



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการต้านสภาวะเครียด
ออกซิเดชัน และการทำลายเนื้อเยื่อในหนูที่ตัดรังไข่

โดย นางจิตรบรรจง ตั้งปอง และคณะ

วันที่ 31 กรกฎาคม พ.ศ.2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการต้านสภาวะเครียด
ออกซิเดชัน และการทำลายเนื้อเยื่อในหนูที่ตัดรังไข่

คณะผู้วิจัย

1. นางจิตรบรรจง ตั้งปอง

2. นางสาวลัญจกร จันทรอุดม

3. นางสาวมณฑาทิพย์ ทองสม

สังกัด

สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์
มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ภาควิชาวิทยาศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช 80280

ภาควิชาวิทยาศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช 80280

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นของรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สัญญาเลขที่ RDG5220051

โครงการ ผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการต้านสภาวะเครียดออกซิเดชัน และการทำลายเนื้อเยื่อในหนูที่ตัดรังไข่

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

Executive Summary

สตรีวัยหมดประจำเดือนมักพบปัญหาสุขภาพที่เกิดจากความผิดปกติของไขมันในร่างกายทำให้เสี่ยงต่อการเป็นโรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดหัวใจ และเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) อันมีสาเหตุมาจากระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ลดลง การให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์จะช่วยลดโอกาสเสี่ยงของโรคดังกล่าว แต่ก็เพิ่มความเสี่ยงของผลข้างเคียงที่ร้ายแรงตามมา เช่น โรคมะเร็งเต้านมและมะเร็งมดลูก ไฟโตเอสโตรเจนจึงอาจเป็นฮอร์โมนทดแทนที่ปลอดภัยกว่าการใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์

ไฟโตเอสโตรเจนเป็นสารธรรมชาติที่ได้มาจากพืช มีสูตรโครงสร้างบางส่วนคล้ายคลึงกับเอสตราไดออล ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่พบมากในผู้หญิง มีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนอย่างอ่อน โดยอาจนำมาใช้ประโยชน์ในการป้องกันโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับภาวะฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่น มะเร็งบางชนิด ความผิดปกติเกี่ยวกับการหมดประจำเดือน ระบบหลอดเลือดและหัวใจ และโรคกระดูก

น้ำมะพร้าวอ่อนเป็นน้ำผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีระดับของสารไฟโตเอสโตรเจนในรูปของ Estradiol สูง นิยมบริโภคในกลุ่มคนทั่วไป และยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทยและภาคใต้ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับไขมันและภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูที่ตัดรังไข่ ซึ่งเปรียบเสมือนผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน โดยได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักหนูทดลอง น้ำหนักมดลูก การเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำตาลในเลือด ระดับไขมันในเลือด การเปลี่ยนแปลงของสารต้านอนุมูลอิสระรวม และการเปลี่ยนแปลงของลิพิดเปอร์ออกไซด์อันเกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูที่ตัดรังไข่ซึ่งเปรียบได้กับสตรีวัยหมดประจำเดือนที่มีฮอร์โมนเพศลดลง พบว่า Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนไม่มีผลต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวและน้ำหนักมดลูกในหนูทดลอง แต่มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือด ไขมันคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และแอล ดี แอล-คอเลสเตอรอล เพิ่มระดับเฮกซ์ดีแอล – คอเลสเตอรอล เพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวม แอคติวิตีของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์สมูเทส กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส ระดับกลูตาไทโอน และลดระดับลิพิดเปอร์ออกไซด์ในเลือดและเนื้อเยื่อตับ ได้อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่า Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนมีฤทธิ์คล้ายกับเอสโตรเจนในการควบคุมเมแทบอลิซึมของไขมัน และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในหนูทดลองที่ตัดรังไข่

ผลการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางเพื่อการศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของ Estradiol จากน้ำมะพร้าวอ่อน ใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนเพื่อลดความเสี่ยงที่เกิดจากการใช้เอสโตรเจนสังเคราะห์ในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : สัญญาเลขที่ RDG5220051

ชื่อโครงการ : ผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการต้านภาวะเครียดออกซิเดชัน และการทำลายเนื้อเยื่อในหนูที่ตัดรังไข่

ชื่อนักวิจัย : นางจิตบรรจง ตั้งปอง สังกัด สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์
มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช 80160

E-mail Address : rjitbanj@wu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 1 ปี ตั้งแต่ วันที่ 1 สิงหาคม 2552 ถึง วันที่ 31 กรกฎาคม 2553

สตรีวัยหมดประจำเดือนมักพบปัญหาสุขภาพที่เกิดจากความผิดปกติของไขมันในร่างกายทำให้เสี่ยงต่อโรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดหัวใจ และเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน อันมีสาเหตุมาจากระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ลดลง การให้ฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่น 17β -estradiol (E2) ช่วยลดโอกาสเสี่ยงของโรคดังกล่าวได้ แต่ขณะเดียวกันก็เพิ่มความเสี่ยงของผลข้างเคียงที่ร้ายแรงต่างๆ ตามมาด้วย เช่น โรคมะเร็งเต้านม และมะเร็งมดลูก ไฟโตเอสโตรเจนจากพืชจึงอาจเป็นฮอร์โมนทดแทนที่ปลอดภัยกว่าการใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ การวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษา ผลของน้ำมะพร้าวอ่อน ซึ่งมีส่วนประกอบของไฟโตเอสโตรเจน ในรูปของ Estradiol และฮอร์โมนเพศอื่นๆ ต่อหนูทดลอง ที่ทำการผ่าตัดเอารังไข่ออกซึ่งเปรียบได้กับสตรีวัยหมดประจำเดือนในการเปลี่ยนแปลงระดับไขมันและภาวะเครียดออกซิเดชัน

ผลการตรวจวัดฮอร์โมนเพศในน้ำมะพร้าวอ่อนโดยเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay พบว่าในน้ำมะพร้าวอ่อน 1 mL ประกอบด้วย 17β - estradiol เท่ากับ 4.4 pg และ progesterone เท่ากับ 0.0047 ng หลังจากเตรียมน้ำมะพร้าวอ่อนให้เข้มข้น (1 mL ซึ่งเท่ากับน้ำมะพร้าวอ่อนเริ่มต้นปริมาตร 29.3 mL) แล้วจะมีระดับของ 17β - estradiol เท่ากับ 129.03 pg/mL และ progesterone เท่ากับ 0.14 ng/mL มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 3492.56 μ M of Trolox equivalent antioxidant capacity/mL

เมื่อนำน้ำมะพร้าวอ่อนไปเตรียมให้สัตว์ทดลองที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 pg/kgBw/day ตามลำดับ หลังจากนั้นได้ทำการศึกษาผลของ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลในเลือด ไขมันในเลือด สารต้านอนุมูลอิสระรวม และเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งลิพิดเปอร์ออกไซด์ในเลือด และในเนื้อเยื่อตับของกลุ่มหนูทดลองเพศเมีย ประกอบด้วยกลุ่มหนูควบคุมปกติ กลุ่มทดลองที่ผ่าตัดหลอด กลุ่มทดลองที่ผ่าตัดรังไข่ กลุ่มทดลองที่ตัดรังไข่และได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน ซึ่งมีระดับความเข้มข้นของ Estradiol เท่ากับ 100, 200, 400 และ 800 pg/KgBw/day และกลุ่มทดลองที่ตัดรังไข่และได้รับ O-Estradiol ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 200 μ g/KgBw/day เป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยเริ่มให้สารทดสอบหลังการผ่าตัด 2 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าการให้น้ำมะพร้าวอ่อน และ O-Estradiol ไม่มีผลต่อความแตกต่างของน้ำหนักตัวของหนูในแต่ละกลุ่ม ผลการตรวจวิเคราะห์พบว่าน้ำมะพร้าวอ่อนมีผลลดระดับน้ำตาลในเลือด ไขมันคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และแอล ดี

แอล-คอเลสเตอรอล เพิ่มระดับเอชดีแอล – คอเรสเตอรอล เพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวม แอคติวิตีของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเทส กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส ระดับกลูตาไทโอน และลดระดับลิพิดเปอร์ออกไซด์ในเลือดและเนื้อเยื่อตับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ถูกตัดรังไข่ การตัดรังไข่มีผลทำให้น้ำหนักมดลูกของหนูลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูปกติไม่ตัดรังไข่ และกลุ่มหนูที่ผ่าตัดหูดอก ($p < 0.05$) แต่การให้ Estreadiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน และ O-Estradiol ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักมดลูกของหนูเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ตัดรังไข่ ($p > 0.05$) การทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนมีฤทธิ์คล้ายกับเอสโตรเจนในการควบคุมเมแทบอลิซึมของไขมัน และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในหนูทดลองที่ตัดรังไข่

ABSTRACT

Effect of phytoestrogen of young coconut juice on oxidative stress and tissues damage in ovariectomized mice

Postmenopausal women experience a markedly increase risk of lipid disorders such as obesity, diabetes mellitus, cardiovascular disease and oxidative stress cause by decreasing of estrogen hormone. Hormone replacement therapy can lower that risk but can also increase the risk of cancer, including breast cancer and uterus cancer. Phytoestrogen from plants might be a safer alternative sauce of hormone replacement therapy and young coconut juice contain phytoestrogen and other sex hormone. The present study we measured 17β – estradiol and progesterone in young coconut juice using Enzyme-linked immunosorbant assay. The original young coconut juice contains Estradiol 4.4 pg/mL and progesterone 0.0047 ng/mL. After preparation in concentrated form it's contain Estradiol 129.03 pg/mL and progesterone 0.14 ng/mL (1 mL of concentrated young coconut juice equal 29.3 mL of original coconut juice). The antioxidant capacity is 3492.56 μ M of Trolox equivalent antioxidant capacity/mL. The purpose of this study is to investigate the effects of phytoestrogen, Estradiol, in young coconut juice on oxidative stress in ovariectomized mice, which is the model of postmenopausal condition. Mice were divided into 8 groups, 6 mice per group. Group 1 was normal control, group 2 was sham operate control and group 3 was ovariectomized control fed with water. Group 4, 5, 6 and 7 were ovariectomized mice fed with young coconut juice at the concentration of Estradiol 100, 200, 400 and 800 pg/KgBw/day, respectively. Group 8 was ovariectomized mice fed with O-Estrogen at dose of 200 μ g/KgBw/day, once a day for 6 weeks after mice were ovariectomized for 2 weeks. Blood samples and livers were collected and analyzed. The results of young coconut juice treated groups shown no effect on body and uterus weight. Treatment with young coconut juice significantly decreased blood glucose, triglyceride, cholesterol, LDL-cholesterol and lipid peroxide, and increased blood HDL-cholesterol, total antioxidant capacity, superoxide dismutase and glutathione activity and glutathione levels compared with ovariectomized control group ($p < 0.05$). This study indicates the effects of estrogen-like hormone and antioxidant properties of Estradiol in young coconut juice which improved lipid metabolism and reduced oxidative stress in ovariectomized mice.

Keywords: young coconut juice, phytoestrogen, estradiol, lipid, lipid peroxide, oxidative stress, ovariectomized mice

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษา ผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการต้านสภาวะเครียดออกซิเดชัน และ การทำลายเนื้อเยื่อในหนูที่ตัดรังไข่ในครั้งนี้ ได้รับสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการ วิจัย ภายใต้ชุดโครงการ “Thai fruits-functional fruits Phase II” ภายใต้การดูแลของสำนักงาน ประสานงาน “สมุนไพรเพื่อคุณภาพชีวิต” ซึ่งคณะผู้วิจัยต้องขอขอบพระเป็นอย่าสูงไว้ ณ ที่นี้ ที่ให้ โอกาสพัฒนาทักษะในการทำวิจัย ได้เรียนรู้กระบวนการวางแผน การแก้ปัญหา การบริหารงบประมาณ เพื่อให้โครงการวิจัยบรรลุวัตถุประสงค์ และเป้าหมายที่วางไว้

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร.ดาเรศ เกษมเศรษฐ์ เซนต์แคร์ ที่คอยอบรม สั่งสอน ให้โอกาสใน การเรียนรู้ เพิ่มทักษะในการทำวิจัย รวมทั้งเป็นแบบอย่างของการเป็นนักวิจัยที่มีคุณภาพ

ขอขอบคุณคณะผู้บริหาร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ที่ให้การสนับสนุน แนะนำในการทำวิจัย และขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่งสำหรับเพื่อนร่วมงานในสำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ ที่ ให้ทั้งกำลังใจ และความช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ และเจ้าหน้าที่ ที่ให้การสนับสนุน อำนวยความสะดวก ด้านสถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย

ท้ายสุดนี้ ขอขอบพระคุณ พ่อ แม่ ครู อาจารย์ ที่ให้การอบรมสั่งสอน ให้ทำคุณประโยชน์ให้กับ ประเทศชาติ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรบรรจง ตั้งปอง

Executive Summary.....	I
บทคัดย่อ.....	III
ABSTRACT.....	V
กิตติกรรมประกาศ.....	VI
สารบัญภาพ.....	VIII
สารบัญตาราง.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	3
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย.....	22
บทที่ 4 ผลงานการศึกษาวิจัย.....	29
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษาวิจัย.....	41
เอกสารอ้างอิง.....	46
ภาคผนวก	
ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์และได้รับรางวัล	
บทความวิจัย.....	A-1
โปสเตอร์.....	B-1
เอกสารแผ่นพับประชาสัมพันธ์.....	C-1
เอกสารประกอบการนำเสนอผลการวิจัยด้วยวาจา.....	D-1
เอกสารบทความสื่อประชาสัมพันธ์ทางหนังสือพิมพ์.....	E-1
ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้	
และกิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ.....	F-1

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1. โครงสร้างของโมเลกุลเอสโตรเจนที่มีวงแหวน phenolic A	8
ภาพที่ 2 โครงสร้างของฟลาเวน (flavan)	17
ภาพที่ 3 ค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลในเลือด (mg/dL) ของหนูทดลอง	31
ภาพที่ 4 ค่าเฉลี่ยของระดับ Triglyceride ในเลือด (mg/dL) ของหนูทดลอง	32
ภาพที่ 5 ค่าเฉลี่ยของระดับ Triglyceride ในเนื้อเยื่อตับ (mg/g protein) ของหนูทดลอง	32
ภาพที่ 6 ค่าเฉลี่ยของระดับ Cholesterol ในเลือด (mg/dL) ของหนูทดลอง	33
ภาพที่ 7 ค่าเฉลี่ยของระดับ Cholesterol ในเนื้อเยื่อตับ (mg/mg protein)	33
ภาพที่ 8 ค่าเฉลี่ยของระดับ แอล ดี แอล-คอเลสเตอรอลในเลือด (mg/dL)	34
ภาพที่ 9 ค่าเฉลี่ยของระดับ เอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลในเลือด (mg/dL)	34
ภาพที่ 10 ค่าเฉลี่ยของระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือด (μM of TEAC)	35
ภาพที่ 11 ค่าเฉลี่ยของระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเนื้อเยื่อตับ (μM of TEAC/g protein)	35
ภาพที่ 12 แอคติวิตีของ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเตส ในเนื้อเยื่อตับ (IU/g protein)	36
ภาพที่ 13 แอคติวิตีของ เอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเตส ในเนื้อเยื่อตับ (IU/g protein)	36
ภาพที่ 14 แอคติวิตีของ เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส ในเลือด (IU/g protein)	37
ภาพที่ 15 แอคติวิตีของ เอนไซม์ กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส ในเนื้อเยื่อตับ (IU/g protein)	37
ภาพที่ 16 ระดับกลูตาไทโอนในเลือด (μM) ของหนูทดลอง	38
ภาพที่ 17 ระดับกลูตาไทโอนในเนื้อเยื่อตับ (μM /g protein)	38
ภาพที่ 18 ค่าเฉลี่ยของระดับ Malondialdehyde (MDA) ในเลือด ($\mu\text{M}/\text{mL}$)	39
ภาพที่ 19 ค่าเฉลี่ยของระดับ Malondialdehyde (MDA) ในเนื้อเยื่อตับ ($\mu\text{M}/\text{g protein}$)	39
ภาพที่ 20 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักมดลูกของหนูของหนูทดลอง	34

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ระดับฮอร์โมนเพศและระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในน้ำมะพร้าวอ่อน	29
ตารางที่ 2 น้ำหนักหนูทดลอง ก่อนและหลังได้รับสารทดสอบเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์	30
ตารางที่ 4 การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อน้ำหนักมดลูกของหนู	40

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันนี้คนไทยและทั่วโลกมีอุบัติการณ์สูงของโรคเบาหวาน ภาวะไขมันในเลือดสูง ความดันโลหิตสูง โรคหัวใจและหลอดเลือดแดงอุดตัน (สำนักงานพัฒนาระบบข้อมูลข่าวสารสุขภาพ, 2550; Aekplakorn, et al. 2006) เนื่องมาจากสาเหตุหลาย ๆ อย่างด้วยกัน แต่ส่วนใหญ่เกิดจากการดำรงชีวิตและสภาพแวดล้อม เช่น พฤติกรรมการบริโภคอาหาร การมีโภชนาการที่ไม่เหมาะสม รวมทั้งการขาดการออกกำลังกาย ทำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งเป็นสภาวะที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมและป้องกันปริมาณของอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ได้ จะนำไปสู่การทำลายเซลล์จากอนุมูลอิสระและอาจเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคสมองเสื่อม มะเร็ง ความชราภาพ (aging) ความเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อต่างๆ (Marlatt, et al. 2008; De Sá Roriz-Filho, et al. 2008; Minelli, et al. 2008) สารต้านออกซิเดชันเป็นสารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในที่นี้ยังสามารถยับยั้งและควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ได้ ปัจจุบันงานวิจัยเกี่ยวกับสารที่มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันได้ก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว และวิทยาศาสตร์หลายแขนงเข้ามาเกี่ยวข้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการหาสารสำคัญจากพืช ผัก ผลไม้ ที่มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันที่ดี แต่การศึกษาดังกล่าวส่วนใหญ่แล้วเป็นการศึกษาเฉพาะในหลอดทดลอง (*In vitro*) เท่านั้น ยังขาดการศึกษาในสัตว์ทดลอง (*In vivo*) ซึ่งเป็นขั้นตอนการศึกษาที่มีความสำคัญก่อนที่จะนำมาใช้กับมนุษย์ เพื่อนำไปสู่การเพิ่มมูลค่าและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สู่ตลาดสากลได้ การพัฒนาดังกล่าวจำเป็นต้องอาศัยการศึกษาทั้งในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองควบคู่กันไป เพื่อให้ได้สารที่มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันที่ดีที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในการป้องกันการเกิดโรคได้

ไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) เป็นสารธรรมชาติที่ได้มาจากพืช มีโครงสร้างและการออกฤทธิ์คล้ายคลึง estradiol โดยเมื่อเข้าสู่ลำไส้แล้วจะมีฤทธิ์ของ estradiol (Kaldas, et al. 1989) ปัจจุบันจึงมีการศึกษาไฟโตเอสโตรเจนอย่างกว้างขวาง เนื่องจากโครงสร้างและการออกฤทธิ์ที่คล้าย estrogen ที่มีบทบาทในการรักษาอาการที่เกิดขึ้นในช่วงวัยหมดระดู ได้แก่ ภาวะโรคกระดูกพรุน (Stovall, et al. 2008) รวมถึงการป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (Shapiro, 2008) ซึ่งพบว่าอุบัติการณ์การเกิดโรสดังกล่าว สูงในกลุ่มสตรีวัยหลังหมดประจำเดือน ไฟโตเอสโตรเจนที่พบในพืชจะอยู่รูปของ Isoflavones, Lignans, Coumestans, และ Resorcylic acid lactones (Kuhnle, et al. 2009) จากรายงานการศึกษาวิจัยพบว่าถั่วเหลืองซึ่งเป็นพืชที่มีไฟโตเอสโตรเจนอยู่ในรูปของ Isoflavone มีคุณสมบัติเป็นสาร Antioxidant สามารถต้านอนุมูลอิสระ (Free radical) และมีฤทธิ์ช่วยในการเปลี่ยนแปลงระดับของไขมันในเลือดโดยลด Total cholesterol, LDL-Cholesterol, Triglyceride

และสามารถเพิ่มระดับของ HDL-Cholesterol ได้ (Cai, et al. 1997; Siyan and Suzanne, 2005; Yutaka, 2005)

จากการศึกษาพบว่าในน้ำมะพร้าวอ่อนมีไฟโตเอสโตรเจนสูง และจากรายงานผลการวิจัยพบว่า น้ำมะพร้าวอ่อนมีผลต่อการชะลอการเกิดพยาธิสภาพโรคอัลไซเมอร์ (Radenahmad, et al., 2006) ซึ่ง มะพร้าวเป็นพืชเกษตรของทุกภาค และคนไทยนิยมบริโภคน้ำมะพร้าวอ่อนกันอย่างแพร่หลาย แต่ยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีผลต่อการลดภาวะเครียดออกซิเดชัน และลดการทำลายเซลล์ของอนุมูลอิสระ รวมทั้งการศึกษาการลดความเสี่ยงต่างๆ ในการเกิดโรค เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคความจำเสื่อม เหมือนกับการศึกษาในถั่วเหลือง ดังนั้นกลุ่มผู้ทำการศึกษาก็มีความสนใจทำการศึกษาค้นคว้าผลของน้ำมะพร้าวอ่อนในการต้านอนุมูลอิสระ และลดการถูกทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อ ในหนูที่ตัดรังไข่ซึ่งเปรียบเสมือนสตรีวัยหลังหมดระดู ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ อาจใช้เป็นข้อมูลในการนำไปประยุกต์ใช้กับการศึกษาในคนปกติ ผู้ป่วย และสามารถนำมะพร้าวอ่อน มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ หรือเป็นการกระตุ้นให้มีการบริโภคเพิ่มมากขึ้นทั้งภายในประเทศและต่างประเทศได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาคุณสมบัติของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการลดภาวะเครียดออกซิเดชัน และลดการถูกทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อในหนูที่ตัดรังไข่

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบฤทธิ์ของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการลดภาวะเครียดออกซิเดชันและลดการถูกทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อในหนูที่ตัดรังไข่ซึ่งเปรียบเสมือนสตรีวัยหลังหมดระดู
2. สามารถนำมาเป็นข้อมูลในการกระตุ้นให้มีการบริโภคน้ำมะพร้าวอ่อนเพิ่มมากขึ้น ทั้งภายในประเทศและต่างประเทศและเพื่อนำไปสู่การพัฒนาให้น้ำมะพร้าวอ่อนเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมสุขภาพ
3. เพื่อเป็นแนวทางการศึกษาผลของการป้องกันการตายของเซลล์ประสาทสมอง จากพิษของ β -amyloid 1-42 ในโรค Alzheimer's

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

ภาวะหมดประจำเดือนในผู้หญิงจะอยู่ในช่วงอายุ 51 ปีโดยเฉลี่ย อาการที่เกี่ยวข้องกับภาวะหมดประจำเดือน (menopausal symptoms) เช่น อาการร้อนวูบวาบ (hot flashes) ซึมเศร้า สภาวะอารมณ์แปรปรวน ปวดศีรษะ อาการใจสั่น (heart palpitation) นอนไม่หลับ ช่องคลอดแห้ง ปวดข้อ ผิวหนังไม่เต่งตึง และกระดูกเปราะหักง่าย อีกทั้งพบอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดหัวใจ โรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของเซลล์ประสาท (Alzheimer's disease, Parkinson's disease, other Neurodegenerative disease) โรคหลอดเลือดสมอง โรคอ้วน และโรคเบาหวาน (Rogerio, et al., 2007; Marlatt, et al. 2008; De Sá Roriz-Filho, et al. 2008; Minelli, et al. 2008) เกิดขึ้นกับผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนสูงกว่าผู้ชายในวัยเดียวกัน และผู้หญิงวัยก่อนหมดประจำเดือน ทั้งนี้มีการศึกษาพบว่าโรคที่เกิดขึ้นในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนนั้น มีกลไกสำคัญจากความไม่สมดุลกันของอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ส่งผลให้เกิดภาวะที่มีอนุมูลอิสระสูงเกิน หรือสารต้านอนุมูลอิสระไม่เพียงพอ ซึ่งเรียกว่า ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ภาวะดังกล่าวเกี่ยวข้องกับระดับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) ที่ลดลงในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน (Mu, et al. 2008) โดยฮอร์โมนเอสโตรเจน มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยปรับสมดุลให้กับเซลล์ในร่างกาย หากฮอร์โมนเอสโตรเจนลดลง จะทำให้อนุมูลอิสระ (free radical) โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุมูลอิสระในกลุ่มที่ไวต่อปฏิกิริยาที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (reactive oxygen species, ROS) ทำลายดีเอ็นเอ โปรตีน หรือเปลี่ยนแปลงไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ ทำให้เซลล์หยุดทำงาน หยุดการซ่อมแซม การทำหน้าที่ต่างของเซลล์เสียไป ซึ่งพบว่าถ้าอนุมูลอิสระไปแย่งอิเล็กตรอน (oxidized) ไขมันชนิดแอลดีแอล-คอเลสเตอรอล (LDL-cholesterol) ไปเป็นแอลดีแอล-คอเลสเตอรอลชนิดอิเล็กตรอนเกิน (oxidized LDL-cholesterol) ก็จะทำให้พัฒนาเป็นคราบไขมันสะสมที่ผนังหลอดเลือด โดยเฉพาะอย่างยิ่งหลอดเลือดหัวใจจึงทำให้เสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ หรือถ้าอนุมูลอิสระไปทำลายโครงสร้างของเซลล์ในสมองจะทำให้เซลล์ประสาทถูกบกรวน สูญเสียหน้าที่ และตายไป ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญสาเหตุหนึ่งของการเป็นโรคที่เกิดจากเซลล์ประสาทเสื่อม (Neurodegenerative disease) (Dong, et al. 2008) ด้วยคุณสมบัติของเอสโตรเจนที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงนำเอสโตรเจนมาใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนเพื่อลดอาการที่เกี่ยวข้องกับภาวะหมดประจำเดือน ช่วยป้องกันโรคและใช้ในการรักษาเบื้องต้นให้กับผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน อย่างไรก็ตามวิธีการนี้อาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่อันตรายเมื่อได้รับฮอร์โมนทดแทนในระยะเวลายาวนาน เช่น การก่อให้เกิด มะเร็งเต้านม และมะเร็งมดลูก พบว่าผู้หญิงอายุ 50-74 ปีที่ใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนทดแทน มีโอกาสเป็นมะเร็งสูงกว่า 10 เท่าเมื่อเทียบกับผู้หญิงที่ไม่ใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจน และเพิ่มขึ้นในแต่ละปี 0.1-1 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและ

หลอดเลือด ดังนั้นผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนหลายคนจึงพยายามหลีกเลี่ยงการรับฮอร์โมนทดแทน โดยการหาวิธีบำบัดด้วยวิธีอื่นๆ เช่น การรับประทานวิตามินอี การรับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มที่ทำมาจากถั่วเหลือง ซึ่งมีส่วนประกอบของสารไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) ซึ่งเป็นสารธรรมชาติที่ได้มาจากพืช มีสูตรโครงสร้างบางส่วนคล้ายคลึงกับเอสตราไดออล (estradiol) ที่เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนที่พบมากในร่างกายผู้หญิง ไฟโตเอสโตรเจนจึงอาจมีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนอย่างอ่อน สามารถนำสารนี้มาใช้ประโยชน์ในการป้องกันโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับภาวะพร่องฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่น มะเร็งบางชนิด (Liu, et al. 2009) เกี่ยวกับการหมดประจำเดือน (postmenopause disorder) ระบบหลอดเลือดและหัวใจ และโรคกระดูก

1. อนุมูลอิสระและภาวะเครียดออกซิเดชัน

อนุมูลอิสระ (Free radical) หมายถึง สารซึ่งมีอิเล็กตรอนซึ่งไม่มีคู่อยู่ในวงรอบนอกสุดของอะตอม หรือโมเลกุล ที่สำคัญคือสารซึ่งมีออกซิเจนเป็นศูนย์กลาง คือ hydroxyl radical, superoxide, peroxy, alkoxyl และ oxides ของ nitrogen อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย เช่น การเผาผลาญอาหาร การหายใจระดับเซลล์ (Electron transport chain) ในไมโทคอนเดรีย การออกกำลังกายหักโหม การติดเชื้อ ความเครียด และความแก่ สารอนุมูลอิสระเหล่านี้เกิดขึ้นในร่างกายอยู่แล้ว โดยเฉพาะเวลาที่มีการเกิดปฏิกิริยาร่วมกับโลหะหนัก ได้แก่ ธาตุเหล็ก ทองแดง แมงกานีส เป็นต้น ซึ่งมีอยู่เป็นจำนวนน้อยๆ ในร่างกาย โดยมักเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่แต่ร่างกายจะมีระบบของสารต้านอนุมูลอิสระกำจัดออกไป แต่ถ้าสารอนุมูลอิสระเหล่านี้มีมากกว่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายจะขัดขวาง หรือในภาวะที่มีจำนวนสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายลดลง ภาวะที่มีอนุมูลอิสระสูงเกินจนสารต้านอนุมูลอิสระไม่เพียงพอ เรียกว่าภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ทำให้เกิดการทำลาย ดีเอ็นเอ โปรตีน หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงในไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ ทำให้เซลล์หยุดทำงาน หยุดการซ่อมแซม การทำหน้าที่ต่างๆ ของเซลล์เสียไป อนุมูลอิสระจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการก่อให้เกิดพยาธิสภาพในอวัยวะต่างๆ เช่น หัวใจและสมอง เป็นต้น ซึ่งส่งผลให้มีโครงสร้างและหน้าที่ของอวัยวะเหล่านั้นเสียไป จากการศึกษาวิจัยพบว่า อนุมูลอิสระทำให้เพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคมะเร็งบางชนิด โรคความจำเสื่อม โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) และ โรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) (Roberts, et al. 2009; Li, et al. 2009; Zawia, et al. 2009; Chinta, et al. 2008) จึงต้องหาวิธีป้องกันไม่ให้อวัยวะได้รับอันตรายจากอนุมูลอิสระ ซึ่งโดยปกติแล้วร่างกายจะมีระบบต้านอนุมูลอิสระ จากเอนไซม์และวิตามินต่างๆ อีกทั้งยังได้รับจากอาหาร ผัก ผลไม้ ที่รับประทานเข้าไปซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระรวมอยู่ด้วย

2. วัยหมดประจำเดือน (The menopause)

วัยหมดประจำเดือน สภาวะหมดประจำเดือน วัยหมดระดู หรือวัยทองเป็นคำที่ถูกใช้โดยมักหมายถึง สตรีที่เข้าสู่ระยะสิ้นสุดการมีประจำเดือนอย่างถาวร เนื่องจากรังไข่หยุดทำงานซึ่งเป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่เป็นไปตามธรรมชาติ จากสตรีในวัยเจริญพันธุ์เข้าสู่วัยซึ่งรังไข่

หมดความสามารถในการเจริญพันธุ์ และสร้างฮอร์โมนเพศลดลง ซึ่งภาวะหมดประจำเดือนในผู้หญิง มักจะอยู่ในช่วงอายุ 47-50 ปี

2.1 อาการและอาการแสดงของสตรีวัยหมดประจำเดือน

ในสตรีวัยหมดประจำเดือน ร่างกายจะหยุดทำงานเป็นผลให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนลดระดับลง ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลง ในอวัยวะต่างๆ โดยอาการของสตรีวัยหมดประจำเดือนเป็นอาการที่ปรากฏ ต่อเนื่องหลายปีก่อนหมดประจำเดือนครั้งสุดท้าย อาจเป็นได้นานกว่า 10 ปี อาการและอาการแสดงที่ พบในสตรีวัยหมดประจำเดือนแต่ละคนนั้นจะแตกต่างกันไป ตามพื้นฐานสุขภาพร่างกาย สภาวะทาง จิตใจ สังคม และวัฒนธรรม

1) อาการทางระบบประสาทอัตโนมัติ (vaso-motor symptoms) การเปลี่ยนแปลง ของระบบการควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย ทำให้เกิดอาการร้อนวูบวาบ (hot flush) ซึ่งมักเกิดขึ้นชั่วครั้ง ชั่วคราว เป็นๆ หายๆ ร่วมกับอาการใจสั่น กังวล นอนไม่หลับ และอ่อนเพลีย บางครั้งอาจมีอาการสั่น ตามมา อาการดังกล่าวจะเริ่มขึ้นโดยมีความรู้สึกร้อนที่บริเวณอก และกระจายไปที่คอและใบหน้า รู้สึก วูบวาบที่ผิวหนัง และมีเหงื่อออกตามมา

2) อาการด้านจิตใจ (psychological symptoms) มีหลักฐานทางชีววิทยาว่าฮอร์โมน มีผลต่ออารมณ์ทั้งเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน พบได้ในสมองและมีผลต่อ cerebral excitability เอสโตรเจนยังทำให้ serotonin ในสมองเพิ่มขึ้นอีกด้วย สตรีในวัยหมด ประจำเดือนมีระดับ β -endorphin ต่ำ ซึ่งหากได้รับเอสโตรเจนจะทำให้ระดับ β -endorphin สูงขึ้น เป็นผลให้อารมณ์ดีขึ้น และยังพบว่าสตรี ในวัยหมดประจำเดือน ยังมีอาการด้านจิตใจเพิ่มมากขึ้น ได้แก่ รู้สึกขาดพลังและแรงกระตุ้น ขาดสมาธิ หงุดหงิด เหนื่อยเพลีย อารมณ์แปรปรวน รู้สึกเครียด ซึมเศร้า วิตกกังวล ปวดศีรษะ นอนไม่หลับ และ ความต้องการทางเพศลดลง

3) อาการทางระบบเคลื่อนไหวของร่างกาย (locomotor symptoms) สตรีวัยหมด ประจำเดือนไปเป็นเวลานาน การสูญเสียเนื้อกระดูกจะมีมากขึ้น ทำให้เกิดกระดูกบางและผุ ซึ่งจะมี อาการและอาการแสดงหลายอย่าง ได้แก่ ปวดกระดูก หลังโกง ส่วนสูงลดลง และกระดูกหัก

4) อาการทางผิวหนังและเยื่อเมือกอื่นๆ Fibroblast ที่ผิวหนังมี estrogen receptor และ เมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนจะพบว่า ผิวหนังจะแห้งและบางลง ต่อมเหงื่อและต่อมไขมันซึ่งช่วย สร้างความชุ่มชื้นทำงานลดลง ทำให้ความยืดหยุ่นของผิวหนังลดลง เส้นเลือดที่ผิวหนังพบว่าลดจำนวน ลงด้วยการเปลี่ยนแปลงต่างๆ เหล่านี้ ทำให้ผิวหนังบาง เปราะ เกิดการระคายเคือง มีอาการแสบคันได้ ง่าย เยื่อเมือกที่อื่นก็ได้รับผลจากการขาดเอสโตรเจนเช่นกัน การเสื่อมลงของเยื่อช่องปาก ทำให้ปาก แห้ง แสบลิ้น และการรับรสเปลี่ยนไป นอกจากนี้ เยื่อบุตาที่บางลง ขาดน้ำตามาหล่อลื่น ทำให้เกิด อาการตาแห้ง เคืองตา และเยื่อบุตาอักเสบ

5) อาการของระบบทางเดินปัสสาวะและอวัยวะสืบพันธุ์ เมื่อเข้าสู่วัยหมด ประจำเดือน สตรีจำนวนมากต้องพบกับอาการของระบบทางเดินปัสสาวะ ได้แก่ ปัสสาวะแสบขัด กลั้น ปัสสาวะไม่ได้ และปัสสาวะเล็ด เป็นต้น นอกจากนี้ยังอาจมีการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะได้บ่อย ทั้งนี้ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุและเนื้อเยื่อรองรับมีการบางตัวอ่อนแอลง

2.2 การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนในสตรีวัยหมดประจำเดือน

Gonadotropins เป็นฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองจะเพิ่มขึ้นหลายเท่าหลังจากหมดประจำเดือน โดยระดับของ FSH ในเลือดจะเพิ่มขึ้นประมาณ 10-15 เท่า หลังจากหมดประจำเดือน 1 ปี ขณะที่ระดับของ LH จะเพิ่มขึ้น 3 เท่า เหตุผลที่ระดับ FSH เพิ่มขึ้นสูงกว่าระดับ LH อาจเป็นเพราะว่า FSH ไวต่อ negative feedback ของ estradiol มากกว่า และการที่ inhibin มีระดับต่ำลงมากในวัยหมดประจำเดือนก็ทำให้ระดับ FSH สูงขึ้น เนื่องจาก inhibin มีผลยับยั้งการสร้างและการหลั่งของ FSH จากต่อมใต้สมอง แต่มีผลน้อยมากต่อ LH นอกจากนี้ FSH ยังมี half life ยาวกว่า LH ก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ระดับ FSH สูงกว่า LH ในช่วงนี้ หลังจากนั้นระดับทั้ง FSH และ LH จะลดลงเรื่อยๆ เมื่ออายุเพิ่มมากขึ้น

Estradiol ในช่วงวัยใกล้หมดประจำเดือนระดับของ estradiol ในเลือดอาจเปลี่ยนแปลงหรือเพิ่มขึ้น เมื่อจำนวน follicles น้อยลงมาก ระดับ estradiol จะลดลงเรื่อยๆ อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะใน 12 เดือนแรกของวัยหมดประจำเดือน หลังจากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ ไปอีกหลายปี ระหว่างนี้อาจพบมีระดับของ estradiol สูงขึ้นชั่วคราวเป็นบางครั้ง ซึ่งบ่งชี้ให้เห็นว่าอาจมี follicles หลงเหลืออยู่บ้าง ถึงแม้จะหมดประจำเดือนแล้วก็ตาม ซึ่ง follicles สามารถหลั่ง estradiol ออกมาได้บ้าง แต่ไม่มีการตกไข่อีกแล้ว

Estrone เป็นฮอร์โมนที่พบเป็นส่วนใหญ่ของ estrogen ในเลือดของสตรีวัยหมดประจำเดือน ส่วนใหญ่ของ estrone มาจาก peripheral conversion ของ androstenedione ที่อวัยวะต่างๆ โดยเฉพาะไขมัน อัตราการเปลี่ยนจาก androstenedione เป็น estrone จะพบมากในสตรีที่อ้วน เนื่องจากมีไขมันมากกว่า ระดับของ estrone ในเลือดพบว่า จะลดลงในวัยหมดประจำเดือนในลักษณะที่เหมือนกับ estradiol แต่ระดับของ estrone ในสตรีวัยหมดประจำเดือนก็ยังพบว่าสูงกว่า estradiol จากขบวนการ peripheral conversion

Progesterone หลังจากสตรีเข้าสู่วัยหมดประจำเดือน รังไข่จะหยุดสร้าง progesterone ทำให้ระดับของ progesterone ในเลือดลดลง การที่ระดับ progesterone ลดลงต่ำมากในวัยนี้ ประกอบกับสตรีวัยหมดประจำเดือนบางคนยังมีระดับ estrogen สูงในเลือด จะเสี่ยงต่อการเกิด endometrial hyperplasia หรือ endometrial cancer ได้ เนื่องจากไม่มี progesterone ไปปกป้องเยื่อบุโพรงมดลูกจากการกระตุ้นโดย estrogen

Androgen ในวัยเจริญพันธุ์ ร้อยละ 50 ของ androstenedione และร้อยละ 25 ของ testosterone ในเลือดผลิตจากรังไข่และจากต่อมหมวกไต โดยพบว่ารังไข่จะสร้าง androstenedione ลดลงเหลือเพียงร้อยละ 40 ขณะที่สร้าง testosterone ในระดับที่ใกล้เคียงกับในวัยเจริญพันธุ์ ทำให้ระดับของ androstenedione ในเลือดลดลงเหลือเพียงครึ่งหนึ่งของวัยเจริญพันธุ์เท่านั้น ขณะที่ระดับ testosterone ในเลือดลดลงเพียงเล็กน้อยในวัยหมดประจำเดือน ซึ่งรังไข่ในสตรีวัยหมดประจำเดือนสามารถสร้าง androgen ได้ดี ทั้งนี้เนื่องจาก androgen สร้างจากส่วน stroma ของรังไข่ ซึ่งยังทำหน้าที่ได้ดีแม้จะไม่มีรังไข่แล้ว ส่วน stroma นี้จะประกอบด้วยกลุ่มของ theca cell ซึ่งทำหน้าที่สร้าง androgen ซึ่งเซลล์เหล่านี้ยังคงตอบสนองได้ดีต่อ LH ที่สูงขึ้นมากในวัยหมดประจำเดือน

Inhibin ระดับของ inhibin ในเลือดลดลงอย่างชัดเจนในช่วงวัยใกล้หมดประจำเดือน โดยทั่วไป inhibin จะลดลงจนไม่สามารถหาค่าได้ในเลือด หลังจากสตรีเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนแล้ว ตามจำนวน follicles ในรังไข่ที่ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงอายุ 40 ปี และอาจไม่พบ follicles เลยในวัยหมดประจำเดือน

3. เอสโตรเจน (estrogen)

เอสโตรเจน เป็นฮอร์โมนสเตียรอยด์ (steroid hormone) ชนิดหนึ่งซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศ (sex hormone) ของเพศหญิง ได้จากรังไข่ และต่อมไร้ท่อบางอย่างอื่น ได้แก่ จาก Graafian follicle ของรังไข่ โดย Theca interna cell เป็นส่วนใหญ่ และส่วนน้อยจากชั้นของ granulosa cell จาก corpus luteum ซึ่งมีการสร้างเพียง 7-8 วัน หลังไข่ตกจากรก (placenta) โดยเซลล์ Syncytial trophoblast) และจากเปลือกต่อมหมวกไตซึ่งให้ Adrenal sex hormone

3.1 ชนิดของเอสโตรเจน

เอสโตรเจนเป็นกลุ่มสารซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีและฤทธิ์คล้ายคลึงกัน โดยมีผลต่ออวัยวะสืบพันธุ์ เช่น มดลูก ช่องคลอด และ อวัยวะในระบบอื่นๆ เช่น กระดูก และตับ เป็นต้น การแบ่งแยกชนิดของเอสโตรเจนทำได้โดยอาศัยความแตกต่างของโครงสร้างทางเคมี ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มที่มีโครงสร้างแบบสเตียรอยด์และแบบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์สามารถจำแนกต่อไปได้เป็นเอสโตรเจนชนิดธรรมชาติ (natural) และเอสโตรเจนชนิดสังเคราะห์ (synthetic) เอสโตรเจนธรรมชาติที่มีโครงสร้างแบบสเตียรอยด์ประกอบด้วย เอสตราไดออล (E2), เอสโตรน (E1), เอสตริออล (E3) และกลุ่ม equine estrogen สำหรับกลุ่มโครงสร้างที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ ประกอบด้วยชนิดที่มาจากการสังเคราะห์ได้แก่ กลุ่ม stilbenes เช่น diethylstilbestrol ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอดีตและชนิดที่พบได้ในธรรมชาติ เช่น กลุ่มเอสโตรเจนจากพืช (Phytoestrogens) เป็นต้น

3.2 สูตรโครงสร้างทางเคมีของเอสโตรเจน

เอสโตรเจนที่มีโครงสร้างของสเตียรอยด์ทุกชนิด เปลี่ยนแปลงมาจากคอเลสเตอรอล ซึ่งมีคาร์บอน 27 อะตอม โดยมีโครงสร้างหลักทางเคมีที่ประกอบด้วยวงแหวน 4 วงของโมเลกุล perhydrocyclo pentanephenanthrene โมเลกุลดังกล่าวประกอบด้วยวงแหวนที่มีคาร์บอน 6 อะตอมอยู่ 3 วง และวงแหวนที่มีคาร์บอนอยู่ 5 อะตอม 1 วง ซึ่งเรียกตามลำดับ คือ A, B, C และ D ซึ่งมีลักษณะดังนี้

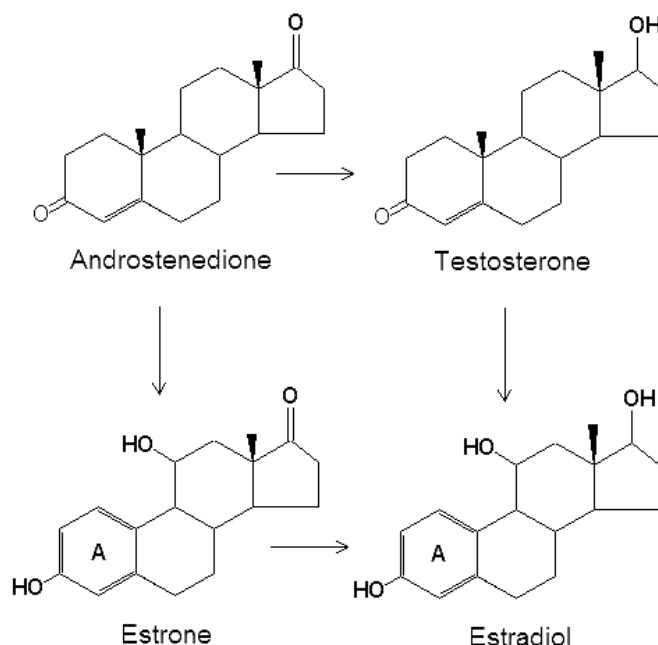
1) มีวงแหวน phenolic A ซึ่งก็คือวงแหวน aromatic ที่มีกลุ่ม hydroxyl ติดอยู่ที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 3

