



# Efecto de la cúrcuma sobre características fenotípicas de la cepa mutante de *Caenorhabditis elegans* NL5901 para la enfermedad de Parkinson

Para optar por el título de:  
**BACTERIOLOGO Y LABORATISTA CLÍNICO**

Presentado por:  
**FERNANDA FAJARDO RUSINQUE.**

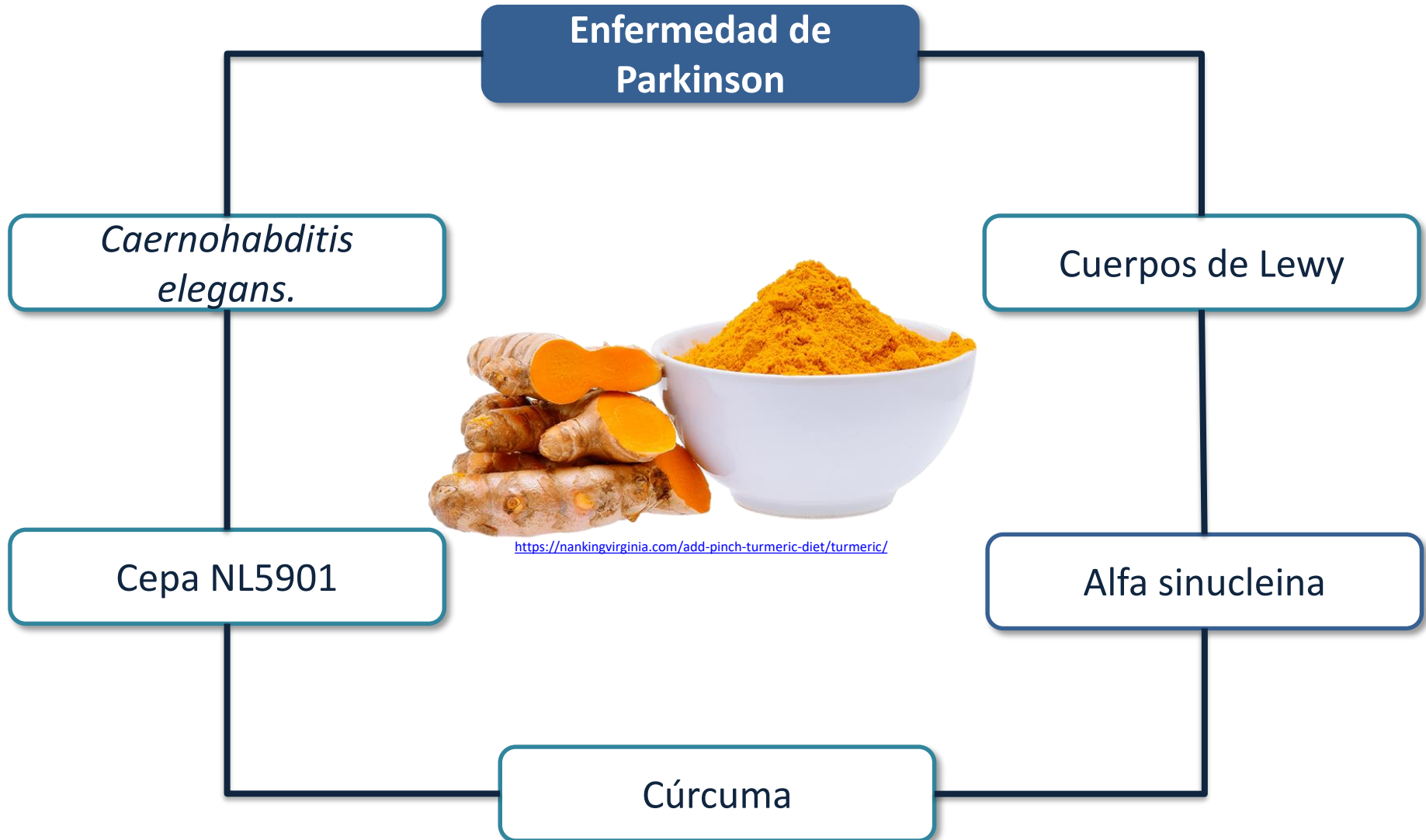
Asesor Interno:  
**RUTH MÉLIDA SÁNCHEZ MORA Ph.D**  
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

**BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO**  
**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**  
**2018.**

# CONTENIDO

- 1.** Introducción
- 2.** Objetivos
- 3.** Marco teórico
- 4.** Antecedentes
- 5.** Metodología
- 6.** Resultados
- 7.** Discusión
- 8.** Conclusiones

# INTRODUCCIÓN



# OBJETIVOS

## GENERAL

Describir el efecto de la cúrcuma sobre las características fenotípicas de longevidad, esperanza de vida, reproducción y agregación proteica de alfa sinucleina en la cepa NL5901 de *Caenorhabditis elegans*.

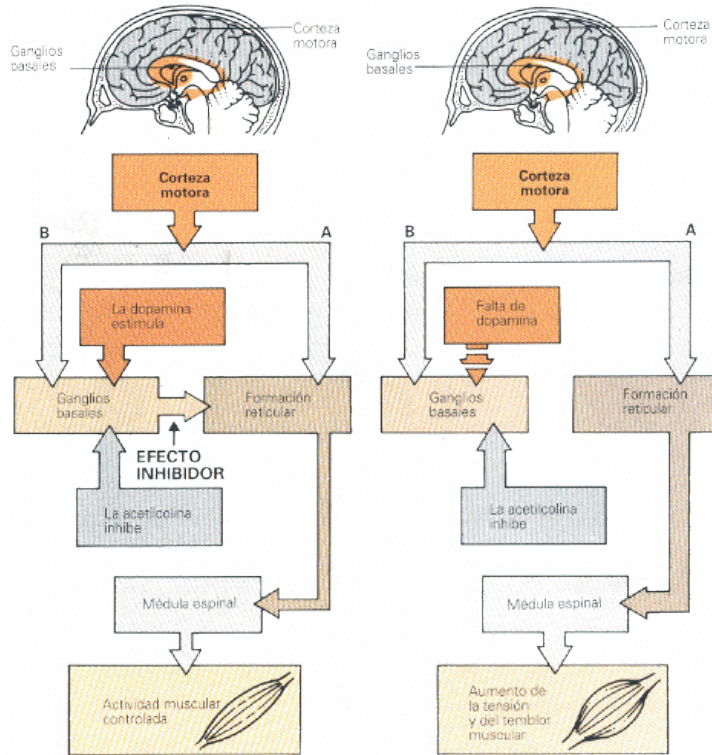
## ESPECÍFICOS

- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria de la solución de la cúrcuma a diferentes concentraciones para *E coli* OP50.
- Describir las características fenotípicas de la cepa salvaje N2 y la cepa mutante NL5901.
- Describir el efecto de la cúrcuma sobre las características fenotípicas de la cepa NL5901 posterior al tratamiento en diferentes concentraciones.

