MINISTRY OF HIGHER EDUCATION
AND SCIENTIFIC RESEARCH
UNIVERSITY OF MOSSUL
COLLEGE OF DENTISTRY

Impact of Synthetic Hydroxyapatite and Nano gold Particle on Healing of Surgically Created Defect (an Experimental Study in Rabbits)

A Thesis Submitted By

Banan Nabeel AL-Hussary
BDS, MsC

To

The Council of College of Dentistry /Mosul University

In partial fulfillment of the Requirements for the Degree of Philosophy Doctorate in Dental Sciences / Oral and Dental Pharmacology

Supervised By

Dr. Ghada Abd AL-Rahman Taqa
Professor

Dr. Amer Abd AL-Rahman Taqa
Professor

2020A.C. **1441A.H.**

Abstract

The aim of the present study were undertaken to prepared hydroxyapatite powder from chicken eggshell and seashell. In addition, convert them in nano size and mixed them with gold nanoparicles in different concentration for repairing the mandibular bone defects in rabbits.

Materials and Methods: The chicken eggshells and seashells were cleaned then 98% of the phosphoric acid was added. The product was inserted in oven then calcined at 700˚C for 1 hour in the muffled furnace, to evaporate CO_2 and getting the white crystalline powder which indicated presence of HA then the powder was converted to nanoparticle according to the attrition method.

Gold nanoparticles were prepared by the attrition methods in different concentrations (1%, 2% and 5%) and mixed them with a standard nano hydroxyapatite (nHA) eggshell nano hydroxyapatite and seashell nano hydroxyapatite. The standard hydroxyapatite and synthesized eggshell nHA and seashell nHA were testified by Infra-Red spectrophotometer FTIR, estimation of the most biocompatible nHA by chemical test (Silver nitrate Test).

Sixty nine healthy rabbits were subjected to the operation in which bone defect with 2mm width and 6mm length in mandibular bone was created. Rabbits were divided into two parts: **The first Part** the rabbits were divided into four groups (Control, standard nHA, eggshell nHA and seashell nHA), each group contain 12 rabbits, 4rabbits in each sub group. Animals were sacrified at an interval (15, 30, 45) days. **The second part** in which rabbits were divided into three groups (gold alone, eggshell nHA with gold nanoparticles (1, 2, 5)% and seashell nHA with gold nanoparticles (1, 2, 5)%, at 30 days .

The mixture were applied in the groove of all rabbit's mandibular bone after surgical procedures except in control group. Bone biomarkers, bone

mineral density was measured after 15,30,45 days postoperatively for all rabbits by using bone biomarker kits and densitometric software analysis respectively. After animals were slaughtered, bone specimens were chopped from jaw bones of each group and prepared for histological examination

Results: FTIR Spectroscopy for the eggshell and seashell nHA powder showed that two compounds which have the same infrared spectrum and the location of bands with standard hydroxyapatite powder. The results of chemical test showed a yellow precipitate formed in eggshell nHA. However, standard nHA and less yellowish color was noticed with seashell nHA.

Biochemical assay: In part 1 of Bone Alkaline Phosphatase (BALP), ANOVA test showed a significant increase in BALP at day 30 in standard nHA (2.55±0.1), seashell nHA (2.9±0.1) in comparison to control (0.4±0.1) and eggshell nHA groups (0.5±0.1). At day 45, ANOVA test showed significant increased in BALP in standard nHA (0.6±0.1), eggshell nHA(0.64±0.1) in comparison to control groups (0.33±0.1). **In part 2 of Bone Alkaline Phosphatase (BALP),** ANOVA test showed an increased significant difference in BALP in gold (0.7±0.1), and Eggshell nHA +5%gold (0.9±0.1) at 30 days in comparison to control (0.4±0.1) and Eggshell nHA (0.5±0.1). ANOVA test showed increased significant difference in BALP in gold (0.7±0.1), seashell nHA (2.8±0.1) and seashell nHA +5% gold (3.1±0.1) in comparison to control groups (0.4±0.1) at 30 days.

