دراسة تجريبية عند الارانب لتحديد دور الاستروجين في الحد من تنكس المفاصل وهشاشة العظام

غيث حمادة * أ. د. موفق جنيد ** أ.د. محمد زهير الأحمد***

(الإيداع: 18 آذار 2024 ، القبول : 14 آيار 2024)

الملخص:

يعد تنكس المفاصل أحد أكثر اضطرابات الجهاز العضلي الهيكلي حدوثاً والذي يتصف بتلف تدريجي في السطوح المفصلية التي تشمل كل من الغضاريف والعظام المتوضعة أسفل منها في النهايات العظمية المشاشية للعظام المشكلة للمفصل مما يسبب الم مفصلي وتحديد في الحركة مع تشوه وعجز حركي مما يعيق النشاط اليومي بالإضافة إلى التكلفة الباهظة عند التدخل العلاجي بسبب مسار المرض المزمن. تناولت العديد من الدراسات السابقة لدى الحيوانات و حتى البشر بعض المؤثرات كعوامل خطورة للإصابة بتنكس المفصل كالسمنة و العمر والجنس(Anderson et al., 2018). أجريت التجربة على إناث الأرانب الناضجة جسمياً وجنسياً والبالغ عددها 20 أرنبة وقسمت لمجموعتين:(G1) المؤلفة من 10 إناث سليمة إكلينيكياً و(G2) التي تحوي إناث خضعت لاستئصال المبايض و الرحم جراحياً. أظهرت النتائج: انخفاض تركيز الكالسيوم بشكل معنوي في مصل الدم لدى إناث المجموعة (G2) الخاضعة جراحياً لاستئصال المبايض والرحم عند مقارنتها مع إناث المجموعة(G1) حيث ($P<0.05$) كما أظهرت النتائج انخفاض تركيز هرمون الاستروجين بشكل معنوي في مصل الدم لدى إناث المجموعة (G2) الخاضعة جراحياً لاستئصال المبايض والرحم عند مقارنتها بإناث المجموعة (G1) حيث($P<0.05$).كما تبين بالفحص العياني لمفصل الركبة لدى إناث المجموعة (G2) وجود أذية مفصلية قد تكون ذات صلة بالانخفاض المعنوي لتركيز كل من الاستروجين والكالسيوم والتي يمكن اعتبارها كمؤشر لتنكس المفاصل عند مقارنتها بإناث المجموعة(G1).

الكلمات المفتاحية: تنكس المفاصل – مفصل الركبة – الاستروجين– استئصال المبايض

* طالب دكتوراه – كلية الطب البيطري –جامعة حماه

** أستاذ- قسم التشريح – كلية الطب البيطري – جامعة حماه.

*** أستاذ- قسم الجراحة و الولادة– كلية الطب البيطري – جامعة حماه.

An Experimental Study in Rabbits to Determine the Role of Estrogen in Reducing Joint Degeneration and Osteoporosis

TGhaith Hamad* Prof. Dr. Muwaffaq Junaid ** Prof. Mohammed Zuhair Al-Ahmad***

(Received: 18 March 2024, Accepted: 14 May 2024)

Abstract:

Joint degeneration is one of the most common disorders of the musculoskeletal system, which is characterized by gradual damage to the joint surfaces, which include both cartilage and the bones located below them, at the epiphyseal bone ends of the bones forming the joint, causing joint pain and limitation of movement with deformity and motor disability, which hinders daily activity in addition to The high cost of therapeutic intervention due to the course of the chronic disease. Many previous studies have examined some influences as risk factors for joint degeneration, such as obesity, age, and gender(Anderson *et al*., 2018). The experiment was conducted on 20 physically and sexually mature female rabbits and divided into two groups: (G1) consisting of 10 clinically healthy females and (G2) containing females who underwent surgical removal of their ovaries and uterus. The results showed: a significant decrease in the concentration of calcium in the blood serum of the females of group (G2) who underwent surgical removal of the ovaries and uterus when compared with the females of the group (G1), where ($P<0.05$). The results also showed a significant decrease in the concentration of estrogen in the blood serum of the The females of group (G2) underwent surgical removal of the ovaries and uterus when compared to the females of group (G1), where ($P<0.05$). Also, a visual examination of the knee joint in the females of group (G2) revealed the presence of joint damage that may be related to the significant decrease in the concentration of both estrogen. And calcium, which can be considered an indicator of joint degeneration when compared to group (G1) females.

Keywords: osteoarthritis, knee joint, estrogen, Ovariectomy.

