

University of Groningen

## Implications of a polymer meniscus implant on knee tribology

Ehsani Majd, Sara

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2016

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Ehsani Majd, S. (2016). *Implications of a polymer meniscus implant on knee tribology*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### 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.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

**SUMMARY**

***SAMENVATTING***

## SUMMARY

Clinical studies have shown that meniscal lesions are one of the most frequent knee injuries. Loss of the meniscus function due to the injury changes the load distribution on the articular cartilage of femur and tibia, resulting in degenerative arthritis. Therefore, the cartilage needs to be protected before it gets degenerated by the malfunctioning meniscus. Considering the currently available treatments, replacing an injured meniscus with a meniscus implant is a promising solution. The main theme of this thesis is the biotribology of the knee joint—the study of the involved mechanisms and molecules—and its role on developing a new meniscus implant. This thesis provides *in vitro* studies of tribology of different biomaterials and surfaces in the presence of different (lubricant) molecules both at nano- (**Chapters 2 and 3**) and macro-scale (**Chapter 4**).

At a more fundamental level, **Chapter 2** aims to clarify the not yet fully understood role of synovial fluid and articular cartilage molecules in the lubrication of the native joint. In particular, the roles of hyaluronan (HA) and type II collagen in binding PRG4 to the cartilage surface were studied, in the presence and absence of albumin. These *in vitro* molecular-level characterizations were done using quartz crystal microbalance with dissipation (QCM-D). Additionally, the changes in the coefficient of friction (COF) brought about by these molecules were studied using atomic force microscopy (AFM) with colloidal probe. QCM-D revealed an interaction between the freely floating PRG4 and surface-bound HA through the C and N termini of PRG4. Other interesting interactions include the observed irreversible PRG4–albumin interaction and reversible albumin–HA interaction. Due to these interactions, PRG4 did not interact with HA in the presence of albumin molecules. Surface-bound type II collagen, on the other hand, interacted very well with PRG4, irrespective of the presence of albumin. In the following step the superficial zone (SZ) of the articular cartilage was mimicked through mechanical entanglement of type II collagen fibrils into surface-bound HA loops. PRG4 adsorbed very well on this layer and albumin was not able to block this interaction. These results underscore the strong contribution of type II collagen fibrils in keeping PRG4 molecules in the SZ during cartilage articulation. Furthermore, PRG4 adsorption on the soft surface of the mimicked SZ provided a COF of  $0.010 \pm 0.004$ , the same order of magnitude as the COF of natural cartilage. To conclude, this study proposes that in the SZ of the articular cartilage, not one single molecule but, dependent on the mechanical conditions, different combinations of molecules provide the unique lubrication mechanism of the synovial joints.

The second aim of this thesis, presented in **Chapters 3** and **4**, is to provide comprehensive studies of the friction and wear of a set of polycarbonate urethane (PCU) materials (with or without C18 chains, mono-functional PDMS groups or mono-functional PTFE groups, as surface modifications) considered for use as a meniscus implant.

While the lubrication of the natural meniscus is provided by both absorption and release of the synovial fluid components through its pores, the non-porous PCU meniscus implant can only be lubricated through the adsorption of these lubricating components on its surfaces. Therefore, **Chapter 3** focuses on understanding the adsorption characteristics of PRG4 and albumin on biomaterials and relating it to the nano-tribology of the materials, using QCM-D and AFM with colloidal probe. PCU and PCU modified with surface-tethered C18 chains (mPCU-c) were spin-coated on QCM gold crystals to make this study possible. Both hydrophobic and hydrophilic self-assembled monolayers (SAM) on gold were used as substrates, to study a wider wettability range. PRG4 adsorbed in high amounts and formed a highly hydrated viscoelastic layer on all the surfaces, as opposed to the thin, rigid layer formed by albumin. PRG4 adsorption on hydrophobic surfaces was significantly higher than its adsorption on the hydrophilic surfaces, while albumin adsorption did not show sensitivity to the surface hydrophobicity. The adsorption of PRG4 on the soft surfaces of PCU and mPCU-c significantly decreased the measured COF values, as compared to the COFs measured on the bare surfaces of PCU and mPCU-c. An exceptionally low COF of  $0.024 \pm 0.018$  was measured on mPCU-c, which is on the same order of magnitude as the COF of natural cartilage. Unfortunately, when simultaneously added, albumin completely blocked PRG4 adsorption on either PCU or mPCU-c, and the measured COF values increased. Another interesting observation was that albumin adsorption on hydrophobic substrates (water contact angle  $\geq 70^\circ \pm 4^\circ$ ) dramatically increased the measured COF, possibly due to the altered orientation and configuration of the adsorbed albumin. This result indicates tribological risks of increased hydrophobicity through hydrocarbon surface modification of PCU.

