University of Mosul

College of Dentistry

# Influence of Locally Injected Coenzyme Q10 and Rosuvastatin Loaded with Hydrogel on Orthodontic Relapse: Rabbit Model Study

**A Dissertation Submitted by**

**Saba Najman Yaseen**

**To**

**The Council of the College of Dentistry**

**University of Mosul**

**As a Partial fulfillment of the Requirements for the Degree of Philosophy Doctorate in Dental Sciences**

**Supervised by**

**Assist. Prof. Dr.** **Hakam H. Al-Fakhry**

**Assist. Prof. Dr.** **Mohanad Y. Saleh**

**2025 A.D.** **1446 A.H.**

# ABSTRACT

***Background:*** Relapse after orthodontic treatment represents an unresolved orthodontic issue. Local administration of osteogenic agents via drug delivery is a key strategy for developing materials that may efficiently prevent orthodontic relapse.

***Aims:*** The objective of this study was *in vitro* loading of Coenzyme Q10 and rosuvastatin separately into an injectable thiolated hyaluronan hydrogel with assessment of the effect of the resultant formulas on alveolar bone remodeling and on orthodontic relapse after local injection in a rabbit model.

***Materials and Methods:*** Coenzyme Q10 and rosuvastatin were loaded separetely into an injectable thiolated hyaluronan hydrogel with *in vitro* assessment of the resultant formulas by evaluation of (proton nuclear magnetic resonance, fourier transform infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, injectability, gelation behavior, swelling behavior, release and thermogravimetric analysis). *In vivo* evaluation was done by local injection of the experimental materials in a rabbit model. Sixty adult male albino rabbits were randomly divided into four groups (fifteen rabbits on each group): group I (negative control) injected with phosphate-buffered saline, group II (positive control) injected with injectable thiolated hyaluronan hydrogel , group III injected with (Coenzyme Q10 / injectable thiolated hyaluronan hydrogel) and group IV injected with (rosuvastatin / injectable thiolated hyaluronan hydrogel). The valium of injection was 200 µl/ rabbit. Each group was further subdivided into three subgroups (five rabbits on each group) according to the time of euthanization (0, 10, and 21 days). For all the experimental groups, modified orthodontic appliances were fixed to distalize the lower mandibular incisors of the rabbits for 2

weeks, followed by a retention period for 3 weeks. On the first day of the retention period, single local injection of the experimental materials was administered. After the retention period, the orthodontic appliances were removed, and the teeth were allowed to relapse. The effect on relapse was assessed clinically by measurement of the relapse amount after orthodontic treatment using a digital vernier. Then, histological analysis of alveolar bone remodeling by measuring osteoblast, osteoclast, and blood vessel counts, periodontal ligament width and percentage of new bone formation, as well as immunohistochemical analysis for Bone Alkaline Phosphatase and Tartrate Resistant Acid Phosphatase 5b expressions at the injection site on (0, 10, and 21) days at the coronal and apical levels was done. Statistical analysis was performed by SPSS using $P \leq 0.05$ was considered significant.

***Results:*** Coenzyme Q10 and rosuvastatin were successfully loaded into an injectable thiolated hyaluronan hydrogel, that was confirmed by *in vitro* investigations. Generally, the cumulative relapse increased with time in all experimental groups over the 21-day relapse period.

Local injection of (rosuvastatin / injectable thiolated hyaluronan hydrogel) resulted in a significant reduction in the relapse distance and relapse percentage on days 7, 10, 14, 17, and 21. The (rosuvastatin / injectable thiolated hyaluronan hydrogel) had a more potent effect compared with all other groups. It produced a significant increase in osteoblast count, decreased osteoclast count, increased blood vessel count, reduced periodontal ligament width, and increased new bone area% with varying significance at three time intervals. Also, this formula produced a significant increase in the expression of Bone Alkaline Phosphatase with a significant reduction in the expression of Tartrate Resistant Acid Phosphatase 5b upon immunohistochemistry analysis on days 0 and 10.