:* PhD student - Department of Anatomy- Faculty of Veterinary Medicine – Hama university

:** Professor - Department of Anatomy - College of Veterinary Medicine - University of Hama .

:*** Professor - Department of Surgery and Obstetrics - Faculty of Veterinary Medicine - University of Hama.

1. المقدمة Introductoin:

تصنف المفاصل الى مفاصل زليلية Diarthrosis تسمح بحركة حرة للعظام و مفاصل ليفية Synarthrosis تسمح بحركة محدودة جداً أو لا تسمح بالحركة مطلقاً(Mescher, 2010). يعد مفصل الركبة من المفاصل الزليلية وتتمثل الوظيفة الرئيسية له في توفير نقطة تسمح بالحركة بين عظمتي القصبة و الفخذ ، والذي يتحقق بمساعدة الرضفة والشظية و التراكيب المتصلة بالعظم والتي تتكون من الأربطة التي تعطي الثبات للركبة عن طريق ربط العظام ببعضها البعض، والأوتار التي تسمح للمفصل بالحركة عن طريق ربط العضلات بالعظام(Haug *et al.*, 2017).

المفاصل الزليلية عبارة عن مفاصل تربط العظام الطويلة ببعضها وتسمح لها بحرية الحركة مثل مفصل الركبة و المرفق، يُغَلف التجويف المفصلي المحكم السد بمحفظة ليفية تحوي على سائل زليلي شفاف لزج، ويبطن التجويف المفصلي بنسيج ضام كثيف متخصص يدعى الغشاء الزليلي بدلاً من النسيج الظهاري المبطن. يمتد من الغشاء الزليلي طيات وزغابات داخل التجويف ويفرز سائلاً زليلياً لزجاً عديم اللون منشأه بلازما الدم ويحوي تراكيز عالية من حمض الهيالورونيك المفرز من خلايا الغشاء الزليلي، ويحتوي الغشاء الزليلي على مناطق فيها أنواع مختلفة من النسيج الضام (الليفي – الشحمي) في المفاصل الزليلية المختلفة (Mescher, 2010).

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

تناولت الكثير من الدراسات الوبائية لدى البشر و كذلك الحيوانات كالكلاب و أيضاً حيوانات التجربة العديد من المؤثرات كعوامل خطورة للإصابة بتنكس المفاصل منها السمنة المفرطة والعمر والعرق والجنس والتشوهات المفصلية والتحميل الزائد والحالة الهرمونية (Sharma *et al.*, 2006)،حيث بينت بعض الدراسات ازدياد حدوث الفصال العظمي تدريجياً لدى النساء مع التقدم بالعمر بعد الـ 50 وقد اعتمدت العديد من الأبحاث على النماذج الحيوانية لكشف علاقة انخفاض الأستروجين بتنكس المفاصل وجدوى المعالجة التعويضية الهرمونية وكان الإجراء الجراحي لاستئصال المبايض و الرحم أداة للوصول للحالة الهرمونية عند توقف المبايض وظيفياً و الوصول لسن اليأس، كما أظهرت هذه الدراسات وجود ارتباط بين انخفاض مستوى الاستروجين في مصل الدم لدى إناث حيوانات التجربة المستأصلة مع هشاشة العظام و تنكس بعض المفاصل وكذلك أظهرت دور الاستراديول المعاوض في منع ذلك(Deklerk *et al.*, 2009). وصفت العديد من الأبحاث المعالجة البديلة بالأستروجين 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 بالأستروجين تمنع تنكس مفصل الورك في حين بقي الموضوع بالنسبة لتنكس مفصل الركبة موضع جدال(Deklerk *et al.*, 2009).

- **هدف البحث Objective:**

يهدف البحث:

1. دراسة تأثير التقدم بالعمر وانخفاض تركيز الاستروجين على الغضاريف والعظام المفصلية عبر الاستئصال الجراحي للمبايض والرحم كمحاكاة لتوقف المبيض والرحم وظيفياً مع التقدم بالعمر.
2. دراسة داء التنكس المفصلي لمفصل الركبة كأحد النتائج الغير مرجوة بعد الاستئصال الجراحي للمبايض.

