



Potensi Modifikasi Eksosom Derivat *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (BMMSC) dengan *Rabies Viral Glycoprotein* (RVG) sebagai Modalitas Mutakhir dalam Penatalaksanaan Penyakit Alzheimer

Safa Nabila Putri^{1*}, Muhammad Rizky Hidayatullah¹, Putri Mahirah Afladhanti²

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

²Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

*Correspondence: safa.nabila25@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Penyakit Alzheimer adalah penyakit neurodegeneratif yang menyebabkan gangguan progresif pada fungsi perilaku dan kognitif. Penyakit ini merupakan jenis demensia yang paling umum terjadi dengan prevalensi yang meningkat setiap tahunnya. Patofisiologi kompleks yang dimiliki penyakit ini menyebabkan belum adanya pengobatan yang efektif untuk penyakit Alzheimer. Tinjauan literatur ini bertujuan untuk meninjau lebih lanjut mengenai potensi *Rabies Viral Glycoprotein* (RVG)-modified exosomes yang berasal dari *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (BMMSC) melalui aktivasi mikroglial otak yang dapat mereduksi A β sebagai terapi kuratif terkini pada penyakit Alzheimer. **Metode:** Literatur dicari menggunakan situs pencari seperti *Google Scholar*, *Science Direct*, *ResearchGate*, dan *NCBI*. Kriteria inklusi dan eksklusi digunakan untuk mengeliminasi literatur yang tidak berkaitan sehingga diperoleh 24 literatur. **Pembahasan:** BMMSC dapat meringankan neuropatologi, penurunan memori, dan defisit perilaku. Selain itu, BMMSC yang ditransplantasikan dapat menghambat kematian sel terkait A β dan tau. Sementara itu, terjadi peningkatan regulasi ekspresi sitokin antiinflamasi (IL-10 dan IL-4) dan penurunan regulasi sitokin proinflamasi (TNF- α dan IL-1 β). Studi ini menunjukkan bahwa penggunaan BMMSC yang diturunkan dari eksosom yang dimodifikasi RVG lebih baik daripada BMMSC yang diturunkan dari eksosom saja untuk meningkatkan fungsi kognitif pada mencit APP/ PS 1. **Kesimpulan:** RVG-eksosom derivat BMMSC dapat menghambat kematian sel dengan mengurangi akumulasi A β dan tau, menyeimbangkan faktor inflamasi otak, serta meningkatkan fungsi memori dan kognitif. RVG-eksosom BMMSC berpotensi sebagai terapi mutakhir penyakit Alzheimer serta penyakit neurodegeneratif lainnya. **Saran:** Dibutuhkan penelitian lebih lanjut terkait mekanisme molekular, dosis, dan efek samping terapi RVG-eksosom derivat BMMSC pada penyakit Alzheimer.

Kata Kunci: BMMSC, Defisit Memori, Penyakit Alzheimer, Peptida Amiloid β , Sitokin Inflamasi

ABSTRACT

Introduction: Alzheimer's disease is a neurodegenerative disease that causes progressive impairment of behavioral and cognitive functions. This disease is the most common type of dementia with an increasing prevalence every year. Due to its complex pathophysiology, there is no effective treatment to date for Alzheimer's disease. This literature review aims to further review the potential of *Rabies Viral Glycoprotein* (RVG)-modified exosomes from *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells* (BMMSC) through microglial activation in the brain which can reduce A β as the latest curative therapy in Alzheimer's disease. **Method:** Literature is searched using search engines such as *Google Scholar*, *Science Direct*, *ResearchGate*, and *NCBI*. Inclusion and exclusion criteria were used to eliminate unrelated journals so that 24 journals were obtained. **Discussion:** BMMSC can alleviate neuropathology, memory decline, and behavioral deficits. In addition, transplanted BMMSC could inhibit A β and tau-associated cell death. Meanwhile, there is an upregulation of anti-inflammatory cytokines (IL-10 and IL-4) and a downregulation of pro-inflammatory cytokines (TNF- α and IL-1 β). The study showed that the use of RVG-modified exosomes derived BMMSC was better than exosomes

derived BMMSC to improve cognitive function in APP/PS 1 mice. Conclusion: RVG-modified exosomes derived BMMSC can inhibit cell death by reducing A β and tau accumulation, balancing brain inflammatory factors, and improving memory and cognitive function. RVG-modified exosomes derived BMMSC has the potential as an advanced therapy for Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases. Suggestion: Further research on the molecular mechanism, dosage, and side effects of RVG-modified exosomes derived BMMSC therapy in Alzheimer's disease is needed.

Keywords: *Alzheimer Disease, Amyloid β Peptide, BMMSC, Inflammatory Cytokine, Memory Deficit*

Received [7 Des 2022] | Revised [3 Feb 2023] | Accepted [28 Feb 2023]

PENDAHULUAN

Penyakit Alzheimer adalah penyakit neurodegeneratif dengan onset berbahaya yang meliputi gangguan progresif fungsi perilaku dan kognitif termasuk memori, pemahaman, bahasa, perhatian, penalaran, dan penilaian. Penyakit Alzheimer merupakan jenis demensia yang paling umum yang disebabkan oleh kematian sel saraf. Beberapa faktor risiko telah dikaitkan dengan penyakit Alzheimer yaitu genetik, usia lanjut, cedera kepala traumatis, depresi, penyakit kardiovaskular dan serebrovaskular, merokok, riwayat keluarga dengan demensia, peningkatan kadar homosistein dan adanya alel APOE-e4 diketahui meningkatkan risiko penyakit Alzheimer. Secara global, prevalensi demensia dilaporkan setinggi 24 juta dan diperkirakan meningkat 4 kali lipat pada tahun 2050.^[1] Di Indonesia, diperkirakan ada sekitar 1,2 juta orang dengan demensia pada tahun 2016 yang akan meningkat menjadi 2 juta orang pada tahun 2030 dan 4 juta orang pada tahun 2050.^[2]

