



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Development of innovative therapeutic strategies for osteoarthritis: exploring thermosensitive hydrogels, hiPSC-derived cells and cell-products, and novel drugs in preclinical models

Sayedipour, S.S.

Citation

Sayedipour, S. S. (2026, May 7). *Development of innovative therapeutic strategies for osteoarthritis: exploring thermosensitive hydrogels, hiPSC-derived cells and cell-products, and novel drugs in preclinical models.*

Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4303298>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4303298>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlands samenvatting

Algemene discussie en aanbevelingen

Samenvatting van het proefschrift

Artrose is een veelvoorkomende, progressieve gewrichtsaandoening die leidt tot structurele kraakbeenschade, pijn en functionele beperkingen. Ondanks de hoge ziektelast ontbreken momenteel effectieve behandelingen die de ziekte genezen. De centrale doelstelling van dit proefschrift was het ontwikkelen en testen van nieuwe therapeutische strategieën voor artrose. Hiertoe werd in dit proefschrift:

- Een injecteerbare thermogevoelige hydrogel ontwikkeld als drager voor de toediening van therapeutische cellen en/of stoffen in het gewricht (intra-articulair).
- Gebruik gemaakt van een gestandaardiseerd muizen model waarbij artrose wordt geïnduceerd door destabilisatie van de mediale meniscus (DMM) en een gestandaardiseerd laboratorium model van menselijke artrose kraakbeen wat afkomstig is van patiënten die een gewricht vervangende operatie ondergaan vanwege artrose.
- De therapeutische werkzaamheid onderzocht van a) hiPSC-afgeleide mesenchymale stromale cellen (hiMSCs) b) hiMSC-afgeleide extracellulaire blaasjes of 'vesicles' (hiEVs) en c) iopanoïnezuur (IOP) als geneesmiddel gericht op remming van schildklierhormoonactivatie.

Thermogevoelige hydrogel als intra-articulair toedieningsplatform

In **Hoofdstuk 2** werd een injecteerbare temperatuur gevoelige hydrogel ontwikkeld op basis van poloxameer 407 (P407). Om de biomechanische en afgifte-eigenschappen van deze thermogevoelige hydrogel te verfijnen is het gecombineerd met een zelf assemblerend eiwit. De geoptimaliseerde formulering voldeed aan de volgende criteria (i) goed injecteerbaar bij kamertemperatuur, (ii) snelle gelering bij 37°C zodat retentie in de gewrichtsholte werd bevorderd en (iii) gecontroleerde degradatie zodat langdurigere blootstelling van de therapie (hiMSCs, hiEVs en IOP) werd gerealiseerd. Vervolgens werd deze hydrogel gebruikt als toedieningsplatform in de verschillende hoofdstukken van het proefschrift en maakte zo die lokale retentie, positionering en bio-beschikbaarheid van toegediende cellen, blaasjes en geneesmiddelen mogelijk. Bovendien werd in **Hoofdstuk 3 en 4** aangetoond dat de hydrogel ook de effectiviteit van de verschillende therapieën versterkte.

Preklinische modellen en methodologische overwegingen

In dit proefschrift is gebruik gemaakt van twee gestandaardiseerde modellen. Een muizen model waarbij artrose werd geïnduceerd door DMM en een gestandaardiseerd laboratorium model van menselijk artrose kraakbeen. Dit laatste is afkomstig van patiënten die een gewricht vervangende operatie ondergaan vanwege artrose.

Het DMM-model bood binnen dit proefschrift een reproduceerbaar raamwerk voor mechanisch geïnduceerde, en artrose gerelateerde, schade aan het gewricht, in een *in vivo* muis model passend bij evaluatie van interventies gericht op het afremmen van initiële weefselschade. De uitkomsten van dit model waren gericht op weefselschade door middel van histologie en op markers van kraakbeenhomeostase i.e. de anabole kraakbeen marker Col2 en de katabole kraakbeen marker Mmp13 door middel van immunohistochemie.