2. المواد وطرائق العمل Materials and Methods:

- **حيوانات التجربة:**

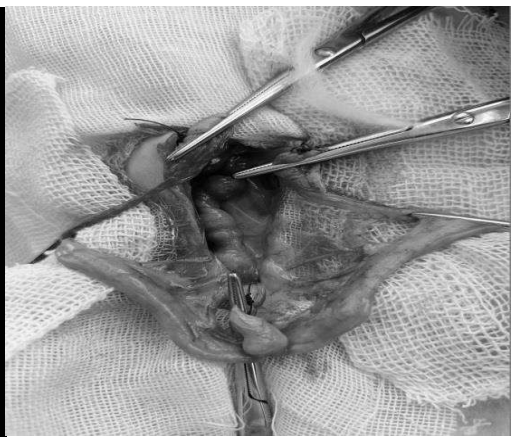
أجريت الدراسة على إناث الأرانب الناضجة جسمياً وجنسياً والبالغ عددها 20أرنبة والتي تم تربيتها ضمن أقفاص خشبية معدة لتربية الأرانب وتؤمن لها الظروف المثالية من حيث البيئة والغذاء والماء حيث تمت تغذيتها على علف فروج مرحلة ثانية (بروتين خام 19%، دهن خام 4%، أليياف لا تزيد عن 1.9%، طاقة 3200كيلو كالوري /كغ علف) وقسمت الى مجموعتين وفق التالي:

1- المجموعة الأولى: وتضم (10) إناث سليمة اكلينيكياً .

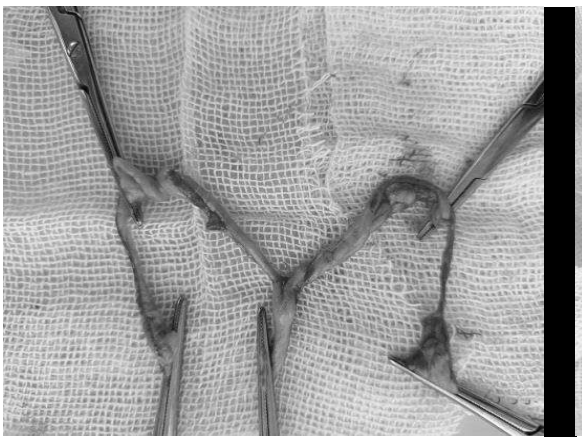
2- المجموعة الثانية: تضم (10)إناث سليمة اكلينيكياً تخضع لاستئصال جراحي لكل من الرحم و المبايض وتعالج بالصادات الحيوية لمدة 5 أيام بعد العمل الجراحي.

- الاستئصال الجراحي:

تم اجراء حلاقة كاملة لمنطقة البطن ثم تم التعقيم باستخدام محلول معقم (بوفيدون سائل10%)، تم التخدير عبر الحقن العضلي للكيتامين بجرعة 40ملغ/كغ مع الكسيلازين بجرعة 2ملغ/كغ ومن ثم تم اجراء شق بطول 5-10سم على الخط الناصف لسطح البطن في الجزء المحصور بين حلمة الثدي الأولى والثانية 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 لزمهما مع جسم الرحم بقوابض شريانية ليتم الاستئصال باستخدام شفرة جراحية ومن ثم خياطة عضلات البطن بخيط فيكريل(0-2) بغرز بسيطة متقطعة وكذلك الأمر تم خياطة الجلد بغرز بسيطة متقطعة باستخدام خيط حرير (0-2).



الشكل رقم(1) يبين: عملية ربط المبايض والرحم جراحياً



الشكل رقم(2) يبين: الرحم والمبايض بعد الاستئصال

- **جمع العينات:** تم جمع العينات الدموية بعد 18 أسبوع من العمل الجراحي من الوريد الصافن في القائمة الخلفية عبر أنابيب اختبار تخلو من مضادات التخثر بغرض قياس مستوى الكالسيوم وهرمون 17بيتا استراديول.
- **قياس تركيز مستوى الكالسيوم determination of serum cacium level:** تم قياس مستوى الكالسيوم بالدم بعد جمع العينة من الوريد الصافن بأنابيب اختبار بدون مانع تخثر 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.
- **قياس تركيز الاستراديول determination of serum estradiol level:** تم استخدام جهاز CHROMA™-11التحديد مستوى هرمون 17بيتا استراديول عن طريق المقايسة المناعية للتدفق الجانبي القائم على مبدأ الفلورة لعينة المصل بهدف تحري الدقة في تحديد تركيز الهرمون بالدم واعتبار مستويات الهرمون بالدم للمجموعة الأولى كمعايير قياسية طبيعية ومقارنتها بالمجموعة الثانية.
- **التشريح العياني لمفصل الركبة macroscopic anatomy of knee joint:** تم فتح مفصل الركبة لحيوانات التجربة التي تم إعدامها في كلا المجموعتين بعد 18 أسبوع من إجراء الاستئصال الجراحي للرحم والمبايض بهدف التقصي عن وجود أي تغيرات مرضية عيانية في مفصل الركبة.