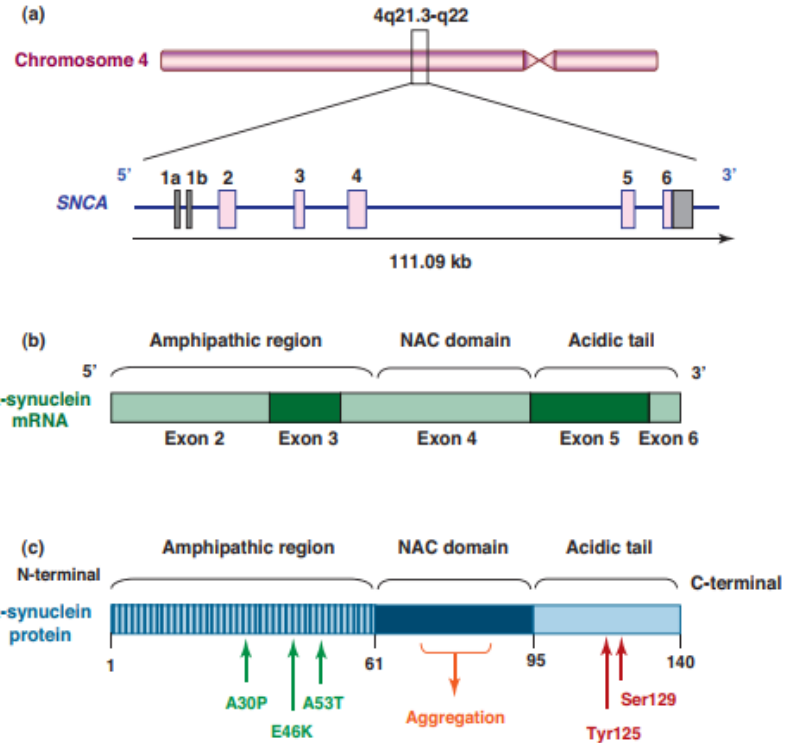
# MARCO TEÓRICO

**Enfermedad de Parkinson<sup>1,3</sup>**  
 Enfermedad neurodegenerativa.

**Alfa sinucleína<sup>2,4</sup>**  
 Proteína de unión a membrana periférica.



<https://www.taringa.net/posts/apuntes-y-monografias/10526657/Enfermedades-de-Parkinson-y-Huntington.html>



<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166223610001359>

1. Nussbaum RL, Ellis CE. Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *New England Journal of Medicine*. 2003;348(14):1356-64.
2. Burre J. The Synaptic Function of alpha-Synuclein. *J Parkinsons Dis*. 2015;5(4):699-713.
3. Rizek P, Kumar N, Jog MS. An update on the diagnosis and treatment of Parkinson disease. *Cmaj*. 2016;188(16):1157-65.
4. Xu L, Pu J. Alpha-Synuclein in Parkinson's Disease: From Pathogenetic Dysfunction to Potential Clinical Application. 2016;2016:1720621

# MARCO TEÓRICO

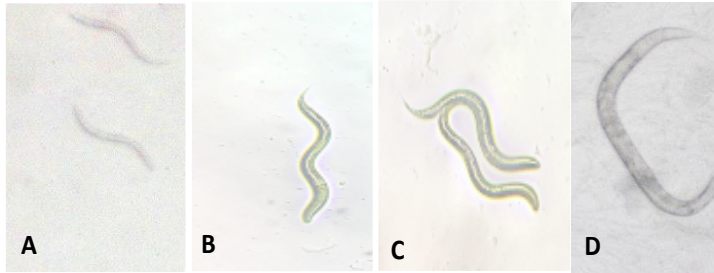
## *Caenorhabditis elegans*<sup>4,5</sup> Modelo Biológico.

Corto ciclo  
de vida

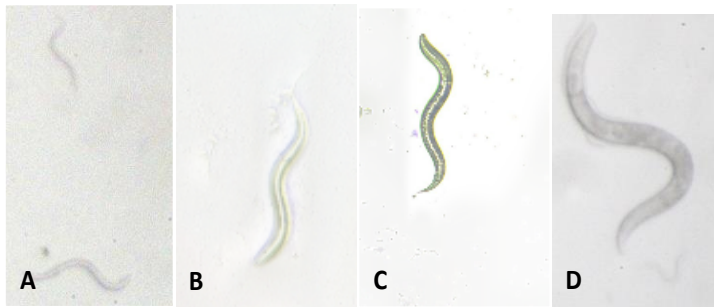
Fácil  
mantenimiento

Ortología  
en genes

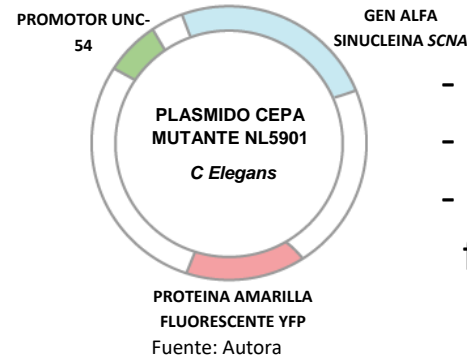
Cepa N2



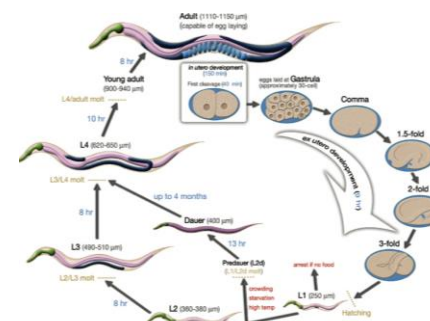
Cepa NL5901



Fuente: Autora



- SCNA<sup>6</sup>
- Promotor UNC-54
- Proteína amarilla fluorescente



- Cinco estadios larvarios
- Hermafroditas y machos
- *E coli* OP50

<http://www.wormatlas.org/ver1/handbook/anatomyintro/anatomyintro.htm>

4. Bargmann CI. Chemosensation in *C. elegans* WormBook : the online review of *C. elegans* biology. 2006(6)

5. Database JSE. *C. elegans* Development and Reproduction. Biology I: yeast, *Drosophila* and *C. elegans*: JoVe; 2018.

# MARCO TEÓRICO

## Cúrcuma<sup>6</sup>

Raíz con poder antioxidante.

### COMPONENTES <sup>7</sup>

Componente activo  
Curcumina  
diferuloylmetano  
(C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>)

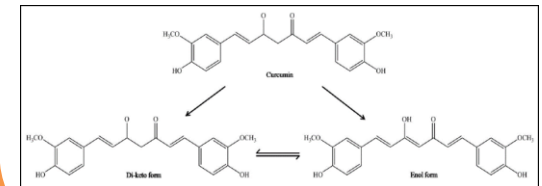
Polifenol

Compuestos  
de clase  
terpenoide



### PROPIEDADES <sup>8</sup>

- ✓ Inmunomodulador
- ✓ Regulador de factores de transcripción.
- ✓ Antibacterial.
- ✓ Anti- Mutagénico
- ✓ Anti- isquémico



<https://myphytolector.wordpress.com/tag/anti-inflammatoire/>

6. Lee WH, Loo CY, Bebawy M, Luk F, Mason RS, Rohanizadeh R. Curcumin and its derivatives: their application in neuropharmacology and neuroscience in the 21st century. *Curr Neuropharmacol*. 2013;11(4):338-78.

7. Bharat B, Aggarwal Y-JS, Shishir Shishodia. The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease.: Springer; 2007. 501 p.

8. Shen LR, Parnell LD, Ordovas JM, Lai CQ. Curcumin and aging. *BioFactors*. 2013;39(1):133-40.

# ANTECEDENTES

## ENFERMEDAD DE PARKINSON

- Goetz et al. (2011) Descripciones clínicas tempranas de la enfermedad de Parkinson
- Goedert M. et al (2001) Alfa sinucleína y enfermedades neurodegenerativas.
- Van Ham et al. (2008) Modelo de *C. elegans* NL5901 de para la agregación proteica de alfa sinucleína. .

## AGREGACIÓN PROTEICA

- Onko K et al (2006) Antioxidantes y su poder antifibrillogénico y desfibrilizante en fibrillas de alfa sinucleína
- Xiao L, (2014) et al. Efectos neuroprotectores de Salidroside en un modelo para la enfermedad de Huntington de *C. elegans*.
- Liu J at al (2015). Efectos neuroprotectores de *Chondrus crispus* en el modelo *C. elegans* de la enfermedad de Parkinson.

