



Revista EIA
ISSN 1794-1237
e-ISSN 2463-0950
Año XIX/ Volumen 22/ Edición N.44
Julio - diciembre 2025
Reia4419 pp. 1-20

Publicación científica semestral
Universidad EIA, Envigado, Colombia

PARA CITAR ESTE ARTÍCULO / TO REFERENCE THIS ARTICLE /

Quintero Padilla, O.; Posada Beltrán, P.;
Gomez-Garzón, M.; Maya-Aguirre, C. y
Suárez Ariza, R.

Evaluación de Curcumina
Empaquetada en Ácido Poliláctico-
Co-Glicólico (Nano-Cur-Plga)
en el Modelo Experimental de
Enfermedad de Alzheimer Inducido
Caenorhabditis Elegans Gmc101

Revista EIA, 22(44), Reia4419 pp. 1-20
<https://doi.org/10.24050/reia.v22i43.1878>

✉ *Autor de correspondencia:*
Gomez-Garzón, M.
Bacteriología y Magister
Microbiología
Correo electrónico:
mgomez@fucsalud.edu.co

Recibido: 17-03-2025
Aceptado: 10-06-2025
Disponible online: 01-07-2025

Evaluación de Curcumina Empaquetada en Ácido Poliláctico- Co-Glicólico (Nano-Cur-Plga) en el Modelo Experimental de Enfermedad de Alzheimer Inducido *Caenorhabditis Elegans Gmc101*

ORIANA QUINTERO PADILLA¹

PAULA POSADA BELTRÁN²

✉ MARCELA GOMEZ-GARZÓN²

CARLOS MAYA-AGUIRRE²

ROBERTO SUÁREZ ARIZA²

1. Sanidad Policía Nacional, Colombia
2. Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Colombia

Resumen

Este artículo evalúa los efectos de curcumina empaquetada en ácido poli(láctico-co-glicólico) (NANO-CUR-PLGA) en el modelo experimental de Enfermedad de Alzheimer inducido *Caenorhabditis elegans* GMC101. Se realizó la encapsulación de curcumina como principio activo en ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) por método químico de emulsión simple y las características fenotípicas de vida útil, movilidad, velocidad máxima y ángulos de movilidad se determinaron a través de videos del modelo invertebrado *Caenorhabditis elegans* GMC101, cepa mutante que sobre expresa la proteína β -amiloide, las características fueron analizadas por recuentos y las de movilidad por el programa ImageJ utilizando el plugging Wrmtrack. Las NANO-CUR-PLGA producidas presentaron un tamaño de $157,4\text{nm} \pm 7,3$ con un promedio de $182,3\text{nm}$ y morfología de esferas individuales, no fusionadas, con una superficie suave. Los cambios fenotípicos de la cepa GMC101, mostraron que la NANO-CUR-PLGA extendió la vida útil de los gusanos hasta el día 14 a la concentración de $1,21\mu\text{g/ml}$, mayor tamaño de la cepa GMC101 a la concentración de $0,60\mu\text{g/ml}$, aumento la velocidad máxima y ángulo de movilidad del modelo sin relación a la dosis adicionada de NANO-CUR-PLGA al medio de

cultivo.

Palabras claves: Curminina; *Caenorhabditis elegans*; Movilidad; Esperanza de Vida; Enfermedad de Alzheimer; Nanopartículas.

Evaluation of Curcumin Packaged in Polylactic-co-glycolic acid (NANO-CUR-PLGA) in the Experimental Model of Alzheimer's disease induced by *Caenorhabditis Elegans* GMC101

Abstract

This article evaluates the effects of curcumin, packaged in poly (lactic-co-glycolic acid) (NANO-CUR-PLGA), in the experimental model of Alzheimer's disease induced by *Caenorhabditis elegans* GMC101. Curcumin, as the active ingredient, was encapsulated in poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) by chemical method of a simple emulsion. The phenotypic characteristics of longevity, mobility, maximum velocity and mobility angles were determined through videos of the invertebrate model *Caenorhabditis elegans* GMC101, a mutant strain that overexpresses the β -amyloid protein. The characteristics were analyzed by counts, and those of mobility by the ImageJ program using the Wrmtrack plugin. The produced NANO-CUR-PLGA had a size of $157.4 \text{ nm} \pm 7.3$ with an average of 182.3 nm and morphology of individual, non-fused spheres with a smooth surface. The phenotypic changes of the GMC101 strain showed that NANO-CUR-PLGA extended the lifespan of the worms until day 14 at the concentration of $1.21 \mu\text{g} / \text{ml}$ larger size of the GMC101 strain at the concentration of $0.60 \mu\text{g} / \text{ml}$ increased the maximum speed and mobility angle of the model without relation to the added dose of NANO-CUR-PLGA to the culture medium.

Keywords: Curcumin; Animal Model; *Caenorhabditis elegans*; Mobility; Longevity; Alzheimer Disease; Nanoparticles.

1. Introducción

El *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) es un nematodo inofensivo de vida libre que se alimenta de microorganismos. Es particularmente económico y fácil de mantener en laboratorios, razones que han llevado a su utilización en investigaciones. Los claros cambios fisiológicos dependientes de la edad, a nivel tisular, celular y

molecular hacen de *C. elegans* un modelo valioso para estudios en el campo del envejecimiento. Al igual que los humanos, *Caenorhabditis elegans* muestra una disminución de la capacidad física relacionada con la edad, que se manifiesta por movimientos menos activos y descoordinados, letargo, cese de la reproducción y acumulación de depósitos autofluorescentes en las células (Zhang et al. 2020).

Sydney Brenner premio Nobel de fisiología en 2002 encontró que el *C. elegans* era un buen modelo de estudio, debido a que se facilitaba su manipulación genética por sus propiedades de auto fertilización y la facilidad de mantener las mutaciones en su progenie (Corsi, Wightman, and Chalfie 2015). El proyecto Nemagenetag (Herramientas y recursos para el etiquetado génico en nematodos), realizó la secuenciación de todo el genoma del parásito formado aproximadamente por 20.000 genes. Esta información llevo a generar y evaluar una gran colección de mutantes disponibles para investigación (2.723 variantes) (Flibotte et al. 2010) N-ethyl-N-nitrosourea (ENU. La cepa **GMC101** produce expresión constitutiva de GFP (green fluorescence protein) en células intestinales y presenta el gen ***unc-54p*** que expresa el péptido beta amiloide (**A β (1-42)**) homóloga a la STS (Sequence Tagged Site) humana; posee ausencia de las hormonas sulfatadas productoras de sustancia amiloide (Bellido-Alocolea, Pérez-Jiménez, and Muñoz 2020).

