

الفصل الأول

CHAPTER ONE

المقدمة وأهداف البحث

INTRODUCTION & RESEARCH

OBJECTIVES

1-المقدمة Introduction:

احتلت النماذج الحيوانية المختبرية في الدراسات التجريبية مؤخرًا لدى البشر حيزًا كبيرًا بالغ الأهمية استطاع الباحثون من خلاله اكتشاف حقائق علمية في شتى المجالات الطبية التخصصية، وأصبحت محط اهتمام يلجأ إليه العديد من الباحثين خلال عقود من الزمن. اعتبرت الدراسات الحديثة الأرنب نموذجًا تجريبيًا ناجحًا في الدراسات العظمية والمفصلية، فقد اعتمدها الباحثون مؤخرًا كنموذج واعد في تطبيق ودراسة هشاشة العظم الناجم عن استئصال المبايض كحاكاة لسن الضهي (اليأس) لدى النساء بالإضافة لدراسة الأذية المفصلية وبشكل خاص أربطة مفصل الركبة (Wanderman et al., 2018)، تتمتع الأرنب بفترة نمو قصيرة إذ تصل إلى مرحلة النضج الجنسي بعمر 20 إلى 24 أسبوعًا مع إغلاق كامل لصفائح النمو بعمر (28-32) أسبوعًا، كما توفر الأرنب من الناحية البحثية التشريحية مقارنةً بحيوانات التجارب الأخرى مقاييس شكلية مناسبة أكثر بالنسبة للعينات المدروسة تشريحياً كما تسمح بإجراء التجارب الجراحية العظمية حتى على مستوى تثبيت الطعوم العظمية، الأمر الذي يعتبر غير متاح في التجارب المعتمدة على الفئران والقوارض الأخرى، كما تظهر الأرنب أيضًا نشاطًا مماثلًا لدى البشر في إعادة تشكيل جمل هافرس مع معدل تجدد أسرع للعظام من القوارض والرئيسيات (Turner, 2001) أما مؤخرًا فقد أصبحت نموذجًا تجريبيًا شائع الاستخدام حتى في أبحاث جراحة العمود الفقري إذ توفر حجمًا هيكليًا كافيًا نوعاً ما للسماح بإجراء التدخلات الجراحية الشائعة لتقييم تأثير تنكس وهشاشة العظام المستحدث عند تطبيق هذه الإجراءات الجراحية (Castaneda et al., 2008).

يسلط هذا البحث الضوء على تنكس المفاصل الذي يعد مرضاً مزمنًا شائع جدًا يؤثر على جميع أنسجة المفاصل مما يسبب ضررًا تدريجيًا لا رجعة فيه قد يقود في النهاية إلى تبديل المفصل بالكامل، يتصف تنكس المفصل بأن التغيرات المرضية المرافقة لا تشمل نسيج الغضروف المفصلي فقط ولكن تتعدى ذلك أيضًا لتصل لنسيج العظمي تحت الغضروف المفصلي وكذلك للأغشية الزليلة والتي تتمثل بحدوث سماكة في الصفيحة العظمية وتكوين النابتات العظمية، يعزى حدوث هذه التغيرات نتيجة تأثير القوى الميكانيكية الحيوية المقترنة بالأحداث الخلوية الصماوية ونظيرة صماوية التي تؤدي إلى انهيار التوازن الطبيعي في تجدد الأنسجة داخل المفصل.

قدمت دراسات مختلفة مؤخراً معلومات عن وجود عوامل مؤثرة في مكونات المفاصل ذات صلة بنقص تركيز هرمون الإستروجين في المزارع الخلوية والنماذج الحيوانية وحتى البشرية على الرغم من اعتبار الأنسجة المفصالية لمدة طويلة عديمة الاستجابة لهرمون الإستروجين، أما الآن فالأدلة حول تأثير هرمون الإستروجين على نشاط أنسجة المفاصل تعد الشغل الشاغل للباحثين في هذا المجال نظراً للمزاعم التي تدرج الجنس والحالة الهرمونية كعوامل مؤهبة للإصابة، إذ تقدم الدراسات الإحصائية لدى البشر معلومات تشير لتأثير تنكس المفاصل على أكثر من 240 مليون شخص على مستوى العالم مسبباً الألم والإعاقة والعزلة الاجتماعية فهو يمثل مشكلة اجتماعية متنامية مؤثرة على حياة المرضى ولها تداعياتها حتى على المستوى الاقتصادي (Allen et al., 2022). تمثل النساء في سن الضهي (بعد انقطاع الطمث) نسبة كبيرة من مرضى تنكس المفاصل وتتراوح نسبة الإصابة بتنكس مفصل الركبة مع الاختلاف بين الجنسين إلى 46% لدى النساء مقابل 21% لدى الرجال، وكان الاتهام ينصب بالدرجة الأولى على هبوط تركيز الهرمونات الجنسية وخاصة هرمون الإستروجين (Hunter & Bierma-Zeinstra, 2019)، من هنا تأتي أهمية الدور الذي تقدمه النماذج الحيوانية المخبرية المحاكية والتي تمكننا من الوصول للأنسجة ودراستها حتى خلال المرحلة المبكرة من المرض (Vincent, 2020).

2- أهداف الدراسة Objectives of study :

يهدف هذا البحث إلى توظيف الأرناب كحيوانات تجريبية لدراسة التنكس المفصلي لمفصل الركبة المترافق بانخفاض تركيز هرمون الإستروجين نتيجة الاستئصال الجراحي للمبايض والرحم كحاكاة لانقطاع الطمث وتوقف نشاط المبايض وظيفياً لدى الإناث وخاصة أن تنكس المفصل يصيب جميع التراكيب المفصالية بما فيها الغضاريف المفصالية والنسيج العظمي المتوضع أسفل الغضروف المفصلي في النهاية المشاشية للعظم وكذلك للتراكيب الزليلية مما يسبب ألم شديد وتشوه قد يصل للإعاقة الحركية نتيجة سير المرض المزمن. لذلك يهتم هذا البحث بدراسة وتقصي الآتي:

- ❖ تأثير انحدار هرمون الإستروجين لدى إناث الأرناب في الغضاريف والعظام المفصالية عبر الاستئصال الجراحي للمبايض والرحم كحاكاة للوصول لحالة توقف الدورة الطمثية.
- ❖ دراسة تأثير انخفاض مستوى هرمون الإستروجين في تركيز كالسيوم الدم نتيجة استئصال المبايض والرحم.
- ❖ دراسة تأثير استئصال المبايض والرحم في بعض المعايير الدموية الشحمية وعلاقتها بمستوى هرمون الإستروجين.

- ❖ أكدت الأبحاث الحديثة التي أجريت على إناث الأرانب كنماذج حيوانية محاكية لتوقف الدورة الشهرية نتيجة الاستئصال الجراحي للرحم والمبايض تأثير انخفاض مستوى الإستراديول الذي يقود للإصابة بهشاشة العظام للعظام المشكلة لمفصل الركبة خلال مدة لا تتجاوز 17 أسبوعاً من العمل الجراحي، لذلك تهتم هذه الدراسة في التقصي والبحث عن دلائل تشير لحدوث تنكس لمفصل للركبة خصوصاً أن ربط هشاشة العظام بتنكس المفاصل مازال الشغل الشاغل لمعظم الباحثين و موضع جدل إلى يومنا الحالي.
- ❖ دراسة داء التنكس المفصلي على مفصل الركبة كأحد النتائج غير المرجوة بعد الاستئصال الجراحي للمبايض لدى الأرانب كحيوانات اختبار تجريبية.
- ❖ دراسة تأثير المعالجة الهرمونية البديلة ببنزوات الإستراديول عضلياً كبرنامج وقائي وعلاجي لتنكس مفصل الركبة في مثل هذه الحالات.
- ❖ دراسة تأثير فعالية الغلوكوزامين في الوقاية من تنكس مفصل الركبة.

الفصل الثاني

CHAPTER TWO

الدراسة المرجعية

LITERATURE REVIEW

1-لمحة عن اختيار الأرانب كنموذج بحثي في الدراسات التجريبية على العظام

An overview of the selection of rabbits as a research model in experimental studies on bones and joints:

تم استخدام الأرنب كنماذج بحثية على نطاق واسع في دراسة تنكس المفاصل وترميم الغضاريف بالإضافة إلى اختبار فعالية المركبات الدوائية في ذلك (Cope *et al.*, 2019)، تعزى أهمية استخدام الأرانب مخبرياً نظراً لتوفرها وسهولة إدارتها والتعامل معها بالإضافة للتكلفة المنخفضة نسبياً من ناحية الشراء والرعاية، كما تتيح من الناحية التشريحية من خلال حجم المفاصل لديها المناسب بحيث يسمح بجمع للعينات النسيجية والسوائل الزليلية المتواجدة بهدف الدراسة والتقصي والذي يعد كافياً لجمع عينات يصل قطرها 3-4 مم بحيث تشمل الأفات الغضروفية والعظمية بشكل جزئى أو كامل (Thyssen *et al.*, 2015). استخدمت الأرانب في دراسات تقويم العظام لدى البشر بين عام 1970 و 2001 بنسبة تصل إلى 13 % ما يوضح أهميتها كنماذج دراسية بحثية في الدراسات المفصالية و العظمية (Martini *et al.*, 2001)، مع الأخذ بعين الاعتبار ظروف التحميل المختلفة مقارنةً مع البشر (Gregory *et al.*, 2012).

أظهرت الدراسات الشعاعية أن الأرانب عرضة للإصابة بالتنكس المفصلي بشكل تلقائي (Kuyinu *et al.*, 2016)، إذ لوحظ حدوث التنكس المفصلي بدون أعراض سريرية لدى الأرانب بنسبة تصل لـ 21 % (Bascunan *et al.*, 2019)، وأن 50% من الأرانب فوق سن الست سنوات معرض للإصابة وترتفع النسبة لتصل إلى أكثر من 70% لدى الأرانب التي عمرها يزيد عن تسع سنوات (Samvelyan *et al.*, 2021). تشمل طرق الحث والتدخل الجراحي في الدراسات التجريبية لإحداث تنكس المفصل العديد من الإجراءات منها قطع الرباط الصليبي الأمامي ACLT واستئصال الرباط الجانبي الأنسي MCL، واستئصال الغضروف الهلالي الأنسي واستئصال الرضفة، وتثبيت المفصل واستئصال المبايض (Cope *et al.*, 2019) بينما تتضمن طرق الحث الكيميائي لإحداث التنكس المفصلي على حقن العديد من المواد أهمها الستيروئيدات والسيتوكينات وإنترلوكين 1 بيتا (IL-1 β) وحقن أنزيم الكولاجيناز والكوندرويتيناز وأنزيم الترسين (Teeple *et al.*, 2013).

2- المفاصل وأنواعها joints and their types :

تعرف المفاصل على أنها مناطق من نسيج ضام تعمل على تثبيت العظام ببعضها وتحدد نوع ودرجة الحركة فيما بينها، تصنف المفاصل إلى مفاصل زليلية Diarthrosis تسمح بحركة حرة للعظام ومفاصل ليفية Synarthrosis تسمح بحركة محدودة جداً أو لا تسمح بالحركة مطلقاً (Mescher, 2010).

المفاصل الزليلية: عبارة عن مفاصل تربط العظام الطويلة ببعضها وتسمح لها بحرية الحركة مثل مفصل الركبة والمرفق، يُغلف التجويف المفصلي المحكم السد بمحفظة ليفية تحوي على سائل زليلي شفاف لزج ويبطن التجويف المفصلي بدلاً عن النسيج الظهاري نسيج ضام كثيف متخصص يدعى الغشاء الزليلي. يمتد من الغشاء الزليلي طيات وزغابات إلى داخل التجويف تفرز سائلاً زليلياً لزجاً عديم اللون منشأه بلازما الدم ويحوي تراكيز عالية من حمض الهيالورونيك المفرز من خلايا الغشاء الزليلي (Mescher, 2010).

تصنف المفاصل الليفية إلى ثلاثة أنواع تبعاً لنوع النسيج الذي يربط السطوح المفصلية، النوع الأول يسمى بمفاصل الالتحام العظمي Synostosis حيث تتحد العظام مع بعضها بنسيج ليفي ويتصف هذا النوع من المفاصل بعدم السماح بحدوث أي حركة ويتواجد بين عظام الجمجمة بعد سن البلوغ نتيجة التحول من نسيج ضام كثيف لدى الأعمار الصغيرة ، أما النوع الثاني فيدعى بمفاصل الالتحام الغضروفي Synchronodrosis وفيه تتحد العظام مع بعضها بنسيج غضروفي زجاجي و يتواجد في الصفائح المشاشية للعظام النامية وفي نقطة اتصال الضلع الأول بعظم القص، يسمح هذا النوع من المفاصل بحركة محدودة ، أما النوع الثالث فيطلق عليه مفاصل الالتحام الليفي حيث تتحد العظام مع بعضها بغضروف ليفي كما هو الحال في منطقة الارتفاق العاني ويسمح هذا النوع من المفاصل أيضاً بحركة محدودة (Mescher, 2010).

3- التراكيب التشريحية لمفصل الركبة Anatomical structure of knee joint :

يعد مفصل الركبة من المفاصل الزليلية (Haug *et al.*, 2017) وتتمثل وظيفته الرئيسية في توفير نقطة تسمح بالحركة بين عظم الظنوب والخذ، والذي يتحقق بمساعدة الرضفة والشظية والتراكيب المتصلة بالعظم التي تشمل الأربطة التي تعطي الثبات للركبة عن طريق ربط العظام ببعضها البعض، والأوتار التي تسمح للمفصل بالحركة عن طريق ربط العضلات بالعظام ، الشكل رقم (1) (Behnke, 2012).



الشكل رقم (1): يوضح تشريح الركبة و التراكيب المفصالية (Behnke, 2012).

يعرف موقع تموضع الرضفة على عظم الفخذ باسم الأخدود الرضفي الفخذي وتثبت الرضفة في مكانها من خلال وتر العضلة رباعية الرؤوس الفخذية الذي يعبر فوق الرضفة ثم يستمر نزولاً إلى عظم الظنوب بسمى الرباط الرضفي. يرتبط عظم الفخذ والظنوب بواسطة الأربطة الصليبية الأمامي والخلفي والرباطيين الجانبيين الوحشي والأنسي حيث تمنع الأربطة المتصالية عظم الفخذ من الانزلاق للأمام أو للخلف على الظنوب بينما تقوم الأربطة الجانبية بمنع الحركة من الإتجاه الأنسي نحو الوحشي و بالعكس وكذلك الدوران (Haug et al., 2007). لا تتوافق اللقم الفخذية مع الهضاب القصبية تماماً لهذا السبب هناك أجزاء من غضروف ليفي تأخذ شكل هلالتي تسمى الغضاريف الهلالية، تقتصر وظيفتها على تغطية المناطق التمثالية المحيطة من الهضاب القصبية وتوفير الثبات وتمتص الصدمات وتساعد في نقل الحمل (الوزن). بالإضافة للتراكيب السابقة تحاط الركبة بالمحفظة التي تحوي غشاء زليلي يفرز السائل الزليلي المزلق والمغذي للأسطح المفصلي (Behnke, 2012).

4- الغضروف المفصلي Articular cartilage:

عبارة عن نسيج ضام عالي التخصص موجود في المفاصل الزليلية تتمثل وظائفه الرئيسية في توفير سطح انزلاقي أملس للعظام المرتبطة في منطقة المفصل ويمنحها القدرة على مقاومة قوى الضغط العالية عن طريق تبديد الطاقة المرتبطة بالتحميل كما يعمل توزيع الأحمال بالتساوي على كافة منطقة الاتصال (Pearle *et al.*, 2005). يمتلك الغضروف المفصلي معاملاً احتكاكاً منخفضاً جداً بسبب السائل الزليلي وتضفي هندسته البنائية (نسيجياً) قدرة على الصمود أمام قوى الضغط (Sophia Fox *et al.*, 2009).

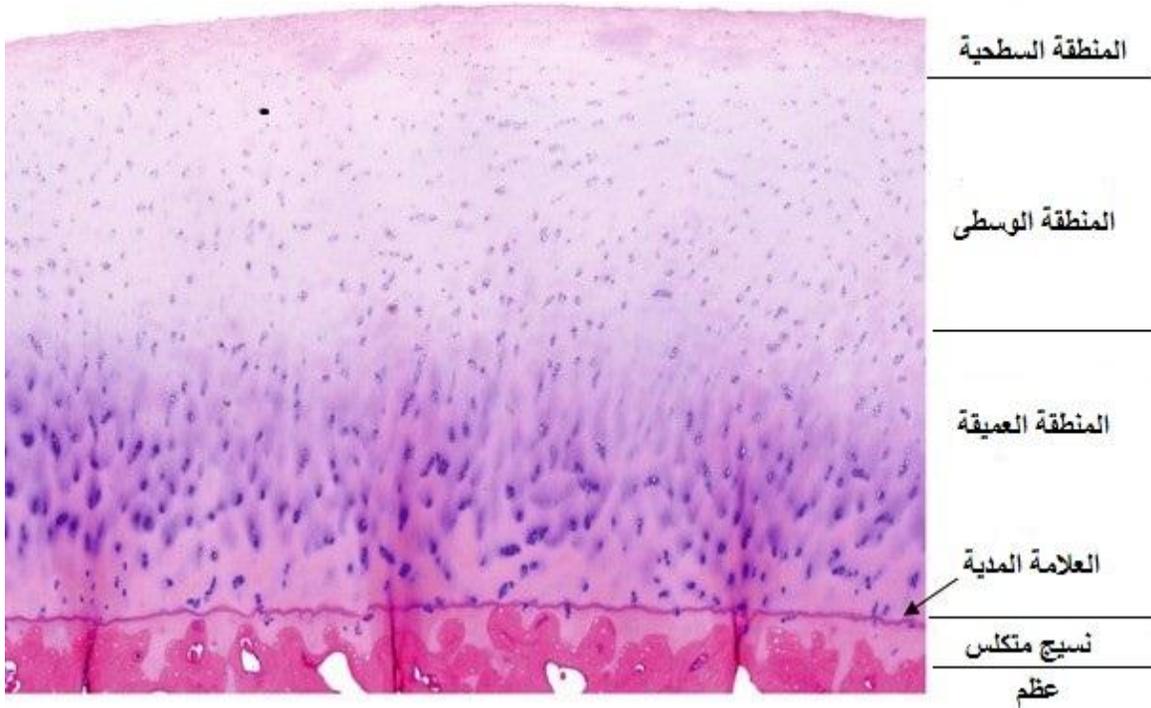
4.1. البنية النسيجية والمجهريّة الدقيقّة للغضروف المفصلي Histological and microscopic structure of articular cartilage:

يقسم الغضروف المفصلي تبعاً للبنية الهيكلية لأربع مناطق نسيجياً وهي على الترتيب المنطقة السطحية والوسطى والعميقة والمتكلسة. يرتفع تركيز الماء نسبياً في المنطقة السطحية ويصل إلى 80% ثم ينخفض ليصل إلى 65% في المنطقة العميقة (Sophia Fox *et al.*, 2009) بينما يكون محتوى هذه المناطق من الكولاجين مرتفع في الطبقة السطحية والعميقة ويقل في المنطقة الوسطى أما تركيز البروتيوغليكان فيكون غزير في المنطقة العميقة ويقل تدريجياً باتجاه السطح (Turunen *et al.*, 2013).

تشكل المنطقة السطحية 10-20% من سماكة الغضروف المفصلي، كما هو موضح بالشكل رقم (2) وتتلخص وظيفة هذه المنطقة في تأمين سطح ناعم مزلق للغضروف المفصلي وتحمي التراكيب النسيجية المتوضعة أسفل منها، تصطف ألياف الكولاجين في هذه المنطقة بشكل موازي للسطح وتمتاز هذه المنطقة بالكثافة المرتفعة للخلايا الغضروفية ذات الحجم المنخفض نسبياً مقارنةً بباقي المناطق (Wong and Carter, 2003) والتي تأخذ الشكل المسطح نوعاً ما (Sophia Fox *et al.*, 2009).

تمثل المنطقة الوسطى من 30-40% من سماكة الغضروف المفصلي وتعد منطقة انتقال وتحول بين المنطقة السطحية والعميقة من الغضروف، تأخذ الخلايا الغضروفية فيها شكلاً بيضاوياً أما بالنسبة للألياف الكولاجين فتصطف بترتيب عشوائي ويزداد قطرها مقارنةً بالمنطقة السطحية (Pearle *et al.*, 2005). أما المنطقة العميقة فتحتل 40-60% تقريباً من سماكة الغضروف المفصلي وتوجه ألياف الكولاجين فيها عمودياً على السطح مع زيادة في القطر وتوضع الخلايا الغضروفية بشكل أعمدة موازية لألياف الكولاجين (Pearle *et al.*, 2005). تتفصل المنطقة المتكلسة عن المنطقة العميقة بمنطقة اتصال غضروفية جزء منها متكلس وجزء غير متكلس (Havelka *et al.*, 1984). تؤمن ألياف

الكولاجين في هذه المنطقة التثبيت بين الغضروف المفصلي والعظم تحت الغضروف وتمنع الانتشار من النسيج العظمي نحو المنطقة العميقة من الغضروف.



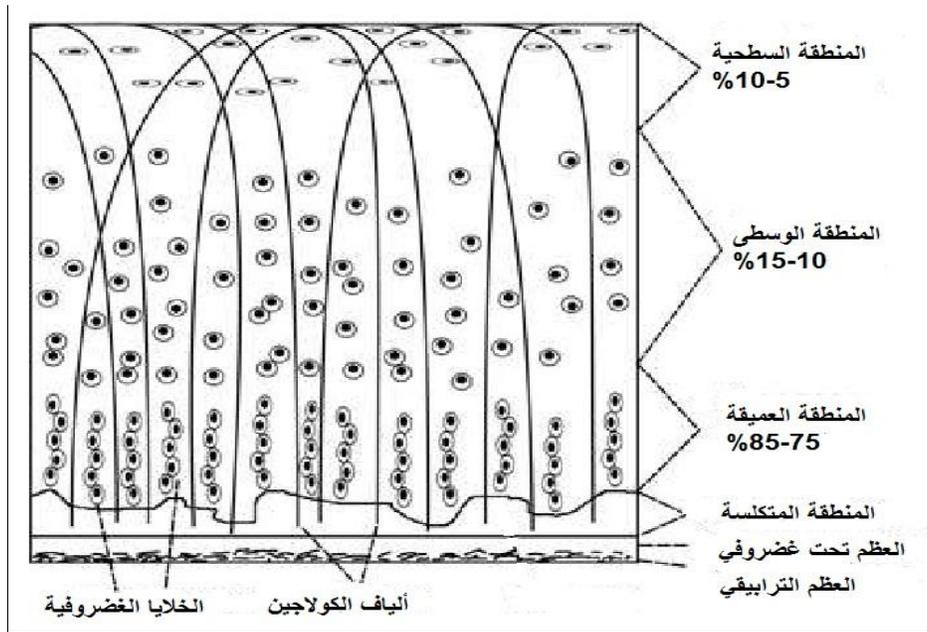
الشكل رقم (2): مقطع عرضي في غضروف مفصلي يبين المناطق المختلفة للنسيج

(Jung, 2014).

يتألف الغضروف المفصلي من جزئين صلب وسائل، الجزء السائل يتكون من الماء والأيونات المذابة حيث يشكل الماء ما يقارب 60-80% من وزن النسيج كما يكون جزء كبير من السائل الخلالي الذي يملك حرية التحرك تحت تأثير الحمولة المطبقة وهذا بالتحديد ما يعبر عن السلوك الميكانيكي للنسيج ويوضح أهمية الدور الذي يلعبه الماء في ذلك فعند تطبيق الضغط عليه يتدفق السائل الخلالي نحو محيط الغضروف، كما يعد الماء غني بالأيونات اللاعضوية كالبوتاسيوم والصوديوم والكلوريد والكالسيوم (Hall, 2005)، بالإضافة إلى أهميته في توفير الغذاء للخلايا الغضروفية المحاصرة في جوباتها من خلال الانتشار (Sophia Fox et al., 2009).

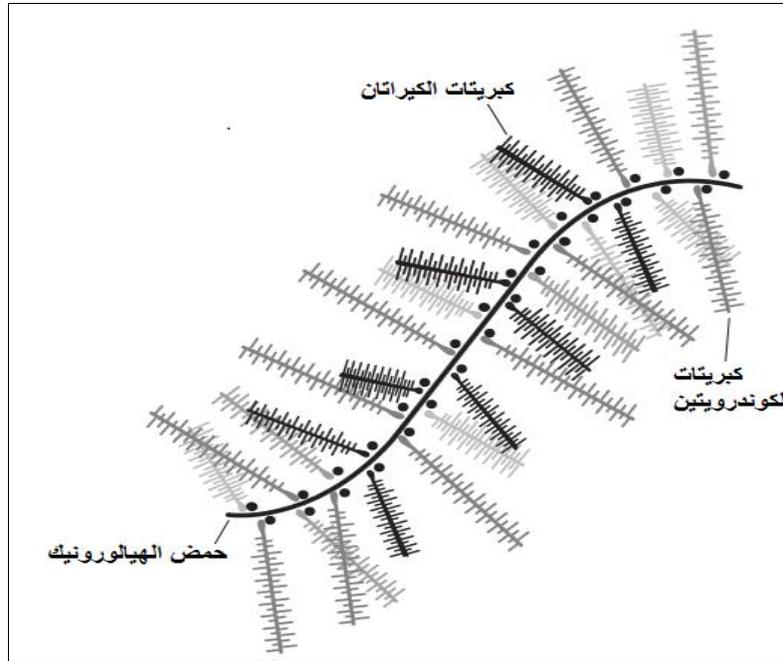
يمثل الجزء الصلب من وزن الغضروف ما يقارب 20-40% ويحتوي على الكولاجين والبروتيوغليكان والبروتينات السكرية (Sophia Fox et al., 2009). تصل نسبة الكولاجين إلى 65% من الوزن الجاف بينما تصل نسبة البروتيوغليكان إلى 25% و تشكل المكونات الأخرى الـ 10% المتبقية، و تختلف هذه النسب اعتماداً على نوع الكائن المدروس وكذلك على موقع التشريح وحالة الغضروف الصحية (Glaser and Putz, 2002) ، الشكل رقم (3).

إن قدرة الغضروف على الشفاء والالتئام ضعيفة جداً فهو لا يملك أوعية دموية أولمفية أو أعصاب (Sophia Fox et al., 2009)، هذا الافتقار للتروية الدموية يجعل قدرته على الالتئام تختلف مقارنةً بالأنسجة الأخرى. بشكل عام تتواجد الخلايا الغضروفية ضمن نسيج الغضروف المفصلي بأعداد قليلة وبنسبة لا تتجاوز 1-4%، تنمو الخلايا الغضروفية في الحجم بمعنى تخضع لفرط التضخم وتصل للتمايز الخلوي النهائي مما يكسبها القدرة التصنيعية الوظيفية والذي يظهر على سبيل المثال في التعبير الجيني المسؤول عن تخليق ألياف الكولاجين لكن بالرغم من ذلك تبقى الخلايا الغضروفية مقيدة ومنغمسة ضمن جوياتها في المادة خارج خلوية مما يمنعها من الهجرة لأماكن التلف لتعويض الضرر (Newman, 1998).



الشكل رقم (3): شكل توضيحي لمقطع عرضي في الغضروف المفصلي يوضح المناطق الغضروفية (Guilak et al., 1995).

ينتمي كولاجين الغضروف المفصلي المكون من ثلاث سلاسل عديدة الببتيد إلى مجموعة البروتينات ذات الشكل اللولبي الثلاثي المميز (Gelse *et al.*, 2003). ويمثل الكولاجين من النمط الثاني ما يقارب 90% إلى 95% من كولاجين المادة خارج خلوية للغضروف المفصلي (Sophia Fox *et al.*, 2009)، تعمل أنواع الكولاجين الأخرى كالأول والرابع والخامس والسادس والتاسع والثاني عشر والرابع عشر (Eyre *et al.*, 2002) على تقديم الدعم و الثبات لشبكة ألياف كولاجين النمط الثاني المسؤولة عن قوة الغضروف أمام قوى الضغط والشد والثني (Sophia Fox *et al.*, 2009)، فالروابط المتصالبة التي ترتبط عبرها لبيفات بروتين الكولاجين مع بعضها تضيف مزيد من القوة كما ترتبط مع جزيئات البروتيوغليكان عبر سلاسل جزيئية من عديد السكاريد (الجليكوزأمينوغليكان) (Palmer *et al.*, 2001). يعد حمض الهيالورونيك العمود الفقري الذي تتجمع وتتكدس عليه جزيئات البروتيوغليكان التي تتكون من لب بروتيني يرتبط به الجليكوزأمينوغليكان (كبريتات الكوندرويتين و الكيراتان) ليشكلوا معاً بنية شبيهة بفرشاة تنظيف الأوعية الزجاجية، الشكل رقم (4) (Kwan *et al.*, 1990).

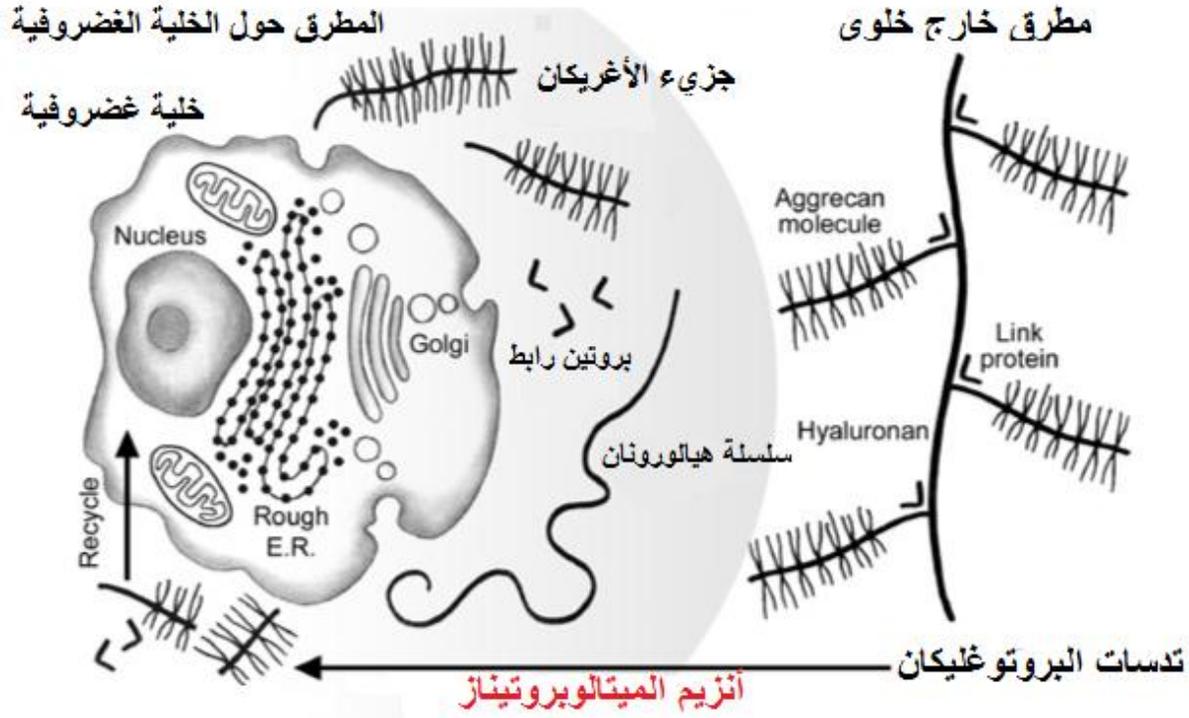


الشكل رقم(4): يوضح تكدس جزيئات البروتيوغليكان على حمض الهيالورونيك

(Mansour *et al.*, 2013).

تتباين نسبة البروتيوغليكان في طبقات الغضروف المفصلي النسيجية ويكوّن حوالي 30% من وزنه الجاف كما يتباين محتوى الغضروف المفصلي من الماء تبعاً لعمق طبقاته النسيجية،

فبالقرب من السطح المفصلي يكون تركيز البروتيوغليكان منخفضاً نسبياً ومحتوى الماء هو الأعلى أما المناطق العميقة من الغضروف والقريبة من العظم تحت الغضروف يكون تركيز البروتيوغليكان بها أكبر ومحتوى الماء هو الأدنى (Nigg and Herzog, 2007)، الشكل رقم(5).



الشكل رقم (5): يوضح آلية تصنيع تكدسات البروتيوغليكان في الخلايا الغضروفية

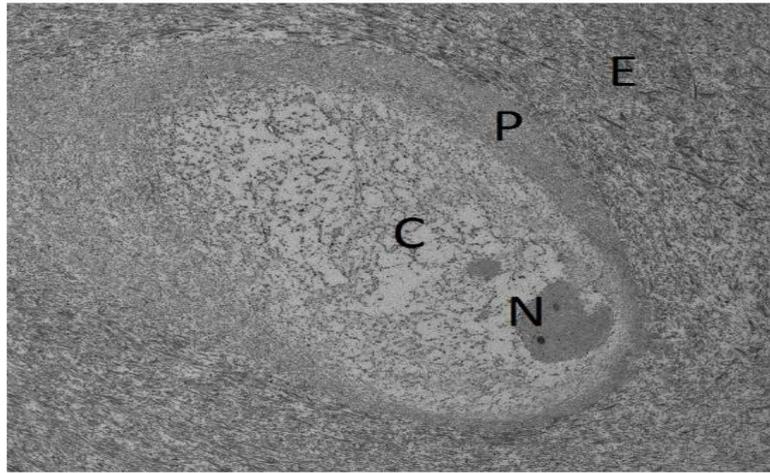
(Berger and Weiss, 2003).

إن جزيئات البروتيوغليكان مشحونة بشكل سلبي للغاية الأمر الذي يسمح لها بالاحتفاظ بالماء بفعالية بينما تبقى شبكة لبيفات الكولاجين تكدسات البروتيوغليكان محاصرة ضمن المادة خارج خلوية (Pearle *et al.*, 2005)، الأمر الذي يجعلها قادرة على تنظيم الضغط الانتفاخي للغضروف المفصلي إلى حد كبير كما تمنحه القدرة على مقاومة الضغط الناجم عن التحميل (Wilkins *et al.*, 2000). أما فيما يخص تفكيك جزيئات البروتيوغليكان فتعتبر أنزيمات الميتالوبروتيناز الموجودة في المطرق المسؤولة المباشرة

عن ذلك إذ يتم إعادة تدوير منتجات التفكك من قبل الشبكة السيتوبلازمية للخلايا الغضروفية (Berger and Weiss, 2003).

يحتوي النسيج الغضروفي للمفصل على الخلايا الغضروفية المنغمسة في المطرق خارج خلوي الموجود بين الخلايا والمحتوي على الماء والكولاجين والبروتيوغليكات ومركبات أخرى، تعد الخلايا الغضروفية الوحيدة المتواجدة في نسيج الغضروف وهي المسؤولة عن تصنيع مكونات المطرق وصيانة مطرق النسيج الغضروفي (Chahine et al., 2013).

يطلق على الجزء من المطرق خارج خلوي المحيط بالخلايا الغضروفية مباشرة بالمطرق حول الخلايا الغضروفية، ويظهر حول الخلايا الغضروفية على شكل منطقة رقيقة تطوق الخلايا الغضروفية تماماً وتكون غنية جداً بالبروتيوغليكان (korhonen and Herzog, 2008)، الذي يرتبط مع خيوط حمض الهيالورونيك مشكلة تكتلات بروتوغليكانية ضخمة كما تفرز الخلايا الغضروفية بالإضافة للبروتيوغليكان سلسلة الهيالورونان والبروتينات الرابطة مشكلةً ارتباطاً فيما بينها في المطرق حول الخلية الغضروفية (Cohen et al., 2003)، يعتقد أن للمطرق حول الخلايا الغضروفية دوراً كبيراً في نقل الإشارة في أثناء التحميل وحماية الخلايا الغضروفية وتعديل القوى الميكانيكية الممارسة عليها و يطلق على الخلايا الغضروفية و المطرق حولها بالكوندرون (Sophia Fox et al., 2009).



الشكل رقم(6):صورة بالمجهر الإلكتروني الماسح لخلية غضروفية يوضح نواتها(N) و المطرق حول الخلية الغضروفية(P) و المطرق الخارج خلوي(E) (Ronkainen, 2014).

4.2. الخلايا الغضروفية Chondrocytes:

إن الخلايا الغضروفية هي النوع الخلوي الوحيد الموجود في نسيج الغضروف المفصلي ويتلخص دورها في الحفاظ على سلامة المادة خارج خلوية عن طريق تصنيع وإنتاج الكولاجين والبروتيوغليكان (Julkunen *et al.*, 2009). تكون الخلايا الغضروفية أكثر ليونة من المادة خارج خلوية لذلك من المفترض أن تكون أكثر عرضة للتشوه وتغير الشكل في أثناء التحميل مقارنةً بالمادة خارج خلوية ولكن هذا لا يحدث لأن الخلايا الغضروفية محمية بواسطة المطرق حول الخلايا الغضروفية المحيط بها (Nigg and Herzog, 2007).

تخضع الخلايا الغضروفية تحت تأثير الضغط الميكانيكي وأثناء تطور الإصابة بالتتكس المفصلي لتغيرات في الشكل (Turunen *et al.*, 2013)، هذه التغيرات على مستوى الخلايا تعد غير متجانسة على امتداد عمق النسيج الغضروفي وتشمل زيادة حجم الخلايا الغضروفية بسبب انخفاض الأسولية للمادة خارج خلوية في حالة التتكس (Huttu *et al.*, 2012).

تحاط الخلايا الغضروفية بغشاء سيتوبلازمي كاره للماء يفصل بين البيئة خارج وداخل الخلايا ويتكون من طبقة ثنائية من الدهون ويسمح فقط للجزيئات الصغيرة القابلة للذوبان في الدهون كالأكسجين والماء وثاني أكسيد الكربون بإختراق الطبقة الدهنية المزوجة، أما الجزيئات الأخرى فيتم ادخالها إلى الخلية أو ضخها للخارج عبر قنوات بروتينية عابرة للغشاء الهيولي أو من خلال نواقل بألية النقل الفعال أو المنفعل (Wilkins *et al.*, 2000).

يحدث النقل الفعال بعكس مروج التركيز ويتطلب طاقة مشتقة أساساً من إماهة الأدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP) أما الطريقة الأخيرة التي يمكن للجزيئات أن تدخل بها الخلية هي من خلال الانتقام (الإدخال) الخلوي حيث يحتجز الغشاء الهيولي الجزيء وينخمس نحو الداخل حتى يصبح محاطاً بالسيتوبلازما مكوناً حويصلة تحتوي على الجزيء المبتلع، هذه العملية يمكن أن تحدث في الاتجاه الآخر وفي هذه الحالة تسمى هذه الظاهرة بالإخراج الخلوي (Stein, 1986).

إن الهيكل الخلوي للخلايا الغضروفية الذي يتكون من الأكتين والنيبيات الدقيقة والخيوط المتوسطة يساهم في تحديد شكل الخلية وسلامة هيكلها وتعد النيبيات الدقيقة هي الأكبر بينها حيث يصل قطرها إلى 25 نانومتر و تتكون من بروتين يسمى تيوبولين أما خيوط الأكتين فهي مصنوعة من بروتين يسمى الأكتين و يبلغ قطره 6 نانومتر فقط بينما تتكون الخيوط المتوسطة من بروتينات فرعية مختلفة متوسطة الحجم يبلغ قطرها حوالي 10 نانومتر، تشارك خيوط الأكتين في حركة الخلايا والحرائك الخلوية أما الخيوط المتوسطة فهي تعد قوية وشبيهة بالحبال ووظائفها ميكانيكية بشكل أساسي لكنها ليست ديناميكية مثل خيوط الأكتين.

قد يؤدي أي اضطراب كيميائي تصنيعي لهذه الخيوط إلى انخفاض في الصلابة الميكانيكية للخلايا الغضروفية (Chahine et al., 2013).

يُعتقد أن نشاط الخلايا الغضروفية مرتبط بعوامل تتضمن مكونات المادة خارج خلوية والمؤثرات البيئية والوراثية والتحفيز الميكانيكي (Han et al., 2010) فالطريقة التي يتم بها تحويل الحمل والضغط المطبق على الغضروف المفصلي إلى إشارات كيميائية داخل الخلايا الغضروفية وكيف تسبب هذه الإشارات تغييرات في الجزيئات الكبيرة تدعى بالنقل الميكانيكي Mechanotransduction (Wilkins et al., 2000) والذي يبدأ على السطح الواقع بين غشاء الخلية الغضروفية و المادة خارج خلوية (Leong et al., 2011).

تمتلك الخلية الغضروفية مستقبلات ميكانيكية في غشائها السيتوبلازمي تتحسس التغيرات الفيزيوكيميائية وتتمثل هذه المستقبلات بالقنوات الشاردية و الإنتغرينات. فعند حدوث تحفيز ميكانيكي ما يتم تنشيط للقنوات الشاردية المعتمدة على الفولتية والعاملة بالتمدد مما يسبب تفعيل مسارات التأشير ضمن الخلايا الغضروفية عن طريق السماح بتدفق الأيونات كالسيوم كما يسمح التحفيز الميكانيكي للخلايا الغضروفية بإطلاق وسطاء قابلة للذوبان تنشط مستقبلات السطح الخلوي ، أما آلية عمل الإنتغرينات (عبارة عن مستقبلات بروتينية سكرية عابرة للغشاء الهيولي) في استشعار هذه التغيرات تتلخص من خلال ارتباطها على كل من خيوط الأكتين في الهيكل الخلوي من الداخل والمطرق خارج الخلايا من الخارج ويعد الأنتغرين نوع $\alpha5\beta1$ أهمها في الغضروف (Ramage et al., 2009).

يؤدي التحميل الديناميكي لنسيج الغضروف المفصلي إلى زيادة الضغط الهيدروستاتيكي وتدفق السوائل ونشوه المطرق (Wilkins et al., 2000)، في حالة التحميل من وضع السكون يزداد التركيز الشاردي و أسمولية المطرق خارج خلوي وتنخفض درجة الحموضة (PH) للنسيج. نتيجة هذه التغيرات تميل الخلايا الغضروفية لتخفيض نشاطها الإستقلابي بينما يسبب التحميل الميكانيكي المترافق بأذية انضغاطية تصنيع لأنزيمات المطرق (الميتالوبروتيناز و الأغيريكانيز 1 أو أنزيم البروتيناز المطرق المنظم للسيكلوأكسجيناز COX2) مقابل التخفيض من إنتاج الكولاجين نمط (2) والأغيريكاني الذي على الأرجح يحدث بسبب تحفيز مستقبلات الإنترلوكين 1 (IL-1) (Ramage et al., 2009).

