

# Designing gradient plotted scaffolds as a tool for improving osteochondral regeneration

## Citation for published version (APA):

Di Luca, A. (2017). *Designing gradient plotted scaffolds as a tool for improving osteochondral regeneration*. Gildeprint Drukkerijen. <https://doi.org/10.26481/dis.20170608adl>

## Document status and date:

Published: 01/01/2017

## DOI:

[10.26481/dis.20170608adl](https://doi.org/10.26481/dis.20170608adl)

## 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.

## Samenvatting

Voor het onderzoek beschreven in dit verslag is met uit beenmerg verkregen humane mesenchymale stromale cellen (hMSCs) gewerkt, aangezien deze cellen tijdens een klinische operatie via bijvoorbeeld microfracturen met een scaffold gecombineerd zouden kunnen worden. De cellen werden gezaaid op AM scaffolds met verschillende gradiënten waarna hun differentiatie in bot- of kraakbeencellen werd gekarakteriseerd om de effectiviteit van de ontworpen 3D gradiënten te bepalen. De scaffolds werden op verschillende manieren geproduceerd om gradiënten te creëren op basis van poreusheid, geometrie, fysisch-chemische eigenschappen en bioactieve moleculen.

In **hoofdstuk 1** wordt de osteochondrale overgangszone gepresenteerd als een weefsel met een gradiënt, waarvan vanuit het perspectief van biologische groei wordt uitgelegd hoe de weefselcompositie varieert vanaf het subchondrale bot tot aan het kraakbeen. Ook wordt de bestaande literatuur over de meest recente scaffold-gebaseerde behandelmethodes welke gradiënt structuren gebruikten beschreven.

In **hoofdstuk 2** werd de differentiatie van de hMSCs naar botcellen geanalyseerd nadat ze gekweekt waren in een scaffold met een gradiënt van poriegrootte. Alkaline fosfatase (ALP) activiteit, de expressie van genetische kenmerken Runx2, bot sialoproteïne, osteocalcine, osteopontine, en ALP, en de aanwezigheid van gemineraliseerde deposities werden geanalyseerd om te bekijken of de gradiënt hier een voordelig effect op had vergeleken met homogene scaffolds zonder gradiënt. Dezelfde eigenschappen werden geanalyseerd om te karakteriseren of cellen in compartimenten met een bepaalde gradiënt differentieerden naar botcellen.

In **hoofdstuk 3** werd de differentiatie van hMSCs naar kraakbeencellen geanalyseerd in een gradiënt met dezelfde structurele eigenschappen als die beschreven in hoofdstuk 3. Als kenmerken voor differentiatie naar kraakbeencellen werden glycosaminoglycaan (GAG) productie en genetische kenmerken sox 9,

aggrecaan, en collageen type II gebruikt. Ook hier werd het effect van de scaffoldgradiënten op hMSC differentiatie naar kraakbeen vergeleken met die van scaffolds met een homogene poriegrootte en binnen de gradiënt compartimenten.

In **hoofdstuk 4** was de poreusheid gradiënt gecreëerd in de radiale richting. Pijpbeenderen tonen ook een gradiënt in de radiale richting, met van buiten naar binnen eerst een laag compact bot, dan een laag trabeculair bot en in het midden het beenmergkanaal. Scaffolds met een vergelijkbare poreusheid als deze drie regio's werden geplot en het differentiatieprofiel van de hMSCs naar kraakbeencellen werd geanalyseerd. De mechanische eigenschappen van de scaffolds werden gekarakteriseerd en hMSC differentiatie naar kraakbeen geanalyseerd door middel van genetische en biochemische kenmerken. Histochemische kleuring en röntgen diffractie werden gebruikt om mineralisatie aan te tonen.

In **hoofdstuk 5** werd de hMSC differentiatie in scaffolds met een porievorm gradiënt over de z-as onderzocht. De porievorm gradiënt scaffolds werden geplot door de hoek tussen de vezels binnen opeenvolgende lagen te variëren. Een hoek tussen vezels van 0-90 leidde tot vierkante poriën, een hoek van 0-45 tot ruitvormige poriën, en hoeken van 0-30 en 0-15 tot ruitvormige poriën met een steeds kleinere kleinste diagonaal en grotere grootste diagonaal. De differentiatie van hMSCs naar bot- en kraakbeencellen werd geanalyseerd op biochemisch en genetisch gebied. Kenmerken voor bot- en kraakbeenvorming geanalyseerd in gradiënt scaffolds werden vergeleken met scaffolds met een homogene poriegrootte en binnen een individuele scaffold als functie van porievorm.

In **hoofdstuk 6** werden scaffold met fysisch-chemische gradiënten geanalyseerd. Door 3 materialen voor 1 scaffold te gebruiken werden gradiënten in stijfheid en oppervlakte-energie gerealiseerd. Deze scaffolds werden eerst gekarakteriseerd en de gradiënten werden geprofileerd over de z-as. De hMSC differentiatie naar bot- en kraakbeencellen werd geanalyseerd als reactie op deze gradiënten.

In **hoofdstuk 7** werden nanoborstels gebruikt als verbinding tussen het scaffoldoppervlak en bioactieve eiwitten. Na deze toepassing werd een simpele methode geïntroduceerd om een gradiënt in bioactieve moleculen te verkrijgen. Om de biologische activiteit van zulk een gradiënt te bewijzen werd fibronectine aan scaffolds toegevoegd zodat hier cellen aan konden hechten na de applicatie van zowel een radiale als axiale gradiënt.

In **hoofdstuk 8** werden BMP-2 en TGF- $\beta$ 3 aan de scaffolds gehecht. Het effect van deze toevoegingen op hMSC differentiatie werd vergeleken met dat van cellen op een scaffold zonder deze toevoegingen maar met dezelfde toevoegingen opgelost in het kweekmedium. Scaffolds met een gradiënt van deze toevoegingen werden gecreëerd en hun effect op hMSC differentiatie geëvalueerd.

In **hoofdstuk 9** werden alle scaffolds beschreven in dit verslag met elkaar vergeleken. Ook worden vervolgstudies voorgesteld om de kennis van scaffolds met een gradiënt voor kraakbeen regeneratie te vergroten, zodat het in de toekomst mogelijk nuttig kan zijn in de klinische setting.