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es la principal causa de demencia y representa entre el 60 y el 70% de los casos. EA es una enfermedad neurodegenerativa progresiva con pérdida de memoria y dificultades en el pensamiento, el lenguaje y las habilidades para resolver problemas (Khan, Barve, and Kumar 2020; Zhang et al. 2021). La EA tiene naturaleza multifactorial, con alta sensibilidad genética y los casos de presentación temprana de la enfermedad, antes de 65 años, se han relacionado con la presencia de mutaciones en tres genes: el gen que codifica para el péptido de la proteína precursora amiloide (APP), y los genes de la presenilina 1 (PSEN1) y la presenilina 2 (PSEN2). La región de los residuos 21-23 del péptido A β se considera el sitio clave para estas mutaciones, pero con numerosas variantes genéticas encontradas en esta área de la molécula (Cacace, Slegers, and Van Broeckhoven 2016) APP, PSEN1, and PSEN2, in families with autosomal dominant early-onset AD

(EOAD. Estas mutaciones son de herencia autosómica dominante y provocan elevación de los niveles proteína precursora de beta amiloide (APP), responsable de destruir las sinapsis, inducir la formación de ovillos neurofibrilares e inducir la pérdida neuronal (Ringman 2017).

La EA es un problema de salud pública con alta frecuencia, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año se producen 10 millones de nuevos casos de demencia y para 2025 se espera que 7,1 millones de personas mayores de 65 años sufran la enfermedad de Alzheimer, un aumento del 27% con respecto a los 5,6 millones de personas en 2019 (Alzheimer's Association 2023). Adicionalmente, se prevé que para 2050 se triplicarán los casos y dos tercios de los pacientes vivirán en países de ingresos bajos y medios (Scheltens et al. 2021). En Colombia los casos diagnosticados con EA de acuerdo a SISPRO (2013-2018) fueron 58.256 pacientes del régimen subsidiado y 202.921 en pacientes del régimen contributivo, aunque el número de afiliados de los dos regímenes es similar, mostrando que no hay acceso equitativo al diagnóstico especializado para los dos regímenes (Romero-Vanegas et al. 2021).

Los medicamentos aprobados para tratar la EA, como los inhibidores de la acetilcolina esterasa (AChE), incluido el donepezilo y los antagonistas no competitivos del receptor de N-metilD-aspartato (NMDA), no desaceleran la progresión de la EA (National Institutes of Health 2023). Algunos de los obstáculos de las farmacoterapias de los trastornos cerebrales están relacionados con la barrera hematoencefálica y los efectos secundarios que pueden desencadenar; adicionalmente, el hecho de que los fármacos anticolinérgicos al acumularse generan importantes efectos negativos cognitivos (Coupland et al. 2019; Hampel, Mesulam, et al. 2018; Hampel, Vergallo, et al. 2018). El desarrollo de los nuevos sistemas de nanotransportadores capaces de trasladar y liberar en el interior de las células un fármaco mejoraran los tratamientos de esta enfermedad (Zhou, Sun, and Jiang 2021).

La curcumina (Cur) es extraída de rizomas de la *Cúrcuma Longa* Linn y usada a lo largo de los siglos en la medicina tradicional ayurvédica, por su baja toxicidad y bajo costo para aliviar el malestar y la inflamación presente en enfermedades infecciosas y

autoinmunes. En los últimos años ha recibido atención mundial por estudios que han demostrado que CUR puede actuar como agente quimiopreventivo en una variedad de tipos de cáncer humano, al modular la expresión de numerosos genes implicados en las etapas de proliferación, invasión, angiogénesis y metástasis de las células cancerosas (Panda et al. 2017; Teymouri et al. 2017; Zendehdel et al. 2019). Algunos autores determinaron que CUR tiene un efecto protector contra el β -amiloide y funciona mejor en la prevención que en el tratamiento de la EA al aumentar la biogénesis de las neuronas y las proteínas sinápticas, y mejorar la actividad de la fusión mitocondrial (Reddy et al. 2018); CUR puede inhibir el daño oxidativo mediado por ROS y regular la vía ERK (Extracelular-Signal-Regulated Kinase) para suprimir la citotoxicidad y la apoptosis inducidas por β -amiloide (Yang et al. 2022); y finalmente, mejora notablemente la neuroinflamación inducida por A β 25-35 en la microglía primaria de ratas (He et al. 2020).

ImageJ es un programa de procesamiento de imágenes digitales y de análisis de libre acceso, gracias a la utilización de plugins esta herramienta ofrece una gran cantidad de funciones que van desde la colorimetría por análisis de contornos, filtros de imágenes, cálculos de áreas, ángulos, distancia entre píxeles y generar histogramas de densidad. Al utilizar el plugin wrMTrck en los videos se reconocen los objetos en cada marco y se determina qué objetos en los marcos sucesivos están más próximos entre sí. Si estos están dentro de una distancia definida por el usuario (la velocidad máxima de los objetos) y tienen un área similar (maxAreaChange), se ensamblan en pistas. Cuando hay varios objetos dentro de la distancia determinada por la velocidad máxima, se selecciona el objeto más cercano y se marca el objeto en la salida. De esta forma se generarán parámetros útiles como tamaño del animal, velocidad y frecuencia de flexión del cuerpo. (Nussbaum-Krammer et al. 2015).

En el presente estudio se pretende evaluar los efectos de curcumina empaquetada en ácido poli(láctico-co-glicólico) (NANO-CUR-PLGA) en el modelo experimental de Enfermedad de Alzheimer inducido *Caenorhabditis elegans* GMC101 a través de los datos proporcionados por ImageJ plugin wrMTrck se analizaron las características de movilidad.

2. Materiales y métodos

Localización

Todos los ensayos se realizaron en los laboratorios del Instituto de Ciencias Básicas de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá-Colombia.

Reactivos químicos

La curcumina de alta pureza se adquirió de Biobasic lab, poli (ácido láctico-co-glicólico (PLGA) de 5000 dalton y alcohol polivinílico (PVA) se obtuvieron de Sigma laboratorios y 5-fluoro-2'-deoxiuridina (FuDR) de Thermo Scientific. Todos los demás productos químicos y disolventes fueron de grado analítico de laboratorios autorizados que cuentan con sistemas de calidad.

