Kelainan Matriks Ekstraseluler Agrekan pada Osteoarthritis

Aggrecan Extracellular Matrix Disorders in Osteoarthritis

Umiatin^{1,2}, Jeanne Adiwinata Pawitan^{3,4,5*}

¹Program S3 Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

²Program Studi Fisika FMIPA Universitas Negeri Jakarta, Indonesia

³Unit Pelayanan Terpadu Teknologi Kedokteran (UPT-TK) Sel Punca, RS Dr. Cipto Mangunkusumo/Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

⁴Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

⁵Stem Cell and Tissue Engineering (SCTE) Research Center, Indonesia Medical Education and Research Institute (IMERI), Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

*E-mail: jeanneadiwip@gmail.com

Abstrak

Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit sendi dengan prevalensi paling tinggi yang menyebabkan nyeri kronis dan disabilitas. Berbagai faktor antara lain faktor mekanik, biokimia dan faktor enzimatik berperan dalam perkembangan OA. Perkembangan OA dicirikan oleh degradasi berlebihan pada agrekan dalam matriks ekstraseluler tulang rawan sendi. Agrekan berfungsi menyediakan fleksibilitas, viskoelastisitas dan kompresibilitas jaringan. Struktur agrekan tidak konstan sepanjang hidup, namun mengalami perubahan yang disebabkan oleh aktivitas sintesis maupun degradasi. Degradasi agrekan merupakan penanda awal kerusakan tulang rawan sendi pada OA, yang diikuti oleh kerusakan kolagen tipe II. Sejauh ini mekanisme molekulernya belum diketahui pasti, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme dan penyebab kerusakan agrekan. Tulisan ini merupakan suatu kajian naratif berdasarkan artikel dari jurnal nasional dan internasional yang bertujuan untuk memberikan informasi mengenai agrekan meliputi struktur, fungsi, dan faktor-faktor yang berperan pada perubahan struktur agrekan yang menginduksi terjadinya OA. Hasil kajian menunjukkan bahwa perubahan struktur agrekan erat kaitannya dengan perubahan fungsi mekanik tulang rawan sendi. Perubahan ini terjadi terutama karena degradasi yang disebabkan oleh aktivitas enzim, dari keluarga matriks *metalloprotease* (MMP) dan *a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motif* (ADAMTS). Dari kajian ini disimpulkan bahwa degradasi agrekan karena aktivitas enzim berperan penting dalam perkembangan OA, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mencari inhibitor enzim MMP dan ADAMTS sebagai agen terapeutik untuk menghambat perkembangan dan progresivitas OA.

Kata kunci: osteoarthritis, matriks ekstraseluler, agrekan, degradasi.

Abstract

Osteoarthritis (OA) is a joint disease with the highest prevalence and a major cause of chronic pain and disability. Many factors such as mechanical, biochemical, and enzymatic factors are involved in OA development. The development of OA is characterized by excessive degradation of aggrecan in the extracellular matrix of articular cartilage, which functions to provide flexibility, viscoelasticity, and tissue compressibility. The structure of aggrecan is not constant throughout life but undergoes changes caused by synthesis and degradation activities. Aggrecan degradation is an early marker of joint cartilage damage in OA, followed by type II collagen damage. However, the molecular mechanisms are not completely understood, so further research is needed on the mechanisms and causes of aggrecan damage. Here we provide a narrative review based on articles from national and international journals to describe the structure, function, and factors that contribute to the degradation of aggrecan. The results of the study show that changes in the structure of aggrecan are closely related to changes in the mechanical function of joint cartilage. This change occurs mainly due to degradation caused by enzyme activity, a family of matrix metalloproteinase (MMP) and a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motif (ADAMTS). The present study concludes that aggrecan degradation caused by enzyme activity was very crucial in the development of OA, it was needed to find MMP and ADAMTS inhibitors as a therapeutic agent to prevent the development and progression of OA.

Keywords: osteoarthritis, extracellular matrix, aggrecan, degradation

1. Pendahuluan

Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit sendi serius yang bersifat kronik dan progresif, menyerang 1 diantara 3 orang usia diatas 65 tahun, serta menjadi salah satu penyebab disabilitas terutama pada usia lanjut, menimbulkan nyeri kronis, kekakuan sendi dan perubahan struktur sendi. OA dapat menyerang sendi manapun, namun yang paling sering terkena adalah sendi yang terletak pada panggul, lutut, tangan, kaki dan tulang belakang.¹ *Osteoarthritis Research Society International* (OARSI) menyatakan OA sebagai penyakit sendi yang serius.²

Secara global, penderita OA mencapai 303 juta jiwa pada tahun 2017.³ Di Amerika Serikat serta negara maju lainnya, prevalensi OA mencapai lebih dari 19 % pada usia diatas 45 tahun, sedangkan di Asia, prevalensi OA memiliki rentang 20.5%-68%.⁴ Prevalensi OA berbeda – beda bergantung pada etnis, jenis kelamin dan usia. Di Indonesia, jumlah penderita OA saat ini belum terdata jelas, namun berdasarkan data Risesdas 2018, prevalensi penyakit sendi umum sekitar 7,3%, dengan komposisi: usia >55 tahun sebesar 53%, usia 44-54 sebesar 11.1%, dan usia <44 10,6%.⁵

Penyebab substantif OA masih banyak diperdebatkan, namun berdasarkan mekanisme terjadinya OA, OA dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu OA primer dan sekunder. OA primer disebut OA idiopatik karena penyebabnya tidak diketahui dan sering dihubungkan dengan proses penuaan. Sedangkan OA sekunder sering dihubungkan dengan suatu penyakit atau kondisi tertentu, misalnya trauma karena stress mekanik berlebihan, kelainan kongenital dan pertumbuhan, penyakit sistemik, dan inflamasi.^{6,7} Usia merupakan faktor resiko utama dalam perkembangan OA, dimana hanya 5% OA diderita oleh usia kurang dari 45 tahun. Sebagian besar OA terjadi pada wanita dibandingkan pada pria dengan rasio 3:1.

