effects. Due to the mechanisms of action as mentioned above, many research studies have been performed on the potential use of equol in alternative medicine therapy for prevention and treatment of estrogen- and androgen-dependent diseases, and additionally prevention and reduction of the cardiovascular disease incidence. This review article is an attempt to compile and explore the scientific and medical evidences related to source, biological activity and mechanisms of action, and physiological roles of equol in both human and animal health. The obtained knowledge would be useful for the physicians and patients to decide with full confidence for utilizing equol as an alternative endocrine-active chemical with safety for overall health.

Keywords: soy isoflavones, estrogenic effect, anti-estrogenic effect, anti-androgenic effect, anti-oxidizing effect, sex hormone-dependent cancers, cardiovascular disease

¹ นิสิตปริญญาโท, ²ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ³อาจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

¹ Master degree, ²Assistant Professor, ³Lecturer, Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Khamriang Sub-district, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand

* Corresponding Author: Panida Loutchanwoot (Ph.D.), Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Mahasarakham Province 44150, Thailand. E-mail address: panida.l@msu.ac.th; Alternate E-mail address: oupanida@hotmail.com

บทนำ

สารเคมีที่พบในสิ่งแวดล้อมจำนวนมากจัดเป็นสารรบกวนการทำงานของฮอร์โมน (endocrine disruptors) ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์^{1,2} ปัจจุบันมีการศึกษาอย่างแพร่หลายถึงโครงสร้างและกลไกออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารรบกวนการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งอาจเป็นสารเคมีที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้นเองที่เรียกว่าซีนีโอเอสโตรเจน (xenoestrogens) ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ หรือยากำจัดวัชพืชและศัตรูพืช หรืออาจเป็นสารเคมีที่พบอยู่ในพืชตามธรรมชาติที่เรียกว่า ไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogens)^{3,4}

ไฟโตเอสโตรเจนเป็นสารประกอบที่พบในพืชและเมล็ดพืชหลายชนิด แต่มีลักษณะโครงสร้างโมเลกุลและกลไกการออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน^{5,6} หนึ่งในกลุ่มของไฟโตเอสโตรเจนที่สำคัญ คือ ไอโซฟลาโวน (isoflavones) ซึ่งชนิดหลักที่พบปริมาณมากในถั่วเหลือง ได้แก่ เจนิสเทอีน (genistein) และไดไซด์เซอีน (daidzein) ซึ่งมีเมแทบอลิท์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดหลัก คือ อีควอล (equol) ซึ่งได้จากการย่อยของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่^{7,8} อีควอลถูกค้นพบเป็นครั้งแรกในกระแสน้ำและปัสสาวะของมนุษย์ในปริมาณมากแสดงให้เห็นว่าอีควอลเป็นไอโซฟลาโวนชนิดหลักที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างแท้จริงและมากที่สุดภายในร่างกายของมนุษย์^{9,10} โดยอีควอลมีคุณสมบัติพิเศษเฉพาะตัวคือสามารถจับกับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen receptor; ER) ได้ทั้งชนิดบีตา (ER β) และอัลฟา (ER α)^{11,12} และสามารถออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนได้อย่างอ่อนทั้งในสภาวะนอกร่างกาย (*in vitro*)¹³⁻¹⁷ และสภาวะในร่างกาย (*in vivo*)^{12,15,18-22} นอกจากนี้อีควอลยังจับกับตัวรับฮอร์โมนแอนโดรเจน (androgen receptor; AR)²³ และเข้าจับอย่างจำเพาะกับฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน (5 α -dihydrotestosterone; DHT) ทำให้สามารถออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน ทั้งในสภาวะนอกร่างกาย^{24,25} และสภาวะในร่างกาย^{25,26} จึงทำให้อีควอลมีผลต่อการควบคุมการทำงานของฮอร์โมนเพศภายในร่างกาย^{27,28} และลดความเสี่ยงของอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนเพศ เช่น มะเร็งเต้านม^{23,27} และมะเร็งต่อมลูกหมาก²⁴⁻²⁶ เป็นต้น อีกทั้งอีควอลยังมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ²⁹ สามารถป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและโรคความดันโลหิตสูง^{29,30}

จากข้อมูลการวิจัยคุณสมบัติของอีควอลทำให้ในปัจจุบันทั้งแพทย์ผู้รักษาและผู้ป่วยส่วนใหญ่ที่อยู่ในวัยทองหันมาสนใจและมองหการรักษาแบบการแพทย์ทางเลือกโดยมีแนวโน้มและโอกาสสูงมากในการนำอีควอลมาใช้ทดแทนฮอร์โมนสังเคราะห์ในการรักษาทางคลินิกและพัฒนาใช้เป็นเวชภัณฑ์และผลิตภัณฑ์อาหารเสริมที่เกี่ยวข้องกับ

การเสริมสุขภาพ ความต้องการทางเพศและการทำงานของระบบสืบพันธุ์ที่มีมาตรฐานและความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสูงสุด แต่อย่างไรก็ตามการนำเอาอีควอลไปใช้ประโยชน์ยังไม่มีการกำหนดและการควบคุมที่ชัดเจนเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค บทความนี้จึงมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อรวบรวมและทบทวนเอกสารงานวิจัยต่างๆ ซึ่งเกี่ยวข้องกับแหล่งที่มา ฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และบทบาททางสรีรวิทยาของอีควอลต่อสุขภาพทั้งของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งความรู้ที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งทั้งต่อแพทย์และผู้ป่วยในแง่ของการตัดสินใจนำเอาอีควอลไปใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ทางเลือกเพื่อรักษาและป้องกันอาการความผิดปกติและโรคต่างๆ รวมทั้งมะเร็งที่เกิดขึ้นเนื่องมาจากฮอร์โมนเพศได้อย่างมั่นใจและปลอดภัยต่อสุขภาพโดยรวมมากยิ่งขึ้น

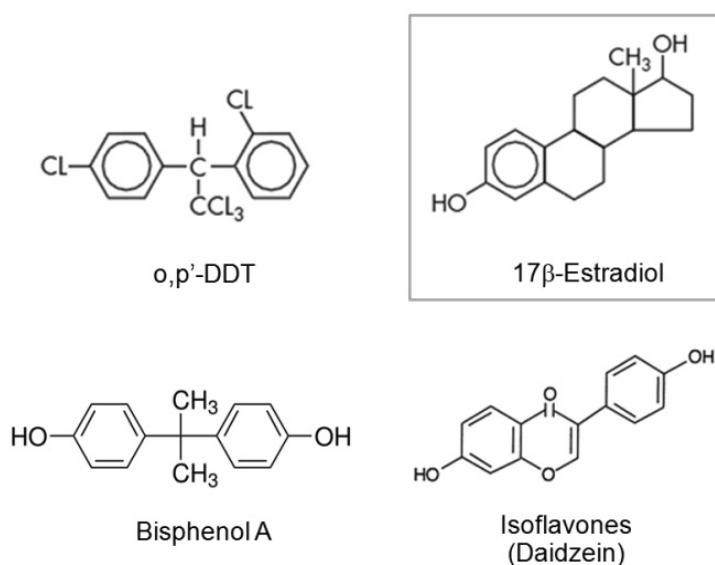
1. สารรบกวนการทำงานของฮอร์โมน

ในปี ค.ศ. 1996 สหภาพยุโรปและองค์การอนามัยโลกได้ให้คำจำกัดความของสารรบกวนการทำงานของฮอร์โมนว่าเป็นสารเคมีต่างๆ จากภายนอกร่างกายที่มีผลต่อสุขภาพของสิ่งมีชีวิตที่ได้รับสาร หรือรบกวนกลไกของสิ่งมีชีวิตนั้น โดยมีผลปรับเปลี่ยนหน้าที่การทำงานของฮอร์โมนชนิดต่างๆ ภายในร่างกาย^{1,2,31} ต่อมาในปี ค.ศ. 2003 องค์การพิทักษ์สิ่งแวดล้อมแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (United States Environmental Protection Agency) ได้กำหนดคำนิยามของสารรบกวนการทำงานของฮอร์โมนว่าเป็นสารที่ได้รับจากภายนอกร่างกายที่มีผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์ การหลั่ง การขนส่ง เมแทบอลิซึม กลไกการออกฤทธิ์ หรือกระบวนการกำจัดของฮอร์โมนที่มีอยู่ตามธรรมชาติภายในร่างกาย โดยสารนั้นยังมีผลต่อกลไกของภาวะธำรงดุล การสืบพันธุ์ และกระบวนการเจริญพัฒนาของสิ่งมีชีวิต^{2,3,4}

สารรบกวนการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นสารเคมีที่มีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยเฉพาะชนิด 17 บีตา-เอสตราไดออล (17 β -estradiol; E₂) (Figure 1) จึงทำให้สามารถออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนได้^{3,4,32} สารรบกวนการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจนสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ (Table 1) ได้แก่ 1) ซีนีโอเอสโตรเจน เช่น สารเคมีที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ต่างๆ ได้แก่ โพลีคลอริเนตไบฟีนิล (polychlorinated biphenyls; PCBs) และอุตสาหกรรมการผลิตพลาสติกและพลาสติกภัณฑ์ ได้แก่ บิสฟีนอล เอ (bisphenol A; BPA) และฟทาเลท (phthalates) หรือสารเคมีกำจัดวัชพืชและศัตรูพืช เช่น วินโคลโซลิน (vinclozolin) และไดคลอโรไดฟีนิลไตรคลอโรอีเทน (dichlorodiphenyltrichloroethane; DDT) เป็นต้น และ 2) ไฟโตเอสโตรเจน เช่น คูเมสแทน (coumestans) และไอโซฟลาโวน เป็นต้น

Table 1 Two major groups of estrogen disruptors and the members of each group^{4,34}

Estrogen disruptors	
Xenoestrogens	Phytoestrogens
Crop protection chemicals	Flavonoids
2,4 Dichlorophenoxyacetic acid	Isoflavones
Hexachlorobenzene	Genistein
Tributyltin	Daidzein
Vinclozolin	Glycetin
Dichlorodiphenyltrichloroethane	Biochanin A
Aldrin	Coumestans
Industrial chemicals	Coumestrol
Bisphenol A	Prenyl flavonoids
Alkylphenols	8-Prenylnaringenin
Phthalates	Xanthohumol
	Non-flavonoids
	Lignans
	Lariciresinol
	Matairesinol
	Secoisolariciresinol
	Enterodiol
	Enterolactone

**Figure 1** The structural similarities of two examples of xenoestrogens, dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and bisphenol A, and the soy isoflavonic phytoestrogen daidzein to 17β -estradiol³

2. ไฟโตเอสโตรเจน

ไฟโตเอสโตรเจนพบได้ในพืชและเมล็ดธัญพืชหลายชนิดแต่มีมากที่สุดที่สุดในพืชตระกูลถั่ว^{32,33} โดยเฉพาะถั่วเหลืองสามารถออกฤทธิ์เหมือนหรือคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน แต่ได้ในระดับที่ต่ำกว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนของมนุษย์ โดยอยู่ในช่วงระหว่าง 1/500 ถึง 1/1000 เท่าของฤทธิ์ของฮอร์โมน 17 บีตา-เอสตราไดออล โดยจับกับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนภายในเซลล์ร่างกายได้ทั้งชนิด ER α และ ER β ^{8,10,11,34}

ไฟโตเอสโตรเจนจัดอยู่ในกลุ่มใหญ่ของสารประกอบฟีนอลิกชนิด Substituted phenolic compounds ที่เรียกว่า ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สามารถแบ่งออกเป็นสารประกอบ 2 กลุ่ม (Table 1) ได้แก่ 1) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ประกอบด้วยสารประกอบ 3 กลุ่มย่อย ได้แก่ 1.1) ไอโซฟลาโวน เช่น เจนิสเทอิน และดาอิดเซอิน ซึ่งพบมีปริมาณมากที่สุดในถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์ที่ทำจากถั่วเหลือง 1.2) สารกลุ่มคูเมสแทน ได้แก่ คูเมสทรอล (coumestrol) ซึ่งพบในถั่วอกหญ้าแห้ง และอัลฟัลฟา (alfalfa) และ 1.3) สารกลุ่มเพรนิลฟลาโวนอยด์ (prenyl flavonoids) เช่น 8-เพรนิลนารินจีนิน (8-prenylnaringenin) และแซนโทฮูมอล (xanthohumol) และ 2) สารกลุ่มที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ (non-flavonoids) ได้แก่ สารกลุ่มลิกแนน (lignans) เช่น ลาริซิเรซินอล (lariciresinol) มาไทเรซินอล (matairesinol) และซีโคไอโซลาริซิเรซินอล (secoisolariciresinol) ซึ่งพบมีปริมาณมากในเมล็ดของต้นแฟลกซ์ (flax) ผักและผลไม้^{32,33,34}

จากคุณสมบัติการออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนของไฟโตเอสโตรเจน ปัจจุบันจึงมีการนำไฟโตเอสโตรเจนมาใช้ทดแทนฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ในการรักษาแบบให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนทดแทน (estrogen replacement therapy) และบรรเทาอาการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการหมดประจำเดือน (menopausal symptoms) เช่น นอนไม่หลับ ร้อนวูบวาบ (hot flashes) อาการแปรปรวน รวมทั้งอาการและโรคต่างๆ ที่เกิดขึ้นเนื่องจากภาวะชราภาพ เช่น โรคกระดูกพรุน โรคหลอดเลือดหัวใจอันเนื่องมาจากการสะสมของไขมันในหลอดเลือดสูง และโรคที่เกิดขึ้นจากภาวะเสื่อมของระบบประสาท เช่น โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) และโรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) เป็นต้น^{34,35} นอกจากนี้การบริโภคไฟโตเอสโตรเจนในปริมาณสูงมีผลลดอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งมดลูก มะเร็งรังไข่ มะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งต่อมลูกหมาก^{36,37,38} เนื่องจากไฟโตเอสโตรเจนมีผลลดความเข้มข้นของฮอร์โมนเพศในกระแสเลือด และเพิ่มความ

เข้มข้นของโปรตีนที่จับฮอร์โมนเพศ (sex hormone binding globulin; SHBG) ในซีรัม^{31,34} นอกจากนี้ไฟโตเอสโตรเจนยังสามารถออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยแย่งจับกับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนภายในร่างกาย ทำให้การออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจนลดลง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไฟโตเอสโตรเจนในซีรัม^{38,39}

3. ชีวิตวิทยาของไอโซฟลาโวน

ไอโซฟลาโวนพบมากในถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์ที่ทำจากถั่วเหลือง^{32,33} โดยส่วนใหญ่พบอยู่ในรูปกลัยโคไซด์ (glycoside) ได้แก่ ดาอิดซิน (daidzin) และเจนิสทิน (genistin) ซึ่งไม่สามารถถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดโดยตรง เนื่องจากกลัยโคไซด์มีคุณสมบัติที่สร้างพันธะกับโมเลกุลของน้ำได้ดี และมีมวลโมเลกุลสูง^{7,8,39} จึงต้องมีกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของกลัยโคไซด์เป็นอะกลัยโคน (aglycone) ด้วยปฏิกิริยาดีกลัยโคซิเลชัน (deglycosylation) โดยเกิดผ่านวิถีบีตา-กลัยโคซิเดส (β -glycosidase) ของแบคทีเรียภายในลำไส้ใหญ่ ซึ่งจัดเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญ โมเลกุลอะกลัยโคนที่ได้ ได้แก่ ดาอิดเซอิน และเจนิสเทอิน ซึ่งสามารถถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดและออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายในร่างกาย^{7,8,32,39,40} โดยจับกับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และสามารถออกฤทธิ์ได้ทั้งคล้ายและต้านฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเอสโตรเจน รวมทั้งปริมาณและชนิดของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่มีอยู่ในร่างกาย^{3,4,32,41}

