

Endochondral ossification in the damaged joint

Citation for published version (APA):

Janssen, M. P. F. (2022). *Endochondral ossification in the damaged joint*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. ProefschriftMaken. <https://doi.org/10.26481/dis.20220429mj>

Document status and date:

Published: 01/01/2022

DOI:

[10.26481/dis.20220429mj](https://doi.org/10.26481/dis.20220429mj)

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

Life expectancy has increased worldwide and as a way to improve quality of life, physical exercise is recommended, even at an older age. The positive effects of exercise have been extensively described in the literature. Ironically, mechanical trauma due to exercise is described as the biggest cause of focal articular cartilage defects. When damaged, articular cartilage possesses little regenerative capacity and is prone to continued degeneration. In the process of articular cartilage damage and joint degeneration, an important component is the altered expression of biomolecular factors affecting the homeostasis of articular cartilage and increasing unfavourable endochondral ossification (EO) of the cartilage tissue. The work presented in this thesis focusses on understanding alterations in the role of EO in focal and diffuse articular cartilage damage and possibilities to use the biomolecular mechanisms that are active in EO for the treatment of articular cartilage damage.

In the first part of this thesis, the influence of patient characteristics on the outcome of cartilage repair surgery and the role of EO in this process was investigated. In **Chapter 2**, we analysed patients 25 years after their perichondrium transplantation (PT) and found that the risk of failure (receiving major revision surgery) was lower and knee function (measured by International Knee Documentation Committee (IKDC)-score) was better when adequate patient selection was applied. Factors that significantly changed the risk of failure in our patient study population were: prior surgery to the index knee and a longer time of symptoms prior to cartilage repair surgery. A younger age at the time of surgery was associated with a better IKDC-score at 25 years follow-up. A morphologic and biochemical evaluation of the cartilage repair by 7T MRI was performed in patients from the same PT-cohort and compared to a cohort of autologous chondrocyte transplantation (ACT) patients with a similar follow-up time in **Chapter 3**. We found no correlation between clinical questionnaires and the MOCART (Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue) score or biochemical impairment of the grafts. Intralesional osteophytes were common in both the PT and ACT patients. These osteophytes can result in biochemical damage to the opposing tibial cartilage. This was more dependent on osteophyte morphology (i.e., an osteophyte extending into the surface of the graft) than the amount of calcification of the graft.

In the second part of this thesis, it was investigated how the process of EO can be influenced. In **Chapter 4**, we showed that Cyclo-oxygenase-2 (COX-2) inhibition not only impaired endochondral ossification in the growth plate and fracture callus, but also in periosteal cartilage formation in an *in vivo* rabbit model. The inhibition of COX-2 was achieved by the use of celecoxib, a selective COX-2 inhibiting drug that belongs to the class of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs). Supported by previous work from our group that showed a bi-phasic pattern of COX-2 expression in EO, these results indicate that celecoxib impairs not only hypertrophic differentiation, but also

the chondrogenic phase of EO in specific circumstances. Another way to influence the process of EO was investigated in **Chapter 5**. The engineering of cartilage tissue from progenitor cells is often hampered by unwanted EO. To overcome the problem of adverse chondrocyte hypertrophic differentiation, a previously used biogel to induce ectopic cartilage formation was supplemented with the major cartilage proteins aggrecan and cartilage oligomeric matrix protein (COMP). We found that these proteins were able to improve the process of ectopic cartilage formation in an *in vivo* rabbit model by suppressing hypertrophic differentiation of the engineered cartilaginous tissue.

In the final part of this thesis, possible treatment options were explored to improve the intra-articular environment in order to reduce joint pain and to postpone or prevent progression of cartilage damage into osteoarthritis (OA). Currently available oral drug therapy has many disadvantages that can be overcome by intra-articular administration of appropriate drugs. However, drug residence time in the joint is generally short and a drug delivery system (DDS) is needed to improve the efficacy of intra-articular therapy for cartilage damage. Different types of DDSs are: prolonged release systems, controlled release systems, and autoregulatory systems. The literature review performed in **Chapter 6** showed that DDSs can be made from different materials. Since the use of polymers for the development of DDSs, much progress has been made. The use of DDSs for the treatment of OA is promising, but a disease-modifying combination of a DDS and drug has not yet been demonstrated in clinical trials. **Chapter 7** of this thesis describes the development and testing of the polyester amide-celecoxib PEA-CXB-microsphere as a DDS. Pharmacokinetic properties and response to an inflammatory (OA) environment was tested *in vitro* in cell lysates obtained from a neutrophil-like HI-60 cell line. Subsequently, biocompatibility and degradation of the PEA-CXB microspheres were tested in an *in vivo* rat model where the anterior cruciate ligament was transected and a partial medial meniscectomy was performed to induce post-traumatic OA. The PEA-microsphere caused no adverse reactions and was found suitable as a DDS. The PEA-CXB-microsphere did not show an OA disease-modifying effect. However, increased degradation of the microspheres was present in OA knees, whereas celecoxib loading of the microspheres reduced microsphere degradation, suggesting a DDS with an auto-regulatory behaviour. In **Chapter 8**, key findings of this thesis were put in perspective.