Obesitas dan penuaan merupakan faktor resiko terbesar terjadinya OA.^{8,9}

Ciri utama OA adalah degenerasi pada tulang rawan sendi yang disebabkan oleh stress mekanik dan perubahan kimia pada tubuh. Pada fase awal OA, degenerasi hanya teramati pada permukaan sendi dalam bentuk fibrilasi, namun pada tahap lanjut OA, terjadi perubahan pada seluruh tulang rawan sendi. Degenerasi tulang rawan sendi ini disebabkan antara lain karena apoptosis kondrosit dan kerusakan pada matriks ekstraseluler. Pada sendi yang sehat, matriks ekstraseluler berperan menjaga fungsi biomekanik sendi. Matriks ekstraseluler tulang rawan sendi tersusun atas kolagen, proteoglikan, dan air. Proteoglikan utama pada tulang rawan sendi adalah agrekan. Degradasi agrekan menjadi penanda awal dan utama degenerasi tulang rawan sendi pada OA.¹⁰

Saat ini, pengobatan OA dilakukan dengan intervensi bedah dan agen farmakoterapi, antara lain dengan pemberian obat anti-inflamasi non steroid atau steroid untuk meredakan nyeri. Obat - obatan tersebut tidak mampu melindungi tulang rawan sendi dari degenerasi dan belum menunjukkan utilitas mengontrol perkembangan OA.¹¹ Hal ini mendorong banyak penelitian untuk mencari strategi mengurangi maupun mencegah degradasi agrekan, dengan menarget enzim yang berperan dalam proses degradasi tersebut. Oleh karena itu, tulisan ini bertujuan untuk membahas berbagai penyebab kelainan pada matriks ekstraseluler agrekan meliputi struktur, fungsi, dan faktor-faktor yang berperan pada perubahan struktur agrekan yang menginduksi terjadinya OA.

2. Metode

Kajian ini merupakan *assessment* terhadap laporan atau artikel penelitian mengenai agrekan yang telah dipublikasikan di berbagai jurnal ilmiah nasional dan internasional. Kajian ini diawali dengan penelusuran literatur dalam basis data *Pubmed*

dan *ScienceDirect* dengan menggunakan kata kunci sebagai berikut: matriks ekstraseluler, agrekan, osteoarthritis, mekanisme, dan patogenesis. Jumlah literatur yang dikaji sebanyak 54 yang diterbitkan antara tahun 2008-2020. Artikel penelitian yang dikaji mencakup matriks ekstraseluler tulang rawan sendi, agrekan dalam matriks ekstraseluler, perubahan struktur agrekan meliputi: degradasi agrekan karena enzim proteolisis, *reactive oxygen species* (ROS), dan faktor *advanced glycation end* (AGE) *product*.

3. Pembahasan

3.1. Matriks Ekstraseluler Tulang Rawan Sendi

Tulang rawan sendi terletak di permukaan distal dan proksimal tulang, berwarna putih mengkilap, serta permukaannya sangat halus dan licin. Tulang rawan sendi merupakan jaringan ikat hialin hiposeluler yang tersusun atas ~10% kondrosit dan ~70% matriks ekstraseluler. Kondrosit berfungsi mensintesis jaringan lunak kolagen tipe II sebagai penguat sendi dan memelihara pergantian (*turn over*) matriks ekstraseluler.

Matriks ekstraseluler tersusun atas air, proteoglikan dan jaringan kolagen. Tulang rawan sendi tidak memiliki pembuluh

darah (avaskular) sehingga kondrosit menerima nutrisi dan oksigen melalui transpor air dari jaringan tervaskularisasi terdekat yaitu synovial dan tulang subkondral, oleh karena itu memiliki kapasitas memperbaiki diri yang terbatas.¹²

Fungsi utama tulang rawan sendi adalah meminimalkan gesekan. Fungsi biomekanik ini bergantung pada komponen matriks ekstraseluler yaitu keberadaan agrekan yang berperan menetralkan pengaruh gaya kompresif pada saat sendi digunakan. Semakin banyak agrekan maka fungsi biomekanik tulang rawan sendi akan semakin bagus, akan tetapi konsentrasi agrekan menurun seiring dengan meningkatnya kompresi statik pada tulang rawan sendi.^{13,14} Pada tulang rawan sendi, kolagen II bersifat kaku dan memiliki laju *turn over* yang sangat rendah, sedangkan agrekan mengalami degradasi dan regenerasi yang sangat cepat.⁹

Matriks ekstraseluler sebagai penyusun utama tulang rawan sendi, terdiri atas sekelompok molekul yang saling berhubungan membentuk suatu jejaring (Gambar 1). Lokasi yang dekat dengan sel disebut sebagai matriks teritorial sedangkan yang jauh dari sel disebut matriks interteritorial.

Gambar 1. Matriks Ekstraseluler pada Tulang Rawan Sendi. Pada permukaan membran sel kondrosit terdapat beberapa proteoglikan yaitu: sindekan, glipikan, dan *cluster of differentiation* (CD) 44. Beberapa proteoglikan lain, diantaranya dekorin, fibromodulin membentuk ikatan yang kuat dengan serabut kolagen. Agrekan terikat pada permukaan sel melalui hialuronan. Proteoglikan menjadi dua kelas utama, kelas pertama adalah proteoglikan kaya leusin kecil antara lain dekorin, biglikan, fibromodulin, lumikan, serta kelas lainnya diantaranya agrekan.¹⁵

Komponen matriks ekstraseluler terdiri atas kolagen, proteoglikan, hialuronan (HA) dan air. Kolagen merupakan molekul protein yang sangat kuat dan berfungsi sebagai kerangka bagi tulang rawan. Jenis kolagen pada tulang rawan adalah tipe II, IX dan XI. Kolagen tipe II mengisi 80-90% kolagen pada tulang rawan, sedangkan sisanya adalah kolagen tipe IX dan XI. Berbagai kolagen ini membentuk struktur fibrilar, dengan berbagai molekul yang terikat pada fibril kolagen.¹³

HA adalah polisakarida, terusun atas pengulangan disakarida yang terdiri atas *N-acetylglucosamine* and *D-glucuronic acid*. Sifatnya viskoelastisnya mendorong penggunaan HA sebagai agen terapeutik, yang sering digunakan dalam injeksi intra artikular pada pasien OA.^{16,17}

Proteoglikan berperan mengatur interaksi seluler, antara lain interaksi antar sel-matriks, sel-sel, serta antar ligan-reseptor. Proteoglikan juga berperan penting dalam transduksi sinyal yang mengatur proliferasi sel dan morfologi sel.¹⁸ Berdasarkan lokasi selulernya, proteoglikan bisa ditemukan di dalam sel (intrasel), pada permukaan sel, tepi sel dan pada matriks ekstraseluler.¹²

Sebagai sebuah makromolekul kompleks, proteoglikan terdiri atas protein inti dan berbagai rantai samping glikosaminoglikan (GAG) yang terikat pada protein inti. Struktur, karakteristik fisika dan biologi proteoglikan pada berbagai jaringan sangat beragam, hal ini terkait dengan perbedaan jenis protein inti dan tipe rantai GAG.

