ETH zürich

ETH Library

Effects of pro-inflammatory cytokines on central actions of leptin and insulin

Doctoral Thesis

Author(s):
Mc Allister, Eugenia

Publication date:
2014

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-010262596

Rights / license:
In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

This page was generated automatically upon download from the ETH Zurich Research Collection.
For more information, please consult the Terms of use.

DISS. ETH NO. ETH 22082

EFFECTS OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES ON CENTRAL ACTIONS OF LEPTIN AND INSULIN

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

Eugenia Mc Allister

M. Sc. in Biology, University of Zurich

born on *24.02.1970*

citizen of the United States of America

accepted on the recommendation of

Prof. Wolfgang Langhans, examiner

Prof. Stephen Woods, co-examiner

Prof. Gustavo Pacheco López, co-examiner

2014

Summary

The peripheral expression and plasma levels of pro-inflammatory cytokines are known to be increased in obesity and are implicated in the development of the metabolic syndrome. The metabolic syndrome is characterized by insulin and leptin resistance. Tumor necrosis factor alpha (TNF-α) and interleukin-6 (IL-6) are the major cytokines implicated in the induction of this resistance. TNF-α and IL-6 are also expressed in the brain, and their role in the central regulation of energy homeostasis is unclear. The cells that express TNF-α and IL-6 receptors are in the same brain areas that are involved in the mediation of the central effects of the adiposity signals insulin and leptin on food intake and energy expenditure, suggesting a potential interaction between these cytokines and adiposity signals. Hence, the aim of the present thesis was to explore the potential effects and interactions of insulin and leptin with TNF-α and IL-6 on food intake in the brain.

In the first study we investigated the central effects of insulin on food intake in mice. Previous studies showed that centrally administrated insulin reduces food intake in laboratory animals and other species. We found that the effect of insulin infused into the third ventricle (i3vt) can be ambiguous and that the experimental design, in particular order effects, may further obscure it. Thus, combining mean cumulative food intake of both cross-over trials in a within-subjects design did not reveal a significant effect of insulin on food intake. Separate within-subject analysis of animals that received insulin or vehicle on the first day, however, showed that insulin in fact reduced food intake substantially, i.e., that the within-subject design obscured this effect. In another experiment in the same study, mice did not reduce food intake in response to higher doses of insulin, but reduced food intake in response to the melanocortin receptor agonist melanotan-II (MT-II). As insulin supposedly reduces food intake mainly through activating the melanocortin system, this indicates that whatever obscured the insulin effect in the crossover design must have occurred upstream of the melanocortin receptors. Regardless, our findings indicate that the effect of the intra-third ventricular (i3vt) insulin infusion on food intake can be variable and the specific causes of such variability are difficult to identify.

In the next study we investigated the potential central interaction between the effects of TNF-α and leptin on food intake. We found that co-administration of TNF-α and leptin elicited a greater inhibition of food intake than each compound alone in mice fed a low fat diet. The immunohistochemical analysis of the activated signal transducer and activator of transcription-3

(pSTAT3) expression in the hypothalamus also revealed an additive effect of the combined administration of TNF-α and leptin compared with both compounds alone. High-fat-diet (HFD)-fed mice reduced food intake in response to the combined administration at an early time point of measurement (2 h) and did not respond to leptin alone, indicating that HFD feeding induced leptin tolerance. TNF-α knock-out mice (TNFKO) did not reduce food intake in response to i3vt TNF-α administration. These animals also reduced food intake in response to intraperitoneal (IP) injections of bacterial lipopolysaccharide (LPS) similar to wild type (wt) mice, indicating that other cytokines secreted in response to LPS administration compensated for the lack of TNF-α. Overall, this study showed that the central eating-inhibitory effects of TNF-α and leptin are additive rather than synergistic.

In the last study we evaluated the effects of IL-6 on food intake alone and in combination with leptin. We found that IL-6 increased food intake later in the light cycle (22 h) when administered alone. The combined administration of IL-6 and leptin produced an enhanced eating-inhibitory effect of leptin. This study supported the previously described divergence of the IL-6 effects. We are the first, however, to show that the central administration of IL-6 increases food intake and at the same time enhances leptin's eating-inhibitory effect. The mechanisms of this interesting phenomenon still need to be identified.

In conclusion, our studies show that the pro-inflammatory cytokines TNF-α and IL-6, which are implicated in peripheral insulin resistance, may have additive or even potentiating central effects with respect to the eating-inhibitory actions of adiposity signals, in particular with respect to leptin. Further studies are necessary to examine in detail the mechanisms of their action.

Zusammenfassung

Bei der Adipositas und beim Metabolische Syndrom sind sowohl die periphere Expression als auch die Plasmakonzentrationen von pro-inflammatorischen Cytokinen erhöht. Das Metabolische Syndrom ist durch Leptin- und Insulinresistenz charakterisiert. Der Tumor-Nekrosefaktor-alpha (TNF-a) und Interleukin-6 (IL-6) sind wichtige Cytokine bei der Entwicklung dieser Resistenz. TNF-a und IL-6 sind auch im Gehirn exprimiert, aber es ist unklar, welche Rolle sie dort bei der Regulation der Energiehomöostase spielen. Die Rezeptoren für TNF-a und IL-6 befinden sich in den Regionen des Gehirns, die auch die Effekte der Adipositassignale Insulin und Leptin auf die Nahrungsaufnahme und den Energieumsatz vermitteln, was die Vermutung nahelegt, dass es diesbezüglich Interaktionen zwischen Cytokinen und Adipositassignalen gibt. Daher war es das Ziel der vorliegenden Arbeit, mögliche Interaktionen von Insulin und Leptin mit TNF-a und IL-6 im Gehirn bezüglich ihrer Effekte auf die Nahrungsaufnahme zu überprüfen.