Additional QCM-D experiments were performed (**Chapter 4**, supplementary data) to study the adsorption mechanisms of PRG4 and albumin on mPCU-s (modified PCU with mono-functional PDMS groups) and mPCU-f (modified PCU with mono-functional PTFE groups). The adsorption of PRG4 and albumin followed a similar trend to that observed on PCU and mPCU-c, with albumin also blocking the adsorption of PRG4. In the same chapter it is also shown that phospholipids in the form of POPC vesicles did not adsorb on any of the biomaterials.

**Chapter 4** addresses the macro-tribology of PCU, mPCU-c, mPCU-s and

mPCU-f, in the presence of the synovial fluid molecules (HA, albumin, POPC and PRG4), thus complementing the molecular-level approach of the previous chapters. A reciprocating, sliding set-up was developed to measure the COF between cartilage and the PCU materials, in which the stance and swing phases of the gait cycle were mimicked by applying specific loading conditions. The contact pressure during swing was 0.4 MPa and the contact pressure during stance was 1 or 4.5 MPa. At the end, the wear and damage of the cartilage due to the articulation against the PCU materials were evaluated using histological techniques. Results were compared to the tribology of an intact knee joint by studying the cartilage–meniscus tribological properties in the same model. The COF measured between cartilage and the native meniscus was low during both stance and swing phases ( $0.01 < \text{COF} < 0.12$ ). Cartilage and meniscus are both porous; upon compression the interstitial fluid becomes pressurized and weeps out of their pores to create a thick fluid film at the interface, which lubricates the articulating surfaces, resulting in low COFs. At low contact pressures, i.e., the swing phase, on the other hand, not enough interstitial fluid weeps out to give rise to a sufficiently thick fluid film. In spite of this interpretation, low and high contact pressures applied to mimic the stance and swing phases did not cause a significant difference between COFs measured on meniscus. The PCUs, on the other hand, behaved differently: although the COFs were similar to those measured on meniscus during the stance phase, the COF increased drastically during the swing phase. Therefore, PCU materials behaved worse than meniscus during swing, which indicated complete breakdown of the interstitial fluid pressurization and weeping (IFPW) lubrication mechanism due to their non-porous structure. Under these conditions, the boundary lubrication due to the lubricating molecules could have taken over and facilitated the sliding process. If so, the surface modifications of PCU could have shown an effect during the swing phase. But the surface modifications included in this study did not decrease the COF. Considering the results of **Chapter 3**, the reason probably is the presence of albumin, which blocks the adsorption of the most important boundary lubricant, i.e., PRG4, on the PCU surfaces. Another outcome of this research was the relation between the contact pressures and COF. The COF decreased with increasing the contact pressure according to a power equation up to  $\sim 1$  MPa, i.e., the IFPW lubrication mechanism no longer decreased the COF and improved the bio-lubrication on either meniscus or biomaterials. The sliding duration mimicked 9 and 36 hours of normal activity. The COF increased with increasing the sliding duration. Changes in the lubricant solution or surface modification of PCU did not affect PCU's tribological performance. The histology showed that PCU materials and meniscus damaged cartilage occasionally, yet no systematic correlation was found between the damage and the experimental condition. The wear of cartilage after articulation against meniscus was low (scores  $< 1$ ). To be concluded, perma-

ment meniscus implants made of PCU, which show high COF in the swing phase of the gait cycle, can result in patient discomfort and wear of cartilage in the long term.