In part 1 Cross Linked N-telopeptide of Type I Collagen (NTX), ANOVA test showed an increased significant difference in NTX and increased bone resorption rate in control (12.7±0.1) in comparison to eggshell nHA (4.6±0.1), standard nHA (3.1±0.1) and Seashell nHA groups (2.4±0.1) respectively which is decreased in bone resorption rate at all periods of time. **In part 2 Cross Linked N-telopeptide of Type I Collagen (NTX),** ANOVA test

showed significant increase in NTX in control groups (12.7±0.1) in comparison with gold (4.0±0.1), Eggshell nHA (4.6±0.1) and Eggshell nHA +5%gold groups (1.8±0.1) at 30 days, NTX also increased significantly in control groups (12.7±0.1) in comparison with gold alone, seashell nHA and gold 5%when combination with seashell nHA (4.0±0.1) (2.4±0.1) (1.6±0.1) respectively at 30 days

Bone Mineral Density (BMD): Statistical analysis showed significant differences at $p \leq 0.05$ in (BMD) among all groups of the study at different follow-up times from control groups. ANOVA test showed significant increased in gold group (107.0±1.0), Eggshell nHA +gold 2% (146.0±1.0) and Eggshell nHA +gold 5% (150.1.0) in comparison to control group (93.0±1.0), Eggshell nHA group (99.0±1.0) and Eggshell nHA +gold 1% (99.0±1.0). ANOVA test showed significant increase in all groups in comparison to control groups (gold group (107.0±1.0), Seashell nHA group (158.0±1.0), Seashell nHA +gold 1% (94.0±1.0), Seashell nHA +gold 2% (140.0±1.0) and Eggshell nHA +gold 5% (160.1.0) in comparison to control group (93.0±1.0).

Histological studies: showed that eggshell nHA and seashell nHA powder accelerated the bone healing in the mandibular bone of the rabbits .

Statistical analysis of histological observations in the part 1 at 15, 30 and 45 days revealed a significant elevation of Kruskal-Wallis H test in seashell nHA, standard nHA and eggshell nHA groups respectively in space filling and lamellar bone formation in comparison with control groups .

Statistical analysis of histological observations in part 2 at 30 days revealed a significant elevation of Kruskal-Wallis H test in seashell nHA with gold more than eggshell nHA with gold groups in space filling and lamellar bone formation compare with gold groups .

Conclusions: hydroxyapatite nanoparticles can successfully be produced by chemical precipitation technique from (eggshells and seashells) with phosphoric acid solution by attrition method. Eggshell and seashell Nano hydroxyapatite powder was used successfully accelarate in bone healing. However a higher rate of accelaration in bone healing was noticed when gold was added.

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية طب الاسنان

تأثير جزيئات الهايدروكسي اباتايت التخليقية و جزيئات الذهب النانوية على شفاء العيب المعمول جراحيا (دراسة تجريبية في الارانب)

اطروحة مقدمة من قبل

بنان نبيل الحصري
BDS, MsC

إلى

مجلس كلية طب الأسنان - جامعة الموصل
كجزء من متطلبات نيل درجة دكتوراه فلسفة
في علوم طب الاسنان/ادوية الفم والاسنان

بإشراف

الأستاذ
الدكتورة غادة عبدالرحمن طاقة

الأستاذ
الدكتور عامر عبدالرحمن طاقة

1441هـ

2020 م

أظهرت نتائج الاختبار الكيميائي أنه تم تكوين ترسيب أصفر في قشور البيض القياسي وأقل صفرة عند إضافته الى قشورصدف البحرالنانونية.

يمثل التحليل الإحصائي لهذه الدراسة اختلافات كبيرة في مستوى BALP و NTX خلال فترات هالدراسة تقريبا. والاختلافات الكبيرة بين المجموعات فيBMD

في التجربة الاولى أظهرت هذه الدراسة فروقا ذات دلالة احصائية في اختبار BALP بين جميع مجموعات الدراسة في أوقات المتابعة المختلفة باستثناء اليوم 15. بعد 30 يوم من العلاج اظهرت هذه الدراسة ان هناك فروقات معنوية ذات دلالة احصائية بين مجموعة الهايدروكسي اباتايت القياسي وقشور صدف البحر النانونية مقارنة بمجموعة السيطرة ومجموعة قشور البيض النانونية. بعد 45 يوم من الدراسة وجدت أيضا فروقا معنوية ذات دلالة احصائية بين مجاميع قشور الصدف وقشور البيض مقارنة بمجاميع السيطرة .

