مطالعه هیستوپاتولوژیکی تغییرات ناشی از استئوپروز پس از ایجاد پوکی استخوان تجربی از طریق اواریکتومی در موش صحرایی

داریوش مهاجری[1*]، مهران مسگری[2]، علی رضایی[3]، امین بلیلا[4]

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
۲. مرکز تحقیقات دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۳. گروه بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
٤. دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات *daryoushmohajeri@yahoo.com*
(دریافت مقاله: ۸٦/۲/٤ ، پذیرش نهایی: ۸٦/۸/۲۰)

چکیده

به منظور مطالعه آسیب شناسی بافتی پوکی استخوان در دوران یائسگی، ۸۰ سر موش صحرائی ماده از نژاد *Sprague-Dawley* با سن تقریبی ۱۰ هفته انتخاب و در ۱۰ گروه ۸ تایی توزیع شدند. یک گروه (C0) به عنوان شاهد روز صفر، سه گروه (S1، S2 و S3) به‌عنوان گروه‌های کنترل جراحی(Sham)، سه گروه (T1، T2 و T3) به عنوان گروه‌های تیمار و سه گروه (C1، C2 و C3) نیز به عنوان گروه‌های کنترل تیمار انتخاب شدند. شرایط تغذیه و نگه‌داری برای تمام گروه‌ها یکسان در نظر گرفته شد. در گروه‌های تیمار (T1، T2 و T3) تخمدان‌ها به‌طور کامل از رهیافت تهیگاه چپ و راست برداشته شد و درگروه‌های کنترل جراحی (S1، S2 و S3) فقط عمل برش دیواره محوطه بطنی انجام شد. گروه‌های تیمار (T1، T2 و T3) به ترتیب پس از ۵، ۱۲ و۲۱ هفته بعد از عمل برداشت تخمدان‌ها هم‌زمان با گروه‌های کنترل مربوطه (C1، C2 و C3) یوتانایز گردیدند. پس از انجام کالبدگشایی، استخوان‌های درشت‌نی و ران به‌طور کامل برداشته شدند که پس از پایدار شدن در فرمالین بافری ۱۰ درصد و کلسیم‌زدایی، مقاطع آسیب شناسی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین تهیه گردید. در مشاهدات ریزبینی، وقوع استئوپروز در گروه‌های T2 و T3 کاملاً واضح و شدت بروز آن در گروه T3 خیلی بیشتر بود. همچنین از لحاظ آماری اختلاف بین گروه‌های اواریکتومی شده (T1، T2 و T3) از لحاظ شدت بروز پوکی استخوان با ۹۹ درصد اطمینان معنی‌دار بود (P<۰/۰۱). اختلاف معنی‌داری بین گروه T1 و هیچ یک از گروه‌های کنترل مشاهده نشد.

مجله علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، ۱۳۸٦، دوره ۱، شماره ۲، ۱۰۷- ۹۷
کلمات کلیدی: اواریکتومی، پوکی استخوان، آسیب شناسی بافتی، موش صحرایی.

مقدمه

استئوپروز یا پوکی استخوان نوعی تغییر پاتولوژیک در استخوان‌های بدن می‌باشد که با کاهش توده استخوانی، تخریب فراساختار بافت استخوان و در هم ریختن اجزا تشکیل دهنده آن مشخص می‌شود (۲۸). پوکی استخوان شایع‌ترین بیماری استخوانی در انسان به‌ویژه در سنین پیری است. مهمترین وجه تشخیص پوکی استخوان این است که ماده معدنی و ماتریکس استخوان همزمان کاهش می‌یابد، به‌طوری‌که توده استخوانی کم می‌شود ولی ترکیب استخوان طبیعی است. پوکی استخوان عامل خطر برای شکستگی‌های استخوانی به شمار می‌رود. پوکی استخوان بیماری شایعی است که زنان و مردان به آن مبتلا می‌گردند ولی نسبت ابتلای زنان بیشتر از مردان است. پوکی استخوان به‌عنوان یک مسئله بهداشت عمومی باعث حدود ۱/۳ میلیون مورد شکستگی استخوان و موجب صرف هزینه‌ای بالغ

بر ۱۰ میلیون دلار در سال در ایالات متحده شده است. با وجود اینکه در بیشتر بیماران مبتلا به کاهش تراکم استخوان عامل آشکاری در ارتباط با این بیماری وجود ندارد، اما عوامل بسیاری وجود دارد که فرم ثانویه این بیماری را ایجاد می‌نمایند. این عوامل شامل تعدادی از درمان‌های دارویی و برخی اختلالات بالینی از قبیل پرکاری غدهٔ پاراتیروئید، افزایش کورتیزول به‌صورت درون‌زا یا برون‌زا و تعدادی از اختلالات گوارشی می‌باشد (۲۰).

اگر چه استئوپروز بعد از وقوع به‌طور قطعی قابل درمان نیست، اما با روش‌های موجود می‌توان از ایجاد و گسترش آن جلوگیری نمود و خطر شکستگی‌های ناشی از آن‌را کاهش داد (۲۸). تحقیقات Stephan و همکاران (۲۰۰۳) در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده مبتلا به استئوپروز مشخص نموده است که جایگزین نمودن هورمون استروژن در این موش‌ها مانع از پوکی استخوان شده و یا باعث کاهش شدت آن می‌گردد (۲۹). مطالعه‌ای مشابه توسط Takehiko و همکاران (۲۰۰۱) مشخص نموده است که جایگزین کردن استروژن‌ها مانع از کاهش توده استخوانی در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده می‌گردد (۳۰). Watkins و همکاران (۲۰۰۵) نیز نتایج مشابهی را در این زمینه ارائه داده‌اند (۳۲). مشخص شده است که دریافت میزان کافی کلسیم، تغذیه مناسب و فعالیت‌های فیزیکی راه‌کار خوبی برای پیش‌گیری از پوکی استخوان در زمان پیری است (٦).