يؤثر نمط التحميل في استجابة الخلية الغضروفية كما ترتبط بمدى ومدة تأثير الحمل وعدد مرات التكرار (Wilkins et al., 2000)، فعلى سبيل المثال ، تأثير التحميل المطبق على سطح الغضروف البقري

المستأصل وبلوغ العتبة الحرجة من الضغط 15-20 ميغا باسكال يتسبب بموت الخلايا وتلف الكولاجين كما أظهرت دراسات أخرى أن الوصول لأقل عتبة ضغط 4.5 ميغا باسكال قد يسبب موت الخلايا الغضروفية المبرمج (Sun, 2010). يختلف النشاط التخليقي للخلايا الغضروفية على امتداد عمق النسيج الغضروفي حيث يرتفع في المنطقة العميقة والوسطى مقارنةً بالمنطقة السطحية، في الغضروف السليم تستبدل الخلايا الغضروفية مكونات المطرق و تجدها ببطء شديد فنصف عمر الكولاجين يتجاوز 100 عام ويتراوح نصف عمر سلاسل الأغريكان بين 2-32 عام (Wong et al., 1996).

أحد مسارات النقل (التنبيغ) الميكانيكي في الخلايا الغضروفية تعتمد على أيونات الكالسيوم، فمن المعروف أن المنبهات الفيزيائية وتدفق السوائل والضغط الهيدروستاتيكي والضغط التناضحي كلها تؤثر في تدفق شوارد الكالسيوم فهي بالغة الأهمية لأنها تنظم عملية التمثيل الغذائي للخلايا ، والإنقسام ونسخ الجينات وانكماش الخلايا (Han et al., 2012). تسبب القوى الميكانيكية تدفق أيونات الكالسيوم + Ca² عن طريق تنشيط القنوات الشاذرية (SAC) ، و أنتغرين نوع $\alpha 5\beta 1$ المرتبط ببروتين CD47 (Ramage et al., 2009).

تؤدي المحفزات الميكانيكية أيضاً إلى تحرير الخلية لمادة الببتيد العصبي P (Neuropeptide) القابلة للذوبان والتي من المعروف أنها تعمل على مستقبلات نيوروكينين 1 (NK1) للحث على تحرير إنترلوكين 4 (IL-4) و الذي ينشط عند ارتباطه بمستقبله مسارات أيونات + Ca² في الوسط داخل خلوي والتي تؤدي إلى تنشيط قنوات البوتاسيوم المفعلة بالكالسيوم مما يؤدي في النهاية إلى إنتاج بروتينات المطرق أو أنزيم البروتياز (Ramage et al., 2009).

5-العظم تحت غضروفي Subchondral bone:

الغضروف المفصلي عبارة عن نسيج غضروفي زجاجي يغطي نهايات العظام في المفاصل الزليلية ويعمل على امتصاص الصدمات في أثناء حركة المفصل ويملك بنية تخلو من التروية الدموية والعصبية واللمفية (Carballo et al., 2017).

يشار إلى النسيج العظمي المتوضع أسفل العلامة المدية والطبقة المتكلسة من الغضروف بالعظم تحت غضروفي ويتألف من الصفيحة العظمية القشرية والعظم الترايبيقي (الإسفنجي) تحت غضروفي، تتوضع الصفيحة القشرية العظمية مباشرةً تحت الطبقة المتكلسة من الغضروف على هيئة طبقة رقيقة وتتشابه خصائصها الفسيولوجية مع العظم القشري الموجودة في المواقع المختلفة للهيكل العظمي فهي توفر قوة ميكانيكية لدعم الغضروف المفصلي المغطي، تمتلك الصفيحة

القشرية تحت الغضروف قنوات يصل قطرها 10-160 ميكرون مشكلةً بنية لدعم الغضروف المفصلي حيث تسمح بتبادل العناصر الغذائية والجزيئات بين الغضروف والعظم (Bian *et al.*, 2016).

تعد الصفيحة القشرية أقل صلابة مقارنةً بالعظم القشري لجسم العظم الطويل حيث يصل معامل المرونة بالمقارنة بينهما إلى 1.372 جيجا نيوتن / م² مقابل 14 جيجا نيوتن / م² (Burr and Gallant, 2012). أسفل العظم القشري يوجد العظم الترابيقي تحت الغضروفي وهو أكثر مسامية ونشط استقلابياً مقارنةً بالصفيحة القشرية، ترابيق العظم الإسفنجي ذات بنية شبكية فريدة تتكيف مع التأثير الميكانيكي الموضعي، يطلق على الغضروف المفصلي والعظم القشري تحت الغضروفي والعظم الإسفنجي (الترابيقي) في المفصل بالوحدة العظمية الغضروفية Osteochondral unit والتي يتلخص دورها في توزيع الحمل في أثناء حركة المفصل (Goldring and Goldring, 2016).

6- سلوك وألية عمل الغضروف المفصلي Behavior and mechanism of : action of articular cartilage

يعتبر نسيج الغضروف المفصلي كمزيج من المكونات السائلة والصلبة فمكوناته من بروتيوغليكان وكولاجين و خلايا مجتمعةً تكون الجزء الصلب من هذا المزيج أما السائل الخلالي الذي يتحرك بحرية خلال المطرق يعد الجزء السائل (Mow *et al.*, 1980).

تعمل المادة الخارج خلوية (المطرق) متمثلةً بألياف الكولاجين والبروتيوغليكان في الغضروف المفصلي على تحديد الخصائص الميكانيكية للغضروف المفصلي انطلاقاً من قدرتها على حبس وتقييد الماء بفعالية مطلقة (Glaser and Putz, 2002) كما إن تفاعل السائل النسيجي الخلالي مع المواد الصلبة المتواجدة ضمنه يعطي الخصائص الكهربائية الساكنة للغضروف المفصلي ولأن الغضروف المفصلي غير متجانس مناطقياً في محتواه من هذه المواد تتغير الخصائص المادية والوظيفية تبعاً لعمق الغضروف (Nigg and Herzog, 2007).

تعد البروتيوغليكانات جزيئات متعدد الأيونات (الشحنات) فالجزيء الواحد منها يمتلك مواقع عديدة سالبة الشحنة مصدرها مجموعات الكبريتات والكربوكسيل ، يسبب التنافر المتبادل بين هذه الشحنات السالبة ضمن البيئة المائية احتلال جزيئات البروتيوغليكان مزيد من الحجم في المادة خارج خلوية للغضروف ، هذا الحجم الذي تشغله تجمعات البرتيوغليكانات محاصر بشبكة ألياف الكولاجين المتداخلة والتي تقوم بالإحاطة بها كلياً

كغلاف، هذا التقييد لجزيئات البروتيوغليكان من قبل هيكل الشبكة الكولاجينية ينتج عنه نوع من المقاومة و الذي بدوره يعد عنصراً أساسياً في الاستجابة الميكانيكية للعضروف، تتصف ألياف الكولاجين بقدرتها العالية على تحمل قوة الشد وتتلخص أليتها في مقاومة الضغط الميكانيكي المطبق من خلال ما تسببه هذه القوى من انضغاط للسائل النسيجي خلال عملية التحميل والذي بدوره يحافظ على شبكة ألياف الكولاجين في حالة توتر (Nigg and Herzog, 2007).

فعندما يتعرض العضروف للضغط يتم دفع المواقع السالبة الشحنة على جزيئات البروتيوغليكان لتقترب من بعضها مما يزيد قوى التناثر المتبادلة فيما بينها لتضفي زيادة في المقاومة تجاه الشبكة الكولاجينية المتوترة مما يزيد من قساوة العضروف ويلاحظ عند التعرض لضرر في الهيكل الشبكي لألياف الكولاجين تنخفض قساوة وصلابة النسيج المضغوط لأن البروتيوغليكانات يتم احتواءها بشكل أقل كفاءة أما بالنسبة لجزيئات البروتيوغليكان الغير متكلسة لا تلعب دوراً فعالاً في مقاومة الأحمال الضاغطة لأنها ليست محاصرة من شبكة الكولاجين المطرقي (Linn and Sokoloff, 1965).

ترتبط الاستجابة الميكانيكية للعضروف بشدة أيضاً بحركة السائل الخلالي ضمن أنسجة العضروف فتعرض مقطع من العضروف للضغط المطبق يسبب تدفق السوائل ضمن الأنسجة وهذا يقود إلى سلوك مشابه للإسفننج وعند تشوه العضروف تتدفق هذه السوائل وتتفد عبر السطح المفصلي (Linn and Sokoloff, 1965).

7- خصائص المشي والحركة لدى الأرانب Gait and movement : characteristics in rabbit

إن الاختلافات الوظيفية والهيكلية عند الأرانب بالمقارنة مع البشر واضحة فمفصل الركبة عند الأرانب يبقى في حالة ثني أكثر وطريقة المشي تختلف فهي لا تخطو فقط وإنما تقفز أيضاً (Proffen *et al.*, 2012). إن درجة الانثناء (المنفعل) الأقصى التي تصل اليها الركبة لدى البشر تبلغ 170° درجة بينما أقصى درجة تمدد (منفعل) تصل لدرجة 0°، أما مفصل الركبة لدى الأرانب فيبلغ الانثناء الطبيعي له 160 درجة بالمقارنة مع درجة التمدد الطبيعي للمفصل التي تصل الى 90 درجة (Gregory *et al.*, 2012) ونتيجة الدرجة العالية من الانثناء للمفصل يمثل الأخدود البكري إلى حد ما سطح استنادي بالنظر لوزن الجسم المنخفض نسبياً وبالتالي ذلك يخلق ظروف تحميل على المفصل تختلف بالمقارنة مع البشر والحيوانات الكبيرة (Chu *et al.*, 2014).

تسبب وضعية الجثي (القرصاء) الطبيعية عند الأرنب زيادة العبء أكثر على الناحية الخلفية من اللقم الفخذية بالمقارنة مع وضع الاستقامة العمودي لدى الحيوانات الكبيرة (Rasanen and Messner, 1996) و نظراً لأن الغضروف أكثر صلابة في الجانب الأنسي لدى البشر والحيوانات الكبيرة فالسطح الأنسي لديها يتحمل عبء تحميل وضغط أكثر من الجانب الوحشي أما الأرانب فهي على عكس البشر والجرذان والفئران وخنزير غينيا فهي تميل للتحميل على الجانب الوحشي لمفصل الركبة (Gushue et al., 2005). لذلك ينتج عن الاستئصال الجزئي للغضروف الهلالي من الجانب الوحشي تطوراً سريعاً لفصال العظم التتكسي مترافقاً مع آفات أكثر شدة من الإجراء المعني في الغضروف الهلالي الأنسي (Bendele, 2001).

8-الخصائص التشريحية والنسجية المميزة لمفصل الركبة لدى الأرانب

Anatomical and histological characteristics of the knee joint in rabbits

تنزن الأرانب عادةً 2-6 كغ، ويبلغ متوسط العمر المتوقع لها 5-13 سنة وتصل للنضج الجسمي بعمر 4-9 أشهر، تتشابه ركبة الأرنب بالتشريح العياني مع البشر بتواجد غضروفين هلاليين ورباط رضىفي مستقيم من الناحية الأمامية مع تجويف زليلي واسع فوق رضىفي (Laverty et al. 2010)، ولقم فخذية متطورة بشكل جيد وموجهة للخلف مع ميزاب أو أخدود عميق بين اللقمتين وهضبة ظنبوية تتحد للخلف (Crum et al., 2003) أما الاختلافات فتتجسد بصغر الرضفة بالنسبة إلى التراكيب العظمية الأخرى (Gregory et al., 2012) والهضبة القصبية أكثر تحدياً (Bascunan et al. 2019) كما أن الانحدار الخلفي والوحشي للهضبة القصبية الوحشية أكثر وضوحاً في الأرانب من البشر (Crum et al., 2003).

يمتلك الأرنب ميزاباً بكرياً أكثر وضوحاً مع حواف بارزة ممتدة للناحية الدانية، يمتلك مفصل الركبة لدى البشر لقمة فخذية وحشية أوسع بينما في الأرنب تكون اللقمة الفخذية الأنسية هي الأكبر و تتفصل الشظية عن الظنبوب عند الإتجاه قاصياً من البروز الإبري لعظم الشظية ثم يندمجان مرة أخرى (Crum et al., 2003) أما الرباط الصليبي الأمامي عند الأرنب يلعب دوراً ثانوياً في تثبيت مفصل الركبة (Bascunan et al., 2019).

تصل سماكة الغضروف المفصلي لركبة الأرنب حتى 1400 مايكرومتر وتصل سماكة الطبقة المنكلسة من الغضروف بين 50-170 مايكرومتر فالغضروف لدى الأرنب والبشر سميك نسبياً بالنسبة لوزن الجسم عند مقارنته بالأنواع الأخرى (Kaab et al., 1998).

يتوضع الجزء الأكثر سماكة من الغضروف في الهضبة الظنبوية الأنسية ، وهو أكثر سماكة ونعومة في الظنبوب منه في عظم الفخذ (Rasanen and Messner, 1996) أما بالنسبة لترتيبها الطبقي فالطبقة السطحية تعد الأقل ثخناً (على غرار البشر) و الطبقة الوسطى أكثر سماكاً مقارنة بالبشر أما بالنسبة للطبقة المنكلسة فهي متشابهة (Chevrier et al., 2018) ولكن نسبياً أكثر سماكاً من البشر (Laverty et al., 2010). يتمتع الغضروف المفصلي للأرانب بقدرة ملحوظة على الترميم ذات منشأ داخلي وخاصة في الحيوانات الصغيرة (Mccoy, 2015) ويفسر ذلك بكثافة للخلايا الغضروفية التي تصل أعلى بأربع إلى سبع مرات من البشر مما يؤدي إلى توفر المزيد من الخلايا في موقع الخلل لإصلاحه (Moran et al., 2016) أو من خلال تكاثر وتمايز خلايا اللحمية المتوسطة التي مصدرها من نخاع العظم (Chu et al., 2014) .

الهندسة البنائية الدقيقة للعظم تحت الغضروفي في بكرة عظم الفخذ عند الأرنب تتشابه بشدة مع اللقمة الأنسية الفخذية للإنسان، أما صفيحة النمو رفيعة نسبياً والعظم تحت الغضروف أكثر مسامية وأقل كثافة والعظم متشابه من حيث الكثافة المعدنية (Moran et al., 2016)، تمتلك الأرانب هيكل عظمي يتصف بقدرة أسرع على التجدد والتعويض مقارنةً مع الأنواع الأخرى مثل الرئيسيات أو بعض القوارض (Li et al., 2021) و بشكل عام تتراوح سماكة صفيحة العظم تحت الغضروف عندها بين 190 و 533 مايكرومتر (Bendele, 2001).

9- تنكس المفاصل Osteoarthritis:

يعد تنكس المفاصل أحد أكثر اضطرابات الجهاز العضلي الهيكلي حدوثاً والذي يتصف بتلف تدريجي في الغضاريف والعظام تحت غضروفية مترافقاً مع ضعف في العضلات والأوتار مما يسبب ألم مفصلي و تحديد في الحركة مع تشوه وعجز حركي مما يعيق النشاط اليومي بالإضافة إلى التكلفة الباهظة في ما يخص التداخل العلاجي بسبب مسار المرض المزمن كما يعد مفصل الركبة والفخذ واليد والقدم من أكثر المفاصل عرضة للإصابة (Gupta et al., 2005).

هناك العديد من العوامل التي تساهم و تهيئ للإصابة بتنكس المفصل منها العمر والسمنة والجنس والأذية والإصابة المفصالية وضعف العضلات (Anderson and Loeser, 2010). يعد التقدم

بالعمر (الشيخوخة) عامل الخطر الأكبر بالنسبة لتتكس المفاصل (Bitton, 2009)، فعلى سبيل المثال بلغت نسبة الإصابة عند البشر وفي الأشخاص اللذين تزيد أعمارهم عن 65 عامًا في فنلندا وحدها أكثر من نصف السكان كما أظهرت الفحوصات الشعاعية تضيقاً في المسافة المفصليّة للركبة ، مما قد يشير إلى حدوث تغييرات في الغضاريف الهلالية وبالتالي بداية ظهور تنكس المفاصل (Hunter et al., 2006).

يعد تنكس المفصل أكثر أمراض المفاصل شيوعاً، تترافق المرحلة المبكرة من المرض تآكل سطح الغضروف و تشكل نموات عظمية Osteophyte و تغييرات في العظم تحت الغضروف مع تورم وألم في المفصل (Huttu et al., 2012)، عادةً يتطور المرض ببطء، ويتآكل الغضروف كلياً في المراحل المتأخرة مما قد يؤدي إلى تجميد ركة المفصل بالكامل بسبب الألم الناجم، علاوةً على ذلك، لا توجد علاجات دوائية متاحة يمكن أن توقف أو تأخر تطور المرض (Leong et al., 2011) وتقتصر المعالجة على استخدام مسكنات الألم ومضادات الإلتهاب (Sarzi-Puttini et al., 2005).

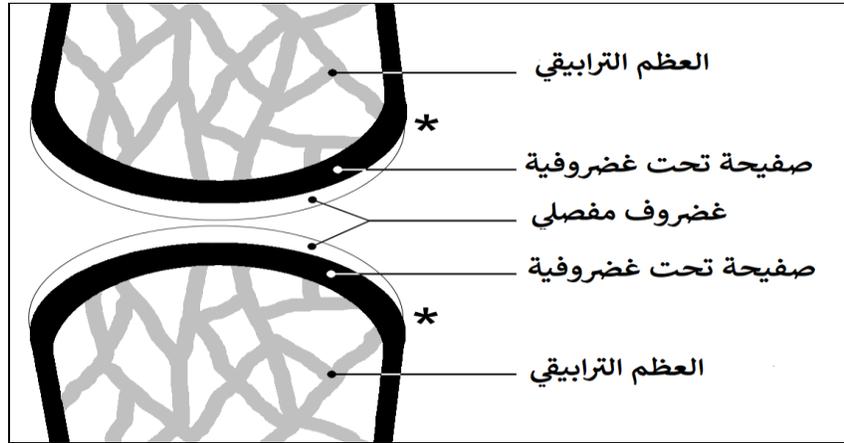
تشمل العلامات الأولى لتتكس المفاصل ظهور تعرجات سطحية حيث يصبح اتجاه حزم ألياف الكولاجين في الطبقة السطحية من الغضروف المفصلي أكثر عشوائية مما يعطي السطح المفصلي الشكل المتعرج Surface fibrillation (Pearle et al., 2005). بالإضافة لتطور آفات وصدوع تنتشر من سطح المفصل إلى الأنسجة العميقة (Glaser and Putz, 2002).

يتكون الغضروف المفصلي من مادة خارج خلوية غنية بالماء تنغمس فيها الخلايا الغضروفية بنسبة 1-4%، يعد الكولاجين والبروتيوغليكانات المكون الرئيسي للمادة الخارج خلوية. يتواجد الكولاجين نمط II بغزارة في الغضروف المفصلي مشكلاً شبكة متصالبة مع ألياف الكولاجين الأنماط الأخرى، هذه الشبكة الصلبة والمشدودة كإطار محيط بالمادة خارج خلوية المنتجة ، تقوم بتحديد شكل الغضروف وتضفي عليه القوة والصلابة وتقوم بتقييد وتثبيت البروتيوغليكانات التي تلعب دوراً في جذب الأيونات الإيجابية الشحنة كونها ذات شحنة سلبية مخلفةً بذلك ضغطاً اسموزياً يحتفظ بالماء ضمن المادة خارج خلوية ، هذا الماء يسبب انتباج المادة خارج خلوية ويشكل 60-70% من الوزن الرطب للغضروف المفصلي. أثناء التحميل على المفصل ينضغط محتوى الماء في الغضاريف بإتجاه الخارج ليعود بعد زوال الضغط نحو الداخل بفضل الضغط الأسموزي الناجم عن البروتيوغليكانات السالبة الشحنة وبهذه الآلية تمنح البروتيوغليكانات خاصية المرونة للغضاريف المفصليّة (Lane et al., 2001).

خلال المرحلة المبكرة من الإصابة ينخفض محتوى المادة خارج خلوية من البروتيوغليكان عكس الكولاجين الذي يبقى ثابتاً (Turunen *et al.*, 2013) مما يسبب انخفاض الضغط الذي تمارسه ضد الشبكة الكولاجينية المقيدة وبالتالي انخفاض مقاومة حزم ألياف الكولاجين للبروتيوغليكان يتبعها تخریب لألياف الكولاجين، تستدعي هذه التغييرات سلسلة من الإشارات الخلوية التي تحفز انقسام الخلايا الغضروفية وزيادة نشاطها التصنيعي للمادة خارج خلوية كآلية تعويضية (Lammi *et al.*, 2008)، ومع ذلك تبقى هذه الآلية غير قادرة على التغلب على التلف الحاصل عند استمرار الأذية المفصلية فعملية انقسام الخلايا الغضروفية تعد بطيئة (Chen *et al.*, 2013) ، مما يؤدي إلى انخفاض محتوى الكولاجين و البروتيوغليكان وتطور صدوع كاملة و ثخينة (lammi *et al.*, 2008). إن استجابة الخلية للتحميل الميكانيكي في الجسم الحي في المراحل المبكرة جداً من التنكس المفصلي ليست معروفة جيداً ولكن من المعروف أن حجم الخلايا الغضروفية وصفاتها المورفولوجيا تتغير تحت الضغط الميكانيكي في أثناء تطور المرض (Turunen *et al.*, 2013) حيث وجد أن حجم الخلايا الغضروفية في المنطقة السطحية والمتوسطة يزداد مع درجة تنكس الغضروف، هذا ما أشارت إليه دراسات حديثة أجريت على اللقم الفخذية و الرضفة (Clark *et al.*, 2006).

عند الإصابة بتنكس المفصل يحدث عدم توازن بين النشاط البنائي والتقويضي للعمليات الإستقلابية داخل الخلايا الغضروفية (Leong *et al.*, 2011)، في الغضروف السليم يعني النشاط التقويضي بإزالة الأنسجة التالفة ثم تستبدل العمليات البنائية الأنسجة التالفة بأخرى سليمة (Ramage *et al.*, 2009)، يتوسط عملية إزالة وتفكيك المطرق ولو بشكل جزئي تصنيع للأنزيمات المحللة للبروتين كإنزيمات الميتالوبروتيناز المطرقية (MMP8, MMP13, MMP3) التي لديها القدرة على تفكيك و شطر الكولاجين نمط II حيث تستطيع هذه الأنزيمات فك الرابطة البيبتيدية التي تجمع الأحماض الأمينية سوية وكذلك أنزيمات البروتيوغليكان أجريكانيز وبشكل محدد أنزيم ADAMTS-1,4,5 القادر على تفكيك الاجريكانز الغضروفي (Leong *et al.*, 2011). في الأنسجة السليمة تقوم المثبطات النسيجية لأنزيمات الميتالوبروتيناز التي تدعى TIMPs بكتب جزئي لمستويات ADAMTS و MMPs النشطة أما في حالة تنكس المفاصل فإن الأنزيمات المحللة للبروتين تأخذ دورها بفعالية مما يؤدي لتلف الغضروف المفصلي (Leong *et al.*, 2011) وهذا يوضح دور TIMPS (بروتينات قادرة على تثبيط أنشطة جميع MMPs المعروفة) الرئيسي في الحفاظ على التوازن الإستقلابي ضمن المطرق الغضروفي (Gomez *et al.*, 1997). بغض النظر عن الأذية الغضروفية في مشاشات العظم ، تعد التغييرات المرضية للعظام في منطقة المفصل جزء من الإصابة، هذه التغييرات الملاحظة غير متماثلة بالنسبة لموقع

الإصابة حيث يلاحظ زيادة تدريجية في سماكة الصفيحة تحت غضروفية مع تبدل الهيكل البنائي وترسب الكلس في العظم الترايبيقي وتشكلات عظمية في الحواف المفصالية وتكيسات عظمية تحت غضروفية (Goldring *et al.*, 2013)، الشكل رقم (7).

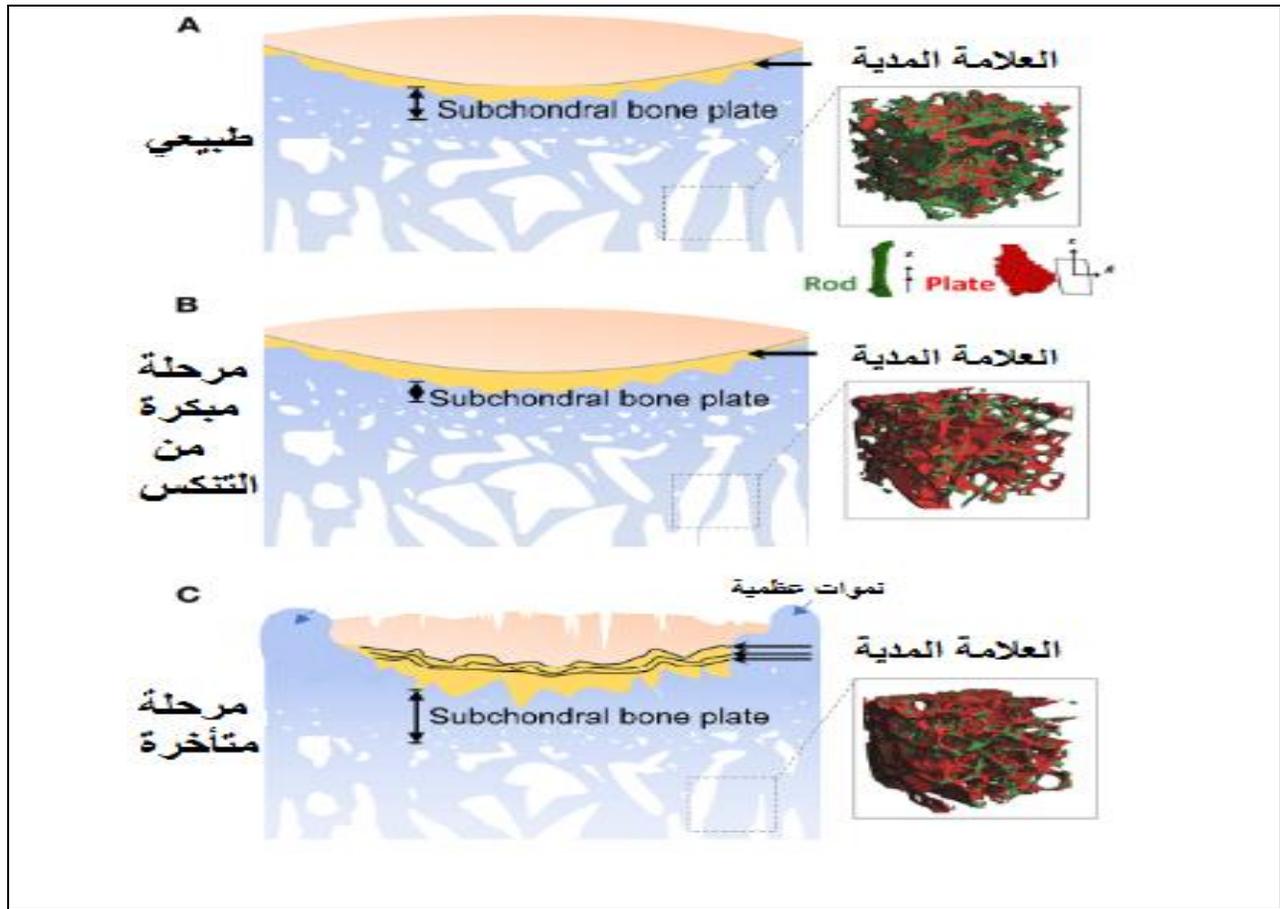


الشكل رقم (7): يوضح التراكيب التشريحية النسيجية في المنطقة المشاشية من المفصل

(Sniers *et al.*, 2009).

أشارت بعض الأبحاث للدور الذي قد يلعبه العظم تحت غضروفي في بدء وتقدم الضرر اللاحق بالغضروف المفصلي فزيادة الحجم والسماكة المترافقة مع زيادة القساوة في النسيج العظمي عند تنكس المفصل ممكن أن تؤثر سلباً في البيئة البيوميكانيكية للغضروف أعلاه وعند التمعن نجد أن حجم العظم لا يعد العامل الوحيد المؤثر في الخصائص الميكانيكية للعظم ولكن توجد عوامل أخرى كالبنية الهندسية للنسيج وصفات المواد الداخلة في تركيبه ونتيجة الزيادة في معدلات إعادة البناء و الترميم للنسيج العظمي في المفصل المتكس يحدث انخفاض تمعدن النسيج وانخفاض معامل القساوة (Day *et al.*, 2004). بصرف النظر عن الدور الميكانيكي الحيوي للعظم في تنكس المفصل قد يمتلك أيضاً دوراً (تغذوياً) فحقيقة أن الغضروف نسيج لا وعائي ويعتمد على السائل الزليلي والعظم تحت الغضروفي لتزويده بالمغذيات لا يمكن تجاهلها بالإضافة إلى إمكانية انتقال السيتوكينات وعوامل النمو من العظم إلى الغضروف فعند التنكس المفصلي تتحرر السيتوكينات المختلفة وعوامل النمو من العظم ناهيك عن أن التغييرات في العظم تحت الغضروفي تؤثر في جملته الوعائية وبالتالي يؤثر في الإمداد بالمغذيات بإتجاه الغضروف (Findlay, 2007).

تسبب الأذية أو التنكس إختراق للوحدة العظمية الغضروفية مما يستدعي زيادة في التداخل بين الغضروف والعظم تحته وبالتالي تخضع الوحدة العظمية الغضروفية لتغير وإعادة تشكيل أظهرت دراسة مؤخراً حدوث صدع أفقي في السطح البيني للوحدة العظمية الغضروفية لمرضى التنكس المفصلي الذين يعانون من السمنة المفرطة يتصف بتآكل الغضروف وارتشاح نسيج ليفي حبيبي مع وجود حطام غضروفي أو عظمي وتمزق الشعيرات الدموية الدقيقة في السطح البيني للوحدة العظمية الغضروفية (Chen et al., 2020)، يمثل هذا نمطاً جديداً من المظاهر المرضية لتنكس المفاصل يترافق بغزو عصبي ووعائي للأنسجة العظمية الغضروفية المتحللة (Li et al., 2013)، الشكل رقم (8).

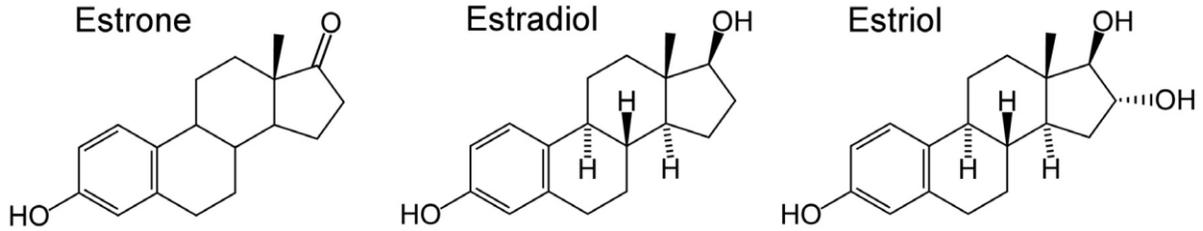


شكل رقم (8): يوضح التغيرات التي تطرأ على العظم تحت الغضروف أثناء تطور تنكس المفاصل، (A) الغضروف المفصلي يرتكز على نهايات العظام، ويوفر سطحاً احتكاكياً منخفضاً لتحمل الوزن وحركة المفاصل، في المفصل السليم تتوضع الطبقة الرقيقة المتكلسة من

الغضروف (الأصفر) في الجزء السفلي من الغضروف المفصلي ويفصلها عن المناطق النسيجية العليا بعلامة نسيجية تسمى العلامة المدية (سهم أسود). يشمل العظم تحت الغضروف كلا من الصفيحة القشرية والعظم الترابيقي كما نلاحظ على يمين المقطع تصوير للبنى المتكلسة من ترابيقي العظم الإسفنجي بشكل صفائح وأعمدة ترابيقيه. (B) في المرحلة المبكرة من التنكس تنخفض سماكة الصفيحة القشرية بسبب زيادة معدل تشكل العظم وتترافق مع خسارة في العظم الترابيقي تحت الغضروف وتظهر بشكل فادح في الترابيقي التي تأخذ شكل القضبان (أخضر) مع زيادة بسيطة في سماكة الترابيقي الصفائحية الشكل (أحمر). (C) في المرحلة المتأخرة تظهر التغيرات التنكسية بوضوح في الغضروف المفصلي (بنى) مع زيادة في سماكة الصفيحة تحت غضروفية وزيادة في صلابة الترابيقي العظمية، يظهر في العظم حول الغضروف تثبت عظمي (سهم أزرق)، تتوسع الطبقة المتكلسة من الغضروف لتخترق الطبقة الهياكلية من الغضروف المفصلي مع تخلل وتضاعف العلامة المدية مع استمرار خسارة الترابيقي التي تأخذ شكل القضبان و زيادة سماكة الترابيقي الصفائحية الشكل (Chen *et al.*, 2018).

10-الإستروجين Estrogen:

تتنمي الإستروجينات إلى مجموعة المركبات الستيروئيدية وتشمل الأنماط الطبيعية منها على الإسترايول Estradiol والإسترون Estrone والإستريول Estriol، يعتبر الإسترايول الأكثر فعالية منها وتبلغ فعاليته 12 ضعف الإسترون و 80 ضعف الإستريول لذلك يعد الإسترايول المركب الإستروجيني الرئيسي الذي يتم تصنيعه من المبايض قبل انقطاع وتوقف الدورة الطمثية عن طريق كولسترول الدم وذلك عبر عدة خطوات تبدأ بخلايا القراب الجريبي التي تحوله إلى بريجنينولون ثم إلى مركب الأندروستيستيرون و تستوستيرون، هذه الاندروجينات تنتقل إلى الخلايا الحبيبية للحويصل المتطور بالانتشار ومن ثم تتحول بفعل أنزيم الأروماتيز إلى إسترون أو إسترايول، الإسترون يتحول فيما بعد إلى إسترايول (Janssen *et al.*, 1999).



الشكل رقم (9): شكل توضيحي للبنية الكيميائية لكل من الإسترايول و الإسترون و الإستريول

(Sniekers *et al.*, 2009).

تقوم قشرة الكظر بتصنيع كميات قليلة من الإسترايول كما تقوم الخصى عند الذكور بذلك و يمكن أن تتحول طلائع الهرمونات لاسيما التستوستيرون إلى إسترايول في نسيج أخرى بخلاف الأفتاد التناسلية كالعضلات والشحم والعظام والنسيج العصبي، وبعد هذا لمصدر الثانوي للإستروجين بالغ الأهمية عند النساء بعد انقطاع الدورة الطمثية (Janssen *et al.*, 1999).

يرتبط الإستروجين كعامل تأثير هرموني بمستقبلاته الخاصة وهي نوعان مستقبلات أستروجينية نمط ألفا ($ER\alpha$) و مستقبلات أستروجينية نمط بيتا ($ER\beta$)، تختلف هذه المستقبلات من ناحية البنية وتشفر بجينات مختلفة، يعبر عن هذا التشفير الجيني في خلايا العديد من الأنسجة (أي أن العديد من الخلايا تمتلك هذه المستقبلات) وبالرغم من اختلاف توزع هذه المستقبلات في الأنسجة إلى أنه يوجد بعض التداخل بمعنى آخر من الممكن تواجد النمطين معاً في خلايا نسيج واحد، تتوضع هذه المستقبلات داخل الخلايا في السيتوبلازما وعندما ينتشر الإستروجين الحر إلى داخل الخلية يرتبط بموقعه على المستقبل ومن ثم ينفصل هذا المعقد عن سيتوبلازما الخلية ويتحرك إلى داخل النواة ليرتبط بتسلسل معين على الحمض الريبي النووي المنقوص الأكسجين يدعى هذا التسلسل بعناصر الإستجابة للإستروجين ومن ثم تبدأ عملية الإنتساخ (Gruber *et al.*, 2002) كما يرتبط الإستروجين بمستقبلات أخرى عابرة للغشاء السيتوبلازمي تدعى بالمستقبلات المقترنة بالبروتين G (Revankar *et al.*, 2005).

تمتلك الخلايا العظمية مستقبلات ألفا وبيتا الإستروجينية (Braidman *et al.*, 2001) وبعد الإستروجين أحد أهم منظمات التوازن بين بناء العظم وارتشافه (Lerner, 2006) كما تمتلك الخلايا الغضروفية في العديد من الأنواع الحيوانية هذه المستقبلات وكذلك البشر مما يشير إلى استجابتها للإستروجين، الأمر الذي خلصت إليه دراسات مخبرية أثبتت تأثير الإستروجين في تخليق بروتيوغليكانات المادة خارج خلوية

للمغضروف (Cheng *et al.*, 2003) وأنزيمات الميتالوبروتيناز (Richette *et al.*, 2004) و دوره في الإجهاد التأكسدي المحدث من تفاعلات الأوكسجين النوعية (Sciore *et al.*, 1998) كما أظهرت أنسجة مفصليّة أخرى هذه المستقبلات كالأربطة والغشاء الزليلي (Dietrich *et al.*, 2008).

10.1. استخدام برنامج المعالجة التعويضية بالإستروجين في الوقاية من تنكس المفاصل Use of estrogen replacement therapy in the prevention of osteoarthritis:

أدرجت الكثير من الدراسات الوبائية العديد من المؤثرات كعوامل خطورة للإصابة بتنكس المفاصل منها السمنة المفرطة والعمر والعرق والجنس والتشوهات المفصليّة والتحميل الزائد والحالة الهرمونية (Sharma, 2021)، تتلخص آلية تأثير السمنة المفرطة في إحداث تنكس المفاصل من خلال الحمل الزائد على منطقة المفصل بالإضافة لدور أنزيم الأديبوكاينيز المفرز من النسيج الدهني (Gualillo, 2007)، أما عن تأثير الجنس و الحالة الهرمونية فمنذ عام 1925 وصفت دراسة تنكس مفصل اليد والركبة لدى للنساء بعد انقطاع الحيض لتطلق عليه مصطلح تنكس سن اليأس (Cecil and Archer, 1925)، أظهرت دراسات أخرى فيما بعد أن الرجال تحت سن 50 عام أكثر عرضة للإصابة من النساء تحت 50 عام بينما تصبح النساء بعد الـ 50 أكثر عرضة من الرجال بعد الـ 50 (Oliveria *et al.*, 1995). كما يظهر المرض بتقدم العمر في كلا الجنسين لكن الإناث تعد أكثر عرضة للإصابة (Brandt *et al.*, 2008).

يزداد حدوث تنكس المفاصل تدريجياً عند النساء مع التقدم بالعمر والوصول لـ 50 عام وقد اعتمدت العديد من الأبحاث على النماذج الحيوانية لكشف علاقة انخفاض الإستروجين من خلال (استئصال المبايض) بتنكس المفاصل وجدوى المعالجة التعويضية الهرمونية، يحدث التهاب المفاصل التنكسي تغيرات هيكلية في الغضروف المفصلي والعظم تحت الغضروفي والتراكيب الزليلية، قد تؤدي هذه التغيرات إلى خسارة السطح التمثلي وكشف النسيج العظمي تحت الغضروف (Deklerk *et al.*, 2009).

وصفت العديد من الأبحاث المعالجة البديلة بالإستروجين لتخفيف أعراض انقطاع الطمث المزعجة عند النساء (الهبات الساخنة) بعد سن اليأس وللوقاية من هشاشة العظام كما أشارت بعض الأدلة لدراسات أجريت مؤخراً أن المعالجة الهرمونية التعويضية بالإستروجين تمنع تنكس مفصل الورك في حين بقي الموضوع بالنسبة لتنكس مفصل الركبة موضع جدال (Deklerk *et al.*, 2009).

وُظِّفت العديد من النماذج الحيوانية لتوضيح دور الإستروجين في حدوث التهاب المفصل التنكسي وكان الاستئصال الجراحي للمبيض إجراءً للوصول للحالة الهرمونية في مرحلة انقطاع الدورة الطمثية، كما لوحظ أن المعطيات المجهرية المدروسة من النماذج الحيوانية لا توفر تفسيراً لآلية البيولوجية لتأثير الإستروجين في الخلايا الغضروفية بينما قد تقدم التجارب المخبرية نظرة أشمل لهذه الآلية، من خلال الاستدلال بأن الإستروجين يزيد تخليق البروتيوجلوكانات و يخفض تصنيع أنزيم الميتالوبروتيناز 1 و إنتاج أوكسيد النترريك من الخلايا الغضروفية (Richette et al., 2007).

تم التحري عن تأثير المعالجة التعويضية بالإستروجين عند تنكس المفصل في العديد من النماذج الحيوانية، حيث تم استئصال المبايض للوصول لوضع توقف وانقطاع الدورة الطمثية في النساء وكذلك الأغنام و الفئران والذي أعطى مؤشرات عكسية على الغضروف المفصلي (Hoegh-Andersen et al., 2004) لتقوم المعالجة البديلة بتخفيض الأذية الغضروفية (Cake et al., 2005)، في حين أشارت دراسات أخرى لعدم تأثير استئصال المبايض و انعدام جدوى المعالجة التعويضية (Rosner et al., 1986).

يخفض الإستئصال الجراحي للمبايض مستويات الإستروجين والبروجستيرون ويرفع مستوى الهرمون الحاث للجريبات (FSH) والهرمون الملوتن (LH)، يرافق ذلك زيادة في الكتلة الشحمية في الجسم مما يؤدي لارتفاع مستوى الأديبوكايناز كالليبين والليبتين والذي أصبح حديثاً محط اهتمام نتيجة الزيادة المترافقة للأديبوكايناز في العديد من الأمراض وخاصة دوره في تطور تنكس المفاصل العظمي وهذا ما خلص إليه سيموباولو Simopoulou ورفاقه حيث وجدوا أن الليبتين يحث على تخليق أنزيمات الميتالوبروتيناز MMPs و الأنترلوكين 1 (IL-1) (Simopoulou et al., 2007) الأمر الذي قد يكون له بالغ الأهمية في تطور داء التنكس المفصلي (Gualillo et al., 2007).

إن تأثير الإستروجين في الغضروف المفصلي من المحتمل أن لا ينفرد في تفسير آلية حدوث التنكس العظمي فالعديد من أنسجة المفصل تمتك إستجابة للإستروجين، على سبيل المثال الخلايا العظمية تمتلك النمط ألفا و بيتا من مستقبلات الإستروجين (Braidman et al., 2001) و الذي يلعب دوراً في الحفاظ على التوازن بين عمليتي بناء وارتشاف العظم (Lerner, 2006)، ووجد أن التغيرات في عملية تجدد العظم تحت الغضروف وبنيته ربما تسهم في اختلال توزيع الحمل على السطح المفصلي وبالتالي حدوث أذية غضروفية (Botter et al., 2008). ممكن للإستروجين أن يكون مسؤولاً عن تغيير مستويات بعض عوامل النمو وفعاليتها كالساييتوكينات المفرز من الخلايا الزليلية والتي تلعب دوراً في

تكون نابذة العظم (Blom *et al.*, 2004) فقد وجد أن المعالجة التعويضية بالإستروجين تزيد مستويات منظومة عوامل النمو الشبيهة بالأنسولين (IGF-1, -2, IGF binding protein -1, -3) التي تنشأ من أنسجة المفصل نفسه (غضروف، عظم، نسيج زليلي) (Patel *et al.*, 2023).