De menselijke kraakbeen kweekjes van artrose patiënten vormden een waardevolle translationele aanvulling op het muis model. In deze kraakbeen kweekjes (met daadwerkelijke veroudering-gerelateerde artrose in de mens) is de interactie tussen het kraakbeen en onderliggende bot behouden. Omdat het synoviale weefsel ontbreekt geeft de uitkomst inzicht in het directe therapeutische effect op kraakbeen en bot. Tegelijkertijd kunnen de effect modificaties door het synovium en/of immuunmodulatie worden bepaald doordat een combinatie van muizen als menselijke artrose modellen werd toegepast. Samenvattend, de combinatie van deze twee modellen maakte het mogelijk om structurele *in vivo* uitkomsten te koppelen aan humane *ex vivo* uitkomsten en daarmee de translationele relevantie van de ontwikkelde hiMSC stamcel behandeling aan te tonen.

Celtherapie met hiMSCs: vergelijkbare effectiviteit als met hBMSCs

In **Hoofdstuk 3** werden hiMSCs onderzocht als schaalbaar alternatief voor stamcel therapie met primaire humane beenmerg stamcellen (hBMSCs). Beide celtypen reduceerden kraakbeenschade ten opzichte van controles wat wijst op een therapeutisch effect. Immunohistochemische analyses lieten verder zien dat hiMSCs gunstiger uitkomsten gaven op markers van kraakbeenhomeostase: verhoging van de anabole marker Col2 en daling van de katabole marker Mmp13 ten opzichte van hBMSCs. Dit suggereert dat hiMSCs, ondanks vergelijkbare histologische eindpunten, sterker bijdragen aan behoud van de aanmaak van kraakbeen en remming van de afbraak ervan. Daarnaast is aandacht besteed aan condities waarin de hiMSCs gekweekt worden in het laboratorium (serum-houdend versus serum-vrije kweekcondities). Dit onderzoek liet zien dat expansie van hiMSCs onder gestandaardiseerde kweekcondities geen invloed had op de therapeutische effectiviteit. De hydrogel droeg in dit hoofdstuk bij aan lokale retentie van hiMSCs, wat bijdroeg aan een duurzamere blootstelling van beschadigd weefsel aan therapeutische signalen.

Van cel therapie naar cel-vrije therapie: hiEVs

De stamcel therapie wordt grotendeels toegeschreven aan paracriene factoren die worden uitgescheiden in blaasjes (hiEVs). In **Hoofdstuk 4** werd daarom onderzocht of deze ook worden uitgescheiden door hiMSCs (hiEVs) en of ze kunnen fungeren als een cel-vrije therapie. Hiertoe werden hiEVs van hiMSCs getest in het muizen DMM-model (*in vivo*) en het menselijke kraakbeen model (*ex vivo*). De hiEV-preparaten hadden therapeutische effectiviteit (vermindering van kraakbeenschade en gunstige modulatie van Col2 en Mmp13) in het DMM-model. Deze bevindingen ondersteunden dat een overwegend paracrien werkingsmechanisme uitgescheiden door de hiMSCs

een gunstig effect heeft op kraakbeenhomeostase. In de menselijke kraakbeen kweekjes werd echter alleen een marginaal therapeutisch effect aangetoond.

IOP: effect van de remming van schildklieractivatie in kraakbeen

In **Hoofdstuk 5** werd de therapeutische potentie van IOP onderzocht in zowel het muizen DMM-model als in het menselijke kraakbeen model. IOP is een therapeutische agens die lokale activatie van schildklier hormoon wat tijdens het artroseproces verhoogd is weer kan remmen. In het DMM-model leidde IOP tot gunstige uitkomsten op markers van kraakbeenhomeostase: verhoging van de anabole marker Col2 en daling van de katabole marker Mmp13. In het menselijke kraakbeen werd eveneens een gedeeltelijk herstel van kraakbeenschade gezien (gebaseerd op de zogenaamde Mankin-score). De behaalde resultaten ondersteunden IOP als potentieel medicijn voor behandeling van kraakbeenschade vanwege artrose. Omdat IOP een geregistreerd geneesmiddel is geweest is er potentieel een snelle translatie naar de mens mogelijk.