در این مطالعه، آسیب شناسی بافتی استئوپروز با القاء تجربی آن از طریق اواریکتومی، جهت ارائه مدلی از تغییرات ناشی از پوکی استخوان در زنان یائسه و مسن مد نظر است تا شاید بتوان با استفاده از الگوی ارائه شده راهکارهایی را در جهت پیشگیری از ابتلاء افراد مستعد به پوکی استخوان و همچنین مراقبت و درمان مبتلایان ارائه نمود.

مواد و روش‌کار

جهت انجام مطالعه حاضر، ۸۰ سر موش صحرائی از نژاد Sprague-Dawley، همگی ماده و سالم با سن تقریبی ۱۰ هفته و با وزن ۱۰± ۱۱۵ گرم (میانگین± انحراف معیار) از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه و در ۱۰ گروه ۸ تایی توزیع گردیدند. شرایط تغذیه و نگه‌داری برای همه موش‌ها یکسان در نظر گرفته شد. موش‌ها در قفس‌های مخصوص و در بستری از پوشال و در دمای۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد با ۱۲:۱۲ ساعت تاریکی- روشنایی نگه‌داری شدند. پس از یک هفته عادت به وضعیت جدید، مطالعه روی آن‌یا انجام گرفت. یک گروه (C0) به عنوان شاهد روز صفر، سه گروه (S1، S2 و S3) به عنوان گروه‌های کنترل جراحی (Sham)، سه گروه (T1، T2 و T3) به‌عنوان گروه‌های تیمار و سه گروه (C1، C2 و C3) نیز به‌عنوان گروه‌های کنترل تیمار انتخاب شدند. در گروه‌های تیمار (T1، T2 و T3) تخمدان‌ها به‌طور کامل برداشته شد و درگروه‌های کنترل جراحی (S1، S2 و S3) فقط عمل برش دیواره محوطه بطنی انجام شد. برای انجام عمل جراحی، بعد از ۳ ساعت پرهیز غذایی، حیوانات مذکور به اتاق مخصوص جراحی منتقل گردیدند. موش‌ها در محفظه حاوی اتر مهار شده و با استفاده از داروهای کتامین (Ketamine Hydrochloride, Rotex Medica, Germany) به مقدار ۷۵ mg/kg و دیازپام (Diazepam, Kimiafam, Iran) به‌میزان ۵mg/kg به روش تزریق داخل صفاقی بیهوش گردیدند. بعد از مقید شدن در میز مخصوص، موضع عمل تراشیده و با بتادین ۱۰ درصد (Povidone Iodine 10%, Najo, Iran) استریل شد. عمل جراحی بر اساس توصیه منابع از ره‌یافت تهیگاه سمت چپ و راست اجراء گردید (۱۵). بعد از برش جراحی، تخمدان‌ها با نخ کرومیک دو صفر قابل جذب (Chromic absorbable 2/0, D-tek, Malaysia) لیگاتور زده شدند و همراه با مقداری ازچربی‌های اطراف و قسمتی از لوله‌های تخم‌بر برداشته

شدند، سپس عضلات عرضی شکم، مورب داخلی و مورب خارجی در محل برش با استفاده از نخ کرومیک دو صفر قابل جذب (Chromic absorbable, 2/0, D-tek, Malaysia) به‌صورت ساده منفرد و پوست محل برش با استفاده از نخ سیلک یک صفر قابل جذب (Supasil 1/0, Supa, Iran) به‌صورت ساده منفرد بخیه گردید. پس از انجام جراحی به تمام موش‌ها جیره غذایی یکسان به‌میزان 150g/kg/day داده شد و آب به‌طور آزاد در دسترس قرار گرفت (جدول ۱).

جدول۱- ترکیب جیره غذایی موش‌ها

محتویات جیره غذایی	
حبوبات	۸۸/۵ درصد
پروتئین گیاهی	٦ درصد
روغن دانه سویا	۰/۵ درصد
ویتامین‌ها، املاح و اسیدهای آمینه	۲/۵ درصد
پروتئین حیوانی	۲/۵ درصد
کلسیم	۰/۷۱ درصد
ویتامین D3 ٦۰۰ IU/kg و فسفر	۰/۵ درصد

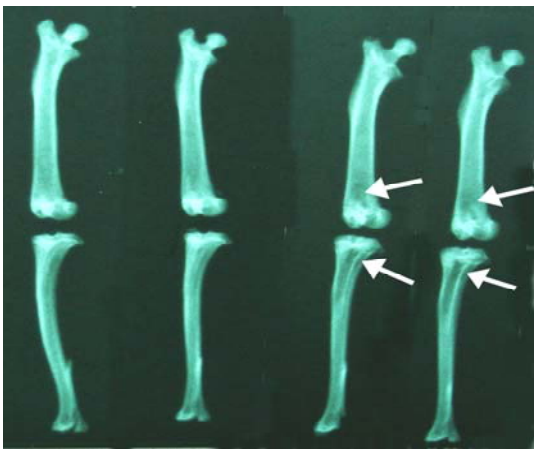
گروه (C0) در زمان شروع مطالعه و گروه‌های تیمار (T1، T2 و T3) همراه با گروه‌های کنترل مربوطه به ترتیب پس از ۵، ۱۲و۲۱ هفته بعد از عمل برداشت تخمدان‌ها در محفظه حاوی اتر یوتانایز گردیدند. لازم به ذکر است که جهت کنترل بروز و پیشرفت پوکی استخوان از استخوان‌های درشت‌نی و ران موش‌ها در وضعیت شکمی - پشتی (Ventro- dorsal) رادیوگراف‌هایی(توسط دستگاه پارس پاد 500 mA و تیوپ اوریون امریکایی، با مشخصات 50mA, 0.035 , 34kv) تهیه شد. پس از انجام کالبد گشایی استخوان‌های درشت‌نی و ران به‌طور کامل برداشته شدند و پس از پایدار شدن در فرمالین بافری ۱۰ درصد، با استفاده از محلول اسید نیتریک کلسیم‌زدایی شدند. از نمونه‌های فوق با استفاده از شیوه‌های رایج پاساژ بافت و تهیه مقطع، برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه و با هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع به‌دست آمده به ترتیب با درشت‌نمایی پایین (۱۰×) و بالا (٤۰×) از لحاظ آسیب‌شناسی بافتی مورد بررسی قرار گرفتند. برای تعیین شدت بروز پوکی استخوان نیز مقاطع مذکور با روش Lines Intersection Latticed و با استفاده از عدسی چشمی مشبک (Ocular Latticed Lens) مدل نیکون (Nikon) مورد مطالعه قرار گرفتند. ابتدا کل سطح مقطع مورد مطالعه و سپس مناطقی که به‌طور مشخصی دارای اجزاء بافت استخوانی بودند، اندازه‌گیری شدند. آنگاه با استفاده از فرمول تراکم حجمی ($\frac{X}{IP}\times 100$ ، تعداد تقاطع روی محل مورد نظر=**X** ، تعداد کل تقاطع در طرح=**PI**) نسبت توده استخوانی در هر گروه محاسبه و با گروه شاهد و سایر گروه‌ها مقایسه گردید.

