

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSCs)
TERHADAP EKSPRESI *INTERLEUKIN-4* (IL-4)
DAN *INTERLEUKIN-17* (IL-17)
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit C57BL model *Atopic*
Dermatitis Like yang diinduksi MC903 (calcipotriol))**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Rizka Maulida Mawardah

MBK2424010522

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2025 - 2026**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS* (EH-MSCs) TERHADAP EKSPRESI *INTERLEUKIN-4* (IL-4) DAN *INTERLEUKIN-17* (IL-17)
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Pada Mencit C57BL model *Atopic Dermatitis Like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*))**

disusun oleh

Rizka Maulida Mawardah


MBK.24.24.010522


yang telah dipertahankan didepan Tim Penguji
pada 20 Februari 2026
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II


Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan,
Sp. DVE, Subsp. DKE, FINSDV,
FAAD
NIP. 210.109.110


Dr.dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS
NIP. 210.113.160

Mengetahui,

Ketua program studi magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

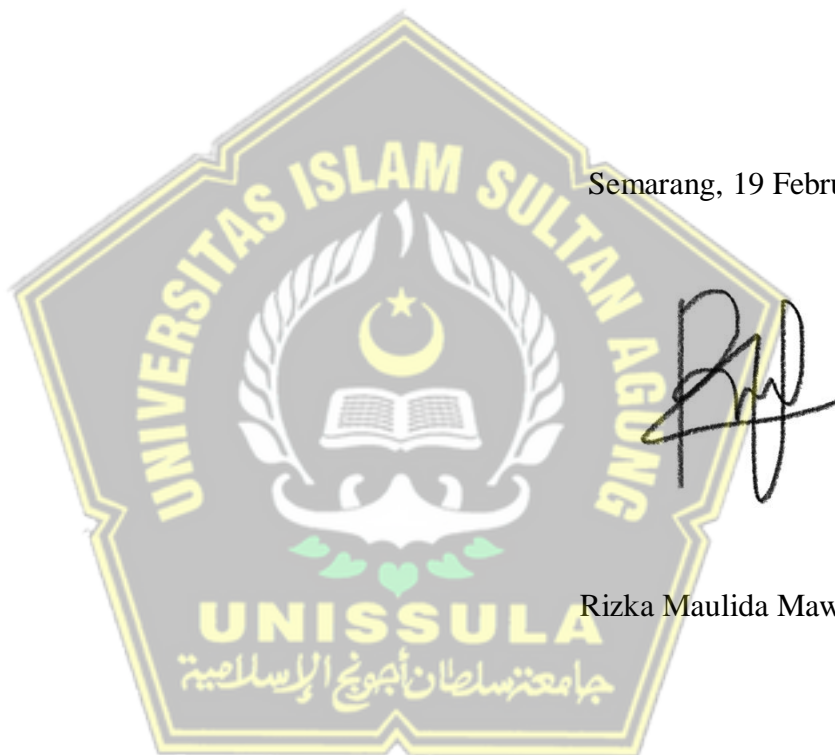


Dr.dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes
NIP. 210.198.046

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 19 Februari 2026



Rizka Maulida Mawardah

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Rizka Maulida Mawardah
Tempat / tanggal lahir : Balikpapan, 11 Agustus 1995
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK ABA 1 Samarinda : Lulus tahun 2001
2. SD Muhammadiyah 2 Samarinda : Lulus tahun 2007
3. SMP Negeri 1 Samarinda : Lulus tahun 2010
4. SMA Negeri 1 Samarinda : Lulus tahun 2013
5. S1 Fakultas Kedokteran UGM : Lulus tahun 2019
6. Profesi Dokter FK UGM : Lulus tahun 2021
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2024 - Sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Andi Muhammad Purnama G.
2. Nama Anak : Andi Kathy Azzahra

KATA PENGANTAR

Puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga tesis dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS* (EH-MSCs) TERHADAP EKSPRESI *Interleukin-4* (IL-4) Dan *Interleukin-17* (IL-17) (Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit C57BL model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*))** ini dapat penulis selesaikan.

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada:

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Bapak Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS, selaku dosen pembimbing dua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, MKes, selaku ketua penguji atas waktu, perhatian, arahan serta masukan yang telah memberikan kontribusi dalam pembuatan tesis ini.

4. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. DVE, Subsp. DKE, FINS DV, FAAD, atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing satu.
5. dr. Chodidjah, M.Kes , PAK (K) selaku penguji atas masukan , koreksi serta saran yang diberikan dalam meningkatkan kualitas dan kedalaman pembahasan karya ilmiah ini.
6. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi SH. Sp.KF selaku penguji atas masukan , koreksi serta saran yang diberikan dalam meningkatkan kualitas dan kedalaman pembahasan karya ilmiah ini.
7. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
8. Segenap staf administrasi progam Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
9. Kepada suami , anak dan juga kedua orang tua serta seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
10. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar-benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

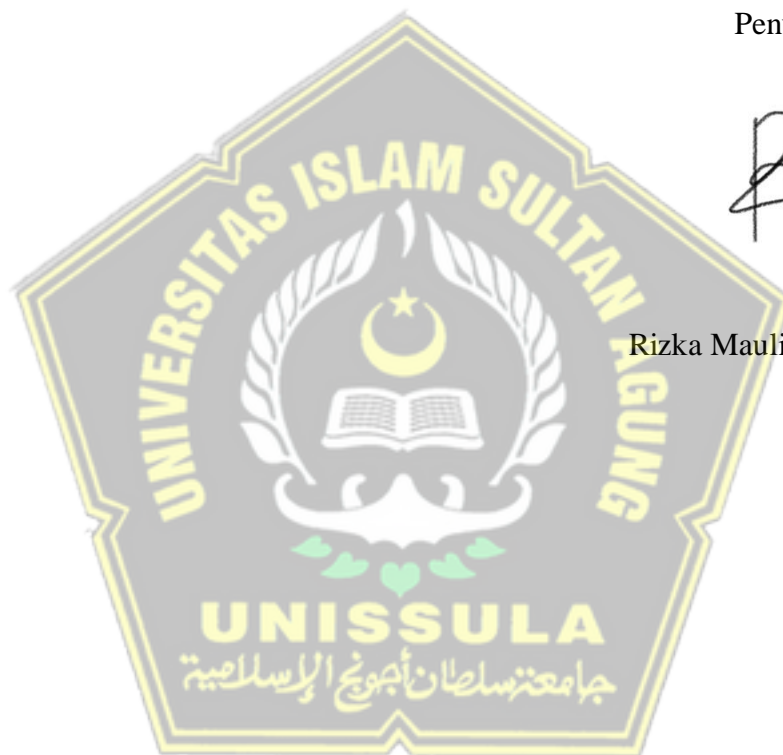
Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Semarang, 19 Februari 2026

Penulis,



Rizka Maulida Mawardah



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xv
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Originalitas Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	7
II. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Dermatitis Atopik	9
2.2 <i>Interleukin-4</i> (IL-4)	9
2.3 <i>Interleukin-17</i> (IL-17)	11
2.4 <i>Exosome</i> MSCs	12
2.5 Induksi <i>Exosome</i> MSCs dengan Teknik Hipoksia	13

2.6	<i>Mesenchymal Stem Cell (MSCs)</i>	15
2.7	Calcipotriol.....	17
2.8	Mencit Betina dan Jantan	18
2.9	Efek Dermatitis dan <i>Exosome</i> MSCs terhadap <i>Interleukin-4</i> (<i>IL-4</i>) dan <i>Interleukin-17 (IL-17)</i>	19
III.	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS.....	22
3.1	Kerangka Teori	22
3.2	Kerangka Konsep	25
3.3	Hipotesis	25
IV.	METODE PENELITIAN	26
4.1	Jenis penelitian dan rancangan penelitian	26
4.2	Variabel penelitian dan Definisi Operasional	27
4.3	Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian	29
4.4	Alat dan Bahan	31
4.5	Cara Penelitian	32
4.6	Tempat dan Waktu Penelitian	39
4.7	Analisa Data	39
4.8	Alur Penelitian	41
V.	HASIL & PEMBAHASAN.....	42
5.1.	Hasil Penelitian.....	42
5.2	Pembahasan.....	52
5.3.	Keterbatasan Penelitian.....	57
VI.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	57

6.1 Kesimpulan.	57
6.2 Saran.	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	67



DAFTAR SINGKATAN

DA	: <i>Atopic Dermatitis</i>
EH-MSC	: <i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell</i>
IgE	: <i>Immunoglobulin E</i>
IL-4	: <i>Interleukin-4</i>
IL-17	: <i>Interleukin-17</i>
IL-23	: <i>Interleukin-23</i>
IL-31	: <i>Interleukin-31</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
RE	: <i>Relative Ekspression</i>
STAT6	: <i>Signal Transducer and Activator of Transcription 6</i>
TAK1	: <i>Transforming Growth Factor – beta Activated Kinase 1</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor- α</i>
TRAF6	: <i>TNF receptor – associated factor 6</i>
TH2	: <i>Sel T Helper tipe 2</i>
TH17	: <i>Sel T helper tipe 17</i>
Treg	: <i>Regulatory T cells</i>

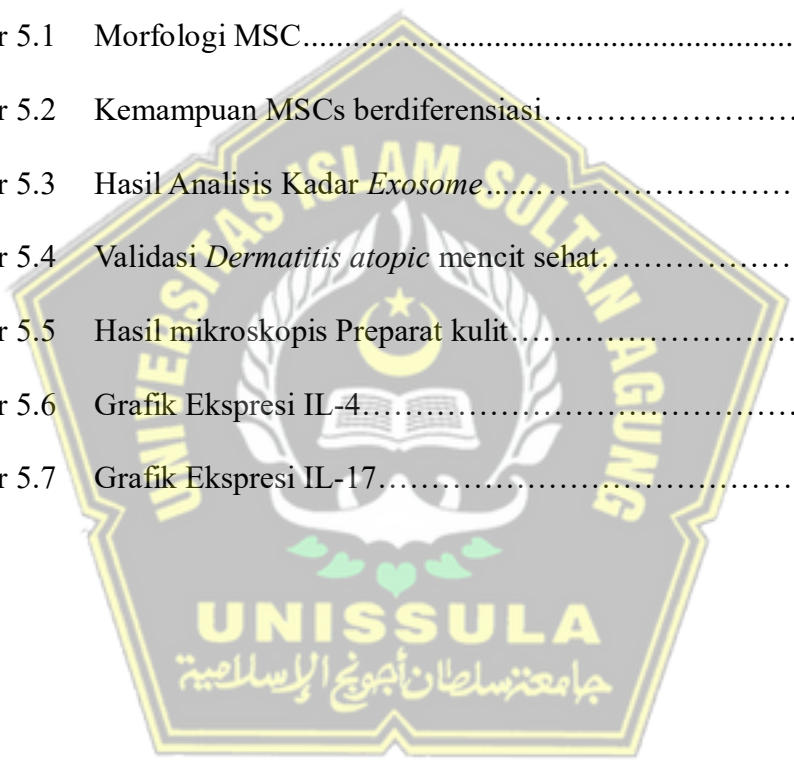
DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.	6
---	---



DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	24
Gambar 3.2	Kerangka Konsep.....	25
Gambar 4.1	Alur Rancangan Penelitian.....	26
Gambar 4.2	Alur Penelitian.....	45
Gambar 5.1	Morfologi MSC.....	42
Gambar 5.2	Kemampuan MSCs berdiferensiasi.....	43
Gambar 5.3	Hasil Analisis Kadar <i>Exosome</i>	44
Gambar 5.4	Validasi <i>Dermatitis atopic</i> mencit sehat.....	45
Gambar 5.5	Hasil mikroskopis Preparat kulit.....	46
Gambar 5.6	Grafik Ekspresi IL-4.....	49
Gambar 5.7	Grafik Ekspresi IL-17.....	51



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pre-study Atopic Dermatitis Timeline.....	67
Lampiran 2. Mencit C57BL model Atopic Dermatitis like yang diinduksi MC903 (calcipotriol).....	68
Lampiran 3. Histologi <i>Atopic Dermatitis-like</i>	69
Lampiran 4. Surat Ijin Penelitian.....	71
Lampiran 5. Ethical Clearance.....	72
Lampiran 6. Surat Keterangan Penelitian.....	73
Lampiran 7. Hasil Analisis Laboratorium Ekspresi IL-4 dan IL-17.....	74
Lampiran 8. Statistik Ekspresi IL-4 dan IL-17.....	76
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian.....	79
Lampiran 10. Hasil Mikroskopis.....	80
Lampiran 11. Hasil Makroskopis.....	85



ABSTRAK

Latar Belakang: Dermatitis atopik (AD) ditandai gangguan sawar epidermis dan disregulasi imun, dengan peningkatan sitokin tipe-2 seperti IL-4 dan sitokin terkait Th17 seperti IL-17 yang berperan dalam persistensi inflamasi. *Exosome* dari *mesenchymal stem cell* yang diprekondisi hipoksia (EH-MSC) berpotensi memiliki efek imunomodulator.

Tujuan: Membuktikan pengaruh pemberian EH-MSC terhadap ekspresi IL-4 dan IL-17 pada mencit C57BL model *Atopic Dermatitis-like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*).

Metode: Penelitian eksperimental *in vivo* menggunakan desain *randomized post-test only control group*. Mencit C57BL betina diinduksi MC903 dan dibagi menjadi lima kelompok: kontrol sehat, kontrol negatif, dexamethasone, EH-MSC 100 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$, dan EH-MSC 200 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$. Ekspresi IL-4 dan IL-17 dianalisis menggunakan qRT-PCR pada jaringan kulit dan telinga. Analisis statistik menggunakan One-Way ANOVA dan uji Post Hoc Tamhane.

Hasil: Kelompok kontrol negatif menunjukkan peningkatan ekspresi IL-4 dan IL-17 tertinggi. Pemberian EH-MSC dosis 100 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$ dan 200 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$ menurunkan ekspresi kedua sitokin secara signifikan dibandingkan kontrol negatif, dengan kecenderungan efek lebih optimal pada dosis 200 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$.

Kesimpulan: Pemberian EH-MSC dosis 100 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$ dan 200 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$ secara subkutan terbukti menurunkan ekspresi IL-4 dan IL-17 secara signifikan, menunjukkan efek imunomodulator melalui modulasi jalur Th2 dan Th17 pada model mencit dermatitis atopik yang diinduksi MC903.

Kata Kunci: *Atopic Dermatitis Like, IL-4, IL-17, dan EH-MSCs*

ABSTRACT

Background: Atopic dermatitis (AD) is characterized by epidermal barrier disruption and immune dysregulation, with increased levels of type 2 cytokines such as IL-4 and Th17-related cytokines such as IL-17, which play a role in the persistence of inflammation. Exosomes from hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells (EH-MSCs) have potential immunomodulatory effects.

Objective: To demonstrate the effect of EH-MSC administration on IL-4 and IL-17 expression in C57BL mice, a model of atopic dermatitis induced by MC903 (calcipotriol)

Methods: This in vivo experimental study used a randomized post-test only control group design. Female C57BL mice were induced by MC903 and divided into five groups: healthy controls, negative controls, dexamethasone, EH-MSCs 100 µg/kgBW, and EH-MSCs 200 µg/kgBW. IL-4 and IL-17 expression were analyzed using qRT-PCR in skin and ear tissues. Statistical analysis used one-way ANOVA and Tamhane's post hoc test.

Results: The negative control group showed the highest increase in IL-4 and IL-17 expression. Administration of EH-MSCs at doses of 100 µg/kgBW and 200 µg/kgBW significantly reduced the expression of both cytokines compared to the negative control, with a tendency for a more optimal effect at the 200 µg/kgBW dose.

Conclusions: Subcutaneous administration of EH-MSCs at doses of 100 µg/kgBW and 200 µg/kgBW significantly reduced IL-4 and IL-17 expression, indicating an immunomodulatory effect through modulation of the Th2 and Th17 pathways in the MC903-induced atopic dermatitis mouse model.