GAG merupakan polisakarida, dan berdasarkan komponen karbohidratnya dikelompokkan menjadi: HA, *condroitin sulfate* (CS), keratan sulfat (KS), dermatan sulfat (DS) dan heparan sulfat (HS). Rantai GAG ini bersifat asam dan bermuatan negatif yang berperan dalam ikatan dengan matriks molekul lain, kation (Na^+), air dan faktor pertumbuhan.¹⁹ Seluruh GAG di dalam tulang rawan membawa grup ester sulfat sehingga bermuatan negatif kecuali

HA. HA merupakan bagian terbesar GAG yang diproduksi oleh kondrosit di membran plasma dan disekresikan langsung ke matriks ekstraseluler.^{12,20} Struktur utama—proteoglikan adalah agrekan. Agrekan paling banyak diteliti pada tulang rawan sendi karena berperan penting dalam struktur dan fungsi normal tulang rawan sendi serta erat kaitannya dengan perkembangan OA.²¹

3.2. Agrekan dalam Matriks Ekstraseluler

Agrekan tersusun atas protein inti yang terikat secara non kovalen dengan rantai GAG dan HA serta memiliki kekuatan interaksi yang sangat kuat yaitu $10^{-7} - 10^{-8}$ M. Struktur ini hampir sama dengan semua jenis proteoglikan. Konsentrasi agrekan pada tulang rawan mencapai 50 mg/g jaringan. Fungsi utama agrekan adalah menahan gaya kompresi dan mengatur deformasi minimal pada bantalan sendi. Agrekan merupakan proteoglikan yang paling terglykosilasi, karena memiliki ~150 rantai GAG (CS dan KS), dan ~100 oligosakarida yang tersubstitusi pada protein inti. Sekitar 100 CS terikat kovalen pada protein inti. Setiap rantai CS terdiri atas 10-50 unit pengulangan disakarida *glucuronic acid* dan *N-acetylgalactosamine* dengan berat sekitar 20 kDa dan panjang 40 nm. Sedangkan daerah KS pada agrekan berukuran lebih kecil terdiri atas ~30 KS dengan berat rantai GAG sekitar 5-15 kDa. Diperkirakan 8.000-10.000 muatan negatif ada pada agrekan dalam bentuk sulfat dan karboksilat yang ada pada rantai CS dan KS. Agrekan terbentuk secara intraseluler melalui serangkaian reaksi enzimatik, kemudian disekresikan ke dalam matriks ekstraseluler yang terusun menjadi agregat dengan terikat pada HA.^{22,23}

Pada manusia, agrekan utuh memiliki berat ~250 kDa dan panjang ~300-400 nm. Berat molekul protein inti agrekan antara ~180 kDa serta berat molekul rantai GAG ~25 kDa.^{22,23} Muatan negatif pada GAG berguna untuk menjaga tulang rawan agar memiliki tekanan osmotik yang tinggi (3,4-

3,6 atm), sehingga air tetap ada dalam jaringan. Muatan negatif juga berperan menghasilkan resistensi yang tinggi terhadap aliran fluida dan terhadap kompresi.^{7,24} Oleh sebab itu, agregan

mampu menahan deformasi karena stress mekanik.^{25,26} Gambar 2 menunjukkan fungsi agregan dalam beradaptasi terhadap stress mekanik pada tulang rawan.

Gambar 2. Fungsi Agregan pada Tulang Rawan Sendi. Struktur agregan dalam bentuk agregat besar berinteraksi dengan HA dan mengisi celah antar kolagen. Pada keadaan relaksasi, agregat akan membesar karena muatan negatif CS dan KS mengikat air ke jaringan sampai keadaan seimbang. Ketika terjadi kompresi karena stress mekanik, keseimbangan akan terganggu, menyebabkan air dipindahkan, sehingga ukuran agregat mengecil. Kompresi menyebabkan HA berbentuk koil dan menginduksi tekanan hidrostatik sehingga ikatan intermolekul hidrogen pada HA pecah dan terbentuk air. Selanjutnya ketika stress mekanik ditiadakan, maka keadaan kembali seimbang. Perpindahan air ini sangat penting untuk menyediakan nutrisi bagi kondrosit dan membuang produk sampah hasil degradasi.¹⁴

Selain berperan utama sebagai penyerap tekanan mekanik, GAG pada agregan juga berperan melindungi kolagen tipe II dari pemotongan (*cleavage*). Oleh sebab itu, level agregan harus dijaga supaya tetap tinggi agar integritas dan homeostasis tulang rawan terjaga.²¹

Pada tingkat seluler, fungsi agregan juga dipengaruhi oleh proteoglikan lainnya, diantaranya dekorin yang berperan meningkatkan adhesi antara agregan dengan molekul – molekul agregan lain, dan antara molekul – molekul agregan dengan serabut kolagen II. Interaksi ini

dapat meningkatkan integrasi dan stabilitas agregan dalam matriks ekstraseluler tulang rawan, sehingga meningkatkan fungsi biomekanik tulang rawan.²⁶

Agregan tidak dapat ditemukan dalam keadaan terisolasi dalam matriks ekstraseluler, namun berbentuk agregat proteoglikan.²¹ Struktur agregat proteoglikan terdiri atas filamen sentral HA dengan beberapa molekul agregan yang berikatan non-kovalen melalui ujung dari protein inti. Interaksi antara protein inti dan HA ini distabilkan oleh adanya protein penghubung (Gambar 3).

