

ผลของการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตตินต่อความเครียดออกซิเดชันในสมอง และการเรียนรู้จดจำในหนูอ้วน

Effects of Atorvastatin on Brain Oxidative Stress and Cognitive Function in Obese Rats

บุศรินทร์ อรุณศักดิ์ (Busarin Arunsak)* ดร.วาสนา ปรัชญาสกุล (Dr.Wasana Pratchayasakul)**

พัชรียา อัมพฤษ (Patchareeya Amput)*** ดร.ศิริพงษ์ ปาลี (Dr.Siripong Palee)****

ดร.นิพนธ์ นัตริทิพากร (Dr.Nipon Chattipakorn)***** ดร.สิริพร นัตริทิพากร (Dr.Siriporn Chattipakorn)*****

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของยาอะทอร์วาสแตตินต่อความเครียดออกซิเดชันในสมองและการเรียนรู้จดจำในหนูที่มีภาวะอ้วน โดยการศึกษาที่ใช้หนูขาวเพศเมีย (n=15) โดยแบ่งให้ได้รับอาหารปกติ (n=5) หรืออาหารที่มีไขมันสูง (n=10) เป็นระยะเวลา 15 สัปดาห์ ในสัปดาห์ที่ 13 หนูในกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงจะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ได้รับยาหลอก และกลุ่มที่ฉีดยาอะทอร์วาสแตติน (40 mg/kg/day; s.c.) เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากนั้น ค่าเมแทบอลิก ความเครียดออกซิเดชันในสมอง การเรียนรู้จดจำจะถูกวัด จากการศึกษาพบว่าหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีภาวะอ้วน มีการเพิ่มขึ้นของระดับคอเลสเตอรอลในเลือด มีการเพิ่มขึ้นของความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส และมีการสูญเสียการเรียนรู้จดจำ เป็นที่น่าสนใจว่ายาอะทอร์วาสแตตินมีประสิทธิภาพในการลดน้ำหนักตัว ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ลดความเครียดออกซิเดชันภายในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส ซึ่งส่งผลให้ฟื้นฟูการเรียนรู้จดจำในหนูที่มีภาวะอ้วน

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effects of atorvastatin on brain oxidative stress and cognitive function in obese rats. Fifteen female Wistar rats (n=15) were fed with either normal diet (ND; n=5) or high-fat diet (HFD; n=10) for 15 weeks. At week 13, HFD rats were divided into 2 groups to receive either normal saline (HFV) or atorvastatin (HFA) (40 mg/kg/day; s.c.) for an additional 3 weeks. After that, metabolic parameters, brain oxidative stress and cognitive function were determined. We found that HFV rats developed obesity, increased plasma cholesterol levels, increased hippocampal reactive oxygen species (ROS) levels and impaired cognitive function. Interestingly, atorvastatin effectively reduced body weight, plasma cholesterol level, hippocampal ROS levels, which led to improve cognitive function in high-fat fed rats.

คำสำคัญ: ภาวะอ้วน ยาอะทอร์วาสแตติน การเรียนรู้จดจำ

Keywords: Obesity, Atorvastatin, Cognitive function

* นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาสัตววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

*** นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**** อาจารย์ประจำ ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมสาขาโรคทางไฟฟ้าของหัวใจ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