نتایج حاصل از مشاهدات ریزبینی با استفاده از آزمون‌های ناپارامتری کروسکال‌والیس (The Kruskal-Wallis Test) و یو- من ویتنی (The Mann-Whitney U Test) از لحاظ آماری نیز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به منظور تائید تاثیرات فیزیولوژیک اواریکتومی بر بدن، تغییرات رحم از لحاظ آتروفی در موش‌ها با اندازه‌گیری قطر شاخ‌های رحم مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه موارد اخلاقی مورد تائید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز قرار گرفت.

نتایج

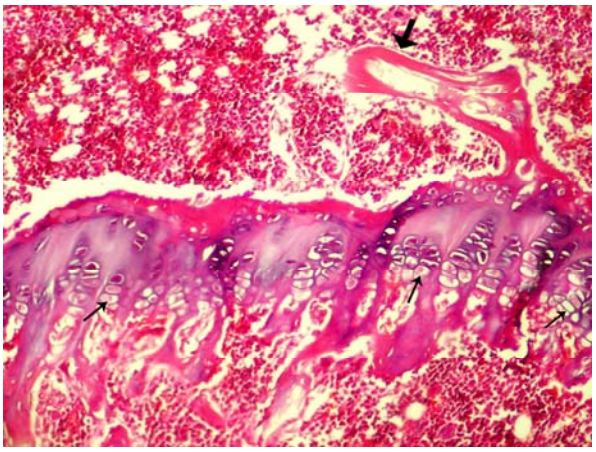
در بررسی‌های رادیولوژی، تفاوت قابل ملاحظه‌ای از لحاظ استئوپروز، در داخل و بین هیچ یک از گروه‌های کنترل و گروه تیمار ۵ هفته بعد از اواریکتومی مشاهده نشد. عمده تفاوت در بین گروه‌های تیمار ۱۲ و ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی، با کل گروه‌های کنترل و گروه تیمار ۵ هفته بعد از اواریکتومی بود (نگاره ۱). در مشاهدات ریزبینی، ضخامت استخوان متراکم

کورتیکال در گروه‌های تیمار ۱۲ و ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی کاهش یافته بود و در اکثر مناطق میزان تخلخل آن به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته بود (نگاره‌های ۲ و ۳). کاهش توده استخوانی به‌طور عمده در قسمت متافیز انتهای تحتانی استخوان ران و متافیز انتهای فوقانی درشت‌نی مشاهده گردید. نواحی جذب و تحلیل استخوان توسط استئوکلاست‌ها و جایگزینی آن توسط بافت همبند فیبروز کاملاً مشخص بود (نگاره‌های ٤ تا ۸). بیشترین میزان استئوپروز در گروه ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی مشاهده گردید (جدول۲). لازم به ذکر است که از لحاظ آماری، اختلافات در شدت میزان استئوپروز در بین گروه‌های تیمار ۱۲ هفته و ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی با گروه‌های کنترل و شاهد روز صفر، با ۹۹ درصد اطمینان، معنی‌دار بود ($P<0/01$)، لکن اختلاف معنی‌داری بین گروه تیمار ۵ هفته بعد از اواریکتومی با گروه‌های کنترل و شاهد روز صفر مشاهده نشد ($P<0/05$).

