



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

Efecto neuroprotector de *L. rhamnosus* y *L. plantarum* en *Caenorhabditis elegans* como modelo experimental de la Enfermedad de Alzheimer

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C.
2025**



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

Efecto neuroprotector de *L. rhamnosus* y *L. plantarum* en *Caenorhabditis elegans* como modelo experimental de la Enfermedad de Alzheimer

**Jennifer Lorena Lozada Lemus
Estudiante**

**PhD. Ruth Mélida Sánchez Mora
Asesora Interna**

**MSc. Johanna Lizeth González Devia
Asesora Externa**

**PhD. Gabriela Camargo Hernández
Asesora Externa**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ. D.C.
2025**



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

BOGOTÁ D.C.

2025

Efecto neuroprotector de *L. rhamnosus* y *L. plantarum* en *Caenorhabditis elegans* como modelo experimental de la Enfermedad de Alzheimer

Meritoria: _____

Laureada: X

Aprobada: _____

JURADOS

Sothany M. Moscoso

Cindy Mayeli Arevalo O.

ASESOR(es)

Ruth Helida Sanchez Mora

Benjamin D

Galery

DEDICATORIA

A mi familia, que creyó en mí, me apoyó, y me alentaron en los momentos difíciles, en especial a mi mamá por siempre motivarme a seguir adelante, por el apoyo incondicional en este camino, por las palabras de aliento y su amor.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por iluminarme en este camino, a cada una de las personas que confió en mí y me apoyo, al semillero de Biotecnología y Genética en especial a la Profesora Ruth Sánchez que me abrió las puertas y a la Profesora Marta Gómez que me motivó a seguir y nunca rendirme, a mis asesoras la Profesora Lizeth González que me oriento al consolidar el proyecto y la Dra. Gaby Camargo quién me abrió las puertas en México, me enseñó, me guio y estuvo incondicionalmente, a las personas que me enseñaron Alejandra Mantilla, Viviana y Angie Fernanda, al Laboratorio central de la UCMC y a su personal.

TABLA DE CONTENIDO

INDICE DE FIGURAS	7
INDICE DE TABLAS	8
ABREVIATURAS	9
RESUMEN	10
Introducción	11
Objetivos	13
Objetivo general	13
Objetivos específicos	13
1. ANTECEDENTES	13
2. MARCO REFERENCIAL	17
2.1 Panorama general de la Enfermedad de Alzheimer	17
2.1.1 Epidemiología e impacto en salud pública	17
2.1.2 Fisiopatología clásica enfermedad de Alzheimer	17
2.2 Diagnóstico y terapias actuales	19
2.2.1 Biomarcadores (LCR, plasma, imágenes).....	19
2.2.2 Terapias disponibles y limitaciones.....	19
2.3 Nuevos enfoques en investigación	20
2.3.1 Eje microbiota- intestino-cerebro (MIC).....	20
2.3.2 Influencia de la microbiota intestinal en el cerebro.....	21
2.3.3 Rol de los ácidos grasos.....	21
2.4 Probióticos y psicobióticos como estrategias emergentes	22
2.4.1 Definición y mecanismo de acción	22
2.4.2 Uso de probióticos y psicobióticos en EA	23
2.4.3 Evidencia en modelos animales y clínicos	23
2.4.4 Probióticos específicos evaluados para EA	24
2.5 Modelo experimental <i>Caenorhabditis elegans</i> para el estudio de la Enfermedad de Alzheimer.....	26
2.5.1 Generalidades del <i>C. elegans</i>	26
2.5.2 Cepas transgénicas relevantes.....	27
2.5.3 Cepa transgénica CL2006	27
2.5.4 Construcción de la cepa CL2006	27

2.5.5 Cepa transgénica BR5270.....	28
2.5.6 Cepa transgénica BR5271.....	28
2.5.7 Construcción de la cepa BR5270 y BR5271	28
2.6 Vías de señalización relevantes en EA y MIC	29
2.6.1 DAF-16/ FOXO, SNK-1 y HSF-1.....	29
3. DISEÑO METODOLÓGICO.....	30
3.1 Universo, población, muestra.....	30
3.2 Hipótesis, variables, indicadores	30
3.3 Técnicas y procedimientos	31
3.3.1 Adquisición de las cepas	31
3.3.2 Mantenimiento y crecimiento de <i>C. elegans</i>	31
3.3.3 Identificación microbiológica de las cepas probióticas.....	31
3.3.4 Sincronización	31
3.3.5 Ensayos fisiológicos	32
3.3.6 Determinación de los agregados de proteína Tau	34
3.3.7 Análisis estadístico	34
4. RESULTADOS	34
4.1 Características fenotípicas y fisiológicas de las cepas transgénicas CL2006 y BR5270 de <i>C. elegans</i>	34
4.2 Identificación microbiológica de las cepas probióticas	36
4.3 Preferencia alimentaria y memoria de aprendizaje	37
4.4 Efecto de los probióticos en la Longevidad	39
4.5 Análisis de motilidad.....	41
4.6 Evaluación de la tasa de ovoposición.....	42
4.7 Agregación de proteína Tau	42
5. DISCUSIÓN	43
6. CONCLUSIONES	46
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
8. ANEXOS.....	54

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Resumen gráfico de la disbiosis en el intestino y su impacto en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer.	20
Figura 2. Ciclo de vida <i>Caenorhabditis elegans</i>	26
Figura 3. <i>Caenorhabditis elegans</i>	28
Figura 4. Sincronización.	35
Figura 5. Características fenotípicas cepa CL2006	36
Figura 6. Identificación microbiológica cepas probióticas	37
Figura 8. Ensayo de longevidad	39
Figura 9. Supervivencia.	40
Figura 10. Motilidad.	41
Figura 11. Puesta de huevos.	42
Figura 12. Agregados de proteína Tau	43

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efecto de los probióticos <i>L. rhamnosus</i> y <i>L. plantarum</i>	25
Tabla 2. Universo, Población, muestra	30
Tabla 3. Hipótesis	30
Tabla 4. Variables e indicadores.....	30
Tabla 5. Resumen promedio en días ensayo de longevidad.....	40

ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
EA	Enfermedad de Alzheimer
β A	Proteína β -amiloide
<i>C. elegans</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>
MIC	Eje microbiota intestino cerebro
<i>L. rhamnosus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>
<i>L.plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>LRLP</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> - <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
WT	Wild Type
<i>E. coli OP50</i>	<i>Escherichia coli OP50</i>
MLP	Memoria a largo plazo
MCP	Memoria a corto plazo
SNC	Sistema nervioso central
SNE	Sistema nervioso entérico
GABA	Ácido Gamma Aminobutírico
APP	Proteína precursora de la proteína amiloide



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

Efecto Neuroprotector de *L. rhamnosus* y *L. plantarum* en *Caenorhabditis elegans* como modelo experimental de la Enfermedad de Alzheimer

RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una patología neurodegenerativa; su etiología no está completamente esclarecida, se asocia con depósitos extracelulares de proteína β -amiloide ($A\beta$) y con ovillos neurofibrilares intracelulares de proteína Tau. La principal manifestación clínica es la pérdida progresiva de la memoria a corto plazo (MCP). Entre los modelos experimentales empleados para estudiar la EA, *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) destaca por ser el primer organismo multicelular con genoma completamente secuenciado, encontrando que alrededor del 60-80% de los genes asociados a enfermedades en humanos tienen ortólogos en este nematodo. En particular, las cepas transgénicas CL2006 y BR5270 han sido desarrolladas para modelar la agregación proteica característica de EA.

El eje microbiota–intestino–cerebro (MIC) ha cobrado gran relevancia en la comprensión de las enfermedades neurodegenerativas. La microbiota intestinal regula procesos neurológicos y metabólicos clave que impactan en la salud cerebral. En este contexto, el presente proyecto tuvo como objetivo evaluar el efecto de los probióticos *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactiplantibacillus plantarum* sobre las cepas CL2006 y BR5270 de *C. elegans*. Los resultados revelan efectos positivos tras la suplementación con probióticos, incluyendo incremento en la longevidad, aumento en la memoria y el aprendizaje asociativo, y reducción de los agregados de proteína Tau.

En conclusión, este trabajo aporta evidencia preliminar que respalda el efecto neuroprotector de los probióticos *L. rhamnosus* y *L. plantarum* como estrategia preventiva y tratamiento adyuvante en enfermedades neurodegenerativas, cuya eficacia puede explorarse inicialmente mediante el modelo *C. elegans*.

PALABRAS CLAVES

Enfermedad de Alzheimer, proteína β -amiloide, agregados de proteína Tau, *Caenorhabditis elegans*, neuroprotección, eje microbiota-intestino-cerebro, probióticos.

Introducción

La enfermedad del Alzheimer (EA) es la causa más común de demencia y la enfermedad neurodegenerativa de mayor prevalencia (1), su etiología es desconocida, pero se relaciona con agregados en el cerebro de la proteína β -amiloide (β A) extracelular y con formación de ovillos neurofibrilares intracelulares de la proteína Tau. La manifestación clínica principal es la pérdida de la memoria inicialmente a corto plazo que va progresando hasta afectar las funciones cognitivas y del comportamiento, en las que se compromete: la comprensión, el lenguaje, la atención, el razonamiento y la toma de decisiones, los síntomas de la enfermedad varían dependiendo del estadio, además intervienen factores psicológicos como la depresión y ansiedad (2).

La EA es un problema de salud pública mundial. Actualmente, hay más de 46.8 millones de personas que padecen de esta enfermedad y se proyecta que para el 2050 esta cifra aumente a 131.5 millones (3). Ante este panorama la Organización Mundial de la Salud (OMS) anticipa que para el 2040 estas enfermedades pasarán a ser la segunda causa de muerte a nivel mundial. A pesar de estos pronósticos, las estrategias preventivas y terapéuticas implementadas aún siguen siendo insuficientes frente al rápido avance.

En Colombia, el panorama es igualmente preocupante, con un creciente número de personas que padecen EA y otras demencias. Esta situación deja en evidencia la falta de preparación del sistema de salud colombiano en la promoción y prevención de las enfermedades neurodegenerativas como la EA, sumándose que no tienen capacidad para costear los gastos que generan. Un estudio reciente demostró el impacto social y económico de esta problemática al estimar los altos costos asociados con un tratamiento adecuado estimando, además, los gastos de los cuidadores (4).

Desafortunadamente la Enfermedad de Alzheimer actualmente no tiene cura, aunque si bien se dispone con algunos tratamientos que ayudan a controlar los síntomas asociados, es necesario explorar y desarrollar nuevas estrategias preventivas para evitar el progreso de la enfermedad hacia estadios tan avanzados, como la demencia. Es así como se han evaluado alternativas en múltiples modelos, resaltando *Caenorhabditis elegans* por ser un nematodo no parasitario de vida libre, mide aproximadamente un 1mm de longitud, es transparente lo que permite observar sus órganos internos (boca, faringe, intestino, gónadas) son hermafroditas y machos, los machos tienen 383 neuronas y el *C. elegans* hermafrodita cuenta con 302 neuronas. Además, es un modelo muy atractivo de envejecimiento y para modelar mecanismos similares de las enfermedades neurodegenerativas en virtud de su corto ciclo de vida, en promedio 21 días la cepa silvestre N2. 21 días de edad del *C. elegans* equivale a 80 años de vida en el ser humano (5).

El *C. elegans* es el primer organismo multicelular con un genoma completamente secuenciado. Alrededor del 60-80% de los genes que causan enfermedades en humanos tienen ortólogos en *C. elegans* (6). Específicamente las cepas transgénicas de *C. elegans* CL2006 y BR5270 han sido desarrolladas para modelar el mecanismo de agregación como ocurre en la EA. La cepa CL2006 expresa acumulación de β A en el músculo (7) y la cepa BR5270 es proagregadora de proteína Tau en las neuronas del *C. elegans* y en el músculo faríngeo (8).

En este contexto el organismo *C. elegans* se propone en esta investigación como un modelo para explorar nuevas alternativas terapéuticas a través del eje microbiota intestino cerebro (MIC). Esta vía se define como la relación que hay entre el intestino que funciona como un "segundo cerebro" y el sistema nervioso entérico (SNE) debido a sus conexiones directas con el sistema nervioso central (SNC), ha cobrado relevancia debido a que se sugiere que la disbiosis en la microbiota contribuye como un factor para el desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas (9).

El desequilibrio en los microorganismos presentes en el intestino puede afectar bidireccionalmente la comunicación con el sistema nervioso, algunos de los microorganismos presentes en el intestino tienen la capacidad de producir neurotransmisores como el ácido Gamma Aminobutírico (GABA), Serotonina y Dopamina los cuales intervienen en el equilibrio del sistema nervioso al mantener en orden el organismo, pero en las enfermedades neurodegenerativas hay una disminución significativa de la biodiversidad microbiana, pues durante el proceso de disbiosis, las señales del cerebro incrementan el estrés oxidativo y la inflamación generando como consecuencia un desbalance en el organismo.

En respuesta al desequilibrio generado en la microbiota intestinal se ha propuesto el uso de probióticos como moduladores de la salud cerebral. Algunos *Lactobacillus* tienen la capacidad de generar una regulación sobre el sistema inmune y sobre el sistema nervioso; por ejemplo, tienen efectos en el aumento de la producción de ácidos grasos en el cerebro que son de gran importancia para que funcione adecuadamente, mantenga funciones de aprendizaje, memoria y neurogénesis (10). Específicamente, *Lactobacillus rhamnosus* ha demostrado efectos positivos en el aprendizaje, la memoria y la neurogénesis, mientras que *Lactiplantibacillus plantarum* ha mostrado beneficios en la función cognitiva, la inflamación, el estrés oxidativo y el metabolismo, incluyendo su impacto en la EA.

En consecuencia, de todo lo anterior, este proyecto tuvo como objetivo principal evaluar el efecto de los probióticos *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactiplantibacillus plantarum*, sobre las cepas mutantes CL2006 y BR5270 de *Caenorhabditis elegans* empleadas como modelo experimental de la Enfermedad Alzheimer. Para esta finalidad, la metodología consistió en la caracterización fenotípica y fisiológica de las cepas transgénicas, identificación de las cepas probióticas y ensayos para evaluar sus funciones *in-vivo* tales como: longevidad, motilidad, puesta de huevos, memoria, aprendizaje y por último para validar el potencial neuroprotector se analizaron los agregados de proteína Tau en la cepa BR5270 mediante microscopía de epifluorescencia.

La investigación proyecta que con los hallazgos obtenidos en el modelo experimental de la enfermedad de Alzheimer en *C. elegans* se conviertan en evidencia inicial para validar el potencial de los probióticos. En un futuro se hace necesario trasladar este efecto a modelos biológicos superiores, abriendo una nueva línea prometedora para el desarrollo de una alternativa preventiva y un tratamiento adyuvante.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de los probióticos *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactiplantibacillus plantarum* en las cepas CL2006 y BR5270 de *Caenorhabditis elegans*, empleadas como modelo experimental de la enfermedad Alzheimer.

Objetivos específicos

- Establecer las características fenotípicas y fisiológicas de las cepas transgénicas CL2006 y BR5270 de *C. elegans*.
- Verificar la viabilidad e identidad microbiológica las cepas probióticas *L. rhamnosus* y *L. plantarum* a partir de productos comerciales.
- Determinar la preferencia alimentaria y memoria de aprendizaje de la cepa BR5270 de *C. elegans* tras la exposición a los probióticos.
- Analizar los cambios en los parámetros fisiológicos de longevidad, motilidad y puesta de huevos en las cepas CL2006 y BR5270 de *C. elegans* como resultado de la suplementación probiótica.
- Examinar el efecto de la suplementación probiótica en la acumulación de proteína Tau en la cepa BR5270 de *C. elegans* con microscopía de epifluorescencia.

1. ANTECEDENTES

La enfermedad de Alzheimer recibió su nombre actual gracias al Doctor Alois Alzheimer quién describió por primera vez la enfermedad en 1906 (2). Aún su etiología no está completamente esclarecida, se caracteriza por la pérdida neuronal que afecta principalmente el hipocampo y la corteza cerebral. Dado que la enfermedad no tiene cura se ha convertido en centro de investigaciones, no sólo centradas en la búsqueda de una terapia curativa, sino en la búsqueda de nuevas alternativas preventivas que eviten o retrasen la progresión a estadios tan avanzados, como la demencia.

En este escenario la búsqueda de nuevas alternativas preventivas, los microorganismos con efectos benéficos para la salud han cobrado gran interés, en el caso de las enfermedades neurodegenerativas para evaluar su potencial neuroprotector.

Es así como aparece el término probiótico, que se empezó a usar por primera vez hacia 1965 por Lilly y Stillwell fue definido como sustancias secretadas por los microorganismos que ayudaban al crecimiento de otros, pero no fue sino años más tarde, en 2002 que se empieza a describir como componentes microbianos con un efecto benéfico para la salud (11), a raíz de ello hay algunos otros términos asociados como el término psicobiótico un concepto aún más reciente, se introdujo desde un punto de vista en el cual los microorganismos provenientes del intestino cuentan con fines benéficos específicos dirigidos al cerebro (12).

Frente a la necesidad de evaluar el potencial neuroprotector de los probióticos se han planteado modelos experimentales accesibles y eficaces, por su parte, el organismo

Caenorhabditis elegans, propuesto por Sydney Brenner (como una respuesta a los problemas en el estudio de la neurobiología y el sistema nervioso en modelos vivos y su gran ventaja de facilidad de cultivo en el laboratorio) es un modelo ideal para este fin. Es un modelo bien conocido que ha traído grandes aportes y descubrimientos en la ciencia, por las investigaciones con *C. elegans* se han otorgado 4 premios Nobel (5).

Esta investigación se enfoca en el eje microbiota- intestino- cerebro, el cual ofrece una explicación de la fisiopatología que ocurre en la EA. La relación bidireccional que existe entre los microorganismos presentes en la microbiota intestinal (conforman un ecosistema el microbioma) y el sistema nervioso influye directamente en la actividad del cerebro; Sin embargo, la alteración en esta relación, que se conoce como disbiosis que puede contribuir significativamente en el daño neuronal.

Numerosas investigaciones han demostrado que la disbiosis intestinal puede promover la agregación de β A, neuroinflamación y el estrés oxidativo. Estos hallazgos han proporcionado evidencia que sustenta que bacterias consideradas probióticas pueden llegar a mitigar los efectos neurodegenerativos. Por lo tanto, este argumento sustenta la línea de investigación desarrollada en la presente investigación.

