Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Baghdad
College of Dentistry

THE ROLE OF NANO CALCIUM CARBONATE AND/OR RECOMBINANT BONE MORPHOGENETIC PROTEIN AS A BIOLOGICAL ORTHODONTIC RETAINER (ANIMAL EXPERIMENTAL STUDY)

A thesis submitted to the Council of the College of Dentistry/ University of Baghdad in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Orthodontics

By

Ataa Ghazi Abdalameer
B.D.S. M.Sc.

Supervised by

Prof. Dr. Hayder Fadhil Saloom
B.D.S., M.Sc., Ph.D. (Orthodontics) (London-UK)

2023 A.D 1444 A.H

ABSTRACT

Introduction: Relapse is a major clinical issue for orthodontist and patients. Currently, only mechanical retention is used after orthodontic treatment. Theoretically, biological intervention accelerates tissue recovery after treatment and reduces or eliminates the need for mechanical retention. So, this study aimed to use $CaCO_3$ nanoparticles (NP), with and without recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP-2) as biological intervention to prevent or reduce relapse after orthodontic tooth movement (OTM) in rats.

Materials and Methods: This study involved preparation of $CaCO_3$NP, then optimizing the proper dose to be used with and without rhBMP in the experimental study on rats. OTM was induced in 80 male Wistar Albino rats, split mouth design, for 21 days. Active coil spring was used to move the first molar mesially. These rats were then organized into two groups, 40 rats each. Each group was subdivided into four subgroups, 10 rats each. Control subgroup with OTM only, subgroup received OTM with rhBMP alone, subgroup received OTM with $CaCO_3$NP alone and subgroup receive OTM with $CaCO_3$NP conjugate with rhBMP.

After the first 21 days of OTM, the active coil spring, in the 2nd group (9-week group), was replaced with passive ligation, for another 21 days, in order to retain the mesially moved molar in their new place. However, for the 1st group (6-week group), the active coil spring was debonded without placement of any retentive mean. During the second 21 days, a specific therapy for each subgroup was administrated weekly for both 6-week and 9 –week group, and the body weight (BW), the OTM and relapse distance (RD) was weekly measured for both group (6-week and 9-week), and then sacrificed at day 42. Whereas 9-week group was transferred for a third 21 days of post-retention period, in which the relapse distance was measured,

and then sacrificed at 63. Histomorphometric analysis was performed to assess the changes in the counts of osteoblasts, osteoclast, bone resorption, and bone deposition area. The analyses and figures were conducted using the GraphPad Prism 7.04 and A P-value of <0.05 was considered statistically significant.

Results: An ionic cross-linking procedure was used for prepared of $CaCO_3$NPs. The product nanoparticles could effectively entrap rhBMP-2 and formed stable rhBMP-2-$CaCO_3$NPs.

Within each group, the animal BW was reduced significantly after the intervention and continued over time with higher average reduction in 9-week group than 6-week group. The OTM in all subgroups of 6-week and 9-week group had sharply increased between day zero (Baseline) and day 21st.

The RD has increased over time (from 28 to 42 days) in the four subgroups of the 6-week group. The control subgroup had the highest RD while conjugate subgroup had the lowest RD over the three time points (28, 35 and 42 days). On the other hand, the RD in the four subgroups of the 9-week group was almost zero over three time points (28, 35 and 42 days) and then sharply increased on day 63rd. Overall, the average RD of the 9-week groups on day 63rd was less than half of the average RD in the 6-week groups on day 42nd.

Histological examination showed that bone resorption, bone deposition and cells count were higher in treated side than untreated side. Bone deposition was higher on treated side/tension site of 9-week group compared to its counterparts on 6-week group, whereas, bone resorption was higher on treated side/pressure site of 9-week group compared to its counterparts on 6-week group. Osteoblast cells were more in treated side/tension site of $CaCO_3$ subgroup at 9-week group than 6-week group; however, osteoclast

cells were lower at treated side/pressure site of control, rhBMP and $CaCO_3$ subgroups at 9-week group compared to 6-week group.

Conclusion

$CaCO_3$NPs can be used as biological retainer. Also it can be used as carrier for rhBMP and as biological retainer (conjugate) but with caution.

In 9 weeks group, relapse distance was reduced with the presence of both mechanical and biological retention. Histological picture of relapse was comparable to that of orthodontic tooth movement.

الخلاصة

المقدمة: الانتكاس هي قضية سريرية رئيسية لأخصائي تقويم الأسنان والمرضى. حاليًا ، يتم استخدام التثبيت الميكانيكي فقط بعد العلاج التقويمي. من الناحية النظرية ، يسرع التدخل البيولوجي من استعادة الأنسجة بعد العلاج ويقلل أو يلغي الحاجة إلى المثبت الميكانيكي. لذلك ، هدفت هذه الدراسة إلى استخدام جسيمات كربونات الكالسيوم النانوية، مع وبدون البروتين المُشكل للعظم البشري المؤتلف كتدخل بيولوجي لمنع أو تقليل الانتكاس بعد حركة الأسنان باستخدام جهاز التقويم في الفئران.

المواد والاستراتيجيات المستخدمة: تضمنت هذه الدراسة تحضير كربونات الكالسيوم، النانوية ثم تحضير الجرعة المناسبة لاستخدامها مع وبدون بروتين المشكل للعظم في الدراسة التجريبية على الفئران. تم تحريك الاسنان الاولى في ٨٠ من ذكور جرذان، بتصميم فم منقسم ، لمدة ٢١ يومًا. تم استخدام جهاز التقويم الثابت لتحريك الضرس الأول للامام. ثم تم تنظيم هذه الفئران في مجموعتين، كل ٤٠ جرذا. تم تقسيم كل مجموعة إلى أربع مجموعات فرعية، كل ١٠ جرذان. المجموعة الفرعية القياسية مع حركة الاسنان بالتقويم فقط ، المجموعة الفرعية تلقت حركة الاسنان بالتقويم مع البرويتن المشكل للعظم وحده، المجموعة الفرعية تلقت حركة الاسنان بالتقويم مع كربونات الكالسيوم النانوية وحدها وتتلقى المجموعة الفرعية حركة الاسنان مع كربونات الكالسيوم النانوية المتقارنة مع البروتين المكون للعظم.