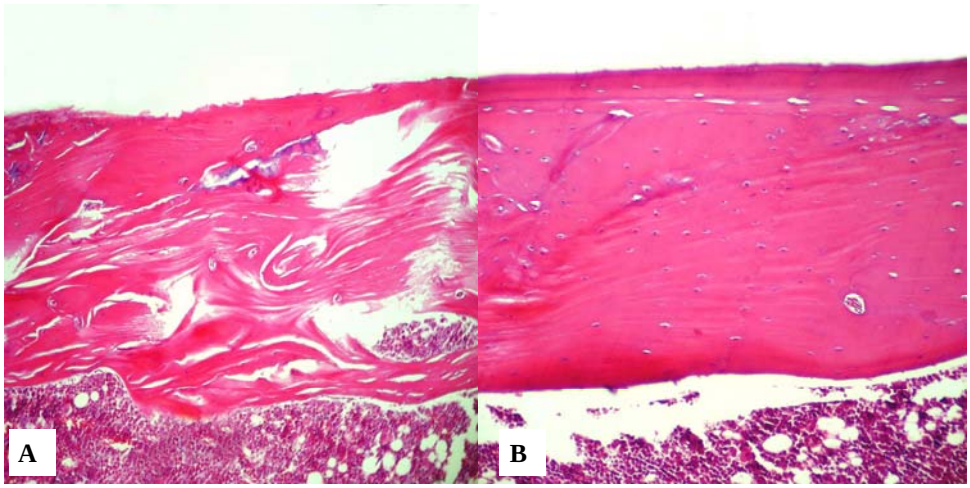


0C 5W 12W 15W

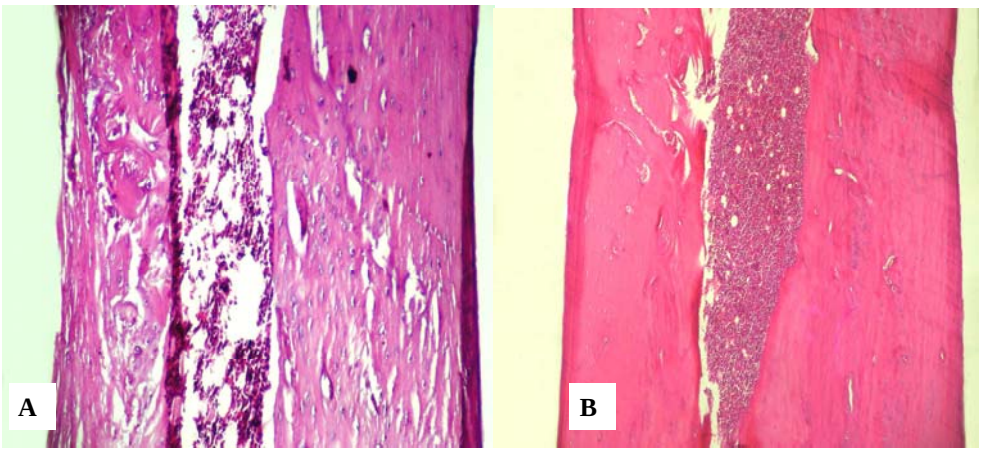
نگاره۱- رادیوگراف، کاهش تراکم در متافیز انتهای تحتانی استخوان ران و متافیز انتهای فوقانی درشت‌نی را در گروه‌های ۱۲ هفته و ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی به‌صورت افزایش خاصیت هدایت و نفوذ پرتو در نواحی پری‌آرتیکولر نشان می‌دهد.



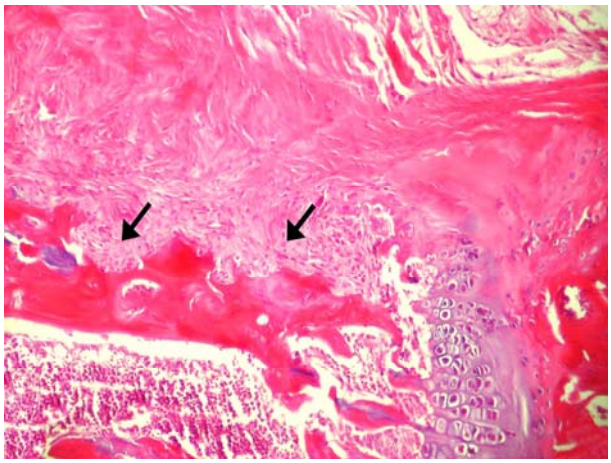
نگاره۲- نمای ریزبینی از قسمت صفحه رشد انتهای فوقانی استخوان درشت‌نی، ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی. باریک شدن صفحه رشد، دژنره شدن کندروسیت‌ها و فقدان کندروسیت‌های هیپرتروفیک (فلش‌های باریک) و کاهش قابل توجه تشکیل تیغه‌های استخوانی در مناطق اپی‌فیزی و متافیزی مجاور آن، مشخص می‌باشد. به تشکیل اتفاقی یک تیغه استخوانی به‌صورت ناقص (فلش ضخیم) در سمت اپی‌فیزی صفحه رشد توجه فرمائید (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین، بزرگنمایی ۱۲۰ ×).



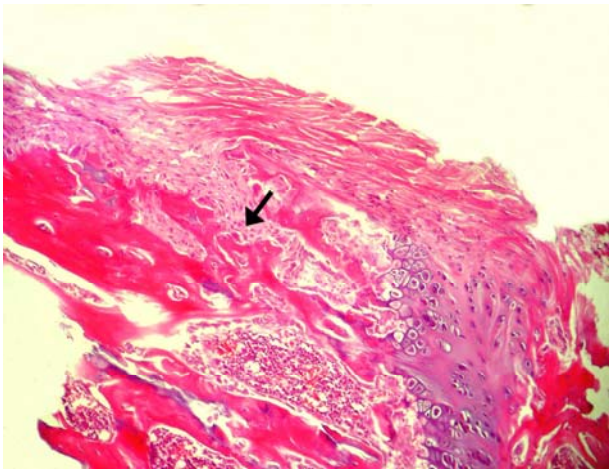
نگاره۳- نمای ریزبینی از وقوع استئوپروز در دیافیز استخوان ران ۱۲ هفته بعد از اواریکتومی (A) در مقایسه با دیافیز استخوان ران شاهد۱۲ هفته (B) (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین،بزرگنمایی ۲۵۰×).



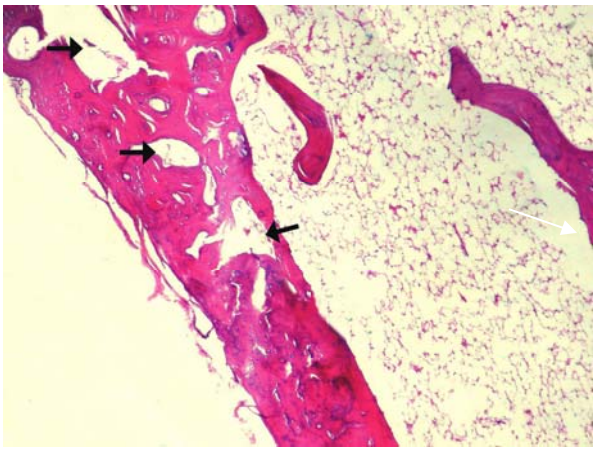
نگاره٤- منظره ریزبینی از وقوع استئوپروز در قسمت دیافیز استخوان درشت نی ۲۱ هفته بعد از اوریکتومی (A) در مقایسه با دیافیز استخوان درشت نی شاهد ۲۱ هفته (B). به کاهش ضخامت و افزایش تخلخل در استخوان متراکم کورتیکال مربوط به گروه تیمار ۲۱ هفته بعد از اوریکتومی (A) توجه فرمائید (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۲۵۰×).



