

# VU Research Portal

## Osteoinductive and Antibacterial Biomaterials for Bone Tissue Engineering

Wang, D.

2016

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Wang, D. (2016). *Osteoinductive and Antibacterial Biomaterials for Bone Tissue Engineering*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

### **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

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## **Hoofdstuk 7**

### **Samenvatting**

## Samenvatting

Hoewel veel patiënten baat hebben bij de huidige beschikbare tand en bot vervangende implantaten is er toch nog een vrij grote groep die vanwege medische problemen, zoals diabetes, te grote (kaak)botdefecten, of ontstoken kaakbot, daarmee niet goed geholpen kunnen worden. Er is dus behoefte aan implantaten, botvervangers en botregeneratie materialen die zowel een betere integratie als herstel van bot (regeneratie) laten zien: beide aspecten berusten overigens op eenzelfde eigenschap, namelijk het vormen van nieuw bot op het grensvlak van bot – implantaat en bot - regeneratie materiaal.

Een van de methodes om nieuwvorming van bot te bevorderen is gelegen in de toepassing van biologische groeifactoren zoals het reeds geruime tijd bekende en klinisch toegepaste BMP-2. We hebben in onze groep een nieuwe methode ontwikkeld om een efficiënt gebruik van dit BMP-2 in de tandheelkunde (orale implantologie) in bot regeneratie mogelijk te maken door dit BMP-2 niet als stand-alone materiaal te gebruiken maar als deklaag op voornoemde tandwortel en bot implantaten. In principe volgen we de natuur – vandaar ook de naam “biomimetic coating” – zoals die ook in humaan bot (en zelfs door scheldieren, maar dan met carbonaat in plaats van fosfaat!) met veel succes wordt toegepast. De deklaag bestaat in principe uit een dun (ca 1/20 ste millimeter) laagje gemineraliseerd calcium fosfaat met ongeveer dezelfde minerale samenstelling als menselijk tand en bot weefsel: in dit laagje bevindt zich de benodigde hoeveelheid BMP-2. De methode is in principe eenvoudig: we brengen het te bedekken implantaat in een waterige oplossing, bij kamertemperatuur, die zowel de benodigde calcium als fosfaat ionen bevat als de vereiste concentratie aan BMP-2 moleculen. Na het te coaten implantaat in de vloeistof te hebben ondergedompeld, manipuleren we deze oplossing zodanig, dat de opgeloste componenten als een coating neerslaan op het implantaat oppervlak. We kunnen de exacte eigenschappen van deze coating, zoals de dikte, de samenstelling, oplosbaarheid, de hoeveelheid geïncorporeerd BMP2, zodanig regelen dat de coating na implantatie gedurende een bij het implantaat en de patiënt behorende tijdsduur de gewenste hoeveelheid BMP2 per tijdseenheid afgeven aan de weefsels rondom het implantaat.

In dit proefschrift noemen we deze methode de BMP2-BioCaP coating. In de praktijk bleek daarnaast de behoefte te bestaan om een coating te hebben die niet alleen preciezer met de tijd wisselende hoeveelheden BMP2 afgeeft maar daarnaast ook antibiotica kan vrijmaken ter bestrijding van infecties rondom het implantaat. Dit bereiken we door meerdere (“layer-by-layer”) coatings aan te brengen, ieder met verschillende oplosnelheden, met verschillende hoeveelheden BMP2, al of niet met antibiotica. De op deze wijze verkregen “multipurpose” coating hebben we in dit proefschrift verder uitontwikkeld zodat we uiteindelijk een geheel nieuwe deklaag tot onze beschikking hebben. Een coating die niet alleen stevig genoeg was en goed hechtte aan het implantaat oppervlak, maar daarnaast ook

nog in staat was na implantatie van het implantaat of botvervanger in een geprogrammeerd tempo op te lossen zodat precies de goede hoeveelheid BMP-2 op de juiste tijd in de ruimte tussen implantaat en omliggend (kaak)bot kan worden vrijgemaakt. Dit zet dan aan tot het nieuw vormen van bot ter vervanging van de aangebrachte coating. Deze nieuwe “multipurpose coating” hebben we de naam BMP2-BioCaP gegeven.

We vergelijken in dit proefschrift in een literatuurstudie onze beide coatings met andere, soms klinisch al toegepaste implantaatoppervlaktes, waarvan geclaimd wordt dat ze osseointegratie vertonen. Daarna bestuderen en vergelijken we onze beide (BMP2-BioCaP en BMP2-cop.BioCaP) coatings met elkaar. Aangezien we ook geïnfecteerde botdefecten willen herstellen door gebruik van deze botregeneratie materialen is ons in-vitro en in-vivo onderzoek tevens gericht op de inbouw van antibiotica; en dit is alleen mogelijk met onze nieuwe “layer-by-layer” BMP2-BioCap coating.

