

Pengaruh Pemberian *Mesenchymal Stem Cells Wharton's Jelly* terhadap Ekspresi Gen PPAR- γ pada Tikus Alzheimer

Nabila Priscilla Putri¹, Hirowati Ali², Tofrizal³, Eryati Darwin⁴, Restu Susanti⁵, Hasmiwati⁶

Abstrak

Alzheimer ditandai dengan adanya peningkatan produksi beta amyloid. PPAR- γ menunjukkan keterlibatan dalam penyakit Alzheimer. Gen PPAR- γ diduga mampu membersihkan plak beta amyloid dan mengurangi terjadinya peradangan serta stres oksidatif pada penyakit Alzheimer. *Mesenchymal Stem Cells Wharton's Jelly* (MSC-WJ) diharapkan mampu meningkatkan ekspresi gen PPAR- γ . **Tujuan:** Mengamati ekspresi gen PPAR- γ pada tikus yang mengalami Alzheimer. **Metode:** Tikus diberi perlakuan induksi menggunakan $AlCl_3$ dan MSC-WJ. Penelitian ini merupakan studi eksperimental dengan rancangan *the post test only control group design* yang menggunakan 18 sampel RNA hewan coba yang dibagi menjadi 3 kelompok, yakni kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), dan kelompok perlakuan (P). Nilai rerata ekspresi gen PPAR- γ didapatkan dari perbandingan gen PPAR- γ dengan gen GAPDH. Penelitian ini menggunakan metode semikuantitatif dengan ImageJ. Analisis data menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Dikatakan bermakna apabila $<0,05$. **Hasil:** Rerata ratio ekspresi gen PPAR- γ yang didapatkan pada kelompok K-, K+, dan P adalah 0,12; 0,06; 0,08. Didapatkan ada perbedaan yang signifikan pada setiap kelompok hewan coba dengan nilai p adalah 0,023 ($p<0,05$). **Simpulan:** pemberian MSC-WJ dapat meningkatkan ekspresi gen PPAR- γ .

Kata kunci: MSC-WJ, penyakit Alzheimer, PPAR- γ

Abstract

The increased production of beta-amyloid marks Alzheimer's disease. PPAR- γ shows involvement in Alzheimer's disease. PPAR- γ Gene is suspected to reduce beta-amyloid plaques and reduce inflammation and oxidative stress in Alzheimer's disease. Mesenchymal Stem Cells Wharton's Jelly (MSC-WJ) is expected to increase the PPAR- γ Gene expression. Objective: To observed the PPAR- γ Gene expression in Alzheimer's Mice. Methods: The mice are induced using $AlCl_3$ and were given MSC-WJ. This study was an experimental study with a post-test-only control group design on 18 samples of RNA from Alzheimer's mice that were divided into 3 groups. Negative control group (K-), positive control group (K+), and experimented group (P). The mean of PPAR- γ gene expression was obtained by comparing the PPAR- γ gene with the GAPDH gene. This study used semiquantitative methods using ImageJ. Data analysis was used with the Kruskal-Wallis test. It is significant if the value is $<0,05$. Results: The mean ratio of PPAR- γ gene expression that was obtained in K-, K+, and P were 0.12, 0.06, and 0.08, respectively. There were significant differences between each group, with a p-value of 0,023 ($p<0,05$). Conclusion: Giving MSC-WJ could increase the PPAR- γ gene expression. Further study using real-time PCR is highly needed to increase the MSC-WJ treatment in patients with Alzheimer's disease.

Keywords: Alzheimer disease, MSC-WJ, PPAR- γ

Afiliasi penulis: ¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Indonesia. ²Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Indonesia. ³Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Indonesia. ⁴Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Indonesia ⁵Departemen Neurologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Indonesia. ⁶Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Indonesia.