In this thesis tribological properties of biomaterials for meniscus implant were evaluated through a multiscale approach *in vitro*. The nanoscopic approach of **Chapters 2 and 3** provide information on fundamental level, adsorption mechanism of the molecules and the consequent boundary lubrication, using QCM-D and AFM. The macroscopic approach of **Chapter 4** provides a wider overview of the lubrication mechanisms on the substrate and revealed that boundary lubrication and IFPW lubrication are the operative lubrication mechanisms. Studying the mechanisms within such complex systems as synovial joints asks for such multiscale and comprehensive methods.

# SAMENVATTING

Klinische studies hebben aangetoond dat een laesie van de meniscus een van de meest voorkomende soorten van knieletsel is. Verlies van de meniscus functie ten gevolge van letsel verandert de distributie van krachten op het kraakbeen in het gewricht van de femur en tibia, resulterend in degeneratieve artritis. Om deze reden moet het kraakbeen beschermd worden vóórdat het beschadigd raakt door een disfunctionerende meniscus. Met inachtneming van de huidige beschikbare behandelingen, is het vervangen van de beschadigde meniscus door een implantaat een veelbelovend alternatief. Het hoofd thema van dit proefschrift is de biotribologie van het kniegewricht—de betrokken mechanismen en moleculen—en de rol ervan in het ontwerpen van een nieuw meniscus implantaat. Dit proefschrift bevat een *in vitro* studie die de tribologie van verschillende biomaterialen en oppervlakken in de aanwezigheid van verschillende (lubricerende) moleculen behandelt, zowel op nano- (**Hoofdstukken 2 en 3**) als macro-niveau (**Hoofdstuk 4**).

Op een meer fundamenteel niveau, is het doel van **Hoofdstuk 2** om de nog niet volledig begrepen rol die synoviaal vocht moleculen in het gewrichtskraakbeen spelen in natuurlijke smering van het gewricht, beter te begrijpen. Meer specifiek werd er met behulp van een *in vitro* model gekeken naar de rol van hyaluronan (HA) en type II collageen in het binden van PRG4 aan het kraakbeen oppervlak op moleculair niveau, in de aan- en afwezigheid van albumine, gebruikmakend van quartz crystal microbalans met dissipatie (QCM-D). De veranderingen op de frictie coëfficiënt (COF) werden onderzocht met behulp van atomic force microscopy (AFM) met een colloïdale probe. QCM-D liet een interactie zien tussen losse PRG4 en oppervlakte gebonden HA door de C en N eindgroepen van PRG4. Andere interessante interacties die werden gezien waren irreversibele interacties tussen PRG4 en albumine en reversibele albumine–HA interacties. Door deze laatste interacties was er geen interactie tussen PRG4 en HA in de aanwezigheid van albumine moleculen. Oppervlakte gebonden type II collageen, echter, liet juist wel interacties zien met PRG4, in aan- én afwezigheid van albumine. De volgende stap was het simuleren van de superficiële zone (SZ) van gewrichtskraakbeen door het mechanisch verwickelen van type II collageen fibrillen met oppervlakte gebonden HA loops. PRG4 adsorbeerde erg goed op deze laag en albumine was niet in staat om deze interactie te blokkeren. Deze resultaten laten een sterke bijdrage zien van type II collageen in het op het SZ aanwezig houden van PRG4 tijdens bewegingen in het gewricht. Daarnaast liet geadsorbeerd PRG4 op SZ een COF zien van  $0.010 \pm 0.004$ , dezelfde orde van grootte als de COF van natuurlijk kraakbeen.

Tenslotte stelt deze studie dat in de SZ van gewrichtskraakbeen, niet één, maar afhankelijk van de mechanische condities, verschillende combinaties van meerdere moleculen verantwoordelijk zijn in het voorzien van het unieke smeringssysteem van synoviale gewrichten.