4. ขบวนการเมแทบอลิซึมของดาอิดเซอินและการผลิตอีควอลภายในร่างกาย

ดาอิดเซอินสามารถถูกย่อยต่อโดยการทำงานของเอนไซม์จากแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ได้เป็นไดไฮโดรดาอิดเซอิน (dihydrodaidzein) ซึ่งสามารถถูกเปลี่ยนเป็นออโรเดสเมทิลแองโกเลนซิน (*O*-desmethylangolensin; *O*-DMA) 20 เปอร์เซ็นต์ และอีควอล 70 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2)^{7,8,39} โดยพบว่าอีควอลสามารถถูกดูดซึมผ่านผนังลำไส้ใหญ่ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าดาอิดเซอิน³⁹ และคงอยู่ในพลาสมาได้นานกว่าดาอิดเซอิน ความเข้มข้นของอีควอลในพลาสมามีเล็กน้อยที่เวลา 4 ชั่วโมง จนกระทั่งมีความเข้มข้นสูงสุดที่เวลา 24 ชั่วโมงภายหลังขบวนการย่อยดาอิดเซอิน และค่อยๆ ลดลง แต่ยังคงอยู่ในพลาสมาเป็นเวลา 48 ชั่วโมงหลังจากสิ้นสุดขบวนการ นอกจากนี้ขบวนการเมแทบอลิซึมของดาอิดเซอินยังมีวิถีรองโดยผ่านปฏิกิริยาการเติมหมู่ไฮดรอกซิล โดยอาศัยเอนไซม์ไซโตโครมพี 450 (cytochrome P450) จากตับ⁴²

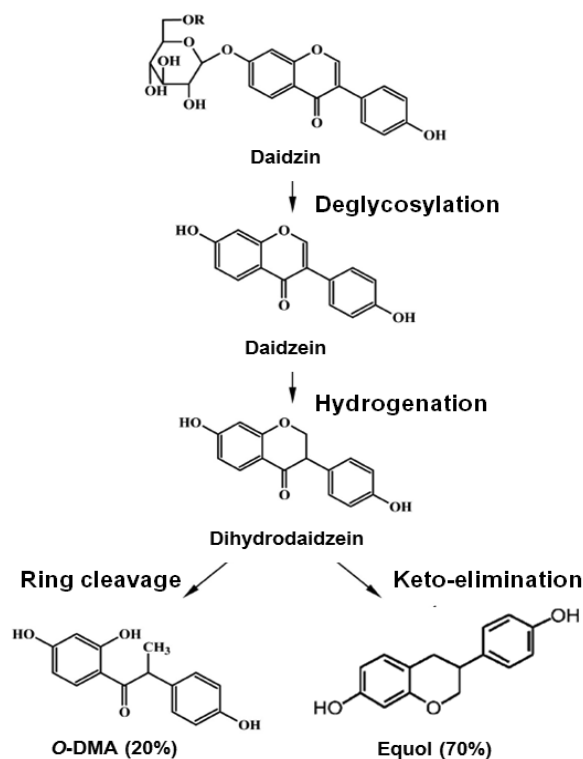


Figure 2 Biodegradation of the soy isoflavonic phytoestrogen daidzein by intestinal bacteria^{39,43}

แต่อย่างไรก็ตาม บุคคลที่บริโภคถั่วเหลืองมีความสามารถในการผลิตอีควอลได้แตกต่างกัน ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากการตอบสนองของแบคทีเรียภายในลำไส้ต่างกัน^{43,44} โดยพบว่า มีเฉพาะแบคทีเรียบางสายพันธุ์เท่านั้นที่มีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของไดอิดเซอินเป็นอีควอลได้^{8,43,44} (Table 2)

5. ชีวเคมีของอีควอล

อีควอลมีชื่อในระบบ IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) คือ 3-(4-hydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-chroman-7-ol สูตรโครงสร้างโมเลกุลคือ $C_{15}H_{14}O_3$ และมีมวลโมเลกุลเท่ากับ 242.27 กรัมต่อโมล อีควอลถูกค้นพบครั้งแรกในปัสสาวะของม้าที่ตั้งครรภ์^{8,45} และถูกค้นพบเป็นครั้งแรกในกระแสเลือดและปัสสาวะของมนุษย์ในปริมาณมากในปี ค.ศ. 1982 จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอีควอลเป็นไอโซฟลาโวนชนิดหลักที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างแท้จริงและออกฤทธิ์ได้มากกว่าสารตั้งต้นภายในร่างกายของมนุษย์และสัตว์^{9,10}

Table 2 List of intestinal bacteria that can biotransform daidzein to equol⁸

Bacteria strain	Source
<i>Adlercreutzia equolifaciens</i>	Human
<i>Asaccharobacter celatus</i> AHU1763	Rat
<i>Asaccharobacter celatus</i> gen, nov. sp. nov strain DO03	Rat
<i>Bacteroides ovatus</i>	Rat
<i>Bifidobacterium</i> sp.	Rat
<i>Bifidobacterium animalis</i>	Pure culture
<i>Coriobacteriaceae</i> sp. MT1B9	Mouse
<i>Eggerthella</i> sp. YY7918	Human
<i>Enterococcus faecium</i> EP11	Human
<i>Eubacterium</i> sp. D1 and D2	Pig
<i>Finegoldia magna</i>	Human
<i>Lactobacillus mucosae</i> EP12	Human
<i>Lactobacillus</i> sp. Niu-O16	Human
<i>Lactococcus garvieae</i> (Lc 20-92)	Human
<i>Ruminococcus productus</i>	Human
<i>Slackia</i> sp. HE8	Human
<i>Slackia equolifaciens</i> (Strain DZE)	Human
<i>Streptococcus intermedius</i>	Human
<i>Veillonella</i> sp.	Human
<i>Finegoldia magna</i> EP13	Human

อีควอลมีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจนโดยเฉพาะชนิด 17 บีตา-เอสตราไดออล^{8,9,39} (Figure 3) โดยมีคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 เป็นศูนย์ไครัล (chiral center) อยู่หนึ่งตำแหน่งจึงทำให้อีควอลมีโครงสร้างที่เป็นสเตอริโอไอโซเมอร์ (stereoisomer) ได้ 2 แบบ ซึ่งประกอบด้วยเอแนนทิโอเมอร์ (enantiomer) ของ *R*-(+)-equol และ *S*-(-)-equol 1 คู่ (Figure 4) และสามารถจับกับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนได้ทั้งชนิด ER α และ ER β ^{8,11,13,24,27} แต่พบว่า *S*-(-)-equol มีประสิทธิภาพในการจับกับ ER ได้มากกว่า *R*-(+)-equol และสามารถออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนได้อย่างอ่อนทั้งในสภาวะนอกร่างกาย¹³⁻¹⁷ และสภาวะในร่างกาย^{12,15,18-22} นอกจากนี้ยังสามารถจับกับ AR²³ และออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจนทั้งในสภาวะนอกร่างกาย^{24,25} และสภาวะในร่างกาย^{25,26}

โดย S-(-)equol สามารถพบในร่างกายมนุษย์และสัตว์ที่มีแบคทีเรียภายในลำไส้ที่สามารถเปลี่ยนตาอิตเซอินเป็นอีควอลได้ ส่วน R-(+)equol ไม่สามารถผลิตขึ้นจากร่างกายมนุษย์และสัตว์ แต่สามารถสังเคราะห์ขึ้นในห้องปฏิบัติการ

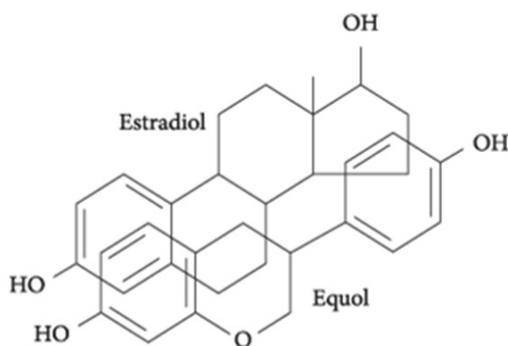


Figure 3 The structural similarities of equol to 17 β -estradiol. All the structures possess the phenolic and hydroxyl moieties and the distances between the two groups in each compound are similar⁴⁶

