

Leptin Menghambat Penurunan MMP-9 dan MMP-13 oleh Pioglitazone pada Kondrosit yang Diinduksi IL-1 β

Leptin Inhibit the Effect of Pioglitazone in Reducing MMP-9 and MMP-13 of IL-1 β -Induced Chondrocytes

Rena Normasari¹, Anis Murniati²

¹Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²STIKES Hutama Abdi Husada Tulungagung

Jl Kalimantan 37 Jember 68121, Indonesia, Tlp/Fax. +62 331 337877

e-mail korespondensi: rena_normasari@unej.ac.id

Abstrak

Osteoarthritis (OA) merupakan penyebab nyeri sendi tersering, namun hingga kini masih belum ada terapi yang memuaskan yang mampu menghambat kerusakan pada kartilago sendi OA. Salah satu pendekatan yang sedang banyak diteliti adalah melalui aktivasi PPAR- γ . Dan telah banyak penelitian pula yang sudah membuktikan tentang efek PPAR- γ pada OA baik in vitro maupun in vivo pada hewan coba. Di sisi lain, faktor resiko utama dari OA adalah obesitas. Pada obesitas umumnya diikuti meningkatnya kadar leptin akibat adanya resistensi leptin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pioglitazone sebagai salah satu agonis PPAR- γ dalam menurunkan kadar MMP-9 dan MMP-13 pada kondrosit OA yang disertai hiperleptinemia. MMP-9 dan MMP-13 merupakan salah satu dari beberapa enzim yang menjadi kunci utama rusaknya kartilago pada sendi OA. Penelitian ini menggunakan sel kondrosit model OA dengan cara menginduksinya dengan IL-1 β kemudian diberikan paparan pioglitazone. Paparan pioglitazone 0,1 μ M, 1 μ M, dan 10 μ M mampu menurunkan kadar MMP-9 dan MMP-13. Sedangkan paparan pioglitazone bersama sama dengan leptin 10 μ g/ml mengurangi penurunan kadar MMP dibandingkan kelompok tanpa disertai pemberian leptin. Pemberian leptin menghambat pengaruh pioglitazone dalam menurunkan kadar MMP-9 dan MMP-13.

Kata kunci: OA, leptin, pioglitazone, MMP-9, MMP-13

Abstract

Osteoarthritis (OA) is the most common cause of joint pain, but there's still no satisfying treatment that can inhibit degradation of articular cartilage in OA. One approach that is being widely studied is through activation of PPAR- γ . Many studies have shown effect of PPAR- γ on OA either in vitro or in vivo in animal model. On the other hand, the main risk factor of OA is obesity. Obesity generally followed by increased of leptin level due to leptin resistance. The aim of this study is to examine the effect of pioglitazone as PPAR- γ agonist in reducing the level of MMP-9 and MMP-13 in OA chondrocyte with hyperleptinemia. MMP-9 and MMP-13 are key role enzymes that degrades cartilage in OA. This study use IL-1 β -induced chondrocyte exposed to pioglitazone. Pioglitazone 0,1 μ M, 1 μ M, and 10 μ M reduce MMP-9 and MMP-13 level. Whereas pioglitazone together with leptin 10 μ g/ml reduce the decrease level of MMPs compared to the group without leptin. Leptin inhibit the effect of pioglitazone in reducing the level of MMPs.

Keywords: OA, leptin, pioglitazone, MMP-9, MMP-13

Pendahuluan

Osteoarthritis (OA) merupakan penyebab utama nyeri sendi dan kecacatan pada pasien paruh baya dan manula. Penyakit ini ditandai dengan destruksi kartilago sendi yang agresif. Kejadian ini melibatkan proses yang kompleks dari beberapa komponen dari matriks kartilago, di antaranya kolagen tipe II. Degradasi dari kolagen tipe II

merupakan tahap kunci yang bersifat ireversibel. Tahap ini menyebabkan terganggunya integritas kartilago baik secara struktural ataupun fungsional (Li et al, 2011). Pada awal OA, kondrosit diinduksi oleh sitokin seperti IL-1 dan TNF α yang berasal dari sel synovial atau makrofag. IL-1 merupakan sitokin pro-inflamasi poten yang mampu merangsang kondrosit untuk mensintesis IL-1 kembali dan

sitokin proinflamasi lain seperti IL-6 serta menekan sintesis kolagen tipe II dan mensintesis enzim degradatif MMP (Melo-Florián, 2011).