2) มีกลุ่ม methyl ที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 13

3) มีกลุ่ม β -hydroxyl หรือ ketone ที่ตำแหน่งคาร์บอนที่ 17 ของวงแหวน D

วงแหวน phenolic A จะเป็นตำแหน่งที่สำคัญในการเลือกจับกับตัวรับเอสโตรเจน (estrogen receptor) การปรับเปลี่ยนโครงสร้างทางโมเลกุลเหล่านี้เพียงเล็กน้อย ทำให้เกิดสารใหม่ที่มี

ฤทธิ์แตกต่างกันออกไป เช่น ในตำแหน่งคาร์บอนที่ 17 ถ้ากลุ่ม hydroxyl อยู่ในตำแหน่ง β (17β -estradiol) จะอยู่ในรูปแบบที่ออกฤทธิ์ได้ดีกว่าที่อยู่ในตำแหน่ง α (17α -estradiol) เป็นต้น



ภาพที่ 1. โครงสร้างของโมเลกุลเอสโตรเจนที่มีวงแหวน phenolic A

3.3 การสังเคราะห์และเมตาบอลิซึมของเอสโตรเจน

เอสโตรเจนถูกสังเคราะห์ได้จากสองแหล่ง คือ จากรังไข่และการเปลี่ยนแปลงภายนอก รังไข่ (peripheral conversion) ได้แก่ กล้ามเนื้อ ตับ ไขมัน บางส่วนของสมอง เป็นต้น

ในสตรีวัยเจริญพันธุ์ชนิดของเอสโตรเจนที่มีความสำคัญและมีฤทธิ์มากที่สุด คือ 17β -estradiol หรือเอสตราไดอล ในรอบประจำเดือนปกติที่มีการตกไข่ ร่างกายจะผลิตเอสตราไดอลได้วันละ 100 -300 ไมโครกรัม ระดับเอสตราไดอลในกระแสเลือดตรวจพบได้ตั้งแต่ 100 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร ในระยะ follicular จนถึง 600 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตรในระยะตกไข่ ในขณะที่ตั้งครรภ์อาจเพิ่มขึ้นได้สูงถึง 20,000 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับชนิดของเอสโตรเจนที่มีฤทธิ์รองลงคือ เอสโตรน ส่วนใหญ่เปลี่ยนมาจากเอสตราไดอล และ androstenedione ส่วนน้อยสร้างจากรังไข่และต่อมหมวกไต ระดับของเอสโตรเจนในกระแสเลือดในช่วงที่มีรอบประจำเดือนจะอยู่ระหว่าง 40-170 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร

ในสตรีวัยเจริญพันธุ์ พบว่าอัตราส่วนของเอสตราไดอลต่อเอสโตรนเท่ากับหรือมากกว่า 1.0 แตกต่างจากสตรีวัยหมดประจำเดือนซึ่งพบว่ารังไข่ค่อยๆ ลดการตอบสนองต่อการกระตุ้นจากโกนาโดโทรปินทำให้สร้างเอสโตรเจนลดลง ระดับเอสตราไดอลในระยะนี้ลดลงใกล้เคียงกับผู้ชายที่อายุเท่าๆ กัน

3.4 กลไกการออกฤทธิ์ของเอสโตรเจน

กลไกการออกฤทธิ์ของเอสโตรเจนดำเนินผ่านทางตัวรับเอสโตรเจน (estrogen receptor) ที่อยู่ในเซลล์ เนื่องจากเอสโตรเจนสามารถผ่านเข้าเยื่อหุ้มเซลล์ โดยกระบวนการ simple diffusion และจับกับตัวรับเอสโตรเจนที่อยู่ในนิวเคลียสเกิดเป็น estrogen-receptor complex ซึ่งจะมีการปรับเปลี่ยนรูปทรงที่เรียกว่า conformational change ทำให้เกิดตำแหน่งบนตัวรับที่สามารถจับกับดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง estrogen responsive element (ERE) และกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์ mRNA ออกจากนิวเคลียสเข้าสู่ไซโตพลาสซึมและจับกับไรโบโซม และเกิดการสังเคราะห์โปรตีนซึ่งจะมีผลทำให้เกิดฤทธิ์ของเอสโตรเจนต่อไป เมื่อเอสโตรเจนทำงานภายในเซลล์แล้วจะถูกเปลี่ยนกลับสู่กระแสเลือด โดยถูก metabolized ต่อไป หรือกลับไปจับกับเซลล์เพื่อทำงานใหม่ ทั้งนี้จำนวนตัวรับภายในเซลล์เป้าหมายจะไม่คงที่ตลอดเวลา แต่จะแตกต่างกันไปตามระยะต่างๆ ของรอบประดู และสภาพแวดล้อมต่างๆ

ตัวรับเอสโตรเจนเป็นโปรตีนที่พบได้ในอวัยวะหลายระบบ ได้แก่ อวัยวะสืบพันธุ์สตรี เต้านม ต่อมไธสมอง ไฮโปทาลามัส กระดูก ตับ เป็นต้น ในปัจจุบันพบว่าตัวรับของเอสโตรเจนมีอยู่ 2 ชนิด คือ ER- α และ ER- β

ER- α เป็นโปรตีนที่สังเคราะห์ในไซโตพลาสซึมและผ่านเข้าสู่นิวเคลียส โครงสร้างแบ่งออกเป็น 5 ส่วนหลัก ประกอบด้วย Regulatory domain, DNA-binding domain, Hinge region, estrogen binding domain และ F region บริเวณ DNA-binding domain จะมีตำแหน่งที่เรียกว่า zinc fingers ที่เป็นตัวกำหนดการเข้าจับกับ estrogen responsive element บนดีเอ็นเอ โดยทั่วไปเมื่อตัวรับเอสโตรเจนอยู่อย่างอิสระ โดยไม่มีเอสโตรเจนมาจับ บริเวณ estrogen binding domain จะจับกับ heat shock protein ซึ่งจะป้องกันไม่ให้ตัวรับเข้าจับกับดีเอ็นเอ เมื่อเอสโตรเจนจับกับตัวรับตรงตำแหน่ง estrogen binding domain ทำให้ heat shock protein หลุดออก และเกิดการเปลี่ยนรูปทรงของ estrogen receptor complex และเกิดกระบวนการ dimerization คือ การที่ estrogen receptor complex เข้าจับกับ estrogen responsive element บนดีเอ็นเอเป็นคู่ และกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ transcription จึงเกิดกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนออกไป

ER- β เป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างโมเลกุลแบ่งเป็น 5 ส่วนเช่นเดียวกับ ER- α โดยมีส่วน DNA-binding domain และ estrogen-binding domain ที่มีองค์ประกอบของกรดอะมิโนส่วนใหญ่คล้ายคลึงกัน จะแตกต่างกันในส่วนของ regulatory domain, hinge region และ F region เมื่อเอสโตรเจนจับกับตัวรับเกิดเป็น estrogen-receptor complex และเกิดกระบวนการ dimerization ตัวรับชนิดเดียวกันอาจจะจับกันเอง ซึ่งลักษณะเช่นนี้เรียกว่า homodimers หรือตัวรับต่างชนิดกันจับกัน เรียกว่า heterodimers การที่เอสโตรเจนเข้าจับกับตัวรับต่างชนิดกัน หรือการเข้าจับกับ estrogen responsive element บนดีเอ็นเอในลักษณะของ homodimer หรือ heterodimer ก็จะทำให้ผลที่แตกต่างกัน นอกจากนี้พบว่า เซลล์ในเนื้อเยื่อแต่ละชนิดจะมีสัดส่วนของ ER- α หรือ ER- β แตกต่างกันไป เช่น การพบ ER- β มากในเนื้อเยื่อบางส่วนของสมองในระบบหัวใจและหลอดเลือด แต่ในเต้านมของคนพบทั้ง ER- α และ ER- β เป็นต้น

ดังนั้นการตอบสนองของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่างๆต่อฮอร์โมนเอสโตรเจนจึงขึ้นกับองค์ประกอบ 3 ประการ คือ

- 1) ชนิดของเอสโตรเจนที่มาจับกับตัวรับ
- 2) ชนิดของตัวรับที่จับ ว่าเป็น ER- α หรือ ER- β จับในลักษณะ homodimers หรือ heterodimers
- 3) ขึ้นกับโปรตีนต่างๆในเซลล์ที่มีส่วนในกลไกทรานสคริปชัน เช่น coactivators ที่แตกต่างกันไปในเนื้อเยื่อแต่ละชนิด การเกิด phosphorylation ต่อตัวรับเอสโตรเจนหรือต่อ peptide ที่มีผลต่อทรานสคริปชัน

3.5 ประโยชน์ของเอสโตรเจนเพื่อเป็นฮอร์โมนทดแทน

ข้อมูลจากการวิจัยพื้นฐาน (basic research) การวิจัยโดยสังเกต (observation research) และการวิจัยโดยการทดลองทางคลินิก randomized controlled trial (RCT) เท่าที่ปรากฏในปัจจุบันได้ข้อสรุปถึงประโยชน์ของการใช้เอสโตรเจนดังนี้

- 1) โรคกระดูกพรุนและกระดูกหักจากโรคกระดูกพรุน เอสโตรเจนสามารถป้องกันการสูญเสียกระดูก และเพิ่มความหนาแน่นของกระดูกได้ถึงร้อยละ 5-10 ถ้าได้รับเอสโตรเจนในขนาดและระยะเวลาที่เหมาะสม นอกจากนี้เอสโตรเจนยังสามารถลดความเสี่ยงของกระดูกหักจากกระดูกพรุน
- 2) อาการในวัยหมดประจำเดือน อาการในวัยหมดประจำเดือนที่มีผลการศึกษสนับสนุนว่า การใช้เอสโตรเจนช่วยบรรเทาหรือรักษาอาการดังกล่าว นอกเหนือไปจากผลจากยาหลอก ได้แก่ อาการทาง vasomotor และอาการฝ่อลีบของอวัยวะสืบพันธุ์
- 3) การป้องกันปฐมภูมิต่อโรคหลอดเลือดโคโรนารี ผลจากการศึกษาวิจัยพื้นฐานและการวิจัยโดยการสังเกตส่วนใหญ่พบว่าเอสโตรเจนลดอุบัติการณ์การเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจโคโรนารีในสตรีหมดประจำเดือนที่มีได้เป็นโรคหัวใจหลอดเลือดโคโรนารีอยู่ก่อน
- 4) โรคอัลไซเมอร์ ข้อมูลจากการวิจัยพื้นฐานแสดงให้เห็นประโยชน์ของ เอสโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ประสาท (neuron) การส่งต่อกระแสประสาท (pre-and postsynaptic activity) ช่วยกระตุ้นการสร้าง acetylcholine ซึ่งเป็นสารส่งผ่านประสาทที่สำคัญ ช่วยป้องกันการเกิด β -amyloid และอาจช่วยลด apolipoprotein E ที่เป็นพยาธิสภาพหลักของโรค Alzheimer

3.6 ความเสี่ยงของเอสโตรเจนเพื่อเป็นฮอร์โมนทดแทน

มีข้อมูลจำนวนมากสนับสนุน ทั้งจากการวิจัยพื้นฐาน การวิจัยโดยการสังเกตและจากการทดลองทางคลินิกชนิด RCT ซึ่งได้ผลไปในทิศทางเดียวกัน จึงสามารถสรุปได้ว่าเพิ่มความเสี่ยงได้แก่

- 1) มะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่าการใช้เอสโตรเจนเพียงอย่างเดียวในสตรีที่ยังมีมดลูก สามารถทำให้เยื่อบุโพรงมดลูกหนา (endometrial hyperplasia) และเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูกได้ 2-10 เท่า อย่างไรก็ตามการให้โปรเจสเตอโรนร่วมด้วย ในขนาดและระยะเวลาที่เหมาะสมสามารถป้องกันการเกิดปัญหาดังกล่าว
- 2) มะเร็งเต้านม ข้อมูลจากการวิจัยพื้นฐานพบว่า เอสโตรเจนมีผลกระตุ้นให้มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์บุผิวของเต้านม และกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านม โดยผลการศึกษา

เมื่อปี พ.ศ. 2540 แสดงให้เห็นแนวโน้มว่าการใช้เอสโตรเจนในระยะเวลาที่เกินกว่า 5 ปี มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มอัตราการเกิดมะเร็งเต้านมโดยอัตราดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ยานั้น

3) โรคของเต้านมที่ไม่ใช่มะเร็ง (benign breast disease) การใช้เอสโตรเจนเพื่อเป็นฮอร์โมนทดแทนในสตรีวัยหมดระดูสามารถกระตุ้นให้เกิดถุงน้ำ (Cyst) ที่เต้านมและกระตุ้นให้เกิด fibroadenoma ที่มีอยู่โตขึ้นได้

4) มะเร็งรังไข่ ในปัจจุบันมีผลจากการวิจัยโดยการสังเคราะห์รวมทั้งการศึกษานิต meta-analysis ที่พบความสัมพันธ์ของการใช้ฮอร์โมนทดแทนและการเกิดมะเร็งรังไข่

4. การเปลี่ยนแปลงระดับไขมันในวัยหมดประจำเดือน (Lipid metabolism in the menopause)

ในการศึกษาในสตรีวัยหมดประจำเดือนพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างที่มีผลต่อการเพิ่มความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจ ปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ การเปลี่ยนแปลงของระดับและองค์ประกอบของไขมันในเลือด ในสตรีก่อนหมดประจำเดือนนั้น จะมีองค์ประกอบของไขมันในเลือดดีกว่าผู้ชายที่อายุเท่ากัน คือ ระดับแอลดีแอล-คอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ต่ำกว่า ส่วนระดับเอชดีแอล-คอเลสเตอรอลสูงกว่า ซึ่งเป็นผลในการลดโอกาสเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ แต่เมื่อเข้าสู่วัยหมดประจำเดือนแล้วจะมีการเปลี่ยนแปลงไปในทางตรงกันข้าม โดยระดับเอชดีแอล-คอเลสเตอรอลจะลดลง ในขณะที่ระดับคอเลสเตอรอลรวม แอลดีแอล-คอเลสเตอรอล และ ไตรกลีเซอไรด์จะสูงขึ้น และยังพบว่า การเปลี่ยนแปลงของระดับไขมันมีความสัมพันธ์กับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ลดลงด้วย

องค์ประกอบของไขมันในเลือดที่เปลี่ยนแปลงไป เป็นส่วนหนึ่งที่มีผลต่อการเกิด atheroma ในหลอดเลือดหัวใจ พบว่า หากขาดฮอร์โมนเอสโตรเจนแล้ว จะมี atheroma ได้มากและขนาดใหญ่ขึ้นได้เร็วกว่าการที่มีเอสโตรเจน

ความดันโลหิตสูงซึ่งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและภาวะอ้วนก็เป็นปัจจัยเสี่ยงอีกอย่างหนึ่งของโรคหลอดเลือดหัวใจเช่นกัน โดยการกระจายของไขมันตามส่วนต่างๆ ของร่างกายมีความสำคัญมากกว่าปริมาณไขมันทั้งหมดในร่างกาย ในสตรีวัยก่อนหมดประจำเดือนนั้น ส่วนมากจะมีลักษณะการกระจายไขมันเป็นแบบ gynecoid ซึ่งเป็นผลมาจากเอสโตรเจน ส่วนในผู้ชายและสตรีวัยหมดประจำเดือนจะพบลักษณะของ android คือ มีไขมันสะสมบริเวณส่วนกลางของร่างกายเป็นส่วนใหญ่ เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ นอกเหนือจากการที่ระดับเอชดีแอล-คอเลสเตอรอลต่ำ และไตรกลีเซอไรด์สูงแล้ว ไขมันแบบ android ยังเกี่ยวข้องกับภาวะ insulin resistance อีกด้วย ซึ่งสตรีในวัยหมดประจำเดือนที่ขาดเอสโตรเจนจะมีการเปลี่ยนแปลงในกลูโคส (glucose) และ insulin metabolism รวมถึงไขมันและระบบไหลเวียนเลือด

5. ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress)

เนื่องจากอนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องอื่น ๆ ที่มีความไวต่อปฏิกิริยาสูง เป็นสาเหตุหนึ่งในการเกิดโรคต่างๆ และมีผลทำให้โรคมีพัฒนาการและกำเริบอย่างรวดเร็ว อันเป็นผลให้เกิดภาวะที่เซลล์และร่างกายถูกออกซิไดซ์จนเกินสมดุล (oxidative stress) ภาวะดังกล่าวทำให้สารชีวโมเลกุลที่สำคัญใน

เซลล์เสียหายและถูกทำลาย เช่น การพบว่าชีวโมเลกุลในสมองผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ มีความเสียหายอันเนื่องมาจากภาวะออกซิไดซ์เกินสมดุล ภาวะออกซิไดซ์เกินสมดุลยังพบในโรคมะเร็งและในโรคสมองหรือหัวใจขาดเลือดจากอาการเส้นเลือดตีตัน โรคเบาหวานและโรคที่เกิดจากการเสื่อมของระบบประสาท ดังนั้นความเสื่อมและการถูกทำลายอันเนื่องมาจากภาวะออกซิไดซ์เกินสมดุลจึงมีบทบาทสำคัญในการวิเคราะห์และรักษาโรค รวมทั้งพัฒนาการของโรค

5.1 คำจำกัดความ ภาวะเครียดออกซิเดชัน หรือ “oxidative stress” คือ ภาวะของความไม่สมดุลระหว่างการเกิดอนุมูลอิสระ และกระบวนการป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระในเซลล์หรือร่างกาย โดยเอนไซม์และสารต้านออกซิเดชัน ทำให้มีอนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องที่เป็นผลผลิตของอนุมูลอิสระอันมีความไวและอันตรายสูงในปริมาณที่สูงมากเกินกว่าที่กระบวนการป้องกันจะต้านทานไว้ได้ ทำให้เซลล์เนื้อเยื่อเมมเบรนถูกคุกคาม จากการถูกออกซิไดส์ และเมื่อถูกออกซิไดส์เซลล์จะบาดเจ็บและถูกทำลาย

5.2 สาเหตุที่สำคัญที่ทำให้เกิดภาวะออกซิไดซ์เกินสมดุล มี 2 สาเหตุ คือ

1) ความบกพร่องของกระบวนการป้องกันอันตรายจากการเกิดออกซิเดชัน มีสารต้านออกซิเดชันลดน้อยลง หรือเอนไซม์ทำหน้าที่ต้านออกซิเดชันปริมาณลดน้อยลง หรือทำงานผิดปกติ สาเหตุของการเกิดความบกพร่อง ได้แก่ การกลายพันธุ์ซึ่งมีผลทำให้ความสามารถของเอนไซม์ในการทำหน้าที่ต้านออกซิเดชันซึ่งอยู่ในกระบวนการป้องกัน เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase) เอนไซม์กลูตาไทโอนออกซิเดส (glutathione peroxidase) ในการทำงานบกพร่อง หรือเสียไป หรือมีการใช้หรือสูญเสียสารต้านออกซิเดชันที่อยู่ในกระบวนการป้องกันอนุมูลอิสระ เช่น กลูตาไทโอน (GSH) วิตามินซี วิตามินอี ลดลง หรือหมดไปด้วยสาเหตุต่างๆ รวมถึงการขาดสารอาหาร และ แร่ธาตุ เช่น Zn^{2+} , Mg^{2+} , Co^{2+} , Se^{2+} และออกซิเดชันจากธรรมชาติ

2) มีการเกิดหรือผลิตอนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องที่เป็นผลผลิตของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น เช่น การที่ร่างกายได้รับออกซิเจนมากเกินไป หรือมีการกระตุ้นระบบที่สร้างอนุมูลอิสระ เช่น ในภาวะที่มีการอักเสบแบบเรื้อรัง เซลล์ฟาโกไซท์ หรือเซลล์กลืนกินจะถูกกระตุ้นทำให้เกิดอนุมูลอิสระ และผลผลิตที่เกี่ยวข้องจำนวนมากมีผลทำให้เกิดความเสียหาย และการถูกทำลาย

5.3 การที่ชีวโมเลกุลที่สำคัญถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลอิสระและสารที่เป็นผลผลิตของอนุมูลอิสระ ทำให้คุณสมบัติของชีวโมเลกุลนั้นเปลี่ยนไปในระดับต่างๆ ตั้งแต่เปลี่ยนไปเพียงเล็กน้อยจนกระทั่งถูกทำลาย ซึ่งมีผลทำให้หน้าที่และการทำงานของชีวโมเลกุลนั้นๆ บกพร่องหรือสูญเสียไป อันตรายจากภาวะออกซิไดซ์เกินสมดุลแบ่งเป็นระดับตามความรุนแรงจากน้อยไปหามากได้ดังนี้

1) การปรับตัวของเซลล์ ซึ่งมีได้หลายกรณี ตั้งแต่สามารถป้องกันและซ่อมแซมความเสียหายได้สมบูรณ์ หรือป้องกันได้ในระดับหนึ่งแต่ไม่สมบูรณ์ หรืออาจเกิดการป้องกันมากเกินไป เช่น เซลล์ปรับตัวทนต่อภาวะออกซิเดชันสูงๆ ได้

2) การบาดเจ็บของเซลล์และเนื้อเยื่อ ชีวโมเลกุลเป้าหมายที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องและมีผลกระทบสูง ได้แก่ ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอ

3) การตายของเซลล์และเนื้อเยื่อ ในสภาวะการเกิดออกซิเดชันหากเซลล์ไม่สามารถซ่อมแซมและมีชีวิตอยู่ได้ เซลล์จะตายในที่สุด โดยมีกลไกการตายทั้งในแบบ apoptosis และ necrosis

5.4 กลไกการเกิดความเสียหายที่เกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชัน

กลไกการเกิดความเสียหายแบ่งตามชนิดของชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกาย แบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ ลิพิด โปรตีน และ ดีเอ็นเอ

1) กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ลิพิดถูกออกซิไดส์ ลิพิด ได้แก่ กรดไขมัน พอสฟอลิพิด สเตียรอยด์ แวกซ์ กรดไขมันไม่เพียงแต่จะทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในร่างกายเท่านั้น แต่ยังรวมอยู่เป็นองค์ประกอบในเมมเบรน เช่น พอสฟอลิพิด และทำหน้าที่ควบคุม ของเหลวในเมมเบรน ในสิ่งมีชีวิตการที่ลิพิดถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลเรียกว่า ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน เป็นกระบวนการที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ละพอสฟอลิพิดเกิดการเสื่อมสภาพหรือเสียหายจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ทำให้เกิดลิพิดไฮเปอร์ออกไซด์ขึ้นในที่เซลล์เมมเบรน หรือลิพิดในเลือด และในของเหลวในร่างกายอื่นๆ เป็นต้น อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูล สามารถทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์ เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยา เนื่องจากปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสามารถเกิดขึ้นได้ง่ายที่เซลล์เมมเบรน อันมีลิพิด 2 ชั้นเป็นองค์ประกอบทำให้เกิดสารประกอบผลผลิตที่หลากหลาย

ดังนั้นความเสียหายจะไม่ได้เกิดขึ้นกับเซลล์เมมเบรนเท่านั้น แต่จะขยายวงกว้างไปยังองค์ประกอบอื่นๆ ภายในเซลล์ ซึ่งกระบวนการเหล่านี้ อาจทำให้เกิดการตายของเซลล์ การเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันจะทำให้เกิดการเสื่อมสลายได้สารประกอบจำนวนมาก ได้แก่ ไฮโดรคาร์บอนต่างๆ เช่น มีเทน อีเทน เพนเทน เป็นต้น รวมถึงคีโตน และอัลดีไฮด์ อัลดีไฮด์ที่เป็นผลผลิตจากการเสื่อมสลายที่เกิดขึ้นที่มีความสำคัญ คือ มัลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde; MDA) ปริมาณ MDA ที่เกิดขึ้นนำมาใช้เป็นดัชนีชี้วัดการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน MDA สามารถเกิดปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลต่างๆ ในร่างกายได้ ซึ่งจะนำไปสู่การเกิดสารประกอบที่เชื่อมต่อกันภายในเซลล์เมมเบรน เช่น ลิพิด-ลิพิด และ ลิพิด-โปรตีน เป็นต้น ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดโซ่ ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้น และการสิ้นสุดปฏิกิริยาปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มต้นด้วยการมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และอนุมูลอิสระนี้เข้าทำปฏิกิริยากับลิพิดและทำให้เกิดอนุมูลลิพิด อนุมูล $\cdot\text{OH}$ จะทำปฏิกิริยากับลิพิดค่อนข้างเร็วและไม่เฉพาะเจาะจงตำแหน่งที่แน่นอนในการเข้าชนทำปฏิกิริยาขณะที่อนุมูลเปอร์ออกซิจะมีเฉพาะเจาะจงโดยไปดึงอะตอมไฮโดรเจนที่จับกับคาร์บอนแบบ allylic ขั้นตอนนี้สามารถเกิดขึ้นกับลิพิดหลายประเภทกัน ได้แก่ กรดไขมัน พอสฟอลิพิด ไตรกลีเซอไรด์ และคอเลสเตอรอลเอสเทอร์ ดังนั้นปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดโซ่ คือ การเกิดอนุมูลลิพิด เมื่อได้อนุมูลลิพิดแล้ว จะเข้าสู่ขั้นตอนที่ 2 คือ ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้น โดยอนุมูลลิพิดจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนได้อย่างรวดเร็วเกิดเป็นอนุมูลลิพิดเปอร์ออกซี อนุมูลลิพิดเปอร์ออกซีสามารถทำปฏิกิริยาต่อไปกับลิพิดโมเลกุลอื่นเป็นลิพิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ และเกิดอนุมูลลิพิดใหม่เพิ่มขึ้นเข้าสู่วงจรเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่

2) กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่ดีเอ็นเอถูกออกซิไดส์ การเกิดความเสียหายแก่ดีเอ็นเอโดยอนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องมีส่วนในการก่อมะเร็ง ไม่เพียงแต่เพราะอนุมูลอิสระ

สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ของดีเอ็นเอซึ่งมีผลทำให้เกิดการกลายพันธุ์เท่านั้น แต่อนุมูลอิสระยังมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มทวีขึ้นของเซลล์มะเร็ง อนุมูลอิสระมีบทบาทในปฏิกิริยาที่ทำให้โครงสร้างของดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลงไปในลักษณะต่างๆ เช่น การจับคู่เบสภายในดีเอ็นเอเปลี่ยนแปลง การจัดเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์เปลี่ยนไป การหายของนิวคลีโอไทด์ หรือดีเอ็นเอบางส่วน และการเพิ่มขึ้นของดีเอ็นเอ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในร่างกายซึ่งทำความเสียหายต่อดีเอ็นเอ ได้แก่ การเติมหมู่เมทิล การกำจัดหมู่ฟิริน และการกำจัดหมู่อะมิโน ในไตรออกไซด์ และสารออกซิไดส์อื่นๆ ที่มีฤทธิ์แรง เช่น NO^2 , ONOO^- , N_2O_3 , HNO_2 เป็นสารก่อการกลายพันธุ์ทำให้ยีนเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม โดยการเกิดปฏิกิริยาแทนที่ให้มีหมู่ไนโตร หรือหมู่เอมีนอยู่ในโครงสร้างของดีเอ็นเอ การเกิดปฏิกิริยาให้หมู่เมทิลแก่ไซโตซีนในดีเอ็นเอมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีน ในขั้นตอนการเกิดมะเร็ง พบว่ามีการเกิดปฏิกิริยาให้หมู่เมทิลเปลี่ยนแปลงผิดไปจากเดิม ความเสียหายที่เกิดขึ้นแก่ดีเอ็นเอ ทำให้เกิดสารต่างๆ จำนวนมากกว่า 20 ชนิด ซึ่งใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการเกิดความเสียหายแก่ดีเอ็นเอ ความเสียหายของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นมีความเชื่อมโยงกับการเผาผลาญพลังงานโดยกลไกออกซิเดชันและเกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ ซึ่งมีบทบาทที่สำคัญต่อการเกิดความชราและโรคมะเร็ง

3) กลไกการเกิดความเสียหายจากการที่โปรตีนถูกออกซิไดส์การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโปรตีนจะเพิ่มการเผาผลาญโปรตีนซึ่งเป็นสารเชิงซ้อนที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ได้เป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กลง ผลที่ตามมาจะทำให้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตเพราะมีผลกระทบต่อการทำหน้าที่ของร่างกาย โปรตีนสำคัญที่ถูกออกซิไดส์ก็คือ โปรตีนที่บริเวณ active site ของเอนไซม์ เมื่อถูกออกซิไดส์โครงสร้างของโปรตีนจะเปลี่ยนไปได้หลายรูปแบบ เช่น เกิดเป็นหมู่คาร์บอนิลใหม่ที่กรดอะมิโนของโปรตีน หรือ เมไทโอนีนเปลี่ยนเป็นเมไทโอนีนซัลฟอกไซด์ และเกิดการเชื่อมต่อระหว่างหมู่ $-\text{SH}$ เกิดเป็นไดซัลไฟด์ เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงอันเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้โปรตีนเสียสภาพ ซึ่งจะมีผลทำให้เอนไซม์รีเซพเตอร์และสารสื่อต่างๆ ซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบไม่สามารถทำงานได้ตามปกติหรือมีประสิทธิภาพการทำงานลดลง

6. ภาวะเครียดออกซิเดชันในสตรีวัยหมดระดู

ภาวะหมดประจำเดือนในผู้หญิงจะอยู่ในช่วงอายุเฉลี่ย 51 ปี อาการที่เกี่ยวข้องกับภาวะหมดประจำเดือน (menopausal symptoms) เช่น อาการร้อนวูบวาบ (hot flashes) ซึมเศร้า สภาวะอารมณ์แปรปรวน ปวดศีรษะ อาการใจสั่น (heart palpitation) นอนไม่หลับ ช่องคลอดแห้ง ปวดข้อ ผิวหนังไม่เต่งตึง และกระดูกเปราะหักง่าย เป็นต้น (Ferin, et al. 1993; Johnson SR, 1998) การลดลงของระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนในสตรีวัยหลังหมดระดูพบว่าระดับของ คอเลสเตอรอล (Total cholesterol) และแอล ดี แอล-คอเลสเตอรอล ในเลือดเพิ่มขึ้น ในขณะที่ เอช ดี แอล-คอเลสเตอรอล ลดลง และยังพบว่ามีภาวะการดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistant) ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือด (Atherosclerosis) โรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary heart disease) และโรคเบาหวาน (American Heart Association, 1999; Sourander, et al. 1998, Manly, et al. 2000) อีกทั้งพบอุบัติการณ์ของโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของเซลล์ประสาท ได้แก่ Alzheimer's disease, Parkinson's disease หรือ

Neurodegenerative disease อื่นๆ และโรคหลอดเลือดสมอง (Simpkins, et al. 1997; Laakso, et al. 1995, Laakso, et al. 1995) เกิดขึ้นกับผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนสูงกว่าผู้ชายในวัยเดียวกัน และผู้หญิงวัยก่อนหมดประจำเดือน ทั้งนี้มีการศึกษาพบว่าโรคที่เกิดขึ้นในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนนั้น มีกลไกสำคัญจากความไม่สมดุลกันของอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ส่งผลให้เกิดภาวะที่มีอนุมูลอิสระสูงเกิน หรือสารต้านอนุมูลอิสระไม่เพียงพอ ซึ่งเรียกว่า ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ภาวะดังกล่าวนี้จะเกี่ยวข้องกับระดับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) ที่ลดลงในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน โดยฮอร์โมนเอสโตรเจน เป็นฮอร์โมนที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยปรับสมดุลให้กับเซลล์ในร่างกาย หากฮอร์โมนเอสโตรเจนลดลง จะทำให้อนุมูลอิสระ (free radical) โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุมูลอิสระในกลุ่มที่ไวต่อปฏิกิริยาที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (reactive oxygen species, ROS) ทำลายดีเอ็นเอ โปรตีน หรือเปลี่ยนแปลงไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ ทำให้เซลล์หยุดทำงาน หยุดการซ่อมแซม การทำหน้าที่ต่างของเซลล์เสียไป (Attipoe, et al. 2008) ถ้าอนุมูลอิสระไปแย่งอิเล็กตรอน (oxidized) ไขมันชนิดแอลดีแอล-คอเลสเตอรอล (LDL-cholesterol) ไปเป็นแอลดีแอล-คอเลสเตอรอลชนิดอิเล็กตรอนเกิน (oxidized LDL-cholesterol) ก็จะทำให้พัฒนาเป็นคราบไขมันสะสมที่ผนังหลอดเลือด โดยเฉพาะอย่างยิ่งหลอดเลือดหัวใจ จึงเป็นผลทำให้เสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ (Hiki, et al. 2009) หรือถ้าอนุมูลอิสระไปทำลายโครงสร้างของเซลล์ในสมองจะทำให้เซลล์ประสาทถูกรบกวน สูญเสียหน้าที่ และตายไปในที่สุด ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญสาเหตุหนึ่งของการเป็นโรคที่เกิดจากเซลล์ประสาทเสื่อม (Neurodegenerative disease) (Simpkins, et al. 1997, Laakso, et al. 1995) ด้วยคุณสมบัติของเอสโตรเจน ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงนำเอสโตรเจนมาใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนเพื่อลดอาการที่เกิดขึ้นในสตรีวัยหลังหมดประจำเดือน หรือ สตรีที่ถูกตัดรังไข่ เพื่อช่วยป้องกันโรคและใช้ในการรักษาเบื้องต้นให้กับผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน หรือ สตรีที่ถูกตัดรังไข่ ที่ไม่สามารถสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนได้ แต่จากรายงานผลการวิจัยพบว่าการให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่อันตรายเมื่อได้รับฮอร์โมนทดแทนในระยะเวลายาวนาน เช่น การก่อให้เกิดมะเร็งเต้านมและมะเร็งมดลูก และยังพบอีกว่าผู้หญิงอายุ 50-74 ปี ที่ใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนทดแทนมีโอกาสเป็นมะเร็งสูงกว่า 10 เท่า เมื่อเทียบกับผู้หญิงที่ไม่ใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจน และเพิ่มขึ้นในแต่ละปี 0.1-1 เปอร์เซ็นต์ (Magnusson, et al. 1999 Cuzick, 2008; Persson, et al. 1996) ดังนั้นผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนจึงควรพยายามหลีกเลี่ยงการรับฮอร์โมนเอสโตรเจนทดแทน โดยการหาวิธีบำบัดด้วยวิธีอื่นๆ เช่น การรับประทานวิตามินอี การรับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มที่ทำมาจากถั่วเหลือง (Limer and Speirs, 2004; Pritchard, 2001) ซึ่งมีส่วนประกอบของสารไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) ซึ่งเป็นสารธรรมชาติที่ได้มาจากพืช มีสูตรโครงสร้างบางส่วนคล้ายคลึงกับเอสตราไดออล (estradiol) ซึ่งเป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนที่พบมากในร่างกายผู้หญิง ไฟโตเอสโตรเจนจึงอาจมีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนอย่างอ่อน (Wangen, et al. 2001) สามารถนำสารนี้มาใช้ประโยชน์ในการป้องกันโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับภาวะพร่องฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่น มะเร็งบางชนิด ความผิดปกติเกี่ยวกับการหมดประจำเดือน (postmenopause disorder) ระบบหลอดเลือดและหัวใจ และโรคกระดูก (Messina, et al. 1994)

7. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

โดยธรรมชาติแล้วจะมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในเซลล์และร่างกายหลายชนิด มีทั้งที่เป็นประโยชน์และให้โทษอันประกอบด้วย อนุมูลอิสระที่หลุดรอดออกมาจากการเผาผลาญออกซิเจนเป็นพลังงาน อนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณต่อเซลล์ และอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ต่อการทำงานของเซลล์หรืออวัยวะ ในกรณีหลังจะมีประโยชน์โดยออกฤทธิ์ในปริมาณที่ต่ำมากไม่เกิดอันตรายต่อเซลล์ เซลล์และร่างกายจะเป็นอันตรายและเสียหายหากมีอนุมูลอิสระในปริมาณมากเกินไปเกินสมดุล ดังนั้นเซลล์และร่างกายจึงมีกลไกเพื่อควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระไม่ให้สูงจนเกิดอันตราย กลไกสำคัญที่ทำหน้าที่ควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระมีกลไกหลักอยู่ 3 กลไก โดยทำหน้าที่ลดผลกระทบที่เป็นอันตรายของอนุมูลต่อเซลล์ ในภาวะปกติกลไกเหล่านี้ถือว่าเพียงพอต่อการรักษาปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุลได้ กล่าวคือสามารถควบคุมได้แม้ว่าจะมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น

7.1 สารต้านอนุมูลอิสระ

เป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาถูกใช้ไม่ให้ดำเนินต่อ สารกำจัดอนุมูลที่มีอยู่ในธรรมชาติ เช่นกรดยูริก บิลิรูบินจะกำจัดอนุมูลส่วนวิตามินซี วิตามินอี กลูตาไทโอน เบต้าแคโรทีน และยูบิควิโนน จะหยุดปฏิกิริยาถูกใช้ของการเกิดอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระประเภทหลังมีบทบาทสำคัญในการทำให้ลิปิดเปอร์ออกซิเดชันสิ้นสุดลง สารต้านอนุมูลอิสระที่กล่าวมามีโครงสร้างเคมี และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน เช่นวิตามินอี มีโครงสร้างเคมีที่ละลายไขมันได้ดี ดังนั้นจึงสามารถเข้าไปออกฤทธิ์ที่เมมเบรนได้ วิตามินอีจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงสามารถหยุดปฏิกิริยาถูกใช้ได้ วิตามินอีจะทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลลิปิดเปอร์ออกซิและได้เป็นอนุมูลวิตามินอี ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีความไวต่ำทำให้ไม่สามารถเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันต่อไปได้ วิตามินซีละลายน้ำได้ดีมีหน้าที่เปลี่ยนอนุมูลวิตามินอี ทำให้ได้วิตามินอีกลับคืนโดยรับอิเล็กตรอนจากอนุมูลวิตามินอี อนุมูลวิตามินซีจะขับออกทางปัสสาวะ

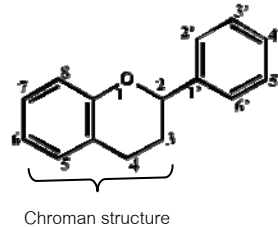
7.2 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound)

สารประกอบฟีนอลิก จัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติอันได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาติ นับจากโมเลกุลอย่างง่ายเช่น กรดฟีนอลิก ฟีนอลโพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และเทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวัน จะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม จนถึง 1 กรัมซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมไปถึงการเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตจากฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยโครงสร้างเป็นวงอะโรมาติก และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซี อย่างน้อย 1 หมู่ ถือเป็น secondary metabolites ของพืชผัก โดยใน

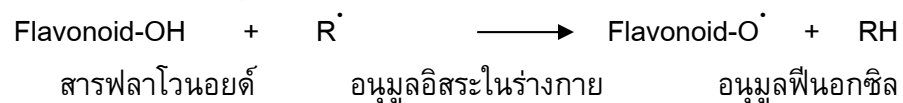
ที่นี้จะกล่าวถึง คุณสมบัติทางโครงสร้างที่สัมพันธ์กับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มนี้ โดยจะกล่าวเฉพาะสารกลุ่มที่สำคัญ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และกรดฟีนอลิกต่างๆ ที่สำคัญและพบบ่อย ได้แก่

1) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) สารฟลาโวนอยด์พบอยู่ได้ทั่วไปในพืชสีเขียว และพบในทุกส่วนของพืช จัดเป็นสารสำคัญของกลุ่ม โพลีฟีนอล มีสูตรโครงสร้างเป็นฟลาเวน (flavan) โครงสร้างหลักเหมือนโครงสร้าง ของวิตามินอี ที่เป็นโครงสร้างแบบโครแมน ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่2 โครงสร้างของฟลาเวน (flavan)

สารฟลาโวนอยด์เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain breaking antioxidant) ในการยับยั้ง หรือขจัดอนุมูลอิสระ เช่น lipid alkoxyl และ peroxy radicals เป็นต้น โดยทำหน้าที่เป็นตัวให้อิโตรเจนแก่อนุมูลเหล่านั้น ดังแสดงในปฏิกิริยา



หลังจากที่ฟลาโวนอยด์ถูกออกซิไดซ์แล้วจะได้อนุมูลของฟลาโวนอยด์ฟีนอกซิลเป็นผลผลิต และอนุมูลที่ได้มีความเสถียรมากกว่า เนื่องจากโครงสร้างของฟลาโวนอยด์มีการ delocalize ของอิเล็กตรอนตลอดเวลา

2) กรดฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มของกรดฟีนอลิก และเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิกจะขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล คุณสมบัติในการดึงอิเล็กตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิกในกรดเบนโซอิก จะส่งผลให้ความสามารถในการให้อิโตรเจน ของ hydroxybenzoate น้อยลง ดังนั้นจะพบว่าสารกลุ่ม hydroxycinnamic acid จะมีฤทธิ์ที่ดีกว่า (19)

8. ไฟโตเอสโตรเจน (Phytoestrogen)

ไฟโตเอสโตรเจน เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่สร้างขึ้นโดยพืชมีคุณสมบัติคล้ายเอสโตรเจน สารเหล่านี้พบได้ทั้งในส่วนเมล็ด ลำต้น ราก หรือดอก สารนี้จะทำหน้าที่เป็นสารฆ่าเชื้อรา (fungicide) หรือเป็น phytoalexin พืชผลิตสารนี้มาเพื่อประโยชน์ เช่น เพื่อเป็นสัญญาณให้แบคทีเรียในดินที่มีประโยชน์ต่อพืชนั้นเข้ามาอาศัยร่วมกันแบบ Symbiosis เช่น พืชตระกูลถั่ว (Legume) จะสร้างไฟโตเอสโตรเจนเพื่อดึงดูด rhizobium มาอยู่บริเวณรากเพื่อช่วยในการนำไนโตรเจนจากดินมาใช้ประโยชน์ และ

ใช้ในการป้องกันตนเองเมื่อถูกรุกรานโดยจุลชีพ เช่น ช่วยป้องกันเชื้อรา และแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคอีกด้วย

8.1 โครงสร้างของไฟโตเอสโตรเจน อาจเป็นสารในกลุ่ม flavonoids, isoflavonoids, lignans, coumestans หรือ chalcones ซึ่งสารเหล่านี้มีลักษณะร่วมกัน คือ มีโครงสร้างส่วนที่เป็น diphenolic ส่วนมากแล้ว ไฟโตเอสโตรเจนจะมีบางส่วนของสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงหรือเทียบได้กับ steroid nucleus ของ estradiol อันเป็นเอสโตรเจนที่พบในธรรมชาติ หรือเอสโตรเจนสังเคราะห์และสาร anti-estrogen บางชนิด เช่น diethylstilbestrol (DES) และ tamoxifen การที่สูตรโครงสร้างของสารไฟโตเอสโตรเจนเหล่านี้สามารถเทียบเคียงได้เป็นอย่างดีกับ estradiol บ่งบอกถึงศักยภาพของสารในการเข้าไป interact กับตัวรับของเอสโตรเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการเข้าไปปรับเปลี่ยนการเจริญของเซลล์มะเร็งซึ่งต้องอาศัยฮอร์โมนนี้

สารไฟโตเอสโตรเจน ประกอบด้วย isoflavones ตัวอย่างสารประกอบในกลุ่มนี้ เช่น genistein, daidzein, glycerin, Biochanin A, Formononetin เป็นต้น พบมากในไม้จำพวกที่มีฝัก ถั่ว (ถั่ว ชนิดเมล็ดแบน เช่น ถั่วเหลือง ถั่วลิสง ถั่วลันเตา ถั่วพู ถั่วแขกชนิดเมล็ดแดง และเหลือง) และในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง (รวมทั้งนม เต้าหู้) สารกลุ่ม lignans ที่พบมากในธัญพืช เมล็ดพืช และผลไม้แห้ง เช่น matairesinol, secoisolariciresinol และสารกลุ่ม coumestrol, coumestrol, coumestrol, coumestrol, coumestrol เป็นต้น พบได้ในอาหารจำพวกเดียวกับลิกันแน แต่พบมากที่สุดในเมล็ดอ่อน (sprouting seeds)

8.2 การออกฤทธิ์ของไฟโตเอสโตรเจน

สารในกลุ่มไฟโตเอสโตรเจนจะมีสูตรโครงสร้างบางส่วนคล้ายคลึงกับ estradiol ซึ่งเป็นเอสโตรเจนที่พบในธรรมชาติจึงอาจมีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนอย่างอ่อน หรืออาจออกฤทธิ์ต่อต้านฤทธิ์ของเอสโตรเจน คล้าย raloxifene และ tamoxifen ได้ สารไฟโตเอสโตรเจนนี้สามารถจับกับ estrogen receptor ได้ทั้งชนิด ER- α และ ER- β แต่จะมี potency ต่ำกว่า estradiol ประมาณ 1/50,000 ถึง 1/100,000 แต่จะมีความสามารถในการจับกับ ER- β ซึ่งพบมากที่ไขมัน กระดูกและสมอง ได้ใกล้เคียงกับ estradiol โดย genistein จะมีความสามารถจับกับ receptor ได้ดีกว่า daidzein เป็นต้น นอกจากนี้ไฟโตเอสโตรเจนยังสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเอสโตรเจนโดยผ่านการกระตุ้นการสร้าง sex hormone-binding globulin (SHBG) ที่ตับ ระดับ SHBG ที่สูงขึ้นจะจับกับ estradiol ทำให้จำนวน estradiol ในรูปอิสระที่จะสามารถจับกับ estrogen receptors ได้น้อยลง และไฟโตเอสโตรเจนยังแข่งแย่งจับกับ estrogen receptors กับเอสโตรเจนในร่างกายอีกด้วย ซึ่งจากกลไกทั้งมีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนอย่างอ่อน (<0.01% ของ estradiol) และต่อต้านฤทธิ์เอสโตรเจนดังกล่าว จึงนำมาใช้แทนฮอร์โมนเอสโตรเจนในการรักษาความผิดปกติ เช่น มะเร็งบางชนิด ความผิดปกติเกี่ยวกับการหมดประจำเดือน (post menopausal disorders) ระบบหัวใจและหลอดเลือดและกระดูก เป็นต้น