Korespondensi: Hirowati Ali, Email: hirowatiali@med.unand.ac.id

PENDAHULUAN

Demensia merupakan istilah umum untuk beberapa penyakit yang bersifat progresif, memengaruhi memori, kognitif, kemampuan, tingkah laku seseorang, dan mengganggu secara signifikan terhadap kemampuan individu dalam menjalankan aktivitas sehari-hari. Penyakit Alzheimer merupakan

bentuk paling umum dari demensia dimana 60-70 % kasus dari demensia adalah penyakit Alzheimer.¹

Penyakit Alzheimer merupakan gangguan neurodegeneratif yang menunjukkan perubahan kognitif progresif secara bertahap dan defisit fungsional. Alzheimer berkaitan dengan adanya perubahan perilaku yang berhubungan dengan penumpukan deposisi amiloid serta protein Tau di otak. Gejala kognitif Alzheimer yang paling sering, yaitu defisit dalam memori jangka pendek, eksekutif dan disfungsi visuospasial, serta praksis. Gangguan memori merupakan gejala khas pada Alzheimer. Meskipun umumnya non-defisit kognitif memori, seperti afasia, disfungsi eksekutif, dan apatis bisa bermanifestasi lebih awal dan menjadi gejala dari AD tetapi defisit memori dianggap sebagai gejala utama.²

Penelitian menunjukkan permulaan Alzheimer berkaitan dengan adanya mekanisme kaskade kompleks yang menyebabkan kematian pada neuron. Kaskade neurodegeneratif ini ditandai dengan adanya perubahan dalam produksi *beta amyloid* ($A\beta$). Dua faktor utama dalam terjadinya Alzheimer adalah pembentukan *neurofibrillary tangle* (NFT) dan hiperfosforilasi protein Tau. Peningkatan produksi *beta amyloid* ($A\beta$) serta adanya kekusutan *neurofibrillary* otak dapat merangsang sistem imun dan menginduksi adanya proinflamasi. Aktifnya kaskade inflamasi menginduksi kerusakan yang permanen pada sel-sel otak.³ Hubungan antara peradangan saraf dan disfungsi saraf pada Alzheimer, diatur oleh adanya aktivasi astrosit serta aktivasi sel mikroglia yang bersifat progresif. Aktivasi tersebut akan menimbulkan kelebihan produksi dari molekul proinflamasi.⁴

Gen *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ* (PPAR- γ) merupakan gen yang berperan penting dalam Alzheimer. Pengamatan yang dilakukan terhadap PPAR- γ menunjukkan bahwa PPAR- γ mampu menekan respon inflamasi pada makrofag perifer dan berperan dalam antiamiloidogenik dalam Alzheimer. PPAR- γ memiliki efek perbaikan status inflamasi pada otak pasien yang mengalami Alzheimer dengan cara menekan sekresi molekul proinflamasi, meningkatkan fungsi mitokondria, serta terlibat langsung terhadap mekanisme pembentukan peptida *beta amyloid* dan hiperfosforilasi protein Tau.⁵

Penelitian menunjukkan bahwa PPAR- γ memiliki efek neuroprotektif dengan cara mengatur transkripsi gen yang berkaitan dengan patogenesis dari neurodegenerasi pada Alzheimer. Penelitian lain juga menyebutkan bahwa PPAR- γ dapat mencegah terjadinya neurodegenerasi. Hal ini memperkuat kemungkinan translasi pengembangan terapi neuroprotektif baru yang menargetkan PPAR- γ untuk kondisi penyakit yang berkaitan dengan neurodegeneratif yaitu Alzheimer.⁶

Terapi yang mampu untuk mengobati penyakit Alzheimer secara efektif belum ada sampai sekarang, terutama dalam menghentikan progresivitas penyakit Alzheimer. Obat-obatan yang ada seperti asetilkolinesterase inhibitor atau antagonis reseptor NMDA hanya menawarkan manfaat simptomatik.⁷ Obat yang disetujui oleh *Food Drug Administration* (FDA) untuk pasien Alzheimer yaitu inhibitor kolinesterase (*donepezil*, *rivastigmine*, dan *galantamine*) dan modulator reseptor NMDA (*memantine*) hanya bertujuan untuk meningkatkan kualitas hidup dan memperpanjang usia tetapi gagal dalam menghentikan perkembangan penyakit. Pilihan terapi berbasis sel induk dalam penyakit neurodegeneratif memberikan harapan baru dalam pengobatan penyakit Alzheimer dengan strategi pergantian maupun regenerasi sel.⁸