Karakteristik penyakit Alzheimer yaitu munculnya plak amyloid- β (A β) ekstraseluler dan *neurofibrillary tangles* (hiperfosforilasi protein tau dalam bentuk agregat yang tidak larut di otak) pada lingkungan intra seluler, kematian neuron, dan hilangnya sinapsis, yang semuanya berkontribusi pada penurunan kognitif secara progresif.^[3] Penyakit Alzheimer memiliki patofisiologi yang kompleks, sehingga sampai saat ini belum ada terapi

yang efektif untuk mengobati penyakit Alzheimer. Pengobatan Alzheimer yang digunakan hingga saat ini hanya bersifat simptomatik. Terdapat lima obat Alzheimer yang disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA), yakni obat golongan inhibitor asetilcholinesterase seperti tacrine, donepezil, rivastigmine, dan galantamine, serta antagonis reseptor NMDA seperti memantine. Obat ini hanya bertujuan untuk meningkatkan kualitas hidup tetapi tidak menghentikan perkembangan penyakit.^{[4][5]}

Penyakit Alzheimer adalah penyakit multifaktorial. Oleh karena itu, pengobatannya harus menjadi terapi multi-target yang dirancang untuk mempengaruhi berbagai proses penyakit Alzheimer seperti mengurangi agregasi A β , mengurangi peradangan kronis, dan meningkatkan aktivitas antioksidan. Beberapa dekade terakhir penelitian terhadap sel punca banyak dikembangkan. Salah satu jenis sel punca yang banyak dikembangkan adalah *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) karena kemampuannya dalam memediasi perbaikan kerusakan.^{[4][5]}

MSC adalah sel multipoten non hematopoietik yang menunjukkan kapasitas auto-renovasi dan diferensiasi yang baik. MSC mampu berinteraksi dengan sel residen di parenkim otak yang mengatur respons homeostatis dinamis yang mendorong pelestarian jaringan dan pemulihan fungsional. Interaksi antara MSC dan sel residen otak merangsang produksi neurotrofin seperti *brain-derived*

neurotrophic factor, vascular endothelial growth factor, nerve growth factor, serta sitokin anti-inflamasi yang dapat berpotensi pertumbuhan neuritis, regenerasi saraf, dan pemulihan neurologis. Studi lebih lanjut menunjukkan bahwa salah satu komponen penting yang mengatur aktivitas parakrin MSC adalah eksosom. Eksosom adalah vesikel berukuran 30-150 nm yang berasal dari endositik yang dilepaskan ke dalam aliran darah ketika badan multivesikular dan membran plasma sel menyatu. Nanovesikel ini memiliki kemampuan untuk mentransfer biomolekul aktif seperti protein, lipid, dan asam nukleat antar sel sebagai respons terhadap rangsangan fisiologis yang relevan yang diterima oleh sel-sel tersebut, dan karenanya eksosom akan menampilkan karakteristik khas sel asal mereka. Penelitian menunjukkan bahwa MSC eksosom memiliki kemampuan untuk mengobati penyakit Alzheimer dengan mengurangi aktivitas inflamasi, mempromosikan neurogenesis, dan mengurangi defisit kognitif yang terkait dengan penyakit.^[4]

Studi oleh Ortega *et al.* menyebutkan pengantar dengan eksosom saja tidak cukup untuk menjamin pengiriman obat yang spesifik dan pengayaan obat dalam jaringan penyakit khususnya pada obat untuk sistem saraf pusat. Oleh karena itu, berbagai studi mendukung bahwa eksosom memerlukan strategi penargetan untuk meningkatkan efek terapeutik obat. Salah satu modifikasi eksosom yang banyak diteliti pada pengobatan penyakit sistem saraf pusat adalah *rabies viral glycoprotein* (RVG). Studi sebelumnya oleh Cui *et al.* diketahui RVG-eksosom derivat MSC yakni *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (BMMSC) mampu meningkatkan kemanjuran pengiriman secara intravena. Selain itu, RVG-eksosom derivat BMMSC mampu mengurangi deposisi plak dan akumulasi A β serta

ekspresi sitokin pro-inflamasi dibandingkan MSC eksosom biasa untuk mengobati penyakit Alzheimer.^[6]

Merujuk pada permasalahan tingginya prevalensi penyakit Alzheimer dan belum adanya terapi yang efektif untuk Alzheimer, maka *literature review* ini bertujuan untuk meninjau lebih lanjut potensi RVG-eksosom derivat BMMSC sebagai terapi kuratif mutakhir pada penyakit Alzheimer.

