

Thesis Title Effect of Estrogen Administration on Hippocampal Synaptic Plasticity and Neuronal Insulin Signaling in Long Term High Fat-Fed White Rats

Author Miss Wasana Pratchayasakul

Degree Doctor of Philosophy (Physiology)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Siriporn Chattipakorn

Advisor

Prof. Dr. Nipon Chattipakorn

Co-advisor

Asst. Prof. Dr. Anchalee Pongchaidecha

Co-advisor

ABSTRACT

The development of obesity following chronic consumption of a high-fat diet contributes to peripheral insulin resistance, leading to type 2 diabetes. The peripheral insulin resistance is related to obesity, hyperinsulinemia and elevation of plasma corticosterones. Although the correlation of peripheral insulin resistance and cognitive impairment has been demonstrated, the effect of high-fat consumption on the neurofunctional insulin sensitivity and level of corticosteroids in brain remains unclear. Moreover, several studies have shown the beneficial effects of estrogen replacement on peripheral insulin sensitivity. However, effects of estrogen

administration on neuronal insulin signaling in high-fat-fed rats have not been investigated. Therefore, the hypotheses of this study are that 1) high-fat diet consumption leads to peripheral and neuronal insulin resistance, and 2) the estrogen administration inhibits both peripheral and neuronal insulin resistance caused by high-fat diet consumption. To test the first hypothesis, male Wistar rats were fed with normal diet (ND; 19.7% energy from fat) or a high-fat diet (HF; 59.3 % energy from fat) for 4, 8 or 12 weeks. To test the second hypothesis, both male and female rats were fed with either a normal diet or a high-fat diet for 12 weeks. Then, rats were divided into four subgroups: ND, ND+E, HF and HF+E. The subgroups with +E were given 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 17- β estradiol subcutaneously once daily for 30 days. At the end of all experimental periods, blood and brain samples were collected to determine the peripheral insulin resistance and neuronal insulin receptor function by using extracellular recording in CA1 hippocampus and the immunoblot technique. We found that peripheral insulin resistance was observed in 8- and 12- week high-fat-fed rats. The elevation in plasma corticosterone level started in 4-week HF rats. However, the neuronal corticosterone level significantly increased in 12-week HF rats. The neuronal insulin receptor (IR) response demonstrated by insulin-induced long-term depression (LTD) in CA1 hippocampus was diminished in 12-week HF rats. This reduction of insulin-induced LTD correlated with various parameters of peripheral insulin resistance. Furthermore, levels of phosphorylation of neuronal insulin receptors (IRs), neuronal IR substrate 1 (IRS-1) and neuronal Akt/PKB in response to insulin were significantly decreased in 12-week HF rats without any change in the level of IR, IRS-1 and Akt/PKB protein. In addition, estrogen administration improved peripheral insulin sensitivity in both male and female HF

rats. However, HF diet consumption also caused neuronal insulin resistance in both male and female rats. Estrogen treatment improved the impairment of neuronal insulin receptor function and signaling only in HF female rats. We further used ovariectomized model (OVX) for confirming the effect of estrogen deprivation in ND-fed female rats. Our study demonstrated that OVX rats caused the peripheral insulin resistance and the impairment of insulin-induced LTD. The estrogen administration had a beneficial effect on improving of both peripheral and neuronal insulin resistance in these OVX rats. Our findings suggest that HF diet consumption leads to the elevation of corticosterone and peripheral insulin resistance, which could contribute to neuronal insulin resistance and neuronal stress. Moreover, the estrogen administration improved the insulin sensitivity in peripheral tissue in both male and female rats although the beneficial effect of estrogen administration on insulin receptor function was occurred only in female rat.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของการได้รับเอสโตรเจนต่อการปรับเปลี่ยนที่จุดประสานประสาท
ของสมองส่วนฮิปโปแคมปัสและการส่งสัญญาณของอินซูลินในสมอง
ของหนูขาวที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงเป็นเวลานาน