Caenorhabditis elegans cepas, crecimiento y mantenimiento

Se utilizó *C. elegans* cepa N2 [tipo salvaje, Bristol] como control y la cepa GMC101 [dvls100] que expresa el péptido A β humano y acumula fibrillas de β -amiloide. Las cepas se compraron a Caenorhabditis Genetics Center (Universidad de Minnesota) y se cultivaron a 20 °C en Nematode Growth Medium (NGM) sembrado con *Escherichia coli* OP50 como fuente de alimento según los métodos estándar (Stiernagle 2006).

Empaquetamiento de la curcumina en PLGA

La síntesis de nanopartículas de PLGA (NANO-CUR-PLGA) se realizó mediante el método de emulsión simple (Busari et al., 2017) de la siguiente forma: Se disolvió 50mg de PLGA y 5mg de curcumina en 4ml de fase orgánica [3,5ml de diclorometano (DCM) y 0,5ml de acetona]. Se emulsificó la fase orgánica con la CUR + PLGA en 16ml de fase acuosa [2% de alcohol polivinílico (PVA)] con adición gota a gota y sonificación a 20 Watts por 3min para formar la emulsión O/W. Se agitó magnéticamente toda la noche para asegurar la evaporación completa del DCM a temperatura ambiente. Se centrifugó la nanosuspensión a 1600rpm por 15min, se lavó el

pellet de nanopartículas con agua mili-Q, y finalmente se resuspende en solución de manitol 5% para ser liofilizada y almacenada a 4°C.

Determinación de encapsulamiento de CUR

Para determinar la eficiencia del encapsulamiento de la CUR se disuelve 10mg de NANO-CUR-PLGA en 1ml de DCM y se deja por 4 horas para la completa disolución de polímero de PLGA, luego DCM es evaporado a 37°C y se adicionó 1ml de metanol para precipitar el polímero de PLGA. Se extrae la CUR por centrifugación a 1300rpm por 10 min a 4°C y se elaboró una curva de calibración, con un coeficiente de correlación (R2) de 0,9993, la concentración se evaluó en µg/ml. La determinación de las concentraciones en el metanol extraído se realiza por UV visible a 430nm usando el grafico estándar de CUR en metanol.

$$EE (\%) = \frac{CARGA TEÓRICA}{CARGA PRACTICA} \times 100$$

La eficiencia de encapsulamiento (EE) de CUR se calcula utilizando la siguiente ecuación (Suárez and Brito 2020):

Caracterizaciones de NANO-CUR-PLGA

Para caracterizar las nanopartículas se determinó el tamaño de partícula y estructura cristalina se realizaron análisis de caracterización de tamaño de partícula mediante dispersión dinámica de luz (DLS) y microscopia electrónica de barrido (SEM).

Para la caracterización mediante DLS se usó un analizador Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments). Para los estudios de microscopía se empleó un microscopio electrónico de barrido TESCAN Focused Ion Beam Scanning Electron Microscope - LYRA3. Estos análisis se efectuaron en las muestras de material nanoparticulado obtenido en muestra liofilizada.

Para el análisis DLS y de SEM se utilizó como solvente agua miliQ para evitar la aglomeración de las NANO-CUR-PLGA y se realizaron 9 mediciones por lote.

Sincronización C. elegans

Los parásitos se cultivaron en grandes cantidades en placas de agar NGM suplementado con *E. coli* OP50. Las placas de agar NGM se enjuagaron con solución basal, se recuperó el líquido con las larvas grávidas en un tubo y se centrifuga a 2500 rpm por 3 minutos. Se descarta el sobrenadante, se agrega 1ml de solución blanqueadora [NaOH al 1%; NaOH 0,25M] y se agita manualmente por 4 minutos. Luego se centrifuga a 5000rpm por 4 minutos. Se descarta el sobrenadante y se adiciona 1ml de solución basal para lavar los huevos e inactivar la reacción, se centrifugo a 2500rpm por 3 minutos y se descartó el sobrenadante. Posteriormente, los huevos se transfieren a medio NGM y se dejaron oclasionar durante la noche sin bacterias (Stiernagle 2006).

Preparación de medios para tratamientos

El efecto de las NANO-CUR-PLGA y CUR en la supervivencia de larvas de *C. elegans* fue determinado mediante el método de conteo diario. En resumen, diferentes concentraciones de NANO-CUR-PLGA (1,21; 0,60 y 0,30 µg/ml) y FUDR a 50µM fueron adicionadas al medio NGM. Los cultivos solidos se implementaron con *E. coli* OP50 como fuente de alimentación. Para los controles de las cepas al medio NGM se adiciono FUDR a 50µM y a los cultivos solidos se implementaron con *E. coli* OP50.

Ensayos de vida útil

Los ensayos de vida útil se realizaron a 20 °C por triplicado. Se transfirieron al menos 15 larvas L2 a placas NGM para tratamientos. Se revisó diariamente y los gusanos que no respondieron a los estímulos mecánicos fueron considerados muertos.

Ensayos de longitud

Se transfirieron al menos 10 larvas L2 a placas NGM para tratamientos. Las mediciones de la longitud corporal se realizó en los días 1 (larva L2), 2 (adulto joven) y 3 (adulto maduro) de ciclo evolutivo al tomar imágenes capturadas a todas las larvas. Las longitudes del cuerpo se midieron desde la parte superior de la

cabeza hasta la punta de la cola utilizando herramientas de líneas segmentadas en ImageJ 15.2v.

Ensayos fenotipos locomotores

El comportamiento de locomoción se realizó transfiriendo al menos 15 larvas L2 a 6 placas NGM para tratamientos. Diariamente a cada caja se tomó un vídeo de 30 segundos de cada placa, utilizando para ello una cámara IPEVO de 2 megapíxeles que graba videos en formato MP4 acoplada al esteroscopio Nikon a una magnificación de 10X. Los videos se tomaron hasta el día 11.

Los videos fueron convertidos a AVI y analizados por el programa ImageJ, utilizando el plugging Wrmtrack para calcular los datos relativos a la velocidad máxima ($V_{m\acute{a}x}$) los días 0, 3, 5, 7, 11 y 14 de vida, longitudes del cuerpo por segundo (BLPS), y la curvatura del gusano por segundo (BBPS), que mide las veces que el cuerpo de cada individuo se curva con respecto al tiempo en el día 5.

