تحقیقی

اثر استرس مزمن ملایم بر بیان ژن هپسیدین در هیپوکامپ موش صحرایی نر

فرشته فرج دخت[۱]، دکتر منصوره سلیمانی[۲]، سارا مهرپویا[۳]، دکتر محمود براتی[۴]، دکتر آرزو نهاوندی*[۵]

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران-پردیس همت. ۲- استادیار گروه علوم تشریحی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۴- دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۵- استادیار گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.

چکیده

زمینه و هدف : *معمولاً اولین اثر استرس بر سیستم ایمنی، همراه با افزایش سریع فعالیت سیستم ایمنی است که با افزایش تعداد سیتوکین‌های التهابی در خون تظاهر می‌کند؛ ولی متعاقباً کاهش عملکرد سیستم ایمنی را به دنبال دارد. در شرایط التهاب میزان بیان ژن هپسیدین افزایش می‌یابد تا آهن را از دسترس عوامل پاتوژن خارج کند. این مطالعه به منظور تعیین اثر استرس مزمن ملایم بر بیان ژن هپسیدین در هیپوکامپ موش صحرایی نر بالغ انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم انجام شد. موش‌ها به‌صورت تصادفی در دو گروه ۱۵ تایی کنترل و استرس مزمن ملایم قرار گرفتند. حیوانات گروه مداخله به مدت سه هفته تحت استرس مزمن ملایم قرار گرفتند. خونگیری پس از پایان پروتکل استرس انجام و سرم برای اندازه‌گیری غلظت سرمی اینترلوکین-۶ (pg/ml) تهیه شد. برای بررسی بیان هپسیدین در هیپوکامپ از روش real time PCR استفاده گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و آزمون Independent-t-test تجزیه و تحلیل شدند.*

یافته‌ها : *میانگین سطح سرمی اینترلوکین-۶ در گروه تحت استرس مزمن ملایم (۲۷/۹۸±۰/۸۴ pg/ml) بیشتر از گروه کنترل (۱۸/۲۹±۱/۱۸ pg/ml) بود (P<۰/۰۵). همچنین میزان بیان هپسیدین در هیپوکامپ گروه مداخله (۲/۶۹±۰/۲۶۶ درصد) در مقایسه با گروه کنترل (۱±۰/۱۰۵ درصد) افزایش آماری معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۱).*

نتیجه‌گیری : *این مطالعه نشان داد که استرس مزمن ملایم سبب افزایش میزان بیان ژن هپسیدین و سطح سرمی اینترلوکین-۶ در موش‌های صحرایی بالغ می‌گردد.*

کلید واژه‌ها : *استرس ، هپسیدین ، هیپوکامپ ، اینترلوکین-۶*

* نویسنده مسؤول : دکتر آرزو نهاوندی ، پست الکترونیکی arezo1999@gmail.com

نشانی : تهران، بزرگراه همت، جنب برج میلاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران - پردیس همت، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی

تلفن و نمابر ۸۸۰۵۸۷۰۹-۰۲۱

وصول مقاله : ۹۰/۱۲/۶ ، اصلاح نهایی : ۹۱/۶/۷ ، پذیرش مقاله : ۹۱/۷/۱۷

Archive of SID

مقدمه

در قرن حاضر استرس جزء جدایی‌ناپذیر زندگی روزمره است. استرس شامل تحریکاتی همراه با چالش‌های عاطفی و فیزیکی است. استرس‌های مکرر و غیرقابل پیش‌بینی سبب ایجاد شرایطی نظیر عدم توانایی کنترل استرس، بی‌قراری، اضطراب و علائم فیزیکی خطرناک می‌گردد (۱). استرس مثبت و خوب (eustress) در مقایسه با استرس منفی و مضر (distress)، شامل حالتی است که فرد توانایی مقابله با عوامل استرس‌زا را داشته و دچار اختلال عملکردی نمی‌گردد. استرسورهای محیطی، فیزیکی و سایکولوژیک شرایط هوموستاز بدن را از بین برده و با افزایش تولید و یا حذف ناکافی رادیکال‌های آزاد باعث تخریب برگشت‌ناپذیر سلولی می‌شوند (۲).