METODE

Metode yang digunakan dalam penulisan tinjauan pustaka ini adalah *literature review* dengan menggunakan kata kunci yaitu “*Alzheimer disease*”, “*Amyloid β peptide*”, “*BMMSC*”, “*Inflammatory cytokine*” and “*Memory deficit*”. Pencarian literatur dilakukan menggunakan mesin pencari berupa *Google Scholar*, *Science Direct*, *ResearchGate*, dan NCBI. Kriteria inklusi pada pencarian literatur ini yaitu jurnal penelitian eksperimental secara *in vitro* dan *in vivo* serta studi *review* dengan ketentuan publikasi dalam kurun waktu 10 tahun terakhir. Adapun kriteria eksklusi yang digunakan ialah jurnal berbahasa selain Indonesia dan Inggris. Dari hasil pencarian literatur, evaluasi kriteria inklusi dan eksklusi dilakukan dengan menilai judul dan abstrak sebagai langkah awal, kemudian teks lengkap ditinjau apabila terdapat korelasi kata kunci satu sama lain pada jurnal sehingga dapat mendukung penulisan deskripsi atau analisis pada *literature review* ini. Dari hasil pencarian literatur menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi, didapatkan 24 jurnal yang digunakan dalam karya ini.

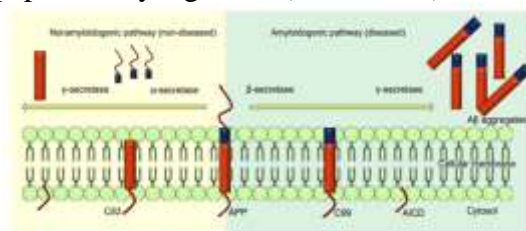
PEMBAHASAN

Neuropatologi Penyakit Alzheimer

Ada dua jenis perubahan neuropatologis pada penyakit Alzheimer yang memberikan bukti tentang perkembangan dan gejala penyakit, meliputi lesi positif (karena akumulasi), yang ditandai dengan akumulasi *neurofibrillary tangles*, plak amiloid, neurit distrofik, benang neuropil, dan deposit lain yang ditemukan di otak pasien penyakit Alzheimer. Selain itu, adapula lesi negatif berupa kehilangan yang ditandai dengan atrofi besar karena kehilangan saraf, neuropil, dan sinaptik. Selain itu, faktor lain dapat menyebabkan neurodegenerasi seperti peradangan saraf, stres oksidatif, dan cedera neuron kolinergik.^[7]

1. Deposisi A β dalam Plak Amiloid

Plak amiloid menandai akumulasi ekstraseluler dan deposisi A β yang merupakan produk pemrosesan APP. APP, protein transmembran tipe 1, diproses dengan pembelahan berurutan baik melalui β -secretase atau α -secretase untuk menghasilkan fragmen C-terminal, β -CTF (yaitu, C99) atau α -CTF (yaitu, C83), berurutan. C99 kemudian dibelah oleh γ -secretase untuk menghasilkan domain intraseluler APP (AICD) dan peptida A β dengan panjang yang bervariasi. Pembelahan C83 menghasilkan AICD dan peptida P3 yang sama (**Gambar 1**).^[8]



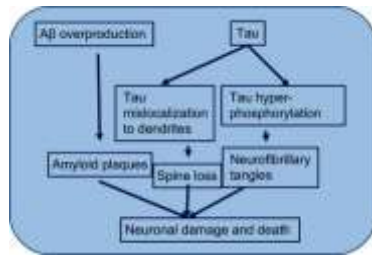
Gambar 1. Diagram Pemrosesan APP.^[9]

Pemrosesan APP oleh β -secretase dilanjutkan γ -secretase menghasilkan peptida A β 40 dan A β 42, peptida ini lebih

rentan untuk beragregasi dan terdeposit dalam plak yang menyebabkan toksisitas saraf. A β juga terakumulasi di sekitar pembuluh darah otak, menghasilkan angiopati amiloid serebral di mana A β 40 mengendap di dinding pembuluh darah.^[8] A β memainkan peran utama dalam neurotoksisitas dan fungsi saraf. Oleh karena itu, akumulasi plak yang lebih padat di hipokampus, amigdala, dan korteks serebral dapat menyebabkan stimulasi astrosit dan mikroglia, kerusakan akson, dendrit, dan hilangnya sinapsis, serta gangguan kognitif.^[7]

2. *Neurofibrillary Tangles* (NFT)

Penyakit Alzheimer juga ditandai dengan adanya *neurofibrillary tangles* (NFT) yang merupakan hasil dari hiperfosforilasi protein terkait mikrotubulus. Protein memiliki domain pengikatan mikrotubulus dan bergabung dengan tubulin untuk membentuk mikrotubulus yang matang dan stabil. Protein memiliki kemampuan menstabilkan mikrotubulus dan membentuk jembatan interkoneksi antara mikrotubulus yang berdekatan untuk membentuk jaringan mikrotubulus yang stabil serta menyatukannya. Ketika protein bersentuhan dengan kinase yang dilepaskan karena banyaknya A β di lingkungan, protein mengalami hiperfosforilasi. Hiperfosforilasinya menyebabkan oligomerisasi. Mikrotubulus menjadi tidak stabil. Karena disosiasi subunit tubulus yang berantakan, mereka kemudian diubah menjadi potongan besar filamen, yang selanjutnya beragregasi menjadi NFT. NFT ini adalah *patch* lurus, fibrilar, dan sangat tidak larut dalam sitoplasma yang menyebabkan timbulnya komunikasi yang abnormal antara neuron dan pemrosesan sinyal, dan akhirnya apoptosis pada neuron (**Gambar 2**).^[9]



Gambar 2. Hiperfosforilasi Tau.^[9]