بعد أول ٢١ يومًا من حركة الاسنان، تم استبدال جهاز التقويم الثابت، في المجموعة الثانية (مجموعة ٩ أسابيع) بتثبيت ميكانيكي، لمدة ٢١ يومًا أخرى ، من أجل الاحتفاظ بالضرس الاول المتحرك في مكانه الجديد. ومع ذلك، بالنسبة للمجموعة الأولى (مجموعة مدتها ٦ أسابيع) ، تم نزع الجاهز الثابت دون وضع أي وسيلة تثبيت. خلال الـ ٢١ يومًا الثانية ، تم إعطاء علاج محدد لكل مجموعة فرعية أسبوعياً لكل من المجموعة التي تبلغ مدتها ٦ أسابيع و ٩ أسابيع ، وتم قياس وزن الجسم وحركة الاسنان التقويمية ، ومسافة الانتكاس أسبوعياً لكلا المجموعتين (٦ - أسبوع و ٩ أسابيع) ، ثم تم التخلص منها في اليوم ٤٢. في حين تم نقل مجموعة ٩ أسابيع لمدة ٢١ يومًا ثالثًا من فترة ما بعد الاحتفاظ ، حيث تم قياس مسافة الانتكاس ، ثم تم التخلص منها عند ٦٣. تم إجراؤها لتقييم التغييرات في بناء العظم، وهدم العظم ، وعدد الخلايا الهادمة للعظم ، وعدد الخلايا البانية للعظم. أجريت التحليلات والأرقام باستخدام النظام الاحصائي واعتبرت قيمة $P < ٠.٠٥$ ذات دلالة إحصائية.

النتائج: تم استخدام إجراء الربط المتبادل الأيوني لتحضير كربونات الكالسيوم النانوية. يمكن للجسيمات النانوية للمنتج استمرار تحرير البروتين المشكل للعظم من الجزيئة المركبة.

داخل كل مجموعة ، انخفض وزن الجسم الحيواني بشكل ملحوظ بعد التدخل واستمر بمرور الوقت مع انخفاض متوسط أعلى في مجموعة ٩ أسابيع من مجموعة ٦ أسابيع. زاد حركة الاسنان في جميع المجموعات الفرعية المكونة من ٦ أسابيع و ٩ أسابيع بشكل حاد بين اليوم صفر واليوم الحادي والعشرين.

زادت مسافة الانتكاس بمرر الوقت من ٢٨ إلى ٤٢ يومًا في جميع المجموعات الفرعية للمجموعة التي تبلغ مدتها ٦ أسابيع مع أعلى مستوى في السيطرة والأدنى في المجموعة الفرعية المقترنة. من ناحية أخرى ، كان معدل الانتكاس في المجموعات الفرعية الأربعة من مجموعة الأسابيع التسعة صفرًا تقريبًا خلال ثلاث نقاط زمنية (٢٨ و ٣٥ و ٤٢ يومًا) ثم زاد بشكل حاد في اليوم الثالث والستين.

أظهر الفحص النسيجي أن هدم العظام وبناء العظام وعدد الخلايا كانت أعلى في الجانب المعالج منها في الجانب غير المعالج. كان بناء العظام أعلى في الجانب المعالج / جهة الشد لمجموعة مدتها ٩ أسابيع مقارنة بنظيراتها في مجموعة مدتها ٦ أسابيع ، في حين كان هدم العظام أعلى في الجانب المعالج / جهة الضغط لمجموعة ٩ أسابيع مقارنة بنظرائه في ٦ أسابيع مجموعة. كانت خلايا أوستيوبلاستس أكثر في الجانب المعالج / جهة الشد لمجموعة فرعية من كربونات الكالسيوم في مجموعة مدتها ٩ أسابيع مقارنة بالمجموعة التي مدتها ٦ أسابيع. ومع ذلك ، كانت خلايا ناقضة العظم أقل في الجانب المعالج / موقع الضغط للتحكم ، ومجموعات فرعية البروتين الشكل و كاربونات الكالسيوم في مجموعة ٩ أسابيع مقارنة بمجموعة ٦ أسابيع.

الخلاصة: يمكن استخدام كربونات الكالسيوم النانوية كمثبت بيولوجي وكحامل للبروتين المشكل للعظم ولكن بحذر. كما تم تقليل مسافة الانتكاس مع وجود كل من المثبت الميكانيكي والبيولوجي. كانت الصورة النسيجية للانتكاس مماثلة لتلك الخاصة بحركة الأسنان التقويمية.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بغداد
كلية طب الأسنان

دور كربونات الكالسيوم النانوية و / أو البروتين المورفوجنيتي العظمي المؤتلف كعامل بيولوجي لتقويم الأسنان
(دراسة تجريبية على الحيوانات)

اطروحة مقدمة الى مجلس كلية طب الاسنان كجزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه في تقويم الاسنان

من قبل
عطاء غازي عبدالامير
ماجستير في تقويم الاسنان

باشراف
الاستاذ الدكتور
حيدر فاضل سلوم
دكتوراة في تقويم الاسنان (المملكة المتحدة – لندن)

٢٠٢٣م ١٤٤٤هـ