11-الغلوكوزامين ودوره في الوقاية من تنكس المفاصل : preventing joint degeneration

تركز معظم برامج علاج تنكس المفاصل على تخفيف الألم والتصلب والحفاظ على الحالة الوظيفية و تحسينها في حين تبقى غير قادرة على تأخير تطور المرض (Fajardo and Di Cesare, 2005)، تستخدم استراتيجيات المعالجة لتنكس المفاصل العظمي كل من الطرق الدوائية التي تتضمن:

- مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية (NSAIDs) ومثبطات أنزيمات الأكسدة الحلقية (COX)-2inhibitor.
- المسكنات البسيطة مثل الأسييتامينوفين.
- العلاج بالحقن داخل المفصل بالكورتيكوستيروئيدات.
- المكملات الغذائية المتاحة دون وصفة طبية مثل أملاح الغلوكوزامين و كبريتات الكوندرويتين.

أما الطرق غير الدوائية فتعتمد على تخفيض الوزن و المعالجة الفيزيائية وتقويم العظام (Sarzi-Puttini *et al.*, 2005)،

يعد استخدام الأدوية المسكنة بما فيها استخدام الباراسيتامول والأدوية المضادة للالتهابات غير الستيروئيدية عن طريق الفم أو حقناً موضعياً من أكثر الأدوية المستخدمة في حالات تنكس المفاصل، أما مؤخراً تم اللجوء لحقن حمض الهيالورونيك (HA) داخل المفصل والذي أصبح حجر الزاوية في الصناعة الدوائية لمعالجة أعراض تنكس المفاصل (Marinho *et al.*, 2021) كما أصبح استخدام الأدوية المسكنة سابقة الذكر مثيرة للقلق نتيجة احتمالية حدوث أعراض جانبية غير مواتية في الجهاز الهضمي أو القلب والأوعية الدموية فهي تركز فقط على تخفيف الأعراض بدلاً من علاج المرض (Zhu *et al.*, 2018).

لذلك أصبح استخدام الأدوية ذات المفعول البطيء والتي يمكن أن تخفف الأعراض السريرية لالتهاب المفاصل العظمي مع تأمين خصائص تحمل وسلامة فائقة محط تركيز واهتمام مؤخراً (Stellavato *et al.*, 2021) ويعد الغلوكوزامين أحد هذه الأدوية فهي مادة طبيعية تصنف من المواد أحادية السكاريد الأكثر شيوعاً في الجسم الحي (Simental-Mendía *et al.*, 2018) تم استخدامه كدواء لعلاج التهاب المفاصل التنكسي منذ أكثر من 50 عاماً وتوصي معظم الجمعيات العلمية في أوروبا بالغلوكوزامين لعلاج مشاكل الركبة (Conrozier and Lohse, 2022).

يتواجد الغلوكوزامين في اللحوم والأسماك والدواجن وجميع الأنسجة البشرية تقريباً وله جاذبية خاصة للأنسجة الغضروفية (Runkel and Cupp, 1999). يتم تصنيع الغلوكوزامين بواسطة الخلايا الغضروفية من الجلوكوز لإنتاج الغلوكوزامينوغليكان والذي بدوره يحفز إنتاج البروتيوغليكان (Bassleer *et al.*, 1998)، الذي يؤدي نقصه إلى تدهور الغضروف المفصلي (Mitchell and Shepard, 1987). الغلوكوزامين يمكن اعتباره بمثابة لبنة بناء تساعد على ترميم المطرق الغني بالبروتيوغليكان وبالتالي يحقق التوازن بين تقويض الغضروف وبناءه (Cerrato, 1998). ويعتقد أيضاً أن للغلوكوزامين دوراً في حماية الغضروف التالف من ضعف التمثيل الغذائي (Barclay *et al.*, 1998).

يشجع استخدام الغلوكوزامين من قبل مرضى تنكس المفاصل باعتباره متمم غذائي أو كمستحضر صيدلاني في كل من الولايات المتحدة الأمريكية وأوروبا ومع ذلك فإن فعالية استخدامه عن طريق الفم تبقى موضع جدل فيما يتعلق بالتخفيف من الأعراض وتقييد المرض لدى مرضى تنكس مفصل الركبة (Towheed *et al.*, 2005). يعد الاستخدام الطويل والمديد للأدوية ذات المفعول البطيء بما فيها الغلوكوزامين سلفات أحد الأدوية التي تتصح بها الجمعية الأوروبية التي تعني بالجوانب السريرية والاقتصادية لهشاشة العظام وتنكس المفاصل العظمي وأمراض الجهاز الهيكلي (ESCEO) وتعتبره من أدوية الخط الأول للسيطرة على الأعراض بطيئة الظهور والمتوسطة إلى طويلة المدى (Bruyère *et al.*, 2016).

يمتص كبريتات الغلوكوزامين بسرعة في مجرى الدم بغض النظر عن طريق الإعطاء حيث يتم امتصاص ما يقرب من 90% من كبريتات الغلوكوزامين التي يتم تناولها عن طريق الفم من خلال الجهاز الهضمي ومع ذلك فقط من هذه الجرعة الفموية من الغلوكوزامين متاحة للمعالجة بواسطة أنسجة الجسم (Setnikar *et al.*, 1993). يتركز الغلوكوزامين في الكبد حيث يتم دمج مع بروتينات البلازما أو يتم اختزاله إلى جزيئات أصغر ليستخدم في عمليات بيولوجية أخرى ويتركز بأعلى نسبة في الكبد والكلى والغضاريف المفصالية (Vajranetra, 1984). يظهر الغلوكوزامين دوراً في بعض الأنشطة البيولوجية في المختبر

والذي من الممكن أن يساهم بفعالية في حدوثها في الجسم الحي (Stockwell, 1983) وتشمل هذه الأنشطة :

- التدخل في استقلاب و نقل الجلوكوز.
- تصنيع الغليكوزأمينوغليكان.
- تعديل المناعة.
- تثبيط النشاط التقويضي والإستجابة الإلتهايبية.
- الحفاظ على الخلايا الغضروفية.

يعتبر الغضروف المفصلي نسيج لا وعائي يتلقى العناصر الغذائية والأوكسجين عن طريق الانتشار عبر الأوعية الدموية في العظام ومن خلال السائل الزليلي، يبلغ استهلاك الغضاريف المفصالية للأوكسجين على المستوى الخلوي 2-5% فقط بالمقارنة بالكبد والكلى مما يشير إلى اعتماد الغضروف المفصلي بقوة على الجلوكوز في توليد الطاقة نظراً لكميات الاكتات المتراكمة في النسيج الغضروفي (Rajpurohit *et al.*, 1996). يكبح ارتفاع تركيز الجلوكوز استهلاك الأوكسجين وهذا ما يطلق عليه الكبح التقويضي أو تأثير كرابتري Crabtree effect ، هذه الظاهرة لوحظت في الخلايا الغضروفية المفصالية (Otte, 1991).

يعد الجلوكوز السليف الرئيسي لليوريدين خماسي الفوسفات UDP-hexosamines الذي تستخدمه الخلايا الغضروفية في تخليق الغليكوزامينوغليكان وبالتالي أي تغير في امتصاص و استقلاب الجلوكوز يؤثر كميّاً و نوعياً في تركيب بروتينوغليكانات مطرق الغضروف المفصلي (Mason and Sweeney, 1994) كما أن تركيز الجلوكوز يؤثر أيضاً في استجابة الخلايا الغضروفية لعوامل نمو معينة مثل عامل النمو الشبيه بالأنسولين 1-(IGF) مما يشير إلى أن الجلوكوز يلعب دوراً رئيسياً في تنشيط الخلايا الغضروفية (Kelley *et al.*, 1999).

تشير معظم البيانات الموجودة إلى أن وجود الغلوكوزامين بتركيز منخفضة من الملي مولر يظهر نشاط مضاد للتقويض الاستقلابي والالتهاب (Fenton *et al.*, 2000) وهذا ما أشارت اليه المعالجة الأولية بالغلوكوزامين للغضاريف الخلية المزروعة مخبرياً حيث كبحت نشاط IL-1 و عديد السكاريد الدهني المسبب لتدهور المطرق خارج الخلية و المحرر لأنزيمات الميتالوبروتيناز و النتريك أوكسيد (Fenton *et al.*, 2000). من الموثق أن طلائع الستوكينات الالتهابية بما في ذلك إنترلوكين 1-β (IL) و عامل نخر الورم (TNF) تلعب دوراً مرضياً في تطور وتقدم تنكس المفاصل عن طريق بدء سلسلة من الأحداث التقويضية التي تؤدي إلى تدهور مطرق الغضروف خارج الخلية وبالتالي تدهور الغضاريف (Goldring

(and Goldring, 2004). تحفز السيتوكينات المسببة للالتهابات إنتاج أنزيمات الميتالوبروتيناز المحلة للكولاجين II وينشط عمل إنزيمات الأغيريكاناز الحالة للمطرق (Vincenti and Brinckerhoff, 2002) و أكسيد النيتريك (Abramson et al., 2001) مع زيادة إنتاج أنزيمات الأكسدة الحلقية COX-2 و انترلوكين IL-6 (Lotz, 2010) ويمنع تخليق كبريتات الغليكوزامينوغليكان (Gouze et al., 2001) وهذا بالضبط ما يحدث عند الشيخوخة وأثناء تنكس المفاصل لذلك فإن المعالجات التي تمتلك خصائص مضادة للتقويض تبدي فائدة في حماية الغضروف (Loeser et al., 2002).

الفصل الثالث

CHAPTER THREE

مواد وطرائق العمل

MATERIALS & METHODS

• حيوانات التجربة Experiment animals :

أجريت الدراسة على إناث الأرانب المحلية الناضجة جنسياً وجسماً البالغ عددها 40 أرنبه وتتراوح أوزانها بين 1300-1500غ (تم استخدام ميزان الكتروني لحساب وزن الجسم في بداية التجربة وعند نهايتها)، تم تربيتها ضمن أقفاص خشبية معدة لتربية الأرانب مع تأمين الظروف المثالية من حيث البيئة والغذاء والماء حيث تمت تغذيتها على علف فروج مرحلة ثانية (بروتين خام 18%، دهن خام 4%، ألياف لا تزيد عن 1.9%، طاقة 3200 كيلو كالوري /كغ علف).

• تصميم التجربة Experimental design : قسمت حيوانات التجربة إلى أربع مجموعات وفق الآتي :

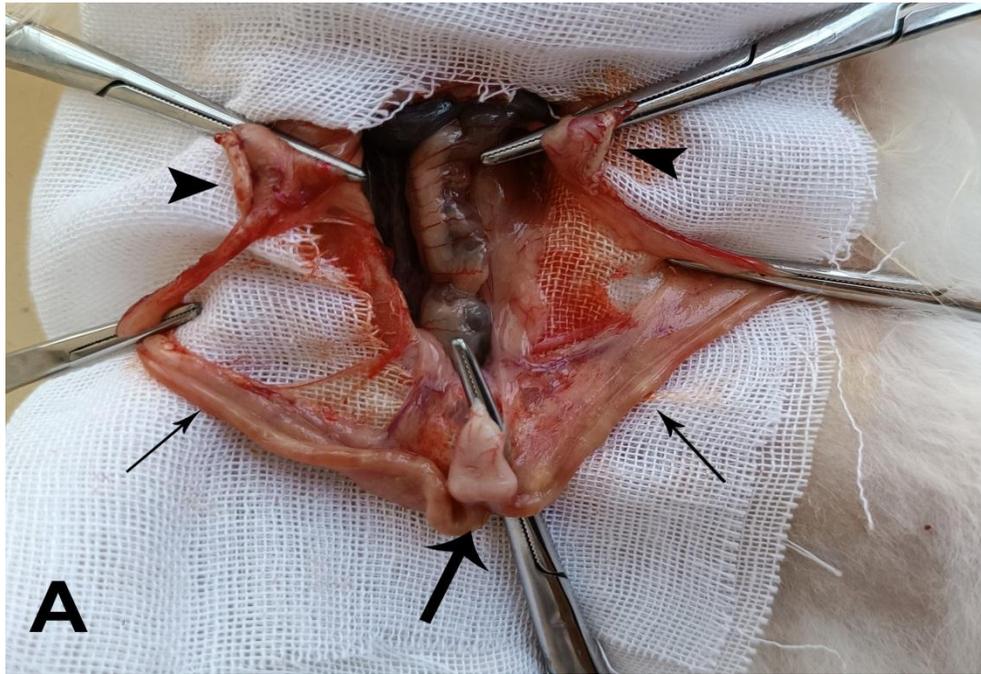
- 1- المجموعة الأولى: وهي مجموعة الشاهد السلبي وضمت (10) إناث سليمة إكلينيكيًا.
- 2- المجموعة الثانية: ضمت (10) إناث سليمة إكلينيكيًا خضعت لاستئصال جراحي لكل من الرحم والمبايض وعولجت بالصادات الحيوية لمدة 5 أيام بعد العمل الجراحي وحقنت عضلياً بمحلول ملحي فيسيولوجي بجرعة 1مل/كغ مرتين أسبوعياً .
- 3- المجموعة الثالثة: ضمت (10) إناث سليمة إكلينيكيًا خضعت لاستئصال جراحي لكل من الرحم والمبايض وعولجت بالصادات الحيوية لمدة 5 أيام بعد العمل الجراحي ثم حقنت عضلياً بينزوات الإستراديول مرتين أسبوعياً بجرعة 500 ميكروغرام وحتى مدة انتهاء التجربة (20 أسبوع).
- 4- المجموعة الرابعة: ضمت (10) إناث سليمة إكلينيكيًا خضعت لاستئصال جراحي لكل من الرحم والمبايض وعولجت بالصادات الحيوية لمدة 5 أيام بعد العمل الجراحي وأعطيت جرعتين فمويًا كل أسبوع من (750ملغ غلوكوزامين +600ملغ سلفات الكوندرويتين) وحتى مدة انتهاء التجربة (20 أسبوع).

• العمل الجراحي(استئصال الرحم والمبايض) Removal of the uterus and ovaries

تتشارك أنثى الأرانب مع الأنواع الأخرى من الثدييات بإمتلاكها قرني رحم وزوج من المبايض وقناتي فالوب، تحيط الشحوم بالمبايض والمساريقا المبيضية. يفتح قرنا الرحم بشكل مباشر وبعنقين منفصلين في عضو

مفرد وهو المهبل الطويل والكبير و يتصف الرباط الرحمي العريض بغزارة النسيج الشحمي وخاصة في الأرناب ذات الوزن الزائد، تتوضع المثانة البولية بطنياً من المهبل وينفتح الإحليل خلفياً وبطنياً في جسم المهبل.

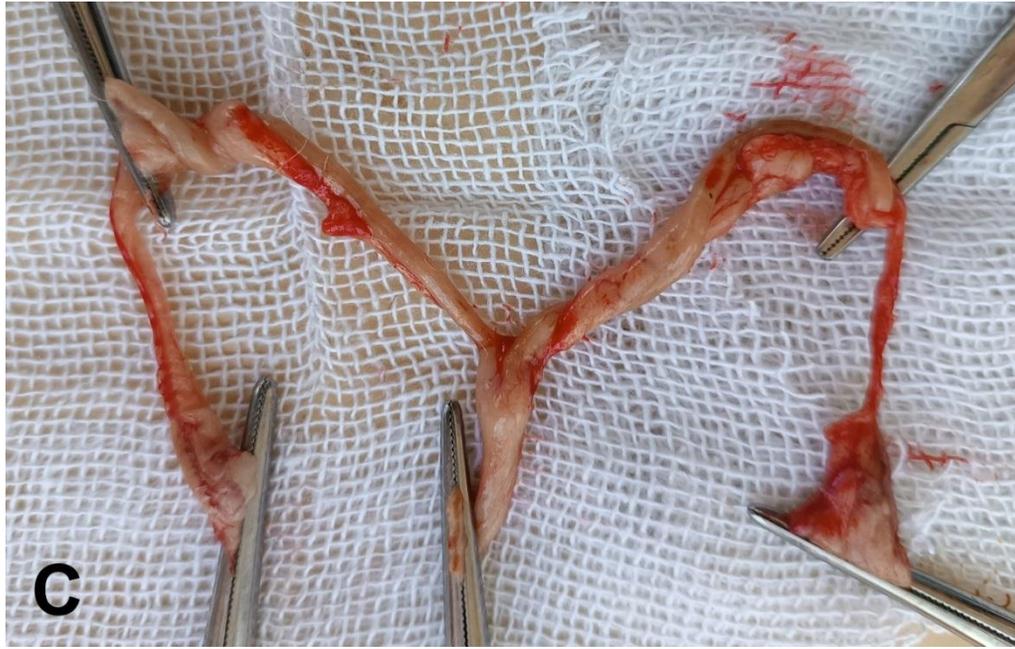
تم اجراء حلاقة كاملة لمنطقة البطن ثم تم التعقيم باستخدام محلول معقم (بوفيدون سائل 10%)، تم التخدير عبر الحقن العضلي بكل من الكيتامين بجرعة 40 ملغ/كغ مع الكسيلازين بجرعة 2 ملغ/كغ ومن ثم تم اجراء شق بطول 5-10 سم على الخط الناصف لسطح البطن في الجزء المحصور بين حلمة الثدي الأولى و الثانية مخترقاً طبقات البطن للوصول لتجويف البطن، تم سحب المبيضين للخارج باستخدام خطاف جراحي ثم الربط باستخدام خيط جراحي نوع فيكريل (0-2) بعد أن تم مسكها مع جسم الرحم بقوابض شريانية (مرفقات) ليتم الاستئصال باستخدام شفرة جراحية ومن ثم خياطة عضلات البطن بخيط فيكريل (0-2) بغرز بسيطة منقطة و كذلك الأمر تم خياطة الجلد بغرز بسيطة منقطة باستخدام خيط حرير (0-2)، الشكل رقم (10) و (11) و (12).



شكل رقم (10) : تظهر الصورة (A) البنية التشريحية للجهاز التناسلي لدى إناث الأرناب مع استخدام القوابض الشريانية قبيل عملية الربط والاستئصال، جسم الرحم (سهم عريض)، قرني الرحم (سهم رفيع)، المبايض وقناة فالوب (سهم دلالة).



شكل رقم (11) : تظهر الصورة (B) عملية الربط بخيوط الفيكريل قبيل الاستئصال الجراحي.



شكل رقم (12) : تظهر الصورة (C) جسم الرحم مع قرني الرحم والمبايض وقناة فالوب بعد الاستئصال.

• التحاليل المخبرية الدموية Blood laboratory tests :

تم جمع العينات الدموية من الوريد الصافن في القائمة الخلفية (الشكل رقم 12) عبر أنابيب اختبار تخلو من مضادات التخثر بغرض تحديد المعايير الشحمية لمصل الدم lipid profile بعد تصوير الأرناب 12 ساعة و باستخدام جهاز المطياف الضوئي كما تم أيضاً قياس مستوى الكالسيوم وهرمون 17 بيتا إسترايول في الأسبوع 1 و 20 من التجربة أي بعد التداخل الجراحي.



الشكل رقم (13): يوضح عملية سحب الدم من الوريد الصافن في القائمة الخلفية.

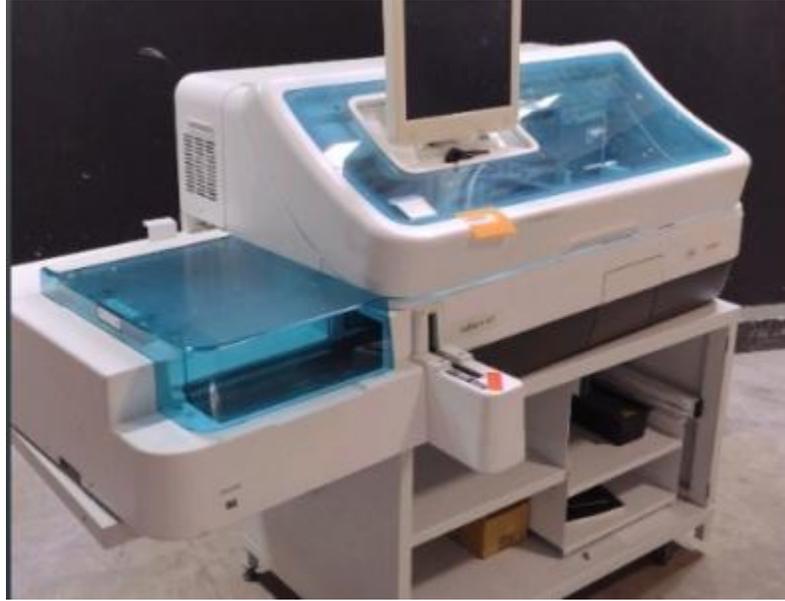
4.1. قياس مستوى تركيز الكالسيوم Determination of serum calcium level:

تم قياس مستوى الكالسيوم بالدم بعد جمع العينة من الوريد الصافن بأنابيب اختبار بدون مانع تخثر وتترك لمدة نصف ساعة بدرجة حرارة الغرفة لتوضع فيما بعد بالمتفلة لمدة 15 دقيقة بسرعة 3000 دورة /بالدقيقة للحصول على المصل ثم نحدد مستوى الكالسيوم في مصل الدم بإتباع طريقة (Barnett *et al.*, 1973) التي تستخدم معقد أزرق متيل الثايمول ليتم قراءة الامتصاصية من خلال جهاز المطياف الضوئي على طول موجة 610 نانومتر.

4.2. قياس مستوى تركيز الإسترايول Determination of serum estradiol level :

تم استخدام جهاز كوباس (cobas® e 411 analyzer) لتحديد مستوى هرمون 17 بيتا إسترايول عن طريق المقايسة المناعية للتألق الكهربي "ECLIA" لعينة المصل باستخدام kite خاص بالشركة المصنعة لجهاز

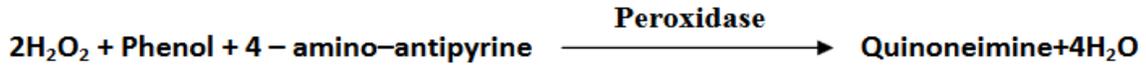
كوباس (Elecsys Estradiol III) بهدف تحري الدقة في تحديد تركيز الهرمون بالدم واعتبار مستويات الهرمون بالدم لمجموعة الشاهد ك معايير قياسية طبيعية ومقارنتها بالمجموعات الأخرى.



الشكل رقم (14): يوضح جهاز (cobas® e 411 analyzer) المستخدم لتحديد تركيز هرمون 17 بيتا إسترايول.

3.3. قياس تركيز الكولسترول في مصل الدم (Total Cholesterol (TC):

تم قياس تركيز الكولسترول في مصل الدم بالطريقة الأنزيمية (Richmond, 1973) لتقدير كمية الكولسترول باستخدام محاليل جاهزة من شركة (Bio Merieux) والمحتوية على الكولسترول إستريز Cholesterol Esterase الذي يعمل على تحويل الكولسترول المؤستر في مصل الدم إلى كوليسترول وأحماض دهنية بوجود الأوكسجين وأنزيم الكولسترول أوكسيديز Cholesterol Oxidase اللذان يعملان على اكسدة الكولسترول الحر والمتكون من التفاعل الاول إلى (Cholest-4-en-3-one) وبيروكسيد الهيدروجين Peroxidase Hyrogen. إذ أن بيروكسيد الهيدروجين المتكون يتفاعل مع الفينول و 4 - أمينو أنتي بايرين بوجود أنزيم البيروكسيديز لينتج لون وردي ناتج من مركب كوينونيمين إيمين (Quinoneimine)، تقاس شدة اللون بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجي (500) نانومتر بعد أن تم تصفير الجهاز بواسطة المحلول المكافئ كما هو موضح في المعادلات الآتية :



تم حساب تركيز الكولسترول الكلي وفقاً للقانون الآتي :

$$\text{Concentration mg/d} = \frac{\text{sample}}{\text{standard}} \times N$$

حيث $N=200$ وهو تركيز المحلول القياسي.

Sample = الامتصاصية الضوئية للعينة.

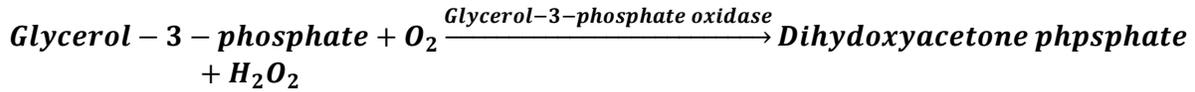
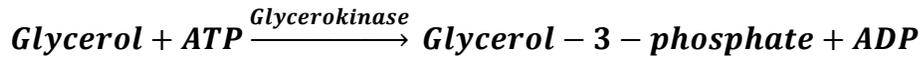
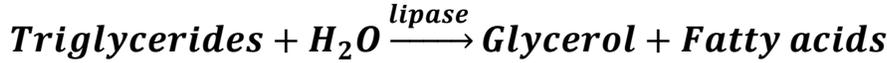
Standard = الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي.



الشكل رقم (15) : جهاز المطياف الضوئي المستخدم للتحليل مستوى كولسترول.

3.4. قياس تركيز الشحوم الثلاثية (Triglycerides(TG):

تم قياس تركيز الشحوم الثلاثية بالطريقة الأنزيمية وفقاً (Fassati and Principe, 1982) باستخدام محاليل جاهزة من شركة (bio Merieux) اذ تعتمد هذه الطريقة على تحويل الشحوم الثلاثية الموجودة في مصل الدم من خلال سلسلة من التفاعلات الكيميائية وبوجود عدد من الأنزيمات إلى كوينونيمين امين وردي اللون وفق التفاعلات الآتية:



وبعدها تمت قراءة الامتصاصية لها بواسطة جهاز المطياف الضوئي على طول موجة 505 نانومتر.

الحسابات: تم حساب تركيز الشحوم الثلاثية وفقاً للقانون الآتي :

$$\text{triglyceride concentration mg/d} = \frac{\text{sample}}{\text{standard}} \times \text{N}$$

حيث N = 200 وهو تركيز المحلول القياسي.

Sample = الامتصاصية الضوئية للعينة.

Standard = الامتصاصية الضوئية للمحلول القياسي.

3.5. قياس تركيز الشحوم البروتينية العالية الكثافة (HDL) High density lipoprotine :

تم تقدير تركيز الشحوم البروتينية عالية الكثافة بالطريقة الأنزيمية وفقاً لطريقة (Burstein et al., 1970) باستخدام محاليل جاهزة من شركة (Bio Merieux) وتعتمد على ترسيب دقائق الاستحلاب الموجودة في مصل الدم ويتم ذلك بإضافة معامـل الترسيب Precipitation reagent إلى مصل العينات و بعد

الانتهاء من هذه العملية وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي علماً أن المحلول الناتج بعد الترسيب يكون رائقاً ويحوي على الشحوم البروتينية عالية الكثافة. بعدها تمت قراءة الامتصاصية لها بواسطة جهاز المطياف الضوئي على طول موجة 510 نانومتر.

الحسابات: تم حساب تركيز الشحوم الثلاثية وفقاً للقانون الآتي :

$$\text{HDL-C mg/d} = \frac{\text{sample}}{\text{standard}} \times \text{C.STD} \times 2$$

حيث C.STD = قيمة المحلول القياسي و تقدر ب 50 (mg/dl).

2 = عامل التخفيف بالمزج مع عامل الترسيب.

3.6. قياس تركيز الشحوم البروتينية المنخفضة الكثافة (LDL) Low density lipoprotine :

تم قياس تركيز الشحوم البروتينية منخفضة الكثافة حسابياً باستخدام معادلة (Friedewald *et al.*, 1972) وهي :

$$\text{LDL} = \text{Total cholesterol} - \text{HDL} - (\text{Triglycerides}/5)$$

• التصوير الشعاعي Radiography :

تم تصوير الركبة بوضعية الاستلقاء على الظهر بعد التخدير العام وبوضعية تصوير (أمامي -خلفي) لتحديد درجة التنكس باستخدام جهاز أشعة DONG-A ومن خلال اتباع طريقة كليغرن ولورنس في تقييم درجة تنكس المفصل بالتصوير الشعاعي (Kellgren and Lawrence, 1957) والتي تصنف إلى 5 درجات على الشكل الآتي:

درجة 0 = غياب أي تغيرات في المفصل بالتصوير الشعاعي من ناحية محيط العظم المفصلي والمسافة المفصالية.

درجة 1 = تضيق مشكوك فيه في المسافة المفصالية مع احتمالية حدوث تنبئات عظمية بشكل حواف مدبية.

درجة 2 = تضيق واضح في المسافة المفصالية مع ظهور تنبتات عظمية بشكل واضح.

درجة 3 = تضيق واضح في المسافة المفصالية نتيجة تآكل الغضروف المفصلي مع ظهور عدد من التنبتات العظمية مترافقة بتصلب وتشوه الحواف العظمية للمفصل.

درجة 4 = النوات العظمية كبيرة جداً مع تضيق شديد للمسافة المفصالية وتشوه واضح للحواف العظمية.

• تحضير المقاطع النسيجية Preparing histological sections :

• **التثبيت Fixation** : تم جمع العينات العظمية من النهاية القاصية لعظم الفخذ المتمفصلة مع عظم الظنوب والمشاركة بتشكيل مفصل الركبة وحفظت بمحلول الفورمالين المتعادل 10% لمدة 30 يوماً ثم غسلت بالماء الجاري لمدة 24 ساعة.

• **نزع الكلس Decalcification** : تم وضع العينات في محلول نازع الكلس المحضر على الشكل الآتي (مزج 100 مل من حمض الفورمك 90% مع 80 مل من حمض كلور الماء 40% وإضافتها لـ 820 مل ماء مقطر) وتم تبديل المحلول كل 48 ساعة ولمدة 20 يوماً حتى تصبح العينة طرية مع التأكد من ذلك باستخدام دبوس معدني ثم تغسل لمدة 24 ساعة بالماء الجاري. من ثم وضعت العينات في جهاز الإدماج حيث خضعت للعمليات الآتية:

• **التجفيف Dehydration** : بتمرير العينات النسيجية عبر محاليل ذات تراكيز تصاعدية من الكحول بهدف سحب الماء من النسيج كما يلي:

1. كحول 60 % لمدة ساعتين.
2. كحول 70 % لمدة ساعتين.
3. كحول 80 % لمدة ساعتين.
4. كحول 90 % لمدة ساعتين.
5. كحول 95 % لمدة ساعتين.
6. كحول 95 % لمدة ساعتين.
7. كحول 100 % لمدة ساعتين.

• **الشفافية clearing** : غمرت العينات في محلول الزايلين Xylene لمدة ساعتين وذلك لإزالة محاليل التجفيف.

● **التشريب أو الطمر Embedding** : تم بواسطة هذه العملية إحلال شمع البرافين المنصهر مكان محلول الترويق وذلك بوضع العينات في خليط من شمع البرافين المنصهر مع محلول الترويق لمدة ساعتين، ثم تنقل العينات وتوضع في شمع البرافين المنصهر لمدة ساعتين. ثم تم صب قليل من البرافين المنصهر في قالب معدني (ستانلس ستيل) عمقه 0.5 سم ثم وضعت العينات فيه وثبتت العينة بالملقط لفترة قصيرة على وضعها العمودي لحين تصلب الشمع ثم أُطبق على القالب المعدني بقالب بلاستيكي ليملى كامل القالب البلاستيكي من الأعلى بشمع البرافين المنصهر، ثم تركت القوالب حتى تتصلب لتنزع بعدها القوالب البلاستيكية الحاوية على العينة بسهولة من القوالب المعدنية.

● **التقطيع Sectioning** : تم تقطيع العينات باستخدام المشراح اليدوي Microtome حيث تم تثبيت القالب الحاوي على العينة في جهاز التقطيع وضبطت سماكة المقطع لتكون 4 ميكرون، فحصلنا على شريط متسلسل (فلم) من المقاطع النسيجية بسماكة 4 ميكرون، وضعت في ماء دافئ (56) حتى تستوي المقاطع بشكل جيد ثم تم تحميلها على شرائح زجاجية.

● **الصبغة Staining** : لتصبغ فيما بعد الشرائح النسيجية بصبغة الهيماتوكسيلين والأيوزين الروتينية (H&E).

تم اعتماد نظام التقييم التابع للجمعية الدولية للأبحاث المعنية بالتهاب المفاصل التنكسي (OARSI) في تقدير درجة تنكس العينات النسيجية لمجموعات الدراسة (Pritzker et al., 2006) والموضح بالجدول الآتي:

الجدول رقم (1) : تقدير درجة تنكس العينات النسيجية باستخدام نظام التقييم التابع للجمعية الدولية للأبحاث المعنية بالتهاب المفاصل التنكسي.

الدرجة (الميزة الرئيسية)	المعايير النسيجية المرتبطة
الدرجة (0) : الغضروف المفصلي سليم مورفولوجياً	الخلايا الغضروفية سليمة مع توجه واصطفاف ملائم في الطبقات المختلفة. الهيكل البنائي العام لمطرق الغضروف.
الدرجة (1) : الغضروف المفصلي سليم مورفولوجياً	موت خلوي، تكاثر خلوي (تجمع بشكل عنقودي)، فرط تضخم خلوي.

تشترش سطحي للغضروف المفصلي ، بؤر متكثفة في مطرق الطبقة السطحية من الغضروف.	
موت خلوي، تكاثر خلوي (تجمع بشكل عنقودي)، فرط تضخم خلوي. تشترش يمتد أعمق في الطبقة السطحية من الغضروف المفصلي.	الدرجة (2) : تقطع الغضروف المفصلي
موت خلوي، تكاثر خلوي (تجمع بشكل عنقودي)، فرط تضخم خلوي. شقوق عمودية تمتد في عمق الطبقة الوسطى.	الدرجة (3) : شقوق عمودية
انفصال في الطبقة السطحية، كيسات في الطبقة الوسطى.	الدرجة (4) : تضرر وفقدان في الغضروف المفصلي
تعري النسيج العظمي تحت الغضروف المفصلي مع ظهور أنسجة تعويضية من غضروف ليفي داخل السطح المتعري (نابتات عظمية)، أذية سطحية في النسيج العظمي.	الدرجة (5) : تعري العظم أسفل الغضروف المفصلي
إعادة تشكل في العظم.	الدرجة (6) : تشوه

7- الدراسة الإحصائية Statistical analysis :

أُدخلت البيانات ونُظمت وفق برنامج Excel، كما تم اعتماد ذات البرنامج في إنشاء الرسوم والمخططات البيانية.

تم تحليل النتائج باستخدام برنامج التحليل الإحصائي (IBM SPSS STATISTICS) بالإصدار 25 عن طريق اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA) حيث تم مقارنة المتوسطات الحسابية للمتغيرات المدروسة ما بين مجموعات التجربة فيما بينها، حيث أُعْتُبِرَت الفروقات معنوية وذلك عند مستوى الدلالة الاحتمالية (المعنوية) ($P \leq 0.05$).

الفصل الرابع

CHAPTER FOUR

النتائج

RESULTS

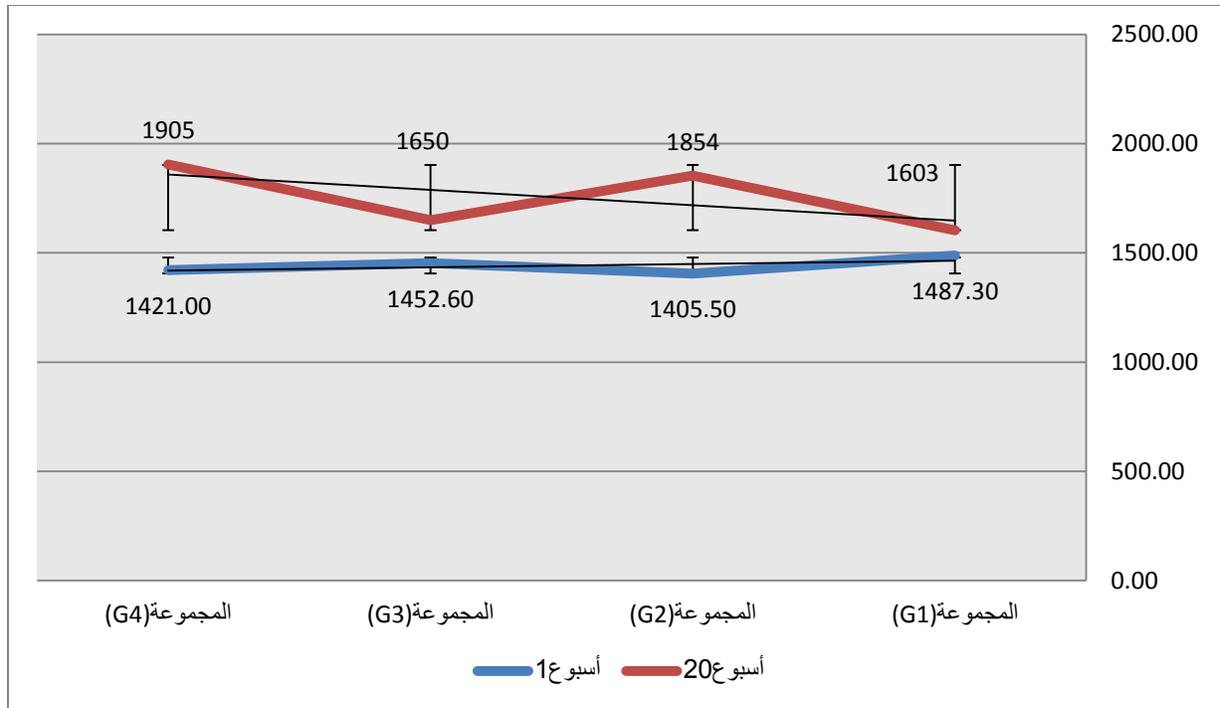
1- نتائج تقدير متوسط وزن الجسم Body Weights:

بلغ متوسط وزن الجسم في مجموعات التجربة الأربعة عند بداية التجربة (الأسبوع الأول) على التوالي (1487)غ، (1405)غ، (1452)غ، (1421) غ ، أظهرت نتائج الدراسة لمتوسط قيم وزن الجسم عند بداية التجربة عدم وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية ($P>0.05$) لدى مقارنة المجموعة الأولى (الشاهد السلبي) مع مجموعات التجربة المدروسة كما هو مبين بالجدول رقم (2) والمخطط رقم (1). كما أظهرت النتائج عند نهاية التجربة (الأسبوع 20) زيادة في متوسط وزن الجسم لمجموعات التجربة جميعاً عند المقارنة بين بداية التجربة ونهايتها. حيث بلغ متوسط وزن المجموعة الأولى عند نهاية التجربة (1603)غ، أما متوسط وزن المجموعة الثانية فوصل (1854)غ كما بلغ متوسط وزن المجموعة الثالثة (1650)غ ، أما المجموعة الرابعة فقد بلغ متوسط وزنها (1905)غ.

الجدول رقم(2): وزن الجسم لدى مجموعات التجربة في الأسبوع(1-20):

المجموعات	بداية التجربة (أسبوع 1)	نهاية التجربة (أسبوع 20)
المجموعة (G1)	^a 1487±48.03	^a 1603±31.99
المجموعة (G2)	^a 1405±54.67	^b 1854±63.37
المجموعة (G3)	^a 1452±50.29	^a 1650±33.34
المجموعة (G4)	^a 1421±55.42	^b 1905±60.27

تدل الرموز a,b,c على وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية في حال اختلافها ضمن نفس العمود عند المقارنة بين مجموعات التجربة الأربع فيما بينها باستخدام اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)، حيث اعتُبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P\leq 0.05$).



المخطط البياني رقم (1): يمثل متوسط وزن الجسم/غ في الأسبوع (1-20) من التجربة.

أظهرت نتائج الدراسة عند المقارنة بين متوسطات الأوزان لمجموعات الدراسة عند نهاية التجربة وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية ($P \leq 0.05$) على الشكل الآتي:

- عند المقارنة بين المجموعة الأولى (G1) وكل من المجموعة الثانية (G2) والمجموعة الرابعة (G4) لوحظ وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) إذ من الممكن للتحليل الإحصائي أن يشير إلى وجود تأثير للاستئصال الجراحي للرحم و المبايض في متوسط وزن الجسم لدى مجموعات الدراسة التي لم تخضع للمعاوضة الهرمونية بالمقارنة مع المجموعة الأولى السليمة.
- عند المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) وكل من المجموعة الأولى (G1) والمجموعة الثالثة (G3) كان هناك فرق معنوي ($P \leq 0.05$) وهذا يشير إلى تأثير المعالجة التعويضية ببنزوات الإسترايول لدى المجموعة الخاضعة للاستئصال الجراحي في المحافظة على متوسط وزن جسم بمعدل مماثل لما هو عليه في الإناث السليمة بالمقارنة مع المجموعة التي خضعت لاستئصال الرحم والمبايض ولم تعالج تعويضياً والتي أظهرت زيادة معنوية في وزن الجسم.

- أما عند المقارنة بين المجموعة الثالثة (G3) وكل من المجموعة الثانية (G2) والمجموعة الرابعة (G4) كان هناك فرق معنوي ($P \leq 0.05$)، قد تشير الزيادة المعنوية في وزن الجسم لدى المجموعة الرابعة بالمقارنة مع المجموعة الثالثة التباين في دور كل من بنزوات الاسترديول و الغلوكوزامين في المحافظة على وزن الجسم قريباً من الحالة الطبيعية كما في المجموعة الأولى.
- عند المقارنة بين المجموعة الرابعة (G4) وكل من المجموعات الأولى (G1) والمجموعة الثالثة (G3) نلاحظ وجود فرق معنوي و ($P \leq 0.05$).
- عدم وجود فرق معنوي في نهاية التجربة ($P > 0.05$) لدى المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4).