3. Defisit Sinaptik dan Kehilangan Neuron

Meskipun kurang dicirikan dibandingkan plak amiloid dan *neurofibrillary tangles*, peristiwa yang paling penting untuk onset dan progresi pada penyakit Alzheimer kemungkinan besar berupa defisit awal fungsi sinaptik dengan hilangnya neuron. Baik kehilangan sinaps maupun kehilangan neuron berkontribusi pada atrofi kortikal makroskopik.^[8] Sebuah kerusakan sinaptik di neokorteks dan sistem limbik menyebabkan gangguan memori dan umumnya diamati pada tahap awal penyakit Alzheimer. Mekanisme kehilangan sinaptik melibatkan defek pada transpor aksonal, kerusakan mitokondria, stres oksidatif, dan proses lain yang dapat berkontribusi pada fraksi kecil, seperti akumulasi A β dan tau di situs sinaptik. Proses ini akhirnya menyebabkan hilangnya duri dendritik, terminal pra-sinaptik, dan distrofi aksonal.^[7]

Terapi *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell* (BMMSC) pada Penyakit Alzheimer

Terapi sel punca sebagai strategi baru telah dieksplorasi dalam pengobatan model hewan dengan penyakit Alzheimer. Menurut sumber jaringan sel punca, sel punca terapeutik diklasifikasikan ke dalam kategori autologus dan alogenik. Sel punca autologus diisolasi dari otak, lemak, pulpa gigi, dan sumsum tulang. Sebaliknya, sel punca alogenik diperoleh dari plasenta, tali pusat, atau jaringan embrionik.^[10]

Terdapat masalah dengan sel punca alogenik, salah satunya adalah masalah etika dan imunogenisitas alogenik. Karena masalah ini tidak dapat diselesaikan dalam jangka pendek, sel punca alogenik tidak cocok untuk pengobatan penyakit Alzheimer dalam waktu dekat. Dalam pengobatan klinis pasien dengan penyakit Alzheimer, sel induk autologus yang berasal dari biopsi otak berpeluang menghadapi tantangan sikap dan teknis yang tidak dapat diterima. Oleh karena itu, sel induk dari sumsum tulang autologus atau BMMSC lebih banyak digunakan.^[11]

Berdasarkan penelitian sebelumnya, terapi dengan BMMSC banyak digunakan secara intrahippocampal, intracerebroventikular, atau intranasal. Efek terapeutik dari BMMSC yang ditransplantasikan telah diverifikasi dalam beberapa model mirip penyakit Alzheimer, seperti mencit APP, mencit DAL, dan mencit yang diinduksi skopolamin. Banyak bukti menunjukkan bahwa BMMSC dapat meringankan neuropatologi, penurunan memori, dan defisit perilaku.^[10] Selain itu, BMMSC yang ditransplantasikan dapat menghambat kematian sel terkait A β dan tau. Sementara itu, terjadi peningkatan regulasi ekspresi sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 dan IL-4, sedangkan kadar sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β mengalami penurunan regulasi.^[12]

Terdapat beberapa mekanisme BMMSC dalam mengatasi penyakit Alzheimer, seperti penghapusan plak A β . Amiloid peptida mengendap di jaringan otak dan membentuk plak. Selain itu, plak A β terakumulasi di area khusus otak penyakit Alzheimer. Saat ini tingkat kumulatif plak A β merupakan ciri khas penyakit Alzheimer. Transplantasi sel punca mampu secara signifikan menurunkan jumlah plak hipokampus A β , yang ditunjukkan pada mencit model APP/PS1 selama 1 minggu setelah

pemberian intravena. Penyelidikan lebih lanjut menunjukkan bahwa dampak sel punca dapat mengaktifkan beberapa enzim pendegradasi A β seperti *neprilysin-degrading enzyme*, *insulin degrading enzyme (I)*, *endothelin-converting enzyme*, dan lain-lain. Enzim-enzim tersebut memainkan peran penting selama degradasi plak amiloid.^[10] Terdapat penelitian juga bahwa pemberian sistemik BMMSC pada mencit APP/PS1 juga menunjukkan potensi untuk mengurangi ukuran plak pyroglutamate-modified amyloid-beta (pE3-A β), biomarker potensial untuk patologi plak A β .^[12]

Selain plak A β , akumulasi intraseluler protein tau hiperfosforilasi adalah ciri patologis utama yang berkontribusi terhadap patogenesis penyakit Alzheimer sebagai hasil dari ketidakseimbangan antara aktivitas tau kinase dan fosfatase, tau menjadi hiperfosforilasi, yang mencegah fungsi esensialnya pada perakitan mikrotubulus dan mendorong agregasi sendiri menjadi NFT. Beberapa penelitian telah menyelidiki efek transplantasi MSC sistemik pada patologi tau di model mencit penyakit Alzheimer. Pada mencit transgenik ganda APP/PS1, analisis histologis menunjukkan penurunan tau terfosforilasi S202/T205 setelah transplantasi intraserebral BMMSC. Protein tau dapat mengaktifkan aktivitas caspase-3 dan menyebabkan apoptosis neuron. Studi awal menunjukkan bahwa protein tau dapat dikurangi setelah transplantasi BMMSCs. Namun, mekanisme yang mendasari untuk mengurangi agregat tau masih perlu diselidiki. Ini terkait dengan stres oksidatif dan jalur mitokondria.^[10]