Keywords: Atopic Dermatitis Like, IL-4, IL-17, and EH-MSCs

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Dermatitis atopik, yang merupakan bentuk spesifik eksim, adalah penyakit kulit inflamasi kronis yang paling umum dan menjadi masalah kesehatan yang signifikan karena morbiditasnya yang tinggi serta prevalensinya yang terus meningkat dalam beberapa dekade terakhir. Gangguan kronis yang disertai pruritus ini biasanya dimulai pada masa bayi dan ditandai dengan kulit kering, lesi eksim, dan likenifikasi, serta sering berhubungan dengan gangguan lain yang dimediasi IgE seperti rinitis alergi, asma, dan alergi makanan. Dermatitis atopik memiliki etiologi yang kompleks, melibatkan interaksi faktor genetik dan lingkungan yang menyebabkan gangguan sawar epidermis dan disregulasi sistem imun.¹ Kondisi ini berkaitan dengan peningkatan sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-17* (IL-17) yang diproduksi oleh sel Th17, dimana anggota IL-17 meliputi IL-17A, IL-17E, dan IL-17F, dan jumlah sel penghasil IL-17 diketahui meningkat pada kulit pasien dermatitis atopik.² Selain itu, *Interleukin-4* (IL-4) juga berperan penting dalam patogenesis dermatitis atopik karena berkontribusi terhadap disfungsi penghalang kulit, pruritus, disbiosis, dan peradangan yang merupakan pilar utama penyakit ini.³ Tingginya peran sitokin inflamasi tersebut menunjukkan bahwa modulasi respons imun merupakan target penting dalam terapi dermatitis atopik. Namun, terapi konvensional yang tersedia saat ini belum sepenuhnya mampu memperbaiki gangguan imunologis dan regenerasi sawar kulit secara optimal,

sehingga diperlukan pendekatan terapi baru yang mampu menurunkan peradangan sekaligus memperbaiki fungsi jaringan kulit. Salah satu terapi yang berpotensi adalah *exosome* yang terbukti mampu memperbaiki penghalang kulit melalui kandungan protein dan lipidnya, dimana pemberian *exosome* secara subkutan pada model dermatitis yang diinduksi oksazolon dapat menurunkan kehilangan air trans-epidermal, meningkatkan hidrasi stratum korneum, dan menurunkan kadar sitokin inflamasi seperti IL-4.⁴ *World Health Organization* menyatakan bahwa terdapat sekitar 130.000.000 kasus dermatitis di dunia pada tahun 2019. Dermatitis banyak terjadi di negara berkembang dengan prevalensi sekitar 6%–27% populasi umum dan lebih sering terjadi pada anak-anak dan remaja. Pada tahun 2018 di Inggris dilaporkan 1.090 kasus baru penyakit kulit akibat pekerjaan, dimana 79% merupakan dermatitis kontak.⁵ Menurut data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2017, sebanyak 97% dari 389 kasus penyakit kulit merupakan dermatitis kontak, dengan 66,3% dermatitis kontak iritan dan 33,7% dermatitis kontak alergi.⁶

Kortikosteroid topikal menjadi “*gold standard*” untuk mengobati dermatitis atopik karena paling cepat dan paling efektif dalam menenangkan dan mengendalikan peradangan kulit. Efek samping lain dari penggunaan jangka panjang meliputi atrofi kulit (penipisan), telangiectasia, folikulitis, striae, purpura, dan dermatitis kontak. Selain itu, penggunaan kortikosteroid topikal jangka panjang pada area yang luas (terutama formulasi berkekuatan tinggi atau super tinggi) dapat mengakibatkan penekanan adrenal.⁷ Pada dermatitis atopik, penggunaan calcipotriol juga bisa diterapkan untuk

mengobati dermatitis atopik, karena calcipotriol adalah analog dari vitamin D3 yang digunakan secara topikal dan telah disetujui untuk mengatasi psoriasis plak serta kulit kepala. Dermatitis atopik berkaitan dengan respons imun tipe Th2, di mana calcipotriol berperan dalam memengaruhi transkripsi gen sitokin Th2 yang berhubungan dengan kemunculan fase akut dari penyakit tersebut, seperti dermatitis atopik.⁸

Exosome merupakan vesikel nano berukuran 30–200 nm, mampu mengangkut berbagai molekul bioaktif seperti protein, lipid, dan asam nukleat, serta berperan dalam komunikasi antar sel dan modulasi imun. Pemberian *exosome* yang berasal dari *mesenchymal stem cell* (MSCs) yang dipaparkan pada kondisi hipoksia memberikan efek dengan mengatur ekspresi sitokin pro-inflamasi seperti *Interleukin-4* (IL-4) dan *Interleukin-17* (IL-17). Kelebihan *exosome* dalam dermatitis atopik ada pada potensinya untuk memperbaiki lapisan pelindung kulit, menurunkan peradangan serta respon imun yang berlebihan, dan juga mendorong pertumbuhan kembali sel serta jaringan kulit secara alami. Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Cho *et al.* *Exosome* yang diisolasi dari MSC jaringan adiposa manusia (*ASC-exosomes*) diberikan secara intravena atau subkutan pada tikus NC/Nga yang diinduksi dengan antigen tungau debu rumah. Hasilnya menunjukkan penurunan signifikan pada ekspresi mRNA IL-4, IL-23, IL-31, dan TNF- α di lesi kulit tikus. Penurunan ini disertai dengan perbaikan gejala klinis, penurunan kadar IgE serum, dan infiltrasi sel inflamasi seperti eosinofil dan sel mast di kulit. Meskipun IL-17 tidak secara eksplisit dilaporkan dalam studi ini, penurunan IL-23 yang

merupakan sitokin penting dalam diferensiasi sel Th17 dan produksi IL-17 menunjukkan potensi penurunan IL-17 secara tidak langsung.⁹ Selanjutnya, penelitian lain yang dilakukan oleh Kim, J *et al.* mengevaluasi efek *exosome* dari EH-MSCs yang dipaparkan pada interferon-gamma (IFN- γ) pada model tikus dengan dermatitis atopik. *Exosome* ini menunjukkan penurunan ekspresi reseptor IL-4R α dan IL-13R α 1, serta penurunan aktivasi jalur sinyal *downstream* seperti TAK1 dan STAT6, yang berperan dalam respons imun Th2. Meskipun fokus utama studi ini adalah pada jalur Th2, penurunan ekspresi IL-23 juga diamati, yang dapat berdampak pada penurunan IL-17.¹⁰ Oleh karena itu, penelitian ini bermaksud membuktikan efek dari *exosome hypoxia mesenchymal stem cells* (EH-MSCs) terhadap ekspresi dan *Interleukin-4* (IL-4) dan *Interleukin-17* (IL-17) pada Mencit C67BL model *Atopic Dermatitis Like*.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* (EH-MSCs) terhadap ekspresi dan *Interleukin-4* (IL-4) dan *Interleukin-17* (IL-17) pada Mencit C57BL model *Atopic Dermatitis Like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*)?

1.3. Tujuan Penelitian

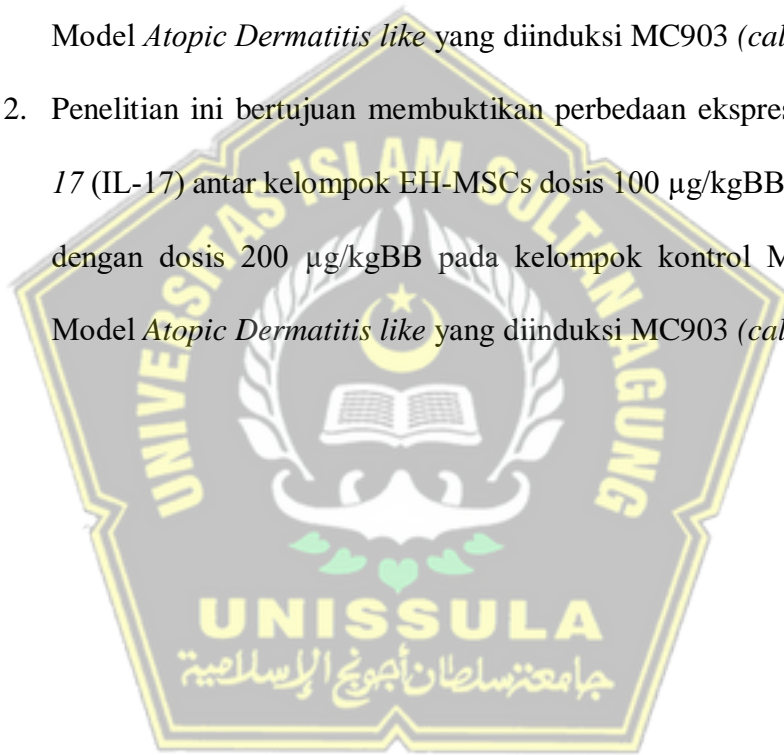
a. Tujuan umum

Tujuan umum yang ingin dicapai penelitian ini adalah membuktikan pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* (EH-MSCs) terhadap ekspresi dan *Interleukin-4* (IL-4) dan *Interleukin-17* (IL-

17) pada Mencit C57BL model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*).

b. Tujuan khusus

1. Penelitian ini bertujuan membuktikan perbedaan ekspresi *Interleukin-4* (IL-4) antar kelompok EH-MSCs dosis 100 µg/kgBB dibandingkan dengan dosis 200 µg/kgBB pada kelompok kontrol Mencit C57BL Model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*).
2. Penelitian ini bertujuan membuktikan perbedaan ekspresi *Interleukin-17* (IL-17) antar kelompok EH-MSCs dosis 100 µg/kgBB dibandingkan dengan dosis 200 µg/kgBB pada kelompok kontrol Mencit C57BL Model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*).



1.4.Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti, Tahun	Judul	Variabel Bebas	Hasil
1.	Xinyu Qiu, <i>et al</i> , 2020	<i>Exosomes released from educated mesenchymal stem cells accelerate cutaneous wound healing via promoting angiogenesis.</i>	Pemberian <i>Exosome</i> yang dilepaskan dari sel punca mesenkimal (MSCs)	<i>Exosome</i> yang dilepaskan dari MSCs yang telah diedukasi mampu mempercepat penyembuhan luka kulit dengan cara meningkatkan angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru). Mekanismenya melibatkan aktivasi jalur AKT/eNOS pada sel endotel, yang berperan dalam proses angiogenesis.
2.	Hernán Gonzalez-King, <i>et al</i> , 2017	<i>Hypoxia Inducible Factor-1α Potentiates Jagged 1-Mediated Angiogenesis by Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes</i>	Pemberian <i>Exosome</i> yang dihasilkan dari sel punca mesenkimal (MSCs) overekspresi <i>Hypoxia Inducible Factor-1α</i> (HIF-1 α)	<i>Exosome</i> yang berasal dari MSC yang secara stabil mengekspresikan HIF-1 α memiliki peningkatan kapasitas angiogenik sebagian melalui peningkatan pengemasan Jagged1.
3.	Byong Seung Cho, <i>et al</i> , 2018	<i>Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis</i>	Pemberian <i>Exosome</i> MSC yang berasal dari (ASC- <i>exosomes</i>)	<i>Exosome</i> ASC dapat menjadi modalitas terapi bebas sel yang menjanjikan untuk pengobatan Dermatitis Atopik

- | | | | | |
|----|---|---|--|--|
| 4. | Mao, Y., Yang, C., Tang, L., Liu, G., Cheng, L., & Chen, M.2021 | <i>Increased expression of T helper 17 cells and interleukin-17 in atopic dermatitis: A systematic review and meta-analysis</i> | Ekspresi sel T helper 17 (Th17) dan kadar interleukin-17 (IL-17) | Penderita dermatitis atopik menunjukkan peningkatan bermakna jumlah sel Th17 dan ekspresi IL-17 dibanding kontrol sehat. |
| 5. | Scibiorek, M., Mthembu, N., Mangali, S., dkk., 2023 | <i>IL-4Rα signalling in B cells and T cells play differential roles in acute and chronic atopic dermatitis</i> | Aktivasi pensinyalan IL-4Rα pada sel B dan sel T | IL-4Rα pada sel B dan T berperan berbeda: pada fase akut, sinyal di sel T lebih dominan; pada fase kronis, sinyal di sel B lebih berpengaruh terhadap perkembangan dermatitis atopik |

Berdasarkan kajian beberapa penelitian terdahulu, ditemukan bahwa telah dilakukan penelitian mengenai terapi penyembuhan Dermatitis, namun demikian belum ada penelitian yang mengkaji pengaruh pemberian *Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap terhadap ekspresi *Interleukin-4* (IL-4) dan *Interleukin-17* (IL-17) pada Mencit model *Atopic Dermatitis Like* sehingga penelitian ini layak untuk dilakukan.

1.5. Manfaat penelitian

a. Manfaat Teoritis

Manfaat yang ingin didapat dari penelitian ini adalah memberikan bukti ilmiah dan memberikan pengetahuan peran *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap ekspresi *Interleukin-4* (IL-4) dan *Interleukin-17* (IL-17) pada Mencit model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (calcipotriol).

b. Manfaat Praktis

Bagi praktisi kesehatan, temuan ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru terkait potensi terapi dengan *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* sebagai agen antiinflamasi



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Dermatitis Atopik

2.1.1. Definisi

Dermatitis atopik merupakan penyakit kulit inflamasi kronis yang bersifat residif dan ditandai dengan pruritus sebagai gejala utama, serta merupakan salah satu bentuk eksim yang paling sering ditemukan. Penyakit ini ditandai oleh adanya gangguan fungsi sawar kulit, xerosis, dan lesi eksematosa dengan distribusi khas yang bervariasi sesuai dengan kelompok usia. Dermatitis atopik umumnya mulai terjadi pada masa bayi dan anak-anak, namun dapat berlanjut hingga usia dewasa atau muncul pertama kali pada usia dewasa. Patogenesis dermatitis atopik melibatkan interaksi kompleks antara faktor genetik, lingkungan, gangguan integritas sawar epidermis, serta disregulasi sistem imun, terutama dominasi respons imun tipe T helper 2 (Th2) yang berhubungan dengan peningkatan produksi imunoglobulin E (IgE). Selain itu, dermatitis atopik sering berasosiasi dengan penyakit atopik lainnya, seperti asma dan rinitis alergi, yang dikenal sebagai bagian dari rangkaian atopik march.¹¹⁻¹³

Dermatitis atopik juga merupakan penyakit multifaktorial dengan perjalanan klinis yang kronis dan ditandai oleh periode eksaserbasi dan remisi. Manifestasi klinis dermatitis atopik dapat berbeda pada setiap kelompok usia, termasuk pada usia lanjut, dimana lesi cenderung lebih luas,

disertai likenifikasi yang lebih jelas, serta berkaitan dengan penurunan fungsi sawar kulit dan perubahan respons imun akibat proses penuaan. Karakteristik utama penyakit ini meliputi pruritus kronis, inflamasi kulit, gangguan fungsi sawar epidermis, serta adanya kecenderungan atopi. Oleh karena itu, dermatitis atopik tidak hanya dipandang sebagai kelainan kulit, tetapi juga sebagai gangguan imunologis kronis yang melibatkan interaksi kompleks antara sistem imun dan fungsi sawar kulit.¹¹⁻¹³

2.1.2. Respon imunologi yang tidak terkontrol

Pada pasien dermatitis atopik, terdapat kadar sel Th2 sistemik yang dominan diikuti oleh produksi IgE yang abnormal, eosinofilia perifer, aktivasi sel mast dan induksi sitokin (misalnya IL-4 dan IL-13). Analisis tipe ekstrinsik dan intrinsik menunjukkan peningkatan sel Th2 dan penurunan sel Th1 pada pasien dermatitis atopik. Fase akut dermatitis atopik akan memiliki predominasi sel Th2, sedangkan fase kronik dermatitis atopik akan dipengaruhi oleh produksi sitokin sel Th1, yaitu IL-12, IL-18, IL-11 dan *transforming growth factor* (TGF)- β 1.^{11, 14, 15}

2.2. Interleukin-4 (IL-4)

Interleukin-4 (IL-4) adalah sitokin pleiotropik yang terutama dikenal karena perannya dalam imunitas tipe 2. Terapi yang menghambat atau memblokir aktivitas IL-4 telah dikembangkan untuk melawan penyakit seperti dermatitis atopik. Interleukin-4 adalah sitokin pleiotropik, yang pertama kali ditemukan pada pertengahan 1980-an dan diketahui sebagai pemain penting dalam imunitas tipe 2. Protein manusia ini memiliki panjang 129 asam amino

dan berukuran sekitar 15 kDa. IL-4 terutama disekresikan oleh sel-sel mirip Th-2, tetapi juga oleh granulosit dan sel-sel myeloid ini menginduksi diferensiasi sel T CD4 + menjadi sel Th-2 dan aktivasi alternatif sel myeloid (makrofag dan mikroglia), yang melibatkan perubahan morfologi dan transkripsi (misalnya ekspresi arginase 1 (Arg1), protein mirip kitinase 3 (Ym1) atau CD206), yang mendorong penyembuhan luka dan menekan peradangan yang merusak. Sinyal IL-4 melalui sistem reseptor kompleks yang terdiri dari rantai reseptor utama IL-4R α , yang dikombinasikan dengan salah satu rantai pendampingnya.¹⁸

Meskipun kekebalan tipe 2 bermanfaat dalam hal pengeluaran parasit dan sementara itu juga terbukti menguntungkan untuk perbaikan jaringan eksperimental seperti yang dijelaskan kemudian dalam tinjauan ini, respons tipe 2 yang tidak terkontrol dapat menyebabkan alergi dan aktivitas atopik. Contoh gangguan yang disebabkan oleh Th-2 adalah dermatitis atopik. Mutasi pada IL-4R α dan IL-13R α 1 serta polimorfisme pada promotor IL-4 dan gen IL-13 dikaitkan dengan atopik.¹⁸

IL-4 adalah mediator sentral dalam patogenesis dermatitis atopik melalui pengaturan diferensiasi Th2, induksi IgE, dan disfungsi barrier kulit, menilai IL-4 adalah readout yang valid untuk efektivitas terapi anti-Th2.^{51, 52} Model MC903 pada mencit meniru banyak aspek inflamasi tipe-2 dermatitis atopik dan secara konsisten menunjukkan peningkatan ekspresi IL-4 di lesi kulit, karenanya cocok untuk menguji pengaruh EH-*MSC exosome* terhadap IL-4.^{53, 54} *MSC-derived exosomes* menurunkan ekspresi IL-4 dalam beberapa

model inflamasi, preconditioning hipoksia tampaknya meningkatkan potensi anti-inflamasi *exosome*, sehingga menimbulkan hipotesis bahwa EH-MSC *exosome* dapat menekan IL-4 lebih efektif daripada *exosome* normoksik.^{55, 56}

2.3. Interleukin-17 (IL-17)

Interleukin (IL)-17 mengacu pada keluarga protein yang memainkan peran penting melawan infeksi bakteri dan infeksi jamur dan dalam patogenesis penyakit autoimun. Keluarga sitokin IL-17 terdiri dari enam sitokin (interleukin 17A hingga 17F) dan lima reseptor (interleukin 17RA hingga 17RE). *Ligand heterodimer* interleukin 17A, 17F, dan 17A/F berbagi subunit reseptor yang sama (interleukin-17RA) untuk pensinyalan. IL-17 terutama diproduksi oleh subkelompok sel CD4 yang disebut sel Th-17 (sel T-helper 17). IL-17 terutama disekresikan oleh limfosit T CD4+ dan CD8+ yang teraktivasi, sementara reseptornya ditemukan pada banyak jenis sel.¹⁶

