



ผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการป้องกันภาวะกระดูกพรุนในหนูขาวเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะ

Effects of Young Coconut Juice on Preventing Osteoporosis in
Orchidectomized Rats

อัสมาอ์ อาแซ

Asma Asae

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

of Master of Science in Anatomy

Prince of Songkla University

2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



ผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการป้องกันภาวะกระดูกพรุนในหนูขาวเพศผู้ที่ถูกตัดอัณฑะ
Effects of Young Coconut Juice on Preventing Osteoporosis in
Orchidectomized Rats

อัสมา อ้าแซ

Asma Asae

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

of Master of Science in Anatomy

Prince of Songkla University

2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการป้องกันภาวะกระดูกพรุนในหนูขาวเพศผู้ที่ถูกตัด
อวัยวะ

ผู้เขียน นางสาวอัสมาอ์ อาแซ

สาขาวิชา กายวิภาคศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ดร.จิรวัดน์ แซ่ตัน) (รองศาสตราจารย์ ดร.มยุภา ยงทรัพย์อนันต์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ
(ดร.จิรวัดน์ แซ่ตัน)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.นิชาอุตะห์ ระเด่นอาหมัด) (รองศาสตราจารย์ ดร.นิชาอุตะห์ ระเด่นอาหมัด)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จินดาพร ภูริพัฒน์วงษ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ

(ดร.จิรวัดน์ แซ่ตัน)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ

(รองศาสตราจารย์ ดร.นิชาอุตตะห์ ระเด่นอาหมัด)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลงชื่อ

(นางสาวอัสม่า อาแซ)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ

(นางสาวอัสมาห์ อาแซ)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการป้องกันภาวะกระดูกพรุนในหนูขาวเพศผู้ที่ถูกตัด
อวัยวะ
ผู้เขียน นางสาวอัสมา ออแซ
สาขาวิชา กายวิภาคศาสตร์
ปีการศึกษา 2559

บทคัดย่อ

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าน้ำมะพร้าวอ่อน (Young coconut juice: YCJ) ขนาด 100 ml/kgBW/day สามารถป้องกันการสูญเสียกระดูก โดยเพิ่มความหนาของกระดูกขากรรไกรล่าง (mandibular cancellous bone) ในหนูขาวที่ถูกตัดอวัยวะ อย่างไรก็ตามความเข้มข้นที่สูงของน้ำมะพร้าวอ่อนส่งผลให้เกิดผลข้างเคียง เช่น มีการสะสมของไกลโคเจนในตับเพิ่มขึ้น ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการป้องกันภาวะกระดูกพรุนในหนูขาวที่ถูกตัดอวัยวะ โดยหาความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความปลอดภัยในการประยุกต์ใช้ ทำการศึกษาในหนูขาวเพศผู้อายุ 8 เดือน แบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม (n=70) ประกอบด้วย กลุ่มที่ฆ่าก่อนเริ่มการทดลอง (baseline) กลุ่มที่ผ่าตัดเปิดแผลบริเวณอวัยวะแต่ไม่เอาอวัยวะออก (sham) กลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะ (orchidectomy) กลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะและได้รับ estradiol benzoate ขนาด 2.5 µg/kgBW/day กลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะและได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนขนาด 10 20 และ 40 ml/kgBW/day เมื่อครบ 11 สัปดาห์ ทำการฆ่าสัตว์ทดลอง เก็บตัวอย่างเลือดไปตรวจวัด serum estradiol และ testosterone ด้วยเทคนิค chemiluminescence immunoassay (CIA) และนำกระดูกต้นขา (femur) และกระดูกสันหลังระดับ L5 (L5 vertebra) มาวิเคราะห์โครงสร้างด้วยเครื่องเอ็กซ์เรย์คอมพิวเตอร์ระดับไมโครเมตร (Micro-Computed tomography scan: Micro-CT scan) และนำตัวอย่างมาเตรียมสไลด์ทางเนื้อเยื่อวิทยา เพื่อหาค่า %bone volume และย้อมพิเศษด้วยเทคนิค immunohistochemistry เพื่อศึกษาการแสดงออกของตัวรับเอสโตรเจน (estrogen receptor: ER) ทั้งชนิด ER α และ ER β ของเซลล์ osteoblast และ osteocyte จากการศึกษาด้วย Micro-CT scan บริเวณกระดูกต้นขา (femur) พบว่าค่า Conn.D ของหนูกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะมีค่าน้อยกว่ากลุ่ม baseline อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนมีค่าดังกล่าวไม่แตกต่างจากกลุ่ม sham และกลุ่ม baseline ค่า BV/TV ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนมีค่าน้อยกว่ากลุ่ม sham แต่ไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่พารามิเตอร์อื่นๆ เช่น Tb.N Tb.Th มีค่าไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะและกลุ่ม sham อย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนพารามิเตอร์ทุกค่าของกระดูกสันหลัง (L5) มีค่าไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะและกลุ่ม sham อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษา %bone volume พบว่าบริเวณกระดูกต้นขา (femur) และกระดูกสันหลัง (L5) ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนมีค่าไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะและกลุ่ม sham อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและจากการศึกษาด้วย immunohistochemistry พบว่าบริเวณกระดูกต้นขา (femur) ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนมีจำนวนเซลล์ osteoblast ที่มีการแสดงออกของ ER α มากกว่าหนูที่ถูกตัดอวัยวะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่จำนวนเซลล์ osteoblast ที่มีการแสดงออกของ ER β และ osteocyte ที่มีการแสดงออกของ ER α และ ER β ไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะและกลุ่ม sham อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนบริเวณกระดูกสันหลัง (L5) ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน พบว่าจำนวนเซลล์ osteoblast ที่มีการแสดงออกของ ER α มีค่าไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะ แต่น้อยกว่ากลุ่ม sham อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่จำนวนเซลล์ osteoblast ที่มีการแสดงออกของ ER β และ osteocyte ที่มีการแสดงออกของ ER α และ ER β มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างหนูกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะ หนูกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะและได้รับน้ำมะพร้าว และกลุ่ม sham โดยสรุปการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าน้ำมะพร้าวอ่อนขนาด 10 ml/kgBW/day เป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุด ในการป้องกันภาวะกระดูกพรุน โดยคาดว่าองค์ประกอบที่เป็นไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) จะทำงานผ่านทางตัวรับเอสโตรเจนชนิด ER α ของเซลล์ osteoblast ในกระดูกต้นขา (femur) เพื่อช่วยรักษามวลกระดูก นอกจากนี้ยังพบว่าพารามิเตอร์ส่วนใหญ่ของตับ ไต ต่อมลูกหมาก ต่อมหมวกไต และ seminal vesicle ของกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนไม่แตกต่างจากหนูกลุ่มที่ถูกตัดอวัยวะและกลุ่ม sham อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงกล่าวได้ว่าการได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนในการศึกษาครั้งนี้ไม่เป็นอันตรายต่อตับและไต