***** ศาสตราจารย์ สาขาวิชาสัตววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

***** ศาสตราจารย์ สาขาวิชาประสาทวิทยาศาสตร์-ชีววิทยาช่องปาก คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทนำ

ภาวะอ้วน (Obesity) นับว่าเป็นปัญหาสุขภาพสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อผู้คนนับล้านทั่วโลก (Bhurosy and Jeewon, 2014) และยังเป็นสาเหตุหลักของโรคต่างๆ มากมาย อาทิเช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease), โรคไขมันในเลือดผิดปกติ (dyslipidemia), โรคความดันในเลือดสูง (hypertension), ภาวะอ้วนลงพุง หรือโรคเมตาบอลิกซินโดรม (metabolic syndrome) และกลุ่มโรคที่มีการเสื่อมของระบบประสาท (neurodegenerative diseases) (Pi-Sunyer, 2009) สาเหตุหลักสำคัญที่ทำให้เกิดภาวะอ้วน คือ การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูง (Oldham, 2011) ซึ่งทำให้มีการเพิ่มขึ้นของการสะสมของไขมันในเลือด (hyperlipidemia) และในเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) ภายในร่างกาย โดยการเพิ่มขึ้นของไขมันนี้จะส่งเสริมให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) และความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ในร่างกายได้ ทั้งยังส่งผลให้ร่างกายเกิดการอักเสบขึ้น (inflammation) (Fernandez-Sanchez et al., 2011; Ye, 2013; Hardy et al., 2012) นอกจากนี้จากการศึกษาที่ผ่านมาของทางทีมผู้วิจัย พบว่า หนูขาวที่กินอาหารไขมันสูงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ไม่เพียงแต่จะทำให้เกิดการสะสมของไขมันในเลือด และในเนื้อเยื่อไขมันภายในร่างกายเท่านั้น แต่ยังส่งผลให้เกิดความเครียดออกซิเดชันในสมอง (brain oxidative stress) ทำให้เกิดการเรียนรู้จดจำในสมองที่แย่งอีกด้วย (Chunchai et al., 2017; Chunchai et al., 2018; Pintana et al., 2013; Pipatpiboon et al., 2013; Pratchayasakul et al., 2011) ดังนั้นการรักษาโดยการมุ่งเน้นเพื่อลดระดับไขมันในเลือดและเนื้อเยื่อไขมัน จึงน่าจะส่งผลดีต่อการเพิ่มการเรียนรู้จดจำในหนูที่มีภาวะอ้วน

สแตติน (Statins) เป็นกลุ่มยาลดไขมันในกระแสเลือด (lipid-lowering therapy) ที่นิยมใช้ในผู้ป่วยโรคไขมันในเลือดสูง (hyperlipidemia) โดยสแตตินทำหน้าที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA reductase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในขั้นกำหนดอัตรา (rate limiting enzyme) ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน HMG CoA ไปเป็นสารจำพวกคอเลสเตอรอล การยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวนี้จึงส่งผลให้เกิดการสังเคราะห์ไขมันในตับลดลง และส่งผลให้ระดับไขมันในเลือดลดลง ยาอะทอร์วาสแตติน (Atorvastatin) ถือเป็นยาในกลุ่มสแตตินที่พบว่ามีฤทธิ์ในการลดไขมันในเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพที่สุด (Stancu and Sima, 2011) นอกจากนี้ยังพบว่า ยาอะทอร์วาสแตตินมีฤทธิ์ในการควบคุมระดับกลูโคสในร่างกาย (Suzuki et al., 2005; Tanaka, 2011) และสามารถลดความเครียดออกซิเดชันในอวัยวะอื่นๆ ได้ อาทิเช่น หัวใจและสมอง (Kishi et al., 2008; Li et al., 2010; Sugiyama et al., 2005) ภายในสมองพบว่า ยาอะทอร์วาสแตตินสามารถลดความเครียดออกซิเดชัน และลดความผิดปกติในการเรียนรู้จดจำของหนูขาวในขณะที่มีการอุดตันของหลอดเลือดสมองได้ (ischemic stroke) (Yang et al., 2015) มากไปกว่านั้นการศึกษาที่ผ่านมาของทีมผู้วิจัย พบว่าการให้ยาอะทอร์วาสแตติน ในหนูขาวที่ถูกทำให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 (type I diabetes) สามารถลดพยาธิสภาพในสมองได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Pratchayasakul et al., 2018) โดยบ่งชี้ได้จาก สามารถลดความเครียดออกซิเดชันในสมอง ลดความผิดปกติของไมโทคอนเดรียในสมอง (brain mitochondria dysfunction) และลดขบวนการตายของเซลล์สมอง (brain apoptosis) ได้ แต่อย่างไรก็ตามผลของยาอะทอร์วาสแตตินต่อความเครียดออกซิเดชันในสมองและการเรียนรู้จดจำในหนูที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารไขมันสูงยังไม่มีการศึกษามาก่อน ดังนั้นในการศึกษานี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของยาอะทอร์วาสแตตินต่อความเครียดออกซิเดชันในสมองและการเรียนรู้จดจำในหนูที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูง โดยทางผู้วิจัยตั้งสมมติฐานว่า ยาอะทอร์วาสแตตินสามารถลดความเครียดออกซิเดชันในสมอง อีกทั้งยังสามารถฟื้นฟูการเรียนรู้จดจำของหนูที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูงได้