The worldwide burden of OA is rising rapidly, especially in relatively young patients. When total knee arthroplasty is performed in young patients, they are at increased risk for revision arthroplasty later in life. Therefore, more attention for joint preserving strategies is needed. For successful joint preservation, a timely recognition, patient selection, and adequate treatment of cartilage damage and OA are needed. Adequate treatment can be achieved by lifestyle, pharmacological, and surgical interventions and combinations thereof. The work presented in this thesis demonstrates that the improvement of joint preservation can be addressed at these different levels and from

different viewpoints/insights (e.g., cell and patient). However, most important for successful joint-preserving treatment of patients with joint damage is a change in the approach to the clinical problem by orthopaedic surgeons, other healthcare providers and scientists. An approach in which the 'patient journey' of a person with a healthy joint can be followed and guided by the right interdisciplinary collaboration up to joint replacement surgery. This provides the right care at the right time and place to keep people and patients moving and thus prevent other chronic diseases.

Nederlandse samenvatting

De wereldwijde levensverwachting neemt toe en ter verbetering van de kwaliteit van leven wordt lichaamsbeweging geadviseerd, zelfs op gevorderde leeftijd. De positieve effecten van lichaamsbeweging zijn uitgebreid beschreven in wetenschappelijke literatuur. Ironisch genoeg is een mechanisch trauma bij sporten beschreven als de grootste oorzaak van lokale kraakbeendefecten. Kraakbeen heeft weinig regeneratieve capaciteit en een beschadiging van kraakbeen leidt daardoor vaak tot verdere degeneratie. Een belangrijke component in het proces van articulaire kraakbeenschade en degeneratie van het gewricht is de veranderde expressie van biomoleculaire factoren. Deze biomoleculaire factoren beïnvloeden de homeostase van het gewricht en zorgen voor een toename van ongewenste endochondrale ossificatie (EO) van het articulaire kraakbeen en osteofyt vorming.

Het werk in dit proefschrift focust op het begrijpen van veranderingen in de rol van EO in focale en diffuse schade aan articulaire kraakbeen en op de mogelijkheden om gebruik te maken van de biomoleculaire mechanismen die actief zijn in EO voor de behandeling van beschadigd articulaire kraakbeen.

In het eerste deel van dit proefschrift werd de invloed van patiëntkarakteristieken op het resultaat van kraakbeenchirurgie onderzocht, met ook de rol van EO in dit proces. In **Hoofdstuk 2** werd een groep patiënten 25 jaar na perichondrium transplantatie (PT) geanalyseerd, waarbij perichondrium van de rib getransplanteerd werd naar de knie. We ontdekten dat het risico op falen van deze ingreep (gedefinieerd als het ondergaan van een grote hersteloperatie) lager was en dat de functie van de knie (gemeten door middel van de International Knee Documentation Committee (IKDC) score) beter was wanneer adequate patiënt selectie werd toegepast. Factoren die het risico op falen significant verhoogden, waren een eerdere operatie aan dezelfde knie en een langere duur van de symptomen voorafgaand aan de kraakbeenoperatie. Een jongere leeftijd ten tijde van de operatie werd geassocieerd met een betere IKDC-score na 25 jaar follow-up. Een morfologische en biochemische evaluatie van het herstelde kraakbeen werd door middel van een 7 tesla (7T) MRI verricht in patiënten van hetzelfde PT cohort en de resultaten werden vergeleken met een cohort patiënten die in dezelfde periode een autologe chondrocyten transplantatie (ACT) hadden ondergaan (**Hoofdstuk 3**). Er werd geen correlatie gevonden tussen klinische vragenlijsten en de MOCART (Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue) score of biochemische verslechtering van de kraakbeentransplantaten. In zowel PT als ACT patiënten kwamen intralesionale osteofyten frequent voor. Deze osteofyten kunnen leiden tot biochemisch aantoonbare schade aan het tegenoverliggende tibiale kraakbeen. Deze schade was meer afhankelijk van de morfologie van deze osteofyten (i.e., een osteofyt die tot in het oppervlak van een transplantaat groeit) dan van het percentage verkalking van het transplantaat.

In het tweede deel van dit proefschrift onderzochten we hoe het EO-proces beïnvloed kan worden. In **Hoofdstuk 4** toonden we aan dat cyclo-oxygenase-2 (COX-2) inhibitie

niet alleen EO in de groeiplaat en in de fractuurcallus verminderde, maar ook de periostale kraakbeenvorming in een *in vivo* konijnenmodel. De inhibitie van COX-2 werd bereikt door het gebruik van celecoxib, een selectief COX-2 remmend medicijn dat valt in de groep Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs). Ondersteund door voorgaande studies van onze onderzoeksgroep die een bifasisch patroon van COX-2 expressie in EO aantoonde, laten deze resultaten zien dat celecoxib niet alleen hypertrofe differentiatie van kraakbeencellen remt, maar ook de chondrogene fase van EO in bepaalde omstandigheden kan remmen.

