

Bioceramic nanoparticles for bone regeneration

Citation for published version (APA):

Sutthavas, P. (2023). *Bioceramic nanoparticles for bone regeneration*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20231011ps>

Document status and date:

Published: 01/01/2023

DOI:

[10.26481/dis.20231011ps](https://doi.org/10.26481/dis.20231011ps)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Although bone can heal itself, large bone defects caused by e.g. trauma or disease, often cannot be repaired naturally. Patients own bone, or autografts, remain the gold standard treatment for large bone defects. However, limitations in availability of donor material and complications associated with autograft harvest, are still major clinical challenges. Hence, there is a great need for synthetic materials for bone substitution. Current synthetic materials for bone regeneration, though, often have lower bioactivity compared to natural bone. Over the past decade, major scientific progress has been made in developing synthetic biomaterials with improved bioactivity. Advancements in nanotechnology research has resulted in the controlled synthesis of nanoparticles with similar size, shape and chemical composition as the inorganic part of bone. These mainly consist of calcium phosphate (CaP) nanoparticles but also silica-based nanoparticles such as mesoporous nanoparticles (MSN) and mesoporous bioactive glass ceramic nanoparticles (MBG) have gained interest due to their inherent bioactivity. Indeed, both MSN and MBG have been reported to reduce osteoclast activity and inhibit scar tissue formation, while stimulating the differentiation of bone cells and promoting the formation of new bone matrix. CaP, MBG and MSN also have high potential to serve as carriers for therapeutic ions. Thus,

ceramic nanoparticles represent promising biomaterials for bone regeneration. Chapter 2 of this thesis reviewed the synthesis and application of CaP, MSN, and MBG nanoparticles in the bone regeneration field and provided a future perspective on their clinical use.

In Chapter 3, the importance of CaP nanoparticle shape on their ability to promote osteogenic differentiation of Human mesenchymal stem cell (hMSC) was investigated. Round, rice, and needle-shaped CaP nanoparticles with similar crystallinity and chemical composition were synthesized using a wet synthesis method. hMSCs cells' adhesion and differentiation when cultured on nanoparticle coatings was studied. The results of this study showed that the expression levels and patterns of several osteogenic markers varied significantly depending on the shape of the nanoparticles. Notably, the highest efficacy for upregulating osteogenic gene expression was seen for hMSCs cultured on needle-shaped CaP nanoparticle coatings.

Bioinorganic ions are promising additives to stimulate bone formation, but local ion release and dosage control are critical in order to prevent adverse side effects. In Chapter 4, MSN for multiple therapeutic ion delivery were developed, and their ability to stimulate osteogenesis in hMSCs was evaluated. We demonstrated that MSN coated with CaP could efficiently deliver ions intracellularly by use of the CaP coat, which acted as a pH-sensitive gating system. This led to

high expression of early, middle and late osteogenic markers. We demonstrated a clear additive effect when delivering multiple bioinorganic ions using MSN. Ion-incorporated MSN induced hMSCs differentiation at significantly lower ion concentrations compared to ions dissolved in cell culture media. As such, the developed MSN represent a promising strategy to effectively induce hMSCs osteogenesis.

In Chapter 5, the importance of ion concentration and release was investigated by incorporating Zinc (Zn) ions in different ways within the MSN. Specifically, Zn was incorporated in the matrix, the surface, and within the mesopores of degradable and non-degradable MSN. The incorporation efficiency, ion release profiles, and ALP activity of hMSCs after exposure to the MSN and MBG were studied. Also in this study, the CaP surface coating served as a pH-sensitive gatekeeper and prevented degradation of MBG and degradable MSN in neutral conditions. The results showed that ion concentration and release profile as well as nanoparticle degradation rate, highly affects their effectiveness in promoting osteogenesis, where degradable MSN were most effective.

Multiple ion incorporation in ceramic nanoparticles is complicated using current wet synthesis methods. Chapter 6 examined a new technique based on laser-doping to incorporate multiple bioinorganic ions into bioglass nanoparticles. Their capacity to induce osteogenic differentiation in hMSCs and angiogenesis in

human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) was also evaluated. Laser-doping could successfully incorporate three ions; Fe, Sr, and Cu into solid bioactive glass nanoparticles without affecting their morphology and size, albeit in low quantities. The multiple ion incorporated bioactive glass nanoparticles had significantly higher angiogenic activity compared to non-doped counterparts.

In conclusion, the research in this thesis demonstrated the importance of nanoparticle shape, administration route, and explored the potential of MSN, MBG and nBGs as effective multiple ion delivery systems to promote bone regeneration.

