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

HISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR-β3 ON BONE HEALING TREATED BY COMBINATION OF CHITOSAN AND BETA-TRICALCIUM PHOSPHATE IN RABBITS

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

Zainab Abdul-Jabbar Almashhadi

Supervised by

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

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

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

ABSTRACT

Introduction: Critical bone defect is osseous damage that would not able to self-heals following accident, infection, tumor that still challenging faced the specialist. Chitosan is a natural polysaccharide, regard as osteoconductive materials to enhance ossification process. Beta-tricalcium phosphate (β -TCP) is a synthetic bone substitute with micro- pores system for the improvement of osteogenesis. The study aims to assessment the osteogenic effect of chitosan hydrogel, beta tricalcium phosphate and their combination on bone healing in rabbits by histological and histomorphometrical analysis and evaluation the local expression of transforming growth factor beta three (TGFβ3) by immunohistochemical investigation.

Materials and methods: A total of 32 New Zealand rabbits aged about 6-8 months and weighted about 1.5-2.5 kg were used in this experimental study. Intra bony defect of about 2 mm in diameter and 3 mm in depth were created in the distal side of both right and left femurs bones for each rabbit. These bony defects were divided into four groups:

1-Control group:(16 bony defect) each defect left to heal spontaneously.

2-Chitosan hydrogel group :(16 bony defect) each defect were treated with 0.5 ml of chitosan hydrogel.

3- β-TCP group :(16 bony defect) each defect were treated with 0.5 mg of beta-tricalcium phosphate granules.

4- Combination group: (16 bony defect) each defects were treated with (0.25 ml) of Chitosan and (0.25 mg) of β-TCP.

All 32 rabbits were sacrificed at 2 and 4 weeks healing intervals (16 rabbits for each) postoperatively.

Histological examination was performed under light microscope for all bone section stained with Hematoxylin and Eosin with assessment of histomorphometric analysis by using software image j for counting of bone cells. Also Immunohistochemical detection of TGF-β3 by using monoclonal antibody against TGF-β3.

Results: Histological evaluation of experimental and control groups after 2 and 4 weeks healing periods illustrated that chitosan hydrogel and combination groups improved higher osteogenic capacity and early sign of mineralization than Beta-tricalcium phosphate (β -TCP) and control groups.

Histomorphometric analysis for almost all bone parameters used in present study showed variant significant difference in all studied groups in both healing durations. Immunohsitochemical result revealed strong positive expression in osteoblasts, osteocytes and mesenchymal stromal cells especially in chitosan hydrogel and combination groups after two weeks healing interval.

Conclusion: The present study illustrated that the local application of chitosan hydrogel and its combination with beta tricalcium phosphate in intra bony defects may accelerate bone matrix formation and enhance maturation and increased the expression TGF-β3 when compared with others.

Terms and conditions

- Guarantee only valid for products bought direct from Abcam or one of our authorized distributors

الخلاصه

المقدمه: عيب العظام الحرج هو ضرر عظمي غير قادر على الشفاء الذاتي بعد الحادث أو العدوى أو الورم الذي لا يزال يمثل تحديا للأخصائيين. الشيتوزان هو عديد السكاريد الطبيعي، ويعتبر مواد موصلة للعظام لتعزيز عملية التعظم. ثلاثي كالسيوم الفوسفيت هو بديل للعظام الاصطناعية مع نظام المسام الدقيقة لتحسين تكوين العظام. تهدف الدراسه الى تقييم التأثير التكويني للعظام بواسطة هيدروجيل الكيتوزان / بيتا ثلاثي كالسيوم الفوسفيت على عظم الفخذ في الأرانب عن طريق التقييم النسيجي المحلي لعامل النمو المتحول الثالث على الارانب.

المواد والطرق: 32 أرنبا نيوزيلنديا أبيض تزن حوالي (1.5-2.5) كغ عيب عظمي في الجانب البعيد من كل عظمة بعمق حوالي 3 ملم وعرض حوالي 2 ملم في كل أرانب. ينقسم العيب العظمي :إلى أربع مجموعات بالتساوي إلى:

1.المحموعه الضابطه : سته عشر حفره في ثمن حيوانات تركوا من دون تلقي علاج

2. مجموعه جل الكيتوزان : سته عشر حفره في ثمن حيوانات تلقت 0.5مل مل من جل الكيتوزان

3. مجموعة بيتا ثلاثي كالسيوم الفوسفيت :سته عشر حفره كل حفره تلقت 0.5 ملغ من حبيبات بيتا ثلاثي كالسيوم فوسفيت.

4. المجموعه المختلطه : ثمن حيوانات تلقوا سته عشر حفره في كل حيوان و كل حفره تلقت مزيج من الشيتوزان / بيتا ثلاثي الكالسيوم بنسبة 1: 1 في كل حفره.

تم تخدير جميع الحيوانات في فترات مختلفة ، تم التضحية بـ16 أرانب في أسبوعين بينما تم .التضحي ب 16 أرانب أخرى في 4 أسابيع بعد التداخل الجراحي.

التقييم النسيجي تحت المجهر الضوئي ، حيث يتم تلطيخ جميع العظام بصبغة ايوزين وهيماتوكسيلين كما تم تحضير المقاطع النسيجيه باستخدام عامل النمو المحلل الثالث وتم فحصها باستخدام المجهر الضوئي لكلا فترتي الشفاء.

النتائج: أظهرت النتائج النسيجيه دورا مهما للكيتوزان و بيتا ثلاثي كالسيوم الفوسفيت في تكوين انسجه عظميه مبكره وزياده ملحوظه في عدد الخلايا المكونه والبانيه للعظم مقارنه بالمجموعه الضابطه, كما أظهرت نتائج التحليل النسيجي المناعي تعبيرا إيجابيا لعامل النمو المحول الثالث في الخلايا البانيه للعظم في أسبوعين وفي الخلايا العظميه في اربع أسابيع.

الاستنتاج: كشفت دراستنا الحالية عن جل الكيتوزان / مزيج من الكيتوزان وبيتا ثلاثي كالسيوم الوفسفيت لديه القدرة على إصلاح العظام وتعزيز التمعدن عند مقارنتها بمجموعة التحكم كما أظهرت نتائج التحلل المناعي تفاعلا إيجابيا لعامل النمو المتحول الثالث في مجوعه جل الكيتوزان والمجموعه المختلطه اكثر من بيتا ثلاثي الكالسيوم والمجموعه الضابطه.

جمهوريه العراق
وزاره التعليم العالي
جامعه بغداد
كليه طب الاسنان

التقييم النسيجي والمناعي النسيجي لعامل النمو المتحول الثالث على نمو العظام في الارانب المعالجه بالكيتوزان وبيتا ثالثي كالسيوم الفوسفيت

رساله قدمت الى كليه طب الاسنان – جامعه بغداد كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في انسجه الفم

من قبل الطالبة

زينب عبد الجبارالمشهدي

بكالوريوس طب وجراحه الفم والاسنان

باشراف الاستاذه الدكتوره

ندى محمد حسن الغبان

ماجستير انسجه الفم

دكتوراه انسجه الفم

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