## CÚRCUMA

- Sheng et al. (2012) Evaluación de los efectos de la cúrcuma en tres modelos biológicos.
- Khuwaja et al. (2011) Efectos neuroprotectores de la cúrcuma en un modelo de ratones.
- Zhaohui et al. (2011) Cúrcuma protege contra los efectos de la mutación A53T en células PC12



# DISEÑO METODOLÓGICO

Investigación de tipo  
experimental

**Población:** Nematodos de vida libre del genero *C elegans*.

**Muestra:** Cepa silvestre N2 y mutante NL5901 del  
nematodo *C elegans*

## VARIABLE DEPENDIENTE

- Mantenimiento y viabilidad de las cepas .
- Absorción del tratamiento.

## VARIABLE INDEPENDIENTE

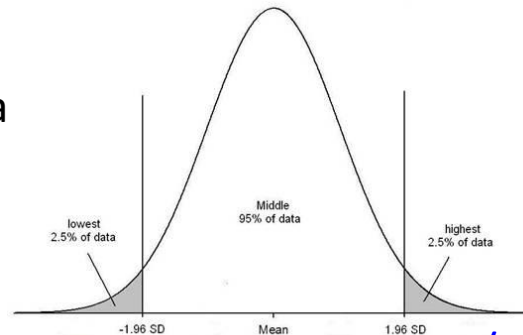
- Tratamiento a diferentes concentraciones de cúrcuma (0.5 mg/ml 1.0 mg/ml 1.5 mg/ml)

# ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Prueba de análisis de varianza de una vía ONE WAY ANOVA aplicación de prueba de Dunnett para cepa sometida al tratamiento

Análisis de varianza de un factor					
RESUMEN					
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza	
Fila 1	3	24,8	8,26666667	1,84333333	
Fila 2	3	36,6	12,2	3,24	
Fila 3	3	48,3	16,1	0,73	
Fila 4	3	58,8	19,6	9	
ANÁLISIS DE VARIANZA					
Entre grupos	Suma de los cuadrados	Libertad de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	215,6225	3	71,8741667	19,4079658	0,000498088
Dentro de lo	29,6266667	8	3,70333333		
Total	245,249167	11			

Nivel de confianza  
95%



<https://feelthebrain.me/tag/campana-de-gauss/>



# METODOLOGÍA

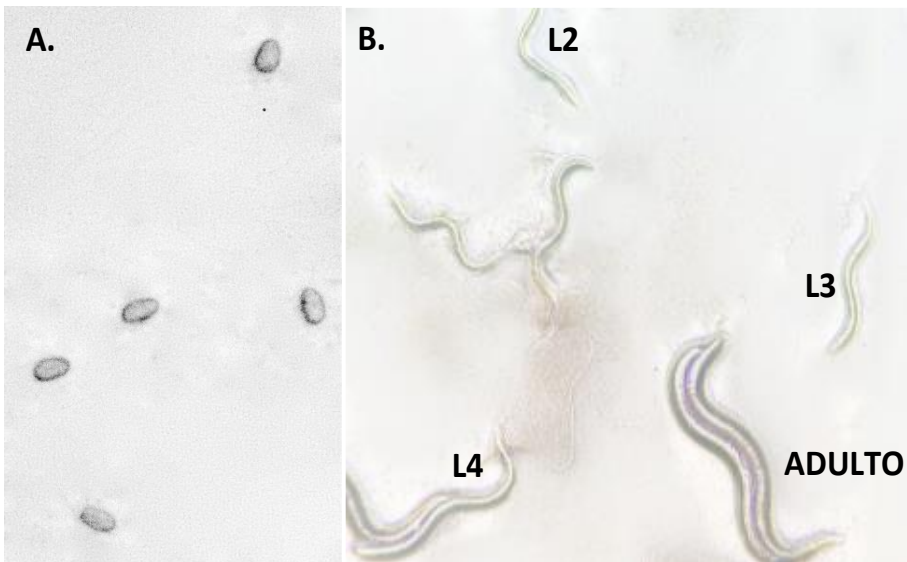
## MANTENIMIENTO De CEPAS<sup>9</sup>

### *Caenorhabditis elegans*

- ✓ Medio para crecimiento NGM
- ✓ Temperatura: 20°C
- ✓ Enriquecimiento del medio
- ✓ Solución de tratamiento

### *E coli OP50*

- ✓ Medio para crecimiento MacConkey
- ✓ Temperatura: 37°C
- ✓ 32 Horas para el crecimiento