Penelitian lain mengungkapkan bahwa proses terjadinya penyakit Alzheimer disertai dengan peradangan, yang dapat menyebabkan respons peradangan.^[13] Efek terapeutik BMMSC pada mencit transgenik APP/PS1 melibatkan

mekanisme imunoregulasi, termasuk perekrutan monosit perifer, polarisasi mikroglial M1/M2, sitokin pro-/anti-inflamasi, plastisitas sinaptik yang dimediasi neurotropin, dan sebagainya. BMMSC dapat mengatur aktivitas kekebalan lingkungan mikro dengan menghambat aktivasi mikroglia yang berlebihan. Ekspresi TNF- α dan IL-1 β pro-inflamasi diturunkan regulasinya, sedangkan level anti-inflamasi IL-10 diregulasi. Selain itu, BMMSC secara dramatis mengurangi jumlah astrosit dan mikroglia. Peradangan/imunoregulasi adalah sumbu kunci yang terkait dengan peningkatan fungsi sinaptik dan kinerja kognitif.^[12] Penelitian lain menunjukkan setelah terapi sel punca, BMMSC yang tidak terspesialisasi memiliki potensi untuk pembaruan dan diferensiasi diri, disertai dengan sekresi sitokin autokrin dan parakrin. Misalnya, G-CSF merekrut monosit darah perifer dan memberikan efek neuroprotektif. Ekspresi rendah seladine-1 dan nestin pada mencit penyakit Alzheimer yang diinduksi aluminium diubah oleh BMMSC yang ditransplantasikan melalui jalur pensinyalan PI3K/Akt dan ERK1/2. Tingkat peningkatan BDNF dan kapasitas antioksidan total terlihat di dalam hipokampus mencit yang disuntikkan A β setelah transplantasi MSC. Efek terapeutik sel punca dikaitkan dengan konstruksi fungsional melalui mekanisme keseimbangan baru, yang melibatkan pensinyalan multi-level, termasuk peradangan, perekrutan monosit darah perifer, dan polarisasi mikroglial M1/M2.^[10]

Eksosom Modifikasi *Rabies Viral Glycoprotein* (RVG-Eksosom)

Eksosom merupakan vesikel membran lipid biologis kecil dengan diameter mulai dari 30-150 nm yang dapat ditemukan pada berbagai jenis sel dan mediator utama

komunikasi antar sel melalui pemindahan molekul aktif biologis ke sel reseptor yang ditargetkan.^[14] Eksosom dapat mengangkut asam nukleat, lipid, dan protein antar sel, sehingga eksosom dijadikan penghantar obat dan gen. Selain manfaat eksosom dalam memperpanjang waktu sirkulasi obat, eksosom juga digunakan untuk membawa molekul kecil obat melintasi sawar darah otak dengan menghantarkan obat pada sel-sel otak secara pinositosis, fusi langsung dengan membran plasma, dan mengikat protein permukaan sel serta molekul adhesi sel.^[15]

Hingga saat ini penelitian pada obat sistem saraf pusat ditemukan 98% obat sistem saraf pusat poten tidak dapat melewati sawar darah otak dan efikasinya belum berhasil dalam uji klinis. Formulasi nano telah digunakan untuk memecahkan masalah terkait permeabilitas obat melintasi sawar darah otak. Namun, formulasi nano memiliki kelemahan yakni toksisitas nano dan klirens obat yang cepat oleh sistem fagosit mononuklear. Sementara itu, eksosom diketahui dapat menghindari fagositosis oleh makrofag karena ukurannya yang kecil dan secara alami stabil untuk menghindari degradasi yang bergantung pada endosom/lisosom dibandingkan dengan liposom dan nanopartikel polimer.^[11] Kelebihan eksosom dibanding penghantar obat lainnya berdasarkan studi terdahulu diketahui eksosom memiliki enkapsulasi molekul bioaktif endogen, imunogenisitas rendah, biodegradabilitas, waktu sirkulasi lebih lama, ukuran lebih kecil dari *nanocarrier* lain, dan kemampuan untuk melintasi banyak hambatan biologis.^[16]

Studi sebelumnya telah melaporkan eksosom derivat MSC sebagai strategi pengobatan pada penyakit sistem saraf pusat karena keunggulannya dalam melindungi otak dan pemulihan saraf otak.^[17] Penelitian *in vivo* sebelumnya oleh Doeppner *et al.* pada mencit yang diterapi

dengan eksosom derivat MSC menunjukkan peningkatan penyembuhan neurologis setelah mengalami kerusakan otak dengan *remodelling* akson, oligodendrosit, sinaps, dan mielin. Meskipun eksosom memiliki kemampuan untuk melewati sawar darah otak, studi biodistribusi dinamis terbaru dari eksosom mengungkapkan sejumlah besar eksosom yang terakumulasi di limpa dan hati, serta sinyal eksosom yang sangat terbatas terdeteksi di otak setelah pemberian sistemik.^[16]