Sinyal IL-17 yang tidak terkendali dikaitkan dengan imunopatologi, penyakit autoimun, dan perkembangan kanker. Inhibitor IL-17 terbukti berharga dalam pengendalian penyakit inflamasi kulit.¹⁶

IL-17 (IL-17A/F) merupakan mediator tipe-17 yang dapat berkontribusi pada inflamasi dan kerusakan barrier pada subkelompok dermatitis atopik, pengukuran IL-17 adalah *endpoint* penting untuk menilai efek modulasi Th17.^{57, 58} Model MC903 menghasilkan fenotip dermatitis atopik like yang dapat menunjukkan peningkatan IL-17, sehingga sesuai untuk menguji efek EH-MSC *exosome* terhadap ekspresi IL-17.⁵⁹ *MSC-derived exosomes* diketahui menekan diferensiasi/aktivitas Th17 dan menurunkan IL-

17 pada beberapa model preconditioning hipoksia menguatkan potensi terapeutik *exosome*.^{27, 61}

2.4. *Exosome* MSCs

Exosome adalah vesikel berukuran nano, berkisar antara 30-200 nm, yang dilepaskan oleh setiap sel dalam tubuh manusia dan terdapat dalam semua cairan tubuh. *Exosome* menjalankan perannya dalam komunikasi antarsel karena membawa dan mengirimkan berbagai protein, asam nukleat, dan lipid tergantung pada jenis sel yang melepaskannya.²⁰

Selama perkembangan dan progresi dermatitis atopik, aktivasi respons imun yang abnormal umumnya dicirikan sebagai akibat dari proliferasi keratinosit yang tidak normal, aktivasi dan infiltrasi masif sel imun inflamasi, dan akumulasi sitokin proinflamasi yang melimpah di dermis dan epidermis yang melibatkan sistem imun bawaan dan adaptif. Sel punca mesenkimal (MSC) telah terbukti memberikan efek terapeutik pada berbagai penyakit terkait imun dengan mengeluarkan vesikel ekstraseluler kecil (sEV) karena fungsi imunomodulatorinya yang sangat baik sEV yang berasal dari MSC telah digunakan untuk memuat protein target melalui modifikasi genetik, dan membungkus obat untuk meringankan penyakit autoimun tanpa efek samping.²¹

Alternatif bebas sel yang unik untuk terapi sel berbasis MSC, yang disebut *Exosome* yang diproduksi dari MSC, memainkan peran penting sebagai perantara utama dalam tindakan pengobatan MSC. Jika dibandingkan dengan pengobatan transplantasi MSC, *Exosome* yang berasal dari MSC menunjukkan manfaat seperti keamanan yang lebih baik, stabilitas, dan kemudahan

penyimpanan, pengangkutan, dan pemberian. *Exosome* yang dihasilkan dari MSC dapat membantu penyembuhan jaringan dengan memberikan banyak senyawa terapeutik, yang lebih penting, miRNA. Setelah diambil oleh sel di dekat atau jauh, miRNA *exosome* berpartisipasi dalam kontrol gen pasca-transkripsi. MiRNA *exosome* adalah pemain kunci dalam regulasi pasca-transkripsi ekspresi gen setelah diambil oleh sel di dekat atau jauh. MiRNA *exosome* memasuki sel target dan, menggunakan komplementaritas sekuens parsial, bergabung dengan mRNA gen target. Tujuh nukleotida (nukleotida 2-8) di ujung 5' miRNA mencakup daerah benih, yang penting untuk pengenalan mRNA. MiRISC mengontrol translasi mRNA target dengan mengarahkan miRNA untuk menempel pada mRNA target.²²

2.5. Induksi *Exosome* MSCs dengan teknik Hipoksia

MSCs yang diinkubasi dalam keadaan hipoksia akan melepaskan berbagai molekul pro-regenerasi.²⁴⁻²⁶ Hal ini memunculkan teori *hypoxic preactivated MSCs-induced soluble molecule* yaitu berbagai molekul terlarut dalam medium dilepas MSCs yang mengalami hipoksia. Kondisi hipoksia pada MSCs diketahui dapat meningkatkan sekresi sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 dan ekspresi berbagai macam antioksidan, seperti GPX, *superoxide dysmuthase* (SOD)1, SOD2, *catalase* (CAT) dan *sirtuin* (SIRT)1.²⁴⁻²⁶ Produksi IL-10 oleh MSCs dapat menghambat faktor transkripsi *nuclear factor kappa Beta* yang merupakan pemicu ROS.²²

Hipoksia menggambarkan adanya penurunan suplai oksigen akibat adanya ketidakseimbangan dari fungsi seluler seperti penurunan aliran darah

yang dapat menyebabkan gangguan dari suplai nutrisi dan akumulasi metabolisme O₂, asam laktat, dan ammonia.²⁸ MSCs yang diinkubasi dalam keadaan hipoksia akan mensekresi berbagai molekul proregenerasi.

Hal tersebut memunculkan suatu teori *hypoxic-preactivated-MSCs-induced-soluble molecule* yaitu adanya berbagai macam molekul terlarut dalam medium yang akan dilepas oleh MSCs yang sedang mengalami hipoksia.²⁹⁻³¹ Pada kondisi hipoksia, MSCs mengalami perubahan morfologi. Kemudian MSCs akan tumbuh lebih cepat dan juga dapat mempertahankan jumlah sel dengan memperbaharui diri. MSCs menghasilkan berbagai macam kemokin seperti CXCR4, CXCR7, CX3CR1, serta faktor pertumbuhan antara lain VEGF.³⁰ Berdasarkan hasil konsensus bersama *Acta-Bionergetics* Biokimia dan Biofisika (2008) di sepakati bahwa kadar oksigen dalam kondisi hipoksia sekitar 3%-5% atau 30-50 μ M. Kadar oksigen terbaik dalam meningkatkan efek parakrin VEGF dan angiogenesis yaitu sekitar 5%.³¹⁻³³

Kadar oksigen yang rendah memiliki efek pada sel yang berbeda pada berbagai jaringan. Hipoksia memiliki efek kuat seperti pada metabolisme, angiogenesis, imunitas non spesifik dan induksi sel untuk sifat *stem cell*. Pada proses hipoksia kronis peningkatan intraseluler CA²⁺ yang berikatan dengan Calmodulin, sehingga mengaktifasi dari CaM kinase II mengalami fosforilasi (koaktivator p300) pada aktivitas transkripsi HIF-1. Jalur sinyal respons hipoksia diaktifkan HIF-1, dimulai dari sebuah rangkaian kejadian transkripsional yang menghasilkan peningkatan ekspresi protein seperti VEGF dan eritropoietin. Sel memiliki *Factor Inhibiting HIF-1* (FIH-1) yang terdapat

pada asparagine residu di aktivasi transkripsi C- terminal untuk mencegah interaksi antara transkripsi co-aktivator CBP/p300 sehingga menghambat ekspresi dari HIF-1. Pada kondisi hipoksia, HIF-1 menjadi non aktif sehingga aktivasi dari transkripsi HIF-1.³⁴⁻³⁵

2.6. Mesenchymal Stem Cell (MSCs)

Sel punca/stroma mesenkimal (MSC) adalah sel punca dewasa multipotensi yang memiliki potensi proliferasi terbatas tetapi memiliki diferensiasi dan kapasitas pembaruan diri yang luas secara *in vitro* dan *in vivo*. Kemampuan MSC berupa multipotensi, kemampuan ekspansi, hipoinmunogenisitas, dan sifat imunoregulasi menjanjikan untuk regenerasi jaringan. Penelitian telah menunjukkan bahwa MSC memiliki kemampuan hebat untuk menjalani diferensiasi *trilineage* menjadi osteosit, kondrosit, dan adiposit. MSC dapat diperoleh dari berbagai jaringan seperti darah tali pusat, sumsum tulang, jaringan adiposa, atau jaringan ikat lainnya. Saat ini, MSC telah diidentifikasi sebagai sumber sel yang berharga untuk terapi termasuk karakteristik imunomodulasi, angiogenesis, anti-apoptosis, anti-fibrotik, dan aktivitas kemo-atraktif. Selain itu, faktor parakrin yang disekresikan dari MSC difasilitasi untuk mendukung pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel tetangga ke tempat ia ditransplantasikan.¹⁹

Di antara sel punca, MSC dianggap memiliki berbagai macam aplikasi terapeutik. MSC memiliki beberapa kemampuan biologis yang unik karena potensi terapeutik imunomodulatori dan regeneratifnya. MSC juga memiliki kemampuan untuk memodulasi respons humoral dan seluler. MSC memiliki

potensi untuk mengeluarkan sitokin dan kemokin anti-inflamasi yang membuatnya cocok untuk mengobati gangguan autoimun.¹⁹

2.6.1. mRNA

Messenger RNA (mRNA) adalah molekul asam ribonukleat yang berfungsi sebagai perantara informasi genetik dari DNA menuju mesin translasi sitoplasma, sehingga menentukan sintesis polipeptida dan protein fungsional seluler. Dalam terapi dan vaksin modern, mRNA sintetik yang dimodifikasi secara kimiawi digunakan untuk mengkode antigen atau protein terapeutik yang, setelah dikirimkan ke sel target, diterjemahkan menjadi protein yang memicu respons imun atau menggantikan fungsi protein yang hilang sebuah pendekatan yang menonjol selama pengembangan vaksin mRNA terhadap SARS-CoV-2. Keunggulan mRNA meliputi kemampuan desain cepat, skala produksi relatif sederhana, dan potensi untuk modulasi ekspresi protein melalui optimasi urutan serta formulasi *delivery* (lipid nanopartikel). Translasional tetap ada, termasuk stabilitas mRNA *in vivo*, efisiensi pengantaran ke jaringan target, dan respons imun inang terhadap komponen *delivery* yang harus diminimalkan untuk keamanan jangka panjang.^{61, 62}

2.6.2. IL-10

Interleukin-10 (IL-10) adalah sitokin anti-inflamasipleiotropik yang berperan sentral dalam menekan respons imun berlebih dan mempertahankan homeostasis jaringan. IL-10 dihasilkan oleh beberapa tipe sel imun termasuk sel T regulator, makrofag, dan sel B dan bekerja dengan

menghambat produksi sitokin pro-inflamasi, mengurangi ekspresi molekul costimulator, serta menekan kemampuan antigen presenting cells untuk mengaktivasi limfosit efektor. Secara molekuler, efek IL-10 melibatkan aktivasi jalur STAT3 yang berkonsekuensi pada pengaturan transkripsi gen-gen anti-inflamasi oleh karena itu IL-10 dianggap sebagai target terapeutik potensial pada penyakit yang ditandai oleh disregulasi inflamasi kronis, walaupun manipulasi IL-10 klinis memerlukan kehati-hatian karena efek immunosupresif berlebihan dapat meningkatkan risiko infeksi atau mengganggu imunitas antitumor.^{63, 64}

2.7. Calcipotriol

Calcipotriol (*calcipotriene*) adalah analog vitamin D3 yang digunakan topikal dalam pengobatan penyakit kulit inflamasi seperti psoriasis; mekanisme kerjanya melibatkan pengikatan ke reseptor vitamin D (VDR) pada keratinosit sehingga mengatur diferensiasi dan proliferasi epidermal serta memodulasi ekspresi mediator imun lokal. Pada tingkat molekuler, pengaktifan VDR oleh calcipotriol menekan jalur pro-inflamasi dan menormalisasi keratinisasi, yang secara klinis menurunkan skor keparahan lesi psoriatik. Dalam praktik klinis, calcipotriol sering digunakan dalam kombinasi dengan kortikosteroid topikal untuk meningkatkan efektivitas dan mengurangi efek samping steroid; bukti meta-analisis dan tinjauan menunjukkan kombinasi ini memiliki profil manfaat-risiko yang menguntungkan dibanding monoterapi. Meski penelitian fokus pada psoriasis, ada laporan dan studi uji coba kecil yang mengevaluasi kegunaan

off-label calcipotriol pada penyakit kulit inflamasi lain tetapi bukti untuk indikasi non-psoriasis masih terbatas dan memerlukan penelitian lebih lanjut.^{65, 66}

2.8. Mencit Betina Dan Jantan

Pemilihan jenis kelamin mencit (jantan vs betina) merupakan aspek kritis desain eksperimen pra-klinis karena perbedaan biologis seks memengaruhi farmakokinetika, respons imun, hormon, dan fenotipe penyakit. Sejumlah kajian komprehensif menunjukkan bahwa betina seringkali menunjukkan respons imun adaptif yang lebih kuat dibandingkan jantan, yang tercermin pada perbedaan jumlah dan fenotipe sel imun residen serta variasi produksi sitokin setelah tantangan imunologis. Faktor hormonal (estradiol, progesteron, testosteron) dan regulasi genetik (kromosom seks) berkontribusi pada variasi ini, sehingga eksklusi salah satu jenis kelamin dapat menimbulkan bias translasi dan mengaburkan generalisasi hasil. Panduan internasional dan kebijakan pendanaan sekarang mendorong inklusi kedua jenis kelamin dalam studi hewan untuk meningkatkan reproducibility dan relevansi klinis, serta analisis terstratifikasi berdasarkan seks untuk mengidentifikasi efek-efek spesifik. Oleh karena itu, pada penelitian yang menilai parameter imunologis, terapi topikal, atau respons obat (penelitian eksosom, modulasi IL-10), penting untuk merencanakan ukuran sampel, randomisasi, dan analisis statistik yang mengakomodasi variabilitas berdasarkan jenis kelamin.^{67, 68}

2.9. Efek Dermatitis dan *Exosome* MSCs terhadap *Interleukin-4* (IL-4) dan *Interleukin-17* (IL-17)

Dermatitis atopik merupakan penyakit kulit inflamasi kronis yang ditandai oleh gangguan fungsi sawar kulit dan disregulasi imun. Dua sitokin penting yang berperan dalam patogenesis dermatitis atopik adalah interleukin-17 (IL-17) dan interleukin-4 (IL-4), yang masing-masing merepresentasikan respons imun Th17 dan Th2. IL-17, khususnya IL-17A, telah diidentifikasi sebagai mediator inflamasi dalam dermatitis atopik. Penelitian yang dilakukan oleh Mao, *et al* menunjukkan bahwa pasien dermatitis atopik memiliki peningkatan signifikan dalam ekspresi sel Th17 dan kadar serum IL-17 dibandingkan dengan individu sehat, mengindikasikan peran IL-17 dalam memperburuk inflamasi kulit.³⁶ Selain itu, penelitian oleh Kim, *et al* menemukan bahwa ekspresi IL-17 meningkat secara signifikan pada lesi kulit pasien dermatitis atopik, memperkuat bukti bahwa IL-17 berkontribusi pada disregulasi imun terkait dermatitis atopik. Sedangkan, efek IL-4 terhadap Fungsi Sawar Kulit IL-4, sitokin khas dari respons Th2, memainkan peran sentral dalam patogenesis dermatitis atopik.³⁸ Menurut tinjauan oleh Torres, *et al* IL-4 mengganggu fungsi sawar kulit dengan menurunkan ekspresi protein diferensiasi keratinosit seperti filaggrin, loricrin, dan involucrin, serta mengubah metabolisme lipid kulit, yang mengarah pada peningkatan kehilangan air transepidermal dan kerentanan terhadap iritan serta patogen.³⁸

Interaksi Antagonistik antara IL-17 dan IL-4 pada penelitian yang dilakukan oleh Brewer, *et al* menunjukkan bahwa IL-17A dapat meningkatkan

pembentukan dan fungsi *tight junction* pada keratinosit manusia, yang penting untuk integritas sawar kulit. Namun, efek ini dihambat oleh IL-4, yang menunjukkan bahwa IL-4 dapat mengganggu peran protektif IL-17A terhadap sawar kulit. Temuan ini mengindikasikan bahwa ketidakseimbangan antara IL-17 dan IL-4 dapat memperburuk disfungsi sawar kulit pada dermatitis atopik.