Samenvatting

Hoewel bot zichzelf kan genezen, kunnen grote botdefecten veroorzaakt door bijvoorbeeld trauma of ziekte, vaak niet op natuurlijke wijze worden hersteld. Gebruik van het eigen bot van de patiënt is de standaard klinische behandeling voor grote botdefecten. Beperkingen in de beschikbaarheid van donormateriaal en andere complicaties vormen echter nog steeds grote klinische uitdagingen in de behandeling van grote botdefecten. Daarom is er een grote behoefte aan synthetische materialen voor botvervangende. De huidige synthetische materialen voor botregeneratie hebben echter vaak een lagere bioactiviteit in vergelijking met natuurlijk bot. De afgelopen tien jaar is er grote wetenschappelijke vooruitgang geboekt bij de ontwikkeling van synthetische biomaterialen met verbeterde bioactiviteit. Vooruitgang in het nanotechnologie veld heeft geresulteerd in nieuwe synthese technieken van nanodeeltjes die een vergelijkbare grootte, vorm en chemische samenstelling als het anorganische deel van bot hebben. Deze bestaan voornamelijk uit calciumfosfaat (CaP) nanodeeltjes, maar ook op silica gebaseerde nanodeeltjes zoals mesoporeuze nanodeeltjes (MSN) en mesoporeuze bioactieve glaskeramische nanodeeltjes (MBG) hebben belangstelling gekregen vanwege hun inherente bioactiviteit. Van zowel MSN als MBG is bekend dat ze de osteoclastactiviteit verminderen en de vorming van littekenweefsel remmen, terwijl ze de differentiatie van

botcellen stimuleren en daarnaast de vorming van nieuwe botmatrix bevorderen. CaP, MBG en MSN kunnen ook gebruikt worden voor het transporteren van therapeutische ionen. Keramische nanodeeltjes zijn dus veelbelovende biomaterialen voor botregeneratie. Hoofdstuk 2 van dit proefschrift bespreekt de synthese en toepassing van CaP-, MSN- en MBG-nanodeeltjes op het gebied van botregeneratie en biedt een toekomstperspectief op hun klinisch gebruik.

In Hoofdstuk 3 werd het belang van de vorm van CaP-nanodeeltjes op hun vermogen om osteogene differentiatie van hMSCs' te bevorderen onderzocht. Ronde, rijst- en naaldvormige CaP-nanodeeltjes met vergelijkbare kristalliniteit en chemische samenstelling werden gesynthetiseerd met behulp van een natte synthesemethode. Adhesie en differentiatie van humane mesenchymale stamcellen (hMSCs) die op coatings van nanodeeltjes waren gekweekt, werd bestudeerd. De resultaten van deze studie toonden aan dat de expressieniveaus en patronen van verschillende osteogene markers aanzienlijk varieerden, afhankelijk van de vorm van de nanodeeltjes. Met name naaldvormige CaP-nanodeeltjescoatings zorgend voor het tot expressie brengen van osteogene genen in hMSCs.

Bio-anorganische ionen zijn veelbelovende additieven om botvorming te stimuleren, maar lokale ionenafgifte en doseringscontrole zijn cruciaal om nadelige bijwerkingen te voorkomen. In Hoofdstuk 4 werden MSN's ontwikkeld voor het

afleveren van meerdere therapeutische ionen tegelijkertijd, en werd hun vermogen om osteogenese in hMSCs' te stimuleren geëvalueerd. We hebben aangetoond dat MSN's gecoat met CaP efficiënt ionen intracellulair kunnen afleveren door gebruik te maken van de CaP-coating, die fungeerde als een pH-gevoelige laag. Dit leidde tot hoge expressie van verschillende osteogene markers. We hebben een duidelijk additief effect aangetoond bij het leveren van meerdere bio-anorganische ionen met behulp van MSN's. MSN's induceerden hMSCs-differentiatie bij significant lagere ionconcentraties in vergelijking met ionen opgelost in celkweekmedia. De hierin ontwikkelde MSN vormen dus een veelbelovende strategie om hMSCs-osteogenese effectief te induceren.

In hoofdstuk 5 werd het belang van ionenconcentratie en -afgifte onderzocht door zink(Zn)-ionen op verschillende manieren in de MSN's op te nemen. In het bijzonder werd Zn opgenomen in de matrix, het oppervlak en in de mesoporiën van afbreekbare en niet-afbreekbare MSN's. De opname-efficiëntie, ionenafgifteprofielen en ALP-activiteit van hMSCs' na blootstelling aan de MSN's en MBG's werden bestudeerd. Ook in deze studie diende de CaP-oppervlaktecoating als een pH-gevoelige laag en voorkwam daarnaast degradatie van MBG's en afbreekbare MSN's in neutrale condities. De resultaten toonden aan dat de ionenconcentratie en het afgifteprofiel, evenals de afbraaksnelheid van nanodeeltjes, een grote invloed

hebben op hun effectiviteit bij het bevorderen van osteogenese, waar afbreekbare MSN's het meest effectief waren.

De opname van meerdere ionen in keramische nanodeeltjes is gecompliceerd met behulp van de huidige synthesesmethoden. Hoofdstuk 6 onderzocht een nieuwe techniek gebaseerd op laserdoping om meerdere bio-anorganische ionen in nanodeeltjes van bioglas te incorporeren. Hun vermogen om osteogene differentiatie in hMSCs' en angiogenese in menselijke navelstrengendotheelcellen (HUVEC's) te induceren, werd ook geëvalueerd. Laserdoping was succesvol in het incorporeren van Fe, Sr en Cu in bioactieve glazen nanodeeltjes zonder hun morfologie en grootte te beïnvloeden, zij het in kleine hoeveelheden. De bioactieve glazen nanodeeltjes met meerdere ionen hadden een significant hogere angiogene activiteit. Concluderend, het onderzoek in dit proefschrift toonde het belang aan van de vorm van nanodeeltjes en de toedieningsroute, en verkende het potentieel van MSN's, MBG's en nBG's als effectieve ionenafgiftesystemen om botregeneratie te bevorderen.