8.3 ประโยชน์ของไฟโตเอสโตรเจน

1) ผลของไฟโตเอสโตรเจนต่อการลดอัตราเสี่ยงการเกิดมะเร็งเต้านม

การศึกษาทางระบาดวิทยาของผลไฟโตเอสโตรเจนต่ออัตราการเกิดมะเร็งเต้านมพบว่า แม้ผลในการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมในสัตว์ทดลองยังไม่เป็นที่ยืนยันแน่นอน แต่ผล

การศึกษาโดยรวมค่อนข้างสนับสนุนผลการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมของทั้งไฟโตเอสโตรเจนในอาหารถั่ว หรือสารไฟโตเอสโตรเจนสกัด จากการทบทวนการศึกษาต่างๆ พบว่าสัตว์ที่กินโปรตีนจากถั่วจะพบมะเร็งน้อยลงประมาณร้อยละ 25-50 เมื่อเทียบกับสัตว์กลุ่มควบคุม และยังพบผลการป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมในสัตว์ที่ได้รับ isoflavones เช่นกัน อย่างไรก็ตามบางการศึกษาพบว่าการเพิ่มขึ้นของอุบัติการณ์ของมะเร็งเต้านมในสัตว์ทดลองที่ได้รับสารดังกล่าว

2) ผลของไฟโตเอสโตรเจนต่อการลดอัตราเสี่ยงการเกิดมะเร็งมดลูก

โดยทั่วไปการเกิดมะเร็งมดลูกจะมีความสัมพันธ์ต่อการได้รับเอสโตรเจนสังเคราะห์เป็นเวลานานโดยไม่ได้รับฮอร์โมนโปรเจสตอโรนร่วมด้วย ทำให้ผนังมดลูกมีการแบ่งเซลล์มากขึ้น แต่เนื่องจากไฟโตเอสโตรเจนมีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนอย่างอ่อนในร่างกายโดยมีฤทธิ์คล้ายต่อต้านเอสโตรเจน โดยผ่านขบวนการการสร้าง sex hormone binding globulin หรือแย่งจับแข่งกับเอสโตรเจนโดยตรง ซึ่งเชื่อว่าอาจช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งมดลูกได้

3) ผลของไฟโตเอสโตรเจนต่ออาการ menopausal syndromes

อาการผิดปกติทาง vasomotor เช่น อาการร้อนวูบวาบ (hot flash) อันเนื่องจากการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นอาการที่พบได้บ่อยในผู้หญิงวัยทองและหมดประจำเดือน จึงมีการศึกษาของไฟโตเอสโตรเจนที่มีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนชนิดอ่อนในการรักษาภาวะนี้ โดยพบว่าไฟโตเอสโตรเจนอาจช่วยลดอาการนี้ได้ เกือบทุกการศึกษาจะรายงานถึงการลดลงของอาการผิดปกติทาง vasomotor ในภาวะการหมดประจำเดือน

4) ผลของไฟโตเอสโตรเจนต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด

มีการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า การรับประทานอาหารจากถั่วเหลืองซึ่งมี isoflavone จะมีความสัมพันธ์กับการลดอัตราการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจได้ เชื่อว่าเป็นผลมาจาก isoflavone ทำให้กล้ามเนื้อเรียบที่หลอดเลือดคลายตัว

5) ผลต่อการลดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress)

ไฟโตเอสโตรเจนบางชนิดซึ่งมีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับวิตามิน อี ก็เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หรือ free radical scavenger ที่มีฤทธิ์สูงได้เช่นกัน มีการทดลองเปรียบเทียบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของ flavonoid หลายชนิด รวมทั้งสาร transresveratrol กับ Trolox อันเป็นอนุพันธ์ชนิดหนึ่งของวิตามิน อี ที่ใช้เป็นสารมาตรฐานในการทดสอบฤทธิ์ต้านนี้ ตัวอย่างหนึ่งของผลการทดลองที่แสดงถึงฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของไฟโตเอสโตรเจน คือ พบว่า genistein สามารถยับยั้งการสร้าง hydrogen peroxide ที่เกิดจากการตอบสนองต่อ phorbol esters อันเป็นสารที่มีผลส่งเสริมการเกิดมะเร็งของเซลล์มะเร็งไขกระดูกมนุษย์ลงได้ ทั้งในการทดลองแบบ *in vitro* และ *in vivo* ฤทธิ์ของสารจากพืชจะมีส่วนช่วยลดการเกิด "oxidative stress" ในสิ่งมีชีวิต อันเป็นหนึ่งในหลายๆ สาเหตุของความผิดปกติหรือโรคต่างๆ รวมทั้งมะเร็งบางชนิด หรือการแก่ (aging) ด้วย

6) ผลของไฟโตเอสโตรเจนต่อระบบประสาทส่วนกลาง

เมื่อไม่นานมานี้มีผลการศึกษาที่ชี้ให้เห็นว่าเอสโตรเจนอาจมีบทบาทที่สำคัญมากต่อระบบประสาทส่วนกลาง (CNS) โดยอาจไปเพิ่มการทำงานบางลักษณะของเซลล์ในระบบประสาท

ส่วนกลางกระตุ้นการเจริญของเซลล์ประสาท และอาจจะมีผลต่อสารพิษบางอย่างในร่างกายที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นได้ในระบบประสาทส่วนกลาง ความเสียหายในลักษณะของภาวะเครียดออกซิเดชันจากอนุมูลอิสระเหล่านี้มักจะเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ และภาวะ dementia การที่ไฟโตเอสโตรเจนมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระนี้เอง จึงน่าจะสามารถช่วยป้องกันความผิดปกติต่อระบบประสาทส่วนกลางหรือโรคดังกล่าวได้ด้วย

9. ไฟโตเอสโตรเจนของน้ำมะพร้าวอ่อน (Young coconut juice)

มะพร้าวน้ำหอม จัดอยู่ในวงศ์ *Palmae* ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Cocos nucifera* Linn. var. *Nucifera* เป็นพืชเศรษฐกิจที่ปลูกกันมากในประเทศไทย ส่วนของจังหวัด ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช เป็นต้น ซึ่งมะพร้าวที่มีอายุประมาณหนึ่งเดือนจะมีน้ำบรรจุอยู่ในผลประมาณ 90% ซึ่งมีปริมาณของน้ำต่อผลอยู่ในช่วง 400-465 ซีซี. น้ำมะพร้าวอ่อนมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ได้แก่ แคลเซียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง ฟอสฟอรัส วิตามินซี บี 2 บี 5 และบี 6 กรด โพลี กรดอะมิโน และฮอร์โมนเอสโตรเจนสูง มีน้ำตาลกลูโคสที่ร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้เป็นพลังงานได้ และเมื่อดื่มน้ำมะพร้าวอ่อนหนึ่งผลจะทำให้ร่างกายได้รับปริมาณของวิตามินบี และวิตามินซีที่พอเพียง กับความต้องการของร่างกายต่อวันได้โดยไม่ต้องเพิ่มจากแหล่งอื่น ซึ่งปริมาณของวิตามินเหล่านี้ได้แก่ niacin, pantothenic acid, biotin, riboflavin, folic acid, thiamin pyridoxin

ในน้ำมะพร้าวมีฮอร์โมนคล้ายฮอร์โมนเพศหญิงหรือเอสโตรเจนสูง การดื่มน้ำมะพร้าวเป็นประจำทุกวันยังสามารถช่วยสมานแผล ทำให้แผลหายเร็วขึ้นกว่าปกติ ไม่ทิ้งรอยแผลเป็นอีกด้วย และน้ำมะพร้าวช่วยให้ผิวพรรณสดใส น้ำมะพร้าวสามารถช่วยเสริมสร้างความสวยใสของผิวพรรณ ทำให้เปล่งปลั่งและขาวนวลขึ้นจากภายในสู่ภายนอก เพราะในน้ำมะพร้าวมีเอสโตรเจนอยู่ ซึ่งมีส่วนสำคัญต่อการสร้างคอลลาเจนและอีลาสติน ทำให้ผิวกระชับ ยืดหยุ่น และชะลอการเกิดริ้วรอยก่อนวัยได้ และในน้ำมะพร้าวยังสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ได้ดี แถมยังมีฤทธิ์ขับปัสสาวะ ขับของเสียหรือสารพิษออกจากร่างกาย จึงช่วยทำให้ผิวพรรณผ่องใส อีกทั้งความเป็นด่างของน้ำมะพร้าวยังช่วยปรับสมดุลของร่างกายในช่วงที่มีความเป็นกรดสูง ทำให้กลไกการทำงานของระบบภายในเป็นปกติ ส่งผลให้มีสุขภาพดีจากภายในสู่ภายนอก

น้ำมะพร้าวอ่อน เป็นน้ำผลไม้ชนิดหนึ่งที่นอกจากจะมีระดับของสารไฟโตเอสโตรเจนสูง นิยมบริโภคในกลุ่มคนทั่วไป และยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย จากการศึกษาในนกกระทา โดยให้น้ำมะพร้าวปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อตัว ต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าระดับ เอช ดี แอล-คอเลสเตอรอล เพิ่มขึ้น 46.2% Atherosclerosis index ลดลง 41.1% และระดับคอเลสเตอรอลในตับ ลดลง 26.3% ดังนั้นการได้รับน้ำมะพร้าวน่าจะมีผลในการป้องกันภาวะไขมันในเลือดสูง และลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด Atherosclerosis ได้ (Zhao, et al. 1995) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในหนูแรทที่มีภาวะน้ำหนักเกินที่พบว่าน้ำมะพร้าวอ่อนมีผลต่อการลดระดับของคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และแอล ดี แอล-คอเลสเตอรอล ในหนูกลุ่มที่มีน้ำหนักเกิน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของน้ำตาล เอช ดี แอล-คอเลสเตอรอล ในเลือด และน้ำหนักตัวของหนู

นอกจากนี้น้ำมะพร้าวอ่อนยังมีผลต่อการลดระดับของมาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) ซึ่งเป็นตัวชี้วัดการเกิด lipid peroxidation ในหนูกลุ่มที่มีน้ำหนักเกินเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุม (Tangpong, et al. 2009) และชะลอการเกิดโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) ได้ เนื่องจากน้ำมะพร้าวอ่อนมีฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงจึงมีส่วนช่วยลดพยาธิสภาพของโรคอัลไซเมอร์ จากการศึกษาในหนูขาวเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ออกทั้งสองข้างเป็นแบบจำลองแทนสตรีวัยทอง พบว่าหนูขาวเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ออกและได้รับน้ำมะพร้าวเป็นเวลา 5 สัปดาห์ มีพยาธิสภาพของโรคอัลไซเมอร์น้อยกว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับน้ำมะพร้าว(Radenahmad, et al., 2006)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 การสกัดน้ำมันมะพร้าวอ่อนเข้มข้น

การสกัดน้ำมันมะพร้าวอ่อนเข้มข้น โดยการคัดเลือกมะพร้าวอ่อน น้ำหอมที่มีอายุ 5-6 เดือน จากแหล่งจำหน่ายมะพร้าวน้ำหอมเพื่อการค้า (ตลาดไท) และ/หรือจากเกษตรกรผู้ปลูกมะพร้าวน้ำหอมในเขตพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช สงขลา และสุราษฎร์ธานี นำมาทำให้เข้มข้นโดยใช้ความเย็นเยือกแข็ง ที่ -80 องศาเซลเซียส จากนั้นตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของไฟโตเอสโตรเจน (ไฟโตฮอร์โมน ได้แก่ Estradiol และ Progesterone) ในน้ำมันมะพร้าวอ่อน โดยใช้หลักการ Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Linskens, et al., 1986; Watanabe, et al., 2000) จากข้อมูลการเตรียมน้ำมันมะพร้าวอ่อนเข้มข้นด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้นพบว่าระดับของ Estradiol เท่ากับ 129.03 pg/mL (Tangpong, et al., 2009) ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

3.1.1 จัดซื้อมะพร้าวน้ำหอม วงศ์ Palmae ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Cocos nucifera* Linn. var. *Nucifera* อายุระหว่าง 5-6 เดือน

3.1.2 นำน้ำมันมะพร้าวอ่อนมารวมไว้ในภาชนะเดียวกัน แล้วกรองน้ำมันมะพร้าวด้วยผ้าขาวบาง

3.1.3 แบ่งน้ำมันมะพร้าวใส่ขวดระเหยปริมาตร 350 มิลลิลิตรต่อขวด ทำให้เข้มข้นโดยการระเหยในอ่างระบบน้ำหมุนเวียนควบคุมอุณหภูมิต่ำ ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-30 นาที จากนั้นนำไปแช่ในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องทำแห้งอุณหภูมิต่ำที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ชั่วโมง จากนั้นเก็บน้ำมันมะพร้าวอ่อนที่เตรียมได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ทดสอบ

3.1.4 สั่งน้ำมันมะพร้าวอ่อนตรวจวัดระดับเอสตราไดออล (estradiol) และระดับโปรเจสเตอโรน ซึ่งได้ค่าเฉลี่ยของเอสตราไดออล

3.1.5 ตรวจสอบคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระรวมจากตัวอย่างน้ำมันมะพร้าวอ่อน โดยวิธี ABTS radical cation decolorization assay (μM of trolox equivalent antioxidant capacity)

3.2 กลุ่มตัวอย่างหนู

หนูที่ใช้ในการทดลองเป็นหนูขาวเล็ก (IRC mice) เพศเมีย อายุ 8 สัปดาห์ น้ำหนัก 25-30 กรัม จำนวน 84 ตัว ได้รับจากสถานสัตว์ทดลองภาคใต้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา เลี้ยงภายใต้สภาวะอุณหภูมิ $23 \pm 2^\circ\text{C}$ มีแสงสว่าง 12 ชั่วโมง และมีมืด 12 ชั่วโมง ให้อาหารและน้ำอย่างพอเพียง และมีการเปลี่ยนวัสดุรองพื้นกรงซีเลียมที่ผ่านการึ่งฆ่าเชื้อวันเว้นวัน การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ได้ส่งโครงการวิจัยเพื่อขอรับการ

3.3 การผ่าตัดรังไข่

การผ่าตัดรังไข่หนูทดลอง โดยใช้วิธีของ Kimura และคณะ (1987) โดยหนูขนาดเล็ก เพศเมีย จะถูกวางยาสลบโดยใช้ Pentobarbital ปริมาณความเข้มข้น 65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการฉีดเข้าหน้าท้อง (Intraperitoneal injection, i.p.) จากนั้นผ่าตัดรังไข่ทั้งสองข้างออก แล้วใช้ไหมผ่าตัดผูกท่อนำไข่ทั้งสองข้างก่อนเย็บแผลปิด ส่วนหนูกลุ่มควบคุม (Sham-operated animals) จะได้รับการผ่าตัดเช่นเดียวกันแต่จะไม่มีการตัดรังไข่ออก

3.4 การทดสอบผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการลดภาวะเครียดออกซิเดชันและการถูกทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อ

การทดสอบผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการลดภาวะเครียดออกซิเดชัน และการถูกทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อ โดยการป้อนน้ำมะพร้าวอ่อนตามความเข้มข้นของ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน และป้อนวันละ 1 ครั้ง ช่วงเวลา 08.00-09.00 น. เริ่มป้อนวันหลังจากการตัดรังไข่เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ซึ่งจากการศึกษาของ Strehlow et al. (2003) พบว่าหลังการผ่าตัดรังไข่ในหนูเมาส์สายพันธุ์ C57/BL6 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ระดับของเอสโตรเจนลดลงเหลือน้อยกว่า 5 pg/mL ในขณะที่กลุ่มควบคุม (sham-operated mice) มีระดับเอสโตรเจนเท่ากับ 121 ± 20 pg/mL เป็นผลให้มีระดับของอนุมูลอิสระ (ROS) เพิ่มขึ้น $191 \pm 28\%$ เทียบกับกลุ่มควบคุม ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งหนูออกเป็น 7 กลุ่มๆ ละ 6 ตัว

กลุ่มที่ 1 กลุ่มหนูปกติไม่ตัดรังไข่ (Sham operated mice) + ให้น้ำสะอาด

กลุ่มที่ 2 กลุ่มหนูตัดรังไข่ (Ovariectomized mice) + ให้น้ำสะอาด

กลุ่มที่ 3 กลุ่มหนูตัดรังไข่+ให้น้ำมะพร้าวอ่อนความเข้มข้นของ Estradiol 100 pg/kgBw/day

กลุ่มที่ 4 กลุ่มหนูตัดรังไข่+ให้น้ำมะพร้าวอ่อนความเข้มข้นของ Estradiol 200 pg/kgBw/day

กลุ่มที่ 5 กลุ่มหนูตัดรังไข่+ให้น้ำมะพร้าวอ่อนความเข้มข้นของ Estradiol 400 pg/kgBw/day

กลุ่มที่ 6 กลุ่มหนูตัดรังไข่+ให้น้ำมะพร้าวอ่อนความเข้มข้นของ Estradiol 800 pg/kgBw/day

กลุ่มที่ 7 กลุ่มหนูตัดรังไข่+ให้ O-Estradiol 200 μ g/kgBw/day

3.5 วิธีการป้อนสารทดสอบแก่หนูขนาดเล็กด้วยมือ (hand-feeding)

การป้อนสารทดสอบแก่หนูขนาดเล็กด้วยมือ (hand-feeding) เป็นเทคนิควิธีการป้อนสารทดสอบแก่หนูขนาดเล็กด้วยมือ เพื่อให้หนูขนาดเล็กได้รับสารทดสอบครบตามปริมาณที่ต้องการ วิธีการป้อนสารทดสอบด้วยมือที่มีผู้นิยมใช้แพร่หลายที่สุดวิธีหนึ่งคือการใช้เข็มป้อนสารทดสอบ (gavage feeding, A18 feeding needle) ขนาดเล็กลักษณะคล้ายเข็มฉีดยาขนาดเท่าเข็มฉีดยาเบอร์ 18 ทำจากโลหะ (metal feeding needle) มีส่วนปลายมนกลม วิธีนี้เป็นการป้อนสารทดสอบแบบทางลัดในการนำสารทดสอบลงไปสู่หลอดอาหารและกระเพาะอาหาร โดยชั่งน้ำหนักหนูขนาดเล็กทุกตัวก่อนการได้รับสารทดสอบ เพื่อกำหนดปริมาตรของสารทดสอบที่จะให้แก่หนูในปริมาตรมาตรฐาน 100 ไมโครลิตรต่อน้ำหนักตัวหนู 10 กรัม แต่ปริมาตรรวมไม่เกิน 1000 ไมโครลิตร ดูดสารที่ต้องการทดสอบเข้าสู่เข็มป้อนสาร จากนั้นสอดเข็มป้อนสารทดสอบลงไปหลอดอาหาร จนกระทั่งส่วนปลายของเข็มแทงลงไปถึงกระเพาะอาหาร ค่อยๆ ดันด้ามของเข็มป้อนสารเพื่อฉีดสารทดสอบให้ผ่านหลอดอาหารลงไปจนกระทั่งถึงกระเพาะอาหาร การใช้เข็มป้อนสารทดสอบนี้ ต้องทำด้วยความระมัดระวังมากเพราะอาจทำให้หลอดอาหารของหนูระคายเคืองหรือเป็นแผลได้ และต้องระวังอย่าให้ท่อของเข็มป้อนอาหารแทงลงไปในหลอดลม การสูดสิ่งแปลกปลอมเข้าปอด (aspirating) เช่น สารทดสอบ อาจทำให้หนูถึงตายได้

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน ที่ความเข้มข้น 800 pg/kgBW ปริมาตร 300 μ L ต่อการป้อน 1 ครั้ง

น้ำหนักตัวหนู 1000 g ป้อน Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน 800 pg

ถ้าน้ำหนักตัวหนู 30 g ป้อน Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน $(800 \times 30) / 1000 = 24$ pg

จากการเตรียมน้ำมะพร้าวอ่อนเข้มข้น พบว่ามีระดับ Estradiol 129 pg/mL

ดังนั้นถ้าน้ำหนักตัวหนู 30 g ป้อน Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน 24 pg ปริมาตร 186 μ L นำมาเตรียมในน้ำสะอาด ปรับปริมาตรให้ได้ 300 μ L ต่อการป้อน 1 ครั้ง (โดยเตรียมทุก 2 สัปดาห์ ให้ได้ปริมาตรที่เพียงพอต่อจำนวนครั้งและจำนวนหนูทั้งหมด)

3.6 การเก็บตัวอย่างอวัยวะและเจาะเก็บเลือดจากหัวใจหนู (cardiac puncture)

3.6.1 ก่อนการเจาะเก็บตัวอย่างอวัยวะและเลือดจากหัวใจ ให้หนูอดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง (fasting blood)

3.6.2 หลังจากการได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ หนูจะถูกนำมาชั่งน้ำหนักและวางยาสลบด้วย Pentobarbital ในปริมาณความเข้มข้น 65 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยวิธีการฉีดเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneal injection, i.p.)

3.6.3 ใช้ชุดผ่าตัดในการเปิดช่องอกและช่องท้อง (thoracic and abdominal cavity) เพื่อเจาะเก็บตัวอย่างเลือดจากหัวใจหนู (cardiac puncture) บรรจุลงในหลอดเก็บตัวอย่างเลือดที่มีเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งตัว ป้องกันการแข็งตัวของเลือด

3.6.4 ล้างเลือดออกจากอวัยวะ (perfusion) โดยการให้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer saline, PBS, pH 7.3) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เข้าทางหัวใจเพื่อชำระล้างเลือดที่

อยู่ตามอวัยวะออก ตัดอวัยวะดับ เพื่อนำไปศึกษา ตัวอย่างอวัยวะที่ได้จะไม่มีการปนเปื้อนของเลือดและสารที่อยู่ในเลือด

3.6.5 นำตัวอย่างเลือดจากหัวใจหนูนำตัวอย่างไปปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบ เป็นเวลานาน 10 นาที แยกส่วนที่เป็นพลาสมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจวิเคราะห์

3.6.6 การเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อจากอวัยวะของหนู

3.6.6.1 นำตัวอย่างชิ้นเนื้ออวัยวะของหนูมาล้างด้วย PBS, pH 7.3 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และใช้กรรไกรตัดจนมีขนาดเป็นชิ้นเล็กๆ ในบีกเกอร์ที่มี PBS เย็น และวางอยู่บนน้ำแข็ง

3.6.6.2 ล้างด้วยสารละลาย PBS จำนวน 3 ครั้ง เพื่อกำจัดเลือดที่ยังตกค้างอยู่ในตัวอย่างชิ้นเนื้อออกไป

3.6.6.3 เติม PBS ที่มี Protease inhibitor ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ตัดแล้ว จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน (brain homogenate) ด้วยเครื่องบดละเอียดความเร็วสูง (Tissue homogenizer) ด้วยความเร็วระดับ 2

3.6.6.4 นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ได้จากการบดละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกันแล้วไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิแบบตั้งโต๊ะที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที เพื่อบั่นแยกเศษชิ้นเนื้อ (pellet) ออกจากส่วนบน (supernatant)

3.6.6.5 นำส่วนใสที่แยกชั้นอยู่ด้านบนของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ได้หลังการปั่นแยกเศษชิ้นเนื้อ (pellet) ไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในระดับไมโครกรัม (microprotein)

3.6.6.6 การตรวจวัดระดับโปรตีนในตัวอย่างชิ้นเนื้อของหนู โดยใช้หลักการตรวจวัดระดับโปรตีนในตัวอย่างเนื้อเยื่อ ด้วยวิธีของ Bradford (1976) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์วิธีหนึ่งที่สามารถใช้ในการตรวจหาปริมาณโปรตีนได้โดยอาศัยเทคนิคความสมดุลระหว่าง Coomassie brilliant blue G-250 กับโปรตีนแบบเฉพาะเจาะจง เนื่องจากภายใต้สภาวะกรดเข้มข้น Coomassie brilliant blue G-250 จะให้สีแดงออกน้ำตาลเมื่อมีการทำปฏิกิริยากับโปรตีนจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถตรวจวัดการดูดกลืนแสงของสีที่เกิดขึ้นได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนมาตรฐานอัลบูมินจากวัว (bovine serum albumin, BSA)

3.7 การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจวิเคราะห์ภาวะเครียดออกซิเดชันและการถูกทำลายของเซลล์เนื้อเยื่อ โดยวัดแอกติวิตี้ของ Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase, Reduced glutathione การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS radical cation decolorization assay วัดระดับการทำลายเซลล์จาก Lipid peroxidation (Malondialdehyde, MDA) ในเนื้อเยื่อ ตับ สมอง ไต และหัวใจ

3.7.1 การตรวจวิเคราะห์ Superoxide dismutase(SOD) activity โดยวิธีของ Sun และ Oberley (1988) (Sun, et al. 1988)

Superoxide dismutase (SOD) เป็น Antioxidant enzyme ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน superoxide radical ให้เป็น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และออกซิเจน การตรวจวัดการทำงานของเอนไซม์

Superoxide dismutase โดย Xanthine/xanthine oxidase มีการสร้าง superoxide radical ซึ่งจะไปยับยั้งการเกิดสีของ Nitroblutetrasolium (NBT) วัดสีของ NBT ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยที่ 1 Unit ของ SOD activity มีค่าเท่ากับ 50% ของการยับยั้งการเกิด NBT

3.7.2 การตรวจวิเคราะห์ Glutathione peroxidase (GSH-Px) activity โดยใช้วิธีของ Beutler (1977) (Beutler, et al., 1977)

Glutathione peroxidase (GSH-Px) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าเปลี่ยน GSH และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ได้เป็น GSSG และ H_2O จากนั้น GSSG จะถูกเอนไซม์ Glutathione reductase เปลี่ยนให้เป็น GSH โดยใช้ NADPH วัดการลดลงของ NADPH ที่ถูกเปลี่ยนเป็น $NADP^+$ ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร

3.7.3 การตรวจวิเคราะห์ Reduced glutathione (GSH)

Reduced glutathione (GSH) จะถูกเปลี่ยนโดย Glyoxalase I ได้เป็น S-lactoyl-GSH วัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร

3.7.4 การตรวจวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS radical cation decolorization assay

การตรวจวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS assay เป็นวิธีทดสอบคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยอาศัยสารอนุมูลอิสระ 2,2' azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) radical cation ($ABTS^{\bullet+}$) ซึ่งเป็นสารที่มีสีน้ำเงิน หากในสิ่งส่งตรวจมีสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแล้ว $ABTS^{\bullet+}$ จะถูกสลายตัวทำสีน้ำเงินจางลง โดยทำการทดสอบเปรียบเทียบกับทรอลอกซ์ (trolox) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีโครงสร้างและคุณสมบัติ เดียวกับวิตามินอี (vitamin E analog) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ผลที่ได้จะแสดงในหน่วยของ trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)

3.7.5 การตรวจวิเคราะห์ Lipid peroxidation (Malondialdehyde, MDA), TBARS assay

การตรวจวิเคราะห์มาลอนไดอัลดีไฮด์ ในตัวอย่างที่ต้องการทดสอบได้โดยการทำให้ปฏิกิริยาให้เกิดสีกับกรดไฮโอบาร์บิทริกเข้มข้นด้วยการต้ม เนื่องจากในสภาวะที่เป็นกรดเข้มข้นและให้ความร้อน จะทำให้มาลอนไดอัลดีไฮด์เกิดปฏิกิริยากับกรดไฮโอบาร์บิทริกแบบเฉพาะเจาะจง จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของมาลอนไดอัลดีไฮด์กับกรดไฮโอบาร์บิทริก (MDA-TBA complex) ซึ่งมีสีชมพูอมส้ม แล้วตกตะกอนโปรตีนที่รบกวนการอ่านค่าการดูดกลืนแสงออก นำส่วนใสที่แยกชั้นอยู่ด้านบน (supernatant) ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร เพื่อเปรียบเทียบกับสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์มาตรฐาน

3.7.6 การตรวจวิเคราะห์ปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหัวใจและหลอดเลือด ได้แก่ วัดระดับ Cholesterol, Triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, Glucose ในเลือด

3.7.6.1 การตรวจวิเคราะห์ Cholesterol ในเลือด

คอเลสเตอรอลในตัวอย่างตรวจที่อยู่ในรูปคอเลสเตอรอลเอสเทอร์ (cholesterol esters) จะถูกย่อยโดยเอนไซม์คอเลสเตอรอลเอสเทอเรส (cholesterol esterase) ได้เป็นคอเลสเตอรอล และกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) หลังจากนั้นคอเลสเตอรอลที่ได้จากการย่อย และ

คอเลสเตอรอลอิสระที่มีอยู่เดิมในตัวอย่าง จะถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดส (cholesterol oxidase) ให้เป็นคอเลสเตอรอลในรูปของคีโตน (cholest-4-en-3-one) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบควิโนนีนที่มีสีแดง ความเข้มของแสงที่เกิดขึ้น จะแปรผันตรงกับปริมาณความเข้มข้นของคอเลสเตอรอล วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร

3.7.6.2 การตรวจวิเคราะห์ Triglyceride ในเลือด

ไตรกลีเซอไรด์จะถูกเอนไซม์ไลเปส (lipase) ย่อยสลายได้เป็นกรดไขมันอิสระ (free fatty acids) และกลีเซอรอล (glycerol) หลังจากนั้นกลีเซอรอลที่เกิดขึ้นจะถูกเติมหมู่ฟอสเฟตซึ่งถูกดึงมาจากอะดีรีโนซิน ไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) โดยเอนไซม์กลีเซอรอลไคเนส (glycerol kinase) ได้ผลผลิตเป็นกลีเซอรอลฟอสเฟต (glycerol-3-phosphate) และอะดีรีโนซินไดฟอสเฟต (adenosinediphosphate, ADP) กลีเซอรอลฟอสเฟตจะถูกออกซิไดซ์เป็นไดไฮดรอกซีอะซีโตนฟอสเฟต (dihydroxyacetone phosphate) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์กลีเซอรอลฟอสเฟตออกซิเดส (glycerol phosphate oxidase) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับอะมิโนแอนติไทริน (4-aminoantityrine) และคลอโรฟีนอล (4-chlorophenol) โดยเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) ให้สารควิโนนีนที่มีสีแดง วัดความเข้มของสีที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ความเข้มของสีที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ในตัวอย่างตรวจ

3.7.6.3 การตรวจวิเคราะห์ HDL-cholesterol ในเลือด

ใช้น้ำยา phosphotungstic acid ผสม Magnesium chloride ($MgCl_2$) ตกตะกอน LDL-Cholesterol, VLDL-Cholesterol และ chylomycron หลังจากปั่นแยก นำ HDL-cholesterol ซึ่งอยู่ในส่วนใสไปหาปริมาณ cholesterol ด้วยวิธีเดียวกันกับการตรวจวัด total cholesterol

3.7.6.4 การตรวจวิเคราะห์ LDL-cholesterol (mg/dL) ในเลือด โดยใช้วิธีการตรวจโดยตรงด้วย Colorimetric method ตรวจวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นเทียบกับสารมาตรฐาน โดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก KONELAB20 (Tokyo, Japan)

3.7.6.5 การตรวจวิเคราะห์ Glucose ในเลือด

Glucose จะถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์ glucose oxidase ให้เป็น gluconic acid และ hydrogen peroxide ซึ่ง hydrogen peroxide ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับ 4-hydroxylbenzonic acid และ 4-aminoantityrine ได้สารประกอบ quinoneimine มีสีแดง ความเข้มแสงที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงกับปริมาณความเข้มข้นของกลูโคส วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร

3.7.7 การตรวจวัดระดับโปรตีน (micro-proteins) ในตัวอย่างชิ้นเนื้อจากเนื้อเยื่อตับของหนูด้วยวิธีของ Bradford (1976) โดยอาศัยหลักการ ดังนี้

สี coomassie brilliant blue G-250 ในสภาวะเป็นกรดมีสีน้ำตาลแดงเมื่อทำปฏิกิริยากับโปรตีน (micro-proteins) จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินยังมีปริมาณกรดอะมิโนมากที่สุดที่เปลี่ยนไปจะยิ่งเข้มข้น ซึ่งสามารถตรวจวัดการดูดกลืนแสงของสีที่เกิดขึ้นได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น

595 นาโนเมตร เพื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนระดับนาโนกรัมในชิ้นเนื้อจากตัวอย่างเนื้อเยื่อตับของหนู โดยเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนอัลบูมินมาตรฐานจากวัว (bovine serum albumin)

3.7.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้ค่า Mean $\pm$ SEM และวิเคราะห์ทางสถิติแบบ One Way ANOVA โดยโปรแกรม GraphPad Prism 4 (Chicago, IL, USA) และเปรียบเทียบแบบหลายทางโดยใช้ Neuman-Keuls Multicomparison Test ที่ค่า $p < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก

บทที่ 4

รายงานผลการวิจัย

4.1 ผลการตรวจวัดระดับฮอร์โมนเพศและระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในน้ำมะพร้าวอ่อน

ผลการตรวจวัดฮอร์โมนเพศในน้ำมะพร้าวอ่อนโดยเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay พบว่าในน้ำมะพร้าวอ่อน 1 mL ประกอบด้วย 17β - estradiol เท่ากับ 4.4 pg และ progesterone เท่ากับ 0.0047 ng หลังจากเตรียมน้ำมะพร้าวอ่อนให้เข้มข้น (1 mL ซึ่งเท่ากับน้ำมะพร้าวอ่อนเริ่มต้นปริมาตร 29.3 mL) แล้วจะมีระดับของ 17β - estradiol เท่ากับ 129.03 pg/mL และ progesterone เท่ากับ 0.14 ng/mL มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 3492.56 μ M of Trolox equivalent antioxidant capacity/mL ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระดับฮอร์โมนและระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในน้ำมะพร้าวอ่อน

ชนิดของสาร	ความเข้มข้น
1. Estradiols (pg/mL)	129.03
2. Progesterone (ng/mL)	0.14
3. Total antioxidant (trolox equivalent antioxidant capacity/mL)	3492.56

เมื่อนำน้ำมะพร้าวอ่อนไปเตรียมให้สัตว์ทดลองที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 pg/kgBw/day ตามลำดับ หลังจากนั้นได้ทำการศึกษาผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลในเลือด ไขมันในเลือด สารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือด สารต้านอนุมูลอิสระรวมในเนื้อเยื่อตับ ลิพิดเปอร์ออกไซด์ในเลือด และลิพิดเปอร์ออกไซด์ในเนื้อเยื่อตับของกลุ่มหนูทดลองเพศเมีย ประกอบด้วย กลุ่มหนูควบคุมปกติ (Normal control; NC) กลุ่มทดลองที่ผ่าตัดหลอด (Sham operated; SO) กลุ่มทดลองที่ผ่าตัดรังไข่ (Ovariectomized; OVx) กลุ่มทดลองที่ตัดรังไข่และได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน (Ovariectomized-Young Coconut Juice; OVx-YCJ) ซึ่งมีระดับความเข้มข้นของ Estradiol เท่ากับ 100, 200, 400 และ 800 pg/KgBw/day และกลุ่มทดลองที่ตัดรังไข่และได้รับเอสโตรเจนสังเคราะห์ (Ovariectomized-Estradiol; OVx-E2) ซึ่งมีความเข้มข้นของระดับ O - Estradiol เท่ากับ 200 μ g/KgBw/day เป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยเริ่มให้สารทดสอบหลังการผ่าตัด 2 สัปดาห์

4.2 ผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อน้ำหนักของหนูทดลอง

ผลของน้ำหนักในหนูทดลองกลุ่มควบคุมปกติ กลุ่มทดลองที่ผ่าตัดหลอก กลุ่มทดลองที่ผ่าตัดจริง ไข่ กลุ่มทดลองที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีระดับความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 pg/KgBw/day และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol 200 µg/KgBw/day เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ผลปรากฏว่า หนูทดลองทุกกลุ่มมีน้ำหนักไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ในช่วงที่ทำการให้สารทดสอบดังแสดงในตารางที่ 2

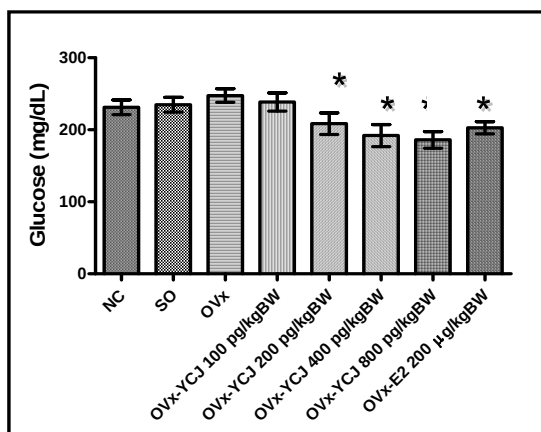
ตารางที่ 2 น้ำหนักหนูทดลอง ก่อนและหลังได้รับสารทดสอบเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

Group	Initial weight (g)	Final weight (g)
1. NC	35.75 ± 1.21	36.65 ± 0.78
2. SO	35.31 ± 1.43	36.79 ± 0.85
3. OVx	34.84 ± 1.18	38.69 ± 0.74
4. OVx-YCJ 100 pg/kgBw	35.11 ± 0.94	36.81 ± 1.22
5. OVx-YCJ 200 pg/kgBw	35.84 ± 0.79	37.92 ± 0.59
6. OVx-YCJ 400 pg/kgBw	35.75 ± 0.90	37.95 ± 0.84
7. OVx-YCJ 800 pg/kgBw	35.52 ± 0.60	38.18 ± 0.65
8. OVx-E2 200 µg/kgBW	34.87 ± 0.87	37.38 ± 1.17

NC, Normal control; SO, Shamed operate; OVx, Ovariectomized mice; YCJ, Young coconut juice; E2, O-Estradiol

4.3 ผลการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในเลือด

จากการตรวจระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองในกลุ่มหนูควบคุมปกติ กลุ่มควบคุมผ่าตัดหลอก กลุ่มควบคุมผ่าตัดจริงไข่ กลุ่มผ่าตัดจริงไข่ที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของระดับ ไฟโตเอสโตรเจนต่างกัน และกลุ่มที่ได้รับเอสโตรเจนสังเคราะห์ พบว่า กลุ่มหนูทดลองที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 200, 400 และ 800 pg/KgBw/day มีระดับน้ำตาลในเลือดลดลงคิดเป็นร้อยละ 15.84, 22.54 และ 24.96 ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ตัดจริงไข่ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol 200 µg/KgBw/day มีระดับน้ำตาลในเลือดลดลงคิดเป็นร้อยละ 18.18 ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ตัดจริงไข่ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 3

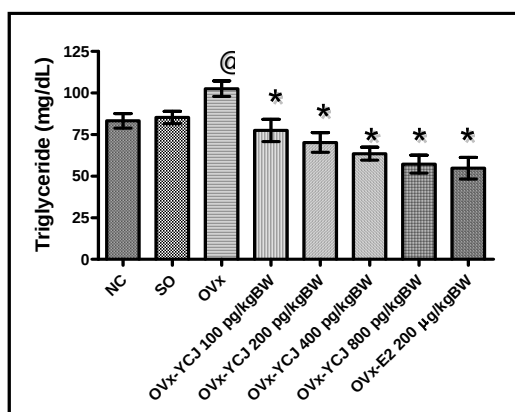


ภาพที่ 3 ค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลในเลือด (mg/dL) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6

สัปดาห์ ที่ค่า * $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)

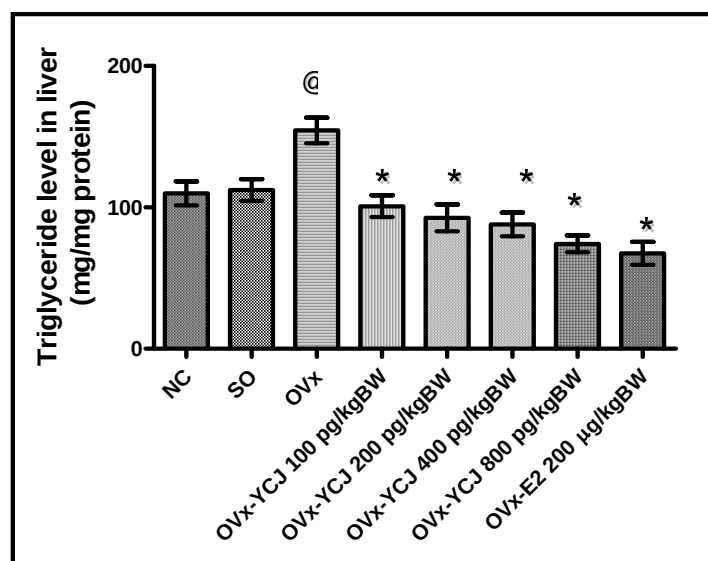
4.4 ผลการศึกษาน้ำมันมะพร้าวอ่อนต่อระดับไตรกลีเซอไรด์

จากการตรวจระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดและเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองในกลุ่มหนูควบคุมปกติ กลุ่มควบคุมผ่าตัดหลอก กลุ่มควบคุมผ่าตัดรังไข่ กลุ่มผ่าตัดรังไข่ที่ได้รับน้ำมันมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol ต่างกัน และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol พบว่า กลุ่มควบคุมตัดรังไข่มีระดับไตรกลีเซอไรด์สูงกว่ากลุ่มหนูควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหลอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กลุ่มหนูตัดรังไข่ที่ได้รับน้ำมันมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 pg/KgBw/day มีระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดและเนื้อเยื่อตับลดลง อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับ O-Estradiol 200 µg/KgBw/day มีระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดและเนื้อเยื่อตับลดลง ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ตัดรังไข่ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 4 และ 5



ภาพที่ 4 ค่าเฉลี่ยของระดับ Triglyceride ในเลือด (mg/dL) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6

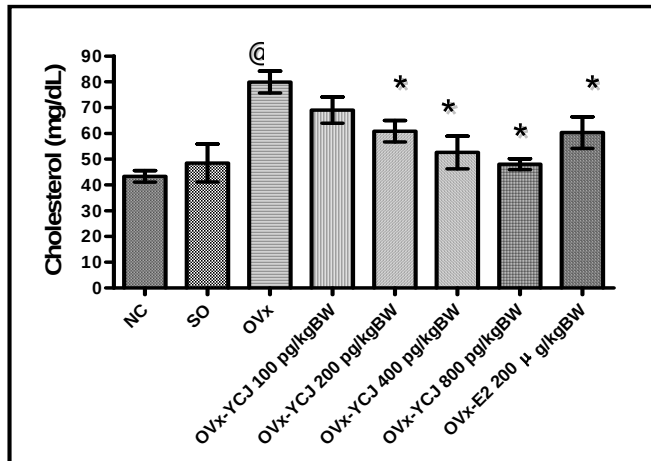
สัปดาห์ ที่ค่า @ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหลอก และ * $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)



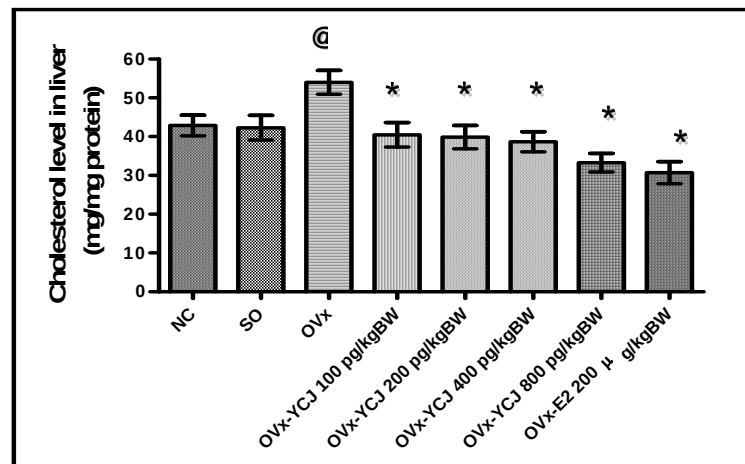
ภาพที่ 5 ค่าเฉลี่ยของระดับ Triglyceride ในเนื้อเยื่อตับ (mg/g protein) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ @ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหูดอก และ * $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)

4.5 ผลการศึกษาน้ำมันมะพร้าวอ่อนต่อระดับ คอเลสเตอรอล

จากการตรวจระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองในกลุ่มหนูควบคุมปกติ กลุ่มควบคุมผ่าตัดหูดอก กลุ่มควบคุมผ่าตัดรังไข่ กลุ่มผ่าตัดรังไข่ที่ได้รับน้ำมันมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol ต่างกัน และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol พบว่า หนูกลุ่มที่ตัดรังไข่มีระดับคอเลสเตอรอลเพิ่มสูงกว่าหนูกลุ่มควบคุมไม่ตัดรังไข่ และหนูกลุ่มที่ผ่าตัดหูดอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) หนูกลุ่มทดลองที่ได้รับน้ำมันมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 200, 400 และ 800 pg/KgBW/day มีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดลงเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มที่ตัดรังไข่ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วนระดับของคอเลสเตอรอลในเนื้อเยื่อตับลดลงเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มที่ตัดรังไข่ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อให้น้ำมันมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้น Estradiol 100, 200, 400 และ 800 pg/KgBW/day และพบว่ากลุ่มหนูทดลองที่ได้รับ O- Estradiol 200 μg/KgBW/day มีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและเนื้อเยื่อตับลดลง ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ตัดรังไข่ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 6 และ 7