The (Coenzyme Q10 / injectable thiolated hyaluronan hydrogel) also produced a significant reduction in the relapse distance and relapse percentage compared with the control groups on days 7, 10, 14, 17, and 21, also, it has the potential to modulate bone remodeling, but to a lesser degree compared with (rosuvastatin / injectable thiolated hyaluronan hydrogel). The (Coenzyme Q10 / injectable thiolated hyaluronan hydrogel) can increase osteoblast count, decrease osteoclast count, reduce periodontal ligament width, and increase new bone area% with varying significance at three time intervals, but it had no effect on blood vessel count. It can significantly increase the expression of Bone Alkaline Phosphatase and decrease the expression of Tartrate Resistant Acid Phosphatase 5b upon immunohistochemistry analysis on days 0 and 10. Furthermore, the effect of all experimental materials involved the entire local working field, and the same results were obtained both coronally and apically.

***Conclusions:*** The clinical, histological, and immunohistochemical results of this study confirmed the positive impacts of local injection of (rosuvastatin / injectable thiolated hyaluronan hydrogel) and, to a lesser degree, (Coenzyme Q10 / injectable thiolated hyaluronan hydrogel) on alveolar bone remodeling by increasing bone formation and decreasing bone resorptions, so they have the potential to enhance post-orthodontic teeth stability and could have the ability to reduce relapse after local injection.

جامعة الموصل

كلية طب الاسنان

# تأثير الحقن الموضعي لمساعد الانزيم Q10 والروزوفاستاتين محمولا بالهايدروجيل على الانتكاس التقويمي: دراسة على نموذج الارنب

اطروحة تقدمت بها

**صبا نجمان ياسين**

الى مجلس كلية طب الأسنان/ جامعة الموصل

كجزء من متطلبات نيل شهادة دكتوراه فلسفة في علوم طب الاسنان

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

الأستاذ المساعد الدكتور

# الخلاصة

**الخلفية:** تمثل انتكاسة الاسنان بعد التقويم مشكلة لم تحل ليومنا هذا. يمثل الحقن الموضعي للادوية المرممة للعظم باستخدام حامل دواء مفتاحا لتطوير مواد ممكن ان تقلل الانتكاسة بعد التقويم.

**الاهداف:** تهدف الدراسة الى تحميل، تحضير، وتوصيف مساعد الانزيم Q10 و الروزوفاستاتين كل على حدى على حامل دواء قابل للحقن (الثايوليتيد هايلورونك اسيد هايدروجيل) و اجراء اختبارات لفحص المادة في المختبر مع تقييم التأثير السريري للمادة في منع انتكاسة الاسنان بعد الحقن الموضعي في اسنان الارانب.

**المواد وطرائق العمل:** تحميل مساعد الانزيم Q10 والروزوفاستاتين على حامل الدواء (الثايوليتيد هايلورونك اسيد هايدروجيل) مع دراسة مختبرية للمواد الناتجة واجراء اختبارات FTIR, SEM, $^{1}$H-NMR واختبارقابلية الحقن والانتفاخ وتحريرالدواء والتفكك الحراري. تم التقييم السريري بالحقن الموضعي للمواد في اسنان الارنب. تم تقسيم ستين ارنب ذكر البيني ابهق بالغ عشوائيا الى اربعة اقسام المجموعة الاولى مجموعة (السيطرة السلبية) تحقن موضعيا ب (200 µl) المحلول الملحي المخزن بالفوسفات والمجموعة الثانية (السيطرة الايجابية) وتحقن ب (200 µl) ثايوليتيد هايلورونك اسيد هايدروجيل و المجموعة الثالثة تحقن ب (200 µl) مساعد الانزيم Q10 محمولا على الهايدروجيل والمجموعة الرابعة تحقن ب (200 µl) من الروزوفاستاتين محمولا على الهايدروجيل. تم تقسيم كل مجموعة الى ثلاثة مجاميع فرعية حسب وقت القتل الرحيم (اليوم 0, 10, 21). بالنسبة لجميع المجاميع التجريبية، تم تثبيت اجهزة التقويم لدفع القواطع المركزية في الفك السفلي للخلف لمدة (اسبوعين)، يتبع بفترة الاحتفاظ لمدة (ثلاثة اسابيع). في اليوم الاول من فترة الاحتفاظ ،تم الحقن الموضعي بالمواد التجريبية. بعد مدة الاحتفاظ، تم ازالة اجهزة التقويم والسماح للاسنان بالانتكاس. تم قياس الانتكاس سريريا ثم تم اجراء التحاليل النسيجية والمناعية النسيجية الكيميائية للعينات. تم التحليل الاحصائي للبيانات باستخدام برنامج الاحصاء SPSS (عند مستوى $p \leq 0.05$ لفروق ذات دلالة إحصائية).