El modelo *C. elegans* en la actualidad está siendo usado ampliamente para evaluar el potencial de los probióticos en EA, encontrando que el uso de psicobióticos disminuye significativamente los agregados de β A, por ejemplo, Cogliati *et al.* en el año 2020 emplearon el probiótico *B. subtilis*, dónde encontraron como resultado que puede retrasar el daño neuronal y mejorar las respuestas de comportamiento de los nematodos Wild Type (WT) adultos. Teniendo en cuenta que el mayor factor de riesgo en la EA es el envejecimiento, se investigó el efecto antienvjecimiento del probiótico qué actúa además como protector en contra de la agregación proteica característica de la EA, al detener o retrasar la parálisis en las cepas transgénicas qué acumulan la proteína β A en el músculo respectivamente en las cepas CL1220 y GMC101 (12).

En un futuro aún no se puede determinar si el *B. subtilis* se puede usar para retrasar o tratar la EA porque hay muchos otros factores que influyen en la enfermedad, como el componente genético presente en las familias. Adicionalmente, porque la EA es una enfermedad multifactorial en la cual intervienen diferentes vías neuronales que se ven afectadas, aunque el probiótico solo se concentra en una parte que son los agregados de β A, su mayor poder es actuar como una herramienta antienvjecimiento, relacionada con dos vías de señalización muy bien establecidas tanto en *C. elegans* como en los humanos, la restricción dietaría y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) en *C. elegans* el homólogo es DAF-2 y su regulador negativo es DAF-16 homólogo del factor de transcripción en humanos y HSF-1 (factor de respuesta al choque térmico) juegan un papel crucial en los genes relacionados con el tiempo de vida.

Por otro lado, la restricción dietaría, permite que haya una menor ingesta calórica aumenta la longevidad y ofrece protección contra la proteotoxicidad, regulado por las vías de señalización qué activan o no los genes relacionados con el envejecimiento,

en conjunto este mecanismo va a proteger en contra del estrés oxidativo, inflamación, infecciones microbianas y la producción de múltiples proteínas como las proteínas chaperonas que mantienen la integridad de las proteínas que lo necesitan, pues una de las funciones de las proteínas chaperonas es corregir un mal plegamiento de las proteínas mal plegadas y dañadas.

Esta investigación sustenta por qué en el presente trabajo se seleccionaron los probióticos para ser evaluados en *C. elegans* como una alternativa para EA.

En la misma línea Kumar *et al.* en el 2022 evaluaron el potencial de una cepa aislada de un alimento fermentado de *L. plantarum*, se encontró que aumentaba notablemente la longevidad en *C. elegans*, acompañado de un mejoramiento en las funciones físicas que actúan como biomarcadores de envejecimiento (13).

En primer lugar, Kumar *et. al* lograron aislar el probiótico y evaluar que fuera optimo bajo las condiciones a las que se enfrentaría en el intestino, como al pH y el ácido biliar, posteriormente al suministrar el probiótico al nematodo se encontraron con que mejoraba el tiempo de vida del *C. elegans* y pudieron observar que en este proceso de extensión de vida, intervienen varias vías de señalización relacionadas con el proceso de envejecimiento como p38 MAPK, DAF-2/DAF-16 que son las vías que permiten que se extienda el tiempo de vida en los *C. elegans*, de igual manera que se apreciaba en otras investigaciones con el organismo modelo *C. elegans*. Además, fenotípicamente el nematodo mejoró su bombeo faríngeo, el movimiento aumentando el número de ondas y disminuyendo la acumulación de lipofuscina, lo que indica que este probiótico mejora eficientemente la calidad de vida en la vejez en el nematodo.

Por otro lado el mismo grupo de investigación de Kumar en el 2022 realizaron un ensayo de preferencia alimentaria y memoria de aprendizaje en el cual se logró concluir que la dieta afecta el comportamiento de los nematodos, desde la alimentación, la parte sensorial, la memoria y el aprendizaje, los nematodos no presentan una preferencia por el probiótico respecto a la *E.coli* OP50, pero cuando son entrenados y se les da previamente el probiótico adquieren una habilidad en la cual prefieren el probiótico en vez que la *E.coli* OP50, lo que indica que hay una mejora en la memoria y aprendizaje, se sugiere que es debido a la expresión de genes relacionados con la serotonina, dando indicios de esta interacción entre el intestino y el SNC, aun se enfatiza en que es necesario encontrar un mecanismo que indique el rol del eje intestino-cerebro. Estos hallazgos soportan la elección del uso de *L. plantarum* en el presente trabajo.

El metabolismo de los ácidos grasos tiene una influencia en el envejecimiento por lo que se ha explorado su relación con la EA, en una investigación realizada por Labarre *et al.* en el 2022, identificaron genes relacionados con el metabolismo de los ácidos grasos y la β -oxidación como *acd-1* y *kat-1* para evaluar este fenómeno en el equipo de Labarre utilizaron al organismo modelo *C. elegans*, y encontraron que la parálisis mejora principalmente con el *L. rhamnosus* cepa HA-119 y que cuando se combina con la *E. coli* OP50 se obtiene un mejor efecto (1:3 *E. coli* OP50: probiótico HA-119), se encontró además que la vía por las cuales se genera la neurodegeneración son las vías *daf-16*/FOXO, *hsf-1*/HSF1 y *aak-2*/AMPK. Sin embargo, los investigadores no encontraron que hubiera una expresión menor de GFP lo que hace pensar que la neuroprotección es independiente de las vías clásicas de longevidad y respuesta al

estrés (14).

El metabolismo de los ácidos grasos interviene en los procesos fisiológicos de longevidad y de estrés, puesto que se cree que en enfermedades como la EA y otras enfermedades neurodegenerativas se encuentra en desequilibrio este metabolismo. Se ha reportado que cuando se suministran los probióticos como el *L. rhamnosus* se restablece el contenido lipídico a niveles normales y la acumulación de lípidos esta también asociada con la β -oxidación. (15)

Este estudio permitió sustentar el uso del probiótico *L. rhamnosus*, debido a que la cepa HA-114 tiene un efecto sobre modelos relacionados con neurodegeneración dependiente de la edad, que involucra dos vías importantes relacionada con el metabolismo de los lípidos la β -oxidación y los aminoácidos de cadena cerrada (BCAA) pero aún es necesario evaluar otras cepas de la bacteria probiótica que permitan evidenciar si estos mecanismos están presentes y que otros intervienen.

En el mismo contexto del metabolismo de los lípidos Balaguer *et al.* en el 2023 encontraron que en estudios previos se había reportado a *Bifidobacterium animalis* subespecie lactis (BPL1) a través de la producción de ácido lipoteicoico una reducción significativa de las grasas por la activación en la vía de señalización de insulina/IGF-1, con esta información adicionalmente encontraron que en *C.elegans* tiene efectos muy positivos en el estrés y el comportamiento en un modelo usado para enfermedad de Alzheimer, además mejora la funciones cognitivas y la proteotoxicidad en *C. elegans* (15).

En combinación de los mecanismos anteriormente descritos Stuart *et al.* en el 2024 evaluaron el eje MIC ya que en la actualidad para prevenir la acumulación de la proteína β A en el cerebro se ha explorado el eje MIC, acompañado además de la dieta, el metabolismo de los lípidos y la salud mitocondrial; a su vez, el metabolismo de los lípidos ha mostrado que afecta la eliminación de β A y la fosforilación de la proteína Tau, la neurodegeneración está relacionada con la disfunción mitocondrial (16).

Para el ensayo Balaguer *et al.* usaron una cepa la cual presenta parálisis, este fenómeno en *C. elegans* es dependiente de la edad y la temperatura, los nematodos se consideran que están paralizados cuando no se pueden mover frente al estímulo con el pick y solo pueden mover su cabeza, las dos cepas evaluadas *L. rhamnosus* HA-111 y *B. subtilis* R0179 fueron las que mostraron mejores resultados en la parálisis; Adicionalmente, en comparación con la dieta con probióticos el tiempo de vida aumentó significativamente.

La investigación permite determinar que el metabolismo de los lípidos puede estar mediado por las bacterias probióticas, debido a que cuando se suministran disminuye la acumulación de ácidos grasos, pero es un área nueva en neurodegeneración que aún se debe seguir explorando cómo se planteó en este proyecto.

Por último, los probióticos se han puesto a prueba en ensayos clínicos, como el ensayo clínico realizado por Akhgarjand *et al.* en el 2022, en el cual se estudió el efecto de los probióticos en pacientes que padecían EA, con este fin durante 12 semanas se les suministró *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium longum* y el placebo donde encontraron cambios comportamentales significativos que incluían: la fluidez verbal, las actividades diarias y la ansiedad (17).

Como resultados más representativos se encontró que la parte cognitiva y la actividad física en el grupo que se les suministró *B. longum* hubo mejoría en varios aspectos respecto a los otros dos grupos y para el caso de la ansiedad mejoró en el grupo al que se le suministró *L. rhamnosus*, sin embargo, no hubo un cambio significativo en la habilidad para realizar actividades de la vida diaria.

El ensayo clínico propone que los probióticos son benéficos para los pacientes como un tratamiento adyuvante y pueden llegar a mejorar la eficacia de los medicamentos que se toman como parte del tratamiento para EA, concluyendo que detiene el avance de la enfermedad y permite mejorar la calidad de vida de los pacientes, pero que aún es necesario realizar más ensayos clínicos en este campo.

Si bien en los ensayos clínicos ya se han evaluado los probióticos, la evidencia aún se limita a un número reducido de cepas. Por lo tanto, es necesario seguir investigando para conocer los posibles efectos positivos. Actualmente, se considera de suma importancia determinar la cepa en específico y el tiempo óptimo de administración para poder establecer con certeza su eficacia.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 Panorama general de la Enfermedad de Alzheimer

2.1.1 Epidemiología e impacto en salud pública

La demencia constituye una crisis de salud pública de magnitud global. Según lo estimado por la Alzheimer's Disease International (ADI), cerca de 55 millones de personas viven en la actualidad con demencia en el mundo (18). Esta cifra aumenta a un ritmo alarmante cada año aparecen cerca de 10 millones de casos nuevos (19). En este marco la OMS señala que la Enfermedad de Alzheimer es la principal causa de demencia, pues se le atribuyen del 60- 70% del total de los casos (20). Esta frecuencia extremadamente alta se traduce en términos estadísticos, en que cada 3 segundos en el mundo alguien desarrolla demencia (21).

Existe una gran preocupación en los países de América Latina, debido a la rápida progresión de la demencia en esta región. La Organización Panamericana de Salud (OPS) reportó que la demencia está avanzando rápidamente, los afectados en el 2010 eran 3,4 millones y para el 2030 se estima que sean 7,6 millones. La prevalencia mayor se da en las mujeres con un aumento predominante del 66%. La OPS lo considera un problema en salud pública y como respuesta adoptó el plan de acción mundial sobre la respuesta de salud pública a la demencia 2017-2025. (21)

Particularmente en Colombia, un país en vía de desarrollo tiene una prevalencia de 1.3% a 23.6%, una gran parte de la población se encuentra afectada por la mutación en el gen PSEN1, que se encuentra asociado como agente causante de la EA de inicio temprano (22).

2.1.2 Fisiopatología clásica enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer es una enfermedad compleja multifactorial, con un componente genético y medioambiental implicado. Suele aparecer entre los 65 y 85

años, la EA en edades tempranas es menos frecuente, se encuentra relacionada con un componente genético y hereditario, los genes principalmente asociados son: APP, PSEN1 y PSEN2, existen otras mutaciones que aumentan el riesgo de desarrollar demencia como las mutaciones en el gen APOE, la variante APOE4 (23) mientras que los casos de EA en edades avanzadas aparecen esporádicamente (2).

Se desconoce su etiología, pero principalmente se relaciona con agregados de proteína β A tóxica en el sistema nervioso central como una de las causas principales y la formación de ovillos neurofibrilares de proteína Tau intracelulares simultáneamente.

Depósitos de proteína beta amiloide (β A)

La proteína β A es un péptido corto de 4.2 kDa constituido por 40-42 aminoácidos, cumple funciones como la señalización intracelular, su producción esta mediada por la APP (proteína precursora de la proteína amiloide) se encuentra ampliamente distribuida en el cerebro, se produce en las neuronas, en los vasos sanguíneos, células sanguíneas y en menor proporción en los astrocitos, es hidrolizada por la β -secretasa extracelular y γ -secretasa intracelular para finalmente poder formar la proteína. No está del todo claro cuál es su función específica en el cerebro, si se sabe que protege las neuronas, regula las interacciones intracelulares, el crecimiento y la plasticidad sináptica. No es una proteína que aparezca exclusivamente en EA, porque se ha visto asociada en otras patologías neurodegenerativas como el Parkinson.

Las mutaciones en la APP, pueden llegar a generar un aumento anormal en la síntesis de proteína β A, puesto que se empieza a acumular en el espacio extracelular formando estructuras ricas en hojas β , después de formar oligómeros, se recombinan en fibrillas y forman finalmente las plaquetas amiloides (24). Otras mutaciones, como las que pueden llegar a aparecer en la región transmembranal se han encontrado en pacientes en etapas tempranas de EA, específicamente residuos AB42 y AB40.

Al aumentar los niveles de β A en el cerebro, genera un proceso de neurotoxicidad. El cerebro en condiciones adecuadas logra controlar la síntesis y eliminación de β A, cuando hay síntesis también ocurre en paralelo su eliminación, sin embargo, cuando se altera este metabolismo a nivel cerebral genera como consecuencia: plegamiento de la proteína, agregación y acumulación extracelular, siendo la última manifestación y la más grave la formación de las placas β A.

Hiperfosforilación de proteína Tau

Por otro lado, tenemos el sistema de microtúbulos que le da sostén al cerebro y está conformado por proteínas del microtúbulo, la de mayor abundancia es la proteína Tau, que sufre un proceso en el cual va a aumentar su número de grupos fosfato de 5 a 9 en pacientes con EA, esta hiperfosforilación va a generar que no sea estable el sistema de microtúbulos en el cerebro; se cree que los agregados de β A mediante la activación de vías de señalización como P38 MAPK y β AR-PKA-JNK promueven esta fosforilación inadecuada (24), pero no se ha logrado establecer porque esta alteración en la proteína Tau genera un daño neuronal.

Finalmente, como consecuencia se generan los ovillos neurofibrilares de proteína Tau,

que, aunque se consideran un marcador patológico en pacientes con EA, no es exclusivo también puede evidenciarse en otras enfermedades neurodegenerativas.

Alteración en el metabolismo de los ácidos grasos

Los lípidos son otros de los componentes que son esenciales para el cerebro y cuando se encuentran desregulados se asocia con procesos neurodegenerativos. El 50% del peso seco del cerebro está compuesto por lípidos, su funcionalidad en el cerebro es cumplir un papel fundamental como componente principal de las membranas, incluida la sinapsis y la vaina de mielina, pueden servir además como señal transductora que regula un amplio rango de procesos biológicos (25).

El desequilibrio en el metabolismo de los lípidos se considera un factor de riesgo para desencadenar EA; la producción de β A ocurre en los microdominios de membrana ricos en colesterol y esfingolípidos lo que ha llevado a la hipótesis de que estos componentes afectan la amelogénesis (25).

La relación entre Tau y los lípidos es desconocida, pero se cree que está conectada indirectamente con el metabolismo de β A. Los astrocitos pueden ayudar a responder esta incógnita pues poseen la habilidad de regular de manera indirecta la sinapsis y contribuir a una homeostasis de todos los iones en las células y en la EA los astrocitos pueden contribuir a la agregación de las proteínas, además la agregación de los astrocitos se ha encontrado dentro de los agregados de β A en el cerebro de pacientes con EA, se cree que tienen un potencial para iniciar el proceso de neuroinflamación característico en EA (26).

2.2 Diagnóstico y terapias actuales

2.2.1 Biomarcadores (LCR, plasma, imágenes)

La EA inicia con un estadio que se conoce como fase prodrómica donde aparecen los primeros síntomas como la pérdida progresiva de la memoria, pero aún no aparecen síntomas tan notorios hasta que llega a estadios avanzados donde se impide realizar actividades de la vida cotidiana. Se clasifica en leve, moderada y avanzada dependiendo del avance y gravedad de las manifestaciones clínicas.

El diagnóstico de la EA es un desafío actual, porque para su confirmación en la mayoría de los casos se diagnostica post mortem, en la actualidad se ha comenzado a buscar otras alternativas que no solo se limiten al diagnóstico por los síntomas y manifestaciones clínicas, ya que se pueden ser transversales en las enfermedades neurodegenerativas en general. Se dispone de técnicas como la detección de biomarcadores en el fluido cerebroespinal y plasma, empleando biomarcadores útiles como Tau fosforilada 181, 127, P231 y los niveles totales de Tau, además de otros marcadores disponibles por métodos diagnósticos como la tomografía por emisión de positrones (TEP) y la resonancia magnética de alta resolución (23).

2.2.2 Terapias disponibles y limitaciones

Desde una perspectiva terapéutica, las alternativas farmacológicas actuales se limitan a tratar los síntomas. La mayoría de tratamientos convencionales se basan en

inhibidores de la acetilcolinesterasa (IACHÉ), los cuales actúan impidiendo la degradación de la acetilcolina, así logran incrementar su disponibilidad, debido a que en la EA este neurotransmisor se encuentra disminuido (27).

Simultáneamente se han venido desarrollando tratamientos enfocados en la disminución de los agregados de proteína β A y Tau, adicionalmente para complementar este esfuerzo se han estado desarrollando estrategias no farmacológicas de prevención que han demostrado ser las acciones más prometedoras para evitar o retrasar la progresión a estadios avanzados (28).

2.3 Nuevos enfoques en investigación

En el marco de la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos y estrategias preventivas, se ha ampliado el enfoque más allá de lo tradicional. Es así como en la actualidad se ha empezado a estudiar las funciones principales que cumplen algunos de los microorganismos presentes en intestino, para primero identificar la acción que tienen sobre el sistema nervioso y posteriormente evaluar cómo una alteración de la composición de la microbiota intestinal podría contribuir a la patogénesis de muchas de las enfermedades, como es el caso de la EA.

2.3.1 Eje microbiota- intestino-cerebro (MIC)

El eje microbiota-intestino-cerebro explica el mecanismo de la EA desde una perspectiva diferente a la clásica, se sustenta desde la relación entre la disbiosis intestinal y la disfunción neuronal, varios estudios han evidenciado que una disbiosis en el intestino puede promover agregación de β A, neuroinflamación y estrés oxidativo en la patogenia de EA (29).