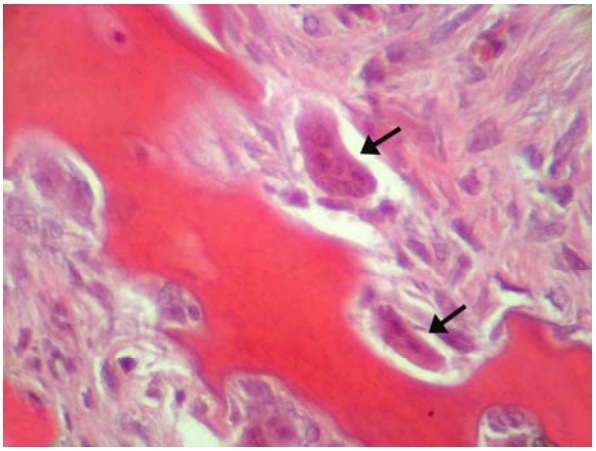
نگاره۵- نمای ریزبینی از قسمت متافیز انتهای فوقانی درشت‌نی، ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی. به کاهش تیغه‌های استخوانی (فلش) و جایگزینی آن توسط بافت همبند فیبروز توجه شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۲۵۰×).



نگاره۷- نمای ریزبینی از قسمت متافیز انتهای تحتانی استخوان درشت‌نی ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی. به کاهش تیغه‌های استخوانی و جایگزینی آن توسط بافت همبند فیبروز (فلش) توجه شود (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ۲۵۰×).



نگاره٦- منظره ریزبینی از کاهش توده استخوانی در متافیز انتهای تحتانی استخوان ران (فلش) ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ٦۰×).

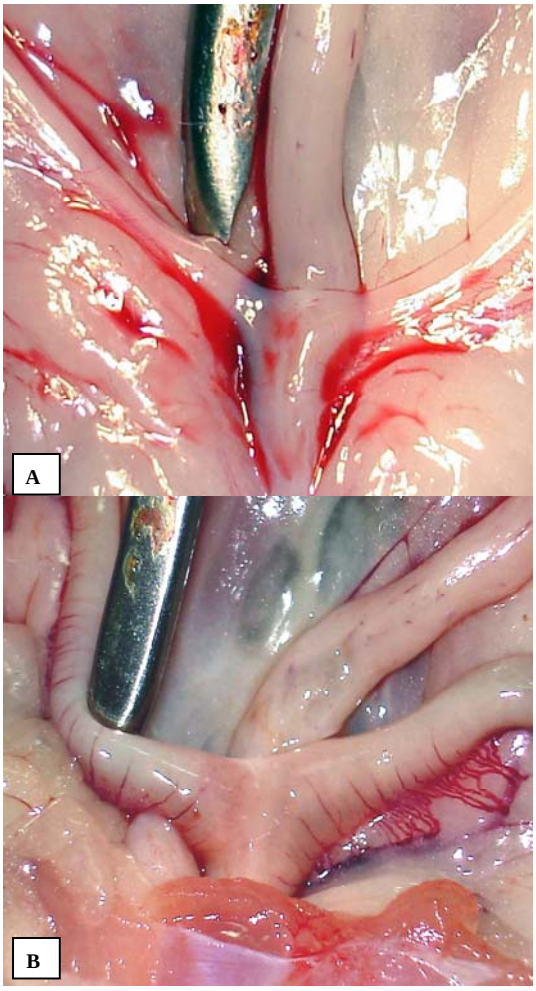


نگاره۸- نمای ریزبینی از حضور استئوکلاست‌ها (فلش‌ها) در منطقه استئوپروز (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین، بزرگنمایی ٦۰۰×).

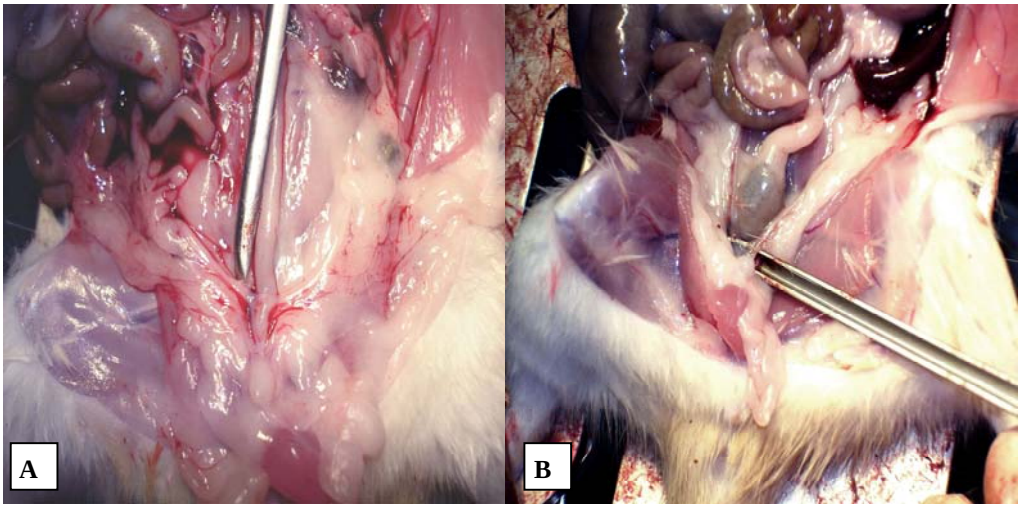
جدول۲- شدت بروز پوکی استخوان در گروه‌های تیمار ۵ ، ۱۲ و ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی (درصدهای ذکر شده نشانگر میزان بروز پوکی استخوان در مقایسه با گروه‌های شاهد می‌باشد).