2- نتائج التحاليل الدموية :

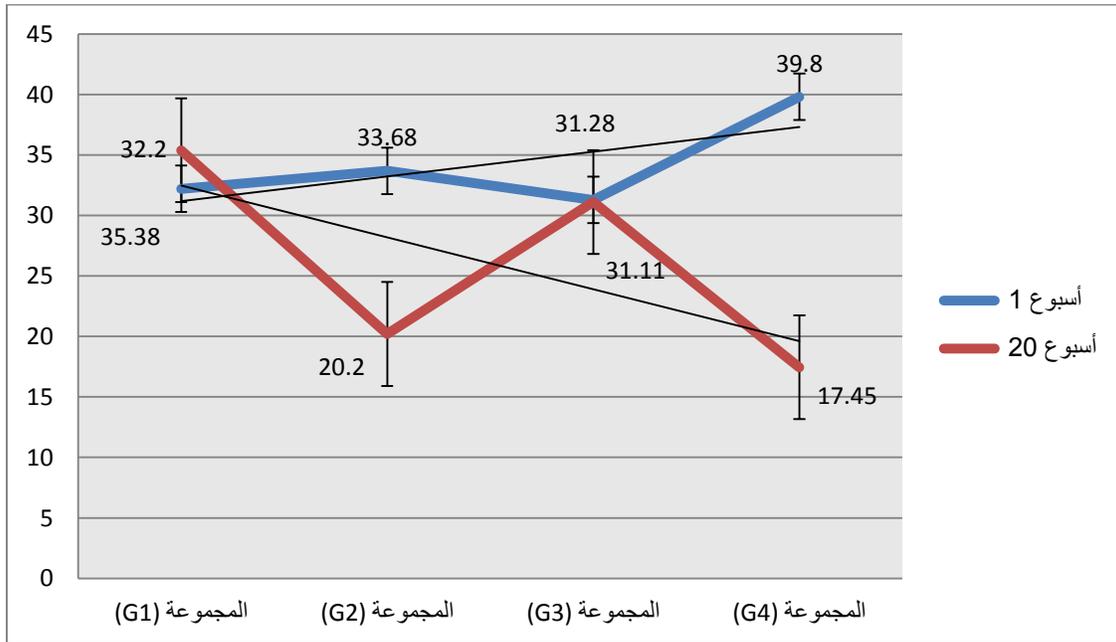
2.1. نتائج تقدير تركيز الإستروجين في مصل الدم :

أظهرت النتائج من خلال هذه الدراسة أن متوسط تركيز الإستروجين عند بداية التجربة (الأسبوع 1) في مصل الدم لدى مجموعات الدراسة كان على الشكل الآتي، المجموعة الأولى (G1) 32.20 بيكوغرام/مل والمجموعة الثانية (G2) 33.68 بيكوغرام/مل أما المجموعة الثالثة (G3) والرابعة (G4) فكان متوسط تركيز الإستروجين لديها على التوالي 31.28 بيكوغرام/مل، 39.80 بيكوغرام /مل. وعند قياس تركيز الإستروجين في نهاية التجربة (الأسبوع 20) وجدنا أن متوسط تركيز الإستروجين في المجموعة الأولى قد بلغ 35.38 بيكوغرام/مل، كما أظهرت النتائج انخفاض تركيز الإستروجين لدى الإناث في المجموعة الثانية (G2) الخاضعة للاستئصال الجراحي على النحو الآتي 20.20 بيكوغرام/مل أما المجموعة الثالثة (G3) المعالجة تعويضياً فقد بلغ متوسط تركيز الإستروجين لديها 31.11 بيكوغرام/مل بينما لوحظ أيضاً انخفاض في متوسط تركيز الإستروجين في المجموعة الرابعة المعالجة بالغلوكوزامين وكانت قيمته 17.45 بيكوغرام/مل. كما هو موضح بالجدول رقم (3) والمخطط رقم (2).

الجدول رقم (3): تركيز الإستروجين في مصل الدم (بيكوغرام/مل) في الأسبوع (1-20).

المجموعات	بداية التجربة (أسبوع 1)	نهاية التجربة (أسبوع 20)
المجموعة (G1)	^a 32.20± 0.22	^a 35.38±0.66
المجموعة (G2)	^a 33.68±0.26	^b 20.20±1.03
المجموعة (G3)	^a 31.28±0.76	^c 31.11±0.85
المجموعة (G4)	^b 39.80±0.31	^b 17.45±1.46

تدل الرموز a,b,c على وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية في حال اختلافها ضمن نفس العمود عند المقارنة بين مجموعات التجربة الأربعة فيما بينها باستخدام اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)، حيث اعتُبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$).



المخطط البياني رقم (2): يمثل تركيز الإستراديول في مصل الدم لدى مجموعات الدراسة (pg/ml).

أظهرت نتائج الدراسة لتركيز الإستراديول في مصل الدم مقدراً بـ (pg/ml) في الجدول رقم (3) والمخطط رقم (2) وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية ($P \leq 0.05$) لدى المقارنة بين مجموعات التجربة ككل إذ لوحظ:

- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) عند بداية التجربة (أسبوع 1) بالمقارنة بين المجموعة (G4) مع باقي مجموعات الدراسة.
- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) عند المقارنة بين مجموعة الشاهد السلبي (G1) وكلاً من المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4) في نهاية التجربة (أسبوع 20) إذ يشير التحليل الإحصائي لتأثير الاستئصال الجراحي للمبايض والرحم على انخفاض تركيز الإستراديول بشكل معنوي في المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4) بالمقارنة مع المجموعة الأولى (G1) السليمة التي لم تخضع للاستئصال.
- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) وكلاً من المجموعة الأولى (G1) والثالثة (G3) مما يشير للدور الوظيفي للمبايض في افراز الإستراديول لدى المجموعة الأولى بالمقارنة مع المجموعة الثانية الخاضعة للاستئصال الجراحي بالإضافة لتأثير المعالجة التعويضية ببنزوات الإستراديول في رفع تركيز الإستراديول في مصل الدم لدى المجموعة الثالثة (G3) .
- وجود فرق معنوي في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الثالثة (G3) و كل من المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4) ($P \leq 0.05$).
- وجود فرق معنوي في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الرابعة (G4) وكل من المجموعات الأولى (G1) و الثالثة (G3) ($P \leq 0.05$).
- عدم وجود فرق معنوي في نهاية التجربة ($P > 0.05$) لدى المقارنة بين المجموعة الأولى (G1) والثالثة (G3) مما يدل على أن المعالجة ببنزوات الإستراديول حافظت على تركيز الإستراديول دموياً ضمن المعدل الطبيعي .
- عدم وجود فرق معنوي في نهاية التجربة ($P > 0.05$) لدى المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4) .

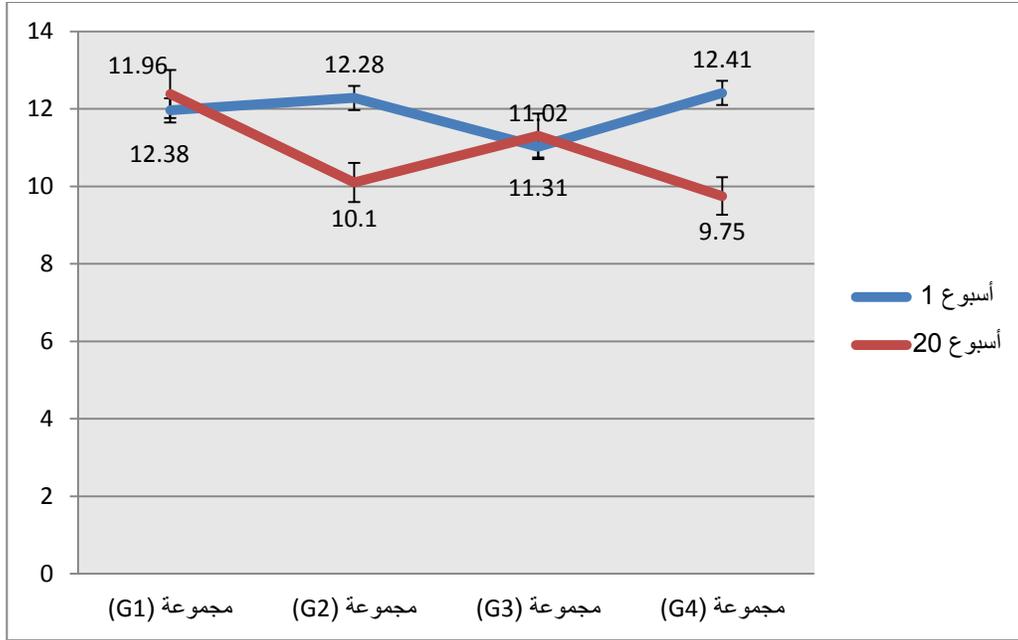
2.2. نتائج تقدير تركيز الكالسيوم في مصل الدم :

أظهرت النتائج في بداية التجربة (أسبوع 1) أن متوسط تركيز الكالسيوم الدم لدى مجموعات لدراسة كان على النحو الآتي: المجموعة الأولى (G1) 11.96 ملغ/دل، المجموعة الثانية (G2) 12.28 ملغ/دل، المجموعة الثالثة (G3) 11.02 ملغ/دل أما تركيز الكالسيوم لدى حيوانات المجموعة الرابعة (G4) فقد كان 12.41 ملغ/دل. كما أظهرت النتائج عند نهاية التجربة (أسبوع 20) انخفاض تركيز الكالسيوم لدى المجموعة الثانية (G2) الخاضعة للاستئصال الجراحي للمبايض والرحم حيث بلغت قيمته 10.10 ملغ/دل بالمقارنة مع مجموعة الشاهد السلبية (G1) التي بلغ تركيز الكالسيوم لديها 12.38 ملغ/دل كما لوحظ انخفاض تركيز كالسيوم الدم لدى الإناث المعالجة بالغلوكوزامين في المجموعة الرابعة (G4) بالمقارنة مع المجموعة الثالثة (G3) المعالجة تعويضياً بالإستروجين حيث بلغ تركيز الكالسيوم لدى هاتين المجموعتين على التوالي (G3) 11.31 ملغ/دل و (G4) 9.75 ملغ/دل، كما هو موضح بالجدول رقم (4) والمخطط رقم (3).

الجدول رقم (4) : تركيز الكالسيوم في مصل الدم (ملغ/دل) في الأسبوع (1-20) من التجربة.

المجموعات	بداية التجربة (أسبوع 1)	نهاية التجربة (أسبوع 20)
المجموعة (G1)	^a 11.96±0.22	^a 12.38±0.66
المجموعة (G2)	^a 12.28±0.26	^b 10.10±0.38
المجموعة (G3)	^b 11.02±0.76	^c 11.31±0.85
المجموعة (G4)	^a 12.41±0.31	^b 9.75±0.46

تدل الرموز a,b,c على وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية في حال اختلافها ضمن نفس العمود عند المقارنة بين مجموعات التجربة الأربعة فيما بينها باستخدام اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)، حيث اعتُبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$).



المخطط البياني رقم (3): يمثل تركيز الكالسيوم في مصلى الدم لدى مجموعات الدراسة (Mg/dl).

أظهرت نتائج الدراسة لتركيز الكالسيوم في مصلى الدم مقدراً ب (Mg/dl) في الجدول رقم (4) والمخطط رقم (3) وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية ($P \leq 0.05$) لدى المقارنة بين مجموعات التجربة ككل حيث لوحظ:

- وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) بالمقارنة بين المجموعة (G3) وباقي مجموعات الدراسة عند بداية التجربة.
- عند المقارنة في نهاية التجربة بين مجموعة الشاهد السلبي (G1) وكل من المجموعة الثانية (G2) والثالثة (G3) والرابعة (G4) لوحظ وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) والتي من الممكن أن تشير لدور الإستروجين الاستنبابي لدى المجموعة (G1) في الحفاظ على تركيز الكالسيوم بينما كان للاستئصال الجراحي للمبايض والرحم وانخفاض تركيز إستراديول الدم أثره المتمثل في انخفاض تركيز الكالسيوم لدى باقي المجموعات .
- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) الخاضعة للاستئصال الجراحي للمبايض والرحم وكل من المجموعة الأولى (G1) السليمة و الثالثة (G3) المعالجة تعويضياً ببنزوات الإستراديول بعد الاستئصال.

- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الثالثة (G3) وكل من المجموعة الأولى (G1) والثانية (G2) والرابعة (G4)، من خلال التحليل الاحصائي من الممكن الاستدلال على تأثير بنزوات الإستراديول الخارجي المصدر في المحافظة على تركيز كالسيوم الدم بالرغم من الفرق المعنوي مع المجموعة (G1) السليمة ذات المصدر الإستروجيني الداخلي المنشأ.
- وجود فرق معنوي في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الرابعة (G4) وكل من المجموعات الأولى (G1) و الثالثة (G3) حيث ($P \leq 0.05$).
- عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.05$) في نهاية التجربة لدى المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) و الرابعة (G4).

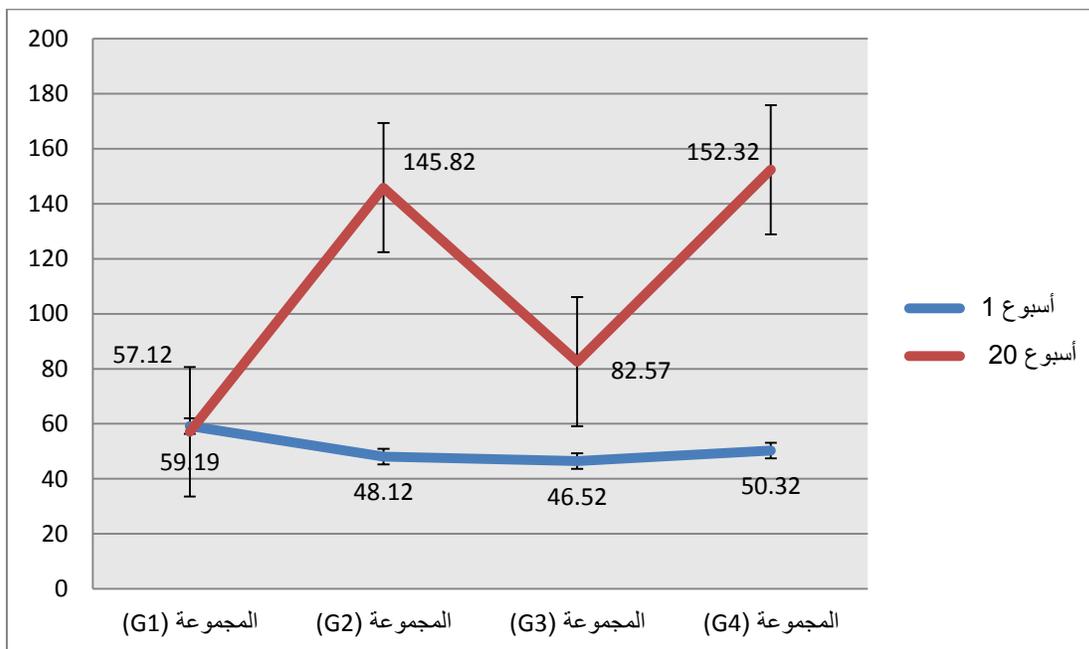
2.3. نتائج تقدير تركيز الكولسترول في مصل الدم:

أظهرت النتائج في بداية التجربة (أسبوع 1) أن متوسط تركيز الكولسترول في مصل الدم لدى مجموعات لدراسة كالاتي: بلغ تركيز كوليسترول الدم لدى المجموعة الأولى (G1) 59.19 ملغ/دل بينما وصل تركيزه في المجموعة الثانية (G2) 48.12 ملغ/دل، أما في المجموعة الثالثة (G3) والرابعة (G4) فقد بلغ تركيز الكوليسترول في مصل الدم على التوالي 46.42 ملغ/دل، 50.32 ملغ/دل. أما عند نهاية التجربة (الأسبوع 20) فقد أظهرت النتائج زيادة في متوسط تركيز كوليسترول الدم لدى المجموعة الثانية (G2) عند استئصال المبايض والرحم حيث وصل إلى 145.82 ملغ/دل بالمقارنة مع مجموعة الشاهد السليبي (G1) 57.12 ملغ/دل كما بلغ متوسط تركيز الكوليسترول في المجموعة الثالثة (G3) المعالجة بالإستروجين تعويضياً والرابعة (G4) المعالجة بالغلوكوزامين على التوالي 82.57 ملغ/دل، 152.32 ملغ/دل.

الجدول رقم (5): تركيز الكوليسترول في مصل الدم (ملغ/دل) لدى مجموعات الدراسة.

المجموعات	بداية التجربة (أسبوع 1)	نهاية التجربة (أسبوع 20)
المجموعة (G1)	^a 59.19±1.37	^a 57.12±1.57
المجموعة (G2)	^a 48.12±1.68	^b 145.82±2.38
المجموعة (G3)	^a 46.42±1.59	^c 82.57±2.78
المجموعة (G4)	^a 50.32±1.47	^b 152.32±0.46

تدل الرموز a,b,c على وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية في حال اختلافها ضمن نفس العمود عند المقارنة بين مجموعات التجربة الأربعة فيما بينها باستخدام اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)، حيث اعتُبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$).



المخطط البياني رقم (4): يمثل تركيز الكوليسترول في الدم (mg/dl).

ولقد أظهرت نتائج الدراسة لمستوى تركيز الكوليسترول في مصل الدم لدى مجموعات التجربة في الجدول رقم (5) والمخطط رقم (4) وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية ($P \leq 0.05$) عند المقارنة بين مجموعات التجربة حيث لوحظ الآتي:

- بالمقارنة بين مجموعات الدراسة عند بداية التجربة (الأسبوع 1) عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$).
- عند المقارنة بين مجموعة الشاهد السلبية (G1) وكل من المجموعة الثانية (G2) والثالثة (G3) والرابعة (G4) في نهاية التجربة (الأسبوع 20) وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) كما لوحظ من خلال التحليل الإحصائي والإشارة للزيادة المعنوية في تركيز الكوليسترول المترافق مع الاستئصال الجراحي للمبايض والرحم وجود صلة مع الانخفاض المعنوي لتركيز الإستراديول في مصل الدم.
- عند المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) وكل من المجموعة الأولى (G1) والثالثة (G3) عند نهاية التجربة وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$)، الأمر الذي قد يشير لدور الإستروجين في الحفاظ

- على تركيز كوليسترول الدم ضمن الحدود الطبيعية كما في المجموعة الأولى (G1) وعكس ما حدث عند الاستئصال الجراحي مع عدم المعاوضة الهرمونية بالإسترايول في المجموعة (G2) وحتى عند استخدام الغلوكوزامين في المجموعة الرابعة (G4).
- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) عند المقارنة بين المجموعة الثالثة (G3) وكلاً من المجموعة الأولى (G1) والثانية (G2) والرابعة (G4) عند نهاية التجربة الأمر الذي قد يدل على جدوى المعالجة التعويضية ببنزوات الإسترايول في ضبط تركيز كوليسترول الدم عبر زيادة تركيز الإسترايول في الدم بعد الاستئصال الجراحي.
 - وجود فرق معنوي عند المقارنة بين المجموعة الرابعة (G4) وكل من المجموعات الأولى (G1) و الثالثة (G3) حيث ($P \leq 0.05$).
 - بينما كانت القيم غير معنوية ($P > 0.05$) لدى مقارنة كل من المجموعتين الثانية (G2) والرابعة (G4) مما قد يشير لعدم وجود تأثير للغلوكوزامين في ضبط مستوى تركيز كوليسترول الدم كما هو الحال لدى الاستئصال الجراحي فقط بدون أي معالجة.

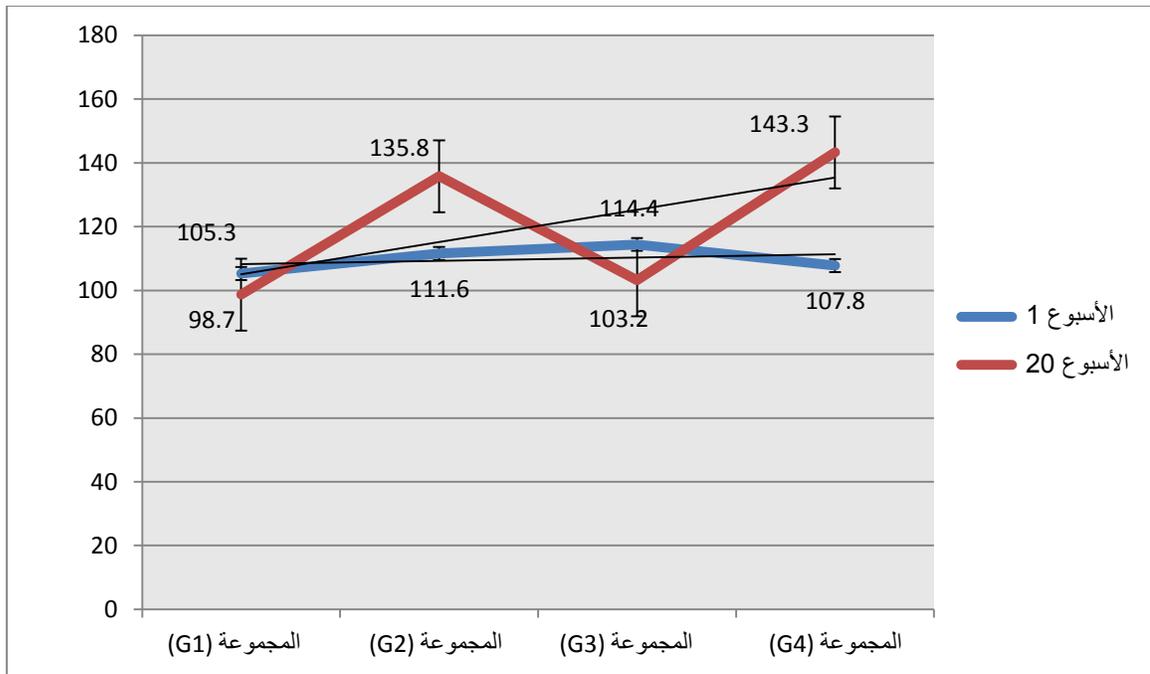
2.4. نتائج تقدير تركيز الشحوم الثلاثية (TG):

أظهرت النتائج في بداية التجربة (أسبوع 1) أن متوسط تركيز الشحوم الثلاثية في مصل الدم لدى مجموعات لدراسة كان كما يلي: بلغ تركيز الشحوم الثلاثية في الدم لدى المجموعة الأولى (G1) 105.3 ملغ/دل بينما وصل تركيزه في المجموعة الثانية (G2) 111.6 ملغ/دل، أما في المجموعة الثالثة (G3) والرابعة (G4) فقد بلغ تركيز الشحوم الثلاثية في مصل الدم على التوالي 114.4 ملغ/دل، 107.8 ملغ/دل. كما أظهرت النتائج من خلال هذه التجربة في الأسبوع 20 زيادة في تركيز الشحوم الثلاثية في مصل الدم لدى مقارنة المجموعة الأولى (G1) مع باقي مجموعات الدراسة، حيث بلغ تركيز الشحوم الثلاثية في المجموعة (G1) 98.7 ملغ/دل بينما وصلت قيمته في بقية مجموعات التجربة الاخرى على التوالي (G2) 135.8 ملغ /دل، (G3) 103.2 ملغ/دل، (G4) 143.3 ملغ/دل، كما هو موضح بالجدول رقم (6) والمخطط رقم (5).

الجدول رقم (6): تركيز الشحوم الثلاثية في مصل الدم (ملغ/دل) لدى مجموعات الدراسة.

المجموعات	بداية التجربة (أسبوع 1)	نهاية التجربة (أسبوع 20)
المجموعة (G1)	^a 105.3±1.37	^a 98.7±2.78
المجموعة (G2)	^a 111.6±1.68	^b 135.8±2.38
المجموعة (G3)	^a 114.4±1.59	^a 103.2±1.57
المجموعة (G4)	^a 107.8±1.47	^b 143.3±0.46

تدل الرموز a,b,c على وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية في حال اختلافها ضمن نفس العمود عند المقارنة بين مجموعات التجربة الأربعة فيما بينها باستخدام اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)، حيث اعتُبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$).



المخطط البياني رقم (5): يمثل تركيز الشحوم الثلاثية في الدم (mg/dl).

أظهرت نتائج الدراسة لتركيز الشحوم الثلاثية في مصل الدم مقدراً ب (mg/dl) في الجدول رقم (6) المخطط رقم (5) وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية ($P \leq 0.05$) لدى المقارنة بين مجموعات التجربة ككل عند نهاية التجربة (الأسبوع 20) حيث لوحظ:

- عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) بالمقارنة بين مجموعات الدراسة عند بداية التجربة (الأسبوع 1).
- لدى المقارنة عند نهاية التجربة بين مجموعة الشاهد السلبية (G1) وكل من المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4) وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) والذي من الممكن أن يشير لتأثير الإستروجين في تركيز الشحوم الثلاثية في المجموعة الأولى السليمة بالمقارنة مع بقية مجموعات الدراسة .
- كما لوحظ وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) عند المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) وكل من المجموعة الأولى (G1) والثالثة (G3) عند نهاية التجربة الأمر الذي قد يشير لتأثير الاستئصال الجراحي وانخفاض تركيز إستراديول الدم على تركيز الشحوم الثلاثية في المجموعة الثانية مقارنةً بالمجموعة الأولى السليمة والثالثة المعالجة ببنزوات الإستراديول.
- وجود فرق معنوي عند المقارنة بين المجموعة الثالثة (G3) وكل من المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4) علماً أن ($P \leq 0.05$) مما قد يسترعي الانتباه لدور بنزوات الإستراديول في الحفاظ على تركيز الشحوم الثلاثية بعد الاستئصال.
- وجود فرق معنوي عند المقارنة بين المجموعة الرابعة (G4) وكل من المجموعات الأولى (G1) و الثالثة (G3) حيث ($P \leq 0.05$) وبالتالي عدم قدرة الغلوكوزامين في الحفاظ على تركيز الشحوم الثلاثية ضمن المعدل الطبيعي بالمقارنة مع المجموعة السليمة والمجموعة المعالجة ببنزوات الإستراديول.
- عدم وجود فرق معنوي ($P > 0.05$) لدى المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4).

2.5. تركيز الشحوم البروتينية مرتفعة الكثافة (HDL) High Density Lipoprotine:

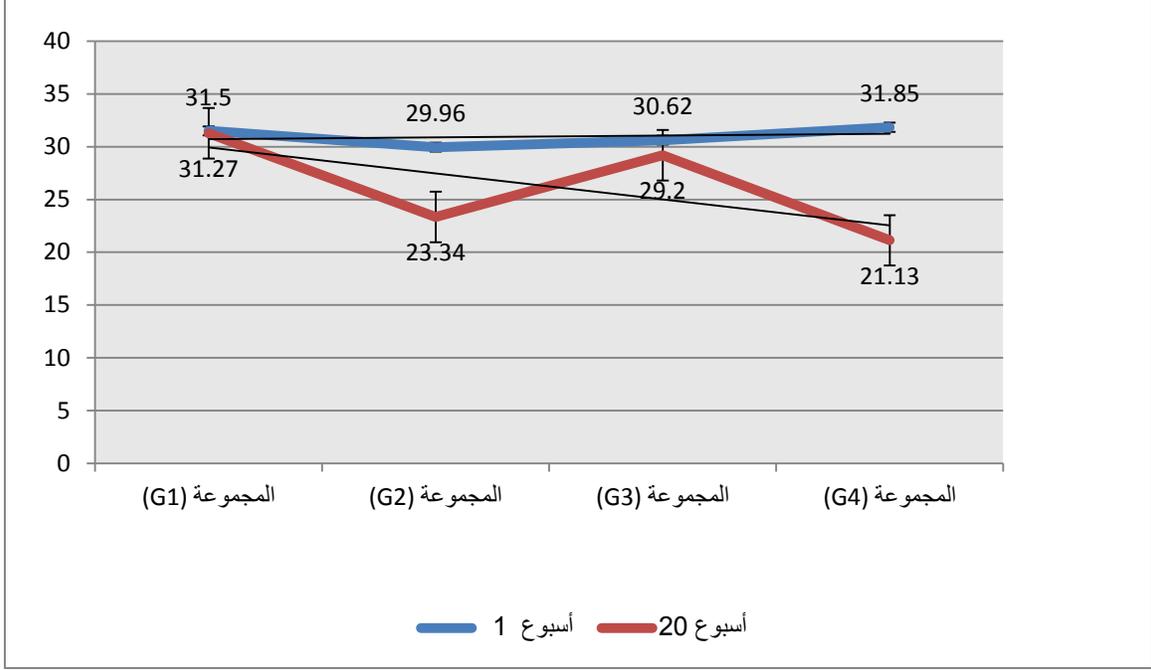
تم قياس متوسط تركيز البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة لدى المجموعات المدروسة في بداية التجربة حيث بلغت قيمته 31.50 ملغ/دل لدى حيوانات المجموعة الأولى (G1) و 29.96 ملغ/دل لدى حيوانات المجموعة الثانية (G2) أما تركيزه في إناث المجموعة الثالثة (G3) والرابعة (G4) على التوالي و 30.62 ملغ/دل، 31.85 ملغ/دل. أما عند نهاية التجربة بلغ متوسط تركيز البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة لدى إناث المجموعة الأولى (G1) 31.27 ملغ/دل بينما بلغ متوسط تركيزها في مصل دم إناث المجموعة الثانية (G2) (الخاضعة للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض) 23.34 ملغ/دل، في حين وصل متوسط تركيز

البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة لدى إناث المجموعة الثالثة (G3) والتي حقنت تعويضياً ببنزوات الإستراديول 29.20 ملغ/دل، أما إناث المجموعة الرابعة المعالجة بالغلوكوزامين (G4) فقد كان متوسط تركيز البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة 21.13 ملغ/دل ، وذلك موضح بالجدول رقم (7) والمخطط رقم (6).

الجدول رقم(7): تركيز البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة في مصل الدم (ملغ/دل).

المجموعات	بداية التجربة (أسبوع 1)	نهاية التجربة (أسبوع 20)
المجموعة (G1)	^a 31.50±2.22	^a 31.27±1.49
المجموعة (G2)	^a 29.96±1.62	^b 23.34±1.88
المجموعة (G3)	^a 30.62±1.96	^a 29.20±1.57
المجموعة (G4)	^a 31.85±2.41	^b 21.13±1.46

تدل الرموز a,b,c على وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، عند المقارنة بين مجموعات التجربة الأربعة فيما بينها، باستخدام اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)، حيث اعتُبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$).



المخطط البياني رقم (6): يمثل تركيز البروتينات الشحمية المرتفعة الكثافة (mg/dl).

أظهرت نتائج الدراسة لتركيز البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة في مصل الدم مقدراً ب (mg/dl) عند بداية التجربة (أسبوع 1) و نهايتها (أسبوع 20) كما هو موضح في الجدول رقم (7) والمخطط رقم (6) وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية ($P \leq 0.05$) لدى المقارنة بين مجموعات التجربة ككل حيث لوحظ:

- بالمقارنة بين مجموعات الدراسة عند بداية التجربة لوحظ عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$).
- وجود فرق معنوي في نهاية التجربة عند المقارنة بين مجموعة الشاهد السلبية (G1) وكل من المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4) حيث ($P \leq 0.05$) مما قد يشير للدور الذي يلعبه الإسترايول الطبيعي في الأرناب السليمة في المحافظة على تركيز البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة بالمقارنة مع مجموعات الدراسة الخاضعة للإستئصال الجراحي والتي لوحظ لديها انخفاض في تركيزه.
- وجود فرق معنوي في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) وكل من المجموعة الأولى (G1) و الثالثة (G3) ($P \leq 0.05$).
- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الثالثة (G3) وكل من المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4) وهذا ربما يعطي فكرة عن دور و فعالية بنزوات الإسترايول كمصدر خارجي للإسترايول في ضبط تركيز البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة.

- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الرابعة (G4) وكل من المجموعات الأولى (G1) والثالثة (G3)، إذ يمكن ان يشير ذلك لعدم وجود أي تأثير للغلوكوزامين في المحافظة على تركيز البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة >
- عدم وجود فرق معنوي في نهاية التجربة لدى المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4) ($P > 0.05$).
- عدم وجود فرق معنوي في نهاية التجربة لدى المقارنة بين المجموعة الثانية (G1) و الرابعة (G3) ($P > 0.05$).

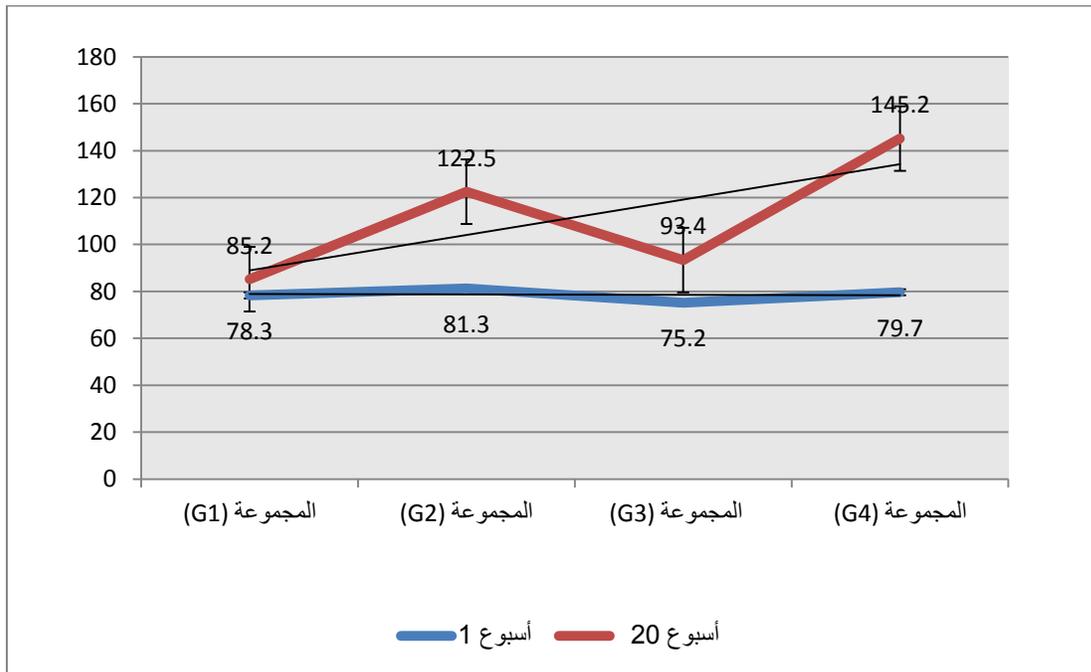
2.6. تقدير تركيز الشحوم البروتينية منخفضة الكثافة (LDL): Low Density Lipoprotine

تم قياس متوسط تركيز البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة لدى المجموعات المدروسة في بداية التجربة (أسبوع 1) بلغت قيمته 78.30 ملغ/دل لدى حيوانات المجموعة الأولى (G1) و 81.36 ملغ/دل لدى حيوانات المجموعة الثانية (G2) أما تركيزه في إناث المجموعة الثالثة (G3) والرابعة (G4) على التوالي و 75.28 ملغ/دل، 79.74 ملغ/دل. أما عند نهاية التجربة (أسبوع 20) فقد بلغ متوسط تركيز البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة لدى إناث المجموعة الأولى (G1) 85.22 ملغ/دل بينما بلغ متوسط تركيزها في مصل دم إناث المجموعة الثانية (G2) (الخاضعة للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض) 122.56 ملغ/دل، في حين وصل متوسط تركيز البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة لدى إناث المجموعة الثالثة (G3) والتي حقنت تعويضياً بنزوات الإسترايول 93.41 ملغ/دل، أما إناث المجموعة الرابعة المعالجة بالغلوكوزامين (G4) فقد كان متوسط تركيز البروتينات الشحمية مرتفعة الكثافة 145.21 ملغ/دل، وذلك موضح بالجدول رقم (8) والمخطط رقم (7).

الجدول رقم (8): تركيز البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة في مصل الدم (ملغ/د).ل.

المجموعات	بداية التجربة (أسبوع 1)	نهاية التجربة (أسبوع 20)
المجموعة (G1)	^a 78.30±3.25	^a 85.22±2.90
المجموعة (G2)	^a 81.36 ±2.29	^b 122.56±2.59
المجموعة (G3)	^a 75.28 ±2.83	^a 93.41±2.58
المجموعة (G4)	^a 79.74±3.10	^c 145.21±2.11

تدل الرموز a,b,c على وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية في حال اختلافها ضمن نفس العمود عند المقارنة بين مجموعات التجربة الأربعة فيما بينها باستخدام اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)، حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) (P≤0.05).



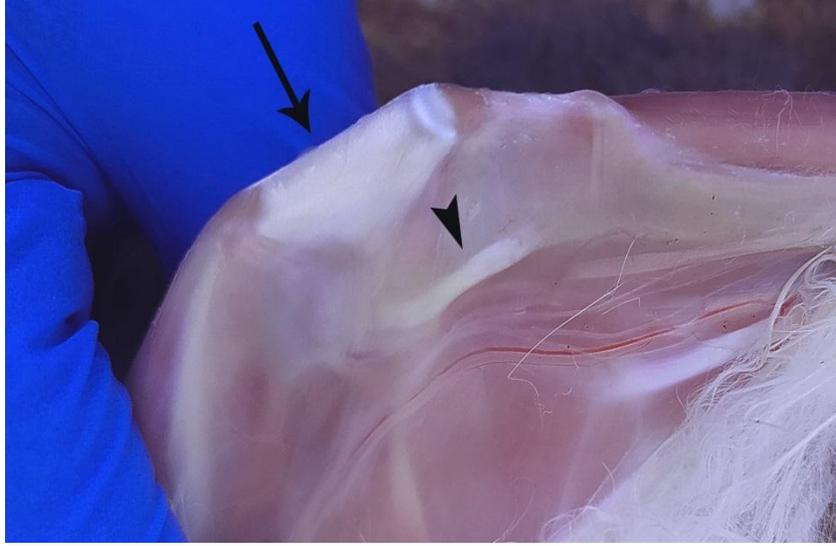
المخطط البياني رقم (7): يمثل تركيز البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة (mg/dl).

أظهرت نتائج الدراسة لتركيز البروتينات الشحمية منخفضة الكثافة في مصل الدم مقدراً بـ (mg/dl) عند بداية التجربة و نهايتها كما هو موضح في الجدول رقم (8) والمخطط رقم (7) وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية ($P \leq 0.05$) لدى المقارنة بين مجموعات التجربة ككل حيث لوحظ:

- بالمقارنة بين مجموعات الدراسة عند بداية التجربة عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$).
- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة عند المقارنة بين مجموعة الشاهد السلبي (G1) وكلاً من المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4).
- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) وكلاً من المجموعة الأولى (G1) والثالثة (G3) والرابعة (G4).
- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الثالثة (G3) وكلاً من المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4).
- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة عند المقارنة بين المجموعة الرابعة (G4) وكلاً من المجموعات الأولى (G1) والثانية (G2) والثالثة (G3).
- وجود فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نهاية التجربة لدى المقارنة بين المجموعة الثانية (G2) والرابعة (G4).

3- نتائج الدراسة التشريحية العيانية والمجهرية لمفصل الركبة لدى الأرانب:

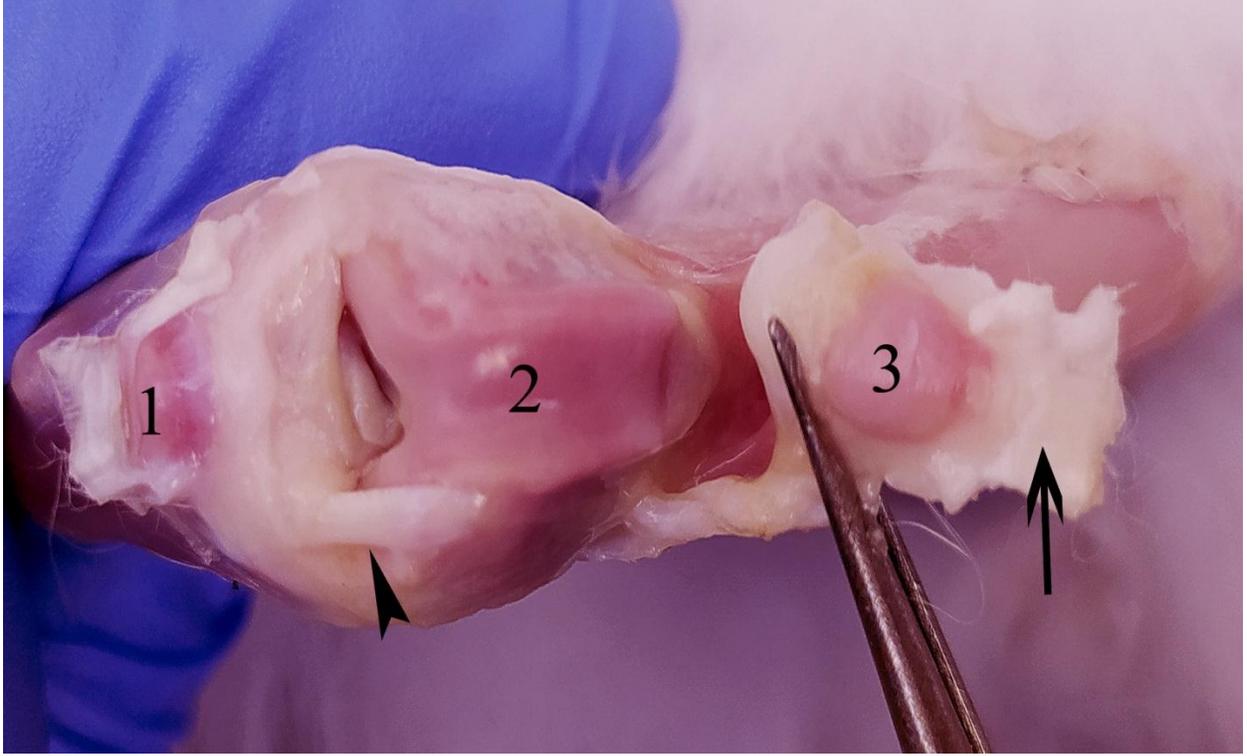
يتكون مفصل ركبة لدى الأرنب من التمثفصل الظنبوبي الفخذي والتمفصل الرضفي الفخذي وتتمثل الوظيفة الرئيسية له في توفير نقطة تسمح بالحركة بين عظم الظنبوب والفخذ والذي يتحقق بمساعدة الرضفة والشظية والأربطة التي تعطي الثبات للركبة عن طريق ربط العظام ببعضها البعض، بالإضافة إلى الأوتار التي تسمح للمفصل بالحركة عن طريق ربط العضلات بالعظام. من خلال التشريح العياني نلاحظ أن اللقم الفخذية في النهاية السلفية(القاصية) لعظم الفخذ متطورة بشكل جيد وموجهة للخلف مع ثلثة عميقة بين لقمتي الفخذ، الشكل رقم (19). يعرف موقع تموضع الرضفة على عظم الفخذ باسم الأخدود الرضفي الفخذي الذي يكون عميق وطويل وهو عبارة بنية محدد جيداً بحواف بارزة تمتد لمسافة قريبة، يتم تثبيت الرضفة في مكانها بواسطة وتر العضلة رابعة الرؤوس الفخذية ليعبر فوق الرضفة ثم يستمر نزولاً إلى الظنبوب ويطلق عليه بالرباط الرضفي، الشكل رقم (18). ترتبط الشظية بعظم الفخذ عن طريق الرباط الجانبي الوحشي (الشظوي) وتعتبر عبارة عن رباط قوي يتصل باللقيمة الفخذية الوحشية بالقرب وإلى الخلف قليلاً من موضع ارتكاز الوتر المأبضي في عظم الفخذ، الشكل رقم(17). تحيط محفظة من نسيج ضام بالمفصل والتراكيب المفصالية، الشكل رقم (16). يرتبط عظم الفخذ والظنبوب بواسطة الأربطة المتصالية الأمامي والخلفي والرباطيين الجانبيين الوحشي والأنسي حيث تمنع الأربطة المتصالية عظم الفخذ من الانزلاق للأمام أو للخلف على القصبية و تمنع الأربطة الجانبية الحركة من الاتجاه الأنسي نحو الوحشي و الدوران، شكل رقم (17)، (17)، (19). يظهر الشكل رقم (20) الهضاب القصبية المغطاة بالعضروفين الهلاليين الأنسي والوحشي، اللذان يتصلان عبر الرباط المستعرض من الناحية الامامية، حيث يعملان كوسائد امتصاص للصدمات بالإضافة إلى دورهما في الحد من عدم التلائم المورفولوجي بين اللقم الفخذية من جهة والهضاب القصبية من جهة أخرى وبالتالي تساهم هذه العضروفين في توزيع الحمل على كامل السطح القمي للقصبية. تظهر الهضبة الظنبوبية الوحشية أكثر تحدياً ومنحدرة أفقياً وخلفياً، كما في الشكل رقم (21). أما من الناحية الخلفية للمفصل فيظهر رباط رزبيرغ متصل بالجزء الخلفي الأنسي من الثلثة بين اللقمتين، خلف الرباط المتصالب الخلفي، ويمتد بشكل منفصل إلى حد قريب من الزاوية الخلفية الأنسية للقرن الخلفي للعضروف المفصلي الوحشي، الشكل رقم (22).