Conclusies

Dit proefschrift richt zich op ontwikkeling en toepassing van nieuwe artrose therapieën gebaseerd op stamcellen en farmacologische agens. De belangrijkste conclusies zijn:

- De ontwikkelde temperatuur gevoelige P407-gebaseerde hydrogel functioneert als een breed inzetbaar toedieningsplatform voor injecties van cellen, cel producten en therapeutische agens. Bovendien zorgt de hydrogel voor therapeutische ondersteuning mogelijk door lokale retentie en verlengde blootstelling van therapeutische middelen aan de gewricht weefsels.
- hiMSCs als stamcel therapie tonen therapeutische effectiviteit en presteren op marker-niveau beter dan conventionele stamcellen (hBMSCs). hiMSCs worden daarmee gepositioneerd als een potentieel nieuwe, schaalbare, effectieve alternatieve bron voor stamcel therapie in artrose.
- hiEVs bieden een klinisch aantrekkelijk cel-vrij alternatief voor behandeling van artrose met duidelijke paracrine werkzaamheid.
- Schaalbare productie van hiMSCs en hiEVs zijn mogelijk onder xeno-vrije condities zonder dat het de effectiviteit vermindert. Dit aspect is essentieel voor reproduceerbaarheid, veiligheid en daarmee aan het translatie potentieel van deze behandeling voor artrose.
- IOP als remmer van lokale schildklierhormoon activiteit, vertoont therapeutisch potentieel in vroege artrose, met consistente histologische verbeteringen in zowel *in vivo* als *ex vivo* modellen.
- Combinatie van zowel muizen *in vivo* studies als menselijke *ex vivo* studies vergroten robuustheid van de effectiviteit van preklinische studies en daarmee de potentie tot translatie naar experimentele studies in de mens.

Discussie en aanbevelingen

Thermogevoelige hydrogel als intra-articulair toedieningsplatform

Een ideaal intra-articulair toedieningssysteem dient goed injecteerbaar te zijn bij kamertemperatuur, snel te geleren bij 37°C om retentie in de gewrichtsholte te bevorderen, en gecontroleerd te degraderen om een langdurige lokale blootstelling aan therapeutische middelen te realiseren. De geoptimaliseerde formulering voldeed aan deze criteria en toonde een gecontroleerd degradatieprofiel met geleidelijke afgifte. Belangrijk is dat de hydrogel in dit proefschrift primair wordt gepositioneerd als toedieningsplatform en niet als zelfstandige ziekte-modificerende therapie. De hydrogel fungeerde hierbij als 'enabler' die lokale retentie, positionering en bio-beschikbaarheid van toegediende cellen, blaasjes met paracriene factoren en geneesmiddelen ondersteunt. Verdere optimalisatie van hydrogelmechanica en het afbraakprofiel kunnen in de toekomst de hydrogel nog verder verbeteren.

Preklinische modellen en methodologische overwegingen

In dit proefschrift is gebruik gemaakt van twee gestandaardiseerde modellen. Een muizen model waarbij artrose werd geïnduceerd door destabilisatie van de mediale meniscus en gestandaardiseerde kweekjes van menselijke artrose kraakbeen. Deze gecombineerde benadering maakte het mogelijk om structurele uitkomsten (histologie en immuno-histochemie) te koppelen aan translationele relevantie, en tegelijkertijd model-specifieke beperkingen te adresseren. Opmerkelijk is dat in onze muizen studie alleen mannelijke C57BL/6-muizen werden gebruikt om de interne consistentie te bevorderen. Dit betekent wel dat de muizen studies maar beperkt generaliseerbaar zijn naar vrouwelijke muizen. In dit opzicht werden in de menselijke kraakbeen kweekjes wel van zowel mannen als vrouwen geïsoleerd. Sekse-afhankelijke responsen werden niet aangetoond. Om de transleerbaarheid van onze studies te vergroten werd de effectiviteit van stamcellen vergeleken die werden gekweekt in zowel serum houdend en serum vrije media. De resultaten hiervan laten zien dat de stabiliteit en effectiviteit van de hiMSC vergelijkbaar was en onderstreept dat vroegtijdig inzetten van GMP-compatibele kwaliteitsmaatregelen mogelijk bijdraagt aan klinische translatie.

Aanbevelingen

Aanbevolen vervolgstappen zijn:

- Standaardisatie van hiEV-isolatie, inclusief batch-to-batch kwaliteitscontrole en optimalisatie van isolatie door stratificatie op grootte van hiEV.
- Optimalisatie van dosering en toedieningsschema bijvoorbeeld met betrekking tot meervoudige injecties, dosis-respons
- Uitbreiding naar sekse-specifieke modellen
- Evaluatie van combinatietherapieën, bijvoorbeeld hiEVs + IOP om therapeutisch effectiviteit te maximaliseren