Análisis estadístico

Control de sesgos: Para evitar sesgos de selección de la muestra los parásitos de todos los experimentos fueron adultos jóvenes obtenidos post sincronización. Los sesgos del observador se evitaron al realizar entrenamiento de lecturas previas a los experimentos, esto se logra haciendo ensayos pilotos para adquirir destreza y rapidez en las lecturas. La utilización de videos evito sesgo en las lecturas.

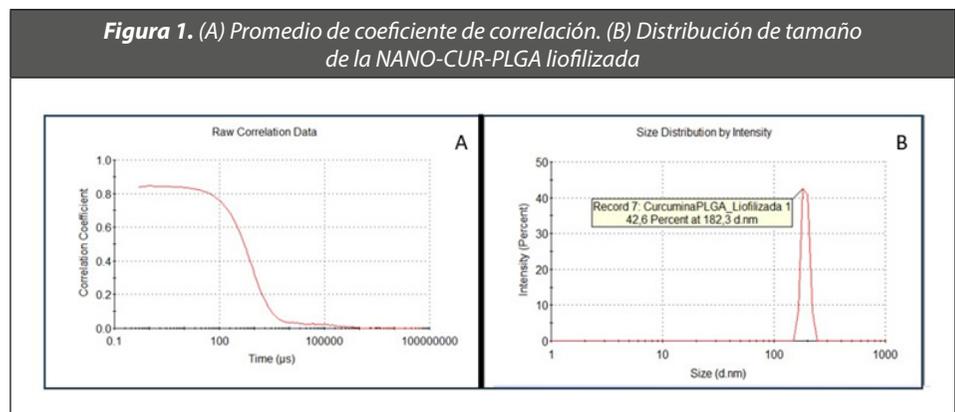
Instrumento de Medición: Las lecturas se realizaron diariamente y se llevarán a Hoja Excel de acuerdo al experimento.

Procesamiento de Datos: Los resultados se procesaron por el programa Stata 13 y se presentarán como media \pm error estándar de la media. Las curvas de vida útil se crearon utilizando la estimación de Kaplan-Meier.

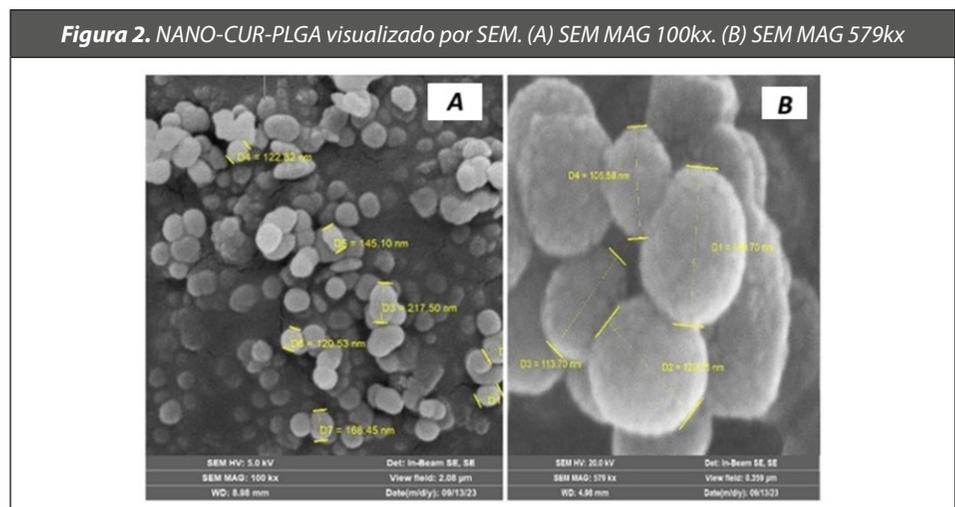
3. Resultados

Las suspensiones de NANO-CUR-PLGA fueron macroscópicamente homogéneas con un promedio de polidispersión de 0,34 lo que confirma la estabilidad de la formulación durante el período de análisis y homogeneidad de tamaño.

El promedio del tamaño del nanoencapsulamiento fue 182,3nm (Fig. 1). La distribución obtenida mediante DLS mostró que el tamaño de las partículas obtenidas vario entre $157,4 \pm 7,3$ nm.



Las imágenes de SEM se muestran en la figura 2. El nanoencapsulamiento se observó cómo esferas individuales, no fusionadas, con una morfología de superficie suave y una amplia gama de tamaños distribuidos por toda la muestra.

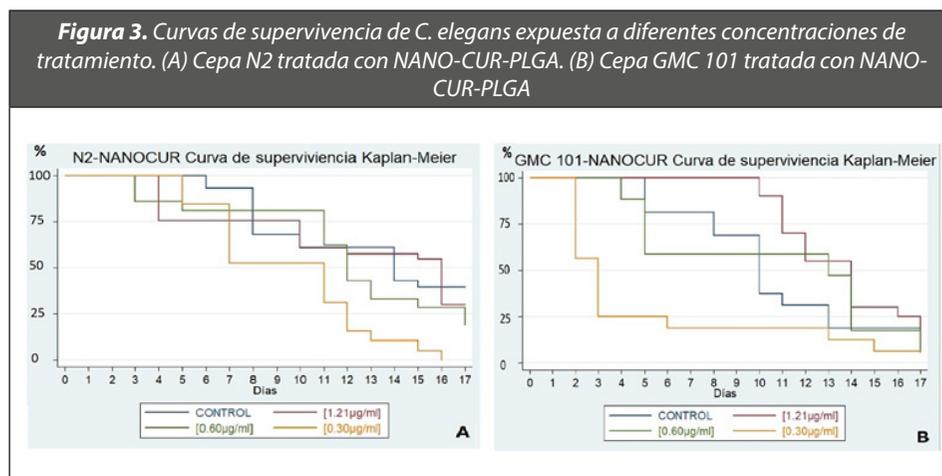


El porcentaje de eficacia de encapsulamiento (EE) de CUR en PLGA fue de 90% con una concentración de 73µg/ml de CUR.

Vida útil

Para investigar el efecto de la NANO-CUR-PLGA y CUR en el modelo animal, se comparó la supervivencia de cepas salvajes (N2) con la cepa GMC101 [dvls100] que expresa el péptido AB humano y acumula fibrillas de β-amiloide propia de la enfermedad de Alzheimer por conteo diario y visualizadas. Para el control N2 observamos una reducción de supervivencia del 55% en el día 5 (Fig. 3A). En los medios suplementados con NANO-CUR-PLGA se observó la muerte del 50% de las larvas N2 con dosis de 1,21µg/ml en el día 12 (Fig. 3A).