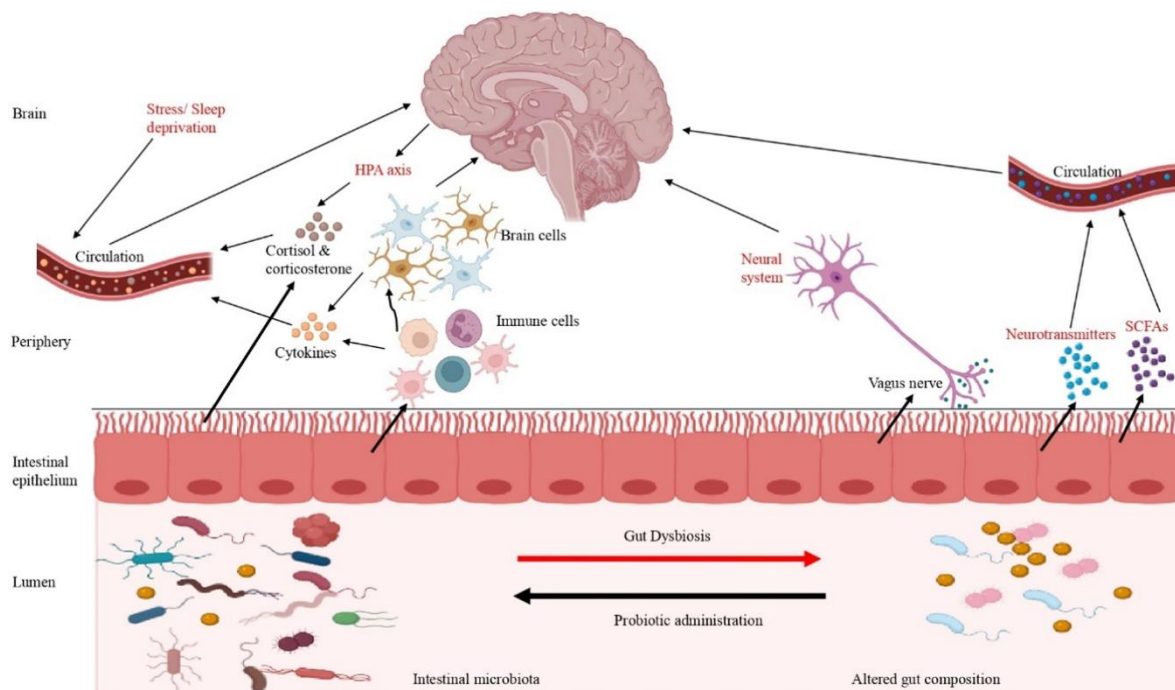


Figura 1. Resumen gráfico de la disbiosis en el intestino y su impacto en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer (31).

Son múltiples los factores de riesgo que se encuentran asociados al desarrollo de EA como: factores ambientales, genéticos y dietarios, pero recientemente se ha venido asociando a los procesos que se llevan a cabo en la microbiota intestinal. En personas que padecen EA se ha encontrado que la composición de su microbiota al compararla con personas sanas presenta diferencias en: el número de Bifidobacteria se encuentra disminuido y especies de Gammaproteobacteria, Enterobacteriales y Enterobacteriaceae se encuentra aumentado (30,31).

2.3.2 Influencia de la microbiota intestinal en el cerebro

Los microorganismos presentes en el intestino humano se consideran benéficos ya que tienen la capacidad de controlar muchas de las funciones del sistema en general, como es el caso de la producción y secreción de algunos metabolitos que tienen efectos específicamente en el cerebro como los neurotransmisores, que son de suma importancia para el funcionamiento adecuado del cerebro, por ejemplo, en EA los niveles de GABA disminuyen, hay pérdida de las neuronas dopaminérgicas que ocasionan deficiencia de la memoria y pérdida de la conciencia, la Serotonina tiene una estrecha relación con los agregados de β A lo que en conjunto contribuye a la fisiopatología de EA (32).

La disbiosis aparece como consecuencia de la disminución de los microorganismos presentes en la microbiota, es decir no se presentan la misma cantidad de microorganismos benéficos que ayudan a producir por ejemplo los neurotransmisores, sino que contrariamente se aumentan algunos otros que son patógenos y generan funciones contrarias.

Lo que genera un impacto significativo pues se disminuyen las sustancias benéficas en el cuerpo como los ácidos grasos de cadena corta y aumentan otros componentes como sustancias amiloides que contribuyen al desarrollo de la patología de EA; Además, impacta directamente en el avance progresivo de las funciones del cerebro que incluye la memoria, el aprendizaje, entre otros, al no detenerse a tiempo, llega a estadios avanzados como la demencia.

2.3.3 Rol de los ácidos grasos

Algunos ácidos grasos de cadena corta (AGCC) como el acetato, butirato y propionato intervienen en la agregación de proteínas como la β A y Tau en el cerebro y estos AGCC son producidos por los microorganismos presentes en el intestino cuando hay disbiosis intestinal.

Como es el caso de *L. plantarum* que cuando se combina con galactooligosacáridos regulan la producción del metabolito butirato que se produce en el intestino regulando así la expresión de proteínas proapoptóticas y la activación de mediadores de la inflamación, en algunos modelos biológicos sus efectos se relacionan con mejora en la neurodegeneración y la memoria, además produce ácidos grasos poliinsaturados que inhiben la expresión de factores inflamatorios como la secreción de IL-10, FNT- α , IL-6 lo que resulta en propiedades antiinflamatorias moduladas por los ácidos grasos (33,34).

Los ácidos grasos son indispensables para que el cerebro cumpla funciones fundamentales, la gran mayoría de estos ácidos grasos son metabolitos producidos por la microbiota intestinal, lo que indica que, si hay una alteración puede además haber una afectación en los metabolitos que se producen (postbióticos) y que llegan hasta el cerebro, un desequilibrio en los diversos ácidos grasos que intervienen en las funciones del cerebro puede modular la fisiopatología de EA (35,36).

2.4 Probióticos y psicobióticos como estrategias emergentes

2.4.1 Definición y mecanismo de acción

En primer lugar, es necesario definir la palabra probiótico que viene del griego y significa "para la vida", los probióticos se han definido como microorganismos vivos que tienen la capacidad de conferir un beneficio para la salud al huésped que los consume en cantidades adecuadas; permiten mantener una homeostasis intestinal y a su vez dependiendo de la cepa confieren beneficios en enfermedades puntuales (37).

Una amplia variedad de microorganismos reside en el intestino, incluyendo los géneros: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Lactococcus* entre otros. Se ha comprobado que algunos de estos microorganismos tienen propiedades para secretar metabolitos con efecto directo en el SNC como los neurotransmisores:

GABA: principal neurotransmisor inhibitorio, regula el estado de ánimo, el comportamiento, las funciones cognitivas y regula las emociones.

Serotonina: relacionado con el estado de ánimo y ayuda a cumplir algunas funciones a nivel cognitivo.

Dopamina: regula funciones como memoria y aprendizaje

Acetilcolina: ayuda a controlar funciones cognitivas, memoria, habilidades de vida social, cuidado personal

Otros como los ácidos grasos de cadena corta y la histamina:

Ácidos grasos de cadena corta: promueve la síntesis y secreción de neurotransmisores

Histamina: regula el sueño y conocimiento

Si bien estas propiedades demuestran la comunicación bidireccional entre el SNC y el SNE, en procesos de disbiosis los metabolitos anteriormente mencionados, entre otros no se pueden seguir produciendo y a su vez se afectan las funciones que estos regulan, en la EA se ha encontrado que la alteración de la microbiota puede contribuir al proceso neurodegenerativo (29,38).

En respuesta a esta alteración se ha propuesto el uso de probióticos, prebióticos, simbióticos y específicamente para el cerebro ha aparecido el nuevo término de psicobióticos, todos ellos actúan generando un balance en la microbiota intestinal y así mejorar la salud en general, al cambiar la diversidad microbiana empiezan a

disminuir bacterias como *Eubacterium*, *Allisonella* y *Prevotellaceae* que curiosamente se relacionan con procesos inflamatorios y *Allisonella* específicamente aumenta la producción de histamina (38).

En la actualidad el mercado de los probióticos ha venido en ascenso generando que se comercialicen de todo tipo de bacterias para ser consumidas como suplementos prometiendo beneficios generalizados, pero no se conoce del todo cómo es el proceso por el cual actúan en el cuerpo e individualizado según la patología.

2.4.2 Uso de probióticos y psicobióticos en EA

En el caso específico de la EA en la actualidad se busca diluir el mecanismo por el cual los probióticos tienen la capacidad de modular la comunicación del eje MIC y así poder determinar su potencial para generar neuroprotección y modificar el curso de la enfermedad, ya sean estrategias preventivas o tratamientos que ayuden a ralentizar la progresión de la enfermedad.

Dentro del grupo de probióticos surge un subgrupo de especial interés: los psicobióticos, que son definidos como bacterias simbióticas ya que van a estar acompañas además de prebióticos, que ofrecen múltiples ventajas a nivel cerebral en respuesta al daño neuropsiquiátrico generado en enfermedades neurodegenerativas como la EA (39).

Sus efectos se pueden dividir en tres tipos: los que tienen efectos psicológicos o cognitivos y emocionales, por su impacto el eje hipotálamo- hipofisario- adrenal (HPA) y por su respuesta al estrés glucocorticoide y la inflamación (39).

Como anteriormente se mencionó los ácidos grasos de cadena corta, los neurotransmisores y las citoquinas juegan un papel muy importante en la regulación del eje MIC, debido a que estos metabolitos pueden traspasar la barrera epitelial y llegar hasta la circulación, en dónde interactúan con el nervio vago, esta interacción envía señales al cerebro.

La importancia de los microorganismos presentes en el intestino radica en que ayudan a modular la función del cerebro a través del eje cerebro- intestino, lo que conlleva a una homeostasia adecuada en el intestino, que modifica la producción y síntesis de neurotransmisores para la activación y regulación inmune, además moduladas por el cortisol que permite mantener íntegra la barrera intestinal.

2.4.3 Evidencia en modelos animales y clínicos

Se han evaluado múltiples probióticos, entre los que se encuentran los *Lactobacillus* un género con varias especies y en las que se ha encontrado que no todas tienen el mismo efecto sobre la EA. En un estudio realizado en el modelo biológico *Caenorhabditis elegans* en el que evaluaron distintos probióticos (*L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. salivarius*) sobre cepas relacionadas con Alzheimer encontraron que el mejor efecto era generado por *L. paracasei*, pero *L. rhamnosus* también mostró cambios positivos (40).

Incluso en estudios clínicos *L. plantarum* que es considerado un probiótico

antiinflamatorio se ha encontrado que mejora la atención y la fluidez verbal, por medio del metabolismo de los ácidos grasos. La producción de ácidos grasos de cadena corta por los microorganismos presentes en el intestino se ha visto influenciada con la activación de los receptores acoplados a proteína G (GPCRs) y otros metabolitos son producidos como GABA y el ácido butírico principalmente por las bacterias *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* (41).

Se han logrado realizar estudios clínicos (39) en la materia fecal de los pacientes que la padecen, en los cuales se ha logrado evidenciar que hay aumento de algunos microorganismos considerados que no actúan de manera positiva en la composición de la microbiota y disminución de algunos otros microorganismos que ocasionan la disbiosis, por ejemplo cuando se suministra a pacientes con EA probióticos de diferentes especies de los géneros principales para que haya un aumento significativo de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Tienen la capacidad de producir neurotransmisores y neuromoduladores como acetilcolina, GABA, norepinefrina, serotonina, dopamina, y funciones específicas al reducir el estrés oxidativo y la inflamación en EA, pero aún es necesario realizar más estudios para evidenciar su eficacia y seguridad.

2.4.4 Probióticos específicos evaluados para EA

Específicamente el uso de *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactiplantibacillus plantarum* se proponen para ser evaluados en esta investigación porque aunque han sido estudiados por sus posibles efectos positivos en la salud, poseen propiedades que ayudan a regular funciones en el sistema nervioso central, incluso en la EA aún se deben seguir considerando el impacto que pueden llegar a tener individualmente y en conjunto, para así implementarlos en un futuro como alternativa preventiva y posiblemente tratamiento adyuvante (37,42–44).

Los probióticos más usados actualmente son los pertenecientes al género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* debido a que son reconocidos por la FDA como GRAS (Generalmente reconocido como seguro) al conocer un poco más de su seguridad para su consumo, son los cuales más se comercializan y se integran a los productos (11).

Los efectos positivos que generan los probióticos en gran medida son por los bioproductos que producen que se conocen con el nombre de postbióticos, como lo son AGCC, enzimas, proteínas, vitaminas, entre otros, que permite que el ambiente intestinal esté en óptimas condiciones.

Los postbióticos se pueden definir como "después de la vida" (11) son componentes celulares microbianos que son resultado de la acción durante todo el proceso probiótico realizado en el intestino por los microorganismos, actúan como un segundo proceso que se lleva en paralelo y finalmente ocasiona que influya en los procesos a nivel cerebral, como el caso de algunas especies de *Lactobacillus* y *Escherichia* controlan y organizan las señales neuronales en el hipocampo que afectan el proceso cognitivo.

Los postbióticos derivados de *L. rhamnosus* y *L. plantarum* tienen control sobre la inflamación a corto y largo plazo al estimular la producción de citoquinas antiinflamatorias por los macrófagos y en el cerebro por la producción de metabolitos

necesarios para el cerebro (45).

Tabla 1. Efecto de los probióticos *L. rhamnosus* y *L. plantarum*

Efecto de los probióticos	Modelo <i>Caenorhabditis elegans</i>	Modelo Clínico (humanos con EA)
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	• Se han reportado efectos sobre modelos relacionados con neurodegeneración dependiente de la edad (46) • Mejora en la parálisis cuando se suministra junto a la <i>E. coli</i> OP50 (47) • Aumento en la longevidad (44)	• Considerado como psicobiótico (30) • Reconocido por la FDA como GRAS (37) • Regulación eje MIC, a través de la producción de citoquinas y neurotransmisores (acetilcolina, GABA, norepinefrina, serotonina, dopamina) (35) • Reducción del estrés oxidativo (17) • Cambios comportamentales (fluidez verbal, actividades diarias y ansiedad) (17)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	• Intervienen en la preferencia alimentaria, prefieren el probiótico sobre la dieta normal (13) • Mejora en la memoria y el aprendizaje (40) • Aumento en la longevidad(48)	• Probiótico antiinflamatorio • Reconocido por la FDA como GRAS (37) • Considerado como psicobiótico (30) • Regulación eje MIC, a través de la producción de citoquinas y neurotransmisores (acetilcolina, GABA, norepinefrina, serotonina, dopamina) (35) • Mejora la atención y la fluidez verbal, por medio del metabolismo de los ácidos grasos (43)

2.5 Modelo experimental *Caenorhabditis elegans* para el estudio de la Enfermedad de Alzheimer

2.5.1 Generalidades del *C. elegans*

Caenorhabditis elegans es un modelo no parasitario de vida libre que se encuentra en el suelo de alrededor del mundo, mide aproximadamente 1mm de longitud cuando son adultos. Su nombre es una mezcla de griego: *Caeno* que significa “reciente”, *rhabditis* que se refiere a “redondo como” y del latín *elegans* de “elegante” (49); son hermafroditas en su gran mayoría, aunque también se encuentran machos; tiene un número invariable de células somáticas, lo que permite que se generen nematodos completamente idénticos para ser investigados (5).

Tienen un ciclo de vida corto y rápido como se observa en la *Figura 2*, el proceso de embriogénesis tarda aproximadamente 16 horas a una temperatura de 20 °C, eclosiona convirtiéndose en el primer estadio larvario L1, al consumir alimento continúan creciendo pasando de L1-L4, entre una etapa y otra tardan aproximadamente 12h, cada etapa termina con un periodo corto de tiempo que se denomina letargo, mientras se forma una nueva cutícula de colágeno, al finalizar el periodo de letargo, los nematodos alcanzan el estadio L4, momento en que se consideran adultos jóvenes con la capacidad de reproducirse, producen su progenie durante 2 a 3 días, finalmente pueden vivir unas semanas más antes de que lleguen a su periodo de senescencia.



Figura 2. Ciclo de vida *Caenorhabditis elegans*. Esquema con fotografías de cada uno de los estadios larvarios de *C. elegans* desde la embriogénesis, L1, L2, L3, L4 y adulto. Basado en el WormBook (5)

2.5.2 Cepas transgénicas relevantes

En la evidente necesidad de evaluar los efectos de los probióticos y la relación intestino-microbiota cerebro, *C. elegans* es un excelente modelo biológico ya que es un modelo muy bien establecido de genética y envejecimiento, es fácil y económico de mantener en el laboratorio. Se encuentra completamente secuenciado, cuenta con 302 neuronas, del 60-80% de los genes que causan enfermedades en humanos tienen ortólogos en *C. elegans*, como es el caso de la agregación proteica en humanos que padecen EA que ocurre de forma similar en las cepas CL2006 y BR5270 que se observan en la *Figura 3* (6,50).

2.5.3 Cepa transgénica CL2006

Los genes *APP*, *APLP1* y *APLP2* son genes asociados a la EA en humanos, cuentan con genes ortólogos en *C. elegans* *apl-1* (45) y se expresan en las diferentes cepas transgénicas, como es el caso de CL2006 que tiene genotipo *dvls2* [pCL12(*unc-54*/human Abeta peptide 1-42 minigene) + *rol-6*(*su1006*)] esta mutación se refleja en agregados de proteína β A expresados en el músculo lo que causa parálisis del movimiento y puesta de huevos defectuosa.

2.5.4 Construcción de la cepa CL2006

La cepa CL2006 fue construida en 1995, en la Universidad de Denver Colorado por Christopher D. Link (7), en primer lugar fue necesario construir genes quiméricos con regiones codificantes derivadas de clones de ADNc humano y secuencias reguladoras por la expresión del vector pPD30.38 que contiene el promotor *unc-54* que produce una expresión génica de alto nivel específica del músculo, para ensamblar el constructo del β -péptido se incorporó un fragmento de 189pb que codifica para la versión 42-aminoácidos del β -péptido, para así poder producir el constructo del minigen *unc-54/* β -(1-42) pCL12.

Para construir la transtiretina, que actuó como control se usó un fragmento de 142pb de transtiretina humana a partir también de un clon y se insertó en el vector, así se generó la construcción de *unc-54/* transtiretina pCL10, además se generó un constructo análogo pCL13 con una sustitución de Thr⁶⁰ a Ala, esta alteración también se encuentra en algunos casos de neuropatología amiloide familiar.

La microinyección gonadal se empleó para construir los nematodos transgénicos, usando el plásmido pRF4, este plásmido contiene una mutante del gen del colágeno [*rol-6*(*su1006*)] que genera el fenotipo dominante "Roller" los nematodos producidos de esta manera mantienen la inyección de ADN extracromosomal. Posteriormente para evaluar que efectivamente estuviera la expresión de los depósitos de β A en el músculo, las cepas fueron teñidas con tioflavina S, se encontraron depósitos en las cepas que contenían el constructo del minigen *unc-54/* B-(1-42) pero no en las cepas control WT o las cepas que tenían *unc-54/* transtiretina.