Fuente: Autora

Nematodos en estadio adulto y  
huevos visibles

Limpieza de cajas con M9

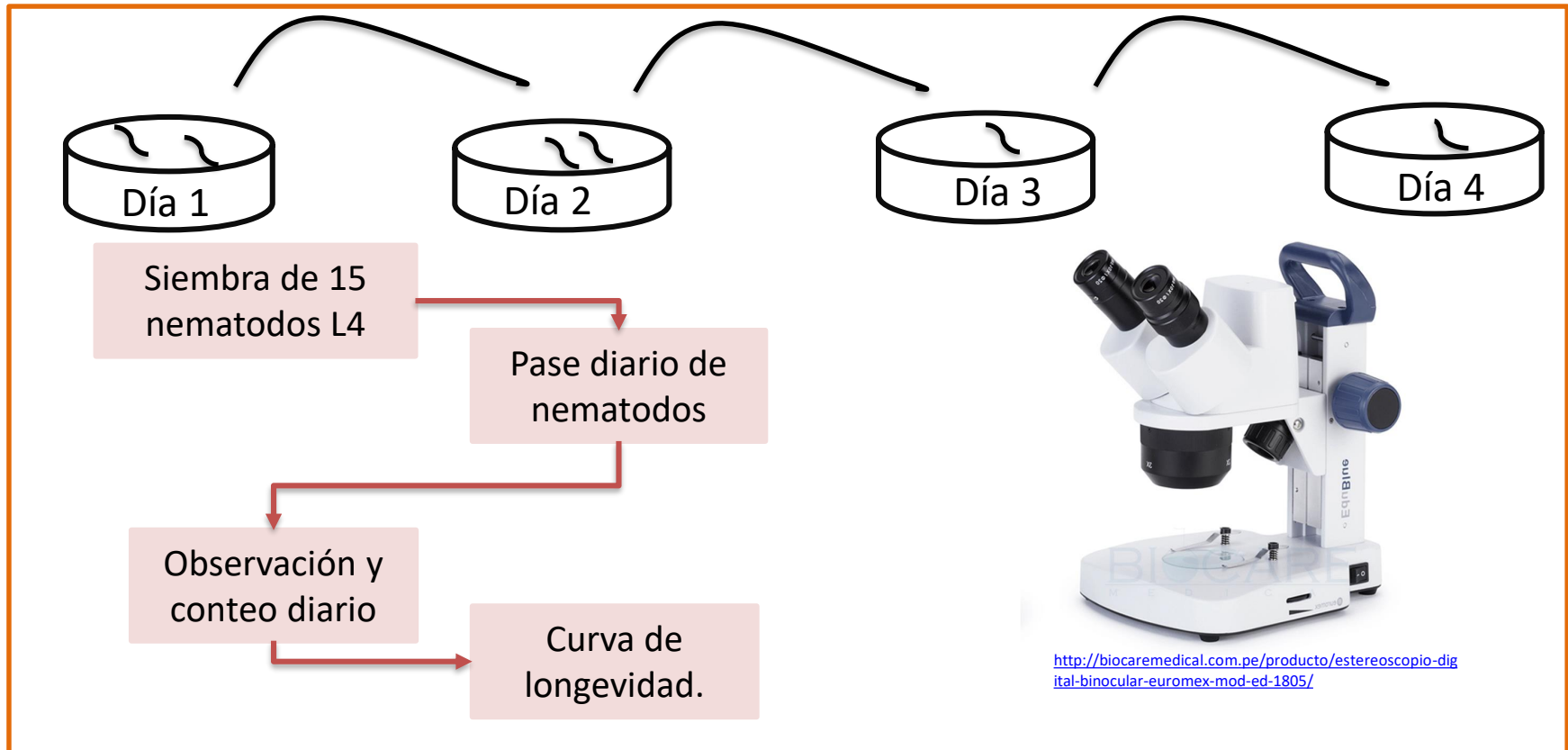
Tratamiento con Hipoclorito

Obtención de huevos

# METODOLOGÍA

## ENSAYO DE ESPERANZA DE VIDA<sup>10</sup>

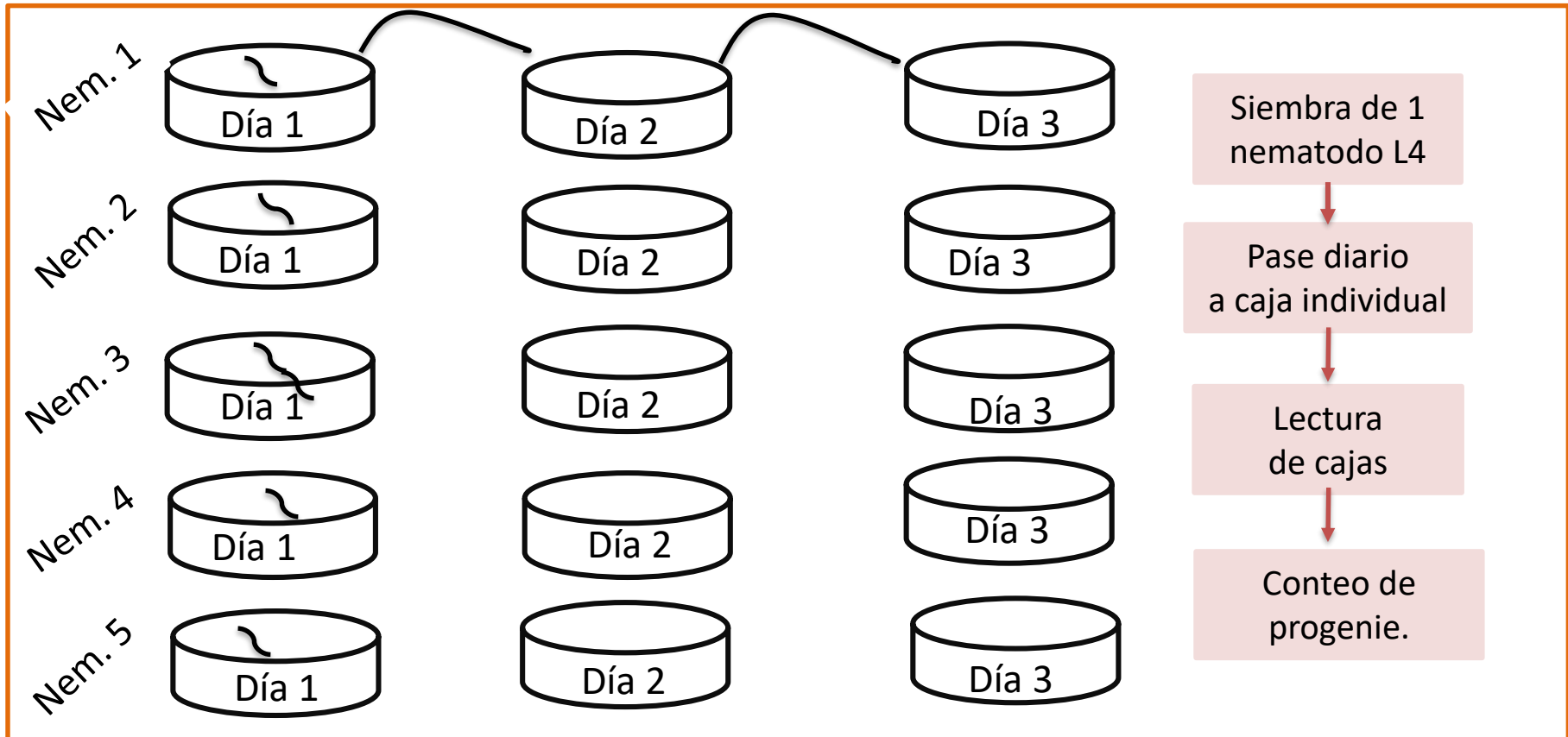
Determinación de la duración del ciclo de vida



# METODOLOGÍA

## ENSAYO DE REPRODUCCIÓN<sup>9</sup>

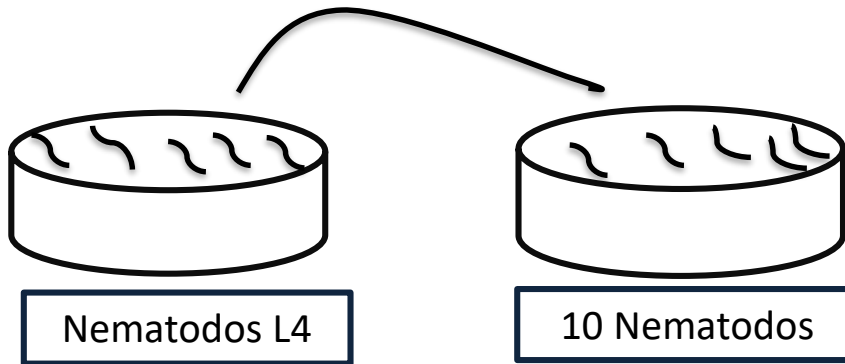
Determinación de capacidad de producción de progenie del nematodo



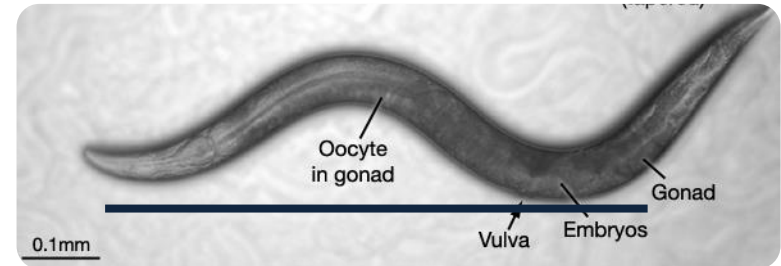
# METODOLOGÍA

## ENSAYO DE REPRODUCCIÓN

Evaluación del movimiento del nematodo en 30 segundos



Evaluación del movimiento en 30 segundos



<http://wp.wpi.edu/qntl/resources/c-elegans/getting-set-up-in-the-lab/>



Fuente: Autora

# METODOLOGÍA

## CUANTIFICACIÓN DE AGREGADOS PROTEICOS

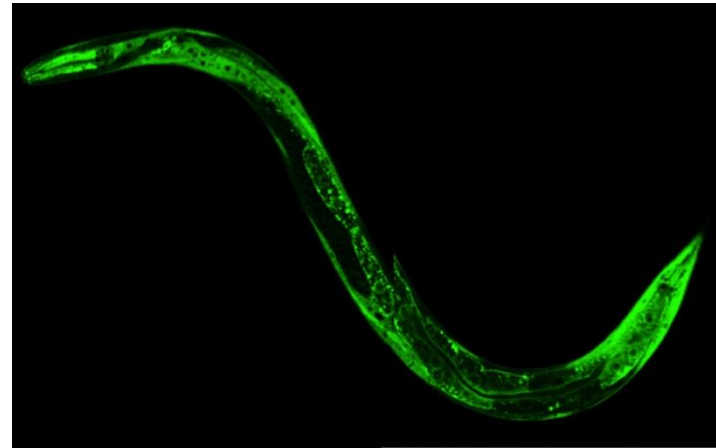
Evaluación de la cantidad de agregación proteica en el nematodo a través del tratamiento.

