













รูปที่ 5 แสดงภาพตัดขวาง TEM ของ collagen fibrils (nm) ที่กำลังขยาย 20,000x

### อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การวิจัยนี้ศึกษาความหนาของชั้น epidermis และ dermis ผลการศึกษาพบว่าหนูที่ตัดรังไข่ออกและได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน จะมีความหนาของทั้งชั้น epidermis และ dermis เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ตัดรังไข่ออกและไม่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (OW group) สำหรับชั้น epidermis กลุ่ม OY10 หนากว่ากลุ่ม OY20 และ OY40 และสำหรับชั้น dermis พบว่าความหนาจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น คือ OY40 หนากว่า OY20 และหนากว่า OY10 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Circosta และคณะ (2006) ที่รายงานว่า หนูที่ตัดรังไข่ออกและได้รับ isoflavone 20 mg และ 40 mg มีผลให้ความหนาของผิวหนังหนาขึ้น เมื่อเทียบกับหนูที่ตัดรังไข่ออกและไม่ได้รับ isoflavone (Circosta *et al.*, 2006) โดย 17 $\beta$ -estradiol ออกฤทธิ์ผ่าน ER $\beta$  บนเซลล์ keratinocyte (Kenda and Watanabe, 2003) ไปกระตุ้นเซลล์ keratinocyte ให้มี proliferation และ differentiation ทำให้ได้เซลล์ใหม่มากขึ้น และ epidermis หนาขึ้น

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าจำนวน hair follicles ใน ชั้น dermis ของกลุ่ม OY40 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม OW สอดคล้องกับผลของ Lipovac และคณะ (2011) ที่พบว่า การได้รับ isoflavone จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของเส้นขนบนหนังศีรษะในสตรีวัยหมดประจำเดือน (Lipovac *et al.*, 2011) การวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ collagen fibril จากภาพ TEM พบว่าในกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนทุกกลุ่ม (OY groups) ไม่มีการฝ่อลีบของเส้นใยคอลลาเจน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Circosta และคณะ (2006) ที่พบว่าหนูขาวที่ถูกตัดรังไข่ออกและได้รับ isoflavone ไม่มี collagen atrophy (Circosta *et al.*, 2006) ทีมผู้วิจัย (Radenahmad *et al.*, 2012) พบว่า YCJ ที่ให้ทดแทนแก่หนูที่ตัดรังไข่ออกมีผลกระตุ้นให้มี proliferation และ differentiation ของ cells fibroblast ที่อยู่ใน ชั้น dermis (Radenahmad *et al.*, 2012) โดย 17 $\beta$ -estradiol ออกฤทธิ์ผ่าน ER $\beta$  บน

เซลล์ fibroblast (Stevenson *et al.*, 2008) ทำให้เกิดการถอดรหัสพันธุกรรม (transcription) ใน nucleus ได้ mRNA จากนั้น mRNA จะเคลื่อนที่ออกจาก nucleus เข้าสู่ cytoplasm เพื่อให้เกิดการแปลรหัส (translation) ที่ ribosome ที่ยึดเกาะอยู่บน RER ได้ pre-pro-collagen ต่อมา pre-pro-collagen จะเข้าไปใน RER และเกิดการเติมหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxylation) ได้เป็น pro-collagen และถูกส่งออกไปนอกเซลล์ผ่าน Golgi body พัฒนาเป็น collagen fibril ต่อไป (Shoulders and Raines, 2009)

นอกจากนี้ YCJ ยังมี vitamin C เป็นองค์ประกอบ (Yong *et al.*, 2009) ซึ่งมีบทบาทเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา hydroxylation และมีคุณสมบัติยับยั้ง matrix metalloproteinase (MMPs) ซึ่งจะช่วยให้คอลลาเจนถูกทำลายได้น้อยลง กระบวนการข้างต้นทำให้มีการเสริมสร้าง collagen ในปริมาณที่มากขึ้น (Sharma *et al.*, 2008) อาจเป็นเหตุผลที่ทำให้ความหนาของชั้น dermis ในงานวิจัยครั้งนี้ของกลุ่ม YCJ มากขึ้นด้วย

ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า YCJ สามารถเพิ่มความหนาของชั้น epidermis, dermis และเพิ่มจำนวนของ hair follicles และสามารถป้องกันการฝ่อของเส้นใย collagen ในหนูที่ตัดรังไข่ออก โดยพบว่าความเข้มข้น 40 mL/KgBW เป็นความเข้มข้นที่ให้ประสิทธิผลดีที่สุดในการคงสภาพของผิวหนังในหนูที่ถูกตัดรังไข่ออก ผลการวิจัยนี้จะได้นำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อประยุกต์ใช้ในทางคลินิกสำหรับสตรีวัยหมดประจำเดือนต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2558-2559 (SCI 580566S) และจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

## เอกสารอ้างอิง

- Berel V, Bull D, Green J, Reeves G. Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the million Women Study. *The Lancet Global Health Journal* 2007; 369: 1667-1668.
- Brincat MP, Baron YM, Galea R. Estrogens and the skin. *Climacteric* 2005; 8(2):110-123.
- Bullough HF. Cyclical changes in the skin of the mouse during estrous cycle. *Endocrinology Journal* 1943; 3(1): 280-287.
- Circosta C, Pasquale RD, Palumbo DR, Samperi S, Occhiuto F. Effects of isoflavones from red clover (*Trifolium pratense*) on skin changes induced by ovariectomy in rats. *Phytotherapy research* 2006; 20(12): 1096-1099.
- Duhn LB, Damesyn M, Moore AA, Reuben DB, Greendale GA. Does estrogen prevent skin aging? Results from the First National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES I). *Archives of Dermatology Journal* 1997; 133: 339-342.
- Kanda N, Watanabe S.  $17\beta$ -estradiol inhibits oxidative stress induced apoptosis in keratinocytes by promoting bcl-2 expression. *Journal of Investigative Dermatology* 2003; 121: 1500-1509.
- Lipovac M, Chedraui P, Gruenhut C, Gocan A, Kurz C, Neuber B, Imhof M. 2011. Effect of red clover isoflavones over skin, appendages, and mucosal status in postmenopausal women. *Obstetrics and gynecology international* 2011; 2011: 6.
- Oikarinen A. Systemic estrogens have no conclusive beneficial effect on human skin connective tissue. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2000; 79(4): 250-254.
- Pierard GE, Letawe C, Dowlati A, Pierard FC. 1995. Effect of hormone replacement therapy for menopause on the mechanical properties of skin. *American Geriatrics Society Journal* 1995; 43(6): 662-665.
- Punghmatharith B. sex hormone-like substances in young coconut juice and their effects on uterine growth in rats. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 1988; 10(2): 221-226.
- Radenahmad N, Suwansa-ard S, Sayoh I. Young coconut juice accelerates cutaneous wound healing by down regulating macrophagemigration inhibitory factor (MIF) in ovariectomized rats. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 2015; 37(4): 417-423.
- Radenahmad N, Saleh F, Sayoh I, Sawangjaroen K, Subhadhirasakul P, Boonyoung P, Mitranun W. Young coconut juice can accelerate the healing process of cutaneous wounds. *BMC: complementary and alternative medicine* 2012; 12(1): 252.
- Rauramo L, Punnonen R. Effect of oral estrogen treatment with estriol succinate on the skin of castrated women. *Zeitschrift für Haut- und Geschlechtskrankheiten Journal* 1969; 44: 463-70.





Sharma SR, Poddar R, Sen P, Andrews JT. Effect of vitamin C on collagen biosynthesis and degree of birefringence in polarization sensitive optical coherence tomography (PS-OCT). African journal of Biotechnology 2008; 7(12): 2049-2054.

Shoulders MD, Raines RT. Collagen structure and stability. Annual review of biochemistry 2009; 78 : 929.

Stevenson S, Nelson LD, Sharpe D T, Thornton MJ.  $17\beta$ -Estradiol regulates the secretion of TGF- $\beta$  by cultured human dermal fibroblasts. Journal of Biomaterials Science 2008; 19(8): 1097-1109.

Yong JW, Ge L, Ng YF, Tan SN. The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. Molecules 2009; 14(12): 5144-5164.