Thesis Title	Effects of Young Coconut Juice on Preventing Osteoporosis in Orchidectomized Rats
Author	Miss Asma Asae
Major Program	Anatomy
Academic Year	2016

Abstract

From our previous study, the 100 ml/kgBW/day of young coconut juice (YCJ) is able to prevent bone loss by increasing the mandibular cancellous bone in orchidectomized (orx) rats. However, the large dose of YCJ at 100 ml/kgBW/day had side effects e.g. the great deposition of glycogen in liver. The purpose of this study was to determine the effects of YCJ on preventing osteoporosis in orchidectomized rats including the appropriate dose of YCJ for possible application. Male 8-month-old Wistar rats were randomly divided into 7 groups (n=70): Baseline, sham, orchidectomized (orx) rat, orx receiving estradiol benzoate 2.5 µg/kgBW/day, and orx receiving YCJ at dose of 10, 20 and 40 ml/kgBW/day. Eleven weeks after surgery, the rats were sacrificed, and their serum estradiol and testosterone levels were measured by chemiluminescence immunoassay (CIA) technique. The femur and the 5th lumbar vertebrae (L5) were collected for their micro-architectural studies using Micro-Computed tomography scan (Micro-CT scan). The histological sections of bones were prepared for % bone volume measurement. The immunohistochemistry for determining level of expression of estrogen receptors (ER α and ER β) on osteoblast and osteocyte was also performed. The micro-CT scans of the femur revealed that the Conn.D of the orx group was significantly less than the baseline group, while the orx groups receiving YCJ were not significantly different from either the sham or baseline group, the BV/TV of the orx groups receiving YCJ were significantly less than the sham group but were not different from the orx group. The bone parameters e.g. Tb.N, Tb.Th were not significantly

different from the orx and sham group. In the L5, all bone parameters were not significantly different from the control groups. The % bone volume of YCJ treatment were also not significantly different among the groups. Immunohistochemistry of estrogen receptors also showed that the femur of the orx groups receiving YCJ significantly has more numbers of osteoblast expressing ER α than the orx group, while that of the numbers of osteoblast expressing ER β and osteocyte expressing both ER α and ER β were not significantly different from the orx and sham groups. In the L5, the numbers of osteoblast expressing ER α of the orx groups receiving YCJ were not significantly different from the orx group but was significantly less than the sham group, while the numbers of osteoblast that express ER β and osteocyte that express ER α and ER β were not significantly different among the groups. In conclusion, the present study demonstrated that the YCJ at dose 10 ml/kgBW/day was the best dose to help preventing osteoporosis. It was possible that this effect was due to the phytoestrogen components of the YCJ which probably worked through the ER α of osteoblast of femur to maintain bone mass. Furthermore, the parameters for evaluating liver, kidney, prostate gland, adrenal gland and seminal vesicle of the orx rats receiving YCJ were not different from the orx and sham groups, indicating that the doses of YCJ in this study were not harmful for liver and renal function.