تیمار ۵ هفته بعد از اواریکتومی	تیمار ۱۲ هفته بعد از اواریکتومی	تیمار ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی
٪۳	٪۲۸	٪٤۷
٪۳	٪۳۰	٪۵۵
٪۲	٪۳۱	٪٦۰
٪۲	٪۲۹	٪٦۳
٪۳	٪۳۰	٪۵۲
٪٤	٪۳۲	٪٤۹
٪۲	٪۲۹	٪٤۸
٪۲	٪۲۸	٪٦۱

مقایسه رحم موش‌ها از لحاظ مورفولوژی، حاکی از تغییرات آتروفیک رحم متعاقب اواریکتومی دوطرفه بود (نگاره‌های ۹ و ۱۰) ، به‌طوری که رحم موش‌های گروه‌های ۱۲ هفته و ۲۱ هفته بعد از اواریکتومی (T2 و T3) به شدت دچار آتروفی شده بودند و بیشترین میزان آتروفی در رحم موش‌های گروه T3 (۲۱ هفته بعد از اواریکتومی) مشاهده شد (جدول ۳). اختلاف اندازه در قطر شاخ‌های رحم در گروه‌های فوق با گروه‌های شاهد نیز از لحاظ آماری کاملاً معنی‌دار بود ($P<۰/۰۱$)، لکن اختلاف معنی‌داری بین گروه ۵ هفته بعد از اواریکتومی (T1) و گروه‌های شاهد از این لحاظ مشاهده نگردید.



نگاره۹- نمای ظاهری از تغییرات آتروفیک در رحم موش صحرایی، ۱۲ هفته پس از اواریکتومی دو طرفی (A) در مقایسه با رحم موش صحرایی شاهد ۱۲ هفته (B).



نگاره۱۰- نمای ظاهری از مقایسه تغییرات آتروفیک در رحم موش‌های صحرایی، ۱۲ هفته پس از اواریکتومی دو طرفی (A) و ۲۱ هفته پس از اواریکتومی دو طرفی (B). تغییرات آتروفیک رحم، ۲۱ هفته پس از اواریکتومی دو طرفی بسیار شدیدتر می‌باشد.

جدول۳- اختلاف اندازه میانگین قطر شاخ‌های رحم در موش‌های صحرایی پس از اواریکتومی دو طرفه با موش‌های صحرایی شاهد بر حسب میلی‌متر

۵ هفته بعد از اواریکتومی (T1)	۱۲ هفته بعد از اواریکتومی (T2)	۲۱ هفته بعد از اواریکتومی (T3)
۰/۲ میلی متر	۲/۲ میلی متر	٤/٥ میلی متر
۰/۸ میلی متر	۲/۳ میلی متر	٤/۱ میلی متر
۰/٥ میلی متر	۲/٥ میلی متر	٤ میلی متر
۰/٥ میلی متر	۲/٦ میلی متر	٤/٥ میلی متر
۰/۸ میلی متر	۲/۸ میلی متر	٤/۸ میلی متر
۰/۷ میلی متر	۲/٥ میلی متر	٤/۲ میلی متر
۰/۹ میلی متر	۲/۷ میلی متر	٤/٤ میلی متر
۰/۷ میلی متر	۱/۹ میلی متر	٤/۳ میلی متر

بحث و نتیجه‌گیری

تغییرات آسیب‌شناسی بافتی در این مطالعه، بین گروه‌های (C0) به عنوان شاهد روز صفر، (S1، S2 و S3) به‌عنوان گروه‌های کنترل جراحی (Sham) و (C1، C2 و C3) نیز به‌عنوان گروه‌های کنترل تیمار هیچ اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد (P>۰/۰٥). این نتایج نشان می‌دهد که لاپاراتومی و همچنین مدت زمان مطالعه به‌تنهایی (بدون انجام اواریکتومی)، تأثیری بر روی بافت استخوان در این مطالعه نداشته‌اند.

استئوپروز عارضه بسیار مهم در زنان یائسه می‌باشد که اغلب منجر به بدشکلی مهره‌ها و شکستگی استخوان‌ها می‌گردد. کاهش غلظت استروژن، کاهش فعالیت‌های فیزیکی، کاهش تنوس عضلانی و جذب ناکافی کلسیم از جمله عواملی هستند که در این مورد دخیل هستند. استروژن می‌تواند با تأثیر بر غده پاراتیروئید باعث افزایش ترشح هورمون پاراتورمون از این غده شود. هورمون پاراتورمون نیز در کلیه بر روی آنزیم آلفا یک هیدروکسیلاز اثر کرده و باعث تولید متابولیت فعال ویتامین D (۱ و ۲۵ دی هیدروکسی کوله‌کلسیفرول) می‌شود. این ماده در روده اثر کرده و میزان جذب کلسیم را افزایش می‌دهد. در زمانی که استروژن بدن کاهش پیدا می‌کند، به‌دلیل کاهش میزان متابولیت فعال ویتامین D جذب کلسیم دچار مشکل شده و متعاقب کاهش میزان سرمی کلسیم، میزان

هورمون پاراتورمون افزایش می‌یابد تا بتواند میزان کلسیم سرمی را به حالت طبیعی در آورد. یکی از محل‌های اثر پاراتورمون، بافت استخوانی است که برداشت کلسیم و فسفر را از آن افزایش می‌دهد. کاهش فعالیت‌های فیزیکی منجر به افزایش جذب استخوان و کاهش تولید آن می‌گردد که خود به دلیل تغییراتی است که در فعالیت پیزوالکتریکی (Piezoelectrical activity) و عملکرد گیرنده‌های کششی (Stretch receptors) ایجاد می‌شود (٦).