2.5.5 Cepa transgénica BR5270

Por otro lado, la cepa BR5270 tiene como genotipo *byIs161* [*rab-3p::F3(delta)K280 + myo-2p::mCherry*] tiene una sobreexpresión del fragmento F3 proagregador de la proteína Tau humana Pan-neuronal + marcador en el músculo faríngeo.

La mutación en el proagregador Δ K280 se ha encontrado que media la toxicidad de la proteína Tau y sus respectivas mutaciones antiagregación en I277P y I308P, porque esta sustitución previene la formación de estructuras de hojas β y sobreagregación. La cepa usó puntualmente el fragmento de Tau F3 Δ K280, actúa como un agente nucleótido que acelera la toxicidad al promover la agregación, generando que cuando los nematodos están en un estadio larvario L4, adultos jóvenes se manifieste un movimiento incordiando, defectos en los axones como gaps y varicosidades en las neuronas motoras y un transporte de axones anormal en la mitocondria.

2.5.6 Cepa transgénica BR5271

Mientras que la cepa antiagregación de genotipo *byIs162* [*rab-3p::F3(delta)K280 I277P I308P + myo-2p::mCherry*] causa un fenotipo leve con niveles reducidos de anomalías morfológicas.

2.5.7 Construcción de la cepa BR5270 y BR5271

Para la creación de ambas líneas tanto BR5270 como B5271 fue necesario integrar versiones del fragmento amiloidogénico F3 Δ K280 de la proteína Tau humana del promotor *rab-3*, para conseguir una expresión pan-neuronal y para el caso del control antiagregante se hizo un sustitución de prolina I277P y I308P que actúa rompiendo las hojas β y previniendo la agregación. Se integró mediante backcrossed a nematodos N2 WT 10 veces cada una, las cepas llevan integrados los genes proagregadores F3DK280 *byIs161* y *byIs193* que tienen un fenotipo más pronunciado que las cepas antiagregadoras F3DK280-PP transgenes *byIs162* y *byIs194*, así es como la cepa proagregante se nombró con el transgén *byIs161*, es decir la cepa BR5270 y la antiagregante con el transgén *byIs162*, es decir la BR5271, ambas cepas mostraron un fenotipo similar y niveles comparables, el anillo nervioso tiene mayores agregados en la cepa proagregante respecto a la antiagregante.

Ventaja de usar C. elegans respecto a otros modelos

La ventaja de usar estos modelos transgénicos de *C. elegans* radica para el caso de CL2006 su fenotipo tipo Roller permite evidenciar cambios morfológicos fácilmente en la cepa y al usar un modelo transgénico de Tau se elimina la interferencia de Tau endógena, debido a que el único homólogo en Tau en el nematodo es PTL-1 pero se expresa en baja concentración en las neuronas, además en ambos casos el análisis de los agregados de proteínas se está realizando *in-vivo* lo que con otros modelos no ocurre (8,51).

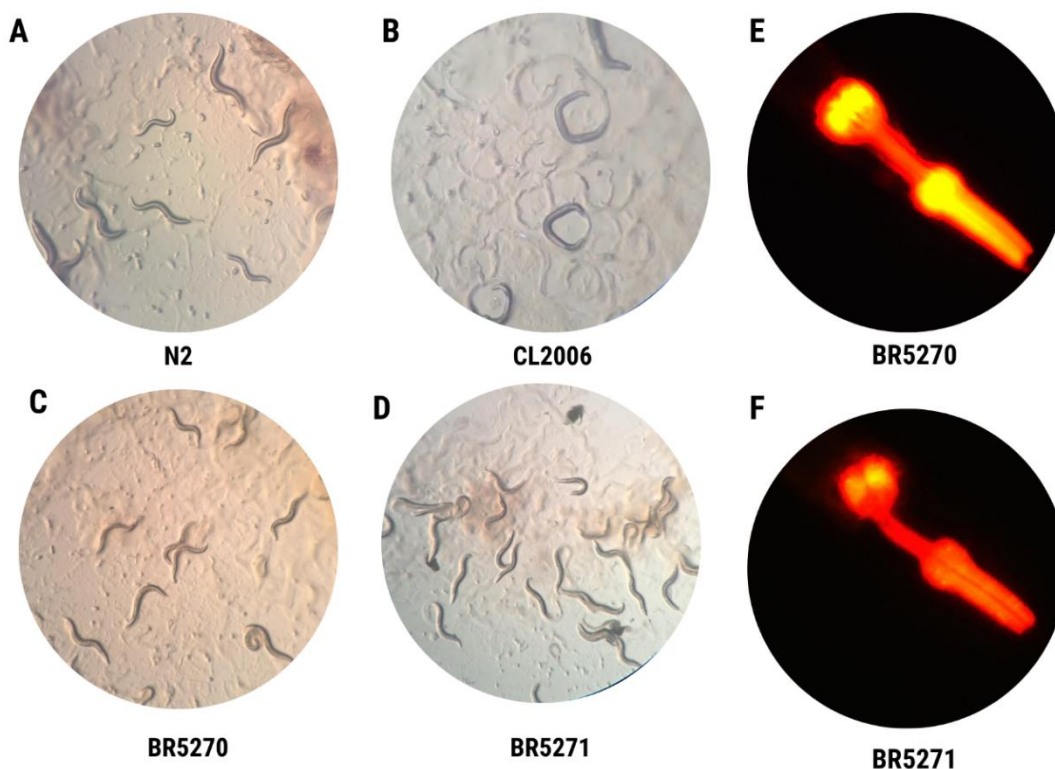


Figura 3. *Caenorhabditis elegans*. Fotografía de las cepas transgénicas y su respectivo control
A. Cepa N2. **B.** Cepa transgénica CL2006. **C** Cepa transgénica BR5270. **D.** Cepa BR5271. **E.** Fluorescencia en las neuronas y faringe cepa BR5270. **F.** Fluorescencia en las neuronas y faringe cepa BR5271. Las fotografías (A-D) se tomaron con el estereoscopio Leica Zoom 2000, las fotografías (E-F) se tomaron con el microscopio de epifluorescencia Zeiss.

2.6 Vías de señalización relevantes en EA y MIC

2.6.1 DAF-16/ FOXO, SNK-1 y HSF-1

Se han desarrollado múltiples estudios que buscan entender un poco más allá por qué algunos microorganismos mejoran el tiempo de vida en los modelos que se usan para evaluar enfermedades neurodegenerativas, principalmente la EA ya que el mayor factor de riesgo para su desarrollo es el envejecimiento. Es así como en un estudio (44) aislaron a *L. rhamnosus* de leche materna y lo convierten en un probiótico que se conoce como el Probio-M9 y que es muy usado por todos sus beneficios en la salud, al suministrárselo a *C. elegans* se encontró mejora el tiempo de vida y más allá de esto, se logró identificar que interviene en las vías de señalización, en especial regula p38 y daf-2 independiente de daf-16 pero dependiente de skn-1.

Por otro lado, la ingesta de Probio-M9 modula el sistema inmune al activar PMK-1 y SNK-1 los cuales tiene un papel específico en la resistencia al estrés, SNK-1 es regulado por DAF-2, cuando hay una activación de SNK-1 por la dieta con probio-M9 mejora notablemente el tiempo de vida de *C. elegans*.

Para el caso del *L. plantarum*, también intervienen vías similares (13) en un estudio realizado en *C. elegans* se midió el potencial del *Lactobacillus plantarum*, mediante la

qRT-PCR se logró evidenciar la expresión de los genes relacionados con las vías p38 MAPK y DAF-2/DAF-16, encontraron que la expresión de genes DAF-16/ DAF-2 no cambió significativamente respecto a dieta normal, que es el alimento con *E.coli* OP50, pero la expresión de genes relacionados con P38 MAPK como sek-1, nys-1 y pmk-1 estaban aumentados en los nematodos que fueron alimentados con el probiótico *L. plantarum*; también se encontró una regulación de los genes que codifican para sustratos y enzimas del metabolismo de las grasas como fat-5, fat-6 y fat-7 al suministrar el probiótico disminuye notablemente la expresión de fat-5 y fat-7.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Universo, población, muestra

Tabla 2. Universo, Población, muestra

Universo	Población	Muestra
Nematodo <i>Caenorhabditis elegans</i>	Nematodos de las cepas N2, CL2006, BR5271 y BR5270	Número de nematodos utilizados por ensayo (5–30 por réplica, triplicado)

3.2 Hipótesis, variables, indicadores

Tabla 3. Hipótesis

Hipótesis	
Hipótesis (H)	La suplementación con los probióticos <i>L. rhamnosus</i> y <i>L. plantarum</i> ejercen un efecto positivo en <i>C. elegans</i> , que se manifiesta en una mejora de la longevidad, puesta de huevos y motilidad, así como una atenuación de la agregación de la proteína Tau y un incremento en la memoria de aprendizaje.
Hipótesis nula (H_0)	La suplementación con los probióticos <i>L. rhamnosus</i> y <i>L. plantarum</i> no genera un cambio significativo en la longevidad, puesta de huevos, motilidad, así como la agregación de la proteína Tau, ni en la memoria de aprendizaje en <i>C. elegans</i> .
Hipótesis alternativa (H_a)	Los probióticos <i>L. rhamnosus</i> y <i>L. plantarum</i> modifican parámetros fisiológicos en <i>C. elegans</i> , longevidad, puesta de huevos, motilidad, memoria de aprendizaje y agregación de proteína Tau.

Tabla 4. Variables e indicadores

Variables independientes	Variables dependientes	Indicadores
Probióticos: <i>Lactacaseibacillus</i>	Longevidad	Promedio de vida
	Puesta de huevos	Número de huevos
	Motilidad	Número de ondas en 30seg

<i>rhamnosus</i> y <i>Lactiplantibacillus</i> <i>plantarum</i>	Preferencia alimentaria	Índice de preferencia para cada dieta
	Memoria de aprendizaje	Números de nematodos ingenuos y entrenados
	Agregación de proteína Tau	Intensidad de fluorescencia

3.3 Técnicas y procedimientos

La presente investigación adoptó un diseño predominantemente de tipo cuantitativo, con un alcance de estudio exploratorio y correlacional. El enfoque exploratorio se justifica al evaluar los probióticos en un nuevo contexto patológico, mientras que el alcance correlacional busca establecer la relación entre la suplementación probiótica y los parámetros fisiológicos evaluados.

El diseño metodológico es de tipo experimental, usando el modelo biológico invertebrado *Caenorhabditis elegans* para comprobar la hipótesis de investigación. Finalmente, los datos recolectados son sometidos a análisis estadístico inferencial para evaluar el efecto y la significancia de los resultados obtenidos.

3.3.1 Adquisición de las cepas

Las cepas de *C. elegans*: N2, CL2006, BR5270, BR5271 y la *E. coli* OP50 fueron adquiridas del Caenorhabditis Genomic Center (CGC) de la Universidad de Minnesota, USA. Las cepas probióticas fueron aisladas a partir de probióticos comerciales de la marca Swanson, USA.

3.3.2 Mantenimiento y crecimiento de *C. elegans*

Los nematodos se mantuvieron en condiciones controladas a 20°C en el medio NGM (Nematode Growth Medium) este medio se preparó a partir de agar, NaCl, peptona y se enriqueció con CaCl₂, MgSO₄ y colesterol (**Anexo 1**). La alimentación de los nematodos se garantizó mediante la inoculación de la bacteria *E. coli* OP50 en forma de botón en la superficie del medio de cultivo donde posteriormente son dispuestos los nematodos. (**Anexo 2**)

3.3.3 Identificación microbiológica de las cepas probióticas

Para el aislamiento y verificación microbiológica de los probióticos comerciales tanto *L. plantarum* y *L. rhamnosus*, el contenido del liofilizado que tiene una presentación en forma de cápsulas se resuspendió en agua peptonada para el enriquecimiento y la activación metabólica de las cepas. Posteriormente, las bacterias fueron cultivadas en el medio MRS (De Man, Rogosa, Sharpe) un medio selectivo que permite el desarrollo de la mayoría de *Lactobacillus*. La confirmación del género y la pureza de las cepas se realizó mediante la tinción de Gram, así como pruebas bioquímicas de catalasa y oxidasa. (**Anexo 3**)

3.3.4 Sincronización

La sincronización de los nematodos se realizó mediante lavados con una solución de

lisis conocida como Bleaching, seguida de ciclos de centrifugación y lavados se eliminan los adultos, aislando únicamente los huevos por presentar resistencia a la solución.

Los huevos quedan listos para disponerse en un nuevo medio NGM con *E. coli OP50* o suplementado con la dieta probiótica (**Anexo 4**). Posteriormente los huevos eclosionan y transcurre todo su ciclo de vida: embriogénesis, L1, L2, L3, L4 (adultos jóvenes) y finalmente el estadio adulto, nematodos grávidos que tienen la capacidad de poner huevos; el estadio L4 marca el inicio de todos los ensayos, que permite asegurar un corte homogéneo de edad para los ensayos.

3.3.5 Ensayos fisiológicos

Para los ensayos fisiológicos se realizó el cambio de *E. coli OP50* que es la bacteria que consumen normalmente los nematodos por las cepas probióticas una vez realizada la sincronización, los huevos que se obtienen son dispuestos sobre el medio NGM sembrado con los probióticos. Los ensayos realizados fueron:

Ensayo de longevidad

El ensayo de longevidad consiste en medir el promedio de supervivencia de los nematodos, bajo cada una de las condiciones, con este fin se transfieren 10 nematodos en el estadio L4 a un medio NGM que contuviera la dieta respectiva (*E. coli OP50* control y probióticos grupo de estudio).

Se hacen pases diariamente durante los primeros 6 días que en promedio dura el ciclo reproductivo de *C. elegans*, y posteriormente cada dos días, hasta que muera el último nematodo, que marca el fin del ensayo.

La supervivencia se evaluó aplicando un estímulo con un pelo de ceja en la nariz y cabeza del nematodo, se consideró muerto cuando no exhibió un movimiento faríngeo ni respuesta alguna frente al estímulo físico.

Ensayo de motilidad

El ensayo de motilidad permite evaluar la capacidad de movimiento sinuosidad característico de las cepas control N2 WT, BR5271 cepa de referencia y la cepa experimental BR5270.

Para el procedimiento, se dispusieron 10 nematodos de cada uno de los grupos en un medio NGM sin fuente de alimento. Con el fin de eliminar los residuos de comida adheridos al cuerpo se agregó una gota de buffer M9 y se dejó secar en la cabina de flujo.

Se registró el número de ondulaciones que realiza cada nematodo durante un periodo de 30 segundos. Una ondulación se define como un cambio de dirección de la cabeza con respecto a línea media del cuerpo del nematodo (52).

Ensayo de puesta de huevos

El objetivo del ensayo de puesta de huevos es evaluar el efecto de los probióticos en

la tasa de ovoposición en un periodo de tiempo específico en su ciclo reproductivo.

Para el procedimiento, se transfirieron 10 nematodos individualmente en estadio L4 (tienen la capacidad de poner huevos) a pocillos de una placa de 24 pocillos. Cada pocillo contiene medio de cultivo líquido con la suspensión bacteriana de la dieta correspondiente.

Seguidamente, se registró el número de huevos depositados por cada nematodo en intervalos de tiempo: a los 30 minutos, 1 hora y finalmente a las 2 horas.

Preferencia alimentaria y memoria de aprendizaje

Para evaluar la preferencia alimentaria se adaptó el protocolo previamente descrito por Kim e (53), para su procedimiento se dispusieron 30 nematodos en el estadio L4 en el centro de un medio NGM sin fuente de alimento. Previamente los medios se inocularon con 25 µL de suspensión bacteriana a una misma distancia del centro, en un extremo con los probióticos y en el otro extremo con la *E. coli* OP50.

Pasadas 4 horas de exposición se contó el número de nematodos sobre cada dieta. El grado de preferencia de los nematodos por una dieta en particular se determina mediante el cálculo del Índice de elección (Choice Index):

$$\text{Choice index (CI)} = \frac{\text{No. de gusanos sobre probióticos} - \text{No. gusanos sobre la } E. coli \text{ OP50}}{\text{Total de gusanos}}$$

(CI) = -1.0 preferencia completa por *E. coli* OP50

(CI) = + 1.0 preferencia completa por los probióticos

(CI) = 0.0 preferencia igual por *E. coli* OP50 y Probióticos

El protocolo para el ensayo de memoria de aprendizaje fue tomado y adaptado a partir de otras metodologías previamente descritas (40,54), consta de dos fases: una fase de entrenamiento de los nematodos y otra etapa de prueba.

Memoria asociativa a corto plazo (MCP): Los nematodos en estadio L4 se deben lavar tres veces con buffer M9 para eliminar cualquier rastro de comida. Seguidamente, se realizó una fase de entrenamiento, con esta finalidad se dispusieron en un medio sembrado masivamente con los probióticos y se dejan expuestos por una hora.

Posteriormente, los nematodos ahora entrenados se lavaron nuevamente y se transfirieron a un medio sembrado a igual distancia con los probióticos y la *E. coli* OP50. Transcurridas 4 horas, se contó el número de nematodos en cada una de las dietas y calcular el CI para poder hallar el índice de memoria.

Memoria asociativa a largo plazo (MLP): Para evaluar el efecto que tienen los probióticos en la memoria asociativa a largo plazo (MLP) se repitieron los pasos anteriormente descritos, pero con nematodos que desde L1 (recién eclosionado) fueron alimentados continuamente con la dieta probiótica. El resultado se determinó mediante el cálculo del índice de memoria:

$$\text{Memory Index (MI)} = \text{CI entrenadas} - \text{CI ingenuas}$$

CI entrenadas: Cambio de dieta con los probióticos

CI ingenuas: Dieta normal con *E. coli* OP50

3.3.6 Determinación de los agregados de proteína Tau

La determinación de los agregados de proteína Tau se realizó observando la expresión de la proteína mCherry de las cepas BR5270 (experimental) y BR5271 (control de expresión).

Las fotos deben tomarse en la cabeza (neuronas dopaminérgicas) y la faringe del nematodo, en el cual se presenta la agregación proteica de Tau, ya que el cuerpo puede presentar autofluorescencia que interfiere con la cuantificación.

Para el procedimiento los nematodos se transfirieron a láminas portaobjetos sobre un césped de agarosa al 2%. Para visualizar la fluorescencia se empleó el microscopio de fluorescencia Zeiss y su software asociado, se tomaron 5 fotografías por grupo bajo los mismos parámetros de exposición.

Finalmente, se analizó la intensidad de fluorescencia de forma cuantitativa mediante el Software Image J/ Fiji, USA (55), que permite calcular el grado de agregación de la proteína en cada condición evaluada.