Gambar 3. Struktur Agregat Agrekan. Agregat agrekan digambarkan sebagai filamen HA yang berikatan dengan agrekan dan protein penghubung (PP). Struktur ini terdiri atas: domain globular (G) yaitu: G1, G2 dan G3, domain interglobular (IGD), domain KS dan CS yang dikelompokkan lagi menjadi subdomain *chondroitin sulfate-1* (CS1) dan *chondroitin sulfate-2* (CS2). Rantai GAG (KS dan CS) ini menyebabkan agrekan bermuatan negatif dan memiliki ukuran besar yang menentukan fungsi normal tulang rawan sendi.²⁷

Struktur domain agregat agrekan tercermin dalam organisasi ekson gennya (Gambar 4). Gen agrekan manusia terdiri dari 19 ekson. Ekson 1 mengkode 5'UTR dan ekson 2 adalah *start codon*. Selanjutnya domain G1, terdiri atas tiga subdomain yaitu G1-A, G1-B dan G1-B' dikode oleh ekson 3-6. Ekson 3 mengkode subdomain G1-A, ekson 4 dan 5 yang mengkode sub domain B dan ekson 6 yang mengkode subdomain B'. Domain IGD yang terletak antara G1 dan G2 dikode oleh ekson 7. Domain IGD adalah situs utama untuk proteolisis, karena banyak proteinase yang mampu memutus agrekan di domain ini. Domain G2 terdiri atas dua subdomain yaitu G2-B dan G2-B' dengan ekson 8 dan 9 mengkode subdomain B dan ekson 10 mengkode subdomain B'. Subdomain A, B, dan B' bertanggung jawab untuk interaksi antara protein penghubung dengan HA. Domain G2 tidak memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan HA dan peran fungsionalnya sampai saat ini masih belum diketahui.^{27,28}

Domain G2 dan G3 dipisahkan oleh wilayah GAG yang panjang dan dibagi menjadi domain KS, subdomain CS1 dan CS2. Domain KS dikode oleh ekson 11 dan 12 dan mengandung 117 asam amino. Ekson 12 merupakan ekson terpanjang dalam gen agrekan. Domain KS letaknya berdekatan dengan domain G2, terdiri dari pengulangan enam asam amino, dengan setiap ulangan memiliki urutan prolin-serin. Selanjutnya domain KS diikuti oleh domain CS yang memiliki dua subdomain berdasarkan karakteristik asam amino penyusunnya, yaitu subdomain CS1 dan CS2.^{27,28}

Sub domain CS1 terdiri dari pengulangan sembilan belas asam amino, dengan setiap ulangan memiliki dua sekuen serin-glisin. Sub domain CS2 juga memiliki urutan serin-glisin namun dengan urutan yang berbeda. Urutan asam amino yang berbeda pada sub domain CS1 dan CS2 ini memiliki kaitan dengan kerentanan terhadap proteolisis.²⁷

Gambar 4. Struktur Domain pada Agregan. Baris atas: pengaturan pengkodean ekson dari gen agregan manusia. Baris bawah: Struktur domain agregan terdiri atas domain globular (G1, G2 dan G3), IGD, KS, dan subdomain CS1 dan CS2. Domain G dibagi menjadi subdomain A, berfungsi mengikat protein; sub domain B dan B', mengikat hialuronan; E, *epidermal growth faktor-like domains*; L, *lectin-like domain*; C, *complement regulatory protein-like domain*.¹⁴

Satu molekul agregan dapat memiliki 100 rantai CS, 30 rantai KS, dan beberapa oligosakarida terikat O dan N. Sub domain CS2 diikuti oleh domain G3, yang berada di terminal C (*carboxyl*) dari protein inti. Wilayah G3 terdiri dari dua domain *epidermal growth factor* (EGF), satu domain *C-type lectin*, dan satu domain *complement regulatory protein* (CRP). Wilayah G3 ini berfungsi untuk pergerakan normal agregan dalam kondrosit. Hingga saat ini belum diketahui apakah masing-masing domain pada daerah G3 memiliki fungsi unik dalam matriks ekstraseluler.²⁷

3.3. Perubahan Struktur Agregan

Dalam tulang rawan normal, matriks ekstraseluler akan terus menerus mengalami *turn over* meskipun lambat, molekul tua akan diganti molekul baru. Agregan mengalami *turn over* yang lebih cepat dibandingkan kolagen tipe II karena lebih peka terhadap enzim proteolisis, sehingga kandungan, struktur dan fungsi agregan tidak konstan, namun bervariasi, yaitu menurun seiring dengan bertambahnya usia. Struktur agregan dapat mengalami perubahan karena adanya variasi sintesis dan degradasi (Gambar 5).

Gambar 5. Perubahan Struktur Agregan terkait Sintesis dan Degradasi. Perubahan struktur agregan akibat sintesis menghasilkan peningkatan panjang KS dan penurunan panjang CS. Perubahan karena hasil degradasi menunjukkan adanya pemotongan agregan pada protein inti.²⁷

Variasi struktur agrekan karena proses sintesis berlangsung selama masa janin dan pertumbuhan yang selesai pada usia 20 tahun. Perubahan dalam proses sintesis berpengaruh pada panjang rantai protein inti dan pola sulfasi GAG yaitu rantai CS dan KS. Dengan bertambahnya usia, panjang rantai GAG menjadi lebih pendek, rantai CS menjadi lebih pendek, sementara rantai KS menjadi lebih panjang. Perubahan panjang rantai CS dan KS ini berfungsi untuk mempertahankan muatan molekul agrekan. Wilayah KS dan CS juga mengalami perubahan pola sulfasi, namun hingga kini masih belum jelas apakah perubahan sulfasi ini memiliki arti penting untuk fungsi normal tulang rawan. Diketahui agrekan pada individu dewasa lebih lemah dalam menahan kompresi mekanik dibandingkan dengan agrekan pada bayi baru lahir meskipun densitas GAG dan kekuatan ioniknya sama, hal ini menunjukkan interaksi elektrostatis dan non elektrostatis juga berimplikasi langsung pada sifat biomekanik dan osmotik tulang rawan.²⁹

CS merupakan komponen utama agrekan dengan komposisi dapat mencapai 90%, sehingga CS dapat dijadikan sebagai *marker* kerusakan tulang rawan, namun tidak spesifik karena keberadaannya juga terdapat pada jaringan yang lain. Degradasi agrekan akan menghasilkan fragmen terikat dan fragmen bebas. Fragmen yang pertama tetap ada di dalam jaringan terikat dengan HA, sedangkan fragmen bebas akan terdifusi ke dalam cairan sinovial. Domain IGD dan domain ikatan GAG merupakan daerah rentan terhadap proteolisis. Ketika proteolisis terjadi pada kedua domain ini, akan menyebabkan berkurangnya muatan negatif pada molekul agrekan, sehingga menurunkan

kemampuan agrekan untuk menahan stress mekanik.^{30,31}

Selain variasi struktur karena proses sintesis, degradasi pada agrekan disebabkan oleh faktor lainnya yaitu: enzim proteolisis. Diketahui berbagai enzim terlibat dalam degradasi agrekan, terutama berasal dari keluarga matriks *metalloprotease* (MMP) dan keluarga *a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs* (ADAMTS).^{7,25} Selain disebabkan aktivitas proteolisis, *reactive oxygen species* (ROS) dan faktor non-enzimatik berupa glikasi juga dapat mendorong kerusakan pada agrekan.³²