استرس مرتبط با تغییر فرایندهای عصبی و نوروآندوکرین است و یک پاسخ هشداردهنده و برانگیزنده کلی ایجاد می‌کند. به‌طور خلاصه این پاسخ‌ها شامل افزایش توجه به محیط اطراف، افزایش ضربان قلب و فشارخون، افزایش ریت تنفسی و تغییر فرایندهای متابولیکی است. استرس به عنوان یک پاسخ سازنده برای چالش موفق با محیط لازم است. با این وجود پاسخ‌های فرد به استرس، به حساسیت فرد به استرس (زمینه ژنتیکی) و نوع استرس (حاد یا

www.SID.ir

مزمن) و قابل کنترل بودن استرس بستگی دارد (۳).

در مواجهه با استرس مزمن، سایتوکاین‌ها بر فعالیت رسپتورهای گلوکوکورتیکوئیدی اثر گذاشته و سبب عدم مهار فعالیت مسیرهای التهابی به‌وسیله کورتیزول می‌شوند. در استرس مزمن وشدید سیستم سمپاتیک و پاراسمپاتیک به صورت متعادل عمل نمی‌کنند و عملکرد سیستم سمپاتیک منجر به افزایش مدیاتورهای التهابی از جمله اینترلوکین-۶، اینترلوکین-۱ و عامل نکروز تومور-آلفا می‌شود (۴). در مدل‌های حیوانی استرسورهای سایکولوژیکی با افزایش سیتوکین‌ها از جمله اینترلوکین-۱ و اینترلوکین-۶ همراه است (۵). Goshen و همکاران متوجه شدند که استرس مزمن ملایم (chronic mild stress) باعث افزایش سطح اینترلوکین-۱ در هیپوکامپ می‌شود (۶). در مطالعه Pan و همکاران استرس مزمن ملایم باعث افزایش سطح اینترلوکین-۱ بتا، عامل نکروز تومور-آلفا، کورتیکواسترون و افزایش عامل آزادسازی کورتیکوتروپین (corticotropin releasing hormone: CRH) گردید (۷).

هپسیدین (hepcidin) یک پپتید ضدمیکروب است که به‌وسیله انواع سلول‌ها در پاسخ به التهاب، افزایش آهن و هیپوکسی تولید می‌شود و یک پاسخ‌دهنده در مرحله حاد عفونت و التهاب است. سنتز و آزادسازی آن به سرعت توسط لیپوپلی ساکاریدهای باکتریایی، آزادسازی سیتوکین‌ها از جمله اینترلوکین-۶ و افزایش آهن افزایش می‌یابد. سیتوکین‌ها باعث القای سنتز هپسیدین می‌شوند و منجر به ایجاد آنمی در بیماری‌های مزمن می‌گردند. در طول التهاب میزان بیان هپسیدین به شدت افزایش یافته و میزان آزادسازی آهن از سیستم رتیکواندوتلیال کاهش یافته و آهن سرم و هموگلوبین نیز کاهش می‌یابد. در انسان و حیوان، آنمی ناشی از التهاب به دلیل القای تولید هپسیدین و تجمع آهن در ماکروفاژها ایجاد می‌شود وعامل ارتباط بین التهاب و هپسیدین، اینترلوکین-۶ است که در محل التهاب و عفونت تولید می‌شود (۸). در مطالعه‌ای نه تنها اینترلوکین -۶ بلکه اینترلوکین-یک بتا و اینترلوکین-یک آلفا نیز در موش‌ها توانست بیان هپسیدین را افزایش دهد (۹). در شرایط التهاب، تنظیم فیزیولوژیک هپسیدین به‌دلیل افزایش سیتوکین‌های التهابی مختل می‌شود. عامل ارتباطی بین التهاب و هپسیدین کبدی اینترلوکین-۶ است که در محل التهاب تولید می‌شود. نقش سیتوکین‌ها در القای بیان هپسیدین در شرایط التهابی اولین بار توسط Nemeth و همکاران مورد بررسی قرار گرفت (۱۰). در مطالعه‌ای روی موش‌ها نه تنها اینترلوکین-۶، بلکه اینترلوکین۱-بتا و اینترلوکین ۱- آلفا نیز سبب افزایش بیان هپسیدین گردید (۹). ژن هپسیدین ژنی در فاز پاسخ‌دهی حاد است که در شرایط التهاب به میزان بسیار بالایی بیان می‌شود (۹). ژن هپسیدین بر روی کروموزوم ۱۹ قرار گرفته و دارای دو اینترون و سه اگزون است. این ژن سبب کد شدن پپتید پره پرو هپسیدین ۸۴ اسید آمینه‌ای می‌شود. سپس به پروهپسیدین ۶۰ اسید آمینه‌ای شکسته شده و در پلاسما ظاهر می‌گردد (۱۱). با وجود این که شناخت بسیار کمی درباره مکانیسم‌های درگیر در تنظیم هپسیدین در مغز وجود دارد؛ حضور این پپتید در مغز تایید شده است (۱۲و۱۳). مطالعات انجام شده نشان داده است که هپسیدین به میزان بالایی در مناطق مختلف مغز موش‌ها از جمله پیاز بویایی، کورتکس، هیپوکامپ، آمیگدال، تالاموس، هیپوتالاموس، طناب نخاعی، پل‌مغزی، مخچه و مزانسفال بیان می‌شود (۱۲و۱۳). بررسی‌ها در بافت عصبی نشان داده است که احتمالاً این پپتید در حفظ و هموستاز آهن مغز نقش دارد (۱۳و۱۴).