Enzim utama yang bertanggung jawab terhadap degradasi matriks adalah MMP (matrix metalloproteinase). Enzim ini disekresikan baik oleh sel sinovial ataupun sel kondrosit. Pada kondisi normal, sintesis dan aktivasi enzim ini diatur dalam keadaan seimbang dengan faktor penghambatnya. Pada kondisi OA, sintesis MMP sangat meningkat yang berakibat pada degradasi kartilago (Ling dan Bathon, 2012). Beberapa jenis MMP yang terlibat pada patogenesis OA adalah MMP-9 dan MMP-13. MMP-9 berperan penting pada degradasi kartilago, karena MMP-9 dapat mendegradasi beberapa jenis kolagen, termasuk membrana basalis, kolagen tipe V serta merusak fibril dari kolagen tipe I (Ryu et al, 2012). Sedangkan, MMP-13 merupakan enzim utama yang berperan pada degradasi kartilago. Dibandingkan dengan MMP yang lain, MMP-13 hanya terbatas pada jaringan ikat, dan tidak hanya berfungsi untuk degradasi kolagen tipe II, namun juga mendegradasi proteoglikan, kolagen tipe IV dan IX, osteonectin dan perlecan pada kartilago. Investigasi klinis menemukan bahwa pasien dengan destruksi kartilago sendi mempunyai ekspresi MMP-13 yang tinggi. (Wang et al, 2013).

Hingga saat ini belum ada terapi memuaskan untuk menghentikan proses degradasi kartilago pada osteoarthritis. Beberapa pendekatan terapi sedang dalam proses penelitian, di antaranya adalah aktivasi dari faktor transkripsi PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma). PPAR- γ merupakan faktor transkripsi yang diaktivasi oleh ligand dan juga merupakan anggota dari superfamilia reseptor nukleus. Agonis dari PPAR- γ dapat menghambat inflamasi dan menurunkan sintesis produk degradasi kartilago secara *in vitro* dan *in vivo*, serta dapat menurunkan progresi dari lesi kartilago pada hewan coba model OA (Fahmi et al, 2011). Pioglitazone sebagai agonis PPAR- γ juga mampu menurunkan kadar MMP-13 dan IL-1 β serta menurunkan derajat keparahan histologis dari kartilago OA (Kobayashi et al, 2005).

Salah satu faktor resiko OA di antaranya adalah obesitas. Pada obesitas, jaringan lemak (white adipose tissue) mensekresikan sejumlah peptida. Beberapa dari peptida ini di antaranya adalah leptin. Leptin berfungsi untuk mengatur berat badan dengan memberi sinyal ke otak terhadap ketersediaan simpanan energi berupa lemak. Umpan balik negatif ini sering terganggu pada

individu dengan obesitas, atau dengan nama lain terdapat resistensi leptin (Knight et al, 2010). Penelitian ini untuk mengetahui efek leptin pada produksi MMP-9 dan MMP-13 sel kondrosit model OA yang diberikan pioglitazone.

METODE

Kultur sel kondrosit

Penelitian ini menggunakan sel kondrosit yang diinduksi IL- β sebagai model kondrosit OA *in-vitro*. Sel kondrosit diperoleh dari NHAC-Kn, Lonza. *Cell line* ditanam pada Chondrocyte basal media yang telah ditambah dengan suplemen R3-IGF1, bFGF, transferrin, insulin, FBS, dan gentamicin/amphotericin-B. Sel ditanam pada flask 25cm² dengan kepadatan 10.000 sel/cm². Sel diinkubasi pada 37 °C dengan 5% CO₂, dan medium diganti setiap minggu. Sel yang telah konfluen dilepaskan dengan tripsinasi dan dikumpulkan dengan sentrifugasi 200g selama 5 menit. Sel dilarutkan kembali ke dalam larutan *alginate solution*, diaspirasi melalui syringe, dan diteteskan ke dalam 30ml larutan *polymerization solution*. Sel akan terperangkap di dalam *alginate bead*. Sel ditanam dalam media diferensiasi selama 2 – 3 minggu. Di akhir inkubasi sel diinduksi dengan IL-1 β selama 24 jam dilanjutkan dengan paparan 0,1 μ M, 1 μ M, dan 10 μ M pioglitazone tanpa dan disertai paparan leptin berbagai dosis 10 μ g/ml selama 24 jam.