بر اساس نتایج این بررسی، توده استخوانی متعاقب اواریکتومی نیز کاهش می‌یابد. از نتایج حاصل از این بررسی و مطالعات سایر محققین چنین بر می‌آید که پوکی استخوان متعاقب اواریکتومی یک ضایعه پیش‌رونده بوده و با گذر زمان نیز شدت می‌یابد. همچنین براساس یافته‌های آسیب‌شناسی بافتی این تحقیق مشخص گردید که در طی استئوپروز ضخامت تیغه‌های استخوانی کاهش یافته، نظم آنها به‌هم خورده و تخلخل‌هایی در داخل ورقه‌های استخوانی ایجاد می‌شود که در نهایت این تیغه‌ها به دلیل عدم تعادل در تشکیل استخوان و میزان جذب و تحلیل آن، از بین می روند. فضای قسمت مرکزی استخوان نیز به دلیل جذب و تحلیل آندوستی (Endosteal resorption) در اثر فعالیت بیش از حد استئوکلاست‌ها، با به‌جا گذاشتن استخوان اسفنجی، توسعه می‌یابد که نتیجه نهایی آن کاهش چگالش و افزایش شکنندگی استخوان است. این یافته‌ها با علایم ریزبینی حاکی از استئوپروز، در توفق با نشانی‌ها و شواهد، با نتایج سایر محققین نیز هم‌خوانی دارد (۵، ۹، ۱۸، ۱۹ و۳۳). در بررسی‌هایی که توسط Eriksen و Toombs (۱۹۸۵) بر روی روند ترمیم شکستگی استخوان در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده انجام گردیده، مشخص شده است که ترمیم شکستگی در موش‌های اواریکتومی شده بسیار ضعیف و با تشکیل ترابکول‌های باریک، از هم گسیخته و نامنظم همراه است (۱۰و۳۱). در بررسی انجام شده توسط Gallagher و همکاران (۱۹۹۱) نیز مشخص گردید که تجویز استرادیول بعد از اواریکتومی در خرگوش‌ها باعث مهار کاهش تعداد ترابکول‌ها شده، قطر ترابکول‌ها افزایش و تعداد استئوکلاست‌ها کاهش می‌یابد (۸). در مطالعاتی که توسط Lotz و همکاران (۲۰۰۰) و Saka Kura (۲۰۰٦) انجام شده، تأثیر هورمون‌های جنسی در افزایش دانسیته استخوان مشخص و استروژن به‌عنوان عاملی مؤثر در پیش‌گیری از استئوپروز شناخته شده است (۲۱ و ۲۷). آنچه که مسلم است این است که متابولیسم استخوان در بدن به‌میزان زیادی به متابولیسم مواد معدنی مرتبط است. بنابراین تأثیرات اسکلتی استروئیدها الزاماً به تأثیر این هورمون‌ها بر روی تعادل مواد معدنی ارتباط دارد (٤ و ۷). هنوز هیچ فرضیه عمومی قابل قبولی وجود ندارد که بازگو کننده وقایعی باشد که هنگام رسوب فسفات کلسیم بر روی ماتریکس استخوان روی می‌دهد. آنچه مشخص است این است که کلسیفیکاسیون در اثر رسوب املاح کلسیم بر روی رشته‌های کلاژن ساخته شده توسط استئوبلاست‌ها شروع می‌شود و این پدیده توسط پروتئوگلیکان‌ها و گلیکوپروتئین‌های با میل ترکیبی زیاد نسبت به کلسیم (استئوکلسین و سیالوپروتئین) که توسط استئوبلاست‌ها ساخته می‌شوند، القاء می‌شود. استئوبلاست‌ها همچنین قادرند املاح کلسیم را در وزیکول‌های داخل سیتوپلاسمی خود متمرکز و در هنگام لزوم، محتویات این وزیکول‌ها را در محیط خارج سلولی آزاد نمایند. این امر شاید در رسوب املاح کلسیم تسریع ایجاد نماید. استئوبلاست‌ها همچنین می‌توانند فسفاتاز قلیایی تولید کنند و آن را در مکان‌های استخوان‌سازی عرضه کنند که این مسئله به روشی ناشناخته به کلسیفیکاسیون کمک می‌کند (۱۷). به هر حال چنین بر می‌آید که استئوبلاست‌ها مهمترین نقش را در تولید استخوان بر عهده دارند. بنابر این احتمال آن می‌رود که استروژن‌ها از طریق تحریک استئوبلاست‌ها نیز در تولید استخوان (تولید ماتریکس آلی و کلسیفیکاسیون) دارای نقش باشند. مسلم است که نباید استئومالاسی را با استئوپروز که

پدیده‌ای است غیر وابسته به تغذیه اشتباه کرد. در استئومالاسی به ازای هر واحد از ماتریکس استخوان کاهش مقدار کلسیم وجود دارد، لیکن در استئوپروز کاهش توده استخوانی وجود دارد که در اثر کاهش به‌وجود آمدن استخوان، افزایش جذب استخوان یا هر دو ایجاد می‌شود. به عبارتی دیگر در استئوپروز نسبت مواد معدنی به ماتریکس طبیعی می‌باشد (۱۷). بنابراین در پیش‌گیری یا درمان استئوپروز باید هر دو جنبه ماده بنیادی استخوان یعنی مواد آلی و مواد معدنی آن مد نظر قرار گیرد. بدین جهت، برای پیش‌گیری از وقوع استئوپروز در مورد زنانی که به هر دلیل اواریکتومی شده‌اند و یا اینکه یائسه هستند، توصیه می‌گردد از مواد و ترکیباتی استفاده شود که هم موجب افزیش تولید مواد آلی ماتریکس استخوان می‌شوند و هم باعث معدنی‌شدن آن می‌گردند. مطالعات نشان داده است که استفاده از کلسیم به تنهایی اثرات جزئی بر میزان توده استخوانی دارد، ولی کاربرد هم‌زمان مکمل‌های کلسیم و هورمون‌های جایگزین شونده استروژن بسیار موثرتر می‌باشد (۱، ۲، ۳، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱٤، ۱٦، ۲۲، ۲۳، ۲٤ و۲۵).