هیپوکامپ در انسان و حیوان به استرس بسیار حساس است. در واقع هیپوکامپ از اهداف استرس هورمون‌هاست که باعث آسیب‌پذیری آن در صورت قرار گیری مزمن در چالش‌های نورولوژیکی مانند سکته مغزی، هیپوکسی، ترومای سر، صرع و پیری می‌شود. هیپوکامپ اصلی‌ترین ساختمانی است که در پاسخ‌های استرسی نقش دارد (۱۵). با توجه به این که کنترل استرس‌های محیطی و بهداشت روانی در بسیاری از جوامع، عملی نیست و استرس بر بسیاری از فرایندهای مغز مانند فعالیت‌های شناختی، حافظه، رفتار، درک و تصمیم‌گیری اثر مخربی دارد؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر استرس مزمن ملایم بر بیان ژن هپسیدین در هیپوکامپ موش صحرایی نر بالغ انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار باوزن‌تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم خریداری‌شده ازانستیتوپاستور انجام‌شد.

حیوانات قبل از شروع آزمایش برای سازگاری با شرایط، حداقل به مدت دو هفته در قفس‌های حیوانخانه دانشکده پزشکی دانشگاه تهران با درجه حرارت ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط نور طبیعی (سیکل تاریکی – روشنایی ۱۲ ساعته) نگهداری شدند. موش‌ها به آب و غذای کافی دسترسی آزادانه داشتند. پروتکل بین‌المللی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید. یک هفته بعد از سازگاری، حیوانات به صورت تصادفی در دو گروه ۱۵ تایی کنترل و مداخله (تحت استرس مزمن ملایم) قرار داده شدند.

مدل استرس مزمن ملایم (۳) برای گروه مداخله با اندکی تغییر به‌کار برده شد. حیوانات گروه مداخله به مدت ۲۱ روز تحت استرسورهای ملایم و غیرقابل پیش‌بینی قرار گرفتند. این استرسورها شامل محرومیت از آب (۱۸ ساعت و بلافاصله یک ساعت بطری آب خالی) و محرومیت از غذا (۱۸ ساعت و بلافاصله یک ساعت محدودیت غذا)، تغییر سیکل روشنایی و تاریکی (۳۶ ساعت)، خیس کردن قفس (۲۱ ساعت)، شیب دار کردن قفس

www.SID.ir

(۳ ساعت) و شنای اجباری (۱۰ دقیقه) قرار گرفتند. برای موش‌های گروه کنترل هیچ مداخله‌ای صورت نگرفت.

بعد از اتمام پروتکل استرس، با تزریق مخلوط کتامین (۱۰۰mg/kg) و زایلازین (۲۰mg/kg) حیوان بیهوش شد و برای خونگیری از قلب، قفسه سینه حیوان از حدود یک سانتی‌متر پایین‌تر از زائده گزیفوئید باز شد و قلب در معرض دید قرار گرفت. خونگیری از ناحیه اپکس قلب و به میزان یک میلی‌لیتر انجام شد. برای تعیین سطح اینترلوکین-۶ سرم، پس از تشکیل لخته ابتدا نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. سپس سرم را جدا نموده و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمودیم. در هر گروه برای اندازه‌گیری اینترلوکین-۶ هشت نمونه از هر گروه به‌طور تصادفی انتخاب شدند. اندازه‌گیری اینترلوکین-۶ به روش ELISA (eBioscience، آمریکا) طبق دستورات شرکت سازنده انجام شد.