39

Exosome yang berasal dari sel punca mesenkimal (MSCs) telah menunjukkan potensi besar dalam mengatur respons imun, khususnya melalui modulasi sitokin pro-inflamasi seperti *interleukin-17* (IL-17) dan sitokin pro-inflamasi seperti *interleukin-4* (IL-4). Berbagai penelitian ilmiah internasional telah mengeksplorasi efek imunomodulator dari *exosome* MSCs dalam konteks penyakit autoimun dan inflamasi. Pengaruh *exosome* MSCs terhadap IL-17. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *exosome* MSCs dapat menurunkan ekspresi IL-17, sebuah sitokin pro-inflamasi yang berperan penting dalam patogenesis berbagai penyakit autoimun. Dalam model kolitis eksperimental, *exosome* yang berasal dari sel punca mesenkimal olfaktori (OE-MSCs) mampu menekan diferensiasi sel Th17 dan produksi IL-17, sekaligus meningkatkan populasi sel T regulator (Treg) yang bersifat anti-inflamasi.⁴⁰ Demikian pula, aplikasi topikal *exosome* MSCs pada model psoriasis tikus menunjukkan penurunan ekspresi IL-17 di kulit, yang dikaitkan dengan penghambatan aktivasi komplemen dan pelepasan perangkap ekstraseluler neutrofil (NETs).⁴¹ *Exosome* MSCs juga berperan dalam menurunkan ekspresi IL-4, sitokin anti-inflamasi yang terkait dengan respons imun Th2.⁴² Selain itu, *exosome* MSCs

yang distimulasi dengan TGF- β dan IFN- γ menunjukkan peningkatan kapasitas dalam mempromosikan diferensiasi sel Treg, yang berkontribusi pada peningkatan produksi IL-4 dan IL-10.⁴³



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

1.3 Kerangka Teori

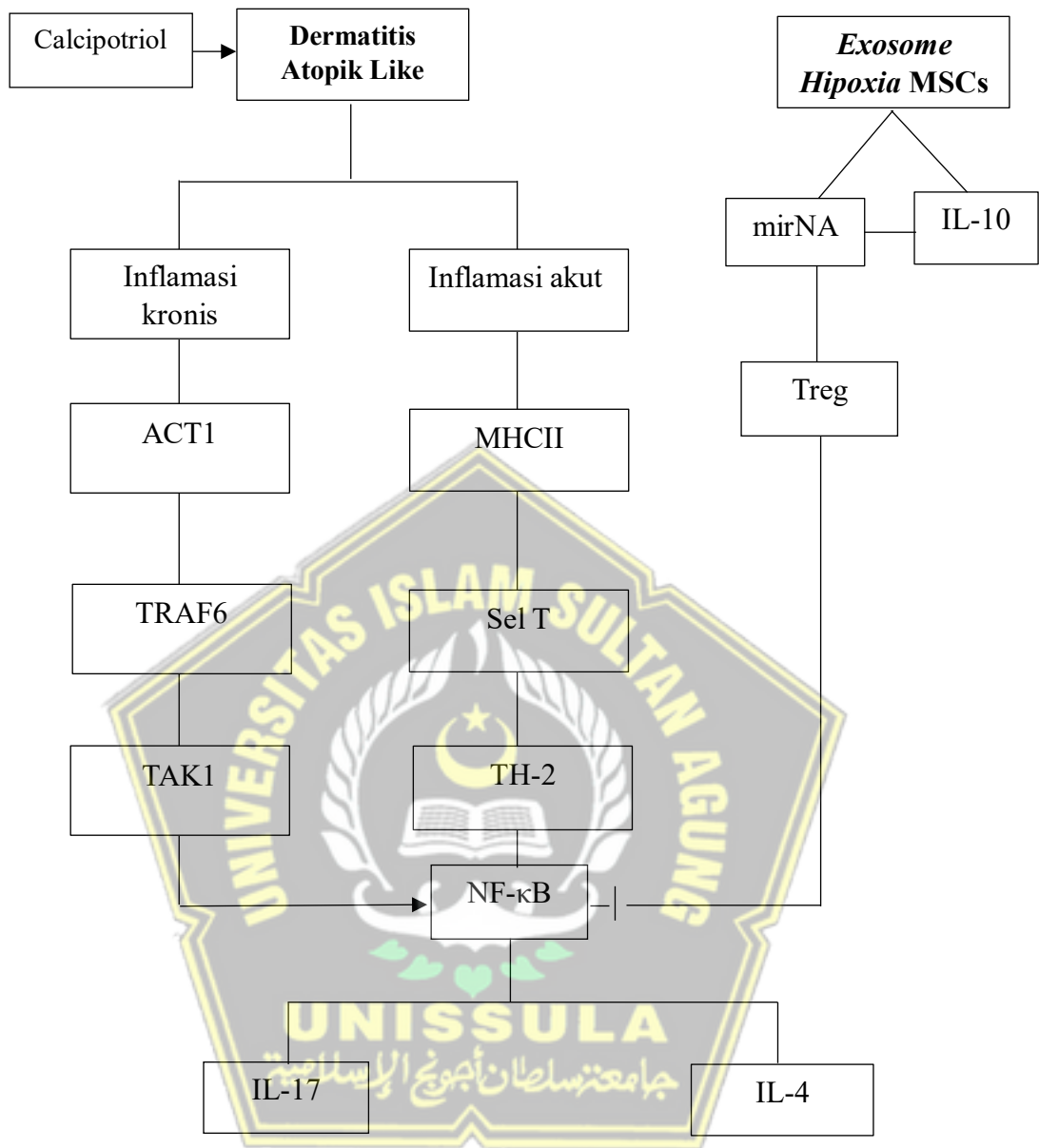
Dermatitis Atopik adalah penyakit heterogen yang diduga dipicu oleh faktor lingkungan pada individu yang rentan secara genetik. Efek gen-gen dan gen-lingkungan dianggap menjelaskan mekanisme patologis yang mendasari kelainan penghalang epidermis dan peradangan kulit yang didorong oleh sel T. Disbiosis mikrobiota kulit juga dapat berperan dalam patogenesis dermatitis atopik, dan pengaruh relatif dan temporal dari semua mekanisme ini dapat menjelaskan heterogenitas klinis yang diamati di antara pasien dengan dermatitis atopik.⁴⁴

Jalur biologi molekuler dermatitis atopik diawali oleh induksi calcipotriol yang memicu aktivasi respon imun dan inflamasi kulit. Pada inflamasi kronis, *interleukin-17* (IL-17) berikatan dengan reseptornya dan mengaktifasi protein adaptor Act1, yang kemudian merekrut TNF *receptor-associated factor-6* (TRAF6) dan mengaktifasi *transforming growth factor-β-activated kinase-1* (TAK1). Aktivasi TAK1 selanjutnya menginduksi aktivasi *nuclear factor kappa-B* (NF-κB), yang berperan sebagai faktor transkripsi utama dalam mengatur ekspresi gen proinflamasi. Aktivasi jalur ini menyebabkan peningkatan produksi IL-17 dan memperberat proses inflamasi pada dermatitis atopik.⁴⁵⁻⁴⁶

Jalur biologi molekuler inflamasi akut pada dermatitis atopik

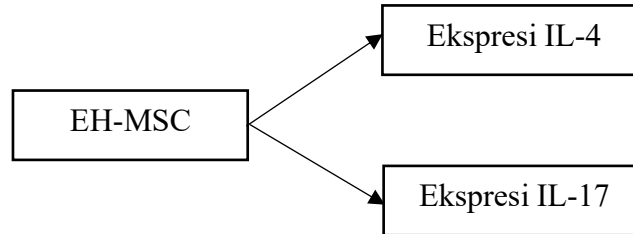
melibatkan aktivasi respon imun adaptif melalui presentasi antigen oleh *major histocompatibility complex II* (MHC II). Aktivasi ini menyebabkan diferensiasi sel T menjadi *T helper-2* (Th2), yang menghasilkan *interleukin-4* (IL-4) sebagai sitokin utama. IL-4 berperan dalam memperburuk inflamasi, mengganggu fungsi sawar kulit, dan meningkatkan respon imun alergi. Selain itu, aktivasi sel Th2 juga menginduksi aktivasi NF-κB, yang selanjutnya meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-4 dan IL-17. Oleh karena itu, NF-κB merupakan regulator utama dalam patogenesis dermatitis atopik.⁴⁷⁻⁴⁸

Jalur biologi molekuler efek terapi *exosome hypoxia mesenchymal stem cells* (EH-MSCs) terjadi melalui peningkatan aktivitas *sel T regulator* (Treg) yang dimediasi oleh miRNA dan *interleukin-10* (IL-10). Sel Treg menghasilkan IL-10 yang berfungsi menghambat aktivasi NF-κB dengan menghambat jalur transduksi sinyal inflamasi. Inhibisi NF-κB menyebabkan penurunan produksi sitokin proinflamasi, terutama IL-17 dan IL-4, sehingga mengurangi inflamasi dan memperbaiki kondisi dermatitis atopik. Mekanisme ini menunjukkan bahwa *exosome* EH-MSCs berperan sebagai agen imunomodulator melalui regulasi jalur Treg dan NF-κB.⁴⁹⁻⁵⁰



Gambar 3.1 Kerangka Teori

Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap ekspresi *Interleukin-4* (IL-4) dan *Interleukin-17* (IL-17) pada Mencit C57BL model *Atopic Dermatitis Like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*)

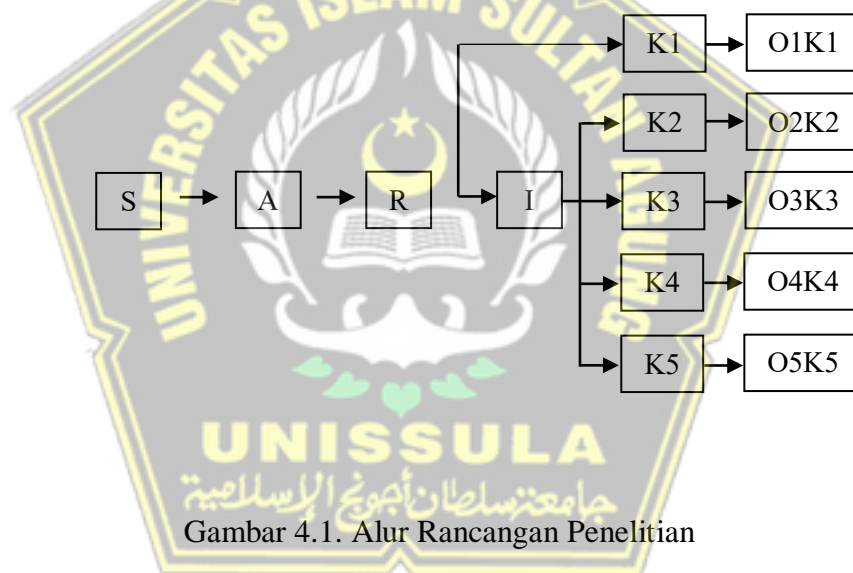


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian pada penelitian ini adalah eksperimental in vivo secara *Randomized Post Test only Control Group Design*. Rancangan penelitian menggunakan 5 perlakuan dengan skema penelitian sebagai berikut:



Gambar 4.1. Alur Rancangan Penelitian

Keterangan :

S : Sampel

A : Aklimatisasi

R : Randomisasi

I : Induksi MC903 (calcipotriol)

K1 : Mencit C57BL Betina sehat, tanpa diberi perlakuan).

K2 : Kontrol Negatif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (calcipotriol) dengan dosis 20mg

K3 : Kontrol Positif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (calcipotriol) dan di terapi dengan injeksi Dexamethason)

K4 : Perlakuan 2 (Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis Atopik dan perlakuan injeksi *Exosome* 100 µg).

K5 : Perlakuan 3 (Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis Atopik dan perlakuan injeksi *Exosome* 200 µg).

O1K1 : Observasi ekspresi IL-4 dan IL-17 kelompok K1

O2K2 : Observasi ekspresi IL-4 dan IL-17 kelompok K2

O3K3 : Observasi ekspresi IL-4 dan IL-17 kelompok K3

O4K4 : Observasi ekspresi IL-4 dan IL-17 kelompok K4

O5K5 : Observasi ekspresi IL-4 dan IL-17 kelompok K5

4.2.Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *EH-MS*
- b. Variabel Terikat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekspresi IL-4 dan IL-17
- c. Variabel Prakondisi pemberian MC903 (calcipotriol) secara topikal

4.2.2 Definisi Operasional

4.2.2.1 EH-MSC

Exosome MSC adalah *microvesicle* berukuran 100-150 nm yang disekresikan oleh MSC ke dalam medium kultur dan kemudian diisolasi menggunakan metode *tangential flow filtration* dengan filter 100 kda dan 500 kda. *Exosome* MSC dibuat dalam sediaan injeksi isohidris dan isotonis *single dose*. Injeksi *exosome* terbagi dalam beberapa kelompok yaitu dosis EH-MSC 100 µg/mL secara subkutan dibagi menjadi 4 titik, dosis EH-MSC 200 µg/mL secara subkutan dibagi menjadi 4 titik. Pemberian dilakukan sebanyak dua kali, yaitu pada hari ke-1 dan hari ke-5.

Satuan : ug (mikrogram protein)

Skala : Ordinal

4.2.2.2 Ekspresi IL-4

Ekspresi IL-4 adalah konsentrasi yang diproduksi oleh jaringan kulit pada sampel penelitian. IL-4 dianalisis menggunakan qRT-PCR dari sampel kulit Mencit setelah perlakuan dengan *exosome* MSC pada hari ke-9. Kadar normal IL-4 $\pm 0 - 5$ pg/mL

Satuan : *fold change*

Skala: rasio

4.2.2.3 Ekspresi IL-17

Ekspresi IL-17 adalah ekspresi IL-17 yang diproduksi oleh jaringan kulit

pada sampel penelitian. IL-17 dianalisis menggunakan qRT-PCR dari sampel kulit Mencit setelah perlakuan dengan *exosome* MSC pada hari ke-

9. Kadar normal IL-17 $\pm 0 - 20$ pg/mL

Satuan : *fold change*

Skala: rasio

4.3. Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1 Subyek penelitian

4.3.2 Kriteria inklusi

- a. Mencit C57BL Betina
- b. Jenis kelamin Betina
- c. Usia 6-8 minggu
- d. Berat badan 20-25 g
- e. Tidak memiliki kelainan anatomis
- f. Mencit C57BL Betina bergerak secara aktif.

4.3.3 Kriteria Eksklusi

- a. Mencit tampak sakit (gerakan tidak aktif)
- b. Mencit C57BL yang terkontaminasi dan morfologi sel tidak baik

4.3.4 Kriteria *drop out*

- a. Mencit C57BL Betina mengalami infeksi atau
- b. Mencit C57BL Betina mati selama penelitian.

4.3.5 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah Spesifik-opportunistik-patogen-bebas (SOPF) C57BL Betina (8 minggu, betina) diaklimatisasi selama tiga hari, (suhu: 22 ± 2 °C; kelembaban: $55 \pm 10\%$; siklus terang-gelap 12:12 jam) yang termasuk kriteria inklusi. Semua sampel Mencit C57BL Betina yang dipilih untuk penelitian ini setelah dinyatakan sehat dan layak oleh dokter hewan dari Laboratorium SCCR (*Stem Cell And Cancer Research*) Semarang. Mencit C57BL Betina dipelihara di lab berventilasi cukup dan suhu ruangan 20-28°C dengan makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

4.4.1 Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan cara *Randomized Sampling*. Mencit C57BL Betina dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok 1 Mencit C57BL Betina sehat tanpa diberi perlakuan, Kelompok 2 kontrol negatif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (calcipotriol) dengan dengan dosis 20 mg, kelompok 3 perlakuan Mencit C57BL Betina positif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (calcipotriol) dan diterapi dengan injeksi Dexamethason), kelompok 4 perlakuan perlakuan Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis dan perlakuan injeksi *exosome* 100 µg, kelompok 5 perlakuan Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis dan perlakuan injeksi *exosome* 200 µg.

4.3.7 Besar Sampel

Jumlah sampel dihitung berdasarkan sampel eksperimental dari Frederer. Rumus Frederer yaitu: $(t-1)(n-1) \geq 15$, dari rumus tersebut didapat hasil n adalah 5. Keterangan untuk nilai t adalah banyaknya perlakuan yaitu 5 dan

n adalah banyaknya sampel setiap perlakuan. Sehingga sampel yang digunakan adalah 5 ekor per kelompok kemudian diambil secara acak. Dibagi menjadi 5 kelompok sehingga jumlahnya adalah 25 ekor Mencit C57BL Betina ditambah cadangan 5 ekor menjadi total 30 ekor.

4.4. Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

Penelitian ini menggunakan beberapa peralatan untuk membuat hewan model antara lain, UV chamber. Peralatan yang digunakan dalam kultur MSC dan isolasi *exosome* antara lain meliputi BSC, CO2 inkubator, sentrifuge, *uPulse tangential flow filtration* dan membran filtrasi TFF (*Tangential Flow Filtration*) berukuran 100 kda dan 500 kda digunakan untuk isolasi *exosome* dari medium kultur MSC. Alat yang digunakan untuk validasi MSC dan *exosome hypoxia* MSC antara lain *Flowcytometer*, mikroskop *inverted*, *incubator*. Peralatan lain yang digunakan antara lain mikropipet, tabung *sentrifuge*, pelat kultur sel, botol beher, shaker, pH meter, *autoclave* dan lampu UV, aluminium Foil, NBF 10%, pot sampel, masker, *handscoon*, alkohol 70%, povidine iodine 10% 60ml dan kasa steril.

4.5.1 Bahan

Bahan yang dipakai dalam penelitian meliputi bahan kultur yang terdiri dari DMEM, Alpha MEM, Fetal Bovine Serum, Phospat Buffer Saline, Trypan blue, Triple, Glutamin, Antibiotik dan anti jamur, Flask kultur, sentrifuge tube, pipet tip. Bahan yang digunakan untuk isolasi *Exosome* antara lain

NaCl, dan Aquabidest.

4.5. Cara Penelitian

4.5.1 Perolehan *Ethical Clearance*

Permohonan *ethical clearance* penelitian diajukan kepada komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.5.2 Prosedur Isolasi *Mesenchymal Stem Cell* dari *Umbilical Cord*

Seluruh proses dilakukan di dalam *biosafety cabinet class 2*, menggunakan peralatan yang steril dan dikerjakan dengan teknik sterilitas yang tinggi.