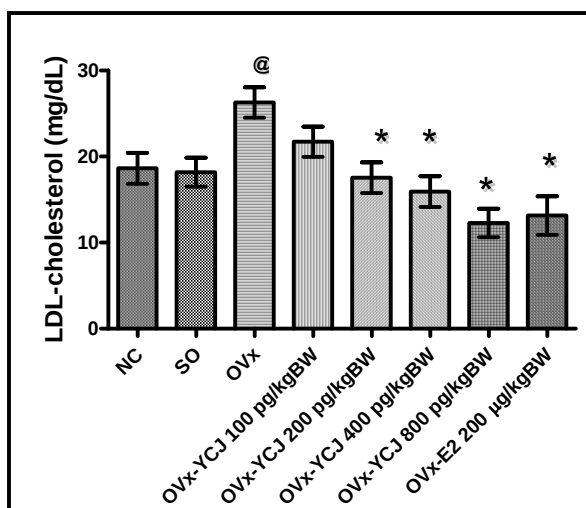
ภาพที่ 6 ค่าเฉลี่ยของระดับ Cholesterol ในเลือด (mg/dL) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 เดือน ที่ค่า @ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหดรอก และ * $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)



ภาพที่ 7 ค่าเฉลี่ยของระดับ Cholesterol ในเนื้อเยื่อตับ (mg/mg protein) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 เดือน ที่ค่า @ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหดรอก และ * $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)

4.7 ผลการศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ แอล ดี แอล- คอเลสเตอรอล

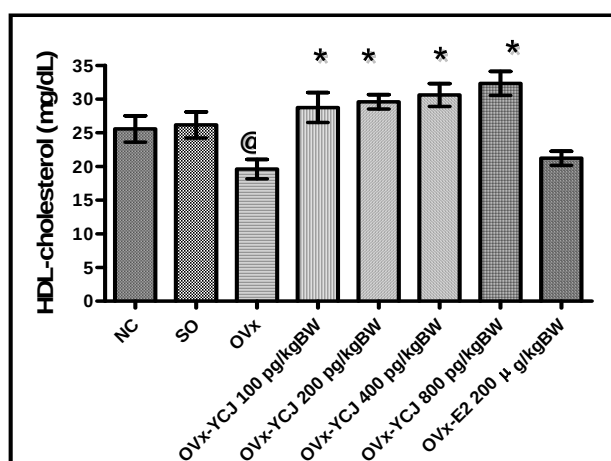
จากการตรวจระดับ แอล ดี แอล-คอเลสเตอรอลในเลือดตับของหนูทดลองในกลุ่มหนูควบคุมปกติ กลุ่มควบคุมผ่าตัดหดรอก กลุ่มควบคุมผ่าตัดรังไข่ กลุ่มผ่าตัดรังไข่ที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol ต่างกัน และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol พบว่าหนูกลุ่มที่ตัดรังไข่มีระดับคอเลสเตอรอลเพิ่มสูงกว่าหนูกลุ่มควบคุมไม่ตัดรังไข่ และหนูกลุ่มที่ผ่าตัดหดรอกอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) หนูกลุ่มทดลองที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 200, 400 และ 800 pg/KgBW/day มีระดับ แอล ดี แอล-คอเลสเตอรอลในเลือดลดลงเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มที่ตัดรังไข่ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และพบว่ากลุ่มหนูทดลองที่ได้รับ O-Estradiol 200 µg/KgBW/day มีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและเนื้อเยื่อตับลดลง ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ตัดรังไข่ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 ค่าเฉลี่ยของระดับ แอล ดี แอล-คอเลสเตอรอลในเลือด (mg/dL) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 เดือน ที่ค่า @ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหลอก และ * $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)

4.7 ผลการศึกษาห้ามะพร้าวอ่อนต่อระดับ เอช ดี แอล- คอเลสเตอรอล

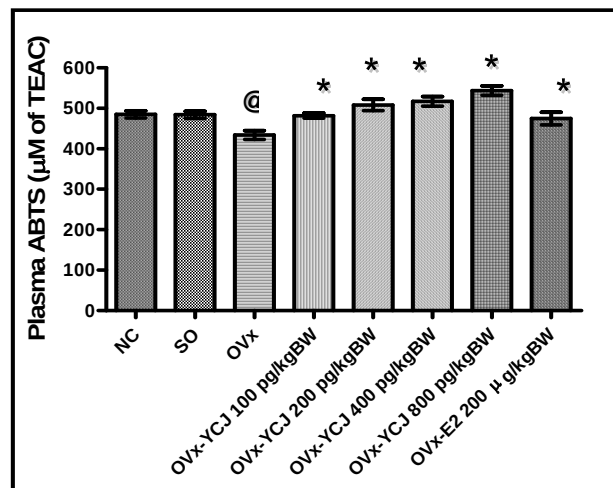
จากการตรวจระดับ เอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลในเลือดของหนูทดลองในกลุ่มควบคุมผ่าตัดรังไข่ พบว่ามีระดับ เอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมปกติ กลุ่มควบคุมผ่าตัดหลอก ($p<0.05$) เมื่อให้น้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol ต่างกัน และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol พบว่า กลุ่มหนูทดลองที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 pg/KgBw/day มีระดับเอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ตัดรังไข่ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่พบว่ากลุ่มหนูทดลองที่ได้รับ O-Estradiol 200 µg/KgBw/day มีระดับเอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลในเลือดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ตัดรังไข่ ($p>0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 9



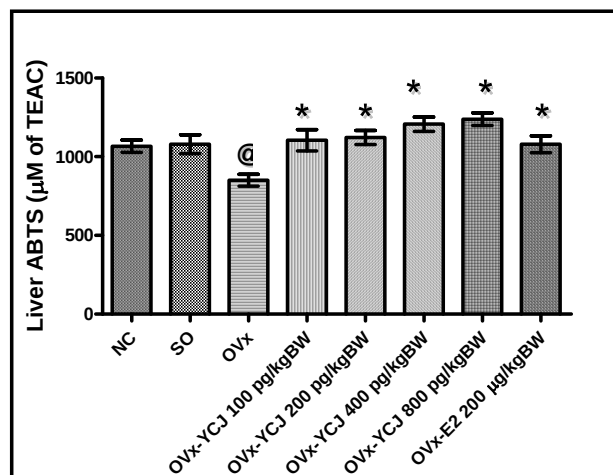
ภาพที่ 9 ค่าเฉลี่ยของระดับ เอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลในเลือด (mg/dL) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 เดือน ที่ค่า @ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหลอก และ * $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)

4.8 ผลการศึกษาห้ามะพร้าวอ่อนต่อระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือดและเนื้อเยื่อตับ

จากการตรวจระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือดและเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองในกลุ่มควบคุมผ่าตัดจริงไข่มิมีระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมปกติ และกลุ่มควบคุมผ่าตัดหลอก อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กลุ่มหนูทดลองที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 $\mu\text{g/KgBw/day}$ มีระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือดและเนื้อเยื่อตับสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ผ่าตัดจริงไข่มิ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และพบว่ากลุ่มหนูทดลองที่ได้รับ O-Estradiol 200 $\mu\text{g/KgBw/day}$ มีระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือดและเนื้อเยื่อตับสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ผ่าตัดจริงไข่มิอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 10 และ 11



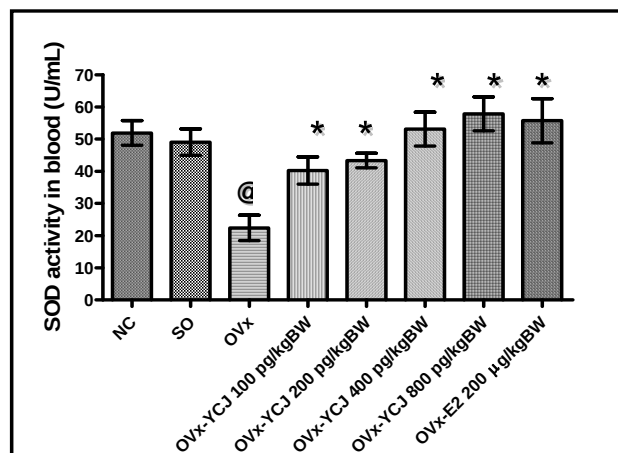
ภาพที่ 10 ค่าเฉลี่ยของระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือด ($\mu\text{M of TEAC}$) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ค่า [@] $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหลอก และ ^{*} $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูผ่าตัดจริงไข่มิ (OVx)



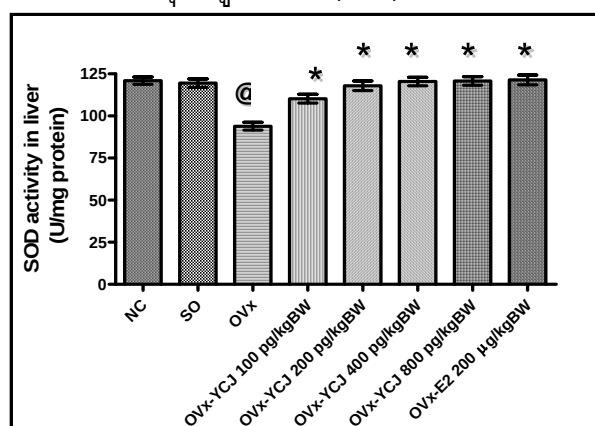
ภาพที่ 11 ค่าเฉลี่ยของระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเนื้อเยื่อตับ ($\mu\text{M of TEAC/g protein}$) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ค่า [@] $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหลอก และ ^{*} $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูผ่าตัดจริงไข่มิ (OVx)

4.9 ผลการศึกษาไขมันพว้าว่อนต่อแอกติวิตี้ ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเตสในเลือดและเนื้อเยื่อตับ

จากการตรวจเอนไซม์แอกติวิตี้ ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเตสในเลือดและเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองในกลุ่มควบคุมผ่าตัดรังไข่มีแอกติวิตี้ของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเตสในเลือดและเนื้อเยื่อตับลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมปกติ และกลุ่มควบคุมผ่าตัดหูลอก อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กลุ่มหนูทดลองที่ได้รับไขมันพว้าว่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 400 และ 800 $\mu\text{g/KgBW/day}$ ในเลือด และกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับไขมันพว้าว่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 $\mu\text{g/KgBW/day}$ ในเนื้อเยื่อตับ มีแอกติวิตี้ของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเตสสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ผ่าตัดรังไข้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และพบว่ากลุ่มหนูทดลองที่ได้รับ O-Estradiol 200 $\mu\text{g/KgBW/day}$ มีแอกติวิตี้ของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเตสในเลือดและเนื้อเยื่อตับสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ผ่าตัดรังไข้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 12 และ 13



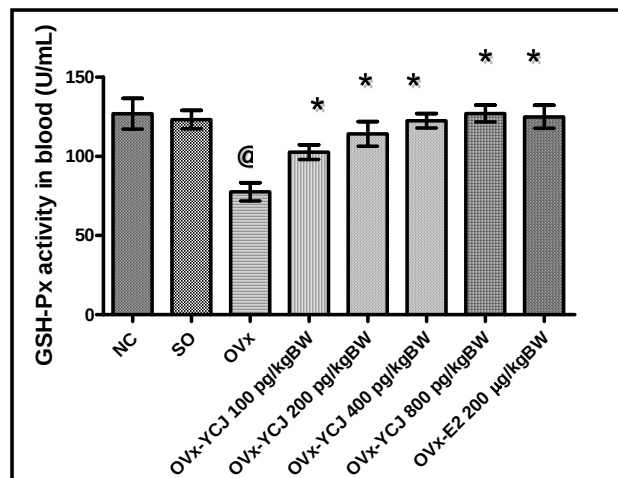
ภาพที่ 12 แอกติวิตี้ของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเตส ในเนื้อเยื่อตับ (IU/g protein) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ค่า $@p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหูลอก และ $*p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)



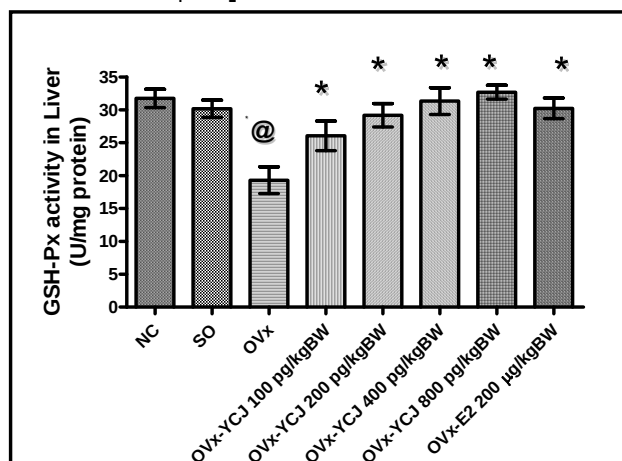
ภาพที่ 13 แอกติวิตี้ของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดีสมูเตส ในเนื้อเยื่อตับ (IU/g protein) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ค่า $@p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหูลอก และ $*p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)

4.10 ผลการศึกษาห้ามะพร้าวอ่อนต่อแอคติวิตี กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดสในเลือดและเนื้อเยื่อตับ

จากการตรวจวัดแอคติวิตีของเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส ในเลือดและเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองในกลุ่มควบคุมผ่าตัดจริงไข พบว่าแอคติวิตีของเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส ในเลือดและเนื้อเยื่อตับมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมปกติ และกลุ่มควบคุมผ่าตัดหลอก ในกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับห้ามะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 $\mu\text{g/KgBw/day}$ และพบว่ากลุ่มหนูทดลองที่ได้รับ O-Estradiol 200 $\mu\text{g/KgBw/day}$ มีแอคติวิตีของเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส ในเลือดและเนื้อเยื่อตับเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ผ่าตัดจริงไข ดังแสดงในภาพที่ 14 และ 15



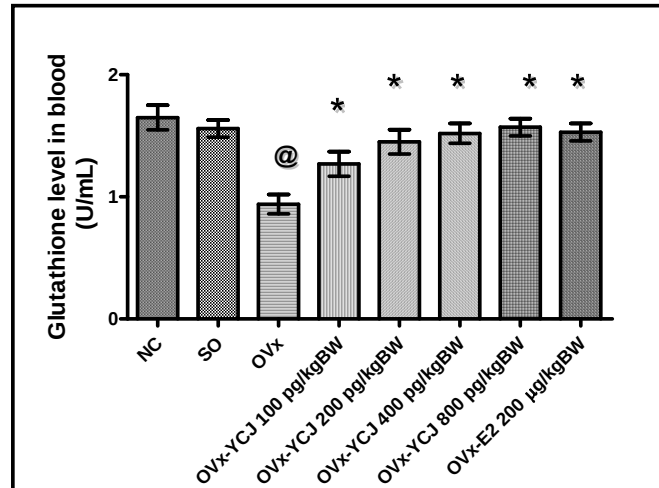
ภาพที่ 14 แอคติวิตีของเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดสในเลือด (IU/g protein) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ค่า @ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหลอก และ * $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดจริงไข (OVx)



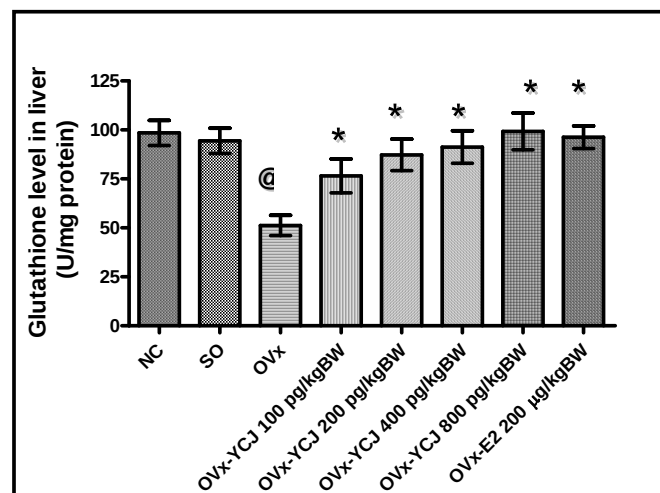
ภาพที่ 15 แอคติวิตีของเอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดสในเนื้อเยื่อตับ (IU/g protein) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ค่า @ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหลอก และ * $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดจริงไข (OVx)

4.11 ผลการศึกษาฤทธิ์ของฮอร์โมนต่อระดับกลูตาไทโอนในเลือดและเนื้อเยื่อตับ

จากการตรวจวัดระดับกลูตาไทโอนในเลือดและเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองในกลุ่มควบคุมผ่าตัดจริง ไข่ พบว่าระดับของกลูตาไทโอนในเลือดและเนื้อเยื่อตับมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมปกติ และกลุ่มควบคุมผ่าตัดหลอก ในกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 $\mu\text{g/KgBW/day}$ และกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับ O-Estradiol 200 $\mu\text{g/KgBW/day}$ ระดับกลูตาไทโอนในเลือดและเนื้อเยื่อตับมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ตัดจริงไข่ ดังแสดงในภาพที่ 16 และ 17



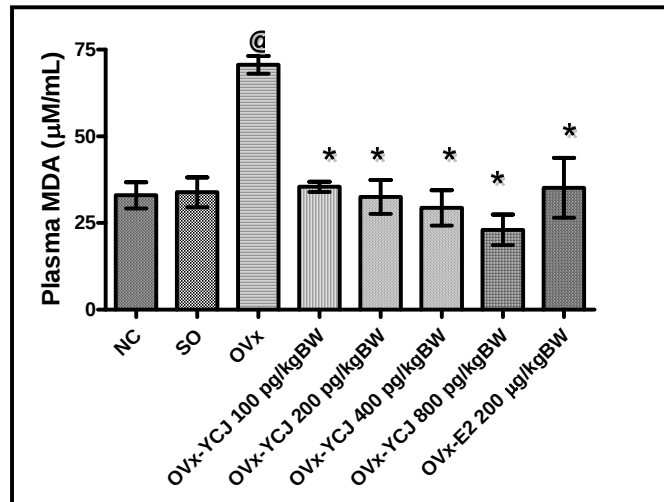
ภาพที่ 16 ระดับกลูตาไทโอนในเลือด (μM) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ค่า @ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหลอก และ * $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดจริงไข่ (OVx)



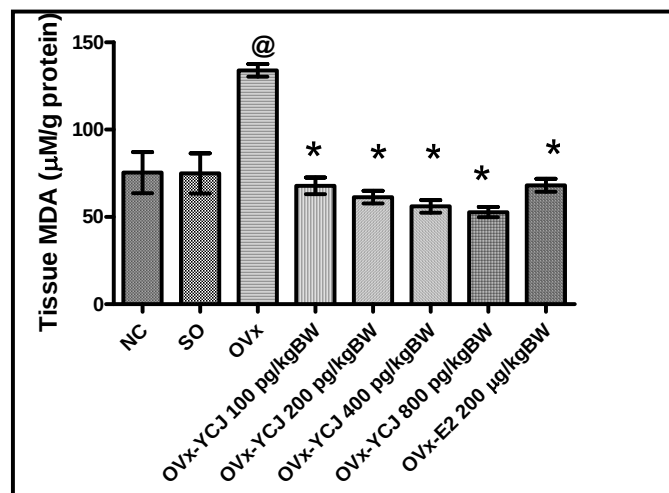
ภาพที่ 17 ระดับกลูตาไทโอนในเนื้อเยื่อตับ (μM /g protein) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ค่า @ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดหลอก และ * $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดจริงไข่ (OVx)

4.12 ผลการศึกษาน้ำมันมะพร้าวอ่อนต่อระดับ Lipid peroxide ในเนื้อเยื่อตับ

จากการตรวจระดับ Malondialdehyde (MDA) ในเลือดและเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองในกลุ่มหนูที่ตัดรังไข่มีระดับ MDA สูงกว่าหนูควบคุมปกติ กลุ่มควบคุมผ่าตัดห้อยอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในหนูกลุ่มตัดรังไข่ที่ได้รับน้ำมันมะพร้าวที่มีระดับความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 pg/kg BW/day และกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับ O-Estradiol 200 $\mu\text{g/KgBw/day}$ มีระดับ MDA ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมผ่าตัดรังไข่ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 18



ภาพที่ 18 ค่าเฉลี่ยของระดับ Malondialdehyde (MDA) ในเลือด ($\mu\text{M/mL}$) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ @ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดห้อย และ * $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)



ภาพที่ 19 ค่าเฉลี่ยของระดับ Malondialdehyde (MDA) ในเนื้อเยื่อตับ ($\mu\text{M/g protein}$) ของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ค่า @ $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ และกลุ่มผ่าตัดห้อย และ * $p<0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)

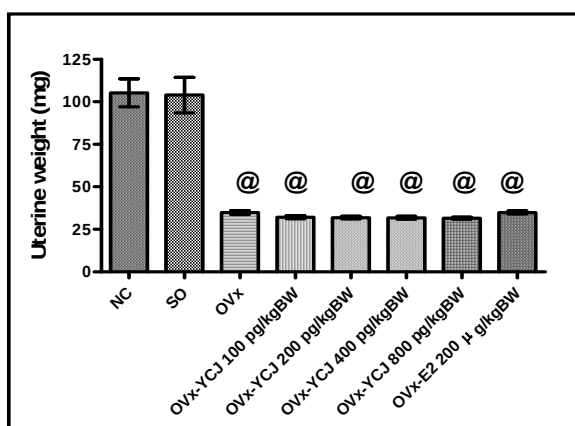
4.13 ผลการศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อน้ำหนักมดลูกของหนู

จากผลการศึกษาพบว่ากลุ่มหนูผ่าตัดรังไข่จะมีน้ำหนักมดลูกลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมที่ไม่ตัดรังไข่และกลุ่มหนูที่ตัดรังไข่หลอก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่กลุ่มหนูที่ตัดรังไข่ที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 pg/kg Bw/day มีน้ำหนักมดลูกไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมผ่าตัดรังไข่ ($p > 0.05$) แต่มีน้ำหนักมดลูกลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมที่ไม่ตัดรังไข่และกลุ่มหนูที่ตัดรังไข่หลอก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับกลุ่มหนูที่ตัดรังไข่ที่ได้รับ O-Estradiol 200 µg/KgBw/day มีน้ำหนักมดลูกไม่แตกต่างจากกลุ่มหนูควบคุมผ่าตัดรังไข่ ($p > 0.05$) แต่มีน้ำหนักมดลูกลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมที่ไม่ตัดรังไข่และกลุ่มหนูที่ตัดรังไข่หลอก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 20

ตารางที่ 4 การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อน้ำหนักมดลูกของหนู

Group	Uterine weight (mg)
1. NC	105.27 $\pm$ 8.21
2. SO	103.96 $\pm$ 10.43
3. OVx	34.84 $\pm$ 1.18 [@]
4. OVx-YCJ 100 pg/kgBW	32.11 $\pm$ 0.94 [@]
5. OVx-YCJ 200 pg/kgBW	31.84 $\pm$ 0.79 [@]
6. OVx-YCJ 400 pg/kgBW	31.75 $\pm$ 0.90 [@]
7. OVx-YCJ 800 pg/kgBW	31.52 $\pm$ 0.60 [@]
8. OVx-E2 200 µg/kgBW	34.87 $\pm$ 0.87 [@]

[@] $p < 0.05$ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มหนูผ่าตัดรังไข่ กับกลุ่มหนูควบคุมที่ไม่ตัดรังไข่และกลุ่มหนูที่ตัดรังไข่หลอก



ภาพที่ 20 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักมดลูกของหนูของหนูทดลองที่ได้รับสารทดสอบเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ค่า [@] $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมไม่ตัดรังไข่ และกลุ่มหนูผ่าตัดรังไข่หลอก

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

น้ำมะพร้าวอ่อน มีระดับฮอร์โมนเพศ ซึ่งประกอบด้วย 17β - estradiol เท่ากับ 4.4 pg/mL และ progesterone เท่ากับ 0.0047 ng/mL เมื่อเตรียมน้ำมะพร้าวอ่อนให้เข้มข้น 1 mL ซึ่งเท่ากับน้ำมะพร้าวอ่อนเริ่มต้นปริมาตร 29.3 mL พบว่ามีระดับของ 17β - estradiol เท่ากับ 129.03 pg/mL, progesterone เท่ากับ 0.14 ng/mL และมีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 3492.56 μ M of Trolox equivalent antioxidant capacity/mL แสดงให้เห็นว่าน้ำมะพร้าวอ่อนมีปริมาณเอสโตรเจนสูง รวมทั้งมีคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงอีกด้วย การศึกษาไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูที่ตัดรังไข่ในครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักหนูทดลอง การเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำตาลในเลือด การเปลี่ยนแปลงของระดับไขมันในเลือด การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์และสารต้านอนุมูลอิสระรวม และการเปลี่ยนแปลงของลิพิดเปอร์ออกไซด์อันเกิดเนื่องจากภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูที่ตัดรังไข่ ซึ่งเปรียบได้กับสตรีวัยหมดประจำเดือนที่มีระดับฮอร์โมนเพศลดลง จากการศึกษพบว่าไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนมีผลลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดระดับไขมันไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอล แอล ดี แอล-คอเลสเตอรอล และลดระดับลิพิดเปอร์ออกไซด์ เพิ่มระดับเอชดีแอล-คอเลสเตอรอล เพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวม และแอคทิวิตีของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมูเตส ในเลือดและเนื้อเยื่อตับ ได้อย่างมีนัยสำคัญ

จากการศึกษาผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อน้ำหนักของหนูทดลอง พบว่าหนูทดลองที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่ความเข้มข้นของ Estradiol ต่างกัน และหนูทดลองที่ได้รับ O-Estradiol มีน้ำหนักที่ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่ม แสดงให้เห็นว่า Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน และ O-Estradiol ไม่มีผลต่อการเพิ่มน้ำหนักของหนูทดลอง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับน้ำมะพร้าว และได้รับ O-Estradiol กับกลุ่มควบคุมทั้ง 3 กลุ่มที่ไม่ได้รับน้ำมะพร้าวนั้น แต่หนูทุกกลุ่มมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบก่อนและหลังการให้ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน และ O-Estradiol ซึ่งการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักหนูทดลองนั้นเป็นผลจากการเจริญเติบโตตามอายุที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การได้รับ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน และ O-Estradiol ยังไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักมดลูกเมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมที่ตัดรังไข่ จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการให้ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน และ O-Estradiol ไม่มีผลต่อการเพิ่มน้ำหนักตัวและน้ำหนักมดลูกของหนูที่ตัดรังไข่

ผลการศึกษาระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองที่ตัดรังไข่และได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 pg/kgBw/day และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol ที่ความเข้มข้น 200 μ g/kgBw/day มีระดับต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ตัดรังไข่ (OVx control) แสดงให้เห็นว่า Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน และ O-Estradiol อาจสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ในภาวะที่มีการลดลงของระดับฮอร์โมนเอสโตรเจน มีรายงานผลการวิจัยของ 17β -estradiol ต่อระดับน้ำตาลในเลือดและ

ระดับอินซูลินในหนูทดลองที่ตัดรังไข่ พบว่า ในหนูที่ตัดรังไข่จะพบการหลั่งอินซูลินลดลง ทำให้ความสามารถในการควบคุมระดับน้ำตาลลดลง และมีภาวะดื้ออินซูลิน ทำให้มีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงขึ้น แต่เมื่อได้รับ 17β -estradiol ติดต่อกันระยะเวลาหนึ่งจะทำให้มีผลในการลดภาวะดื้ออินซูลิน และเพิ่มความไวของอินซูลินมากขึ้น (Mei-Lian, et al., 2004) จากผลการศึกษาค้างนี้ น่าจะเป็นประโยชน์ในการป้องกันและรักษา จากผลการวิจัยในผู้หญิงที่หมดประจำเดือนพบว่า มีภาวะอ้วน ดื้อต่ออินซูลิน และมีระดับไขมันในเลือดสูงซึ่งเป็นผลให้เกิดกลุ่มอาการเมแทบอลิกซิงโดรม (metabolic syndrome) (Julian, et al., 2002) โดยในน้ำมะพร้าวอ่อนมี Estradiol อยู่ในระดับหนึ่งที่สามารถออกฤทธิ์ได้คล้ายกับ 17β -estradiol จึงน่าจะมีผลต่อการลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ด้วยกลไกเดียวกับการลดภาวะดื้ออินซูลินดังกล่าว

จากผลการศึกษาระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดของหนูทดลองที่ตัดรังไข่และได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol ที่ระดับต่างๆ และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol 200 $\mu\text{g/kgBw/day}$ พบว่า ในกลุ่มหนูทดลองที่ตัดรังไข่และได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 pg/kgBw/day และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol 200 $\mu\text{g/kgBw/day}$ มีระดับของไตรกลีเซอไรด์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตัดรังไข่ การลดลงของระดับไตรกลีเซอไรด์ดังกล่าว อาจมีความสัมพันธ์กับการทำงานของอินซูลินที่ดีขึ้นซึ่งจะมีผลในการยับยั้งกระบวนการสลายไขมัน (lipolysis) ทำให้กรดไขมันอิสระในเลือดน้อยลง ตับสร้าง วี แอล ดี แอล-คอเลสเตอรอล (VLDL-cholesterol) ได้น้อยลง ผลทำให้ไตรกลีเซอไรด์ลดลงตามไปด้วย (นิมิต เตชะไกรชนะ, 2543) ซึ่งสอดคล้องกับการได้รับไฟโตเอสโตรเจนจากถั่วเหลือง ที่พบว่าสามารถทำให้การสลายไตรกลีเซอไรด์จากตับลดลง และมีการทำงานของเอนไซม์ไลเปส (lipase) ลดลง จึงมีผลทำให้ไตรกลีเซอไรด์ในเลือดลดลงได้บางส่วน (Sophie, et al., 2004) ผลการศึกษาค้างนี้แสดงให้เห็นว่า Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนสามารถออกฤทธิ์คล้ายกับ Estradiol ในการลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้

ผลการศึกษาระดับคอเลสเตอรอลรวมในเลือดของหนูทดลองที่ตัดรังไข่ พบว่า ระดับคอเลสเตอรอลในหนูที่ตัดรังไข่ที่ได้รับ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อน และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol 200 $\mu\text{g/kgBw/day}$ มีระดับคอเลสเตอรอลลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตัดรังไข่ โดยมีสอดคล้องกับรายงานการศึกษาวิจัยโดยการให้ Estradiol สังเคราะห์ ซึ่งน่าจะมีกลไกช่วยให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของไขมันดีขึ้น และจากรายงานการวิจัยที่ให้สาร isoflavone ซึ่งเป็นสารที่มีบทบาทเช่นเดียวกับไฟโตเอสโตรเจน ทำหน้าที่เช่นเดียวกับฮอร์โมนเพศในสตรี (primary female sex hormone) ในหนูที่ตัดรังไข่ พบว่า isoflavone ร่วมกับการให้หนูออกกำลังกาย มีผลต่อการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญ (Jian, et al., 2004) และจากการศึกษาในค้างนี้พบว่าในหนูทดลองที่ตัดรังไข่และได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol ที่ระดับต่างๆ กัน มีผลทำให้ระดับแอลดีแอล-คอเลสเตอรอลลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ตัดรังไข่ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยสารสกัดไฟโตเอสโตรเจนที่สกัดจากถั่วเหลือง (daidzeine, genistein) สามารถลดระดับแอลดีแอล-คอเลสเตอรอลได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยกลไกหลัก 3 กลไก ได้แก่ 1) การเพิ่มการขับ bile acid

2) กระตุ้น LDL-cholesterol receptor และ 3) กระตุ้น estrogen receptor (Merz, et al., 2004, Tangpong, et al. 2009)

ผลการศึกษาระดับเอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลในเลือดของหนูทดลองที่ตัดรังไข่และได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol พบว่า หนูตัดรังไข่ที่ได้รับน้ำมะพร้าวซึ่งมีผลทำให้ระดับเอช ดี แอล-คอเลสเตอรอล มีเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตัดรังไข่ สอดคล้องกับการศึกษาวิจัยผลของ isoflavone ต่อการเปลี่ยนแปลงไขมันในหนูที่ตัดรังไข่ พบว่า หนูที่ได้รับ isoflavone มีแนวโน้มของระดับเอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้นและจะเพิ่มมากยิ่งขึ้นเมื่อหนูออกกำลังกายร่วมด้วย เพราะไฟโตเอสโตรเจนมีผลในการเพิ่มกระบวนการเมแทบอลิซึมของไขมันได้ดีขึ้น (Mei-Lian, et al., 2004) อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้พบว่าหนูกลุ่มผ่าตัดรังไข่ที่ได้รับ O-Estradiol 200 $\mu\text{g/kgBw/day}$ ไม่มีการเพิ่มขึ้นของระดับเอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ตัดรังไข่

กลไกสำคัญที่ทำให้ฮอร์โมนเพศสามารถกระตุ้นการเพิ่มเอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลได้ คือ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในตับ (hepatic lipase activity) ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยน HDL-2 ไปเป็น HDL-3 จึงทำให้มี HDL-2 เพิ่มมากขึ้นในกระแสเลือด และกลไกที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ Estradiol มีบทบาทในการเพิ่มการสร้าง Apolipoprotein A1 ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของ HDL-2 ในพลาสมา ดังนั้นการให้น้ำมะพร้าวอ่อนที่มีปริมาณ Estradiol สูงจึงมีผลต่อการเพิ่มเอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลได้ ในทางตรงกันข้ามหากได้รับโปรเจสเตอโรน จะเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในตับและยังมีผลต่อการยับยั้งการสังเคราะห์ Apolipoprotein A1 จึงทำให้เอช ดี แอล-คอเลสเตอรอลลดลงได้ (Matti, 2004) แต่เนื่องจากปริมาณของโปรเจสเตอโรนในน้ำมะพร้าวอ่อนมีระดับต่ำจึงไม่มีผลต่อเมแทบอลิซึมของไขมันและการยับยั้งการเพิ่มขึ้นของ เอช ดี แอล-คอเลสเตอรอล ในเลือด

ผลการศึกษาระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือดของหนูทดลองในกลุ่มหนูควบคุมปกติ กลุ่มควบคุมผ่าตัดหลอด กลุ่มควบคุมผ่าตัดรังไข่ ในกลุ่มหนูที่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนมีผลช่วยเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือดและในเนื้อเยื่อตับได้อย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเข้มข้นของ Estradiol 100, 200, 400 และ 800 $\mu\text{g/kgBw/day}$ รวมทั้งกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol 200 $\mu\text{g/kgBw/day}$ อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมตัดรังไข่ จากรายงานการศึกษาโดยการให้รับประทานเอสโตรเจน พบว่าหลังจากเอสโตรเจนเข้าสู่ทางเดินอาหารจะถูกดูดซึมผ่านระบบทางเดินอาหารเข้าสู่ระบบไหลเวียนของเลือดสู่ตับ (portal venous system) ก่อนที่จะผ่านเข้าสู่กระแสเลือดทั่วร่างกาย ซึ่งต่างจากเอสโตรเจนที่สร้างจากรังไข่และเนื้อเยื่อไขมันจะเข้าสู่กระแสเลือดโดยตรง และไปสู่อวัยวะเป้าหมายก่อนมาถึงตับ ดังนั้นผลของการรับประทานเอสโตรเจนจึงมีผลต่อดับสูงกว่าอวัยวะอื่นๆ นอกจากนี้ตับยังเป็นเนื้อเยื่อที่สามารถจับเอสโตรเจนจากกระแสเลือดได้มากกว่าเนื้อเยื่ออื่น ๆ (นิมิต เตชะไกรชนะ, 2543) ด้วยเหตุผลดังกล่าวหนูกลุ่มตัดรังไข่และได้รับ O-Estradiol และ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูง จึงตรวจพบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมเพิ่มสูงขึ้นในเนื้อเยื่อตับและในเลือด

ผลการศึกษาแอกติวิตีของเอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์สโมทาส กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส และระดับของสารต้านอนุมูลอิสระกลูตาไทโอน พบว่าการตัดรังไข่ในหนูทดลองมีผลทำให้แอกติวิตีของเอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์สโมทาส กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส และระดับของสารต้านอนุมูลอิสระกลูตาไทโอน ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อให้ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนและ O-Estradiol พบว่าแอกติวิตีของเอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์สโมทาส กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส และระดับของสารต้านอนุมูลอิสระกลูตาไทโอนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมที่ตัดรังไข่แต่ไม่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา ที่พบว่าการลดลงของเอสโตรเจนมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species, ROS) ทำให้มีการลดระดับของไนตริก ออกไซด์ ซึ่งจะมีผลต่อการทำงานของระบบหัวใจและหลอดเลือด เมื่อให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนพบว่ามีผลต่อการแสดงออกของยีน และการเพิ่มแอกติวิตีของเอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์สโมทาส (Strehlow, et al., 2003)

ผลการศึกษาระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) ซึ่งเป็นตัวชี้วัดการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ในเลือดและในเนื้อเยื่อตับ การตัดรังไข่มีผลต่อการลดระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจน เพิ่มอนุมูลอิสระในเลือดและระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในหนูทดลองกลุ่มควบคุม ผ่าตัดรังไข่เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมปกติ กลุ่มควบคุมผ่าตัดหลอด แต่จากการที่หนูกลุ่มผ่าตัดรังไข่ได้รับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีความเข้มข้นของ Estradiol ต่างกัน และกลุ่มที่ได้รับ O-Estradiol มีผลทำให้มีการลดลงของระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเลือดและเนื้อเยื่อตับได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ตัดรังไข่อย่างมีนัยสำคัญ

มาลอนไดอัลดีไฮด์เป็นผลที่เกิดจากกระบวนการลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ที่มีอนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับไขมันโดยเฉพาะบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ดังนั้นการวัดระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์จึงเป็นการบ่งชี้การทำลายไขมันที่เกิดจากอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น จากรายงานการศึกษาการให้สารต้านอนุมูลอิสระจาก สตรอเบอรี่ (strawberry) ต่อระดับ แอล ดี แอล-คอเลสเตอรอล และ มาลอนไดอัลดีไฮด์ในเลือด พบว่า สารต้านอนุมูลอิสระจากสตรอเบอรี่สามารถลดระดับแอล ดี แอล-คอเลสเตอรอล และ มาลอนไดอัลดีไฮด์ในเลือดได้ (Arpita, et al., 2009) และผลการศึกษาครั้งนี้ น้ำมะพร้าวอ่อนมีผลทำให้มาลอนไดอัลดีไฮด์ในเลือดและในเนื้อเยื่อตับลดลงได้ อาจเนื่องจากน้ำมะพร้าวอ่อนมีระดับ Estradiol และมีคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง รวมทั้งการที่น้ำมะพร้าวอ่อนมีผลต่อระดับของไขมันในเลือดและในเนื้อเยื่อตับที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ จึงทำให้มีการลดลงของอนุมูลอิสระและระดับของลิปิดเปอร์ออกไซด์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมที่มีระดับเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในเลือดและในเนื้อเยื่อตับของหนูที่ตัดรังไข่ที่ได้รับ Estradiol จากน้ำมะพร้าวอ่อน การเพิ่มขึ้นของสารต้านอนุมูลอิสระมีผลในการป้องกันการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน เช่นเดียวกับผลการศึกษา การให้เอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนในหนูที่ตัดรังไข่ทำให้ลิปิดเปอร์ออกซิเดชันลดลงต่ำกว่าหนูที่ตัดรังไข่ที่ไม่ได้รับเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนอย่างมีนัยสำคัญ (Esma, et al. 2007) แสดงให้เห็นว่า เอสโตรเจนและ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนมีผลในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน ในเลือดและในเซลล์เนื้อเยื่อตับได้

สรุปผลการศึกษาวิจัย

1. Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนและ O-Estradiol ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว และการเพิ่มน้ำหนักมดลูกของหนูที่ตัดรังไข่

2. Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนที่ระดับความเข้มข้น 100, 200, 400 และ 800 pg/kg Bw/day มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูทดลองที่ตัดรังไข่ เช่นเดียวกับผลของ O-Estradiol ($p < 0.05$)

3. การตัดรังไข่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับไขมันในเลือดและเนื้อเยื่อตับ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมที่ไม่ตัดรังไข่ และกลุ่มหนูควบคุมที่ผ่าตัดหูดอก การได้รับ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนที่ระดับความเข้มข้น 100, 200, 400 และ 800 pg/kg Bw/day มีผลต่อการลดระดับไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอล และแอล ดี แอล-คอเลสเตอรอล และเพิ่มระดับเอช ดี แอล-คอเลสเตอรอล ในเลือดและเนื้อเยื่อตับในหนูทดลองที่ตัดรังไข่ เช่นเดียวกับผลของ O-Estradiol อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

4. การตัดรังไข่มีผลต่อการลดลงของระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือดและเนื้อเยื่อตับ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมที่ไม่ตัดรังไข่ และกลุ่มหนูควบคุมที่ผ่าตัดหูดอก การให้ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนที่ระดับความเข้มข้น 100, 200, 400 และ 800 pg/kgBw/day มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือดและเนื้อเยื่อตับเช่นเดียวกับผลของ O-Estradiol อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

5. การตัดรังไข่มีผลต่อการลดลงของแอกติวิตีของเอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมูเทส กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส ระดับกลูตาไทโอน ในเลือดและเนื้อเยื่อตับอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมที่ไม่ตัดรังไข่ และกลุ่มหนูควบคุมที่ผ่าตัดหูดอก การให้ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนที่ระดับความเข้มข้น 100, 200, 400 และ 800 pg/kgBw/day มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของแอกติวิตีของเอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมูเทส กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส ระดับกลูตาไทโอน ในเลือดและเนื้อเยื่อตับอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับผลของ O-Estradiol อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

6. การตัดรังไข่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxide) ทำให้ระดับของมาลอนไดอัลดีไฮด์ในเลือดและเนื้อเยื่อตับอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูควบคุมที่ไม่ตัดรังไข่ และกลุ่มหนูควบคุมที่ผ่าตัดหูดอก การ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนที่ระดับความเข้มข้น 100, 200, 400 และ 800 pg/kgBw/day มีผลลดระดับของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ในเลือดและเนื้อเยื่อตับในหนูทดลองที่ตัดรังไข่ เช่นเดียวกับผลของ O-Estradiol อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

สรุปจากการศึกษาพบว่า Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนมีผลในการลดภาวะเครียดออกซิเดชัน และไขมันในเลือดในหนูที่ตัดรังไข่ และผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อเป็นแนวทางเพื่อการศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของ Estradiol ในน้ำมะพร้าวอ่อนในการใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนเพื่อลดความเสี่ยงที่เกิดจากการใช้เอสโตรเจนสังเคราะห์ในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน

เอกสารอ้างอิง

นิมิต เตชะไกรชนะ. สอริโมนทดแทนในวัยหมดระดู. กรุงเทพมหานคร : บียอนด์ เอ็นเทอร์ไพรซ์ จำกัด; 2543.

สำนักงานพัฒนาระบบข้อมูลข่าวสารสุขภาพ. การสำรวจสภาวะอ้วนลงพุงในประชาชนของกรมอนามัย ปี 2550. กรุงเทพมหานคร. 2550.

Aekplakorn W, Kosulwat V, Suriyawongpaisal P. Obesity indices and cardiovascular risk factors in Thai adults. *Int J Obes (Lond)*. 2006; 30(12):1782-90.

American Heart Association. 2000 heart and stroke facts: statistical update. Dallas: American Heart Association; 1999.

Arpita B, Marci W, Kavitha P, Brandi S, Nancy MB, Timothy JL. Freeze-dried strawberry powder improves lipid profile and lipid peroxidation in women with metabolic syndrome: baseline and post intervention effects. *Nutrition Journal* 2009; 8 : 1-7.

Attipoe S, Park JY, Fenty N, Phares D, Brown M. Oxidative stress levels are reduced in postmenopausal women with exercise training regardless of hormone replacement therapy status. *Women Aging*. 2008;20(1-2):31-45.

Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and red cell glutathione peroxidase. *Blood*. 1977;49(3):467-9

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976;72: 248-254.

Cai Q, Rahn RO, Zhang R. Dietary flavonoids, quercetin, luteolin and genistein, reduce oxidative DNA damage and lipid peroxidation and quench free radicals. *Cancer Lett* 1997, 28;119(1): 99-107.

Chinta SJ, Andersen JK. Redox imbalance in Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta*.2008; 1780(11):1362-7.

Cuzick J. Hormone replacement therapy and the risk of breast cancer. *Eur J Cancer*. 2008; 44(16):2344-9.

De Sá Roriz-Filho J, De-Sá-Roriz TM, Rosset I, Camozzato AL, Santos AC, Chaves ML, Moriguti JC, Roriz-Cruz M. Pre-diabetes, brain aging, and cognition. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 16.

Dong YL, Zuo PP, Li Q, Liu FH, Dai SL, Ge QS. Protective effects of Phytoestrogen alpha-zearalanol on beta amyloid 25-35 induced oxidative damage in cultured rat hippocampal neurons. *Endocr* 2007; 32 : 206-211.

Esma O, Ali MT, Abdulkarim KB, Rasim M. Lipid peroxidation in liver tissue of ovariectomized and pinealectomized rats: effect of estradiol and progesterone supplementation. *Cell Biochem Funct* 2007; 25 : 401-405.

Ferin M, Jewelewicz R, Warren M. The menstrual cycle: Physiology, reproductive disorders, and infertility. New York: Oxford University Press; 1993:1-87.

Friedewald WT, Levy RL, Frederickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18:499-502.

Hiki M, Shimada K, Ohmura H, Kiyonagi T, Kume A, Sumiyoshi K, Fukao K, Inoue N, Mokuno H, Miyazaki T, Daida H. Serum levels of remnant lipoprotein cholesterol and oxidized low-density lipoprotein in patients with coronary artery disease. *J Cardiol*. 2009;53(1):108-16.

Jian W, Xinxiang W, Hiroshige CH, Mitsuru H, Teruyo N, Osamu E, *et al*. Combined Intervention of Soy Isoflavone and Moderate Exercise Prevents Body Fat Elevation and Bone Loss in Ovariectomized Mice. *Metabolism* 2004; 53 : 942-948.

