

# Breaking the silence

Citation for published version (APA):

Anand, S. (2024). *Breaking the silence: nano-engineered scaffolds for tympanic membrane regeneration*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20240221sa>

## Document status and date:

Published: 01/01/2024

## DOI:

[10.26481/dis.20240221sa](https://doi.org/10.26481/dis.20240221sa)

## 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](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

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

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

# SUMMARY

The tympanic membrane (TM) is an essential element of the human auditory system. Any damage to this tissue directly affects the sound conduction pathway of human hearing, resulting in impaired auditory function. Most clinical interventions addressing the repair of perforated TMs have predominantly relied on conventional myringoplasty therapies, involving microsurgical placement of autologous tissue grafts. However, these grafting tissues often lack the necessary properties for an effective vibro-acoustic transmission, leading to suboptimal restoration of the hearing capacity. Therefore, this thesis aimed to advance the current tissue engineering strategies available for the restoration of perforated TMs by integrating a variety of nanofeatures into biofabricated scaffolds. Four key aspects were identified for an anatomical and functional replication of the native tissue: (1) geometry, (2) biomaterial, (3) drug delivery, and (4) stimulation. The independent assessment of these elements at the sub-micron or nano level allowed the development of biomimetic scaffolds for reconstructing the damaged TM with the required 3D architecture, biomaterial properties, immunomodulatory response, antibacterial characteristics, and extracellular environment.

In this regard, the first experimental results of this thesis demonstrated that desirable mechanical, acoustical and biological behavior, analogous to that of the eardrum, can be attained by tactically manipulating the scaffold geometry. However, maneuvering the geometry may not always be a viable option, particularly in cases involving small to medium-sized TM perforations that require partial reconstruction. Under such circumstances, the inclusion of chitin nanofibrils within the polymer network allowed a direct control of the material properties. These chitin nanofibrils based composites were observed to not only enhance the mechanical response of the TM scaffolds but also to impart anti-inflammatory characteristics. Subsequently, multiple drug-loading strategies involving nanoparticle-based delivery systems were evaluated to develop biomimetic constructs with the dual functionality of promoting TM regeneration while facilitating a precise and localized release of antibiotics. The produced constructs exhibited tunable drug-releasing capabilities, offering promising results for personalized medicine in eardrum reconstruction. The final chapter of this thesis investigated the role of biochemical, biomechanical, and biophysical cues in steering the differentiation of human mesenchymal stromal cells for TM applications. Implemented through a custom-

built bioreactor setup, a favorable influence was obtained due to the applied molecular, acoustical, and hierarchical stimulations.

Thus, through a synergistic combination of theoretical and experimental approaches, this work highlighted that optimal scaffolds for TM regeneration can be achieved by creating biomimetic structures with the required tissue-like properties. Future efforts will focus on developing integrated therapies that merge all the reported aspects together for their pre-clinical assessment.

# SAMENVATTING

Het trommelvlies is een essentieel onderdeel van het menselijke gehoorsysteem. Elke vorm van schade aan dit weefsel heeft rechtstreeks invloed op het geluidsgeleidingspad van het menselijk gehoor, wat resulteert in een verminderde gehoorfunctie. De meeste klinische interventies gericht op het herstel van geperforeerde trommelvliezen zijn voornamelijk gebaseerd op conventionele myringoplastiektherapieën, waarbij autologe weefseltransplantaten op microchirurgische wijze worden geplaatst. Deze getransplanteerde weefsels missen echter vaak de noodzakelijke eigenschappen voor een effectieve vibro-akoestische transmissie, wat leidt tot een suboptimaal herstel van het gehoorvermogen. Dit proefschrift is bedoeld om de huidige weefselmanipulatiestrategieën die beschikbaar zijn voor het herstel van geperforeerde trommelvliezen te bevorderen door een verscheidenheid aan nanokenmerken te integreren in biogefabriceerde implantaten. Er werden vier sleutelaspecten geïdentificeerd voor een anatomische en functionele replicatie van het oorspronkelijke weefsel: (1) geometrie, (2) biomateriaal, (3) medicijnafgifte en (4) stimulatie. De onafhankelijke beoordeling van deze elementen op submicron- of nanoniveau maakte de ontwikkeling mogelijk van biomimetische implantaten voor het reconstrueren van het beschadigde trommelvlies met de vereiste 3D-architectuur, biomateriaaleigenschappen, immuunmodulerende respons, antibacteriële kenmerken en extracellulaire omgeving.

In dit opzicht hebben de eerste experimentele resultaten van dit proefschrift aangetoond dat wenselijk mechanisch, akoestisch en biologisch gedrag, analoog aan dat van het trommelvlies, kan worden bereikt door de implanteren-geometrie tactisch te manipuleren. Het optimaliseren van de geometrie is echter niet altijd een haalbare optie, vooral in gevallen waarbij sprake is van kleine tot middelgrote trommelvlies-perforaties die een gedeeltelijke reconstructie vereisen. Onder dergelijke omstandigheden maakte de opname van chitine-nanofibrillen in het polymeernetwerk een directe controle van de materiaaleigenschappen mogelijk. Er werd waargenomen dat deze op chitine nanofibrillen gebaseerde composieten niet alleen de mechanische respons van de trommelvlies-implantaten versterken, maar ook ontstekingsremmende eigenschappen verlenen. Vervolgens werden meerdere strategieën voor het laden van medicijnen, waarbij gebruik werd gemaakt van op nanodeeltjes gebaseerde toedieningssystemen, geëvalueerd om

biomimetische constructen te ontwikkelen met de dubbele functionaliteit in het bevorderen van trommelvlies-regeneratie en tegelijkertijd het faciliteren van een precieze en gelokaliseerde afgifte van antibiotica. De geproduceerde constructen vertoonden afstembare mogelijkheden voor het vrijgeven van medicijnen, wat veelbelovende resultaten opleverde voor gepersonaliseerde geneeskunde bij de reconstructie van het trommelvlies. Het laatste hoofdstuk van dit proefschrift onderzocht de rol van biochemische, biomechanische en biofysische signalen bij het sturen van de differentiatie van menselijke mesenchymale stromacellen voor trommelvlies-toepassingen. Geïmplementeerd via een op maat gemaakte bioreactoropstelling, werd een gunstige invloed verkregen dankzij de toegepaste moleculaire, akoestische en hiërarchische stimulaties.

Door een synergetische combinatie van theoretische en experimentele benaderingen heeft dit werk dus benadrukt dat optimale implantaten voor trommelvlies-regeneratie kunnen worden bereikt door biomimetische structuren te creëren met de vereiste weefselachtige eigenschappen. Toekomstige inspanningen zullen zich richten op het ontwikkelen van geïntegreerde therapieën die alle gerapporteerde aspecten samenvoegen voor hun preklinische beoordeling.