Sel punca merupakan populasi sel yang memiliki kemampuan dalam berproliferasi secara ekstensif dalam hal memperbarui diri dari satu sel menjadi berbagai jenis sel maupun jaringan tertentu. Sel punca memiliki kapasitas yang besar dalam perbaharuan diri (*self-renewal*) untuk melakukan replikasi dan menghasilkan sel-sel dengan karakteristik yang sama dengan induk. Kemampuan ini diatur melalui interaksi dinamis antara protein intrinsik yang diekspresikan dengan sinyal ekstrinsik yang diterima.⁹ Sel punca memiliki ciri khas berupa dapat membangun struktur jaringan dalam tubuh dan plastisitas. Plastisitas sel punca merupakan kemampuan sel punca khusus jaringan dewasa untuk beralih menjadi identitas yang baru. Sel punca memiliki kemampuan transdiferensiasi menjadi garis keturunan yang spesifik.¹⁰ Sel punca berasal dari beberapa sumber yang memiliki potensi berbeda. Sel punca yang saat ini

mulai banyak digunakan adalah *Wharton's jelly* yang mengandung *Mesenchymal Stem Cells* (MSC). Ini merupakan sel multipoten yang memiliki kemampuan dalam berdiferensiasi menjadi sel osteogenik, adipogenik, kondrogenik, dan neurogenik. MSC dianggap sumber sel yang bisa ditransplantasi dalam pengobatan regeneratif yang efektif. Kumpulan sel ini dapat ditemukan di berbagai lokasi salah satunya terdapat pada lapisan tali pusat manusia (*Wharton's jelly*).¹¹

Mesenchymal Stem Cells Wharton's Jelly (MSC-WJ) merupakan salah satu jenis dari MSC dan berasal dari tali pusat. Tali pusat memiliki MSC dalam jumlah yang besar serta dianggap etis untuk dimanfaatkan karena tali pusat sering dianggap sebagai sesuatu yang tidak berguna. Keuntungan logistik ini menjadikan *Wharton's jelly* sebagai sumber sel punca yang menarik dalam suatu terapi. *Wharton's jelly* merupakan sumber yang sangat baik karena kandungan MSC dalam *Wharton's jelly* masih mempertahankan sifat primitif. *Mesenchymal Stem Cells Wharton's jelly* mampu berdiferensiasi menjadi sejumlah tipe sel yang mengarah ke berbagai fungsi. MSC-WJ juga mudah untuk dipanen jika dibandingkan dengan MSC seperti sumsum tulang.¹¹ Kemampuan MSC telah diuji pada model hewan Alzheimer dan didapatkan bahwa MSC mampu mengurangi ukuran plak A β . MSC juga bertindak dalam imunomodulator, yakni dapat meningkatkan regulasi dari sitokin anti-inflamasi; menurunkan proinflamasi, seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), IL-1, dan IL-6. MSC dapat berkontribusi dalam perlindungan neuron yang terpapar oleh stres oksidatif.¹²

Penelitian terbaru yang ditinjau oleh Wang *et al.* (2019) menunjukkan bahwa sel punca mampu menginduksi regenerasi langsung dari sel saraf dan sinapsis, mencegah pembentukan proinflamasi mikroglia dan mempromosikan pembentukan antiinflamasi dari mikroglia. Selain itu, efek pemberian dari sel punca juga dapat meningkatkan degradasi dari *beta amyloid*, mengurangi risiko kaskade *beta amyloid*, memperbaiki neuron yang cedera, meningkatkan sinaptogenesis. Sel punca memiliki efek yang besar dalam patogenesis Alzheimer dengan cara memperoleh kembali fungsi vital melalui memperbaiki neuron yang rusak.¹³