Johnson SR. Menopause and hormone replacement therapy. *Med Clin North Am* 1998;82:297-320.

Julian M, Anita D, Barbara AG. Fat Distribution and Insulin Sensitivity in Postmenopausal Women: Influence of Hormone Replacement. *Obesity research* 2002; 10 : 424-431.

Kaldas R, Hughes Jnr CL. Reproductive, general metabolic effects of phytoestrogens in mammals. *Reprod Toxicol* 1989; 3:81-89.

Kimura K, Money SR, Jaffe BM (1987) The effects of size and site of origin of intestinal grafts on small-bowel transplantation in the rat. *Surgery* 101:618-622.

Kuhnle GG, Dell'Aquila C, Aspinall SM, Runswick SA, Mulligan AA, Bingham SA. Phytoestrogen content of foods of animal origin: dairy products, eggs, meat, fish, and seafood. *J Agric Food Chem* 2008, 12; 56(21):10099-104.

Laakso M, Ronnema T, Lehto S. Does NIDDM increase the risk for coronary heart disease similarly in both low- and high-risk populations? *Diabetologia* 1995;38:487-93.

Li Y, Ambrosone CB, McCullough MJ, Ahn J, Stevens VL, Thun MJ, Hong CC. Oxidative Stress Related Genotypes, Fruit and Vegetable Consumption, and Breast Cancer Risk. *Carcinogenesis*. 2009 Mar 2. [Article in Press.].

Limer JL, Speirs V. Phyto-oestrogens and breast cancer chemoprevention. *Breast Cancer Res*. 2004;6(3):119-27.

Linskens HF, Jackson JF. Modern methods of plant analysis, Immunology in plant sciences, vol 2, Springer, Berlin Heidelberg, New York, 1986. p1

Liu J, He C, Zhou K, Wang J, Kang JX. Coptis extracts enhance the anticancer effect of estrogen receptor antagonists on human breast cancer cells. *BBRC* 2009; 378 : 174 – 178

Magnusson C, Baron JA, Correia N, Bergström R, Adami HO, Persson I. Breast-cancer risk following long-term oestrogen- and oestrogen-progestin-replacement therapy. *Int J Cancer*. 1999;81(3):339-44.

Manly JJ, Merchant CA, Jacobs DM, et al. Endogenous estrogen levels and Alzheimer's disease among postmenopausal women. *Neurology* 2000;54:833-7.

Marlatt MW, Lucassen PJ, Perry G, Smith MA, Zhu X. Alzheimer's disease: cerebrovascular dysfunction, oxidative stress, and advanced clinical therapies. *J Alzheimers Dis*. 2008; 15(2):199-210.

Mei-Lian L, Xia X, Wei-Qing R, Yuan-Jian L, Hui-Ping S. Influence of Ovariectomized mice and 17 Beta-estradiol treatment on Insulin Sensitivity, Lipidmetabolism and Post-Ischemic Cardiac Function. *Cardiology* 2004; 97 : 485–493.

Merz C, Delia J., Glenn DB, Carl JP, Steven ER, Maura Paul-Labrador, *et al*. Phytoestrogens and Lipoproteins in Women. *Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006; 91 : 2209–2213

Messina MJ, Persky V, Setchell KD, Barnes S. Soy intake and cancer risk: a review of the in vitro and in vivo data. *Nutr Cancer*. 1994;21(2):113-31.

Minelli A, Bellezza I, Conte C, Culig Z. Oxidative stress-related aging: A role for prostate cancer? *Biochim Biophys Acta*. 2008, 11.

Mu H, Bai YH, Wang ST, Zhu ZM, Zhang YW. Research on antioxidant effects and estrogenic effect of formononectin from trifolium pretense (red clover). *Phytomedicine*. Inpress 2008.

Persson I. Cancer risk in women receiving estrogen-progestin replacement therapy. *Maturitas*. 1996;23:S37-45.

Pritchard KI. Hormone replacement in women with a history of breast cancer. *Oncologist*. 2001;6(4):353-62.

Radenahmad N, Vongvatcharanon U, Withyachumnarnkul B, Connor J.R. Serum levels of 17- estradiol in ovariectomized rats fed young-coconut-juice and its effect on wound healing. *Songklanakarin J Sci Technol* 2006; 28: 897-910.

Roberts CK, Sindhu KK. Oxidative Stress and Metabolic Syndrome. *Life Sci.* 2009 *Life Sci.* 2009 Mar 9. [Article in Press.]

Rogerio AL. Treatment of the postmenopausal women. 3rd ed. California : Academic Press; 2007.

Shapiro S. Oral contraceptives, hormone therapy and cardiovascular risk. *Climacteric* 2008 11(5): 355-63.

Simpkins JW, Green PS, Gridley KE, Singh M, de Fiebre NC, Rajakumar G. Role of estrogen replacement therapy in memory enhancement and the prevention of neuronal loss associated with Alzheimer's Disease. *Am J Med* 1997;103(supplement 3A):19S-25S.

Siyan Zhan and Suzanne CH. Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipid profile 2005; 81: 397-408.

Sophie D, Jean-François M, Lynne MA, Alice HL, Benoît L. Soy Protein Favorably Affects LDL Size Independently of Isoflavones in Hypercholesterolemic Men and Women. *Nutr* 2004; 134 : 574-579.

Sourander L, Rajala T, Raiha I, Mäkinen J, Erkkola R, Helenius H. Cardiovascular and cancer morbidity and mortality and sudden cardiac death in postmenopausal women on oestrogen replacement therapy (ERT). *Lancet* 1998;352:1965-9.

Stovall DW, Pinkerton JV. Estrogen agonists/antagonists in combination with estrogen for prevention and treatment of menopause-associated signs and symptoms. *Womens Health (Lond Engl)*. 2008; 4(3): 257-68.

Strehlow K, Rotter S, Wassmann S, Adam O, Grohé C, Laufs K, Böhm M, Nickenig G. Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen. *Circ Res* 2003;93(2):170-177.

Strehlow K, Rotter S, Wassmann S, Adam O, Grohé C, Laufs K, Böhm M, Nickenig G. Modulation of Antioxidant Enzyme Expression and Function by Estrogen. *Circ Res.* 2003; 25: 1-10.

Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem.* 1988;34(3):497-500.

Tangpong J, Nasrisuk T, Suangyaya W, Jantamattukan W. Phytoestrogen in young coconut juice reduced hyperlipidemia and lipid peroxidation in overweight rats. The second Natural products for health and beauty (NATPRO), 17-19 Dec. 2009; OR 20.

Wangen KE, Duncan AM, Xu X, Kurzer MS. Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2001;73(2):225-31.

Watanabe E, Watanabe S, Ito S, Hayashi M, Watanabe T, Yuasa Y, Nakazawa H. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the fungicide imazalil in citrus fruits. *J Agric Food Chem* 2000;48:5124-5130

Yutaka M. Dietary diacylglycerol reduces postprandial hyperlipidemia and ameliorates glucose intolerance in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *National Hospital Organization* September 2005; 21: 933-939.

Zawia NH, Lahiri DK, Cardozo-Pelaez F. Epigenetics, oxidative stress, and Alzheimer disease. 2009 Feb 23 [Article in Press.]

Zhao G, Dai Y, Wang Y. Effects of coconut juice on the formation of hyperlipidemia and atherosclerosis. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 1995;29(4):216-8.

ภาคผนวก

นิพนธ์ต้นฉบับ

**Alleviation of a menopausal oxidative stress in ovariectomized mice;
Insight into the mechanism of estrogenic like hormone of
young *Cocos nucifera* (Arecaceae) juice.**

**Jitbanjong Tangpong^{1*}, Nantawan Uthaipan¹, Chonthicha Wong-Oan¹, Anongrat
Thaonliamnak¹**

¹School of Allied Health Sciences and Public Health, Walailak University, Nakhon-Si-
Thammarat, 80160, Thailand.

Corresponding author: *Jitbanjong Tangpong, School of Allied Health Sciences and
Public Health, Walailak University, Nakhon-Si-Thammarat, 80160,
Thailand. Tel.: +66 085 9100334; Fax: +66 075672106.
E-mail address: rjitbanj@wu.ac.th

Abstract

Postmenopausal women experience a markedly increase risk of lipid disorders such as obesity, diabetes mellitus, cardiovascular disease and oxidative stress cause by decreasing of estrogen hormone. Hormone replacement therapy can lower that risk but can also increase the risk of cancer, including breast cancer and uterus cancer. Phytoestrogen from plants might be a safer alternative sauce of hormone replacement therapy and young coconut juice (YCJ) contain phytoestrogen and other sex hormone. The purpose of this study is to investigate the effects of phytoestrogen in YCJ on oxidative stress in ovariectomized mice, which is the model of postmenopausal condition. Mice were divided into 8 groups, 6 mice per group. Group 1 was normal control, group 2 was sham operate control and group 3 was ovariectomized control fed with water. Group 4, 5, 6 and 7 were ovariectomized mice fed with YCJ at the concentration of phytoestrogen 100, 200, 400 and 800 $\mu\text{g/KgBw/day}$, respectively. Group 8 was ovariectomized mice fed with synthetic estrogen at dose of 200 $\mu\text{g/KgBw/day}$, once a day for 6 weeks. Blood samples and livers were collected and analyzed. Results showed that YCJ treated groups showed no effect on body and uterus weight. Treatment with YCJ significantly decreased blood glucose, triglyceride, cholesterol, LDL-cholesterol, lipid peroxide and superoxide dismutase activity, and increased blood HDL-cholesterol and total antioxidant capacity compared with ovariectomized mice control group ($p < 0.05$). This study indicates the effects of estrogen-like hormone and antioxidant properties of phytoestrogen in YCJ which improved lipid metabolism and reduced oxidative stress in ovariectomized mice.

Keywords: young coconut juice (YCJ), phytoestrogen, lipid, lipid peroxide, oxidative stress, ovariectomized mice

1. Introduction

Increasing risk of lipid disorders such as obesity, diabetes mellitus, cardiovascular disease and oxidative stress caused by decreasing of estrogen hormone were observed in postmenopausal women. Since the introduction of hormone replacement therapy (HRT) into gynecological medicine, estrogen or a combination of estrogen with progesterone has been found to be a beneficial treatment for menopausal syndrome (Johnson, 1998; Hong, et al., 1992; Mendelsohn and Karas, 1992). However, in 2002, the Women's Health Initiative Investigators issued warnings of serious adverse effects with HRT, showing an increased incidence of breast cancer, uterus cancer, as well as coronary heart disease, stroke, and venous thromboembolism (Rossouw et al, 2002, Cuzick, 2008; Magnusson, et al., 1999; Persson, 1996, Pritchard, 2001; Shapiro, et al. 2008). Phytoestrogen from plants might be a safer alternative source of hormone replacement therapy. Consequently, the development of alternative therapies for the prevention and treatment of menopausal syndrome in women has received much attention since the warnings.

Low level of estrogen in menopausal woman show increased reactive oxygen species (ROS) which are implicated in oxidative damage to various cellular macromolecules (Strehlow, et al. 2003). Estrogen deficiency in the menopause is associated with the increase of cardiovascular risk in women (Wenger, et al.1993; Colditz, et al. 1987). Increasing of oxidative stress consequently pathogenesis of atherosclerosis (Darley-Usmar, et al. 1997). Reactive oxygen species (ROS), superoxide, hydrogen peroxide and hydroxyl radicals, and nitric oxide species (NOS), nitric oxide and peroxynitrite, exert direct cellular toxicity, leading to endothelial dysfunction, proliferation, and apoptosis of vascular smooth muscle cells (VSMCs) and putatively to the destabilization of atherosclerotic plaques (Darley-Usmar, et al. 1997, Mates, et al. 1999). Glutathione peroxidase (GPX), catalase, and

superoxide dismutase (SOD) are the antioxidant enzymes within the vessel wall. (Oury, et al. 1996; Muzykantov, et al. 2001; Price, et al. 2000)

Phytoestrogens are naturally occurring compounds that are found in plants and in most foods of plant origin. Phytoestrogens consist mainly of isoflavones, which are found in high concentrations in soy and legumes, and lignans, which are found in a variety of fruits, vegetables, and cereal products. Because phytoestrogens have a chemical structure that is similar to that of 17β -estradiol, they may compete with estrogens for binding to estrogen receptors (ERs) and may act as weak estrogen agonists or antagonists (Blier and Montigny, 2001). Increased soybean intake is often recommended for the prevention of cardiovascular diseases and age-related cognitive decline (Celec, et al., 2007)

Young coconut juice (YJC), *Cocos nucifera* (Arecaceae), contained phytoestrogen and other sex hormone-like substances and was widely used as Thai traditional medicine. It has been reported for the beneficial effects on delaying Alzheimer's disease (AD) (Radenahmad N, 2006). It is widely consumed because of its supposed beneficial health effects in women (Campbell-Falck et al., 2000; Pummer et al., 2001; Anurag and Radenahmad, 2006). Especially in East and Southeast Asian areas, YJC is traditionally used as contraceptive medicine (Brondegaard, 1973; Bourdy and Walter, 1992). Indonesian people also believe that drinking YJC affects fertility (Laszlo and Henshaw, 1954). Chemically, YJC contains estrogenic compounds such as 17β -estradiol, estrone, and estrone- α -D-glucuronide, all of which bind the same binding site and can be detected by enzyme-linked immunoassay (ELISA) or radioimmunoassay. Although it has been considered that YJC presumably serves as a substitute for female gonadal hormones (Punghmatharith 1988; Radenahmad et al., 2006), little experimental evidence concerning any effecting of phytoestrogen of YJC on oxidative stress, lipid metabolism and lipid peroxidation activity in ovariectomized mice, the menopausal like model.

Recently, more phytoestrogen herbal medicine has being used as alternative therapy for the prevention and treatment of menopausal syndrome (Farah Idayu, et al.; 2010; Radenahmad, et al., 2006; Limer and Speirs, 2004). Due to its natural constituent and availability, natural herbs which obtained from natural our cease believed phytoestrogen of YCJ toward effect profiles and provide greater effectiveness as compared to synthetic estrogen available over the market. However, anti-oxidative stress and anti-hyperlidemia in postmenopausal woman mechanism of the phytoestrogen in YCJ studies is not clearly demonstrated. In consideration of previous findings, phytoestrogen of YCJ could be a beneficial option in prevention and treatment for lipid disorders such as obesity, diabetes mellitus, cardiovascular disease and oxidative stress cause by decreasing of estrogen hormone. In the present study, we evaluated the total antioxidant capacity of YCJ, oxidative stress and lipid metabolism in ovariectomized mice, the postmenopausal model. In accordance to the tests, the estrogenic effect of YCJ on plasma and/or liver tissue homogenate glucose, lipid profile, lipid peroxide, antioxidant enzymes, superoxide dismutase and glutathione peroxidase, glutathione level. The effect of YCJ on body weight and uterus were also simultaneously investigated in the present study.

Material and Methods

Animals

Female ICR albino mice were purchased from Thailand animal research center (Bangkok, Thailand) and were adapted to laboratory conditions for at least two weeks before the start of the experiments (six mice per cage). Animals had free access to food and water. The cage floors were covered with wood shavings, and the mice were handled twice per week when the cages were cleaned. The temperature was maintained at $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, and a 12/12-h light/dark cycle was controlled automatically (lights on/off at 07:00/19:00, respectively). Experiments were conducted in accordance with NIH guidelines and Walailak University Animal Ethic Committee Guide for Animal Experimentation.

Surgical procedure

Following the general method outlined by Kimura et al. (1987), the ovaries were resected bilaterally at nine weeks of age. Briefly, each female mouse was anesthetized with sodium pentobarbital (65 mg kgBw, i.p.) before being placed on its ventral surface without restraint. Following an incision, made with a small pair of scissors and forceps, the periovarian fat was grasped, and the ovary was pulled through the opening in the musculature. A ligature was placed around each ovary and Fallopian tube before the ovaries and periovarian fat were resected bilaterally. Sham-operated animals underwent the same procedure, but without resecting the ovaries.

Young coconut juice (YCJ) preparation

The natural YCJ was extracted from 5-6-month-old fruit (*Cocos nucifera*) by Walailak Medical Laboratory and Research Centre (Nakhon Si Thammarat, Thailand). Young Coconut juice was collected and was concentrated freeze dried using pre-frozen

EYELA-PFR-1000 and Lyophilized using EYELA FDU-2100 (Tokyo, Japan). The concentrated YCJ was used to determine for 17 β -estradiol, progesterone and total antioxidant capacity. The levels of 17 β -estradiol and progesterone in YCJ were 129.03 pg/mL and 0.14 ng/mL, respectively.

Experimental design

The experiments were designed to investigate whether YCJ altered the oxidative stress and lipid metabolism, 48 female mice were divided into 8 groups, 6 mice per group. Group 1 was normal control, group 2 was sham operate control and group 3 was ovariectomized control fed with water. Group 4, 5, 6 and 7 were ovariectomized mice fed with YCJ at the concentration of phytoestrogen 100, 200, 400 and 800 μ g/KgBw/day, respectively. Group 8 was ovariectomized mice fed with synthetic estrogen at dose of 200 μ g/KgBw/day, once a day for 6 weeks. YCJ and estrogen were administered orally in a volume of 0.1 mL per 10 g of body weight. Chronic treatment effects on oxidative stress and lipid and lipid peroxide levels were determined and blood samples and livers were collected and analyzed.

Measurement of uterine weight

After the termination of the treatment, all animals were sacrificed with an overdose of sodium pentobarbital. The uterus of each animal was resected quickly, together with the periovarian fat and integrated blood vessels. Then, the fat and blood vessels were removed, and the uterus was weighed after the entire surface had been blotted with clean filter papers.

Determination of the total antioxidant capacity in YCJ, plasma and liver tissue

The antioxidant capacity was based on percentage inhibition of free radicals generated from the reaction between 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid

(ABTS) and potassium persulfate (Re et al. 1999). ABTS radical cation ($\text{ABTS}^{\bullet 1}$) was produced and kept in the dark at room temperature for 16 h before use. $\text{ABTS}^{\bullet 1}$ solution was diluted with PBS, pH 7.4, to an absorbance of 0.70 (± 0.02) at 734 nm. Solutions of TL phenolic extract and samples of plasma and liver tissue homogenate were diluted prior to the test for inhibition of ABTS radical formation. The percentage inhibition was estimated from a standard curve, constructed known concentrations of standard anti-oxidant Trolox®. The total antioxidant capacity was expressed as Trolox equivalents antioxidant capacity (TEAC, $\mu\text{mole Trolox equivalents/mL}$ or g tissue protein).

Determination of anti-oxidant enzymes in plasma and liver tissue

The level of the anti-oxidant enzymes glutathione peroxidase (GSH-Px) in samples of plasma and liver tissue homogenates was based on a well-established method of Paglia and Valentine (1967) and it was determined according to manufacturer's instructions (Randox laboratories, Antrim, United Kingdom). Briefly, GSH-Px enzyme catalyzes the oxidation of glutathione, which was subsequently reduced by the enzyme glutathione reductase with concomitant oxidation of NADPH to NADP^+ . The decrease in absorbance at 340 nm was indicative of GSH-Px activity. GSH-Px activity was expressed as U/mL in plasma and U/mg brain tissue protein. Subsequently, glutathione in the was converted to S-lactylglutathione with methylglyoxal (0.09 mL, 0.1 M) and glyoxilase I (0.01 mL), after adding 0.2 mL of DTNB (0.04%) in potassium phosphate buffer (2 M pH 7.0), 0.2 mL of phosphate buffer (0.02 M pH 7.0), 1.1 mL of tris buffer (pH 8.0) and 0.3 mL of albumin (1%). The content of glutathione was calculated and expressed as U/mL in blood and U/mg protein in liver tissue). The level of another anti-oxidant enzyme, namely super oxide dismutase (SOD) was determined with the use of Dojindo's highly water-soluble tetrazolium salt to produce water-soluble formazan dye upon reduction with superoxide anion (Sigma-

Aldrich, Buchs, Switzerland). The rate of the reduction with O₂ was linearly related to the xanthine oxidase (XO) activity, and was inhibited by SOD. One unit of SOD activity was defined as the amount of sample needed to obtain 50% inhibition of SOD activity that could be quantified by measuring the decrease in the color development at 440 nm. SOD activity was expressed as U/mL plasma SOD and U/mg brain tissue protein.

Determination of glucose, cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol and HDL-cholesterol.

Plasma fasting cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol and HDL-cholesterol levels, and plasma glucose levels were analyzed after treatment using enzymatic colorimetric method using KONE LAB20 (Tokyo, Japan) [Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, Philadelphia, W.B. Sanders Co.; 1995.]. The cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol and HDL-cholesterol levels, and plasma glucose levels levels were compared with a standard curve and they were expressed as mg/dL of plasma or mg/g protein of liver tissue protein.

Determination of lipid peroxidation in blood and liver tissue

Malondialdehyde (MDA) was used as a measure of lipid peroxidation (Smith, 1985). Briefly, samples of plasma and liver tissue homogenate were incubated with thiobarbituric acid, boiled for 30 minutes, and centrifuged. Lipid peroxide levels in the resultant supernatant were measured with spectrophotometer (Shimadzu, Kyoto, Japan) at 595 nm. The lipid peroxide levels were compared with a standard curve constructed from MDA and they were expressed as $\mu\text{mol/L}$ of plasma or $\mu\text{mol/g}$ of brain tissue protein.

Statistical analysis

Data were expressed as mean $\pm$ SEM for each group with 6 mice per group. Significant differences in measured variables among groups were assessed with the GraphPad Prism4 software (Chicago, IL). One-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare treatment groups, followed with Newman-Keuls, post hoc test for multiple comparisons. Differences in body weight gain among groups of mice were tested with paired t-test. The p values of ≤ 0.05 were considered to identify statistically significant levels.

Results

Effects of young coconut juice on body and uterus weight

Table 1 shows animal body weight no changes of YCJ treatments in mice. There were no differences in initial body weights or final body weights among animals in various groups ($p>0.05$). Treatment with synthetic estrogen did not effect of body weight of mice ($p>0.05$). Ovariectomized mice (OVx) groups show significant reduced uterus weight compared with normal control (NC) and shamed operate (SO) group ($*p<0.05$). There were no effect on YCJ and synthetic estrogen treatment on body and uterus weight among ovariectomized mice in various group ($p>0.05$) as show in Table 2.

Effects of young coconut juice on blood glucose levels in mice

Significant decreased ($*p<0.05$) in plasma glucose-concentrations were observed in ovariectomized mice exposed to YCJ at 200, 400 and 800 pg/kgBw and estrogen 200 $\mu\text{g/kgBw}$ ($*p<0.05$) compared with ovariectomized vehicle-treated mice (Fig. 1).

Effects of young coconut juice on blood and liver cholesterol and triglyceride levels in mice

Plasma and liver cholesterol and triglyceride levels were greater in the group of ovariectomized mice treated with vehicle control. YCJ show significant reduced both cholesterol and triglyceride in blood and liver in the groups of ovariectomized mice treated at

100, 200, 400 and 800 pg/kgBw ($*p<0.05$) as well as show in the group of estrogen treatment (Fig. 2A, 2B, 2C, 2D).

Effects of young coconut juice on blood LDL-cholesterol and HDL-cholesterol levels in mice

Plasma LDL-cholesterol levels were greater in the group of ovariectomized mice treated with vehicle control. YCJ show significant reduced LDL-cholesterol in blood in the groups of ovariectomized mice treated at 100, 200, 400 and 800 pg/kgBw ($*p<0.05$) as well as show in the group of estrogen treatment (Fig. 3A). Plasma HDL-cholesterol levels were lower in the group of ovariectomized mice treated with vehicle control. YCJ show significant increased HDL-cholesterol in blood in the groups of ovariectomized mice treated at 100, 200, 400 and 800 pg/kgBw ($*p<0.05$), but no significantly increased in the group of estrogen treatment (Fig. 3B).

Effects of young coconut juice on blood and liver lipid peroxide, malondialdehyde (MDA), levels in mice

Figure 3C and 3D shows effects of treatments on levels of malondialdehyde (MDA) in samples of plasma and liver tissues. Plasma and liver MDA levels were greater in the group ovariectomized (OVx) vehicle-treated mice than in the normal and sham operated control group ($*p<0.05$). Treatment with YCJ or with estrogen at 100, 200, 400 and 800 pg/kgBw or 200 μ g/kgBw reduced effects of ovariectomized mice, the post menopausal like model on levels of MDA in plasma and liver ($*p<0.05$).

Effects of young coconut juice on blood and liver antioxidant capacity and glutathione levels in mice

Figure 4A and 4B show effects of treatments on levels of anti-oxidant capacity and antioxidant glutathione level in the plasma. Mean levels of total anti-oxidant capacity and in plasma of the ovariectomized control group was significant lower than that of the normal shamed operated control ($*p<0.05$). Treatment with YCJ or estrogen at 100, 200, 400 and 800 $\mu\text{g/kgBw}$ or 200 $\mu\text{g/kgBw}$ cause marked increases in total anti-oxidant capacity in the plasma and liver ($*p<0.05$). Ovariectomized mice show without causing plasma glutathione levels to increase and in the group treatment with YCJ or estrogen show no effect on glutathione levels ($p>0.05$)(Fig. 4C and 4D).

Effects of young coconut juice on blood and liver total antioxidant capacity levels in mice

Mean plasma and liver level of catalytic superoxide dismutase (SOD) activity was greater in the ovariectomized micc group than in the control and shamed operated group ($*p<0.05$). Treatment of YCJ or with estrogen at 100, 200, 400 and 800 $\mu\text{g/kgBw}$ or 200 $\mu\text{g/kgBw}$ cause marked reduced effects of ovariectomized mice on levels of SOD activity in plasma and liver ($*p<0.05$) (Fig. 5A and 5B).

Mean plasma and liver level of glutathione peroxidase (GSH-Px) catalytic activity without causing plasma was greater in the ovariectomized mice group and in the group treatment with YCJ or estrogen show no effect on GSH-Px activity ($p>0.05$) (Fig. 5C and 5D).

Discussion

In the present study, we tested whether young coconut juice (YCJ) as well as estrogen could act as antioxidative and anti-hyperlipidemia by direct impact on antioxidative defense mechanisms in ovariectomized mice, the menopausal like woman. Estrogen deficiency counts as an independent coronary risk factor. Our results of estrogen-deficient animals confirm a potentially important interaction of sex steroids with SOD and GSH-Px activity and lipid metabolism. Lipid peroxide, the lipid peroxidation product, was observed increase in blood and liver tissue of ovariectomized mice with consistency of increased cholesterol, triglyceride and LDL-cholesterol (Fig. 2 and 3). We have also shown that the sign of estrogen deficiency such as SOD and GSH-Px activity can be alleviated by treatment with YCJ at 100, 200, 400 and 800 pg/kgBW or estrogen at 200 µg/kgBw (Fig. 5A, 5B). Estrogen may be enhanced SOD and GSH-Px activity and the glutathione level are altered by estrogen or YCJ (Fig.4 and 5).

Estrogen deficiency in ovariectomized mice, ecSOD and MnSOD expression was decreased and superoxide release was increased has been reported by Strehlow, et al. (2003). Hormone replacement as well as SOD substitution prevented these potentially harmful effects. Most likely, the mechanism(s) underlying protective effects of YCJ involve improvement on total antioxidant capacity, maintenance of antioxidant enzyme activity in the blood and liver with reduction of cell damage because of accelerated lipid peroxidation. (Fig. 3C and 3D). Treatment with YCJ was found to ameliorate oxidative stress and reduce lipid peroxide levels (Fig. 3C and 3D). Moreover, treatment with YCJ or estrogen show no effect on the glucose level, body weight and uterus weight (Fig.1, Table 1 and 2)

Our interpretation is consistent with a previous study findings that ovariectomy led to lipid peroxidation in blood and liver tissues of rats, but, estradiol and progesterone

supplementations to the ovariectomized rats protect against lipid peroxidation to a significant extent (Esma, et al., 2007). Antioxidant properties of YCJ which also showed high levels of total antioxidant capacity, 3492.56 trolox equivalent antioxidant capacity might be of potential uses as a anti-oxidative stress. Figure 4A and 4B, we have shown increase in total anti-oxidant capacity in blood and liver of mice after receiving YCJ at 100, 200, 400 and 800 $\mu\text{g/kgBw}$ or estrogen 200 $\mu\text{g/kgBw}$ for 6 weeks received ($*p<0.05$). We attribute the marked increase in plasma total antioxidant capacity to a range of biologically active metabolites produced by liver metabolism of estrogenic compounds in the YCJ administered. Similarly, phytoestrogen, formononetin from *Trifolium pratense* (red clover), showed antioxidant effects and estrogenic effect in serum, liver, heart and kidney of ovariectomized mice (Mu, et al., 2008).

As with YCJ or estrogen administrative were found to alleviate ovariectomized mice-induced oxidative stress and lipid metabolism in blood circulation and liver. Estradiol contributes to the lipid metabolism to eliminate VLDL-cholesterol synthesized in liver which is further reduced triglyceride in blood circulation. Estrogen also inhibited lipolysis, improved insulin resistant and reduced triglyceride levels (Mei-Lian L, et al., 2004; Wangen, 1995). Phytoestrogen in soy bean has been reported inhibited lipase activity and changed HDL-2 to HDL-3 lead to reduced triglyceride and increase HDL-cholesterol in the blood circulation and liver tissue. (Sophie, et al., 2004, Julian, et al., 2002; Wangen, et al., 1993, Tangpong, et al., 2009).

The present study, we focus on SOD and GSH-Px because the substrates of these enzymes were O_2^- and H_2O_2 which were increased in ovariectomized mice (Rivarov et al., 1981; Rivarov and Bochev, 1982). We hypothesized that a decrease in activity of the enzyme superoxide dismutase and glutathione peroxidase may be the result of ovariectomized-mediated estrogen depletion led to induce oxidative damage to the plasma

membrane of red blood cells and hepatic cells with subsequent increased malondialdehyde. Treatments with synthetic estrogen and YCJ support of our hypothesis, the levels of malondialdehyde, the biomarker of lipid peroxidation, showed a decrease in the plasma and improved the activity of superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzyme.

In conclusion, we have shown that lower level of estrogen can cause oxidative stress and hyperlipidemia. We have also shown that alterations in biochemical markers of oxidative stress in blood and liver of ovariectomized mice are consistent with the hypothesis that cellular and molecular damage mediated by free radicals may constitute pathogenesis of estrogen deficiency. In YCJ and synthetic estrogen experiments, both YCJ and estrogen similarly alleviate symptoms of menopausal model. Taken together, YCJ is high total antioxidant capacity levels which can be tolerated oxidative stress and reduced risk of cardiovascular disease. YCJ may be of use in the treatment of menopausal symptoms.

Acknowledgements

This study was supported by Thailand Research Fund (TRF), RDG5220051, and Walailak University, Thailand.

References

- Anurag P, Rajamohan T. (2003) Plant Food Human Nutrition 58:61.
- Blier P, Montigny C. (1994) Current advances and trends in the treatment of depression. TIPS 15: 220-226.
- Bourdy G, Walter A. (1992) Maternity and medicinal plants in Vanuatu. I. The cycle of reproduction. J Ethnopharmacol 37:179-196.
- Brondegaard VJ. (1973) Contraceptive plant drugs. Planta Med 23:167-172.
- Campbell-Falck D, Thomas T, Falck TM, Tutuo N, Clem K. (2000) The intravenous use of coconut water. Am J Emerg Med 18:108-111
- Celec P, Ostatníková D, Hodosy J, Putz Z, Kúdela M. (2007) Increased one week soybean consumption affects spatial abilities but not sex hormone status in men. Int J Food Sci Nutr. 58(6):424-8.
- Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. (1987) Menopause and the risk of coronary heart disease in women. N Engl J Med. 316:1105–1110.
- Cuzick J. (2008) Hormone replacement therapy and the risk of breast cancer. Eur J Cancer. 44(16):2344-9.
- Darley-Usmar VM, McAndrew J, Patel R, Moellering D, Lincoln TM, Jo H, Cornwell T, Digerness S. (1997) White CR. Nitric oxide, free radicals and cell signalling in cardiovascular disease. Biochem Soc Trans. 25: 925–929.
- Esma O, Ali MT, Abdulkerim KB, Rasim M. (2007) Lipid peroxidation in liver tissue of ovariectomized and pinealectomized rats: effect of estradiol and progesterone supplementation. Cell Biochem Funct. 25 : 401-405.

Hong MK, Romm PA, Reagan K, Green CE, Rackley CE. (1992) Effects of estrogen replacement therapy on serum *lipid values and angiographically defined coronary artery disease in postmenopausal women*. *Am J Cardiol*. 69:176–178.

Johnson SR. (1998) Menopause and hormone replacement therapy. *Med Clin North Am*. 82:297-320.

Julian M, Anita D, Barbara AG. (2002) Fat Distribution and Insulin Sensitivity in Postmenopausal Women: Influence of Hormone Replacement. *Obesity research*. 10 : 424-431.

Magnusson C, Baron JA, Correia N, Bergström R, Adami HO, Persson I. (1999) Breast-cancer risk following long-term oestrogen- and oestrogen-progestin-replacement therapy. *Int J Cancer*. 81(3):339-44.

Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. (1999) Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*. 32:595– 603.

Mei-Lian L, Xia X, Wei-Qing R, Yuan-Jian L, Hui-Ping S. (2004) Influence of Ovariectomized mice and 17 Beta-estradiol treatment on Insulin Sensitivity, Lipid metabolism and Post-Ischemic Cardiac Function. *Cardiology* . 97: 485–493.

Mendelsohn ME, Karas RH. (1999) The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med*. 340:1801–1811.

Mu H, Bai YH, Wang ST, Zhu ZM, Zhang YW. (2008) Research on antioxidant effects and estrogenic effect of formononetin from trifolium pretense (red clover). *Phytomedicine*. Inpress.

Muzykantov VR. (2001) Targeting of superoxide dismutase and catalase to vascular endothelium. *J Control Release*. 71:1–21.

Oury TD, Day BJ, Crapo JD. (1996) Extracellular superoxide dismutase: a regulator of nitric oxide bioavailability. *Lab Invest*. 75:617–636.

Paglia, D.E., Valentine, W.N. (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Lab. Clin. Med.* 70, 158-169.

Persson I. (1996) Cancer risk in women receiving estrogen-progestin replacement therapy. *Maturitas.* 23:S37-45.

Price DT, Vita JA, Keaney JF Jr.(2000) Redox control of vascular nitric oxide bioavailability. *Antioxid Redox Signal.* 2:919 –935.

Pritchard KI. (2001) Hormone replacement in women with a history of breast cancer. *Oncologist.* 6(4):353-62.

Pummer S, Heil P, Maleck W, Petroianu G (2001) Influence of coconut water on hemostasis. *Am J Emerg Med.* 19:287-289.

Punghmatharith B (1988) Sex hormone-like substances in young coconut juice and their effects on uterine growth in rats. *Songklanakarin J Sci Technol.* 10:221-226

Radenahmad N, Vongvatcharanon U, Withyachumnarnkul B, Connor J.R. (2006) Serum levels of 17- estradiol in ovariectomized rats fed young-coconut-juice and its effect on wound healing. *Songklanakarin J Sci Technol.* 28: 897-910.

Re, R., Pellegrini, P., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Evans, K.R., (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. and Med.* 26(9), 1231–1237.

Rivarov, S.R., Benov, L.C., Benchev, I.C. (1981) Lead-hemoglobin interaction as a possible source of reactive oxygen species. A chemiluminescent study, *Biochim. Biophys. Acta.* 664, 453–459.

Rivarov, S.R., Bochev, I.C., 1982. The effect of lead on hemoglobin-catalyzed lipid peroxidation, *Arch. Biochem. Biophys.* 213, 288–292.

Rossouw J.E., Anderson G.L., Prentice R.L., LaCroix A.Z., Kooperberg C., Stefanick M.L., Jackson R.D., Beresford S.A., Howard B.V., Johnson K.C., Kotchen J.M., Ockene J.,

Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators (2002) Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the women's health initiative randomized controlled trial. JAMA. 288, 321-333.

Shapiro S. (2008) Oral contraceptives, hormone therapy and cardiovascular risk. Climacteric. 11(5): 355-63.

Sophie D, Jean-François M, Lynne MA, Alice HL, Benoît L. (2004) Soy Protein Favorably Affects LDL Size Independently of Isoflavones in Hypercholesterolemic Men and Wome. Nutr. 134 : 574-579.

Sourander L, Rajala T, Raiha I, Makinen J, Erkkola R, Helenius H. (1998) Cardiovascular and cancer morbidity and mortality and sudden cardiac death in postmenopausal women on oestrogen replacement therapy (ERT). Lancet. 352:1965-9.

Stovall DW, Pinkerton JV. (2008) Estrogen agonists/antagonists in combination with estrogen for prevention and treatment of menopause-associated signs and symptoms. Womens Health (Lond Engl). 4(3): 257-68.

Strehlow K, Rotter S, Wassmann S, Adam O, Grohé C, Laufs K, Böhm M, Nickenig G. (2003) Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen. Circ Res. 93 (2):170-177.

Tangpong J, Nasrisuk T, Suangyaya W, Jantamattukan W. (2009) Phytoestrogen in young coconut juice reduced hyperlipidemia and lipid peroxidation in overweight rats. The second Natural products for health and beauty (NATPRO), 17-19 Dec., OR20..

Wangen Y. (1995) Effects of coconut juice on the formation of hyperlipidemia and atherosclerosis. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. 29(4):216-8.

Wangen KE, Duncan AM, Xu X, Kurzer MS. (2001) Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. Am J Clin Nutr. 73(2):225-31.

Wenger NK, Speroff L, Packard B. (1993) Cardiovascular health and disease in women. N Engl J Med. 329:247–256.

Figure legends

Figure 1: Effects of young coconut juice and estrogen treatment on glucose levels. The values shown are mean $\pm$ SEM and are the average of three independent. *Indicate statistically significant differences among groups of mice, with 6 mice in each group (* $P < 0.05$).

Figure 2: Effects of young coconut juice and estrogen treatment on cholesterol in blood (2A) and cholesterol in liver tissue (2B). Effects of young coconut juice treatment on triglyceride in blood (2C) and triglyceride in liver tissue (2D). The values shown are mean $\pm$ SEM and are the average of three independent. *Indicate statistically significant differences among groups of mice, with 6 mice in each group (* $P < 0.05$).

Figure 3: Effects of young coconut juice and estrogen treatment on LDL-cholesterol in blood (3A) and HDL-cholesterol in blood (3B). Effects of young coconut juice treatment on malondialdehyde (MDA) in blood (3C) and malondialdehyde (MDA) in liver tissue (3D). The values shown are mean $\pm$ SEM and are the average of three independent. *Indicate statistically significant differences among groups of mice, with 6 mice in each group (* $P < 0.05$).

Figure 4: Effects of young coconut juice and estrogen treatment on total antioxidant capacity (ABTS) in blood (4A) and total antioxidant capacity in liver tissue (4B). Effects of young coconut juice treatment on glutathione levels in blood (4C) and glutathione levels in liver tissue (4D). The values shown are mean $\pm$ SEM and are the average of three independent. *Indicate statistically significant differences among groups of mice, with 6 mice in each group (* $P < 0.05$).

Figure 5: Effects of young coconut juice and estrogen treatment on superoxide dismutase activity in blood (5A) and superoxide dismutase activity in liver tissue (5B). Effects of young coconut juice treatment on glutathione peroxidase activity in blood (5C) and glutathione peroxidase activity in liver tissue (5D). The values shown are mean $\pm$ SEM and are the average of three independent. *Indicate statistically significant differences among groups of mice, with 6 mice in each group (* $P < 0.05$).

