Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Baghdad
College of Dentistry

EVALUTION OF LOCAL APPLICATION OF EUCOMMIA ULMOIDES EXTRACT ON BONE HEALING IN RATS BY HISTOMORPHOMETRICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY ON OSTEOCALCIN

A thesis submitted to the council of the College of Dentistry/ University of Baghdad in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Oral Histology

By

Hayder Othman Jassim

B.D.S.

Supervised by

Prof. Dr. Nada M.H. AL-Ghaban

BDS., MSc., PhD. (Oral histology and Biology)

2022 A.D. **1444 A.H.**

ABSTRACT

Introduction: The repair of bone defects remains a major clinical challenge in dentistry. Bone is a highly vascularized tissue reliant to maintain skeletal integrity. The health promotive , preventive, and curative properties of herbs were recognized by the ancient and the present pharmacist and physicians in Medicine. Effects of Eucommia ulmoides which is used as a stimulating agent for bone defect healing with anti-inflammatory and anti-oxidant properties . Osteocalcin is a non-collagen protein and unique to bone , it secreted by osteoblast correlate with the bone mineralization rate .The study aimed to Evaluation the effects of local use of Eucommia ulmoides extract in healing of intra bony defect in rats by mean of histological and immunohistochemical study for osteocalcin.

Materials and methods: Twenty four albino male rats (Rattus norvegicus) were used in this study. Two Intra bony defects were made for each rats on distal side of the right and left femur, their size about 3mm depth and 2 mm width. The left side femur defect was treated with 0.5/mg Eucommia ulmoides gel (experimental group) and the right side femur defect left without treatment (control).The rats were divided in three healing period 1,2,and 4 weeks (8 rats for each) for both experimental and control groups .Histological examination was performed under light microscope for all bone sections stained with Haematoxylin and Eosin with histomorphometric analysis which included counting of bone cells (osteoblasts, osteocytes and osteoclasts), trabecular area, trabecular number and bone marrow area were done for both groups in all healing periods.

Immunohistochemical expression of osteocalcin were performed on bone specimens of both control and experimental groups at 1, 2and 4 weeks intervals.

Results: Histological finding of the present study showed that Eucommia ulmoides treatment induced earlier bone formation, mineralization and maturation in experimental group when compared to control one. Histomorphometric analysis for all bone parameters that examined in this study illustrated a highly significant difference between control and experimental groups in all healing intervals. Immunohistochemical examination of this study revealed that the Eucommia ulmoides treatment increased the positive expression of osteocalcin by osteoblasts, osteocytes and bone marrow stromal cells especially in 1,2 and 4 weeks intervals than that observed in control one.

Conclusion: The present study illustrated that the Eucommia ulmoides was osteoconductive material that enhanced acceleration of healing process in the intra bony defect in comparison to the normal physiological healing process.

الخلاصة

المقدمة :

يظل إصلاح عيوب العظام تحديًا سريريًا كبيرًا في طب الأسنان. الع هو نسيج شديد الأوعية الدموية يعتمد على الحفاظ على سلامة الهيكل العظمي. تم التعرف على الخصائص المعززة للصحة الوقائية والعلاجية للأعشاب من قبل الصيادلة والأطباء القدامى والحاليين في الطب. نبات الايكيوميا اولموید الذي يستخدم كعامل محفز لشفاء عيوب العظام بخصائص مضادة للالتهابات ومضادة للأكسدة. اوستيوكالسين هو بروتين غير كولاجين وفريد من نوعه للعظام ، يتم إفرازه بواسطة خلايا العظم المرتبطة بمعدل تمعدن العظام . وقد هدفت الرسالةعلى تقييم تأثيرات الاستخدام الموضعي لمستخلص يوكوميا أولموید في الخلل داخل العظم في الجرذان عن طريق دراسة القياس النسيجي الشكلي والكيميائية النسيجية المناعية للاوستيوكالسين.

المواد وطرق العمل

تم استخدام أربعة وعشرين من ذكور جرذان ألالبينو في هذه الدراسة. تم عمل حفرة داخل العظام لكل فأر على الجانب البعيد من عظم الفخذ الأيمن والأيسر ، بحجم حوالي 3 مم العمق والعرض 2 مم. عولجت حفرة عظم الفخذ الأيسر بـ 0.5 / جم من جل يوكوميا أولموید (مجموعة تجريبية) وترك حفرة عظم الفخذ الأيمن دون علاج (مجموعه السيطرة) وتم تقسيم الجرذان إلى ثلاث فترات شفاء 1 و 2 و 4 أسابيع (8 جرذان) لكل فترة) لكل من المجموعات التجريبية والسيطرة.

تم إجراء الفحص النسيجي تحت المجهر الضوئي لجميع أقسام العظام المصبوغة بالهيماتوكسيلين والأيوسين مع تقييم تحليل القياس النسيجي الشكلي الذي يتضمن عدد جميع الخلايا العظمية ومساحه الصفيحات العظميه وعدد الصفيحات العظمية ومنطقة النخاع العظمي لكلا المجموعتين في كل فترات الشفاء.

كما تم إجراء تحليل كيميائي نسيجي مناعي للتعبير عن أوستيوكالسين على عينات العظام لكل من المجموعتين السيطرة والتجريبية بفاصل 1 و 2 و 4 أسابيع.

النتائج:

أظهر الاكتشاف النسيجي لهذه الدراسة أن العلاج بمستخلص يوكوميا أولمويد قد تسبب في تكوين العظام في وقت مبكر ، والتمعدن والنضج في المجموعة التجريبية بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. أظهر تحليل القياس النسيجي الشكلي لجميع متغيرات العظام التي تم فحصها في هذه الدراسة وجود فرق كبير بين المجموعة السيطرة والمجموعات التجريبية في جميع فترات الشفاء. أظهر الفحص النسيج الكيميائي المناعي لهذه الدراسة أن علاج لمستخلص يوكوميا أولمويد قد زاد من الظهور الإيجابي للأوستيوكالسين بواسطة جميع الخلايا العظمية خاصة في فترات 1 و 2 أسبوع من تلك التي لوحظت في مجموعة السيطرة.

الاستنتاج:

أوضحت الدراسة الحالية أن مادة مستخلص يوكوميا أولمويد كانت مادة موصلة للعظم تعمل على تحسين تكوين العظم وتسريع عملية الشفاء في الخلل داخل العظم مقارنة بعملية الشفاء الفسيولوجية العادية.

.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بغداد - كلية طب الأسنان

تقييم التطبيق الموضعي لمستخلص يوكوميا أولمويد على عملية شفاء العظم للجرذان عن طريق دراسة القياس النسيجي الشكلي والكيميائية النسيجية المناعية للاوستيوكالسين

رسالة مقدمة الى مجلس كلية طب الاسنان/ جامعة بغداد كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في اختصاص أنسجة الفم

من قبل
حيدر عثمان جاسم
بكالوريوس طب وجراحة الفم والاسنان
بغداد – العراق

بأشراف
الاستاذ الدكتور ندى محمد حسن الغبان
بكالوريوس طب وجراحة الفم والاسنان
ماجستير أنسجة الفم وعلوم الحياة
دكتوراه أنسجة الفم

1444 هـ

2022 م