

**17 β -ESTRADIOL MEDIATED NEUROPROTECTION
AFTER SPINAL CORD INJURY IN RATS REQUIRED
HSP27 UPREGULATION**

PIMONPORN CHAOVIPOCH

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (ANATOMY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2006**

**ISBN 974-04-7252-4
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

**ฮอร์โมนอีสโตรเจนป้องกันการทำลายระบบประสาทที่เกิดจากการบาดเจ็บของไขสันหลังในหนู
แรทโดยการเพิ่มปริมาณโปรตีน Hsp27 (17 β -ESTRADIOL MEDIATED NEUROPROTECTION
AFTER SPINAL CORD INJURY IN RATS REQUIRED HSP27 UPREGULATION)**

พิมพ์พร เชาวนี่ไวพจน์ 4436677 SCAN/D

ปร.ด. (กายวิภาคศาสตร์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : สุขุมล จงธรรมคุณ, Ph.D., ปิยะรัตน์ โกวิททรงศ์ Ph.D.,
CANDACE L FLOYD, Ph.D.

บทคัดย่อ

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่า ฮอร์โมนอีสโตรเจนสามารถออกฤทธิ์ป้องกันการทำลายระบบประสาทในภาวะต่างๆ เช่นภาวะขาดเลือด การบาดเจ็บที่สมองและไขสันหลัง แต่เรายังไม่ทราบแน่ชัดถึงกลไกการออกฤทธิ์ การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมนอีสโตรเจน และภาวะชราภาพต่อการทำงานของระบบประสาท การตายของเซลล์ประสาท และการคงเหลือของ white matter หลังได้รับบาดเจ็บ รวมทั้งผลของฮอร์โมนอีสโตรเจนต่อเพิ่มปริมาณโปรตีน Hsp27 การให้ความร้อนสามารถกระตุ้นโปรตีน Hsp27 ในเซลล์ SHSY5Y มีปริมาณเพิ่มขึ้น และการเพิ่มปริมาณ Hsp27สามารถป้องกันการตายของเซลล์จากการได้รับ H₂O₂ แต่การปกป้องนี้จะสูญเสียไปเมื่อได้รับ Hsp27 antibody การศึกษาในหนูแรทแรกเกิดพบว่าในปมประสาทมีโปรตีน Hsp27 น้อยมาก การบาดเจ็บที่เส้นประสาทจะทำให้โปรตีน Hsp27 เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ แต่กลับพบว่าโปรตีนนี้เพิ่มขึ้นสูงมากในหนูโตเต็มวัย ได้ทำการศึกษาผลของฮอร์โมนอีสโตรเจนต่อการบาดเจ็บของไขสันหลังในหนูโตเต็มวัยและหนูแก่อายุ 1 ปี โดยได้ทำการตัดรังไข่และฝังแคปซูลที่บรรจุอีสโตรเจนขนาด 180 μ g/ml เมื่อได้รับอีสโตรเจนเป็นเวลา 7 วันแล้วจะทำการบาดเจ็บไขสันหลังที่ระดับ T7-8 หลังจากนั้นหนูทั้งหมดจะได้รับการทดสอบ BBB locomotor test และเก็บตัวอย่างไขสันหลังและปมประสาทที่ 1, 7 และ 21 วันหลังการบาดเจ็บเพื่อนำมาศึกษาการมีชีวิตรอดและการตายของเซลล์ประสาท การคงเหลือของ white matter และการแสดงออกของ Hsp27, Hsp60 และ estrogen receptor (ER)