Figure 1

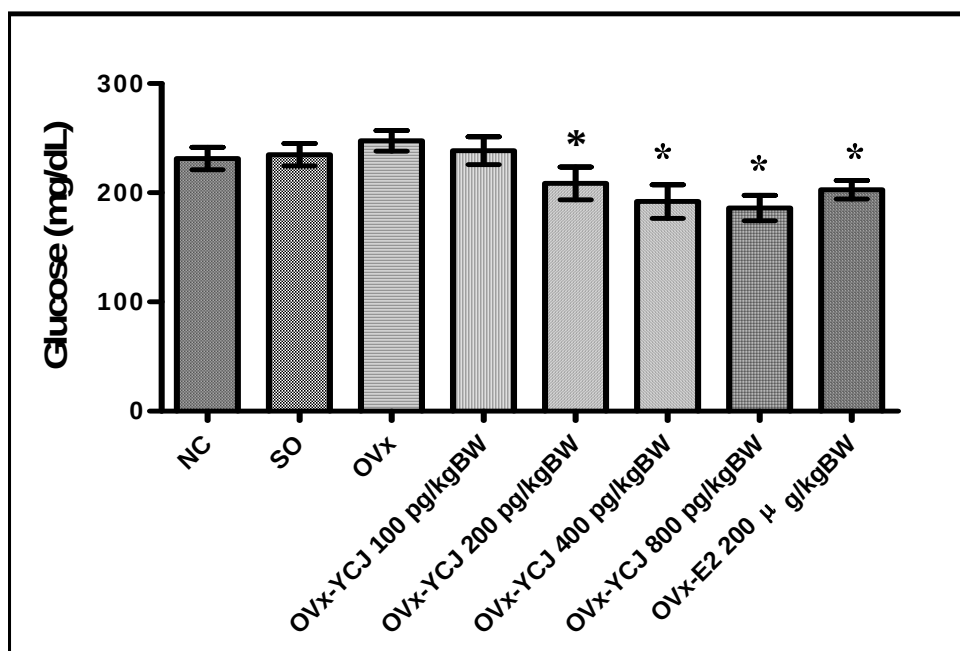
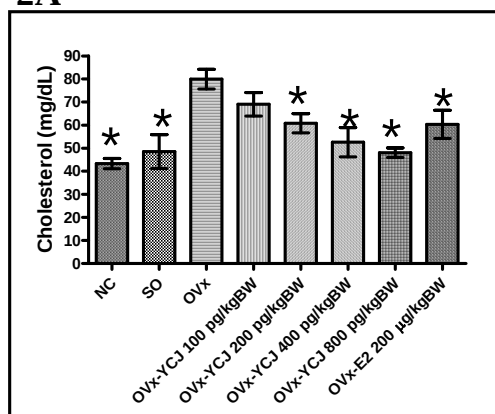
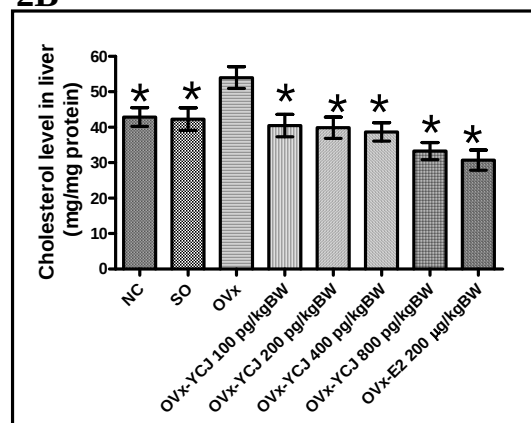


Figure 2:

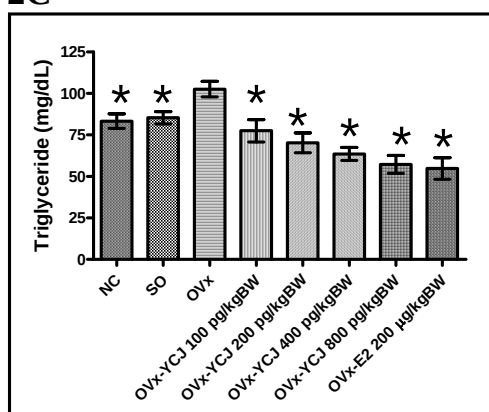
2A



2B



2C



2D

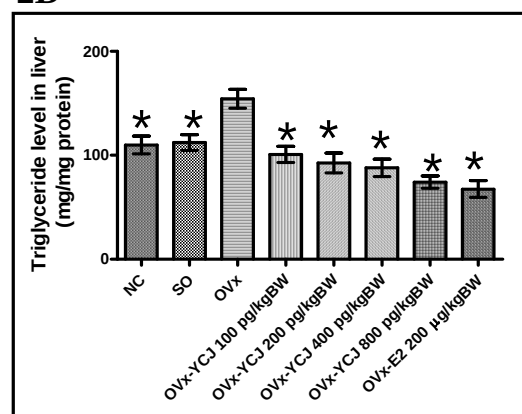
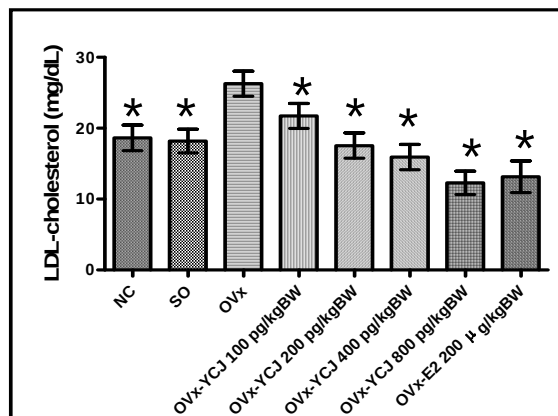
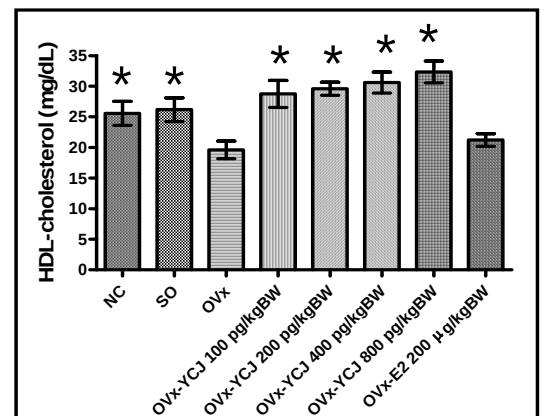


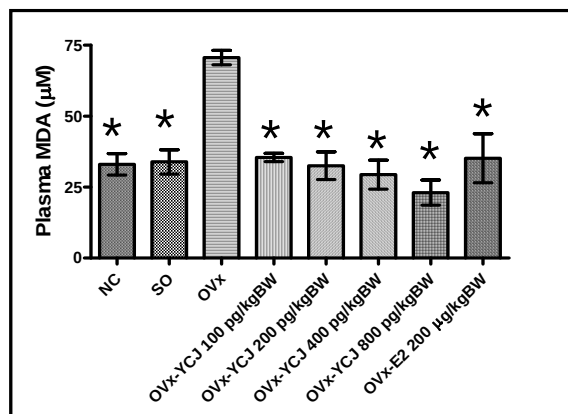
Figure 3:
3A



3B



3C



3D

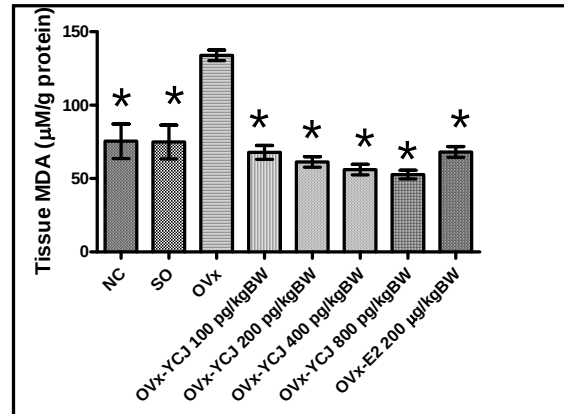
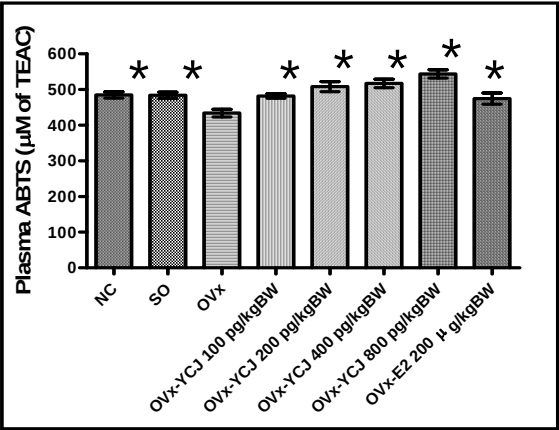
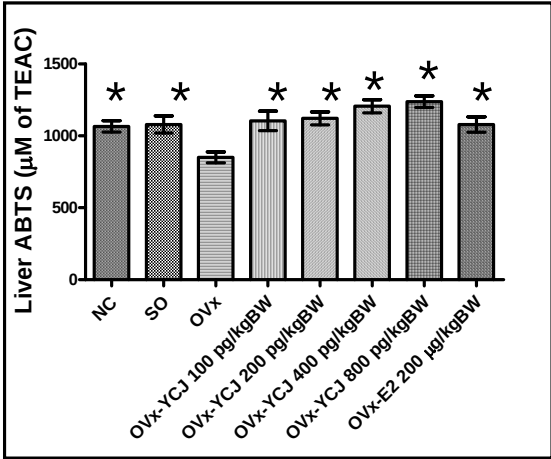


Figure 4:

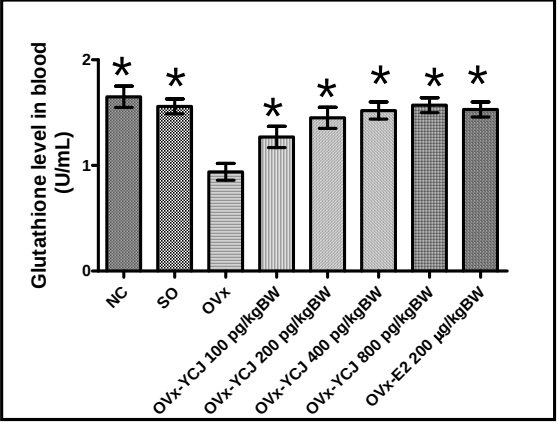
4A



4B



4C



4D

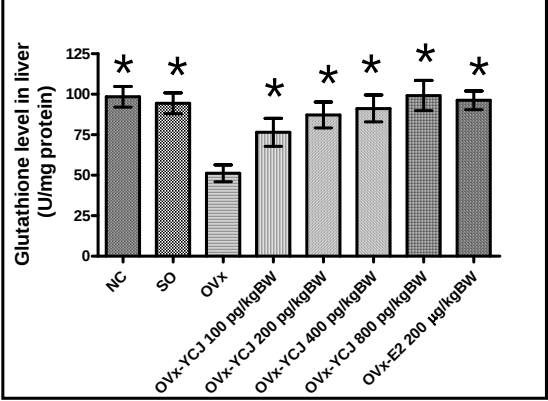


Figure 5:

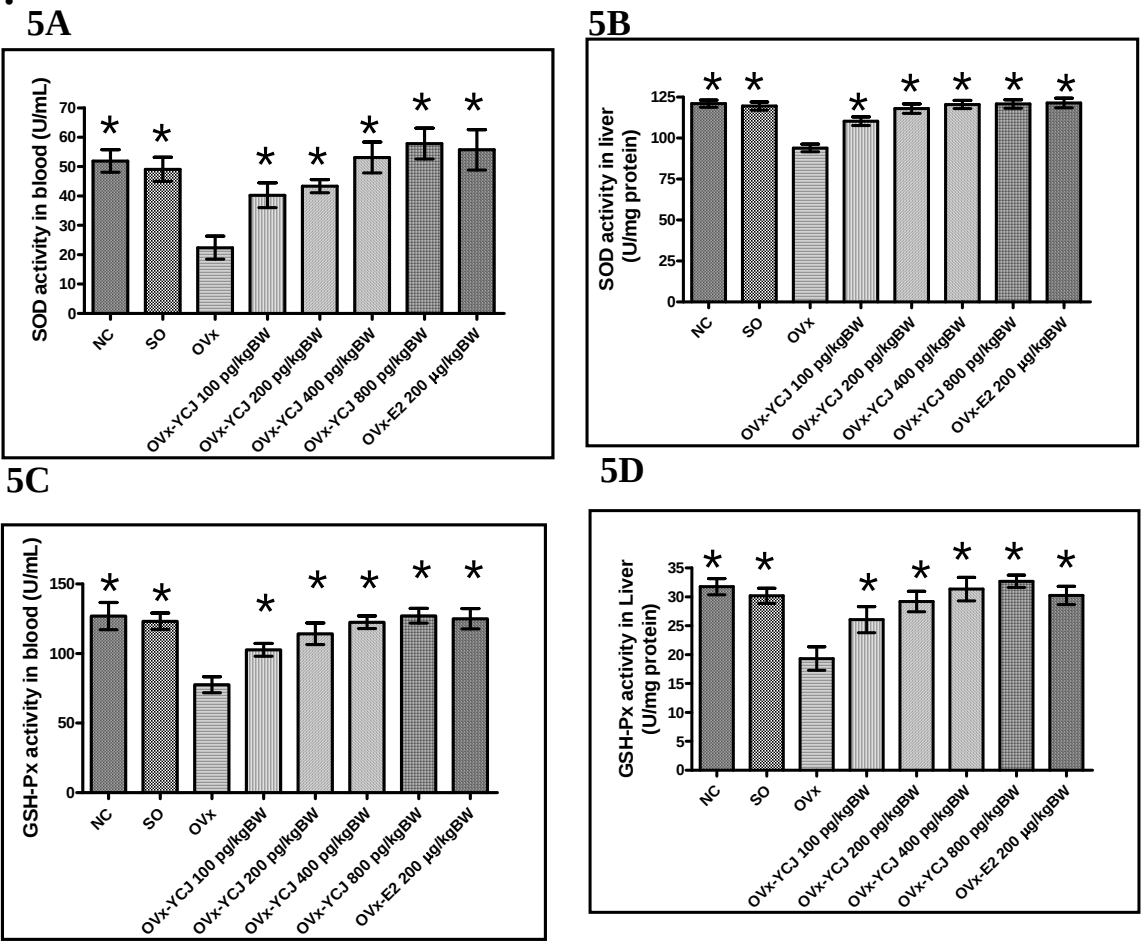


Table 1: Effects of young coconut juice and estrogen on body weight

Group	Initial weight (g)	Final weight (g)
1. NC	35.75 $\pm$ 1.21	36.65 $\pm$ 0.78
2. SO	35.31 $\pm$ 1.43	36.79 $\pm$ 0.85
3. OV _x	34.84 $\pm$ 1.18	38.69 $\pm$ 0.74
4. OV _x -YCJ 100 pg/kgBW	35.11 $\pm$ 0.94	36.81 $\pm$ 1.22
5. OV _x -YCJ 200 pg/kgBW	35.84 $\pm$ 0.79	37.92 $\pm$ 0.59
6. OV _x -YCJ 400 pg/kgBW	35.75 $\pm$ 0.90	37.95 $\pm$ 0.84
7. OV _x -YCJ 800 pg/kgBW	35.52 $\pm$ 0.60	38.18 $\pm$ 0.65
8. OV _x -E2 200 μ g/kgBW	34.87 $\pm$ 0.87	37.38 $\pm$ 1.17

Numbers are the mean $\pm$ SEM values of 6 per each group determinations. Statistical analysis show no significant between group, $p > 0.05$.

Table 2: Effects of young coconut juice and estrogen on uterus weight

	Uterine weight (mg)
1. NC	105.27 $\pm$ 8.21*
2. SO	103.96 $\pm$ 10.43*
3. OVx	34.84 $\pm$ 1.18
4. OVx-YCJ 100 pg/kgBW	32.11 $\pm$ 0.94
5. OVx-YCJ 200 pg/kgBW	31.84 $\pm$ 0.79
6. OVx-YCJ 400 pg/kgBW	31.75 $\pm$ 0.90
7. OVx-YCJ 800 pg/kgBW	31.52 $\pm$ 0.60
8. OVx-E2 200 μ g/kgBW	34.87 $\pm$ 0.87

Numbers are the mean $\pm$ SEM values of 6 per each group determinations. * $P < 0.05$ significant different of OVx groups and NC and SO group.

โปสเตอร์



Anti-oxidant and anti-hyperlipidemia activities of young coconut juice phytoestrogen in ovariectomized mice



Jittanong Tangpong^{1*}, Nantawan Uthaipan¹, Chonthicha Wonguan¹, Anongrat Thangliamnak¹

¹School of Health Sciences and Public Health, Walailak University, Nakhon-Si-Thammarat, 80160, Thailand, *jritbanj@wu.ac.th

Abstract

Postmenopausal women experience a markedly increase risk of lipid disorders such as obesity, diabetes mellitus, cardiovascular disease and oxidative stress cause by decreasing of estrogen hormone. Hormone replacement therapy can lower that risk but can also increase the risk of cancer, including breast cancer and uterus cancer. Phytoestrogen from plants might be a safer alternative source of hormone replacement therapy and young coconut juice contain phytoestrogen and other sex hormone. The purpose of this study is to investigate the effects of phytoestrogen in young coconut juice on oxidative stress in ovariectomized mice, which is the model of postmenopausal condition. Mice were divided into 8 groups, 6 mice per group. Group 1 was normal control, group 2 was sham operate control and group 3 was ovariectomized control fed with water. Group 4, 5, 6 and 7 were ovariectomized mice fed with young coconut juice at the concentration of phytoestrogen 100, 200, 400 and 800 pg/KgBW/day, respectively. Group 8 was ovariectomized mice fed with synthetic estrogen at dose of 200 mg/KgBW/day, once a day for 6 weeks. Blood samples and livers were collected and analyzed. Results showed that young coconut juice treated groups showed no effect on body and uterus weight. Treatment with young coconut juice significantly decreased blood glucose, triglyceride, cholesterol, LDL-cholesterol and lipid peroxide, and increased blood HDL-cholesterol and total antioxidant compared with ovariectomized control group ($p < 0.05$). This study indicates the effects of estrogen-like hormone and antioxidant properties of phytoestrogen in young coconut juice which improved lipid metabolism and reduced oxidative stress in ovariectomized mice.

Keywords: young coconut juice, phytoestrogen, lipid, lipid peroxide, oxidative stress, ovariectomized mice

Menopause

Estrogen ↓

Metabolic syndrome

Oxidative stress

Obesity
Hyperlipidemia
Coronary Heart Disease
Diabetes mellitus

Coronary Heart disease
Neurodegenerative disease

Objective

To study the Anti-oxidant and anti-hyperlipidemia activities of young coconut juice phytoestrogen in ovariectomized mice.



Young coconut Juice

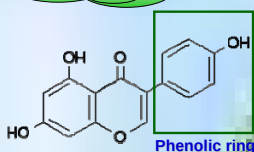
Pre-frozen at - 40 °C for 20-30 min
by EYELA-PFR-1000

Freezed and dried at - 80 °C for 30 min

Lyophilized at -80 °C for 17 hr
by EYELA FDU-2100

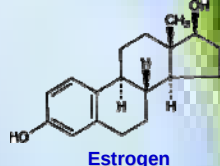


Young coconut juice



Phytoestrogen

Estrogenic effect



No growth of bacterial
contamination, Nutrient agar

Levels of 17β-Estradiols,
Progesterone and Total
antioxidant capacity in
young coconut juice

Estradiols (pg/ml)	129.03
Progesterone (ng/ml)	0.14
Total antioxidant (trolox equivalent antioxidant capacity/mL)	3492.56



Experimental design

- 1 Normal control, Sterile water
 - 2 OvX control, Sterile water
 - 3 SO control, Sterile water
 - 4 OVx + YCJ-Estrogen 100 pg/kgBW
 - 5 OVx + YCJ-Estrogen 200 pg/kgBW
 - 6 OVx + YCJ-Estrogen 400 pg/kgBW
 - 7 OVx + YCJ-Estrogen 800 pg/kgBW
 - 8 OVx + Estradiol 200 µg/kgBW
- Euthanized 6 weeks

Liver tissue
collection

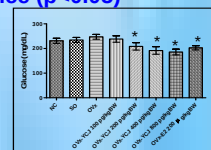
Liver tissue
collection

Results

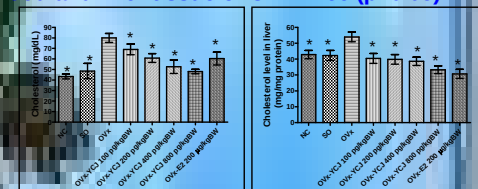
Young coconut juice showed no effect on body weight of OVx mice ($p > 0.05$)

Group	Initial weight (g)	Final weight (g)
1. NC	35.75 ± 1.21	36.65 ± 0.78
2. SO	35.31 ± 1.43	36.79 ± 0.85
3. OVx	34.84 ± 1.18	38.69 ± 0.74
4. OVx-YCJ 100 pg/kgBW	35.11 ± 0.94	36.81 ± 1.22
5. OVx-YCJ 200 pg/kgBW	35.84 ± 0.79	37.92 ± 0.59
6. OVx-YCJ 400 pg/kgBW	35.75 ± 0.90	37.95 ± 0.84
7. OVx-YCJ 800 pg/kgBW	35.52 ± 0.60	38.18 ± 0.65
8. OVx-E2 200 µg/kgBW	34.87 ± 0.87	37.38 ± 1.17

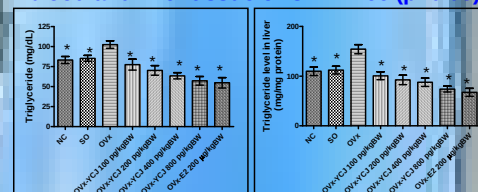
Young coconut juice reduced glucose level in blood of OVx mice ($p < 0.05$)



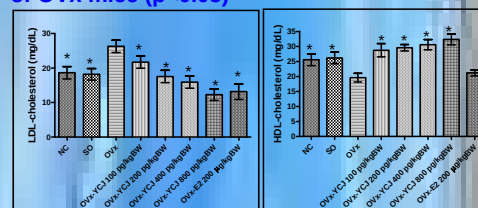
Young coconut juice reduced cholesterol level in blood and liver tissue of OVx mice ($p < 0.05$)



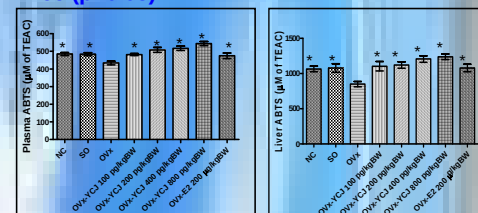
Young coconut juice reduced triglyceride level in blood and liver tissue of OVx mice ($p < 0.05$)



Young coconut juice reduced LDL-cholesterol and increased HDL-cholesterol level in blood of OVx mice ($p < 0.05$)



Young coconut juice increased total antioxidant capacity level in blood and liver tissue of OVx mice ($p < 0.05$)



Inconclusion:

Young coconut juice play a function role like estrogen as anti-hyperlipidemia and anti-oxidant properties.

Acknowledgements

This study was supported by Thailand Research Fund (TRF) and Walailak University, Thailand.

เอกสารแผ่นพับ

การวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาผลของน้ำมะพร้าวอ่อน ซึ่งมีส่วนประกอบของไฟโตเอสโตรเจนและฮอร์โมนเพศอื่นๆ ต่อหนูทดลอง ที่ทำการผ่าตัดเอารังไข่ออกซึ่งเปรียบได้กับสตรีวัยหมดประจำเดือนในการเปลี่ยนแปลงระดับไขมันและภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยทำการศึกษาผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อน ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาลในเลือด ไขมันในเลือด สารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือด และในเนื้อเยื่อตับ ลิพิดเปอร์ออกไซด์ในเลือด และในเนื้อเยื่อตับของกลุ่มหนูทดลองเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่



ที่มา: xn--m3cipilly4ds5rf.blogspot.com

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักหนูทดลอง การเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำตาลในเลือด ระดับไขมันในเลือด การเปลี่ยนแปลงของสารต้านอนุมูลอิสระรวม และการเปลี่ยนแปลงของลิพิดเปอร์ออกไซด์อันเกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูที่ตัดรังไข่ ซึ่งเปรียบได้กับสตรีวัยหมดประจำเดือนที่มีฮอร์โมนเพศลดลงพบว่าไฟโตเอสโตรเจน

ในน้ำมะพร้าวอ่อนไม่มีผลต่อการเพิ่มน้ำหนักในหนูทดลอง แต่มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดระดับไขมันไตรกลีเซอไรด์ เพิ่มระดับเอชดีแอล – คอเลสเตอรอล เพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเนื้อเยื่อตับ และลดระดับลิพิดเปอร์ออกไซด์ในเนื้อเยื่อตับ ได้อย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อน มีฤทธิ์คล้ายกับเอสโตรเจนในการควบคุมเมแทบอลิซึมของไขมัน และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในหนูทดลองที่ตัดรังไข่

ผลการศึกษาค้นคว้านี้ สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางเพื่อการศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไฟโตเอสโตรเจนจากน้ำมะพร้าวอ่อน ใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนเพื่อลดความเสี่ยงที่เกิดจากการใช้เอสโตรเจนสังเคราะห์ในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน



ตั๋มยำเห็ดและมะพร้าวอ่อน

ที่มา: witeetum.com

(การวิจัยในครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ความเห็นในรายงานผลการวิจัยเป็นของผู้วิจัย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วย)



ตั๋มยำกุ้งน้ำมะพร้าวอ่อน

ที่มา : www.zazana.com/food/id3661.aspx

ประโยชน์ของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อสตรีวัยทอง

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรบรรจง ตั้งปอง



ที่มา: www.rakbankerd.com/agriculture

ดื่มน้ำมะพร้าวอ่อนเป็นฮอร์โมน

ทดแทนในสตรีวัยทอง

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรบรรจง ตั้งปอง
สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์
มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช 80160
โทร 075672132 โทรสาร 075672106



ที่มา: pangpimm.igetweb.com

มะพร้าวน้ำหอม จัดอยู่ในวงศ์ Palmae ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Cocos nucifera* Linn. var. *Nucifera* เป็นพืชเศรษฐกิจที่ปลูกกันมากในประเทศไทย ส่วนของจังหวัด ชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช เป็นต้น ซึ่งมะพร้าวที่มีอายุประมาณหนึ่งเดือนจะมีน้ำบรรจุอยู่ในผลประมาณ 90% ซึ่งมีปริมาณของน้ำต่อผลอยู่ในช่วง 400 -465 ซีซี. น้ำมะพร้าวอ่อนมีสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ได้แก่ แคลเซียม โพแทสเซียม

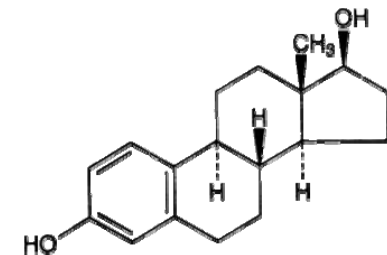
แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง ฟอสฟอรัส วิตามินซี บี 2 บี 5 และบี 6 กรดโฟลิก กรดอะมิโน และฮอร์โมนเอสโตรเจนสูง มีน้ำตาลกลูโคสที่ร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้เป็นพลังงานได้ และเมื่อดื่มน้ำมะพร้าวอ่อนหนึ่งผลจะทำให้ร่างกายได้รับปริมาณของวิตามินบี และวิตามินซีที่พอเพียงกับความ ต้องการของร่างกายต่อวันได้โดยไม่ต้องรับเพิ่มจากแหล่งอื่น

ในน้ำมะพร้าวมีฮอร์โมนคล้ายฮอร์โมนเพศหญิงหรือ เอสโตรเจนสูง การดื่มน้ำมะพร้าวเป็นประจำทุกวันยังสามารถ ช่วยสมานแผล ทำให้แผลหายเร็วขึ้นกว่าปกติ ไม่ทิ้งรอย แผลเป็นอีกด้วย และน้ำมะพร้าวช่วยให้ผิวพรรณสดใส น้ำ มะพร้าวสามารถช่วยเสริมสร้างความสวยใสของผิวพรรณ ทำให้ เปล่งปลั่งและขาวนวลขึ้นจากภายในสู่ภายนอก เพราะใน น้ำมะพร้าวมีเอสโตรเจนอยู่ที่เรียกว่าไฟโตเอสโตรเจน ซึ่งมี ส่วนสำคัญต่อการสร้างคอลลาเจนและอีลาสติน ทำให้ผิว กระชับ ยืดหยุ่น และชะลอการเกิดริ้วรอยก่อนวัยได้ และในน้ำ มะพร้าวยังสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์ได้ดี แถมยังมีฤทธิ์ขับปัสสาวะ ขับของเสียหรือสารพิษออกจาก ร่างกาย จึงช่วยให้ผิวพรรณผ่องใส อีกทั้งความเป็นต่าง ของน้ำมะพร้าวยังช่วยปรับสมดุลของร่างกายในช่วงที่มีความ เป็นกรดสูง ทำให้กลไกการทำงานของระบบภายในเป็นปกติ ส่งผลให้มีสุขภาพดีจากภายในสู่ภายนอก

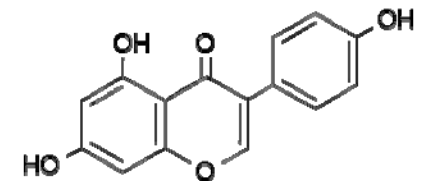
ไฟโตเอสโตรเจนเป็นสารธรรมชาติที่ได้มาจากพืช มี สูตรโครงสร้างบางส่วนคล้ายคลึงกับเอสตราไดออล ซึ่งเป็น ฮอร์โมนที่พบมากในผู้หญิง มีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนอย่างอ่อน โดยอาจนำมาใช้ประโยชน์ในการป้องกันโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับ ภาวะฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่น มะเร็งบางชนิด ความ ผิดปกติเกี่ยวกับการหมดประจำเดือน ระบบหลอดเลือดและ หัวใจ และโรคกระดูก

จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าน้ำมะพร้าวอ่อนมี ผลต่อการเพิ่มระดับ เอช ดี แอล-คอเลสเตอรอล ลดระดับของ คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และ แอล ดี แอล- คอเลสเตอรอล ดังนั้นการดื่มน้ำมะพร้าวน่าจะมีผลในการ ป้องกันภาวะไขมันในเลือดสูง และลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด โรคหัวใจและหลอดเลือดได้

สตรีวัยหมดประจำเดือนมักพบปัญหาสุขภาพที่เกิด จากความผิดปกติของไขมันในร่างกายทำให้เสี่ยงต่อโรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดหัวใจ และเกิดภาวะเครียดออกซิ เดชั่น อันมีสาเหตุมาจากระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ลดลง การ ให้ฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่น 17β -estradiol (E2) ช่วยลดโอกาส เสี่ยงของโรคดังกล่าวได้ แต่ขณะเดียวกันก็เพิ่มความเสี่ยงของ ผลข้างเคียงที่ร้ายแรงต่างๆ ตามมาด้วย เช่น โรคมะเร็งเต้านม และมะเร็งมดลูก ไฟโตเอสโตรเจนจากพืชจึงอาจเป็นฮอร์โมน ทดแทนที่ปลอดภัยกว่าการใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์



Estrogen

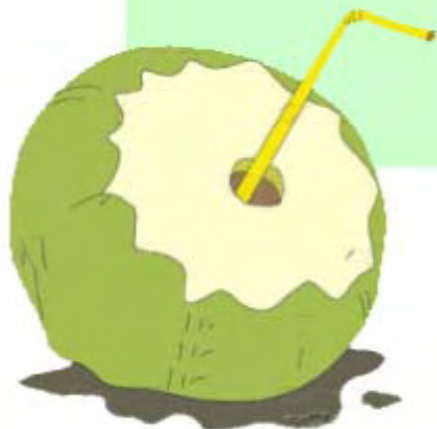


Phytoestrogen

เอกสารประกอบการนำเสนอด้วยวาจา

ผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการต้านสภาวะเครียดออกซิเดชัน และการทำลายเนื้อเยื่อในหนูที่ตัดรังไข่

Effects of Phytoestrogen in Young Coconut Juice on Oxidative Stress and Tissues Damage in Ovariectomized Mice



ผศ.ดร.จิตรบรรจง ตั้งปอง

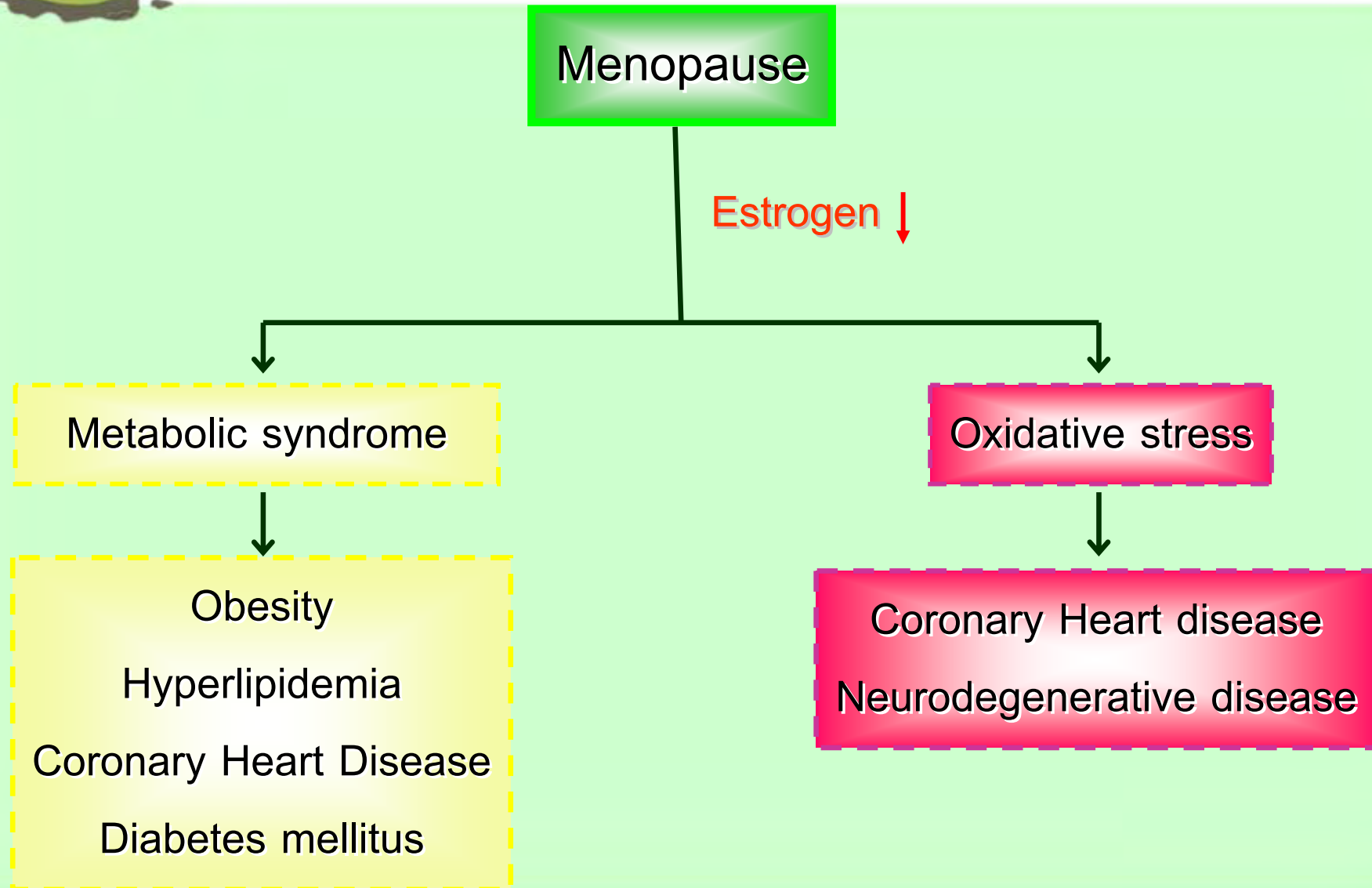


ความสำคัญ และที่มาของปัญหา

ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนมักจะพบปัญหาของการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียดออกซิเดชั่น เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ การเสื่อมของเซลล์ประสาท โรคหลอดเลือดสมอง เป็นต้น ซึ่งมีสาเหตุมาจากการลดลงของฮอร์โมนเอสโตรเจนที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย มีการศึกษาพบว่าไฟโตเอสโตรเจนจากพืชมีฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจนในร่างกาย ซึ่งน้ำมะพร้าวอ่อนเป็นน้ำผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีไฟโตเอสโตรเจนสูง ทางกลุ่มจึงมีความสนใจทำการศึกษาผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อน ต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่นในหนูที่ตัดรังไข่

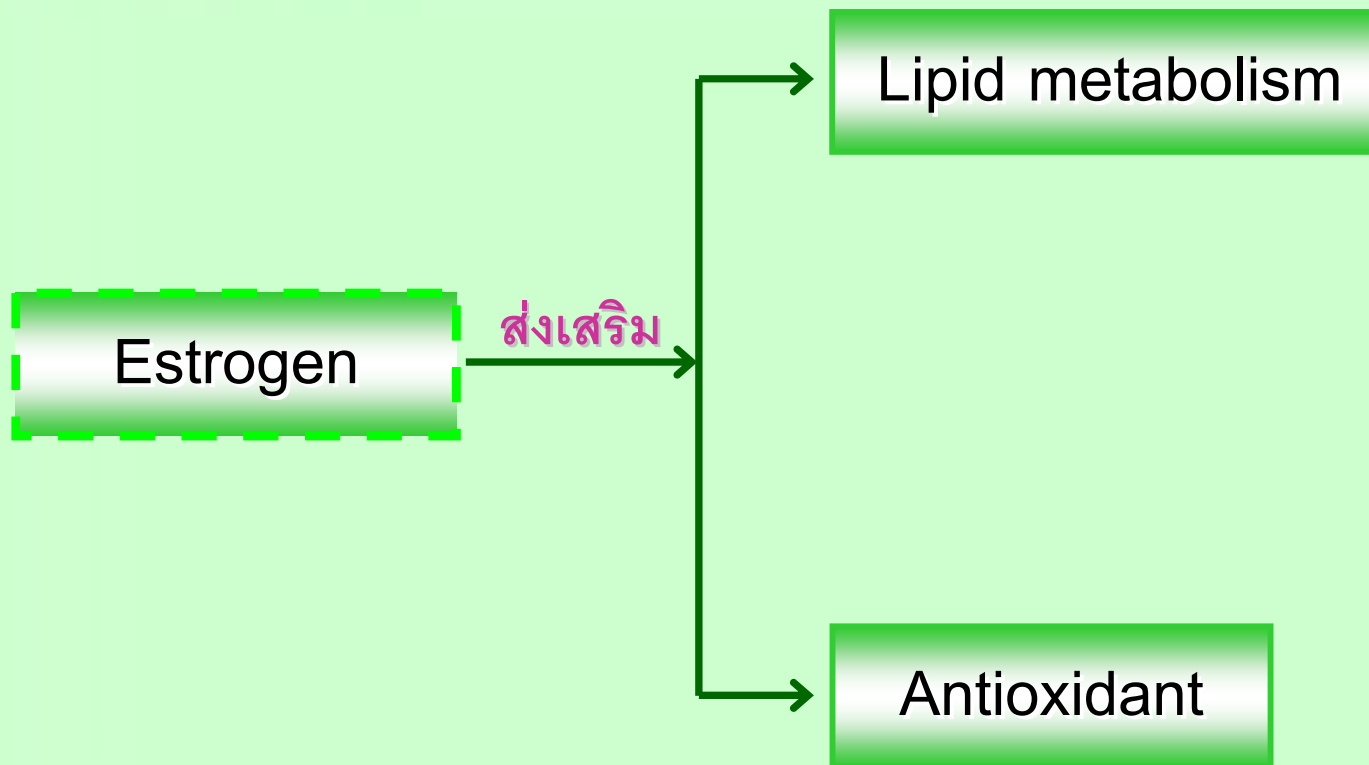


ความสำคัญ และที่มาของปัญหา (ต่อ)





ความสำคัญ และที่มาของปัญหา (ต่อ)

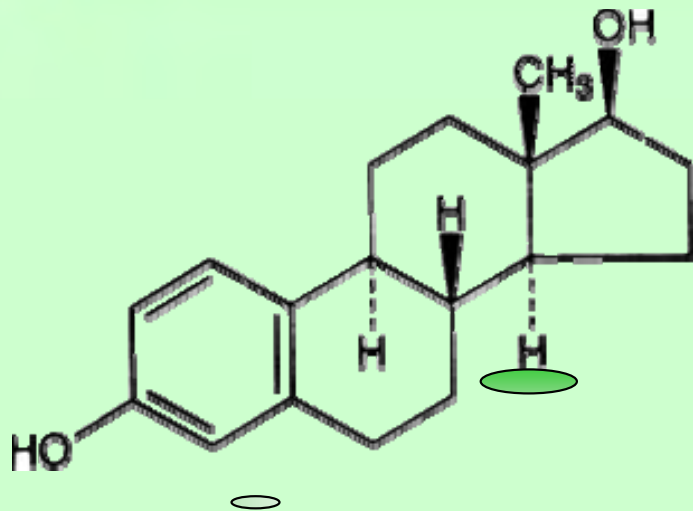




ความสำคัญ และที่มาของปัญหา (ต่อ)

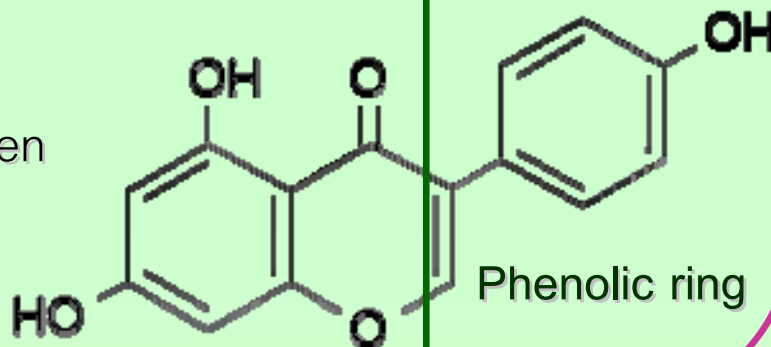
Young coconut juice

Estrogen



มีงานวิจัยที่นำน้ำมะพร้าวอ่อนมาใช้
ลดระดับไขมันในเลือดของหนูทดลอง
ที่มีภาวะน้ำหนักเกิน และชะลอการเกิด
โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease)

Phytoestrogen



มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

Estrogenic effect

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง



❁ Julian M, *et al.*, 2002

Fat Distribution and Insulin Sensitivity in Postmenopausal Women: Influence of Hormone Replacement.

❁ Mei-Lian L, *et al.*, 2003

Influence of Ovariectomized mice and 17 Beta-estradiol treatment on Insulin Sensitivity, Lipid metabolism and Post-Ischemic Cardiac Function.

❁ Matti JT, 1996

Estrogens, progestins and lipid metabolism.

❁ **Oztekin E**, *et al.*, 2007

Lipid peroxidation in liver tissue of ovariectomized and pinealectomized rats: effect of estradiol and progesterone supplementation.

❁ Arpita B, *et al.*, 2009

Freeze-dried strawberry powder improves lipid profile and lipid peroxidation in women with metabolic syndrome: baseline and post intervention effects.

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (ต่อ)



❁ Jian W, *et al.*, 2004

Combined Intervention of Soy Isoflavone and Moderate Exercise Prevents Body Fat Elevation and Bone Loss in Ovariectomized Mice.

❁ Merz C, *et al.*, 2006

Phytoestrogens and Lipoproteins in Women.

❁ ไพบุลย์ นันทนากรณ์, 2549

แบบลกโคฮอสสำหรับการรักษาอาการที่เกี่ยวข้องกับการหมดประจำเดือนในสตรีวัยทอง

❁ Mu H, *et al.*, 2008

Research on antioxidant effects and estrogenic effect of formononectin from trifolium pretense (red clover).

❁ Suvara KW, *et al.*, 2005

Effects of Puerraria Mirifica on Vascular Function of Ovariectomized Rabbits.

❁ Zhao G, *et al.*, 1995

Effects of Coconut Juice on the Formation of Hyperlipidemia and Atherosclerosis. 7

วัตถุประสงค์



- ❁ เพื่อศึกษาผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อน ต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่นและการทำลายเนื้อเยื่อในหนูที่ตัดรังไข่





ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- ❁ ทราบผลของไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อการลดภาวะเครียดออกซิเดชั่นและการทำลายเนื้อเยื่อในหนูที่ตัดรังไข่
- ❁ สามารถนำผลจากการศึกษาไปประยุกต์ใช้กับผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน
- ❁ สามารถนำผลการศึกษาไปใช้กับงานวิจัยในอนาคตได้



รูปแบบการวิจัย



✿ เป็นการวิจัยเชิงทดลองเพื่อศึกษาผลของไฟโตเอสโตรเจน
ในน้ำมะพร้าวอ่อนต่อภาวะเครียดออกซิเดชันและการทำลายเนื้อเยื่อ
ในหนูที่ตัดรังไข่



ขั้นตอนการศึกษา

- ❁ การเตรียมน้ำมะพร้าวอ่อน
- ❁ การเตรียมน้ำสั้วทดลอง
- ❁ การให้สารทดสอบ
- ❁ การเก็บตัวอย่าง
- ❁ การตรวจวิเคราะห์





ขั้นตอนการเตรียมน้ำมะพร้าว

❁ มะพร้าว

ใช้มะพร้าวน้ำหอม อายุ 5-6 เดือน
ลักษณะเนื้อมะพร้าวเป็นวุ้น
จากอำเภอระโนด จังหวัดสงขลา
จำนวน 80 ลูก



❁ น้ำมะพร้าว

รวมน้ำมะพร้าวทั้งหมดด้วยกัน



กรองน้ำมะพร้าวด้วยผ้าขาว



เก็บน้ำมะพร้าวไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



ขั้นตอนการเตรียมน้ำมะพร้าว (ต่อ)



Pre-frozen

ตวงน้ำมะพร้าวใส่ flask

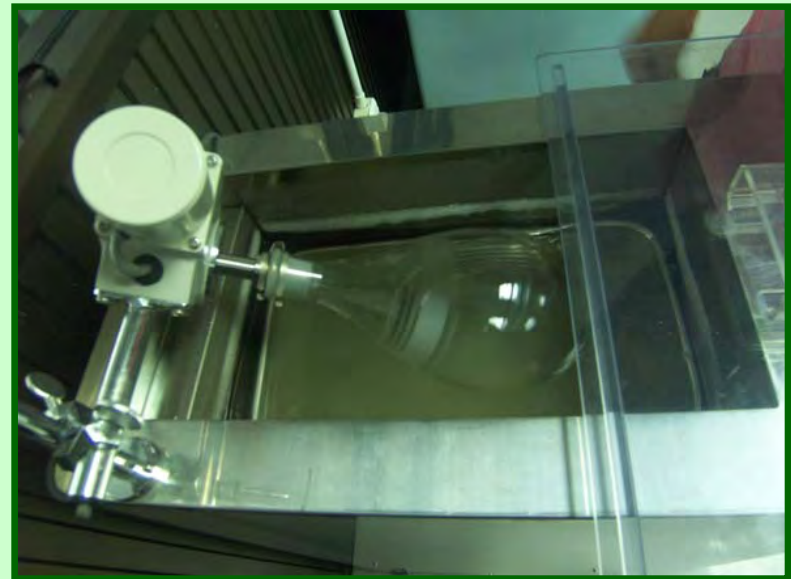
ขนาด 1000 ml ปริมาตร 350 ml



pre-frozen ที่ อุณหภูมิ -40°C

ประมาณ 20-30 นาที

โดยใช้เครื่อง EYELA-PFR-1000



Pre-frozen



ขั้นตอนการเตรียมน้ำมะพร้าว (ต่อ)

❁ Freeze dry

ที่อุณหภูมิ -80°C
อย่างน้อย 30 นาที



Freeze dry



ขั้นตอนการเตรียมน้ำมะพร้าว (ต่อ)



Lyophilized

ทำน้ำมะพร้าวให้เข้มข้นโดยการใช้เครื่อง Lyophilizer ของ EYELA FDU-2100
ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 17 ชั่วโมง



รวมน้ำมะพร้าวเข้มข้นเข้าด้วยกันในภาชนะฝาปิด



เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส



ส่งตรวจระดับ Estradiols และ Progesterone

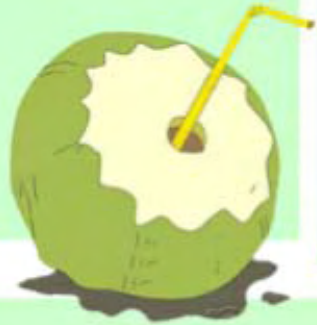




ขั้นตอนการเตรียมน้ำมะพร้าว (ต่อ)

- ❁ ผลการตรวจระดับ Estradiols, Progesterone และสารต้านอนุมูลอิสระรวมในน้ำมะพร้าวอ่อนเข้มข้น

Estradiols (pg/ml)	129.03
Progesterone (ng/ml)	0.14
Total antioxidant (trolox equivalent antioxidant capacity)	3492.56



ขั้นตอนการเตรียมสัตว์ทดลอง

1.เตรียมสถานที่

- ห้องปลอดเชื้อ โดยอบด้วย 40% Formaldehyde
- ควบคุมอุณหภูมิห้องให้อยู่ที่ 24 ± 2 องศาเซลเซียส
- ให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง และมืด 12 ชั่วโมง



ขั้นตอนการเตรียมสัตว์ทดลอง (ต่อ)

2.เตรียมกรงและวัสดุรองพื้น

3.เตรียมอาหารและน้ำ

4.จัดซื้อหนูทดลอง (หนูขาวเล็ก) เพศเมีย อายุ 5 สัปดาห์ จาก
ศูนย์สัตว์ทดลองภาคใต้ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วิทยาเขตหาดใหญ่ จำนวน 50 ตัว



ขั้นตอนการเตรียมสัตว์ทดลอง (ต่อ)

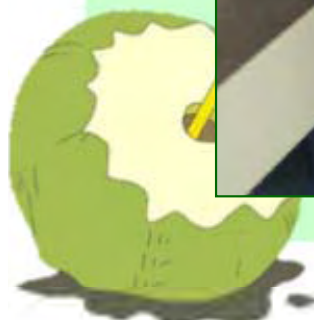
5. แยกหนูออกเป็น 8 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 : กลุ่มควบคุม ให้น้ำสะอาด
- กลุ่มที่ 2 : กลุ่มควบคุมผ่าตัดหลอก ให้น้ำสะอาด
- กลุ่มที่ 3 : กลุ่มควบคุมตัดรังไข่ ให้น้ำสะอาด
- กลุ่มที่ 4 : กลุ่มตัดรังไข่ ให้น้ำมะพร้าวอ่อน 100 pg/kg BW/day
- กลุ่มที่ 5 : กลุ่มตัดรังไข่ ให้น้ำมะพร้าวอ่อน 200 pg/kg BW/day
- กลุ่มที่ 6 : กลุ่มตัดรังไข่ ให้น้ำมะพร้าวอ่อน 400 pg/kg BW/day
- กลุ่มที่ 7 : กลุ่มตัดรังไข่ ให้น้ำมะพร้าวอ่อน 800 pg/kg BW/day
- กลุ่มที่ 8 : กลุ่มตัดรังไข่ ให้เอสโตรเจนสังเคราะห์ 200 μ g/kg BW/day



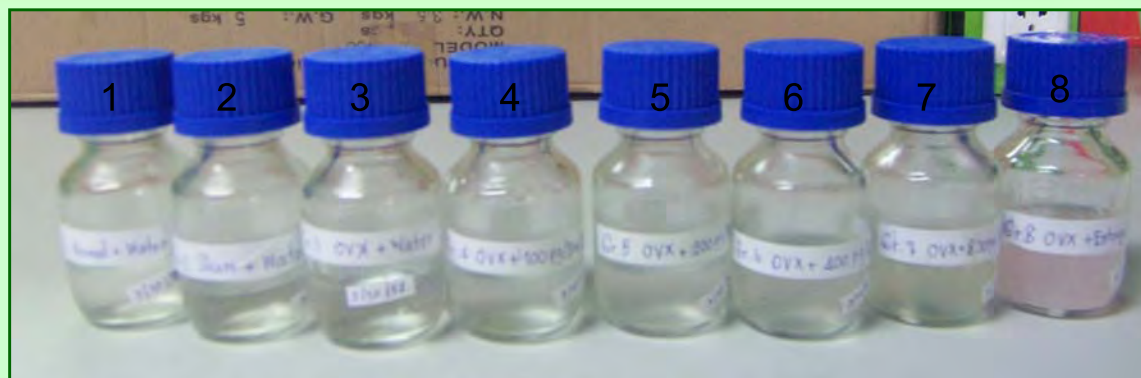
ขั้นตอนการเตรียมสัตว์ทดลอง (ต่อ)

6. ปรับสภาพหนู ในสถานที่เลี้ยงที่เตรียมไว้ เป็นเวลา 1 สัปดาห์
7. ทำการตัดรังไข่ กลุ่มที่ 3-8 และผ่าตัดหลอดในกลุ่มที่ 2
8. ชั่งน้ำหนักหนูทดลองซึ่งได้น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 25-30 กรัม/ตัว





ขั้นตอนการให้สารทดสอบ



ให้สารทดสอบที่เตรียมไว้ทางปาก
ทุกวัน ปริมาตร 300 μ l โดยเริ่มให้
วันที่ 20 กันยายน – 31 ตุลาคม 2552
เป็นเวลา 6 สัปดาห์

การเก็บตัวอย่าง



Fasting 12 hr.



