Ministry of Higher Education

University of Mosul

College of Dentistry

Effects of Montelukast on Epidermal Growth Factor in Salivary Glands and Induced Tongue Ulcer in Rats (Histological and Immunohistochemical Study)

A Thesis Submitted by

Mohamed Idrees Majeed

B.Sc/Pharmacist

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

Professor	**Assistant Professor**
Jawnaa Khalid Mamdoh	**Dr. Luma Ibrahim Al-Allaf**

1444 A.H **2023A.D**

Summary

Introduction: Oral mucosa, being a delicate membrane and exposed to various exogenous invaders, such as microorganism, chemicals in the food, and locally released biological agents from oral cavity; makes this tissue vulnerable for injury in extraordinary manners. The healing period and efficiency of tissue is important in term of minimizing the exposed injured area to microorganisms to decrease the chance of infections and advancement of injury. Oral hygiene remains the corner stone for treatment in the light of the limited available therapeutic remedies.

Aims: The goal of the present study was to define the role of montelukast in the enhancement of the healing processes and improvement of the quality of healing of tongue ulcer via evaluating of involved epidermal growth factor immunohistochemically and histopathological changes and scores.

Materials and Methods: A total of 24 healthy male rats (age 2-3 months; body weight 250-350g) were employed in the present study. All the animals were anesthetized then the oral ulcers were induced using a small cotton ball placed at one end of the glass tube with a diameter of 3 mm, then the cotton ball was dipped into a solution of 70% acetic acid and then pressed onto the dorsal surface of the tongue area for 2 minutes. The rats were subdivided into two main groups: montelukast-free group (12 rats received distilled water) and montelukast-treated group (12 rats received 20mg/kg/day montelukast orally) starting from the day of ulcer induction till the day of euthanization. At 3rd and 7th days of healing, 6 rats from each group were euthanized for ulcer site and submandibular salivary glands excision for subsequent processing. The specimens were fixed and stained for histopathological studies (hematoxylin-eosin) and immunohistochemical analysis (epidermal growth factor expression). The collected data were analyzed statistically by using t-test and non-parametric tests.

Results: Compared to montelukast-free group, the body weight gain was significantly higher ($p<0.05$) in montelukast-treated group at 3rd day and 7th days of healing. The clinically observed parameters (gross size of the ulcers, exudate formation, bleeding, and redness), were notably improved at 7th day of healing in montelukast-treated group compared to montelukast-free group. Histopathological results confirmed that tongue's tissues of montelukast-treated group revealed significantly reduced inflammation scores, improved granulation tissue formation scores, and improved re-epithelialization scores compared to montelukast-free group whether at 3rd or 7th day of healing.

Immunohistochemical results confirmed that tongue's tissues of montelukast-treated group revealed moderate expression of epidermal growth factor (mean score 2) compared to strong expression (mean score 3) in montelukast-free group whether at 3rd or 7th day of healing. Increased expression of epidermal growth factor in salivary glands sections of montelukast-treated group was found in comparison with montelukast-free group whether at 3rd or 7th day of healing.

Conclusions: The present study has confirmed that the treatment with montelukast has shortened the duration of healing, improved healing parameters, hastened granulation tissue formation and re-epithelialization, and reduced inflammatory responses of oral ulcer. Moreover, montelukast has enhanced epidermal growth factor secretion at submandibular salivary glands and montelukast boosts the utilization of epidermal growth factor by injured tissue. The clinical sign in montelukast-treated group improved over treatment period and the body weight gain maintained up to the normal levels confirming the healthy status of montelukast-treated group.

وزارة التعليم العالي

جامعــة الموصــل

كلية طب الأسنان

تأثيرات عقار مونتيلوكاست على عامل نمو البشرة في الغدد اللعابية و قرحة اللسان المستحثة في الجرذان (دراسة نسيجية وكيميائية مناعية)

رسالة تقدم بها

محمد ادريس مجيد الحمداني

بكالوريوس صيدلة

الى

مجلس كلية طب الاسنان/ جامعة الموصل

كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص

ادوية الفم والاسنان

بأشراف

الأستاذ	الأستاذ المساعد
جوناء خالد ممدوح	**الدكتورة لمى ابراهيم العلاف**

1444هـ **2023 م**

الخلاصة

المقدمة: الغشاء المخاطي للفم هو غشاء رقيق ومعرض للعديد من المؤثرات الخارجية ، مثل الكائنات الحية الدقيقة ، والمواد الكيميائية الموجودة في الطعام ، والعوامل البيولوجية المنفرة موضعياً من تجويف الفم ؛ مما يجعل هذا النسيج عرضة للإصابة بشكل كبير جداً. إن فترة الشفاء و كفاءة النسيج مهمة لتقليل تعرض المنطقة المصابة للكائنات الحية الدقيقة وذلك لتقليل فرصة الإصابة بالعدوى وتطور الإصابة. تظل نظافة الفم حجر الزاوية للعلاج في ضوء الطرق العلاجية المحدودة المتاحة. على حد علمنا ، هذه هي الدراسة الأولى التي أجريت لتحديد الدور المفيد لعقار المونتيلوكاست في علاج قرحة الفم باستخدام نموذج الجرذان.