จากการศึกษาพบว่าอีสโตรเจนช่วยเพิ่มการคงเหลือของ white matter ลดการตายของเซลล์ประสาทโดยวิธี apoptosis ทั้งในหนูโตเต็มวัยและแก่ เพิ่มการแสดงออกของ Hsp27 ในหนูโตเต็มวัย ส่งเสริมให้การเคลื่อนไหวของขาหลังดีขึ้นซึ่งมีความเกี่ยวเนื่องกับการหลงเหลืออยู่ของ white matter อีสโตรเจนในร่างกายของหนูโตเต็มวัยก็สามารถปกป้องระบบประสาทเช่นเดียวกัน แต่ไม่มีผลในหนูอายุ 1 ปี การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าอีสโตรเจนสามารถปกป้องเซลล์ประสาทจากการบาดเจ็บที่ไขสันหลังได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งในวัยสูงอายุ นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลสนับสนุนว่าฮอร์โมนอีสโตรเจนออกฤทธิ์ปกป้องระบบประสาทโดยไปเพิ่มปริมาณ Hsp27

17 β -ESTRADIOL MEDIATED NEUROPROTECTION AFTER SPINAL CORD INJURY IN RATS REQUIRED HSP27 UPREGULATION

PIMPNPORN CHAOVIPOCH 4436677 SCAN/D

Ph.D.(ANATOMY)

THESIS ADVISORS: SUKUMAL CHONGTHAMMAKUN, Ph.D., PIYARAT GOVITRAPONG, Ph.D., CANDACE L FLOYD, Ph.D.

ABSTRACT

There is increasing evidence that the ovarian hormone 17 β -estradiol exerts neuroprotection in animal models of central nervous system injury including ischemia, brain injury and, more recently, spinal cord injury (SCI). However, the mechanisms of estrogen-mediated neuroprotection are poorly understood. Recent epidemiological trends suggest that there are more SCI in elderly women but the neuroprotective potential of estrogen has not been elucidated. The objectives of this study were to evaluate a) the effects of 17 β -estradiol on cell survival and heat shock protein27 (Hsp27) expression in SHSY5Y cells and injured rats, b) The effects of 17 β -estradiol and reproductive aging on motor function, neuronal death, and white matter sparing after SCI. Heat stress induced Hsp27 upregulation and showed strong cytoprotective effects on H₂O₂ induced cell death in SHSY5Y cells and this benefit was abolished by Hsp27 antibody treatment. The basal level of Hsp27 in neonatal dorsal root ganglia was very low, while nerve injury resulted in gradually upregulation of Hsp27. In contrast, the expression of Hsp27 was relatively high in adult DRG and it was highly upregulated after injury.

Two month-old or 1 year-old female rats were ovariectomized and implanted with a silastic capsule containing 180 μ g/ml of 17 β -estradiol or vehicle. Complete crush SCI at T8-9 was performed 1 week later. The Basso, Beattie, Bresnahan (BBB) locomotor test was performed. Spinal cords were collected at 1, 7 and 21 days post-SCI and processed for the marker of cell survival, overall cell death, white matter sparing, and the expression of Hsp27 Hsp60 and estrogen receptor (ER). Estrogen treatment increased white matter sparing, decreased apoptosis in both the young and middle-aged rats. Endogenous estrogen in young group also showed neuroprotection but this effect was not seen in middle-aged rats. Furthermore, estrogen induced the upregulation of Hsp27 and ER in young rats. Estrogen-treated rats showed improvement of locomotor recovery in both ages and this improvement correlated with white matter sparing. These data demonstrated that estrogen treatment protects against SCI and strongly suggest that older animals remain responsive to the protective actions of 17 β -estradiol. This is the first report of continuous physiological dose 17 β -estradiol treatment in injured spinal cord. Data from this experiment strongly supports the protective effect of estrogen treatment in both young and middle aged rats and provides a novel molecular and cellular interaction between the sex hormone and Hsp27 expression in SCI model.

KEY WORDS: 17 β -ESTRADIOL/ SPINAL CORD INJURY/ YOUNG/ MIDDLE-AGED/ HSP27/ NEUROPROTECTION/ BBB LOCOMOTOR TEST/ SHSY5Y

231 P. ISBN ISBN 974-04-7252-4