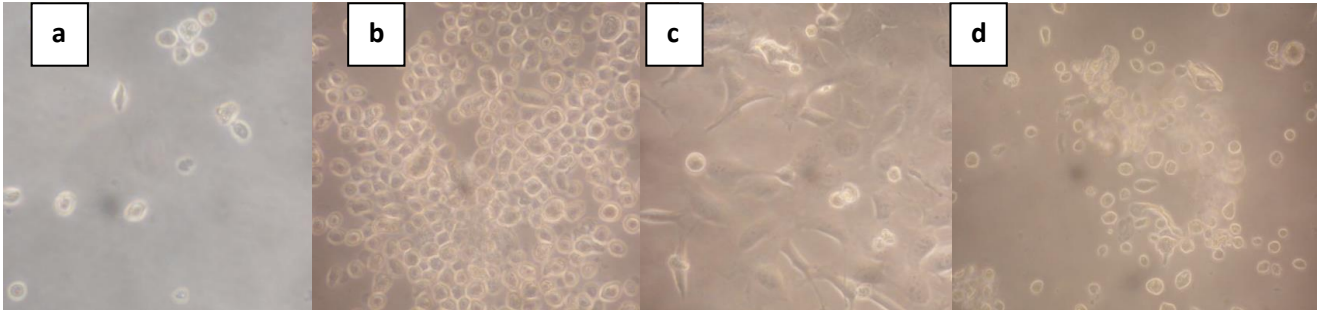
Pengukuran MMP

Pengukuran MMP menggunakan media dari kultur kondrosit. MMP diukur menggunakan ELISA kit (R&D System, Inc) dan dilakukan sesuai manual protokol. Tes ini menggunakan teknik enzim immunoassay sandwich secara kuantitatif. Antibodi monoclonal spesifik terhadap MMP-9 dan MMP-13 sudah terlapisi di dalam mikroplate. Standard dan sampel dipipet dimasukkan ke dalam sumuran, MMP di dalam standard dan sampel akan berikatan dengan antibodi pada dasar sumuran. Setelah dicuci, substansi yang tidak terikat akan dibuang. Antibodi poliklonal spesifik terhadap MMP segera dipipet dimasukkan ke dalam sumuran. Antibodi poliklonal ini terikat enzim. Setelah dicuci, segera ditambahkan larutan substrat dan pembentukan warna segera dimulai. Pembentukan warna ini sesuai dengan jumlah ikatan terhadap MMP. Setelah pembentukan warna dihentikan, intensitas warna segera dibaca

menggunakan elisa reader dengan panjang gelombang 450nm.

HASIL

Karakter sel kultur kondrosit



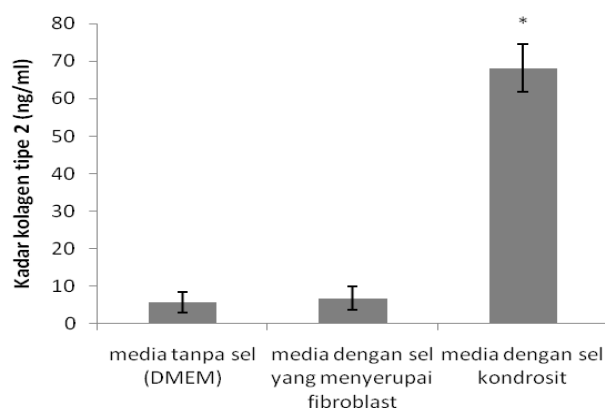
Gambar 1. Karakterisasi morfologi kondrosit

Keterangan : a. Kultur kondrosit hari 1; b. setelah sel dikultur selama 2 minggu, sel mencapai konfluensi 70-80%; c. Bentuk sel kondrosit yang menyerupai fibroblast (*Fibroblast-like cells*); d. Sel di dalam alginate bead

Sel kondrosit setelah ditanam pada flask (Gambar 1a) dan mencapai konfluensi 70-80% (Gambar 1b), segera dilakukan proses rediferensiasi. Sel kondrosit yang terlalu lama ditanam pada monolayer cenderung akan mengalami dediferensiasi. Bentuk sel kondrosit yang bulat secara cepat akan kehilangan sifat fenotipnya dan berubah menjadi sel yang menyerupai fibroblas (*fibroblast-like cells*) yang gepeng (Gambar 1c). Pada kondisi ini, marker spesifik tertentu pada kondrosit akan turun atau tidak dihasilkan sama sekali, seperti collagen type 2 (Thirion dan Berenbaum, 2004; DeCeuninck et al, 2004).

