مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۹۹/هفته چهارم مهر ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۳۰

تأثیر هورمون استرادیول در تولید پروتئین‌های کلاژن نوع II و اگریکان طی القای روند کندروژنز

دکتر بتول هاشمی‌بنی[۱]، فرزانه صادقی[۲]، دکتر آزاده کبیری[۳]، دکتر ملک مسعود انصار[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هورمون‌های جنسی نقش مهمی در تکثیر، تمایز، بلوغ و مرگ برنامه‌ریزی شده‌ی کندروسیت‌ها دارند. اگر چه برخی مطالعات، نقش تنظیمی استروژن در رشد و پیشرفت غضروف را گزارش کرده‌اند، اما بعضی از مکانیسم‌ها مانند نقش استروژن در بروز نشانگرهای اختصاصی غضروف در روند کندروژنز هنوز نامعلوم باقی مانده‌اند. در این مطالعه نقش استروژن در بروز نشانگرهای اختصاصی غضروف در روند کندروژنز مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در مطالعه‌ی حاضر، از بافت غضروفی حاصل از تمایز سلول‌های بنیادی مشتق از چربی در سیستم کشت پلت استفاده شد. نمونه‌های تمایز یافته در گروه‌های شاهد (فاقد استروژن در محیط کشت) و مورد (دارای استروژن در محیط کشت) جهت ارزیابی با روش ایمونوهیستوشیمی به کار گرفته شدند و میزان نشانگرهای کندروژنیک تولید شده مانند کلاژن نوع II و اگریکان (Aggrecan) مورد ارزیابی قرار گرفت. نرم‌افزار Image-J جهت تبدیل داده‌های کیفی ایمونوهیستوشیمی به کمی به کار رفت. سپس با روش آماری ANOVA (Analysis of variance) مقایسه‌ی داده‌ها در گروه‌ها انجام شد.

یافته‌ها: میانگین کلاژن II تولید شده در گروه مورد به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافته بود. در حالی که در حضور استروژن، میانگین اگریکان در مقایسه با گروه فاقد این هورمون افزایش معنی‌داری نشان داد.

نتیجه‌گیری: استروژن بر روند کندروژنز تأثیر دارد و بر بروز برخی از نشانگرهای ویژه‌ی غضروف اثر کاهشی و بر تولید برخی ترکیبات دیگر تأثیر تحریکی دارد.

واژگان کلیدی: استروژن، سلول‌های بنیادی مشتق از چربی، کندروژنز، کلاژن نوع II، اگریکان

ارجاع: هاشمی‌بنی بتول، صادقی فرزانه، کبیری آزاده، انصار ملک مسعود. **تأثیر هورمون استرادیول در تولید پروتئین‌های کلاژن نوع II و اگریکان طی القای روند کندروژنز.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۹۹): ۱۳۷۸-۱۳۷۱

مقدمه

غضروف نوعی بافت همبند اختصاصی است و از سلول‌های کندروسیت و بستر خارج سلولی تشکیل شده است (۱). بر اساس نوع غضروف، انواع کلاژن I، II، IX، XI، رشته‌های الاستیک، پروتئوگلیکان‌ها و گلیکوپروتئین‌ها، مجموع ماتریکس خارج سلولی را تشکیل می‌دهند (۲). از نظر نسبت وزنی، اگریکان (Aggrecan) بیشترین وزن پروتئوگلیکان غضروف را شامل می‌شود (۳). بیماری‌ها و آسیب‌های مفاصل و غضروف در همه‌ی جوامع شیوع فراوانی دارد. عدم

۱- دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- کارشناس ارشد، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- استادیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: فرزانه صادقی
Email: farzanehsadeghi@med.mui.ac.ir

توان غضروف مفصلی در ترمیم و تقسیم کندروسیت‌ها، تجدید ماتریکس بین سلولی به میزان اندک و فقدان عروق خونی در این بافت، از دلایل فراوانی ابتلا به این بیماری‌ها می‌باشد (۵-۴، ۲). از آن جا که پیوند غضروف به صورت اتوگرافت و یا آلوگرافت محدودیت‌ها و مشکلات خاصی دارد، به کار بردن سلول‌های بنیادی می‌تواند راه حل مناسبی باشد (۶).