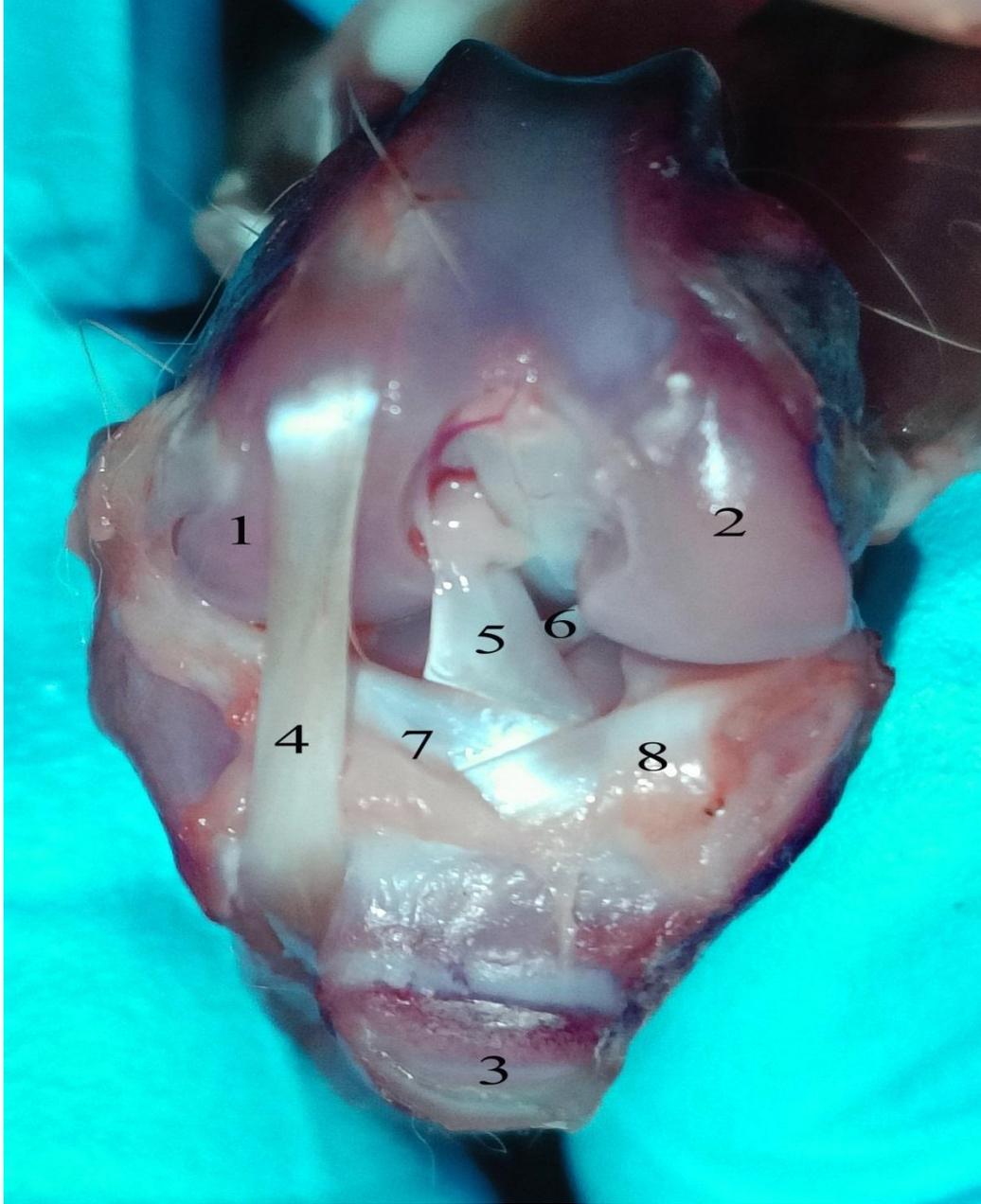
الشكل رقم (16): يوضح التراكيب التشريحية لمفصل الركبة من الناحية الأنسية، يشير السهم الطويل لمحفظة المفصل والرباط الرضفي بينما يشير سهم الدلالة للرباط الجانبي الانسي لمفصل الركبة.



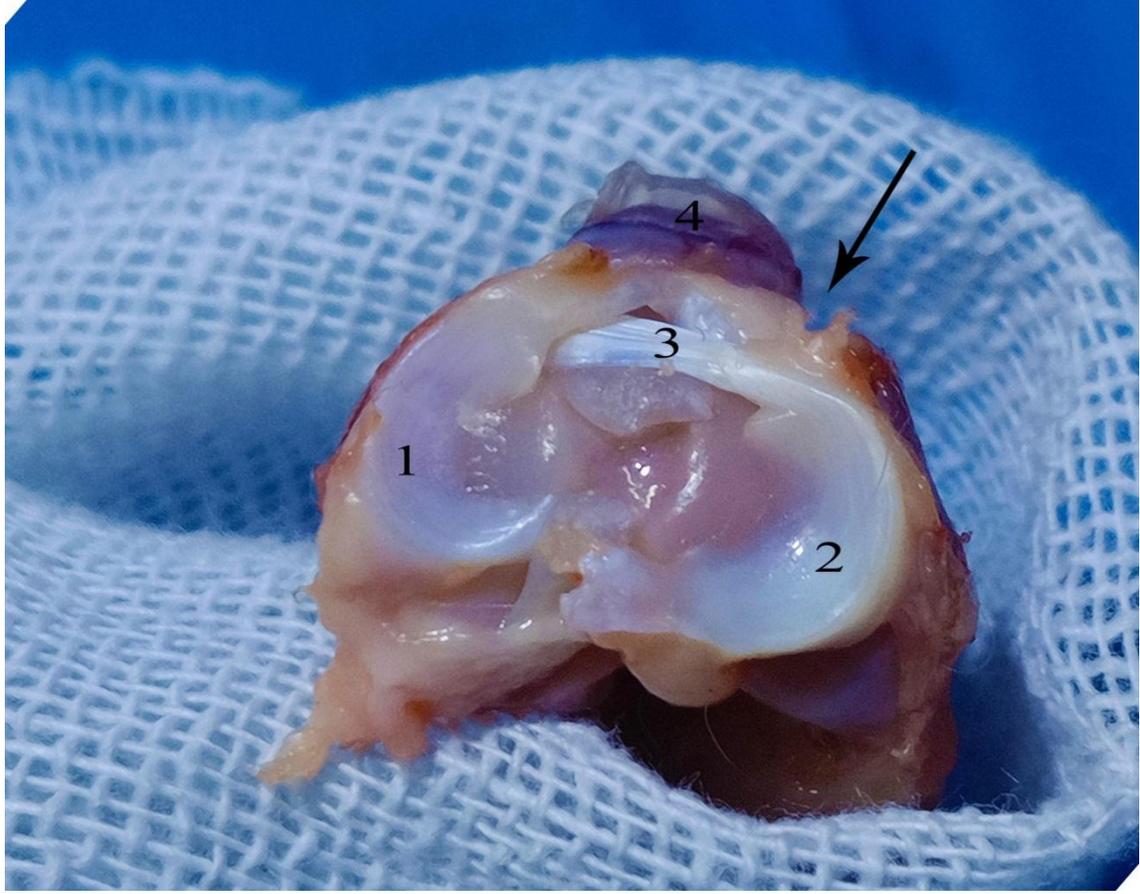
الشكل رقم (17): يوضح التراكيب التشريحية لمفصل الركبة من الناحية الوحشية، يشير السهم الأحمر للرباط الرضفي ويشير السهم الأخضر لوتر العضلة الطويلة الباسطة لأصابع القدم بينما يشير السهم الأسود للرباط الجانبي الوحشي لمفصل الركبة.



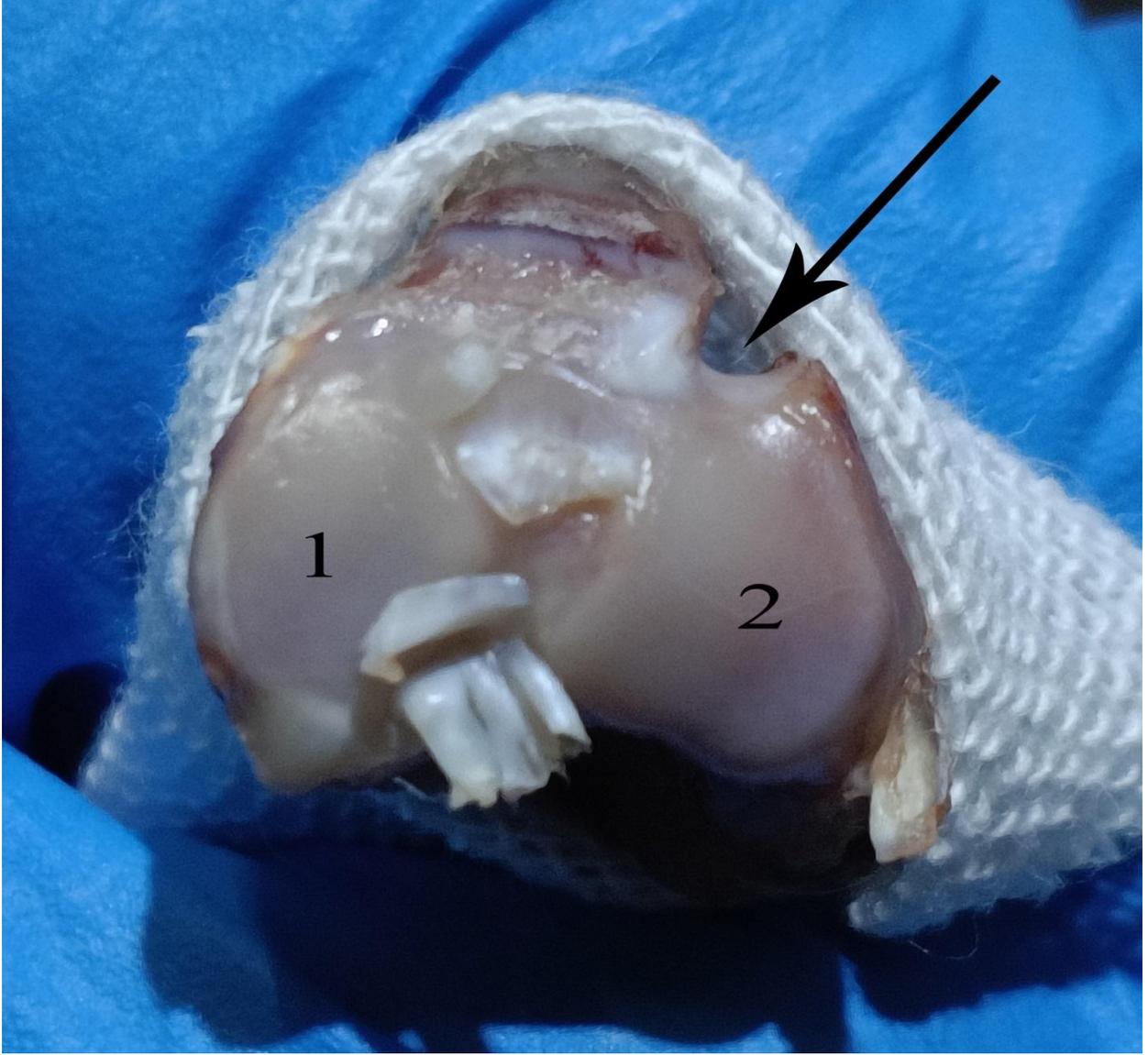
الشكل رقم (18): تظهر الصورة التشريحية التراكيب التشريحية الآتية: (1=الحدبة الظنبوبية، 2=الميزاب البكري لعظم الفخذ، 3=الرضفة) كما يشر سهم الدلالة لوتر العضلة الطويلة الباسطة لأصابع القدم بينما يشير السهم الطويل للرباط الرضفي.



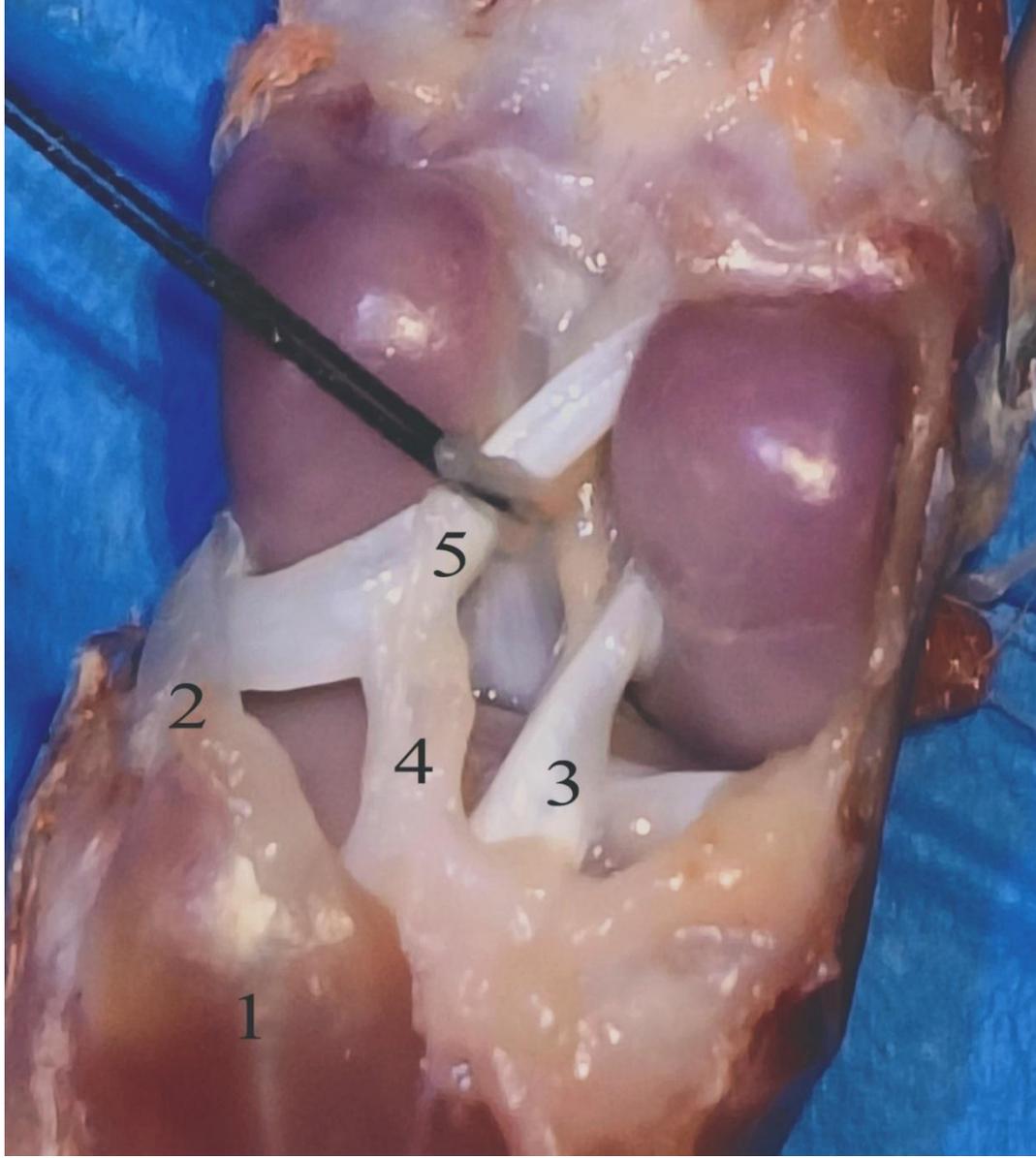
الشكل رقم(19): منظر أمامي يوضح التراكيب التشريحية لمفصل الركبة بعد فتح محفظة المفصل حيث يشير الرقم (1)=اللقمة الفخذية الوحشية، 2=اللقمة الفخذية الأنسية، 3=الحدبة القصبية، 4=وتر العضلة الطويلة الباسطة لأصابع القدم ، 5=الرباط المتصالب الأمامي، 6= الرباط المتصالب الخلفي، 7=الغضروف الهلالي الوحشي، 8= الرباط المستعرض).



الشكل رقم (20): تظهر الصورة التشريحية التراكيب التشريحية الآتية: (1= الغضروف الهلالي الأنسي، 2= الغضروف الهلالي الوحشي، 3= الرباط المستعرض، 4= الحذبة القصبية) كما يشير السهم للميزاب الذي يمر فيه وتر الباسطة الطويلة لأصابع القدم.



الشكل رقم (21): صورة تشريحية لعظم القصبية (الظنوب) تظهر (1= الهضبة القصبية الانسية، 2= الهضبة القصبية الوحشية)، كما يشير السهم لميزاب وتر الباسطة الإصبعية الطويلة.



الشكل رقم (22): صورة تشريحية من الناحية الخلفية للركبة تظهر التراكيب التشريحية الآتية :
(1=العضلة المأبضية، 2= وتر العضلة المأبضية، 3= الرباط المتصالب الخلفي، 4=الرباط القصي الهلالي الخلفي أو رباط رزبيرغ، 5=الغضروف الهلالي الوحشي).

3.1 نتائج الفحص العياني للنهاية القاصية (السفلية) لعظم الفخذ:

أظهرت نتائج الدراسة من خلال الفحص العياني للنهاية السفلية لعظم الفخذ في منطقة اللقم الفخذية في الأسبوع 20 من التجربة الآتي: لم تظهر نتائج الدراسة وجود أي تغيرات أو أفات عيانية لدى المجموعة الأولى من شأنها أن تشير إلى وجود تنكس، بينما على العكس أشارت لسلامة سطح التمثصل مع لمعان واضح للغضروف المفصلي دون أدنى دلالة لوجود احتكاك أو تماس أو خشونة كما هو موضح بالشكل رقم (23).

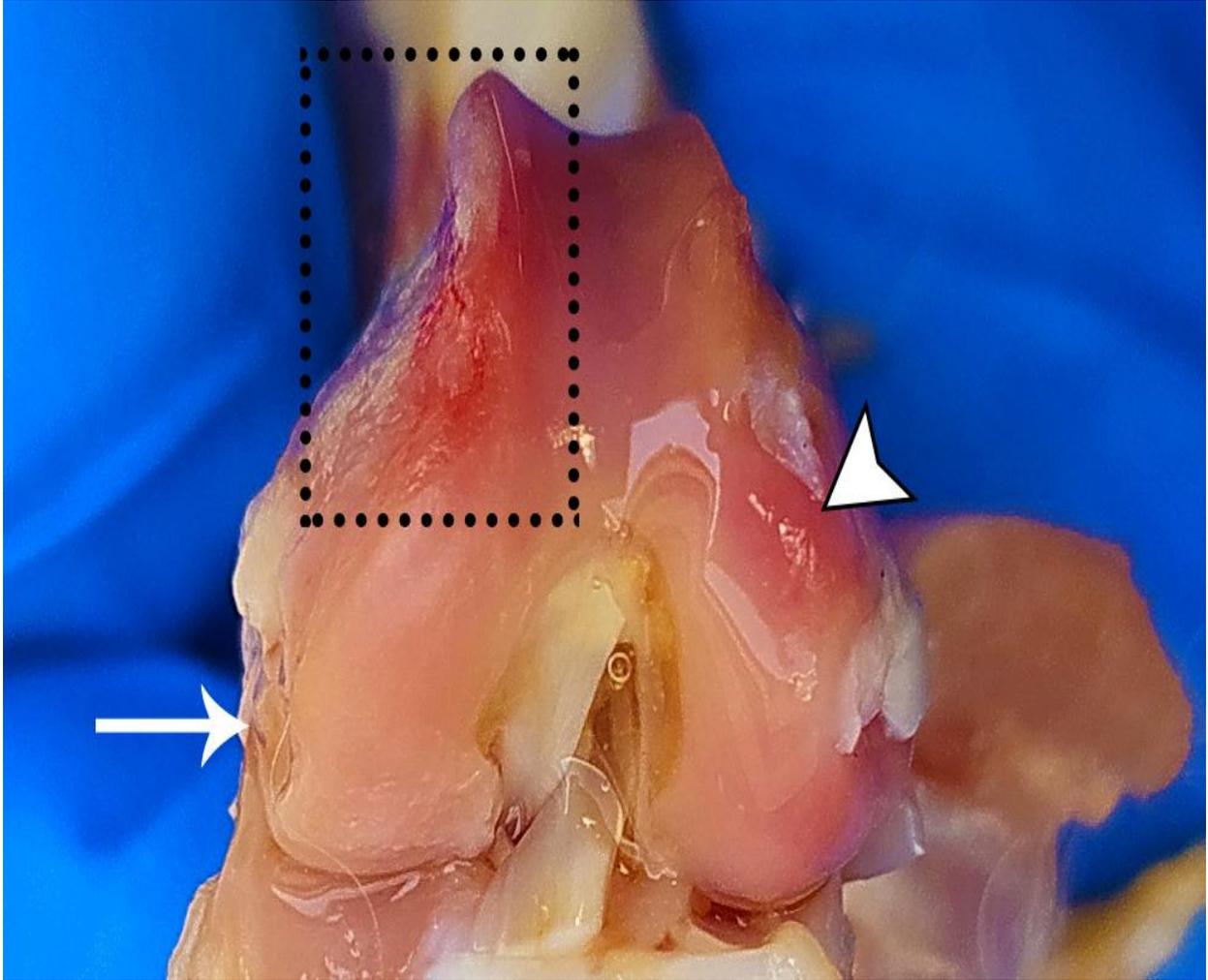


الشكل رقم (23): صورة تشريحية عيانية للنهاية القاصية (السفلية) لعظم الفخذ لدى حيوانات المجموعة الأولى السليمة إكلينيكيًا والتي لم تخضع للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض حيث تظهر البنية السليمة واللامعة للغضروف المفصلي.

بينما أظهر التشريح والفحص العياني دلائل واضحة تشير لوجود التنكس لدى حيوانات المجموعة الثانية التي ترافقت بانخفاض تركيز الإستروجين دمويًا نتيجة الخضوع للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض دون أي معالجة تعويضية. تمثلت الأفات على السطح التامفصلي بوجود آثار احتكاك مع تنبتات عظمية وخشونة و ضياع نسيجي للغضروف المفصلي، الشكل رقم (24)، (25).



الشكل رقم (24): صورة تشريحية عيانية للنهاية القاصية (السفلية) لعظم الفخذ لدى حيوانات المجموعة الثانية الخاضعة للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض تظهر التغيرات الآتية: (يشير السهم الأسود للتنبتات العظمية، كما يشير سهم الدلالة باللون الأبيض لمناطق الاحتكاك الميكانيكي، تشير المنطقة ضمن المربع المنقط الأسود لوجود التنكس).



الشكل رقم (25): صورة تشريحية عيانية للنهاية القاصية (السفلية) لعظم الفخذ لدى حيوانات المجموعة الثانية الخاضعة للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض تظهر التغيرات الآتية: (يشير السهم الأبيض والمنطقة ضمن المربع الأسود لوجود التنكس المفصلي، كما يشير سهم الدلالة باللون الأبيض لمناطق الاحتكاك الميكانيكي).

كما أشارت نتائج التجربة من خلال الفحص التشريحي العياني للنهاية السفلية لعظم الفخذ سلامة سطح التمثصل والغضروف المفصلي لدى حيوانات المجموعة الثالثة المعالجة تعويضياً ببنزوات الإستراديول بعد الاستئصال الجراحي للرحم والمبايض، الشكل رقم (26).



شكل رقم(26): صورة تشريحية عيانية للنهاية القاصية (السفلية) لعظم الفخذ لدى حيوانات المجموعة الثالثة السليمة إكلينيكياً والتي خضعت للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض مع الحقن التعويضي ببنزوات الإستراديول حيث يظهر دوره وفاعليته في الحفاظ على البنية السليمة واللامعة للغضروف المفصلي.

بينما أظهرت نتائج التجربة في الشكل رقم (27)، لدى حيوانات المجموعة الرابعة التي خضعت للاستئصال الجراحي وعولجت بالغلوكوزامين بدلاً عن المعالجة الهرمونية، وجود أفات على السطح التامفصلي مع تآكل و ضياع نسيجي للغضروف المفصلي.

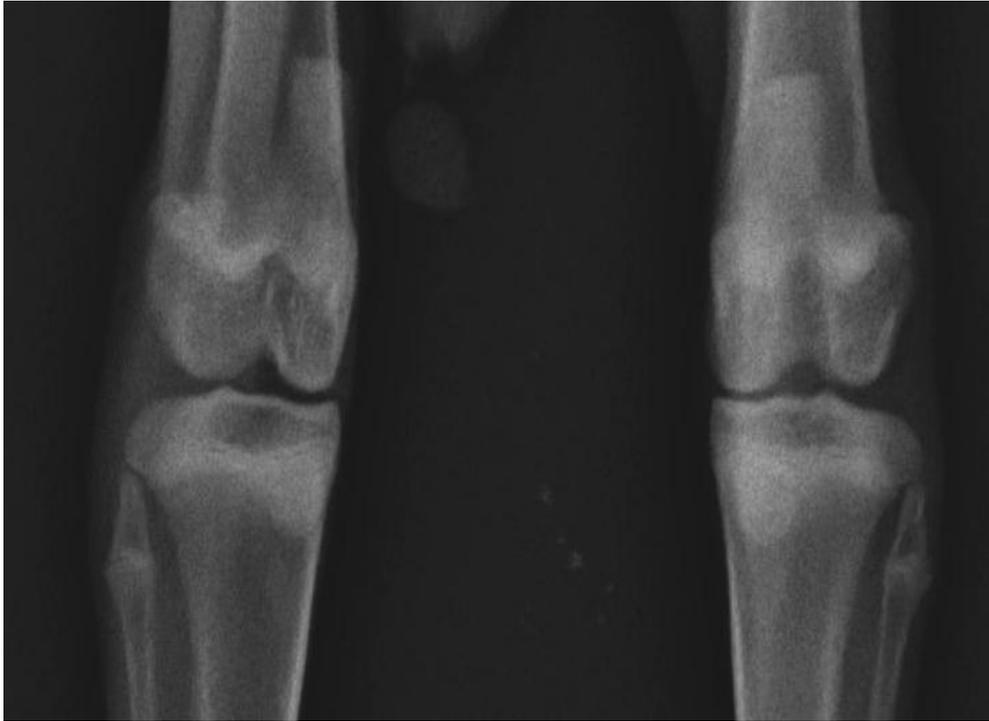


الشكل رقم (27): تشير الصورة التشريحية بالفحص العياني للنهاية القاصية (السفلية) من عظم الفخذ في منطقة اللقم الفخذية لدى حيوانات المجموعة الرابعة المعالجة بالغلوكوزامين إلى التغيرات الآتية: (منطقة التنكس الغضروفي المحصورة ضمن المربع الأسود، كما يشير سهم الدلالة الأبيض لمنطقة الاحتكاك الميكانيكي).

3.2. نتائج الفحص الشعاعي لمنطقة الركبة:

أظهرت نتائج التجربة عبر فحص منطقة مفصل الركبة باستخدام التصوير الشعاعي ومن خلال الجدول رقم (9) الآتي:

سلامة المفصل لدى حيوانات المجموعة الأولى (الشاهد السلبي) والتي لم تخضع للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض والتي تمتلك مستوى من الإستروجين ضمن الحدود الفيزيولوجية، الشكل رقم (28)، بالمقارنة مع حيوانات المجموعة الثانية (الشاهد الإيجابي) التي خضعت للاستئصال الجراحي الذي ترافق بانخفاض تركيز الإستروجين لديها بشكل معنوي عن المستوى الطبيعي حيث لوحظ قصر المسافة المفصالية بين عظم الفخذ والظنوب مع ظهور نتوءات (تنتبات) عظمية ليتم الكشف عن تنكس المفصل من الدرجة الثانية بنسبة 30% الشكل رقم (29) و(30).



الشكل رقم (28): صورة شعاعية لمفصل الركبة لدى حيوانات المجموعة الأولى بوضعية أمامية خلفية تظهر المفصل بحالته الطبيعية مع الحفاظ على المسافة المفصالية وغياب وجود أي أثر للتنتبات العظمية.



الشكل رقم (29): صورة شعاعية لمفصل الركبة لدى حيوانات المجموعة الثانية الخاضعة للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض بوضعية أمامية خلفية تظهر تنكس مفصل الركبة من الدرجة الثانية يتصف بقصر المسافة المفصالية في المنطقة المحصورة بالمرجع الأبيض، بالإضافة لظهور تنبتات عظمية مشار إليها بسهم أبيض.

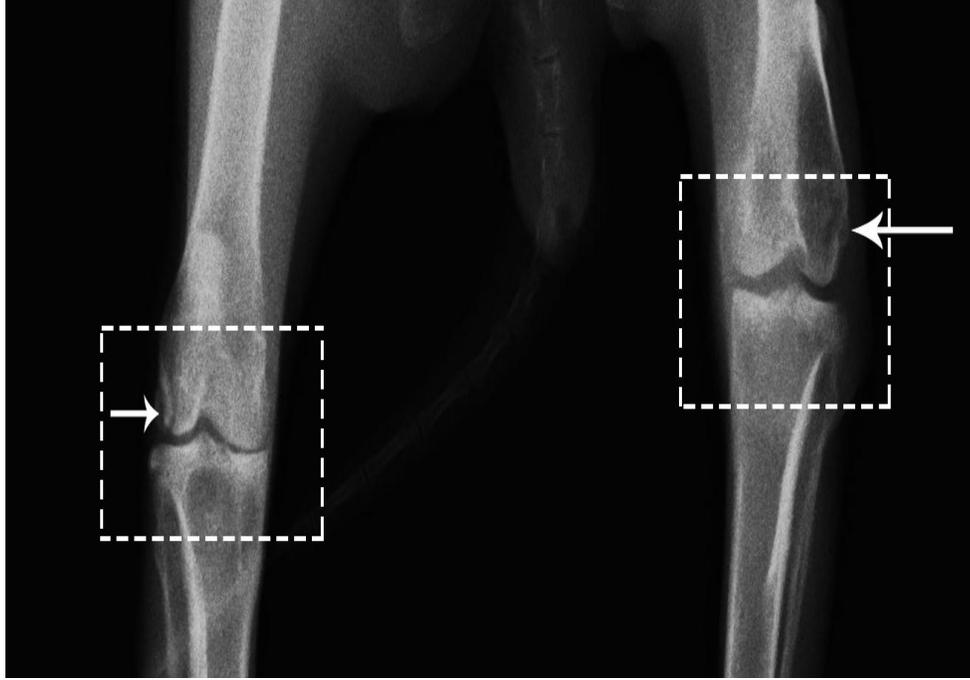


الشكل رقم (30): صورة شعاعية لمفصل الركبة لدى حيوانات المجموعة الثانية الخاضعة للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض بوضعية أمامية خلفية تظهر قصر المسافة المفصالية في المنطقة المحصورة بالمرجع الأبيض، بالإضافة لظهور تنبتات عظمية مشار إليها بسهم أبيض.

وعند فحص مفصل الركبة لدى حيوانات المجموعة الثالثة التي خضعت للاستئصال الجراحي الذي ترافق مع المعالجة البديلة ببنزوات الإستراديول أظهرت نتائج التجربة سلامة التراكيب المفصلة دون وجود مؤشرات لقصر المسافة المفصالية لنهايتي العظم المشكل للمفصل أو ظهور نموات عظمية أو خشونة ، الشكل رقم (31). أما حيوانات المجموعة الرابعة التي عولجت بالغلوكوزامين بعد الاستئصال فقد أظهرت من خلال الفحص الشعاعي وجود دلائل لوجود تنكس في مفصل الركبة من الدرجة الثانية بنسبة 20%، الشكل رقم (32).



الشكل رقم (31): صورة شعاعية بوضعية أمامية خلفية لمفصل الركبة لدى حيوانات المجموعة الثالثة المعالجة تعويضياً ببنزوات الإستراديول تظهر المفصل بحالته الطبيعية مع الحفاظ على المسافة المفصالية وغياب وجود أي أثر لتتكس المفاصل.



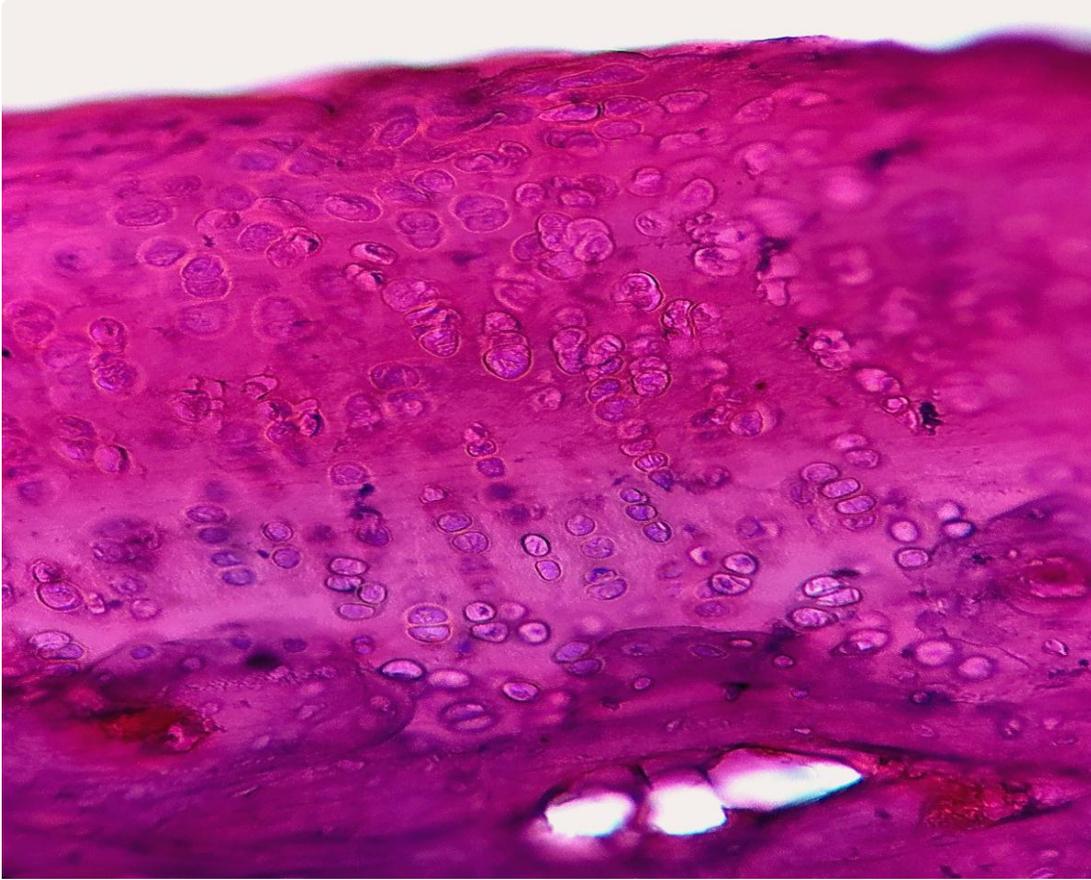
الشكل رقم (32): صورة شعاعية بوضعية أمامية خلفية لمفصل الركبة لدى حيوانات المجموعة الرابعة المعالجة بالغلوكوزامين تظهر قصر المسافة المفصالية واقتراب نهايتي العظم في المنطقة المحصورة ضمن المربع الأبيض على اليسار كما يشير السهم الأبيض لمكثن حدوث التنكس و ظهور التنبات العظمية.

الجدول رقم (9): تقييم درجة التنكس لدى مجموعات الدراسة من خلال التصوير الشعاعي وباستخدام معايير (Kellgren and Lawrence, 1957).

درجة تنكس المفصل بالتصوير الشعاعي					
درجة (4)	درجة (3)	درجة (2)	درجة (1)	درجة (0)	مجموعات التجربة
—	—	—	—	%100	المجموعة (G1)
—	—	%30	%10	%60	المجموعة (G2)
—	—	—	%10	%90	المجموعة (G3)
—	—	%20	%10	%70	المجموعة (G4)

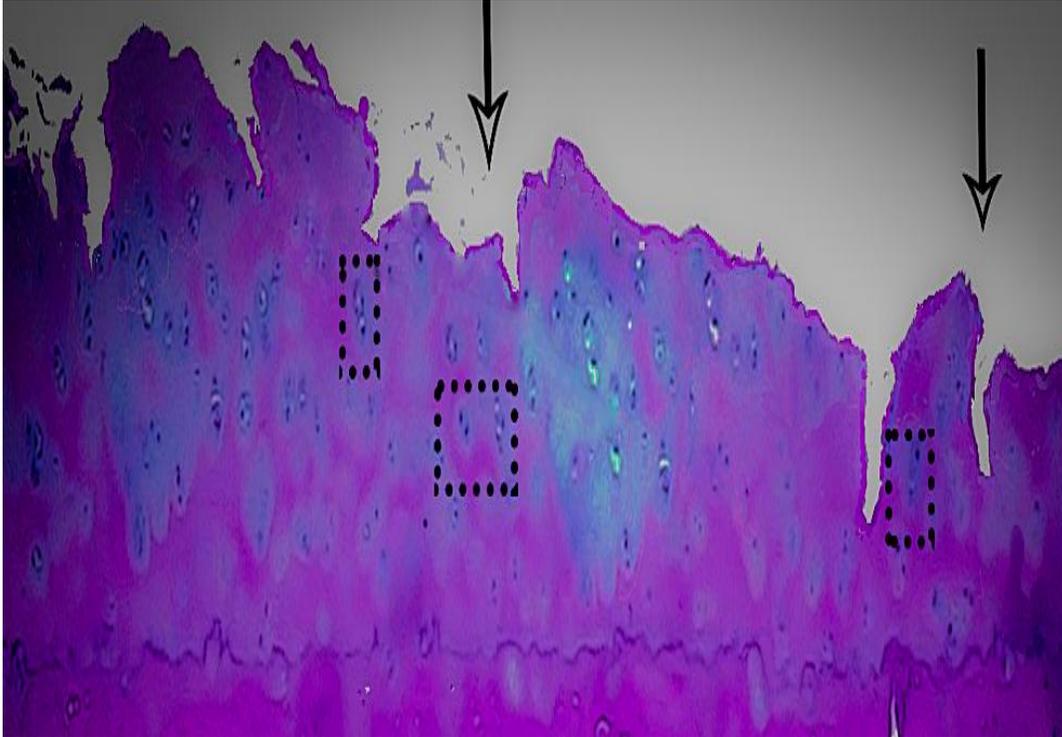
3.3. نتائج الفحص المجهرى للعينات النسيجية:

أظهرت نتائج التجربة عبر الفحص المجهرى للمقاطع النسيجية لدى مجموعات التجربة ومن خلال الجدول رقم (10) الآتى: سلامة الغضروف المفصلي مع بنية نسيجية مكتملة وواضحة لدى المجموعة الأولى إذ يظهر الغضروف المفصلي المكون من أربع طبقات (سطحية، وسطى، عميقة ومنتكلسة) مع كثافة خلوية واضحة للخلايا الغضروفية والتي تفوق الكثافة الخلوية للغضروف المفصلي البشري بـ 5-7 أضعاف مما يكسب الأرناب قدرة أكبر وأسرع على صيانة الغضروف المفصلي كما أشارت إليه الأبحاث الحديثة (Moran *et al.*, 2016)، مع انعدام واضح لأي مؤشر لحدوث ضياع أو فقدان نسيجي ممكن أن يستدل من خلاله على حدوث التتكس، الشكل رقم (33).



الشكل رقم(33): صورة مجهرية للغضروف المفصلي لدى حيوانات المجموعة الأولى السليمة توضح البنية النسيجية الطبيعية المكونة من من الطبقات السطحية والوسطى والعميقة و المنتكلسة مع كثافة واضحة للخلايا الغضروفية بالإضافة للصفحة العظمية تحت الغضروف المفصلي، (صبغة هيماتوكسيلين&أبوزين، تكبير400).

كما بينت المقاطع النسيجية للعينات المجموعة من أماكن التغيرات العيانية لدى حيوانات المجموعة الثانية و المفحوصة مجهرياً وجود تنكس مفصلي تم تقديره من الدرجة الـ (3) و (5)، إذ لوحظ وجود شقوق تمتد عميقاً وتصل لعمق الطبقة الوسطى مع تلف الطبقة السطحية بالإضافة لظهور تجمعات متكاثرة من الخلايا الغضروفية تترافق بفرط تضخم مع اتساع نطاق المطرق الغضروفي المحيط بها، الشكل (34).



الشكل رقم(34): صورة مجهرية للغضروف المفصلي لدى حيوانات المجموعة الثانية، يظهر المقطع النسيجي تنكس الغضروف المفصلي من الدرجة (3) يتصف بحدوث تلف في الطبقات السطحية من الغضروف المفصلي مع شقوق (المشار إليها بالسهم) تعبر عميقاً في الطبقات النسيجية وتصل الطبقة الوسطى من الغضروف المفصلي، تشمل التغيرات الخلايا الغضروفية التي تتضخم وتتوضع على شكل تجمعات عنقودية كما هو موضح في المنطقة المحصورة ضمن المربع، (صبغة هيماتوكسيلين&أيوزين، تكبير400).