Angka harapan hidup semakin tinggi seiring dengan penambahan usia. Lansia yang menderita Alzheimer akan mengalami penurunan kualitas hidup karena adanya neurodegenerasi pada Alzheimer. Saat ini belum ada obat yang dapat menghentikan terjadinya neurodegenerasi. Sel punca diharapkan menjadi salah satu alternatif pengobatan yang menjanjikan bagi Alzheimer. MSC merupakan salah satu sumber sel punca yang dapat digunakan. Pada penelitian sebelumnya belum ada pembahasan lebih lanjut mengenai pengaruh MSC terhadap gen yang dianggap memiliki potensi besar dalam Alzheimer, yakni PPAR- γ . Gen PPAR- γ ikut terlibat pada patogenesis Alzheimer dalam melakukan modulasi plak *amyloid*.¹⁴ Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai "Pengaruh Pemberian *Mesenchymal Stem Cells Wharton's Jelly* terhadap Ekspresi Gen PPAR- γ pada Tikus Alzheimer."

METODE

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan menggunakan rancangan *the post-test only control group design*. Penelitian ini menggunakan 18 sampel RNA dari jaringan otak tikus yang dibagi menjadi 3 kelompok, yakni: Kelompok kontrol (-); RNA dari tikus tanpa perlakuan AICl₃ maupun MSC-WJ, Kelompok kontrol (+); RNA dari tikus yang diberikan AICl₃ dosis 300 mg/kg BB, dan Kelompok perlakuan; RNA dari tikus yang diberikan perlakuan AICl₃ dosis 300 mg/kgBB + HWJ-MSC dengan dosis 1x10⁶ sel /tikus dalam 300 μ l medium).

Sintesis cDNA

Penelitian ini diawali dari tahap sintesis cDNA dengan menggunakan aliquot synthesis kit (*Sensifast cDNA Asynthesis kit bioline cat no. bi 65045*). Selanjutnya, inkubasi reaksi tersebut selama 10 menit pada suhu 25°C, 15 menit pada suhu 42°C dan selama 5 menit pada suhu 85°C menggunakan PCR konvensional.

PCR

Semua proses PCR dilakukan dalam rentang amplifikasi selama 35 siklus amplifikasi dengan siklus inti terdiri dari predenaturasi 95°C selama 1 menit, denaturasi 95°C selama 15 detik, *annealing* 60,4°C

selama 15 detik, *extension* 72 °C selama 10 detik, dan *final extension* 72 °C selama 5 menit. cDNA yang diperoleh menjadi sasaran amplifikasi PCR untuk memperkirakan ekspresi gen PPAR- γ dan GAPDH. Urutan *forward* dan *reverse* primer gen PPAR- γ yang digunakan adalah 5'-CCAAGAATACCAAAGTGC GA-3' dan 3'-TGCTTTATCCCCACAGACTC-5'.

Elektroforesis

Hasil PCR divisualisasikan menggunakan teknik elektroforesis gel agarose 1,5%. Elektroforesis ini dilakukan selama 60 menit menggunakan tegangan yang konstan sebesar 100 volt.

Pengukuran Konsentrasi Gen

Pengukuran konsentrasi gen dalam penelitian ini menggunakan metode semikuantitatif.

