University of Mosul

College of Dentistry

Assessment of Serratiopeptidase and Chymotrypsin Therapy on Facial Skin Model Injected by Hyaluronic Acid in Rabbits.

a Thesis Submitted by

Abdulrahman Zaid Al-Najar

B.D.S / Dentist

To

the Council of College of Dentistry

University of Mosul

as a Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in

Dental Pharmacology

Supervised by

Prof. Dr. Faehaa Azher Al-Mashhadane

B.D.S., M.SC., Ph.D. / Dental Pharmacology

2024A.D. **1445 A.H.**

Abstract

Introduction: Hyaluronic acid plays an essential role in maintaining tissue hydration and regulating cellular processes, including proliferation, differentiation, and the inflammatory response. Hyaluronic acid has proven to be a potent bioactive molecule with applications extending beyond anti-aging skincare to fields such as atherosclerosis, cancer, and various pathological conditions.

Aims: Evaluate the effect of both serratiopeptidase and chymotrypsin on facial skin after hyaluronic acid injection through histopathological analysis, measuring complete blood picture, and the serum concentration of C- reactive protein , al-antitrypsin and Glutathione Peroxidase.

Materials and Methods: 35 of local apparently healthy mature rabbits of body weight of 1.5 ± 0.5 kg were included in the study. The rabbits were randomly divided into 4 groups. Group I: control negative group where Hyaluronic acid was not injected and no treatments were used. Group II: control positive group where 0.5 ml of hyaluronic acid was injected at the center of forhead (single injection) without further treatment. Group III: daily oral treatment with 5 mg/kg of serratiopeptidase after hyaluronic acid injection. Group IV: treatment with 8.1 mg/kg of chymotrypsin after injection of hyaluronic acid.. Soft tissue from the forehead of each rabbit was then prepared for histopathological assessment. Blood samples were collected and stores at -20C to perform complete blood picture and serum for measure alpha-1-antitrypsin, Glutathione Peroxidase, C- reactive protein. The two kits used to measure alpha-1-antitrypsin and Glutathione Peroxidase were Rabbit Glutathione peroxidase and Rabbit Alpha 1-Antitrypsin ELISA Kit .

Results: Following hyaluronic acid filler injection, group posative C-reactive protein significantly increased, while serratiopeptidase and chymotrypsin treatments

showed substantial decreases, with chymotrypsin exhibiting a more pronounced effect. White blood cell dynamics varied between serratiopeptidase-induced decrease and chymotrypsin-induced increase during the initial 24 hours, followed by opposite trends. Red blood cell levels slightly decreased after 24 hours with both treatments. Platelet responses varied among treatments. Alpha 1-Antitrypsin levels remained unchanged after hyaluronic acid filler injection, while chymotrypsin induced an initial increase followed by a decrease, and serratiopeptidase led to a sustained decrease. Glutathione Peroxidase levels insignificantly changed after hyaluronic acid filler injection, but both serratiopeptidase and chymotrypsin treatments induced significant increases.

Histologically the injection of hyaluronic acid filler into rabbit dermal skin induced a pronounced inflammatory response characterized by sub-corneal lesions, para-keratosis, and damage to epithelial cells, with adverse effects on hair follicles. This reaction intensified over time, reaching a peak 72 hours post-injection. However, chymotrypsin treatment exhibited significant anti-inflammatory properties, leading to marked improvements after a 72-hour period, highlighting the potential of chymotrypsin as a therapeutic intervention for mitigating hyaluronic acid filler-induced inflammation in dermal tissues .

Conclusion: This study elucidates the intricate responses of biochemical markers and enzymes to enzymatic treatments and inflammatory stimuli in a rabbit model. The observed variations in C-reactive protein levels highlight the anti-inflammatory potential of serratiopeptidase and chymotrypsin, with the latter exhibiting a more robust effect. Notably, the significant increases in Glutathione Peroxidase levels following serratiopeptidase and chymotrypsin treatments suggest potential therapeutic benefits in bolstering the body's antioxidant defenses against inflammation-induced oxidative stress.

جامعة الموصل
كلية طب الأسنان

تقييم العلاج بالسيراتيوببتيداز والكيموتريبسين على نموذج جلد الوجه المحقون بحامض الهيالورونيك في الأرانب .

رسالة تقدم بها

عبدالرحمن زيد النجار

بكالوريوس طب اسنان

الى مجلس كلية طب الأسنان / جامعة الموصل

كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص

ادوية الفم والاسنان

بإشراف

الأستاذ الدكتورة فيحاء ازهر محي الدين المشهداني

2024A.D. **1445 A.H.**

الخلاصة

المقدمة: يلعب حمض الهيالورونيك دورًا أساسيًا في الحفاظ على ترطيب الأنسجة وتنظيم العمليات الخلوية، بما في ذلك التكاثر والتمايز والاستجابة الالتهابية. لقد أثبت حمض الهيالورونيك أنه جزيء نشط بيولوجيًا قويًا مع تطبيقات تمتد إلى ما هو أبعد من العناية بالبشرة المضادة للشيخوخة إلى مجالات مثل تصلب الشرايين والسرطان والحالات المرضية المختلفة.