كما أظهرت المقاطع النسيجية والتي قدر فيها التنكس من الدرجة الخامسة حدوث تعري شبه كامل للسطح التامفصلي في مكان التغير العياني يتصف بزوال نسيج الغضروف المفصلي وكشف النسيج العظمي أسفل

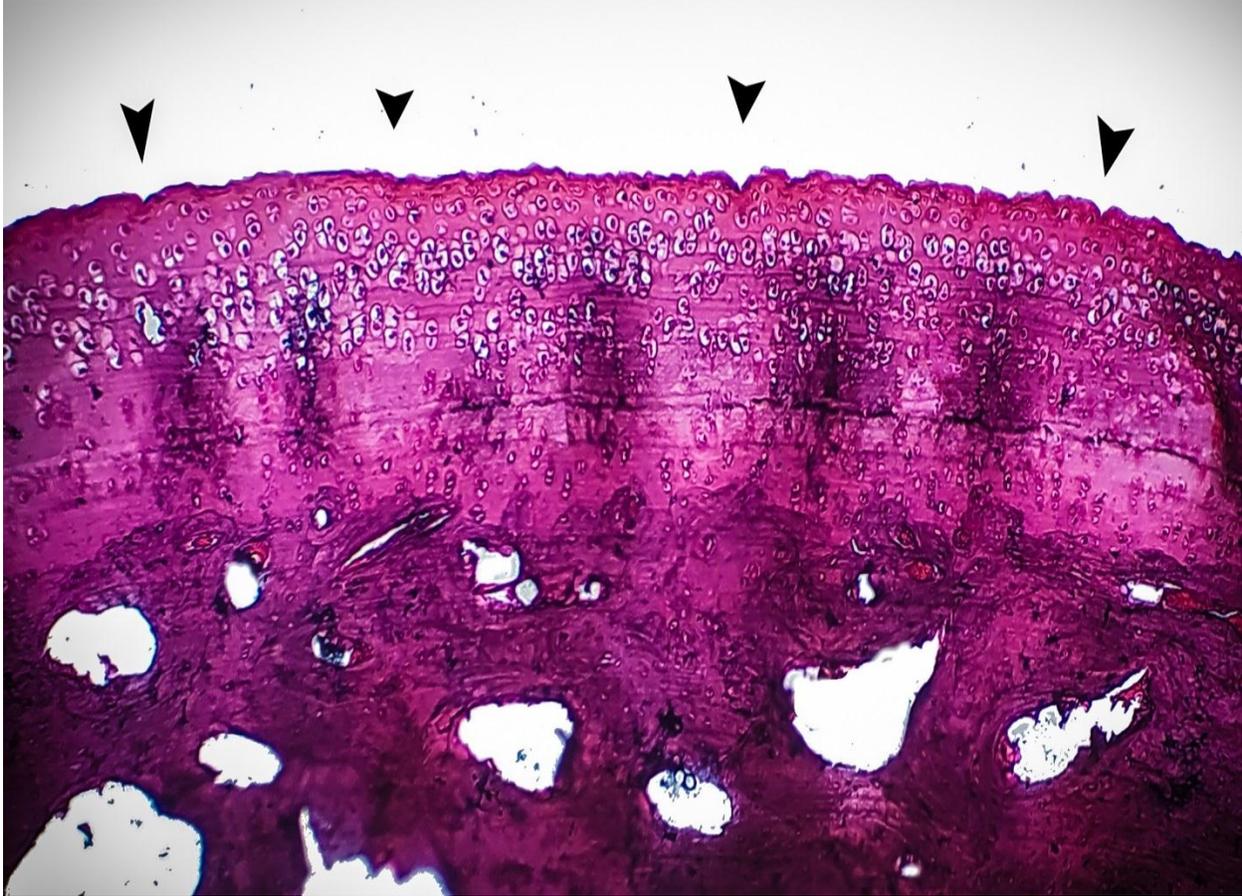
منه مع ظهور نسيج ضام ليفي يحل محل النسيج الغضروفي (التنبتات العظمية) مما يسبب خشونة في السطح المفصلي يترافق ذلك مع ثخانة واضحة للصفحة العظمية، الشكل رقم (35).



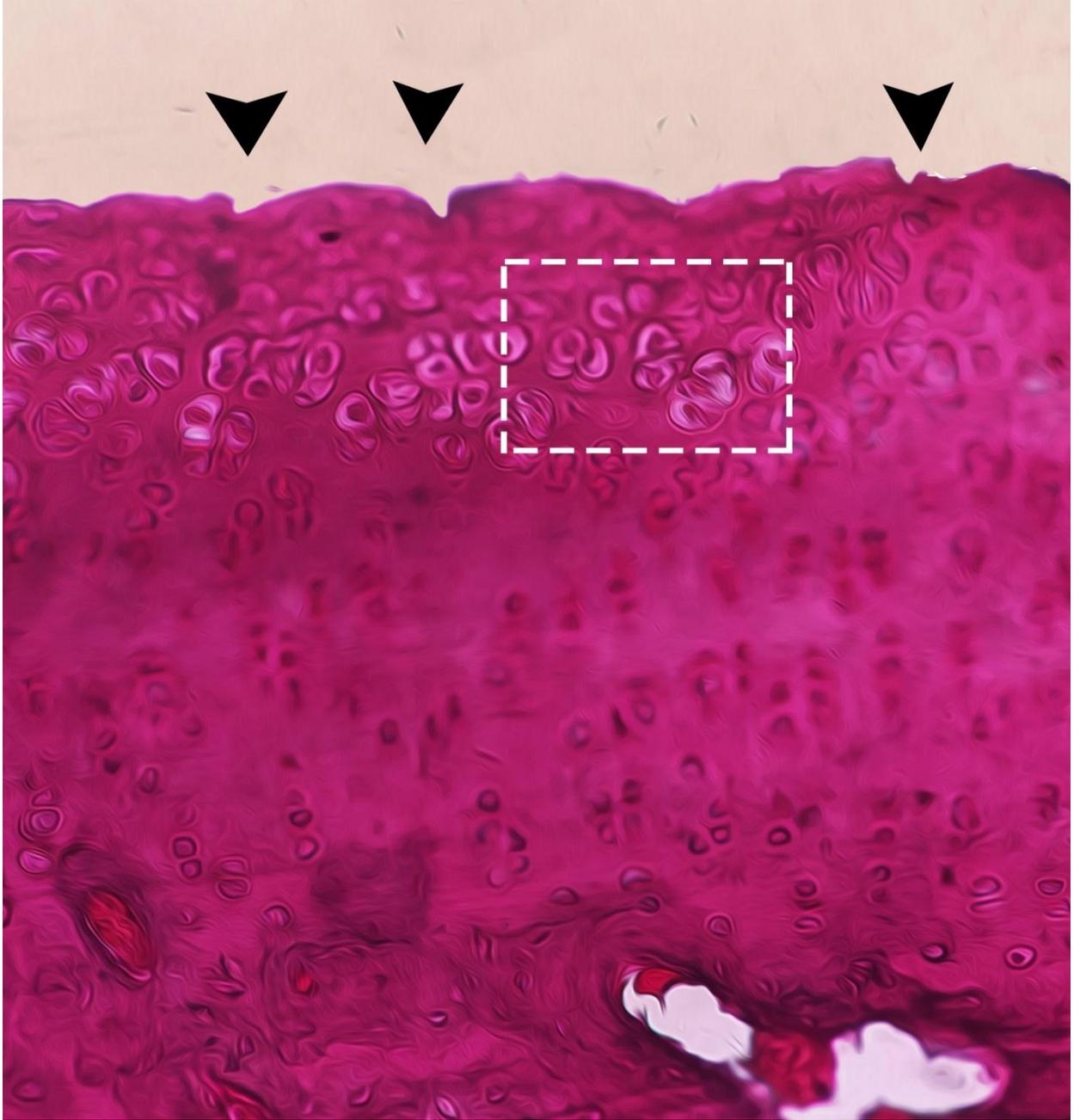
الشكل رقم (35): صورة مجهرية للغضروف المفصلي لدى حيوانات المجموعة الثانية الخاضعة للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض، يظهر المقطع النسيجي تنكس في الغضروف المفصلي من الدرجة (5) حيث يتصف بضياح وتلف كلي مع زوال نسيج الغضروف المفصلي وحدوث تعري شبه كامل للصفحة العظمية أسفل منه (مشار إليها بسهم الدلالة الصغير) مع زيادة سماكتها، بينما يشير السهم الأسود الكبير لتشكّل نسيج غضروف ليفي يمثل التنبتات العظمية الناجمة عن حدوث التنكس، (صبغة هيماتوكسيلين&أيوزين، تكبير 400).

أما لدى المجموعة الثالثة التي عولجت تعويضياً بهرمون الإستراديول (بنزوات الإستراديول) بعد الاستئصال الجراحي للمبايض والرحم فقد اقتصررت التغيرات النسيجية المجهرية على حدوث تعرجات على سطح

التمفصل في الطبقة السطحية من الغضروف المفصلي مع ضخافة في الخلايا الغضروفية في الطبقة الوسطى، عدا ذلك كان البنية النسيجية سليمة ومكتملة دون تضرر يذكر، الشكل رقم (36) و(37).

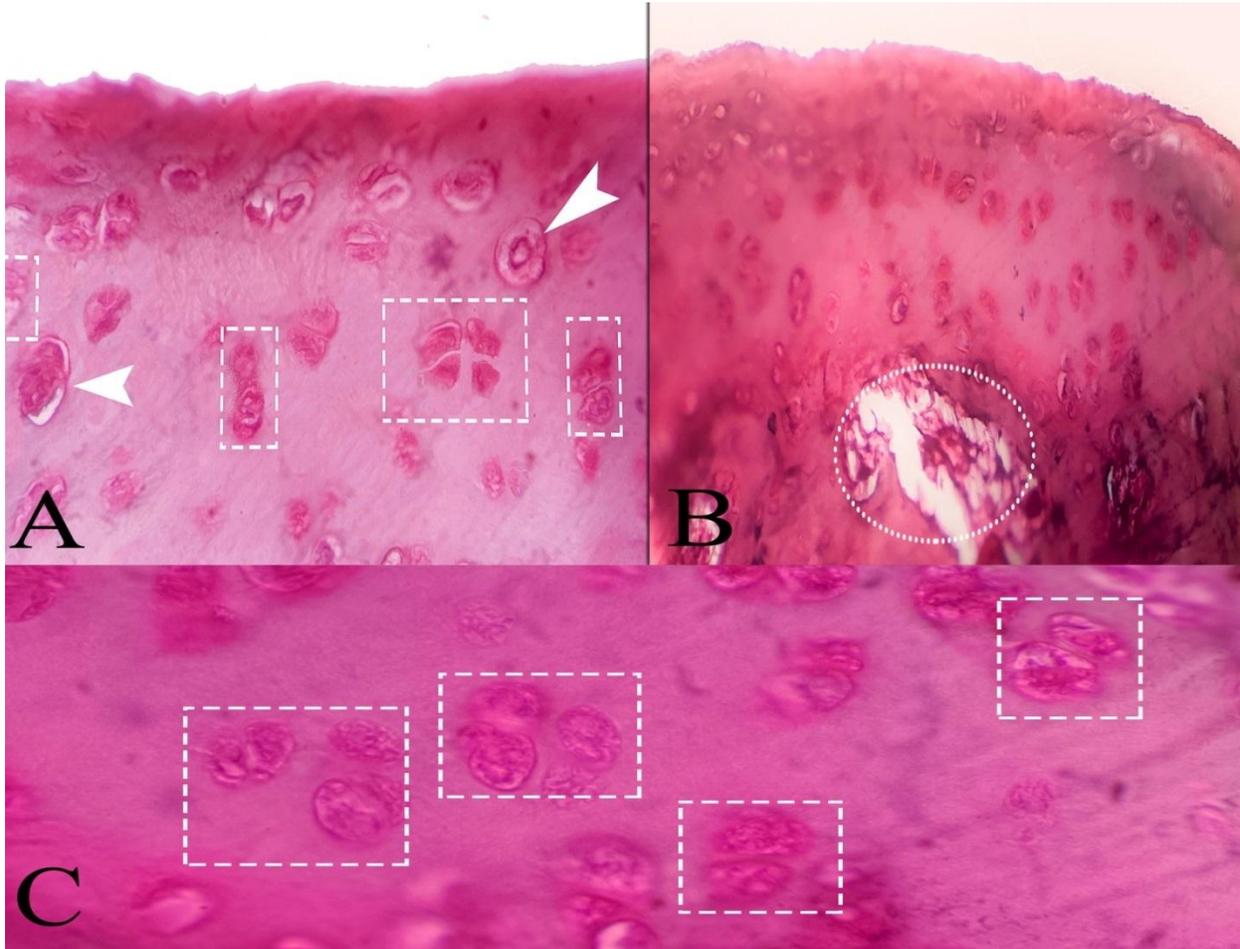


الشكل رقم (36): صورة مجهرية للغضروف المفصلي لدى حيوانات المجموعة الثالثة المعالجة ببنزوات الإسترايول، يظهر المقطع النسيجي البنية النسيجية للغضروف المفصلي بالكامل مع وجود تشرشر أو تسنن في الطبقة السطحية منه فقط (مشار إليها بالسهم) ويصنف بتكس مفصلي من الدرجة (1)، (صبغة هيماتوكسيلين&أيوزين، تكبير100).

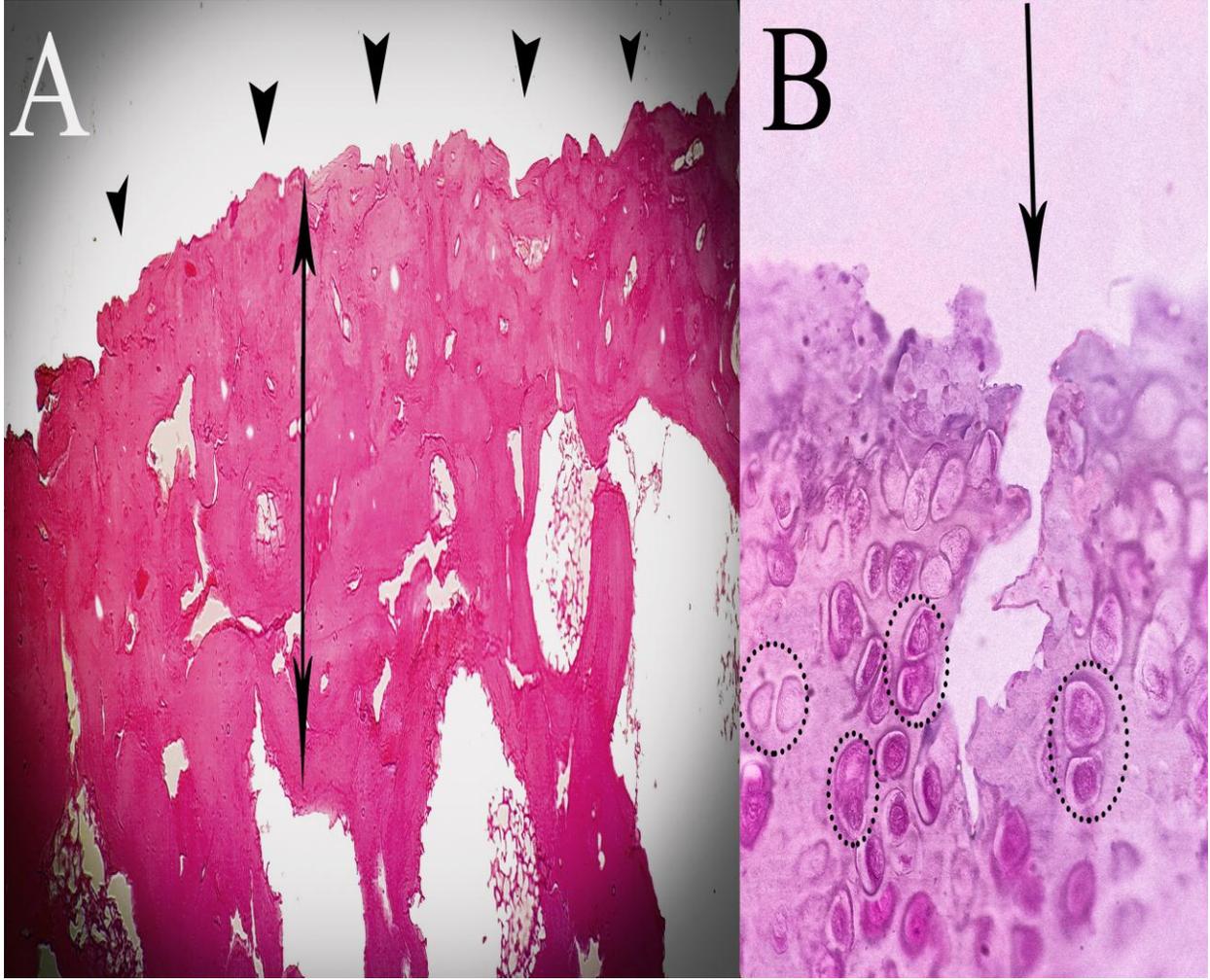


الشكل رقم (37): صورة مجهرية للغضروف المفصلي لدى حيوانات المجموعة الثالثة المعالجة ببنزوات الإستراديول، يظهر المقطع النسيجي سلامة البنية النسيجية للغضروف المفصلي بالكامل مع وجود تشرشر أو تسنن في الطبقة السطحية منه فقط (مشار إليها بالسهم)، ضخامة خلوية في الطبقة الوسطى ضمن المربع، (صبغة هيماتوكسيلين&أيوزين، تكبير 400).

أما فيما يخص المجموعة الرابعة المعالجة بالغلوكوزامين بعد الاستئصال فقد أظهر الفحص المجهرى وجود تنكس من الدرجة الرابعة يتصف بتلف الطبقة السطحية وتضخم وتكاثر خلوي للخلايا الغضروفية مع وجود كيسات، الشكل رقم (38)، بالإضافة لتتكس من الدرجة الخامسة يظهر فيه تعري الصفيحة العظمية من الغضروف المفصلي الساتر جلياً ، الشكل رقم (39)،.



الشكل رقم (38): (A) صورة مجهرية لمقطع نسيجي في الغضروف المفصلي لدى حيوانات المجموعة الرابعة المعالجة بالغلوكوزامين، يظهر تنكس الغضروف المفصلي من الدرجة (4) مع تغير الملامح العامة للغضروف المفصلي كزوال الطبقة السطحية مع فرط تضخم وتكاثر الخلايا الغضروفية (سهم دلالة) و تجمعها (ضمن المربع)، (صبغة هيماتوكسيلين & أيوزين، تكبير 400)، (B) ظهور كيسات ضمن نسيج الغضروف المفصلي، (صبغة هيماتوكسيلين & أيوزين، تكبير 400)، (C) تجمع الخلايا الغضروفية المتكاثرة ضمن المربعات، (صبغة هيماتوكسيلين & أيوزين، تكبير 1000).



الشكل رقم (39): (A) صورة مجهرية لمقطع نسيجي في الغضروف المفصلي لدى حيوانات المجموعة الرابعة المعالجة بالغلوكوزامين، يظهر تنكس الغضروف المفصلي من الدرجة (5) الذي يتصف بتعري الصفيحة العظمية بالكامل (أسهم الدلالة) وضياح نسيج الغضروف المفصلي، مع زيادة سماكة الصفيحة العظمية (سهمين متعاكسين)، (صبغة هيماتوكسيلين & أيوزين، تكبير 400)، (B) ظهور شقوق عمودية ضمن نسيج الغضروف المفصلي تصل للطبقة الوسطى (سهم) مع تجمعات لخلايا غضروفية متكاثرة ضمن الدوائر، (صبغة هيماتوكسيلين & أيوزين، تكبير 400).

الجدول رقم (10): تقييم درجة تنكس الغضروف المفصلي بالفحص المجهرى للعينات النسيجية لدى مجموعات الدراسة باستخدام نظام التقييم التابع للجمعية الدولية للأبحاث المعنية بالتهاب المفاصل التنكسي.

درجة تنكس الغضروف المفصلي مجهرياً							
درجة (6)	درجة (5)	درجة (4)	درجة (3)	درجة (2)	درجة (1)	درجة (0)	مجموعات التجربة
—	—	—	—	—	—	%100	المجموعة (G1)
—	%10	—	%40	%50	—	—	المجموعة (G2)
—	—	—	—	—	%20	%80	المجموعة (G3)
—	%10	%30	%30	—	%30	—	المجموعة (G4)

الفصل الخامس

CHAPTER FIVE

المناقشة

DISCUSSION

1- مناقشة نتائج التغيرات في متوسط وزن الجسم :

يوضح الجدول رقم (2) والمخطط البياني رقم (1) متوسط وزن الجسم لدى مجموعات التجربة الرابع في الأسبوع الأول عند بداية التجربة وفي الأسبوع (20) عند نهاية التجربة، بينت هذه النتائج عدم وجود فروق معنوية بين مجموعات التجربة في الأسبوع الأول، بينما أشارت عند نهاية التجربة لوجود زيادة معنوية لدى كل من المجموعة الثانية التي خضعت للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض دون المعالجة التعويضية الهرمونية ولدى المجموعة الرابعة التي خضعت للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض وعولجت بالغلوكوزامين وذلك بالمقارنة مع المجموعة الأولى (الشاهد السلبي) السليمة إكلينيكيًا والمجموعة الثالثة التي حققت بينزوات الإسترايول بعد الاستئصال الجراحي للرحم والمبايض.

توافقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة أخرى أجريت عام (2006) تناولت أثر استئصال المبايض والعلاج بالإستروجين على تدهور النمط الثاني من بروتين الكولاجين وسلامة الغضروف المفصلي لدى إناث الفئران إذ أظهرت زيادة وزن الجسم لدى جميع المجموعات المدروسة بشكل عام بينما كانت الزيادة الوزنية ملحوظة وأكثر وضوحًا عند نهاية فترة الدراسة لدى الحيوانات التي أجريت عليها عمليات استئصال المبايض ولم تعالج بالإستروجين بالمقارنة مع مجموعة الشاهد التي أجريت لها عمليات جراحية زائفة، بينما أظهر العلاج المبكر بالإستروجين لدى المجموعة المعالجة بتغيرات في الوزن مماثلة لتلك التي شوهدت في مجموعة الشاهد التي أجريت لها عمليات جراحية زائفة (Oestergaard et al., 2006). كما توافقت أيضاً نتائج هذه الدراسة مع تلك التي أجريت لدى الفئران المستأصلة المبايض عام (2021) والتي أظهرت زيادة وزن الجسم لديها بشكل ملفت (Mao et al., 2021).

قدمت العديد من الأبحاث سواءً في النماذج الحيوانية أو البشرية دلائل من شأنها أن تفسر انخفاض مستوى الإستروجين وعلاقته بزيادة وزن الجسم سواءً كان الانخفاض نتيجة الاستئصال أو نتيجة الوصول عمرياً للتوقف الوظيفي لنشاط للمبيض، بعضها ربط مستوى تركيز الإستروجين في مصل الدم بالشهية والإقبال على الغذاء. إذ أولت الدراسات السلوكية لدى حيوانات التجربة اهتماماً كبيراً لموضوع زيادة الوزن بعد انحدار مستوى الإستروجين فعلى سبيل المثال أعزت الدراسات المختبرية عند إناث الفئران الزيادة الوزنية بعد الاستئصال لتحسن شهيتها واستهلاكها للغذاء (Leeners et al., 2017) وأظهرت عودة شهيتها واستهلاكها للغذاء إلى المعدل الطبيعي عند إعطاء جرعات فسيولوجية من الإسترايول (Davidsen et al.,).

(2007)، كما أشارت أن الإسترايول يتحكم أيضاً في حجم الوجبة المتأولة (Eckel, 2004). وهذا تحديداً ما تمت ملاحظته في تجربتنا لدى إناث الأرناب في المجموعة الثالثة التي حقنت بينزوات الإسترايول بالمقارنة بالمجموعة الأولى السليمة وعلى عكس الإناث في المجموعة الثانية والرابعة التي احتفظت بشهيتها المفتوحة للغذاء.

أما الدراسات البشرية لدى النساء ووفقاً لمقالة علمية نشرت عام (2019)، والتي استفاضت في تفسير وإيجاد علاقة بين انخفاض مستوى الإستروجين والزيادة الوزنية الجسمية، أشارت لدور الإستروجين في التحكم في إشارات الجوع مما قد يساعد في منع استهلاك السعرات الحرارية الزائدة. فعندما تنحدر مستويات هرمون الإستروجين مع الوصول لسن اليأس نتيجة الانخفاض المستمر في عدد الجريبات المبيضية، يحدث ارتفاع نسبي في مستوى الإندروجين وهذا الخلل الهرموني يسبب تغييراً في توازن الطاقة عن طريق تنظيم إشارات الجوع والشبع (Mauvais-Jarvis et al., 2013)، وبالتالي انخفاض قدرة الشخص على الإحساس بالشبع مما قد يؤدي إلى الإفراط في تناول الطعام (Chopra et al., 2019). يكبح هرمون الإستروجين عمل إشارات الجوع ويمنع الاستهلاك المفرط للسعرات الحرارية ونتيجة تقلب مستويات هرمون الإستروجين عند انقطاع الطمث قد يسبب انخفاض فعاليته في كبح هرمونات الجوع لتواجه النساء بعد انقطاع الطمث إشارات جوع أكثر حدة تشجع على زيادة تناول الطعام مما يعزز زيادة الوزن (Kozakowski et al., 2017)، أما الخلل في التوازن الهرموني أثناء انقطاع الطمث فيعزز تراكم الدهون في منطقة البطن إذ يؤدي انخفاض مستويات هرمون الإستروجين مع ارتفاع مستويات الإندروجين إلى إعادة توزيع الدهون الموجودة في المناطق الألوية والفخذية باتجاه منطقة البطن مما يؤدي إلى السمنة (Lumsden and Hor, 2015). ولم تتوقف الأبحاث عند هذا الحد بل ذهبت أبعد من ذلك وأشارت لدور التغيير في تركيز الإستروجين في الإقبال على الطعام حتى في أثناء الدورة الشهرية وأن تأثير الإسترايول يتحكم في كيفية تقبل المرأة نفسياً للطعام (Derntl et al., 2013)، وأن الدورة الشهرية التي لا يحدث فيها إباضة لا يحدث فيها تغيير من ناحية الشهية والإقبال على تناول الغذاء (Gorczyca et al., 2016).

كما أشارت دراسات عديدة لدور الإسترايول أيضاً في تنظيم وزن الجسم من خلال توليد الحرارة (Thermogenesis) والمقصود هنا بتوليد الحرارة أي تبديد واستهلاك الطاقة عبر إنتاج الحرارة والذي بزيادته يزداد خسارة وزن الجسم (Chouchani et al., 2019). وقد أظهرت النماذج الحيوانية المدروسة أن الإسترايول يزيد من تبديد واستهلاك الطاقة من خلال زيادة توليد الحرارة وتلطف الدهون من النسيج الدهني

البنّي الذي يعتبر مستودع دهون متخصص بتوليد الحرارة (Liu *et al.*, 2017)، يعتمد مسار توليد الحرارة على محور الجهاز العصبي الودي والذي بتنشيطه يحدث زيادة تحرر للكاتيكولامينات مثل (النورإبينفرين) الذي بدوره يزيد من نشاط قناة البروتون الموجودة في الغشاء الداخلي المتقدي والتي يطلق عليها البروتين غير المرتبط الأول (Uncoupling Protein1) UCP1 هذه القناة تسمح لمدرج تركيز البروتون بالتبدد عبر المطرق المتقدي دون إنتاج أدينوزين ثلاثي الفوسفات ATP (Adenosine Triphosphate) هذا التبدد يولد طاقة على شكل حرارة (Harms and Seale, 2013). يتم تنظيم هذا المسار في منطقة ما تحت المهاد وبشكل خاص النواة الوطائية البطنية الأنسية (Ventromedial Hypothalamus Nucleus) VHN إذ يسبب التحفيز الهرموني للإسترايول زيادة إنتاج الحرارة عبر النسيج الدهني البني من خلال تأثيره في النواة الوطائية البطنية الأنسية وفي الإشارات العصبية الودية ومن خلال تأثيره المباشر في النسيج الدهني البني (Morentin *et al.*, 2014).

أما المجموعة الرابعة المعالجة بالغلوكوزامين وبالعودة للزيادة المعنوية في متوسط وزن الجسم لديها مقارنةً بمجموعات الدراسة، نجد أن نتائج هذه الدراسة تتوافق مع دراسة أثبتت تحفيز زيادة وزن الجسم باستخدام الغلوكوزامين لدى الفئران (Hwang *et al.*, 2015)، بينما لا تتوافق مع نتائج الدراسة التي جرت لدى النساء لتقصي أثر الغلوكوزامين كدواء علاجي في حالة تنكس المفاصل والتي أشارت لدوره في انقاص كتلة الجسم وكتلة الدهون بشكل معنوي (Magrans-Courtney *et al.*, 2011)، وبالرغم من ذلك لا بد لنا أن نضع انخفاض مستوى الإستروجين نتيجة الاستئصال الجراحي للمبايض وتأثيره في وزن الجسم في الحسبان وباعتقادنا هو المسؤول المباشر عن هذه الزيادة وأن هذه المجموعة تخضع لتأثير الغلوكوزامين من جهة ونقص تركيز الإسترايول من جهة أخرى.

2- مناقشة نتائج التغيرات في مستوى تركيز الإستروجين في مصّل الدم لدى مجموعات التجربة:

يظهر الجدول رقم (3) والمخطط البياني رقم (2) بشكل واضح تأثير الاستئصال الجراحي للمبايض والرحم في مستوى تركيز الإستروجين لدى مجموعات التجربة، تجلّى تأثيره من خلال الانخفاض المعنوي الملاحظ بشدة في تركيز الإسترايول لدى (المجموعة الثانية) الخاضعة للاستئصال و(المجموعة الرابعة) الخاضعة

للاستئصال والمعالجة بالغلوكوزامين مقارنةً بالمجموعة (الأولى) السليمة و(الثالثة) التي عوضت بينزوات الإسترايول كمصدر إستروجيني خارجي المنشأ.

توافقت نتائج هذه الدراسة مع العديد من الأبحاث التي تناولت استئصال المبايض الجراحي وفعالته في إحداث هشاشة العظام تجريبياً عبر انحدار تركيز الإستروجين، إحداهما أجريت عام (2015) على إناث الأرناب وقارنت بين فعالية العلاج بالأمواج فوق الصوتية والمعالجة التعويضية الهرمونية في رفع مستوى هرمون الإسترايول بعد الاستئصال وتأثير ذلك في الخصائص الميكانيكية الحيوية للنسيج العظمي، إذ أظهرت نتائج هذه الدراسة انخفاضاً معنوياً في تركيز الإستروجين لدى المجموعة المستأصلة مقارنةً بالمجموعة السليمة والأخرى التي خضعت بعد الاستئصال للعلاج الهرموني المعاوز (*Xia et al., 2015*)، كما توافقت أيضاً مع دراسة أخرى تمت عام (2007) لدى إناث الأرناب حول تقصي أثر انحدار هرمون الإستروجين في عدد الخلايا الغضروفية في صفيحة النمو حيث أثبتت الدراسة حدوث إنخفاض ملحوظ ومعنوي في تركيز الإستروجين لدى المجموعة المستأصلة مقارنةً بالسليمة (*Takano et al., 2007*)، وكذلك أظهرت الدراسات لدى إناث الفئران نتائج مماثلة متوافقة مع نتائج هذا البحث (*Alonso et al., 2007*)، وكذلك الأمر بالنسبة للنساء (*Bellanti et al., 2013*).

أثبتت دراستنا انحدار هرمون الإستروجين لدى مجموعات التجربة الخاضعة للاستئصال الجراحي بالمقارنة مع الإناث السليمة، وكما هو معروف أن المبايض هي المصدر الرئيس للإستروجين في مصل الدم مع العلم أن الإستروجين يفرز أيضاً من أماكن أخرى كقشرة الكظر والنسيج الشحمي ولكن بكميات قليلة (*Hetemäki et al., 2021*). بعد توقف وظيفة المبيض ينتج الجسم كميات صغيرة من هرمون الإستروجين عن طريق تحويل هرمونات تسمى الأندروجينات المفترزة من الغدة الكظرية الموجودة فوق الكليتين إلى هرمون الإستروجين دونما زيادة في الإفراز لمعاوضة نقص التركيز الحاصل للإستروجين في مصل الدم والناجم عن توقف المبايض أو الاستئصال الجراحي. أما عملية تحول الأندروجين إلى إستروجين يعد أنزيم الأروماتيز المسؤول المباشر عنها، وهنا يجب الإشارة إلى أن دور الإستروجين المفرز سابقاً كعامل صماوي والمصاحب لاستمرار عمل المبايض وظيفياً يتحول مع استئصال المبايض أو توقف عملها وتغير مصدره بعيداً عن الأعضاء التناسلية إلى عامل نظير صماوي يؤثر موضعياً في الأنسجة المجاورة فقط (*Simpson, 2003*). إن حصول إناث المجموعة الثالثة على الإستروجين من مصدر خارجي بشكل بينزوات الإسترايول كان له دوره كمعالجة هرمونية تعويضية في رفع تركيز الإسترايول بالدم بشكل معنوي

ملحوظ مع باقي المجموعات المستأصلة وبالرغم من أن مستوى تركيزه كان قريباً من مجموعة الشاهد، لكن أظهرت النتائج وجود فرقاً معنوياً بالمقارنة معها وهنا نعتقد أن السبب الكامن وراء ذلك هو قصر مدة تأثيره التي لا تتجاوز 4-5 أيام (Buchsbbaum, 2012) ونصف عمره الذي لا يتعدى 48-120 ساعة بالمقارنة مع المركبات الإستروجينية الأخرى حيث يعد الأقصر من حيث مدة وفعالية التأثير، أما انخفاض تركيز الإستروجين لدى المجموعة الرابعة فيعود للاستئصال الجراحي للمبايض بالمقام الأول وأن الغلوكوزامين ليس له تأثير في ذلك فهو مركب ذو طبيعة سكرية وليس ستيروئيدي وتقتصر فعاليته في الحفاظ على المادة الخارج خلوية للغضروف المفصلي (Jerosch, 2011).

3- مناقشة نتائج التغيرات في مستوى تركيز كالسيوم الدم لدى مجموعات التجربة:

أظهرت نتائج هذه الدراسة من خلال الجدول رقم (4) والمخطط البياني رقم (3) انخفاضاً معنوياً لمستوى كالسيوم الدم لدى المجموعة (الثانية) المستأصلة والمجموعة (الرابعة) المستأصلة والمعالجة بالغلوكوزامين مقارنةً بالمجموعة (الأولى) السليمة والمجموعة (الثالثة) التي حصلت على الإستروجين من مصدر خارجي بعد الاستئصال وأن هذا الانخفاض ترافق أو تبع انخفاض معنوي في مستوى تركيز الإستروجين لدى مجموعات التجربة .

من المعلوم أن النسيج العظمي يعتبر نسيج حي ينمو ويتجدد ويتكون معظمه من الكولاجين، ويوفر هذا البروتين هيكلًا شبيكياً مجهرياً طرياً، ليأتي فيما بعد فوسفات الكالسيوم ويترسب داخل النسيج فهو يعد المعدن الذي يضيف القوة والصلابة للإطار الهيكلي للعظم. يعد الكالسيوم عنصر مهم جداً في الجسم، ويترسب ما يقارب 99% منه في العظام والأسنان (Cashman, 2002). تقوم الخلايا العظمية التي تسمى بانيات العظم (osteoblast) ببناء العظام، بينما تقوم الخلايا العظمية الأخرى التي تسمى الخلايا الآكلة أو الناقضة للعظم (osteoclast) بتكسير العظم. تبقى العظام طوال فترة الحياة وباستمرار عرضة لإعادة البناء والارتشاف في عملية تعرف باسم إعادة تدوير العظم أو تجديده (Shahida et al., 2021)، تحتاج العظام إلى التغذية مثل أي نسيج آخر ويعتبر معدن الكالسيوم معدناً مهماً ومطلوباً لبناء العظام والأسنان والحفاظ عليها، ويحصل الجسم على حاجته من الكالسيوم بطريقتين، الأولى عبر تناول الأطعمة أو المكملات الغذائية التي تحتوي على الكالسيوم (Lakshmi et al., 2014)، أما الثانية فتتم عبر سحب

وتحرير الكالسيوم من العظام عندما ينخفض تركيز الكالسيوم بالدم نتيجة عدم تأمينه عبر الغذاء المتناول ليتحرر الكالسيوم من مخازنه وينطلق في الدم، هذا ما يحدث عند الإصابة بهشاشة العظم ومن هنا نستنتج أن مستوى الكالسيوم الموجود في الدم له علاقة بهشاشة العظام (De Cock *et al.*, 2008). يلعب الإستروجين دوراً مهماً في تطور ونمو العظام ولاحقاً في الحفاظ على الكتلة العظمية، كما اعتبر البعض أن الفعالية القصوى لهرمون الإستروجين على الهيكل العظمي في الجسم الحي تختصر من خلال تثبيط ارتشاف العظام (Riggs *et al.*, 2002)، إذ يؤدي نقص هرمون الإستروجين إلى زيادة تدوير العظم، الذي يتميز بزيادة نشاط الخلايا الناقضة للعظم (ارتشافه)، وبترافق مع ضعف نشاط بانيات العظم (عجز بتكوين وبناء العظم) مما يسبب فقدان سريع للبنية المجهرية وكتلة العظام مما يؤدي إلى هشاشة العظم (Shimizu *et al.*, 2000).

أظهرت دراسات عديدة انخفاض تركيز الكالسيوم بعد استئصال المبايض في النماذج الحيوانية ومنها الفئران (O'Loughlin *et al.*, 1994)، بعضها أشار لدور الإستراديول كمعزز لامتصاص الكالسيوم بواسطة خلايا الأنتي عشر المزروعة مختبرياً (Arjmandi *et al.*, 1993) وبعضها الآخر ذكر الدور العلاجي للإستروجين في زيادة معدل امتصاص الكالسيوم لدى الأمعاء في الفئران الحية (Arjmandi *et al.*, 1994) من خلال التأثير عبر مستقبلاته في الخلايا المعوية (Arjmandi *et al.*, 1993). كما أشارت العديد من الدراسات إلى أن امتصاص الكالسيوم من الأمعاء انخفض لدى النساء المصابة بهشاشة العظام بعد انقطاع الطمث واستئصال المبايض (Morris *et al.*, 1991) وأن تصحيح هذا النقص تم عن طريق العلاج بالإستروجين (Kalu *et al.*, 1999). ومع ذلك تناقضت النتائج سابقة الذكر عند الفئران مع دراسات أخرى أشارت لضعف تأثير استئصال المبايض على امتصاص الكالسيوم في الفئران وأن سوء الامتصاص مرتبط بالزمن والتقدم بالعمر وأنه لم يكن ملحوظاً في دراسات أخرى (Gaumet *et al.*, 1997).

تتوافق نتائج هذه الدراسة مع معظم الدراسات التي أظهرت أن مستوى الكالسيوم ينخفض بعد استئصال المبايض (Reddy and Lakshmana, 2003)، والتي كان آخرها تلك التي أجريت عام (2018) على إناث الأرانب لدراسة ارتباط مستوى كالسيوم الدم بالأنسجة العظمية بعد استئصال المبايض والتي بينت الانخفاض الكبير في مستوى كالسيوم الدم بالمقارنة مع مجموعة الشاهد (Mahmoud *et al.*, 2018) والذي قد يعزى لتأثير انخفاض مستوى الإستروجين في امتصاص الكالسيوم من الكلية والقناة الهضمية كما

هو الحال كذلك عند انقطاع الطمث لدى النساء الذي يسبب فقدان السريع للعظام بسبب نقص هرمون الإستروجين فهو يقلل من امتصاص الكالسيوم ويزيد من إفرازه، ونتيجة لذلك فإن فقدانه من العظام يفوق بكثير ترسبه وبالتالي إجمالي مخازن الكالسيوم في الجسم تتضاءل إلى حد كبير (Lerner, 2006).

وفي النهاية لا بد أن نشير إلى أن زوال وتحرر العناصر المعدنية من العظام لدى مرضى هشاشة العظام يسبب انخفاض كثافة المعادن في النسيج العظمي (Bone mineral density) BMD وبالتالي تصبح العظام ضعيفة وهشة وسهلة الكسر (Fogelman et al., 2012). أثبت ذلك بحث لدى إناث الأرناب حيث تم قياس كثافة المعادن في العظم الترابيقي لجسم عظم الظنوب والخذ وكانت النتيجة خسارة كبيرة في كثافة المعادن في النهاية العلوية من جسم الظنوب بنسبة (21.9%) والنهاية السفلية لعظم الفخذ بنسبة (11.9%) بعد 17 أسبوعاً من استئصال المبايض، وهنا لا بد أن نشير إلى الجهد المبذول للعديد من قبل الباحثين في البحث عن علاقة أو صلة بين هشاشة العظام كمرض يبدأ بنقص مستوى كالسيوم الدم وينتهي بنقص الكثافة المعدنية للنسيج العظمي مع مرض تنكس المفاصل الأمر الذي ما زال الشغل الشاغل للعديد من الدراسات العظمية حتى يومنا الحالي بعضهم أثبتها (Wanderman e tal., 2018) والآخر أنكروها (Castaneda, 2010).

أما ما أظهرته نتائج هذه الدراسة حول انخفاض مستوى كالسيوم الدم في المجموعة الرابعة، نعتقد أنه يعود لتأثير انحدار إستروجين الدم بفعل الاستئصال وليس للغلوكوزامين أي صلة في ذلك فهو متمم غذائي لم تشير أي دراسة عن وجود تداخل ناجم عن تناوله قد يسبب انخفاض مستوى كالسيوم الدم.

4- مناقشة نتائج التغيرات في مستويات المعايير الشحمية (الكوليسترول الكلي، الدهون الثلاثية،

LDL، HDL):

أظهرت البيانات الإحصائية لنتائج الدراسة وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية في مستوى تركيز الكوليسترول الكلي والشحوم الثلاثية والشحوم البروتينية مرتفعة HDL ومنخفضة الكثافة LDL لدى مجموعات التجربة كما هو موضح بالجدول رقم (5) و(6) و(7) و(8) و المخططات البيانية رقم (4) و(5) و(6) و(7). حيث بينت النتائج وجود تأثير واضح لانحدار تركيز الإستروجين في مصل الدم الناجم عن الاستئصال ومن ثم أظهرت تأثير ناجم عن معاوضة هذا الانحدار عبر حقن بنزوات الإستراديول في مستوى

المعايير الشحمية السابقة الذكر وهذا يدل بطريقة أو بأخرى على مدى فاعلية الإستروجين في ضبط هذا المعايير دموياً والحفاظ على مستوياتها ضمن الحدود الفيزيولوجية.