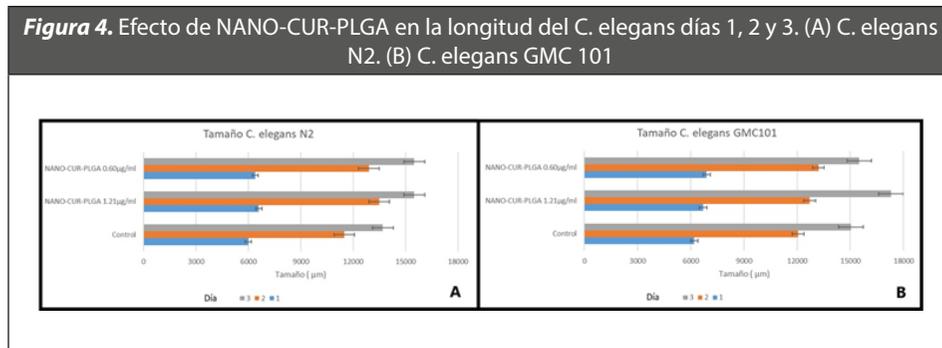
La cepa GMC 101 mostro una diferencia en el grupo tratado con NANO-CUR-PLGA con muerte de las larvas del 50% en el día 14 a dosis de 1,21 µg/ml (Fig. 3B). En ningún grupo tratado con dosis 0,30 µg/ml de tratamiento aumentó la esperanza de vida.



Longitud

La determinación de la longitud corporal del *C. elegans* se realizó en los días 1 (larva L2), 2 (adulto joven) y 3 (adulto maduro) de ciclo evolutivo. Como se muestra en la figura 4 se determinó que con la exposición al tratamiento las cepas aumentaron de tamaño en el tiempo, a dosis dependiente, se observó que NANO-CUR-PLGA a

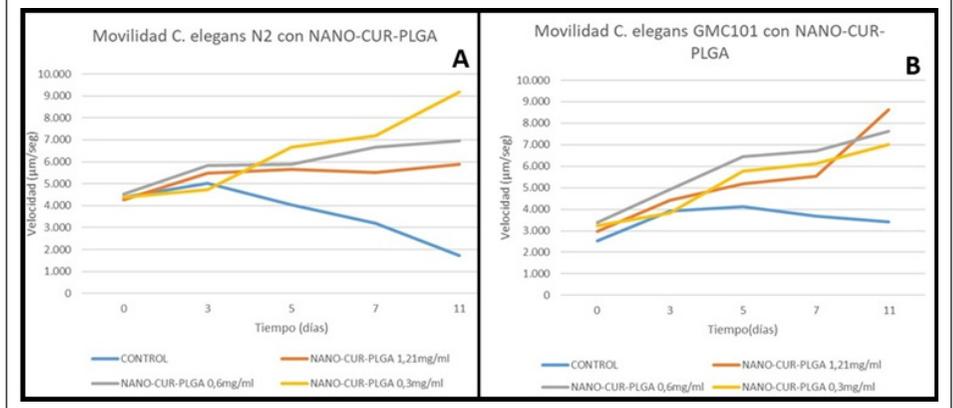
dosis 1,21µg/ml presento un mayor crecimiento de la cepa GMC 101 (Fig. 4B).



Fenotipos locomotores

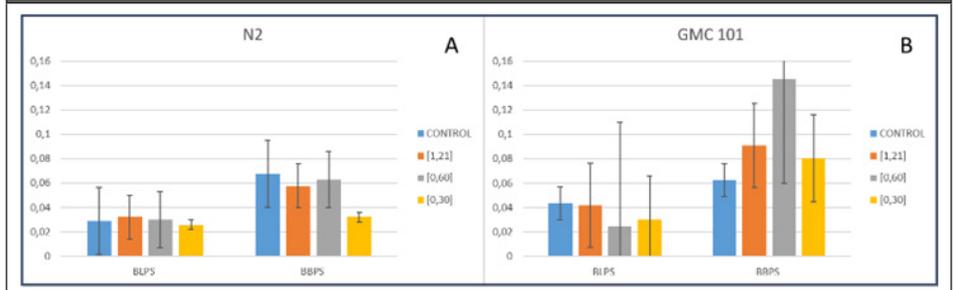
La cepa con mutación GMC 101 presenta producción de proteína beta amiloide en placas extracelulares e intraneuronales, así que este tipo de mutación se puede analizar por la locomoción que presenten las larvas. Se analizó el comportamiento del movimiento de las cepas de los gusanos estudiados, en el medio sólido con tratamiento NANO-CUR-PLGA analizadas con el programa imageJ utilizando el plugging Wrmtrack, se midió la velocidad máxima y la curvatura del gusano por segundo. Se analizaron 650 videos de larvas N2 y 1313 videos de GMC101. Los resultados obtenidos muestran variaciones en las cepas control con la mutante (Fig. 5). Se observa que el control de la cepa N2 inicia velocidad con 4.387µm/seg y para el día 11 del ensayo disminuye hasta 1.736 µm/seg (Fig. 5A), mientras el control de la cepa GMC 101 comienza con 2.523µm/seg y sube su velocidad a 3.421 µm/seg (Fig. 5B). Observamos la tendencia de aumento de la velocidad de las dos cepas al ser tratadas con NANO-CUR-PLGA en las tres concentraciones (Fig. A y B).

Figura 5. Efecto de NANO-CUR-PLGA en la velocidad máxima del *C.elegans* días 0, 3, 5, 7 y 11. (A) *C. elegans* cepa N2 tratada con NANO-CUR-PLGA. (B) *C. elegans* cepa GMC 101 tratada con NANO-CUR-PLGA.



C. elegans cuenta con un movimiento sinusoide que puede ser afectado por mutaciones y evaluado por ImageJ- Wrmtrack por longitudes del cuerpo por segundo (BLPS), y la curvatura del gusano por segundo (BBPS). Observamos que la curvatura de movimiento de GMC 101 debido a la acumulación de péptido β - amiloide era 0,06 y aumento a 0,14 con NANO—CUR-PLGA a la concentración de 0,60 μ g/ml. En la figura 6 se puede notar el aumento en la media de oscilaciones cuando se somete a tratamiento con NANO-CUR-PLGA, con diferencia en la concentración media de la cepa con mutación, ya que parece ser más sensible al tratamiento.