ผู้เขียน

นางสาววาสนา ปรัชญาสกุล

ปริญญา

วิทยาศาสตร์สุขภาพบัณฑิต (สรีรวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร.ทพญ. สิริพร ฉัตรทิพากร

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ศ.ดร.นพ. นิพนธ์ ฉัตรทิพากร

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ผศ.ดร. อัญชลี พงศ์ชัยเดชา

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

การพัฒนาการเกิดภาวะอ้วนจากการบริโภคอาหารไขมันสูงเป็นเวลานานจะเสริมสร้างไปสู่ภาวะดื้อต่ออินซูลินของเนื้อเยื่อส่วนปลายซึ่งจะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ ภาวะดื้อต่ออินซูลินของเนื้อเยื่อส่วนปลายมีคุณลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการมีภาวะอ้วน ภาวะอินซูลินในเลือดสูง และมีการเพิ่มขึ้นของคอร์ติโคสเตอโรนในพลาสมา ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษาแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างภาวะดื้อต่ออินซูลินของเนื้อเยื่อส่วนปลายและภาวะสูญเสียการรับรู้จดจำ แต่ผลของการบริโภคอาหารไขมันสูงต่อความไวต่อการตอบสนองของอินซูลินในสมองและระดับคอร์ติโคสเตอโรนในสมองก็ยังไม่เป็นที่ชัดเจนมากนัก นอกเหนือไปจากนั้นหลายๆการศึกษา

แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการได้รับเอสโตรเจนต่อความไวต่อการตอบสนองของอินซูลิน อย่างไรก็ตามผลของการได้รับเอสโตรเจนต่อการส่งสัญญาณอินซูลินในสมองของหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงก็ยังไม่มีการศึกษามาก่อน ดังนั้นสมมุติฐานของการศึกษานี้คือ 1) การบริโภคอาหารไขมันสูงสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินในเนื้อเยื่อส่วนปลายและในเซลล์สมอง 2) การได้รับเอสโตรเจนสามารถช่วยยับยั้งการเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินทั้งในเนื้อเยื่อส่วนปลายและในเซลล์สมองซึ่งมีสาเหตุจากการบริโภคอาหารไขมันสูง เพื่อทดสอบสมมุติฐานแรก หนูขาวเพศผู้พันธุ์ Wistar ได้ถูกให้อาหารปกติ (ซึ่งได้พลังงานจากไขมันคิดเป็นร้อยละ 19.7 ของพลังงานทั้งหมด) หรือ อาหารไขมันสูง (ซึ่งได้พลังงานจากไขมันคิดเป็นร้อยละ 59.3 ของพลังงานทั้งหมด) เป็นเวลา 4, 8 หรือ 12 สัปดาห์ เพื่อทดสอบสมมุติฐานที่ 2 หนูทั้งเพศผู้และเพศเมียได้ถูกให้อาหารปกติหรืออาหารไขมันสูงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ หลังจากนั้นหนูแต่ละกลุ่มถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มย่อยซึ่งได้แก่ กลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ , กลุ่มที่ได้รับอาหารปกติร่วมกับเอสโตรเจน , กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับเอสโตรเจน ในกลุ่มที่ได้รับเอสโตรเจนจะได้รับเอสโตรเจนในขนาด 50 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม วันละหนึ่งครั้งทางผิวหนังเป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 30 วัน ภายหลังจากเสร็จสิ้นการทดลองในแต่ละช่วงเวลาดังกล่าว หนูทดลองจะถูกเก็บตัวอย่างเลือดและสมองเพื่อศึกษาถึงภาวะดื้อต่ออินซูลินในเนื้อเยื่อส่วนปลาย และศึกษาถึงหน้าที่การทำงานของอินซูลินในสมองโดยการใช้เทคนิคการบันทึกสัญญาณไฟฟ้าบริเวณ CA1 ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส และ immunoblot technique จากผลการทดลองเราพบว่าภาวะดื้อต่ออินซูลินในเนื้อเยื่อส่วนปลายจะถูกพบภายหลังได้รับอาหารไขมันสูงเป็นเวลา 8 และ 12 สัปดาห์ การเพิ่มขึ้นของระดับ corticosterone ในพลาสมาจะเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 ของการได้รับอาหารไขมันสูง อย่างไรก็ตามระดับ corticosterone ในสมองจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 12 ของการได้รับอาหารไขมันสูง การตอบสนองของอินซูลินในสมองซึ่งถูกแสดงโดยการเหนี่ยวนำให้เกิด long-term depression (LTD) ในบริเวณ CA1 ของสมองส่วนฮิปโปแคมปัส โดยใช้อินซูลิน จะถูกทำให้สูญเสียไปในสัปดาห์ที่ 12 ของการได้รับอาหารไขมันสูง การลดลงของการเหนี่ยวนำให้เกิด LTD โดยใช้อินซูลินนี้จะมีความเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลายอย่างในภาวะดื้อต่ออินซูลินของเนื้อเยื่อส่วนปลาย นอกเหนือไปจากนั้นระดับของ การ phosphorylation ของ IR, IR substrate 1 (IRS-1) และ Akt/PKB ในสมองซึ่งตอบสนองต่ออินซูลินยังลดลงอย่างมีนัยสำคัญภายในสัปดาห์ที่