3.3.1. Degradasi Agrekan karena Enzim Proteolisis

Konsentrasi agrekan mencapai puncaknya pada usia 20 tahun, selanjutnya menurun terkait dengan proteolisis yang terutama disebabkan oleh MMP dan ADAMTS. Proporsi *cleavage* (pemotongan) agrekan karena MMP maupun ADAMTS bervariasi antar individu, namun ADAMTS lebih berperan dalam kerusakan agrekan pada kondisi OA.³² Beberapa protease lain yang dapat memutus agrekan terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Protease dan situs pemotongan pada *human* agrekan.

Domain	Proteinase
G1	<i>Cathepsin K</i>
IGD	ADAMTS-4/5 MMP, <i>Calpain</i> , <i>Cathepsin K</i>
KS	<i>Calpain</i>
CS1	<i>Calpain</i> , MMP
CS2	ADAMTS-4/5, <i>Cathepsin K</i>

Chatepsin dan *Calpain* merupakan *cysteine proteinase* yang ekspresinya tinggi pada OA. *Cathepsin K* memiliki situs pemotongan di protein penghubung, domain G1, IGD dan subdomain CS2. *Calpain* merupakan *calcium-dependent*

cysteine proteinase yang juga berperan dalam *turnover* dan degradasi agregan, memiliki aktivitas yang tinggi pada domain KS dan subdomain CS1. Kedua enzim ini diekspresikan pada kondrosit dan fibroblas sinovial.^{33,34}

MMP yang dikenal dengan kolagenase berperan dalam *turnover* normal agregan. MMP merupakan enzim yang bergantung pada ion *zinc* dan merupakan protein multidomain dimana komponen non-

katalitik tambahan berfungsi untuk membantu enzim berikatan ke protein substrat dan memfasilitasi proteolisis. Keluarga MMP yaitu MMP-1, 8, dan 13 adalah kolagenase yang menurunkan ikatan triple heliks kolagen II. MMP lainnya, diantaranya MMP-3 (*stromelysin*) adalah protease umum yang mampu mendegradasi protein inti agregan dan domain IGD.^{35,36}

Gambar 6. Pemotongan agregan dan berbagai terapi yang dipakai pada OA. ADAMTS-4/5 memotong agregan di domain IGD dan melepaskan fragmen agregan ke dalam cairan sinovial. Berbagai inhibitor sintetik yang digunakan saat ini antara lain : agen biologi (antibodi), *corticosteroid*, *Non-Steroid Anti-inflammatory Drugs* (NSAID), dan statin memiliki peran dalam menghambat sitokin pro inflamasi (IL-1, IL-6, TNF- α) serta menurunkan ekspresi ADAMTS-4/5 sehingga diharapkan dapat menghambat kerusakan tulang rawan.³⁷

ADAMTS disekresikan oleh sel kondrosit ke dalam matriks ekstrasel. Struktur domain ADAMTS terdiri atas domain katalisis dan serangkaian domain tambahan yang berfungsi mengatur aktivitas dan spesifisitas substrat.³⁸ ADAMTS juga disebut sebagai agrekanase berperan penting dalam degradasi agregan pada kondisi patologis.³⁹ Dua anggota keluarga ADAMTS, yaitu ADAMTS-4 (agreganase-1) dan ADAMTS-5 (agreganase-2) dapat memotong agregan di situs pada IGD dan subdomain CS2 (Gambar 6). ADAMTS-4 dan ADAMTS-5 merupakan agrekanase yang paling aktif namun aktifitas ADAMTS-5 lebih tinggi dibandingkan dengan ADAMTS-4. Kedua agrekanase tersebut teridentifikasi

memotong agregan pada situs Glu (373)-Ala (374).^{35,36}

Degradasi berlebih pada agregan karena ADAMTS merupakan kunci dalam pengembangan OA, oleh karena itu banyak penelitian farmasi selama dua dekade terakhir yang fokus mengembangkan *inhibitor* ADAMTS-4 dan ADAMTS-5. Salah satu diantaranya adalah HA yang dilaporkan mampu menghambat ekspresi ADAMTS-4 pada kondrosit manusia melalui CD 44. HA yang berikatan dengan CD 44 akan meningkatkan ekspresi kolagen II melalui jalur sinyal *transforming growth factor beta* 1 (TGF- β 1).¹⁷

Pada saat ADAMTS-4/5 memotong agregan pada domain IGD, akan tersisa fragmen *agregan N-terminus* 70 kDa yang

tetap tertahan pada matriks ekstraseluler yang selanjutnya akan diputus oleh MMP pada situs N341↓342F, sehingga melepaskan 32-*amino acid* (32-mer). Fragmen hasil degradasi ini, 32-mer teridentifikasi pada cairan sinovial dari pasien OA namun belum bisa dipastikan apakah degradasi agrekan terjadi di dalam tulang rawan atau di dalam cairan sinovium oleh protease dalam synovium.³² Selanjutnya 32-mer akan mengaktifasi *Toll-like Receptor 2* (TLR-2) pada *nociceptor* sendi dan mendorong *signaling* proinflamasi pada kondrosit. TLR-2 diekspresikan oleh *Dorsal Root Ganglion* (DRG), mikroglia, astrosit dan neuron pada sistem saraf pusat. 32-mer dapat mengeksitasi neuron DRG dengan melakukan mobilisasi kalsium intraseluler [Ca^{2+}]. Hal ini menunjukkan aktivasi TLR-2 oleh mer-32 ini yang menyebabkan nyeri, selain itu diketahui mer-32 juga menyebabkan hiperplasia pada lutut.^{20,40}