Het tweede doel van dit proefschrift, gepresenteerd in **Hoofdstukken 3 en 4**, was het voorzien in uitgebreide studies naar de wrijving en slijtage van een set polycarbonaat urethaan (PCU) materialen (met of zonder oppervlakte gebonden C18 ketens, mono-functionele PDMS groepen of mono-functionele PTFE groepen als oppervlakte modificaties), die overwogen worden voor gebruik als meniscus implantaat.

Terwijl de smering van de natuurlijke meniscus verzorgd wordt door zowel absorptie als release van synoviaal vocht componenten door de poriën, kan de niet poreuze PCU meniscus alleen gesmeerd worden door adsorptie van deze smerende componenten op het oppervlak. Vandaar dat **Hoofdstuk 3** gericht is op het begrijpen van de adsorptie karakteristieken van PRG4 en albumine op biomaterialen en deze relateert aan de nano-tribologie van de materialen, door middel van QCM-D en AFM met colloïdale probe. PCU en PCU met oppervlakte gebonden C18 ketens (mPCU-c) werden op QCM kristallen gespincoat om dit onderzoek mogelijk te maken. Hydrofobe en hydrofiele self-assembled monolayers (SAM) op goud werden gebruikt om een groter bereik van bevochtigingseigenschappen te verkrijgen. PRG4 moleculen adsorbeerden in grote hoeveelheden en vormden een zeer gehydrateerde viscoelastische laag op alle oppervlakken, in tegenstelling tot albumine dat een dunne starre laag vormde. PRG4 adsorptie op hydrofobe oppervlakken was significant hoger dan op hydrofiele oppervlakken, terwijl albumine adsorptie geen verschil liet zien tussen hydrofiele en hydrofobe oppervlakken. De adsorptie van PRG4 op de zachte oppervlakken van PCU en mPCU-c zorgde voor een significante daling van de gemeten COF waarden, vergeleken met schoon PCU en mPCU-c. Een uitzonderlijk lage COF van  $0.024 \pm 0.018$  werd gemeten op mPCU-c, in dezelfde orde van grootte als de COF van natuurlijk kraakbeen. Helaas blokkeerde albumine, wanneer tegelijkertijd toegevoegd, de adsorptie van PRG4 op PCU en mPCU-c waardoor de gemeten COF waarden toenamen. Een andere interessante observatie was dat albumine adsorptie op hydrofobe substraten (waterrandhoek  $\geq 70^\circ \pm 4^\circ$ ) de COF dramatisch liet toenemen, mogelijk door de veranderde oriëntatie en configuratie van de geadsorbeerde albumine. Dit resultaat laat de aan tribologie gerelateerde risico's van een verhoogde hydrofobiciteit zien door hydrocarbon modificatie van PCU.

Extra experimenten werden uitgevoerd om de adsorptie mechanismen te bestuderen van PRG4 en albumine op mPCU-s (gemodificeerd met mono-functio-



nele PDMS groepen) en mPCU-f (gemodificeerd met mono-functionele PTFE groepen) met behulp van QCM-D (**Hoofdstuk 4**, supplementary data). De adsorptie van moleculen was vergelijkbaar met die op PCU en mPCU-c en albumine blokkeerde de adsorptie van PRG4 eveneens. In hetzelfde hoofdstuk is ook te zien dat lipiden in de vorm van POPC vesicles op geen van de biomaterialen adsorberen.