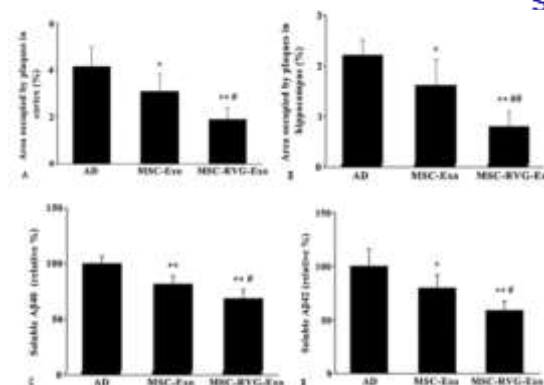
Salah satu modifikasi eksosom adalah dengan virus neutrotropik. Peptida yang diturunkan dari virus neurotropik, seperti RVG, telah digunakan untuk menginduksi penargetan eksosom dalam beberapa studi praklinis. RVG menunjukkan penetrasi yang efisien melalui sawar darah otak dan neuron target. RVG telah digunakan untuk pendistribusian berbagai nanopartikel melalui sawar darah otak, termasuk liposom, hidroksida ganda berlapis, nanopartikel silikon berpori, dan eksosom.^[18]

Studi *in vivo* awal RVG-eksosom pada terapi saraf pusat oleh Erviti *et al.* melaporkan sel dendritik yang direkayasa untuk mengekspresikan Lamp2b menyatu dengan RVG melalui transfeksi. RVG diekspresikan pada permukaan eksosom dari sel dendritik yang direkayasa. RVG membantu penghantaran eksosom ke sistem saraf pusat dengan secara khusus mengikat reseptor asetilkolin, mengirimkan siRNA gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase (GAPDH) ke sel neuron di otak, dan merobohkan ekspresi GAPDH.^[19] Penelitian lainnya oleh Yang *et al.* pada RVG-eksosom dapat secara efisien mengantarkan miR-124 pada bagian korteks mencit yang mengalami infark. Pemberian sistemik RVG-eksosom dengan miR-124 mempromosikan progenitor saraf kortikal untuk melindungi

terhadap cedera iskemik dengan neurogenesis kortikal yang kuat.^[20]

Potensi Modifikasi RVG-eksosom Derivat BMMSC untuk Alzheimer

Studi *in vivo* terdahulu menyebutkan eksosom derivat BMMSC menunjukkan aktivitas enzim spesifik neprilysin yang dapat mendegradasi A β dengan menurunkan kadar A β ekstraselular dan intraselular dalam sel N2a pada mencit model Alzheimer.^[21] Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Cui *et al.* pada tahun 2019 dengan menggunakan mencit APP/PS 1 sebagai model penyakit Alzheimer dan dilakukan intervensi perbandingan antara RVG-eksosom derivat BMMSC dengan eksosom derivat BMMSC saja. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa terapi dengan eksosom derivat BMMSC menurunkan deposisi plak di korteks cerebri berdasar pewarnaan Thioflavin-S dan terdapat pengurangan dramatis dalam deposisi plak di korteks mencit yang diterapi dengan RVG-eksosom derivat BMMSC dibandingkan dengan mencit yang diinjeksikan eksosom derivat BMMSC saja (**Gambar 3a**). Selain itu, deposisi plak di hipokampus berkurang secara signifikan pada mencit yang diberi RVG-eksosom derivat BMMSC dibandingkan dengan mencit yang diinjeksikan dengan eksosom derivat BMMSC saja (**Gambar 3b**). Untuk menyelidiki lebih lanjut apakah injeksi RVG-eksosom derivat BMMSC berkontribusi pada pembersihan A β , kadar A β di otak diperiksa melalui kit A β ELISA. Data menunjukkan bahwa dibandingkan dengan kelompok mencit yang diterapi dengan eksosom derivat BMMSC, konsentrasi A β 40 dapat larut dan A β 42 terlarut jauh lebih rendah pada mencit yang diterapi dengan RVG-eksosom derivat BMMSC (**Gambar 3c dan 3d**).^[6]

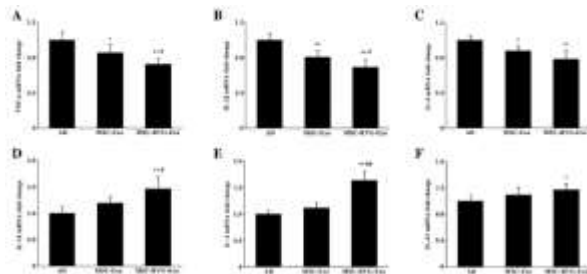


Gambar 3. Perbandingan Deposisi Plak dan Akumulasi A β di Otak antara Kelompok yang Diintervensi dengan Eksosom derivat BMMSC saja dan RVG-eksosom derivat BMMSC.^[6]

Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa faktor pro-inflamasi TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 secara signifikan mengalami penurunan dalam otak mencit setelah pengobatan eksosom derivat BMMSC atau RVG-eksosom derivat BMMSC. Namun, kadar TNF- α dan IL-1 β jauh lebih rendah pada kelompok yang diterapi dengan RVG-eksosom derivat BMMSC dibandingkan eksosom derivat BMMSC saja (**Gambar 4a-c**). Selain itu, RVG-eksosom derivat BMMSC secara signifikan meningkatkan tingkat IL-10, IL-4 dan IL-13 dibandingkan eksosom derivat BMMSC saja (**Gambar 4d-f**).^[6]

Respon inflamasi telah lama terlibat dalam proses neurodegenerasi pada penderita Alzheimer.^[22] TNF- α , IL-1 β dan IL-6, sebagai sitokin proinflamasi, menunjukkan peningkatan yang signifikan pada mencit model Alzheimer dan kadar sitokin ini berpeluang secara langsung berhubungan dengan jumlah A β yang larut dan tidak larut yang ada di otak. Sitokin pleiotropik IL-4, IL-10 dan IL-13, sebagai faktor anti-inflamasi, menghambat sintesis dan pelepasan sitokin pro-inflamasi. IL-10 ditemukan menekan A β dan protein inflamasi yang diinduksi lipopolisakarida termasuk TNF- α , IL-1 β dan IL-6, sementara IL-4 dan IL-13 mengurangi

sekresi IL-6. IL-4 juga dapat melemahkan peradangan saraf yang diinduksi oleh amiloid-beta secara *in vivo* dan *in vitro*.^[23],^[24]