في التجربة الثانية من اختبارBALP اظهرت الدراسة ان هناك فروقا معنوية ذات دلالة احصائية بين مجموعة الذهب لوحده والذهب عند اضافته الى قشور البيض النانونية بعد اليوم الثلاثين بعد العلاج مقارنة بمجموعة السيطرة وقشور البيض النانونية لوحدها.واظهرت الدراسة ان هناك فروقا معنوية ذات دلالة احصائية بين مجموعة الذهب لوحده ومجموعة قشور الصدف النانونية ومجموعة الذهب عند اضافته بتركيز 5% الى قشور الصدف النانونية .

في التجربة الاولى من اختبار NTX لوحظ ان هناك فروقا معنوية ذات دلالة احصائية بين مجاميع السيطرة مقارنة بمجاميع الهايدروكسي اباتايت القياسية ومجموعة قشور البيض النانونية ومجموعة قشور الصدف النانونيةز اما بالنسبة للتجربة الثانية تبين ان هناك فروق معنوية ذات دلالة احصائية في مجموعة السيطرة مقارنة بمجاميع الذهب لوحده وقشور البيض النانونية والذهب عند اضافته بتركيز 5% الى قشور البيض النانونية.

اما بالنسبة لاختبار BMD في التجربة الاولى لوحظ ان هناك فروقا معنوية ذات دلالة احصائية بين جميع المجاميع مقارنة بمجموعة السيطرة . كما ان هناك فروقات معنوية ذات دلالة احصائية بين مجاميع (الذهب وقشور البيض النانونية لوحدهاومجموعة الذهب عند اضافته بتركيز1% الى قشور البيض النانونية ومجموعة الذهب عند اضافته بتركيز2% الى قشور البيض النانونية ومجموعة الذهب عند اضافته بتركيز 5% الى قشور البيض النانونية) مقارنة بمجاميع السيطرة ز ولكن لايوجد فرق معنوي بين قشور البيض النانونية وقشور البيض النانونية عند اضافته الى الذهب بتركيز 1%.

كما انه يوجد هناك فروقا معنوية ذات دلالة احصائية في مجاميع(الذهب وقشور البيض النانونية والذهب عند اضافته بتركيز 1%على قشور الذهب النانونية والذهب عند اضافته بتركيز 2% على قشور البيض النانونية والذهب عند اضافته بتركيز 5% على قشور البيض النانونية

اظهرت الدراسة النسيجية ان قشور البيض النانونية وقشور الصدف النانونية تسرع في شفاء العظام في عظم الفك السفلي .حيث اظهراختبار Kruskal-Wallis فروق معنوية ذات دلالة احصائية في التجربة الاولى في ملء الفراغ وتكوين عظم صفيحي مقارنة مع مجموعة التحكم .

كشف التحليل الإحصائي للملاحظات النسيجية في التجربة الثانية في اليوم الثلاثين عن فروق معنوية ذات دلالة احصائية انه عند اضافة الذهب بتركيز 5% الى قشور البيض وقشور الصدف النانونية ادى الى ملء الفراغ وتكوين العظام الصفائحي مقارنة مع مجموعة الذهب لوحده.وان اضافة الذهب بتركيز 5% الى قشور الصدف في ملء الفراغ وتكوين عظم صفيحي مقارنة باضافته الى قشور البيض النانونية .

الخلاصة: يمكن إنتاج الجسيمات النانوية الهيدروكسياباتيت بنجاح بوساطة تقنية الترسيب الكيميائي من (قشور البيض والأصداف البحرية) بمحلول حمض الفوسفوريك. تم استخدام مسحوق قشر البحر والصدف نانو هيدروكسياباتيت بنجاح في شفاء العظام وزيادة التسارع في شفاء العظام عند إضافة الهايدروكسي اباتايت النانوني المحضر إلى الذهب بتراكيز مختلفة.