3. **التحليل الإحصائي:** عولجت البيانات باستخدام برنامج2010 Microsoft excel وتم تحليلها احصائياً باستخدام برنامج SPSS إصدار19. حسبت النتائج على شكل متوسط (mean) ± الانحراف المعياري (SD)، وتم تحليل القيم باستخدام اختبار T-test واعتبرت النتائج معنوية عندما تكون($P < 0.05$).

4. **النتائج Results:**

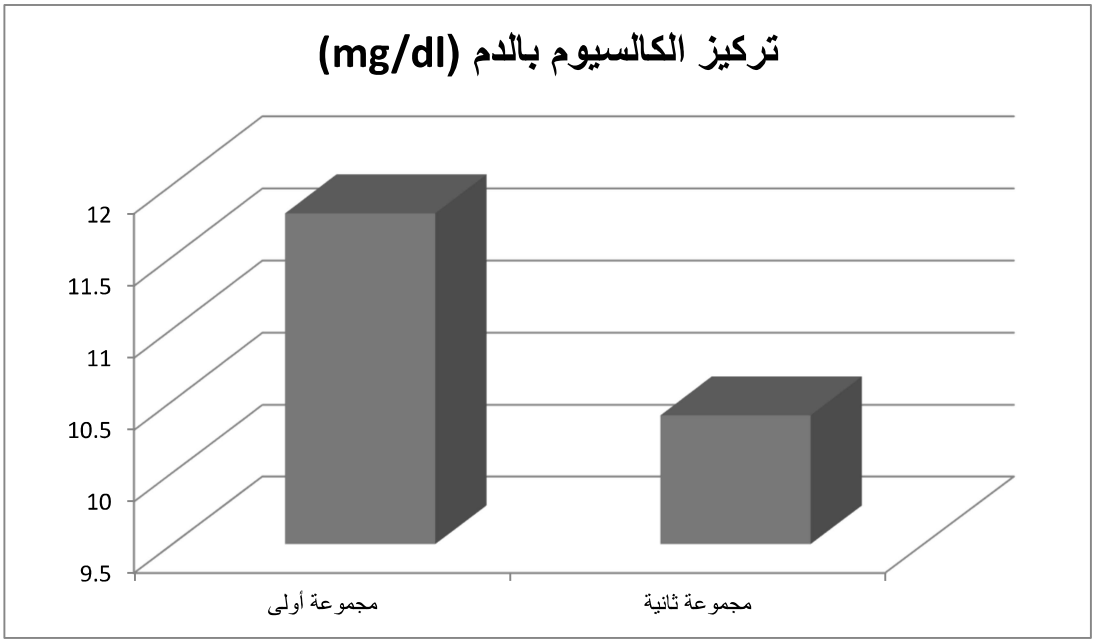
1-مستوى الكالسيوم في مصل الدم:

الجدول رقم (1): يبين نتائج مستويات الكالسيوم في مصل الدم (ملغ/دل)

كالسيوم الدم (ملغ/دل)						
المجموعات	العدد	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	أصغر قيمة	أكبر قيمة
المجموعة الأولى	10	11.80	0.33	0.10	11.3	12.2
المجموعة الثانية	10	10.40 *	0.38	0.12	9.9	10.7

يدل الرمز* على وجود فرق معنوي في حال اختلافها ضمن نفس العمود عند مقارنة متوسطات المتغير المدروس بين مجموعات الدراسة حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند ($P < 0.05$).

يبين المخطط رقم (1) مستوى الكالسيوم في مصل الدم لكلا المجموعتين حيث كان تركيز الكالسيوم في مصل الدم الإناث السليمة 11.8ملغ/دل بينما أظهرت نتائج تحليل عينات مصل الدم لإناث المجموعة الثانية 10.4ملغ/دل مما يشير الى وجود فرق معنوي بين كلا المجموعتين حيث أن ($P < 0.05$).



المخطط بياني رقم (1): يبين وجود فرق معنوي بالمقارنة بين متوسطات تركيز الكالسيوم بالدم لكلا مجموعتي التجربة.

