University of Mosul
College of Dentistry

Assessment of the Local Application of Hydroxyprogesterone Hormone on Bone Healing in Rabbits

A Dissertation Submitted by

Huda Akram Salim

To

The Council of College of Dentistry

University of Mosul

As a Partial Fulfilment of the Requirement for the Degree of Philosophy Doctorate in Dental Sciences

Supervised by

Dr. Ziad H. Deleme
Professor

Dr. Mohanad A. Al-Fahad
Assistant Professor

2025 A.C. 1446 A.H.

Abstract

Background: Bone is a dynamic organ that is continuously resorbed by osteoclasts and subsequently rebuilt with new bone by osteoblasts throughout life. Progesterone is a key physiological component of the menstrual cycle, reproduction, and steroid hormone biosynthesis. Progestins are class of synthetic compounds that were developed to mimic the biological action of the endogenous sex steroid hormone progesterone, which have been reported to have a role in bone healing.

Aim: This study aimed to assess the effects of local administration of Hydroxyprogesterone caproate hormone on the healing of femoral bone defect in rabbits.

Materials and Methods: The *in vitro* chemical analysis of Hydroxyprogesterone caproate after the addition to the gelfoam was done using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Fourier Transform Liquid Chromatography (FTIR) to evaluate its release from the gelfoam at different time periods at (10 min, 30 min, 1 hour, 8 hour, 24 hours, 3 days, 7 days, 21 days, and 28 days).

For the *in vivo* study, sixty domestic adult male rabbits whose age between 8-10 months have been randomly selected for the study and divided into 4 groups. Each group subdivided into Control negative, control positive group and study (experimental) group. To create the bone defect, each rabbit was fully anesthetized, animal hair was removed and the area for surgery was cleaned with povidone iodine solution. An incision was made then a dissection of the muscle, facia and periosteum to expose the femoral bone. Two holes were made by low-speed handpiece with round bur 3 mm cooled with continuous irrigation of normal saline (0.9 %), the space between holes was measured to be about 1 cm. In control negative group, the two holes were left without filling by any material. While in control positive group the

two holes filled by placement of a piece of Gelfoam. In the study group, the holes filled by Gelfoam which soaked in hydroxyprogesterone caproate.

The effect of hydroxyprogesterone caproate on bone healing was asset at four time periods at 3, 7, 21, and 28 days after the surgery, using multiple tests including; histological assessment, star volume test, immunohistochemistry for CD34 and Ki 67 markers, quantification of serum osteocalcin and RANKL markers, in addition to radiographical examination.

Results: The in vitro chemical analysis revealed that hydroxyprogesterone caproate chemical structure was stable after its addition to the gelfoam. Also, it showed the it maintained a sustained release over the tested period with a maximum release recorded at 8 hr, this ensures releasing of the material during the entire healing stages of bone.

The in vivo study results showed that the histological assessment confirmed a significant enhancement in bone healing after application of hydroxyprogesterone caproate confirmed the enhancement of healing involve histological markers as inflammatory scores and bone formation. The star volume test confirmed significant new bone formation for the study group. While the immunohistological assessment for CD 34 and Ki 67 revealed intensity of reaction for hydroxyprogesterone caproate group. In contrast, the radiographical comparison between the tested groups showed non-significant bone formation due to short period of the tests the did not allow the healing bone to reach full calcification and mineralization.

Conclusions: This study concludes that Hydroxyprogesterone caproate enhances bone healing by promoting inflammatory responses and bone formation as indicated by markers used to confirm this finding. It also acts by decreasing the bone marrow spaces that indicated by the star volume test measurement. Hydroxyprogesterone caproate represents a potential treatment agent to be used to improve bone healing in human.