سلول بنیادی یک سلول ویژه‌ی فنا ناپذیر است که می‌توان آن را از رویان، جنین یا فرد بالغ به دست آورد. توانایی خود نوسازی طی مدت زمان طولانی و ظرفیت تمایز به سلول‌های تخصصی گوناگون تحت شرایط القایی خاص، از ویژگی‌های مهم و ارزشمند این سلول‌ها محسوب می‌شود (۷). طی سال‌های اخیر، سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحت عنوان «سلول‌های بنیادی مشتق از چربی»، از بافت چربی به دست آمده است (۸).

به دلیل سهولت در دستیابی به بافت چربی زیر جلدی از طریق لیپوساکشن یا اعمال جراحی معمولی دیگر، سلول‌های بنیادی مشتق از چربی یکی از کاندیداهای ارزشمند در سلول درمانی و مهندسی بافت محسوب می‌شود (۹). بررسی‌های گسترده نشان داده است که سلول‌های بنیادی مشتق از چربی با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان، شباهت‌های فراوانی از نظر بیان نشانگرهای سطحی و توانایی تمایز به انواع بافت‌ها دارند. نشانگرهای سطحی رده‌های هماتوپوئیتیک از جمله CD۱۱، CD۱۴، CD۳۴ و CD۴۵ توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی بیان نمی‌گردند، اما نشانگرهای سطحی دیگر مانند CD۴۴، CD۹۰ و CD۱۰۵ بیان می‌شوند (۸).

مطالعات نشان داده است که عوامل رشد و هورمون‌ها، باعث تسهیل پیشرفت سلول‌ها به سمت ایجاد بافت جدید می‌شوند. بنابراین رشد، تقسیم سلولی، تشکیل ماتریکس خارج سلولی و روند کندروژنز تحت تأثیر عوامل رشد مختلف قرار می‌گیرد. استروژن به عنوان عامل مهم شرکت کننده در تنظیم رشد و پیشرفت استخوان و غضروف شناخته شده است (۱۰). سه نوع مهم استروژن Estron، Estradiol و Estriol می‌باشند و استرادیول (E_2) قوی‌ترین استروژن است (۱۱).

محققان بسیاری وجود گیرنده‌های استروژن را در غضروف مفصلی انسان، ثابت کردند (۱۳-۱۲). دو نوع گیرنده‌ی استروژن (ER یا Estrogen receptor) شناخته شده، گیرنده‌های ERα و ERβ می‌باشند. هورمون‌های استروئیدی از فضای بین سلولی در سرتاسر غشای سلولی منتشر می‌شوند و به گیرنده‌های هسته‌ای (NHR یا Nuclear hormone receptor) متصل می‌شوند و آن‌ها را فعال می‌کنند.

کمپلکس NHR-ligand-coregulator به توالی خاصی از DNA به نام HREs (Hormone response elements) متصل می‌شود. استروئیدها علاوه بر مکانیسم ژنومی، دارای مکانیسم غیر ژنومی نیز هستند. این مکانیسم، سریع‌تر از مکانیسم ژنومی می‌باشد که در نتیجه‌ی فعال شدن MAPK (Mitogen-activated protein kinase)، Adenylyl cyclase، PKA (Protein kinase A) و PKC (Protein kinase C) می‌باشد (۱۴).

یافته‌ها نشان می‌دهند که غضروف به استروژن پاسخ می‌دهد و استروژن به طور مستقیم بر متابولیسم غضروف مفصلی از طریق گیرنده‌های واقع در

کندروسیت‌ها اثرگذار است (۱۳). استروژن باعث افزایش تولید کلاژن نوع X و کاهش سنتز گلیکوز آمینو گلیکان‌ها و کلاژن نوع II می‌گردد (۱۵، ۱۰).