- a. Setelah dikumpulkan, *umbilical cord* dimasukkan ke dalam wadah steril yang diberi NaCl 0,9%
- b. Dengan menggunakan pinset, masukkan *umbilical cord* ke dalam cawan petri dan gunakan PBS untuk membersihkannya secara menyeluruh
- c. *Umbilical cord* janin Mencit C57BL Betina dipotong dan pembuluh darahnya dibuang
- d. Setelah *umbilical cord* dicincang halus, diletakkan secara merata di dalam labu 25T dan diamkan selama tiga menit agar tisu menempel pada permukaan labu
- e. Media (DMEM, fungizon, penstrep, dan FBS) ditambahkan sedikit demi sedikit hingga jaringan tertutup
- f. Eksplan disimpan dalam inkubator dengan 5% CO₂ pada suhu 37°C
- g. Setelah prosedur kultur dimulai, sel akan berkembang setelah sekitar 14 hari

- h. Setiap tiga hari, media diganti dengan cara membuang setengahnya dan menambahkan yang baru dan penuh sebagai gantinya
- i. Pemeliharaan sel berlanjut hingga 80% sel konfluensi.

4.5.3 Proses *Hypoxia*

- a. MSCs dengan konfluensi 80% dimasukkan, dan ditambahkan hingga 10 mL media penuh
- b. Selanjutnya *flask* yang mengandung MSCs ditempatkan di dalam ruang hipoksia
- c. Dalam mengukur jumlah oksigen dalam ruangan, gas nitrogen dialirkan melalui katup inlet dan pengukur oksigen ditempatkan pada lubang sensor
- d. Nitrogen disuntikkan sampai oksigen 5% ditunjukkan oleh jarum indikator
- e. *Chamber* yang telah diisi *flask* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- f. Media kultur dikeluarkan setelah 24 jam dan diisolasi dengan metode TFF untuk menghasilkan EH-MSCs.

4.5.4 Pembuatan *Exosome* Hipoksia MSCs

EH-MSCs diisolasi menggunakan metode TFF. Langkah yang dilakukan antara lain media kultur MSC dikumpulkan dalam botol steril dan kemudian disaring menggunakan alat uPulse TFF dengan filter 100 kDa dan 500 kDa untuk menyisihkan partikel besar. Hasil filtrasi kemudian dilakukan validasi kandungan *EH-MSCs* menggunakan *flowcytometri*

dengan penanda permukaan berupa CD81, CD63, dan CD9. Hasil yang telah tervalidasi mengandung *EH*-MSCs disimpan dalam tabung 2,5 mL dan disimpan dalam suhu 2-8 °C.

4.5.5 Pemaparan Dermatitis Atopik dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Penelitian

a. Hari 0-14: Induksi dermatitis

1. Anestesi Mencit C57BL Betina menggunakan 4% isoflurana dalam 2 L/menit oksigen untuk induksi dan 2% isoflurana dalam 0,4 L/menit oksigen untuk pemeliharaan.
2. Timbang Mencit C57BL Betina menggunakan timbangan laboratorium berpresisi tinggi dan letakkan hewan di atas alas pemanas Mencit C57BL Betina bersuhu 37°C untuk menjaga suhu tubuh. Catat berat badan selama perawatan.
3. Ukur ketebalan telinga kiri dan kanan menggunakan pengukur ketebalan dial presisi di bawah anestesi ringan.
4. Secara topikal, oleskan oleskan 20 mg calcipotriol (1 nM MC903) dalam 100% etil alkohol absolut (EtOH) menggunakan pipet 2-20 µl ke kedua sisi setiap telinga (10 µl pada sisi telinga dorsal dan ventral untuk volume total 20 µl per telinga) pada setiap hari perawatan sesuai dengan rejimen perawatan. Mencit C57BL Betina kontrol diobati secara paralel dengan volume EtOH yang sama (sebagai kontrol pembawa) saja.

5. Setelah perawatan, letakkan hewan di atas bantalan pemanas Mencit C57BL Betina bersuhu 37°C untuk menjaga suhu tubuh tetap konstan selama pemulihan, lalu kembalikan ke kandang.
 6. Selama 1 minggu berikutnya ulangi pengukuran sebelum aplikasi topikal MC903 (langkah 2-5). Sebanyak 7 aplikasi MC903 atau EtOH akan diterapkan, dengan aplikasi topikal terakhir pada hari ke-14.
- b. Hari ke-14: Penilaian gatal
1. Pada hari ke-14, 24 jam sebelum diberikan perlakuan, rekam video Mencit C57BL Betina dan ukur kejadian gatal melalui videografi selang waktu. Tentukan dan ukur kejadian gatal selama 30 menit
- c. Hari ke-15 dan 19: Perlakuan Terapi
1. Pada hari ke-15 dan 19, Mencit C57BL Betina diberikan perlakuan sesuai dengan kelompoknya. Mencit C57BL Betina kelompok K4 diberikan injeksi perlakuan injeksi *exosome* dosis 100 µg subkutan pada hari ke-15, dan kelompok K5 diberikan perlakuan injeksi *exosome* dosis 200 µg subkutan pada hari ke-19.

Hari ke-22: Titik akhir eksperimen

1. Pada titik akhir percobaan (hari ke 22), eutanasia Mencit C57BL Betina dengan CO₂ sesak napas, ulangi pengukuran (langkah 3), dan ambil jaringan kulit telinga menggunakan gunting tajam dan forsep steril. Untuk kelenjar getah bening yang mengalirkan cairan dari

telinga, potong kulit dengan hati-hati di daerah leher yang sesuai dan bedah kelenjar getah bening aurikular.

4.5.6 Terminasi dan Pengambilan Jaringan

- a. Terminasi Mencit C57BL Betina dengan menggunakan *cocktail* dosis lethal sebelum dilakukan pengambilan organ. Untuk pembuatan 10ml cocktail digunakan *ketamine* 50 mg/kgBB, *xylazine* 10 mg/kgBB dan *acepromazine* 2 mg/kgBB yang diinjeksikan IP.
- b. Setelah Mencit C57BL Betina mati, dilakukan koleksi organ kulit kemudian disimpan dalam *cryotube* yang bebas dari RNAase dan disimpan pada suhu -80oC dalam RNA later.

4.5.7 Ekstraksi RNA dan Sintesis cDNA

- a. Sampel kulit difiksasi dalam formalin 10 % dan dibuat menjadi blok paraffin.
- b. Sampel kulit sebanyak 100 mg diambil dari RNA later kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil dimasukkan ke dalam tube yang telah terisi 50 ml RNA Iso Plus.
- c. Potongan kulit ditumbuk menggunakan *micopastle* dan ditambahkan lagi RNA Iso Plus sebanyak 50 ml dan disimpan disuhu ruang selama 5 menit.
- d. Ditambahkan 20 ml *chloroform* dan *divortex* hingga larutan menjadi putih susu.
- e. Inkubasi pada suhu ruang selama 2-3 menit, serta disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 15 menit pada suhu 40°C hingga larutan dalam tube

terlibat memiliki 3 lapisan. Lapisan yang paling atas berupa RNA (*fase liquid*), lapisan kedua berupa DNA (*fase semisolid*) dan lapisan bawah mengandung debris-debris sel.

- f. Lapisan paling atas dipindahkan ke tabung sentrifuge baru dan volumenya diukur, dan ditambahkan isopropanolol dengan volume yang sama dengan RNA yang diambil dari lapisan paling atas.
- g. Tabung *Eppendorf* digoyang-goyangkan hingga muncul benang-benang putih, kemudian disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 10 menit pada suhu 40°C. Supernatan dibuang sampai terlihat pellet berwarna putih didasar tabung.
- h. Setelah kering ditambahkan 100 ml etanol 70 % dalam larutan (*diethyl pyrocarbonat*) DEPC lalu bolak-balikkan berulang kali serta disentrifugasi kembali 15.000 rpm selama 5 menit pada suhu 40°C.
- i. Supernatan dibuang dan ditambahkan DEPC sebanyak 30-50 µm. campuran pada suhu 55°C selama 10 menit. Selanjutnya didapatkan total RNA *solution* dan disimpan pada suhu -80°C RNA dikuantifikasi dengan nanodrop. Hasil kuantifikasi dihitung dijadikan 3000 ng.
- j. Sintesis cDNA dengan membuat campuran A dengan mencampurkan sampel RNA yang telah dihitung, 1 µl oligoDT serta PCR water hingga mencapai volume 10 µl, kemudian diinkubasi selama 5 menit dalam suhu 70°C.
- k. Campuran A ditambah dengan campuran B yang terdiri dari 5 X buffer 4 µl, DEPC-Treated H₂O 5 µl, revertraAce 1 µl. Campuran tersebut

diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 menit, 42°C selama 50 menit dan 85°C selama 5 menit.

4.5.8 Prosedur Pewarnaan Histologi dan Imunohistologi

- a. Reagen dan peralatan tambahan untuk metode standar pemotongan jaringan tetap dan pewarnaan dengan H&E.
- b. Setelah mengorbankan hewan dengan CO₂ asfiksia, eksisi jaringan salah satu telinga menggunakan forsep dan gunting steril. Fiksasi dalam formalin buffer netral 10% selama 24 jam.
- c. Tanamkan satu telinga dalam parafin, potong tiga bagian 4-µm dengan mikrotom, letakkan bagian tersebut pada slide mikroskop dan warnai dengan H&E sesuai prosedur standar.
- d. Pindai dan tangkap gambar slide jaringan yang diwarnai H&E.
- e. Ukur ketebalan epidermis dan dermal di tiga lokasi terpisah di bidang pandang setiap bagian jaringan.
- f. Hitung dan plot rata-rata data yang dikumpulkan

Prosedur Pembacaan Ekspresi IL-4 dan IL-17 dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

- a. Ekspresi mRNA dari IL-4 dianalisis menggunakan PCR. Campuran dari 3 µl cDNA sampel, Taq master mix (dNTPs, *Taq DNA polymerase*, *reaction buffer* and MgCl₂) sebanyak 12,5 µl, primer spesifik pada gen IL-4 target sebanyak 0,6 µl untuk *primer forward* 5'-G TTCAGAGCGGAGAAAGCATT-TG-3' dan *reverse* 5'-CACATCTGCAAG-TACGTTTCGTTT-3' dan 8,3µl *Nuclease Free*

Water.

- b. Ekspresi mRNA dari IL-17 dianalisis menggunakan PCR. Campuran dari 3 μ l cDNA sampel, Taq master mix (dNTPs, *Taq DNA polymerase*, *reaction buffer* and $MgCl_2$) sebanyak 12,5 μ l, primer spesifik pada gen IL-17 target sebanyak 0,6 μ l untuk *primer forward* 5'-ATGACAGACCTTCCTGAGCA-3' dan *reverse* 5'-CTCCTTGGGACTTGGCTTTG-3' dan 8,3 μ l *Nuclease Free Water*.
- c. Ekspresi gen *housekeeping GAPDH* digunakan sebagai baseline dengan *primer forward* 5'-GAAGGTGAAGGTCGAGTC-3' dan *reverse* 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'.
- d. PCR produk dianalisis menggunakan PCR illumina.
- e. Peningkatan ekspresi gen dianalisis dalam ratio peningkatan terhadap *housekeeping* gen menggunakan software *EcoStudy*

4.5. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Bulan Desember 2025 di laboratorium *Animal Model Research Center* SCCR Indonesia.

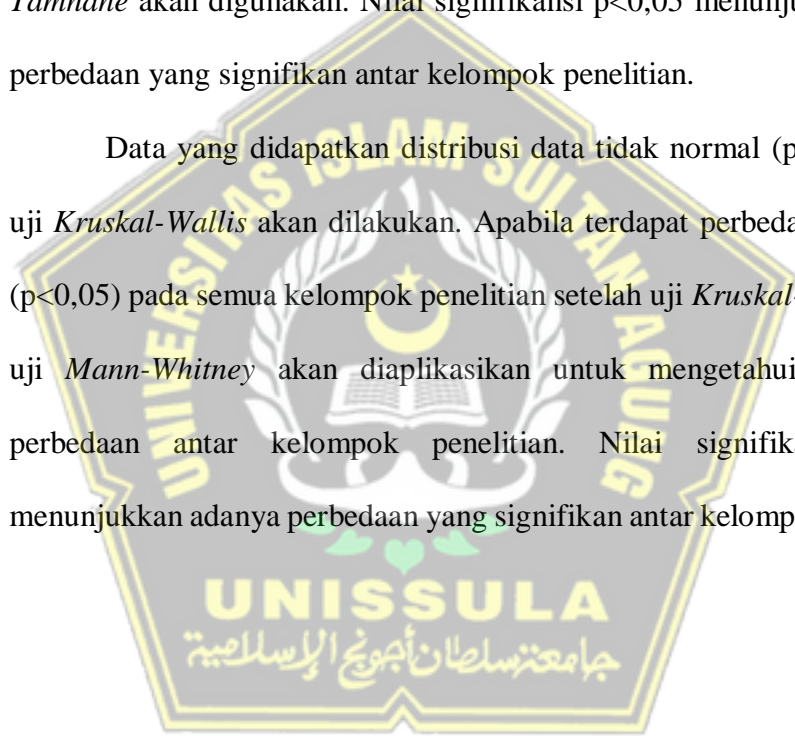
4.6. Analisa Data

Selanjutnya, dilakukan analisis normalitas dan variasi data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan *Levene's Test*. Selanjutnya, didapatkan hasil menunjukkan distribusi data normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$), maka uji *One-Way ANOVA* akan dilaksanakan. Apabila terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) di antara semua kelompok penelitian setelah uji *One-Way ANOVA*, maka uji *Post Hoc LSD* akan diterapkan untuk mengetahui

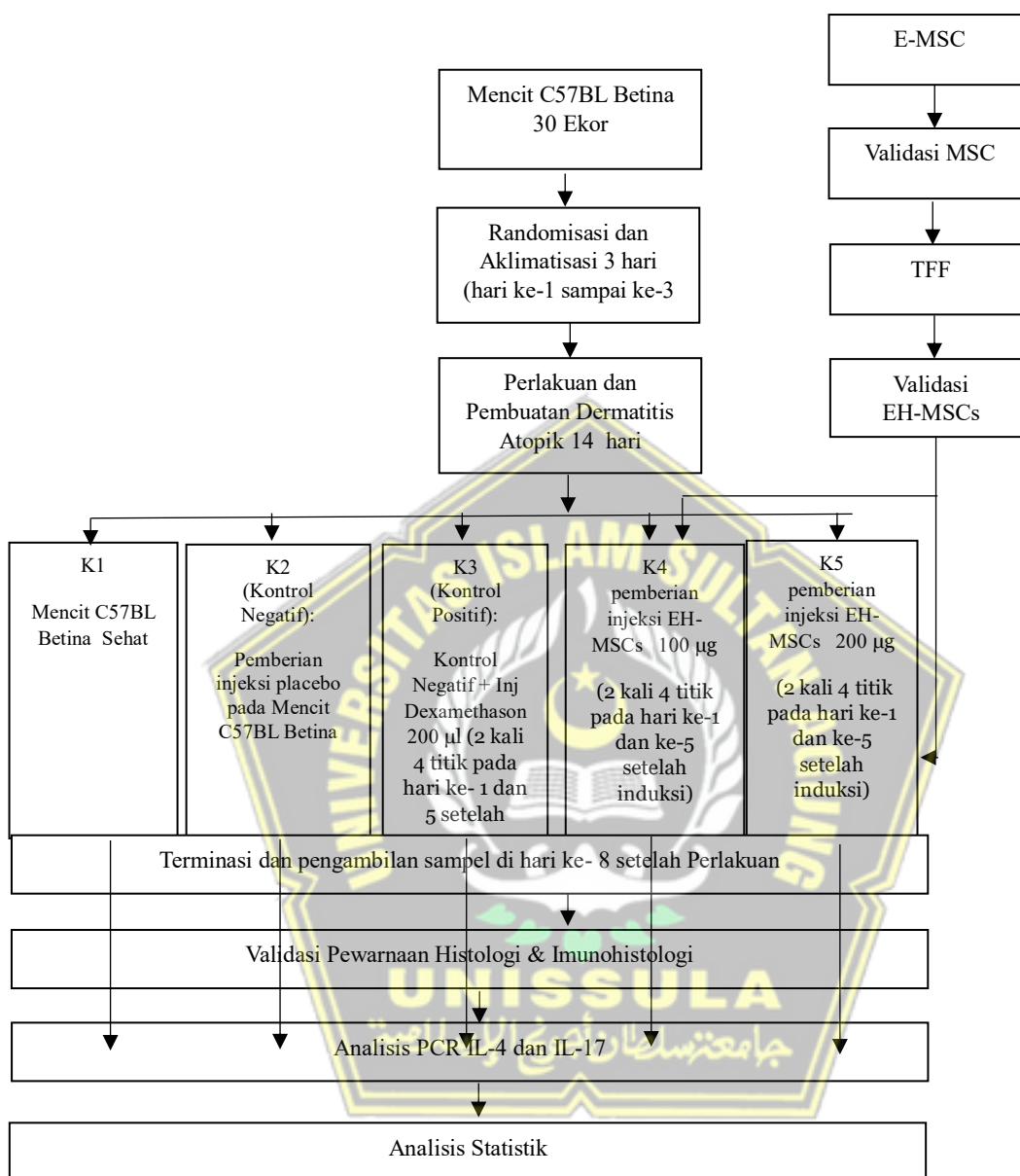
signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.

Data yang didapatkan menunjukkan distribusi normal ($p > 0,05$) namun tidak homogen ($p < 0,05$), maka uji One-Way ANOVA akan dilakukan. Apabila perbedaan signifikan ($p < 0,05$) terdapat pada semua kelompok penelitian setelah uji One-Way ANOVA, maka uji *Post Hoc Tamhane* akan digunakan. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.

Data yang didapatkan distribusi data tidak normal ($p < 0,05$), maka uji *Kruskal-Wallis* akan dilakukan. Apabila terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada semua kelompok penelitian setelah uji *Kruskal-Wallis*, maka uji *Mann-Whitney* akan diaplikasikan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.