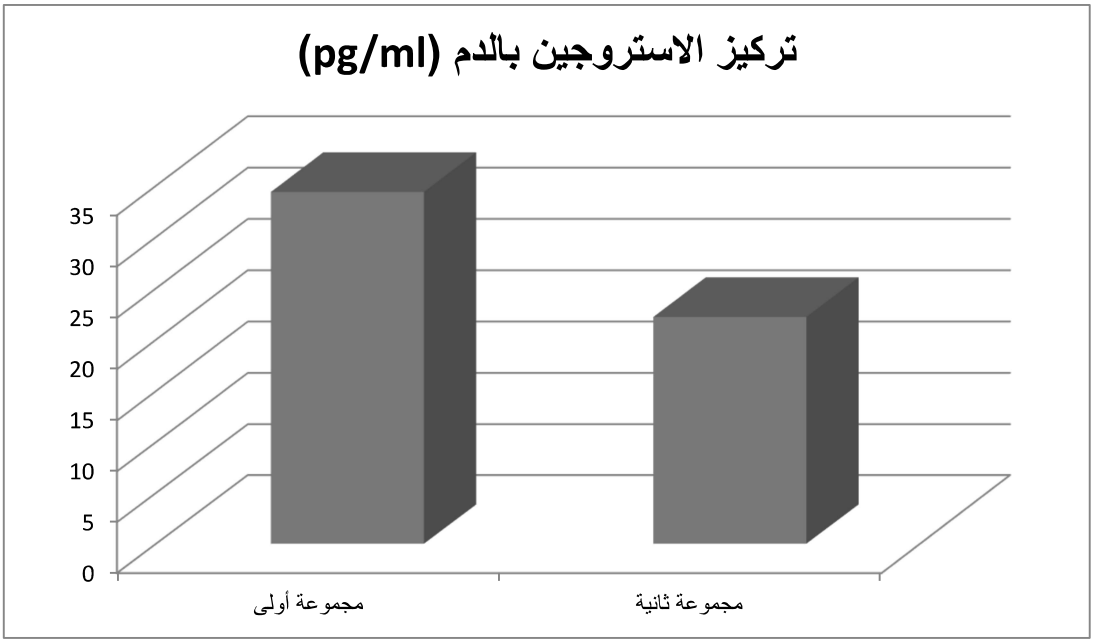
2- مستوى الاستروجين في مصل الدم:

أظهرت نتائج تحليل العينات الدموية عند قياس مستوى تركيز الاستروجين في مصل الدم لكلا المجموعتين انخفاض معنوي لدى إناث المجموعة الثانية بالمقارنة مع مستوى تركيز الاستروجين لدى إناث المجموعة الأولى السليمة و كانت قيمة ($P < 0.05$).حيث كان تركيز الاستروجين في الإناث السليمة 34.38بيكوغرام/مل بينما أظهرت نتائج تحليل العينات أن تركيز الاستروجين في إناث المجموعة الثانية 22.20بيكوغرام/مل كما هو مبين في الجدول رقم (2) و المخطط رقم (2).

يظهر الجدول رقم (2) : نتائج مستويات الاستروجين في مصل الدم (بيكوغرام/مل)

تركيز الاستروجين في الدم (بيكوغرام/مل)						
المجموعات	العدد	المتوسط الحسابي	الانحراف المعياري	الخطأ المعياري	أصغر قيمة	أكبر قيمة
المجموعة الأولى	10	34.38	0.66	0.21	33.4	35.2
المجموعة الثانية	10	*22.20	1.03	0.33	20.7	23.6

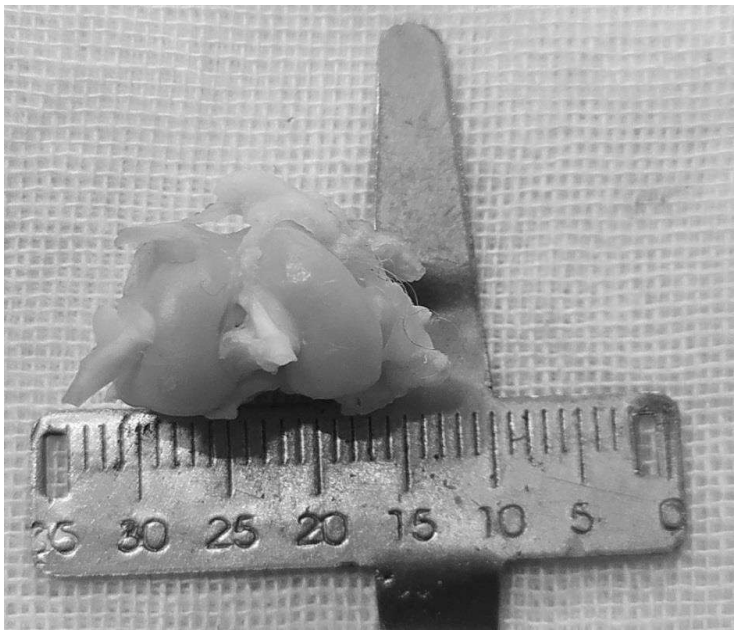
يدل الرمز * على وجود فرق معنوي في حال اختلافها ضمن نفس العمود عند مقارنة متوسطات المتغير المدروس ما بين مجموعات الدراسة حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند ($P < 0.05$).