در تحقیقات مختلف گزارش‌های متناقضی در ارتباط با تأثیر استروژن در روند تکثیر و تمایز کندروسیت‌ها و تولید ماتریکس خارج سلولی در غضروف ذکر شده است. از این رو در تحقیق حاضر، تأثیر استروژن بر روند تولید ترکیبات ماتریکس خارج سلولی در روند القای کندروژنز از سلول‌های بنیادی مشتق از چربی مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش‌ها

القای تمایز کندروژنیک: برای القای تمایز کندروژنیک ۲×۱۰^{۵} سلول بر میلی‌لیتر در لوله‌های فالکون مخروطی سانتریفوژ گردید و ۱ ml محیط کندروژنیک حاوی ۱ درصد streptomycin–Penicillin، ۱ درصد selenious transferrin–Insulin، $۱۰^{-۷}$ M Dexamethaosons، ۱ درصد Bovine serum albumin، ۵۰ µg/ml Ascorbate-۲ phosphate، ۵ µg/ml Linoleic acid و ۱۰ ng/ml Transforming growth factor β۳ به هر لوله اضافه گردید و در دمای ۳۷ °C و ۵ درصد $CO_۲$ کشت داده شد. در محیط کشت گروه مورد، هورمون استرادیول با غلظت $۱۰^{-۸}$ M اضافه شد. هر ۳-۲ روز محیط کشت تعویض شد. پس از دو و چهار هفته القای کندروژنیک، بافت حاصل از تمایز مورد بررسی قرار گرفت.

روش ایمونوهیستوشیمی: بافت‌های حاصل از تمایز کندروژنیک پس از ثابت شدن با فرمالین، آب‌گیری، قالب‌گیری با پارافین و تهیه‌ی برش‌های ۵ µ برای رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی به کار گرفته شدند که به صورت مراحل زیر انجام گردید:

۱- قرار دادن لام‌ها در گزیلل و آب‌دهی با الکل‌های نزولی

۲- قرار دادن در استون جهت تثبیت (۵ دقیقه) و شستشو با PBS (Phosphate buffered saline)

۳- استفاده از آنزیم پپسین به میزان ۱ mg/ml در اسید استیک ۰/۵ M (۴۰ دقیقه ۳۷ °C)

۴- قرار دادن لام‌ها در پراکسید هیدرژن ۳ درصد در اتانول ۷۰ (۳۰ دقیقه)

۵- شستشوی چندین بار با PBS

۶- اضافه کردن آنتی‌بادی‌های اولیه علیه کلاژن II (Serotec) و اگریکان (Abcam) با رقت ۱:۱۰۰ (۲۴ ساعت ۴ °C)

۷- اضافه کردن آنتی‌بادی ثانویه‌ی متصل به Horse radish peroxidase پس از شستشو با PBS (۶۰ دقیقه)

۸- پس از شستشو با PBS، اضافه کردن کروموژن دی‌آمینو بنزیدین (DAKO cytomation) (۱۰ دقیقه)

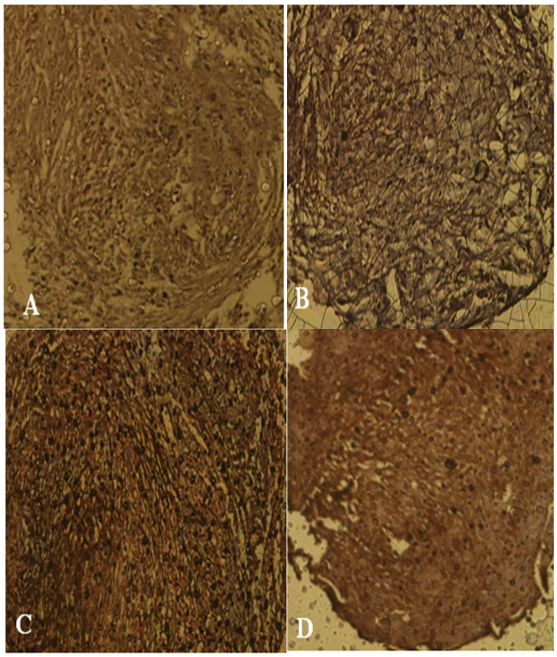
۹- استفاده از هماتوکسیلین جهت رنگ‌آمیزی زمینه.