توافقت نتائج هذا البحث مع دراسة أجريت عام (2007) لمعرفة تأثير المعالجة التعويضية بالإستروجين في المراحل المبكرة من تصلب الشرايين لدى إناث الأرناب المستأصلة المبايض تجريبياً حيث أظهرت ارتفاع تراكيز الكوليسترول الكلي (TC) والكوليسترول منخفض الكثافة (LDL) في المجموعة المستأصلة المبايض بشكل ملحوظ مقارنةً بالمجموعة الشاهد بينما كانت مستويات الكوليسترول الكلي والكوليسترول منخفض الكثافة (LDL) في المجموعتين المعالجتين تعويضياً بالإستروجين بجرعتين مختلفتين أقل بشكل ملحوظ من تلك الملاحظة لدى مجموعة الشاهد في حين كانت مستويات الكوليسترول عالي الكثافة (HDL) في المجموعة المستأصلة أقل من تلك الموجودة في مجموعة الشاهد والمجموعتين المعالجتين بالإستروجين (Dong *et al.*, 2007).

كما توافقت نتائج هذه التجربة مع نتائج لدراسة سابقة تمت عام (2001) لدى إناث الأرناب التي خضعت لاستئصال المبايض جراحياً المترافق بتغذية على عليقة تحوي نسبة مرتفعة من الكوليسترول لاستحداث تصلب الشريان الأبهر، حيث تناولت الدراسة فعالية الإستروجين وأحد المنظمات الانتقائية لمستقبلات الإستروجين (Raloxifene) في محتوى الشريان الأبهر من الكوليسترول بالمقارنة مع مستوى المعايير الشحمية الأخرى في مصل الدم على مر الزمن، إذ أشارت أن العلاج بالإسترايديول عمل على تصحيح نسبة كوليسترول مصل الدم وقلل بشكل كبير من تطور تصلب الشرايين الأبهر مقارنةً بمجموعة العلاج الزائف أو الوهمي (Placebo) وأن تراكم الكوليسترول في الشريان الأبهر مرتبطاً بشكل كبير بمستوى الكوليسترول الكلي في مصل الدم والدهون الثلاثية، والكوليسترول LDL، في حين لم يكن هذا هو الحال بالنسبة للشحوم البروتينية المنخفضة والمرتفعة الكثافة (LDL و HDL) وهنا خالفت نتائجنا نتائج هذه الدراسة، كما تم إثبات الاستجابة لتصحيح محتوى الكوليسترول الأبهر مع مستوى كوليسترول المصل لدى المجموعة المعالجة بالإسترايديول بنسبة 62% بينما وصلت الاستجابة عند استخدام (Raloxifene) لـ 71% مقارنةً بالاستجابة لدى مجموعة العلاج الوهمي أو الزائف (Bjarnason *et al.*, 2001). كما أشارت التجربة التي أجريت على ذكور الأرناب المعدلة وراثياً والمحاكية للإضطراب الوراثي المتمثل بفرط تشحم الدم البشري الذي يتصف بمستوى عالي من الكوليسترول الكلي والشحوم الثلاثية بعد معالجتها بـ 17 ألفا إيثنيل إسترايديول لمدة 10 أيام حدوث انخفاض كبير في إجمالي الكوليسترول بنسبة 73% والدهون الثلاثية

بنسبة 89% وزيادة نشاط أنزيم ليباز البروتين الدهني وليباز الكبد بنسبة 90% (Huang *et al.*, 1997). كما أظهرت دراسة حديثة لدى الفئران المستأصلة المبايض عام 2021 زيادة ملحوظة في وزن الجسم ومستويات المعايير الشحمية في الدم بالإضافة إلى انخفاض في مستوى هرمون الإستراديول والكالسيوم والفوسفور و فيتامين D (Mao *et al.*, 2021).

أما الدراسات البشرية فقد أشارت بوضوح وعلى نطاق واسع من البحث العلمي أن انقطاع الطمث يؤدي إلى تغيرات في الحالة الهرمونية والتمثيل الغذائي وحالة الدهون. إذ أظهرت النساء في سن اليأس تركيز أعلى من الكوليسترول الكلي، والكوليسترول منخفض الكثافة (LDL)، والدهون الثلاثية مقارنةً بالنساء ذوات الدورة الشهرية المنتظمة وكان الكوليسترول مرتفع الكثافة (HDL) أقل بشكل ملحوظ عند النساء في سن اليأس منه في النساء ذوات الدورة الشهرية المنتظمة (Mešalić *et al.*, 2008)، وبالرغم من ذلك نفت دراسة أجريت عام (2019) غرب سومطرة بهدف البحث والتقصي عن وجود علاقة بين انخفاض تركيز الإستروجين ومستويات المعايير الشحمية في الدم لدى النساء بعد انقطاع الطمث وجود علاقة أو صلة لانخفاض تركيز الإستروجين بمستويات الكوليسترول الكلي والشحوم الثلاثية والشحوم البروتينية منخفضة ومرتفعة الكثافة (Ariadi *et al.*, 2019). أجمعت معظم الدراسات البشرية على أن انخفاض هرمون الإستروجين في سن اليأس يمكن أن يؤثر أيضاً في مستويات الدهون فالإستروجين الداخلي المنشأ له تأثير كابح ومثبط لنشاط أنزيم الليباز في الكبد، كما أظهرت الدراسات وجود صلة بين انخفاض مستوى هرمون الإستروجين قبل وبعد انقطاع الطمث مع ارتفاع نشاط الليباز الكبدي (Randolph *et al.*, 2011)، علاوةً على ذلك يساهم هرمون الإستروجين أيضاً في تنظيم نشاط أنزيم الليباز المسؤول عن حلمة الشحوم الثلاثية إلى كيلومكرونات وشحوم بروتينية منخفضة الكثافة بشدة وبالتالي يسبب انحدار تركيز هرمون الإستروجين عند انقطاع الطمث خلل تنظيم عمل أنزيم ليباز الشحوم البروتينية (Chatterjee *et al.*, 2011). هذا الارتفاع من شأنه أن يستدعي زيادة خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية بسبب التقلبات في مستوى الكوليسترول الكلي و الكوليسترول مرتفع ومنخفض الكثافة (Lamarche *et al.*, 1999)، الارتفاع السابق الذكر في مستوى البروتين الدهني منخفض الكثافة (LDL) مع مستوى تركيز الشحوم الثلاثية تتبع لزيادة كمية دهون البطن ومقاومة الأنسولين أما فيما يخص انخفاض تركيز (HDL) فمن الملاحظ أن مستواه يتناسب عكسياً مع كمية دهون البطن (Lamarche *et al.*, 1997).

إن التغيرات في تراكيز المعايير الشحمية في مصل الدم تترافق مع تغيرات في توزيع دهن الجسم وتتبع للتغيرات الهرمونية لدى الأنثى عند توقف عمل المبايض في أثناء انقطاع الطمث أو حتى في أثناء نشاطها الجنسي، هذا ما أكدته الدراسات التي أجريت على النماذج الحيوانية، فالتغيرات الهرمونية في سن اليأس تساهم في حدوث تغييرات في تكوين الجسم وتوزع الدهن وقد أثبتت الدراسات التي أجريت على الفئران أن فقدان وظيفة المبايض يعزز الزيادة في كتلة الأنسجة الدهنية للجسم بشكل منعزل عن النظام الغذائي بالإضافة لتتابعها من الأمراض الأيضية ويسبب الإصابة بالسمنة (Guthrie et al., 1999). أظهرت الفئران المستأصلة المبايض انخفاضاً في إنفاق وتبديد الطاقة دون حدوث تغيير مصاحب في استهلاك الطاقة مما يؤدي إلى ظهور فرط تضخم في الخلايا الشحمية والتهاب الأنسجة الدهنية وتطور الكبد الدهني (Rogers et al., 2009). ومع ذلك عندما تم تزويدها بـ $\beta 17$ إستراديول تم حماية هذه الفئران من تطور التتسكس الدهني الكبدي ومقاومة الأنسولين، كما لعب الإستراديول دوراً وقائياً أيضاً يمنع الخلايا الشحمية من فرط تضخم و تعرض الأنسجة الدهنية للإجهاد التأكسدي (Stubbins et al., 2012). يعد تراكم الدهون في الجسم أحد عواقب نقص هرمون الإستروجين والذي تم دعمه و تأكيده من خلال الدراسات التي أجريت على الفئران المُعطلة الجينات المشفرة لأنزيم الأروماتيز والمسمى بالأنزيم المصنع للإستروجين لتظهر السمنة على هذه الفئران في وقت مبكر بعمر (3) أشهر مع زيادة ملحوظة في تجمع الدهون في الغدد التناسلية والمنطقة تحت كلوية وقد لوحظ عند اتباع برنامج المعالجة التعويضية بالإستروجين لدى هذه فئران ظهور انخفاض حجم الخلايا الشحمية في المقام الأول مع تغيير طفيف في العوامل التي تتحكم بتخليق الأحماض الدهنية فيها، مما يشير إلى أن الآلية التي ينظم من خلالها الإستراديول تكس الدهن في الجسم تعود أيضاً للتغيرات في امتصاص الدهون من الدوران الدموي (Misso et al., 2003). أما التغيرات التي سجلتها نتائج هذا البحث بالنسبة للمجموعة الرابعة فقد اختلفت مع العديد من الأبحاث التي أشارت أنه ليس للغلوكوزامين تأثير يذكر في المعايير الشحمية لمصل الدم بالمجمل (Alshammari and Alshammari, 2020)، لذلك نفسر التغيرات الحاصلة في مستويات المعايير الشحمية لانخفاض تركيز الإستروجين الناجم عن الاستئصال.

5- مناقشة التغيرات التشريحية (العيانية) والنسجية (المجهرية) لدى مجموعات التجربة:

أظهرت نتائج التجربة عبر الفحص العياني للنهاية السفلية لعظم الفخذ في منطقة اللقم سلامة سطح التمثصل مع لمعان واضح للغضروف المفصلي وعدم وجود أي تغيرات لدى المجموعة الأولى السليمة، بينما أشارت

لتنكس الغضروف المفصلي الذي ترافق بانخفاض تركيز الإستروجين دموياً نتيجة الخضوع للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض دون أي معالجة تعويضية لدى المجموعة الثانية، إذ لوحظ على السطح التمثلي وجود تنبتات عظمية وخشونة وضياع نسيجي للغضروف المفصلي في مكان التنكس. كما أشارت نتائج التجربة إلى دور وفعالية بنزوات الإسترايول المستخدمة كبرنامج علاجي معاوض هرمونياً لدى حيوانات المجموعة الثالثة المعالجة بعد الاستئصال الجراحي للرحم والمبايض في الحفاظ على سلامة الغضروف المفصلي وسطح التمثيل، بينما أظهرت نتائج التجربة لدى حيوانات المجموعة الرابعة التي خضعت للاستئصال الجراحي وعولجت بالغلوكوزامين بديلاً عن المعالجة الهرمونية، وجود آفات على السطح التمثلي مع تآكل وضياع نسيجي للغضروف المفصلي.

إن تنكس مفصل الركبة يشمل كل مكونات المفصل ويسلط الضوء على التغيرات التي تطرأ على الغضروف المفصلي بشكل مقترن مع التبدلات في الصفيحة العظمية والعظم الترابيقي تحت الغضروف، تم التركيز في هذا البحث على الجزء الفخذي من المفصل (النهاية السفلية من منطقة اللقم الفخذية) والذي يعد أقل اهتماماً من قبل الباحثين بالمقارنة مع الجانب الظنبوبي عند التقصي والبحث في مختلف الدراسات التي تناولت تنكس المفصل إذ أكدت الأبحاث أن انخفاض الكثافة العظمية في الجانب الظنبوبي من المفصل أشد مقارنةً بالجانب الفخذي لدى استئصال المبايض على الرغم من أن تنكس مفصل الركبة يؤثر في عظم الفخذ بطريقة مشابهة لعظم الساق، هذا التشابه سببه أن مفصل الركبة يتكيف مع التحميل الميكانيكي الموضعي المطبق الذي يواجهه (Azari et al., 2024)، وبالتالي ملاحظة التغيرات على السطح التمثلي عيانياً (شعاعياً أو بالعين المجردة) ومجهرياً في النهاية الفخذية من المفصل يؤكد حدوث التنكس بحيث لا يترك مجالاً للشك فيه.

تشير الدراسات التي أجريت على الحيوانات الحية كنماذج تجريبية إلى التأثير الوقائي المحتمل لهرمون الإستروجين ضد تنكس المفصل من خلال عكس أو تقليل تدهور الغضروف المفصلي في الفئران والجرذان والأغنام و القروود (Oestergaard et al., 2006) ومع ذلك فإن الطريقة التي يعمل بها هرمون الإستروجين لمنع الإصابة في هذه النماذج ما يزال محط اهتمام الباحثين إلى يومنا الحالي. إذ توافقت نتائج دراستنا الحالية مع ما تم العثور عليه في النماذج الحيوانية المدروسة والتي اهتمت في الكشف عن وجود صلة بين هرمون الإستروجين وتنكس المفاصل من خلال دراسة تأثير استنفاد هرمون الإستروجين بالاستئصال الجراحي ودور المعالجة البديلة للإستروجين على الغضروف المفصلي (Sniekers et al.,)

(2008) والتي وجدت أن استئصال المبايض يؤدي إلى تغيرات تتلخص بتدهور المفصل (Calvo *et al.*, 2007) بينما يقلل العلاج ببدايل الإستروجين من هذه التغيرات عبر الارتباط بمستقبلاته (ERs) التي تم العثور عليها في الغضروف المفصلي والعظام والأنسجة الزلالية والأربطة والتي قد تتأثر جميعها عند تنكس المفصل (Ushiyama *et al.*, 1999) ربطاً بانخفاض مستويات إستراديول الدم (Bergink *et al.*, 2003).

كما توافقت نتائج هذا البحث مع دراسة أجريت عام (2006) على الرباط المتصالب الأمامي لدى الأرانب بعد استئصال المبايض لمعرفة فيما إذا كان للإستروجين دور موثر في تغيير خصائصه الميكانيكية ولوحظ من خلال التجربة أن معامل إجهاد الشد (**Stress Tensile**) ومعامل القساوة (**Linear Stiffness**) لدى مجموعة الشاهد (المستأصلة وبدون حقن الإستروجين) أقل بالمقارنة مع الإناث في المجموعتين اللتين عولجتا بالإستراديول على التوالي عند اعطاء جرعة قليلة من الإستراديول 50 ميكروغرام/كغ أسبوعياً وجرعة متوسطة 100 ميكروغرام /كغ أسبوعياً بعد الاستئصال (Komatsuda *et al.*, 2006).

أجريت عام (2008) دراسة بعنوان مقارنة منهجية لتأثير استئصال المبايض والمعالجة بالإستروجين لدراسة تنكس المفصل في العديد من النماذج الحيوانية، شملت هذه الدراسة ما يقارب (31) بحثاً، حيث طبقت الفئران والجرذان والأرانب والخنازير والأغنام والكلاب والقرود، تقصت معظم هذه الأبحاث عن التغيرات في مفصل الركبة وكانت المعايير المدروسة متنوعة على نطاق واسع. وجدت إحدى عشرة دراسة منها تأثير لاستئصال المبايض في الخواص الميكانيكية للغضروف وبنيته أو حتى تلف الغضروف، حيث لوحظ تعرج لسطح الغضروف أو تآكل سطحه وحتى الوصول لدرجة فقدان الغضروف بالكامل (Sniekers *et al.*, 2008). كما تم دراسة الخواص الميكانيكية للغضروف المفصلي لدى الأغنام بعد الاستئصال ووجد أن المعامل الإجمالي لديها من حيث القساوة الانضغاطية **Compressive Stiffness**، الصلابة **Shear Modulus** أقل بالمقارنة مع الحيوانات السليمة مما يدل على تدهور الخصائص الميكانيكية للغضروف (Turner *et al.*, 1997).

أما عن دور المعالجة بالإستروجين في منع تنكس المفصل فقد أفادت إحدى عشرة دراسة من أصل 22 عن فوائد التأثير العلاجي للإستروجين في تنكس المفصل، بعض هذه الأبحاث أجريت عند ذكور الفئران وإناثها

(Silberberg and Silberberg , 1970) كما أظهرت الغروسات الإستروجينية لدى الأغنام المستأصلة المبايض تحسن الآثار الضارة الناجمة بعد الاستئصال على الخصائص الميكانيكية للغضروف المفصلي (Turner *et al.*, 1997)، أما في الأرانب فقد لوحظ أن التغيرات من حيث قساوة الغضروف وسماكته بعد الاستئصال قد عادت إلى مستويات مجموعة الشاهد بعد اعطاء الإستراديول (Rasanen *et al.*, 1999).

إن الطريقة التي يعمل بها هرمون الإستروجين لمنع الإصابة في هذه النماذج لا تزال غير واضحة ولكن ممكن تفسير آلية عمله عن طريق زيادة إنتاج عوامل النمو مثل عامل نمو الأنسولين (IGF-I) ومنعها و كبحها لإنتاج السيتوكينات الإلتهابية مثل إنترلوكين (IL-6)، كما أن بعض البيانات تشير لدور هرمون الإستروجين في تنظيم تخليق مركبات المادة خارج خلوية للغضروف المفصلي، وأشارت أيضاً لدور الإستراديول في كبح إنتاج وتشكيل الببتيد الانتهائي لعملية تحلل كولاجين نمط 2 (CTX-11) في غضروف الفئران ومنع تأكله بعد الاستئصال (Christgau *et al.*, 2004). أما لدى قرود المكاو فقد قللت المعالجة الطويلة الأمد لمدة (3 سنوات) بالإستراديول من شدة الإصابة بعد الاستئصال وترافقت بزيادة تصنيع البروتيوغليكان من خلايا الغضروف (Ham *et al.*, 2002). كما أظهرت التجارب على الخلايا الغضروفية عند القردة مستأصلة المبايض والمعاملة بهرمون الإستراديول زيادة تشكل في البروتين المرتبط بعامل النمو الشبيه بالأنسولين IGF-I تزامناً مع زيادة تصنيع البروتيوغليكانات (Richmond *et al.*, 2000).

وعند العودة للنتائج العيانية لدى المجموعة الرابعة المعالجة بالغلوكوزامين نلاحظ بوضوح حدوث التنكس، بعكس ما ذكرته العديد من الدراسات السريرية حول الاستخدام الانتقائي للمواد المغذية للبيئة المجهرية الغضروفية (غلوكوزامين، سلفات الكوندرويتين، حمض الهيالورونيك، مضادات الأكسدة، أوميغا 3) والتي تعطي فعالية مجدية في تقليل التنكس مع أثر جانبي أقل مقارنةً بمضادات الالتهاب الستيرويدية وغير الستيرويدية (Jerosch, 2011)، يعود ذلك باعتقادنا بالدرجة الأولى لانحدار مستوى تركيز الإستروجين نتيجة الاستئصال، أما عن دور الغلوكوزامين في منع التنكس والوقاية منه فيمكن تفسيره بطبيعة هذه المادة كمركب سكري إذ يعتبر كمتغذائي مصنف من الأدوية ذات المفعول البطيء من شأنه أن يزيد تركيز الغلوكوزامينوغليكان في المادة خارج خلوية للغضروف المفصلي، فهو مكون أساسي في الغضروف المفصلي و السائل الزليلي يحفز ويزيد النشاط الابتنائي بالنسبة لعملية التمثيل الغذائي للغضروف أما بالنسبة لفعاليتها كمضادة التهاب فتتمثل بتأخير الأحداث الالتهابية التي تسرع عملية التقويض والهدم، ولكن كل ذلك يحدث

ببطء وبالتالي يحتاج لفترة أطول مع تركيز أعلى ليبيدي فاعليته، بعكس الإستروجين ومشتقاته الذي يعد مركب ستيروئيدي هرموني يرتبط بمستقبلاته. وبالمجمل تتميز المعالجات الهرمونية بسرعة وطول مدة التأثير، كما أن أغلب الدراسات التي أجريت على الإستراديول تؤكد على مفهوم الاعتماد على الجرعة في الحفاظ على الغضروف المفصلي آخذين بعين الاعتبار سلامة الهيكل والبنية النسيجية فالجرعات ضمن الحدود الفيزيولوجية للهرمون تظهر مفعول وقائي بينما غالباً ما تكون الجرعات المرتفعة ضارة (Richette et al., 2003).

كما ويجب الإشارة للنتائج الداعمة التي تقدمها تقنية التصوير الشعاعي البسيط للمفصل بالنسبة للنتائج سابقة الذكر التي سجلت بالفحص العياني بعد فتح محفظة المفصل تشريحياً عند نهاية التجربة، فقد أظهر التصوير الشعاعي تنكس مفصل الركبة من الدرجة الثانية بنسبة 30% لدى المجموعة الثانية من التجربة وبنسبة 20% لدى المجموعة الرابعة، تمثل هذا التنكس بقصر المسافة المفصالية وظهور نموات عظمية.

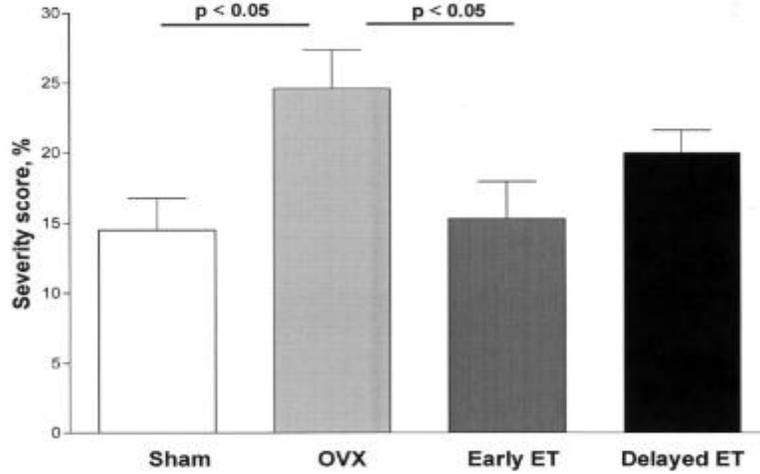
وبصرف النظر عن التغيرات الميكانيكية الحيوية والعيانية للغضروف المفصلي، لا بد أن ننوه للتغيرات المجهرية، فعند العودة للدراسة المقارنة التي شملت (31) بحثاً علمياً حول تأثير استئصال المبايض والمعالجة بالإستروجين في تنكس المفصل لدى العديد من النماذج الحيوانية عام (2008)، لوحظ أيضاً وجود تغيرات بنائية ونسجية تمثلت بترقق الغضروف الفخذي والظنبوبي مع زيادة بالتروية الدموية للمنطقة المتكلسة من الغضروف مع تسجيل درجات متقدمة من الناحية المرضية النسيجية مما يشير إلى اضطراب في البنى الهيكلية والمحتوى من البروتيوغليكانات وتجمعات حزم ألياف الكولاجين (Cake et al., 2005). سبب استئصال المبايض زيادة تلف النسيج الغضروفي لدى الأغنام وخنزير غينيا (Dai et al., 2006) كما كان له تأثير مماثل عند الأرناب عندما ترافق بحقن الستيروئيدات القشرية (لاستحداث هشاشة في العظم تجريبياً) ، كما أظهر الاستئصال زيادة مظاهر التنكس المفصلي لدى الركبة السليمة والركبة التي خضعت لقطع الرباط المتصالب الأمامي عند استحداث تنكس مفصل الركبة التجريبي عبر قطع الرباط المتصالب الأمامي (Calvo et al., 2007). وقد شوهد هذا أيضاً في النموذج المدروس لدى الأغنام الذي تم فيه (دمج استئصال المبايض مع استئصال الغضروف الهلالي الوحشي) حيث سبب استئصال المبايض انخفاض المحتوى من البروتيوغليكان أكثر مما سببه استئصال الغضروف الهلالي وحده (Parker et al., 2003).

يعد البروتيوغليكان (PG) جزءاً مهماً من مطرق الغضروف المفصلي ويعتبر الغلوكوزامينوغليكان المجموعة الوظيفية الرئيسية فيه ويشكل ما يقارب 90% منه (Hurst, 1994). أظهرت الأبحاث المهمة في أسباب تنكس المفاصل أن تدهور البروتيوغليكان وألياف الكولاجين هي العملية الفسيولوجية المرضية الرئيسية الأساسية لحدوث التنكس على المستوى النسيجي. فالوحدات المنفردة من البروتيوغليكان ترتبط مع حمض الهيالورونيك لتشكل ما يدعى التكدسات البروتيوغليكانية (Chan et al., 1997)، ويسبب تنكس الغضروف المفصلي تضرر كل من البروتيوغليكان وحمض الهيالورونيك ضمن هذه التجمعات، ويمكن تخفيف هذا الضرر عبر المعالجة بالإستروجين (Yang et al., 2004).

تتوافق نتائج هذا البحث مع ما توصلت إليه الدراسة لدى إناث الأرانب بعد استئصال المبايض والتي أظهر فيها استخدام نظام مانكين لتقدير درجة التنكس المفصلي نسيجياً لدى مجموعة الإناث الخاضعة للاستئصال الجراحي للمبايض، فقد ترافق تآكل سطح الغضروف المفصلي مع عدم انتظام الخلايا الغضروفية حيث تمثل بزيادة خلوية (كعدد) مع ظاهرة التجمع الخلوي كمجموعات والتي تم الكشف عنها في الطبقة الوسطى من الغضروف مع تدهور شديد في المادة الخارج خلوية مع أوعية دموية تغزو منطقة العلامة المدية، كما أظهرت الدراسة لدى المجموعة المعالجة ببدائل الإستروجين ابتداءً من الأسبوع (8) بعد الجراحة والاستئصال ولمدة (10) أيام أن سطح الغضروف المفصلي أفضل من ناحية النعومة مع تخريب طفيف في الخلايا الغضروفية والمادة الخارج خلوية مقارنةً بالمجموعة غير المعالجة وكانت درجات تقييم التنكس باستخدام طريقة مانكن أقل بكثير مقارنةً مع المجموعة المستأصلة المبايض وغير المعالجة هرمونياً (Xia et al., 2015).

تتوافق نتائج هذه الدراسة مع النتائج الموضحة بالمخطط البياني رقم (10) لتقدير شدة الإصابة مجهرياً (نسيجياً) للغضروف المفصلي عند المقارنة بين مجموعات التجربة في دراسة أجريت عام (2006) بعنوان أثر استئصال المبايض والعلاج بالإستروجين في تدهور النمط الثاني من الكولاجين وسلامة الغضروف المفصلي لدى الفئران حيث أظهرت النتائج شدة الإصابة لدى مجموعة الفئران المستأصلة المبايض دون المعالجة باستخدام الإستروجين تعويضياً بالمقارنة بمجموعة الشاهد، كما تظهر سلامة الغضروف المفصلي لدى المجموعة التي تم تعويضها بالإستروجين بشكل مبكر بعد الاستئصال دون وجود فرق معنوي مع مجموعة الشاهد، كما أظهر المخطط الفرق المعنوي في الحفاظ على سلامة الغضروف المفصلي بين

المجموعة المعالجة مبكراً بالمقارنة مع الأخرى التي عولجت بشكل متأخر (Oestergaard *et al.*, 2006).



المخطط البياني رقم (8): يوضح فعالية المعالجة المبكرة بالإستروجين مقارنةً مع المعالجة المتأخرة في تخفيف شدة الإصابة المرضية للغضروف المفصلي لدى الفئران المستأصلة (Oestergaard *et al.*, 2006).

كما ذكرت دراسات أخرى أن إعطاء الإستراديول بجرعات فوق المعدل الطبيعي يحمي الخلايا الغضروفية المفصلية من الأضرار الناجمة عن أنواع الأوكسجين التفاعلية وقد لوحظت أيضاً تأثيرات مضادة للأكسدة بعد العلاج الفسيولوجي المتكرر للإستراديول (Claassen *et al.*, 2005). كما لوحظ انخفاض نواتج تحلل الكولاجين نمط 2 في بول الفئران المستأصلة المبايض بعد إعطاء الإستراديول (Høegh-Andersen *et al.*, 2004). كما أظهرت دراسة لدى الخنازير انخفاض كبير ذو دلالة إحصائية في محتوى الغلوكوزامينوغليكان GAG ترافق مع نقص هرمون الإستروجين المستحث تجريبياً بالمقارنة مع الحيوانات السليمة (Claassen *et al.*, 2006)، علاوة على ذلك لوحظ مختبرياً عند تحضين الخلايا الغضروفية المجموعة من منطقة صفيحة النمو الضلعية لإناث الجرذان مع الإستراديول، زيادة تصنيع الكولاجين نمط 2، مما يدعم الفرضية القائلة بأن نقص الإستراديول في النساء بعد انقطاع الطمث قد يترافق مع ارتفاع خطر الإصابة بتنكس المفاصل (Nasatzky *et al.*, 1993). وفي دراسة أخرى ذكرت أن استئصال المبايض أدى إلى زيادة في موت الخلايا المبرمج Apoptosis وانخفاض تكاثر الخلايا الغضروفية في منطقة صفيحة النمو (Chang *et al.*, 2014).

تعد الآلية المحددة التي من خلالها يؤثر الإسترايول في الحد من تنكس المفاصل ليست واضحة تماماً إلا أن الدراسات الحديثة تشير إلى السيتوكينات كعوامل خطيرة مهمة في تنكس المفاصل وأن الإستروجين قد يحمي الغضروف المفصلي عن طريق تنظيم مستويات التعبير عن السيتوكينات (Tanko *et al.*, 2008). علاوة على ذلك، يُعتقد أن السيتوكينات تلعب دوراً مهماً في التسبب في تنكس المفاصل عن طريق تدهور ما يقارب معظم المادة خارج الخلية المصنعة من الخلايا الغضروفية من خلال تحفيز نشاط أنزيمات الميتالوبروتيناز المطرقية MMPs (Felson *et al.*, 2007).

زيادة تصنيع MMPs وانخفاض تصنيع المثبطات النسيجية للميتالوبروتيناز TIMPs في الغضروف المفصلي المتتكس يسبب انعدام التوازن الفسيولوجي بين عمليتي تشكيل وتخريب المطرق الغضروفي خارج الخلية (ECM) مما يسبب تآكل الغضاريف. حيث أظهرت دراسة لدى المرضى من الإناث اللواتي يعانين من تنكس المفاصل أن الجرعات العالية من هرمون الإستروجين تمنع التعبير الجيني (النشاط التصنيعي) لكل من MMP-1 و MMP-13 و TIMP-1 وتُقدَّر أيضاً أن موضوع التوازن في تصنيع MMPs و TIMPs له وزنه الخاص في المعادلة المسؤولة عن حدوث تنكس المفصل (Claassen *et al.*, 2010).

تم دعم هذا التفسير من قبل بعض الباحثين فقد تبين أن الحادثة المتمثلة بتضرر الغضروف المفصلي تنطوي عن حدوث تشطر لبروتين الكولاجين الموجود بشكل ليفي ضمن البيئة المجهرية النسيجية بواسطة أنزيمات الميتالوبروتيناز المطرقية البروتينات MMPs (Tetlow *et al.*, 2001) وخاصة MMP-13 المعروف أيضاً باسم أنزيم كولاجيناز 3 الذي يشارك بشكل حاسم في تنكس المفصل لأنه يعمل على تحليل الكولاجين من النوع الثاني بشكل تفضيلي وانتقائي (Knäuper *et al.*, 1996)، وهذا ما أشارت إليه الدراسات السابقة، فالتعبير الجيني عن أنزيم كولاجيناز 3 قد ازداد بشكل ملحوظ في المرضى الذين يعانون من تنكس المفاصل (Poole *et al.*, 2002).

الفصل السادس

CHAPTER SIX

الاستنتاجات والتوصيات

CONCLUSIONS &

RECOMMENDATIONS

1. الاستنتاجات Conclusions:

- ❖ قدمت نتائج الدراسة مؤشراً واضحاً حول ارتباط وزن الجسم لدى إناث الأرانب بمستوى تركيز إستروجين الدم قبل وبعد الاستئصال من خلال التحليل الإحصائي للبيانات المجموعة أثناء التجربة كما أشارت لفعالية بنزوات الإستراديول في المحافظة على وزن الجسم بحالته الطبيعية.
- ❖ تبين من خلال دراسة التغيرات لبعض المعايير الدموية أن انحدار تركيز الإستروجين في مصل الدم يسبب انخفاضاً معنوياً في تركيز كالسيوم الدم مما يؤكد على دور الحالة الهرمونية و انخفاض تركيز الإستروجين باعتباره كعامل مؤهب للإصابة بهشاشة العظم كما تشير هذه الدراسة لوجود صلة بين هشاشة العظام وتنكس مفصل الركبة.
- ❖ أشارت الدراسة إلى الارتباط بين انخفاض تركيز الإستروجين في مصل الناجم عن الاستئصال والتغيرات المعنوية في تراكيز ومستويات المعايير الشحمية و بالتالي تعطي فكرة حول تأثيره على استقلاب الدهون بشكل عام والتسبب بزيادة الوزن والسمنة و تشير أيضاً لخطورة الإصابة بأمراض القلب والاعوية لدى الإناث نتيجة انخفاضه.
- ❖ يقدم هذا البحث من خلال النتائج المدروسة العيانية والمجهرية لمفصل الركبة مؤشرات يمكن أخذها بعين الاعتبار عن دور المعالجة التعويضية الهرمونية ببنزوات الإستراديول في الحفاظ على سلامة المفصل الغضروفي ومنع تنكسه كما يقدم تفسيراً لزيادة تعرض النساء عند الوصول لسن اليأس للأذية المفصلية ويفتح الباب لدراسات لاحقة تتناول طريقة المعالجة البديلة أو التعويضية بالإستروجين وهل من الممكن أن تكون أحد البدائل العلاجية مستقبلاً.
- ❖ أشارت هذه الدراسة لفعالية بنزوات الإستراديول ودورها الوقائي في منع تنكس مفصل الركبة لدى إناث الارانب مقارنةً بمركبات الغلوكوزامين ذات المفعول البطيء.

2- التوصيات Recommendations:

إن نتائج هذه الدراسة تحتاج إلى دلائل أخرى تدعم وتعزز دور الإستروجين في الحفاظ على سلامة المفصل العظمي لذلك نوصي :

- 1- استخدام الكيمياء المناعية النسيجية لوسم المستقبلات الإستروجينية على كل من الخلايا الغضروفية والعظمية .
- 2- قياس تركيز الغلوكوزامين في السائل الزليلي .
- 3- قياس تركيز البروتوغليكانات وأنزيمات الميتالوبروتيناز في نسيج الغضروف المفصلي.

4- قياس تركيز الستوكينات والانتروكينات وعوامل النمو لتبيان دورها في تطور تنكس المفاصل وربطها بالمعايير الدموية الأخرى.

5- دراسة معمقة أكثر لاستخدام بنزوات الإستراديول في المعالجة التعويضية الهرمونية لدى مرضى تنكس المفاصل بهدف تحديد الجرعة وطريقة الإعطاء الأمثل و مقارنتها بالمركبات الإستروجينية الأخرى مع أخذ الحذر حول تحديد مدى الأمان كونها تعد عوامل مسببة للإصابة بالأورام الخبيثة كأورام غدة الثدي والمثانة.

الفصل السابع

CHAPTER SEVEN

المراجع

REFERENCES

1– References:

1. **Allen, K. D., Thoma, L. M., & Golightly, Y. M. (2022).** Epidemiology of osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*, 30(2), 184–195.
2. **Alonso, A., Fernández, R., Moreno, M., Ordonez, P., Diaz, F., & Gonzalez, C. (2007).** Leptin and its receptor are controlled by 17 β -estradiol in peripheral tissues of ovariectomized rats. *Experimental Biology and Medicine*, 232(4), 542–549.
3. **Alshammari, E., & Alshammari, A. (2020).** Glucosamine effects on lipids and blood pressure. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(1), 431–436.
4. **Anderson, A. S., & Loeser, R. F. (2010).** Why is osteoarthritis an age-related disease?. *Best practice & research Clinical rheumatology*, 24(1), 15–26.
5. **Ariadi, A., Jamsari, J., Yanwirasti, Y., Siregar, M. F. G., & Yusrawati, Y. (2019).** Correlation between estrogen levels with lipid profile in menopause women in West Sumatera. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7(13), 2084.
6. **Arjmandi, B. H., Hollis, B. W., & Kalu, D. N. (1994).** In vivo effect of 17 β -estradiol on intestinal calcium absorption in rats. *Bone and mineral*, 26(2), 181–189.
7. **Arjmandi, B. H., Salih, M. A., Herbert, D. C., Sims, S. H., & Kalu, D. N. (1993).** Evidence for estrogen receptor-linked calcium transport in the intestine. *Bone and mineral*, 21(1), 63–74.
8. **Azari, F., Colyn, W., Bellemans, J., Scheys, L., & van Lenthe, G. H. (2024).** Correlation between tibial and femoral bone and cartilage changes in end-stage knee osteoarthritis. *JBMR Plus*, ziae014.
9. **Barclay, T. S., Tsourounis, C., & McCart, G. M. (1998).** Glucosamine. *Annals of Pharmacotherapy*, 32(5), 574–579.
10. **Barnett, R. N., Skodon, S. B., & Goldberg, M. H. (1973).** Performance of “kits” used for clinical chemical analysis of calcium in serum. *American Journal of Clinical Pathology*, 59(6), 836–845.
11. **Bascuñán, A. L., Biedrzycki, A., Banks, S. A., Lewis, D. D., & Kim, S. E. (2019).** Large animal models for anterior cruciate ligament research. *Frontiers in Veterinary Science*, 6, 292.

12. **Bassleer, C., Rovati, L., & Franchimont, P. (1998).** Stimulation of proteoglycan production by glucosamine sulfate in chondrocytes isolated from human osteoarthritic articular cartilage in vitro. *Osteoarthritis and Cartilage*, 6(6), 427–434.
13. **Behnke, R.S., (2012).** Kinetic anatomy. Human Kinetics.
14. **Bellanti, F., Matteo, M., Rollo, T., De Rosario, F., Greco, P., Vendemiale, G., & Serviddio, G. (2013).** Sex hormones modulate circulating antioxidant enzymes: impact of estrogen therapy. *Redox biology*, 1(1), 340–346.
15. **Bendele, A. M. (2001).** Animal models of osteoarthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 1(4), 363–76.
16. **Bergink, A. P., van Meurs, J. B., Loughlin, J., Arp, P. P., Fang, Y., Hofman, A., ... & Pols, H. A. (2003).** Estrogen receptor α gene haplotype is associated with radiographic osteoarthritis of the knee in elderly men and women. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 48(7), 1913–1922.
17. **Bian, W., Lian, Q., Li, D., Wang, J., Zhang, W., Jin, Z., & Qiu, Y. (2016).** Morphological characteristics of cartilage–bone transitional structures in the human knee joint and CAD design of an osteochondral scaffold. *BioMedical Engineering OnLine*, 15, 1–14.
18. **Bitton, R. (2009).** The economic burden of osteoarthritis. *The American journal of managed care*, 15(8 Suppl), S230–5.
19. **Bjarnason, N. H., Haarbo, J., Byrjalsen, I., Alexandersen, P., Kauffman, R. F., & Christiansen, C. (2001).** Raloxifene and estrogen reduces progression of advanced atherosclerosis—a study in ovariectomized, cholesterol–fed rabbits. *Atherosclerosis*, 154(1), 97–102.
20. **Blom, A. B., van Lent, P. L., Holthuisen, A. E., van der Kraan, P. M., Roth, J., van Rooijen, N., & van den Berg, W. B. (2004).** Synovial lining macrophages mediate osteophyte formation during experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*, 12(8), 627–635.
21. **Botter, S. M., Van Osch, G. J. V. M., Waarsing, J. H., Van der Linden, J. C., Verhaar, J. A. N., Pols, H. A. P., ... & Weinans, H. (2008).** Cartilage damage pattern in relation to subchondral plate thickness in a collagenase–induced model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*, 16(4), 506–514.

22. **Braidman, I. P., Hainey, L., Batra, G., Selby, P. L., Saunders, P. T., & Hoyland, J. A. (2001).** Localization of estrogen receptor β protein expression in adult human bone. *Journal of Bone and Mineral Research*, *16*(2), 214–220.
23. **Brandt, K. D., Dieppe, P., & Radin, E. L. (2008).** Etiopathogenesis of osteoarthritis. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, *34*(3), 531–559.
24. **Bruyère, O., Cooper, C., Pelletier, J. P., Maheu, E., Rannou, F., Branco, J., ... & Reginster, J. Y. (2016, February).** A consensus statement on the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) algorithm for the management of knee osteoarthritis—from evidence-based medicine to the real-life setting. In *Seminars in arthritis and rheumatism* (Vol. 45, No. 4, pp. S3–S11). WB Saunders.
25. **Buchsbaum, H. J. (Ed.). (2012).** The menopause. Springer Science & Business Media.
26. **Burr, D. B., & Gallant, M. A. (2012).** Bone remodelling in osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, *8*(11), 665–673.
27. **Burstein, M. S. H. R., Scholnick, H. R., & Morfin, R. (1970).** Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Journal of lipid research*, *11*(6), 583–595.
28. **Cake, M. A., Appleyard, R. C., Read, R. A., Smith, M. M., Murrell, G. A. C., & Ghosh, P. (2005).** Ovariectomy alters the structural and biomechanical properties of ovine femoro-tibial articular cartilage and increases cartilage iNOS. *Osteoarthritis and cartilage*, *13*(12), 1066–1075.
29. **Calvo, E., Castaneda, S., Largo, R., Fernández-Valle, M. E., Rodríguez-Salvanes, F., & Herrero-Beaumont, G. (2007).** Osteoporosis increases the severity of cartilage damage in an experimental model of osteoarthritis in rabbits. *Osteoarthritis and cartilage*, *15*(1), 69–77.
30. **Carballo, C. B., Nakagawa, Y., Sekiya, I., & Rodeo, S. A. (2017).** Basic science of articular cartilage. *Clinics in sports medicine*, *36*(3), 413–425.
31. **Cashman, K. (2002).** Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. *British journal of Nutrition*, *87*(S2), S169–S177.
32. **Castañeda, S., Calvo, E., Largo, R., González-González, R., de la Piedra, C., Díaz-Curiel, M., & Herrero-Beaumont, G. (2008).** Characterization of a new

experimental model of osteoporosis in rabbits. *Journal of bone and mineral metabolism*, 26, 53–59.