حیوانات در داخل محفظه پلکسی فوم آغشته به اتر قرار داده شدند تا آماده‌سازی بافت برای مطالعات مولکولی صورت گیرد. بعد از بیهوش شدن، سر حیوان با گیوتین زده شد و مغز سریعاً خارج گردید. با برش ساجیتال دو نیمکره جدا و هیپوکامپ سریعاً خارج و داخل میکروتیوپ قرار داده شد و هم وزن بافت به آن محلول ترایزول اضافه گردید. نمونه‌ها با قرار دادن در نیتروژن مایع سریعاً به فریزر با دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد و تا زمان بررسی مولکولی در فریزر نگهداری گردید. در هر گروه، شش نمونه هیپوکامپ به‌طور تصادفی برای مطالعات مولکولی استفاده شد. در پایان از روش relative Quantitation (بیان نسبی)، برای آنالیز داده‌های Real Time PCR استفاده شد.

RNA کل از نمونه‌های هیپوکامپ با استفاده از معرف ترایزول (شرکت سیناژن، ایران) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج گردید. سپس با استفاده از کیت سنتز cDNA (Quantitec reverse transcriptase، شرکت کیاژن،آلمان)، DNA های مکمل ساخته شد. در ادامه برای تایید تکثیر قطعات اختصاصی هر ژن و عدم حضور محصولات غیراختصاصی و جفت شدن آغازگرها، محصول بر روی ژل آگارز بارگذاری و الکتروفورز شد. تعیین کمی میزان بیان ژن هدف (هپسیدین) و مرجع (بتا اکتین) در نمونه‌های cDNA با استفاده از دستگاه real time PCR مدل curbet و کیت Quanifast SYBR GREEN (از شرکت Qiagen) انجام شد. واکنش‌های real time در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به‌صورت تکرار سه‌تایی در پلیت‌های ۷۶ خانه انجام شد. در این مطالعه از روش کمی – نسبی (Relative quantification) استفاده شد که در آن بیان یک ژن هدف (هپسیدین) نسبت به بیان ژن مرجع (Housekeeping gene) به نام بتا اکتین سنجیده می‌شود. مراحل واکنش مطابق با روشی که در کیت قید شده بود؛ انجام گرفت.

واکنش PCR با شرایط دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه، اتصال دردمای ۹۵ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۱۰ و ۳۰ ثانیه باتعداد چرخه‌های ۴۰ بار انجام شد. در این روش رنگ سایبرگرین به مولکول‌های DNA دورشته‌ای متصل و فلورسانس ساطع نمود. سپس با استفاده از معیار CT یا سطح آستانه و با فرمول $2^{\Delta\Delta CT}= 2^{(\Delta Hepcidin-\Delta\beta\text{-}actin)}$ میزان بیان ژن هپسیدین نسبت به ژن بتااکتین ارزیابی شد.

توالی پرایمرهای موردنیاز برای Real Time PCR طراحی شده از سایت primer Bank به صورت زیر بود:

ژن هپسیدین

Forward 5/-TTGCGATACCAATGCAGAAGAG-3/
Reverse 5/-AATTGTTACAGCATTTACAGCAGAAGA-3/

ژن بتا اکتین

Forward 5/-AGGCCCAGAGCAAGAGAGGTA-3/
Reverse 5/-TCTCCATGTCGTCCCAGTTG-3/

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و آزمون Independent-t-test تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. مقادیر به صورت میانگین و خطای استاندارد نشان داده شدند.

یافته‌ها

میانگین سطح سرمی اینترلوکین-۶ گروه تحت استرس مزمن ملایم (۲۷/۹۸±۰/۸۴ pg/ml) در مقایسه با گروه کنترل (۱۸/۲۹±۱/۱۸ pg/ml) افزایش آماری معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$).

بیان ژن هپسیدین در گروه استرس (۲/۶۹±۰/۲۶۶ درصد) نسبت به گروه کنترل (۱±۰/۱۰۵ درصد) افزایش نشان داد و این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<0/01$).

بحث

در این مطالعه سطح سرمی اینترلوکین-۶ و بیان ژن هپسیدین گروه تحت استرس مزمن ملایم در مقایسه با گروه کنترل افزایش آماری معنی‌داری نشان داد.

در شرایط استرس مزمن سطح سیتوکین‌های پیش‌التهابی افزایش می‌یابد (۶و۷). در مطالعات Xiu و همکاران استرس مزمن باعث افزایش اینترلوکین-۶ گردید (۱۶و۱۷).