4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.3. Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Hasil Validasi EH-MSC (*Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell*)

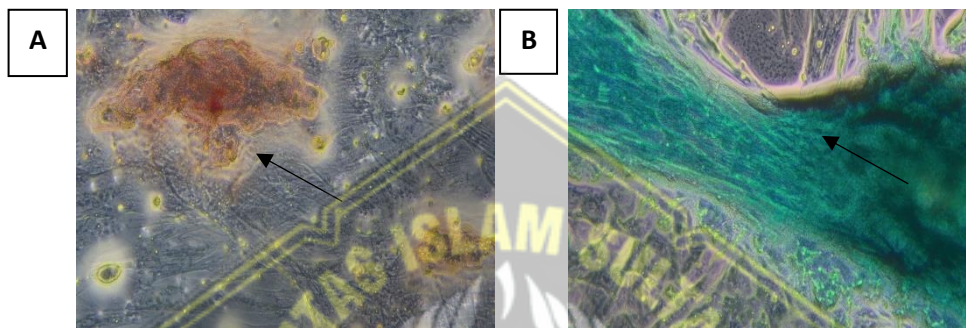
Mesenchymal stem cell diisolasi di Laboratorium SCCR Indonesia di Semarang, menggunakan sumber berupa tali pusat mencit pada usia berusia 21 hari kehamilan. Setelah proses isolasi, sel-sel tersebut dikultur dalam *Flask* kultur yang berisi media DMEM. Setelah mencapai pasase kelima, analisis morfologi sel, menunjukkan terdapat sel yang menyerupai *spindle* saat diamati dengan mikroskop dan melekat di atas permukaan flask (Gambar 5.1A).



Gambar 5.1. Morfologi MSC. (A) morfologi MSC berbentuk fibroblas-like (ditunjuk oleh anak panah) pada pembesaran 100x. (B) Analisis flow cytometry terhadap ekspresi CD90, CD29, CD45, dan CD31.

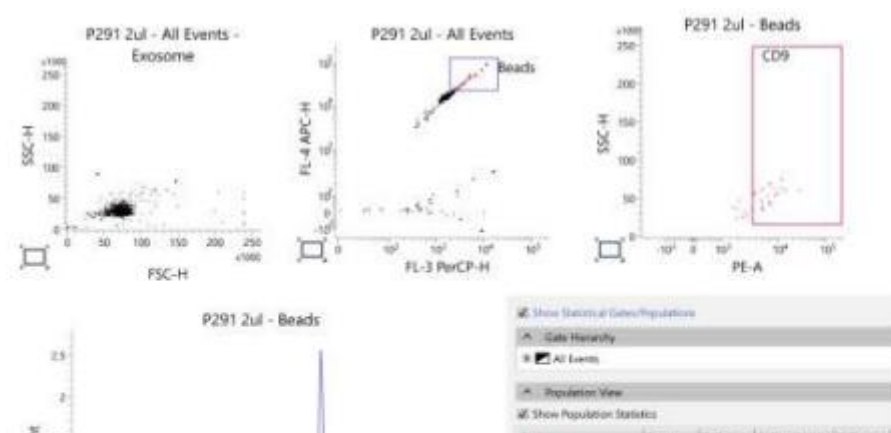
Analisis identitas sel menggunakan *surface marker* MSC menggunakan metode *flow cytometry* menunjukkan bahwa sel yang dikultur secara kuat mengekspresikan CD90 (99,1%) dan CD29 (99,2%), dan hanya sedikit mengekspresikan CD45 (0,51%) dan CD31 (4,34%) (Gambar 5.1B). Hal ini menunjukkan bahwa sel yang dikultur dari tali pusat memiliki karakteristik MSC.

Penelitian ini juga memastikan kapasitas MSC dalam diferensiasi menjadi berbagai jenis sel dewasa seperti sel osteosit dan sel chondrocytes yaitu dengan cara memberi medium spesifik menginduksi diferensiasi, baik menjadi osteosit maupun chondrocytes. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa MSC mampu mengalami diferensiasi menjadi osteosit dan chondrocytes yang terlihat oleh Alizarin Red dan Alcian blue. (Gambar 5.2 A dan B).



Gambar 5.2. Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna alizarin red dan (B) Chondrocyte pada pewarnaan Alcian blue (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 100x).

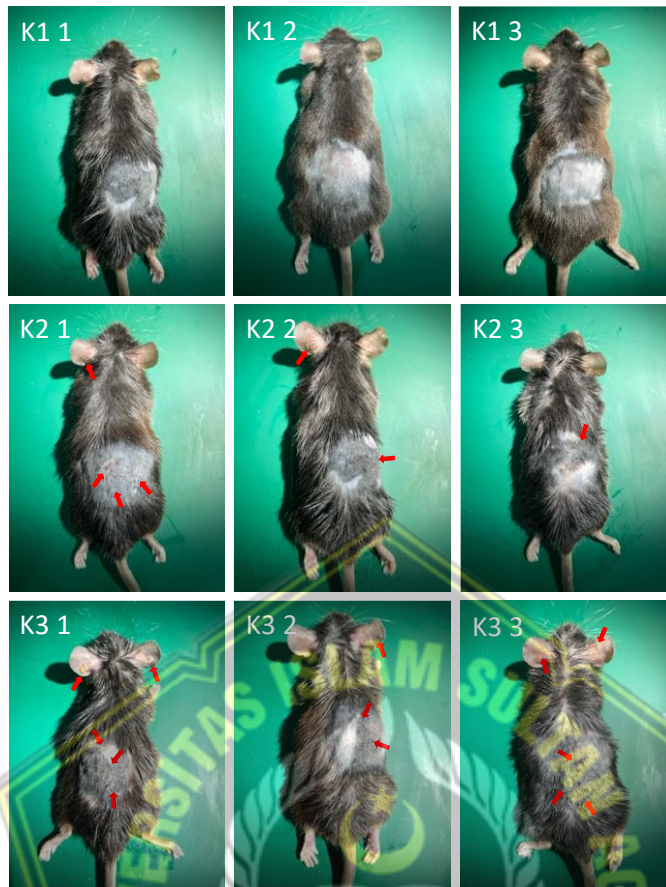
Setelah tervalidasi, MSC kemudian diinkubasi dalam kondisi hipoksia dengan kadar oksigen 5% selama 24 jam menggunakan box hipoksia. Setelah itu, medium kultur MSC yang mengandung sekretom MSC dikumpulkan dan difiltrasi menggunakan metode TFF dengan ukuran 100-500 kDa sehingga dapat diperoleh EH-MSC. Setelah diisolasi kadar *exosome* dianalisis menggunakan metode *flowcytometry* dan didapatkan bahwa kadar *exosome* yang didapatkan sebesar 10.00 ug/mL (Gambar 5.3).



Gambar 5.3. Hasil Analisis Kadar *Exosome* menggunakan marker P291



5.1.2. Hasil Validasi Dermatitis-like

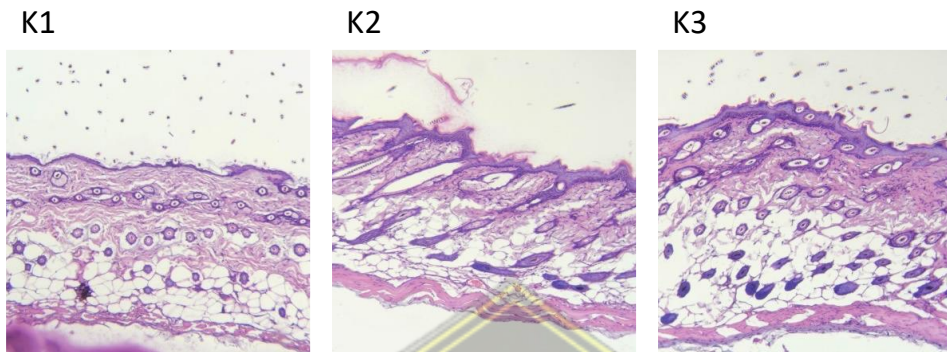


Gambar 5.4. Validasi Dermatitis atopik Mencit sehat

Validasi pembentukan model Dermatitis atopik pada mencit dilakukan secara visual dengan membandingkan kondisi densitas epidermal pada mencit sehat dan mencit yang diinduksi Calcipotriol. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa mencit sehat memiliki densitas epidermal yang lebih normal, sedangkan mencit yang diinduksi Calcipotriol memiliki densitas epidermal yang lebih rendah, sebagaimana terlihat dalam Gambar 5.4.

Secara makroskopis, mencit C57BL yang diinduksi dermatitis atopik dengan Calcipotriol menunjukkan gambaran klasik peradangan kulit akut hingga kronis yang ditandai dengan: pembengkakan (edema), kemerahan (erythema), dan kekeringan

bersisik. Fenotip ini sangat menyerupai gejala yang terlihat pada manusia dengan kondisi dermatitis atopik. Foto hari ke-21 kelompok K3 ditemukan edema, erythema dan kekeringan bersisik ditunjukkan dengan tanda anak panah berwarna merah.



Gambar 5.5. Hasil mikroskopis Preparat kulit perbesaran 100x

K1: Sehat

K2: Dosis 10mg Calcipotriol (50 mcg/g)

K3: Dosis 20mg Calcipotriol (50 mcg/g)

K1: Kelompok Kontrol/ Sehat. (Gambaran histopatologis menunjukkan epidermis dengan ketebalan relatif normal dan susunan lapisan yang masih terorganisasi dengan baik. Tidak ditemukan infiltrasi sel inflamasi yang bermakna. Pada dermis, struktur jaringan ikat tampak utuh dan tersusun rapi, serta jaringan lemak subkutan tidak memperlihatkan tanda-tanda reaksi inflamasi yang signifikan.)

K2: Dosis 10mg Calcipotriol (Preparat menunjukkan adanya penebalan epidermis derajat ringan hingga sedang mengarah pada akantosis, disertai gambaran spongiosis. Infiltrasi sel inflamasi pada lapisan dermis tampak lebih jelas dibandingkan kelompok kontrol, Selain itu, terlihat kongesti pada pembuluh darah dermal serta indikasi respons inflamasi pada struktur folikel dan jaringan sekitarnya.

K3: Dosis 20mg Calcipotriol (Pada kelompok ini, epidermis tampak mengalami penebalan yang lebih nyata dengan akantosis yang jelas. Spongiosis terlihat lebih menonjol, dan infiltrasi sel inflamasi pada dermis tampak lebih padat. Secara keseluruhan

perubahan histopatologis menunjukkan respons inflamasi yang lebih intens dibandingkan kelompok dosis lebih rendah)

Kelompok K2 dan K3 nampak penebalan lapisan korneum, epidermis, dan dermis. Infiltrat mononuklear terutama diamati di dermis.

5.1.3. Ekspresi IL-4

Analisis distribusi data menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa distribusi data pada setiap kelompok adalah normal ($p > 0,05$). Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan Levene test, menunjukkan bahwa data ekspresi IL-4 pada kelima kelompok memiliki varian yang tidak homogen ($p < 0,05$).

Tabel 5.1. Data Hasil Analisis Ekspresi IL-4

Variabel	Kelompok					P
	K1 (RE) Rerata±SD	K2 (RE) Rerata±SD	K3 (RE) Rerata±SD	K4 (RE) Rerata±SD	K5 (RE) Rerata±SD	
IL-4	1,00±0,04	5,15±0,70	3,01±0,25	2,07±0,20	1,74±0,49	
Shapiro Wilk	0,41	0,99	0,08	0,67	0,89	
Lavene test						0,001
One Way Anova						0,001

Data ekspresi IL-4 dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan dalam konsentrasi. Dari kelompok K1 (sehat), Kelompok K2 memiliki peningkatan yang signifikan pada relatif ekspresi IL-4, yaitu $5,15 \pm 0,70$, diikuti oleh K3 dengan $3,01 \pm 0,25$, dan K4 dengan $2,07 \pm 0,20$. Dan kelompok K5 memiliki kadar yang lebih rendah sebesar $1,74 \pm 0,49$.

Analisis perbedaan ekspresi IL-4 antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang menghasilkan nilai signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok-kelompok tersebut. Dengan kata lain, perlakuan atau kondisi pada setiap kelompok memberikan pengaruh yang signifikan terhadap ekspresi IL-4.

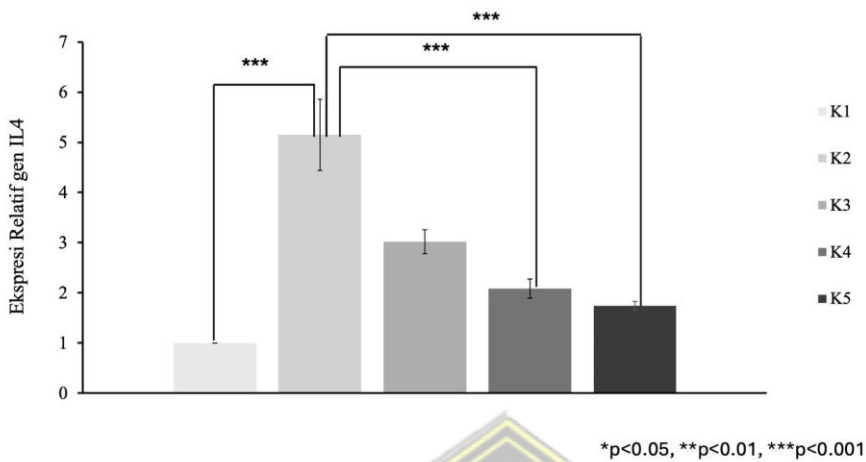
Tabel 5.2. Perbedaan rerata ekspresi IL-4 antar dua kelompok dengan

Uji Post Hoc Tamhene

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	0,001
	K3	0,001
	K4	0,001
	K5	0,001
K2	K3	0,004
	K4	0,001
	K5	0,001
K3	K4	0,001
	K5	0,001
K4	K5	0,057

Berdasarkan data ekspresi IL-4 yang memiliki beda nyata setelah uji parametrik One Way ANOVA. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji post hoc Tamhane, karena data bersifat normal dan tidak homogen. Data hasil uji post hoc Tamhane tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.2. Berdasarkan hasil analisis data ditemukan bahwa K4 berbeda signifikan dengan kelompok K1, K2, dan K3 ($p < 0,05$), namun tidak berbeda signifikan dengan K5 ($P > 0,05$). Sementara itu K5 berbeda secara signifikan dengan kelompok K2 dan K3 ($p < 0,05$), dan tidak berbeda secara signifikan dibanding dengan K1 dan K4 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi IL-17 K4 dan K5 tidak berbeda.

Data juga menunjukkan data ekspresi IL-4 K5 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya, sehingga menghasilkan ekspresi IL-4 yang mendekati sama dengan kelompok sehat.



Gambar 5.8. Grafik Ekspresi IL-4.

Terdapat pola penurunan yang ditunjukkan adalah *dose dependent manner* dimana dosis tertinggi menghasilkan penurunan ekspresi IL-4 signifikan.

5.1.4 Ekspresi IL-17

Uji statistik Shapiro-Wilk yang dilakukan untuk mengevaluasi distribusi data menunjukkan bahwa data ekspresi IL-17 pada semua kelompok memiliki distribusi normal ($p > 0,05$). Namun, analisis homogenitas varians menggunakan Levene test menunjukkan bahwa varians data antar kelompok tidak homogen ($p < 0,05$). Hasil analisis ini kemudian dilanjutkan dengan analisis perbedaan ekspresi IL-17 antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang memberikan hasil signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada ekspresi IL-17 antar kelompok.

Tabel 5.3. Data Hasil Analisis Ekspresi IL-17

Variabel	Kelompok					P
	K1 (RE) Rerata±SD	K2 (RE) Rerata±SD	K3 (RE) Rerata±SD	K4 (RE) Rerata±SD	K5 (RE) Rerata±SD	

IL-17	1,00±0,01	6,70±0,44	5,65±0,52	3,49±0,54	1,83±0,27
Shapiro Wilk	0,91	0,23	0,39	0,93	0,21
Lavene test					0,008
One Way Anova					0,001

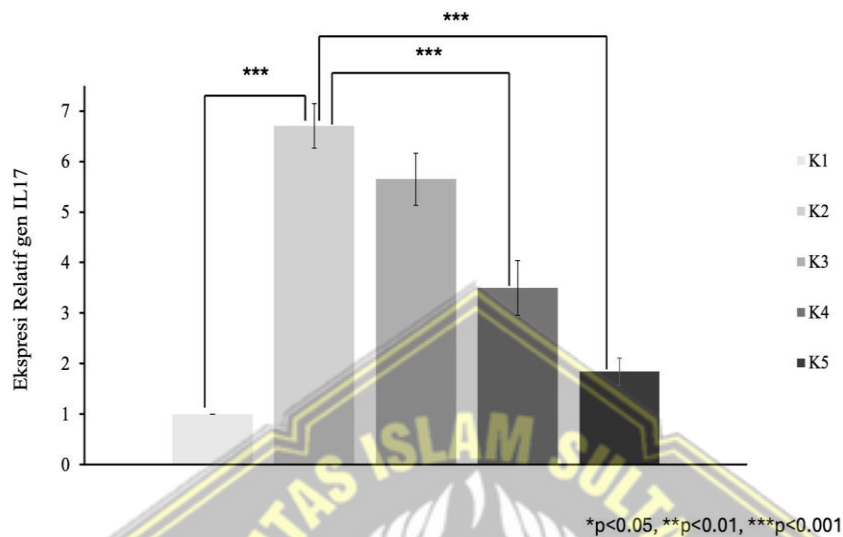
Data ekspresi IL-17 yang diperoleh dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan dalam konsentrasinya. Dari kelompok K1 (sehat). Kelompok K2 memiliki peningkatan yang signifikan pada relatif ekspresi IL-17 tertinggi, yaitu 6,70±0,44, diikuti oleh K3 dengan 5,65±0,52, dan K4 dengan 3,49±0,54 dan kelompok K5 memiliki kadar yang lebih rendah, yaitu 1,83±0,27.

