Ministry of Higher education and

Scientific Research

University of Mosul

College of dentistry

Effect of Local Injection of Botulinum Toxin on Submandibular Salivary Glands in Rabbits: Histological and Immunohistochemical Study

A Thesis Submitted by

Abdullah Abdalmawjood Ahmed

B.Sc Pharmacy

To

The Council of Dentistry /Mosul University

As A partial Fulfilment of Requirements

For the Degree of Master of Science

In

Pharmacology /Dental and Oral Pharmacology

Asist Prof.

Dr. Jawnaa Khalid Mamdoh

1443A.H. **2021A.D.**

ABSTRACT

Introduction: The three main salivary glands in humans are the parotid and submandibular glands, in addition to the sublingual glands, all responsible for production of saliva. Pathologically, sialorrhea can occur as a single event owing to excessive salivation, or it can occur in conjunction with a variety of neurologic illnesses such as a myotrophic lateral sclerosis, cerebral palsy, Parkinson's disease, or as a drug side effect as example physostigmine, neostigmine, pilocarpine, clozapine, and digoxne. The anticholinergic drugs could reduce the quantity of saliva as a result of reversible muscarinic cholinergic receptor block. Botulinum toxin (BTX) is thought to be the finest and most effective treatment for sialorrhea.

Aims: To evaluate the possible effects of BTX-A on submandibular salivary glands in rabbits and to study the expression of Ki-67 with the relation of BTX effects on submandibular salivary glands in rabbits.

Material and Methods: Thirty male rabbits from local markets, 6-8 months of age with average body weight of 1.5±0.2 kg were used in the experiment, kept in a standardized animal house condition. Every experimental procedure was done in agreement with the guiding principles of University of Mosul\College of Dentistry for the laboratory animals' care and use. The animals were randomly divided into two main groups (1st week and 4th week) and each group subdivided into three subgroups: 1st group control sacrificed in the 1st week; 2nd group treated with 5 unit of BTX-A sacrificed in the 1st week; 3rd group treated with 10 unit of BTX-A sacrificed in the 1st week; 4th group control sacrificed in the 4th week; 5th group treated with 5 unit of BTX-A sacrificed in the 4th week; and 6th group treated with 10 unit of BTX-A sacrificed in the 4th week. The histological slides of salivary

glands were prepared, stained and examined by using light microscope; Ki-67 protein was detected immunohistochemically in submandibular salivary glands.

Results: This study revealed several histopathological changes in group 5 unit of BTX at 1st week including vacuolar degeneration of mucous acini cells, degeneration of serous acini cells, while in group 10 unit, there were hyperplasia and necrosis of epithelium cells lining striated ducts, necrosis of mucous acini cells. Hyperplasia and necrosis of epithelium cells lining striated ducts, necrosis of serous acini cells with hydropic degeneration of mucous acini epithelium seen with 5 units at 4th week. With 10 units, there is necrosis of epithelium cells lining striated ducts and serous acini with atrophy of serous and mucous acini. A significant decrease noticed in the diameters of mucous, serous acini, and height of serous acini epithelium at the 4th week comparing with that at the 1st week among the control group. Similarly, significant decreases were noticed in the diameters of mucous and serous acini and also height of mucous acini epithelium at the 4th week in comparison with that at the 1stweek in the 5 units group. Highly significant decreases are in the diameters of mucous, striated ducts, and the diameter of serous acini with significant decreases in the height of mucous acini and striated ducts epithelium appeared at the 4th week comparing with it at the 1st week among 10 units group. During1st week, significant increase in the diameters of mucous acini is noticed between control and 5 units and between control and 10 units. Also there is significant decrease in the height of serous between control and 10 units and between 5 units and 10 units. Moreover, the height of striated ducts epithelium increases in highly significance between controls and 10 units group, while at 4th week, there are significant decreases regarding height of mucous epithelium and height of striated ducts with significant increases in epithelium striated ducts diameter. A significant increase in the surface area of the striated ducts occurs at

the 1stweek and 4th week with 10 units BTX. Regarding the numbers of the striated ducts, significant decreases were observed in the 5 units BTX group and10 units BTX between 1st and 4th week period, however, there was no significant difference in the controls. Also there were significant decreases in the ki-67 among the study groups at 1st and 4th weeks.

Conclusion: The BTX injection into the submandibular glands of rabbits caused histological changes in the salivary glands, BTX injection caused a reduction in the proportion of active stages in the cell division cycle. This finding can be used in future research to look at the application of BTX in cancer treatment of salivary gland.

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل

كلية طب الاسنان

التأثير الموضعي لتوكسين البوتولينيوم على الغدد اللعابية تحت الفك السفلي في الارانب " دراسة نسيجية ونسيجية مناعية كيميائية "

رسالة ماجستير تقدم بها الطالب

عبدالله عبدالموجود احمد

بكلوريوس صيدلة

إلى

مجلس كلية طب الاسنان في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في

علم الادوية / ادوية الفم والاسنان

بإشراف

الأستاذ المساعد جوناء خالد ممدوح

1442هـ 2021م

الخلاصة

المقدمة: الغدد اللعابية الرئيسية الثلاثة في الجسم هي الغدد النكفية وتحت الفك السفلي , بالاضافة الى الغدد تحت اللسان وكلها مسؤولة عن انتاج اللعاب.

من الناحية المرضية، يمكن تقديم السيلان اللعابي كحدث منعزل بسبب فرط إفراز اللعاب أو يحدث بالتزامن مع عدد من الاضطرابات العصبية على سبيل المثال ، التصلب الجانبي الضموري ، أو الشلل الدماغي ، أو مرض باركنسون ، أو كتأثير جانبي للأدوية.