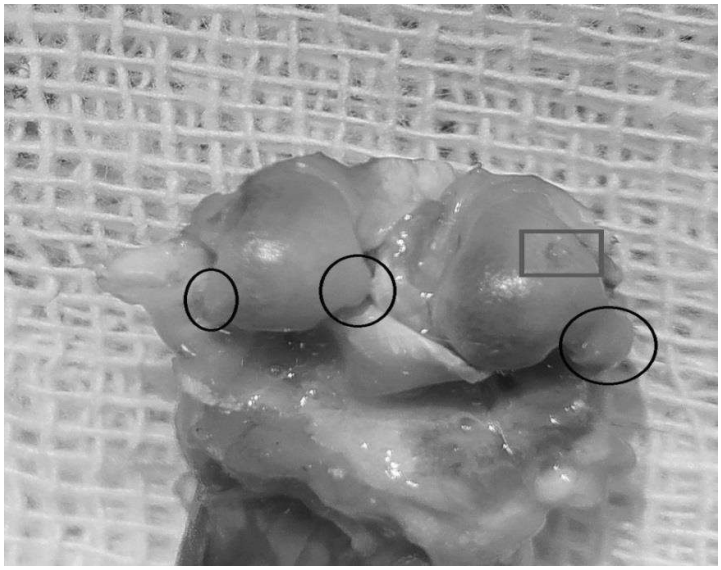
المخطط بياني رقم (2): يبين وجود فرق معنوي بالمقارنة بين متوسطات تركيز الاستروجين بالدم لكلا مجموعتي التجربة.

3- التشريح العياني لمفصل الركبة: أظهر الفحص العياني للنهاية القاصية (السفلية) لعظم الفخذ في منطقة اللقم الفخذية المشكلة لمفصل الركبة والمقابلة لعظم القصبة لدى حيوانات المجموعة الثانية وجود تأكل في سطح الغضروف المفصلي بنسبة60% من العينات بينما ظهرت بداية تشكل نموات عظمية بنسبة 40% مع تعرج وخشونة واضحة في منطقة التنكس الغضروفي الظاهرة باللون الأحمر نتيجة الالتهاب الميكانيكي (الرضحي) الناجم عن الاحتكاك بالمقارنة مع المجموعة السليمة التي تظهر بنية سليمة مع لمعان واضح دون أي تغير والذي يوضح في الأشكال رقم3و4.

.



الشكل رقم (3): النهاية القاصية لعظم الفخذ المشكل لمفصل الركبة لدى حيوانات المجموعة الأولى يظهر البنية السليمة مع لمعان واضح للغضروف المفصلي.



الشكل رقم (4): النهاية القاصية لعظم الفخذ لدى حيوانات المجموعة الثانية الخاضعة للاستئصال الجراحي للرحم والمبايض يظهر وجود نموات عظمية نتيجة التنكس والضغط الاحتكاكي لسطح التمفصل(دوائر سوداء) مع انخفاض وتعرج على سطح الغضروف المفصلي (مربع أحمر).

5. المناقشة Discussion:

تعد هذه الدراسة هي الأولى التي تجري في سورية والتي تتناول تأثير الأستروجين في تطور تنكس المفاصل بما فيها الغضروف المفصلي و العظم، كما يتناول موضوع سن اليأس لدى النساء والدور الاستتبابي للأستروجين كهرمون أنثوي في الحفاظ على سلامة مفصل الركبة لذلك تم اختيار الارانب كحيوانات تجربة مخبرية لإجراء البحث نظراً لأن الأرنب استثمرت كنماذج بحثية على نطاق واسع في دراسة تنكس المفاصل وترميم الغضاريف ولاختبار فعالية المركبات في ذلك كالغلوكوزامين و المركبات الستيروئيدية و المعالجة التعويضية بالاستراديول (Cope *et al.*, 2019) بالرغم من الاختلافات الوظيفية والهيكلية بالمقارنة مع البشر فمفصل الركبة عند الأرانب تبقى في حالة ثني أكثر وطريقة المشي تختلف فهي لا تخطو فقط وإنما تقفز أيضاً (Proffen *et al.*, 2012).