Figura 6. Efecto de NANO-CUR-PLGA en las longitudes del cuerpo por segundo (BLPS), y la curvatura del gusano por segundo (BBPS), del *C. elegans* día 5 (A) cepa N2 tratada con NANO-CUR-PLGA. (B) cepa GMC 101 tratada con NANO-CUR-PLGA.



4. Discusión

Medicamentos naturales dirigidos a los amiloides en EA lideran la creciente industria de fitoconstituyentes por sus numerosos beneficios y baja toxicidad. Los polifenoles policíclicos, como la CUR son los preferidos por sus actividades biológicas como antiinflamatoria, antiaterosclerótica, antiproliferativa, antioxidante, anticancerígena y antimetastásica (Tang et al. 2020). La amplia evidencia científica sugiere que la CUR es un potente neuroprotector, sin embargo, su baja solubilidad es el mayor desafío, dificultando sus aplicaciones terapéuticas. Por esta razón, se han planteado nuevos enfoques para mejorar la biodisponibilidad y el potencial terapéutico que incluyen la modificación de la estructura inicial, la síntesis de derivados estables y la formulación de nanopartículas (Tagde et al. 2021). Un principio importante de las nanopartículas es la capacidad de ser biodegradable y biocompatible, el polímero PLGA es ideal para la encapsulación de fármacos ya que se metaboliza en el ciclo de Krebs produciendo ácido láctico y ácido glicólico (Danhier et al. 2012).

En el presente estudio, hemos usado el método de emulsión simple con evaporación de solvente para integrar CUR en nanopartículas de PLGA para obtener un fármaco que se disuelve fácilmente. El tamaño de las NANO-CUR-PLGA producidas por la polimerización de la emulsión permitió crear nanopartículas de tamaño y morfología controlada de $157,4\text{nm} \pm 7,3$ con un promedio de $182,3\text{nm}$, tamaño menor a las producidas por Busari y col. ($291,2 \pm 82,1\text{ nm}$) y McCall y col. ($730 \pm 370\text{ nm}$) (Busari et al. 2017; McCall and Sirianni 2013), este método brinda la capacidad de personalizar las características de las partículas, como el tamaño, el encapsulante y las propiedades de la superficie (Jain 2000). La replicación con un tamaño esperado de partícula varía dependiente del solvente y del experimentador, igualmente depende en gran medida de la cantidad de polímero a utilizar (Kapoor et al. 2015). Utilizando el mismo protocolo, un solo experimentador produjo seis lotes separados de nanopartículas con características muy similares. El tamaño de las nanopartículas tiene un efecto directo sobre los mecanismos de internalización de partículas por parte de las células, así como sobre su distribución en los tejidos, lo que puede asegurar éxito en su administración. Por ejemplo, las nanopartículas pequeñas

pueden ser de interés por la infusión directa en el cerebro, donde las nanopartículas más grandes quedarían atrapadas en la matriz extracelular.

Encontramos potencial Z positivo debido a las interacciones de la CUR con el polímero que determina la carga superficial y una polidispersión de 0,34 denotando la naturaleza de monodispersibilidad de NANO-CUR-PLGA. Nuestro porcentaje de atrapamiento de la CUR fue alto de 90% en comparación con el 80% sintetizadas para estudio de cáncer gástrico (Alam et al. 2022).

Superar la barrera hematoencefálica de nanopartículas depende de la forma, el tamaño, la carga e hidrofobicidad (Zhou et al. 2021). El SEM mostro nanopartículas esféricas no fusionadas que le confieren la estabilidad.

Se estudió la supervivencia de las dos cepas de *C. elegans* al ser expuestas a diferentes concentraciones de NANO-CUR-PLGA evaluando la toxicidad de las sustancias adicionadas al medio sólido por muerte de las larvas. Encontramos que la supervivencia aumentó en las cepas tratadas con la nanopartícula hasta el día 17 mientras que los controles de las cepas tratadas sobrevivieron hasta el día 13.

La muerte en el 50% de las larvas se produjo en el día 14 a dosis de 1.21 µg/ml de NANO-CUR-PLGA en la cepa mutante GMC101, en comparación con la cepa N2 a la misma dosis donde la muerte del 50% de las larvas se produce en el día 12. En un estudio con CUR administradas a *C. elegans* se observó que a dosis de 25 µM aumento la esperanza de vida de las larvas e 2,91 días (Xu et al. 2023).

A partir de estos resultados se encontró que las nanopartículas no son tóxicas para las cepas de *C. elegans*, la NANO-CUR-PLGA mostro ser soluble, esta propiedad permite su ingreso a las células para regular los mecanismos relacionados con la capacidad antioxidante, al producir especies reactivas de oxígeno y regular las protein quinasas que controla la muerte celular (Waghela et al. 2015).

Adicionalmente, la regulación del estrés oxidativo se ve expresado por el tamaño, un adulto maduro N2 mide aproximadamente 1.500mm (Corsi et al. 2015), la longitud normal durante el crecimiento de la larva no se vio afectado y se observó

mayor aumento de tamaño en la cepa GMC 101 a dosis de 0,60 µg/ml con la NANO-CUR-PLGA.

El comportamiento de las cepas de *C. elegans* se ha estudiado e identificado mediante el movimiento, N2 presenta 12 neuronas y 12 músculos distribuidos en todo el cuerpo que le confiere movimiento, la ondulación esta mediada por neuronas colinérgicas y GABAérgicas (Zhen and Samuel 2015). La cepa GMC 101, debido a la acumulación de proteína β-amiloide en placas extracelulares e intraneuronales presenta un movimiento y ondulación más lento en comparación con la cepa N2 no mutante. Las NANO-CUR-PLGA sin relación a la dosis adicionada provocó un ritmo de movimiento constante para las dos cepas estudiadas, según estudios in vitro (Cuccioloni et al. 2022) progressive cognitive decline, and irreversible memory loss. Although its etiopathogenesis is still unclear, the aggregation of amyloid-β (Aβ) la CUR evita el apilamiento de la proteína β- amiloide y por ende mantiene la velocidad máxima constante durante el envejecimiento.