یافته‌ها

نمونه‌های تمایز یافته در گروه‌های شاهد (فاقد استروژن در محیط کشت) و مورد (دارای استروژن در محیط کشت) جهت ارزیابی با روش ایمونوهیستوشیمی به کار گرفته شدند. میزان نشانگرهای کندروژنیک تولید شده مانند Collagen II و اگریکان در گروه‌های مورد و شاهد مورد ارزیابی قرار گرفت. نرم‌افزار Image-J جهت تبدیل داده‌های کیفی ایمونوهیستوشیمی به کمی به کار رفت. سپس با

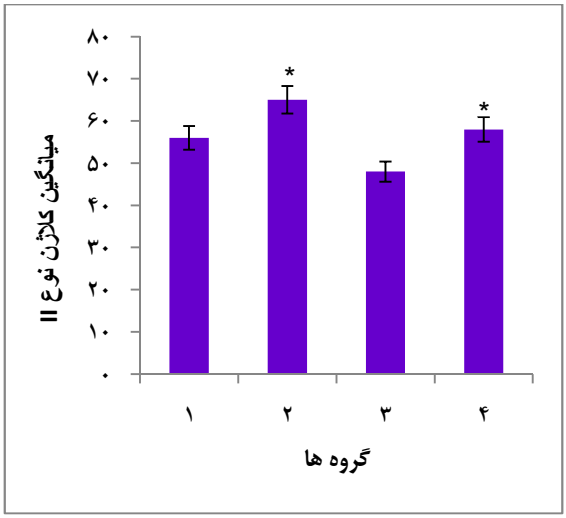
روش آماری ANOVA (Analysis of variance) مقایسه‌ی داده‌ها در گروه‌ها انجام شد.

بررسی بافت‌ها نشان داد که در هر دو گروه مورد و شاهد، بافت غضروفی تشکیل شده و کلاژن نوع II و اگریکان در ماتریکس خارج سلولی تولید شده بود (شکل ۱).

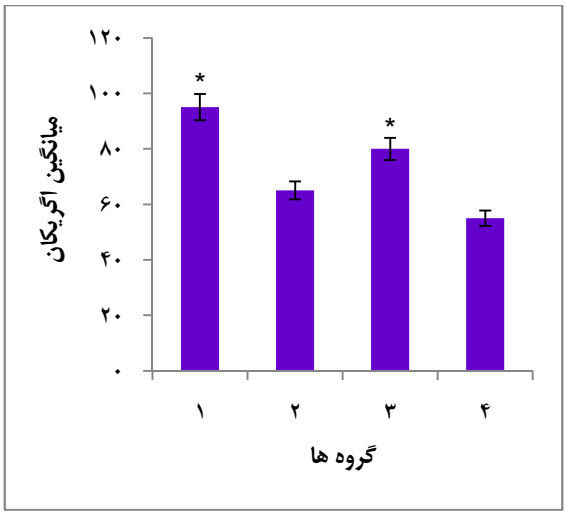


شکل ۱. نتایج بررسی ایمونوهیستوشیمی نمونه‌های مقاطع بافت حاصل از تمایز سلول‌های بنیادی مشتق از چربی در گروه‌های مختلف. وجود اگریکان در گروه مورد (A) و گروه شاهد (B) و وجود کلاژن نوع II در گروه مورد (C) و گروه شاهد (D). با تشکیل رنگ قهوه‌ای در ماتریکس مشخص است (بزرگ‌نمایی ۱۰۰ ×)