Tabel 5.4. Perbedaan rerata ekspresi IL-17 antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	0,001
	K3	0,001
	K4	0,001
	K5	0,006
	K3	0,037
K2	K4	0,001
	K5	0,001
	K4	0,001
K3	K5	0,001
	K5	0,001
K4	K5	0,002

Berdasarkan data ekspresi IL-17 yang memiliki beda nyata setelah uji parametrik One Way ANOVA. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji Post Hoc Tamhane, karena data bersifat normal, namun tidak homogen. Data hasil uji post hoc Tamhane tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.4. Berdasarkan hasil analisis data ditemukan bahwa K4 berbeda signifikan dibanding dengan K1, K2, dan K3 ($p < 0,05$) dan tidak berbeda signifikan dibanding dengan K5 ($p > 0,05$), sedangkan K5 berbeda secara signifikan dengan kelompok K2 dan K3 ($p < 0,05$), dan tidak berbeda secara signifikan dibanding dengan K1 dan K4 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi IL-17 K4

dan K5 tidak berbeda, namun hanya kelompok K5 yang memiliki ekspresi IL-17 yang sama dengan kelompok sehat.



Gambar 5.9. Grafik Ekspresi IL-17

Terdapat pola peningkatan yang ditunjukkan adalah *dose dependent manner* dimana dosis tertinggi menghasilkan penurunan ekspresi IL-17 yang signifikan.

5.2. Pembahasan

1. *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* (EH-MSC) telah banyak diteliti sebagai terapi berbasis sel yang menjanjikan dalam berbagai penyakit inflamasi kronik, termasuk dermatitis atopik. Salah satu mekanisme utama yang mendasari efek terapeutik EH-MSC adalah melalui sekresi *exosome* yang mengandung berbagai molekul bioaktif, seperti miRNA, protein imunoregulator, dan sitokin antiinflamasi, yang berperan dalam memodulasi respons imun. *Exosome* yang berasal dari MSC diketahui mampu mempengaruhi keseimbangan sel T helper, khususnya dengan menekan respons Th2 dan

Th17 yang berlebihan, yang merupakan jalur utama dalam patogenesis dermatitis atopik.⁶⁹⁻⁷²

2. *Interleukin-4* (IL-4) merupakan sitokin utama yang diproduksi oleh sel Th2 dan memiliki peran penting dalam fase akut dermatitis atopik. Peningkatan IL-4 berkontribusi terhadap peningkatan produksi IgE, gangguan fungsi barrier kulit, serta aktivasi sel inflamasi seperti eosinofil dan mast cell. Selain itu, peningkatan IL-4 juga dapat menghambat diferensiasi keratinosit dan menurunkan ekspresi protein barrier seperti filaggrin, sehingga memperburuk kerusakan jaringan kulit dan mempertahankan inflamasi kronik.⁶⁹⁻⁷²
3. Selain IL-4, IL-17 merupakan sitokin proinflamasi utama yang diproduksi oleh sel Th17 dan berperan penting dalam mempertahankan inflamasi kronik pada dermatitis atopik. IL-17 berkontribusi dalam meningkatkan rekrutmen neutrofil, merangsang produksi sitokin proinflamasi lainnya, serta memperparah kerusakan jaringan kulit. Peningkatan kadar IL-17 pada dermatitis atopik menunjukkan adanya aktivasi jalur Th17 yang berperan dalam memperberat inflamasi kronik dan berhubungan dengan kondisi dermatitis atopik yang lebih berat dan persisten.⁶⁹⁻⁷²
4. Sel yang diisolasi dari tali pusat memenuhi karakteristik mesenchymal stem cells (MSC) berdasarkan morfologi fibroblast-like yang adherent serta profil imunofenotip dengan ekspresi tinggi CD90 dan CD29 serta ekspresi minimal CD45 dan CD31, yang mengonfirmasi kemurnian populasi sel. Kemampuan diferensiasi menjadi osteosit dan kondrosit menunjukkan bahwa sifat multipoten (stemness) tetap terjaga. MSC kemudian diprekondisi dalam kondisi hipoksia 5% O₂ selama 24 jam untuk meningkatkan potensi biologis exosome, yang diisolasi menggunakan metode Tangential Flow Filtration dengan konsentrasi 10,00 µg/mL. Selain itu, model dermatitis atopik-like yang diinduksi

Calcipotriol berhasil menampilkan gambaran klinis dan histopatologis berupa edema, eritema, penebalan epidermis, dan infiltrasi sel inflamasi, sehingga dapat dinilai valid dan representatif untuk mengevaluasi efek imunomodulator EH-MSC terhadap inflamasi kulit.

5. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekspresi IL-4 meningkat secara signifikan pada kelompok dermatitis (K2) dibandingkan kelompok sehat (K1). IL-4 merupakan sitokin utama yang diproduksi oleh sel Th2 dan berperan penting dalam patogenesis dermatitis atopik, terutama pada fase awal dan fase aktif penyakit. Peningkatan IL-4 mencerminkan dominasi respons imun Th2 yang menyebabkan peningkatan IgE, gangguan fungsi barrier kulit, dan rekrutmen sel inflamasi. Pemberian EH-MSC pada kelompok perlakuan (K3, K4, dan K5) menunjukkan penurunan ekspresi IL-4 secara bertahap dan *dose-dependent*. Kelompok dengan dosis tertinggi (K5) menunjukkan ekspresi IL-4 yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok sehat, yang mengindikasikan pemulihan keseimbangan imun Th2. Penurunan IL-4 ini menunjukkan bahwa EH-MSC mampu menekan aktivasi sel Th2, kemungkinan melalui penghambatan jalur inflamasi dan peningkatan regulasi imun.⁴³ Hal ini konsisten dengan laporan *Kim et al.* (2017, *Stem Cells Translational Medicine*) yang menyatakan bahwa *exosome* MSC mampu menekan aktivasi Th2 melalui peningkatan IL-10 dan TGF- β serta inhibisi jalur STAT6-GATA3.⁷³
6. Ekspresi IL-17 pada kelompok dermatitis (K2) menunjukkan peningkatan signifikan dibandingkan kelompok sehat, mengindikasikan aktivasi jalur Th17 pada inflamasi kronik. IL-17 diketahui berperan dalam meningkatkan rekrutmen neutrofil, menginduksi produksi IL-6 dan TNF- α , serta memperkuat aktivasi NF- κ B pada keratinosit.

Penurunan IL-17 pada kelompok EH-MSC menunjukkan bahwa terapi ini tidak hanya memodulasi respons Th2 tetapi juga menghambat jalur Th17. Hasil ini sejalan dengan penelitian Cho et al. (2018, *Experimental Dermatology*) yang melaporkan bahwa exosome MSC mampu menurunkan ekspresi IL-17 melalui peningkatan Treg dan inhibisi diferensiasi Th17.⁷⁴

7. Pada penelitian ini, pemberian EH-MSC dosis 100 µg dan 200 µg bertujuan mengevaluasi efek imunomodulator terhadap ekspresi IL-4 dan IL-17. Hasil menunjukkan bahwa kedua dosis mampu menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi secara signifikan, dengan efek optimal pada dosis 200 µg.
8. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa EH-MSC secara signifikan menurunkan IL-4 dan IL-17 serta memperbaiki gambaran histopatologis kulit, menandakan adanya modulasi jalur imun Th2 dan Th17 pada dermatitis atopik. Efek ini menunjukkan bahwa terapi berbasis exosome MSC, khususnya yang diprekondisi hipoksia, bekerja sebagai imunomodulator yang menekan inflamasi secara lebih terarah tanpa menyebabkan immunosupresi sistemik yang luas. Dengan demikian, EH-MSC berpotensi menjadi alternatif terapi yang lebih aman dan efektif dalam pengelolaan dermatitis atopik kronik.⁷⁵

5.3. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu dipertimbangkan dalam menafsirkan hasil serta dalam pengembangan penelitian selanjutnya.

- a. Parameter inflamasi yang dianalisis pada penelitian ini terbatas pada ekspresi sitokin proinflamasi *Interleukin-4* (IL-4). dan *Interleukin-17* (IL17). Meskipun kedua sitokin tersebut merupakan mediator kunci dalam proses inflamasi dermatitis atopik, respons imun pada penyakit ini bersifat kompleks dan

melibatkan berbagai jalur imunologi lain.

- b. Penelitian ini menggunakan model hewan in vivo berupa mencit C57BL betina yang diinduksi MC903 (*Calcipotriol*) sebagai model dermatitis atopik *like*. Sehingga hasil yang diperoleh belum dapat digeneralisasikan secara langsung pada manusia.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan tujuan penelitian untuk membuktikan pengaruh pemberian EH-MSC terhadap ekspresi IL-4 dan IL-17 pada mencit C57BL model *Atopic Dermatitis-like* yang diinduksi MC903, maka dapat disimpulkan:

- a. Pemberian EH-MSC dosis 100 μg dan 200 μg secara subkutan terbukti menurunkan ekspresi *IL-4 pada mencit model Atopic Dermatitis Like*. Penurunan tersebut menunjukkan adanya perbedaan bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol berdasarkan hasil uji statistik .
- b. Pemberian EH-MSC dosis 100 μg dan 200 μg secara subkutan juga terbukti menurunkan ekspresi IL-17 pada mencit model *Atopic Dermatitis like*, dengan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

6.2. Saran

- a. Studi yang akan datang diharapkan untuk mengukur kadar, ekspresi protein intraseluler, dan ekspresi mRNA IL-10 setelah dilakukan injeksi EH-MSC pada mencit model *Atopic Dermatitis like*.
- b. Perlu dilakukan uji klinis fase I pada manusia sebagai tahap awal translasi penelitian dari model hewan ke manusia. Uji klinis fase I merupakan penelitian pertama pada subjek manusia, yang umumnya melibatkan sejumlah kecil relawan sehat atau pasien terbatas, dengan tujuan utama mengevaluasi keamanan (*safety*), tolerabilitas, serta menentukan rentang dosis yang aman.

Selain itu, fase ini juga bertujuan menilai profil farmakokinetik (proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan eliminasi terapi dalam tubuh) serta farmakodinamik (efek biologis terapi terhadap sistem imun). Tahap ini tidak berfokus pada efektivitas klinis, tetapi memastikan bahwa terapi EH-MSA aman sebelum dilanjutkan ke uji klinis fase II yang mengevaluasi efektivitas pada populasi pasien yang lebih besar.



DAFTAR PUSTAKA

1. Kolb L, Ferrer-Bruker SJ. Atopic Dermatitis. [Updated 2023 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448071/>
2. Heo WI, Lee KE, Hong JY, Kim MN, Oh MS, Kim YS, Kim KW, Kim KE, Sohn MH. The role of interleukin-17 in mouse models of atopic dermatitis and contact dermatitis. *Clin Exp Dermatol*. 2015 Aug;40(6):665-71. doi: 10.1111/ced.12567. Epub 2015 Feb 16. PMID: 25684357. <https://doi.org/10.1111/ced.12567>
3. Torres, T., Mendes-Bastos, P., Cruz, M.J. et al. Interleukin-4 and Atopic Dermatitis: Why Does it Matter? A Narrative Review. *Dermatol Ther (Heidelb)* 15, 579–597 (2025). <https://doi.org/10.1007/s13555-025-01024-9>
4. Shin KO, Ha DH, Kim JO, Crumrine DA, Meyer JM, Wakefield JS, Lee Y, Kim B, Kim S, Kim HK, Lee J, Kwon HH, Park GH, Lee JH, Lim J, Park S, Elias PM, Park K, Yi YW, Cho BS. Exosomes from Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Promote Epidermal Barrier Repair by Inducing de Novo Synthesis of Ceramides in Atopic Dermatitis. *Cells*. 2020 Mar 10;9(3):680. <https://doi.org/10.3390/cells9030680>
5. Merarie, L. (2024). Hubungan Personal Hygiene Dengan Kejadian Dermatitis Pada Masyarakat Di Wilayah Kerja Puskesmas Cempaka Kota Banjarmasin. *Nursing Science Journal (NSJ)*, 5(2), 132 - 141. <https://doi.org/10.53510/nsj.v5i2.269>
6. Pratiwi, A. P., Diah, T., Bausad, A. A. P., Allo, A. A., Mustakim, M., Muchlisa, N., Kas, S. R., & Ratnaningsih, M. 2022. Masalah Kesehatan Masyarakat: Pekerja dan Remaja Putri. *Uwais Inspirasi Indonesia*.
7. Lugović-Mihić L, Meštrović-Štefekov J, Potočnjak I, Cindrić T, Ilić I, Lovrić I, Skalicki L, Bešlić I, Pondeljak N. Atopic Dermatitis: Disease Features, Therapeutic Options, and a Multidisciplinary Approach. *Life (Basel)*. 2023 Jun 20;13(6):1419. doi: 10.3390/life13061419. PMID: 37374201; PMCID: PMC10305021. <https://doi.org/10.3390/life13061419>
8. Cho, B. S., Kim, J. O., Ha, D. H., & Yong, W. Y. (2018). Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis. *Stem Cell Research & Therapy*, 9. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0939-5>
9. Kim J, Lee SK, Jung M, Jeong SY, You H, Won JY, Han SD, Cho HJ, Park S, Park J, Kim TM, Kim S. Extracellular vesicles from IFN- γ -primed mesenchymal stem cells repress atopic dermatitis in mice. *J Nanobiotechnology*. 2022 Dec 10;20(1):526. doi: 10.1186/s12951-022-

- 01728-8. PMID: 36496385; PMCID: PMC9741801.
<https://doi.org/10.1186/s12951-022-01728-8>
10. Tanei R. Atopic dermatitis in the elderly. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2009 Dec;8(5):398-404. doi: 10.2174/1871528110908050398. PMID: 20025588. <https://doi.org/10.2174/1871528110908050398>
 11. Leung DYM, Eichenfield LF, Boguniewicz M. Atopic dermatitis (Atopic eczema). In: Goldsmit LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffel DJ, Wolff K, editor. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. New York: The McGraw Hill's Company inc;2012.p.165-81.
 12. Diana IA, Boediardja SA, Soegito TL, Lokanata MD, Prihianti S, Danarti R, et al. *Diagnosis and therapy guidance of dermatitis atopic in Indonesia (in Indonesian)*. KSDAI Perdoski. Jakarta: Centra Communications;2014
 13. Katsarou A, Armenaka M. Atopic dermatitis in older patients: particular points. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011 Jan;25(1):12-8. doi: 10.1111/j.1468-3083.2010.03737.x. PMID: 20569298. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2010.03737.x>
 14. Bozek A, Fisher A, Filipowska B, Mazur B, Jarzab J. Clinical features and immunological markers of atopic dermatitis in elderly patients. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;157(4):372-8. doi: 10.1159/000329150. Epub 2011 Nov 24. PMID: 22122980. <https://doi.org/10.1159/000329150>
 15. Anoma Ranaweera. *Interleukin-17 in inflammatory skin disorders*. Medical Writer, New Zealand. Editor in Chief: A/Prof Amanda Oakley, Dermatologist, Hamilton, New Zealand. October 2019. <https://dermnetnz.org/topics/interleukin-17-in-inflammatory-skin-disorders>
 16. Mittermann I, Aichberger KJ, Bänder R, et al. Autoimmunity and atopic dermatitis. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2004 Oct;4(5):367-371. DOI: 10.1097/00130832-200410000-00007. PMID: 15349035. <https://doi.org/10.1097/00130832-200410000-00007>
 17. Gärtner Y, Bitar L, Zipp F, Vogelaar CF. Interleukin-4 as a therapeutic target. *Pharmacol Ther*. 2023 Feb;242:108348. doi: 10.1016/j.pharmthera.2023.108348. Epub 2023 Jan 16. PMID: 36657567. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2023.108348>
 18. Rajasingh S, Sigamani V, Selvam V, et al. Comparative analysis of human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells and umbilical cord mesenchymal stem cells. *J Cell Mol Med*. 2021; 25: 8904–8919. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16754>
 19. The effect of exosomes from mesenchymal stem cells on atopic dermatitis