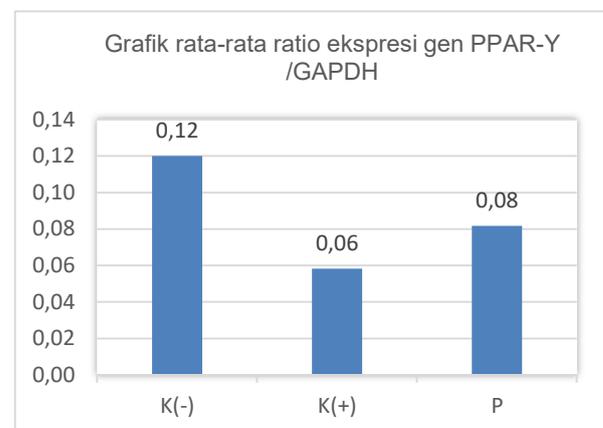
Analisis Data

Data dianalisis secara statistik berdasarkan variabel yang dinilai menggunakan sistem komputerisasi yaitu analisis univariat dan bivariat. Analisis univariat dilakukan untuk melihat distribusi frekuensi dari masing-masing variabel independen dan variabel dependen. Analisis bivariat dilakukan untuk menganalisis hubungan antara variabel independen dan variabel dependen. Hubungan dua variabel tersebut dianalisis dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan dikatakan bermakna bila $p < 0.05$. Dilanjutkan dengan menggunakan uji *Mann Withney*, dikatakan bermakna bila $p < 0.05$. Penelitian ini telah lulus kaji etik dengan nomor surat: 796/UN.16.2/KEP-FK/2022.

HASIL

Hasil yang didapatkan berupa rerata ratio ekspresi gen PPAR- γ /GAPDH. Pengujian data dilakukan dengan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan didapatkan hasilnya pada kelompok kontrol (-), kontrol (+), dan perlakuan (AlCl_3 + MSC-WJ) berturut-turut adalah 0.183, 0.031, dan 0.148. Nilai $p < 0,05$ sehingga disimpulkan bahwa data tidak terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan uji *Levene* dan diperoleh hasil

0,19. Nilai signifikan $<0,05$ yang artinya data tidak homogen. Data yang didapatkan tidak normal dan tidak homogen sehingga data dilanjutkan dengan uji uji *Kruskal Wallis* nilai $p=0.023$ ($p < 0,05$) setelah diberikan MSC-WJ 1×10^6 sel/ tikus dalam $300 \mu\text{l}^3$ medium. Disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok hewan coba. Uji lanjut untuk melihat perbedaan ekspresi antar kelompok menggunakan uji Mann Whitney menunjukkan nilai signifikan pada kelompok kontrol (-) dengan kelompok kontrol (+) yaitu 0.013 ($p < 0,05$) dan pada kelompok kontrol (+) dengan perlakuan, yaitu 0,049 ($p < 0,05$). Data rerata ratio ekspresi gen PPAR- γ ditampilkan pada grafik berikut ini:



Gambar 1. Grafik rata-rata ekspresi gen PPAR- γ pada kelompok kontrol (-) berupa tikus normal, kelompok kontrol (+) berupa tikus yang diinduksi AlCl_3 , dan kelompok perlakuan (P) berupa tikus yang diinduksi AlCl_3 + MSC-WJ

Pada penelitian ini ekspresi gen PPAR- γ pada kelompok yang diinduksi AlCl_3 memiliki ekspresi yang paling rendah yaitu dengan rerata ratio sebesar 0,06. Hal ini terjadi kemungkinan disebabkan oleh adanya penginduksian zat Aluminium Klorida (AlCl_3) yang dapat meningkatkan plak beta amyloid sehingga akan terjadi penurunan kadar PPAR- γ . Aluminium adalah suatu zat neurotoksin yang berkaitan dengan perkembangan patologis berbagai neurologis. Aluminium dapat bertindak sebagai pengikat silang protein amyloid sehingga menimbulkan plak $\text{A}\beta$. Selain itu, Aluminium menghasilkan oligomerisasi yang merangsang suatu neurotoksisitas.¹⁵