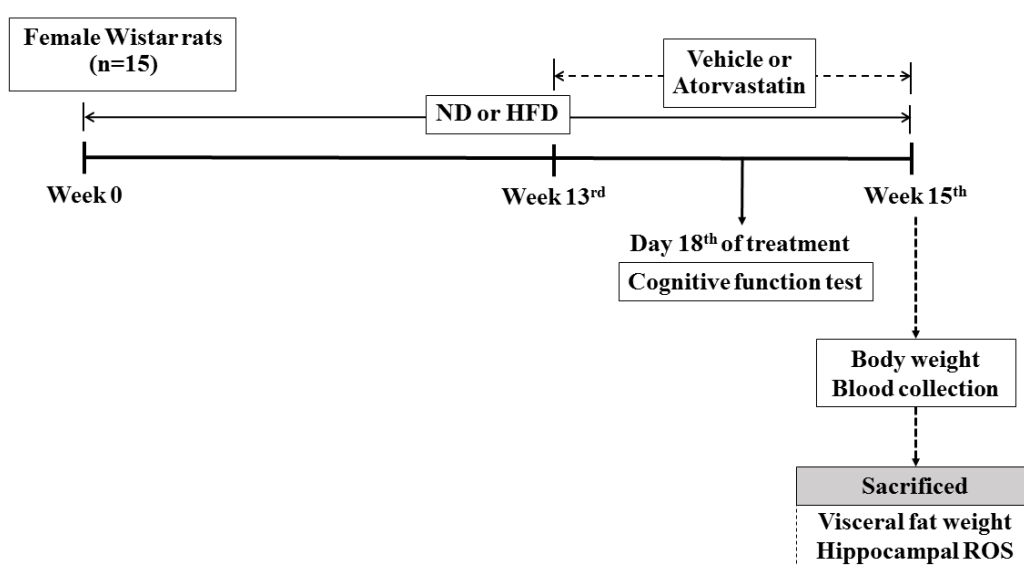
วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาผลของยาอะทอร์วาสแตติน ต่อความเครียดออกซิเดชันในสมองและการเรียนรู้จำของหนูที่มีภาวะอ้วนจากการถูกเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูง

วิธีการวิจัย

การเตรียมสัตว์ทดลอง

หนูขาวเพศเมียจำนวน 15 ตัว จากบริษัท โนมูระสยามอินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ประเทศไทย อายุ 6-8 สัปดาห์ และน้ำหนัก 200-220 กรัม ถูกเลี้ยงเพื่อปรับตัวให้ชินกับสภาพแวดล้อมเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นหนูถูกแบ่งกลุ่มด้วยการสุ่มออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารปกติ (Normal diet; ND; n=5) โดยมีปริมาณไขมันประกอบอยู่คิดเป็นร้อยละ 19.77 ของพลังงานที่ได้รับจากอาหารทั้งหมด และกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีไขมันสูง (High-fat diet; HFD; n=10) โดยมีปริมาณไขมันประกอบอยู่คิดเป็นร้อยละ 59.28 ของพลังงานที่ได้รับจากอาหารทั้งหมด โดยหนูทั้งสองกลุ่มการทดลองได้รับอาหารเป็นระยะเวลา 15 สัปดาห์ ในสัปดาห์ที่ 13 หนูที่ได้รับอาหารปกติได้รับการฉีดสารละลาย 0.9% normal saline (Vehicle; NDV) เข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous injection; s.c.) ทุกวัน เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ส่วนหนูในกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีไขมันสูงถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ประกอบด้วย กลุ่มที่ได้รับการฉีดสารละลาย 0.9% normal saline (Vehicle; HFV; n=5) เข้าใต้ผิวหนังทุกวัน เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ และกลุ่มที่ได้รับการฉีดด้วยยาอะทอร์วาสแตติน 40 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนู (Atorvastatin group; HFA; n=5, Sandoz Company, Ljubljana, Slovenia) เข้าใต้ผิวหนังทุกวัน เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ หนูทุกตัวถูกบันทึกน้ำหนักตัว (body weight) เป็นรายสัปดาห์ และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาของการได้รับยา หนูทุกตัวถูกทดสอบกระบวนการเรียนรู้จำโดยใช้ Morris water maze test (MWM) หลังจากนั้นหนูทุกตัวถูกงดอาหารเป็นระยะเวลา 5 ชั่วโมง เพื่อเก็บตัวอย่างเลือดจากปลายหาง นำมาใช้ตรวจระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และขั้นตอนสุดท้ายของการศึกษาหนูทุกตัวถูกการุณฆมาตเพื่อเก็บไขมันในช่องท้อง (visceral fat) และเก็บเนื้อเยื่อสมองส่วนฮิปโปแคมปัสเพื่อตรวจความเครียดออกซิเดชัน โดยวิธีการทดลองทั้งหมดสรุปไว้ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 แผนภาพสรุปวิธีการทดลอง

การวัดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด

วิเคราะห์ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดด้วย colorimetric assay kit (ERBA Mannheim, Mannheim, Germany)

การวัดระดับความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส (Hippocampal reactive oxygen species;

Hippocampal ROS)

ภายหลังจากการการุณยฆาต สมองส่วนฮิปโปแคมปัสถูกแยกและใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย MSE หลังจากนั้นสารละลายที่มีเนื้อเยื่อสมองส่วนฮิปโปแคมปัสถูกบดขยี้ให้เป็นกลายเป็นเนื้อเดียวกันและปั่นแยกเพื่อนำ supernatant มาวัดโปรตีนโดยใช้ Bicinchoninic (BCA) ภายหลังจากวัดด้วยเครื่อง microplate reader ความเข้มข้นของโปรตีนถูกปรับให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 mg/ml เพื่อนำไปวิเคราะห์หาระดับความเครียดออกซิเดชัน โดยรายละเอียดการวัดความเครียดออกซิเดชันเป็นไปตามงานวิจัยก่อนหน้าของทีมนักวิจัย (Pintana et al., 2013) โดยสรุปโปรตีนที่ได้ถูกกระตุ้นด้วยสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide; H₂O₂) เพื่อเร่งให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นถูกเชื่อมด้วยสาร Dichloro-hydrofluorescein diacetate (DCFH-DA) ความเข้มข้น 2 μ M ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เปลี่ยน DCFH-DA ไปเป็น DCF ภายหลังจากการอ่านด้วย fluorescent microplate reader (Bio-tek Instrument, Inc. Winooski, Vermont, USA) พบว่าการเพิ่มขึ้นของ DCF หมายถึงการเพิ่มขึ้นของความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส

การทดสอบกระบวนการเรียนรู้และจดจำของสมองส่วนฮิปโปแคมปัสโดยใช้ Morris water maze test (MWMT)

การทดสอบโดยใช้ Morris water maze test ดัดแปลงมาจากการศึกษาก่อนหน้านี้ (Voehees and Williams, 2006) ในการศึกษาครั้งนี้ Morris water maze test ใช้อ่างน้ำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 200 เซนติเมตร และความสูง 50 เซนติเมตร ภายในอ่างน้ำมีฐานโปร่งใสวงไว้ใต้ผิวน้ำ หนูขาวทุกตัวถูกปล่อยลงในอ่างที่ตำแหน่งและทิศทางแตกต่างกันเพื่อหาฐานโปร่งใสโดยใช้เวลา 2 นาที ทิศทางที่ปล่อยหนูลงในอ่างน้ำแตกต่างกันในแต่ละวัน อาทิเช่น ทิศเหนือ (North; N) ทิศตะวันออก (East; E) และทิศทางเพิ่มเติม คือ ทิศตะวันออกเฉียงใต้ (North west; NW) และทิศตะวันออกเฉียงใต้ (South east; SE) หนูทุกตัวถูกปล่อยลงอ่างน้ำติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน

ในวันที่ 6 ของการทดสอบ ฐานโปร่งใสใต้ผิวน้ำถูกนำออก หนูทุกตัวถูกปล่อยจากทิศใหม่ คือ ทิศตะวันออกเฉียงเหนือ (North east; NE) และให้หนูว่ายน้ำสำรวจ 1 นาที 30 วินาที ผู้วิจัยวัดระยะเวลาที่หนูใช้ในพื้นที่เป้าหมาย (time spent in the target quadrant) และนำมาวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลทั้งหมดนำเสนอในรูปแบบ mean \pm SEM โดยเปรียบเทียบข้อมูลแต่ละกลุ่มด้วยสถิติ One-way ANOVA followed by Fisher's LSD post-hoc test ข้อมูลทั้งหมดถูกวัดโดยระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

ผลของการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตตินต่อน้ำหนักหนูและไขมันในช่องท้องในหนูขาวที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารไขมันสูง

หนูขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง (HFV) มีการเกิดภาวะอ้วนโดยบังชี้ได้จากการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของน้ำหนักตัวและไขมันในช่องท้องเมื่อเทียบกับหนูขาวที่ได้รับอาหารปกติ (NDV) เมื่อได้รับการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตติน พบว่า หนูขาวในกลุ่มนี้ (HFA) มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของน้ำหนักตัวและไขมันในช่องท้องเมื่อเทียบกับหนูขาวที่กินอาหารไขมันสูง (HFV) (ดังแสดงในตารางที่ 1)

ผลของการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตตินต่อระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ในหนูขาวที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูง

หนูขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง (HFV) มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับคอเลสเตอรอลในเลือดเมื่อเทียบกับหนูขาวที่ได้รับอาหารปกติ (NDV) เมื่อได้รับการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตติน พบว่า หนูขาวในกลุ่มนี้ (HFA) มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของระดับคอเลสเตอรอลในเลือดเมื่อเทียบกับหนูขาวที่กินอาหารไขมันสูง (HFV) (ดังแสดงในตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตตินต่อน้ำหนักตัวหนู ไขมันในช่องท้อง และระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูขาวที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูง

Parameters	Treatment		
	NDV	HFV	HFA
Body weight (g)	228.50 ± 6.76	334.79 ± 15.00 [*]	281.87 ± 7.07 [†]
Visceral weight (g)	12.11 ± 0.77	24.23 ± 1.76 [*]	15.22 ± 0.95 [†]
Plasma cholesterol (mg/dl)	104.58 ± 21.18	155.48 ± 43.55 [*]	111.51 ± 21.16 [†]

หมายเหตุ: *p<0.05 vs. NDV, †p<0.05 vs. HFV

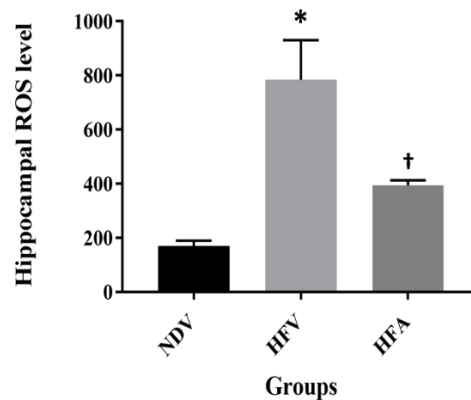
NDV: normal diet-fed rats with vehicle treatment

HFV: high-fat diet-fed rats with vehicle treatment

HFA: high-fat diet-fed rats with atorvastatin treatment

ผลของการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตตินต่อระดับความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูขาวที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูง

หนูขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง (HFV) มีการเพิ่มขึ้นของระดับความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสโดยบ่งชี้ได้จากมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับ ROS ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสเมื่อเทียบกับหนูขาวที่ได้รับอาหารปกติ (NDV) เมื่อได้รับการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตติน พบว่า หนูขาวในกลุ่มนี้ (HFA) มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของระดับ ROS ในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสเมื่อเทียบกับหนูขาวที่กินอาหารไขมันสูง (HFV) (ดังแสดงในรูปที่ 2)



รูปที่ 2 ผลของการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตตินต่อระดับความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูขาวที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูง

หมายเหตุ: * $p < 0.05$ vs. NDV, † $p < 0.05$ vs. HFV

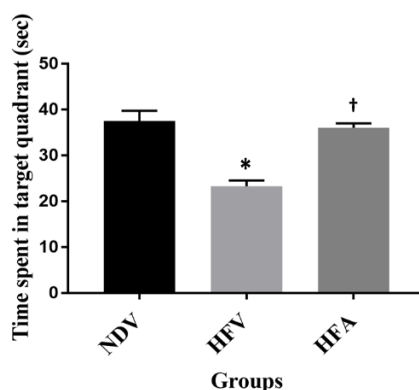
NDV: normal diet-fed rats with vehicle treatment