Se observaron los cambios de flexión y extensión del gusano en función del tiempo, ya que se comportan de una forma no anisotrópica careciendo de propiedades elipsoidales (es decir, baja excentricidad). La alta excentricidad provoca gusanos que se doblan rápidamente (BBPS) (Koopman et al. 2020), por lo anterior expresado es de notar las características del aumento en el BBPS en las dos cepas tratadas con NANO-CUR-PLGA y sobre todo en las GMC 101, sin embargo, en el BLPS no se presentó un aumento importante en los dos grupos, es decir hay alta excentricidad con poca longitud del cuerpo por segundo.

5. Conclusión

La EA es una enfermedad neurodegenerativa multifactorial que hasta la fecha no cuenta con tratamiento específico, por lo que se han estudiado polifenoles en las últimas décadas por sus bajos efectos secundarios y por su habilidad de ser neuroprotector. Las nanopartículas de curcumina encapsuladas en PLGA se lograron sintetizar de manera exitosa, resultando ser inocuo, con mejoría en la supervivencia para las cepas de *C. elegans*, asimismo, aumentando la longitud corporal. NANO-CUR-PLGA mejoro la velocidad máxima

y la curvatura del gusano en las dos cepas, demostrando así mejoría en el rango de movimiento en la cepa mutante β -amiloide. Se debe seguir potenciando el uso de la nanotecnología para investigación y tratamiento en enfermedades humanas.

6. Agradecimientos

Agradecemos la colaboración brindada por los estudiantes de Semillero SIMIC de la Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud de Bogotá, por su ardua labor en el mantenimiento y cultivo de las cepas utilizadas en este estudio.

7. Referencias

- Alam, J.; Dilnawaz, F.; Sahoo, S. K.; Singh, D. V.; Mukhopadhyay, A. K.; Hussain, T.; Pati, S. (2022). Curcumin encapsulated into biocompatible co-polymer PLGA nanoparticle enhanced anti-gastric cancer and anti-Helicobacter pylori effect. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 23(1), 61–70. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2022.23.1.61>
- Alzheimer's Association. (2023). *2023 Alzheimer's disease facts and figures* (Vol. 19). <https://doi.org/10.1002/alz.13016>
- Bellido-Alocolea, N.; Pérez-Jiménez, M. M.; Muñoz, M. J. (2020). Identification of compounds and genes that affect neurodegenerative diseases in *Caenorhabditis elegans*. *Biosaia*, 9.
- Busari, Z. A.; Dauda, K. A.; Morenikeji, O. A.; Afolayan, F.; Oyeyemi, O. T.; Meena, J.; Sahu, D.; Panda, A. K. (2017). Antiplasmodial activity and toxicological assessment of curcumin PLGA-encapsulated nanoparticles. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 622. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00622>
- Cacace, R.; Slegers, K.; Van Broeckhoven, C. (2016). Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. *Alzheimer's & Dementia*, 12(6), 733–748. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.01.012>
- Corsi, A. K.; Wightman, B.; Chalfie, M. (2015). A transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. *WormBook: The Online Review of C. elegans Biology*, 1–31. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.177.1>
- Coupland, C. A. C.; Hill, T.; Dening, T.; Morriss, R.; Moore, M.; Hippisley-Cox, J. (2019). Anticholinergic drug exposure and the risk of dementia: A nested case-control study. *JAMA Internal Medicine*, 179(8), 1084–1093. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2019.0677>

- Cuccioloni, M.; Cecarini, V.; Bonfili, L.; Pettinari, R.; Tombesi, A.; Pagliaricci, N.; Petetta, L.; Angeletti, M.; Eleuteri, A. M. (2022). Enhancing the amyloid- β anti-aggregation properties of curcumin via arene-ruthenium(II) derivatization. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15). <https://doi.org/10.3390/ijms23158710>
- Danhier, F.; Ansorena, E.; Silva, J. M.; Coco, R.; Le Breton, A.; Pr at, V. (2012). PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications. *Journal of Controlled Release*, 161(2), 505–522. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.01.043>
- Flibotte, S.; Edgley, M. L.; Chaudhry, I.; Taylor, J.; Neil, S. E.; Rogula, A.; Zapf, R.; Hirst, M.; Butterfield, Y.; Jones, S. J.; Marra, M. A.; Barstead, R. J.; Moerman, D. G. (2010). Whole-genome profiling of mutagenesis in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 185(2), 431–441. <https://doi.org/10.1534/genetics.110.116616>
- Hempel, H.; Mesulam, M. M.; Cuello, A. C.; Farlow, M. R.; Giacobini, E.; Grossberg, G. T.; Khachaturian, A. S.; Vergallo, A.; Cavedo, E.; Snyder, P. J.; Khachaturian, Z. S. (2018). The cholinergic system in the pathophysiology and treatment of Alzheimer’s disease. *Brain*, 141(7), 1917–1933. <https://doi.org/10.1093/brain/aww132>
- Hempel, H.; Vergallo, A.; Flores Aguilar, L.; Benda, N.; Broich, K.; Cuello, A. C.; Cummings, J.; Dubois, B.; Federoff, H. J.; Fiandaca, M.; Genthon, R.; Haberkamp, M.; Karran, E.; Mapstone, M.; Perry, G.; Schneider, L. S.; Welikovitsh, L. A.; Woodcock, J.; Baldacci, F.; Lista, S. (2018). Precision pharmacology for Alzheimer’s disease. *Pharmacological Research*, 130, 331–365. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.02.014>
- He, W.; Yuan, K.; Ji, B.; Han, Y.; Li, J. (2020). Protective effects of curcumin against neuroinflammation induced by A β 25–35 in primary rat microglia: Modulation of HMGB1, TLR4 and RAGE expression. *Annals of Translational Medicine*, 8(4), 88. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.12.147>
- Jain, R. A. (2000). The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. *Biomaterials*, 21(23), 2475–2490. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(00\)00115-0](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(00)00115-0)
- Kapoor, D. N.; Bhatia, A.; Kaur, R.; Sharma, R.; Kaur, G.; Dhawan, S. (2015). PLGA: A unique polymer for drug delivery. *Therapeutic Delivery*, 6(1), 41–58. <https://doi.org/10.4155/tde.14.91>
- Khan, S.; Barve, K. H.; Kumar, M. S. (2020). Recent advancements in pathogenesis, diagnostics and treatment of Alzheimer’s disease. *Current Neuropharmacology*, 18(11), 1106–1125. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666200528142429>
- Koopman, M.; Peter, Q.; Seinstra, R. I.; Perni, M.; Vendruscolo, M.; Dobson, C. M.; Knowles, T. P. J.; Nollen, E. A. A. (2020). Assessing motor-related phenotypes of *Caenorhabditis elegans* with the wide field-of-view nematode tracking platform. *Nature Protocols*, 15(6), 2071–2106. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0321-9>