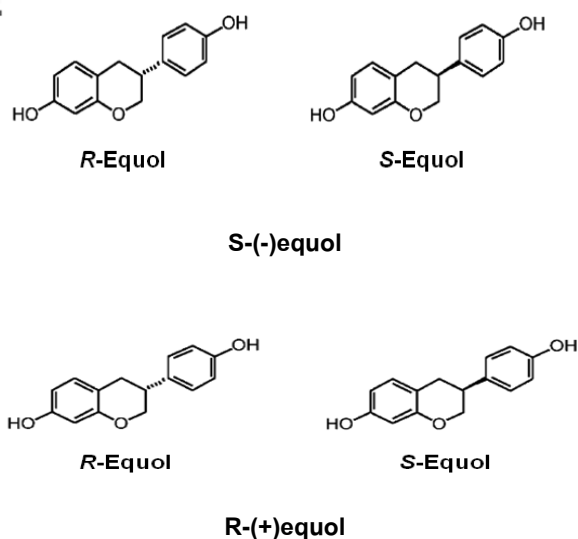


Figure 4 A comparison of the conformation structures of enantiomer S-(-)equol and R-(+) equol¹¹

6.ฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและทางเภสัชวิทยาของอีควอล

6.1 ผลของอีควอลต่อการควบคุมการทำงานของและสมดุลของฮอร์โมนเพศภายในร่างกายและการลดความเสี่ยงของอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนเพศ

อีควอลมีความสำคัญต่อการควบคุมการทำงานของและสมดุลของฮอร์โมนเพศภายในร่างกาย^{22,27} จากข้อมูลงานวิจัยพบว่าการหลั่งอีควอลออกทางปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับปริมาณการไหลเวียนของฮอร์โมนเอสโตรเจนในร่างกาย อีกทั้งยังมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับของโปรตีนที่จับฮอร์โมนเพศ²⁸ โดยพบว่าบุคคลที่สามารถผลิตอีควอลในร่างกายมีระดับของฮอร์โมนชนิดต่างๆ ได้แก่ เทสโทสเตอโรน (testosterone) เอสโตรน (estrone) เอสโตรน ซัลเฟต (estrone sulfate) โพรแลคติน (prolactin) แอนโดรสติไนไดโอน (androstenedione) ดีไฮโดรอีพีแอนโดรสเตอโรน (dehydroepiandrosterone; DHEA) ดีไฮโดรอีพีแอนโดรสเตอโรน ซัลเฟต (DHEA sulfate) คงที่ แต่มีระดับของฮอร์โมนคอร์ติซอล (cortisol) ลดลง และมีระดับของโปรตีนที่จับฮอร์โมนเพศและฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone) ในช่วงกลางของระยะลูทีล (luteal phase) สูงขึ้น จึงทำให้รอบเดือนมีแนวโน้มยาวนานขึ้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ทำให้อีควอลสามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมได้²⁸ การศึกษาความสัมพันธ์ของระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเพศและโปรตีนที่จับฮอร์โมนเพศในซีรัมและสารเมแทบอลิท์ของฮอร์โมนเอสโตรเจน ในปัสสาวะต่อความสามารถของการเกิดขบวนการเมแทบอลิซึมของตาอิตเซอินในผู้หญิงวัยหลังหมดประจำเดือน พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเพศและโปรตีนที่จับฮอร์โมนเพศในซีรัมของบุคคลที่สามารถผลิตอีควอลได้ จากข้อมูลงานวิจัยข้างต้นจึงสรุปได้ว่าความแตกต่างของชนิดและสายพันธุ์แบคทีเรียในลำไส้ของแต่ละบุคคลมีผลต่อความแตกต่างในขบวนการเมแทบอลิซึมของฮอร์โมนเพศในผู้หญิงวัยหลังหมดประจำเดือน⁴⁷

ฮอร์โมนเอสโตรเจนสามารถกระตุ้นการเกิดและการเจริญพัฒนาของเซลล์มะเร็งได้ เนื่องจากสารที่ได้จากขบวนการเมแทบอลิซึมของฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นปัจจัยหนึ่งของการเจริญพัฒนาของเซลล์มะเร็งเต้านม โดยพบว่า 16 อัลฟา-ไฮดรอกซีเอสโตรน (16 α -hydroxyestrone) สามารถจับกับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนได้ โดยส่งผลเพิ่มขบวนการการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ผิดปกติ โดยพบปริมาณของ 16 อัลฟา-ไฮดรอกซีเอสโตรน เพิ่มขึ้นประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ในผู้หญิงวัยหลังหมดประจำเดือน ซึ่งป่วยด้วยมะเร็งเต้านม⁴⁸ การศึกษา

ทางระบาดวิทยายังพบความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนที่ลดลงของ 2-ไฮดรอกซีเอสโตรเจน (2-hydroxyestron) ต่อ 16 อัลฟาไฮดรอกซีเอสโตรเจนในปัสสาวะกับการเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งเต้านม⁴⁸ Atkinson และคณะ (2003)⁴⁹ พบว่าอีควอลมีความสัมพันธ์กับอัตราส่วนดังกล่าวโดยแบคทีเรียภายในลำไส้ที่สามารถผลิตอีควอลได้อาจเกี่ยวข้องกับขบวนการเมแทบอลิซึมของเอสโตรเจน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการบริโภคถั่วเหลืองในปริมาณสูงเป็นประจำสามารถเพิ่ม อัตราส่วนนี้ได้⁴⁹ แต่เนื่องจากไอโซฟลาโวนที่พบในถั่วเหลืองมีโครงสร้างโมเลกุลและคุณสมบัติการออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน จึงเพิ่มความเสี่ยงต่อการที่ร่างกายได้รับไอโซฟลาโวนในปริมาณสูงซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อกระบวนการเจริญพัฒนาของเซลล์มะเร็งมดลูกและมะเร็งเต้านมได้ แต่จากการประเมินผลของการได้รับอีควอลในขนาดสูง (1,020 มิลลิกรัมต่อตัวต่อวัน) ต่อการเจริญเติบโตของอวัยวะในระบบสืบพันธุ์และต่อมน้ำนมของลิงไซโนโมลกัส (cynomolgus monkey) เพศเมียเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าน้ำหนักของมดลูก ความหนาของเยื่อบุผิวชั้นในมดลูก บริเวณที่เป็นต่อมเยื่อบุผิวชั้นนอกของมดลูก และขนาดของต่อมน้ำนมไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการได้รับอีควอลในขนาดสูงส่งผลน้อยมากต่อการเจริญเติบโตของมดลูกและต่อมน้ำนมในกลุ่มไพรเมตต้นแบบที่อยู่ในวัยหลังหมดประจำเดือน²¹

6.2 ฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์คล้ายและต้านฮอร์โมนเอสโตรเจนของอีควอล

จากการศึกษาสภาวะนอกร่างกายโดยเทคนิค Competitive radiometric binding assay โดยใช้เซลล์มะเร็งเยื่อบุผิวชั้นในมดลูกของมนุษย์ (human endometrial carcinoma (HEC-1) cell) ซึ่งถูกถ่ายฝากด้วยพลาสมิดที่ประกอบด้วยยีน ER β หรือยีน ER α และยีนรายงานผล (luciferase reporter gene) โดยเฉพาะเลี้ยงเซลล์ HEC-1 ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ผสมฮอร์โมน 17 บีตา-เอสตราไดอลและอีควอลเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าอีควอลสามารถจับกับตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนได้ทั้งชนิด ER β และ ER α โดยสามารถจับกับ ER β ได้ดีกว่า ER α แต่ยังมีประสิทธิภาพในการจับน้อยกว่าฮอร์โมน 17 บีตา-เอสตราไดอล¹¹ (Figure 5) นอกจากนี้จากการศึกษาโดยใช้เทคนิค Cell proliferation assay พบว่าอีควอลสามารถกระตุ้นการเจริญและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนของเซลล์สายพันธุ์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ที่ตอบสนองต่อฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจน (human breast adenocarcinoma cell line; MCF-7) และเซลล์สายพันธุ์มะเร็งเยื่อบุผิวชั้นในมดลูกของมนุษย์ (Ishikawa cells)^{15,17} ซึ่งทั้งเซลล์ MCF-7 และ Ishikawa ประกอบด้วยตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนทั้ง 2

ชนิด ดังนั้นจึงจัดเป็นเซลล์เป้าหมายที่ตอบสนองต่อฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจน ข้อมูลงานวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นว่าอีควอลสามารถออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนได้อย่างอ่อนโยนโดยการทำงานผ่าน ER β และ ER α