أظهرت نتائج هذه الدراسة انخفاض تركيز كالسيوم الدم لدى الإناث المستأصلة المبايض بالمقارنة مع المجموعة السليمة وهذا يشير الى علاقته بمستوى هرمون الاستروجين المنخفض في الدم نتيجة عملية الاستئصال، يمتلك الاستروجين مستقبلات عديدة تنتشر في العديد من أنسجة وخلايا الجسم ومنها الخلايا العظمية على وجه الخصوص التي تمتلك مستقبلات الفا وبيتا الأستروجينية (Braidman *et al.*, 2001) ويعد الأستروجين أحد أهم منظمات التوازن بين بناء العظم وارتشافه وهذا يتوافق مع ما أكده ليرنر في تجربته(Lerner *et al.*, 2006) حيث إن انخفاض الاستروجين بالدم يسبب اضطراب توازن بناء العظم و تقويضه مما يدعو الخلايا الناقضة للعظم لزيادة ارتشاف العظم الامر الذي يسبب هشاشة في العظام مترافقة بانخفاض تركيز الكالسيوم بالدم وهذا ما نوهت اليه الدراسات التي أجريت مؤخراً فالنساء بعد الـ 50 أكثر عرضة من الرجال للإصابة بهشاشة العظام وتنكس المفاصل(Oliveria *et al.*, 1995) كما وجد أن الاستروجين يزيد من امتصاص الكالسيوم بشكل مباشر وغير مباشر عن طريق تحفيز نشاط أنزيم هيدروكسيلاز 1-α في

الكلى أما انخفاضه يؤدي إلى تقليل امتصاص الكالسيوم(McIlroy *et al.*, 1999). أثبتت دراستنا انحدار هرمون الاستروجين في حيوانات المجموعة الثانية الخاضعة للاستئصال الجراحي بالمقارنة بالإناث السليمة، وكما هو معروف أن المبايض هي المصدر الرئيس للاستروجين في مصل الدم مع العلم أن الاستروجين يفرز أيضا من أماكن أخرى كقشرة الكظر و النسيج الشحمي ولكن بكميات قليلة. بعد توقف وظيفة المبيض ينتج الجسم كميات صغيرة من هرمون الاستروجين عن طريق تحويل هرمونات تسمى الأندروجينات المفرزة من الغدد الكظرية الموجودة فوق الكليتين إلى هرمون الاستروجين دونما زيادة في الإفراز لمعاوضة نقص تركيز استروجين مصل الدم الناجم عن توقف المبايض أو الاستئصال الجراحي. أما عملية تحول الأندروجين الى استروجين يعد أنزيم الأروماتيز المسؤول المباشر عنها،وهنا يجب الإشارة الى أن دور الاستروجين المفرز سابقاً كعامل صماوي والمصاحب لاستمرار عمل المبايض وظيفياً يتحول مع توقف وظيفة المبايض وتغير مصدره بعيداً عن الاعضاء التناسلية الى عامل نظير صماوي يؤثر موضعياً بالأنسجة المجاورة فقط(Simpson, 2003).

كما أظهرت الدراسة التشريحية للتراكيب المفصلية عيانياً لدى حيوانات المجموعة الثانية وجود تنكس واضح على سطح الغضروف المفصلي تجلى بظهور خشونة مع تعرجات و تأكل السطح الغضروفي الاملس والناعم في حالته الطبيعية لدى حيوانات المجموعة الاولى، ترافقت هذه الخشونة بنموات عظمية في أماكن التأكل فانخفاض الأستروجين المتلازم بانخفاض كالسيوم الدم واضطراب التوازن بين عملية بناء العظم وارتشافه تستدعي حدوث تبدلات في عملية تجدد العظم تحت الغضروف وبنيته وهذا ربما يسهم في اختلال توزع الحمل على السطح المفصلي وبالتالي حدوث أذية غضروفية (Botter *et al.*, 2006). أشارت العديد من الأبحاث إلى وجود مستقبلات استروجينية على الخلايا الغضروفية لغضروف المفصل من النمطين الفا وبيتا وتعد الخلايا الغضروفية هي النوع الخلوي الوحيد الموجود في نسيج الغضروف المفصلي ويتلخص دورها في الحفاظ على سلامة المادة خارج الخلوية عن طريق تصنيع وانتاج كولاجين وبروتيوغليكان المادة خارج خلوية وهذا يتوافق مع دراسة أثبتت دور الاستروجين في تحفيز الخلايا الغضروفية في تخليق بروتوغليكانات المادة خارج خلوية (Cheng *et al.*, 2003) وكذلك دوره في كبح الإجهاد التأكسدي المحدث من تفاعلات الاوكسجين النوعية (Sciore *et al.*, 1998) بالإضافة الا أن الغضروف المفصلي نسيج لا وعائي و يعتمد على السائل الزليلي و العظم تحت الغضروف في الحصول على المغذيات وهذه حقيقة لا يمكن تجاهلها كما يلعب النسيج العظمي المستلقي تحت الغضروف المفصلي دوراً في نقل العوامل الالتهابية كالسيتوكينات التي تتحرر في النسيج الغضروفي الأمر الذي من الممكن أن يحدث أذية نسيجية من خلال تحفيز أنزيم الميتالوبروتيناز المحلل لبروتين كولاجين مطرق الغضروف وكذلك أنزيمات الاغريكانز الحالة للمطرق ويمنع تخليق الغلوكوزامينوغليكان(Vincenti and Brinckerhoff, 2002) .