Een andere manier om het EO-proces te beïnvloeden werd onderzocht in **Hoofdstuk 5**. Het vervaardigen van kraakbeen uit progenitorcellen wordt vaak belemmerd door ongewenste EO. Om het probleem van nadelige hypertrofe differentiatie van chondrocyten tijdens ectopische kraakbeenvorming te voorkomen werd een eerder gebruikte biogel aangevuld met de belangrijke kraakbeeneiwitten aggrecan of cartilage oligomeric matrix protein (COMP). Deze eiwitten bleken in staat te zijn om het proces van ectopische kraakbeenvorming te verbeteren in een *in vivo* konijnenmodel, door het onderdrukken van hypertrofe differentiatie van het gevormde kraakbeenweefsel.

In het laatste deel van dit proefschrift werden potentiële behandelopties onderzocht die het intra-artculaire milieu kunnen verbeteren om gewrichtspijn te verminderen en progressie van kraakbeenschade naar artrose uit te stellen of te voorkomen. De huidige beschikbare orale medicamenteuze behandelingen hebben vele nadelen die kunnen worden overwonnen door intra-artculaire toediening van geschikte medicatie. Het medicijn blijft echter vaak maar een korte tijd in het gewricht aanwezig en er is een medicijnafgiftesysteem nodig om de effectiviteit van intra-artculaire therapie voor kraakbeenschade te verbeteren. Verschillende soorten medicijnafgiftesystemen zijn: Verlengde afgifte systemen, gecontroleerde afgifte systemen of autoregulatorische systemen. De literatuurstudie verricht in **Hoofdstuk 6** liet zien dat medicijnafgiftesystemen gemaakt kunnen worden van verschillende materialen. Sinds het gebruik van polymeren voor de ontwikkeling van medicijnafgiftesystemen is er veel progressie geboekt. Het gebruik van medicijnafgiftesystemen voor de behandeling van artrose is veelbelovend, maar er is nog geen klinische trial die aangetoond heeft dat deze medicijnafgiftesystemen in combinatie met medicijnen in staat zijn het ziekteproces van artrose te veranderen. **Hoofdstuk 7** van dit proefschrift beschrijft de ontwikkeling en het testen van de polyester amide-celecoxib (PEA-CXB) micropartikel als medicijnafgiftesysteem. De farmacokinetische eigenschappen en reactie op een inflammatoire (artrotische) omgeving werden *in vitro* onderzocht in cellysaten verkregen van een neutrofiële HI-60 cellijn. Vervolgens werden de bio-compatibiliteit en degradatie van de PEA-CXB micropartikel getest in een *in vivo* rat model waarbij post-traumatische artrose was geïnduceerd door middel van het doornemen van de voorste kruisband en gedeeltelijke verwijdering van de mediale meniscus. De PEA-CXB micropartikels veroorzaakten geen detecteerbare bijwerkingen en waren geschikt als medicijnafgiftesysteem. Een verandering van het artroseproces door de PEA-CXB micropartikels werd niet aangetoond. In rattenknieën met artrose was er een

toegenomen degradatie van de micropartikels en de toevoeging van celecoxib aan de partikels zorgde voor een afname van dezelfde degradatie, wat toebedeeld werd aan auto-regulatoire eigenschappen van het medicijnafgiftesysteem. In **Hoofdstuk 8** werden de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift in breder perspectief geplaatst.

De wereldwijde ziektelast van artrose stijgt snel, met name in relatief jonge patiënten. Wanneer een totale knieprothese wordt geplaatst bij jonge patiënten is het risico op een revisie operatie groot. Daarom is er meer aandacht nodig voor gewrichtssparende behandelingen. Voor een succesvolle gewrichtssparende behandeling zijn een tijdige herkenning, patiëntselectie en behandeling van kraakbeenschade en artrose nodig. Een adequate behandeling kan bestaan uit leefstijl, farmacologische en/of chirurgische interventies. De bevindingen in dit proefschrift tonen dat de verbetering van gewrichtssparende behandelingen bereikt kunnen worden op verschillende niveaus en vanuit verschillende perspectieven (bijvoorbeeld vanuit de cel en vanuit de patiënt). Echter, het belangrijkste voor een succesvolle gewrichtssparende behandeling van patiënten met gewrichtsschade is een verandering in de benadering van het klinische probleem door orthopedisch chirurgen, andere zorgverleners en wetenschappers. Een benadering waarbij de “patient journey” van een persoon met een gezond gewricht tot aan een gewrichtsvervanging gevolgd en begeleid kan worden door middel van de juiste interdisciplinaire samenwerking. Hierdoor wordt de juiste zorg op de juiste tijd en plaats geboden om mensen en patiënten in beweging te houden en zo andere chronische ziekten te voorkomen.