3.3.2. Degradasi Agrekan karena ROS

Stress oksidatif memiliki peran penting dalam disfungsi seluler dan degenerasi tulang rawan sendi dengan menginduksi produksi berlebih ROS atau radikal bebas.⁴¹ ROS adalah produk samping sejumlah proses fisiologis dan berperan penting dalam homeostasis normal, namun produksi berlebih ROS dapat mendorong ekspresi MMP dan ADAMTS. ROS adalah radikal bebas yang mengandung molekul oksigen meliputi: radikal hidroksil ($\text{OH}^\cdot$), hidrogen peroksida (H_2O_2), anion superoksida ($\text{O}_2^\cdot$), nitrit oksida (NO), dan ion hipoklorit (OCl^-). ROS utamanya diproduksi di dalam mitokondria melalui fosforilasi oksidatif mitokondria, namun juga dapat dihasilkan oleh *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) dan *xanthine oxide* (XO) dari sumber lain. Sekitar 2-3% total O_2 yang dikonsumsi oleh mitokondria akan tereduksi menjadi $\text{O}_2^\cdot$. Keberadaan elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan ROS memiliki waktu hidup sangat singkat, tidak stabil dan sangat

reaktif untuk mencapai kondisi kestabilan.⁴²

ROS menimbulkan kerusakan jaringan melalui berbagai mekanisme antara lain: kerusakan protein, peroksidasi lipid, kerusakan DNA, oksidasi enzim lainnya antara lain sebagai anti-protease, sitokin proinflamasi, dan berbagai makromolekul.⁴² Spesies-spesies radikal ($\text{O}_2^\cdot$, $\text{OH}^\cdot$) dan non radikal (H_2O_2) dapat mendegradasi agrekan pada daerah protein inti dan protein penghubung, yang merupakan daerah paling rentan dan dapat menyebabkan depolimerasi pada struktur hialuronan sehingga menghasilkan kerusakan pada agregat proteoglikan.⁴³

ROS menyebabkan disfungsi mitokondria dan kematian kondrosit yang berkontribusi dalam perkembangan OA. Berbagai mediator inflamasi meliputi IL-1, IL-6, IL-8, $\text{TNF-}\alpha$ dan sitokin lainnya dapat menginduksi kerusakan mitokondria dan menyebabkan *over* produksi ROS.⁴¹ Peningkatan sitokin IL-1, $\text{TNF-}\alpha$ juga berperan dalam produksi NO dan menstimulasi produksi MMP. Pada kondrosit, ROS diproduksi oleh NADPH oksidase, yang berperan sebagai sinyal intrasel dalam menjaga homeostasis tulang rawan, apoptosis kondrosit, sintesis dan degradasi matriks agrekan dan kolagen pada tulang rawan sendi, serta memproduksi sitokin.

Keberadaan ROS dapat mempengaruhi matriks tulang rawan, namun peran ROS sulit dievaluasi karena tulang rawan bersifat avaskular dan ROS menjadi sangat labil. Pada kondisi normal, tulang rawan sendi memiliki suplai oksigen yang rendah antara 1-6%, sehingga fungsi metabolik kondrosit bergantung pada oksigen yang disuplai oleh cairan sinovial melalui proses difusi. Perubahan tekanan oksigen ini memiliki pengaruh terhadap fenotip, ekspresi gen dan morfologi kondrosit. Kondrosit menunjukkan tingkat ROS yang abnormal sebagai respon terhadap perubahan tekanan oksigen, stres mekanik, dan mediator inflamasi.⁴⁴

3.3.3. Degradasi Agrekan karena Faktor *Advanced Glycation End (AGE) Product*.

AGE adalah sekelompok molekul heterogen yang diproduksi oleh reaksi non enzimatis, dikenal dengan nama reaksi Maillard, yaitu reaksi antara asam amino dengan gula tereduksi, biasanya disebabkan pengolahan makanan pada suhu tinggi.⁴⁵ Beberapa molekul AGE antara lain *imidazolone*, *methyl-glycoal-lysine dimer* (MOLD), *glyoxal-lysine dimer* (GOLD), *pirraline*, dan *pentosidine* diketahui memiliki peran dalam penuaan normal dan pembentukan arthritis. AGE juga biasanya digunakan sebagai pengawet makanan yang masuk ke tubuh melalui konsumsi, selanjutnya terakumulasi di dalam tubuh karena ketahanan mereka terhadap degradasi. AGE berinteraksi dengan permukaan sel melalui reseptor AGE (RAGE) untuk melepaskan sitokin, radikal bebas yang secara langsung memodifikasi matriks ekstraseluler.⁴⁶

Permukaan kondrosit diketahui mengekspresikan reseptor RAGE, hal ini mengindikasikan AGE berperan penting regenerasi dan remodeling tulang rawan sendi.⁴⁷ AGE terakumulasi dalam tubuh pada waktu yang lama dan berkaitan dengan peningkatan ekspresi berbagai molekul yang terlibat dalam OA yaitu prostaglandin E2 (PGE2) dan prekursornya *cyclooxygenase* (COX)-2.⁴⁸ Pada tulang rawan, aktivasi AGE menghambat regenerasi kolagen tipe II dan mempercepat degradasi melalui *pathway* Jak/Stat, melalui interaksi antara AGE dan RAGE yang menyebabkan peningkatan ekspresi MMP-13 dan ADAMTS-4/5. Pada kondisi fisiologis normal, ekspresi MMP dan ADAMTS serta keberadaan ROS menjaga homeostasis dengan memfasilitasi *turn over* matriks ekstraseluler.⁴⁹

Belum banyak studi yang melaporkan keterkaitan AGE dengan perubahan mekanik matriks ekstraseluler. Fungsionalitas AGE ini dikelompokkan menjadi dua yang utama yaitu mengubah

pengenalan molekular dengan memodifikasi biokimia pada *specific protein binding sites*. Fungsi keduanya adalah *crosslink* AGE antara lain *glucosepane* diketahui mengubah sifat mekanik protein penahan beban antara lain kolagen sehingga jaringan menjadi rapuh dan menurun viskoelastisitasnya.⁵⁰

Akumulasi AGE juga dapat mendorong inflamasi kronis dengan memicu over produksi ROS, pelepasan sitokin pro inflamasi TNF- α dan IL-6, serta mengaktivasi *nuclear factor-kappaB* (NF- κ B). Aktivasi NF- κ B berkontribusi utama dalam inflamasi dan berbagai perkembangan penyakit diantaranya OA. Peningkatan IL-6 dan TNF- α tidak hanya menstimulasi produksi MMP dan ADAMTS, akan tetapi juga menurunkan sintesis agrekan, sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan tulang rawan sendi, setelah kerusakan dimulai, tulang rawan sendi memiliki sedikit kemampuan untuk memperbaiki diri sendiri, sehingga kerusakan lebih lanjut tidak dapat terhindarkan.^{40,51,52}