3.3.7 Análisis estadístico

La variabilidad de los datos se midió y se reportó teniendo en cuenta la media $\pm$ el error estándar de la media (SEM). Todos los ensayos se realizaron independientemente por triplicado, empleando entre 5 a 30 nematodos por réplica, de acuerdo al ensayo.

Los análisis estadísticos se realizaron usando el Software SigmaPlot versión 11.0 (San José CA, USA). Para comparar las medidas, se evalúa la diferencia entre el grupo control y los grupos tratados con los probióticos, se usó el análisis de varianza de una vía (ANOVA) y en los casos donde hubo significancia se aplicó la prueba *post-hoc* de Tukey para realizar las comparaciones múltiples. En el caso de comparar solo el control frente a un grupo de estudio se utilizó el *t-test* de Student.

Para la supervivencia, se analizó la diferencia de la longevidad mediante el método de Kaplan-Meier y la significancia estadística entre los grupos se determinó usando la prueba de Log-Rank test. En todos los análisis, los tratamientos se consideraron con diferencia significativa si el valor de probabilidad obtenido era inferior a 0,050 ($p < 0,050$).

4. RESULTADOS

4.1 Características fenotípicas y fisiológicas de las cepas transgénicas CL2006 y BR5270 de *C. elegans*

Posterior al cultivo y mantenimiento de las cepas transgénicas y cepas control del *C. elegans*, se observaron las características fisiológicas y fenotípicas de los nematodos.

A**B**

Figura 4. Sincronización. En las fotografías se evidencia el resultado posterior a la sincronización **A.** Huevos. **B.** Larva L1 recién eclosionada. Las fotografías fueron tomadas con el estereoscopio Leica Zoom 2000 a mayor aumento.

El proceso de sincronización fue exitoso, inicialmente, se observaron huevos ovalados (*Fig. 4A*), que eclosionaron en el estadio larvario L1 (*Fig. 4B*), sin evidenciar estructuras anatómicas diferenciales en su interior.

El tiempo promedio de desarrollo fue de 12 horas para alcanzar el estadio L2 y las transiciones entre el estadio L3 y estadio L4 se observaron después de 8 horas para cada estadio respectivamente. La diferencia entre el estadio L3 y L4 se confirma por el aumento de tamaño, el desarrollo gonadal y la observación del aparato reproductor del nematodo, momento que marcó el inicio de todos los ensayos.

Los huevos que eclosionan sobre medios NGM suplementados con la dieta probiótica presentan un tiempo de eclosión ligeramente mayor en comparación con el grupo control, lo que sugiere un retraso en el inicio del desarrollo larvario. Este fenómeno puede estar asociado con un incremento en la longevidad, dado que los procesos de desarrollo inician más tarde.

La cepa transgénica CL2006 al sobreexpresar βA se caracteriza por un fenotipo distintivo frente a la N2 cepa control. Mientras la cepa N2 WT se caracteriza por un movimiento sinusoidal y una respuesta adecuada a los estímulos de toque de cabeza y nariz con el pick. La CL2006 presentó una alteración progresiva de la motilidad de acuerdo al avance de la edad, manifestada como un movimiento en tipo Rolling. Esta alteración fenotípica se correlacionó con una respuesta deficiente a los estímulos, como se observa en la *Fig. 5A*

Al suministrar la dieta probiótica, se observó un retraso significativo en la aparición del fenotipo Rolling y una mejora en la capacidad de respuesta frente a los estímulos externos (*Fig. 5B*), lo que indica una recuperación parcial en la motilidad y una atenuación de la progresión de la neurodegeneración en los nematodos tratados.

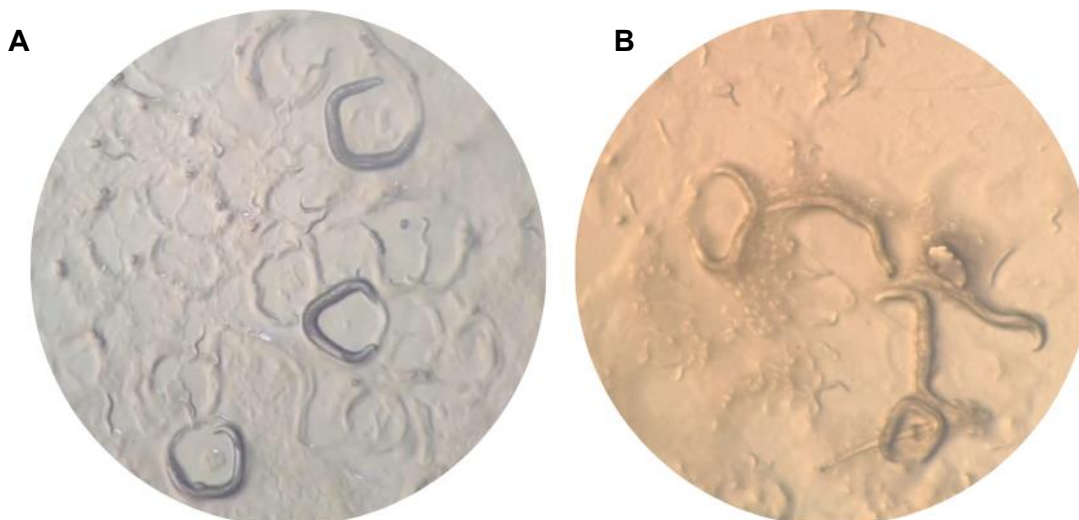


Figura 5. Características fenotípicas cepa CL2006. En las fotografías se evidencia el fenotipo transgénico de la cepa CL2006. **A.** Fenotipo tipo Rolling por los agregados de proteína 1-42 β A en el músculo. **B.** Fenotipo de la cepa CL2006 después del cambio de dieta con probióticos. Las fotografías se tomaron con el estereoscopio Leica Zoom 2000 a mayor aumento.

La cepa transgénica CL2006 presentó una tasa de ovoposición inferior en comparación a la cepa control N2 WT. Esto puede deberse a un fenómeno llamado *bagging* que consiste en una retención de huevos dentro del nematodo que ocasiona que eclosionen dentro.

Por otro lado, no se evidenciaron diferencias fenotípicas notorias en la motilidad entre la cepa BR5270 y su cepa control BR5271, ya que ambas cepas mostraron características fenotípicas y fisiológicas similares durante el desarrollo y la etapa adulta, sin embargo, al someter los nematodos en medio líquido, presentan un movimiento nadatorio defectuoso, no puede realizar las ondas tipo C adecuadamente.

4.2 Identificación microbiológica de las cepas probióticas

Tras la activación metabólica en agua peptonada, el cultivo de las cepas probióticas en el medio MRS y transcurridas 72 horas a 37 °C se obtuvo como resultado el crecimiento de colonias características del género *Lactobacillus* (*Fig. 6*).

Lactocaseibacillus rhamnosus: se caracterizó por presentar colonias grandes, con una textura cremosa y un aspecto blanquecino brillante (*Fig. 6A*).

Lactiplantibacillus plantarum: se caracterizó por formar colonias más pequeñas, puntiformes, ligeramente amarillas (*Fig. 6B*).

La identificación y pureza se logró comprobar mediante el análisis microscópico y las pruebas bioquímicas. Al observar la tinción de Gram se logran apreciar Bacilos Gram positivos dispuestos en forma aislada o en cadenas con extremos redondeados, mientras que las pruebas de oxidasa y catalasa arrojan un resultado negativo. Estos

resultados son consistentes y distintivos del género *Lactobacillus*.

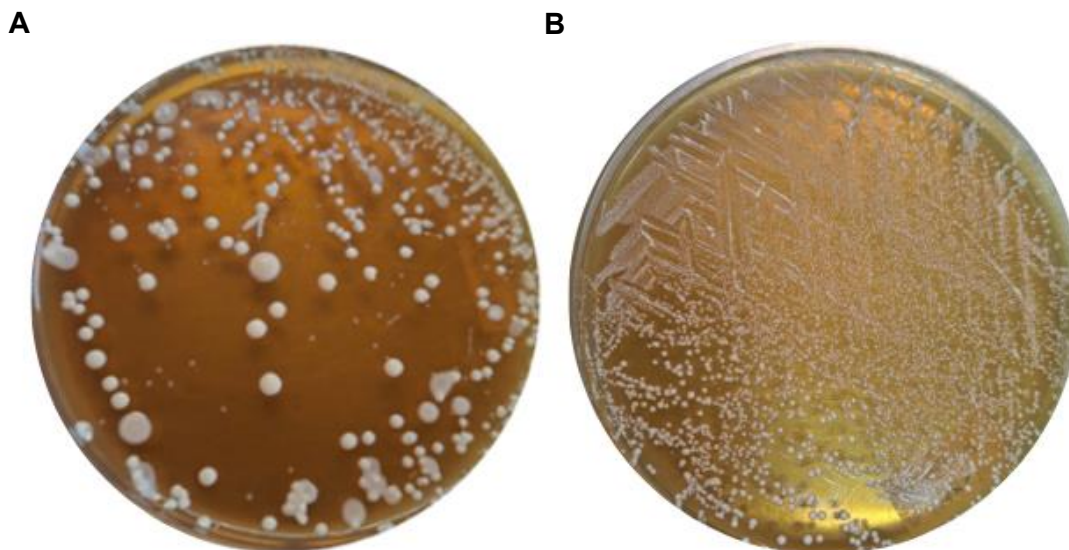


Figura 6. Identificación microbiológica cepas probióticas. En las fotografías se evidencia el crecimiento de las colonias características de los probióticos. **A.** Colonias en agar MRS *Lactobacillus rhamnosus*. **B.** Colonias en agar MRS *Lactobacillus plantarum*.

4.3 Preferencia alimentaria y memoria de aprendizaje

La evaluación de la preferencia alimentaria en la cepa BR5270 de *C. elegans* reveló diferencias significativas entre los grupos, exhibió un comportamiento en el cual no tiene preferencia alimentaria exclusiva para cada una de las dietas de acuerdo al *CI*. Los nematodos que no fueron entrenados, es decir los ingenuos muestran una preferencia por la dieta control (*E. coli* OP50). En contraste, los nematodos entrenados desde L1 exhibieron una preferencia por los probióticos, lo que indica un cambio en la preferencia alimentaria asociado al entrenamiento que recibieron (*Fig. 7A*).

El índice de memoria de aprendizaje (MI) de los nematodos está relacionado con el tiempo que están expuestos a la suplementación dietaria. Se observó un aumento significativo en el grupo de nematodos que fue alimentado con los probióticos desde L1, en comparación con los nematodos ingenuos (*Fig. 7B*). Por el contrario, el MI de los nematodos entrenados desde el estadio L4 por un periodo corto no registró diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo ingenuo (*Fig. 7C*).

Estos resultados sugieren que el MI de los nematodos que son entrenados desde L1, se relacionan con la MLP, mientras que los nematodos que son entrenados desde L4, tienen que ver con la MCP, lo que indica que el índice de memoria y aprendizaje con la suplementación probiótica aumenta en especial hay mejoría en la MLP, debido a que el MI de las entrenadas desde L1 es mayor al MI de las ingenuas (Fig. 7D).

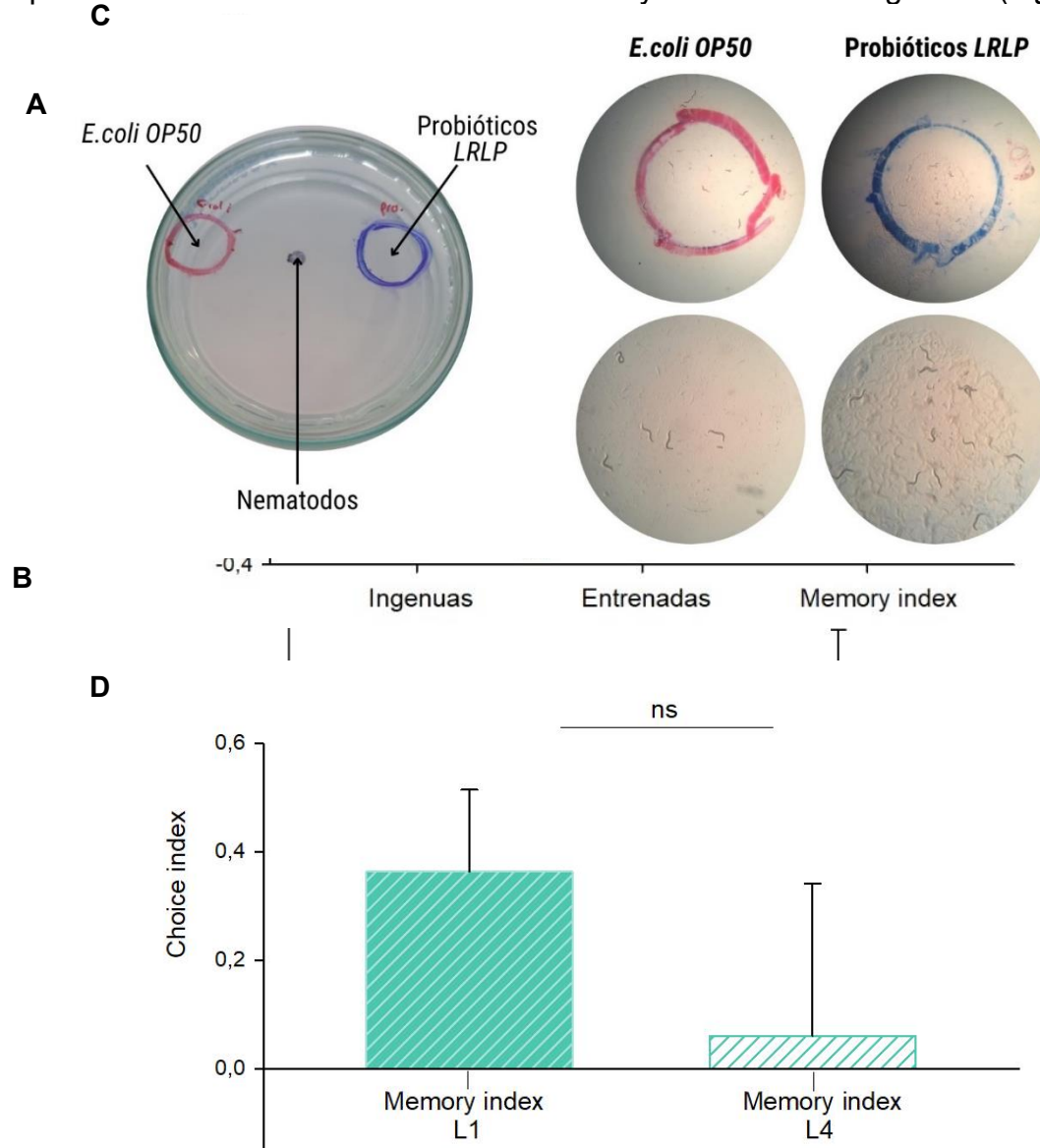


Figura 7. Preferencia alimentaria y memoria de aprendizaje. Resumen del CI (Choice Index) e MI (Memory Index) A. Representación gráfica del ensayo con nematodos entrenados desde L1 **B.** CI y MI cambio de dieta se da desde L1. **C.** CI y MI cambio de dieta se da desde L4. **D.** MI memoria a largo y corto plazo. Los ensayos se realizaron con un n= 30 por triplicado, para el análisis estadístico se realizó el test de Tukey y t-test en el caso de dos grupos. ** $P < 0,050$ y ns= no significativo mediante Sigma Plot versión 11.0.

4.4 Efecto de los probióticos en la Longevidad

Se obtuvo como resultado en el ensayo de longevidad un cambio significativo en el tiempo de vida del nematodo *C. elegans* cuando se da el tratamiento con probióticos en comparación a la dieta control con *E. coli* OP50.

Respectivamente la cepa transgénica CL2006 mostro un tiempo de vida inferior (11 días), en comparación al control cepa N2 (25 días). Al suministrar la nueva dieta probiótica (*L. rhamnosus* + *L. plantarum*) el tiempo de vida aumentó significativamente (22 días) como se observa en la Fig.8A. Hubo una mejora del 94% con respecto al control como se resume en la Tabla 5.

Por otro lado, la cepa BR5270 tuvo también una reducción en el tiempo de vida (16 días) en comparación con su control antiagregante la cepa BR5271 (25 días) similar al tiempo alcanzado por la cepa N2 WT. Al suministrar la dieta probiótica el tiempo de vida de la cepa BR5270 incremento (20 días) como se observa en la Fig.8B. La supervivencia de la cepa BR5270 aumenta un 26% como se refleja en la Tabla 5.

Las comparaciones detalladas entre todas las cepas se plasman en la Fig. 8C, además de la curva de supervivencia Fig. 9

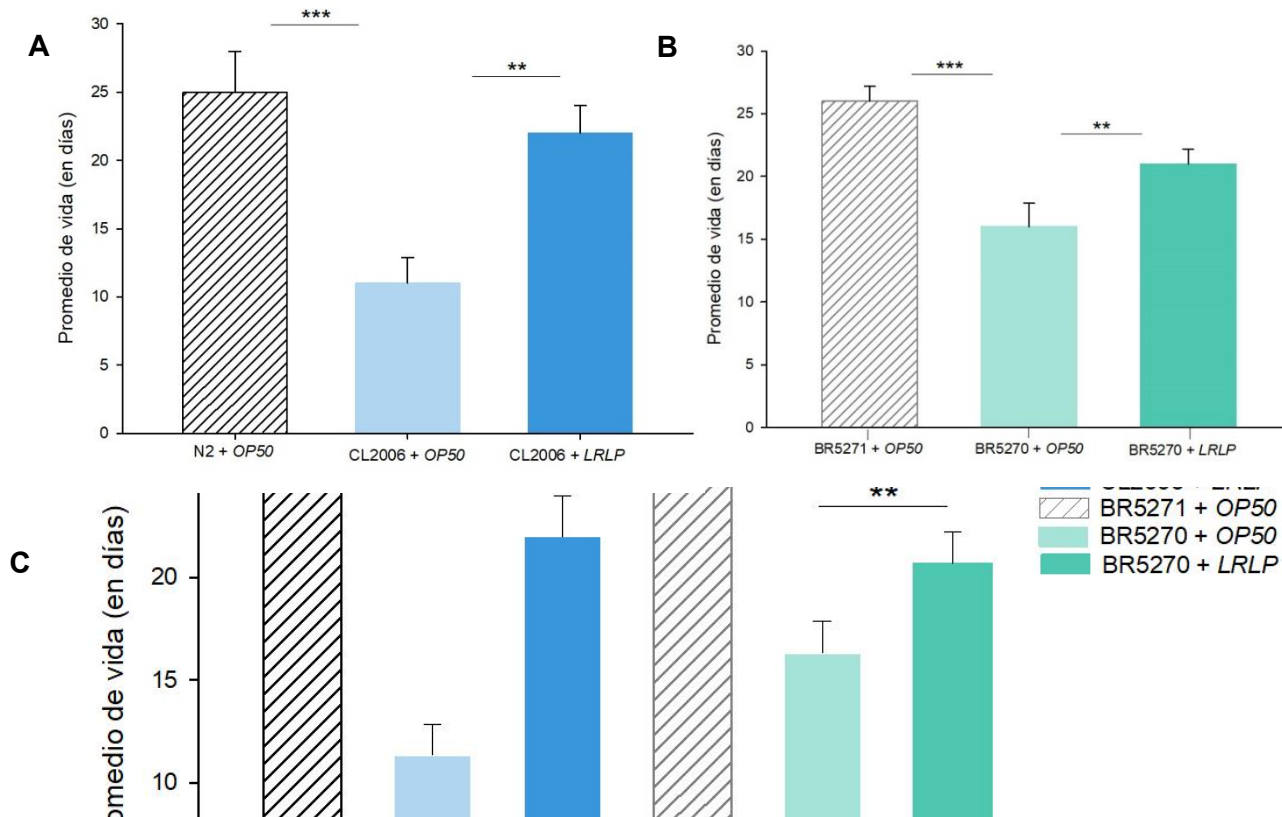


Figura 8. Ensayo de longevidad. Resumen del promedio de vida de las cepas transgénicas y su respectivo control. **A.** Longevidad de la cepa N2 como control y la cepa CL2006 dieta normal con *E. coli* OP50 y cambio de dieta con probióticos. **B.** Longevidad de la cepa BR5271 control y la cepa BR5270 dieta normal con *E. coli* OP50 y cambio de dieta con probióticos. **C.** Comparación en simultáneo del tiempo de vida de las diferentes cepas. Los ensayos se realizaron con un n= 10 por triplicado, para el análisis estadístico se realizó test de Tukey. ** $P < 0,050$ y *** $P < 0.001$ mediante Sigma Plot versión 11.0.

