

**University of Mosul
College of Dentistry**



**Evaluating The Systemic Effect of Metformin on Bone
Healing and Regeneration in Rabbits**

A Thesis Submitted

By:

Raad Mahmood Hussein Azaw

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. Ghada Abd-Alrahman Taqa

2023 AD

1444 AH

Abstract

Background: The bone is a highly dynamic structure that undergoes constant renewal through a process known as bone remodeling, in which old bone is replaced by new bone. Oxidative stress and delayed healing are contributing factors to poor biocompatibility and delayed bone healing. In this study, systemic metformin is used orally to accelerate bone defect healing. Metformin treatment has increased the advantage of bone regeneration. It possesses an osteogenic effect by increasing osteoblast differentiation from stem cells and osteogenesis.

Aims of the study: To evaluate the systemic effect of metformin administration on bone healing in rabbits after surgical induction of bony defect at two different time intervals. To use biochemical assessment of serum alkaline phosphatase, gene expression of osteocalcin and vitamin D receptors in the bone samples taken from bony defect sites, and also to use radiographical, histological, and histometrical analysis to measure the amount of new bone formed to assess the healing process.

Materials and Methods: Twenty adult male rabbits weighing from (1.75 - 2 kg) are used in this study. They were divided into two groups. Each group contains ten rabbits. All rabbits received the same surgical procedure under general anesthesia. After surgical exposure of the rabbit's femur, two holes of 3 mm diameter by 3mm depth were prepared and left empty. The animals were separated into two groups. Group 1 (control group n=10) in which no treatment was received. Group 2 (treatment group) was given metformin orally at a dose of 50mg/kg of body weight. All animals were sacrificed at two times intervals according to their groups on the 14th and 28th day after surgery (five rabbits at each time interval), the femur was isolated, sectioned, radiographed, and also analyzed histologically and the new bone tissues were assessed for histomorphometry.

Blood was also taken from the rabbits at the sacrifice time for biochemical analysis (serum alkaline phosphatase) after serum preparation. Bone tissue samples taken from the bony defect sites were assessed for gene expression of osteocalcin and vitamin D receptors to quantify the production of these two proteins in response to the administered drug of the study.

Results: The serum alkaline phosphatase increases significantly in the metformin-treated rabbits more than in the control group. Gene expression of osteocalcin and vitamin D receptors shows that the metformin-treated group expresses higher results than the control with significant difference occur on day 28 between the treated and the control group, indicating a more quantitative representation of these two proteins in the treated group. A radiographical assessment of the hole site shows that more radiopacity and new bone formed at the hole in the metformin-treated group. Histological and histomorphometric results reveal an increase in new bone formation and bone-forming cells in the metformin-treated group.

Conclusion: Metformin increases bone healing and regeneration at the bone defect sites. Systemic-treated rabbits show lesser inflammatory response at the site of the bone defect as seen in the histopathological results. Metformin also increases bone mineral density (BMD) in the newly formed bone at the site of the bone defect. Its systemic administration possesses an osteogenic effect.



جامعة الموصل
كلية طب الأسنان

تقييم تأثير عقار الميتفورمين الجهازي على التئام وتجديد العظم في الأرانب

رسالة تقدم بها

رعد محمود حسين عزو

إلى /

مجلس كلية طب الأسنان / جامعة الموصل

كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص

أدوية الفم والأسنان

بإشراف

أ.د. غادة عبد الرحمن طاقة

الْخُلَاصَة

المقدمة : يُعدّ العظم بنية ديناميكية للغاية تخضع للتجديد المستمر من خلال عملية تُعرف بإسم إعادة تشكيل العظام ، يتمُّ إستبدال العظم القديم بعظم جديد في دورة من ثلاثِ خُطوات: مرحلة إرتشاف العظم التي تبدأ بواسطة ناقضات العظم ، ومرحلة الإنعكاس ، و إنتاج مصفوفة العظام بواسطة بانيات العظم. إنَّ الإجهاد التأكسدي وتأخر الشفاء يُعدّان من العوامل المساهمة في ضَعْفِ التوافق الحيوي وتأخر التئام العظام. في هذه الدراسة ، يُستعمل الميتفورمين الجهازي عن طريق الفم لتسريع إلتئام عيوب العظام. إذ زاد العلاج بالميتفورمين من ميزة تجديد العظام. فالميتفورمين له تأثير عظمي من خلال زيادة تمايز بانيات العظم من الخلايا الجذعية وزيادة تكون العظم.