12 ของการได้รับอาหารไขมันสูง โดยการทดลองนี้ไม่เกี่ยวกับกับการเปลี่ยนแปลงของระดับ IR, IRS-1 และ Akt/PKB โปรตีน ผลการศึกษาเพิ่มเติมของเรายังพบว่า การได้รับเอสโตรเจนยังช่วยเพิ่มความไวต่อการตอบสนองของอินซูลินในเนื้อเยื่อส่วนปลายให้ดีขึ้นทั้งในหนูเพศผู้และเพศเมียที่ได้รับอาหารไขมันสูง อย่างไรก็ตาม การได้รับอาหารไขมันสูงยังเป็นสาเหตุให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินในสมองทั้งในหนูเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งการได้รับเอสโตรเจนสามารถช่วยแก้ไขการสูญเสียหน้าที่การทำงานและการส่งสัญญาณของอินซูลินในสมองเฉพาะในหนูเพศเมียที่ได้รับอาหารไขมันสูงเท่านั้น นอกเหนือไปจากนั้น เราได้ใช้โมเดลการผ่าตัดรังไข่เพื่อยืนยันถึงผลของการขาดเอสโตรเจนในหนูเพศเมียที่ได้รับอาหารปกติ ผลการทดลองของเราแสดงให้เห็นว่าหนูที่ได้รับการผ่าตัดรังไข่จะเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินของเนื้อเยื่อส่วนปลายและมีการสูญเสียความสามารถของอินซูลินในการเหนี่ยวนำให้เกิด LTD ซึ่งการได้รับเอสโตรเจนจะมีประโยชน์ต่อการช่วยรักษาภาวะดื้อต่ออินซูลินในเนื้อเยื่อส่วนปลายและในสมองของหนูที่ได้รับการผ่าตัดรังไข่ จากผลการทดลองทั้งหมดของเราสามารถชี้แนะได้ว่า การบริโภคอาหารไขมันสูงสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับคอร์ติโคสเตอโรนและเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินของเนื้อเยื่อส่วนปลายซึ่งสามารถทำให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลินในสมองและเกิดภาวะเครียดในสมองได้ นอกจากนี้การได้รับเอสโตรเจนยังสามารถช่วยเพิ่มความไวต่อการตอบสนองของอินซูลินในเนื้อเยื่อส่วนปลายทั้งในหนูเพศผู้และเพศเมีย แต่ผลดีของการได้รับเอสโตรเจนต่อหน้าที่การทำงานของอินซูลินในสมองนั้นจะพบได้เฉพาะในหนูเพศเมียเท่านั้น