เมื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของดาอิดเซอินและอีควอลต่อการเจริญพัฒนาของเซลล์ MCF-7¹⁵ พบว่าอีควอลและดาอิดเซอินที่ระดับความเข้มข้นต่ำสามารถกระตุ้นการเจริญและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 ได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 1 μ M ทำให้มีจำนวนของเซลล์ MCF-7 สูงสุด ส่วนที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 1 μ M สามารถยับยั้งการเจริญและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 โดยอีควอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากกว่าดาอิดเซอิน นอกจากนี้อีควอลที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 1 μ M ยังส่งผลกระทบต่อเร่งเข้าสู่ระยะสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA synthetic phase หรือ S-phase) ในวัฏจักรเซลล์ของเซลล์ MCF-7 โดยผ่านวิถีนำส่งสัญญาณภายนอกเซลล์โดยการควบคุมของเอนไซม์ไคเนส (extracellular-signal regulated kinase 1/2) ส่งผลให้เกิดการเจริญและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 มากขึ้น¹⁶ ซึ่งผลดังกล่าวสามารถถูกหักล้างโดยการให้อีควอลและดาอิดเซอินควบคู่ไปกับสารต้านตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนชนิด α (ER α antagonists) ได้แก่ ICI 182,780 และ 4-ไฮดรอกซีทาม็อกซิเฟน (4-hydroxytamoxifen) แสดงให้เห็นว่าอีควอลออกฤทธิ์โดยผ่านการทำงานของ ER α โดยการได้รับอีควอลเป็นระยะเวลานานไม่ส่งผลกระทบต่อกระตุ้นการเจริญและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนของเซลล์ MCF-7 ซึ่งให้ผลตรงกันข้ามกับดาอิดเซอิน¹⁵ จึงสรุปได้ว่าอีควอลสามารถออกฤทธิ์เป็นได้ทั้งคล้ายและต้านฤทธิ์ฮอร์โมนเอสโตรเจน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของอีควอลที่ได้รับ

จากการศึกษาสภาวะในร่างกายพบว่าอีควอลสามารถออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยมีผลกระทบต่อมดลูกซึ่งเป็นอวัยวะหลักที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนเอสโตรเจนให้มีการเจริญเติบโตทั้งด้านน้ำหนัก การเจริญและแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อบุผิวมดลูกและเพิ่มความหนาของเยื่อบุโพรงมดลูกชั้นในทั้งในหนูแรท หนูเม้าส์และลิงที่ดัดแปลง¹²⁻¹⁵ นอกจากนี้อีควอลยังมีผลเพิ่มความหนาของเยื่อบุช่องคลอดและเพิ่มการเกิด Cornification ของเซลล์เยื่อบุผิวช่องคลอดของหนูเม้าส์ที่ดัดแปลง¹² และเพิ่มจำนวนของพู่ของต่อมน้ำนมในหนูแรท⁵⁰ และลิงที่ดัดแปลง²¹ โดยการให้หนูแรทที่ดัดแปลงได้รับประทานอาหารที่มีอีควอลผสมอยู่เป็นระยะเวลา 3 เดือน มีผลทำให้ระดับการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่น ยีน ER α ยีน ER β ยีน TERP-1 (truncated estrogen receptor product-1) และยีน PR (pro-

gesterone receptor) ในมดลูก ต่อม้าน้ำนม และต่อมพิทูอิทารี คล้ายกับผลของฮอร์โมนเอสโตรเจน^{18,19,51} จากผลการวิจัยข้างต้นแสดงให้เห็นว่าอีควอลสามารถออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนโดยผ่านการทำงานของ ER และให้ผลทางสรีรวิทยาต่อการเปลี่ยนแปลงของขนาด น้ำหนัก และระดับการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนเอสโตรเจนของอวัยวะเป้าหมายภายในร่างกายของสัตว์เพศเมียชนิดดังกล่าวข้างต้นได้

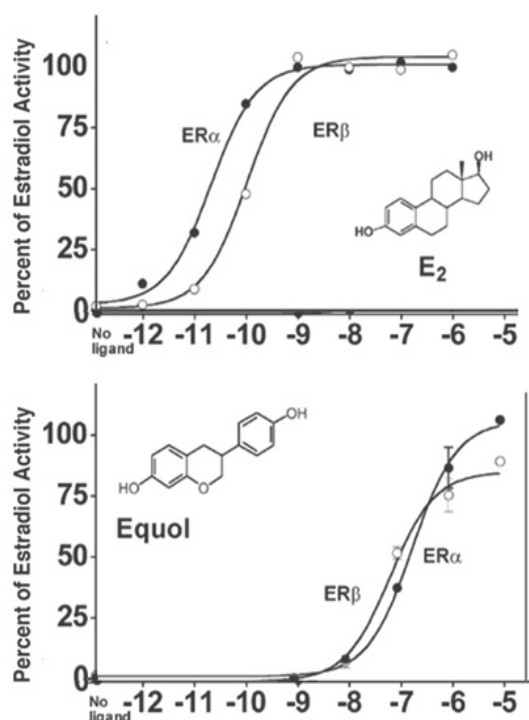


Figure 5 Dose-response curve for transcriptional activation by equol in comparison to 17β-estradiol (E₂). In each case, the solid circles are for ERα and the hollow circles are for ERβ.¹¹

6.3 ฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจนของอีควอล

จากข้อมูลงานวิจัยในปัจจุบันพบว่าอีควอลสามารถจับกับ AR ได้²³ และสามารถจับอย่างจำเพาะเจาะจงกับฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน ซึ่งเป็นฮอร์โมนแอนโดรเจนที่ออกฤทธิ์หลักชนิดหนึ่งในร่างกายของมนุษย์ แต่ไม่สามารถจับกับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน และฮอร์โมน 17 บีตา-เอสตราไดออล ทำให้ฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรนไม่สามารถจับกับ AR และออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ ซึ่งฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรนจัดเป็นฮอร์โมนชนิดหลักที่สำคัญต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต่อมลูกหมากและอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์เพศชายโดยตรง เช่น อพิดีไดมัส^{25,26}

และเซมินัล เวสิเคิล²² จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าประชากรชายชาวเอเชียสุขภาพดีที่บริโภคไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองปริมาณสูงเป็นประจำมีอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งต่อมลูกหมากต่ำกว่าประชากรชายที่อาศัยอยู่ในซีกโลกตะวันตก^{24,39,52} โดยพบว่ามีระดับความเข้มข้นของอีควอลอยู่ในช่องเหลวของต่อมลูกหมากมากกว่าพลาสมา ซึ่งเป็นการเพิ่มการออกฤทธิ์ของอีควอลต่อต่อมลูกหมากโดยตรง^{52,53}

จากการศึกษาสภาวะนอกร่างกายพบว่าอีควอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเยื่อบุต่อมลูกหมากของมนุษย์ (benign human prostatic epithelial cell; PREC)^{24,52} และเซลล์สายพันธุ์มะเร็งต่อมลูกหมาก (lymph-node carcinoma of the prostate cell; LNCap cell) อีกทั้งยังสามารถลดระดับสารบ่งชี้มะเร็งต่อมลูกหมาก (prostate-specific antigen; PSA) ที่สร้างจากเซลล์ LNCap ภายใต้สภาวะการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน²⁵

