



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง การศึกษาผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการสมานแผลในหนูขาวเพศเมีย

Effects of young coconut juice on the cutaneous healing of female rat wounds

44.C63

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิชาอูตะห์ ระเด่นอาหมัด และคณะ ฯ

มีนาคม 2552

## บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของน้ำมันพรว้าวอ่อน (YCJ) ต่อการสมานแผลและความปลอดภัยในการประยุกต์ใช้ phytoestrogen (PE) ในน้ำมันพรว้าวอ่อนในหนูที่ทำการผ่าตัดเอารังไข่ออก (ovariectomy = ovx) ซึ่งเป็นแบบจำลองสำหรับสตรีวัยทอง โดยใช้หนูเพศเมียทั้งหมด 48 ตัว ทำการผ่าตัดหน้าท้องเพื่อเอารังไข่ออก (ovariectomized rat : ovx) จำนวน 36 ตัว โดยหนู 24 ตัวได้รับ treatment เป็นเวลา 7 วัน (กลุ่ม 7 วัน) และที่เหลืออีก 24 ตัวได้รับเป็นเวลา 14 วัน (กลุ่ม 14 วัน) และ แบ่งหนู ovx ออกเป็น 3 กลุ่มตามการได้รับ treatment ดังนี้ กลุ่ม control คือกลุ่มที่ได้รับ estradiol benzoate (EB) ความเข้มข้น 2.5 µg/kgBW/day (i.p.) กลุ่ม YCJ คือกลุ่มที่ได้รับ YCJ ความเข้มข้น 100 mL/kgBW/day และกลุ่ม ovx ที่ได้รับ deionized water (DI) เช่นเดียวกับกลุ่ม sham ด้วยความเข้มข้นและระยะเวลา เช่นเดียวกับสองกลุ่มแรก ภายหลังจากทำ ovx หรือ sham จะทำแผลมาตรฐานยาว 1.5 เซนติเมตรบริเวณแผ่นหลังได้สะบักทั้งสองข้าง แล้วจึงให้ treatment ดังกล่าวข้างต้น เมื่อได้รับ treatment ครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว จะทำการเก็บผิวหนังและอวัยวะภายใน เพื่อศึกษาลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาในระดับ LM และ TEM ต่อไป ผลการทดลองของเนื้อเยื่อที่ย้อมด้วยสีย้อม H&E ในกลุ่ม 7 วันไม่พบความแตกต่างทั้งความหนาของชั้น epidermis, dermis, hypodermis หรือขนาดของแผลในแต่ละกลุ่มการทดลอง สำหรับผลการทดลองในกลุ่ม 14 วันพบว่าชั้น epidermis และ dermis ของกลุ่ม YCJ มีความหนามากกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ความหนาชั้น hypodermis ของกลุ่ม YCJ น้อยกว่ากลุ่ม ovx แม้ว่าขนาดของแผลแต่ละกลุ่มทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ขนาดของแผลในกลุ่ม YCJ น้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ การศึกษาการแสดงออกของตัวรับเอสโตรเจนทั้งชนิด ER $\alpha$  และ ER $\beta$  ด้วยเทคนิคทางอิมมูโนฮิสโตเคมีสตรี้ ทั้งในกลุ่ม 7 วัน และ 14 วันพบองค์ประกอบที่ติดสีย้อมดังกล่าวได้แก่ keratinocytes, fibroblasts, hair follicles, sebaceous gland, extracellular matrix และ muscularis adiposa โดยในกลุ่ม YCJ พบมีจำนวนของ hair follicles ทั้งในชั้น dermis และ hypodermis มากที่สุด ในขณะที่กลุ่ม control พบน้อยที่สุด จากผลต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่า YCJ มีฤทธิ์คล้ายสารในกลุ่ม SERM (selective estrogen receptor modulator) นอกจากนี้จากการศึกษาทางเคมีคลินิกโดยการวัดระดับของ cholesterol, triglyceride, HDL, LDL, AST, ALT, ALP, total protein, albumin, BUN, creatinine ในเลือดพบว่าค่าต่างๆ ดังกล่าวในกลุ่ม YCJ ต่ำกว่ากลุ่ม sham control และ ovx ยกเว้นค่า HDL แสดงให้เห็นว่า YCJ นอกจากช่วยสมานแผลแล้วยังไม่มีผลเสียต่อการทำงานของอวัยวะต่างๆ

**คำหลัก :** น้ำมันพรว้าวอ่อน การสมานแผล เอสโตรเจน ตัวรับเอสโตรเจนชนิดแอลฟา และชนิดเบต้า

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the potential medical use of young coconut juice (YCJ), assumed to contain phytoestrogens, to facilitate wound healing properties and its safety. Comparisons were made between two groups of animals: a control and experimental group. Forty eight rats were used, 36 being ovariectomized (ovx), 24 Wistar rats were treated for 7 days the others for 14 days. For each length of treatment time ovariectomized rats were divided into 3 groups, 6 rats per group. Group 1 received estradiol benzoate (EB) (i.p.) at 2.5  $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{day}$  (control group); group 2 received YCJ at 100mL/kg BW/day (YCJ group). Group 3 were ovx and received deionized water, and group 4 were a sham-operated controls that also received deionized water, in the same way as the test groups everyday, once a day. Two weeks after ovariectomy, two equidistant 1.5-cm full-thickness skin incisional wounds were made through both the skin and muscularis adipose muscle and left to heal by secondary intention. Rats were force fed with YCJ or given an injection of EB for another 7 or 14 days. After sacrifice, wounds were excised and bisected and internal organs were removed, fixed and paraffin embedded for routine H & E and immunohistochemical staining; and TEM studies.

Routine H & E revealed that after the 7 days treatment epidermal, dermal and hypodermal thicknesses were not different when each group was compared. However, when treated for 14 days, ovx rats receiving YCJ not only had accelerating wound healing, but also increasing thickness of the epidermis and dermis, and decreasing hypodermal thickness. When the depth and the width of wounds were measured, there were no significant differences between the wound areas of each group, although the YCJ group was smallest. The expression of both  $\text{ER}\alpha$  and  $\text{ER}\beta$  immunoreactivity was localized at the epidermis, dermis, hypodermis, hair follicles, sebaceous glands, keratinocytes, fat cells, fibroblasts and muscularis adiposa (skeletal muscles). In the YCJ group, the number of hair follicles in either the dermis or hypodermis was highest and that of the control was lowest. These data altogether show novel tissue-specific differences of YCJ treated animals on the skin and skin appendages and consequently YCJ might be

categorized as a SERM (selective estrogen receptor modulator). Biochemical markers for liver and renal function tests including cholesterol, triglyceride, HDL, LDL, AST, ALT, ALP, total protein, albumin, BUN, creatinine in YCJ group were lower than for the sham, control and ovx groups. The present study clearly demonstrated the beneficial effects of YCJ on cutaneous wound healing and the safety of YCJ consumption after assessing the results of the serum chemical analysis of various organs.

**Key words:** Young-coconut juice, wound healing, estrogen, ER $\alpha$ , ER $\beta$