Inmovilización del nematodo L4 con Levamisol

Fotografía de la observación

Cuantificación a través de ImageJ

Normalización de los datos



<https://medicalinsider.ru/news/4128-uchenye-vyvavili-gen-kotoryy-pozvolit-est-sladkoe-i-ne-tolstet/>

**ImageJ**  
Image Processing and Analysis in Java



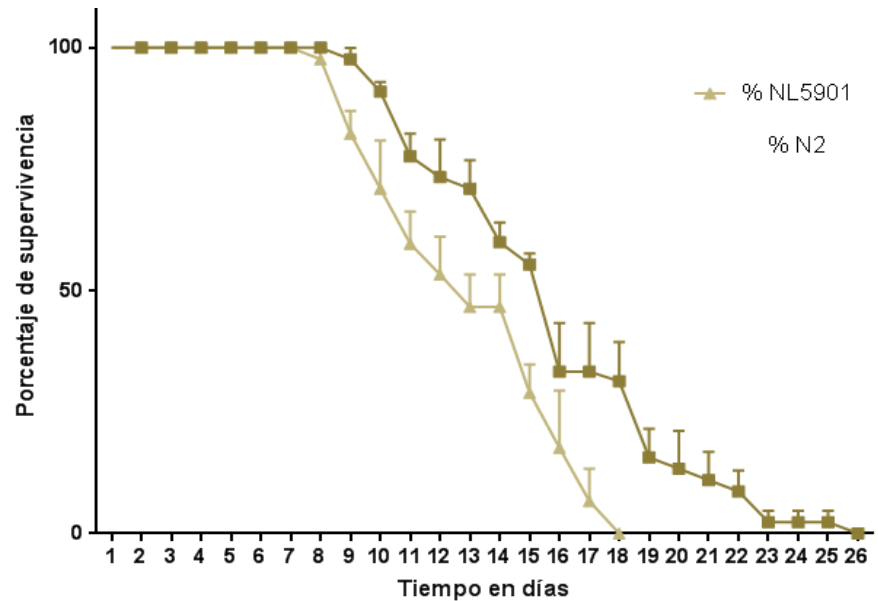
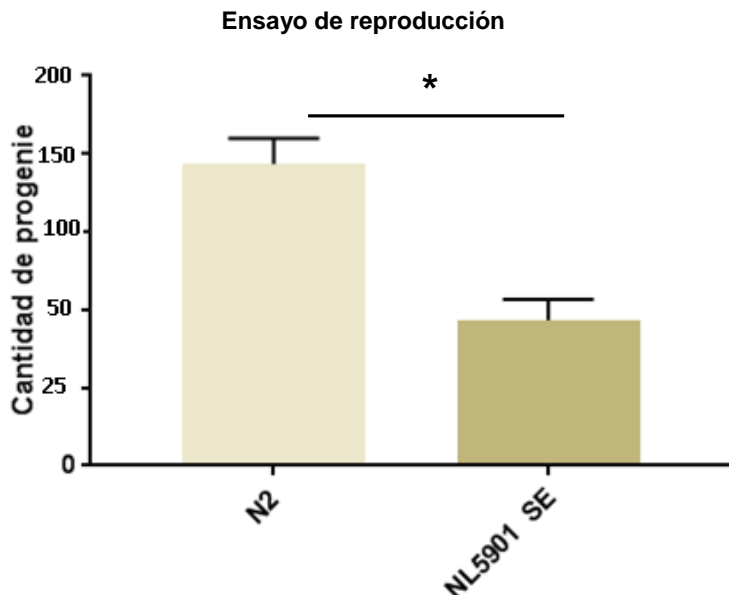
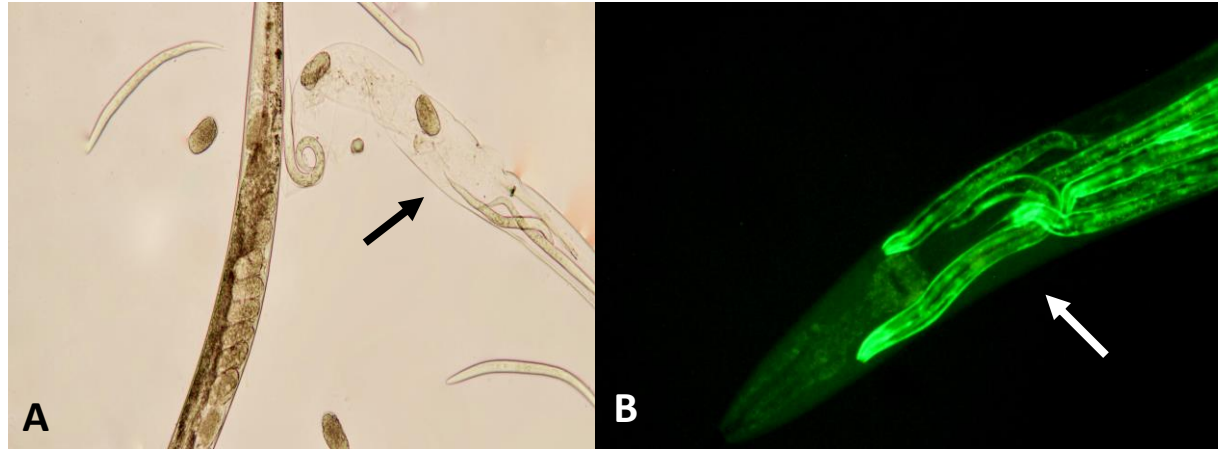
[https://www.google.com.co/search?q=image+j&safe=active&source=Inms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKewipjYf8tYnbAhXCs1kKHetSBv4Q\\_AUICigB&biw=1366&bih=662#imgrc=2ZFvYffmG9kGzM:](https://www.google.com.co/search?q=image+j&safe=active&source=Inms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKewipjYf8tYnbAhXCs1kKHetSBv4Q_AUICigB&biw=1366&bih=662#imgrc=2ZFvYffmG9kGzM:)

# RESULTADOS

## ESPERANZA DE VIDA Y REPRODUCCIÓN

- **Longevidad:**  
N2 (26 Días) NL5901 (18 Días).  
Park 2017  
Harrington 2010
- **Reproducción**  
N2 (139) NL5901 (47)  
Trent 1983  
Pestov NB 2011.