6. الاستنتاجات Conclusions:

توفر هذه الدراسة بعض المؤشرات التي يمكن أخذها بعين الاعتبار عن دور الاستروجين في الحفاظ على سلامة المفصل الزليلي ويمنع تنكسه كما يقدم تفسيراً لزيادة تعرض النساء عند الوصول لسن اليأس للأذية المفصلية ويفتح الباب لدراسات لاحقة تتناول طريقة المعالجة البديلة أو التعويضية بالأستروجين وهل من الممكن أن تكون أحد البدائل العلاجية مستقبلاً.

7. التوصيات Recommendations:

إن نتائج هذه الدراسة تحتاج الى دلائل أخرى تدعم وتعزز دور الاستروجين في الحفاظ على سلامة المفصل الزليلي لذلك نوصي :

1-استخدام الكيمياء المناعية النسيجية لوسم المستقبلات الاستروجينية على كل من الخلايا الغضروفية و العظمية .

2- قياس تركيز الغلوكوزامين في السائل الزليلي وعلاقته بانخفاض تركيز استروجين الدم.

3- دراسة المعالجة التعويضية بالاستروجين كأحد البدائل العلاجية لمرضى تنكس المفاصل.

8.المراجع References:

1. **Anderson, K. L., O'Neill, D. G., Brodbelt, D. C., Church, D. B., Meeson, R. L., Sargan, D., ... & Collins, L. M. (2018). Prevalence, duration and risk factors for appendicular osteoarthritis in a UK dog population under primary veterinary care. Scientific reports, 8(1), 5641.**
2. **Mescher, A.L. (2010). Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas. 12th Edition.McGraw Hill Companies, New York, PP: 166-170.**
3. **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.**
4. **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.**
5. **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.**
6. **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.**
7. **Sharma, L., Eckstein, F., Song, J., Guermazi, A., Prasad, P., Kapoor, D., ... & Dunlop, D. (2008). Relationship of meniscal damage, meniscal extrusion, malalignment, and joint laxity to subsequent cartilage loss in osteoarthritic knees. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*, *58*(6), 1716-1726.**
8. **de Klerk, B. M., Schiphof, D., Groeneveld, F. P., Koes, B. W., van Osch, G. J. M., van Meurs, J. B., & Bierma-Zeinstra, S. M. (2009). No clear**

association between female hormonal aspects and osteoarthritis of the hand, hip and knee: a systematic review. *Rheumatology*, *48*(9), 1160-1165.

9. 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

10. 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.

11. Proffen, B., Vavken, P., & Dorotka, R. (2013). Surgical management of osteoarthritis. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, *163*, 243-250.

12. 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.

13. Lerner, U. H. (2006). Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis. *Journal of dental research*, *85*(7), 584-595

14. 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.

15. McIlroy, J., Dryburgh, F., Hinnie, J., Dargie, R., & Al-Rawi, A. (1999). Lesson of the week Oestrogen and calcium homeostasis in women with hypoparathyroidism. *BMJ*, *319*(7219), 1252-1253.

16. Simpson, E. R. (2003). Sources of estrogen and their importance. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, *86*(3-5), 225-230.

17. Botter, S. M., Van Osch, G. J. V. M., Waarsing, J. H., Day, J. S., Verhaar, J. A. N., Pols, H. A. P., ... & Weinans, H. (2006). Quantification

of subchondral bone changes in a murine osteoarthritis model using micro-CT. *Biorheology*, *43*(3-4), 379-388.

18. Cheng, H., Jiang, W., Phillips, F. M., Haydon, R. C., Peng, Y., Zhou, L., ... & He, T. C. (2003). Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *JBJS*, *85*(8), 1544-1552.
19. 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.
20. 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.