Tabla 5. Resumen promedio en días ensayo de longevidad

Cepa	Dieta	Promedio en días	% Respecto al control	% Respecto a la dieta
N2	<i>E.coli</i>	25	Control	---
CL2006	<i>E.coli</i>	11,33	-54,68	Control
CL2006	<i>L.rahmnosus</i> + <i>L.plantarum</i>	22	-12,00	94,17
BR5271	<i>E.coli</i>	25,67	Control	---
BR5270	<i>E.coli</i>	16,33	-36,38	Control
BR5270	<i>L.rahmnosus</i> + <i>L.plantarum</i>	20,66	-19,51	26,52

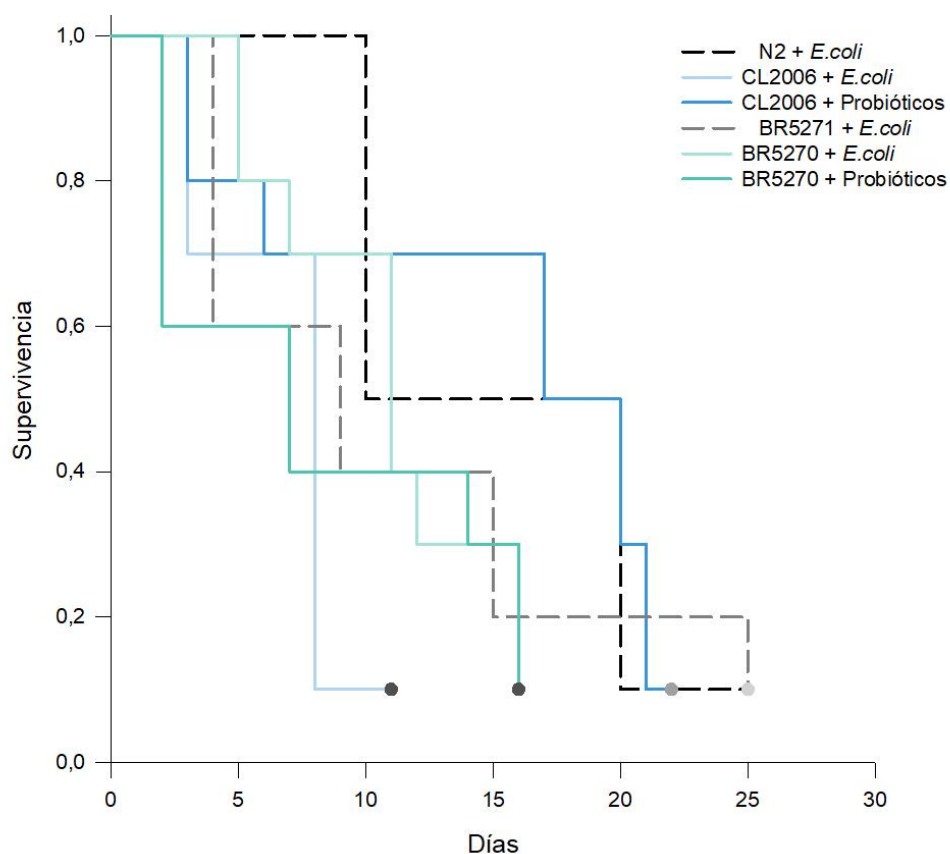


Figura 9. Supervivencia. Resumen del promedio de vida de las cepas transgénicas y su respectivo control. Los ensayos se realizaron por triplicado, para el análisis estadístico se realizó una curva de Kaplan-Meier mediante Sigma Plot versión 11.0.

4.5 Análisis de motilidad

La motilidad en *C. elegans* se caracteriza por tener un movimiento sinusoidal como se logra apreciar en la cepa N2 WT (Fig. 10A) se considera que una ondulación ocurre cuando hay un cambio completo en la dirección de la cabeza. La cepa N2 realiza 28 ondulaciones en promedio durante un periodo de 30 segundos.

Para el caso de la cepa BR5270 y su control BR5271 no presentan diferencias estadísticamente significativas en la motilidad respecto a la cepa N2 WT. La cepa BR5270 logra realizar en promedio 26 ondulaciones en 30 segundos, mientras que el control, la cepa BR5271 realiza en promedio 29 ondulaciones en el mismo periodo.

Es importante resaltar que la suplementación probiótica no generó cambios significativos en el número de ondulaciones de las cepas estudiadas. Lo anterior sugiere que los probióticos evaluados no tienen un efecto relevante en la motilidad de las cepas BR5270 y BR5271 bajo las condiciones experimentales empleadas en el ensayo (Fig. 10B).

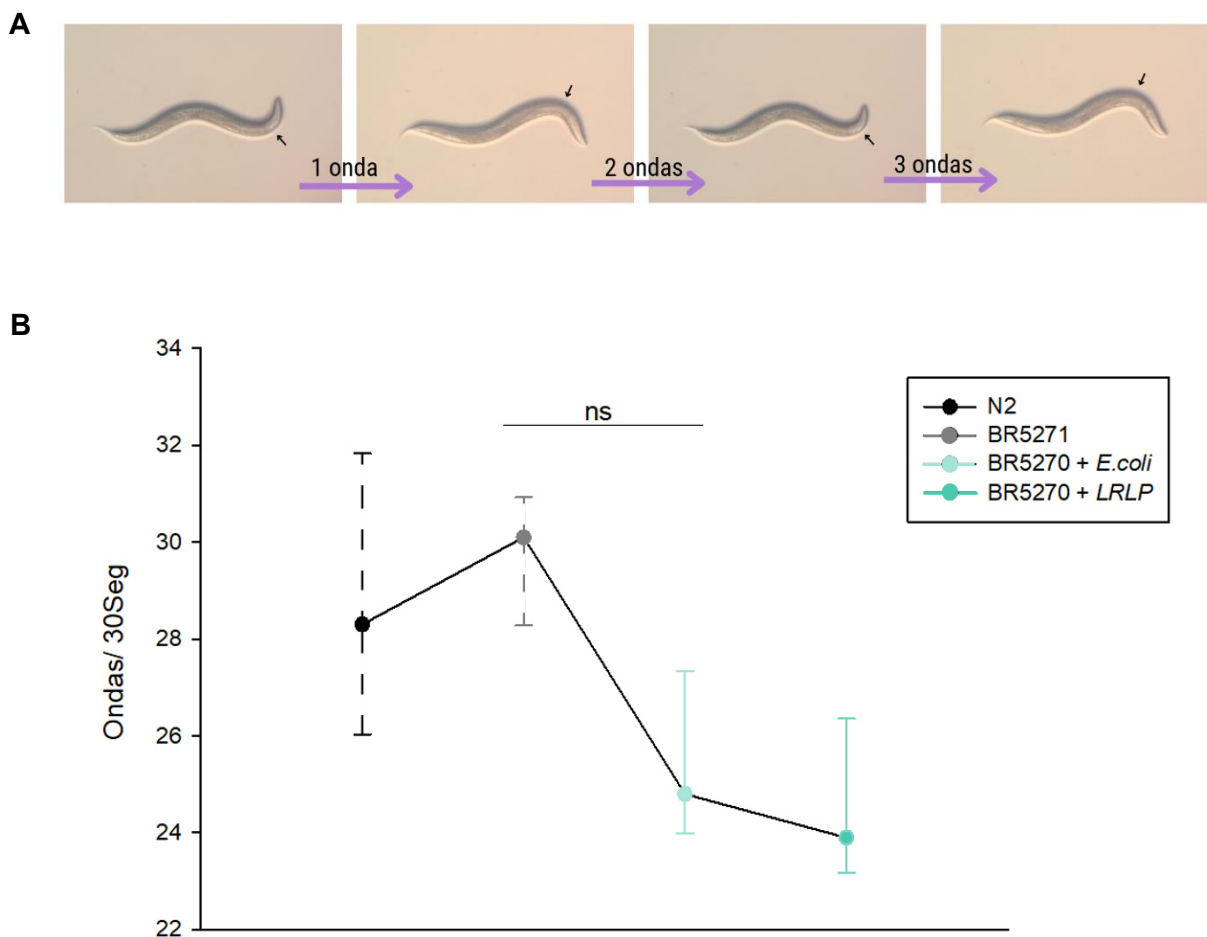


Figura 10. Motilidad. **A.** Gráfica que describe una ondulación. **B.** Número de ondulaciones en 30 segundos. Se evaluó el movimiento sinusoidal que tienen las cepas N2, BR5271 y BR5270. Los ensayos se realizaron con un n= 10 por triplicado, para el análisis estadístico se realizó el test de Tukey. ns= no significativo mediante Sigma Plot versión 11.0.

4.6 Evaluación de la tasa de ovoposición

Al ser hermafrodita *C. elegans* tiene la capacidad de poner una gran cantidad de huevos durante su periodo reproductivo que inicia al llegar al estadio L4 y puede durar de 6 a 8 días. La tasa de ovoposición fue evaluada en un corto periodo de tiempo en el estadio L4. Se observó una disminución en el número de huevos depositados por las cepas transgénicas respecto al control, aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Respecto al tratamiento, al suministrar la dieta de probióticos no varió notablemente la tasa de oviposición en las cepas transgénicas. Lo anterior sugiere que los probióticos evaluados no ejercen un efecto relevante sobre la tasa de oviposición en las condiciones del ensayo (Fig.11).

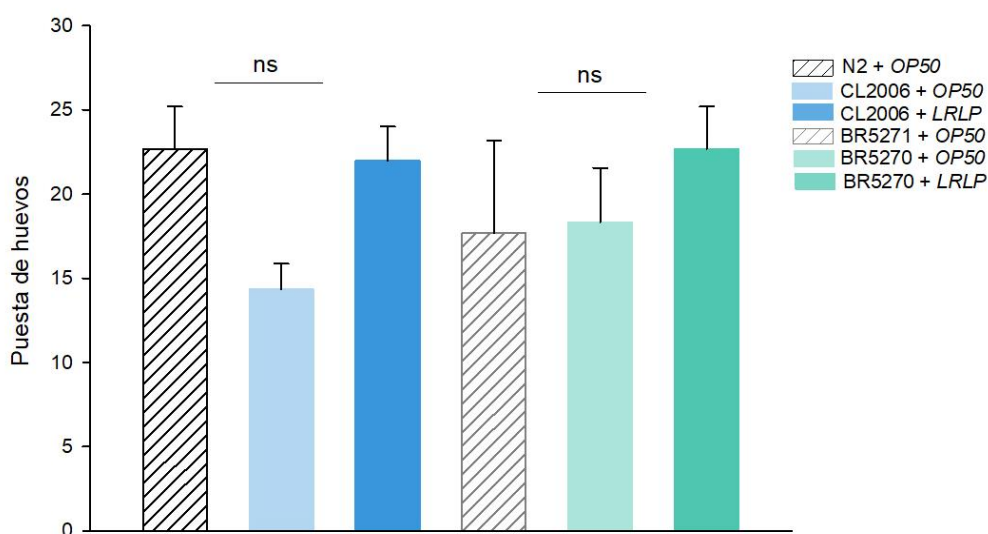


Figura 11. Puesta de huevos. Número de huevos que pueden poner los nematodos transcurridas 2 horas. Para evaluar constantemente la puesta de huevos de los nematodos, se contó cada 30 min, durante 2 horas la capacidad de poner huevos. Los ensayos se realizaron con un $n=10$ por triplicado para el análisis estadístico se realizó el test de Tukey. ns= no significativo mediante Sigma Plot versión 11.0.

4.7 Agregación de proteína Tau

La cepa BR5270 permite visualizar los agregados de la proteína Tau marcados mediante la proteína fluorescente mCherry en las neuronas dopaminérgicas y el músculo faríngeo. Es un ensayo que se debe realizar de manera *in-vivo* para que expresen la fluorescencia de lo contrario no se lograría observar. Al evidenciar estos agregados bajo el microscopio de fluorescencia se observó inicialmente una reducción visible en la intensidad de fluorescencia en BR5270 tratado la dieta probiótica, la cual fue confirmada mediante el análisis cuantitativo de la intensidad de fluorescencia con el software ImageJ/ Fiji, mostrando una disminución significativa de los agregados de Tau con respecto al control como se ilustra en la Fig.12.

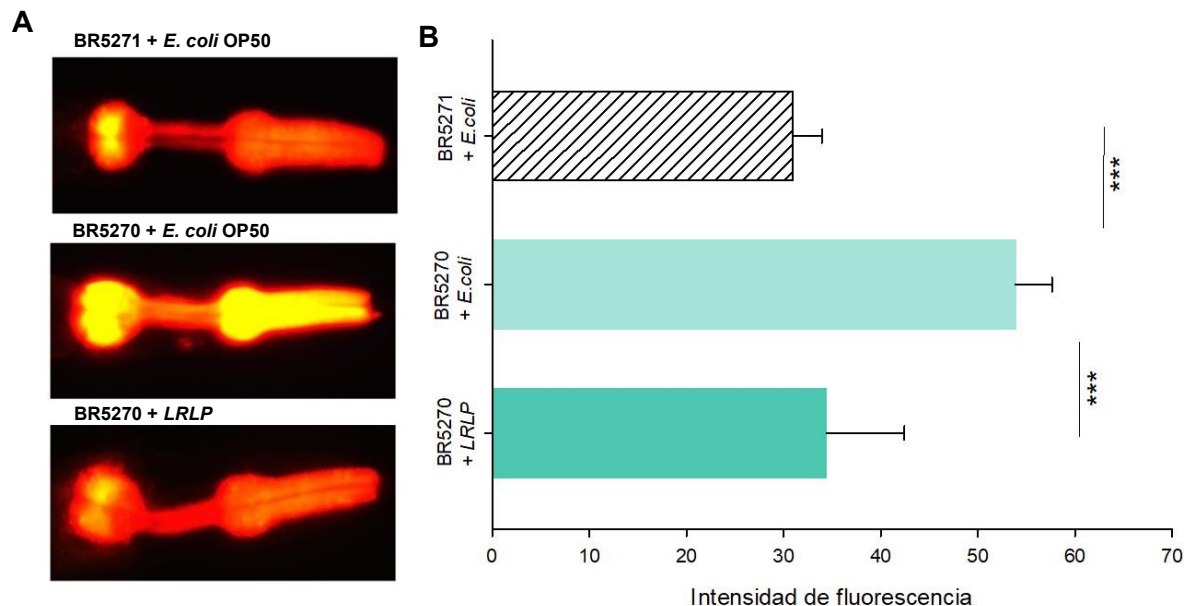


Figura 12. Agregados de proteína Tau. Representación gráfica y estadística de la intensidad de fluorescencia emitida por los agregados de proteína Tau en la cepa BR5270 y su control BR5271. **A.** Fotografía que permite ver por fluorescencia la proteína Tau en las neuronas dopaminérgicas y el músculo faríngeo. **B.** Intensidad de fluorescencia de la cepa BR5270 y el control BR5271. Las fotografías se tomaron usando el microscopio de fluorescencia Zeiss y la intensidad de fluorescencia se realizó teniendo en cuenta el área y la fluorescencia mediante el Software Image J/ Fiji. Los ensayos se realizaron con un $n=5$, para el análisis estadístico se realizó el test de Tukey, se consideró significativo *** $P < 0.001$ mediante Sigma Plot versión 11.0.

5. DISCUSIÓN

La búsqueda de estrategias preventivas es cada vez más necesaria para el manejo de las enfermedades neurodegenerativas como la EA. Las opciones terapéuticas actuales se limitan al control sintomático. Uno de los mayores desafíos es detener el daño ocasionado a nivel neuronal como consecuencia de la agregación proteica, con el fin de evitar la progresión a estadios tan avanzados como la demencia dónde es irreversible el daño.

La fisiopatología de la EA no solo está limitada al daño generado por la agregación proteica, sino que es una enfermedad multifactorial en la que intervienen factores genéticos, ambientales, dietéticos y metabólicos. La proteína βA y Tau han sido blancos terapéuticos (1–3) pero han tenido un éxito limitado, lo que hace necesario redireccionar los blancos terapéuticos ya sean como tratamiento adyuvante o estrategia preventiva.

En este contexto, el eje MIC resalta como una alternativa para comprender los mecanismos que vinculan la salud intestinal con la función cerebral. Específicamente, la microbiota intestinal juega un papel clave en la regulación de los procesos llevados a cabo en el cerebro, lo que convierte a los probióticos en una nueva línea de investigación para la modulación y prevención de la neurodegeneración (9,10,29,33). En el presente estudio se logró evaluar el efecto de los probióticos *L. rhamnosus* y *L.*

plantarum en un organismo vivo *C. elegans* en cepas mutantes, CL2006 y BR5270 que modelan la agregación proteica de β A y Tau, uno de los mecanismos implicados en la fisiopatología de EA.

Estudios previos respaldan el uso de los probióticos como una estrategia para tratamiento adyuvante y/o preventiva para EA, es el caso del estudio realizado por Stuart *et al.* en el año 2024 quienes reportaron que los probióticos, específicamente *L. rhamnosus* y *B. subtilis* ejercen un efecto benéfico en las cepas de *C. elegans* que expresan proteína β A en el músculo, principalmente ejercen un efecto positivo a nivel de envejecimiento y parálisis.