PEMBAHASAN

Penelitian Prashantha *et al.* (2020) menunjukkan PPAR- γ ikut terlibat dalam modulasi plak amyloid pada agonis dari PPAR- γ memberikan efek terapeutik dalam Alzheimer melalui pelemahan kaskade inflamasi sentral yang diinduksi oleh mikroglial. PPAR- γ mampu memfasilitasi pembersihan dari plak beta amyloid serta menurunkan hiperfosforilasi protein Tau. Pasien Alzheimer yang menerima agonis PPAR- γ menunjukkan adanya peningkatan dari fungsi kognitif.⁶ Pada penelitian ini, kelompok yang diinduksi dengan $AlCl_3$ menunjukkan peningkatan rerata rasio ekspresi gen PPAR- γ dari 0,06 menjadi 0,08 setelah diberikan perlakuan menggunakan MSC-WJ dengan dosis 1×10^6 /tikus dalam 300 μ l medium. Peningkatan ini diduga terjadi karena adanya pemberian MSC-WJ yang mampu meningkatkan ekspresi dari gen PPAR- γ . MSC mempunyai suatu vesikel ekstraseluler yang mampu menurunkan aktivasi astrosit dan mikroglia, menurunkan proinflamasi, dan meningkatkan regulasi sitokin antiinflamasi.¹⁶ Aktivasi dari PPAR- γ mengakibatkan terjadinya penekanan dari berbagai faktor transkripsi yang terlibat dalam inflamasi seperti faktor nuklir κB (NF- κB), Stat-1, dan AP-1 *transcription factor*.¹⁷ PPAR- γ merangsang ekspresi protein transport kolesterol apolipoprotein E yang terlibat dalam pembersihan plak $A\beta$ terlarut. Fungsi ini sangat penting dalam mencegah adanya deposisi dari protein $A\beta$ pada jaringan otak.¹⁸

Penelitian Satvik *et al.* (2020) menunjukkan bahwa agonis dari PPAR- γ seperti *Pioglitazone* dan *Rosiglitazone* menghasilkan efek yang menjanjikan pada penyakit Alzheimer. Obat tersebut bekerja dengan cara mengurangi peradangan saraf dan mampu memperbaiki metabolisme dari glukosa yang mengarah pada perbaikan saraf. PPAR- γ yang diaktivasi oleh obat tersebut memperlambat degradasi lebih lanjut dari neurodendritik serta menghambat reaksi neuroinflamasi pada pasien anemia aplastik.¹⁹

Penelitian Yang *et al.* (2013) menunjukkan bahwa pemberian MSC-WJ ke hipokampus tikus transgenic model Alzheimer mengalami penurunan plak $A\beta$ dan pemberian MSC-WJ juga meningkatkan memori tikus melalui modulasi peradangan saraf. MSC-WJ memiliki suatu enzim bernama neprilysin yang memiliki kemampuan untuk memfasilitasi

pembersihan plak beta amyloid. MSC-WJ mampu mengurangi beban plak beta amyloid melalui degradasi $A\beta$ dengan jalur endosomal lisosom.²⁰ Penelitian Kim *et al.* (2010) menunjukkan bahwa MSC terbukti dalam memperbaiki kecacatan pada tikus model Alzheimer dengan cara mempercepat proses pembersihan amyloid dan protein Tau.²¹

SIMPULAN

Pemberian MSC-WJ dapat meningkatkan ekspresi gen PPAR- γ .

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada berbagai pihak yang telah banyak memberikan bimbingan serta motivasi dalam penelitian ini sehingga dapat selesai sebagaimana yang diharapkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization (WHO) . Global action plan on the public health response to dementia 2017 – 2025 [diunduh 3 Januari 2023]. Geneva World Heal Organ. 2017;52. Tersedia dari https://www.google.co.id/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwilqNDRyoGBAxUgS2wGHbIFDtAQFnoECBAQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.paho.org%2Fen%2Fdocuments%2Fglobal-action-plan-public-health-response-dementia-2017-2025&usq=AOvVaw3tuPYJZq0u8z3g_7P3NdCd&opi=89978449
2. Calderon-Garcidueñas AL, Duyckaerts C. Alzheimer disease. *Handb Clin Neurol*. 2018;145:325-37.
3. Bagyinszky E, Giau V Van, Shim K, Suk K, An SSA, Kim SY. Role of inflammatory molecules in the Alzheimer's disease progression and diagnosis. *J Neurol Sci*. 2017;376:242–54.
4. Ahmad MH, Fatima M, Mondal AC. Influence of microglia and astrocyte activation in the neuroinflammatory pathogenesis of Alzheimer's disease: Rational insights for the therapeutic approaches. *J Clin Neurosci*. 2019;59:6-11.
5. Kummer MP, Heneka MT. PPARs in Alzheimer's disease. *PPAR Res*. 2008;2008(4):403896.
6. Prashantha Kumar BR, Kumar AP, Jose JA, Prabitha P, Yuvaraj S, Chipurupalli S, *et al.*