HFV: high-fat diet-fed rats with vehicle treatment

HFA: high-fat diet-fed rats with atorvastatin treatment

ผลของการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตตินต่อกระบวนการเรียนรู้จดจำของสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนูขาวที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูง

หนูขาวในกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง (HFV) มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของการเรียนรู้จดจำ โดยบ่งชี้ได้จากการลดลงของระยะเวลาในพื้นที่เป้าหมาย (time spent in the target quadrant) จากการทดสอบด้วย Morris water maze test เมื่อเทียบกับหนูขาวที่ได้รับอาหารปกติ (NDV) เมื่อได้รับการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตติน พบว่า หนูขาวในกลุ่มนี้ (HFA) มีการฟื้นฟูของกระบวนการเรียนรู้และจดจำโดยบ่งชี้ได้จากการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระยะเวลาในพื้นที่เป้าหมาย เมื่อเทียบกับหนูที่กินอาหารไขมันสูง (HFV) (ดังแสดงในรูปที่ 3)



รูปที่ 3 ผลของการรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตตินต่อกระบวนการเรียนรู้และจดจำของสมองส่วนฮิปโปแคมปัสของหนู
ขาวที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูง

หมายเหตุ: * $p < 0.05$ vs. NDV, † $p < 0.05$ vs. HFV

NDV: normal diet-fed rats with vehicle treatment

HFV: high-fat diet-fed rats with vehicle treatment

HFA: high-fat diet-fed rats with atorvastatin treatment

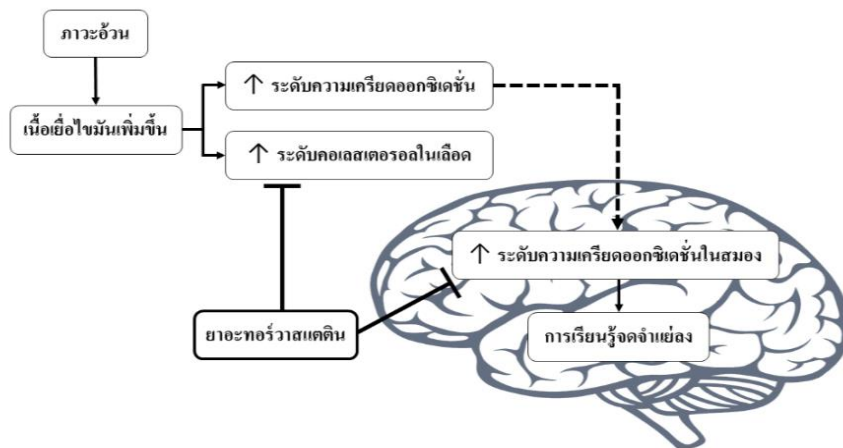
อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาถึงผลของยาอะทอร์วาสแตตินต่อหนูที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันสูงสามารถสรุปได้ดังนี้ 1) การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูงเป็นระยะเวลานาน ทำให้เกิดภาวะอ้วน ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของระดับคอเลสเตอรอลในเลือดซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส และการสูญเสียการเรียนรู้จดจำ; 2) การรักษาด้วยยาอะทอร์วาสแตตินมีผลช่วยลดภาวะอ้วน และลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยาอะทอร์วาสแตตินยังมีผลดีต่อสมองโดยช่วยลดความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส ซึ่งส่งผลทำให้ช่วยฟื้นฟูการเรียนรู้จดจำในหนูที่มีภาวะอ้วน