یافته‌های ما نشان داد که میانگین Collagen II تولید شده در گروه مورد، به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافته بود؛ در حالی که در گروه مورد، میانگین اگریکان در مقایسه با گروه شاهد، افزایش معنی‌داری نشان داد. بنابراین، استروژن بر بروز برخی از نشانگرهای ویژه‌ی غضروف، اثر مهاری و بر تولید برخی ترکیبات ویژه‌ی غضروف تأثیر تحریکی دارد (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲. بررسی آماری نتایج حاصل از نرم‌افزار Image-J نشان داد که میانگین کلاژن نوع II تولید شده در گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشته است ($P < ۰/۰۵۰$*).
(۱: گروه مورد روز ۱۴، ۲: گروه شاهد روز ۱۴، ۳: گروه مورد روز ۲۸ و ۴: گروه شاهد روز ۲۸)



شکل ۳. بررسی آماری نتایج حاصل از نرم‌افزار Image-J نشان داد که میانگین اگریکان تولید شده در گروه مورد در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشته است ($P < ۰/۰۵۰$).
(۱: گروه مورد روز ۱۴، ۲: گروه شاهد روز ۱۴، ۳: گروه مورد روز ۲۸ و ۴: گروه شاهد روز ۲۸)

بحث

در این تحقیق، در هر دو گروه دارای استروژن و فاقد استروژن، بافت غضروفی تشکیل شده و کلاژن نوع II و اگریکان در ماتریکس خارج سلولی تولید شده بود. یافته‌های کمی مطالعه‌ی حاضر نشان داد که میانگین Collagen II تولید شده در گروه دارای استروژن، به طور معنی‌داری نسبت به گروه فاقد استروژن کاهش یافته بود؛ در حالی که در حضور استروژن (گروه مورد)، میانگین اگریکان در مقایسه با گروه فاقد این هورمون (گروه شاهد)، افزایش معنی‌داری نشان داد.

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که استرادیول تمایز کندروژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC یا Mesenchymal stem cells) را مهار می‌کند. اثرات مهاری E_2 به تنهایی توسط گیرنده‌های سیتوپلاسمیک کلاسیک میانجی‌گری نمی‌شود. در غلظت‌های کمتر E_2 (کمتر از 10^{-8} M)، اثرات غشایی E_2 توسط مسیر کلاسیک داخل سلولی ERα و ERβ جایگزین می‌شود؛ اما در غلظت‌های بالاتر، اثر مهاری استرادیول اغلب توسط گیرنده‌ی غشایی GPR۳۰ (G protein-coupled receptor۳۰) میانجی‌گری می‌شود (۱۶). بنابراین حساسیت گیرنده‌ی استروژن وابسته به دوز است (۱۸-۱۷).

به علاوه، Nasatzky و همکاران اظهار داشتند که تأثیرات E_2 وابسته به زمان قرارگیری نمونه در معرض استروژن، جنس و موقعیت بلوغ کندروسیت‌ها است (۱۹).

استروژن مکانیسم‌های عمل متفاوتی دارد. استروژن می‌تواند اثرات ژنومی و اثرات غیر ژنومی را در انواع سلول‌های مختلف از جمله کندروسیت‌ها داشته باشد. به عبارت دیگر، E_2 از یک سو به گیرنده‌های کلاسیک استروژن متصل می‌شود و اثرات ژنومی خود را ایفا می‌کند و از سوی دیگر، از طریق اتصال به گیرنده‌های غشایی مانند GPR۳۰، عمل می‌کند و به این ترتیب، اثر غیر ژنومی خود را اعمال می‌نماید.

GPR۳۰ متعلق به خانواده‌ی گیرنده‌های جفت شده با G- پروتئین است و در بافت‌های مختلف انسان مانند غضروف، یافت شده است (۲۱-۲۰، ۱۶).