Di dalam penelitian ini proses rediferensiasi dilakukan dengan menggunakan *alginate bead*. Dari Gambar 1d, tampak sel kondrosit yang

terperangkap di dalam alginate bead. Setelah itu dilakukan pengukuran collagen type 2 untuk mengetahui fenotip kondrosit. Media kultur kondrosit diukur collagen type 2 dengan metode ELISA. Sebagai pembandingan dilakukan pengukuran collagen type 2 dari media kultur tanpa sel (DMEM) dan media kultur dari sel yang menyerupai fibroblast. Dari Gambar 2, tampak bahwa pada media sel kondrosit terdapat collagen type 2 yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan media fibroblast dan media tanpa sel ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa sel kondrosit mampu menghasilkan collagen type 2 menandakan bahwa sel yang telah dikultur tidak berubah sifat menjadi fibroblast sehingga sel kondrosit dapat segera diberikan perlakuan.



Gambar 2. Pengaruh rediferensiasi pada kadar sekresi collagen type 2 yang dihasilkan oleh sel kondrosit.

Keterangan: Pengukuran kadar sekresi collagen tipe 2 dilakukan untuk mengetahui apakah sel kondrosit yang dikultur tidak berubah menjadi sel yang menyerupai sel fibroblas. Pengukuran sekresi collagen tipe 2 dilakukan pada media kultur menggunakan metode ELISA,

dengan menggunakan media kultur sel fibroblast dan media pertumbuhan saja (*growth media*) tanpa sel di dalamnya sebagai pembanding. Tampak hasil sekresi kadar kolagen tipe 2 pada media sel kondrosit mengalami peningkatan yang signifikan. (*) $p < 0,05$. Error bar pada histogram menunjukkan rata-rata \pm standard error dari rata-rata

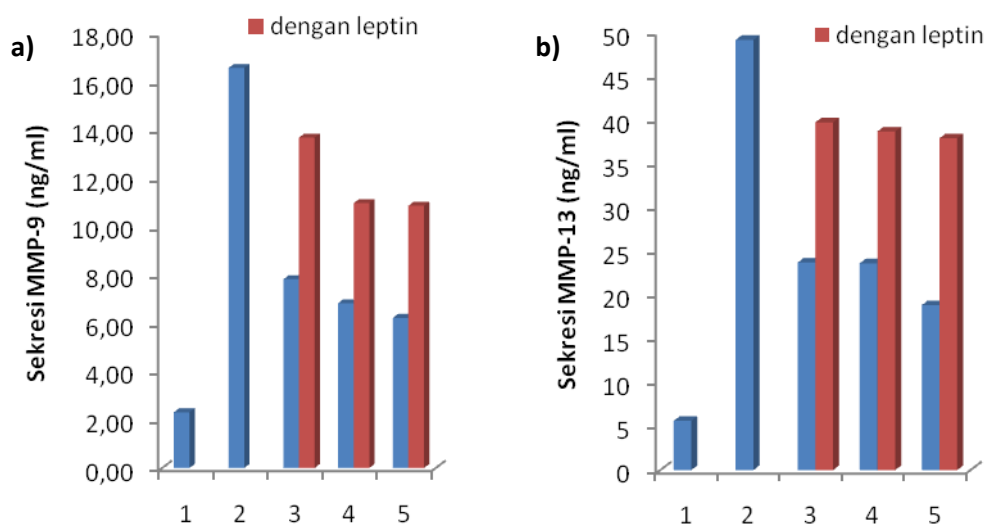
Pengaruh Induksi IL-1 β terhadap Sekresi MMP-9 dan MMP-13