ในการศึกษานี้ ทางทีมวิจัยพบว่า การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูงเป็นระยะเวลา 15 สัปดาห์ ส่งผลทำให้มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวหนู ไขมันในช่องท้อง และระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูงขึ้น การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า หนูขาวที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหารที่มีไขมันสูงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของระบบเผาผลาญในร่างกาย โดยมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวและไขมันในช่องท้อง รวมถึงมีการเปลี่ยนแปลงของระบบเมแทบอลิซึมในร่างกาย ส่งผลอาหารที่มีไขมันสูงนั้นยังส่งผลให้เนื้อเยื่อไขมันในร่างกายเพิ่มขึ้น โดยเนื้อเยื่อไขมันจะสร้างสารอะดิโปไคน์ขึ้น ส่งผลให้เกิดการสร้างสารอนุมูลอิสระและความเครียดออกซิเดชันในร่างกายส่วนปลาย เกิดการสร้างสารกระตุ้นการอักเสบ (inflammatory cytokines) และเกิดการอักเสบขึ้นทั่วร่างกาย (Fernandez-Sanchez et al., 2011; Ye, 2013; Hardy et al., 2012) ยิ่งไปกว่านั้น การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการเพิ่มขึ้นของความเครียดออกซิเดชันในร่างกายส่วนปลาย ยังส่งผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระ และความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส โดยสมองส่วนนี้มีหน้าที่ในกระบวนการเรียนรู้และจดจำ จึงส่งผลทำให้การเรียนรู้และจดจำในหนูที่มีภาวะอ้วนแย่ลง (Chunchai et al., 2017; Pintana et al., 2012; Pratchayasakul et al., 2011; Pratchayasakul et al., 2015)

ยาอะเทอร์วาสแตติน ถือเป็นยาในกลุ่มของสเตตินที่นิยมใช้ทั่วไป โดยพบว่ายาอะเทอร์วาสแตตินมีฤทธิ์ในการลดไขมันในเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Stancu and Sima, 2011) นอกจากนี้การศึกษาที่ผ่านมาซึ่งพบว่ายาอะเทอร์วาสแตตินมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) และต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) (Sezer et al., 2011) นอกจากนี้การศึกษาก่อนหน้านี้ของทีมผู้วิจัยพบว่า การรักษาด้วยยาอะเทอร์วาสแตติน 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนู เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในกลุ่มหนูขาวที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 1 สามารถลดพยาธิวิทยาในสมองได้อย่างมีประสิทธิภาพ อาทิเช่น สามารถลดความเครียดออกซิเดชันในสมอง ลดความผิดปกติของไมโทคอนเดรียในสมอง (brain mitochondria dysfunction) และลดขบวนการตายของเซลล์สมอง (brain apoptosis) (Prachayasakul et al., 2018) ซึ่งจากผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับผลการศึกษาของเราที่ว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับการรักษาด้วยยาอะเทอร์วาสแตตินสามารถลดระดับความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัสได้ ส่งผลให้เกิดการฟื้นฟูการเรียนรู้และจดจำในหนูที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันเป็นระยะเวลานาน โดยสามารถแสดงได้จากการเพิ่มขึ้นของระยะเวลาที่หนูใช้ในพื้นที่เป้าหมาย (time spent in the target quadrant) จากการทดสอบกระบวนการเรียนรู้และจดจำของสมองส่วนฮิปโปแคมปัสโดยใช้ Morris water maze test โดยกลไกของการรักษาด้วยยาอะเทอร์วาสแตตินต่อภาวะอ้วน ระดับคอเลสเตอรอล ความเครียดออกซิเดชันในสมอง และการเรียนรู้จดจำ ในหนูที่มีภาวะอ้วนจากการเหนี่ยวนำด้วยอาหารที่มีไขมันเป็นระยะเวลานานสามารถสรุปได้ดังรูปที่ 4

จากทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูงทำให้เกิดภาวะอ้วน และร่วมกับมีการเพิ่มขึ้นของระดับคอเลสเตอรอลในเลือดซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส ทำให้เกิดการสูญเสียการเรียนรู้จดจำ การรักษาด้วยยาอะเทอร์วาสแตตินมีผลช่วยลดภาวะอ้วน และลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดทั้งยังช่วยลดความเครียดออกซิเดชันในสมองส่วนฮิปโปแคมปัส ซึ่งส่งผลทำให้ช่วยฟื้นฟูการเรียนรู้จดจำในหนูที่มีภาวะอ้วนได้



รูปที่ 4 สรุปสรุปรวมผลของยาอะเทอร์วาสแตตินต่อความเครียดออกซิเดชันในสมอง และการเรียนรู้จดจำในหนูอ้วน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.): RTA6080003(SC), RSA6180071(WP), RSA6180056(SP); สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) (NC) และ Chiang Mai University Center Excellent Award (NC)