Hoofdstuk 1 en 2 bespreekt een specifiek botimplantaat, namelijk het BCP (het in het lichaam oplosbare, ofwel resorbeerbare, biphasic calcium fosfaat), dat reeds geruime tijd in de handel is en met redelijk succes klinische toepassing vindt. Ondanks deze goede eigenschappen is BCP niet in staat zonder hulp van buitenaf – autoloog bot, ofwel bot van de patiënt zelf – voldoende nieuw bot te regenereren. BCP wordt derhalve veelvuldig gemengd met autologe botsnippers om vermogen heeft om (1) grotere defecten en (2) defecten bij niet geheel gezonde patiënten (diabetes, osteoporose) te behandelen. Gebleken is dat BCP korrels gemengd met BCP korrels met BMP2-cop.BioCaP hetzelfde resultaat geeft als BCP gemengd met autologe botsnippers, en dat beide toevoegingen beter zijn dan alleen BCP. Het essentiële verschil met alleen BCP is dat beide mengsels niet alleen nieuwvorming van bot geven in contact met het eigen bot, maar ook osteoinductie vertonen, dat wil zeggen dat er ook bot gevormd wordt in het centrum van het te vullen botdefect, een plaats waar geen eigen bot aanwezig is – kortom een betere en snellere vulling van het defect. En het essentiële voordeel van onze compositie is natuurlijk dat we geen autoloog bot meer nodig hebben!

Echter, met een enkelvoudige met BMP2 geïncorporeerde CaP deklaag, het BMP2 BMP2-cop.BioCaP, kunnen we het infectieprobleem niet aanpakken. Immers daarvoor moet er behalve de botgroeifactor BMP2 een geschikt antibioticum bij. De vraag is nu hoe we concentratie en afgifte kinetiek daarvan zorgvuldig kunnen definiëren.

Deze vraag behandelen we in Hoofdstuk 3: Het osteoinductieve BMP2-BioCaP voorzien we opeenvolgend van deklagen met respectievelijk BMP2 en antibioticum als actieve component. Daarvoor hebben we gekozen voor HACC (hydroxypropyltrimethylammonium chloride chitosan) als model: HACC is een breed spectrum antibioticum tegen MRSA, S.Aureus, en P.gingivalis. We slaagden er in om BMP2-BioCaP te laden met HACC zodanig dat het resulterende BMP2-BioCaP/HACC complex enerzijds de activiteit van het

BMP2 niet beïnvloedde en dat anderzijds het afgifte patroon snel was voor het antibioticum en langzaam voor BMP2, zodanig dat beide actieve componenten optimaal tot hun recht kwamen. Een en ander bevestigden we in een dierproefmodel.

Waar we ons in het vorige Hoofdstuk 3 gericht hebben op BCP als een te verbeteren botimplantaat is onze aandacht in Hoofdstuk 4 op de vraag hoe een metalen implantaat kunnen voorzien van zo'n coating. We bespreken daartoe enkele essentiële aspecten van het osseointegratie proces, waaruit we de conclusie trekken dat na een aantal tussenstappen - adsorptie van biomoleculen uit de omringende vloeistof, gevolgd door aanhechting en proliferatie van mesenchymale stamcellen, die differentiëren tot osteoblasten, waarna uiteindelijk het nieuwe bot gevormd wordt. Coatings op het metaal die dit proces ondersteunen zijn tot dusver op CaP gebaseerd, en in onze groep betreft dat het eerder besproken BMP2-BioCaP. Echter, er zijn tot dusverre geen klinische studies verricht met deze gecoate metaal implantaten. Voor zo'n klinische studie is vereist dat de bot ingroei rondom een (tand)implantaat nauwkeurig kan worden gemeten. Omdat we zo'n meetmethode ook nodig hebben voor het meten van het effect van onze botimplantaten (de met BMP2-cop.BioCaP of BMP2-BioCaP gecoate korrels BCP) op de ingroei in botdefecten, is het van groot belang zo'n meetmethode ter beschikking te hebben.

Dat doel is het onderwerp van Hoofdstuk 5. We toetsten of de zogeheten CBCT methode – een afkorting van Cone Beam Computerized Tomography – daarvoor geschikt is. De reden dat we voor deze methode kozen is dat CBCT in de tandheelkundige implantologie reeds veelvuldig toegepast in de evaluatie van sinus lift chirurgie en osseointegratie van metalen implantaten. We hebben deze methode onderworpen aan een zorgvuldige histologische evaluatie, en onze conclusie is dat we met een nauwkeurigheid van een halve mm een goed inzicht moeten kunnen krijgen in de effectiviteit van onze gecoate bot en tandimplantaten, dat wil zeggen met BMP2 en al dan niet met antibioticum. De conclusie van dit hoofdstuk is dan ook dat we alles in huis hebben om een goede klinische proef te beginnen.

Als we de algehele conclusie in enkele woorden willen samenvatten, zou dat kunnen worden omschreven als volgt: ons onderzoek heeft een tweetal nieuwe strategieën geformuleerd voor effectiever (kaak)bot vullers en sneller ingroeiende tandimplantaten, namelijk door specifieke CaP coatings toe te passen met botgroei versnellende factoren (BMP2) en ontstekingsremmende antibiotica (HACC). En van praktisch nut is dat we beschikken over een getoetste CBCT methode om deze effecten te meten.