هپسیدین یکی از پروتئین‌های تنظیم کننده آهن در بدن است و یک پاسخ‌دهنده در مرحله حاد عفونت و التهاب است و به‌وسیله انواع سلول‌ها در پاسخ به التهاب، افزایش آهن و هیپوکسی تولید می‌شود (۱۲و۱۳). در مطالعه Ganz هپسیدین سبب مهار جذب آهن

Archive of SID

www.SID.ir

غذا و آزادسازی آهن توسط ماکروفاژها گردید (۸). از آنجا که هپسیدین به طور منفی سطح پروتئین فروپورتین را تنظیم می‌کند؛ اختلال در بیان هپسیدین در هیپوکامپ ممکن است در اختلالات آهن مغز نقش داشته باشد (۱۳). تولید هپسیدین در پاسخ به سیتوکین‌های التهابی به‌خصوص اینترلوکین-۶ افزایش می‌یابد (۹). در مطالعه حاضر میزان بیان هپسیدین در هیپوکامپ در شرایط استرس مزمن ملایم افزایش آماری معنی‌داری یافت که در راستای افزایش سطح سرمی اینترلوکین-۶ در حیوانات تحت استرس است.

مطالعه ما اولین تلاش برای بررسی ارتباط بین استرس مزمن ملایم و هپسیدین در هیپوکامپ مغز است. نتایج حاصل از Real Time PCR نشان داد که استرس مزمن ملایم باعث افزایش بیان mRNA هپسیدین در هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل شده است. مکانیسم دقیق اثر استرس بر افزایش بیان هپسیدین، مشخص نیست. اینترلوکین-۶ یکی از مدیاتورهایی است که در شرایط استرس مزمن افزایش یافته و می‌تواند به افزایش بیان هپسیدین در مغز و از جمله هیپوکامپ منجر شود که یک پاسخ حفاظتی برای محدود نمودن التهاب در هیپوکامپ توسط هپسیدین است. به‌نظر می‌رسد محور هپسیدین – اینترلوکین-۶ یک جزء مهم و حیاتی برای پاسخ است و در آن اینترلوکین-۶ باعث تنظیم افزایشی هپسیدین می‌شود.

از آنجا که استرس مزمن همراه با افزایش در سطح سیتوکین‌های التهابی از جمله اینترلوکین-۶ بوده و همچنین استرس منجر به افزایش در تقاضای آهن مغز برای حفظ عملکرد طبیعی مغز و در نتیجه تجمع آهن در مغز و از جمله افزایش در محتوای آهن هیپوکامپ می‌شود؛ ممکن است سبب افزایش در بیان هپسیدین در هیپوکامپ شده باشد. این تنظیم افزایشی ممکن است یک جزء مهم در پاسخ موضعی و سیستمیک علیه التهاب باشد. مطالعات بیشتری نیاز است تا مکانیسم مولکولی دقیقی را که استرس باعث افزایش بیان هپسیدین در هیپوکامپ می‌شود؛ مشخص نماید.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که استرس مزمن ملایم سبب افزایش میزان بیان ژن هپسیدین و سطح سرمی اینترلوکین-۶ در موش‌های صحرایی بالغ می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران (شماره پ-۱۰۶۹) بود. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و سپاس خود را از آن معاونت محترم، جناب آقای دکتر اکبر فتوحی و همه همکاران محترم مرکز تحقیقات سلولی مولکولی و مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پردیس همت) که در اجرای این مطالعه با ما همکاری صمیمانه‌ای داشتند؛ ابراز می‌دارند.

References

1. Hammen C. Stress and depression. Annu Rev Clin Psychol. 2005;1:293-319.

2. de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. Nat Rev Neurosci. 2005 Jun;6(6):463-75.

3. Grønli J, Murison R, Fiske E, Bjorvatn B, Sørensen E, Portas CM, et al. Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions. Physiol Behav. 2005 Mar;84(4):571-7.

4. Cowles MK MA. Stress, Cytokines and Depressive Illness. In: Larry RS, editor. Encyclopedia of Neuroscience. 3th Oxford: Academic Press. 2009; pp:519-27.

5. Maes M. Psychological stress and the inflammatory response system. Clin Sci (Lond). 2001 Aug; 101(2):193-4.

6. Goshen I, Kreisel T, Ben-Menachem-Zidon O, Licht T, Weidenfeld J, Ben-Hur T, Yirmiya R. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. Mol Psychiatry. 2008 Jul;13(7):717-28.