Fuente: Autora

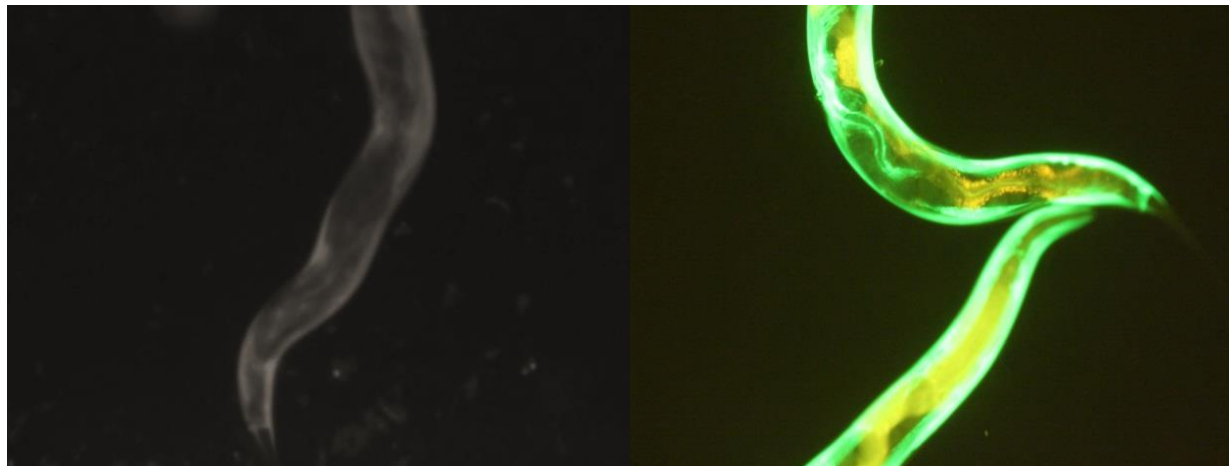
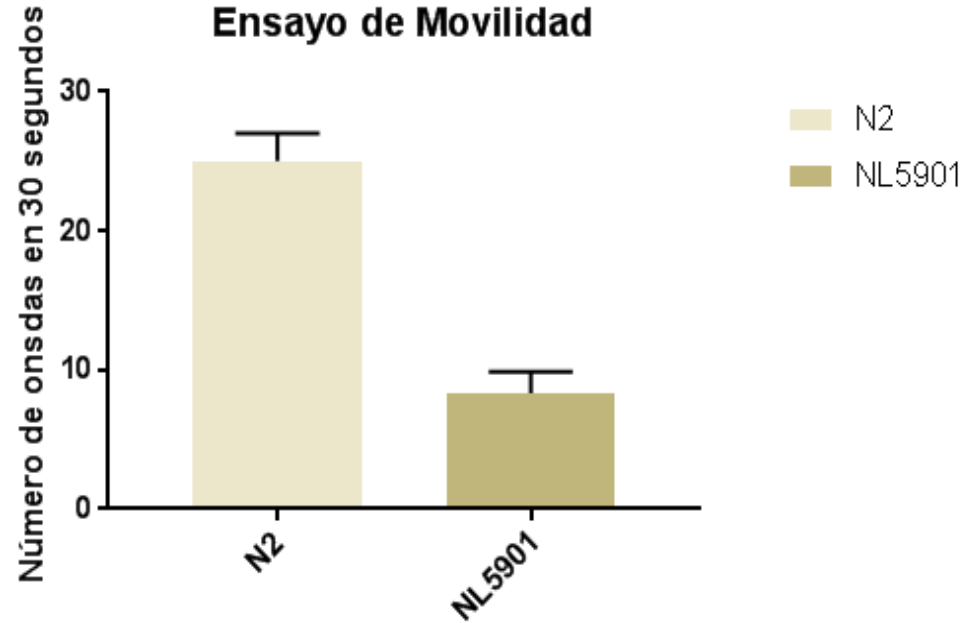




# RESULTADOS

## MOVILIDAD

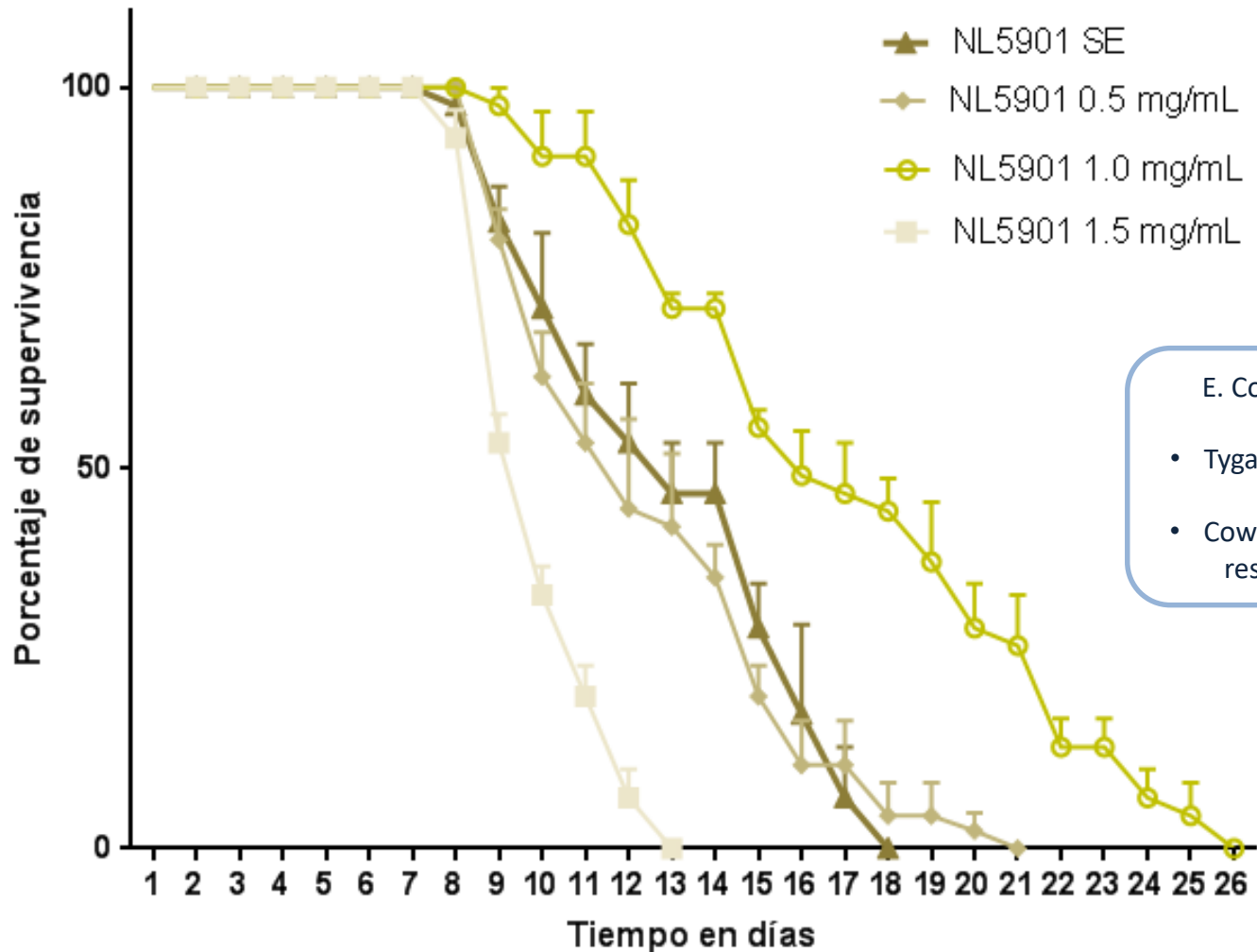
- **Movilidad**  
N2 (25) NL5901  
(8)  
Moerman 1982  
Van Ham 2008