الأهداف: كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد دور عقار المونتيلوكاست في تعزيز عمليات الشفاء وتحسين جودة الشفاء للقرحة الفموية من خلال قياس عامل نمو البشرة (EGF) بالطريقة الكيمائية-المناعية وتحسين النتائج النسيجية المرضية.

المواد وطرائق البحث: تم استخدام 24 جرذاً ذكراً بصحة جيدة (عمر 2-3 شهور ، وزن 250-350 جم) في هذه الدراسة. بعد تخدير جميع الحيوانات تمت عملية حثية لتكوين القرح الفموية باستخدام كرة قطنية صغيرة موضوعة في أحد طرفي أنبوب زجاجي بقطر 3 مم. ثم تم غمس قطعة القطن هذه في محلول حمض الخليك بتركيز 70٪ ثم ضغطها على السطح الظهري لمنطقة اللسان لمدة دقيقتين. تم تقسيم الجرذان إلى مجموعتين رئيسيتين المجموعة الأولى هي المجموعة الخالية من العلاج (12 جرذًا تم اعطاؤهم ماء مقطرًا) والمجموعة الثانية هي مجموعة المعالجة بالمونتيلوكاست (12 جرذاً جُرّعت 20 مجم / كجم / يوم من المونتيلوكاست عن طريق الفم). في اليومين الثالث والسابع من الشفاء ، 6 جرذان من كل مجموعة تم قتلهم بشكل رحيم وذلك لاستئصال موقع القرحة و الغدد اللعابية الواقعة تحت الفك السفلي ليتم معاملتها لاحقاً. حيث تم تحضير العينات للدراسات النسيجية المرضية من خلال عمليات التثبيت و التصبيغ (صبغة الهيماتوكسيلين-إيوسين) والتقييم الكيميائي النسيجي المناعي (مقدار EGF) . تم تحليل البيانات التي تم جمعها إحصائياً وذلك باستخدام اختبارات t-test واختبارات غيرمعلمية .

النتائج: مقارنةً بالمجموعة الخالية من العلاج، كان اكتساب الوزن أعلى بشكل ملحوظ ($p < 0.05$) في مجموعة المعالجة بـالمونتيلوكاست في اليوم الثالث والسابع من الشفاء. تحسنت المعايير السريرية

(الحجم الإجمالي للقرحة وتشكيل الإفرازات والنزيف والاحمرار) بشكل ملحوظ في اليوم السابع من الشفاء في مجموعة المعالجة بـالمونتيلوكاست بالمقارنة بالمجموعة الأخرى. أكدت نتائج التشريح المرضي أن الأنسجة اللسانية لمجموعة المعالجة بـالمونتيلوكاست كشفت عن انخفاض درجات الالتهاب ، وتحسين درجات تكوين الأنسجة الحبيبية ، وتحسين درجات إعادة الاندمال الظهاري مقارنة بالمجموعة الخالية من العلاج سواء في اليوم الثالث أو السابع من الشفاء.أكدت نتائج التحليلات الكيميائية المناعية أن الأنسجة اللسانية لمجموعة المعالجة بـالمونتيلوكاست كشفت عن مقدار معتدل لـ EGF (الوسط الحسابي ، 2) مقارنة بالتعبير القوي (الوسط الحسابي، 3) في المجموعة الخالية من العلاج سواء في اليوم الثالث أو السابع من الشفاء. تم العثور على زيادة في مقدارالEGF في عينات الغدد اللعابية لمجموعة المعالجة بـالمونتيلوكاست بالمقارنة مع المجموعة الخالية من العلاج سواء في اليوم الثالث أو السابع من الشفاء.

الاستنتاجات: أكدت هذه الدراسة أن العلاج بـالمونتيلوكاست قد أدى إلى تقليل مدة الشفاء وتحسين معايير الشفاء وتسريع تكوين الأنسجة الحبيبية وإعادة الاندمال الظهاري وتقليل نسبة الالتهاب للقرحة الفموية. علاوة على ذلك عزز المونتيلوكاست إفراز EGF في الغدد اللعابية الواقعة تحت الفك السفلي كما عزز استخدام EGF بواسطة الأنسجة المصابة. تحسنت المعايير السريرية في مجموعة المعالجة بـالمونتيلوكاست خلال فترة العلاج وحافظت على زيادة الوزن بالمستويات الطبيعية مما يؤكد الحالة الصحية الجيدة لمجموعة المعالجة بـالمونتيلوكاست.