Estos hallazgos se correlacionan con los resultados obtenidos en el presente estudio, en el cuál la cepa CL2006 aumentó significativamente su longevidad con la dieta probiótica, además se evidencio fenotípicamente una disminución de la parálisis, varía en la combinación de la dieta puesto que en el presente ensayo se evaluó *L. rhamnosus* combinado con *L. plantarum* (46).

La longevidad de *C. elegans* según lo reportado en diferentes ensayos (56) se encuentra entre (6 ± 24 días). En este estudio CL2006 alimentada con una dieta de *E. coli* OP50 vivieron en promedio 11 días, mientras que con la dieta probiótica su tiempo de vida aumentó a 22 días. Lo que concuerda con lo reportado en la literatura, este fenómeno está directamente relacionado con el envejecimiento, al igual que sucede en humanos a medida que avanza el ciclo de vida del *C. elegans* aumenta la agregación de proteína β A, lo que afecta negativamente al nematodo, llevándolo finalmente a la muerte en menos tiempo respecto a la cepa control N2 WT. El aumento de la longevidad respalda el efecto protector reportado.

Este proceso observado en el modelo es análogo a la patología en los humanos, al envejecer los mecanismos de control en el cerebro pueden fallar con mayor facilidad. Aunque no está del todo esclarecido los factores desencadenantes, se sabe que esta deficiencia genera acumulación proteica como la formación de placas de proteína β A y a medida que progresa es cada vez mayor el daño neuronal, contribuyendo a la sintomatología y a la progresión de estadios avanzados como la demencia por Alzheimer.

Para el caso de la longevidad de la cepa BR5270 proagregadora de proteína Tau, los resultados concuerdan con lo reportado en la literatura el promedio de vida fue de 12 ± 21 días (56). Lo que se correlaciona con este estudio, el promedio de vida observado fue de 16 días, mientras que la cepa control BR5271 según la literatura viven en promedio 19 ± 25 días, para la presente investigación vivió 25 días.

Al igual que ocurre en el caso de la proteína β A, la proteína Tau se acumula a lo largo del ciclo de vida del nematodo, generando mayor daño que acorta su supervivencia con respecto a su cepa control BR5271. Sin embargo, la reducción en la longevidad es menos notoria debido a que el modelo Tau tiene un efecto fisiológico menos drástico en la supervivencia en comparación al proceso generado por β A en el organismo.

Los resultados obtenidos en el ensayo de longevidad comprueban la hipótesis de que la suplementación probiótica prolonga el tiempo de vida de los nematodos usados

como modelo experimental de la enfermedad de Alzheimer.

La cepa CL2006 aumentó significativamente su tiempo de vida al suministrar una dieta combinada con probióticos, lo cual está directamente relacionado con una disminución del fenotipo tipo Rolling característico del daño muscular inducido por β A. Este hallazgo es de gran relevancia, dado que en el modelo *C. elegans* la progresión de la enfermedad es dependiente al envejecimiento, del mismo modo que ocurre en humanos (56,57).

Respecto a lo observado en la longevidad al suministrar la dieta probiótica se ve una mejora en la supervivencia de ambas cepas respalda los efectos positivos de los probióticos *L. rhamnosus* y *L. plantarum* sobre el envejecimiento y la memoria en un modelo experimental de la Enfermedad de Alzheimer.

Con respecto al ensayo de motilidad, la cepa control N2 WT, según un protocolo estandarizado a 20 segundos en promedio realiza 18 ondulaciones en restricción dietaria (52) lo que concuerda con lo encontrado en el presente ensayo 28 ondulaciones en 30 segundos, aunque difiere el tiempo de análisis.

Los ensayos de motilidad y puesta de huevos respectivamente concuerdan con la literatura, se reporta que para las cepas transgénicas CL2006 y BR5270 hay una disminución en la puesta de huevos y alteración en la motilidad (5,18).

La dieta probiótica no interfirió con las variables de tasa de oviposición y motilidad de los nematodos. Se confirmó puesto que no se evidencio un cambio estadísticamente significativo en los parámetros fisiológicos con respecto a los grupos control.

De acuerdo al estudio realizado por Kumar et al en el 2022 de preferencia alimentaria y memoria de aprendizaje demostraron que la dieta afecta el comportamiento de los nematodos, desde la alimentación, la parte sensorial, la memoria y el aprendizaje, los nematodos no presentaron una preferencia del probiótico respecto a la *E. coli* OP50 (13). A la misma conclusión se llegó en esta investigación los nematodos ingenuos no presentan preferencia por una u otra dieta.

No obstante, los resultados confirman que cuando reciben el entrenamiento, modifican la preferencia, los nematodos entrenados desde L1 con los probióticos se acumulan mayormente en la dieta con probióticos, demostrando que adquieren una habilidad en la memoria asociativa.

El ensayo de memoria y aprendizaje comprueba la hipótesis de que los probióticos ejercen un efecto positivo sobre la memoria asociativa y el aprendizaje de los nematodos. Este resultado se evidenció en el aumento del índice de memoria de los nematodos entrenados desde L1 respecto al índice de memoria de los nematodos ingenuos. El periodo prolongado de exposición permitió evaluar la memoria asociativa a largo plazo, mostrando una mejora significativa en la misma, mientras que la memoria asociativa a corto plazo no mostró cambios significativos.

En contraste a lo observado en este modelo, en humanos la MCP es la que se ve mayormente afectada en estadios iniciales de la Enfermedad de Alzheimer. En un

estudio realizado por Della *et al.* dónde se comparó a pacientes que tenían EA y otras demencias no relacionadas con EA, encontró que la afección en la MCP es un indicador temprano y exclusivo de pacientes con EA (58).

La memoria asociativa y el aprendizaje en humanos está relacionado con la conformación de MLP. Lo que puede compararse con lo que sucede en *C. elegans* y explica el hecho de que los nematodos adquieran la habilidad de preferir la dieta probiótica sobre la dieta con *E. coli* OP50. Con estos hallazgos sobre el fortalecimiento de la memoria asociativa en *C. elegans*, ofrece una vía experimental para explorar la neuroprotección.

Finalmente, los agregados de proteína Tau disminuyeron tras la suplementación de la dieta probiótica en cabeza del nematodo, dónde se encuentran las neuronas dopaminérgicas y la faringe (59).

La reducción cuantitativa de los agregados de Tau comprueba la hipótesis de que los probióticos tienen la capacidad de disminuir los agregados de proteína Tau en la cepa BR5270. Este hallazgo sugiere el potencial mecanismo de neuroprotección, el cuál podría llegar a retrasar los daños ocasionados a nivel neuronal asociado a la agregación.

Es importante contrastar este hallazgo con otros estudios como el estudio realizado por Labarre *et al* 2022 en el cuál reportaron que al suministrar los probióticos hubo una reducción en la expresión de GFP, lo que sugiere que en su modelo la neuroprotección fue independiente de las vías clásicas de longevidad y respuesta al estrés.

Esto difiere con los resultados del presente estudio, dónde sí hubo una disminución significativa de los agregados de Tau marcados con mCherry en la cepa BR5270, lo que indica una intervención en estos mecanismos de longevidad y se relaciona con la neuroprotección (47).

Los resultados obtenidos en la presente investigación permiten concluir de manera preliminar que los probióticos ejercen un efecto neuroprotector positivo sobre la agregación proteica en *C. elegans* como modelo experimental asociado a la EA. En un futuro estos hallazgos validan el potencial de los probióticos como una alternativa preventiva y tratamiento adyuvante que se puede seguir estudiando en pacientes con EA. Adicionalmente, se hace necesario explorar a mayor profundidad los mecanismos involucrados, tales como las proteínas, moléculas y vías de señalización que permiten que haya un efecto protector en *C. elegans* evaluando diferentes concentraciones de cada uno de los probióticos.

6. CONCLUSIONES

- Las cepas transgénicas CL2006 y BR5270 presentan alteraciones fisiológicas y fenotípicas significativas respecto a las cepas control N2 y BR5271, se presentan diferencias en: la motilidad CL2006 presenta parálisis progresiva por la expresión fenotipo Rolling, BR5270 un movimiento nadatorio tipo C defectuoso; La tasa de oviposición se ve alterada por un fenómeno de bagging lo que disminuye significativamente la puesta de huevos y un ciclo de vida corto.

- La cepa BR5270 no demostró una preferencia alimentaria exclusiva por alguna de las dietas, pero se observó que los nematodos ingenuos se acumularon mayormente en la E. coli OP50 mientras que los nematodos entrenados se acumularon sobre los probióticos.
- Los probióticos ejercen un efecto positivo sobre el aprendizaje y la memoria en la cepa BR5270, cuando se suministra la dieta probiótica desde edades tempranas (L1) mejora el aprendizaje asociativo significativamente, lo que sugiere a su vez una mejora en la memoria a largo plazo.
- La esperanza de vida aumentó notablemente en ambas cepas (CL2006 y BR5270) lo que indica que los probióticos están implicados en la modulación del envejecimiento y pueden llegar a generar un efecto protector a lo largo del ciclo de vida del nematodo.
- El efecto Rolling de la cepa CL2006 disminuye y aumenta la respuesta a estímulos tras la suplementación con la dieta probiótica.
- La agregación de proteína Tau en el músculo faríngeo y las neuronas dopaminérgicas de la cepa BR5270 disminuyó al observar menor intensidad de fluorescencia.
- Los probióticos representan una alternativa prometedora en un futuro para la prevención y/o tratamiento adyuvante de enfermedades neurodegenerativas como la EA, debido a que en *C. elegans* se obtuvieron resultados positivos en cepas asociadas a la EA principalmente a nivel de memoria de aprendizaje y neuroprotección.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kumar A, Sidhu J, Lui F, Tsao JW. Alzheimer Disease. StatPearls [Internet]. el 12 de febrero de 2024 [citado el 28 de febrero de 2024];1–27. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499922/>
2. Sheppard O, Coleman M. View of Alzheimer's Disease: Etiology, Neuropathology and Pathogenesis. University of Cambridge, Cambridge, UK [Internet]. 2020 [citado el 28 de febrero de 2024]; Disponible en: <https://exonpublications.com/index.php/exon/article/view/252/472>
3. Bhole RP, Chikhale R V., Rathi KM. Current biomarkers and treatment strategies in Alzheimer disease: An overview and future perspectives. IBRO Neurosci Rep [Internet]. el 1 de junio de 2023 [citado el 9 de noviembre de 2024];16:8–42. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38169888/>
4. Prada SI, Takeuchi Y, Ariza Y. Costo monetario del tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en Colombia Monetary cost of treatment for Alzheimer's disease in Colombia Artículo original. Vol. 30, Acta Neurol Colomb. 2014.
5. Corsi AK, Wightman B, Chalfie M. A Transparent window into biology: A primer on *Caenorhabditis elegans*. WormBook: the online review of *C. elegans* biology. 2015. p. 1–31.

6. Kaletta T, Hengartner MO. Finding function in novel targets: *C. elegans* as a model organism. Vol. 5, Nature Reviews Drug Discovery. 2006. p. 387–99.
7. Link CD. Expression of human β -amyloid peptide in transgenic *Caenorhabditis elegans*. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. el 26 de septiembre de 1995 [citado el 28 de junio de 2025];92(20):9368–72. Disponible en: [/doi/pdf/10.1073/pnas.92.20.9368?download=true](https://doi.org/10.1073/pnas.92.20.9368)
8. Fatouros C, Pir GJ, Biernat J, Koushika SP, Mandelkow E, Mandelkow EM, et al. Inhibition of Tau aggregation in a novel *caenorhabditis elegans* model of tauopathy mitigates proteotoxicity. Hum Mol Genet. agosto de 2012;21(16):3587–603.
9. He Y, Li B, Sun D, Chen S. Gut Microbiota: Implications in Alzheimer's Disease. J Clin Med [Internet]. el 1 de julio de 2020 [citado el 9 de noviembre de 2024];9(7):2042. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7409059/>
10. Peterson CT. Dysfunction of the Microbiota-Gut-Brain Axis in Neurodegenerative Disease: The Promise of Therapeutic Modulation With Prebiotics, Medicinal Herbs, Probiotics, and Synbiotics. J Evid Based Integr Med [Internet]. 2020 [citado el 9 de noviembre de 2024];25:2515690X20957225. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7586271/>
11. Gupta MK, Chauhan K, Bhardwaj S, Srivastava R. Innovative Interventions: Postbiotics and Psychobiotics in Neurodegenerative Disease Treatment. Probiotics Antimicrob Proteins [Internet]. el 27 de junio de 2025; Disponible en: <https://link.springer.com/10.1007/s12602-025-10632-0>
12. Cogliati S, Clementi V, Francisco M, Crespo C, Argañaraz F, Grau R. *Bacillus Subtilis* Delays Neurodegeneration and Behavioral Impairment in the Alzheimer's Disease Model *Caenorhabditis Elegans*. J Alzheimers Dis [Internet]. 2020 [citado el 9 de noviembre de 2024];73(3):1035–52. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31884470/>
13. Kumar A, Joishy T, Das S, Kalita MC, Mukherjee AK, Khan MR. A Potential Probiotic *Lactobacillus plantarum* JBC5 Improves Longevity and Healthy Aging by Modulating Antioxidative, Innate Immunity and Serotonin-Signaling Pathways in *Caenorhabditis elegans*. Antioxidants. el 1 de febrero de 2022;11(2).
14. Labarre A, Guitard E, Tossing G, Forest A, Bareke E, Labrecque M, et al. Fatty acids derived from the probiotic *Lactocaseibacillus rhamnosus* HA-114 suppress age-dependent neurodegeneration. Commun Biol [Internet]. el 1 de diciembre de 2022 [citado el 8 de agosto de 2025];5(1):1340. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9729297/>

15. Balaguer F, Barrena M, Enrique M, Maicas M, Álvarez B, Tortajada M, et al. Bifidobacterium animalis subsp. lactis BPL1™ and Its Lipoteichoic Acid Modulate Longevity and Improve Age/Stress-Related Behaviors in *Caenorhabditis elegans*. *Antioxidants (Basel)* [Internet]. el 1 de diciembre de 2023 [citado el 9 de noviembre de 2024];12(12). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38136226/>
16. Foster SG, Mathew S, Labarre A, Alex Parker J, Tompkins TA, Binda S. Lactobacillus rhamnosus HA-114 and Bacillus subtilis R0179 Prolong Lifespan and Mitigate Amyloid- β Toxicity in *C. elegans* via Distinct Mechanisms. *Journal of Alzheimer's Disease* [Internet]. el 27 de agosto de 2024 [citado el 8 de agosto de 2025];101(1):49–60. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39093068/>
17. Akhgarjand C, Vahabi Z, Shab-Bidar S, Etesam F, Djafarian K. Effects of probiotic supplements on cognition, anxiety, and physical activity in subjects with mild and moderate Alzheimer's disease: A randomized, double-blind, and placebo-controlled study. *Front Aging Neurosci.* el 31 de octubre de 2022;14:1032494.
18. Alvarez J, Alvarez-Illera P, Santo-Domingo J, Fonteriz RI, Montero M. Modeling Alzheimer's Disease in *Caenorhabditis elegans*. *Biomedicines* 2022, Vol 10, Page 288 [Internet]. el 26 de enero de 2022 [citado el 5 de octubre de 2025];10(2):288. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2227-9059/10/2/288/htm>
19. International AD. World Alzheimer Report 2023: Reducing Dementia Risk: Never too early, never too late [Internet]. 2023 [citado el 18 de octubre de 2025]. Disponible en: <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2023/>
20. Dementia [Internet]. [citado el 18 de octubre de 2025]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
21. OME. Global action plan on the public health response to dementia 2017 - 2025. Geneva: World Health Organization [Internet]. 2017 [citado el 18 de octubre de 2025];27. Disponible en: <http://apps.who.int/bookorders>.
22. Guerrero-Barragán A, Lucumi-Cuesta DI. Stakeholder perceptions of dementia in Colombia: a qualitative study. *BMC Public Health.* el 1 de diciembre de 2025;25(1).
23. García-Morales V, González-Acedo A, Melguizo-Rodríguez L, Pardo-Moreno T, Costela-Ruiz VJ, Montiel-Troya M, et al. Current understanding of the physiopathology, diagnosis and therapeutic approach to Alzheimer's disease. Vol. 9, *Biomedicines*. MDPI; 2021.
24. Ma C, Hong F, Yang S. Amyloidosis in Alzheimer's Disease: Pathogeny, Etiology, and Related Therapeutic Directions. Vol. 27, *Molecules*. MDPI; 2022.