Perubahan metabolisme kondrosit dimotori oleh adanya mediator proinflamasi. Salah satu mediator pro-inflamasi yang poten serta berperan penting terhadap patogenesis OA adalah IL-1. IL-1 mampu menginduksi kondrosit untuk mensintesis MMP (Aigner et al, 2006). Pada penelitian ini, sel kondrosit diberikan induksi IL-1 β untuk mengetahui pengaruhnya terhadap sekresi MMP-9 dan MMP-13 oleh sel kondrosit. Dosis IL-1 β yang diberikan 10ng/ml selama 24 jam. Pengukuran kadar MMP menggunakan metode ELISA. Pada Gambar 3 dapat dilihat adanya peningkatan sekresi MMP-9 dan MMP-13 yang nyata berbeda pada kelompok IL-1 β dibandingkan kelompok normal ($p < 0,05$). Hasil MMP yang tinggi ini menandakan bahwa IL-1 β dapat menginduksi kondrosit sehingga dapat menjadi seperti kondrosit OA. Interleukin (IL) -1 merupakan sitokin yang memainkan peran utama dalam respon inflamasi dalam konteks infeksi dan penyakit karena gangguan sistem imun (Jacques et al, 2006). IL-1 dapat merangsang sintesis dan aktivitas matriks metaloproteinase dan enzim lain yang terlibat dalam kerusakan kartilago pada

rheumatoid arthritis dan osteoarthritis (De Isla dan Stoltz, 2008). Sedangkan MMP-13 merupakan salah satu jenis MMP yang secara spesifik terekspresi pada kartilago pasien OA dan tidak pada kartilago dewasa normal. MMP-13 juga merupakan jenis kolagenase utama pada kartilago OA dan mempunyai aktivitas yang paling tinggi terhadap kolagen tipe 2, kolagen utama pada kartilago (Goldring, 2012).

Pengaruh pemberian Pioglitazone terhadap sekresi MMP-9 dan MMP-13

Penelitian dilanjutkan dengan penambahan agonis PPAR- γ , pioglitazone 0,1 μ M, 1 μ M, dan 10 μ M, pada kondrosit yang telah diinduksi IL-1 β , seperti ditunjukkan pada Gambar 3. Pemberian pioglitazone bertujuan untuk mengetahui peran PPAR- γ dalam patogenesis OA. Pioglitazone diharapkan mampu menurunkan sekresi MMP oleh kondrosit yang telah diinduksi IL-1 β . Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa penambahan pioglitazone mampu menurunkan sekresi MMP-9 dan MMP-13 secara nyata dibandingkan dengan kelompok yang diinduksi IL-1 β saja ($p < 0,05$).



Gambar 3 Pengaruh pemberian pioglitazone serta pioglitazone + leptin terhadap kadar a) MMP-9 dan b) MMP-13

Keterangan: Pengukuran kadar MMP menggunakan ELISA. Tampak bahwa pemberian pioglitazone cenderung mampu menurunkan sekresi MMP yang berbeda secara nyata dibandingkan kelompok IL-1 β . Sedangkan pemberian pioglitazone bersama dengan leptin juga menurunkan kadar MMP secara nyata namun tidak sebanyak penurunan MMP pada kelompok yang tidak disertai paparan leptin. (*) $p < 0,05$. Error bar pada histogram menunjukkan rata-rata \pm standard error dari rata-rata. (1: kelompok kondrosit normal, 2: kelompok yang

hanya dipapar IL1 β 10ng/ml, 3: kelompok yang dipapar IL-1 β dan pioglitazone 0,1 μ M, 4: kelompok yang dipapar IL-1 β dan pioglitazone 1 μ M, 5: kelompok yang dipapar IL-1 β dan pioglitazone 10 μ M. Pada kelompok 3, 4, dan 5 dibandingkan juga antara pemberian leptin 10 μ g/ml dan tanpa pemberian leptin)

Pengaruh pemberian leptin pada kondrosit yang dipapar pioglitazone terhadap sekresi MMP-9 dan MMP-13

Setelah itu, kelompok perlakuan pioglitazone dibandingkan dengan tambahan pemberian leptin 10 μ g/ml. Supernatannya diambil untuk diukur kadar MMP-9 dan MMP-13 yang disekresikan oleh kondrosit. Pada Gambar 3 dapat dilihat adanya peningkatan sekresi MMP yang nyata berbeda pada kelompok yang dipapar leptin dibandingkan kelompok yang tidak dipapar leptin ($p < 0,05$). Hasil MMP yang tinggi ini menandakan bahwa pemberian leptin menghambat efek pioglitazone dalam menurunkan sekresi MMP.