أهداف الدراسة : تقييم التأثير الجهازي لإعطاء الميتفورمين على إلتئام العظام في الأرانب بعد الحث الجراحي لخلل عظمي على فترتين زمنيتين مختلفتين عن طريق التقييم البيوكيميائي للفوسفاتيز القلوي في الدم ، والتعبير الجيني لمستقبلات أوستيوكالسين وفيتامين د في العظام للعينات المأخوذة من مواقع الخلل العظمي وأيضًا لاستخدام التحليل الشعاعي والنسجي والقياسي لقياس كمية العظام الجديدة المتكونة لتقييم عملية الالتئام.

المواد والطرائق : قُسم عشرون أرنباً إستُخدمت في هذه الدراسة إلى مجموعتين ، كل مجموعة تحتوي على عشرة أرانب. أُجريت نفس العملية الجراحية لجميع الأرانب تحت التخدير العام. بعد التعرض الجراحي لعظم الأرنب ، عُمِلت فتحتين بقطر 3 مم وبعمق 3 مم وتُرِكَتا فارغتين. قُسمت الحيوانات إلى مجموعتين ، المجموعة 1 (المجموعة الضابطة ن = 10) التي لم يتم تُعطى أي علاج والمجموعة 2 (المجموعة المعالجة) التي أُعطيت الميتفورمين عن طريق الفم بجرعة 50 مجم / كجم من وزن الجسم. ضُحّي بجميع الحيوانات على فترتين زمنيتين وفقًا لمجموعاتها في اليومين الرابع عشر والثامن والعشرين بعد الجراحة ، وعزل عظم الفخذ ، وتقطيعه ، وتصويره بالأشعة ، وكذلك تحليل نسيجها وتقييمها من أجل قياس الأنسجة.

كما أُخذَ الدُم من الأرانب وقت الذبيحة للتحليل الكيميائي الحيوي (مصل الفوسفاتيز القلوي) بعد تحضير المصل. قُيِّمت عينات أنسجة العظام المأخوذة من مواقع الخلل العظمي للتعبير الجيني لمستقبلات أوستيوكالسين وفيتامين د لتحديد إنتاج هذين البروتينين استجابةً للدواء المعطى للدراسة (الميتفورمين).

النتائج : زاد الفوسفاتيز القلوي في الدم في الأرناب المعالجة بالميتفورمين أكثر من المجموعة الضابطة. أظهر التعبير الجيني لمستقبلات أوستيوكالسين وفيتامين د أن المجموعة المعالجة بالميتفورمين تُظهر نتائج أعلى من المجموعة الضابطة مما يشير إلى تمثيل كمي أكبر لهذين البروتينين في المجموعة المعالجة. أظهرَ التقييم الإشعاعي لموقع الحفرة المزيد من السعة الإشعاعية والنسيج العظمي تكون في الفتحة العظمية في المجموعة المعالجة بالميتفورمين. أظهرت النتائج النسيجية والقياسية النسيجية زيادة في تكوين النسيج العظمي الجديد وخلايا تكوين العظام في المجموعة المعالجة بالميتفورمين .

الإستنتاجات : إنّ الميتفورمين يزيد من إلتئام العظام وتجديدها في مواقع عُيوب العظام. حيث تُظهر الأرناب المعالَجة بالميتفورمين إستجابة إنتهاية أقل في موقع عيب العظام. ويَزيد الميتفورمين أيضاً من النسيج العظمي المشكل حديثاً في موقع عيب العظم وكذلك يزيد من كثافة المعادن في العظام.