จากการศึกษาสภาวะในร่างกายพบว่าอีควอลสามารถยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต่อมลูกหมาก อพิดีไดมัส^{25,26} และเซมินัล เวสิเคิล²² โดยมีผลทำให้น้ำหนักกดของอวัยวะเหล่านี้ลดลงในหนูแรชเช่นเดียวกับการได้รับยาสังเคราะห์ชนิดอื่นที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดที่เรียกว่า 5 อัลฟา-รีดักเทส (5α-reductase) ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเป็นฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน โดยอีควอลเป็นเพียงตัวยับยั้งการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรนภายในเซลล์และอวัยวะเป้าหมายเท่านั้น ทำให้ฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรนไม่สามารถเข้าจับกับ AR ได้ โดยไม่มีผลต่อขบวนการสังเคราะห์ฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรนในร่างกาย^{24,25,54} คุณสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของอีควอลในประเด็นนี้จึงทำให้ปัจจุบันอีควอลถูกจัดอยู่ในกลุ่มของสารออกฤทธิ์ต้านหรือยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนแอนโดรเจน (anti-androgen) (US Patent 2006/0122262)⁹ และมีผู้ให้ความสนใจอย่างมากในปัจจุบันเพื่อพัฒนาเป็นเวชภัณฑ์หรือผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ เพื่อใช้ในการรักษาหรือป้องกันโรคและอาการความผิดปกติที่เกี่ยวข้องเนื่องมาจากการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนแอนโดรเจนในเพศชาย เช่น มะเร็งต่อมลูกหมาก และศีรษะล้าน เป็นต้น โดยจากการศึกษาผลของไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองต่อการทำงานของชุดอวัยวะไฮโปทาลามัส-ต่อมพิทูอิทารี-อวัยวะ (hypothalamus-pituitary-testicular axis) ในผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมาก⁵⁵ พบว่าไอโซฟลาโวนมีผลรบกวนการทำงานของ

ชุดอวัยวะดังกล่าว โดยทำให้มันไม่สามารถตอบสนองต่อฤทธิ์ของลูทีนไนซิง ฮอร์โมน (luteinizing hormone; LH) และมีขนาดลดลง นอกจากนี้ระดับความเข้มข้นของอีควอลในซีรัมระหว่างทดลองยังมีความสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ลดลงของฮอร์โมนแอนโดรเจน ซึ่งผลดังกล่าวมีความเป็นไปได้ในการนำเอาอีควอลไปใช้ในการป้องกันมะเร็งต่อมลูกหมาก และโรคที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน^{24,25,55}

แต่อย่างไรก็ตามจากรายงานวิจัยล่าสุด พบว่าอีควอลสามารถออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนต่อการทำงานของต่อมพิทูอิทารีในหนูแรทตัวเต็มวัยเพศผู้ โดยมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจน ได้แก่ ยีน ER α ยีน ER β ยีน LH β ยีน α -subunit ยีน TERP-1 ยีน TERP-2 และยีนที่ตอบสนองต่อการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนแอนโดรเจน ได้แก่ ยีน AR ในต่อมพิทูอิทารี และระดับของลูทีนไนซิง ฮอร์โมนและฮอร์โมนโพรแลคตินคล้ายกับผลของฮอร์โมนเอสโตรเจน นอกจากนี้อีควอลยังมีผลทำให้น้ำหนักสัดของเซมินัล เวสิเคิลลดลงแต่ไม่มีผลทำให้น้ำหนักสัดของต่อมลูกหมากลดลงแต่อย่างใด²² ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาในระยะยาวเพิ่มเติมเพื่อยืนยันฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แน่ชัดของอีควอล ทั้งนี้เนื่องจากรายงานวิจัยที่มีมาทั้งหมดมีความขัดแย้งกันอย่างสิ้นเชิง โดยส่วนหนึ่งระบุว่าอีควอลออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน²² ในขณะที่ส่วนหนึ่งระบุว่าอีควอลออกฤทธิ์ต้านฤทธิ์ฮอร์โมน แอนโดรเจนในหนูแรทเพศผู้^{25,26}

6.4 ฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและลดระดับไขมันในซีรัมของอีควอล

จากการศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของอีควอลโดยใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีชนิดอิเล็กตรอนสปินเรโซแนนซ์ (electron spin resonance spectroscopy) และวัดประสิทธิภาพโดยรวมในการต้านอนุมูลอิสระในพลาสมาโดยใช้วิธี Ferric reducing ability of plasma (FRAP) รวมถึงประเมินฤทธิ์ด้านการเกิดออกซิเดชันโดยวิธี Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) พบว่าอีควอลมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเจนิสเทอีนและควาอิตเซอีน²⁹ โดยพบว่าการให้ไฮโดรเจนอะตอมและอิเล็กตรอนผ่านหมู่ไฮดรอกซิล จึงทำให้อีควอลมีคุณสมบัติช่วยป้องกันการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดหัวใจ²⁹

โดยทั่วไปไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) สามารถช่วยป้องกันหรืออาจก่อให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือด⁵⁶ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาและปริมาณการสังเคราะห์ ซึ่งไนตริกออกไซด์ถูกสังเคราะห์โดยการทำงานของเอนไซม์ไนตริกออกไซด์

ซินเทสภายในเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial nitric oxide synthase; eNOS) ทำหน้าที่เป็นสารขยายหลอดเลือดเพื่อควบคุมความดันเลือดของร่างกายให้เป็นปกติ^{56,57} จากการทดสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของอีควอลต่อความสามารถในการผลิตไนตริกออกไซด์ พบว่าอีควอลมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระอย่างแรงในเซลล์สายพันธุ์แมคโครฟาจของหนูเมาส์ (mouse macrophage cell line; J774) ผ่านการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนโคตินาไมด์อะดีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตออกซิเดส (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase) โดยมีผลทำให้เกิดการสังเคราะห์ไนตริกออกไซด์อิสระเพิ่มมากขึ้นผ่านการลดปริมาณของอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O₂⁻) เพื่อป้องกันการอุดตันของคอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein cholesterol; LDL-C) ภายในหลอดเลือด^{56,57}

จากการศึกษาอัตราการตายของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดเออร์ตาของวัว (bovine aortic endothelial cell; bAECS) ที่ถูกชักนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) โดยใช้เทคนิค MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 diphenyl tetrazolium bromide) assay⁵⁸ พบว่าอีควอลสามารถลดอัตราการตายแบบอะพอพโทซิส (apoptosis) ของเซลล์โดยลดการสร้างไนตริกออกไซด์ ดังนั้นอีควอลจึงถูกพิจารณานำมาใช้ในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดหัวใจและยังช่วยลดการตอบสนองต่อภาวะการอักเสบในผู้ป่วยโรคหัวใจล้มเหลวได้⁵⁸

จากการศึกษาสภาวะในร่างกายพบว่า อีควอลมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระในหลอดเลือดเบซิลาร์ (basilar artery) ของหนูแรท โดยมีผลลดระดับการสร้างอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์และมีผลทำให้หลอดเลือดคาโรติด (carotid artery) ขยายตัวในหนูแรทที่มีความดันเลือดสูง จึงมีความเป็นไปได้ในการนำอีควอลมาใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดโดยเฉพาะอย่างยิ่งการไหลเวียนเลือดภายในสมองส่วนซีรีบรัม (cerebrum)³⁰

การให้หนูแรทเพศเมียและหนูเมาส์ที่ดัดแปลงได้รับอีควอลมีผลทำให้ระดับไขมันในซีรัม ได้แก่ คอเลสเตอรอล [คอเลสเตอรอลโดยรวม (total cholesterol) คอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ คอเลสเตอรอลชนิดไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นสูง (high density lipoprotein cholesterol; HDL-C)] และไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ลดลง^{59,60} คล้ายกับผลของฮอร์โมนเอสโตรเจน⁵⁹ ซึ่งคุณสมบัติลดระดับไขมันในซีรัมของอีควอลโดยเฉพาะ LDL-C และอัตราส่วนระหว่าง LDL-C และ HDL-C ทำให้อีควอลมีบทบาท

ต่อการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอันเนื่องมาจากการสะสมของไขมันในหลอดเลือดสูงในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนได้^{59,60}