เลือดจากหัวใจหนู



Blood glucose Total antioxidant
Lipid profile Lipid peroxide



เนื้อเยื่อตับ

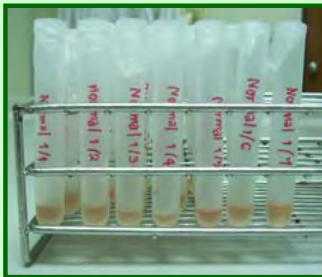


Total antioxidant
Lipid peroxide

การเก็บตัวอย่าง (ต่อ)



Litium heparinnized tube



เก็บที่ 4 °C



Liver

Homogenized tissue

เก็บที่ 4 °C



การตรวจวิเคราะห์

โดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (KONELAB 20)

1. การตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือด

หลักการ Enzymatic technique โดยวิธี Glucose oxidase

2. การตรวจวัดระดับไขมันในเลือด

2.1 Total cholesterol ใช้หลักการ enzymatic technique

2.2 Triglyceride ใช้หลักการ enzymatic technique

2.3 HDL-Cholesterol ใช้หลักการ enzymatic technique

2.4 LDL-Cholesterol คำนวณโดยใช้สูตรของ Friedewald และคณะ





การตรวจวิเคราะห์ (ต่อ)

3. ตรวจระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือด
4. ตรวจระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเนื้อเยื่อตับ
5. การตรวจวัด Superoxide dimutase, Glutathione peroxidase activity และ Glutathione level ในเลือด และในเนื้อเยื่อตับ
6. ตรวจหาลิพิดเปอร์ออกไซด์ (lipid peroxide) ในเลือด
โดยการตรวจระดับ malondialdehyde (MDA)
7. ตรวจหาลิพิดเปอร์ออกไซด์ (lipid peroxide) ในเนื้อเยื่อตับ
โดยการตรวจระดับ malondialdehyde (MDA)

การวิเคราะห์ข้อมูล

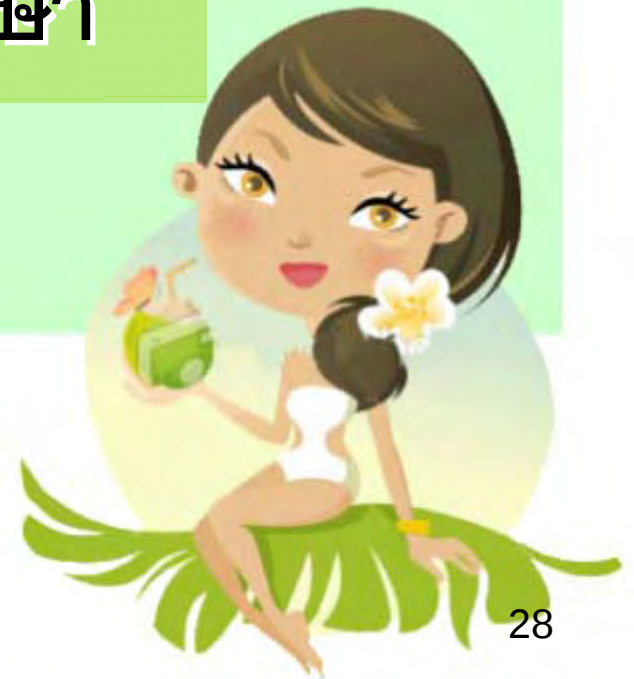


- ❁ ใช้ค่า Mean $\pm$ SEM และวิเคราะห์ทางสถิติแบบ One Way ANOVA
- ❁ โปรแกรม GraphPad Prism 4 (Chicago, IL, USA)
- ❁ เปรียบเทียบแบบหลายทางโดยใช้ Neuman-Keuls Comparison Test



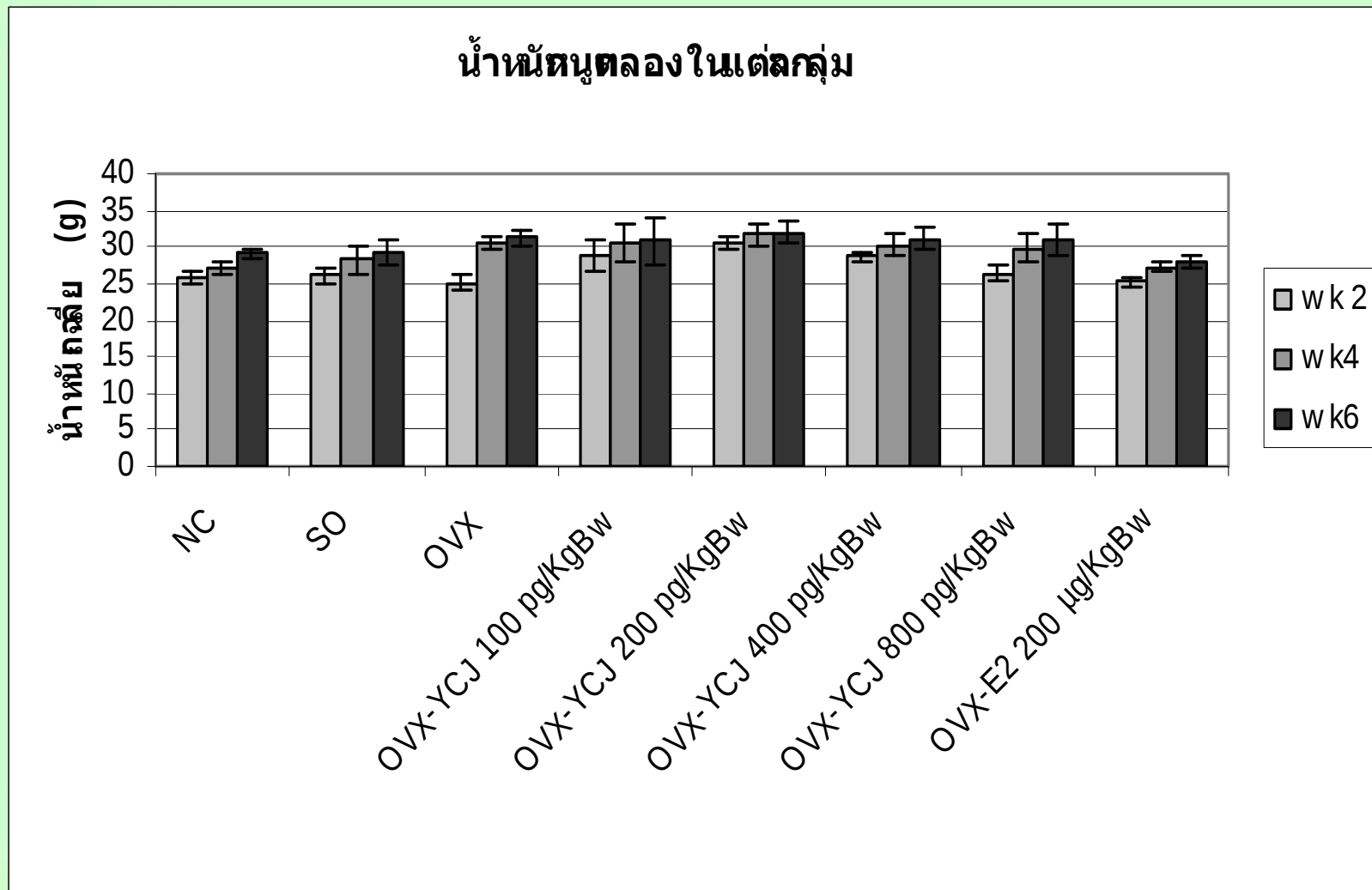
ผลการศึกษา

และอภิปรายผลการศึกษา

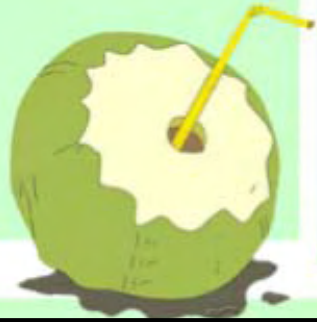




1. ผลของน้ำมะพร้าวอ่อนต่อน้ำหนักของหนูทดลอง



$p > 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)



Body weight (g)

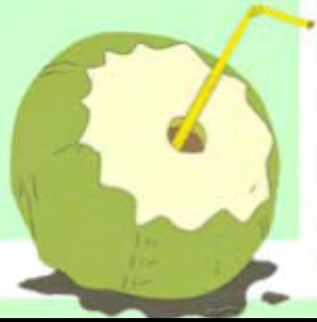
Group	Initial weight (g)	Final weight (g)
1. NC	35.75 ± 1.21	36.65 ± 0.78
2. SO	35.31 ± 1.43	36.79 ± 0.85
3. OVx	34.84 ± 1.18	38.69 ± 0.74
4. OVx-YCJ 100 pg/kgBW	35.11 ± 0.94	36.81 ± 1.22
5. OVx-YCJ 200 pg/kgBW	35.84 ± 0.79	37.92 ± 0.59
6. OVx-YCJ 400 pg/kgBW	35.75 ± 0.90	37.95 ± 0.84
7. OVx-YCJ 800 pg/kgBW	35.52 ± 0.60	38.18 ± 0.65
8. OVx-E2 200 μ g/kgBW	34.87 ± 0.87	37.38 ± 1.17



อภิปรายผล

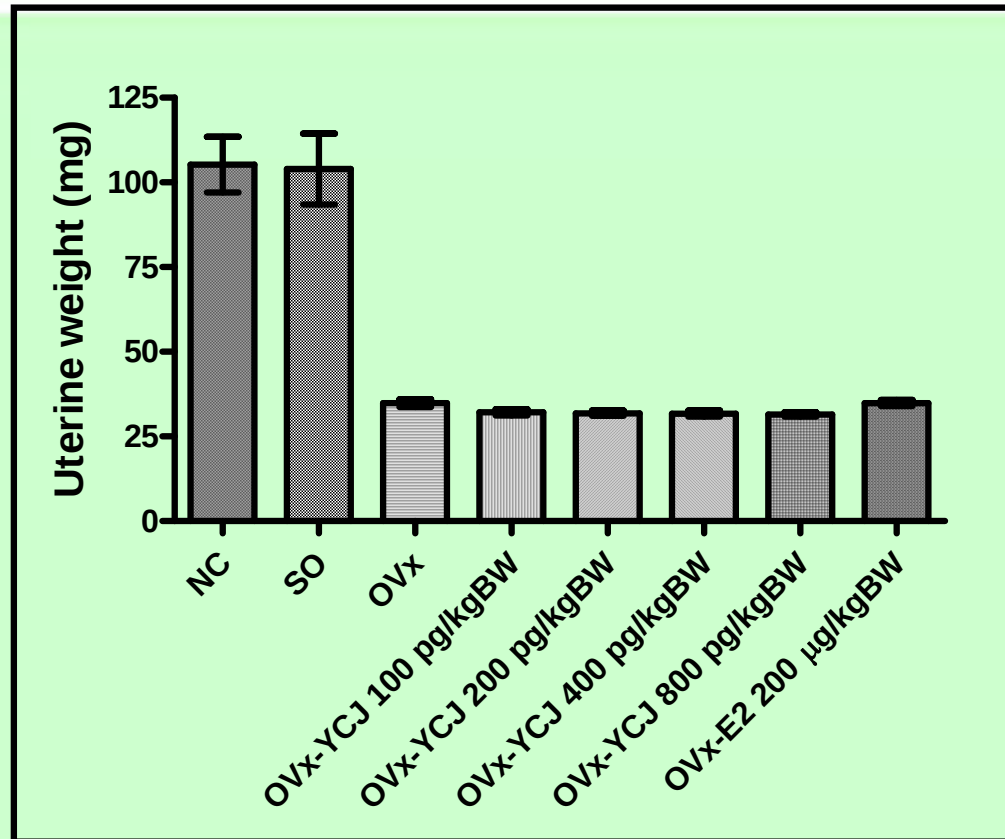
น้ำมะพร้าวอ่อนต่อน้ำหนักของหนูทดลอง

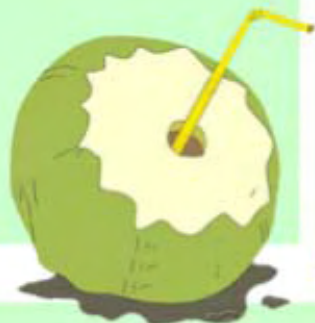
- ❁ น้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้นของไฟโตเอสโตรเจนต่างกัน และฮอร์โมนเอสโตรเจนสังเคราะห์ ไม่มีผลต่อน้ำหนักหนูทดลอง
- ❁ การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักหนูทดลองเป็นผลจากการเจริญเติบโตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมทั้ง 3 กลุ่ม



Uterine weight (g)

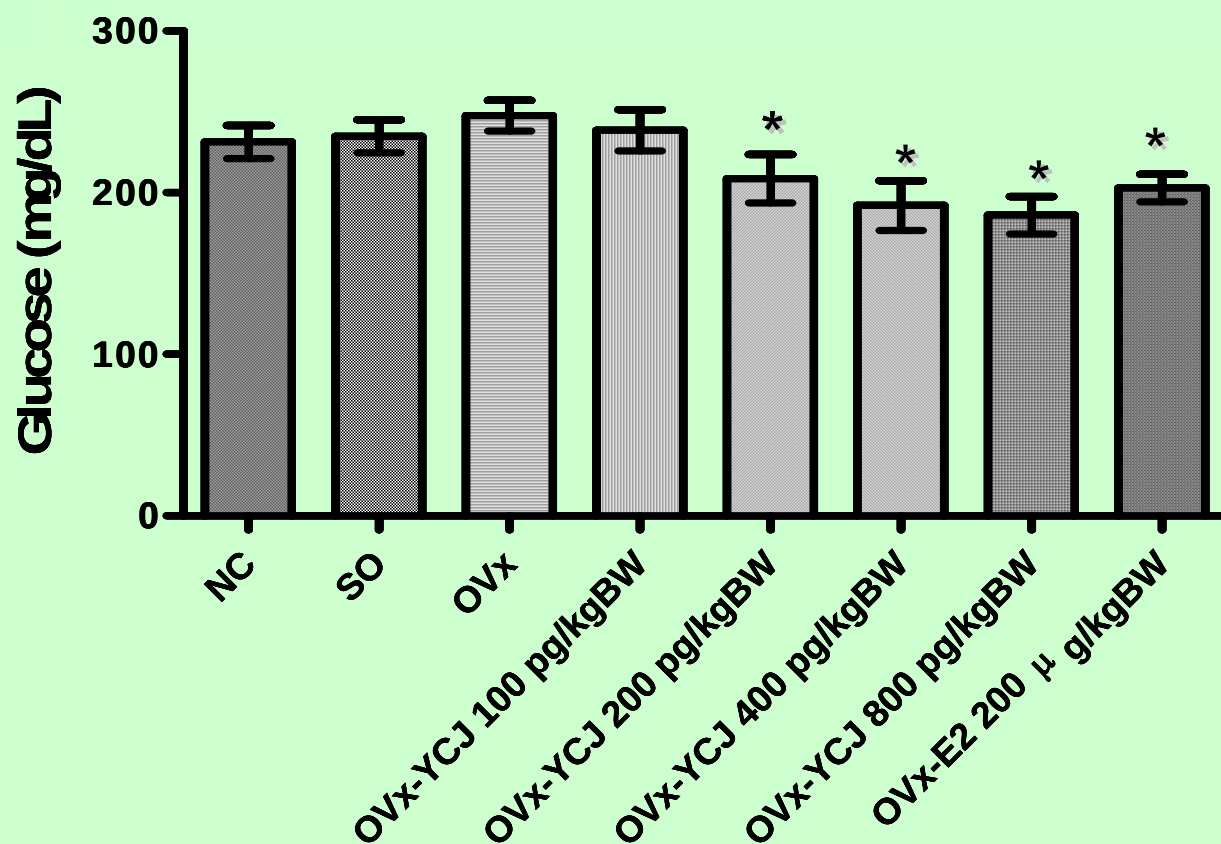
Group	Uterine weight (mg)
1. NC	105.27 ± 8.21
2. SO	103.96 ± 10.43
3. OVx	34.84 ± 1.18
4. OVx-YCJ 100 pg/kgBW	32.11 ± 0.94
5. OVx-YCJ 200 pg/kgBW	31.84 ± 0.79
6. OVx-YCJ 400 pg/kgBW	31.75 ± 0.90
7. OVx-YCJ 800 pg/kgBW	31.52 ± 0.60
8. OVx-E2 200 μ g/kgBW	34.87 ± 0.87





3.1 ผลการศึกษาน้ำมันมะพร้าวอ่อนต่อระดับ

Total cholesterol



*p < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)



อภิปรายผล

การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด

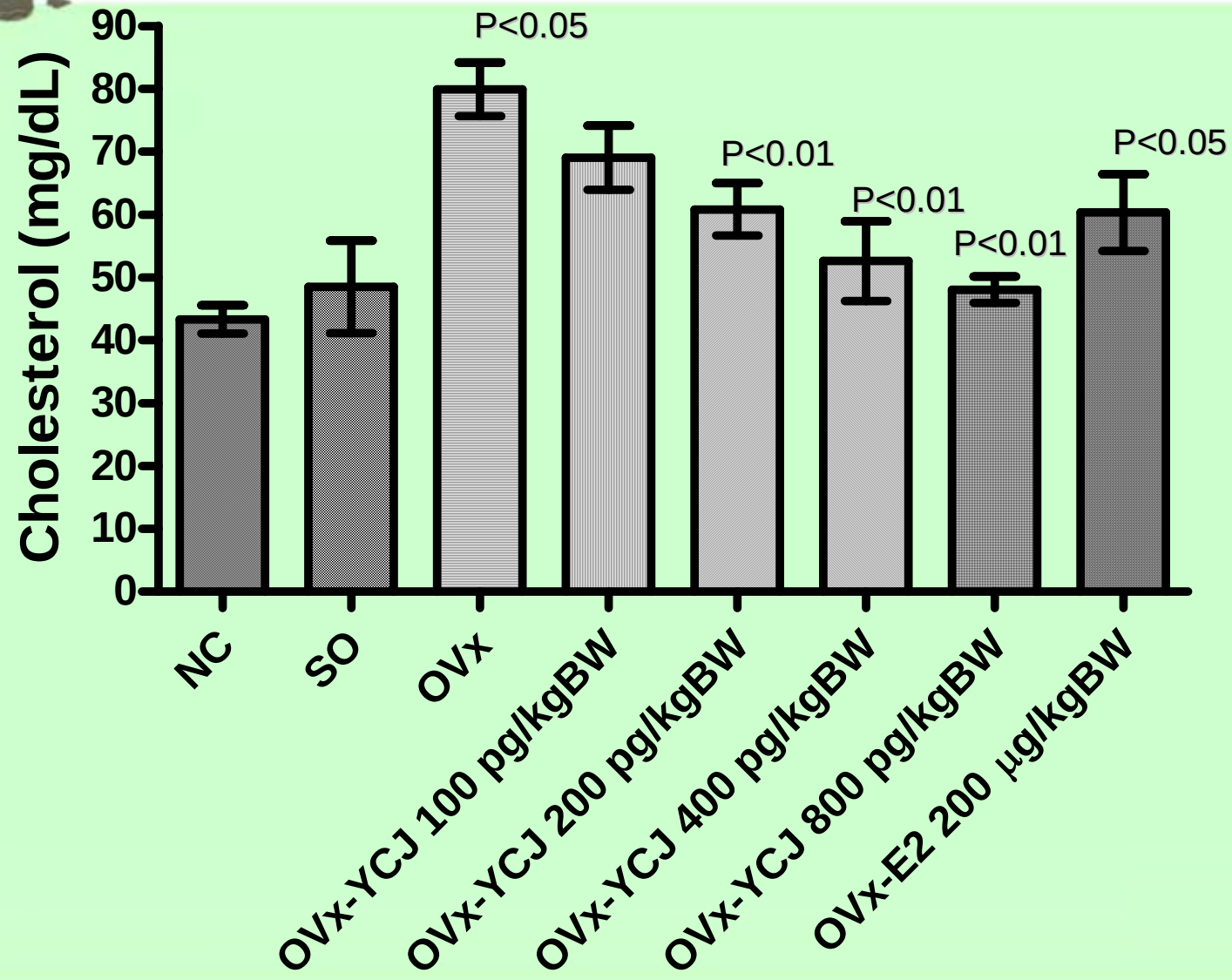
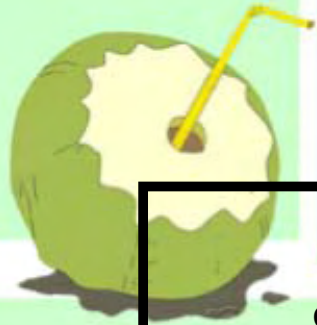
- ❁ ผู้หญิงที่มีหมดระดูจะมีภาวะอ้วน คีโต่ออินซูลิน และไขมันในเลือดสูงนำไปสู่ metabolic syndrome (Julian M, *et al.*, 2002)
- ❁ มีรายงานการวิจัยกล่าวถึง ผลของ 17β -estradiol ต่อ ระดับน้ำตาลในเลือดและระดับอินซูลินในหนูทดลองที่ตัดรังไข่ พบว่า ในหนูที่ตัดรังไข่จะพบการหลั่งอินซูลินลดลง ทำให้ความสามารถในการควบคุมระดับน้ำตาลลดลง จึงมีภาวะคีโอินซูลิน และมีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงขึ้น แต่เมื่อได้รับ 17β -estradiol ติดต่อกันระยะเวลาหนึ่งจะทำให้ลดการพัฒนาของภาวะคีโอินซูลิน และเพิ่ม insulin sensitivity ให้ดีขึ้น (Mei-Lian L, *et al.*, 2004)

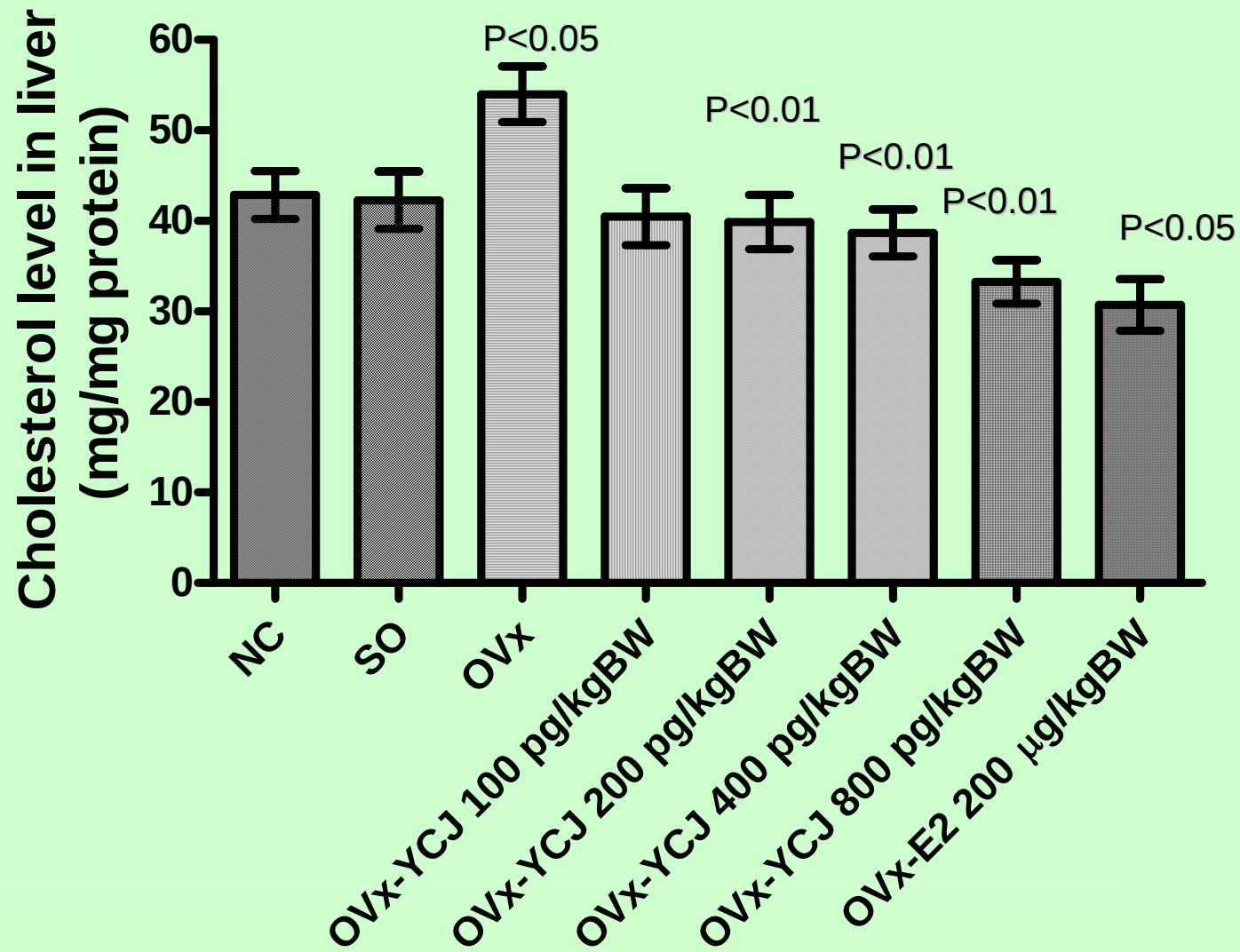
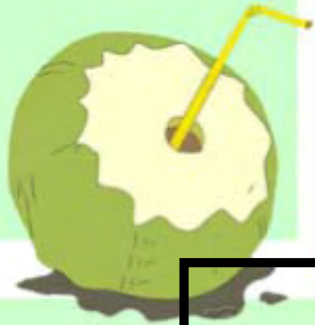


3. ผลการศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับไขมันในเลือด

- 3.1 ผลการศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ Total cholesterol
- 3.2 ผลการศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ Triglyceride
- 3.3 ผลการศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ HDL cholesterol
- 3.4 ผลการศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ LDL cholesterol





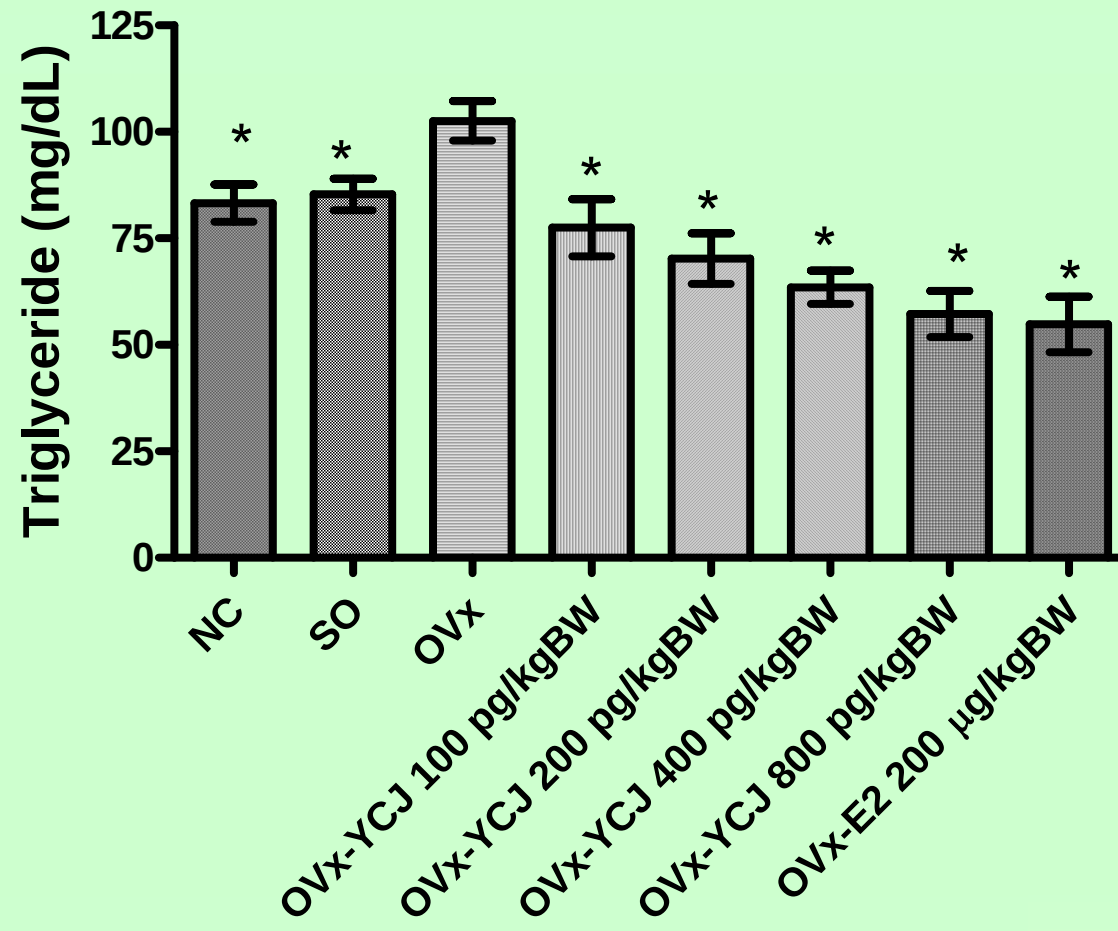


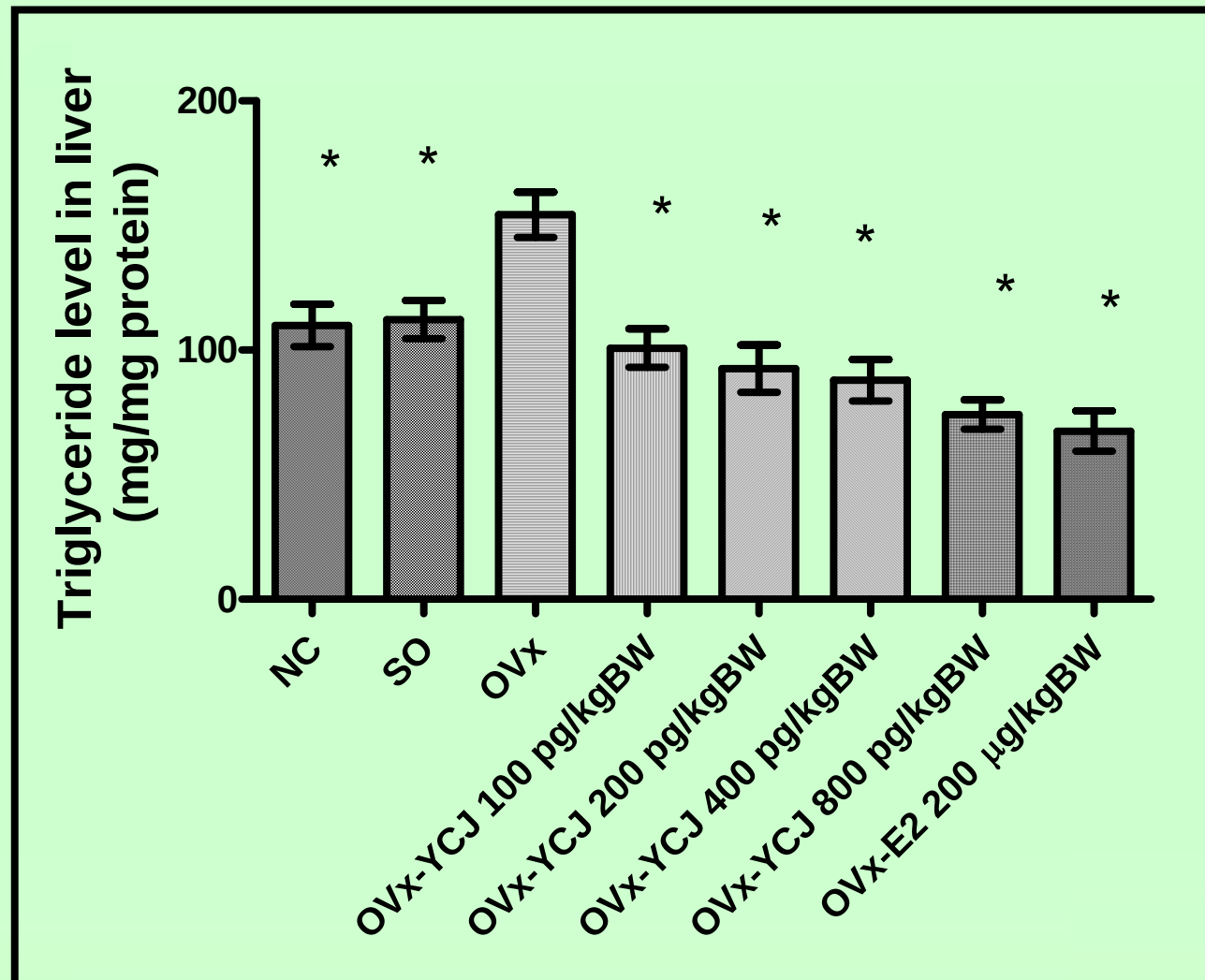


อภิปรายผล

การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ Total cholesterol

- ❁ Estradiol มีกลไกช่วยให้เมตาบอลิซึมของไขมันดีขึ้น (1)
- ❁ มีรายงานการวิจัยที่ให้สาร isoflavone ในหนูที่ตัดรังไข่ พบว่า isoflavone ไม่มีผลต่อการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดเช่นกัน แต่เมื่อให้หนูออกกำลังกายร่วมกับการได้รับ isoflavone จะสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลได้ (Jian W, *et al.*, 2004)







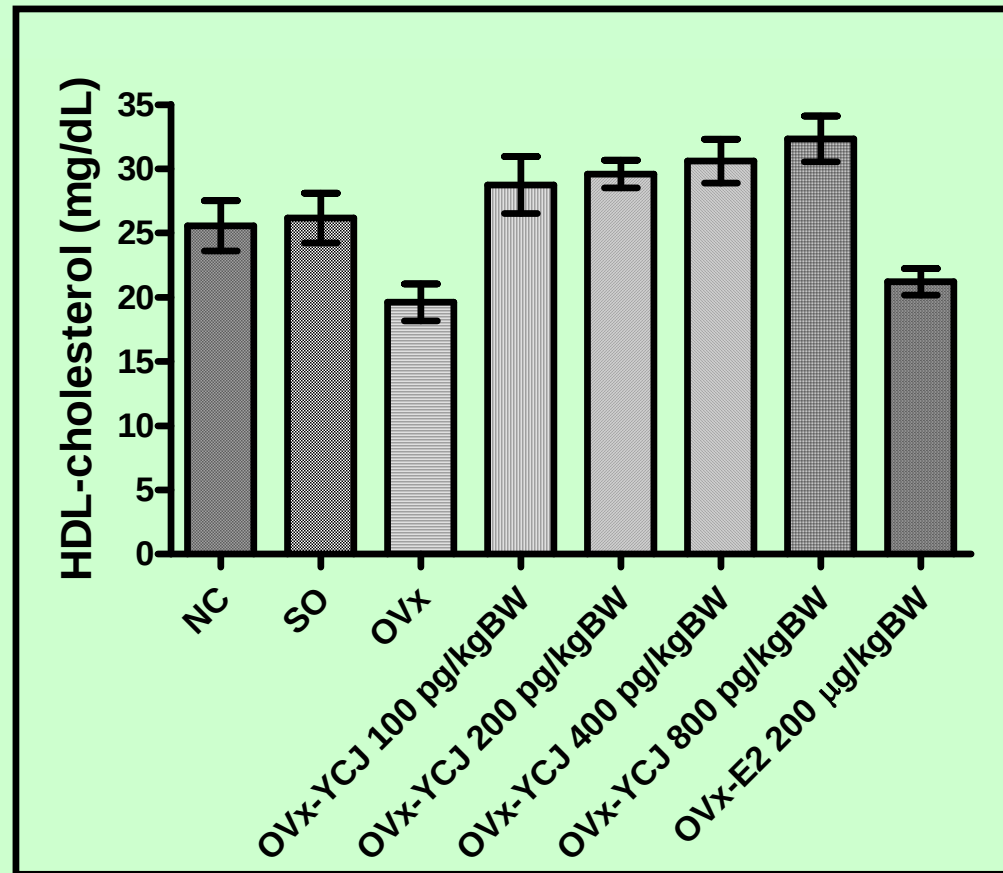
อภิปรายผล

การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ Triglyceride

- ❁ การลดลงของระดับ ไตรกลีเซอไรด์ สัมพันธ์กับการทำงานของอินซูลินที่ดีขึ้นในการยับยั้ง lipolysis ได้ ทำให้กรดไขมันอิสระในเลือดน้อยลง ตับสร้าง VLDL ได้น้อยลง ทำให้ไตรกลีเซอไรด์ ลดลงตามด้วย (1)
- ❁ การรับไฟโตเอสโตรเจนจากถั่วเหลืองสามารถทำให้การสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์จากตับลดลง และเปลี่ยนแปลง Lipase activity จึงมีผลทำให้ไตรกลีเซอไรด์ในเลือดลดลงได้บางส่วน (Sophie D, et al., 2004)
- ❁ ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวสามารถออกฤทธิ์คล้ายกับ estradiol ในการลดระดับ Triglyceride ในเลือดได้



3.3 ผลการศึกษาน้ำมันมะพร้าวอ่อนต่อระดับ HDL cholesterol



$p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)



อภิปรายผล

การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ HDL cholesterol

- ❁ งานวิจัยการศึกษาผลของ isoflavone ต่อการเปลี่ยนแปลงไขมันในหนูที่ตัดรังไข่ พบว่า หนูที่ได้รับ isoflavone มีแนวโน้มของระดับเอชดีแอล-คอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น และจะเพิ่มมากยิ่งขึ้นเมื่อหนูออกกำลังกายร่วมด้วย เพราะไฟโตเอสโตรเจนจะเพิ่ม lipid metabolism ให้ดีขึ้น และไม่พบการเพิ่มขึ้นของเอชดีแอล-คอเลสเตอรอลใน หนูตัดรังไข่ที่ได้รับเอสโตรเจนสังเคราะห์ (Mei-Lian L, *et al.*, 2004)



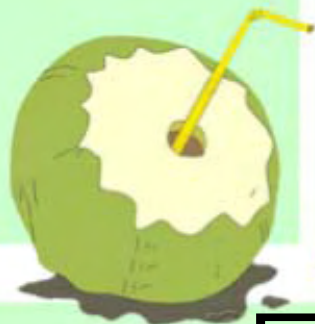
อภิปรายผล

การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ HDL cholesterol (ต่อ)

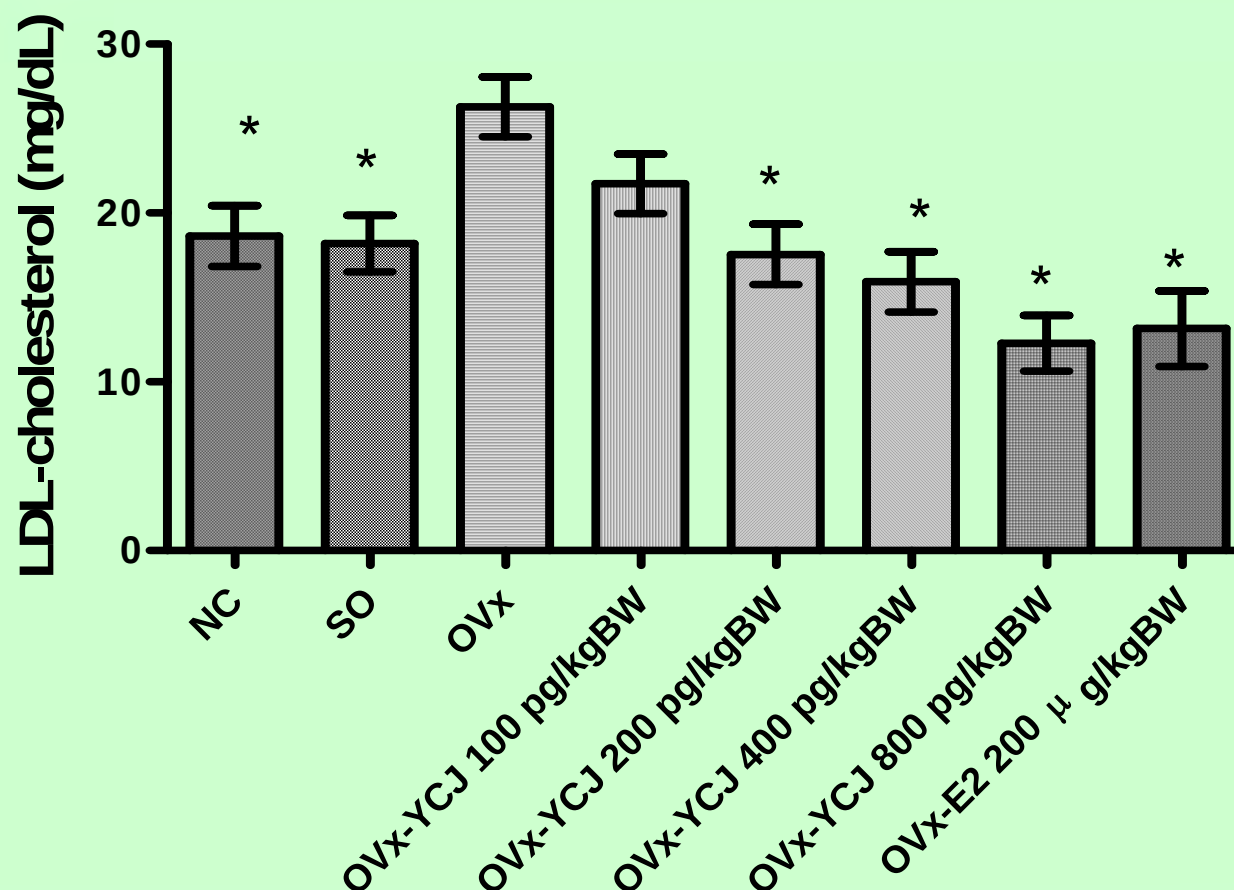
กลไกสำคัญที่ทำให้ฮอร์โมนเพศสามารถกระตุ้นการเพิ่ม HDL cholesterol ได้

- ❁ การยับยั้ง hepatic lipase activity ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยน HDL-2 ไปเป็น HDL-3 จึงทำให้มี HDL-2 เพิ่มมากขึ้น
- ❁ estradiol เพิ่มการสร้าง Apolipoprotein A1 ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ HDL-2
- ❁ ในทางตรงกันข้ามหากได้รับโปรเจสเทอโรน จะเพิ่ม hepatic lipase activity และยับยั้งการสังเคราะห์ Apolipoprotein A1 จึงทำให้ HDL cholesterol ลดลงได้

(Matti JT. 1996)



3.4 ผลการศึกษาไขมันพว้าวอ่อนต่อระดับ LDL cholesterol



p < 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)

การคำนวณค่า LDL cholesterol โดยใช้สมการของ Friedewald และคณะ



อภิปรายผล

การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ LDL cholesterol

- ❁ มีรายการวิจัยสารสกัดไฟโตเอสโตรเจนที่สกัดจากถั่วเหลือง (daidzeine, genistein) สามารถลด LDL cholesterol ได้ (Merz C, *et al.*, 2006)
โดยกลไก
 1. เพิ่มการขับ bile acid
 2. กระตุ้น LDL cholesterol receptor
 3. กระตุ้น estrogen receptor