Leptin memainkan peran penting dalam patofisiologi OA. Leptin mempunyai efek proinflamasi yang kuat (Gandhi et al, 2012). Ekspresi leptin ditemukan jauh lebih tinggi pada kartilago OA daripada pada kartilago normal. Leptin juga mampu menginduksi ekspresi MMP yang ikut terlibat dalam kerusakan kartilago OA, seperti MMP-9 dan MMP-13. Bukti yang lain juga menunjukkan bahwa leptin sendiri dan dalam kombinasi dengan IL-1 β mampu meregulasi produksi MMP-13 dan MMP-3 pada kartilago OA melalui faktor transkripsi NF- κ B, protein kinase C, dan jalur MAP kinase. Adipokine ini juga berkorelasi positif terhadap MMP-13 cairan sinovial (SF) dari pasien OA (Toussiot et al, 2007).

PEMBAHASAN

OA merupakan salah satu penyebab nyeri sendi terbanyak, namun hingga saat ini masih belum terdapat terapi yang memuaskan yang mampu menurunkan progresivitas degradasi dari kartilago sendi. Beberapa pendekatan sedang banyak diteliti, salah satunya dengan pendekatan PPAR- γ . PPAR- γ merupakan faktor transkripsi yang diaktivasi oleh ligand dan juga merupakan anggota dari superfamili reseptor nukleus. Beberapa bukti menunjukkan bahwa aktivasi PPAR- γ oleh agonisnya dapat menurunkan sintesis katabolik OA dan faktor inflamasi serta menurunkan degradasi kartilago in vivo dan in vitro pada hewan coba dengan OA (Fahmi et al, 2011). PPAR- γ terekspresi pada kondrosit dan ekspresinya menurun pada OA dibandingkan kartilago normal. Penemuan ini menyimpulkan bahwa menurunnya ekspresi PPAR-

γ pada kartilago OA mencerminkan adanya peningkatan ekspresi dari faktor inflamasi dan kataboliknya (Afif et al, 2007).

Aktivitas PPAR- γ dapat diinduksi oleh berbagai macam ligan endogen natural dan agonis sintetik. Pada penelitian ini didapatkan bahwa penambahan pioglitazone sebagai agonis PPAR- γ mampu menurunkan sekresi MMP-9 dan MMP-13. PPAR- γ berinteraksi dengan faktor transkripsi yang lain dan tidak langsung terlibat dalam ikatan dengan DNA untuk meregulasi transkripsi gen. Sebagai contoh, PPAR- γ mempunyai interaksi dengan AP-1 (activator protein-1), STAT (signal transducers and activators of transcription), dan NF- κ B, dimana semuanya merupakan faktor transkripsi yang juga berperan dalam regulasi ekspresi gen. Faktor transkripsi proinflamasi NF- κ B mempunyai peran sentral dalam respon imun dan inflamasi, dimana NF- κ B merupakan target utama dari PPAR- γ untuk mensupresi inflamasi (Duan et al, 2008).

Penelitian oleh Kobayashi juga menunjukkan bahwa pemberian pioglitazone secara oral pada hewan coba dapat menurunkan sekresi MMP-13 dibandingkan dengan placebo. Pioglitazone dapat berpengaruh secara langsung pada kondrosit dan menghambat respon katabolik pada eksperimental OA (Kobayashi et al, 2005). PPAR- γ telah diketahui terekspresi pada kondrosit manusia (Bordji et al, 2000), dan PPAR- γ ligand seperti thiazolidinedione, rosiglitazone, dan 15d-PGJ2 mampu menghambat produksi NO dan MMP-13 yang sebelumnya telah diinduksi oleh IL-1 β , hal ini dikarenakan adanya represi dari aktivasi AP-1 dan NF- κ B pada kondrosit manusia (Fahmi et al, 2002). Pioglitazone sebagai salah satu agonis PPAR- γ mampu menghambat produksi MMP-13 pada kondrosit manusia yang telah diinduksi IL-1 β secara in vitro. MMP-13 diekspresikan berlebih pada kondrosit kartilago OA, oleh karena itu menghambat enzim ini sangat penting, karena MMP-13 mampu mendegradasi kolagen tipe 2 yang dominan pada kartilago (Kobayashi et al, 2005).