# RESULTADOS

## EFFECTO DE LA CÚRCUMA EN LONGEVIDAD

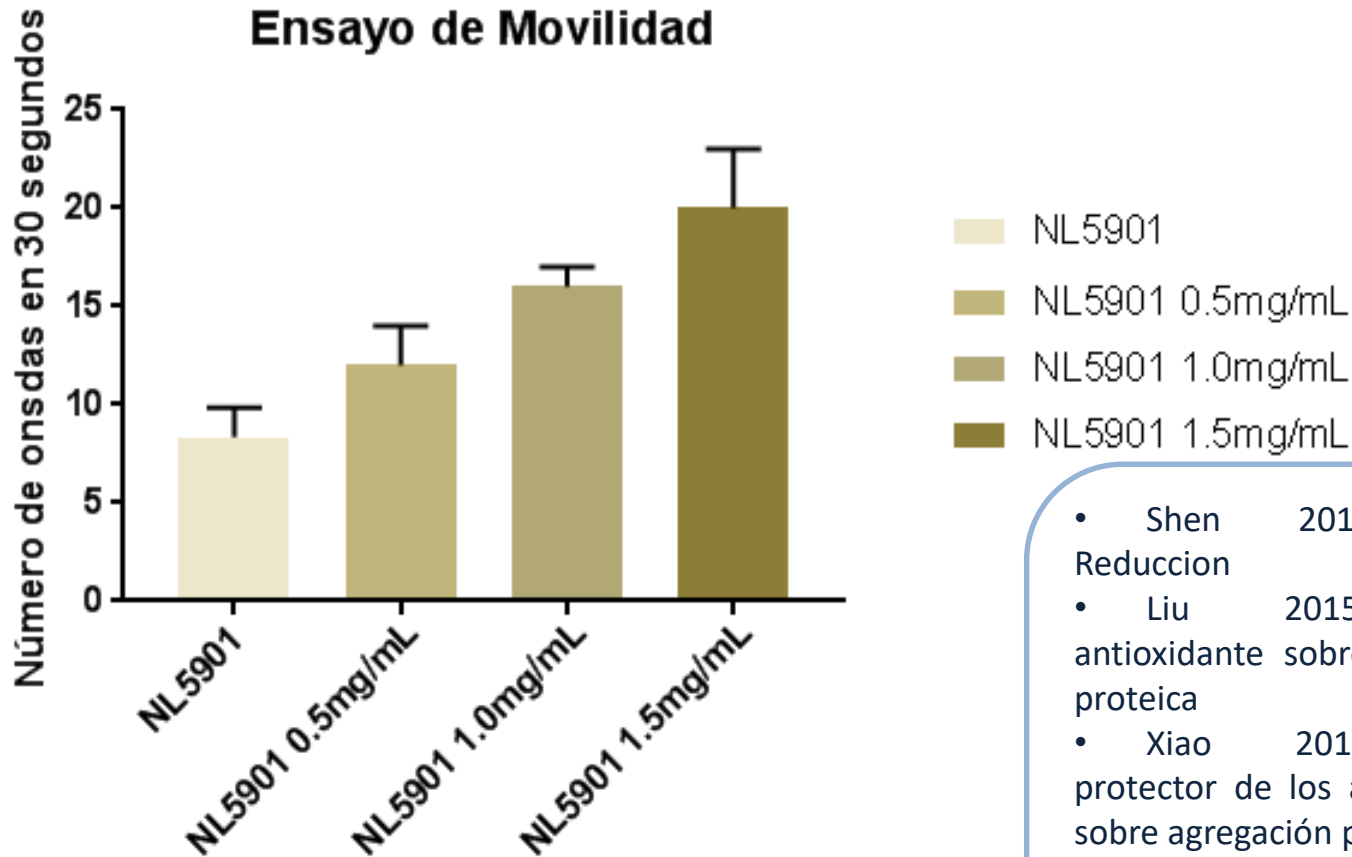
### Ensayo de longevidad



- E. Coli OP50 RESISTENTE a cúrcuma.
- Tygagi 2015. Mecanismos de acción.
  - Cowan 1999 Mecanismos de resistencia de *E coli* OP50

# RESULTADOS

## EFFECTO DE LA CÚRCUMA EN MOVILIDAD

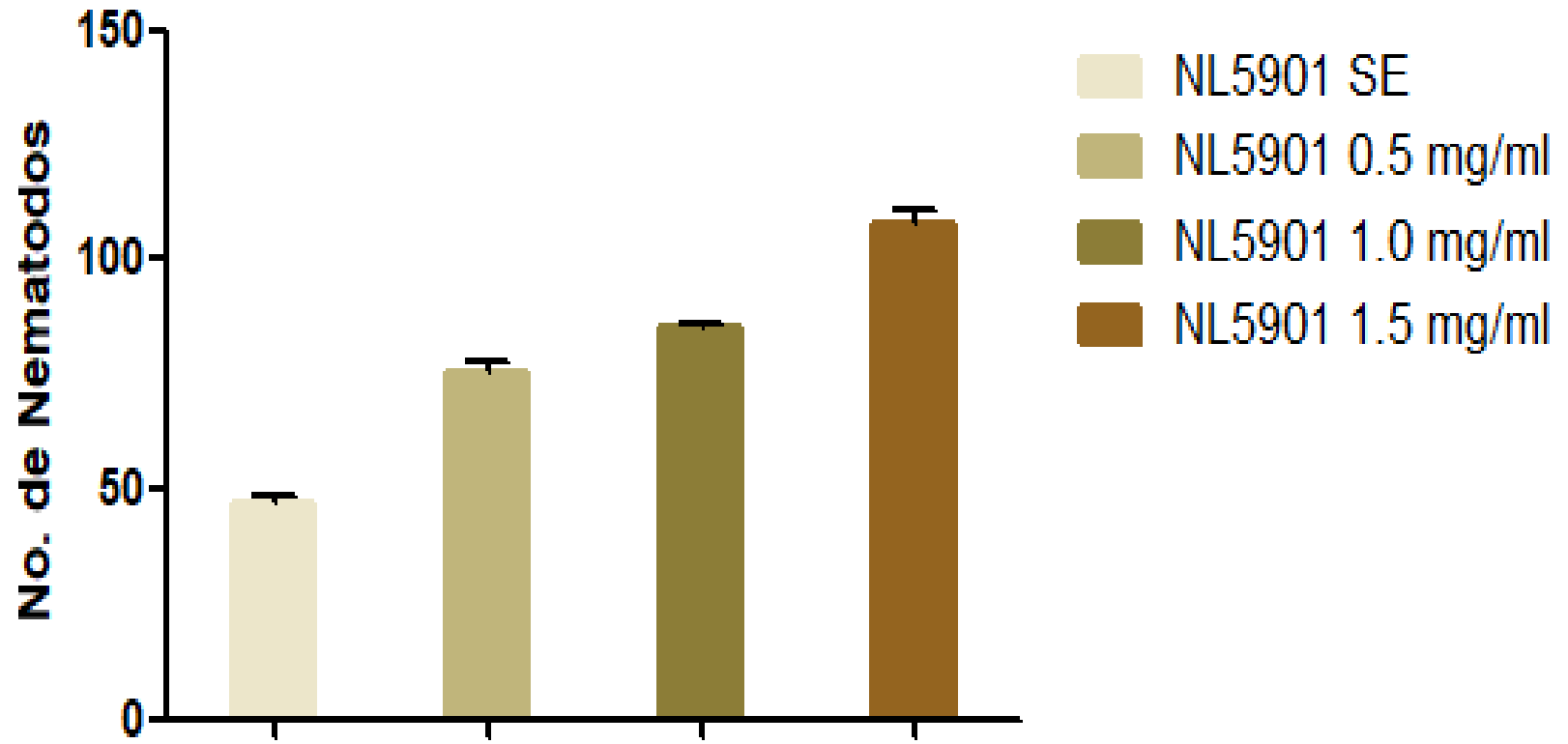


- Shen 2013: 39.3% Reduccion
- Liu 2015: Poder antioxidante sobre agregación proteica
- Xiao 2014: Poder protector de los antioxidantes sobre agregación proteica.
- Harish 2010: Protección de la cúrcuma sobre efectos motores del daño neuronal.
- Lee 2014: Medicinal naturales contra enfermedades neurodegenerativas.