فهرست منابع

1. Adami, S., Bufalino, L. and Cervetti, R. (1997): Ipriflavone prevents radial bone loss in postmenopausal women with low bone mass over 2 years. Osteoporos Int. 7:119–25.
2. Agnusdei, D. and Bufalino, L. (1997): Efficacy of ipriflavone in established osteoporosis and long-term safety. Calcif. Tissue Int. 61:S23–7.
3. Avioli, L.V. (1997): The future of ipriflavone in the management of osteoporotic syndromes. Calcif. Tissue Int. 61:S33–5.
4. Brubaker, K.D. and Gray, C.V. (1997): Evidence for plasma membrane estrogen receptors and rapid signaling events in osteoclasts. J. Bone. Miner. Res., 12, pp: 134.
5. Calomme, M., Geusens, P., Demeester, N., Behets, G. J., D'Haese, P., Sindambiwe, J. B., et al. (2006): Partial prevention of long-term femoral bone loss in aged ovariectomized rats supplemented with choline-stabilized orthosilicic acid. Journal of Calcified Tissue International. 78(4): 227-232.
6. Carlton, W.W. and McGavin, M.D. (2002): Thomson's Special Veterinary Pathology, 4th edn. Mosby ,Londn ., pp: 436-437.
7. Dempster, D.W., Birchman, R., Lindsay, R. and Shen, U. (1995): Temporal changes in cancelous bone structure immediately after ovariectomy. Bone, 16, pp: 157-163.
8. Gallagher, J.C., Kable, W.T. and Goldgar, D. (1991): Effect of progestin therapy on cortical and trabecular bone: Comparison with estrogen. Am. J. Med., 90, pp: 171-178.
9. Gallagher, J.C., Riggs, B.L. and DeLuca, H.F.(1980): Effect of estrogen on calcium absorption and serum vitamin D metabolites in postmenopausal osteoporosis. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 51:1359-1364.
10. Eriksen, E.F., Mosekilde, L. and Melsen, F. (1985): Trabecular bone resorption depth deceases with age: Differences between normal males and females. Bone, 6, pp: 141-146.
11. Gambacciani, M., Ciaponi, M. and Cappagli, B. (1997): Effects of combined low dose of the isoflavone derivative ipriflavone and estrogen replacement on bone mineral density and metabolism in postmenopausal women. Maturitas. 28:75–81.
12. Gennari, C., Adami, S. and Agnusdei, D. (1667): Effect of chronic treatment with ipriflavone in postmenopausal women with low bone bass. Calcif Tissue Int. 61:S19–22.
13. Gennari, C., Agnusdei, D. and Crepaldi, G. (1998): Effect of ipriflavone—a synthetic derivative of natural isoflavones—on bone mass loss in the early years after menopause. Menopause. 5(1):9–15.
14. Hanabayashi, T., Imai, A. and Tamaya, T. (1995): Effects of ipriflavone and estriol on postmenopausal osteoporotic changes. Int. J. Gynaecol. Obstet. 51:63–4.
15. Hau, J. (2003): Hand book of laboratory animal science. 2nd ed. CRC press, pp: 112-120.
16. Head, K.A. (1999): Ipriflavone: an important bone-building isoflavone. Altern .Med. Rev. 4(1):10–22.
17. Junqueira, L.C., Carino, J. and Kelley, R.O. (1992): Basi Hitology. 7th ed. Appleton & Lange Company, pp: 189-213.
18. Kim. S.K. and Rhee, M.H. (2003): Studies on the effects of biomedicinal agents on serum concentration of Ca++,P andALP activity in osteoprosis-induced rats. J. Am. Coll. Nutr. 4(2):151-4.

19. Kobayashi, M., Hara, K. and Akiyama, Y. (2002): Effects of Vitamin K2 (Menatetrenone) on Calcium Balance,in Ovariectomized Rats. Jpn. J. Pharmacol. 88, 55 – 61.
20. Lindsay, R. and Cosman, F. (2005): Osteoprosis. In Kasper, Principles of internal medicine. Mc Graw, London. 226-245.
21. Lotz, J.C., Kroeber, M.W., Heilmann, M., Pericherla, K., Kimmel, D., et al. (2000): Tibial plateau fracture as a measure of early estrogen-dependent bone fragility in rats.18, pp: 326-332.
22. Melis, G.B., Paoletti, A.M. and Bartolini, R. (1992): Ipriflavone and low doses of estrogens in the prevention of bone mineral loss in climacterium. Bone Miner. 19:S49–56.
23. Nieves, J.W., Komar, L., Cosman, F. and Lindsay, R. (1998): Calcium potentiates the effect of estrogen and calcitonin on bone mass: review and analysis. Am. J. Clin. Nutr. 67:18–24.
24. Nozaki, M., Hashimoto, K. and Inoue, Y. (1998): Treatment of bone loss in oophorectomized women with a combination of ipriflavone and conjugated equine estrogen. Int. J. Gynaecol. Obstet. 62(1):69–75.
25. Ohta, H., Komukai, S. and Makita, K. (1999): Effects of 1-year ipriflavone treatment on lumbar bone mineral density and bone metabolic markers in postmenopausal women with low bone mass. Horm. Res. 51:178–83.
26. Sahota, O. (2000): Osteoporosis and the role of vitamin D and calcium-vitamin D deficiency, vitamin D insufficiency and vitamin D sufficiency. Ageing. 29:301–4.
27. Saka Kura, C.E., Giro, G., Goncalves, D., Pereira, R.M., Orrico, S.R., et al. (2006): Radiographic assessment of bone density around integrated titanium implant after ovariectomy in rats. 17, pp: 134-146.
28. Sastry, G.A. and Rao, P.R. (2002): Veterinary Pathology. 7th edn. CBS, pp: 468-469.
29. Stephan, C., Blum, S.N., Heaton, B.M., Bowman, M.H. and Scott, C.M. (2003): Dietary soy protein maintains some indices of bone mineraldensity and bone formation in aged ovariectomized rats.American nutritional. 1244-1249.
30. Takehiko, U., Toshiya, T., Kuniro, T. and Hitoshi, I. (2001): Comprative study on reduction of bone loss and lipid metabolism abnormality in ovariectomized rats by soyisoflavones,daidzin,genestin and glystin boil. Pharm. 368-379.
31. Toombs, J.P. (1985): Evaluation of keys hypothesis in the feline tibia: An experimental model for augmented bone healing studies. Am. J. Res., 46, pp: 512.
32. Watkins, B.A. Reinwald, S. and Seifert, M.F. (2005): Protective actions of soy isoflavones and n-3PUF ason bone mass in ovariectomized rats. Nutr. Biochem. 479-488.
33. Zhang, Y., Lai, W., Leung, P., Wu, C., Yao, X., et al. (2006): Effects of fructus ligustri lucidi extract on bone turnover and calcium balance in ovariectomized Rats. Biol. Pharm. Bull. 29(2): 291-296.