Terdapat beberapa faktor resiko timbulnya OA, di antaranya adalah obesitas. Obesitas dapat meningkatkan kekakuan kolagen, perubahan mekanik dari matrix ekstraselular, serta penurunan sintesa proteoglikan, dimana hal inilah yang mungkin dapat menjadi awal mula terjadinya

degradasi kartilago (DeGroot, 2004). Jaringan adiposa mampu mensekresikan hormon adipokin berupa leptin, adiponectin, resistin dan visfatin. Leptin dan reseptornya telah dapat diidentifikasi pada kondrosit manusia. Leptin dapat meningkatkan faktor katabolik, seperti matrix metalloproteinase (Kimata et al, 2010).

Leptin mempunyai efek proinflamasi yang kuat (Gandhi et al, 2012). Otero et al. menunjukkan bahwa, dalam kultur kondrosit manusia dan murine, nitrat oksida sintase tipe 2 (NOS2) dan *interferon- γ* , serta aktivasi NOS2 oleh IL-1 β juga dapat meningkat oleh leptin melalui mekanisme yang melibatkan JAK2, PI3K, dan mitogen activated kinases (MEK1 dan p38) (Otero et al, 2005). Leptin juga mampu menginduksi ekspresi MMP yang ikut

terlibat dalam kerusakan kartilago OA, seperti MMP-13. Bukti yang lain juga menunjukkan bahwa leptin sendiri dan dalam kombinasi dengan IL-1 β mampu meregulasi produksi MMP-13 pada kartilago OA melalui faktor transkripsi NF- κ B, protein kinase C, dan jalur MAP kinase (Toussirof et al, 2007). Ku et al. telah menunjukkan adanya hubungan konsentrasi leptin pada cairan sinovial dengan keparahan radiografi OA pada pasien OA, bahwa leptin dapat berperan sebagai marker efektif untuk OA (Ku et al, 2009). Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian pioglitazone pada kondisi hiperleptinemia mejadi kurang efektif untuk menurunkan kadar MMP pada kondrosit yang telah dipapar IL-1 β .

DAFTAR PUSTAKA

- Afif H, Benderdour M, Mfuna-Endam L, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, dan Duval N. 2007. *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma1 expression is diminished in human osteoarthritic cartilage and is downregulated by interleukin-1beta in articular chondrocytes*. Arthritis Research & Therapy. 9: R31.
- Aigner T, Soeder S, dan Haag J. 2006. *IL-1beta and BMPs--interactive players of cartilage matrix degradation and regeneration*. European Cells and Materials. 12: 49 – 56
- Bordji K, Grillasca JP, Gouze JN, Magdalou J, Schohn H, dan Keller JM. 2000. *Evidence for the presence of peroxisome proliferatoractivated receptor (PPAR) α and γ and retinoid z receptor in cartilage*. The Journal of Bioogical Chemistry 275: 12243–5
- De Isla NG dan Stoltz JF. 2008. *In vitro inhibition of IL-1 β catabolic effects on cartilage: A mechanism involved on diacerein anti-OA properties*. Biorheology 45 : 433 – 43
- DeCeuninck F, Lesur C, Pastoureau P, Caliez A, dan Sabatini M. 2004. *Culture of Chondrocytes in Alginate Beads*. Methods in Molecular Medicine, Vol. 100: Cartilage and Osteoarthritis, Vol. 1: Cellular and Molecular Tools Edited by: M. Sabatini, P. Pastoureau, and F. De Ceuninck. 2004 : 15 – 22. Humana Press: Totowa, New Jersey
- DeGroot J. 2004. *The AGE of the matrix: chemistry, consequences and cure*. Current Opinion in Pharmacology. 4: 301 – 305.
- Duan SZ, Usher MG, dan Mortensen RM. 2008. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ -Mediated Effects in the Vasculature*. Circulation Research. 102: 283 – 294
- Fahmi H, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, dan Kapoor M. 2011. *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma in osteoarthritis*. Modern Rheumatology. 21: 1 – 9
- Fahmi H, Pelletier JP, di Battista JA, Cheung HS, Fernandes JC, Martel-Pelletier J. 2002. *Peroxisome proliferator-activated receptor γ activators inhibit MMP-1 production in human synovial fibroblasts likely by reducing the binding of the activator protein 1*. Osteoarthritis and Cartilage. 10: 100 – 8
- Gandhi MR, Takahashi M, Rizek R, Dessouki O dan Nizar N. 2012. *Obesity-related Adipokines and Shoulder Osteoarthritis*. The Journal of Rheumatology. 39 (10): 2046 – 2048
- Goldring, Mary. 2012. *Chondrogenesis, Chondrocyte Differentiation, and Articular Cartilage Metabolism in Health and Osteoarthritis*. Therapeutic Advance in Musculoskeletal Disease. 4 (4): 269 – 285
- Jacques C, Gosset M, Berenbaum F, dan Gabay C. 2006. *The role of IL-1 and IL-1Ra in joint inflammation and cartilage degradation*. Vitamines & Hormones. 74 : 371-403.
- Kimata M, Michigami T, dan Tachikawa K. 2010. *Signaling of extracellular inorganic phosphate up-regulates cyclin D1 expression in proliferating chondrocytes via the Na/Pi*