# RESULTADOS

## EFFECTO DE LA CÚRCUMA EN REPRODUCCIÓN

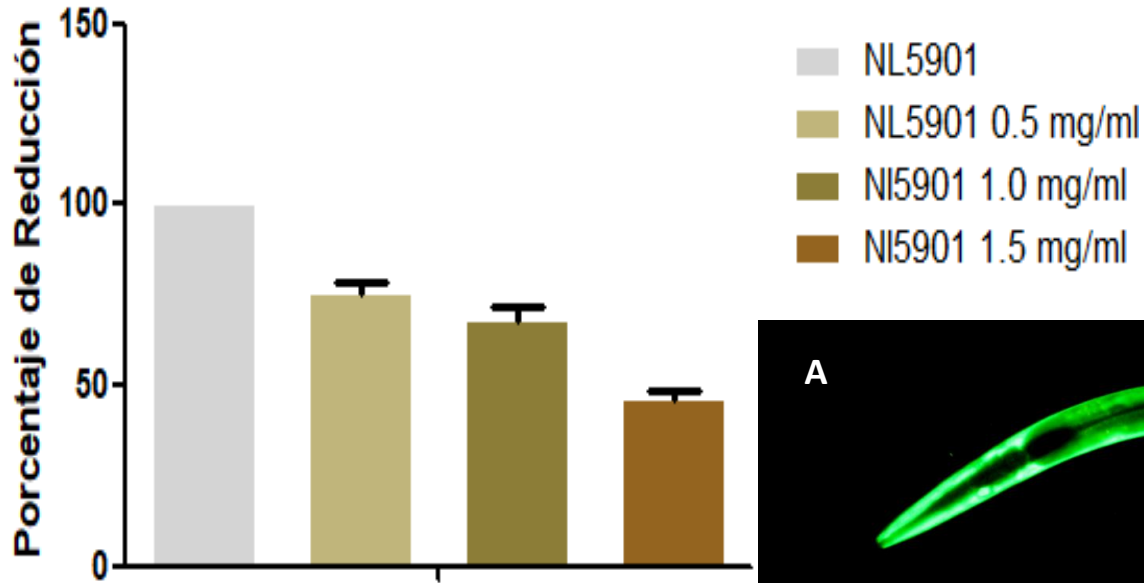
### Ensayo de reproducción



# RESULTADOS

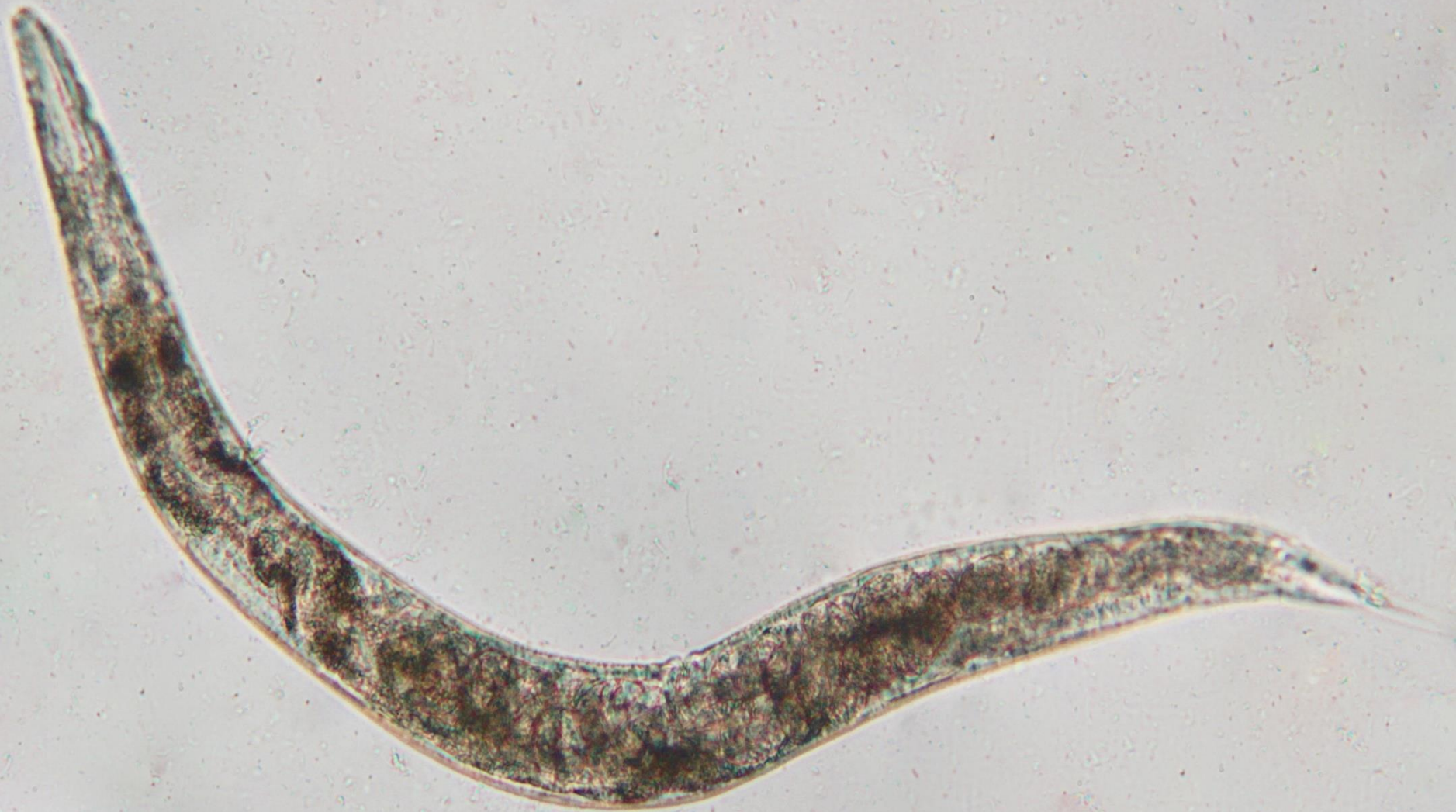
## EFFECTO DE LA CÚRCUMA EN AGREGADOS PROTEICOS

### Cuantificación de Fluorescencia



# CONCLUSIONES

- ✓ La solución de cúrcuma no presenta actividad bactericida sobre la cepa de *E coli* OP50, aun cuando la cepa ATCC si. Esto debido a mecanismos de resistencia.
- ✓ La cepa NL5901 expresa una mutación de agregación proteica de alfa sinucleina en la pared muscular del nematodo.
- ✓ La longevidad de los nematodos de la cepa NL5901 esta disminuida en relación a la de la cepa salvaje N2
- ✓ La reproducción y movilidad de los nematodos de la cepa NL5901 es menor en relación a la de la cepa salvaje
- ✓ La disminución de la agregación proteica posterior al tratamiento con cúrcuma, es dependiente de la dosis y mejora las características fenotípicas



**GRACIAS**

# Eventos académicos



**"ASOCIACION CIENTIFICA LATINA"**  
Conocimiento para la integración y progreso

La Asociación Científica Latina A.C. (ASCILA) otorga esta **CONSTANCIA** a Fajardo Rusinque Angie Fernanda y Sánchez Mora Ruth Mérida, como **expositoras** del trabajo "Evaluación de la cúrcuma sobre agregados de  $\alpha$ -sinucleína en la cepa NL5901 de *Caenorhabditis elegans*", dentro del VI Congreso Internacional de la ASCILA, llevado a cabo los días 23 y 24 de Noviembre, en la Facultad de Odontología, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Estado de Yucatán, México.

Mérida, México, 23 de Noviembre de 2017

Atentamente;

Hugo Mendieta Zerón, PhD.  
Director General – "ASCILA"



Roberto Acevedo Olivan, MSc.  
Secretario "ASCILA"