کاهش بروز کلاژن نوع II که از نشانگرهای اختصاصی کندروژنز می‌باشد، ممکن است به طور مستقیم به تأثیرات بازدارندگی استروژن بر روی کندروژنز مربوط باشد. فعالیت بازدارندگی استروژن بر روی کندروژنز، در مطالعات گذشته نیز توسط سایر محققان گزارش شده است (۲۲، ۱۶).

E_2 نقش‌های مهمی را در تنظیم تکثیر، تمایز و سنتز ماتریکس خارج سلولی کندروسیت‌ها بر عهده دارد (۲۲). نتایج متناقضی در خصوص تأثیر E_2 بر میزان تکثیر سلول‌ها به دست آمده است. Ab-Rahim و همکاران بیان کردند که استروژن با کاهش تکثیر، باعث تعدیل عملکرد کندروسیت‌ها می‌شود (۲۳).

برخی مطالعات نشان می‌دهند که E_2 تأثیری در افزایش پتانسیل تکثیر تیمار سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (ADSC یا Adipose derived stem cells) با این ماده ندارد و افزایش رونویسی ERα و ERβ در سلول‌های بنیادی مشتق از چربی‌های تیمار شده با E_2، در مقایسه با گروه شاهد مشاهده نمی‌شود (۲۴)؛ در حالی که Cheng و همکاران نشان دادند که E_2 در غلظت 10^{-8} M-10^{-10}، باعث افزایش تعداد سلول‌ها می‌گردد، اما افزایش غلظت استرادیول باعث مهار پتانسیل تکثیر می‌شود (۲۵).

از سوی دیگر، Talwar و همکاران نشان دادند که E_2 با کاهش تکثیر کندروسیت‌ها منجر به کاهش ضخامت غضروف تیمار شده با β-۱۷ استرادیول می‌گردد. بر اساس این نتایج، استروژن روی ترکیب ماتریکس خارج سلولی (ECM یا Extracellular matrix) مؤثر است، در نتیجه ممکن است نقش مهمی را در روند کندروژنز ایفا کند (۱۰).

برخی مطالعات دیگر β-۱۷ استرادیول را روی ترکیب ECM غضروف مفصلی مؤثر دانسته‌اند و آن را باعث افزایش کلاژن نوع X و مهار کلاژن نوع II و کاهش محتوای پروتئوگلیکان غضروف می‌دانند (۱۶). این در حالی است که Cheng و همکاران، افزایش پروتئوگلیکان غضروف مفصلی را در پاسخ به استروژن، گزارش کرده‌اند (۲۵).

از سوی دیگر، همان طور که در مورد تأثیر استروژن بر تکثیر سلول‌ها بیان شد، تأثیر E_2 روی سنتز پروتئوگلیکان نیز وابسته به دوز است. به عبارت دیگر، استروژن در یک غلظت معین باعث مهار پروتئوگلیکان ماتریکس خارج سلولی (ECM) می‌شود و در غلظت کمتر، تأثیری روی پروتئوگلیکان ندارد (۱۸-۱۷).

Ab-Rahim و همکاران نحوه‌ی مهار سنتز پروتئوگلیکان‌ها توسط استروژن را این طور بیان کردند که پس از باند شدن استروژن به گیرنده‌های اختصاصی خود (α یا β)، کمپلکس استروژن- گیرنده به هسته منتقل می‌گردد. در این هنگام، تشکیل زنجیره‌های گلیکوز آمینو گلیکان (GAG یا Glucose amino glycan) در دستگاه گلژی در سیتوپلاسم افزایش پیدا می‌کند و منجر به انتقال فعال گلیکوز آمینو گلیکان به ماتریکس خارج سلولی می‌گردد. تمرکز گلیکوز آمینو گلیکان در ماتریکس خارج سلولی، روی مکانیسم بازخورد سنتز پروتئوگلیکان اثر می‌گذارد که به موجب آن، سنتز، مهار خواهد شد؛ به طوری که میزان آن به حد آستانه می‌رسد. نتایج حاصل از این مطالعه نیز نشان می‌دهد که استروژن منجر به کاهش بروز ژن اگریکان می‌گردد (۲۳).