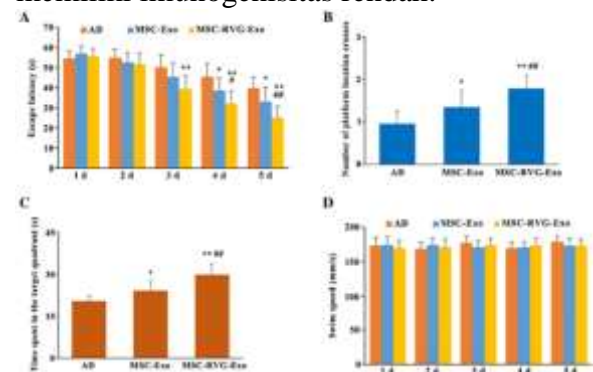


Gambar 4. Perbandingan Ekspresi Sitokin Pro-Inflamasi dan Anti-Inflamasi antara Kelompok yang Diintervensi dengan Eksosom derivat BMMSC saja dan RVG-eksosom derivat BMMSC.^[6]

Pada penelitian RVG-eksosom derivat BMMSC, uji *western blot* digunakan untuk mengonfirmasi keberadaan eksosom melalui tahapan ultrasentrifugasi. Berdasarkan penelitian didapatkan manfaat RVG-eksosom derivat BMMSC yang dapat mengurangi akumulasi A β , aktivasi sel glial, serta menyeimbangkan faktor inflamasi pada otak mencit dengan Alzheimer, RVG-eksosom derivat BMMSC dapat meningkatkan fungsi memori dan kognitif pada mencit.^[6]^[21] Pemberian RVG-eksosom derivat BMMSC secara signifikan mengurangi *escape latency*. Penelitian pada mencit yang diterapi menunjukkan peningkatan kemampuan belajar dan memori yang nyata. Sementara itu, mencit yang diinjeksikan dengan RVG-eksosom derivat BMMSC menunjukkan *escape latency* (waktu untuk menemukan platform sebagai kuadran target yang telah ditentukan untuk tes akuisisi spasial) jauh lebih rendah daripada mencit yang diterapi dengan eksosom derivat BMMSC saja (**Gambar 5a**). Selain itu, dibandingkan dengan mencit yang diterapi dengan eksosom derivat BMMSC, injeksi RVG-eksosom derivat BMMSC meningkatkan jumlah penyeberangan menuju lokasi

platform dan waktu yang dihabiskan di kuadran target (**Gambar 5b dan 5c**). Kecepatan renang serupa di antara kelompok, yang menunjukkan bahwa peningkatan kemampuan belajar dan memori pada mencit yang diterapi dengan RVG-eksosom derivat BMMSC dihasilkan dari proses kognitif tetapi bukan komponen perilaku *non-kognitif* (**Gambar 5d**). Dengan demikian, walaupun keduanya dapat meningkatkan fungsi kognitif pada mencit APP/PS 1, namun RVG-eksosom derivat BMMSC lebih baik daripada eksosom derivat BMMSC untuk meningkatkan fungsi kognitif pada mencit APP/PS 1.^[6]

Meskipun transplantasi eksosom derivat BMMSC memainkan peran penting dalam memperbaiki penurunan kognitif pada model mencit Alzheimer, namun penggunaan RVG-eksosom derivat BMMSC memiliki beberapa keuntungan terapeutik seperti tidak melibatkan efek obstruktif vaskular, memiliki permeabilitas yang baik melalui sawar darah otak, serta memiliki imunogenisitas rendah.^[6]^[11]^[16]^[21]



Gambar 5. Perbandingan Pengaruh Eksosom derivat BMMSC saja dan RVG-eksosom Derivat BMMSC dalam Meningkatkan Pembelajaran Spasial dan Kinerja Memori pada Mencit APP/PS1.^[6]

KESIMPULAN

Penyakit Alzheimer adalah penyakit neurodegeneratif yang menyebabkan gangguan progresif fungsi perilaku dan

kognitif. Penyakit ini memiliki patofisiologi yang kompleks sehingga sampai saat ini belum ada pengobatan yang efektif dan hanya penatalaksanaan secara simptomatik. RVG-eksosom derivat BMMSC diketahui dapat menghambat kematian sel dengan cara mengurangi akumulasi A β dan tau, menyeimbangkan faktor inflamasi otak, serta meningkatkan fungsi memori dan kognitif. Penggunaan RVG-eksosom derivat BMMSC yang ditargetkan pada otak dapat membantu mengatasi defisit memori dengan mengatur respons inflamasi sehingga terapi ini berpotensi sebagai terapi mutakhir penyakit Alzheimer serta penyakit neurogeneratif lainnya.