Peran sitokin pro inflamasi terhadap OA banyak mendapatkan atensi selama beberapa tahun. Pasien OA secara signifikan memiliki kadar serum IL-6 dan IL-8 lebih tinggi dibandingkan pada orang sehat. Interleukin (IL)-6 dan IL-8 memediasi inflamasi dalam OA dan juga mendorong produksi enzim – enzim pendegradasi matriks ekstraseluler serta ROS.⁴⁸ Pada OA, IL-6 pada cairan sinovium diketahui lebih tinggi dibandingkan pada plasma darah, dan hal ini berkorelasi positif dengan enzim MMP dan derajat keparahan OA.⁵³

Peningkatan kompresi statik pada tulang rawan sendi diketahui dapat meningkatkan produksi ROS secara signifikan jika dibandingkan dengan kompresi dinamik dengan besar yang sama. Kompresi mekanis dengan tingkat moderat dapat meningkatkan *turn over* normal pada matriks ekstraseluler pada tulang rawan sendi, sedangkan kompresi mekanik yang tinggi dapat menginduksi

respon inflamasi, mempercepat degradasi tulang rawan sendi dan akhirnya menyebabkan OA. Terdapat kenaikan ekspresi gen agrekan dan kolagen tipe II secara signifikan akibat kompresi mekanik moderat dan berulang, serta terjadi penurunan ekspresi gen – gen tersebut meskipun tidak signifikan akibat kompresi mekanik tingkat tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa kompresi mekanik sangat mempengaruhi homeostasis tulang rawan sendi.⁵⁴

Kesimpulan

Faktor utama yang berperan dalam degradasi agrekan adalah pemutusan agrekan oleh enzim keluarga ADAMTS terutama ADAMTS-4 dan ADAMTS-5, keberadaan ROS yang memicu sitokin pro inflamasi dan meningkatkan ekspresi MMP dan ADAMTS, serta AGE. Pemutusan agrekan ini menurunkan muatan negatif pada rantai GAG sehingga kemampuan mengikat air pada agregat agrekan menurun. Hal ini menyebabkan turunnya fungsi sendi sebagai penahan stress mekanik. Diperlukan penelitian lebih banyak untuk memahami mekanisme seluler dan molekuler terhadap homeostasis agrekan, sehingga dapat membantu pengembangan obat yang efektif untuk pasien OA.

Daftar Rujukan

- Hawker GA. Osteoarthritis is a serious disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2019;37(5):3-6.
- OARSI. OARSI White Paper- OA as a Serious Disease | Osteoarthritis Research Society International (OARSI). Published April 2016. <https://www.oarsi.org/education/oarsi-resources/oarsi-white-paper-oa-serious-disease>
- James SL, Abate D, Abate KH, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 Diseases and Injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018;392(10159):1789-1858.
- Wallace IJ, Worthington S, Felson DT, et al. Knee osteoarthritis has doubled in prevalence since the mid-20th century. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(35):9332-9336.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *RISKESDAS 2018*.
- Martel-Pelletier J, Barr AJ, Cicuttini FM, et al. Osteoarthritis. *Nat Rev Dis Prim*. 2016;2(1):1-18.
- Santamaria S. ADAMTS-5: A difficult teenager turning 20. *Int J Exp Pathol*. 2020;n/a(n/a).
- Thomas AC, Hubbard-Turner T, Wikstrom EA, Palmieri-Smith RM. Epidemiology of posttraumatic osteoarthritis. *J Athl Train*. 2017;52(6):491-496.
- Hu N, Gong X, Yin S, et al. Saxagliptin suppresses degradation of type II collagen and aggrecan in primary human chondrocytes: a therapeutic implication in osteoarthritis. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol*. 2019;47(1):3239-3245.
- Choi, Jo, Park, Kang, Park. NF-B Signaling Pathways in Osteoarthritic Cartilage Destruction. *Cells*. 2019;8(7):734.
- Apte SS. Anti-ADAMTS5 monoclonal antibodies: Implications for aggrecanase inhibition in osteoarthritis. *Biochem J*. 2016;473(1):e1-e4.
- Iozzo R V., Schaefer L. Proteoglycan form and function: A comprehensive nomenclature of proteoglycans. *Matrix Biol*. 2015;42:11-55.
- Heinegård D. Proteoglycans and more - From molecules to biology. *Int J Exp Pathol*. 2009;90(6):575-586. doi:10.1111/j.1365-2613.2009.00695.x
- Roughley PJ, Mort JS. The role of aggrecan in normal and osteoarthritic cartilage. *J Exp Orthop*. 2014;1(1):1-11.
- Cheng S, Peng L, Xu B, Chen W, Chen Y, Gu Y. Protective effects of hydrogen-rich water against cartilage damage in a rat model of osteoarthritis by inhibiting oxidative stress, matrix catabolism, and apoptosis. *Med Sci Monit*. 2020;26.
- Wei Q, Zhang X, Zhou C, Ren Q, Zhang Y. Roles of large aggregating proteoglycans in human intervertebral disc degeneration. *Connect Tissue Res*. 2019;60(3):209-218.