25. Yin F. Lipid metabolism and Alzheimer's disease: clinical evidence, mechanistic link and therapeutic promise. *FEBS Journal* [Internet]. el 1 de marzo de 2023 [citado el 8 de agosto de 2025];290(6):1420–53. Disponible en: [/doi/pdf/10.1111/febs.16344](https://doi/pdf/10.1111/febs.16344)
26. Zhang X, Chen C, Liu Y. Navigating the metabolic maze: anomalies in fatty acid and cholesterol processes in Alzheimer's astrocytes. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. el 1 de diciembre de 2024 [citado el 8 de agosto de 2025];16(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38521950/>
27. La enfermedad de Alzheimer y los inhibidores de la colinesterasa [Internet]. [citado el 18 de octubre de 2025]. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022003000200005
28. Directrices de la OMS para la reducción de los riesgos de deterioro cognitivo y demencia. Directrices de la OMS para la reducción de los riesgos de deterioro cognitivo y demencia. 2020;
29. Liu S, Gao J, Zhu M, Liu K, Zhang HL. Gut Microbiota and Dysbiosis in Alzheimer's Disease: Implications for Pathogenesis and Treatment. *Molecular Neurobiology* 2020 57:12 [Internet]. el 23 de agosto de 2020 [citado el 9 de noviembre de 2024];57(12):5026–43. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12035-020-02073-3>
30. Hou M, Xu G, Ran M, Luo W, Wang H. APOE-ε4 Carrier Status and Gut Microbiota Dysbiosis in Patients With Alzheimer Disease. *Front Neurosci*. el 24 de febrero de 2021;15:619051.
31. Thakkar A, Vora A, Kaur G, Akhtar J. Dysbiosis and Alzheimer's disease: role of probiotics, prebiotics and synbiotics. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 2023 396:11 [Internet]. el 7 de junio de 2023 [citado el 9 de noviembre de 2024];396(11):2911–23. Disponible en: <https://link.springer-com.ezproxy.unicolmayor.edu.co/article/10.1007/s00210-023-02554-x>
32. Akyuz E, Arulsamy A, Aslan FS, Sarisözen B, Guney B, Hekimoglu A, et al. An Expanded Narrative Review of Neurotransmitters on Alzheimer's Disease: The Role of Therapeutic Interventions on Neurotransmission. *Mol Neurobiol* [Internet]. el 1 de febrero de 2025 [citado el 5 de octubre de 2025];62(2):1631–74. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12035-024-04333-y>
33. Colombo AV, Sadler RK, Llovera G, Singh V, Roth S, Heindl S, et al. Microbiota-derived short chain fatty acids modulate microglia and promote aβ plaque deposition. *Elife* [Internet]. 2021 [citado el 8 de agosto de 2025];10. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33845942/>
34. Wang W, Xu C, Zhou X, Zhang L, Gu L, Liu Z, et al. Lactobacillus plantarum Combined with Galactooligosaccharides Supplement: A

- Neuroprotective Regimen Against Neurodegeneration and Memory Impairment by Regulating Short-Chain Fatty Acids and the c-Jun N-Terminal Kinase Signaling Pathway in Mice. *J Agric Food Chem* [Internet]. el 20 de julio de 2022 [citado el 8 de agosto de 2025];70(28):8619–30. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35816280/>
35. Yang G, Lu Q, Cui L, Zong M, Guo Y, Liu L, et al. The fatty acid profiles of mixed fermented milk and its anti-inflammation properties in an LPS-induced RAW264.7 cell model. *Food Funct* [Internet]. el 7 de marzo de 2022 [citado el 8 de agosto de 2025];13(5):2465–74. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35147146/>
 36. Jang S, Choi B, Lim C, Kim M, Lee JE, Lee H, et al. Neuronal fatty acid-binding protein enhances autophagy and suppresses amyloid- β pathology in a *Drosophila* model of Alzheimer's disease. *PLoS Genet* [Internet]. el 19 de noviembre de 2024 [citado el 8 de agosto de 2025];20(11). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39561115/>
 37. Bernal Castro CA, Díaz-Moreno C, Gutiérrez-Cortés C, Bernal Castro CA, Díaz-Moreno C, Gutiérrez-Cortés C. Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista chilena de nutrición* [Internet]. 2017 [citado el 9 de noviembre de 2024];44(4):383–92. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182017000400383&lng=es&nrm=iso&tlng=en
 38. Kim CS, Cha L, Sim M, Jung S, Chun WY, Baik HW, et al. Probiotic Supplementation Improves Cognitive Function and Mood with Changes in Gut Microbiota in Community-Dwelling Older Adults: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multicenter Trial. *The Journals of Gerontology: Series A* [Internet]. el 1 de enero de 2021 [citado el 8 de agosto de 2025];76(1):32–40. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1093/gerona/glaa090>
 39. Cocean AM, Vodnar DC. Exploring the gut-brain Axis: Potential therapeutic impact of Psychobiotics on mental health. Vol. 134, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. Elsevier Inc.; 2024.
 40. Kumaree KK, Prasanth MI, Sivamaruthi BS, Kesika P, Tencomnao T, Chaiyasut C, et al. *Lactobacillus paracasei* HII01 enhances lifespan and promotes neuroprotection in *Caenorhabditis elegans*. *Scientific Reports* 2023 13:1 [Internet]. el 4 de octubre de 2023 [citado el 9 de noviembre de 2024];13(1):1–12. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-43846-9>
 41. Hwang YH, Park S, Paik JW, Chae SW, Kim DH, Jeong DG, et al. Efficacy and Safety of *Lactobacillus Plantarum* C29-Fermented Soybean (DW2009) in Individuals with Mild Cognitive Impairment: A 12-Week, Multi-

- Center, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Nutrients* [Internet]. 2019 [citado el 8 de agosto de 2025];11(2):305. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6412773/>
42. Gu X, Bi N, Wang T, Huang C, Wang R, Xu Y, et al. Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 supplementation attenuates Pb-induced learning and memory deficits by reshaping the gut microbiota. *Front Nutr.* el 19 de julio de 2022;9:934118.
 43. Beltrán-Velasco AI, Reiriz M, Uceda S, Echeverry-Alzate V. *Lactiplantibacillus* (*Lactobacillus*) *plantarum* as a Complementary Treatment to Improve Symptomatology in Neurodegenerative Disease: A Systematic Review of Open Access Literature. *International Journal of Molecular Sciences* 2024, Vol 25, Page 3010 [Internet]. el 5 de marzo de 2024 [citado el 9 de noviembre de 2024];25(5):3010. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/5/3010/htm>
 44. Zhang J, Zhao Y, Sun Z, Sun T. *Lacticaseibacillus rhamnosus* Probio-M9 extends the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Commun Biol.* el 1 de diciembre de 2022;5(1).
 45. Magryś A, Pawlik M. Postbiotic Fractions of Probiotics *Lactobacillus plantarum* 299v and *Lactobacillus rhamnosus* GG Show Immune-Modulating Effects. *Cells* [Internet]. el 1 de noviembre de 2023 [citado el 8 de agosto de 2025];12(21). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37947616/>
 46. Foster SG, Mathew S, Labarre A, Alex Parker J, Tompkins TA, Binda S. *Lacticaseibacillus rhamnosus* HA-114 and *Bacillus subtilis* R0179 Prolong Lifespan and Mitigate Amyloid- β Toxicity in *C. elegans* via Distinct Mechanisms. *Journal of Alzheimer's Disease* [Internet]. el 27 de agosto de 2024 [citado el 6 de agosto de 2025];101(1):49–60. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39093068/>
 47. Labarre A, Guitard E, Tossing G, Forest A, Bareke E, Labrecque M, et al. Fatty acids derived from the probiotic *Lacticaseibacillus rhamnosus* HA-114 suppress age-dependent neurodegeneration. *Commun Biol* [Internet]. el 1 de diciembre de 2022 [citado el 6 de agosto de 2025];5(1):1340. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9729297/>
 48. Zhao Y, Wu C, Bai J, Li J, Cheng K, Zhou X, et al. Fermented barley extracts with *Lactobacillus plantarum* dy-1 decreased fat accumulation of *Caenorhabditis elegans* in a *daf-2*-dependent mechanism. *J Food Biochem.* el 1 de noviembre de 2020;44(11).
 49. El-Bawab F. Phylum Nematoda. *Invertebrate Embryology and Reproduction* [Internet]. el 1 de enero de 2020 [citado el 8 de agosto de 2025];422–70. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128141144000096>

50. Bezerra IC, dos Santos ERS, do Nascimento KGA, da Silva AJ, de Farias JB, Vitorino ML de L, et al. Label-Free Proteomic Profiling of the dvls2 (CL2006) *Caenorhabditis elegans* Alzheimer's Disease (AD) Model Reveals Conserved Molecular Signatures Shared With the Human AD Brain. *J Neurochem* [Internet]. el 1 de julio de 2025 [citado el 22 de agosto de 2025];169(7):e70152. Disponible en: [/doi/pdf/10.1111/jnc.70152](https://doi.org/10.1111/jnc.70152)
51. Fay DS, Fluet A, Johnson CJ, Link CD. In Vivo Aggregation of β -Amyloid Peptide Variants. *J Neurochem* [Internet]. el 1 de octubre de 1998 [citado el 16 de julio de 2025];71(4):1616–25. Disponible en: [/doi/pdf/10.1046/j.1471-4159.1998.71041616.x](https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.71041616.x)
52. Petratou D, Fragkiadaki P, Lionaki E, Tavernarakis N. Assessing locomotory rate in response to food for the identification of neuronal and muscular defects in *C. elegans*. *STAR Protoc* [Internet]. el 15 de marzo de 2024 [citado el 22 de agosto de 2025];5(1):102801. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666166723007682>
53. Kim AT, Li S, Kim Y, You YJ, Park Y. Food preference-based screening method for identification of effectors of substance use disorders using *Caenorhabditis elegans*. *Life Sci* [Internet]. el 15 de mayo de 2024 [citado el 27 de septiembre de 2025];345:122580. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320524001693>
54. Kauffman A, Parsons L, Stein G, Wills A, Kaletsky R, Murphy C. *C. elegans* Positive Butanone Learning, Short-term, and Long-term Associative Memory Assays. *J Vis Exp*. el 11 de marzo de 2011;(49):e2490.
55. Measuring cell fluorescence using ImageJ — The Open Lab Book v1.0 [Internet]. [citado el 22 de agosto de 2025]. Disponible en: <https://theolb.readthedocs.io/en/latest/imaging/measuring-cell-fluorescence-using-imagej.html>
56. Kalia V, Niedzwiecki MM, Bradner JM, Lau FK, Anderson FL, Bucher ML, et al. Cross-species metabolomic analysis of tau- and DDT-related toxicity. *PNAS Nexus* [Internet]. el 5 de mayo de 2022 [citado el 22 de agosto de 2025];1(2):1–19. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1093/pnasnexus/pgac050>
57. Diomedea L, Rigacci S, Romeo M, Stefani M, Salmona M. Oleuropein Aglycone Protects Transgenic *C. elegans* Strains Expressing A β 42 by Reducing Plaque Load and Motor Deficit. *PLoS One* [Internet]. el 8 de marzo de 2013 [citado el 22 de agosto de 2025];8(3):e58893. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3592812/>
58. Della Sala S, Parra MA, Fabi K, Luzzi S, Abrahams S. Short-term memory binding is impaired in AD but not in non-AD dementias. *Neuropsychologia* [Internet]. abril de 2012 [citado el 5 de octubre de 2025];50(5):833–40. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22289292/>

59. Fu HJ, Zhou XY, Li YP, Chen X, He YN, Qin DL, et al. The Protective Effects of *Reineckia carnea* Ether Fraction against Alzheimer's Disease Pathology: An Exploration in *Caenorhabditis elegans* Models. *Int J Mol Sci* [Internet]. el 1 de noviembre de 2023 [citado el 5 de octubre de 2025];24(22):16536. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/22/16536/htm>

8. ANEXOS

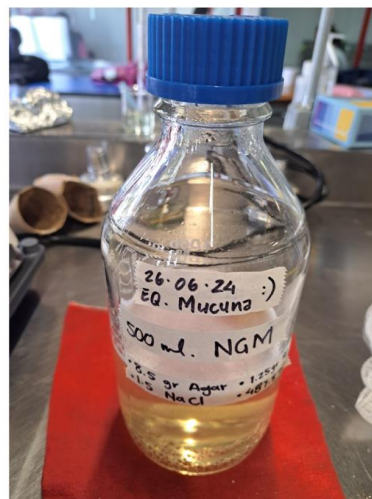
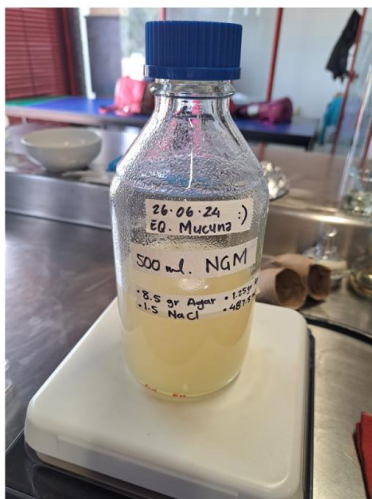
Anexo 1: Preparación de medio NGM (Nematode Growth Medium)

Para preparar 1L de NGM se necesita:

- 3.4 3g de NaCl
- 3.5 17g de Agar
- 3.6 2,5g de peptona
- 3.7 25 ml de Buffer KPO4 1M

Posteriormente enriquecer con:

- 3.8 1mL MgSO4 1M
- 3.9 1 mL de CaCl2
- 3.10 1 mL de colesterol

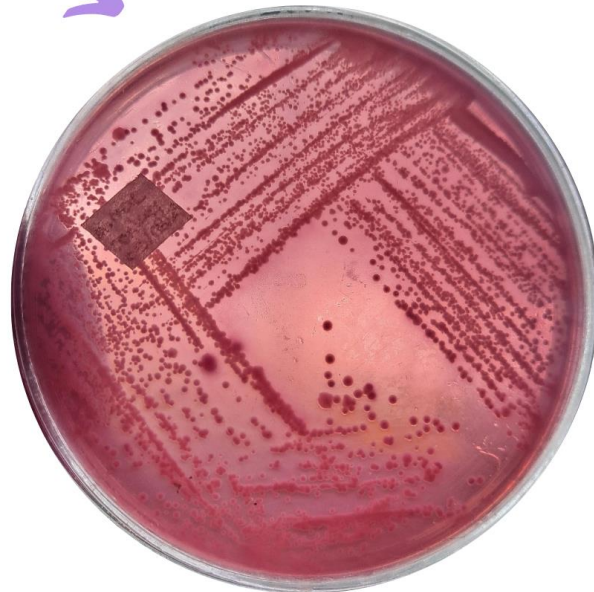




Preparación medio NGM

Anexo 2: Mantenimiento *E. coli* OP50

La *E. coli* OP50 se mantiene en viales del caldo de enriquecimiento Luria Bertani (LB) congelados a -80°C , se realiza toda la cadena de frío para su descongelamiento, pasa a -20°C , a temperatura de nevera y por último a temperatura ambiente, para activar su metabolismo se puede disponer en un caldo nuevo e incubar o directamente sembrar en un medio MacConkey e incubar 37°C durante 72 horas.



Mantenimiento *E. coli* OP50. Enriquecimiento en caldo LB a 37°C en agitación constante, crecimiento en medio MacConkey

Anexo 3: Identificación microbiológica de las cepas probióticas



Anexo 4: Sincronización



Estrategias de comunicación

Para dar a conocer el proyecto se ha expuesto por medio de poster y presentaciones orales en congresos a nivel nacional e internacional, entre ellos la participación en RedColsi en el año 2022 en la ciudad de Medellín, Colombia posteriormente en el III Latioamerican Worm Meting en Valparaíso, Chile y al Expo Science Internacional en Puebla, México para el 2023 y participación en el 2024 en un verano de investigación científica que permitió enriquecer el proyecto de grado.



LA FUNDACIÓN RED COLOMBIANA DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN RedCOLSI

Del 12 al 15 de octubre de 2022

Hace constar que,

JENNIFER LORENA LOZADA LEMUS

Con número de identificación **1011320702**

Participó en calidad de

PONENTE

Con el proyecto EFECTO DE UN PROBIÓTICO EN UN MODELO TRANSGÉNICO DE C. ELEGANS COMO POSIBLE TRATAMIENTO PARA ENFERMEDADES AUTOINMUNES COMO LA ARTRITIS REUMATOIDE.


LUZ MERY HERRERA GALEANO
Coordinadora Nacional de RedCOLSI


MARTHA LUCIA MONSALVE PERDOMO
Secretaria Nacional de RedCOLSI


DANIEL CARVAJAL TABARES
Coordinador Nodo Antioquia RedCOLSI



3rd Latin American Worm Meeting: Abstract Acceptance

Dear Colleague, Jennifer Lorena Lozada Lemus

We are pleased to announce that **your abstract for the 3rd Latin American Worm Meeting has been accepted**. In the next few days, we will notify you if your abstract will correspond to the poster section or if it will be selected for oral communication.

See you soon in Valparaiso,

Diego Rayes

On behalf of the organizing committee

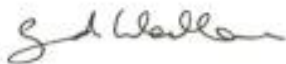
Certificate of participation

This is to confirm that

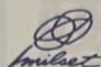
Jennifer Lozada

attended the hybrid EMBO Workshop
Third Latin American *C. elegans* meeting
from 15 – 19 March 2023 in Valparaíso, Chile

Heidelberg, Germany
21 March 2023

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Gerlind Wallon".

Gerlind Wallon, PhD
EMBO Deputy Director



The International Movement for Leisure
Activities in Science and Technology

The International Movement for Leisure Activities in Science and Technology (MILSET), the
National Network of Youth Activities in Science and Technology (REDMex) and UPAEP
University

CERTIFICATE

JENNIFER LORENA LOZADA LEMUS

In recognition of your exceptional participation in the MILSET Expo-Sciences
International from October 21 to 27, 2023 in Puebla, Mexico, as a
representative of Colombia in the category of Biological and Health
Sciences, with the project titled "THE EFFECT OF ONE PROBIOTIC IN A
TRANSGENIC MODEL OF C. ELEG".

ID: 2306804393



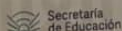
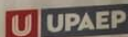
EXPO-SCIENCES INTERNATIONAL
PUEBLA MEXICO



RED
Red Nacional de Actividades
Juveniles en Ciencia y Tecnología

Roberto Hidalgo Rivas

MILSET President & REDMex General Coordinator



#BeyondScience



PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL PARA
EL FORTALECIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN
Y EL POSGRADO DEL PACÍFICO

A QUIEN CORRESPONDA
PRESENTE

Me permito hacer **CONSTAR** que la C. **Jennifer Lorena Lozada Lemus**, estudiante de la *Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca*, realizó la **Estancia Presencial** del XXIX Verano de la Investigación Científica y Tecnológica del Pacífico, en el periodo del 17 de junio al 2 de agosto de 2024, colaborando en el proyecto **"EFECTO DEL EXTRACTO OBTENIDO A PARTIR DE LA LEGUMINOSA MUCUNA PRURIENS EN EL NEMATODO CAENORHABDITIS ELEGANS"**, asesorada por la **Dra. Gabriela Camargo Hernández**, investigadora de la *Universidad de Guadalajara*.

Se extiende la presente para los fines legales a que haya lugar, el día 5 de agosto de 2024, en la Ciudad de Tepic, Nayarit, México.

ATENTAMENTE
"POR UNA CULTURA CIENTÍFICA"

MTRO. CARLOS HUMBERTO JIMÉNEZ GONZÁLEZ
COORDINADOR GENERAL



COORDINACIÓN GENERAL

COORDINACIÓN GENERAL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT / SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
Ciudad de la Cultura s/n, Col. Centro, C.P. 63008, Tepic, Nayarit, México.
Tel.: 311 141 94 66, coordinación.general@programadelfin.org.mx

XXIX

Verano de la Investigación
Científica y Tecnológica
del Pacífico 2024



El Programa Interinstitucional para el Fortalecimiento de la Investigación
y el Posgrado del Pacífico, a través de la Universidad Autónoma de Nayarit
otorga el presente

Reconocimiento

a: **Jennifer Lorena Lozada Lemus**

Por su destacada participación como **ponente** en el Congreso
Internacional Virtual del XXIX Verano de la Investigación Científica y
Tecnológica del Pacífico, realizado del 25 al 27 de septiembre de 2024

Nayarit, México

"Por lo Nuestro a lo Universal"

Dra. Norma Lilliana Galván Meza
Presidenta del Honorable Consejo General
Rectora de la Universidad Autónoma de Nayarit

"Por una cultura Científica"

Mtro. Carlos Humberto Jiménez González
Coordinador General del Programa



años
Programa DEUFIN
Capítulo Colombia