الأهداف: تقييم تأثير كل من السيراتيوببتيداز والكيموتريبسين على بشرة الوجه بعد حقن حمض الهيالورونيك من خلال التحليل النسيجي، وقياس صورة الدم الكاملة، وتركيز بروتين سي التفاعلي ، والالفا ١ أنتي تريبسين، والجلوتاثيون بيروكسيداز في الدم.

المواد والطرق: تم تضمين 35 من الأرانب المحلية الناضجة التي تبدو صحية ويبلغ وزن الجسم 1.5 ± 0.5 كجم في الدراسة. تم تقسيم الأرانب عشوائيا إلى 4 مجموعات. المجموعة الأولى: المجموعة السلبية الضابطة حيث لم يتم حقن حمض الهيالورونيك ولم يتم استخدام أي علاجات. المجموعة الثانية: مجموعة السيطرة الإيجابية حيث تم حقن 0.5 مل من حمض الهيالورونيك في منتصف الجبهة (حقنة واحدة) دون مزيد من العلاج. المجموعة الثالثة: علاج يومي عن طريق الفم بجرعة 5 ملغم/كغم من السيراتيوببتيداز بعد حقن حمض الهيالورونيك. المجموعة الرابعة: العلاج بـ 8.1 ملغم/كغم من الكيموتربسين بعد حقن حمض الهيالورونيك. تم بعد ذلك تحضير الأنسجة الرخوة من جبهة كل أرنب للتقييم النسيجي. تم جمع عينات الدم وتخزينها عند درجة حرارة -20 مئوية لإجراء صورة دم كاملة ومصل لقياس ألفا -1 أنتيتريبسين، الجلوتاثيون بيروكسيديز، البروتين التفاعلي سي. المجموعتان المستخدمتان لقياس ألفا -1 أنتيتريبسين وجلوتاثيون بيروكسيديز هما أرنب الجلوتاثيون بيروكسيديز وأرنب ألفا 1 - أنتيتريبسين ELISA Kit.

النتائج: بعد حقن حشو حمض الهيالورونيك، زاد البروتين سي التفاعلي للمجموعة الإيجابية بشكل ملحوظ، في حين أظهرت علاجات السيراتيوببتيداز والكيموتربسين انخفاضات كبيرة، مع ظهور الكيموتربسين تأثيرًا أكثر وضوحًا. تباينت ديناميكيات خلايا الدم البيضاء بين الانخفاض الناجم عن السيراتيوببتيداز والزيادة الناجمة عن الكيموتريبسين خلال الـ 24 ساعة الأولى، تليها اتجاهات معاكسة. انخفضت مستويات خلايا الدم الحمراء بشكل طفيف بعد 24 ساعة مع كلا العلاجين. تختلف استجابات الصفائح الدموية بين العلاجات. ظلت

مستويات ألفا 1-أنتيتريبسين دون تغيير بعد حقن حشو حمض الهيالورونيك، في حين تسبب الكيموتربسين في زيادة أولية يتبعها انخفاض، وأدى السيراتيوببتيداز إلى انخفاض مستمر. تغيرت مستويات الجلوتاثيون بيروكسيداز بشكل طفيف بعد حقن حشو حمض الهيالورونيك، ولكن كلاً من علاجات السيراتيوببتيداز والكيموتريبسين تسببت في زيادات كبيرة.

من الناحية النسيجية، أدى حقن حشو حمض الهيالورونيك في جلد الأرانب إلى حدوث استجابة التهابية واضحة تتميز بآفات تحت القرنية، ونظير التقرن ، وتلف الخلايا الظهارية، مع آثار ضارة على بصيلات الشعر. وتكثف هذا التفاعل مع مرور الوقت، ليصل إلى ذروته بعد 72 ساعة من الحقن. ومع ذلك، أظهر علاج الكيموتربسين خصائص كبيرة مضادة للالتهابات، مما أدى إلى تحسينات ملحوظة بعد فترة 72 ساعة، مما يسلط الضوء على إمكانات الكيموتربسين كتدخل علاجي لتخفيف الالتهاب الناجم عن حشو حمض الهيالورونيك في أنسجة الجلد.

الاستنتاج: توضح هذه الدراسة الاستجابات المعقدة للعلامات البيوكيميائية والإنزيمات للعلاجات الأنزيمية والمحفزات الالتهابية في نموذج أرنب. تسلط الاختلافات الملحوظة في مستويات البروتين التفاعلي C الضوء على الإمكانات المضادة للالتهابات للسيراتيوببتيداز والكيموتريبسين، حيث أظهر الأخير تأثيرًا أكثر قوة. والجدير بالذكر أن الزيادات الكبيرة في مستويات الجلوتاثيون بيروكسيداز بعد علاجات السيراتيوببتيداز والكيموتريبسين تشير إلى فوائد علاجية محتملة في تعزيز دفاعات الجسم المضادة للأكسدة ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن الالتهاب.