- in a mouse model. 2018 doi: 10.1016/j.jaad.2018.05.1122 10.1016 / j.jaad.2018.05.1122. *Journal of the American Academy of Dermatology*. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.05.1122>
20. Huang, R., Jia, B., Su, D., Li, M., Xu, Z., He, C., Huang, Y., Fan, H., Chen, H., & Cheng, F. (2023). Plant exosomes fused with engineered mesenchymal stem cell-derived nanovesicles for synergistic therapy of autoimmune skin disorders. *Journal of Extracellular Vesicles*, 12, e12361. <https://doi.org/10.1002/jev2.12361>
21. Aiman Mohammed Baqir Al-Dhalimy, Haitham Mukhlif Salim, A.H. Shather, Israa Habeeb Naser, Manar Mohammed Hizam, Mohannd Kadhim Alshujery, The pathological and therapeutically role of mesenchymal stem cell (MSC)-derived exosome in degenerative diseases; Particular focus on LncRNA and microRNA, *Pathology - Research and Practice*, Volume 250, 2023, 154778, ISSN 0344-0338. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2023.154778>
22. Wang W, Li P, Li W, Jiang J, Cui Y, Li S, et al. Osteopontin activates mesenchymal stem cells to repair skin wound. *PLoS One*. 2017;12(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185327>
23. Zhang W, Liu L, Huo Y, Yang Y, Wang Y. Hypoxia-Pre-treated Human MSCs Attenuate Acute Kidney Injury through Enhanced Angiogenic and Antioxidative Capacities. *Biomed Res Int*. 2014;2014. <https://doi.org/10.1155/2014/462472>
24. Kadle RL, Abdou SA, Villarreal-Ponce AP, Soares MA, Sultan DL, David JA, et al. Microenvironmental cues enhance mesenchymal stem cell-mediated immunomodulation and regulatory T-cell expansion. *PLoS One*. 2018;13(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193178>
25. Braga CL, Santos RT, da Silva CM, de Novaes Rocha N, Felix NS, Medeiros M, et al. Therapeutic effects of hypoxia-preconditioned bone marrow-derived mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles in experimental pulmonary arterial hypertension. *Life Sci*. 2023;329. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121993>
26. Zhang G, Zou X, Huang Y, Wang F, Miao S, Liu G, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles protect against acute kidney injury through anti-oxidation by enhancing Nrf2/ARE activation in rats. *Kidney Blood Press Res*. 2016;41(2):119–28. <https://doi.org/10.1159/000443413>
27. Yuan, F., Liu, J., Zhong, L. et al. Enhanced therapeutic effects of hypoxia-preconditioned mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles in renal ischemic injury. *Stem Cell Res Ther* 16, 39 (2025). <https://doi.org/10.1186/s13287-025-04166-z>

28. Yang Y, Wu Y, Yang D, Neo SH, Kadir ND, Goh D, et al. Secretive derived from hypoxia preconditioned mesenchymal stem cells promote cartilage regeneration and mitigate joint inflammation via extracellular vesicles. *Bioact Mater.* 2023;27:98–112. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2023.03.041>
29. Antebi B, Rodriguez LA, Walker KP, Asher AM, Kamucheka RM, Alvarado L, et al. Short-term physiological hypoxia potentiates the therapeutic function of mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1). <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1013-1>
30. Jensen CC, Warfel NA. Hypoxia. In: *Comprehensive Pharmacology*. 2022. p. 438–68. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820472-6.00077-0>
31. Bieńko K, Leszcz M, Więckowska M, Białek J, Petniak A, Szymanowski R, et al. VEGF Expression in Umbilical Cord MSC Depends on the Patient's Health, the Week of Pregnancy in Which the Delivery Took Place, and the Body Weight of the Newborn – Preliminary Report. *Stem Cells Cloning Adv Appl.* 2023;16:5–18. <https://doi.org/10.2147/SCCAA.S400245>
32. Pan Q, Wang Y, Lan Q, Wu W, Li Z, Ma X, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells ameliorate hypoxia/reoxygenation-injured ECs via transferring MicroRNA-126. *Stem Cells Int.* 2019;2019. <https://doi.org/10.1155/2019/2831756>
33. Minoves M, Hazane-Puch F, Moriondo G, Boutin-Paradis A, Lemarié E, Pépin JL, et al. Differential Impact of Intermittent vs. Sustained Hypoxia on HIF-1, VEGF and Proliferation of HepG2 Cells. *Int J Mol Sci.* 2023;24(8). <https://doi.org/10.3390/ijms24087253>
34. Gurler B, Gencay G, Baloglu E. Hypoxia and HIF-1 α Regulate the Activity and Expression of Na,K-ATPase Subunits in H9c2 Cardiomyoblasts. *Curr Issues Mol Biol.* 2023;45(10):8277–88. <https://doi.org/10.3390/cimb45100523>
35. Mao Y, Yang C, Tang L, Liu G, Cheng L, Chen M. Increased expression of T helper 17 cells and interleukin-17 in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *Ann Palliat Med.* 2021 Dec;10(12):12801-12809. doi: 10.21037/apm-21-3590. PMID: 35016438. <https://doi.org/10.21037/apm-21-3590>
36. Tan Q, Yang H, Liu EM, Wang H. Establishing a Role for Interleukin-17 in Atopic Dermatitis-Related Skin Inflammation. *J Cutan Med Surg.* 2017 Jul/Aug;21(4):308-315. doi: 10.1177/1203475417697651. Epub 2017 Mar 9. PMID: 28279075. <https://doi.org/10.1177/1203475417697651>
37. Torres T, Mendes-Bastos P, Cruz MJ, Duarte B, Filipe P, Lopes MJP, Gonçalves M. Interleukin-4 and Atopic Dermatitis: Why Does it Matter? *A*

- Narrative Review. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2025 Mar;15(3):579-597. doi: 10.1007/s13555-025-01352-y. Epub 2025 Feb 10. PMID: 39930311; PMCID: PMC11909353. <https://doi.org/10.1007/s13555-025-01352-y>
38. Brewer MG, Yoshida T, Kuo FI, Fridy S, Beck LA, De Benedetto A. Antagonistic Effects of IL-4 on IL-17A-Mediated Enhancement of Epidermal Tight Junction Function. *Int J Mol Sci*. 2019 Aug 21;20(17):4070. doi: 10.3390/ijms20174070. PMID: 31438472; PMCID: PMC6747459. <https://doi.org/10.3390/ijms20174070>
39. Tian J, Zhu Q, Zhang Y, Bian Q, Hong Y, Shen Z, Xu H, Rui K, Yin K, Wang S. Olfactory Ecto-Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Ameliorate Experimental Colitis via Modulating Th1/Th17 and Treg Cell Responses. *Front Immunol*. 2020 Dec 10;11:598322. doi: 10.3389/fimmu.2020.598322. PMID: 33362781; PMCID: PMC7759000. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.598322>
40. Zhang B, Lai RC, Sim WK, Choo ABH, Lane EB, Lim SK. Topical Application of Mesenchymal Stem Cell Exosomes Alleviates the Imiquimod Induced Psoriasis-Like Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 13;22(2):720. doi: 10.3390/ijms22020720. PMID: 33450859; PMCID: PMC7828312. <https://doi.org/10.3390/ijms22020720>
41. Tian, Xin & He, Xiangling & Qian, Shuqin & Zou, Runying & Chen, Keke & Zhu, Chengguang & Yin, Zexi. (2023). Immunoregulatory effects of human amniotic mesenchymal stem cells and their exosomes on human peripheral blood mononuclear cells. *BIOCELL*. 47. 1085-1093. 10.32604/biocell.2023.027090. <https://doi.org/10.32604/biocell.2023.027090>
42. Zhang Q, Fu L, Liang Y, Guo Z, Wang L, Ma C, Wang H. Exosomes originating from MSCs stimulated with TGF- β and IFN- γ promote Treg differentiation. *J Cell Physiol*. 2018 Sep;233(9):6832-6840. doi: 10.1002/jcp.26436. Epub 2018 Apr 11. PMID: 29336475. <https://doi.org/10.1002/jcp.26436>
43. Stephan Weidinger, Natalija Novak, Atopic dermatitis, *The Lancet*, Volume 387, Issue 10023, 2016, Pages 1109-1122, ISSN 0140-6736. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00149-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00149-X)
44. Morizane S, Yamasaki K, Kajita A, Ikeda K, Zhan M, Aoyama Y, Gallo RL, Iwatsuki K. TH2 cytokines increase kallikrein 7 expression and function in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Jul;130(1):259-61.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2012.03.006. Epub 2012 Apr 21. PMID: 22521249; PMCID: PMC3387356. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.03.006>
45. Liu T, Li S, Ying S, Tang S, Ding Y, Li Y, Qiao J, Fang H. The IL-23/IL-

- 17 Pathway in Inflammatory Skin Diseases: From Bench to Bedside. *Front Immunol.* 2020 Nov 17;11:594735. doi: 10.3389/fimmu.2020.594735. PMID: 33281823; PMCID: PMC7705238. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7705238/>
46. Huang IH, Chung WH, Wu PC, Chen CB. JAK-STAT signaling pathway in the pathogenesis of atopic dermatitis: An updated review. *Front Immunol.* 2022 Dec 8;13:1068260. doi: 10.3389/fimmu.2022.1068260. PMID: 36569854; PMCID: PMC9773077. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9773077/>
47. Torres, T., Mendes-Bastos, P., Cruz, MJ *dkk.* Interleukin-4 dan Dermatitis Atopik: Mengapa Penting? Sebuah Tinjauan Naratif. *Dermatol Ther (Heidelb)* 15 , 579–597 (2025). <https://doi.org/10.1007/s13555-025-01352-y>
48. Zheng C, Shi Y, Zou Y. T cell co-stimulatory and co-inhibitory pathways in atopic dermatitis. *Front Immunol.* 2023 Mar 13;14:1081999. doi: 10.3389/fimmu.2023.1081999. PMID: 36993982; PMCID: PMC10040887. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10040887/>
49. Shin, K.-O.; Ha, DH; Kim, JO; Crumrine, DA; Meyer, JM; Wakefield, JS; Lee, Y.; Kim, B.; Kim, S.; Kim, H.-k.; *dkk.* Eksosom dari Sel Punca Mesenkimal yang Berasal dari Jaringan Adiposa Manusia Meningkatkan Perbaikan Barrier Epidermal dengan Menginduksi Sintesis Seramida De Novo pada Dermatitis Atopik. *Cells* 2020 , 9 , 680. <https://doi.org/10.3390/cells9030680>
50. Okoye IS, Coomes SM, Pelly VS, Czieso S, Papayannopoulos V, Tolmachova T, Seabra MC, Wilson MS. MicroRNA-containing T-regulatory-cell-derived exosomes suppress pathogenic T helper 1 cells. *Immunity.* 2014 Jul 17;41(1):89-103. doi: 10.1016/j.immuni.2014.05.019. Erratum in: *Immunity.* 2014 Sep 18;41(3):503. doi: 10.1016/j.immuni.2014.08.008. PMID: 25035954; PMCID: PMC4104030. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4104030/>
51. Chiricozzi A, Maurelli M, Peris K, Girolomoni G. Targeting IL-4 for the Treatment of Atopic Dermatitis. *Immunotargets Ther.* 2020 Sep 29;9:151-156. doi: 10.2147/ITT.S260370. PMID: 33062619; PMCID: PMC7532907.
52. Brandt EB, Sivaprasad U. Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis. *J Clin Cell Immunol.* 2011 Aug 10;2(3):110. doi: 10.4172/2155-9899.1000110. PMID: 21994899; PMCID: PMC3189506.
53. Alam MJ, Xie L, Yap YA, Robert R. A Mouse Model of MC903-Induced Atopic Dermatitis. *Curr Protoc.* 2023 Mar;3(3):e695. doi: 10.1002/cpz1.695. PMID: 36913546.

54. Moosbrugger-Martinez V, Schmuth M, Dubrac S. A Mouse Model for Atopic Dermatitis Using Topical Application of Vitamin D3 or of Its Analog MC903. *Methods Mol Biol.* 2017;1559:91-106. doi: 10.1007/978-1-4939-6786-5_8. PMID: 28063040.
55. Ha DH, Kim HK, Lee J, Kwon HH, Park GH, Yang SH, Jung JY, Choi H, Lee JH, Sung S, Yi YW, Cho BS. Mesenchymal Stem/Stromal Cell-Derived Exosomes for Immunomodulatory Therapeutics and Skin Regeneration. *Cells.* 2020 May 7;9(5):1157. doi: 10.3390/cells9051157. PMID: 32392899; PMCID: PMC7290908.
56. Zuo JC, Liang J, Hu N, Yao B, Zhang QJ, Zeng XL, Zhang LJ, Zhang X, Chang ZH, Chen C, Yan XJ, Shao WW, Zhu P, Li XH. Hypoxia preconditioned MSC exosomes attenuate high-altitude cerebral edema via the miR-125a-5p/RTEF-1 axis to protect vascular endothelial cells. *Bioact Mater.* 2025 Jun 18;52:541-563. doi: 10.1016/j.bioactmat.2025.06.018. PMID: 40599343; PMCID: PMC12212178.
57. Krzysiek J, Lesiak A, Szybka M, Michalak A, Pastuszek-Lewandoska D, Grzegorzczak J, Ciężńska M, Narbutt J. The role of heterodimer IL-17-A/F in atopic dermatitis. *Postepy Dermatol Alergol.* 2022 Dec;39(6):1093-1100. doi: 10.5114/ada.2022.122604. Epub 2022 Dec 22. PMID: 36686022; PMCID: PMC9837588.
58. Abdel-Mageed HM. Atopic dermatitis: a comprehensive updated review of this intriguing disease with futuristic insights. *Inflammopharmacology.* 2025 Mar;33(3):1161-1187. doi: 10.1007/s10787-025-01642-z. Epub 2025 Feb 7. PMID: 39918744; PMCID: PMC11914373.
59. Ni, X., Xu, Y., Wang, W. et al. IL-17D-induced inhibition of DDX5 expression in keratinocytes amplifies IL-36R-mediated skin inflammation. *Nat Immunol* 23, 1577–1587 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41590-022-01339-3>
60. Jung, S., Lee, S., Kim, H.J. et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles subvert Th17 cells by destabilizing ROR γ t through posttranslational modification. *Exp Mol Med* 55, 665–679 (2023). <https://doi.org/10.1038/s12276-023-00949-7>
61. Parhiz H, Atochina-Vasserman EN, Weissman D. mRNA-based therapeutics: looking beyond COVID-19 vaccines. *Lancet.* 2024 Mar 23;403(10432):1192-1204. doi: 10.1016/S0140-6736(23)02444-3. Epub 2024 Mar 7. PMID: 38461842.
62. Żak, Magdalena & Zangi, Lior. (2025). Clinical development of therapeutic mRNA applications. *Molecular Therapy.* 33. 10.1016/j.ymthe.2025.03.034.

63. Iyer SS, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol*. 2012;32(1):23-63. doi: 10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30. PMID: 22428854; PMCID: PMC3410706.
64. Branchett WJ, Saraiva M, O'Garra A. Regulation of inflammation by Interleukin-10 in the intestinal and respiratory mucosa. *Curr Opin Immunol*. 2024 Dec;91:102495. doi: 10.1016/j.coi.2024.102495. Epub 2024 Oct 1. PMID: 39357078.
65. Gisondi P, Gracia-Cazaña T, Kurzen H, Galván J. Calcipotriol/Betamethasone Dipropionate for the Treatment of Psoriasis: Mechanism of Action and Evidence of Efficacy and Safety versus Topical Corticosteroids. *Journal of Clinical Medicine*. 2024; 13(15):4484. <https://doi.org/10.3390/jcm13154484>
66. Patel RT, Gay JJ, Fagan KK, Eikenberg JD. Non-psoriatic uses of calcipotriol: a concise updated review. *Dermatol Online J*. 2023 Jun 15;29(3). doi: 10.5070/D329361422. PMID: 37591262.
67. Scotland RS, Stables MJ, Madalli S, Watson P, Gilroy DW. Sex differences in resident immune cell phenotype underlie more efficient acute inflammatory responses in female mice. *Blood*. 2011 Nov 24;118(22):5918-27. doi: 10.1182/blood-2011-03-340281. Epub 2011 Sep 12. PMID: 21911834; PMCID: PMC5363818.
68. Park, HJ., Choi, JM. Sex-specific regulation of immune responses by PPARs. *Exp Mol Med* 49, e364 (2017). <https://doi.org/10.1038/emm.2017.102>
69. Kim J, Lee SK, Jung M, Jeong SY, You H, Won JY, Han SD, Cho HJ, Park S, Park J, Kim TM, Kim S. Extracellular vesicles from IFN- γ -primed mesenchymal stem cells repress atopic dermatitis in mice. *J Nanobiotechnology*. 2022 Dec 10;20(1):526. doi: 10.1186/s12951-022-01728-8. PMID: 36496385; PMCID: PMC9741801.
70. Shahsavandi Y, Banaeian F, Jafarina M, Nasri F, Shapoori S. miRNAs from mesenchymal-stem-cell-derived extracellular vesicles: Emerging players in regenerative medicine and disease therapy. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2025 Sep 12;36(4):102715. doi: 10.1016/j.omtn.2025.102715. PMID: 41127333; PMCID: PMC12538106.
71. He K, Zang J, Ren T, Feng S, Liu M, Zhang X, Sun W, Chu J, Xu D, Liu F. Therapeutic Potential and Mechanisms of Mesenchymal Stem Cell and Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles in Atopic Dermatitis. *J Inflamm Res*. 2024 Aug 29;17:5783-5800. doi: 10.2147/JIR.S479444. PMID: 39224661; PMCID: PMC11368146.

72. Meesters, Luca D. et al.2025. Dissecting key contributions of TH2 and TH17 cytokines to atopic dermatitis pathophysiology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Volume 156, Issue 3, 690 – 704
73. Shin TH, Kim HS, Choi SW, Kang KS. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Inflammatory Skin Diseases: Clinical Potential and Mode of Action. *Int J Mol Sci*. 2017 Jan 25;18(2):244. doi: 10.3390/ijms18020244. PMID: 28125063; PMCID: PMC5343781.
74. Cho BS, Kim JO, Ha DH, Yi YW. Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis. *Stem Cell Res Ther*. 2018 Jul 11;9(1):187. doi: 10.1186/s13287-018-0939-5. PMID: 29996938; PMCID: PMC6042362.
75. Park, D., Kim, J.H., Yang, H. et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles exert Th1-mediated anti-inflammatory effects via miR-146a/NF- κ B pathway: comparison with dupilumab in a mouse model of atopic dermatitis. *Stem Cell Res Ther* 16, 496 (2025). <https://doi.org/10.1186/s13287-025-04649-z>