**النتائج:** تم تحميل مساعد الانزيم Q10 والروزوفاستاتين على حامل الدواء بنجاح وتم التحقق من ذلك بواسطة التحليلات المختبرية. بشكل عام، كان الانتكاس التراكمي بتزايد لكل المجاميع التجريبية خلال فترة الانتكاس ال (21) يوم. أدى الحقن الموضعي للروزوفاستاتين محمولا على الهايدروجيل الى انخفاض معنوي في الانتكاس ونسبتة للايام 7, 10 , 14 و 21 وكان له التاثيرالاكبر بالمقارنة مع باقي المجاميع التجريبية وانتج زيادة معنوية في الخلايا البانية

للعظم، انخفاض في الخلايا الناقضة للعظم، زيادة الاوعية الدموية، انخفاض في عرض الرباط اللثوي مع زيادة في نسبة بناء العظم وبدرجات معنوية متفاوتة لفترات الدراسة الثلاثة. أنتج ايضا زيادة معنوية في مستوى الفوسفاتيز القلوي العظمي وانخفاض معنوي في مستوى حمض الفوسفاتيز المقاوم للترترات للايام 0 و10. مساعد الانزيم Q10 محمولا على الهايدروجيل ايضا أنتج انخفاض معنوي في مسافة ونسبة الانتكاس بالمقارنة مع مجاميع السيطرة للايام 7, 10 , 14و21 ولكن بشكل اقل بالمقارنة مع الروزوفاستاتين المحمول على الهايدروجيل حيث ان له القابلية على تعديل بناء العظم، ولكن بدرجة اقل بالمقارنة مع الروزوفاستاتين محمولا على الهايدروجيل. له القابلية على انتاج زيادة معنوية في الخلايا البانية للعظم، انخفاض في الخلايا الناقضة للعظم، انخفاض في عرض الرباط اللثوي مع زيادة في نسبة بناء العظم وبدرجات معنوية متفاوتة لفترات الدراسة الثلاثة لكل ليس له تأثير على عدد الاوعية الدموية. ايضا أنتج زيادة معنوية في مستوى الفوسفاتيز القلوي العظمي وانخفاض معنوي في مستوى حمض الفوسفاتيز المقاوم للترترات للايام 0 و10. بالاضافة لما سبق، كان تاثير حقن المواد التجريبية شاملا لكامل المنطقة المستهدفة في الجزء التاجي و الجزء القمي.

**الاستنتاجات**: أكدت النتائج السريرية و النسيجية والمناعية النسيجية الكيميائية تأثيرا ايجابيا للحقن الموضعي للروزوفاستاتين محمولا على الهايدروجيل وبشكل اقل لمساعد الانزيم Q10 محمولا على الهايدروجيل على تعزيز اعادة تشكيل العظم وذلك بزيادة بناء العظم وانخفاض هدم العظم، لهذا فالمادتين لديهم القابلية على زيادة ثباتية الاسنان بعد التقويم وانخفاض الانتكاس التقويمي بعد الحقن الموضعي.