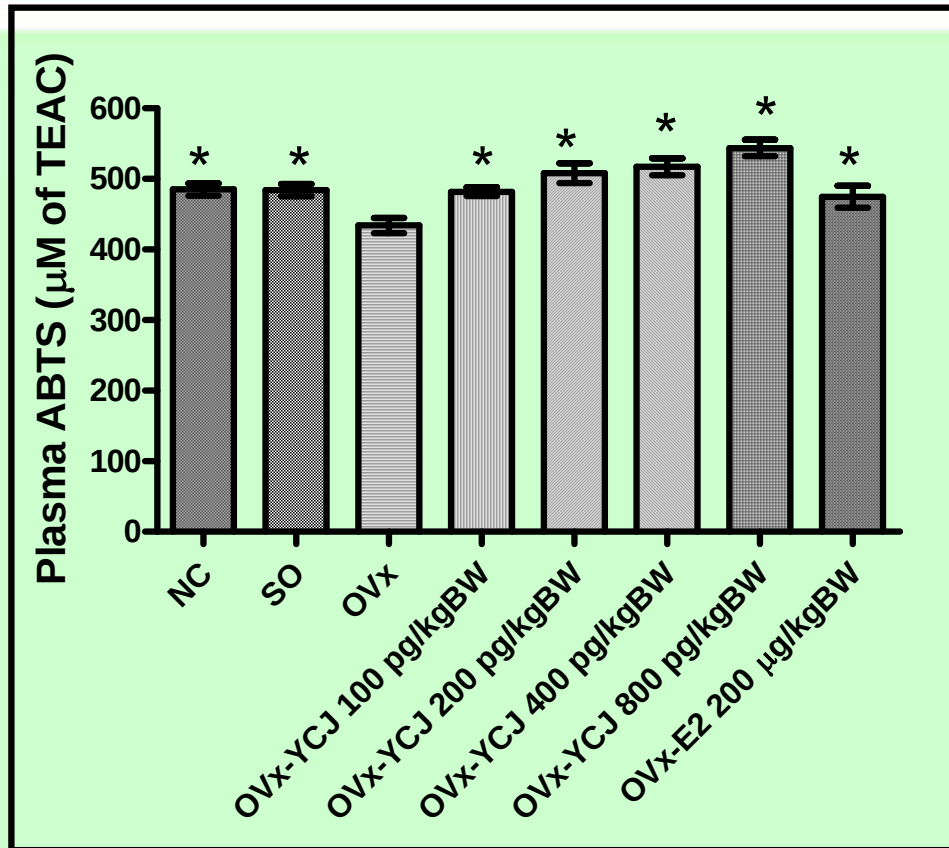
- ❁ แต่ไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนที่ทำการศึกษา สามารถลดระดับ LDL cholesterol ได้ เนื่องจากอาจมีสารที่มีกลไกเกี่ยวข้องกับการกระตุ้น LDL cholesterol receptor

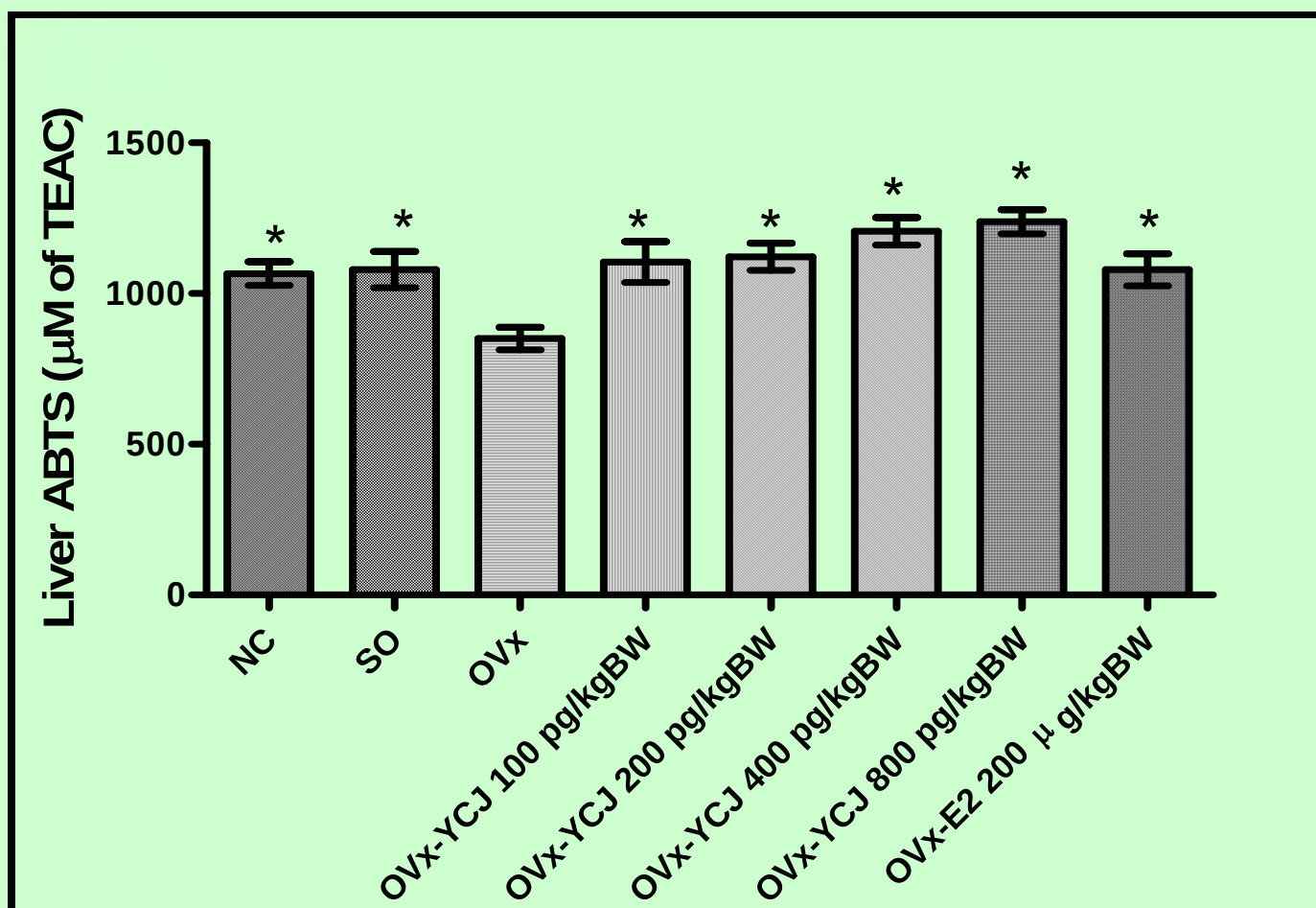


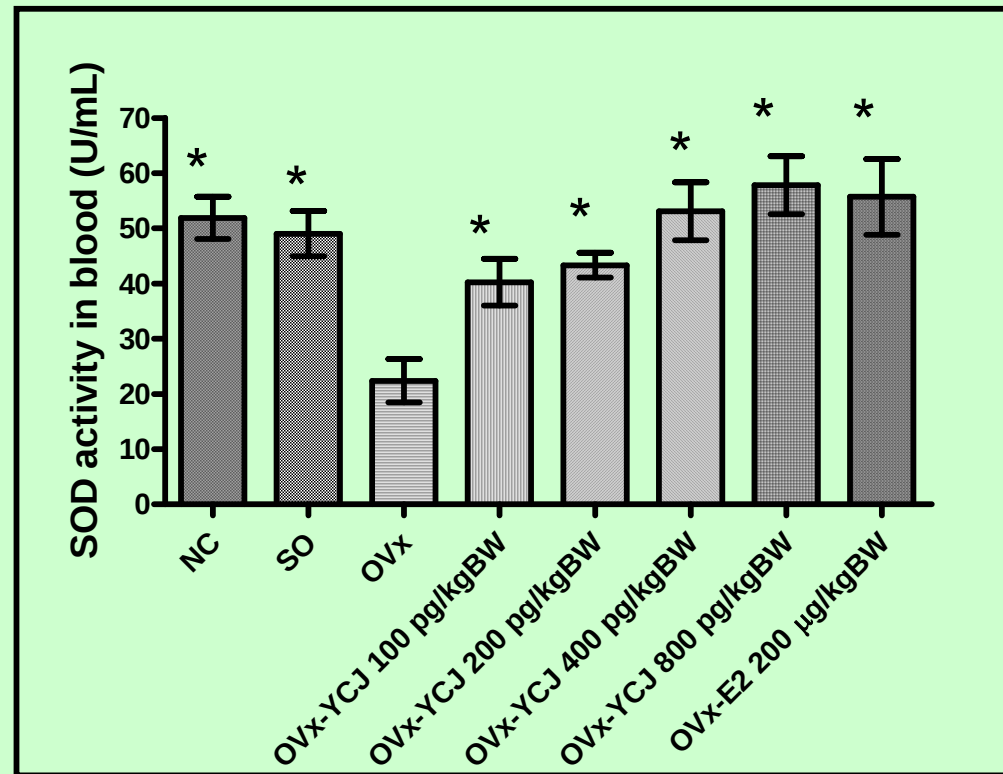
4. ผลการศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ สารต้านอนุมูลอิสระรวม

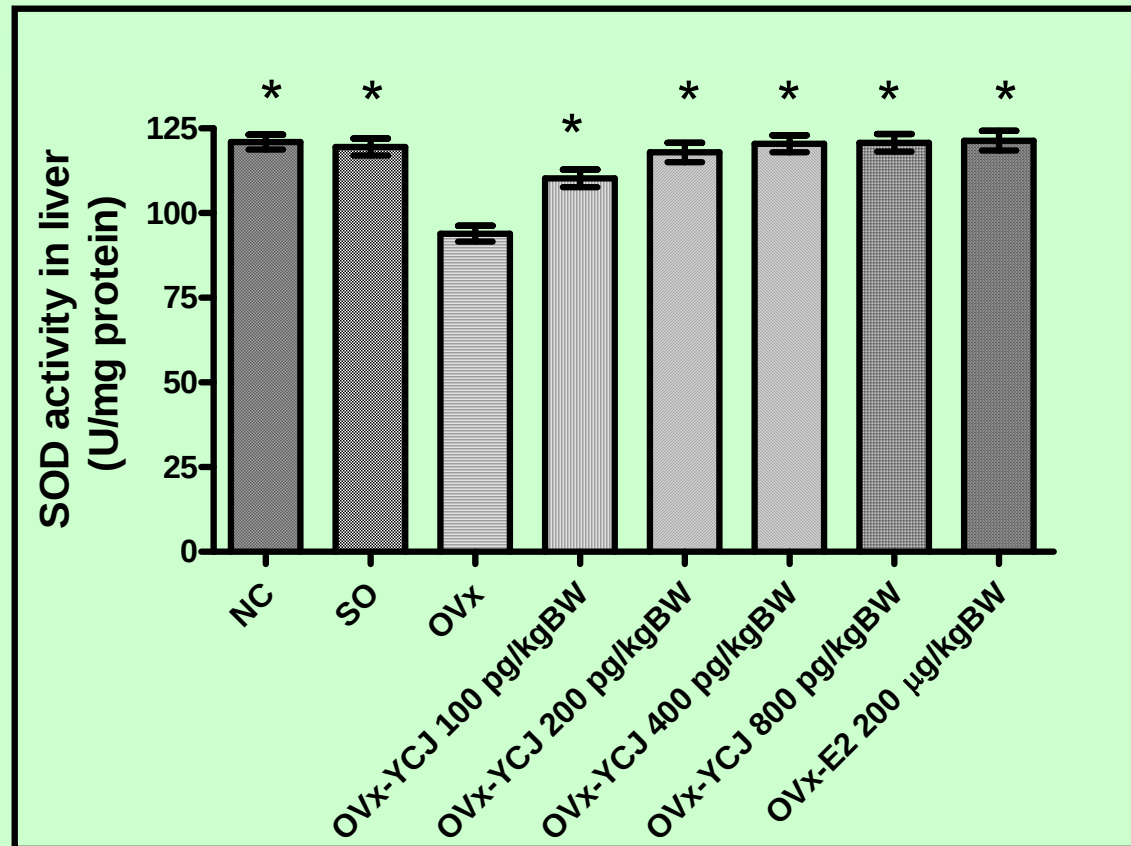
- 4.1 ผลการศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับสารต้าน
อนุมูลอิสระรวมในเลือด
- 4.2 ผลการศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับสารต้าน
อนุมูลอิสระรวมในเนื้อเยื่อตับ

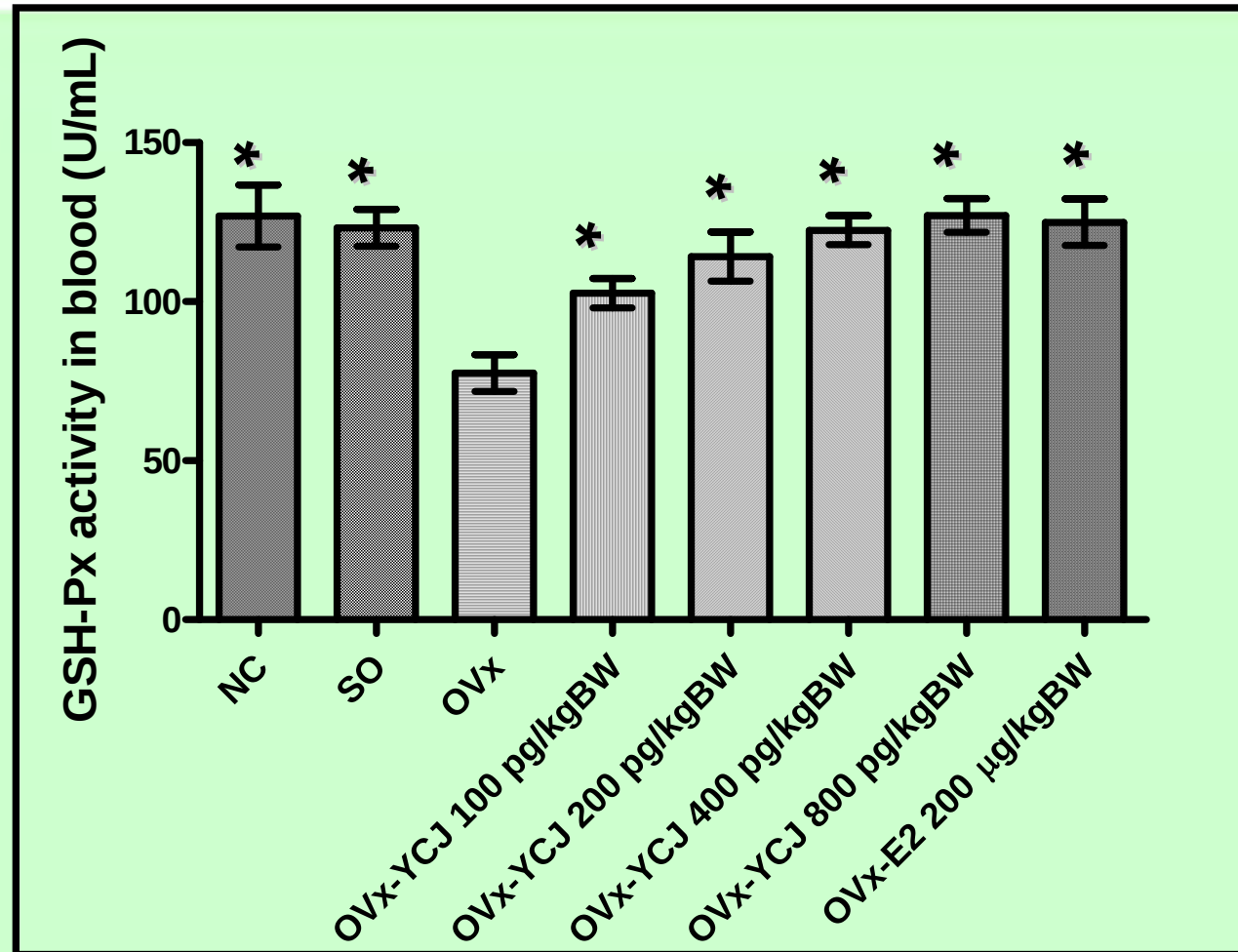


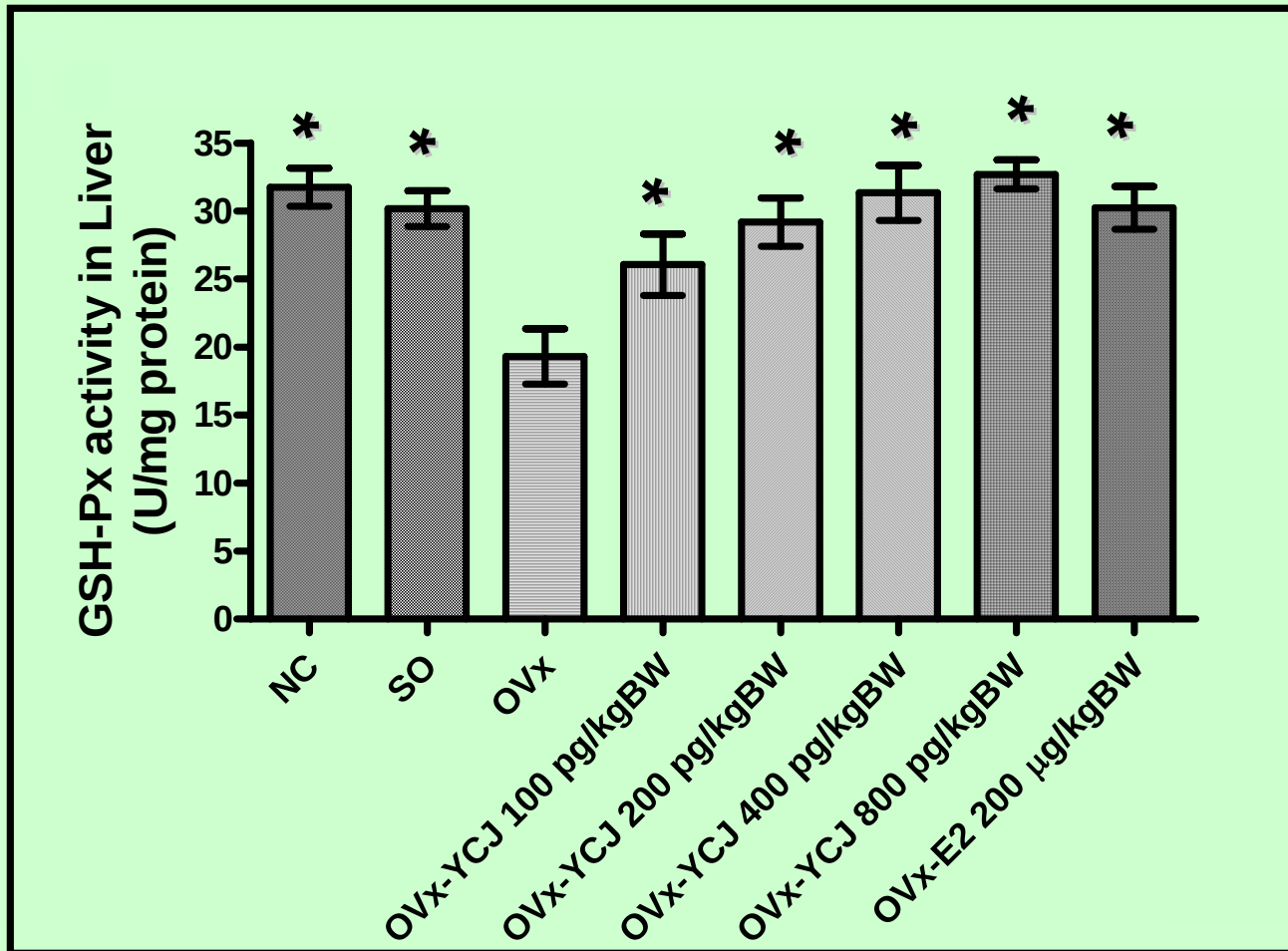


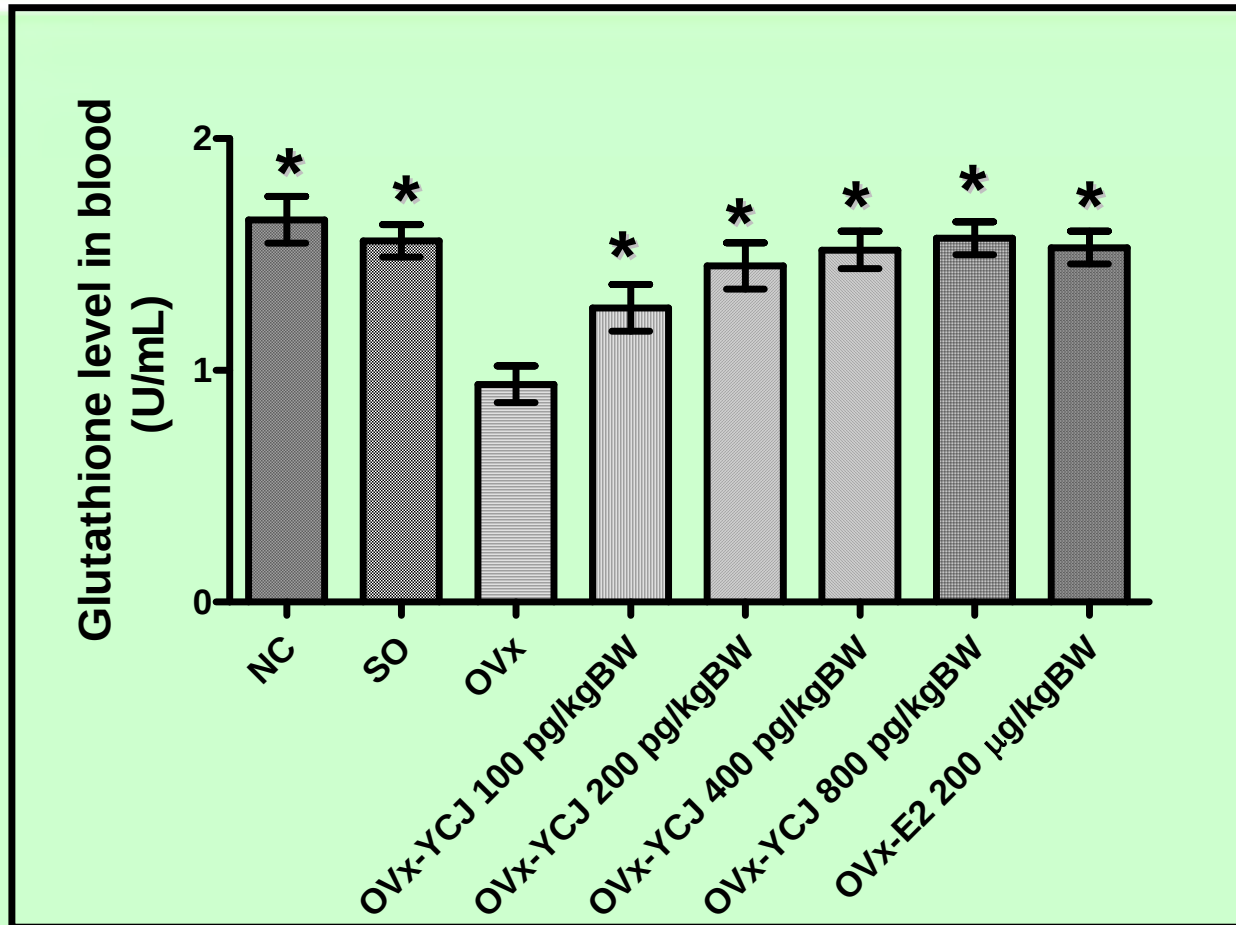


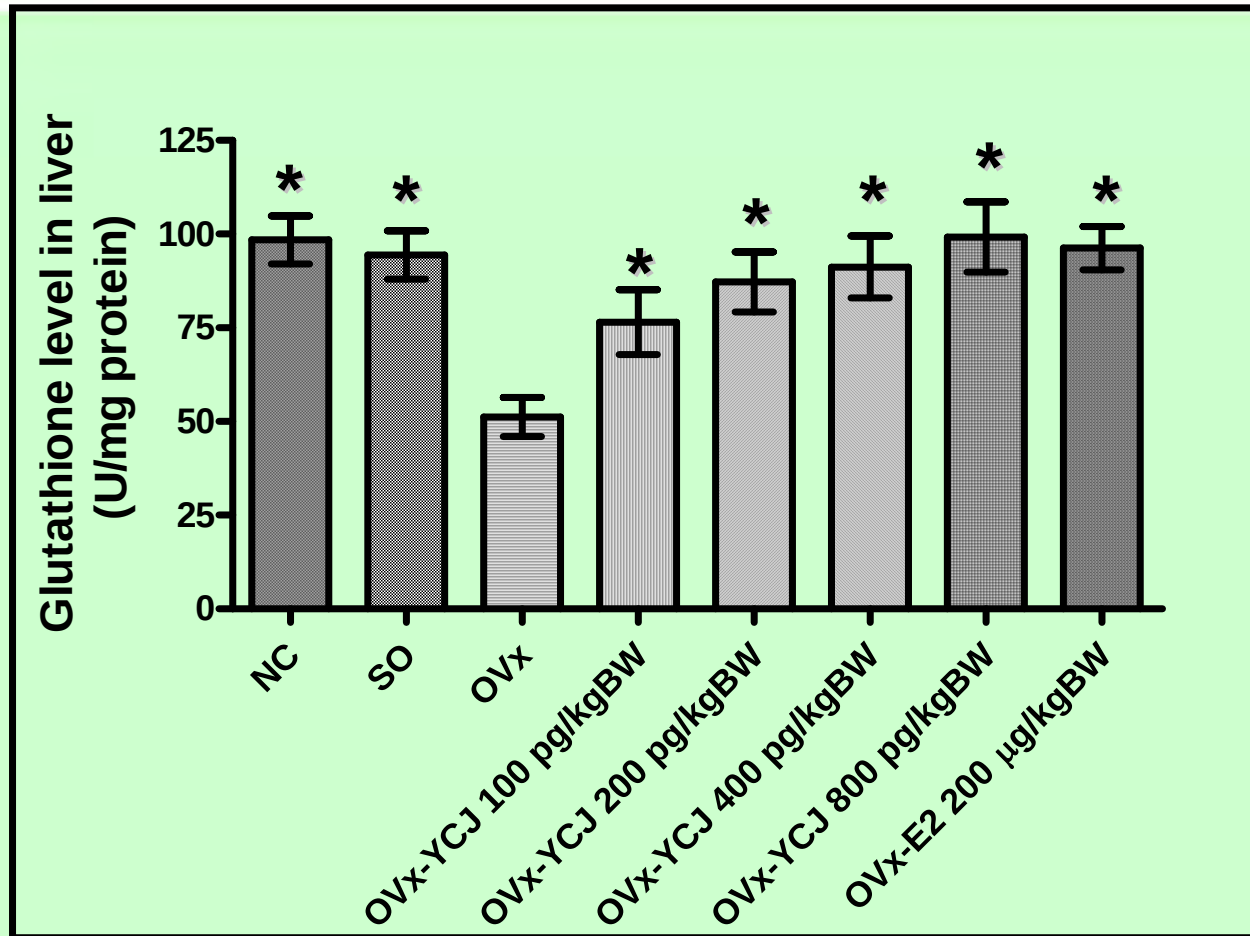














อภิปรายผล

การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือด และในเนื้อเยื่อตับ

- ❁ การให้เอสโตรเจนโดยการรับประทาน เอสโตรเจนเข้าสู่ทางเดินอาหารจะถูกดูดซึมผ่านทางเดินอาหารเข้าสู่ระบบ portal system และตับ ก่อนที่จะผ่านเข้าสู่กระแสเลือดทั่วร่างกาย
- ❁ เอสโตรเจนที่สร้างจากรังไข่ และเนื้อเยื่อไขมันจะเข้าสู่กระแสเลือดโดยตรง ไปสู่อวัยวะเป้าหมายก่อนมาถึงตับ
- ❁ ผลของเอสโตรเจนต่อตับ จะสูงกว่าอวัยวะอื่นๆ เนื่องจากตับเป็นเนื้อเยื่อที่สามารถจับเอสโตรเจนจากกระแสเลือดได้มากกว่าเนื้อเยื่ออื่นๆ (1)

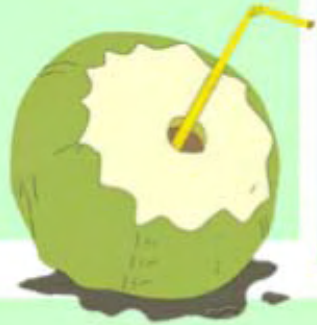


5. ผลการศึกษาน้ำมันมะพร้าวอ่อนต่อระดับ Lipid peroxide

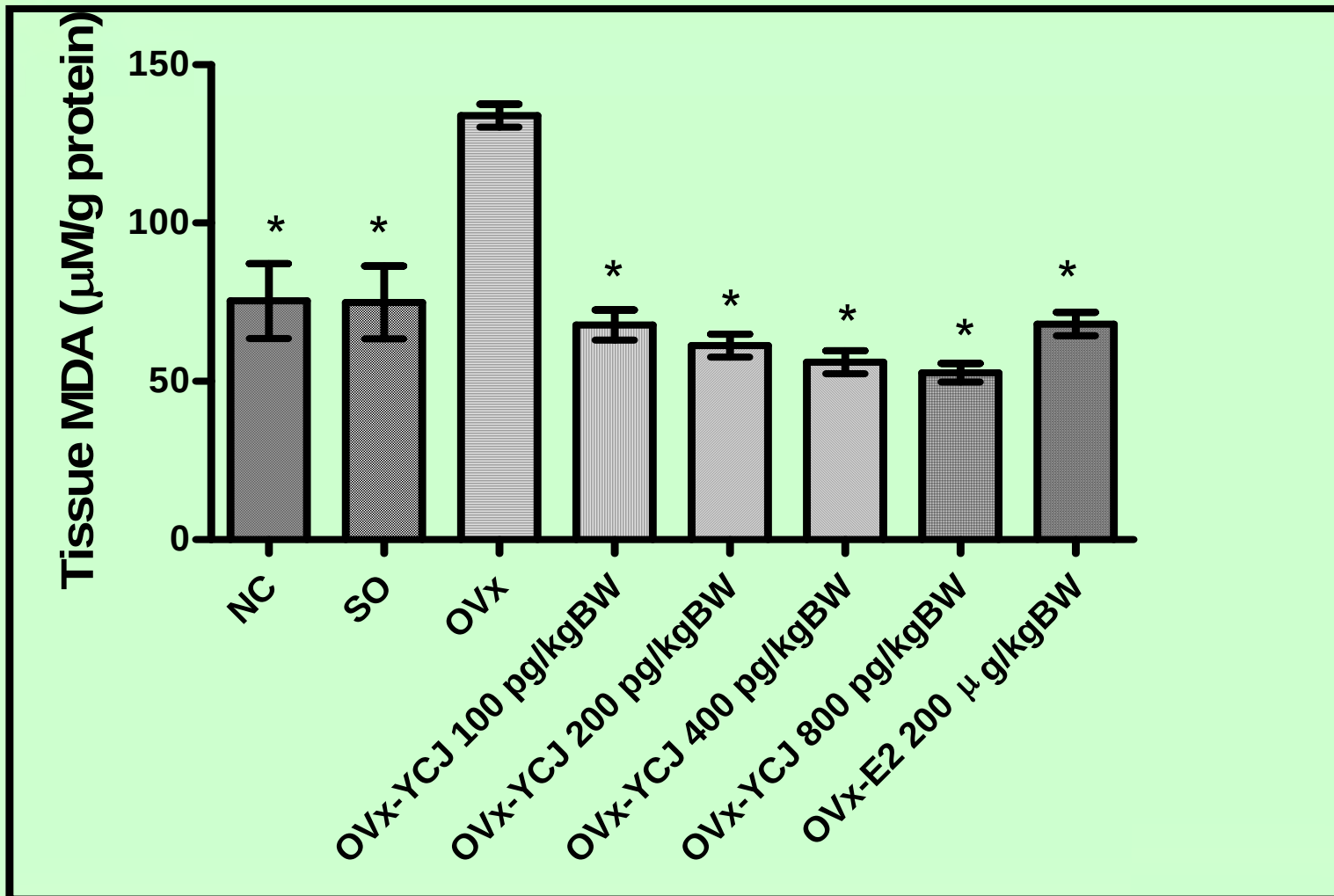
5.1 ผลการศึกษาน้ำมันมะพร้าวอ่อนต่อระดับ
Lipid peroxide ในเลือด

5.2 ผลการศึกษาน้ำมันมะพร้าวอ่อนต่อระดับ
Lipid peroxide ในเนื้อเยื่อตับ

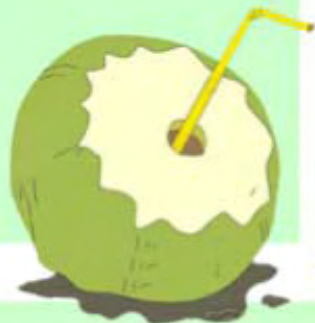




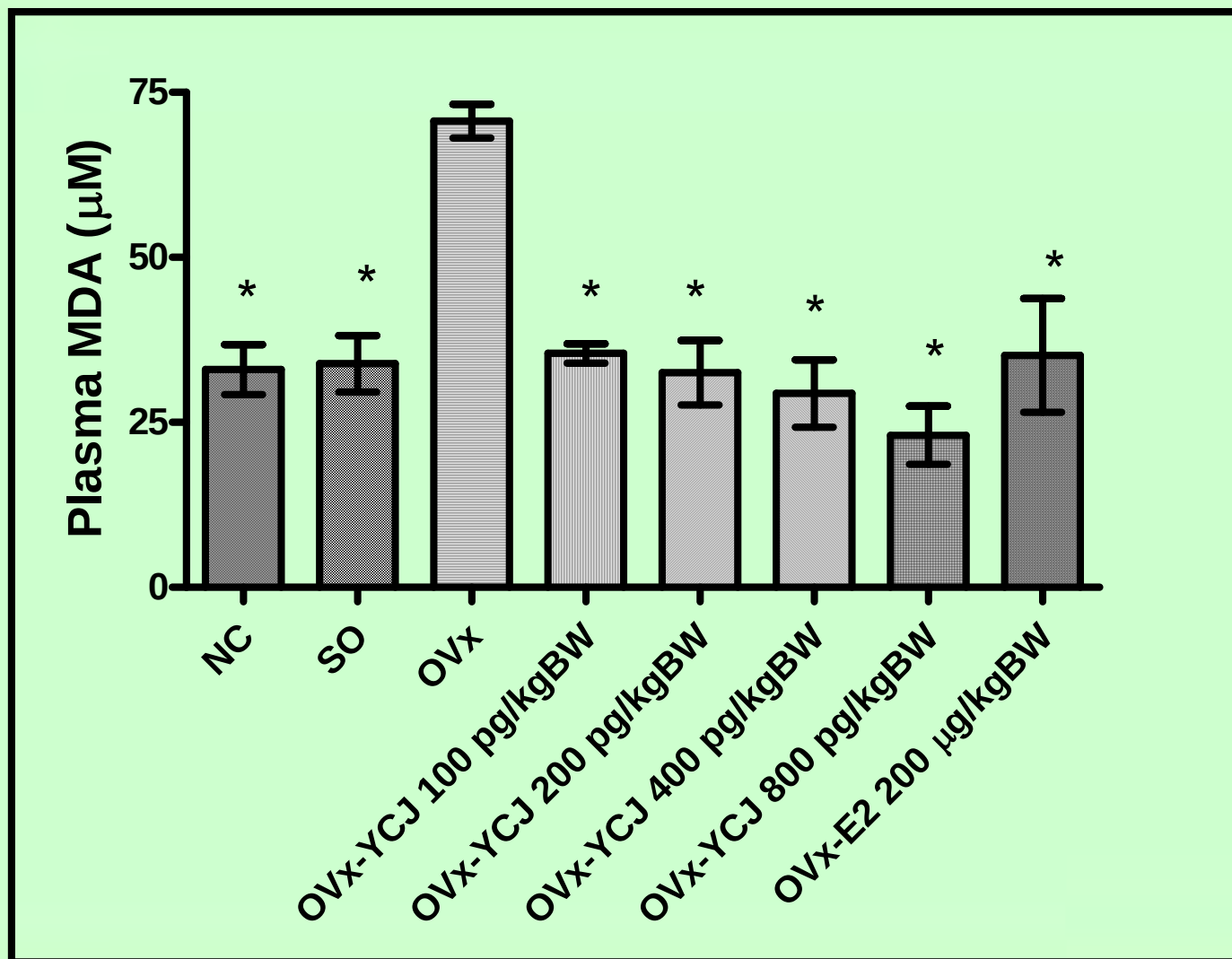
5.2 ผลการศึกษาไขมันมะพร้าวอ่อนต่อระดับ Lipid peroxide ในเนื้อเยื่อตับ



* $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัดรังไข่ (OVx)



5.1 ผลการศึกษาน้ำมันมะพร้าวอ่อนต่อระดับ Lipid peroxide ในเลือด



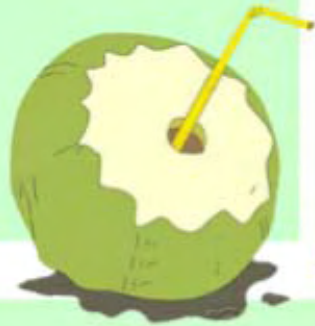
$p > 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูตัวจริงไข (OVx)



อภิปรายผล

การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ Lipid peroxide ในเลือด และ
ในเนื้อเยื่อตับ

- ❁ Malondialdehyde เกิดจากกระบวนการ lipid peroxidation
ระดับ Malondialdehyde จึงเป็นการบ่งชี้การทำลายไขมันที่เกิดจากอนุมูลอิสระ
ที่เพิ่มขึ้น (2)
- ❁ การศึกษาการให้สารต้านอนุมูลอิสระจาก strawberry ต่อระดับ LDLcholesterol และ
Malondialdehyde ในเลือด พบว่า สารต้านอนุมูลอิสระจาก strawberry สามารถลด
LDL cholesterol และ Malondialdehyde ในเลือดได้
(Arpita B, *et al.*, 2009)



อภิปรายผล

การศึกษาน้ำมะพร้าวอ่อนต่อระดับ Lipid peroxide ในเลือด และ
ในเนื้อเยื่อตับ (ต่อ)

- ❁ แต่ผลการศึกษารั้งนี้ไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนทำให้ Malondialdehyde ในเลือดลดลง เนื่องจากระดับของไขมันในเลือดและในเนื้อเยื่อตับลดลงอย่างมีนัยสำคัญ
- ❁ เอสโตรเจน และไฟโตเอสโตรเจนมีผลในการออกฤทธิ์ยับยั้ง lipid peroxidation ในเซลล์ตับได้เช่นเดียวกับ การศึกษา การให้เอสโตรเจน และ โปรเจสเตอโรน ในหนูที่ตัดรังไข่ทำให้ lipid peroxide ลดลงต่ำกว่าหนูที่ตัดรังไข่ที่ไม่ได้รับเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรน (Esma O, et al., 2007)



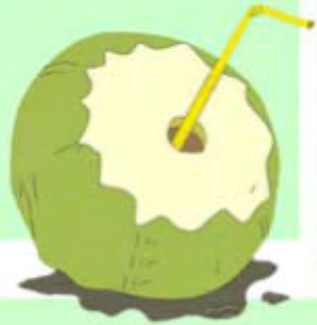
สรุปผลการวิจัย

- ❁ ไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 100, 200, 400 และ 800 pg/kgBW/day มีผลลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูทดลองที่ตัดรังไข่
- ❁ ไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนมีผลลดระดับไขมัน ไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอล และแอล ดี แอล-คอเลสเตอรอล ในเลือดและเนื้อเยื่อตับของหนูทดลองที่ตัดรังไข่
- ❁ ไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนมีผลเพิ่มระดับ HDL cholesterol ในเลือดและเนื้อเยื่อตับของหนูที่ตัดรังไข่



สรุปผลการวิจัย (ต่อ)

- ❁ ไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนมีผลเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระรวมในเลือดและเนื้อเยื่อตับ
- ❁ ไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนมีผลลดระดับ Lipid peroxide ในเนื้อเยื่อตับ
- ***ไฟโตเอสโตรเจนในน้ำมะพร้าวอ่อนจึงมีผลในการลดภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูที่ตัดรังไข่



สรุปผลการวิจัย (ต่อ)

ผลการศึกษาค้างนี้สามารถใช้เป็นแนวทางเพื่อการศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของไฟโตเอสโตรเจนจากน้ำมะพร้าวอ่อน ในการใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนเพื่อลดความเสี่ยงที่เกิดจากการใช้ เอสโตรเจนสังเคราะห์ในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน

Thank You For Your Attention





Menopause → Hyperlipidemia, Obesity

1

Adipose Tissue

Triglyceride

Estrogen ~~↓~~ Lipoprotein lipase

Blood

Free Fatty Acid + Glycerol

Liver

ตับสังเคราะห์ Triglyceride

VLDL



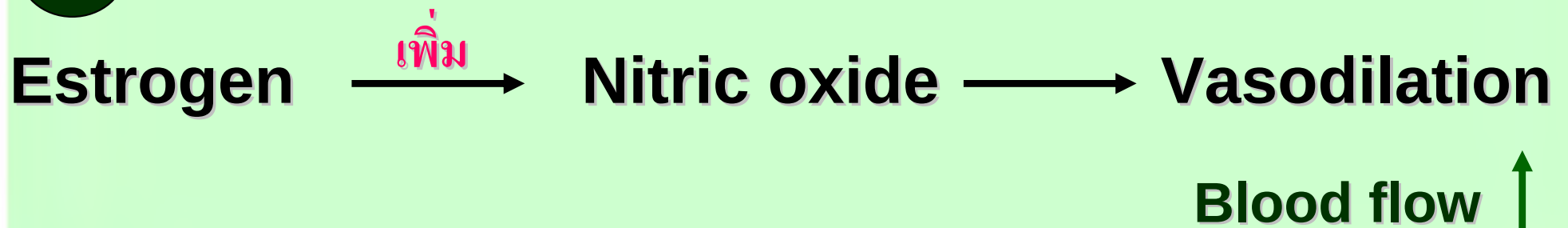
Menopause → Hyperlipidemia, Obesity

2

Hepatic lipase activity



3





Menopause → Hyperlipidemia, Obesity

4

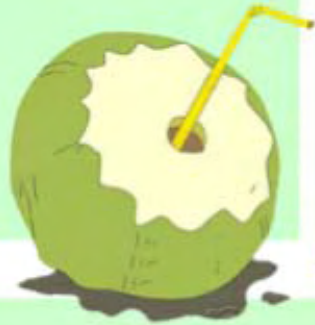
Cholesterol และไขมันสะสม ↑



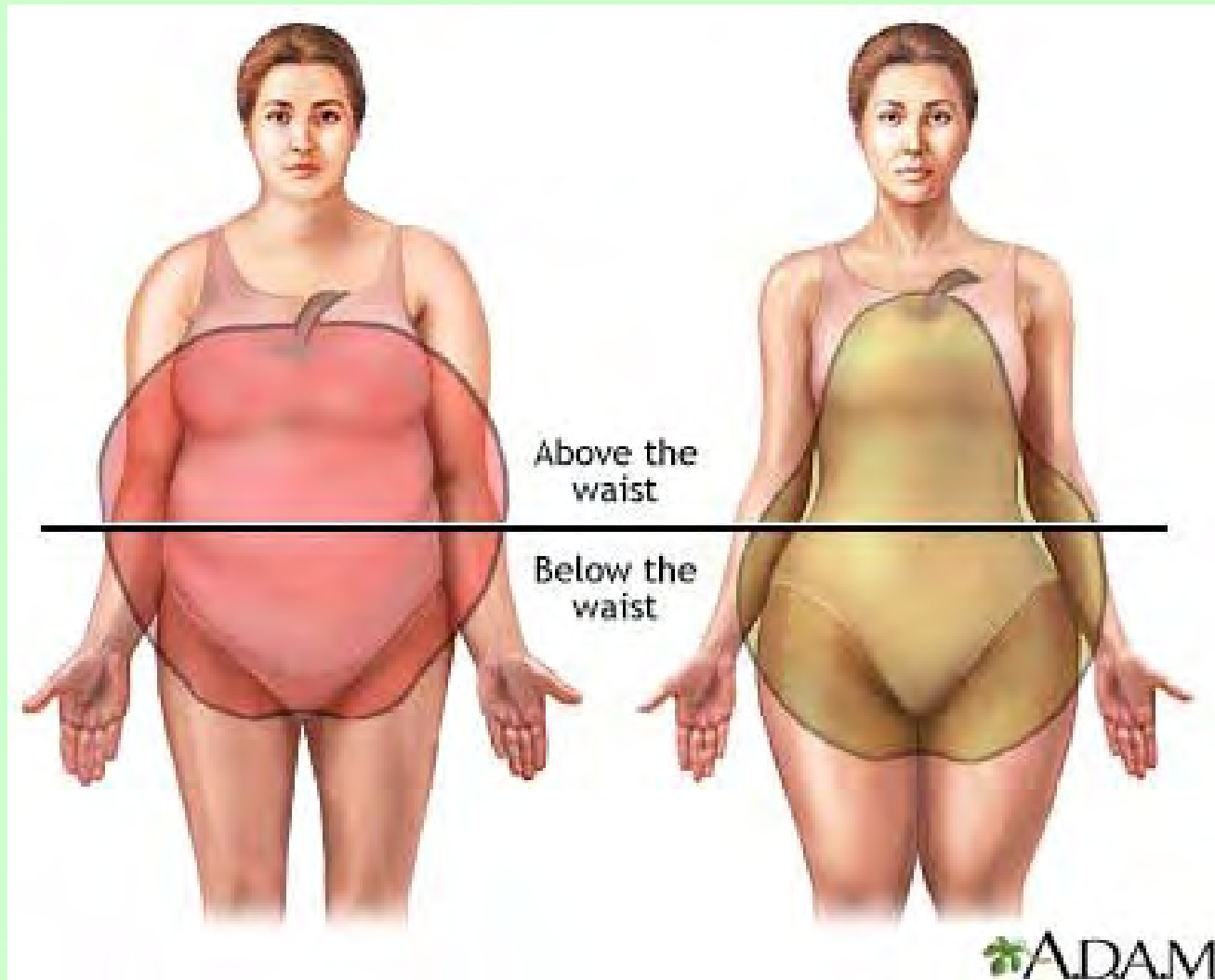
Peripheral conversion

Estrone, Estradiol

เมื่อ **Peripheral conversion** ลดลง ทำให้ **Cholesterol** ในเลือดสูงขึ้นได้



ลักษณะการสะสมไขมัน



Menstrual cycle

Ovarian cycle



Follicular phase

Ovulation

Luteal phase