สรุป

อีควอลเป็นไอโซฟลาโวนชนิดหนึ่งที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ได้จากการย่อยดาอิดเซอินโดยการทำงานของแบคทีเรียในลำไส้ ซึ่งพบได้ใน 1 ใน 3 ถึง 1 ใน 2 ของประชากรทั้งหมดเท่านั้นที่ร่างกายมีแบคทีเรียชนิดที่สามารถสังเคราะห์อีควอลขึ้นภายในร่างกายได้ อีควอลพบมีอยู่ในกระแสดเลือดและปัสสาวะในปริมาณที่สูงมากและมากกว่าทั้งเจนิสเทอีนและดาอิดเซอินทั้งในสัตว์และมนุษย์สุขภาพดีที่บริโภคถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเป็นประจำ ข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าไอโซฟลาโวนที่พบในถั่วเหลืองเมื่อเข้าสู่ระบบย่อยอาหารของร่างกายมนุษย์จะถูกเปลี่ยนรูปไปเป็นสารผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มมากขึ้นซึ่งได้แก่ อีควอล เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณการบริโภค ปริมาณที่พบในกระแสดเลือดและปริมาณการขับไฟโตเอสโตรเจนหลายชนิดออกทางปัสสาวะ รวมทั้งอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเพศระหว่างประชากรชายที่อาศัยอยู่ในซีกโลกตะวันตกและทวีปเอเชีย พบว่าชาวเอเชียซึ่งมีการขับไฟโตเอสโตรเจนออกมาในปริมาณมากที่สุดมีความเสี่ยงต่ำสุดต่อการเกิดมะเร็งที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเพศ โดยพบว่าในกระแสดเลือดและปัสสาวะมีอีควอลในปริมาณที่สูงมาก และเนื่องจากอีควอลมีคุณสมบัติเฉพาะตัวคือสามารถออกฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจนโดยจับกับ ER ได้อย่างจำเพาะและมากกว่าดาอิดเซอิน และยังสามารถออกฤทธิ์ต้านฮอร์โมนแอนโดรเจนโดยสามารถจับกับ AR และฮอร์โมนไดไฮโดรเทสโทสเตอโรนได้ อีกทั้งยังสามารถจับกับโปรตีนที่จับฮอร์โมนเพศ และมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและลดระดับของคอเลสเตอรอลในกระแสดเลือดได้ ผลการค้นพบประเด็นนี้จึงชี้ให้เห็นว่าอีควอลอาจแสดงบทบาทสำคัญของไอโซฟลาโวนที่พบในถั่วเหลืองซึ่งเป็นแหล่งอาหารหลักที่สำคัญของประชากรโดยเฉพาะในประเทศแถบเอเชียต่อการลดปัจจัยเสี่ยงของการเกิดมะเร็งต่างๆ ที่มีผลเกี่ยวเนื่องกับการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเพศ เช่น มะเร็งเต้านม และมะเร็งต่อมลูกหมาก เป็นต้น และโรคหลอดเลือดหัวใจอันเนื่องมาจากการสะสมของคอเลสเตอรอลภายในหลอดเลือดสูง

เอกสารอ้างอิง

1. European Commission, DG XIII. Impact of endocrine disruptors on human health and wildlife. In: Proceedings of a European workshop on "The impact of endocrine disruptors on human health and wildlife; 1996 Dec 2-4; Weybridge, United Kingdom.
2. Zoeller RT, Brown TR, Doan LL, Gore AC, Skakkebaek NE, Soto AM, Woodruff TJ, Vom Saal FS. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: A statement of principles from the Endocrine Society Endocrinology. *Endocrine Reviews* 2012;153(9):4097-4110.
3. Lintelmann J, Katayama A, Kurihara N, Shore L, Wenzel A. Endocrine disruptors in the environment. *Pure Appl Chem* 2003; 75(5):631-681.
4. Acerini CL, Hughes IA. Endocrine disrupting chemicals: a new and emerging public health problem. *Arch Dis Child* 2006;91(8):633-641.
5. Duncan AM, Phipps WR, Kurzer MS. Phytoestrogens. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003;7(2):253-271.
6. Patisaul HB, Jefferson W. The pros and cons of phytoestrogens. *Front Neuroendocrinol* 2010;31(4):400-419.
7. Setchell KD, Brown NM, Brashear WT, Wolfe BE, Kirschner AS, Zimmer-Nechemias L, Heubi JE. Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2002;76(2):447-453.
8. Setchell KD, Clerici C. Equol: History, Chemistry, and Formation. *J Nutr* 2010;140(7):1355S-1362S.
9. Axelson M, Kirk DN, Farrant TR, Coole TG, Lawsont AM, Setchell KD. The identification of the weak oestrogen equol [7-hydroxy-3-(4'-hydroxyphenyl)chroman] in human urine. *Biochem J* 1982;201(2):353-357.
10. Axelson M, Sjoval J, Gustafsson BE, Setchell KD. Soya-a dietary source of the non-steroidal oestrogen equol in man and animals. *J Endocrinol* 1984;102(1):49-56.

11. Muthyala RS, Ju YH, Sheng S, Williams LD, Doerge DR, Katzenellenbogen BS, Helferich WG, Katzenellenbogen JA. Equol, a natural estrogenic metabolite from soy isoflavone: convenient preparation and resolution of R- and S-equols and their differing binding and biological activity through estrogen receptors alpha and beta. *Bioorg Med Chem* 2004;12(6):1559-1567.
12. Selvaraj V, Zakroczymski MA, Naaz A, Mukai M. Estrogenicity of the isoflavone metabolite equol on reproductive and non-reproductive organs in mice. *Biol Reprod* 2004;71(3):966-972.
13. Sathyamoorthy N, Wang TT. Differential effects of dietary phyto-oestrogens daidzein and equol on human breast cancer MCF-7 cells. *Eur J Cancer* 1997;33(14):2384-2389.
14. Harris DM, Besselink E, Henning SM, Go VL, Heber D. Phytoestrogens induce differential estrogen receptor alpha-or beta-mediated responses in transfected breast cancer cells. *Exp Biol Med (Maywood)* 2005;230(8):558-568.
15. Ju YH, Fultz J, Allred KF, Doerge DR, Helferich WG. Effects of dietary daidzein and its metabolite, equol, at physiological concentrations on the growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) tumors implanted in ovariectomized athymic mice. *Carcinogenesis* 2006;27(4):856-863.
16. Liu H, Du J, Hu C, Qia H, Wang X, Wang S. Delayed activation of extracellular-signal-regulated kinase 1/2 is involved in genistein-and equol-induced cell proliferation and estrogen-receptor- α -mediated transcription in MCF-7 breast cancer cells. *J Nutr Biochem* 2010;21(5):390-396.
17. Lehmann L, Esch HL, Wagner J, Rohnstock L, Metzler M. Estrogenic and genotoxic potential of equol and two hydroxylated metabolites of daidzein in cultured human Ishikawa cells. *Toxicol Lett* 2005;158(1):72-86.
18. Rachon D, Vortherms T, Seidlova-Wuttke D, Menche A, Wuttke W. Uterotropic effects of dietary equol administration in ovariectomized Sprague-Dawley rats. *Climacteric* 2007;10(5):416-426.
19. Rachon D, Menche A, Vortherms T, Seidlova-Wuttke D, Wuttke W. Effects of dietary equol administration on the mammary gland in ovariectomized Sprague-Dawley rats. *Menopause* 2008;15(2):1-6.
20. Legette LL, Martin BR, Shahnazari M, Lee WH, Helferich WG, Qian J, Waters DJ, Arabshah Ai, Barnes S, Welch J, Bostwick DG, Weaver CM. Supplemental dietary racemic equol has modest benefits to bone but has mild uterotrophic activity in ovariectomized rats. *J Nutr* 2009;139(10):1908-1913.
21. Wood CE, Appt SE, Clarkson TB, Franke AA. Effects of high-dose soy isoflavones and equol on reproductive tissues in female cynomolgus monkeys. *Biol Reprod* 2006;75(3):477-486.
22. Loutchanwoot P, Srivilai P, Jarry H. Effects of the natural endocrine disruptor equol on the pituitary function in adult male rats. *Toxicology* 2013;304:69-75.
23. Bovee TF, Schoonen WG, Hamers AR, Bento MJ, Peijnenburg AA. Screening of synthetic and plant-derived compounds for (anti)estrogenic and (anti)androgenic activities. *Anal Bioanal Chem* 2008;390(4):1111-1119.
24. Hedlund TE, Johannes WU, Miller GJ. Soy isoflavonoid equol modulates the growth of benign and malignant prostatic epithelial cells *in vitro*. *Prostate* 2003;54(1):68-78.
25. Lund TD, Blake C, Bu L, Hamaker AN, Lephart ED. Equol an isoflavonoid: potential for improved prostate health, *in vitro* and *in vivo* evidence. *Reprod Biol Endocrinol* 2011;9(4):1-9.
26. Lund TD, Munson JD, Haldy EM, Setchell KD, Lephart ED, Handa JR. Equol is a novel anti-androgen that inhibits prostate growth and hormone feedback. *Biol Reprod* 2004; 70(4):1188-1195.
27. Duncan AM, Merz-Demlow BE, Xu X, Phipps WR, Kurzer MS. Premenopausal equol excretors show plasma hormone profiles associated with lowered risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers* 2000;9(6):581-586.