เอกสารอ้างอิง

- Bhurosy T, Jeewon R. Overweight and obesity epidemic in developing countries: a problem with diet, physical activity, or socioeconomic status. *ScientificWorldJournal* 2014; 2014: 1-7.
- Chunchai T, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. The possible factors affecting microglial activation in cases of obesity with cognitive dysfunction. *Metab Brain Dis* 2017; 33(3): 615-35.
- Chunchai T, Thunapong W, Yasom S, Wanchai K, Eaimworawuthikul S, Metzler G, et al. Decreased microglial activation through gut-brain axis by prebiotics, probiotics, or synbiotics effectively restored cognitive function in obese-insulin resistant rats. *J Neuroinflammation* 2018; 15(1): 1-15.
- Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-González A, Esquivel-Chirino C, et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci* 2011; 12(5): 3117-32.
- Hardy OT, Czech MP, Corvera S. What causes the insulin resistance underlying obesity? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2012; 19(2): 81-7.
- Kishi T, Hirooka Y, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K. Atorvastatin reduces oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens* 2008; 30(1): 3-11.
- Li J, Sun YM, Wang LF, Li ZQ, Pan W, Cao HY. Comparison of effects of simvastatin versus atorvastatin on oxidative stress in patients with coronary heart disease. *Clin Cardiol* 2010; 33(4): 222-7.
- Oldham S. High Fat Diet Induced Obesity and Nutrient Sensing TOR Signaling. *Trends Endocrinol Metab* 2011; 22(2): 45-52.
- Pintana H, Apaijai N, Pratchayasakul W, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Effects of metformin on learning and memory behaviors and brain mitochondrial functions in high fat diet induced insulin resistant rats. *Life Sci* 2012; 91(11-12): 409-14.
- Pintana H, Apaijai N, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. DPP-4 inhibitors improve cognition and brain mitochondrial function of insulin-resistant rats. *J Endocrinol* 2013; 218(1): 1-11
- Pipatpiboon N, Pintana H, Pratchayasakul W, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. DPP4-inhibitor improves neuronal insulin receptor function, brain mitochondrial function and cognitive function in rats with insulin resistance induced by high-fat diet consumption. *Eur J Neurosci* 2013; 37(5): 839-49.
- Pi-Sunyer X. The medical risks of obesity. *Postgrad Med* 2009; 121(6): 21-33.
- Pratchayasakul W, Kerdphoo S, Petsophonakul P, Pongchaidecha A, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Effects of high-fat diet on insulin receptor function in rat hippocampus and the level of neuronal corticosterone. *Life Sci* 2011; 88(13-14): 619-27.
- Pratchayasakul W, Sa-Nguanmoo P, Sivasinprasasn S, Pintana H, Tawinvisan R, Sripecthwandee J, et al. Obesity accelerates cognitive decline by aggravating mitochondrial dysfunction, insulin resistance and synaptic dysfunction under estrogen-deprived conditions. *Horm Behav* 2015; 72: 68-77.
- Pratchayasakul W, Thongnak LO, Chattipakorn K, Lungaphin A, Pongchaidecha A, Satjaritanun P, et al. Atorvastatin and insulin equally mitigate brain pathology in diabetic rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2018; 342: 79-85.



- Sezer ED, Sozmen EY, Nart D, Onat T. Effect of atorvastatin therapy on oxidant-antioxidant status and atherosclerotic plaque formation. *Vasc Health Risk Manag* 2011; 7: 333-43.
- Stancu C, Sima A. Statins: mechanism of action and effects. *J Cell Mol Med* 2001; 5(4): 378-87.
- Sugiyama M, Ohashi M, Takase H, Sato K, Ueda R, Dohi Y. Effects of atorvastatin on inflammation and oxidative stress. *Heart Vessels* 2005; 20(4): 133-6.
- Suzuki M, Kakuta H, Takahashi A, Shimano H, Tada-Iida K, Yokoo T, et al. Effects of atorvastatin on glucose metabolism and insulin resistance in KK/Ay mice. *J Atheroscler Thromb* 2005; 12(2): 77-84.
- Tanaka M. Beneficial effect of atorvastatin on renal function in patients with type 2 diabetes. *J Int Med Res* 2011; 39(4): 1504-12.
- Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat Protoc* 2006; 1(2): 848-58.
- Yang J, Pan Y, Li X, Wang X. Atorvastatin attenuates cognitive deficits through Akt1/caspase-3 signaling pathway in ischemic stroke. *Brain Res* 2015; 1629: 231-9.
- Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med* 2013; 7(1): 14-24.