- Minutes of PPAR- γ agonism and neuroprotection. *Neurochem Int.* 2020;140(July):104814.
7. Hayashi Y, Lin HT, Lee CC, Tsai KJ. Effects of neural stem cell transplantation in Alzheimer's disease models. *J Biomed Sci.* 2020;27(1):1–11.
 8. Guo M, Yin Z, Chen F, Lei P. Mesenchymal stem cell-derived exosome: A promising alternative in the therapy of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res Ther.* 2020;12(1):1–14.
 9. Fuchs E, Chen T. A matter of life and death: Self-renewal in stem cells. *EMBO Rep.* 2013;14(1):39–48.
 10. Wang X. Stem cells in tissues, organoids, and cancers. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(20):4043–70.
 11. Lee JH, Oh IH, Lim HK. Stem cell therapy: A prospective treatment for Alzheimer's disease. *Psychiatry Investig.* 2016;13(6):583–9.
 12. Elia CA, Losurdo M, Malosio ML, Coco S. Extracellular Vesicles from Mesenchymal Stem Cells Exert Pleiotropic Effects on Amyloid- β , Inflammation, and Regeneration: A Spark of Hope for Alzheimer's Disease from Tiny Structures? *BioEssays.* 2019;41(4):1–10.
 13. Wang SM, Lee CU, Lim HK. Stem cell therapies for Alzheimer's disease: Is it time? *Curr Opin Psychiatry.* 2019;32(2):105–16.
 14. Schnegg CI, Robbins ME. Neuroprotective mechanisms of PPAR δ : Modulation of oxidative stress and inflammatory processes. *PPAR Res.* 2011;2011(2):373560.
 15. Shunan D, Yu M, Guan H, Zhou Y. Neuroprotective effect of Betalain against A β 1-42-induced Alzheimer's disease in Sprague Dawley Rats via putative modulation of oxidative stress and nuclear factor kappa B (NF- κ B) signaling pathway. *Biomed Pharmacother.* 2021 May 1;137:111369.
 16. Costa LA, Eiro N, Fraile M, Gonzalez LO, Saá J, Garcia P, *et al.* Functional heterogeneity of mesenchymal stem cells from natural niches to culture conditions : implications for further clinical uses. *Cell Mol Life Sci.* 2020.78(2):447-67.
 17. Govindarajulu M, Pinky PD, Bloemer J, Suppiramaniam V, Amin R, Ghanei N. Signaling Mechanisms of Selective PPAR γ Modulators in Alzheimer ' s disease. 2021;39:1-20.
 18. Marinelli R, Torquato P, Bartolini D, Mas-Bargues C, Bellezza G, Gioiello A, *et al.* Garcinoic acid prevents β -amyloid (A β) deposition in the mouse brain. *J Biol Chem.* 2020;295(33):11866–76.
 19. Satvik K, Swapna B, Kulkarni VM, Setty RS, Kumar BH, Harisha R. An in-silico approach: Identification of PPAR- γ agonists from seaweeds for the management of Alzheimer's Disease . *J Biomol Struct Dyn.* 2021;39(6).
 20. Yang H, Xie Z, Wei L, Yang H, Yang S, Zhu Z, *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived neuron-like cells rescue memory deficits and reduce amyloid-beta deposition in an A β PP/PS1 transgenic mouse model. *Stem Cell Res Ther.* 2013 Jul 4;4(4):76.
 21. Kim K, Lee SG, Kegelman TP, Su ZZ, Das SK, Dash R, *et al.* Role of excitatory amino acid transporter-2 (EAAT2) and glutamate in neurodegeneration: opportunities for developing novel therapeutics. *J Cell Physiol.* 2011 Oct;226(10): 2484-93.