28. Adlercreutz H, Hockerstedt K, Bannwart C, Bloigu S. Effect of dietary components, including lignans and phytoestrogens, on enterohepatic circulation and liver metabolism of estrogens and on sex hormone binding globulin (SHBG). *J Steroid Biochem* 1987;27(4-6):1135-1144.
29. Mitchell JH, Gardner PT, McPhail DB, Morrice PC. Antioxidant efficacy of phytoestrogens in chemical and biological model systems. *Arch Biochem Biophys* 1998;360(1):142-148.
30. Jackman KA, Woodman OL, Chrissobolis S, Sobey CG. Vasorelaxant and antioxidant activity of the isoflavone metabolite equol in carotid and cerebral arteries. *Brain Res* 2007;1141:99-107.
31. Damstra T, Barlow S, Bergman A, Kavlock RJ, van der Kraak G, editors. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors; 2002; Geneva, Switzerland: World Health Organization.
32. Albertazzi P, Purdie DW. The nature and utility of the phytoestrogens: a review of the evidence. *Maturitas* 2002;42(3):173-185.
33. Cornwell T, Cohick W, Raskin I. Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry* 2004;65(8):995-1016.
34. Committee on toxicology of chemicals in food, consumer products and the environment. *Phytoestrogens and health*. 1st ed. United Kingdom: Food Standards Agency; 2003.
35. Hays J, Ockene JK, Brunner RL, Kotchen JM, Manson JE, Patterson RE, Aragaki AK, Shumaker SA, Brzyski RG, LaCroix AZ, Granek IA, Valanis BG. Women's health initiative investigators effects of estrogen plus progestin on health related quality of life. *N Engl J Med* 2003;348(19):1839-1854.
36. Glade MJ. Food nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research/World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research, 1997. *Nutrition* 1999;15(6):523-526.
37. Lu LJ, Anderson KE, Grady JJ, Nagamani M. Effects of an isoflavone-free soy diet on ovarian hormones in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(7):3045-3052.
38. Kurzer MS. Hormonal effects of soy in premenopausal women and men. *J Nutr* 2002;132(3):570s-573s.
39. Yuan JP, Wang JH, Liu X. Metabolism of dietary soy isoflavones to equol by human intestinal microflora-implications for health. *Mol Nutr Food Res* 2007;51(7):765-781.
40. Day AJ, DuPont MS, Ridley S, Rhodes M. Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver beta-glucosidase activity. *FEBS Lett* 1998;436(1):71-75.
41. Mueller SO, Simon S, Chae K, Metzler M, Korach KS. Phytoestrogens and their human metabolites show distinct agonistic and antagonistic properties on estrogen receptor α (ER α) and β (ER β) in human cells. *Toxicol Sci* 2004;80(1):14-25.
42. Kulling SE, Honig DM, Metzler M. Oxidative metabolism of the soy isoflavones daidzein and genistein in humans *in vitro* and *in vivo*. *J Agric Food Chem* 2001;49(6):3024-3033.
43. Bowey E, Adlercreutz H, Rowland I. Metabolism of isoflavones and lignans by the gut microflora: A study in germfree and human flora associated rats. *Food Chem Toxicol* 2003;41(5):631-636.
44. Clavel T, Fallani M, Lepage P, Levenez F. Isoflavones and functional foods alter the dominant intestinal microbiota in postmenopausal women. *J Nutr* 2005;135(12):2786-2792.
45. Marrian GF, Haslewood GA. Equol, a new inactive phenol isolated from the ketohydroxyoestrin fraction of mares' urine. *Biochem J* 1932;26(4):1227-1232.
46. Areas JA, Guerra AC. Influence of food components on lipid metabolism: scenarios and perspective on the control and prevention of dyslipidemias. *Cienc Tecnol Aliment* 2010;30(1):7-14.

47. Frankenfeld CL, McTiernan A, Tworoger SS, Atkinson C. Serum steroid hormones, sex hormone-binding globulin concentrations, and urinary hydroxylated estrogen metabolites in post-menopausal women in relation to daidzein-metabolizing phenotypes. *J Steroid Biochem* 2004;88(4-5):399-408.
48. Nettleton JA, Greany KA, Thomas W, Wangen KE. The effect of soy consumption on the urinary 2:16-hydroxyestrone ratio in postmenopausal women depends on equol production status but is not influenced by probiotic consumption. *J Nutr* 2005;135(3):603-608.
49. Atkinson C, Skor HE, Fitzgibbons ED, Scholes D. Urinary equol excretion in relation to 2-hydroxyestrone and 16 α -hydroxyestrone concentrations: An observational study of young to middle-aged women. *J Steroid Biochem* 2003;86(1):71-77.
50. Brown NM, Belles CA, Lindley SL, Zimmer-Nechemias L, Witte DP, Kim M, Setchell KDR. Mammary gland differentiation by early life exposure to enantiomers of the soy isoflavone metabolite equol. *Food Chem Toxicol* 2010;48(11):3042-3050.
51. Rachon D, Vortherms T, Seidlova-Wuttke D, Wuttke W. Effects of dietary equol on the pituitary of the ovariectomized rats. *Horm Metab Res* 2007;39(4):256-261.
52. Hedlund TE, Bokhoven A, Johannes WU, Nordeen SK, Ogden LG. Prostatic fluid concentrations of isoflavonoids in soy consumers are sufficient to inhibit growth of benign and malignant prostatic epithelial cells *in vitro*. *Prostate* 2006;66(5):557-566.
53. Hedlund TE, Maroni PD, Ferucci PG, Dayton R. Long-term dietary habits affect soy isoflavone metabolism and accumulation in prostatic fluid in Caucasian men. *J Nutr* 2005;135(6):1400-1406.
54. Tanaka M, Fujimoto K, Chikara Y, Torimoto K, Yoneda T, Tanaka N, Hirayama A, Miyanaga N, Akaza H, Hirao Y. Isoflavone supplements stimulated the production of serum equol and decreased the serum dihydrotestosterone levels in healthy male volunteers. *Prostate Cancer* 2009;12(3):247-252.
55. Rannikko A, Petas A, Raivio T, Janne OA. The effects of short-term oral phytoestrogen supplementation on the hypothalamic-pituitary-testicular axis in prostate cancer patients. *Prostate* 2006;66(10):1086-1091.
56. Hwang J, Wang J, Morazzoni P, Hodis HN, Sevanian A. The phytoestrogen equol increases nitric oxide availability by inhibiting superoxide production: An antioxidant mechanism for cell-mediated LDL modification. *Free Radic Biol Med* 2003;34(10):1271-1282.
57. Kang JS, Yoon YD, Han MH, Han SB. Equol inhibits nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase gene expression through down-regulating the activation of Akt. *Int Immunopharmacol* 2007;7(4):491-499.
58. Chung J, Kim SY, Jo HH, Hwang SJ, Chae B, Kwonb DJ, Lew YK, Lim Y, Kim JH, Kim EJ, Kim J, Kim J. Antioxidant effects of equol on bovine aortic endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;375(3):420-424.
59. Ohtomo T, Uehara M, Penalvo JL, Adlercreutz H, Katsumata S, Suzuki K, Takeda K, Masuyama R, Ishimi Y. Comparative activities of daidzein metabolites, equol and *O*-desmethylangolensin, on bone mineral density and lipid metabolism in ovariectomized mice and in osteoclast cell cultures. *Eur J Nutr* 2008;47(5):273-279.
60. Rachon D, Vortherms T, Seidlová-Wuttke D, Wuttke W. Effects of dietary equol on body weight gain, intra-abdominal fat accumulation, plasma lipids, and glucose tolerance in ovariectomized Sprague-Dawley rats. *Menopause* 2007;14(5):925-32.