33. **CECIL, R. L., & ARCHER, B. H. (1925).** A STUDY OF FIFTY CASES. *Cornell University Medical Bulletin*, 15(2).
34. **Chahine, N. O., Blanchette, C., Thomas, C. B., Lu, J., Haudenschild, D., & Loots, G. G. (2013).** Effect of age and cytoskeletal elements on the indentation-dependent mechanical properties of chondrocytes. *PloS one*, 8(4), e61651.
35. **Chan, F. L., Choi, H. L., & Underhill, C. B. (1997).** Hyaluronan and chondroitin sulfate proteoglycans are colocalized to the ciliary zonule of the rat eye: a histochemical and immunocytochemical study. *Histochemistry and cell biology*, 107, 289–301.
36. **Chang, S. J., Kuo, S. M., Lin, Y. T., & Yang, S. W. (2014).** The biological effects of sex hormones on rabbit articular chondrocytes from different genders. *BioMed Research International*, 2014.
37. **Chatterjee, C., & Sparks, D. L. (2011).** Hepatic lipase, high density lipoproteins, and hypertriglyceridemia. *The American journal of pathology*, 178(4), 1429–1433.
38. **Chen, C., Tambe, D. T., Deng, L., & Yang, L. (2013).** Biomechanical properties and mechanobiology of the articular chondrocyte. *American Journal of Physiology–Cell Physiology*, 305(12), C1202–C1208.
39. **Chen, L., Yao, F., Wang, T., Li, G., Chen, P., Bulsara, M., ... & Zheng, M. (2020).** Horizontal fissuring at the osteochondral interface: a novel and unique pathological feature in patients with obesity-related osteoarthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 79(6), 811–818.
40. **Chen, Y., Hu, Y., Yu, Y. E., Zhang, X., Watts, T., Zhou, B., ... & Guo, X. E. (2018).** Subchondral trabecular rod loss and plate thickening in the development of osteoarthritis. *Journal of Bone and Mineral Research*, 33(2), 316–327.
41. **Cheng, P., Ma, X., Xue, Y., Li, S., & Zhang, Z. (2003).** Effects of estradiol on proliferation and metabolism of rabbit mandibular condylar cartilage cells in vitro. *Chinese medical journal*, 116(09), 1413–1417.
42. **Chevrier, A., Farr, J., Rodeo, S. A., & Buschmann, M. D. (2018).** Augmentation techniques for meniscus repair. *The journal of knee surgery*, 31(01), 099–116.

43. **Chopra, S., Sharma, K. A., Ranjan, P., Malhotra, A., Vikram, N. K., & Kumari, A. (2019).** Weight management module for perimenopausal women: A practical guide for gynecologists. *Journal of mid-life health*, 10(4), 165–172.
44. **Chouchani, E. T., Kazak, L., & Spiegelman, B. M. (2019).** New advances in adaptive thermogenesis: UCP1 and beyond. *Cell metabolism*, 29(1), 27–37.
45. **Christgau, S., Tankó, L. B., Cloos, P. A., Mouritzen, U., Christiansen, C., Delaissé, J. M., & Høegh-Andersen, P. (2004).** Suppression of elevated cartilage turnover in postmenopausal women and in ovariectomized rats by estrogen and a selective estrogen-receptor modulator (SERM). *Menopause*, 11(5), 508–518.
46. **Chu, C. R., Millis, M. B., & Olson, S. A. (2014).** Osteoarthritis: from palliation to prevention: AOA critical issues. *JBJS*, 96(15), e130.
47. **Claassen, H., Cellarius, C., Scholz-Ahrens, K. E., Schrezenmeir, J., Glüer, C. C., Schünke, M., & Kurz, B. (2006).** Extracellular matrix changes in knee joint cartilage following bone-active drug treatment. *Cell and tissue research*, 324(2), 279–289.
48. **Claassen, H., Schünke, M., & Kurz, B. (2005).** Estradiol protects cultured articular chondrocytes from oxygen-radical-induced damage. *Cell and tissue research*, 319, 439–445.
49. **Claassen, H., Steffen, R., Hassenpflug, J., Varoga, D., Wruck, C. J., Brandenburg, L. O., & Pufe, T. (2010).** 17 β -estradiol reduces expression of MMP-1, -3, and -13 in human primary articular chondrocytes from female patients cultured in a three dimensional alginate system. *Cell and tissue research*, 342, 283–293.
50. **Clark, A. L., Leonard, T. R., Barclay, L. D., Matyas, J. R., & Herzog, W. (2006).** Heterogeneity in patellofemoral cartilage adaptation to anterior cruciate ligament transection; chondrocyte shape and deformation with compression. *Osteoarthritis and cartilage*, 14(2), 120–130.
51. **Cohen, M., Klein, E., Geiger, B. and Addadi, L., (2003).** Organization and adhesive properties of the hyaluronan pericellular coat of chondrocytes and epithelial cells. *Biophysical journal*, 85(3), pp.1996–2005.
52. **Conrozier, T., & Lohse, T. (2022).** Glucosamine as a Treatment for Osteoarthritis: What If It's True?. *Year 2020: New Trends in Pharmacological Treatments for Osteoarthritis*.

53. **Cope, P. J., Ourradi, K., Li, Y., & Sharif, M. (2019).** Models of osteoarthritis: the good, the bad and the promising. *Osteoarthritis and cartilage*, 27(2), 230–239.
54. **Crum, J. A., LaPrade, R. F., & Wentorf, F. A. (2003).** The anatomy of the posterolateral aspect of the rabbit knee. *Journal of Orthopaedic Research*, 21(4), 723–729.
55. **D O’Loughlin, P., & Morris, H. A. (1994).** Oophorectomy in young rats impairs calcium balance by increasing intestinal calcium secretion. *The Journal of nutrition*, 124(5), 726–731.
56. **Dai, G., Wang, S., Li, J., Liu, C., & Liu, Q. (2006).** The validity of osteoarthritis model induced by bilateral ovariectomy in guinea pig. *Journal of Huazhong University of Science and Technology*, 26, 716–719.
57. **Davidson, L., Vistisen, B., & Astrup, A. (2007).** Impact of the menstrual cycle on determinants of energy balance: a putative role in weight loss attempts. *International journal of obesity*, 31(12), 1777–1785.
58. **Day, J. S., Van Der Linden, J. C., Bank, R. A., Ding, M., Hvid, I., Sumner, D. R., & Weinans, H. (2004).** Adaptation of subchondral bone in osteoarthritis. *Biorheology*, 41(3-4), 359–368.
59. **De Cock, C., Bruyere, O., Collette, J., & Reginster, J. Y. (2008).** Vitamin D inadequacy in French osteoporotic and osteopenic women. *Joint Bone Spine*, 75(5), 567–572.
60. **De Klerk, B. M., Schiphof, D., Groeneveld, F. P. M. J., Koes, B. W., van Osch, G. J. V. M., van Meurs, J. B. J., & Bierma-Zeinstra, S. M. A. (2009).** Limited evidence for a protective effect of unopposed oestrogen therapy for osteoarthritis of the hip: a systematic review. *Rheumatology*, 48(2), 104–112.
61. **de Morentin, P. B. M., González-García, I., Martins, L., Lage, R., Fernandez-Mallo, D., Martínez-Sánchez, N., ... & Lopez, M. (2014).** Estradiol regulates brown adipose tissue thermogenesis via hypothalamic AMPK. *Cell metabolism*, 20(1), 41–53.
62. **Derntl, B., Schöpf, V., Kollndorfer, K., & Lanzenberger, R. (2013).** Menstrual cycle phase and duration of oral contraception intake affect olfactory perception. *Chemical senses*, 38(1), 67–75.

63. **Dietrich, W., Haitel, A., Holzer, G., Huber, J. C., Kolbus, A., & Tschugguel, W. (2006).** Estrogen receptor- β is the predominant estrogen receptor subtype in normal human synovia. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 13(7), 512–517.
64. **Dong, H. Y., Li, X. P., Lian, Y. J., & Liao, Q. C. (2007).** Effect of estrogen replacement therapy in the early phase on atherosclerosis and PAI-1 in ovariectomized cholesterol-fed rabbit. *Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Central South University. Medical Sciences*, 32(4), 626–630.
65. **Eckel, L. A. (2004).** Estradiol: a rhythmic, inhibitory, indirect control of meal size. *Physiology & behavior*, 82(1), 35–41.
66. **Eyre, D.R., Wu, J.J., Fernandes, R.J., Pietka, T.A. and Weis, M.A., (2002).** Recent developments in cartilage research: matrix biology of the collagen II/IX/XI heterofibril network. *Biochemical Society Transactions*, 30(6), pp.894–900.
67. **Fajardo, M., & Di Cesare, P. E. (2005).** Disease-modifying therapies for osteoarthritis: current status. *Drugs & aging*, 22, 141–161.
68. **Fassati, P., & Principe, L. (1982).** Enzymatic colorimetric method for the determination of triglycerides. *Clin. Chem*, 28, 2077.
69. **Felson, D. T., & Kim, Y. J. (2007).** The futility of current approaches to chondroprotection. *Arthritis & Rheumatism*, 56(5), 1378–1383.
70. **Fenton, J. I., Chlebek-Brown, K. A., Peters, T. L., Caron, J. P., & Orth, M. W. (2000).** Glucosamine HCl reduces equine articular cartilage degradation in explant culture. *Osteoarthritis and Cartilage*, 8(4), 258–265.
71. **Findlay, D. M. (2007).** Vascular pathology and osteoarthritis. *Rheumatology*, 46(12), 1763–1768.
72. **Fogelman, I., Gnanasegaran, G., & Van der Wall, H. (Eds.). (2013).** Radionuclide and hybrid bone imaging. Springer.
73. **Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972).** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*, 18(6), 499–502.
74. **Gaumet, N., Seibel, M. J., Coxam, V., Davicco, M. J., Lebecque, P., & Barlet, J. P. (1997).** Influence of ovariectomy and estradiol treatment on calcium homeostasis during aging in rats. *Archives of physiology and biochemistry*, 105(5), 435–444.

75. **Gelse, K., von der Mark, K., Aigner, T., Park, J. and Schneider, H., (2003).** Articular cartilage repair by gene therapy using growth factor-producing mesenchymal cells. *Arthritis & Rheumatism*, 48(2), pp.430–441.
76. **Glaser, C. and Putz, R., (2002).** Functional anatomy of articular cartilage under compressive loading Quantitative aspects of global, local and zonal reactions of the collagenous network with respect to the surface integrity. *Osteoarthritis and cartilage*, 10(2), pp.83–99.
77. **Goldring, S. R., & Goldring, M. B. (2004).** The role of cytokines in cartilage matrix degeneration in osteoarthritis. *Clinical Orthopaedics and Related Research (1976–2007)*, 427, S27–S36.
78. **Goldring, S. R., & Goldring, M. B. (2016).** Changes in the osteochondral unit during osteoarthritis: structure, function and cartilage–bone crosstalk. *Nature Reviews Rheumatology*, 12(11), 632–644.
79. Goldring, S. R., Purdue, P. E., Crotti, T. N., Shen, Z., Flannery, M. R., **Binder, N. B., ... & McHugh, K. P. (2013).** Bone remodelling in inflammatory arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 72(suppl 2), ii52–ii55.
80. **Gomez, D. E., Alonso, D. F., Yoshiji, H., & Thorgeirsson, U. P. (1997).** Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *European journal of cell biology*, 74(2), 111–122.
81. **Gorczyca, A. M., Sjaarda, L. A., Mitchell, E. M., Perkins, N. J., Schliep, K. C., Wactawski-Wende, J., & Mumford, S. L. (2016).** Changes in macronutrient, micronutrient, and food group intakes throughout the menstrual cycle in healthy, premenopausal women. *European journal of nutrition*, 55, 1181–1188.
82. **Gouze, J. N., Bordji, K., Gulberti, S., Terlain, B., Netter, P., Magdalou, J., ... & Ouzzine, M. (2001).** Interleukin-1 β down-regulates the expression of glucuronosyltransferase I, a key enzyme priming glycosaminoglycan biosynthesis: Influence of glucosamine on interleukin-1 β -mediated effects in rat chondrocytes. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 44(2), 351–360.
83. **Gregory, M. H., Capito, N., Kuroki, K., Stoker, A. M., Cook, J. L., & Sherman, S. L. (2012).** A review of translational animal models for knee osteoarthritis. *Arthritis*, 2012(1), 764621.

84. **Gruber, C. J., Tschugguel, W., Schneeberger, C., & Huber, J. C. (2002).** Production and actions of estrogens. *New England Journal of Medicine*, *346*(5), 340–352.
85. **Gualillo, O. (2007).** Further evidence for leptin involvement in cartilage homeostases. *Osteoarthritis and cartilage*, *15*(8), 857–860.
86. **Guilak, F., Ratcliffe, A. and Mow, V.C., (1995).** Chondrocyte deformation and local tissue strain in articular cartilage: a confocal microscopy study. *Journal of Orthopaedic Research*, *13*(3), pp.410–421.
87. **Gupta, S., Hawker, G. A., Laporte, A., Croxford, R., & Coyte, P. C. (2005).** The economic burden of disabling hip and knee osteoarthritis (OA) from the perspective of individuals living with this condition. *Rheumatology*, *44*(12), 1531–1537.
88. **Gushue, D. L., Houck, J., & Lerner, A. L. (2005).** Rabbit knee joint biomechanics: motion analysis and modeling of forces during hopping. *Journal of orthopaedic research*, *23*(4), 735–742.
89. **Guthrie, J. R., Dennerstein, L., & Dudley, E. C. (1999).** Weight gain and the menopause: a 5-year prospective study. *Climacteric*, *2*(3), 205–211.
90. **Hall, B.K., (2005).** *Bones and cartilage: developmental and evolutionary skeletal biology*. Elsevier.
91. **Ham, K. D., Loeser, R. F., Lindgren, B. R., & Carlson, C. S. (2002).** Effects of long-term estrogen replacement therapy on osteoarthritis severity in cynomolgus monkeys. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, *46*(7), 1956–1964.
92. **Han, S. K., Seerattan, R., & Herzog, W. (2010).** Mechanical loading of in situ chondrocytes in lapine retropatellar cartilage after anterior cruciate ligament transection. *Journal of the Royal Society Interface*, *7*(47), 895–903.
93. **Han, S. K., Wouters, W., Clark, A., & Herzog, W. (2012).** Mechanically induced calcium signaling in chondrocytes in situ. *Journal of Orthopaedic Research*, *30*(3), 475–481.
94. **Harms, M., & Seale, P. (2013).** Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nature medicine*, *19*(10), 1252–1263.

95. **Haug, L., Weber, D.L., Haddad, D., Böhm, P., Rudert, M. and Nedopil, A., (2017).** Dynamic MRI assessment of normal knee kinematics. *J. Clin. Exp. Orthop*, 3, p.41.
96. **Havelka, S., Horn, V., Spohrova, D. and Valouch, P., (1984).** The calcified–noncalcified cartilage interface: the tidemark. *Acta Biologica Hungarica*, 35(2–4), pp.271–279.
97. **Hetemäki, N., Mikkola, T. S., Tikkanen, M. J., Wang, F., Hämäläinen, E., Turpeinen, U., ... & Savolainen–Peltonen, H. (2021).** Adipose tissue estrogen production and metabolism in premenopausal women. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 209, 105849.
98. **Høegh–Andersen, P., Tankó, L. B., Andersen, T. L., Lundberg, C. V., Mo, J. A., Heegaard, A. M., ... & Christgau, S. (2004).** Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application. *Arthritis Res Ther*, 6, 1–12.
99. **Huang, Y., Schwendner, S. W., Rall, S. C., Sanan, D. A., & Mahley, R. W. (1997).** Apolipoprotein E2 transgenic rabbits: modulation of the type III hyperlipoproteinemic phenotype by estrogen and occurrence of spontaneous atherosclerosis. *Journal of Biological Chemistry*, 272(36), 22685–22694.
100. **Hunter, D. J., & Bierma–Zeinstra, S. Osteoarthritis Lancet, 393 (2019).** View PDF View article View in Scopus, 1745–1759.
101. **Hunter, D. J., Zhang, Y. Q., Niu, J. B., Tu, X., Amin, S., Clancy, M., ... & Felson, D. T. (2006).** The association of meniscal pathologic changes with cartilage loss in symptomatic knee osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 54(3), 795–801.
102. **Hurst, R. E. (1994).** Structure, function, and pathology of proteoglycans and glycosaminoglycans in the urinary tract. *World journal of urology*, 12(1), 3–10.
103. **Huttu, M., Turunen, S., Sokolinski, V., Tiitu, V., Lammi, M., & Korhonen, R. K. (2012).** Effects of medium and temperature on cellular responses in the superficial zone of hypo–osmotically challenged articular cartilage. *Journal of functional biomaterials*, 3(3), 544–555.
104. **Hwang, J. S., Park, J. W., Nam, M. S., Cho, H., & Han, I. O. (2015).** Glucosamine enhances body weight gain and reduces insulin response in mice fed chow diet but mitigates obesity, insulin resistance and impaired glucose tolerance in mice high–fat diet. *Metabolism*, 64(3), 368–379.

105. **Janssen, J. M. M. F., Bland, R., Hewison, M., Coughtrie, M. W. H., Sharp, S., Arts, J., ... & Van Leeuwen, J. P. T. M. (1999).** Estradiol formation by human osteoblasts via multiple pathways: relation with osteoblast function. *Journal of Cellular Biochemistry*, 75(3), 528–537.
106. **Jerosch, J. (2011).** Effects of glucosamine and chondroitin sulfate on cartilage metabolism in OA: outlook on other nutrient partners especially Omega–3 fatty acids. *International journal of rheumatology*, 2011(1), 969012.
107. **Jerosch, J. (2011).** Effects of glucosamine and chondroitin sulfate on cartilage metabolism in OA: outlook on other nutrient partners especially Omega-3 fatty acids. *International journal of rheumatology*, 2011(1), 969012.
108. **Julkunen, P., Wilson, W., Jurvelin, J. S., & Korhonen, R. K. (2009).** Composition of the pericellular matrix modulates the deformation behaviour of chondrocytes in articular cartilage under static loading. *Medical & biological engineering & computing*, 47, 1281–1290.
109. **Jung, C. K. (2014).** Articular cartilage: Histology and physiology. *Techniques in cartilage repair surgery*, 17–21.
110. **Kääb, M. J., Ap Gwynn, I., & Nötzli, H. P. (1998).** Collagen fibre arrangement in the tibial plateau articular cartilage of man and other mammalian species. *The Journal of Anatomy*, 193(1), 23–34.
111. **Kalu, D. N., & Chen, C. (1999).** Ovariectomized murine model of postmenopausal calcium malabsorption. *Journal of bone and mineral research*, 14(4), 593–601.
112. **Kelley, K. M., Johnson, T. R., Ilan, J., & Moskowitz, R. W. (1999).** Glucose regulation of the IGF response system in chondrocytes: induction of an IGF–I–resistant state. *American Journal of Physiology–Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 276(4), R1164–R1171.
113. **Kellgren, J. H., & Lawrence, J. S. (1957).** Radiological assessment of osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis*, 16(4), 494–502.
114. **Knäuper, V., López–Otin, C., Smith, B., Knight, G., & Murphy, G. (1996).** Biochemical characterization of human collagenase–3. *Journal of Biological Chemistry*, 271(3), 1544–1550.

115. **Komatsuda, T., Sugita, T., Sano, H., Kusakabe, T., Watanuki, M., Yoshizumi, Y., ... & Kokubun, S. (2006).** Does estrogen alter the mechanical properties of the anterior cruciate ligament?: An experimental study in rabbits. *Acta orthopaedica*, 77(6), 973–980.
116. **Korhonen, R. K., & Herzog, W. (2008).** Depth-dependent analysis of the role of collagen fibrils, fixed charges and fluid in the pericellular matrix of articular cartilage on chondrocyte mechanics. *Journal of biomechanics*, 41(2), 480–485.
117. **Kozakowski, J., Gietka-Czernel, M., Leszczyńska, D., & Majos, A. (2017).** Obesity in menopause—our negligence or an unfortunate inevitability?. *Menopause Review/Przegląd Menopauzalny*, 16(2), 61–65.
118. **Kuyinu, E. L., Narayanan, G., Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (2016).** Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 11, 1–27.
119. **Kwan, M.K., Lai, W.M. and Mow, V.C., (1990).** A finite deformation theory for cartilage and other soft hydrated connective tissues—I. Equilibrium results. *Journal of biomechanics*, 23(2), pp.145–155.
120. **Lakshmi, V. (2014).** Calcium—A vital foundation mineral for a healthy body. *IJSER*, 2(1), 1.
121. **Lamarche, B., Lemieux, I., & Despres, J. P. (1999).** The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes & metabolism*, 25(3), 199–211.
122. **Lamarche, B., Moorjani, S., Cantin, B., Dagenais, G. R., Lupien, P. J., & Després, J. P. (1997).** Associations of HDL2 and HDL3 subfractions with ischemic heart disease in men: prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 17(6), 1098–1105.
123. **Lammi, M., Jari, A., Katriina, V., & Eeva, M. (2008).** Nivelrikon välittäjäaineet [Mediators of osteoarthritis]. *Duodecim*, 124(16), 1876–1884.
124. Lane, J. G., Tontz Jr, W. L., Ball, S. T., Massie, J. B., Chen, A. C., Bae, W. C., ... & Amiel, D. (2001). A morphologic, biochemical, and biomechanical assessment of short-term effects of osteochondral autograft plug transfer in an animal model. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 17(8), 856–863.

125. **Lavery, S., Girard, C. A., Williams, J. M., Hunziker, E. B., & Pritzker, K. P. H. (2010).** The OARSI histopathology initiative—recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rabbit. *Osteoarthritis and Cartilage*, *18*, S53–S65.
126. **Leeners, B., Geary, N., Tobler, P. N., & Asarian, L. (2017).** Ovarian hormones and obesity. *Human reproduction update*, *23*(3), 300–321.
127. **Leong, D. J., Hardin, J. A., Cobelli, N. J., & Sun, H. B. (2011).** Mechanotransduction and cartilage integrity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1240*(1), 32–37.
128. **Lerner, U. H. (2006).** Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis. *Journal of dental research*, *85*(7), 584–595.
129. **Lerner, U. H. (2006).** Inflammation-induced bone remodeling in periodontal disease and the influence of post-menopausal osteoporosis. *Journal of dental research*, *85*(7), 596–607.
130. **Li, C., He, Y., Li, Y., Wang, G., Liu, D., Cai, G., & He, C. (2021).** A novel method to establish the rabbit model of knee osteoarthritis: intra-articular injection of SDF-1 induces OA. *BMC Musculoskeletal Disorders*, *22*, 1–10.
131. **Li, G., Yin, J., Gao, J., Cheng, T. S., Pavlos, N. J., Zhang, C., & Zheng, M. H. (2013).** Subchondral bone in osteoarthritis: insight into risk factors and microstructural changes. *Arthritis research & therapy*, *15*, 1–12.
132. **Linn, F. C., & Sokoloff, L. (1965).** Movement and composition of interstitial fluid of cartilage. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, *8*(4), 481–494.
133. **Liu, J., Conde, K., Zhang, P., Lilascharoen, V., Xu, Z., Lim, B. K., ... & Pang, Z. P. (2017).** Enhanced AMPA receptor trafficking mediates the anorexigenic effect of endogenous glucagon-like peptide-1 in the paraventricular hypothalamus. *Neuron*, *96*(4), 897–909.
134. **Loeser, R. F., Carlson, C. S., Carlo, M. D., & Cole, A. (2002).** Detection of nitrotyrosine in aging and osteoarthritic cartilage: correlation of oxidative damage with the presence of interleukin-1 β and with chondrocyte resistance to insulin-like growth factor 1. *Arthritis & Rheumatism*, *46*(9), 2349–2357.

135. **Lotz, M. K. (2010).** New developments in osteoarthritis: posttraumatic osteoarthritis: pathogenesis and pharmacological treatment options. *Arthritis research & therapy, 12*, 1–9.
136. **Lumsden, M. A., & Hor, K. (2015).** Impact of obesity on the health of women in midlife. *Obstetrician & Gynaecologist, 17*(3).
137. **Magrans–Courtney, T., Wilborn, C., Rasmussen, C., Ferreira, M., Greenwood, L., Campbell, B., ... & Kreider, R. B. (2011).** Effects of diet type and supplementation of glucosamine, chondroitin, and MSM on body composition, functional status, and markers of health in women with knee osteoarthritis initiating a resistance–based exercise and weight loss program. *Journal of the International Society of Sports Nutrition, 8*, 1–17.
138. **Mahmoud, E. M., Ibrahim, A. H., & Abdulhussein, S. (2018).** Association of calcium level and bone tissue in ovariectomized female adult rabbit (An experimental study). *The Medical Journal of Tikrit University, 24*(2).
139. **Mansour, A.M., Younis, M.H. and Dakroub, R.H., (2013).** Anterior segment imaging and treatment of a case with syndrome of ectopia lentis, spontaneous filtering blebs, and craniofacial dysmorphism. *Case Reports in Ophthalmology, 4*(1), pp.84–90.
140. **Mao, H., Wang, W., Shi, L., Chen, C., Han, C., Zhao, J., ... & Huo, J. (2021).** Metabolomics and physiological analysis of the effect of calcium supplements on reducing bone loss in ovariectomized rats by increasing estradiol levels. *Nutrition & Metabolism, 18*, 1–14.
141. **Marinho, A., Nunes, C., & Reis, S. (2021).** Hyaluronic acid: A key ingredient in the therapy of inflammation. *Biomolecules, 11*(10), 1518.
142. **Martini, D., Ranieri–Raggi, M., Sabbatini, A. R., & Raggi, A. (2001).** Regulation of skeletal muscle AMP deaminase: lysine residues are critical for the pH–dependent positive homotropic cooperativity behaviour of the rabbit enzyme. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Protein Structure and Molecular Enzymology, 1544*(1–2), 123–132.
143. **Mason, R. M., & Sweeney, C. (1994).** The relationship between proteoglycan synthesis in Swarm chondrocytes and pathways of cellular energy and UDP–sugar metabolism. *Carbohydrate research, 255*, 255–270.

144. **Mauvais–Jarvis, F., Clegg, D. J., & Hevener, A. L. (2013).** The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocrine reviews*, 34(3), 309–338.
145. **McCoy, A. M. (2015).** Animal models of osteoarthritis: comparisons and key considerations. *Veterinary pathology*, 52(5), 803–818.
146. **Mešalić, L., Tupković, E., Kendić, S., & Balić, D. (2008).** Correlation between hormonal and lipid status in women in menopause. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 8(2),
147. **Mescher, A.L. (2010).** Junqueira’s Basic Histology: Text & Atlas. 12th Edition. McGraw Hill Companies, New York, PP: 166–170.
148. **Mitchell, N., & Shepard, N. (1987).** Effect of patellar shaving in the rabbit. *Journal of orthopaedic research*, 5(3), 388–392.
149. **Moran, C. J., Ramesh, A., Brama, P. A., O’Byrne, J. M., O’Brien, F. J., & Levingstone, T. J. (2016).** The benefits and limitations of animal models for translational research in cartilage repair. *Journal of experimental orthopaedics*, 3, 1–12.
150. **Morris, H. A., Need, A. G., Horowitz, M., O’Loughlin, P. D., & Christopher Nordin, B. E. (1991).** Calcium absorption in normal and osteoporotic postmenopausal women. *Calcified tissue international*, 49, 240–243.
151. **Mow, V. C., Kuei, S. C., Lai, W. M., & Armstrong, C. G. (1980).** Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression: theory and experiments.
152. **Nasatzky, E., Schwartz, Z., Boyan, B. D., Soskolne, W. A., & Ornoy, A. (1993).** Sex-dependent effects of 17-beta-estradiol on chondrocyte differentiation in culture. *Journal of cellular physiology*, 154(2), 359–367.
153. **Newman, A.P., (1998).** Articular cartilage repair. *The American journal of sports medicine*, 26(2), pp.309–324.
154. **Nigg BM, Herzog W, editors. (2007).** Biomechanics of the musculo–skeletal system. England: John Wiley & Sons.
155. **Oestergaard, S., Sondergaard, B. C., Hoegh-Andersen, P., Henriksen, K., Qvist, P., Christiansen, C., ... & Karsdal, M. A. (2006).** Effects of ovariectomy and estrogen therapy on type II collagen degradation and structural integrity of articular

- cartilage in rats: implications of the time of initiation. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 54(8), 2441–2451.
156. **Oliveria, S. A., Felson, D. T., Reed, J. I., Cirillo, P. A., & Walker, A. M. (1995).** Incidence of symptomatic hand, hip, and knee osteoarthritis among patients in a health maintenance organization. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 38(8), 1134–1141.
 157. **Otte, P. (1991).** Basic cell metabolism of articular cartilage. Manometric studies. *Zeitschrift fur Rheumatologie*, 50(5), 304–312.
 158. **Palmer, G.D., Raia, F., Mauck, R.L., Valhmu, W.B. and Hung, C.T., (2001).** Time-dependent aggrecan gene expression of articular chondrocytes in response to hyperosmotic loading. *Osteoarthritis and Cartilage*, 9(8), pp.761–770.
 159. **Parker, D. H. S. Y., Hwa, S. Y., Sambrook, P., & Ghosh, P. (2003).** Estrogen replacement therapy mitigates the loss of joint cartilage proteoglycans and bone mineral density induced by ovariectomy and osteoarthritis. *APLAR Journal of Rheumatology*, 6(2), 116–127.
 160. **Patel, J., Chen, S., Katzmeyer, T., Pei, Y. A., & Pei, M. (2023).** Sex-dependent variation in cartilage adaptation: From degeneration to regeneration. *Biology of sex Differences*, 14(1), 17.
 161. **Pearle, A.D., Warren, R.F. and Rodeo, S.A., (2005).** Basic science of articular cartilage and osteoarthritis. *Clinics in sports medicine*, 24(1), pp.1–12.
 162. **Poole, A. R., Kobayashi, M., Yasuda, T., Lavery, S., Mwale, F., Kojima, T., ... & Wu, W. (2002).** Type II collagen degradation and its regulation in articular cartilage in osteoarthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 61(suppl 2), ii78–ii81.
 163. **Pritzker, K. P., Gay, S., Jimenez, S. A., Ostergaard, K., Pelletier, J. P., Revell, P. A., ... & Van den Berg, W. B. (2006).** Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis and cartilage*, 14(1), 13–29.
 164. **Proffen, B. L., McElfresh, M., Fleming, B. C., & Murray, M. M. (2012).** A comparative anatomical study of the human knee and six animal species. *The Knee*, 19(4), 493–499.
 165. **R. A. Berger and A.-P. C. Weiss, (2003).** Hand surgery, 1. edition, p. 5–6.

166. Rajpurohit, R., Koch, C. J., Tao, Z., Teixeira, C. M., & Shapiro, I. M. (1996). Adaptation of chondrocytes to low oxygen tension: relationship between hypoxia and cellular metabolism. *Journal of cellular physiology*, 168(2), 424–432.
167. Ramage, L., Nuki, G., & Salter, D. M. (2009). Signalling cascades in mechanotransduction: cell–matrix interactions and mechanical loading. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 19(4), 457–469.
168. **Randolph Jr, J. F., Zheng, H., Sowers, M. R., Crandall, C., Crawford, S., Gold, E. B., & Vuga, M. (2011).** Change in follicle–stimulating hormone and estradiol across the menopausal transition: effect of age at the final menstrual period. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(3), 746–754.
169. **Räsänen, T., & Messner, K. (1996).** Regional variations of indentation stiffness and thickness of normal rabbit knee articular cartilage. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*, 31(4), 519–524.
170. **Räsänen, T., & Messner, K. (1999).** Articular cartilage compressive stiffness following oophorectomy or treatment with 17 β –estradiol in young postpubertal rabbits. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 78(5), 357–362.
171. **Reddy, N. P., & Lakshmana, M. (2003).** Prevention of bone loss in calcium deficient ovariectomized rats by OST–6, a herbal preparation. *Journal of ethnopharmacology*, 84(2–3), 259–264.
172. **Revankar, C. M., Cimino, D. F., Sklar, L. A., Arterburn, J. B., & Prossnitz, E. R. (2005).** A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science*, 307(5715), 1625–1630.
173. Richette, P., Corvol, M., & Bardin, T. (2003). Estrogens, cartilage, and osteoarthritis. *Joint Bone Spine*, 70(4), 257–262.
174. **Richette, P., Dumontier, M. F., Francois, M., Tsagris, L., Korwin–Zmijowska, C., Rannou, F., & Corvol, M. T. (2004).** Dual effects of 17 β –oestradiol on interleukin 1 β –induced proteoglycan degradation in chondrocytes. *Annals of the rheumatic diseases*, 63(2), 191–199.
175. **Richette, P., Laborde, K., Boutron, C., Bardin, T., Corvol, M. T., & Savouret, J. F. (2007).** Correlation between serum and synovial fluid estrogen

concentrations: comment on the article by Sowers et al. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 56(2), 698–698.

176. **Richmond, R. S., Carlson, C. S., Register, T. C., Shanker, G., & Loeser, R. F. (2000).** Functional estrogen receptors in adult articular cartilage: estrogen replacement therapy increases chondrocyte synthesis of proteoglycans and insulin-like growth factor binding protein 2. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, 43(9), 2081–2090.
177. **Richmond, W. (1973).** Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clinical chemistry*, 19(12), 1350–1356.
178. **Riggs, B. L., Khosla, S., & Melton III, L. J. (2002).** Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocrine reviews*, 23(3), 279–302.
179. **Rogers, N. H., Perfield, J. W., Strissel, K. J., Obin, M. S., & Greenberg, A. S. (2009).** Reduced energy expenditure and increased inflammation are early events in the development of ovariectomy–induced obesity. *Endocrinology*, 150(5), 2161–2168.
180. **Ronkainen, A. (2014).** *Site-dependent differences of chondrocyte responses to deformation and mechanical properties of rabbit knee joint cartilage* (Master's thesis, Itä-Suomen yliopisto).
181. **ROSNER, I. A., GOLDBERG, V. M., & MOSKOWITZ, R. W. (1986).** Estrogens and osteoarthritis. *Clinical Orthopaedics and Related Research (1976–2007)*, 213, 77–83.
182. **Runkel, D. R., & Cupp, M. J. (1999).** Glucosamine sulfate use in osteoarthritis. *American journal of health–system pharmacy*, 56(3), 267–269.
183. **Samvelyan, H. J., Hughes, D., Stevens, C., & Staines, K. A. (2021).** Models of osteoarthritis: relevance and new insights. *Calcified tissue international*, 109(3), 243–256.
184. **Sarzi-Puttini, P., Cimmino, M. A., Scarpa, R., Caporali, R., Parazzini, F., Zaninelli, A., ... & Canesi, B. (2005, August).** Osteoarthritis: an overview of the disease and its treatment strategies. In *Seminars in arthritis and rheumatism* (Vol. 35, No. 1, pp. 1–10). WB Saunders.

185. **Sciore, P., Frank, C. B., & Hart, D. A. (1998).** Identification of sex hormone receptors in human and rabbit ligaments of the knee by reverse transcription-polymerase chain reaction: Evidence that receptors are present in tissue from both male and female subjects. *Journal of orthopaedic research*, *16*(5), 604–610.
186. **Setnikar, I., Palumbo, R., Canali, S., & Zanolio, G. (1993).** Pharmacokinetics of glucosamine in man. *Arzneimittel-Forschung*, *43*(10), 1109–1113.
187. **Shahida, S., Rehman, S., Ilyas, N., Khan, M. I., Hameed, U., Hafeez, M., ... & Matouq, M. (2021).** Determination of blood calcium and lead concentrations in osteoporotic and osteopenic patients in Pakistan. *ACS omega*, *6*(42), 28373–28378.
188. Sharma, L. (2021). Osteoarthritis of the knee. *New England Journal of Medicine*, *384*(1), 51–59.
189. **Shimizu, M., Furuya, R., Kawawa, T., & Sasaki, T. (2000).** Bone wound healing after maxillary molar extraction in ovariectomized aged rats: quantitative backscattered electron image analysis. *The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, *259*(1), 76–85.
190. **Silberberg, M., & Silberberg, R. (1970).** Age-linked modification of the effect of estrogen on joints and cortical bone of female mice. *Gerontology*, *16*(4), 201–211.
191. **Simental-Mendia, M., Sanchez-Garcia, A., Vilchez-Cavazos, F., Acosta-Olivo, C. A., Pena-Martinez, V. M., & Simental-Mendia, L. E. (2018).** Effect of glucosamine and chondroitin sulfate in symptomatic knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Rheumatology international*, *38*(8), 1413–1428.
192. **Simopoulou, T., Malizos, K. N., Iliopoulos, D., Stefanou, N., Papatheodorou, L., Ioannou, M., & Tsezou, A. (2007).** Differential expression of leptin and leptin's receptor isoform (Ob-Rb) mRNA between advanced and minimally affected osteoarthritic cartilage; effect on cartilage metabolism. *Osteoarthritis and Cartilage*, *15*(8), 872–883.
193. **Simpson, E. R. (2003).** Sources of estrogen and their importance. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, *86*(3–5), 225–230.
194. **Sniekers, Y. H., van Osch, G. J. V. M., Ederveen, A. G. H., Inzunza, J., Gustafsson, J. Å., van Leeuwen, J. P. T. M., & Weinans, H. (2009).** Development

- of osteoarthritic features in estrogen receptor knockout mice. *Osteoarthritis and cartilage*, 17(10), 1356–1361.
195. **Sniekers, Y. H., Weinans, H., Bierma–Zeinstra, S. M., Van Leeuwen, J. P. T. M., & Van Osch, G. J. V. M. (2008).** Animal models for osteoarthritis: the effect of ovariectomy and estrogen treatment—a systematic approach. *Osteoarthritis and cartilage*, 16(5), 533–541.
196. **Sophia Fox, A.J., Bedi, A. and Rodeo, S.A., (2009).** The basic science of articular cartilage: structure, composition, and function. *Sports health*, 1(6), pp.461–468.
197. **Stein, W. (2012).** Transport and diffusion across cell membranes. Elsevier.
198. **Stellavato, A., Restaino, O. F., Vassallo, V., Cassese, E., Finamore, R., Ruosi, C., & Schiraldi, C. (2021).** Chondroitin Sulfate in USA Dietary Supplements in Comparison to Pharma Grade Products: Analytical Fingerprint and Potential Anti-Inflammatory Effect on Human Osteoarthritic Chondrocytes and Synoviocytes. *Pharmaceutics*, 13(5), 737.
199. Stockwell, R. A. (2012). Metabolism of cartilage. *Cartilage*, 1, 253–73.
200. **Stubbins, R. E., Najjar, K., Holcomb, V. B., Hong, J., & Núñez, N. P. (2012).** Oestrogen alters adipocyte biology and protects female mice from adipocyte inflammation and insulin resistance. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 14(1), 58–66.
201. Sun, H. B. (2010). Mechanical loading, cartilage degradation, and arthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1211(1), 37–50.
202. **Takano, H., Aizawa, T., Irie, T., Kokubun, S., & Itoi, E. (2007).** Estrogen deficiency leads to decrease in chondrocyte numbers in the rabbit growth plate. *Journal of Orthopaedic Science*, 12, 366–374.
203. **Tanko, L. B., Søndergaard, B. C., Oestergaard, S., Karsdal, M. A., & Christiansen, C. (2008).** An update review of cellular mechanisms conferring the indirect and direct effects of estrogen on articular cartilage. *Climacteric*, 11(1), 4–16.
204. **Teeple, E., Jay, G. D., Elsaid, K. A., & Fleming, B. C. (2013).** Animal models of osteoarthritis: challenges of model selection and analysis. *The AAPS journal*, 15, 438–446.
205. **Tetlow, L. C., Adlam, D. J., & Woolley, D. E. (2001).** Matrix metalloproteinase and proinflammatory cytokine production by chondrocytes of human

- osteoarthritic cartilage: associations with degenerative changes. *Arthritis & Rheumatism*, 44(3), 585–594.
206. **Thyssen, S., Luyten, F. P., & Lories, R. J. (2015).** Targets, models and challenges in osteoarthritis research. *Disease models & mechanisms*, 8(1), 17–30.
207. **Towheed, T., Maxwell, L., Judd, M., Catton, M., Hochberg, M. C., & Wells, G. A. (2006).** Acetaminophen for osteoarthritis. *Cochrane database of systematic reviews*, (1).
208. **Turner, A. S. (2001).** Animal models of osteoporosis—necessity and limitations. *Eur Cell Mater*, 1(66–81), 13.
209. **Turner, A. S., Athanasiou, K. A., Zhu, C. F., Alvis, M. R., & Bryant, H. U. (1997).** Biochemical effects of estrogen on articular cartilage in ovariectomized sheep. *Osteoarthritis and Cartilage*, 5(1), 63–69.
210. **Turunen, S.M., Lammi, M.J., Saarakkala, S., Han, S.K., Herzog, W., Tanska, P. and Korhonen, R.K., (2013).** The effect of collagen degradation on chondrocyte volume and morphology in bovine articular cartilage following a hypotonic challenge. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 12, pp.417–429.
211. **Ushiyama, T., Ueyama, H., Inoue, K., Ohkubo, I., & Hukuda, S. (1999).** Expression of genes for estrogen receptors α and β in human articular chondrocytes. *Osteoarthritis and cartilage*, 7(6), 560–566.
212. **VAJRANETRA, P. (1984).** Clinical trial of glucosamine compounds for osteoarthrosis of knee joints. *Chot Mai Het Thang Phaet*, 67(7), 409–419.
213. **Vincent, T. L. (2020).** Of mice and men: converging on a common molecular understanding of osteoarthritis. *The Lancet Rheumatology*, 2(10), e633–e645.
214. **Vincenti, M. P., & Brinckerhoff, C. E. (2002).** Transcriptional regulation of collagenase (MMP–1, MMP–13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene–specific transcription factors. *Arthritis research & therapy*, 4(3), 157.
215. **Wanderman, N. R., Mallet, C., Giambini, H., Bao, N., Zhao, C., An, K. N., ... & Nassr, A. (2018).** An ovariectomy–induced rabbit osteoporotic model: a new perspective. *Asian Spine Journal*, 12(1), 12.

216. **Wang, W., Wang, L., Xu, Z., Yin, Y., Su, J., Niu, X., & Cao, X. (2016).** Effects of estradiol on reduction of osteoarthritis in rabbits through effect on matrix metalloproteinase proteins. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 19(3), 310.
217. **Wilkins, R. J., Browning, J. A., & Urban, J. P. (2000).** Chondrocyte regulation by mechanical load. *Biorheology*, 37(1-2), 67-74.
218. **Wong, M. and Carter, D.R., (2003).** Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective. *Bone*, 33(1), pp.1-13.
219. **Wong, M., Wuethrich, P., Eggli, P., & Hunziker, E. (1996).** Zone-specific cell biosynthetic activity in mature bovine articular cartilage: a new method using confocal microscopic stereology and quantitative autoradiography. *Journal of orthopaedic research*, 14(3), 424-432.
220. **Xia, L. U., He, H., Guo, H., Qing, Y., & He, C. Q. (2015).** Effects of ultrasound on estradiol level, bone mineral density, bone biomechanics and matrix metalloproteinase-13 expression in ovariectomized rabbits. *Experimental and therapeutic medicine*, 10(4), 1429-1436.
221. **Yang, J., Lü, J., Shen, X. (2004) .**Effects of estrogen on the changes of proteoglycan in articular cartilage matrix of rabbits with osteoarthritis [J]. *J Xi'an Jiaotong Univ* ; 25:584-586.
222. **Zhu, X., Sang, L., Wu, D., Rong, J., & Jiang, L. (2018).** Effectiveness and safety of glucosamine and chondroitin for the treatment of osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of orthopaedic surgery and research*, 13, 1-9.