In einer ersten Studie untersuchten wir den zentralen Effekt von Insulin auf die Nahrungsaufnahme bei Mäusen. Vorangegangene Studien zeigten, dass zentral verabreichtes Insulin bei Labortieren und anderen Spezies die Nahrungsaufnahme hemmt. Wir fanden, dass der Effekt von Insulin bei der Infusion in den dritten Hirnventrikel (i3vt) nicht eindeutig war und dass das experimentelle Design, insbesondere „Order Effects“ das Ergebnis verfälschten. So konnten wir bei der Kombination der mittleren kumulativen Nahrungsaufnahme bei beiden Cross-over Trials eines Experiments keinen signifikanten Effekt von Insulin auf die Nahrungsaufnahme feststellen. Bei der separaten Analyse der Tiere, die entweder Insulin oder Vehikel am ersten Tag bekamen, zeigte sich hingegen eine eindeutige Hemmung der Nahrungsaufnahme durch Insulin.

Ein weiteres Experiment derselben Studie zeigte, dass auch höhere Insulin-Dosen die Nahrungsaufnahme in einem Crossover Trial nicht reduzierten. Hingegen reduzierte der Melanocortin-Receptoragonist Melanotan-II (MT-II) die Nahrungsaufnahme. Da Insulin die Nahrungsaufnahme vermutlich primär über eine Aktivierung des Melanocortin-Systems reduziert, kann man daraus ableiten, dass die Verschleierung des Insulin-Effekts bei dem „Crossover design“ „upstream“ der Melanocortin-Rezeptoren auftrat. Insgesamt zeigen unsere Befunde, dass der Effekt von Insulin auf die Nahrungsaufnahme nach i3vt-Infusion variieren kann. Die genaue Ursache dieser Variabilität ist schwer zu identifizieren.

In der zweiten Studie untersuchten wir die potentiellen Interaktionen zwischen TNF-a und Leptin bezüglich ihres Effekts auf die Nahrungsaufnahme. Bei Mäusen, die mit einer Niedrig-Fett-Diät gefüttert wurden, fanden wir bei gemeinsamer Infusion von TNF-a und Leptin eine stärkere Hemmung der Nahrungsaufnahme als bei separater Verabreichung der beiden Substanzen. Die immunhistochemische Analyse des aktivierten "signal transducer and activator of transcription-3" (pSTAT3) zeigte ebenfalls einen additiven Effekt der kombinierten Verabreichung von TNF-a und Leptin, verglichen mit der separaten Verabreichung beider Substanzen. Bei Mäusen, die mit einer fettreichen Diät gefüttert wurden, führte die kombinierte Infusion von Leptin und TNF-a ebenfalls zu einer Verzehrsreduktion an einem frühen Messzeitpunkt (2 h), Leptin alleine hatte jedoch keinen Effekt, was auf eine Leptin-Toleranz hinweist. TNF-a knockout Mäuse (TNFKO) reduzierten die Nahrungsaufnahme nach i3vt-Infusion von TNF-a nicht. Diese Tiere zeigten auch eine vergleichbare Verzehrsdepression wie Wild-Typ-Mäuse nach intraperitonealer Injektion von bakteriellem Lipopolysaccharid (LPS). Dies lässt vermuten, dass andere Cytokine das fehlende TNF-a kompensieren können. Alles in allem zeigte die zweite Studie, dass der zentrale verzehrshemmende Effekt von TNF-a und Leptin eher additiv als synergistisch ist.

In der dritten und letzten Studie werteten wir den Effekt der alleinigen i3vt-Infusion von IL-6 und der Kombination von IL-6 und Leptin auf die Nahrungsaufnahme aus. Dabei beobachteten wir, dass IL-6 alleine die Nahrungsaufnahme steigerte, während die Kombination von IL-6 mit Leptin den verzehrsreduzierenden Effekt von Leptin verstärkte. Ein derartiger Befund wurde bisher noch nicht beschrieben, unterstützt aber die bereits früher beobachtete Divergenz des IL-6 Effekts auf die Nahrungsaufnahme. Der Mechanismus dieses interessanten Phänomens bleibt Gegenstand weiterer Forschung.

Unsere Studien zeigten, dass pro-inflammatorische Cytokine wie TNF-a und IL-6, welche zur peripheren Insulinresistenz beitragen, vermutlich einen additiven Effekt bezüglich der Nahrungsaufnahme im zentralen Nervensystem haben und möglicherweise den verzehrsreduzierenden Effekt von Adipositassignalen wie Leptin verstärken. Weitere Studien sind notwendig, um den genauen diesbezüglichen Wirkmechanismus der Cytokine zu untersuchen.