SARAN

Penelitian *in vitro* dan *in vivo* lebih lanjut terkait mekanisme molekular, dosis, dan efek samping terapi RVG-eksosom derivat BMMSC pada penyakit Alzheimer secara intravena sangat diperlukan agar dapat dilakukan uji klinis. Sinergi peneliti, pemerintah, dan berbagai pihak sangat diperlukan guna terciptanya langkah implementatif terapi kuratif mutakhir penyakit Alzheimer.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Prince M, Wimo A, Guerchet M, Ali G-C, Wu Y-T, Prina M. World Alzheimer Report 2015 The Global Impact of Dementia. 2015; Available from: <https://www.alz.co.uk/research/WorldAlzheimerReport2015.pdf>
- [2] Turana Y, Tengkawan J, Suswanti I, Suharya D, Riyadina W, Pradono J. Primary Prevention of Alzheimer's Disease in Indonesia. *Int J Aging Res.* 2019;(January)
- [3] Kocahan S, Doğan Z. Mechanisms of Alzheimer's Disease Pathogenesis and Prevention: The Brain, Neural Pathology, N-methyl-D-aspartate Receptors, Tau Protein and Other Risk Factors. *Clin Psychopharmacol Neurosci.* 2017;15(1):1–8.
- [4] Reza-Zaldivar EE, Hernández-Sapiéns MA, Gutiérrez-Mercado YK, Sandoval-Ávila S, Gomez-Pinedo U, Márquez-Aguirre AL, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote neurogenesis and cognitive function recovery in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neural Regen Res.* 2019;14(9):1626–34.
- [5] Guo M, Yin Z, Chen F, Lei P. Mesenchymal stem cell-derived exosome: A promising alternative in the therapy of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res Ther.* 2020;12(1):1–14.
- [6] Cui GH, Guo HD, Li H, Zhai Y, Gong Z Bin, Wu J, et al. RVG-modified exosomes derived from mesenchymal stem cells rescue memory deficits by regulating inflammatory responses in a mouse model of Alzheimer's disease. *Immun Ageing.* 2019;16(1):1–12.
- [7] Anwal L. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease. *World J Pharm Pharm Sci.* 2021;10(7):1170.
- [8] Chen XQ, Mobley WC. Alzheimer disease pathogenesis: Insights from molecular and cellular biology studies of oligomeric A β and tau species. *Front Neurosci.* 2019;13(JUN):1–21.
- [9] “
- [10] Qin C, Li Y, Wang K. Functional mechanism of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of animal models with Alzheimer's disease: Inhibition of neuroinflammation. *J Inflamm Res.* 2021;14(July):4761–75.

- [11] Emerging roles of exosomes in neuron-glia communication. *Front Physiol.* 2012;3 APR(April):1–7.
- [12] Qin C, Wang K, Zhang L, Bai L. Stem cell therapy for Alzheimer's disease: An overview of experimental models and reality. *Anim Model Exp Med.* 2022;5(1):15–26.
- [13] Wei Y, Xie Z, Bi J, Zhu Z. Anti-inflammatory effects of bone marrow mesenchymal stem cells on mice with Alzheimer's disease. *Exp Ther Med.* 2018;16(6):5015–20.
- [14] Montecalvo A, Larregina AT, Shufesky WJ, Stolz DB, Sullivan MLG, Karlsson JM, et al. Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes. *Blood.* 2012;119(3):756–66.
- [15] Colombo M, Raposo G, Théry C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2014;30:255–89.
- [16] Ortega A, Martinez-Arroyo O, Forner MJ, Cortes R. Exosomes as drug delivery systems: Endogenous nanovehicles for treatment of systemic lupus erythematosus. *Pharmaceutics.* 2021;13(1):1–28.
- [17] Chen J, Jin J, Li K, Shi L, Wen X, Fang F. Progresses and Prospects of Neuroprotective Agents-Loaded Nanoparticles and Biomimetic Material in Ischemic Stroke. *Front Cell Neurosci.* 2022;16(April):1–12.
- [18] Choi H, Choi K, Kim DH, Oh BK, Yim H, Jo S, et al. Strategies for Targeted Delivery of Exosomes to the Brain: Advantages and Challenges. *Pharmaceutics.* 2022;14(3):1–14.
- [19] Alvarez-Erviti L, Seow Y, Yin H, Betts C, Lakhali S, Wood MJA. Delivery of siRNA to the mouse brain by systemic injection of targeted exosomes. *Nat Biotechnol* [Internet]. 2011;29(4):341–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.1807>
- [20] Yang J, Zhang X, Chen X, Wang L, Yang G. Exosome Mediated Delivery of miR-124 Promotes Neurogenesis after Ischemia. *Mol Ther - Nucleic Acids* [Internet]. 2017;7(June):278–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.omtn.2017.04.010>
- [21] Cui GH, Wu J, Mou FF, Xie WH, Wang FB, Wang QL, et al. Exosomes derived from hypoxia-preconditioned mesenchymal stromal cells ameliorate cognitive decline by rescuing synaptic dysfunction and regulating inflammatory responses in APP/PS1 mice. *FASEB J.* 2018;32(2):654–68.
- [22] Cai Z, Hussain MD, Yan LJ. Microglia, neuroinflammation, and beta-amyloid protein in Alzheimer's disease. *Int J Neurosci.* 2014;124(5):307–21.
- [23] Kinney JW, Bemiller SM, Murtishaw AS, Leisgang AM, Salazar AM, Lamb BT. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Transl Res Clin Interv* [Internet]. 2018;4:575–90. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.trci.2018.06.014>
- [24] Schott JM, Revesz T. Inflammation in Alzheimer's disease: insights from immunotherapy. *Brain.* 2013;136(9):2654–6.