در این تحقیق، تأثیر β-۱۷ استرادیول بر تمایز کندروژنیک سلول‌های بنیادی مشتق از چربی (ADSC) بررسی گردید و مشخص شد که استروژن موجب کاهش تولید کلاژن نوع II و افزایش اگریکان که از مهم‌ترین نشانگرهای غضروف‌سازی هستند، می‌شود. به نظر می‌رسد هورمون استروژن نمی‌تواند به عنوان عامل بسیار مناسبی برای تمایز کندروژنیک سلول‌های بنیادی در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

با تشکر و سپاس از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشکده پزشکی و کادر آزمایشگاه کشت سلول گروه علوم تشریحی که در تصویب و انجام این تحقیق ما را یاری نمودند.

References

1. Mansour JM, Mow VC. The permeability of articular cartilage under compressive strain and at high pressures. J Bone Joint Surg Am 1976; 58(4): 509-16.
2. Junquera L; Carneiro J. Basic histology text and atlas. 11th ed. New York, NY: McGraw-Hill Medical; 2005.
3. Heinegard D, Franzen A, Hedbom E, Sommarin

Y. Common structures of the core proteins of interstitial proteoglycans. Ciba Found Symp 1986; 124: 69-88.
4. Hardingham T, Tew S, Murdoch A. Tissue engineering: chondrocytes and cartilage. Arthritis Res 2002; 4(Suppl 3): S63-S68.
5. Mitchell N, Shepard N. The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subchondral bone. J Bone Joint Surg Am 1976; 58(2): 230-3.
6. Benya PD, Shaffer JD. Dedifferentiated chondrocytes reexpress the differentiated collagen phenotype when cultured in agarose gels. Cell 1982; 30(1): 215-24.
7. Gage FH. Mammalian neural stem cells. Science 2000; 287(5457): 1433-8.
8. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell 2002; 13(12): 4279-95.
9. Pu LL, Cui X, Fink BF, Gao D, Vasconez HC. Adipose aspirates as a source for human processed lipoaspirate cells after optimal cryopreservation. Plast Reconstr Surg 2006; 117(6): 1845-50.
10. Talwar RM, Wong BS, Svoboda K, Harper RP. Effects of estrogen on chondrocyte proliferation and collagen synthesis in skeletally mature articular cartilage. J Oral Maxillofac Surg 2006; 64(4): 600-9.
11. Sniekers YH. Estrogen effects on cartilage and bone changes in models for osteoarthritis [Thesis]. Rotterdam, Netherlands: Erasmus University Rotterdam; 2009.
12. Richmond RS, Carlson CS, Register TC, Shanker G, Loeser RF. Functional estrogen receptors in adult articular cartilage: estrogen replacement therapy increases chondrocyte synthesis of proteoglycans and insulin-like growth factor binding protein 2. Arthritis Rheum 2000; 43(9): 2081-90.
13. Ushiyama T, Ueyama H, Inoue K, Ohkubo I, Hukuda S. Expression of genes for estrogen receptors alpha and beta in human articular chondrocytes. Osteoarthritis Cartilage 1999; 7(6): 560-6.
14. Melmed Sh, Conn M. Endocrinology: basic and clinical principles. 11th ed. New York, NY: Humana Press; 2005. p. 49-95.
15. Hashem G, Zhang Q, Hayami T, Chen J, Wang W, Kapila S. Relaxin and beta-estradiol modulate targeted matrix degradation in specific synovial joint fibrocartilages: progesterone prevents matrix loss. Arthritis Res Ther 2006; 8(4): R98.
16. Jenei-Lanzl Z, Straub RH, Dienstknecht T, Huber M, Hager M, Grassel S, et al. Estradiol inhibits chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells via nonclassic signaling. Arthritis Rheum 2010; 62(4): 1088-96.
17. Takano H, Aizawa T, Irie T, Itoi E, Kokubun S, Roach HI. Normal bone growth requires optimal estrogen levels: negative effects of both high and low dose estrogen on the number of growth plate chondrocytes. Tohoku J Exp Med 2008; 214(3): 269-80.
18. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell 2002; 13(12): 4279-95.
19. Nasatzky E, Schwartz Z, Boyan BD, Soskolne WA, Ornoy A. Sex-dependent effects of 17-beta-estradiol on chondrocyte differentiation in culture. J Cell Physiol 1993; 154(2): 359-67.
20. Maggiolini M, Picard D. The unfolding stories of GPR30, a new membrane-bound estrogen receptor. J Endocrinol 2010; 204(2): 105-14.
21. Heino TJ, Chagin AS, Savendahl L. The novel estrogen receptor G-protein-coupled receptor 30 is expressed in human bone. J Endocrinol 2008; 197(2): R1-R6.
22. Fushimi S, Wada N, Nohno T, Tomita M, Saijoh K, Sunami S, et al. 17beta-Estradiol inhibits chondrogenesis in the skull development of zebrafish embryos. Aquat Toxicol 2009; 95(4): 292-8.
23. Ab-Rahim S, Selvaratnam L, Kamarul T. The effect of TGF-beta1 and beta-estradiol on glycosaminoglycan and type II collagen distribution in articular chondrocyte cultures. Cell Biol Int 2008; 32(7): 841-7.
24. Ng LW, Yip SK, Wong HK, Yam GH, Liu YM, Lui WT, et al. Adipose-derived stem cells from pregnant women show higher proliferation rate unrelated to estrogen. Hum Reprod 2009; 24(5): 1164-70.
25. Cheng P, Ma X, Xue Y, Li S, Zhang Z. Effects of estradiol on proliferation and metabolism of rabbit mandibular condylar cartilage cells in vitro. Chin Med J (Engl) 2003; 116(9): 1413-7.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 18.04.2014
Vol. 32, No. 299, 4th Week, October 2014
Accepted: 21.08.2014