Om het perspectief volledig te maken hebben we in **Hoofdstuk 4** de macrotribologie van PCU, mPCU-c, mPCU-s en mPCU-f bestudeerd, in de aanwezigheid van synoviaal vocht moleculen (HA, albumine, POPC en PRG4). Een reciprocerend glijdend model was ontwikkeld om de COF te meten tussen kraakbeen en PCU materialen, waarin de stand en zwaafase van de loopcyclus werden nagebootst door specifieke belasting. De belasting gedurende de zwaafase was 0.4 MPa en de belasting tijdens de stand was 1 of 4.5 MPa. Uiteindelijk werd de schade en slijtage van het kraakbeen ten gevolge van het contact met de PCU materialen geëvalueerd met behulp van histologie. De resultaten werden vergeleken met de tribologie van een intacte knie door middel van het bestuderen van de kraakbeen-meniscus tribologie in hetzelfde model. De gemeten COF op de intacte meniscus was laag, zowel tijdens stand als in de zwaafase ( $0.01 < \text{COF} < 0.12$ ). Kraakbeen en meniscus zijn beiden poreus en wanneer ze samengedrukt worden wordt de druk op de interstitiële vloeistof verhoogd, waardoor deze uit de poriën komt en een film vormt op het oppervlak die een smerende werking heeft, resulterend in lage COFs. Bij een lage druk, i.e. tijdens de zwaafase, wordt niet genoeg interstitiële vloeistof door de poriën geperst waardoor de smerende film niet gevormd wordt. Echter, dit verschil leidt niet tot significante verschillen in COFs gemeten op de meniscus tijdens stand en zwaafases. PCUs gedroegen zich anders, hoewel de COFs gemeten tijdens de stand fase vergelijkbaar waren, was de COF tijdens de zwaafase aanzienlijk hoger dan op de meniscus. Vandaar dat PCU materialen veel slechter presteerden dan de meniscus tijdens de zwaafase, wat een aanwijzing is voor een absentie van het door de interstitiële vloeistofdruk (IFPW) veroorzaakte smeringsmechanisme. Onder deze omstandigheden kan het type smering veranderd zijn in grenssmering en zo het glijden hebben gefaciliteerd. In dit geval zouden de oppervlakte modificaties van PCU een effect hebben laten zien tijdens de zwaafase, maar de bestudeerde modificaties verlaagden de COF niet. Met inachtneming van de resultaten in **Hoofdstuk 3** is de reden daarvoor waarschijnlijk de aanwezigheid van albumine, die de adsorptie van PRG4, het belangrijkste molecuul voor adequate smering, op de PCU blokkeert. Een andere uitkomst van dit onderzoek was de relatie tussen de contact druk en COF. De COF werd lager met stijgende druk volgens een machtsverband, maar dit stopte boven  $\sim 1$  MPa, i.e., het IFPW smeringsmechanisme verlaagde de COF niet langer en verbeterde de bio-lubricatie op zowel meniscus als biomateriaal. De duur van het experiment

bootste 9 en 36 uur van normale patiënt activiteit na. De COF werd hoger naarmate de duur van het experiment langer werd. Veranderingen in de smeringsvloeistof of oppervlakte functionalisatie van PCU hadden geen effect op de tribologische eigenschappen van PCU. Histologie liet zien dat de biomaterialen en meniscus in sommige gevallen beschadigd kraakbeen lieten zien, maar er werd geen correlatie gevonden tussen de schade en de experimentele condities. Kraakbeen slijtage na wrijving tegen de meniscus was laag (scores <1). Concluderend betekent dit dat permanente meniscus implantaten van PCU die een hoge COF in de zwaai-fase laten zien kunnen resulteren in ongemak voor de patiënt en slijtage van het kraakbeen op lange termijn.

In dit proefschrift zijn de tribologische eigenschappen van biomaterialen als meniscus implantaat geëvalueerd door middel van een uitgebreide *in vitro* experimentele aanpak. De nanoscopische aanpak van **Hoofdstukken 2 en 3** leverde informatie op een fundamenteel niveau, adsorptie mechanismen van de moleculen en de daarop volgende grenssmering, door het gebruik van QCM-D en AFM. De macroscopische aanpak van **Hoofdstuk 4** resulteerde in een uitgebreider overzicht van de smeringsmechanismen op het substraat en onthulde dat grenssmering en IFPW smering aan de orde zijn. Het bestuderen van de mechanismen van zulke complexe systemen als de synoviale gewrichten vraagt om een zeer uitgebreide aanpak en gebruik van diverse methoden.