7. Pan Y, Zhang WY, Xia X, Kong LD. Effects of icariin on hypothalamic-pituitary-adrenal axis action and cytokine levels in stressed Sprague-Dawley rats. Biol Pharm Bull. 2006 Dec; 29(12):2399-403.

8. Ganz T. Hepcidin and its role in regulating systemic iron metabolism. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2006; 2006(1):29-35.

9. Lee P, Peng H, Gelbart T, Wang L, Beutler E. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005 Feb;102(6):1906-10.

10. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. J Clin Invest. 2004 May;113(9):1271-6.

11. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. J Biol Chem. 2001 Mar; 276(11):7806-10.

12. Zechel S, Huber-Wittmer K, von Bohlen und Halbach O. Distribution of the iron-regulating protein hepcidin in the murine central nervous system. J Neurosci Res. 2006 Sep;84(4):790-800.

13. Wang SM, Fu LJ, Duan XL, Crooks DR, Yu P, Qian ZM, et al. Role of hepcidin in murine brain iron metabolism. Cell Mol Life Sci. 2010 Jan;67(1):123-33.

14. Ding H, Yan CZ, Shi H, Zhao YS, Chang SY, Yu P, et al. Hepcidin is involved in iron regulation in the ischemic brain. PLoS ONE. 20116(9): e25324.

15. McEwen BS. Stress and hippocampal plasticity. Annu Rev Neurosci. 1999;22:105-22.

16. Maes M. The cytokine hypothesis of depression: inflammation, oxidative & nitrosative stress (IO&NS) and leaky gut as new targets for adjunctive treatments in depression. Neuro Endocrinol Lett. 2008 Jun;29(3):287-91.

17. Xiu LJ, Lin HM, Wei PK. The effect of chronic mild stress on tumor-bearing rats' behavior and its mechanism. Neurosci Lett. 2010 Mar;473(1):1-4.

Archive of SID

www.SID.ir

Original Paper

Effect of chronic mild stress on the expression of hepcidin gene in hippocampus of male rats

Farajdokht F (MSc)[1], Soleimani M (PhD)[2], Mehrpouya S (MSc)[3] Barati M (MSc)[4], Nahavandi A (PhD)*[5]

[1]PhD Candidate in Physiology, Physiology Research Center, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran. [2]Assistant Professor, Department of Anatomy, Cellular and Molecular Research Center, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran. [3]MSc Student in Physiology, Physiology Research Center, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran. [4]PhD Candidate in Biotechnology, Cellular and Molecular Research Center, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran. [5]Assistant Professor, Department of Physiology, Physiology Research Center, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran.

Abstract

Background and Objective: The first effect of stress on the immune system is usually a rapid increase in function which manifests itself by an increase in the number of inflammatory cytokines in blood. It is however, followed by a decrease of function in immunological response. During inflammation, the expression of hepcidin gene is increased in order to keep iron away from pathogens. This study was conducted to determine the effect of chronic mild stress on the expression of hepcidin gene in the hippocampus of the male adult rats.

Materials and Methods: This experimental study was carried out on 30 adult male Wistar rats, weighing approximately 200-250 grams. They were randomly allocated into two groups of 15 rats: control and chronic mild stress group. Animals in intervention group were exposed to chronic mild stress for 3 weeks. At the end of the stress protocol, 2 ml blood sample was collected to measure the serum concentration of IL-6. Real time PCR method was used to investigate hepcidin expression in hippocampus. Data were analyzed using SPSS-16 and independent t-test.

Results: The mean level of IL-6 was significantly higher in the CMS exposure group (27.98±0.84 pg/ml) than control group (18.29±1.18 pg/ml) ($P<0.05$). Hepcidin expression in the hippocampus of intervention group was significantly higher (2.69±0.226%) in compared to control group (1±0.105) ($P<0.001$).

Conclusion: This study showed that chronic mild stress increases the expression of hepcidingene and the serum level of IL-6 in adult rats.

Keywords: Stress, Hepcidin, Hippocampus, IL-6

*** Corresponding Author: Nahavandi A (PhD), E-mail: arezo1999@gmail.com**

Received 25 February 2012 **Revised** 28 August 2012 **Accepted** 8 October 2012

This paper should be cited as: Farajdokht F, Soleimani M, Mehrpouya S, Barati M, Nahavandi A. [Effect of chronic mild stress on the expression of hepcidin gene in hippocampus of male rats]. J Gorgan Uni Med Sci. 2013; 15(2): 42-46. [Article in Persian]

Archive of SID
www.SID.ir