- McCall, R. L.; Sirianni, R. W. (2013). PLGA nanoparticles formed by single- or double-emulsion with vitamin E-TPGS. *Journal of Visualized Experiments*, (82), 51015. <https://doi.org/10.3791/51015>
- National Institutes of Health. (2023). ¿Cómo se trata la enfermedad de Alzheimer? <https://www.nia.nih.gov/espanol/cuidado-medico-enfermedad-alzheimer/como-se-trata-enfermedad-alzheimer>
- Nussbaum-Krammer, C. I.; Neto, M. F.; Brielmann, R. M.; Pedersen, J. S.; Morimoto, R. I. (2015). Investigating the spreading and toxicity of prion-like proteins using the metazoan model organism *C. elegans*. *Journal of Visualized Experiments*, (95), 52321. <https://doi.org/10.3791/52321>
- Panda, A. K.; Chakraborty, D.; Sarkar, I.; Khan, T.; Sa, G. (2017). New insights into therapeutic activity and anticancer properties of curcumin. *Journal of Experimental Pharmacology*, 9, 31–45. <https://doi.org/10.2147/JEPS70568>
- Reddy, P. H.; Manczak, M.; Yin, X.; Grady, M. C.; Mitchell, A.; Tonk, S.; Kuruva, C. S.; Bhatti, J. S.; Kandimalla, R.; Vijayan, M.; Kumar, S.; Wang, R.; Pradeepkiran, J. A.; Ogunmokun, G.; Thamarai, K.; Quesada, K.; Boles, A.; Reddy, A. P. (2018). Protective effects of Indian spice curcumin against amyloid- β in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 61(3), 843–866. <https://doi.org/10.3233/jad-170512>
- Ringman, J. M. (2017). Update on Alzheimer's and the dementias: Introduction. *Neurologic Clinics*, 35(2), 171–174. <https://doi.org/10.1016/j.ncl.2017.01.009>
- Romero-Vanegas, S. J.; Vargas-González, J. C.; Pardo, R.; Eslava-Schmalbach, J.; Moreno-Angarita, M. (2021). El sistema de salud colombiano y el reconocimiento de la enfermedad de Alzheimer. *Revista de Salud Pública*, 23(2), e400. <https://doi.org/10.15446/rsap.v23n2.88369>
- Scheltens, P.; De Strooper, B.; Kivipelto, M.; Holstege, H.; Chételat, G.; Teunissen, C. E.; Cummings, J.; van der Flier, W. M. (2021). Alzheimer's disease. *The Lancet*, 397(10284), 1577–1590. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32205-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32205-4)
- Stiernagle, T. (2006). Maintenance of *C. elegans*. *WormBook*. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.101.1>
- Suárez, H. M.; Díaz Brito. (2020). Eficiencia de encapsulación y capacidad de carga de antocianinas de *Vaccinium floribundum* Kunt en nanopartículas de zeína. *Intelligenza Artificiale*, 8, 83–97.
- Tagde, P.; Tagde, P.; Islam, F.; Tagde, S.; Shah, M.; Hussain, Z. D.; Rahman, M. H.; Najda, A.; Alanazi, I. S.; Germoush, M. O.; Mohamed, H. R. H.; Algandaby, M. M.; Nasrullah, M. Z.; Kot, N.; Abdel-Daim, M. M. (2021). The multifaceted role of curcumin in advanced nanocurcumin form in the treatment and management of chronic disorders. *Molecules*, 26(23). <https://doi.org/10.3390/molecules26237109>

- Tang, C.; Li, L.; Shi, J.; Wu, D.; Wang, M.; Wu, Y.; Yuan, X. (2020). Curcumin in age-related diseases. *Die Pharmazie*, 75(11), 534–539. <https://doi.org/10.1691/ph.2020.0760>
- Teymouri, M.; Pirro, M.; Johnston, T. P.; Sahebkar, A. (2017). Curcumin as a multifaceted compound against human papilloma virus infection and cervical cancers: A review of chemistry, cellular, molecular, and preclinical features. *BioFactors*, 43(3), 331–346. <https://doi.org/10.1002/biof.1344>
- Waghela, B. N.; Sharma, A.; Dhumale, S.; Pandey, S. M.; Pathak, C. (2015). Curcumin conjugated with PLGA potentiates sustainability, anti-proliferative activity and apoptosis in human colon carcinoma cells. *PLoS ONE*, 10(2), e0117526. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117526>
- Xu, J.; Du, P.; Liu, X.; Xu, X.; Ge, Y.; Zhang, C. (2023). Curcumin supplementation increases longevity and antioxidant capacity in *Caenorhabditis elegans*. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1195490. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1195490>
- Yang, H.; Zeng, F.; Luo, Y.; Zheng, C.; Ran, C.; Yang, J. (2022). Curcumin scaffold as a multifunctional tool for Alzheimer's disease research. *Molecules*, 27(12). <https://doi.org/10.3390/molecules27123879>
- Zendehdel, E.; Abdollahi, E.; Momtazi-Borojeni, A. A.; Korani, M.; Alavizadeh, S. H.; Sahebkar, A. (2019). The molecular mechanisms of curcumin's inhibitory effects on cancer stem cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(4), 4739–4757. <https://doi.org/10.1002/jcb.27757>
- Zhang, S.; Li, F.; Zhou, T.; Wang, G.; Li, Z. (2020). *Caenorhabditis elegans* as a useful model for studying aging mutations. *Frontiers in Endocrinology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00637>
- Zhang, X. X.; Tian, Y.; Wang, Z. T.; Ma, Y. H.; Tan, L.; Yu, J. T. (2021). The epidemiology of Alzheimer's disease: Modifiable risk factors and prevention. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*, 8(3), 313–321. <https://doi.org/10.14283/jpad.2021.15>
- Zhen, M.; Samuel, A. D. T. (2015). *C. elegans* locomotion: Small circuits, complex functions. *Current Opinion in Neurobiology*, 33, 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.03.009>
- Zhou, Z.; Sun, T.; Jiang, C. (2021). Recent advances on drug delivery nanocarriers for cerebral disorders. *Biomedical Materials*, 16(2), 24104. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/abdc97>