The Effect of Estradiol on Production of Type II Collagen and Aggrecan in Chondrogenic Proccess

Batool Hashemibeni PhD[1], Farzaneh Sadeghi MSc[2], Azadeh Kabiri PhD[3], Malekmasud Ansar PhD[3]

Original Article

Abstract

Background: Sex hormones play important role in proliferation, differentiation, maturation and the scheduled death of chondrocytes. Although, some studies report the regulatory role of estrogen in the development and progression of cartilage, some of the mechanisms still remain unclear, including the role of estrogen in the expression of cartilage-specific genes in chondrogenesis process. We studied this role in the present study.

Methods: We used adipose-derived stem cells, which were previously differentiated into cartilage tissue in pellet culture system in the control (without estrogen in culture medium) and experimental (with estrogen in culture medium) groups. Production of chondrogenesis markers, type II collagen and aggrecan were evaluated in experimental and control groups via immunohistochemical (IHC) technique. Then, the results were evaluated with Image-J software and statistical analysis were done.

Findings: Estrogen led to decrease of type II collagen and increase of aggrecan production.

Conclusion: This study showed that chondrogenesis could be affected by estrogen.

Keywords: Estrogen, Adipose derived stem cells, Chondrogenesis, Type II collagen, Aggrecan

Citation: Hashemibeni B, Sadeghi F, Kabiri A, Ansar M. **The Effect of Estradiol on Production of Type II Collagen and Aggrecan in Chondrogenic Proccess.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(299): 1371-8

1- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan , Iran
2- Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
Corresponding Author: Farzaneh Sadeghi MSc, Email: farzanehsadeghi@med,mui.ac.ir