17. Ohtsuki T, Asano K, Inagaki J, et al. High molecular weight hyaluronan protects cartilage from degradation by inhibiting aggrecanase expression. *J Orthop Res.* 2018;36(12):3247-3255.
18. Mitsou I, Multhaupt HAB, Couchman JR. Proteoglycans, ion channels and cell-matrix adhesion. *Biochem J.* 2017;474(12):1965-1979.
19. Pomin VH, Mulloy B. pharmaceuticals Editorial Glycosaminoglycans and Proteoglycans. Published online 2018.
20. Vynios DH. Metabolism of cartilage proteoglycans in health and disease. BioMed Research International.
21. Li IMH, Liu K, Neal A, Clegg PD, De Val S, Bou-Gharios G. Differential tissue specific, temporal and spatial expression patterns of the Aggrecan gene is modulated by independent enhancer elements. *Sci Rep.* 2018;8(1).
22. Prudnikova K, Lightfoot Vidal SE, Sarkar S, et al. Aggrecan-like biomimetic proteoglycans (BPGs) composed of natural chondroitin sulfate bristles grafted onto a poly(acrylic acid) core for molecular engineering of the extracellular matrix. *Acta Biomater.* 2018;75:93-104.
23. Wei Q, Zhang X, Zhou C, Ren Q, Zhang Y. Roles of large aggregating proteoglycans in human intervertebral disc degeneration. *Connect Tissue Res.* 2019;60(3):209-218.
24. Han E, Wilensky LM, Schumacher BL, Chen AC, Masuda K, Sah RL. Tissue engineering by molecular disassembly and reassembly: Biomimetic retention of mechanically functional aggrecan in hydrogel. *Tissue Eng - Part C Methods.* 2010;16(6):1471-1479.
25. Huang K, Wu LD. Aggrecanase and Aggrecan degradation in osteoarthritis: A review. *J Int Med Res.* 2008;36(6):1149-1160.
26. Han B, Li Q, Wang C, et al. Decorin Regulates the Aggrecan Network Integrity and Biomechanical Functions of Cartilage Extracellular Matrix. *ACS Nano.* 2019;13(10):11320-11333.
27. Roughley PJ, Mort JS. The role of aggrecan in normal and osteoarthritic cartilage. *J Exp Orthop.* 2014;1(1):1-11.
28. Caporali EH, Kuykendall T, Stewart MC. Complete sequencing and characterization of equine aggrecan. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2015;28(2):79-87.
29. Lee HY, Han L, Roughley PJ, Grodzinsky AJ, Ortiz C. Age-related nanostructural and nanomechanical changes of individual human cartilage aggrecan monomers and their glycosaminoglycan side chains. *J Struct Biol.* 2013;181(3):264-273.
30. Winsz-Szczotka K, Kuźnik-Trocha K, Komosińska-Vashev K, Jura-Półtorak A, Olczyk K. Laboratory Indicators of Aggrecan Turnover in Juvenile Idiopathic Arthritis. *Disease Markers.*
31. Zhang B, Guo W, Sun C, et al. Dysregulated miR-3150a-3p Promotes Lumbar Intervertebral Disc Degeneration by Targeting Aggrecan. *Cell Physiol Biochem.* 2018;45(6):2506-2515.
32. Mort JS, Geng Y, Fisher WD, Roughley PJ. Aggrecan heterogeneity in articular cartilage from patients with osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016;17(1).
33. Struglics A, Hansson M. Calpain is involved in C-terminal truncation of human aggrecan. *Biochem J.* 2010;430(3):531-538.
34. Troeberg L, Nagase H. Proteases involved in cartilage matrix degradation in osteoarthritis. *Biochim Biophys Acta - Proteins Proteomics.* 2012;1824(1):133-145.
35. Mort JS, Geng Y, Fisher WD, Roughley PJ. Aggrecan heterogeneity in articular cartilage from patients with osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016;17(1).
36. Sivan SS, Wachtel E, Roughley P. Structure, function, aging and turnover of aggrecan in the intervertebral disc. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj.* 2014;1840(10):3181-3189.
37. Dancevic CM, Mcculloch DR. *Current and Emerging Therapeutic Strategies for Preventing Inflammation and Aggrecanase-Mediated Cartilage Destruction in Arthritis.* Vol 16.; 2014.
38. Bondeson J, Wainwright S, Hughes C, Caterson B. The regulation of the ADAMTS4 and ADAMTS5 aggrecanases in osteoarthritis: A review. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26(1):139-145.
39. Struglics A, Hansson M. MMP proteolysis of the human extracellular matrix protein aggrecan is mainly a process of normal turnover. *Biochem J.* 2012;446(2):213-223.
40. Miller RE, Ishihara S, Tran PB, et al. An aggrecan fragment drives osteoarthritis pain through Toll-like receptor 2. Published online 2018.

41. Li YS, Xiao W feng, Luo W. Cellular aging towards osteoarthritis. *Mech Ageing Dev.* 2017;162:80-84.
42. Lepetsos P, Papavassiliou AG. ROS/oxidative stress signaling in osteoarthritis. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis.* 2016;1862(4):576-591.
43. Younis L, Hassan M, Anuar S, Yunus F, Yusof N. The Role of Reactive Oxygen Species in Initiation and Progression of Periodontal Diseases. *Br J Appl Sci Technol.* 2015;8(6):541-549.
44. Bolduc JA, Collins JA, Loeser RF. Reactive oxygen species, aging and articular cartilage homeostasis. *Free Radic Biol Med.* 2019;132:73-82.
45. Poulsen MW, Hedegaard R V., Andersen JM, et al. Advanced glycation endproducts in food and their effects on health. *Food Chem Toxicol.* 2013;60:10-37.
46. A. Ajith T, Vinodkumar P. Advanced Glycation End Products: Association with the Pathogenesis of Diseases and the Current Therapeutic Advances. *Curr Clin Pharmacol.* 2016;11(2):118-127.
47. Li X, Jia F, Zhu Z, Huang L. Lixisenatide attenuates advanced glycation end products (AGEs)-induced degradation of extracellular matrix in human primary chondrocytes. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol.* 2019;47(1):1256-1264.
48. Li H, Chen J, Li B, Fang X. The protective effects of dulaglutide against advanced glycation end products (AGEs)-induced degradation of type II collagen and aggrecan in human SW1353 chondrocytes. *Chem Biol Interact.* 2020;322:108968.
49. Tong C, Liang H, Liu X, et al. The protective effects of exenatide against AGEs-induced articular matrix degradation in human primary chondrocytes. *Am J Transl Res.* 2019;11(4):2081-2089.
50. Gautieri A, Passini FS, Silván U, et al. Advanced glycation end-products: Mechanics of aged collagen from molecule to tissue. *Matrix Biol.* 2017;59:95-108.
51. Haller JM, Swearingen CA, Partridge D, McFadden M, Thirunavukkarasu K, Higgins TF. Intraarticular Matrix Metalloproteinases and Aggrecan Degradation Are Elevated After Articular Fracture. *Clin Orthop Relat Res.* 2015;473(10):3280-3288.
52. Zhang W, Robertson WB, Zhao J, Chen W, Xu J. Emerging trend in the pharmacotherapy of osteoarthritis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10(JUL).
53. Laavola M, Leppänen T, Hämäläinen M, et al. IL-6 in osteoarthritis: Effects of pine stilbenoids. *Molecules.* 2019;24(1).
54. Young IC, Chuang ST, Gefen A, et al. A novel compressive stress-based osteoarthritis-like chondrocyte system. *Exp Biol Med.* 2017;242(10):1062-1071.