جامعة الموصل

كلية طب الأسنان

تقييم التطبيق الموضعي لهرمون الهيدروكسي بروجستيرون على التئام العظام في الارانب

رسالة تقدمت بها

هدى أكرم سالم

إلى

مجلس كلية طب الأسنان

جامعة الموصل

كجزء من متطلبات نيل شهادة دكتوراه فلسفة في علوم طب الاسنان

بإشراف

الدكتور

زياد حازم احمد

استاذ

الدكتور

مهند عبد الستار الفهادي

استاذ مساعد

١٤٤٦هـ

٢٠٢٥ م

الخلاصة

مقدمة: العظم هو عضو ديناميكي يتم اذابته باستمرار بواسطة الخلايا الآكلة للعظم ثم يعاد بناؤه بعظم جديد بواسطة الخلايا البانية للعظم طوال الحياة. البروجسترون هو عنصر حيوي رئيسي في الدورة الشهرية، والتكاثر، والتخليق الحيوي لهرمون الستيرويد. البروجستين هي فئة من المركبات الاصطناعية التي تم تطويرها لتقليد العمل البيولوجي لهرمون البروجسترون الستيرويدي الجنسي الداخلي، والذي له دورا في شفاء العظام. .

الأهداف: تقييم آثار الاعطاء الموضعي لهرمون هيدروكسي بروجستيرون كابروات على التئام عيب عظم الفخذ في الأرانب.

المواد والطرق: تم اجراء التحليل الكيميائي في المختبر لهيدروكسي بروجستيرون كابروات بعد اضافته الى مادة الجلفوم باستخدام (FTIR)(HPL) , لتقييم اطلاقها في فترات زمنيه مختلفة عند (١٠ دقائق, ٣٠ دقيقة, ١ ساعة, ٨ ساعات, ٢٤ ساعة, ٣ أيام, ٧ أيام,٢١ يوم و ٢٨ يوما) تم اختيار ستين أرنبا ذكرا بالغا محليا، تتراوح أعمارهم بين ٨-١٠ أشهر. الأرانب مقسمة عشوائيا إلى ٤ مجموعات. تم تقسيم كل مجموعة الى المجموعة السلبية للتحكم والتي تتكون من الأرانب التي لم تتلق أي علاج، المجموعة الإيجابية للتحكم تتكون من الأرانب التي تلقت العلاج عن طريق وضع الجلفوم في ثقوب معدة لتلقي هذا العلاج. مجموعة الدراسة التي تشمل الأرانب التي تلقت العلاج والتي تشمل التحضير عن طريق إضافة هرمون هيدروكسي بروجستيرون كابروات إلى الجلفوم، بعد تخدير الارنب بالكامل، تمت إزالة الشعر وتنظيف منطقة الجراحة بمحلول البوفدين ايودين.

تم إجراء شق ثم فصل العضلات والغشاء المحيط والسمحاق لكشف عظم الفخذ. تم عمل فتحتين بواسطة قبضة منخفضة السرعة مع برينة دائرية ٣ مم مع التبريد المستمر بواسطة المحلول الملحي (٠,٩٪)، وتم قياس المسافة بين الثقوب لتكون ١ سم. في المجموعة السلبية للتحكم، يتم رفع الفتحتين دون ملئها بأي مادة. بينما في المجموعة الإيجابية السيطرة اثنين من الثقوب تملأ عن طريق وضع قطعة من الجلفوم، في مجموعة الدراسة يوضع الجلفوم الغارقة في الهيدروكسي بروجستيرون كابروات. الفحوصات التي تم العمل بها هي، التقييم النسيجي، اختبارحجم النجوم، الفحص الكيميائي النسيجي المناعي CD34وKi 67، مصل أوستيوكالسين وRANKL، بالإضافة إلى الفحص الشعاعي.

النتائج: في فترات زمنية مختلفة، وجد ان الحد الأقصى لأطلاق المادة عند ٨ ساعات, هذا يساعد في إطلاق المواد أثناء مراحل الشفاء. تتضمن علامات تقييم شفاء العظام بعد تطبيق HPC التي تؤكد تعزيز الالتئام الذي يشمل علامات نسيجية مثل درجات الالتهاب وتكوين العظام. يكشف CD 34

و Ki 67عن شدة رد الفعل لمجموعة HPC .لا تظهر نتائج التصوير الشعاعي تكوين العظام بسبب قصر الفترة من الاختبارات التي تؤثر على تمعدن العظام والتكلس الكامل.

الاستنتاجات: إضافة الهيدروكسي بروجستيرون كابروات الى الجلفوم سرع من عملية التئام العظام خلال فترة الدراسة من خلال تعزيز الاستجابات الالتهابية وتكوين العظام. كما انه يعمل على تقليل مساحات العظم ضمن اختبار النجوم.