تقلل الأدوية المضادة للكولين من كمية اللعاب نتيجة لفعل المستقبلات الكولينيةالمسكارينيةالعكوسة (مستقبلات M3) ، و يعتبر توكسين البوتولينوم أفضل بديل وفعال في علاج سيلان اللعاب.

الأهداف:تهدف الدراسة تقييم التاثيرات المحتملة للبوتولينوم على الغدد اللعابية تحت الفكية في الارانب و دراسة التعبير عن Ki-67 مع علاقة تأثيرات البوتولينوم على الغدد اللعابية تحت الفكية في الارانب.

المواد والطرق: تم استخدام ثلاثين من ذكور أرنب من الاسواق المحلية بوزن متوسط 1.5 كجم في التجربة ، تم حفظها في منزل حيواني بدرجة حرارة الغرفة 25±2 درجة ، وأعمارهم ما بين 6-8 أشهر. تم تقسيمهم عشوائياً إلى 6 مجموعات (خمسة أرانب لكل مجموعة واجريت جميع التجارب بموافقة اللجنة الاخلاقية في كلية طب الاسنان/ جامعة الموصل.

تم عزل الحيوانات إلى مجموعتين (الأسبوع الأول والأسبوع الرابع) وتم تقسيم كل مجموعة إلى ثلاث مجموعات: تم التضحية بالمجموعة الأولى في الأسبوع الأول ؛ عولجت المجموعة الثانية بـ 5 وحدات من توكسين البوتولينوم أ التي تم التضحية بها في الأسبوع الأول ؛ عولجت المجموعة الثالثة بـ10 وحدات من توكسين البوتولينوم أ الذي تم التضحية به في الأسبوع الأول ؛ تم التضحية بمجموعة السيطرة الرابعة في الأسبوع الرابع ؛ عولجت المجموعة الخامسة بـ 5 وحدات من توكسين البوتولينوم أ الذي تم التضحية به في الأسبوع الرابع ؛ المجموعة السادسة عولجت بـ 10 وحدات من توكسين البوتولينوم أ تم التضحية بها في الأسبوع الرابع. تم تحضير الشرائح النسيجية وتلطيخها وفحصها بالمجهر الضوئي وتم فحص تعبيرKi-67 بطريقة كيميائية نسيجية مناعية على المقاطع النسيجية لكافة المجاميع , كانت الملاحظات العيانية للغدد المكونة من 5 و 10 وحدات من مجموعات البوتولينوم موجودة لنسيج ليفي أبيض كبير حولها. أثناء تشريح الغدد اللعابية تحت الفك السفلي ، أظهر أن الغدة تحت الفك السفلي الأيمن أكبر من الغدة اليسرى.

النتائج: أظهرت النتائج انخفاض معنوي في أقطار الوحدات الافرازية المخاطية المصلية بالإضافة إلى ارتفاع ظهارة الوحدة الافرازية المصلية / ميكرومتر في الأسبوع الرابع مقارنة مع الأسبوع الأول بين مجموعة التحكم. بينما لوحظ انخفاض كبير في أقطار الوحدات الافرازية المخاطية والمصلية وكذلك ارتفاع ظهارة الوحدات الافرازية المخاطية في الأسبوع الرابع مقارنة مع الأسبوع الأول في المجموعة 5 وحدة.

تم تسجيل انخفاض كبير للغاية في أقطار الوحدات الافرازية المخاطية والمخططة ، مع انخفاض كبير فقط فيما يتعلق بقطر الوحدات الافرازية المصلية. بالإضافة إلى الانخفاض الكبير في ارتفاع الوحدات الافرازية المخاطية وظهارة القنوات المخططة ظهرت في الأسبوع الرابع مقارنة به في الأسبوع الأول بين مجموعة 10 وحدة.

علاوة على ذلك ، من بين مجموعات الدراسة ، هناك انخفاض كبير في أقطار الوحدات الافرازية المخاطية ، وارتفاع المصل ، وارتفاع ظهارة القنوات المخططة ذو أهمية عالية في الأسبوع الأول. بينما في الأسبوع الرابع ، توجد فروق ذات دلالة إحصائية بين مجموعات الدراسة فيما يتعلق بارتفاع الظهارة المخاطية ، وقطر القنوات المخططة ، وارتفاع ظهارة القنوات المخططة.

تحدث زيادة كبيرة في المساحة السطحية للقنوات المخططة بين مجموعات الدراسة في الأسبوع الأول والأسبوع الرابع.

فيما يتعلق بأعداد القنوات المخططة ، هناك انخفاض كبير في مجموعة البوتولينوم المكونة من 5 وحدات و 10 وحدات البوتولينوم بين فترة الأسبوع الأول والرابع ، ومع ذلك ، لم يكن هناك فرق كبير في المجموعة الضابطة. هناك أيضًا انخفاض كبير في ki-67 بين مجموعات الدراسة في الأسبوع الأول والرابع.

الاستنتاجات: خلصت الدراسة إلى أن حقن البوتولينوم في الغدد اللعابية تحت الفك السفلي للأرانب تسبب في انخفاض نسبة المراحل النشطة لدورة انقسام الخلية ، وسجلت النتائج لأول مرة تأثير حقن البوتولينوم في الغدد اللعابية تحت الفك السفلي على Ki-67 بروتين ، حيث تسبب حقن البوتولينوم في انخفاض نسبة المراحل النشطة في دورة انقسام الخلية. يمكن استخدام هذه النتيجة في الأبحاث المستقبلية للنظر في تطبيقالبوتولينومفي علاج السرطان.