- cotransporter Pit-1 and Raf/MEK/ERK pathway*. Bone. 47 (5): 938 – 947
- Knight ZA, Hannan KS, Greenberg ML, Friedman JM. 2010. *Hyperleptinemia is Required for the Development of Leptin Resistance*. PLoS ONE. 5 (6): e1136. doi: 10.1371/journal.pone.0011376
- Kobayashi T, Notoya K, Naito T, Unno S, Nakamura A, Martel-Pelletier J, dan Pelletier JP. 2005. *Pioglitazone, a Peroxisome Proliferator–Activated Receptor γ Agonist, Reduces the Progression of Experimental Osteoarthritis in Guinea Pigs*. Arthritis & Rheumatism. 52 (2): 479–487
- Ku JH, Lee CK, dan Joo BS. 2009. *Correlation of synovial fluid leptin concentrations with the severity of osteoarthritis*. Clinical Rheumatology. 28 (12): 1431 – 1435
- Li NG, Shi ZH, Tang YP, Wang YZ, Song SL, Qian LH, Qian DW, dan Duan JA. 2011. *New hope for treatment of osteoarthritis through selective inhibition of MMP-13*. Current Medicinal Chemistry. 18 (7) : 977 – 1001
- Ling, Shari M dan Bathon Joan M. 2012. *Osteoarthritis: Pathophysiology*. The Johns Hopkins Arthritis Center.
- Melo-Florián, Alejandro. 2011. *IL-1 and its role in osteoarthritis*. Open Journal Of Medicine. 1 (3): 3
- Otero M, Lago R, Lago F, Reino JJ, dan Gualillo O. 2005. *Signalling pathway involved in nitric oxide synthase type II activation in chondrocytes: synergistic effect of leptin with interleukin-1*. Arthritis Research & Therapy. 7 (3): R581 – R591.
- Ryu JH, Lee A, Huh MS, Chu J, Kim K, Kim BS, Choi K, Kwon IC, Park JW, dan Youn IC. 2012. *Measurement of MMP activity in Synovial Fluid in Cases of Osteoarthritis and Acute Inflammatory Conditions of the Knee Joint Using a Fluorogenic Peptide Probe-Immobilized Diagnostic Kit*. Theranostics. 2 (2): 198 – 206
- Thirion, Sylvie dan Berenbaum, Francis. 2004. *Culture and Phenotyping of Chondrocytes in Primary Culture*. Methods in Molecular Medicine, Vol. 100: Cartilage and Osteoarthritis, Vol. 1: Cellular and Molecular Tools Edited by: M. Sabatini, P. Pastoureau, and F. De Ceuninck. 2004 : 1 – 14. Humana Press: Totowa, New Jersey
- Toussiro E, Streit G, dan Wendling D. 2007. *The contribution of adipose tissue and adipokines to inflammation in joint diseases*. Current Medicinal Chemistry. 14 (10): 1095 – 1100
- Wang M, Sampson ER, Jin H, Li J, Ke QH, Im HJ dan Chen D. 2013. *MMP13 is a critical target gene during the progression of osteoarthritis*. Arthritis Research & Therapy. 15:R5